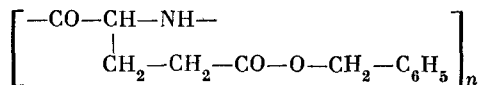


ется от 0,282 до 0,294 нм. Координационное число в этом интервале равно в среднем 4,4 (укажем, что в жидком Ne это число равно 8,6, в Ag — 10,5). Таким образом, вода квазикристаллична, каждая молекула имеет в среднем четыре соседа. Предложен ряд теоретических моделей структуры воды, согласующихся с этими данными, но однозначный выбор структуры пока затруднителен. Однако можно считать установленной интерпретацию важнейших физических свойств воды и, прежде всего, зависимость удельного объема от температуры. Минимум удельного объема при 4°C объясняется конкуренцией двух процессов. Первый — разрушение упорядоченной льдоподобной структуры с малым координационным числом (4), сопровождающееся уменьшением объема. Это — продолжение плавления. В одной модели уменьшение объема связано с заполнением полостей рыхлой решетки мономерными молекулами H₂O, в другой — изгибание водородных связей приводит к сближению соседних молекул, т. е. к уменьшению объема. Второй процесс, преобладающий при T > 4°C, — термическое расширение жидкости вследствие возрастания амплитуд ангармонических межмолекулярных колебаний.

§ 4.4. Переходы спираль — клубок

Конформации полипептидных цепей, стабилизированные водородными связями, устойчивы лишь в определенных условиях. Изменения температуры, растворителя, pH среды приводят к переходам порядок — беспорядок, к превращению регулярной конформации цепи в статистический клубок. Эти процессы удобно изучать на модельных гомополимерах — синтетических полиаминокислотах.

Многие полиаминокислоты, в частности полиглутаминовая кислота (ПГК) и ее производное полн-γ-бензилглутамат (ПБГ)



фигурируют в растворах в форме α-спиралей, что доказывается их гидродинамическими и оптическими свойствами. Доти установил, что переходы спираль — клубок весьма резки, сходны с фазовыми переходами — происходит своего рода плавление α-спиралей, одномерных кристаллоидов. На рис. 4.12 показана зависимость степени ионизации, характеристической вязкости [η] и удельного оптического вращения φ_{уд} ПГК от pH среды. Вблизи pH 6 происходит резкое падение [η] и φ_{уд} и возрастание степени ионизации. При pH 6 ПГК — спираль, при pH 6 — клубок. В отличие от ПГК, ПБГ растворяется в органических растворителях. В дихлорэтане, хлороформе, формамиде ПБГ образует жесткие стержни — α-спирали. Напротив, в растворителях, молекулы которых образуют с ПБГ водородные связи, — в трихлоруксусной кислоте и др. — ПБГ находится в форме клубков. При постепенном изме-

нении состава растворителя, например, бинарной смеси CHCl_3 и CH_2ClCOOH , в некоторой узкой области (при 80% CHCl_3), спираль превращается в клубок.

Резкость перехода, S-образность соответствующих кривых (например, кривая $\Phi_{уд}$ на рис. 4.12) свидетельствуют о кооперативном характере превращения. Причина кооперативности очевид-

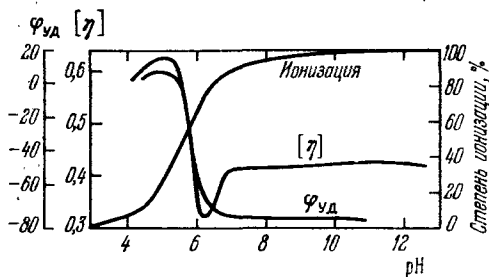


Рис. 4.12. Графики зависимости степени ионизации, $[\eta]$ и $\Phi_{уд}$ от pH среды в области перехода спираль — клубок в ПГК

на из рассмотрения строения α -спирали. Конформации пептидных звеньев цепи взаимозависимы, так как водородная связь между группой $\text{C}=\text{O}$ i -й единицы и группой $\text{N}-\text{H}$ $(i-4)$ -й единицы фиксирует конформации $(i-1)$ -й, $(i-2)$ -й и $(i-3)$ -й единиц. Для освобождения пептидной единицы, дающего выигрыш энтропии, необходимо разорвать не менее трех водородных связей рядом, что требует затраты энергии. Для того чтобы свободная энергия G уменьшалась, необходимо освобождение многих единиц, т. е. кооперативность.

Термодинамическое условие плавления кристалла состоит в равенстве свободных энергий кристалла и расплава — в нашем случае α -спирали и клубка. Имеем

$$G_{\alpha} = H_{\alpha} - T_{пл}S_{\alpha} = H_{кл} - T_{пл}S_{кл} = G_{кл} \quad (4.6)$$

или

$$\Delta G = G_{кл} - G_{\alpha} = \Delta H - T_{пл}\Delta S = 0. \quad (4.7)$$

Изменение энтальпии компенсируется изменением энтропии. Из (4.7) следует

$$T_{пл} = \Delta H / \Delta S. \quad (4.7a)$$

Статистическая теория (излагаемая далее) показывает, что доля спирализованных звеньев такой кооперативной системы выражается формулой

$$\theta = \frac{s^n}{1 + s^n}, \quad (4.8)$$

где $1 < n < N$ (N — число звеньев α -спирали);

$$s = \exp(-\Delta G/RT) \quad (4.9)$$

имеет смысл константы равновесия для образования водородной связи в звене, следующем за уже связанным звеном. Формула (4.8) описывает кооперативное плавление α -спирали, если $n \gg 1$.

В этом случае при $s = 1$ происходит резкий переход: $\theta \approx 0$ при $s < 1$, $\theta = 0,5$ при $s = 1$ (т. е. при $\Delta G = 0$) и $\theta = 1$ при $s > 1$. Таким образом, формула (4.8) согласуется с термодинамическим условием плавления (4.7), т. е. с плавлением при определенной температуре.

При каких же условиях $n \gg 1$? Кооперативность велика, если велика свободная энергия, необходимая для возникновения одного разрыва в последовательности водородных связей, т. е. если мала константа равновесия σ для такого процесса:

$$\sigma = \exp(-G_{\text{разр}}/RT). \quad (4.10)$$

Расчет показывает, что

$$n \approx 1/\sqrt{\sigma}. \quad (4.11)$$

Переход тем более резок, чем меньше параметр кооперативности σ . Кооперативность максимальна, если $G_{\text{разр}} \rightarrow \infty$ и $\sigma \rightarrow 0$. При этом $n \rightarrow N$. Напротив, кооперативность полностью отсутствует, если $G_{\text{разр}} \rightarrow 0$ и $\sigma \rightarrow 1$. В этом случае $n \rightarrow 1$ и вместо формулы (4.8) получаем

$$\theta = s/(1 + s); \quad (4.12)$$

θ изменяется плавно, без перегиба — плавления нет. На рис. 4.13 показаны теоретические кривые $\theta(s)$ при разных значениях σ .

Дадим статистико-механический вывод этих соотношений, основанный на модели Изинга и матричном методе (с. 73). Каждое звено полипептидной цепи может находиться в несвязанном состоянии (символ $\mu_i = 0$) и в состоянии, связанном водородными связями ($\mu_i = 1$). Свободная энергия цепи зависит от набора значений μ_i , причем взаимозависимы конформации четырех последовательных звеньев. Поэтому свободная энергия цепи равна

$$G\{\mu_i\} \equiv G(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N \tilde{G}(\mu_{i-3}, \mu_{i-2}, \mu_{i-1}, \mu_i). \quad (4.13)$$

Как и ранее (с. 74), считаем цепь весьма длинной, $N \gg 1$, и пренебрегаем концевыми эффектами. Очевидно, что свободная энергия, требуемая для освобождения одного или двух звеньев, заключенных между связанными звеньями, должна быть очень большой, так как на самом деле освобождения в этом случае нет, звенья остаются в спирали. Энтальпия затрачивается без выигрыша в энтропии. Можно положить, что

$$\tilde{G}(\mu_{i-3}, 1, 0, 1) \rightarrow \infty, \quad \tilde{G}(1, 0, 0, 1) \rightarrow \infty. \quad (4.14)$$

Эти состояния практически не участвуют в статистической сумме, равной

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \exp(-G\{\mu_i\}/RT). \quad (4.15)$$

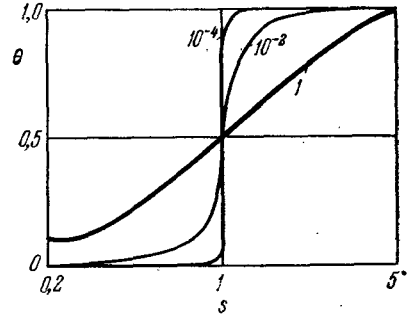


Рис. 4.13. Теоретические кривые $\theta(s)$ при разных значениях σ

Отвлекаясь от этих состояний, можем ограничиться рассмотрением лишь двух соседних звеньев и упростить выражение (4.13):

$$G\{\mu_i\} = G(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_N) = \sum_{i=1}^N \tilde{G}(\mu_{i-1}, \mu_i). \quad (4.16)$$

Мы имеем дело лишь с четырьмя значениями G : $G(0, 0)$, $G(0, 1)$, $G(1, 0)$, $G(1, 1)$. Считаем, что свободная энергия звена в свободном состоянии ($\mu_i = 0$) равна нулю — звено расплавилось. Имеем

$$G_{\text{своб}} = G(0, 0) = G(1, 0) = 0. \quad (4.17)$$

Для звена в связанном состоянии ($\mu_i = 1$)

$$G_{\text{связ}} = \tilde{G}(1, 1) = \Delta G. \quad (4.18)$$

И, наконец, для состояния $\mu_{i-1} = 0$, $\mu_i = 1$

$$G(0, 1) = G_{\text{связ}} + G_{\text{разр}}. \quad (4.19)$$

Если принять, что при вращении свободного звена вокруг каждой связи возможны три поворотных изомера, то

$$G_{\text{разр}} = 4RT \ln 3 \approx 10,5 \text{ кДж/моль}. \quad (4.20)$$

Эти величины входят в Z в виде экспонент: $G_{\text{своб}}$ дает множитель 1, $G_{\text{связ}}$ — множитель s (формула (4.9)) и $G_{\text{разр}}$ — множитель σ (формула (4.10)). Имеем (ср. с. 74)

$$Z = \sum_{\{\mu_i\}} \prod_{i=1}^N s^{\mu_i} \sigma^{\mu_i(1-\mu_{i-1})} = \text{Sp}(\mathbf{P}^N) = \lambda_1^N + \lambda_2^N. \quad (4.21)$$

Матрица \mathbf{P} имеет вид

$$\mathbf{P} = \begin{array}{c|cc} & \mu_{i-1} & \mu_i \\ \hline \mu_{i-1} & 0 & 1 \\ \hline & 1 & \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \end{array}. \quad (4.22)$$

Ее характеристическое уравнение

$$(1 - \lambda)(s - \lambda) = \sigma s. \quad (4.23)$$

Собственные числа матрицы

$$\lambda_{1,2} = 1/2(1 + s) \pm [1/4(1 + s)^2 + s\sigma]^{1/2}. \quad (4.24)$$

При максимальной кооперативности $\sigma = 0$ и $\lambda_1 = 1$, $\lambda_2 = s$. Имеем

$$Z = 1 + s^N \quad (4.25)$$

и

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} = \frac{s^N}{1 + s^N}. \quad (4.26)$$

Если кооперативность отсутствует, то $G_{\text{разр}} = 0$ и $\sigma = 1$. При этом $\lambda_1 = 1 + s$, $\lambda_2 = 0$ и получаем формулу (4.12). В промежуточных случаях, когда $0 < \sigma < 1$, получаем формулу (4.8). Обозначим $s^n = \bar{s}$. Эта величина имеет смысл константы равновесия для мономолекулярной реакции, в которой участвует n звеньев, т. е. эффективное изменение энтальпии

$$\Delta H_{\text{эф}} = n \Delta h, \quad (4.27)$$

где Δh — изменение энтальпии при освобождении одного звена. При $N \gg 1$ можно ограничиться в (4.21) бóльшим корнем (4.24)

$$Z \approx \lambda_1^N. \quad (4.28)$$

Имеем

$$\theta = \frac{1}{N} \frac{\partial \ln Z}{\partial \ln s} \approx \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln s} = \frac{\lambda_1 - 1}{2\lambda_1 - 1 - s}, \quad (4.29)$$

Приравняв это выражение выражению (4.8), причем

$$s^n = \tilde{s} = \exp\left(-\frac{\Delta H_{\text{эф}} - T\Delta S_{\text{эф}}}{RT}\right), \quad (4.30)$$

находим

$$\tilde{s} = (\lambda_1 - 1)/(\lambda_1 - s) \quad (4.31)$$

и

$$\Delta H_{\text{эф}} = -\frac{d \ln \tilde{s}}{d(1/RT)} = -\frac{d \ln s}{d(1/RT)} \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \Delta h \frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s}. \quad (4.32)$$

Расчет дает

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} = \frac{s}{(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s)} \frac{2(\lambda_1 - 1)(\lambda_1 - s) + \sigma(1 - s)}{2\lambda_1 - 1 - s} \quad (4.33)$$

и в области перехода, в которой $s \approx 1$,

$$\frac{d \ln \tilde{s}}{d \ln s} \approx \frac{2s}{2\lambda_1 - 1 - s} \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}}. \quad (4.34)$$

Следовательно,

$$\Delta H_{\text{эф}} \approx \frac{\Delta h}{\sqrt{\sigma}}, \quad (4.35)$$

т. е.

$$n \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}}. \quad (4.36)$$

Величину $\Delta H_{\text{эф}}$ можно найти по наклону кривой зависимости θ от $1/RT$ в области перехода, где $\tilde{s} \approx 1$:

$$\frac{d\theta}{d(1/RT)} = -\frac{d\theta}{d \ln \tilde{s}} \Delta H_{\text{эф}} = -\frac{\tilde{s}}{(1 + \tilde{s})^2} \Delta H_{\text{эф}} \approx -1/4 \Delta H_{\text{эф}}. \quad (4.37)$$

Оптические методы позволяют определить $\theta(T)$ и, тем самым, $\Delta h/\sqrt{\sigma}$. Для нахождения величин Δh и σ порознь можно воспользоваться зависимостью $T_{\text{пл}}$ от степени полимеризации N (Зимм и Брэгг).

Опыт дает для ПБГ $\sigma = 2 \cdot 10^{-4}$ и изменение энтальпии при освобождении одного звена Δh около 4 кДж/моль. Те же значения σ свойственны ПГК и поли-L-лизину. Однако Δh в этих двух случаях отрицательно и мало — около $-0,29$ кДж/моль. Если $\Delta h > 0$, спиральное состояние менее выгодно, чем клубкообразное, и переход спираль — клубок происходит не при повышении, а при понижении температуры.

Теория переходов, вызванных изменением растворителя или pH среды, строится на тех же основах. В первом случае необходимо учесть, что каждое звено может находиться уже не в двух, а в трех состояниях: в свободном, в связанном внутримолекулярной водородной связью и в связанном водородной связью с молекулой растворителя. Зависимость перехода от pH определяется полиэлектролитной природой таких полипептидов, как ПГК. Каждое звено может находиться в одном из четырех состояний, так как оно может быть свободным и связанным, заряженным и незаряженным. Для полиамфолитов форма кривой $\theta(\text{pH})$ зависит от последовательности ка-

тионных и анионных звеньев. Теоретические расчеты переходов согласуются с опытом.

Переходы β -форма — клубок имеют несколько иной характер, так как β -форма двумерна. Теория этих переходов была развита Бирштейн.

Являются ли эти кооперативные переходы фазовыми? Вопрос этот не тривиален. Согласно *теореме Ландау и Лифшица*, фазовый переход в одномерной системе невозможен, так как в ней не существуют фазовые равновесия. Две фазы перемешиваются, пока не разделится на малые конечные отрезки. Между тем α -спираль одномерна.

Фазовые переходы и фазы строго определены в статистической физике лишь для систем с $N \rightarrow \infty$. Самые длинные α -спирали содержат лишь десятки и сотни звеньев. Плавление α -спирали происходит в заметном интервале температур ΔT , определяемом лишь параметром кооперативности σ . В отличие от истинного фазового перехода, ΔT не стремится к нулю при $N \rightarrow \infty$. Тем самым плавление α -спирали есть *нефазовый кооперативный конформационный переход*. Сказанное справедливо и для двумерных β -систем.

§ 4.5. Белковая глобула и гидрофобные взаимодействия

В отличие от монотонной полиаминокислоты, белок содержит разнообразные остатки, в том числе и Про, которые не могут образовать водородных связей. Вторичные структуры — α -спирали и β -формы — представлены в белке лишь частично, они перемежаются неупорядоченными участками, в которых белковая цепь обладает значительной гибкостью. В результате белковая макромолекула сворачивается в глобулу, приобретая определенную пространственную, третичную, структуру. Именно эта структура биологически функциональна. (О фибриллярных белках мы будем говорить в § 4.9.)

В ряде случаев белок обладает *четвертичной структурой* — молекула белка или надмолекулярная белковая система состоит из некоторого числа глобул. Примеры: молекула гемоглобина содержит 4 глобулы двух сортов, белковая оболочка вируса табачной мозаики состоит из 2000 идентичных глобул. Белок — многоуровневая система.

Характер структуры на каждом уровне организации определяется геометрическими свойствами структур предыдущего уровня, силами взаимодействия их элементов и взаимодействием с окружающей средой. Возникновение «высшей» структуры происходит как бы автоматически в результате *самосборки* системы.

Решение проблем самосборки означало бы, например, возможность предсказания макроскопической структуры мышцы по данным о химическом строении ее белков. Объяснение строения молекулярных кристаллов на основе знания строения образующих эти кристаллы молекул решает проблемы самосборки в гораздо более простом случае.