

Итак, в ФСК достигается структурное соответствие, реализуемое в полости молекулы фермента. Как показывает сопоставление всех изученных рентгенографически структур, их общая особенность состоит в том, что внутренняя поверхность полости образована преимущественно неполярными остатками. Вследствие гидрофобных взаимодействий полярные остатки выведены наружу. неполярное «нутро» белковой молекулы имеет малую диэлектрическую проницаемость, что облегчает электрические взаимодействия. Фермент является не только специфическим реагентом, но и средой реакции. Перутц писал: «Мы можем спросить себя, почему химические реакции, нормально требующие мощных органических растворителей или сильных кислот и оснований, могут протекать в водном растворе вблизи нейтрального рН в присутствии ферментных катализаторов. Органические растворители имеют преимущества по сравнению с водой, обеспечивая среду с низкой диэлектрической проницаемостью, в которой могут иметь место сильные электрические взаимодействия между реагентами. неполярные внутренние области ферментов обеспечивают живую клетку эквивалентами органических растворителей, применяемых химиками».

Все эти представления имеют модельный, качественный характер и сами по себе не означают построения физической теории ферментативного катализа. Пути, ведущие к такой, еще не созданной теории, описаны далее.

§ 6.5. Физика фермент-субстратного взаимодействия

Физическое своеобразие ферментативного катализа определяется прежде всего ролью глобулы, размеры которой на порядок больше размеров субстрата. Естественно возникает вопрос о причинах большой эффективности именно такой системы при осуществлении химического превращения в водной среде, при нормальном давлении и физиологической температуре.

При сорбции активным центром молекула субстрата переходит из водного окружения в окружение, созданное аминокислотными остатками. Субстрат оказывается в окружении с малой диэлектрической проницаемостью, в котором могут осуществиться сильные электрические взаимодействия между реагентами и полярными группами фермента. Развивая идею «фермент — растворитель», Перутц приходит к заключению о том, что электростатические взаимодействия дают главный вклад в энергетику ферментативного катализа, т. е. в понижение энергии активации, вызываемое ферментом. Отличие фермента от водного раствора состоит в том, что в активном центре фермента располагаются диполи с фиксированной ориентацией по отношению к заряженным группам субстрата, даже если поле этих зарядов мало. Вследствие такой ориентации ферменты могут стабилизировать пары ионов и другие распределения зарядов значительно больше, чем вода. В водных растворах электростатическое притяже-

ние невелико, так как любая сила, создаваемая сближением противоположных зарядов, уравнивается переориентацией диполей растворителя. В ферментах такая переориентация невозможна. Проведенные на этой основе количественные расчеты для лизоцима позволили оценить снижение энергии активации катализируемой реакции в согласии с опытом (Варшел).

Белковая глобула представляет собой динамическую систему. Имеется ряд заслуживающих внимания попыток физического истолкования поведения такой системы при ее взаимодействии с субстратом.

Очевидно, что энергия, которую фермент может израсходовать на ускорение реакции (т. е. на эффективное понижение активационного барьера), может иметь единственное происхождение — это часть свободной энергии, выделяемой при сорбции субстрата на ферменте. Предположение о накоплении тепловой энергии окружающей среды в ферменте и ее использовании в реакции означало бы вечный двигатель второго рода. Итак, энергия выделяется при сорбции субстрата. Была предложена гипотеза, согласно которой эта энергия трансформируется в энергию упругих колебаний глобулы, ведущей себя подобно капле жидкости. Частоты таких колебаний попадают в гиперзвуковую область — до 10^{13} с⁻¹. Стоячие волны в капле могут образовать пучность в области активного центра и энергия упругих колебаний может активировать молекулу субстрата. Количественные оценки, основанные на этой идее, показали, что энергия упругих колебаний глобулы действительно может достигать 20—40 кДж/моль и обеспечивать значительное понижение эффективного активационного барьера.

Гипотеза эта привлекательна, но пока не имеет доказательств. Остается неясным также, с какой скоростью упругая энергия глобулы диссипирует в окружающую среду.

Приведем все же простую оценку ускорения реакции, основанную на предположении о трансформации энергии сорбции в энергию ФСК. Предположим, что структурное соответствие фермент — субстрат в ФСК приводит и белок, и малую молекулу в напряженное состояние («дыба»). Пусть длина нерастянутой молекулы субстрата равна l_0 , длина полости фермента, в которую вошел субстрат, l . Изменения длины молекул субстрата и фермента равны соответственно x и y . Тогда $x + y = l - l_0$ и условие равенства упругих сил имеет вид

$$k_S x = k_E y, \quad (6.39)$$

где k_S и k_E — коэффициенты упругости субстрата и фермента. Находим

$$x = \frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E}, \quad y = \frac{k_S}{k_E} \frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E}. \quad (6.40)$$

Упругая энергия субстрата, определяющая понижение энергии

активации, равна

$$\Delta E = \frac{1}{2}k_S x^2 = \frac{1}{2}k_S \left(\frac{l - l_0}{1 + k_S/k_E} \right)^2. \quad (6.41)$$

Порядок k_E отвечает произведению линейного размера глобулы на модуль упругости $L\varepsilon$. Для белка $L \approx 5$ нм, $\varepsilon \sim 10^3$ Дж·см⁻³. Следовательно, $k_E \approx 5 \cdot 10^{-2}$ Н/см. Наибольшая энергия упругой деформации сосредоточивается в наиболее слабом месте молекулы субстрата. Деформация валентных углов происходит значительно легче, чем валентных связей. Вместе с тем энергия, запасенная на угловых степенях свободы молекулы, может перейти на валентную связь и уменьшить энергию активации ее разрыва. Коэффициент упругости k_S , отвечающий низкочастотным деформационным колебаниям ($\nu \sim 10^{13}$ с⁻¹), равен примерно 0,15 Н/см. Допустим, что $\Delta E = 31,5$ кДж/моль (при уменьшении энергии активации на такую величину скорость реакции увеличивается в 10^5 раз). Тогда $x \approx 0,08$ нм, $y \approx 0,23$ нм, упругая энергия фермента $\frac{1}{2}k_E y^2 \approx 88$ кДж/моль. Значит, суммарная энергия, расходуемая при сорбции на упругую деформацию, составляет 171 кДж/моль. Эта величина не чрезмерна, если учесть, что сорбция происходит за счет многоточечного связывания, т. е. образования многих химических и слабых связей между ферментом и субстратом. Наблюдаемая энергия сорбции представляет собой разность истинной энергии сорбции и энергии упругой деформации фермента и субстрата.

Рассмотренная модель «дыбы» — статическая. Если предположить, что упругая система динамическая и возникает резонанс колебаний молекул субстрата и фермента, то для такого же ускорения реакции потребуется средняя упругая энергия, в четыре раза меньшая, чем в статическом случае, так как биечные периодически удваивают амплитуду колебаний.

В этой наглядной модели рассматриваются колебания атомных ядер, возникающие в результате образования ФСК, т. е. взаимодействия фермента с субстратом. При этом взаимодействии изменяются состояния электронных оболочек субстрата и атомных групп активного центра. Электронные оболочки испытывают возмущение вследствие взаимодействий в ФСК. Превращение субстратов в продукт есть химический процесс, т. е. изменение состояния электронных оболочек молекул. Как и в любой иной химической реакции, при этом происходят перемещения атомных ядер. Среди движений атомных ядер наименьшей энергии требуют низкочастотные деформационные колебания и повороты вокруг единичных связей, т. е. изменения конформаций. В § 6.4 уже рассматривались конформационные изменения в ФСК. Важнейшее значение для ферментативного катализа имеют взаимодействия электронных и конформационных степеней свободы — *электронно-конформационные взаимодействия* (ЭКВ). ЭКВ рассмотрены в работах Волькенштейна, а также Блюменфельда, Чернавского и их сотрудников.