

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	$\Delta G$ , Дж/моль	Остаток	$\Delta G$ , Дж/моль	Остаток	$\Delta G$ , 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 кардинальной. 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-

ности денатурированного белка. При медленном «отжиге» белкового клубка происходит самосборка организованной глобулы.

Белковая цепь может иметь громадное число конформаций. Нахождение уникальной конформации, отвечающей абсолютному минимуму свободной энергии, путем перебора всех возможных конформаций невозможно. Эта задача, по-видимому, обходится и природой, так как такой перебор потребовал бы очень большого времени, а самосборка белковой глобулы происходит за время порядка 1 с. Основная идея современных работ, посвященных предсказанию структуры глобулы, исходя из знания первичной структуры цепи, состоит в том, что нативная глобула есть конечный результат самосборки, не обязательно отвечающий абсолютному минимуму свободной энергии. При нахождении нативной глобулы надо исходить из определенной иерархии структур. Белок может быть разделен на спиральные или вытянутые структурные сегменты, соединенные разнообразными изгибами или петлями. Два или три соседних по цепи структурных сегмента образуют элементарные комплексы: «шпильки» из антипараллельных  $\alpha$ -спиралей, антипараллельные  $\beta$ -шпильки и параллельные  $\beta$ -шпильки, прикрытые  $\alpha$ -спиралью. Далее возникает домен, т. е. компактная структура, построенная из нескольких соседних элементарных комплексов и структурных сегментов. Глобулы малых белков состоят из одного домена, больших — из нескольких. Эта иерархия структур показана схематически на рис. 4.14. Таким образом, предполагается блочный механизм сворачивания белка — более простые структуры нижнего иерархического уровня служат блоками для формирования высших структур (Птицын).

Проблема самосборки есть проблема физической динамики. Вторичная структура может служить блоком в самосборке, если, во-первых, она формируется значительно быстрее, чем третичная, во-вторых, если она существует достаточно долго и, в-третьих, если она достаточно велика и гидрофобна, чтобы включиться в сильное гидрофобное взаимодействие. И  $\alpha$ -спирали, и  $\beta$ -формы удовлетворяют этим требованиям. Для расчета вторичной структуры необходимы параметры равновесия (величины  $s$ , с. 100) между различными возможными структурами для всех остатков. Соответствующий математический аппарат, использующий модель Изинга (с. 101), развит в работах Птицына и Финкельштейна. Гидрофобные остатки стабилизируют  $\alpha$ - и  $\beta$ -формы, короткие гидрофильные, а также Гли и Про — дестабилизируют. Удаётся найти пространственную структуру ряда белков. Расхождение между вычисленным и наблюдаемым распределениями  $\alpha$ - и  $\beta$ -участков не превышает 20% (рис. 4.15). Самосборка глобулы происходит двумя путями: формирование плоской  $\beta$ -структуры с последующим прилипанием к ней  $\alpha$ -спирали и формирование  $\beta$ -шпильки или пары  $\alpha$ -спиралей с последующим изломом. Распределение гидрофобных групп, благоприятствующее формированию  $\alpha$ - или

β-участков, одновременно обеспечивает их способность встраиваться в глобулу.

Рассматривая корреляцию первичной и пространственной структуры белка, мы встречаемся с важной проблемой молекулярной биологии. В сущности речь идет о двух корреляциях —

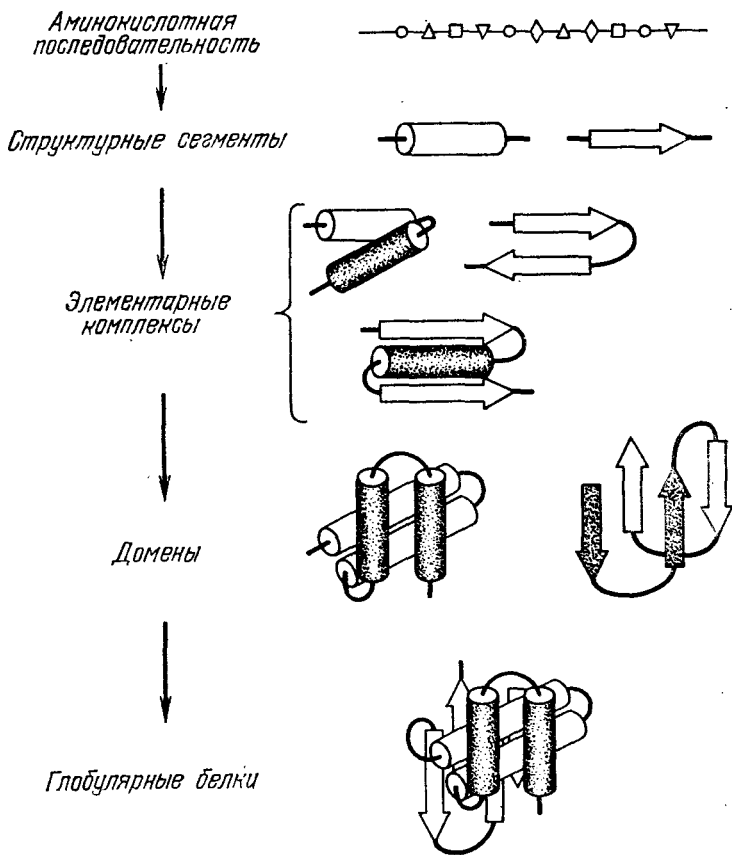


Рис. 4.14. Иерархия структур белка

наряду с указанной имеется соответствие пространственной структуры белка и его биологической функции.

Ряд данных свидетельствует о *вырожденности* обеих корреляций. Белки с разной первичной структурой могут иметь сходное пространственное строение, сходные или различные биологические функции. Это было показано, в частности, для глобинов — белков, содержащих группы гема, запасующих и переносящих молекулярный кислород. Первичные структуры глобинов значительно различаются, но их пространственное строение весьма сходно — глобины, среди которых имеются миоглобины позвоночных

и леггемоглобин клубеньковых бактерий, содержат практически совпадающие  $\alpha$ -спиральные участки и «карманы», в которые погружены группы гема (Леск и Чотиа).

Птицын показал, что белковая глобула может рассматриваться как «отредактированный статистический сополимер». Усреднение

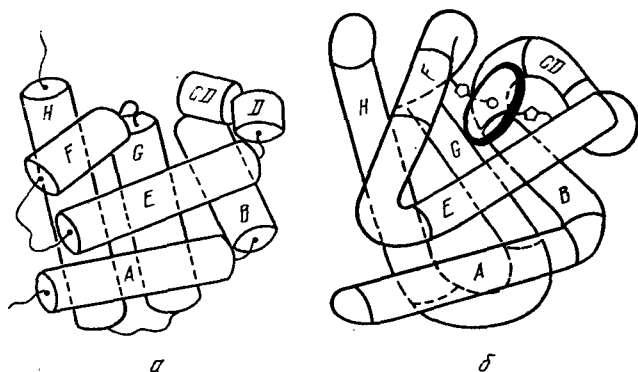


Рис. 4.15. Теоретическая модель миоглобина (а) и его действительное строение (б)

по первичным структурам белков практически не дает статистически достоверных отличий от случайного распределения для

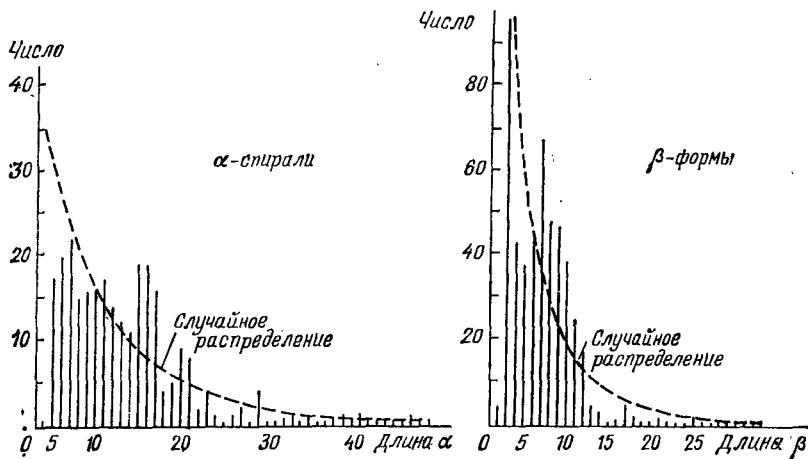


Рис. 4.16. Теоретические кривые (штриховые линии) и гистограммы, представляющие зависимость числа  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -форм от их длины в белках (Птицын)

аминокислотных остатков и их групп вдоль цепи. Это положение справедливо и для вторичной структуры. На рис. 4.16 показаны гистограммы для распределения длин  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур в 62 белках. Прерывистые кривые показывают распределения

длины неполярных кластеров в беспорядочных последовательно-остатках, состоящих из равных чисел полярных и неполярных остатков, с непрерывными гидрофобными поверхностями в  $\alpha$ -спиральных и  $\beta$ -структурных состояниях соответственно. Такое же хорошее согласие получается для  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\beta\alpha\beta$ -кластеров.

«Редактирование», происходящее в процессе эволюции, затрагивает биологически функциональную часть глобулы, ее активный центр. Активный центр белка-фермента включен в каркас, обладающий некоторой конформационной подвижностью. Точная структура каркаса не играет определяющей роли. Поэтому структура белка как целого мало связана с его функцией. Это создает важные возможности для белковой инженерии, для искусственного построения белков, применимых в биоэлектронике. Первые шаги в этом направлении уже сделаны. Так, синтезирован *Felix* — искусственный белок, содержащий четыре  $\alpha$ -спирали (*Four helices*).

Приведенные факты имеют непосредственное отношение к биологической эволюции на молекулярном уровне, о которой пойдет речь в § 17.7. Забегая вперед, укажем, что вырождение соответствия первичной и пространственной структуры, равно как только что указанная статистичность, являются вескими свидетельствами в пользу *нейтралистской теории* молекулярной эволюции, развитой Кимурой.

#### § 4.7. Структура и устойчивость глобулы

Пространственное строение и динамические свойства белковых глобул изучаются теоретически и при помощи ряда экспериментальных методов. Наиболее детальную информацию дает рентгеноструктурный анализ. Более простые методы оптики, оптической спектроскопии, спектроскопии ЯМР и ЭПР, а также  $\gamma$ -спектроскопии дают сведения о долях остатков, находящихся в  $\alpha$ - и  $\beta$ -структурах, о внутриглобулярной подвижности и т. д. Эти методы охарактеризованы в следующей главе.

Косвенная информация о подвижности в глобуле может быть получена путем изучения *дейтерообмена* (обмена атомов H белка в тяжелой воде на атомы D). Более подвижные и менее прочно соединенные водородными связями атомы H легче обмениваются.

Поведение белка при денатурации, а также в ходе *протеолиза* определяется устойчивостью глобулы. Изучение денатурации проводится с помощью оптических и калориметрических методов. *Микрокалориметрия* — метод исследования суммарных свойств вещества, в частности, температурного хода теплоемкости.

Интересные сведения о структуре и динамических свойствах белков дает изучение скорости распространения *ультразвука* и его поглощения в водных растворах белков, а также белков в твердом состоянии. Применяется широкий диапазон частот — от 0,1 до 100 кГц. Такого рода исследования позволяют определять модули упругости глобулы (модуль Юнга имеет значение