

Б. А. ТАЛМУД

## ПОВЫШЕНИЕ СИММЕТРИИ ГЛОБУЛЯРНОГО БЕЛКА ПУТЕМ УМЕНЬШЕНИЯ В НЕМ ЧИСЛА ИОНОГЕННЫХ ГРУПП

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 IX 1949)

Согласно гипотезе о природе глобулярных белков (<sup>1-3</sup>), форма глобулярной молекулы обусловлена равновесием сил сцепления между неионогенными боковыми цепями и сил отталкивания между ионогенными боковыми цепями. Изменения среды, т. е. состава раствора, вызывающие ослабление сил сцепления, приводят к растягиванию глобул. Подобные изменения вызываются мочевиной, детергентами и другими обратимо денатурирующими веществами. Изменения среды, вызывающие ослабление сил отталкивания, приводят к улучшению «глобулирования», т. е. к повышению симметрии белковых молекул. Экспериментальное повышение симметрии белковых молекул было впервые осуществлено П. В. Афанасьевым, Б. А. Талмуд и Д. Л. Талмудом (<sup>2</sup>) введением в раствор большого количества нейтральных солей, экранирующих ионогенные группы и тем самым снижающих электростатические силы отталкивания.

Величина электростатических сил отталкивания, действующих в поверхности глобулы, определяется числом зарядов и толщиной окружающего поверхность глобулы диффузного слоя ионов обратного знака. По расчетам С. Е. Бреслера (<sup>3</sup>), для лактальбумина среднее расстояние между ионогенными группами составляет 11 Å, а толщина диффузного слоя ионов обратного знака в 0,1 М растворе одновалентных ионов составляет около 30 Å; для того чтобы произошло экранирование ионогенных групп, надо, чтобы толщина диффузного слоя стала меньше, чем расстояние между зарядами на поверхности белка. Для этого достаточно сделать ионную силу равной или больше единицы. Этот результат вычисления точно совпал с экспериментальными данными. Действительно, белковая глобула делается более симметричной, когда концентрация сульфата аммония близка к 1 М в литре.

Но повышение симметрии глобулярных белков возможно и другими способами. Одним из них является уменьшение в самой белковой молекуле числа ионогенных групп. Это создало бы перевес сил сцепления над силами отталкивания и привело бы к повышению симметрии глобул.

Цель настоящей работы заключалась в том, чтобы, уменьшив число ионогенных групп в самой молекуле белка, т. е. заменив, по возможности, часть ионогенных групп на неионогенные, без нарушения нативного состояния, и увеличив перевес внутримолекулярных сил сцепления, этим уменьшить степень асимметрии молекул.

Известно, что при рН = 4—5 дезаминирование белка азотистой кислотой может быть проведено без нарушения нативного состояния (<sup>4</sup>),

причем в первые полчаса дезаминированию подвергаются преимущественно  $\epsilon$ -аминогруппы лизина, заменяющиеся неионогенными гидроксильными группами. В качестве белка, содержащего значительное количество лизина (около 12%), был взят кристаллический сывороточный альбумин. Дезаминирование 1% раствора сывороточного альбумина производилось в фосфатно-цитратном буфере ( $\text{pH} = 4,0$ )  $N/16$  нитритом натрия при  $35^\circ$  в течение 1 часа, после чего раствор подвергался диализу до полного исчезновения аниона азотистой кислоты. Определение аминного азота по Ван-Слайку показало, что дезаминирование прошло на 25%. Вычисление степени асимметрии (отношение полуосей эллипсоида вращения  $b/a$ ) производилось из измерений относительной вязкости по уравнению Симха <sup>(5)</sup>.

Вязкость измерялась при  $25^\circ$  при трех значениях  $\text{pH}$ : 2,2; 4,0 и 9,18. Эти значения  $\text{pH}$  были выбраны по следующим соображениям. В щелочном растворе диссоциация аминных групп подавлена; растягивающие глобулу силы обязаны только электростатическому отталкиванию между одноименно заряженными карбоксильными группами в боковых цепях. В недезаминированном и в дезаминированном белках число карбоксильных групп остается неизменным. Поэтому в щелочном растворе неизменной должна оставаться и степень асимметрии обоих белков. В кислом растворе подавляется диссоциация карбоксильных групп; растягивающие глобулу силы отталкивания обязаны одноименно заряженным щелочным группам в боковых цепях и, главным образом, аминогруппам. А так как последних в дезаминированном белке значительно меньше, чем в недезаминированном, то соответственно падает величина сил отталкивания, обуславливающих растягивание белковой глобулы, и поэтому она остается более свернутой, т. е. симметричной. Так оно и оказалось в действительности.

Таблица 1

	$\text{pH} = 2,2$		$\text{pH} = 4,0$		$\text{pH} = 9,18$	
	относит. вязкость	степень асимметрии	относит. вязкость	степень асимметрии	относит. вязкость	степень асимметрии
Сывороточный альбумин . . . . .	1,2388	18,3	1,0571	6,8	1,0440	5,6
Дезаминированный сывороточный альбумин . . . . .	1,0300	4,0	1,0276	3,8	1,0552	6,8

В табл. 1 приведены результаты измерений относительной вязкости и вычисления степени асимметрии. Как видно из табл. 1, при  $\text{pH} = 4,0$  степень асимметрии дезаминированного белка почти вдвое ниже, а при  $\text{pH} = 2,2$  в 4 раза ниже, чем у недезаминированного сывороточного альбумина.

Полученные результаты являются одним из экспериментальных доказательств правильности гипотезы о природе глобулярных белков.

Институт биохимии  
им А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
1 IX 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. Е. Бреслер и Д. Л. Талмуд, ДАН, 43, 362, 357 (1944). <sup>2</sup> П. В. Афанасьев, Б. А. Талмуд и Д. Л. Талмуд, ДАН, 55, 615 (1947). <sup>3</sup> С. Е. Бреслер, Биохимия, 14, 180 (1949). <sup>4</sup> J. St. L. Philpot and P. A. Small, Biochem. Jour., 32, 542 (1938). <sup>5</sup> R. Simha, Journ. Phys. chem., 44, 25 (1940).