

Можно сказать, что белки являются обязательными участниками запасаения, передачи, трансформации и рецепции химических сигналов — макромолекул, молекул и ионов — в живых системах. Во многих случаях сигналами, их рецепторами и преобразователями служат сами белки. Белки, входящие в состав рецепторных систем организма, перекодируют внешние сигналы на химический и электрохимический язык.

Молекулы белков — самые сложные из известных науке. Их биологически функциональная пространственная структура, а также структура надмолекулярных систем, содержащих белки (мембраны и др.), определяются как химическими связями в белковых цепях, так и целой гаммой слабых взаимодействий. Нативные белки никогда не являются статистическими клубками. Белковые глобулы — аperiodические кристаллы сложной структуры. Это не статистические, но динамические системы, своего рода машины, поведение которых зависит от положения и свойств всех их элементов. Наряду с глобулярными существуют фибриллярные белки — сократительные и опорные.

*Денатурация* белка, т. е. утрата им биологической функциональности при нагревании, воздействии кислот, оснований и других веществ, состоит в разрушении слабых взаимодействий и в конечном счете в превращении конденсированного тела (глобулы или фибриллы) в статистический клубок.

Определим основные задачи физики белка.

1. Теоретическое и экспериментальное исследование структуры белковых молекул и содержащих такие молекулы надмолекулярных систем.
2. Исследование динамического поведения белковых молекул и белковых кристаллов. Изучение денатурации белков.
3. Установление связи между первичной и высшими структурами белков в их нативном состоянии.
4. Изучение физических аспектов возникновения и изменений белков в ходе биологической эволюции.
5. Изучение взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами как факторов, определяющих регуляцию генов.
6. Изучение физических механизмов, лежащих в основе различных биологических функций белков, прежде всего ферментативной активности.
7. Изучение физических аспектов *белковой инженерии* — методов получения белков с заданными свойствами.

Решение этих задач будет означать раскрытие сущности биологических явлений на молекулярной основе.

#### § 4.2. Конформации полипептидной цепи

Для понимания структуры белка необходимо рассмотреть возможные конформации полипептидной цепи. Они определяются, прежде всего, плоским строением пептидной связи —CO—NH— (с. 32). Структурные параметры пептидных единиц, установлен-

ные в результате рентгенографического исследования пептидов и родственных им соединений, приведены в табл. 4.1.

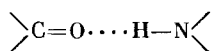
Смысл обозначений  $C^\alpha$  и  $C^\beta$  ясен из рис. 4.1; X и Y — атомы, с которыми связан  $C^\alpha$  как в основной цепи, так и в привеске R. Полностью вытянутая цепь (без деформации валентных углов

Т а б л и ц а 4.1. Структурные параметры пептидных единиц: длины связей и углы между ними

Связи	Длины, нм	Углы, град	Связи	Длины, нм	Углы, град
$C^\alpha-C$	0,153	$C^\alpha CN$ 114	N—H	0,100	CNH 123
C—N	0,132	OCN 125	$C^\alpha-C^\beta$	0,154	HNC $^\alpha$ 114
N— $C^\alpha$	0,147	$C^\alpha CO$ 121	$C^\alpha-H$	0,107	XC $^\alpha$ Y 109,5
C=O	0,124	CNC $^\alpha$ 123			

и изменений длин связей) имеет *транс*-конформацию с нулевыми значениями углов поворота  $\phi$ ,  $\psi$  и  $\omega$  (рис. 4.1).

Однако такая конформация не является наиболее стабильной. Атомы Н иминных групп N—H образуют *водородные связи* с атомами O карбонильных групп:



(см. § 4.3).

Нахождение наиболее устойчивой конформации полипептидной цепи требует минимизации ее полной энергии, включая энергию внутримолекулярных водородных связей.

Полинг и Кори определили наиболее устойчивые конформации полипептидной цепи, основываясь на данных рентгеноструктурных исследований и на рассмотрении плотной упаковки цепей с максимальным числом водородных связей. Таких конформаций три. Это, во-первых,  *$\alpha$ -спираль*, показанная на рис. 4.2. Она характеризуется поворотом вокруг оси на  $100^\circ$  и перемещением вдоль оси на 0,15 нм на каждое пептидное звено. Соответственно на один полный виток спирали приходится 3,6 пептидной единицы и смещение вдоль оси на 0,54 нм. Водородные связи образованы между C=O-группой данной единицы и N—H-группой четвертой предшествующей единицы. Такие связи реализуются между всеми аминокислотными остатками, за исключением пролина (Про), не содержащего N—H-группы.  $\alpha$ -Спираль может быть правой и левой. В первом случае  $\phi = 132^\circ$ ,  $\psi = 123^\circ$ , во втором —  $\phi = 228^\circ$ ,  $\psi = 237^\circ$  (углы отсчитываются от плоской *транс*-конформации цепи). Конформация  $\alpha$ -спирали определяется, в частности, плоским расположением атомов —CO—NH—.

Вторая и третья конформации с максимальным насыщением водородных связей — *параллельная* и *антипараллельная  $\beta$ -формы* — показаны на рис. 4.3 и 4.4. Это конформации уже не от-

дельной цепи, но совокупности цепей, образующих слоистую структуру. Цепи в  $\beta$ -формах не имеют плоского, *транс*-строения (рис. 4.5). В параллельной  $\beta$ -форме  $\phi = 61^\circ$ ,  $\psi = 239^\circ$ , в антипараллельной  $\phi = 380^\circ$ ,  $\psi = 325^\circ$ .

Очень важна возможность образования  $\beta$ -формы и в отдельной полипептидной цепи в результате ее систематических изгибов. Схематическое изображение такой *кросс- $\beta$ -формы* показано на рис. 4.6. В местах изгибов углы поворотов имеют значения, отличные от свойственных упорядоченным участкам.

Таким образом, водородные связи стабилизируют выделенные конформации полипептидной (белковой) цепи в растворе. Выделенную конформацию принято называть *вторичной структурой* цепи. Наличие вторичной структуры, имеющей периодичность, означает сходство цепи с кристаллом:  $\alpha$ -спираль подобна одномерному, а  $\beta$ -форма — двумерному кристаллу.

$\alpha$ - и  $\beta$ -формы не единственные. В частности, фибриллярные белки (§ 4.9) обладают другими конформациями. Рассмотрим теперь зависимости энергий полипептидной цепи от углов внутреннего вращения  $\phi$  и  $\psi$  — так на-

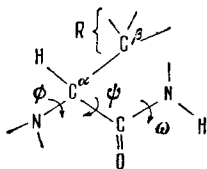


Рис. 4.1. Фрагмент белковой цепи

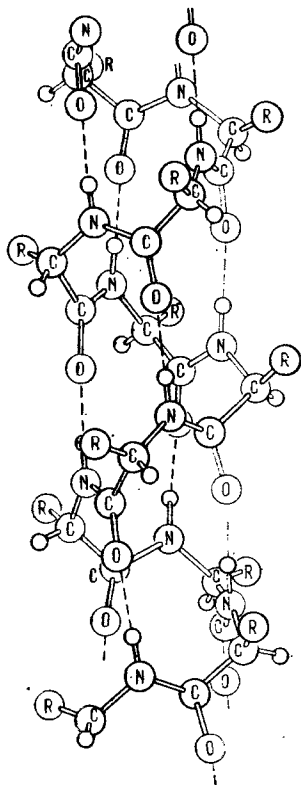


Рис. 4.2. Схема  $\alpha$ -спирали

зываемые стерические карты, подобные геодезическим.

Конформационная энергия цепи определяется слабыми взаимодействиями валентно несвязанных атомов. Вследствие плоского строения пептидной группы углы поворота  $\phi_i$ ,  $\psi_i$   $i$ -го звена практически не зависят от углов  $\phi_{i+1}$ ,  $\psi_{i+1}$  соседнего звена. Если углы  $\phi_i$ ,  $\psi_i$  варьируют в области значений, не запрещенных перекрытием атомов пептидных групп, соединенных связями  $i$ -го и  $(i+1)$ -го звеньев, и если одновременно варьируют углы  $\phi_{i+1}$ ,  $\psi_{i+1}$ , то не существует такой комбинации этих четырех углов, при которой возможно стерическое взаимодействие  $i$ -го звена с  $(i+2)$ -м. Тем самым полипептидная цепь имеет ограниченную

кооперативность, ближние взаимодействия в ней ограничены ближайшими соседями. Это позволяет рассматривать порознь конформационные энергии для отдельных аминокислотных остатков. Стерическая карта для данного остатка существенно зависит от

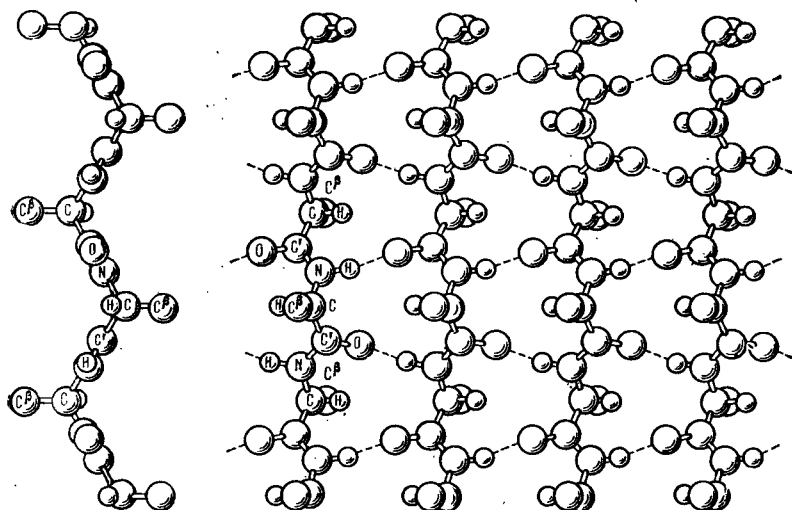


Рис. 4.3. Схема параллельной  $\beta$ -формы. Слева — отдельная цепь

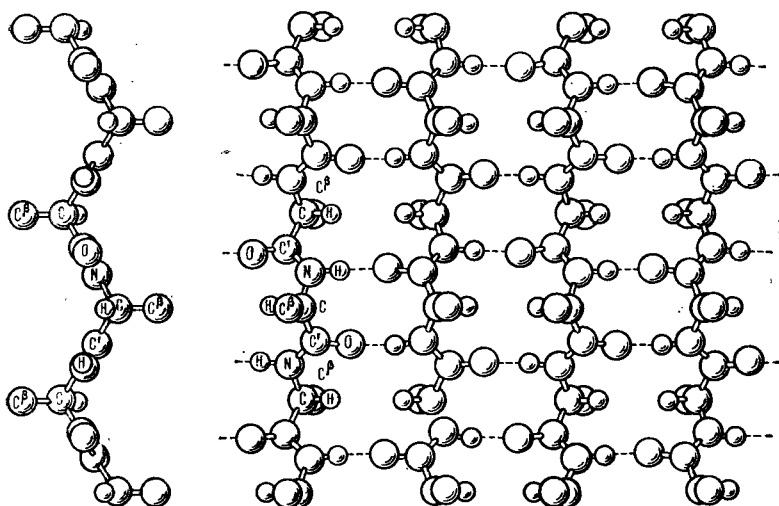


Рис. 4.4. Схема антипараллельной  $\beta$ -формы. Слева — отдельная цепь

природы его радикала R. Можно считать, что взаимодействия в данной паре пептидных групп характеризуют аминокислотный остаток, соединяющий эти группы. Рамачандран исследовал ди-

пептид глицил-*L*-аланин и получил конформационную (стерическую) карту для аланина. Расчет проводился на основе простейшего предположения об атомах как твердых сферах, имеющих ван-дер-ваальсовы радиусы, определяемые из данных по межмолекулярным расстояниям в молекулярных кристаллах. В табл. 4.2

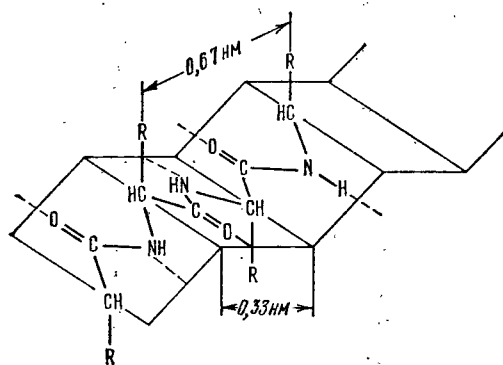


Рис. 4.5. Структура полипептидной цепи в  $\beta$ -форме

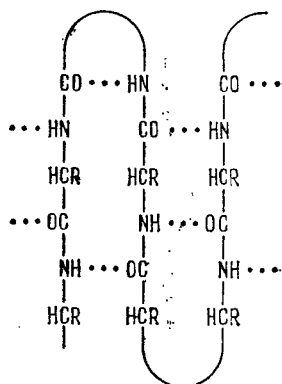


Рис. 4.6. Схема кросс- $\beta$ -формы

приведены эти расстояния, чаще всего наблюдаемые в кристаллах, и минимальные расстояния, наблюдаемые лишь в немногих случаях.

Пользуясь потенциалом твердых сфер, можно, очевидно, получить только разрешенные и запрещенные области значений  $\phi$

Т а б л и ц а 4.2. Контактные расстояния между атомами в полипептидах

Пара атомов	Обычное расстояние, нм	Минимальное расстояние, нм	Пара атомов	Обычное расстояние, нм	Минимальное расстояние, нм
C C	0,32	0,30	O N	0,27	0,26
C O	0,28	0,27	O H	0,24	0,22
C N	0,29	0,28	N N	0,27	0,26
C H	0,24	0,22	N H	0,24	0,22
O O	0,28	0,27	H H	0,20	0,19

и  $\psi$ . На рис. 4.7 показана такая карта для аланина. Сплошными линиями обведены области, разрешенные при обычных межмолекулярных расстояниях, пунктирными — при минимальных расстояниях. На карте указаны значения  $\phi$  и  $\psi$  для правой и левой  $\alpha$ -спиралей ( $\alpha_D$  и  $\alpha_L$ ), параллельной и антипараллельной  $\beta$ -форм ( $\beta_{\parallel}$  и  $\beta_{\text{ан}}$ ) и для фибриллярного белка — коллагена (К). Аналогичные карты были получены для других остатков. Естественно, что с увеличением размера радикала R область разрешенных значений  $\phi$  и  $\psi$  уменьшается.

Более строгие расчеты проводились с помощью потенциала (ср. с. 63)

$$U(\phi, \psi) = \frac{1}{2}U_{\phi}^0(1 - \cos 3\phi) + \frac{1}{2}U_{\psi}^0(1 - \cos 3\psi) + \sum_{i,j} U(r_{ij}) + U_K. \quad (4.1)$$

Потенциал  $U(r_{ij})$  можно взять в форме «6—12» Леннарда-Джонса или «6—exp» (с. 64);  $U_K$  характеризует кулоновское,

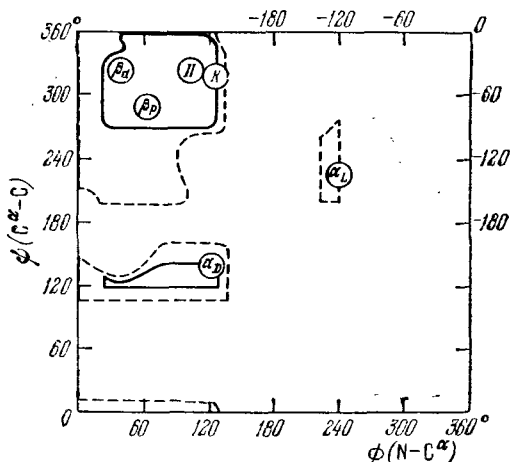


Рис. 4.7. Стерическая карта для *L*-аланина (Рамачандран)

электростатическое взаимодействие между соседними парами пептидных групп, определяемое их большими дипольными моментами, достигающими 3,7 D.

Барьеры  $U_{\phi}^0$  и  $U_{\psi}^0$  находят из данных, полученных при исследовании модельных малых молекул. По-видимому,  $2,1 < U_{\phi}^0 < 5,5$  кДж/моль (2,1 — барьер для  $\text{H}_3\text{C}-\text{CO}-\text{OH}$ ; 5,5 — для  $\text{H}_3\text{C}-\text{CO}-\text{Cl}$ );  $U_{\psi}^0 < 6,3$  кДж/моль. Эти барьеры малы, заметно меньше, чем для углеводов.

Константы для потенциала «6—12» представлены в табл. 3.2 (с. 64). Расчет  $U_K$  затруднен тем, что неизвестно значение диэлектрической проницаемости  $\epsilon$ , фигурирующей в законе Кулона:

$$U_K = \sum_{i,j} \frac{e_i e_j}{\epsilon r_{ij}}, \quad (4.2)$$

где  $e_i, e_j$  — заряды на атомах  $i$  и  $j$ . Если между взаимодействующими атомами нет других атомов или молекул растворителя (воды), то  $\epsilon \approx 3$ . Это значение соответствует углеводородному, органическому окружению.

Для атомов O и N, соединенных водородной связью, можно воспользоваться функцией  $U_{\text{в.с.}} = U_{\psi} + U_K$ , определяемой из зна-

чений энергии водородной связи, и равновесными расстояниями  $O \cdots H - N$ .

Выражение (4.1) не учитывает искажений длин связей и валентных углов, которые, по-видимому, малы. Оно характеризует изолированную полипептидную цепь. При наличии водного окружения следует учитывать изменение свободной энергии молекул

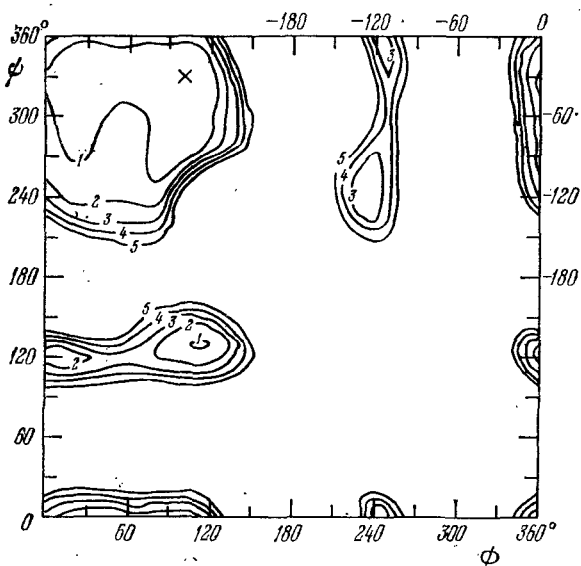


Рис. 4.8. Стерическая карта для *L*-аланина (Флори)

$H_2O$ , удаляемых из сольватной оболочки при контакте между атомами. Строго говоря, нужно минимизировать сумму внутримолекулярной потенциальной энергии и свободной энергии растворителя.

На рис. 4.8 показана стерическая карта для аланина. Цифры у кривых указывают значение (в ккал/моль) энергии  $U$  (4.1). Проведены геодезические линии, отвечающие энергиям от 4 до 20 кДж/моль. Крестиком отмечен минимум энергии. Поучительно сравнить карты рис. 4.8 и 4.7.

### § 4.3. Водородная связь и структура воды

Итак, вторичные структуры белковых цепей стабилизированы водородными связями, играющими также большую роль в конформационном строении нуклеиновых кислот и углеводов.

Биополимеры функционируют в водном окружении. Особые свойства воды, благодаря которым она является незаменимой компонентой клеток и организмов, также определяются водородными связями. Остановимся на природе и свойствах водородной связи (см. с. 58).