

те же АТ одинаково сильно связывают $C_6H_5AsO_3H^-$ и $C_6H_5PO_3H^-$, но не связывают $C_6H_5SO_3^-$, $C_6H_5CO_2^-$ и $C_6H_5SbO_5H_4^-$. Важны размеры иона.

Эти и другие данные свидетельствуют о комплементарности, о структурном соответствии активного участка АТ и детерминантной (или гаптеновой) группы АГ. Изучение взаимодействия АТ к поли-*L*-аланину с олигопептидами аланина позволило оценить размеры активного участка АТ: $2,5 \times 1,1 \times 0,2$ нм³. Антитела — глобулярные белки. При денатурации АТ их способность к специфическому связыванию АГ или Г исчезает. В некоторых случаях удается осуществить ренатурацию антител с восстановлением их активности. Присутствие гаптена способствует ренатурации.

Молекулы АТ обладают некоторой гибкостью, т. е. способностью к конформационным превращениям. С помощью поляризованной люминесценции комплексов IgG с люминесцирующими красителями были установлены времена вращательной релаксации τ , оказавшиеся порядка 50 нс (см. § 5.5). Эти значения соответствуют броуновскому вращательному движению не всей молекулы белка, но малых ее участков, т. е. указывают на гибкость молекулы белка. По-видимому, домены обладают подвижностью. Взаимодействие гаптена с АТ приводит к заметному увеличению τ , что указывает на изменение конформации АТ. Было установлено, что при образовании комплекса АТ—АГ конформация АГ также меняется. Данные оптических измерений подтверждаются исследованиями спектров электронного парамагнитного резонанса антител, содержащих парамагнитные метки.

Когда в организм вводится АГ, в нем производится множество различных АТ. Каждое АТ синтезируется лишь одной определенной группой лимфоцитов и их производных — плазматических клеток (см. § 17.10). Милстейн и Келер (1975) разработали так называемую *гибридную технику*, позволяющую выделять клон идентичных клеток, производящих определенные моноклональные АТ. Метод состоит в слиянии клеток миеломы — злокачественной опухоли иммунной системы с лимфоцитами, иммунизованными определенными АГ. Гибридные клетки — *гибридомы* — размножаются. Таким способом удается получать большие количества *моноклональных* АТ, широко применяемых в исследованиях, для диагностики, а также в терапии.

Модельная теория иммунитета изложена в § 17.10.

§ 4.9. Фибриллярные белки

В заключение этой главы остановимся на строении и свойствах фибриллярных белков — структурных и сократительных. Первые играют роль опорных и защитных компонент, входя в состав сухожилий, хрящей, костей, связок и т. д. (*коллагены*), а также кожи, волос, шерсти, рогов и т. д. (*кератины*). Вторые

являются рабочими веществами сократительных систем, в частности, мышц (*миозин, актин* и другие).

В отличие от большинства глобулярных белков, фибриллярные белки функционируют не в растворе, но образуют надмолекулярные системы. Они обладают свойствами жидких кристаллов.

Если соединительную ткань экстрагировать холодными растворами нейтральных солей при физиологическом значении ионной силы, то часть коллагена растворяется. Другая часть, именуемая *проколлагеном*, растворяется в лимонной или уксусной кислоте при pH 3,8.

Коллагеновые волокна (фибриллы) образуются при агрегации цепей проколлагена. Эти фибриллы играют роль центров кристаллизации при остеогенезе, росте костей.

Коллагеновые волокна нерастворимы в воде, но при длительном нагревании с водой в результате деструкции длинных белковых цепей коллаген превращается в растворимую желатину.

Аминокислотный состав коллагена своеобразен: 33% всех аминокислотных остатков составляет Гли, 12% — Про и 10% — неканонический остаток *оксипролил* (Опро). Этот остаток, а также *оксимизил* (Олиз), содержащийся в количестве от 0,3 до 1,2%, встречаются главным образом в коллагенах. Коллаген содержит также до 10% Ала и значительно меньшие количества других аминокислот, причем содержание Тир, Гис, Цис, Мет, Вал, Фен особенно мало — менее чем по 1%. Таким образом, до $\frac{2}{3}$ остатков составляют Гли, Про, Опро и Ала. Последовательность остатков в цепи коллагена можно представить в виде (Гли — X — X)_n, где X — любой остаток. Чаще всего встречаются последовательности Гли — Про — Опро, Гли — Про — Ала, Гли — Ала — Опро.

Строение коллагена установлено в рентгенографических исследованиях Рамачандрана, Рича и Крика. Молекула коллагена в растворе, именуемая *тропоколлагеном*, построена в виде тройной спирали с м. м. около 360 000, каждая из трех цепей содержит около 1000 аминокислотных остатков. Длина молекулы 290 нм, диаметр 1,5 нм.

Теоретический расчет структуры тропоколлагена исходит из минимизации конформационной энергии и учитывает стабилизирующую роль молекул воды (Туманян). Этот расчет дает результаты, согласующиеся с опытом. Тропоколлаген испытывает тепловой переход — денатурацию — в растворе. В зависимости от вида позвоночного температура денатурации T_d меняется от 20 до 40°C, энтальпия денатурации — от 3150 до 6300 Дж/моль, энтропия — от 10,9 до 21 Дж/(моль · К) (калориметрические данные). Температура T_d , ΔH и ΔS возрастают с увеличением содержания аминокислотных остатков Про, Опро, которые не образуют внутримолекулярных водородных связей C=O...
...H—N. По-видимому, тропоколлаген действительно стабилизируется соседними молекулами воды, образующими водородные связи с иминными атомами азота: N...H—O. Удаление воды при-

водит к разрушению структуры коллагена, а ее последующее добавление эту структуру восстанавливает.

Нельзя считать до конца решенной проблему связи свойств коллагена с его строением. Работа в этой области необходима — коллаген является одним из важнейших белков и, обладая простым составом и строением, служит ценной моделью для изучения белков в целом.

Обратимся к *кератину*. Макроскопические свойства волос, шерсти и т. д. указывают на его высокую стабильность и нерастворимость. Эти особенности определяются прежде всего большим числом поперечных дисульфидных связей между полипептидными цепями. Кератин волос человека и кератин шерсти содержат 11—12% Цис, т. е. 3% серы.

Длина волокон кератина существенно зависит от содержания в них воды (на этом основан волосной гигрометр). Эти волокна эластичны и поддаются растяжению. Первыми работами по рентгенографии белков были работы Астбюри, исследовавшего структуру кератина шерсти (1943). Для кератина нерастянутого волокна характерна периодичность 0,51 нм (α -кератин), при растяжении происходит переход в β -кератин с периодом вдоль оси волокна 0,33 нм и с поперечными периодами 0,47 и 0,97 нм. Астбюри считал, что α -кератину свойственны регулярные изгибы цепей, которые выпрямляются при растяжении. В дальнейшем было показано, что α -кератин состоит в значительной степени из α -спиралей, а β -кератин имеет каноническую β -форму.

Кератин — сложный белок. При разрыве дисульфидных связей в результате окисления или восстановления получается растворимое вещество, из которого можно выделить две фракции — бедную и богатую серой. Первая состоит из фибриллярных, вторая — из глобулярных молекул. Вероятно, глобулярные молекулы служат сшивками в кератиновых волокнах. Структурная единица волокна есть цилиндрическая микрофибрилла диаметром около 7,5 нм, построенная из белков с малым содержанием серы. На рис. 4.29 показана гипотетическая модель волокна α -кератина. Регулярно уложенные участки являются α -спиралами, скрученными попарно. Белок гетерогенен и состоит из двух главных компонент в отношении 2 : 1. Отдельные молекулы могут располагаться либо последовательно (рис. 4.29, б, в), либо параллельно друг другу (рис. 4.29, г). Опыт дает большие периоды вдоль волокна, равные 20 нм, что согласуется с моделями рис. 4,29, в и г, но не 4.29, б.

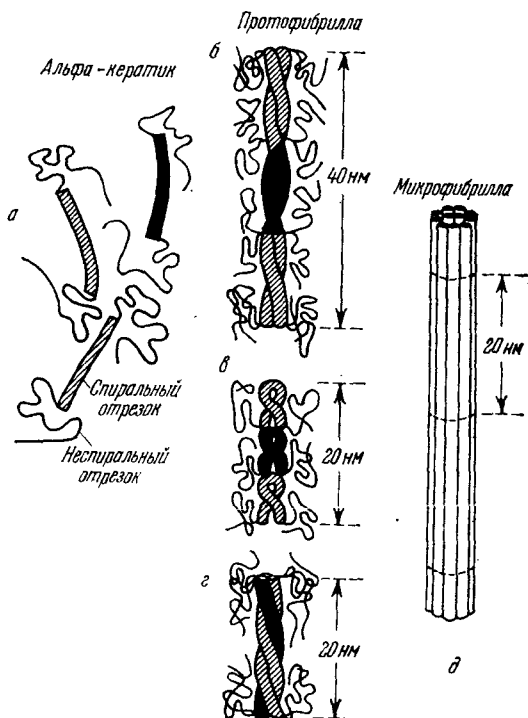
Микрофибрилла в целом состоит из 11 таких протофибрилл — двойных (а, может быть, и тройных) спиралей, причем две из них расположены в центре микрофибриллы, а девять — на ее периферии (рис. 4.29, д). Это отношение 9 : 2 характерно для ряда биологических фибриллярных структур (см. § 12.6).

Микрофибрилла имеет однородное строение. Длины спиральных участков, образующих протофибриллы, близки для разных видов, но состав неспиральных участков сильно варьирует. Раз-

личия в кератинах позвоночных определяются способом упаковки микрофибрилл и составом богатой серой глобулярной компоненты. Белок β -кератин изучен значительно хуже.

Упомянем еще об одном фибриллярном белке — о *фиб्रोине* шелка. Он содержит главным образом Гли (более 40%), а также

Рис. 4.29. Гипотетическая схема молекулярной организации α -кератина: *a* — отдельные молекулы двух основных компонентов (они зачернены и заштрихованы; последние — белки с низким содержанием серы); *б, в, г* — протофибриллы; *б* — микрофибрилла



Ала, Сер, Тир. Цис и Мет в его составе отсутствуют, остальные аминокислоты присутствуют в малых количествах. Рентнограммы фиброина сходны с рентнограммами β -кератина, основная конформация — β -форма. Шелк *Bombyx mori* образован полипептидом (Гли — Ала)_n, шелк *Lyssax* — полиаланином.

О сократительных белках рассказано в гл. 12.