

ее разрушения. Наиболее мощный метод познания структуры биополимеров — рентгенографический ([1], §§ 5.1, 5.2). Вместе с тем очень велика и роль ряда других методов, прежде всего спектральных и оптических ([1], гл. 5,7), являющихся сегодня более доступными и дающих более разнообразную информацию, чем рентгенография. Конечно, эта информация гораздо менее точна и детальна.

В молекулярной биофизике как таковой, т. е. в физике белков и нуклеиновых кислот, не возникают проблемы, связанные с неравновесным поведением живой открытой системы. Биополимеры исследуются *in vitro* на тех же основаниях, как и любые другие вещества, не участвующие в процессах жизнедеятельности. Именно это обстоятельство определило быстрое развитие молекулярной биофизики, ставшей сегодня наиболее разработанной областью биофизики в целом.

§ 1.2. МОЛЕКУЛЯРНОЕ УЗНАВАНИЕ

Узнавание (распознавание) сигнала рецептором есть основное свойство регулируемой и регулирующей системы, будь то человеческий мозг или электронная вычислительная машина. Такого рода системы являются узнающими [5]. Они осуществляют классификацию объектов, информация о которых сообщается рецепторам. Эта классификация основывается на некотором принципе, заложенном в системе.

Узнающие системы могут быть не обучающимися и обучающимися. Вторые представляют особый интерес для кибернетики, теории автоматического регулирования, для моделирования деятельности головного мозга животных и человека и т. д. В качестве примера обучаемой узнающей системы можно назвать перцептрон — схему, моделирующую важные черты работы мозга, прежде всего его способность узнавать и классифицировать сигналы, получаемые полем рецепторов [5, 6].

Очевидно, что возможность обучения узнающей системы определяется ее способностью обучаться, т. е. наличием в ее устройстве элементов памяти. Узнавание сигналов такой системой и является обучением с последующим «экзаменом» [5]. Способность обучаться, т. е. узнавать, запрограммирована в устройстве системы.

Обращаясь к глубинным уровням биологической организации, мы встречаемся с обучаемыми клеточными системами и с необучаемыми молекулярными системами узнавания. Клеточное узнавание имеет принципиальное значение для процессов развития, в частности, для возникновения иммунитета (см. § 9.11). Молекулярное узнавание определяет все важнейшие молекулярно-биологические процессы — ферментативную

активность, редупликацию ДНК, все этапы биосинтеза белка, взаимодействие антиген — антитело (см. § 1.3) и т. д.

Молекула белка-фермента узнает молекулу субстрата или некоторую ее часть, как, например, в случае протеолитических ферментов, катализирующих гидролиз пептидных связей. Узнавание выражается в образовании реакционного комплекса со специфическим субстратом. Комплексы с ингибиторами и активаторами, с аллостерическими эффекторами также возникают в результате специфического узнавания. В узнавании участвуют непосредственно активный центр фермента, включающий и соответствующий кофактор, и косвенно вся белковая глобула. Само образование глобулы можно трактовать как результат узнавания, в частности, узнавания гидрофобных остатков гидрофобными же остатками, вследствие чего формируется ядро глобулы.

Более простой случай узнавания реализуется при комплементарном связывании нуклеотидов в двойной спирали ДНК, в гибридной двойной спирали ДНК — РНК, в синтетических полинуклеотидах, при взаимодействии кодон — антикодон.

В биосинтезе белка ([1], гл. 9) мы встречаемся с ферментативным узнаванием, происходящем в акте транскрипции, в котором необходимым образом участвует РНК-полимераза, и в акте трансляции, где узнающими системами, наряду с мРНК, служат аминоксил — тРНК-синтетаза, вся рибосома и ряд других факторов.

Из приведенных выше данных следует определение термина «молекулярное узнавание». Это понятие имеет смысл применительно к системам, в которых узнающее устройство сохраняет свою целостность в акте узнавания и в ряде случаев возвращается в исходное состояние, совершив преобразование молекулярного сигнала. Одна молекула фермента перерабатывает множество молекул субстрата, одна рибосома «читает» весь текст, записанный в цепи мРНК.

Можно было бы говорить о молекулярном узнавании и применительно к обычным химическим реакциям, причем с тем большим основанием, чем они специфичнее. Однако «узнающий» реагент изменяется радикальным образом в ходе реакции и утрачивает способность к дальнейшим актам узнавания.

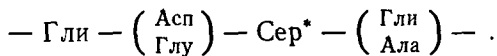
Таким образом, применяемое здесь определение молекулярного узнавания указывает на специфичность слабых, главным образом нехимических взаимодействий молекул. Для узнавания существенно стерическое соответствие структуры рецептора и структуры сигнальной молекулы, соответствие, фиксированное или индуцируемое. Специфическое понижение свободной энергии происходит вследствие многоточечного взаимодействия, которое и описывается как континуальное соответствие молекулярных поверхностей и находит свое наглядное выражение в атомных

моделях. В сущности, старое представление Фишера о соответствии «ключ — замок» и сводится к узнаванию.

Достижение соответствия, как правило, связано с определенной перестройкой взаимодействующих систем и, следовательно, с конформационными превращениями. Реализуются электронно-конформационные взаимодействия — ЭКВ.

Молекулярное кодирование в биологии основывается в конечном счете на молекулярном узнавании. Генетический код связан с функционированием ряда узнающих систем, перечисленных выше. Естественно возникает вопрос о ферментном коде, т. е. о классификации соответствий между активными центрами ферментов и субстратами.

Громадное число комбинаций из 20 сортов аминокислотных остатков на поверхности реактивной полости фермента, в его активном центре, обеспечивает практически неограниченное многообразие функциональности ферментов. Можно думать о наличии фиксированных комбинаций, кодирующих узнавание характерных атомных групп субстратов. Точнее, следует говорить о кодовых сорбирующих комбинациях и о кодовых каталитических комбинациях, действующих согласованно, но пространственно разделенных. Имеются некоторые указания на возможность существования такого кода. Так, важный для катализа остаток Сер содержится в активном центре ряда эстераз, протеиназ и фосфомутаз [7]. Для многих из этих ферментов характерна последовательность



Установлено, что Сер «узнает» ацильную группу, будучи ее промежуточным акцептором [8]. Подробно изучены кодовые свойства и других функциональных групп ферментов: имидазольной группы Гис, ϵ -аминогруппы Лиз, карбоксильных [9], сульфгидрильных и дисульфидных групп [10]. Тем не менее, сегодня можно лишь поставить проблему ферментного кода. Решение этой проблемы требует обширной и разнообразной информации о структуре активных центров, получаемой прежде всего методом рентгеноструктурного анализа.

Взаимодействие, определяющее узнавание субстрата или ингибитора белком, есть процесс передачи информации молекулярным сигналом рецептору. Как подчеркивает Кастлер, в большинстве реальных случаев передается не вся информация, содержащаяся в данном объекте, но лишь некоторая ее часть, именуемая *сигнатурой* [11]. Сигнатурой молекулы служат все те ее особенности, благодаря которым она становится участником данной реакции. В случае образования фермент-субстратного

комплекса сигнатурой субстрата являются его функциональные группы, взаимодействующие с активным центром. В свою очередь, сигнатура фермента есть его активный центр, т. е. ограниченная совокупность аминокислотных остатков, непосредственно взаимодействующих с субстратом. Узнавание сводится здесь к структурному соответствию молекулярных сигнатур, реализуемому в результате многоточечных слабых взаимодействий.

Если обратиться к обучаемым узнающим системам, возникающим на более высоких уровнях биологической организации, то станет очевидным, что в результате обучения система должна перестать «обращать внимание» на несущественные обстоятельства [5]. Иными словами, система обучается узнаванию сигнатуры.

Совершенство молекулярного узнавания имеет первостепенное значение для молекулярной биологии и биофизики, в частности, для процессов развития и эволюции (см. гл. 9).

Специфичность ферментов не абсолютна. Данный фермент зачастую катализирует не определенную реакцию одного строго заданного субстрата, а однотипные реакции группы сходных субстратов. Это определяется двумя причинами. Первая непосредственно связана с общей программой онтогенеза и филогенеза, приводящей к оптимальной экономии числа действующих белков. В тех ситуациях, в которых биологически существенна одна и та же реакция группы родственных субстратов, она может быть эффективно реализована единственным ферментом. Конечно, вся названная группа должна характеризоваться одной и той же сигнатурой или близкими сигнатурами.

Вторая причина наличия конечного интервала специфичности имеет молекулярно-кинетический характер. Реальная молекулярная узнающая система, фермент, предназначена не только для узнавания сигнала, но и для его достаточно быстрого преобразования. Степень специфичности узнавания, вообще говоря, симбатна степени связывания субстрата, т. е. выражается свободной энергией взаимодействия. Если выигрыш свободной энергии слишком велик, то прочность фермент-субстратного комплекса может быть настолько большой, что число оборотов фермента окажется чрезмерно низким. Необходимо оптимальное соотношение между стабильностью и скоростью преобразования [12]. Эта ситуация с особенной ясностью проявляется в более простых случаях узнавания в полинуклеотидах и нуклеиновых кислотах. Приведем две таблицы, заимствованные из [12].

Табл. 1.1 характеризует точность узнавания азотистых оснований РНК. Комплементарные пары АУ и ГЦ оказываются действительно наиболее прочными; так, АУ значительно прочнее АА или УУ. Однако возможно образование и некомплементарных пар, что и является одной из важнейших причин мутагенеза.

Константы стабильности достаточно низки, вследствие чего образование пар в полярных средах затруднено.

Таблица 1.1

Константы ассоциации $K_{асс}$ при спаривании оснований в неполярных растворителях C_6H_6 и CCl_4 при 25 °С (2', 3', 5'-О-замещенные рибонуклеозиды) [12]

C_6H_6 \ CCl_4	$K_{асс}, \text{ моль}^{-1}$			
	У	А	Ц	Г
У	15	550	< 50	< 10^3
А	45	22	< 50	< 10^3
Ц	150	8	28	> 10^4
Г	< 28	< 28	50	> 10^4
	< $1,12 \cdot 10^3$	< $1,2 \cdot 10^3$	$3 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^3 \sim 10^3$

Полужирным шрифтом показаны значения $K_{асс}$ в растворителе C_6H_6 , курсивом — в CCl_4 .

Табл. 1.2 свидетельствует о преимуществах в узнавании триплетов. Дублиеты обладают слишком низкими значениями $K_{асс}$. Кодоны, содержащие более трех нуклеотидов, напротив, дают слишком прочное связывание. Время жизни пары кодон — антикодон не должно превышать нескольких миллисекунд, так как в противном случае оно будет лимитировать скорость работы каталитической системы.

Как указывает Эйген [12], константы стабильности для комплементарных триплетов, входящих в состав олигомерных двойных спиралей, содержащих более чем четыре звена, заметно меньше, чем для триплетов и квадруплетов. По-видимому, это объясняется лучшими возможностями для вертикальных (stacking) взаимодействий в случае коротких экспонированных последовательностей, т. е. возможностями конформационных перемещений, приводящих к оптимальному связыванию. В молекулярном узнавании отчетливо проявляются кооперативные конформационные свойства биополимеров.

Характеристики узнавания, определяемые константами стабильности, относятся, конечно, лишь к термодинамическому равновесию. Биологические процессы редупликации ДНК, транскрипции и трансляции — кинетические процессы, идущие с участием соответствующих ферментов ([1], гл. 8, 9). В их основе лежит узнавание ДНК ДНК-полимеразой, лигазами, РНК-полимеразой, узнавание мРНК и тРНК рибосомой.

Для кинетических процессов существенны не только относительные глубины минимумов свободной энергии, отвечающих

Т а б л и ц а 1.2

Константы ассоциации $K_{асс}$ при спаривании три- и тетрауклеотидов с антикодонами тРНК в водном растворе 1,0 М NaCl, 10 мМ MgCl₂ и 10 мМ фосфата при pH 7 и 0 °С [12—14]

Формил-Мет-тРНК AA <u>UAЦ</u> УЦ	$K_{асс}$, моль ⁻¹	Тир-тРНК AA* <u>AУ*Г</u> УЦ	$K_{асс}$, моль ⁻¹
<u>AУГ</u>	1200 ± 200	<u>УАЦ</u>	700
AУГА	13 500	<u>УАЦА</u>	90 000
AУГУ	1 400	<u>УАУ</u>	700
AУГЦ	900	<u>УАУА</u>	37 000
AУГГ	1 000	Фен-тРНК	
<u>ГУГ</u>	1 200	Aу <u>ААГ*</u> УЦ*	
ГУГА	9 800	<u>УУЦ</u>	900
ГУГУ	1 000	<u>УУЦА</u>	10 000
		<u>УУУ</u>	300
		<u>УУУА</u>	1 000

A* — N(6)-диметил-А, У* — псевдо-У, Г* — 2-О-метил-Г, Ц* — 2-О-метил-Ц. Дважды подчеркнуты регулярные кодоны, один раз — кодоны, соответствующие «вилянию» ([1], стр. 593). Рамкой выделены антикодоны.

«структурам узнавания», но и барьеры, эти минимумы разделяющие. Узнавание непосредственно связано с ускорением соответствующего процесса, т. е. со снижением активационного барьера в результате слабых взаимодействий. Количественная теория этих процессов еще далеко не построена.

В следующем параграфе мы рассмотрим сравнительно хорошо изученные структурные соответствия во взаимодействиях антител с антигенами.

§ 1.3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕН — АНТИТЕЛО

Иммунологическая защита организма позвоночного животного от чужеродных белков и других биополимеров, именуемых в этом случае *антигенами*, в конечном счете сводится к взаимодействию специфических белков — *антител* — с антигенами. Иммунный ответ, т. е. появление антител в организме, есть результат узнавания антигенов определенными популяциями клеток. Этот процесс развивается на организменном уровне, в нем участвуют различные клеточные узнающие системы, являющиеся обучающимися в том смысле, что они приобретают память об