

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.

Мы уже говорили об отличии полимерной глобулы от статистического клубка (с. 78). В белке вследствие полифункциональности аминокислотных остатков в образовании глобулы участвуют разнообразные силы. Разнородность звеньев и взаимодействий определяет строение глобулы — «апериодичность кристалла».

Единственные сильные взаимодействия в белковой глобуле — это химические дисульфидные связи Цис—S—S—Цис. Наличие нескольких дисульфидных «сшивок» между звеньями одной или нескольких цепей (например, инсулин) накладывает ограничения на возможные конформации. Однако нельзя было бы говорить о глобуле, если бы взаимодействия сводились к серным мостикам. В этом случае белковая цепь походила бы на цепь каучука в резине, вулканизированной серой. Каучук в резине сохраняет свойства статистического клубка. Глобула формируется слабыми силами — электростатическими, ван-дер-ваальсовыми, водородными связями и, прежде всего, *гидрофобными взаимодействиями*.

Глобулярные белки функционируют в водном окружении, в большой степени определяющем высшие уровни их структуры. Влияние воды обязательно должно учитываться в физике белка.

Вода влияет на водородные связи. Однако выигрыш свободной энергии при образовании внутримолекулярных водородных связей по сравнению с такими связями с молекулами H₂O незначителен. Роль воды в стабилизации глобулы иная.

Гидрофобный эффект есть единственная организующая сила, основанная на отталкивании растворителя, а не на взаимном притяжении элементов системы. Вода отталкивает неполярные молекулы, в частности, углеводороды — керосин или масло не смешиваются с водой.

В равновесном растворе или смеси химические потенциалы компонент равны. Для любых двух окружений *a* и *b* молекул данного вещества

$$\mu_{(a)} = \mu_{(b)} \quad (4.38)$$

или

$$\mu_{(a)}^0 + RT \ln x_{(a)} = \mu_{(b)}^0 + RT \ln x_{(b)}, \quad (4.39)$$

где $x_{(a)}$ и $x_{(b)}$ — молярные доли вещества в средах *a* и *b*, находящегося в равновесии, $RT \ln x$ характеризует энтропию смешения, μ^0 — унитарный химический потенциал, включающий свободную энергию всех молекулярных движений изолированного вещества и энергию специфических взаимодействий с окружающими молекулами. Представим себе систему, состоящую из неполярной жидкости, скажем, CCl₄, и воды. Так как CCl₄ не смешивается с водой, система расслаивается. Вводим в систему неполярное вещество, например, углеводород. Оно растворяется преимущественно в неполярном растворителе. В равновесии из (4.39) следует для углеводорода

$$\mu_{\text{CCl}_4}^0 - \mu_{\text{H}_2\text{O}}^0 = RT \ln \frac{x_{\text{H}_2\text{O}}}{x_{\text{CCl}_4}} < 0, \quad (4.40)$$

так как $x_{\text{CO}_2} \gg x_{\text{H}_2\text{O}}$. Действительно, для углеводородов разности унитарных химических потенциалов (4.40) отрицательны и составляют примерно 3570 Дж/моль C_2H_5 -групп и 8400 Дж/моль C_3H_7 -групп. Гидрофобный эффект определяется свойствами воды — гидрофобные вещества безразличны к неполярным органическим растворителям.

Молекулы, содержащие как полярные, так и неполярные группы, располагаются таким образом, что первые группы контактируют с водой, а вторые удаляются из водного окружения. Ленгмюр показал, что так построены мономолекулярные слои жирных кислот на поверхности воды — полярные карбоксильные группы молекул погружены в воду, а неполярные углеводородные радикалы обращены наружу. Та же ситуация определяет структуру мицелл в водных коллоидных растворах мыл: гидрофобные группы располагаются внутри мицеллы, гидрофильные — на ее поверхности.

Физическая природа гидрофобных взаимодействий своеобразна. Плохая растворимость углеводородов в воде связана не с повышением энтальпии системы, а с уменьшением ее энтропии. Соответственно растворимость углеводорода в воде уменьшается, а не растет при нагревании. Энтальпия понижается также, но в общем баланс свободной энергии этот эффект перекрывается энтропийным. Так, при растворении бутана C_4H_{10} в воде при 298 К энтропия понижается на 96,6 Дж/(моль · К), а энтальпия — на 4200 Дж/моль. В результате свободная энергия возрастает на

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S = -4200 + 298 \cdot 97 \approx 33000 \text{ Дж/моль. (4.41)}$$

Растворение углеводорода в воде можно трактовать как внедрение неполярных молекул в структурированные (льдоподобные) области воды и в более плотные неструктурированные области. В первом случае неполярные молекулы размещаются в пустотах рыхлой структуры, образуя *клатраты*, причем дополнительные контакты молекул с водой приводят к уменьшению энергии. Во втором случае увеличение числа контактов углеводород — вода приводит к уменьшению числа контактов вода — вода, которым отвечает более низкая энергия. В результате энтальпия увеличивается. Углеводороды лучше растворяются в структурированных областях и равновесие сдвигается в сторону увеличения структурированности (образование «айсбергов»), что означает понижение энтропии. Это — качественная картина. В целом «антипатия» углеводородов и воды определяется большим выигрышем свободной энергии при контактах вода — вода, чем при контактах углеводород — вода. Свободные энергии образования контактов двух жидкостей равны: октана с водой и октана с октаном 0,042 Дж/м², воды с водой 0,144 Дж/м².

Среди аминокислотных остатков белка имеются как полярные, так и неполярные, как гидрофобные, так и гидрофильные. Поскольку белковая цепь обладает некоторой гибкостью (благо-

даря наличию неупорядоченных участков), она может свернуться в глобулу так, чтобы гидрофобные остатки преимущественно контактировали друг с другом, а не с водой. Иными словами, центральная область глобулы, ее сердцевина должна быть гидрофобной («жирной»), а внешняя поверхность — гидрофильной («мыльной»).

Действительно, глобулярные белки денатурируются, т. е. переходят в неупорядоченное клубкообразное состояние, под действием слабополярных органических растворителей, образующих водородные связи хуже, чем вода. Действие этих растворителей определяется контактами с неполярными аминокислотными остатками белка и, тем самым, нарушением гидрофобных взаимодействий. Денатурирующее действие спиртов на белки возрастает с увеличением размеров алифатического радикала. Сильное денатурирующее действие мочевины также объясняется ослаблением гидрофобных взаимодействий.

Именно потому, что гидрофобные остатки «заталкиваются» внутрь глобулы, вода, окружающая белок, не подвергается добавочно структурированию. Конечно, молекулы H_2O взаимодействуют с полярными остатками на поверхности глобулы, но это взаимодействие имеет характер обычной сольватации.

Фишер дал грубую оценку влияния гидрофобных остатков на форму глобулы. Он разбил все аминокислотные остатки на две группы: полярные и гидрофильные (Арг, Асп, Гис, Глу, Лиз, Сер, Тир, Тре) и гидрофобные (остальные двенадцать). Считая, что все остатки имеют примерно одинаковые объемы и зная процентное содержание обоих типов остатков, можно найти форму глобулы. При заданном объеме наименьшую поверхность имеет сфера. Если число гидрофильных остатков достаточно для того, чтобы покрыть поверхность сферического гидрофобного ядра, то глобула имеет сферическую форму. Если это число больше, то глобула приобретает форму эллипсоида. Наконец, если гидрофильных остатков не хватает и они не могут закрыть ядро глобулы, то остаются незащищенные гидрофобные участки. При этом глобулы должны слипаться, образуя четвертичную структуру. Эти представления находятся в грубом соответствии с опытом.

Однако действительность, конечно, гораздо сложнее. Нельзя заменить 20 типов остатков, с их индивидуальными свойствами, всего лишь двумя типами. Следует говорить о степени гидрофобности остатка и ввести ее количественную меру. В качестве таковой Танфорд предложил изменение свободной энергии, ΔG , происходящее на боковую группу (радикал R) свободной аминокислоты, при переносе ее из этанола в воду. В табл. 4.5 приведены относительные значения ΔG , экспериментально определенные Танфордом, причем ΔG для Гли принято за нуль, так как Гли не содержит бокового привеска.

Первые 10 остатков можно условно считать гидрофобными, вторые — гидрофильными. Эта классификация не совпадает с классификацией по полярности, т. е. по дипольным моментам.

Сильно полярный Арг имеет ту же гидрофобность, что и неполярный Ала, благодаря наличию большого углеводородного остатка.

Степени гидрофобности аминокислотных остатков дают информацию о стабилизации глобулы в водном окружении. Однако необходимо учитывать, что гидрофобные остатки могут фигурировать и на поверхности глобулы, если в цепи они соседствуют с

Т а б л и ц а 4.5. Гидрофобности аминокислотных остатков

Остаток	ΔG , Дж/моль	Остаток	ΔG , Дж/моль	Остаток	ΔG , Дж/моль
1. Три	12 600	8. Лиз	6300	15. Асп	2270
2. Иле	12 500	9. Гис	5900	16. Тре	1850
3. Тир	12 100	10. Мет	5500	17. Сер	170
4. Фен	11 100	11. Ала	3070	18. Гли	0
5. Про	10 900	12. Арг	3070	19. Асн	-40
6. Лей	10 200	13. Цис	2700	20. Глн	-420
7. Вал	7 100	14. Глу	2300		

гидрофильными. Необходимо рассматривать реальную структуру глобулы и весь баланс имеющихся в ней взаимодействий.

Гидрофобные взаимодействия имеют определяющее значение для структуры и свойств биологических мембран и мембранных белков (гл. 10).

§ 4.6. Связь между первичной и пространственной структурами белка

Построение биологических молекулярных и надмолекулярных структур всегда происходит в два этапа: *биосинтез* соответствующих больших и малых молекул и *самосборка* структуры. И биосинтез, и самосборка основаны на *молекулярном узнавании*, осуществляемом благодаря слабым взаимодействиям.

Применительно к белкам проблема самосборки является cardinalной. Генетически кодируется биосинтез (гл. 8), т. е. формирование первичной структуры белка. Однако биологически функциональна нативная пространственная структура белковой молекулы, возникающая в результате самосборки. Естественный отбор белков идет по пространственным — третичным и четвертичным — структурам. Молекулярная биология, молекулярная генетика не имели бы смысла, если бы между генетически предопределенной первичной структурой белка и его пространственным строением не было однозначного или вырожденного соответствия (см. § 7.1).

Наличие такого соответствия следует непосредственно из опытов по *ренатурации* белков (Анфинсен). В ряде случаев удалось наблюдать восстановление нативной структуры и функциональ-