

П. В. АФАНАСЬЕВ, Б. А. ТАЛМУД и Д. Л. ТАЛМУД, член-корреспондент
АН СССР

О ПРИРОДЕ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

III. ТЕОРИЯ СТРУКТУРНЫХ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЙ ГЛОБУЛЯРНЫХ И ФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

В 1944 г. С. Е. Бреслер и Д. Л. Талмуд⁽¹⁾ высказали гипотезу о природе глобулярных белков, заключающуюся в том, что гидрофобные боковые цепи, благодаря ван-дер-ваальсовому взаимодействию, свертывают полипептидную цепь. При этом гидрофобные боковые цепи образуют углеводородоподобное ядро глобулы, а пептидные связи и боковые цепи с гидрофильными группами — оболочку глобулы. Эта гипотеза позволила определить порядок величины минимальной глобулы и причину ее монодисперсности.

Синтез белковоподобных веществ⁽²⁾ подтвердил справедливость гипотезы в том смысле, что, при наличии в полиамидной цепи достаточного количества гидрофобных боковых цепей, действительно происходит свертывание макромолекулы в глобулу.

Однако гипотеза не позволяет объяснить различную степень асимметрии разных растворенных белков⁽³⁾ и обратимое растяжение глобулярных молекул в растворах мочевины, гуанидина, детергентов и т. п.⁽⁴⁾

Эти существенные свойства глобулярных белков могут быть поняты с помощью следующего представления о роли гидрофильных групп в боковых цепях. Благодаря фиксированности боковых цепей с гидрофильными группами вдоль полипептидной цепи, а также благодаря различной природе гидрофильных групп невозможно строго равномерное распределение полярных групп по поверхности глобулы. Между тем, гидрофильные группы в оболочке глобулы играют роль своеобразного адсорбционного слоя на границе раздела глобулярное ядро | растворитель. Следовательно, если бы полярные группы были распределены строго равномерно по поверхности глобулы, последняя оставалась бы шарообразной в растворителе при всех условиях. Благодаря же неравномерному распределению полярных групп и их фиксированности в полипептидной цепи глобула должна изменять свою форму в зависимости от изменения свойств окружающего растворителя. Во взаимодействии гидрофобных боковых цепей, стягивающее полипептидную цепь в глобулу, противоположно взаимодействию фиксированных полярных групп с растворителем, растягивающему глобулу.

Из этого представления следуют важные выводы. Во-первых, форма глобулярной макромолекулы в растворе должна непрерывно изменяться в широких пределах при изменении состава и, следовательно, свойств растворителя, и это изменение формы должно быть вполне обратимо. Во-вторых, при изменении формы шарообразной глобулы, т. е. при росте ее поверхности без изменения объема, по необходимости обнажаются химические группы, до этого находившиеся внутри

глобулы. Это существенно меняет химические и физико-химические свойства глобулярных макромолекул.

Эти выводы открывают возможность для экспериментального осуществления новых состояний глобулярных молекул и одновременно позволяют объяснить многие химические свойства биологически активных белков.

Экспериментальная часть

При характеристике очищенных глобулярных белков степень асимметрии обычно приводится как неизменное свойство белковой молекулы. Нам удалось показать, что степень асимметрии белкового вещества может быть по желанию изменена как в сторону уменьшения, так и в сторону увеличения асимметрии.

Все дегидратирующие вещества, понижающие энергию взаимодействия гидрофильных групп с растворителем, уменьшают степень асимметрии глобулы. Конечно, дегидратирующие вещества не должны вызывать побочных эффектов, например, комплексообразования и повышения растворимости белка. В результате уменьшения взаимодействия гидрофильных групп с растворителем начнет превалировать стягивающее глобулу взаимодействие гидрофобных боковых цепей, и глобула начнет приближаться к шарообразной форме.

Это явление было нами экспериментально показано на растворах следующих белков: яичного альбумина, сывороточного альбумина и желатины. В качестве дегидратирующего вещества мы применяли сульфат аммония в больших концентрациях, недостаточных, однако, для осаждения белка. Степень асимметрии вычислялась из измерений относительной вязкости по уравнению Симха⁽⁵⁾. Измерение вязкости производилось с помощью вискозиметра Оствальда в термостате, колебания температуры которого не превышали $\pm 0,05^\circ\text{C}$. Измерения вязкости яичного альбумина производились при 20°C и при 45°C , а сывороточного альбумина и желатины — при 45°C . Все измерения производились в буферных растворах.

В таблице приведены относительные вязкости растворов белков, а на рис. 1 и 2 изображены кривые зависимости между отношениями осей эллипсоидальной глобулы и концентрацией сульфата аммония.

Концентрация $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в молях	Относительная вязкость	Концентрация $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в молях	Относительная вязкость
Желатина 0,5%, темп. 45°C		Сывороточный альбумин человека 1,3%, темп. 45°C	
0	1,168	0	1,063
0,4	1,161	0,7	1,055
0,8	1,117	1,36	1,033
1,09	1,053		
1,16	1,033		
Яичный альбумин 0,75%, темп. 45°C		Яичный альбумин 0,75%, темп. 20°C	
0	1,028	0	1,043
1,7	1,019	0,95	1,030
		1,25	1,017

Из наших измерений с очевидностью следует, что приближение формы глобулы к сферической сопровождается уменьшением растворимости, в пределе вызывая осаждение белка, несмотря на постоянное рН. Повышение температуры само по себе также является дегидратирующим фактором, конечно, — такое повышение температуры, которое не вызывает тепловой денатурации белка.

Таким образом, впервые удалось экспериментально осуществить приближение к почти идеальной глобулярности растворенных белковых

макромолекул, даже столь не типично глобулярных и полидисперсных как желатина.

Увеличение степени асимметрии глобулы под влиянием таких агентов, как мочевины, гуанидин и т. п., имеет причиной растягивание глобулы, которое, по видимому, происходит в результате увеличения сольватации гидрофильных групп в боковых цепях. Это равносильно падению

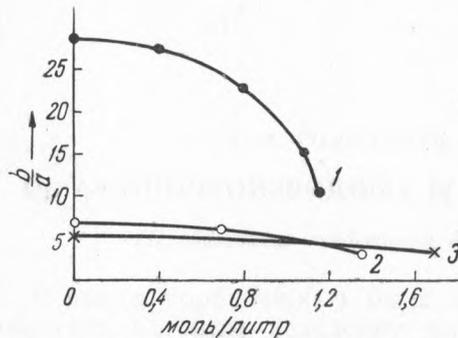


Рис. 1. Зависимость степени асимметрии b/a белковых молекул от концентрации сернистого аммония в растворе при 45°C : 1 — желатина, 2 — сывороточный альбумин, 3 — яичный альбумин

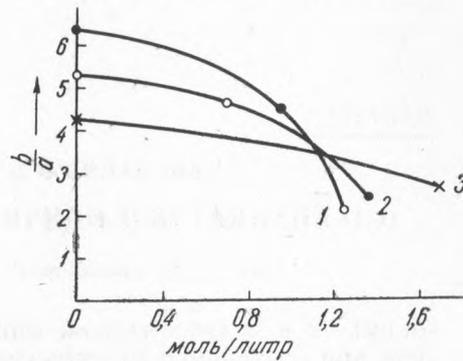


Рис. 2. Зависимость степени асимметрии b/a белковых молекул от концентрации сернистого аммония в растворе: 1 — яичный альбумин при 20°C , 2 — сывороточный альбумин при 45°C , 3 — яичный альбумин при 45°C

поверхностного натяжения на поверхности раздела глобула растворитель. Вследствие же того, что фиксированные гидрофильные группы распределены неравномерно по поверхности глобулы, происходит растягивание ее.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии Наук СССР

Поступило
6 XII 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. Е. Бреслер и Д. Л. Талмуд, ДАН, **43**, 326, 367 (1944). ² Д. Л. Талмуд, Коллоидн. журн., **8**, № 4, 252 (1946). ³ T. Svedberg and K. Pedersen, The Ultracentrifuge, 1940. ⁴ H. Neurath, J. P. Greenstein, F. W. Putnam and J. O. Erickson, Chem. Rev., **34**, 157 (1944). ⁵ R. Simha, J Phys. Chem., **44**, 25 (1940).