Доклады Академии наук СССР
1955. Том 101, № 1

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Н. С. АНДРЕЕВА и В. И. ИВЕРОНОВА

К ВОПРОСУ ОБ ОСОБЕННОСТЯХ СТРОЕНИЯ ФИБРИЛЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

(Представлено академиком Н. В. Беловым 21 IX 1954)

Одной из основных задач изучения струкуры фибриллярных белков является решение вопроса о специфике взаимного расположения их молекулярных цепей.

В зарубежной литературе широко пользуются представлением о кристалличности строения фибриллярных белков. Большей частью интерференции, наблюдаемые на рентгенограммах фибриллярных белков, рассматриваются как интерференции одной кристаллической фазы, и по рентгенограммам вычисляют размеры и форму элементарных ячеек. Вместе с тем известно, что на рентгенограммах фибриллярных белков помимо интерференций, сходных с интерференциями мелкодисперсного текстурованного поликристалла, можно наблюдать и интерференции несколько необычной геометрической формы. Так, на рентгенограммах коллагена наблюдается диффузное кольцо с признаками текстуры, на рентгенограммах ряда кератинов — эллиптическое диффузное кольцо, а иногда прямолинейные интерференции, перпендикулярные оси волокна. Такие диффракционные картины не укладываются в представление о простом кристаллическом строении этих белков (1).

Наличие разных типов интерференций свидетельствует прежде всего о том, что фибриллярные белки представляют собою системы, состоящие из нескольких «фаз». Особенности рентгенограмм показывают, что в них наряду с областями с правильной упаковкой молекул (дальний порядок) имеются области, характеризующиеся лишь наличием ближнего порядка. Это и есть различные «фазы», входящие в состав белка*. Мы берем здесь слово фаза в кавычки, так как в какой мере разделены такого типа области, образованы ли они разными цепями или разными участками одних и тех же цепей и есть ли граница раздела между этими участками, из опытных данных пока сказать нельзя.

Кроме того, наши экспериментальные данные по коллагену показали, что соотношение интенсивностей различного типа интерференций меняется при переходе от образца к образцу. Это, очевидно, означает, что количественное распределение вещества по фазам в белке одного не строго стабильно.

Предположение о наличии неправильной стеклообразной упаковки цепей в белках было высказано А. Г. Пасынским (2). Проблеме строения высокомолекулярных соединений посвящен ряд работ В. А. Каргина и его школы (3). Выдвигаемые ими представления о возможном отсутствии дальнего порядка в упаковке цепей высокополимеров вполне могут быть применимы и к фибриллярным белкам.

Строение таких неправильных участков может быть представлено следующим образом: молекулярные цепи располагаются примерно па-

* На рентгенограммах исследуемых нами фибриллярных белков — коллагена кожи Bovis domesticus, фиброина шелка Bombyx mori и некоторых объектов кератина мы наблюдали также интерференции, характерные для кристаллов размером не менее 10^{-4} мм. Мы не включаем рассмотрение этих интерференций в общую схему, поскольку не располагаем химическими данными о природе этих кристаллов.

раллельно друг другу. Расстояние между ними описывается некоторой функцией распределения w, определяющей наличие лишь ближнего порядка в упаковке. Цепи без какой-либо определенной закономерности располагаются относительно друг друга по длине и могут быть повернуты относительно друг друга вокруг своей оси на любой угол.

Это предположение естественно вытекает и из структурно-химических особенностей фибриллярных белков. Так как боковые группы молекулярных цепей белка представляют собой весьма различные в структурном отношении атомные группировки и так как нет периодичности в расположении их вдоль цепи, нет никаких оснований ожидать, что правильность взаимного расположения белковых цепей должна сохраняться в больших объемах. Существование участков с квазикристаллической структурой, вероятно, возможно лишь в случае, если в белке имеются скопления структурнооднотипных группировок.

Мы рассчитали диффракционную картину, возникшую при такого рода упаковке цепей. В качестве исходного было использовано выражение, характеризующее амплитуду рассеянного излучения системой сложных многоатомных молекул.

$$\sum_A \sum_\alpha f_\alpha e^{i\varkappa(SR_{A\alpha})}, \qquad (1)$$

Здесь A — индекс молекулы (суммирование производится по всем молекулам рассеивающего объема); α — индекс атома, входящего в молекулу; f_α — функция атомного рассеяния; вектор $\mathbf{S} = \mathbf{s} - \mathbf{s}_0$ представляет собой разность единичных векторов падающего и отраженного лучей; $R_{A\alpha}$ — расстояние от начала координат α-го атома, принадлежащего молекуле A; $\varkappa$ — волновое число.

Допустив взаимную упаковку цепей указанного выше типа, можно осуществить суммирование по всем молекулам объема. Произведя усреднение по произвольному положению молекул вдоль оси и ее вращению, мы приходим к выражению:

$$I \sim N\Big[\sum_\alpha f_\alpha^2 - \frac{8\pi^3(N-1)}{Q}\sum_\alpha\sum_\beta f_\alpha f_\beta J_0(\varkappa S_\perp r_{A\alpha\perp}) J_0(\varkappa S_\perp r_{B\beta\perp}) \times$$

$$\times \int_0^\infty (1-w) J_0(\varkappa S_\perp R_{AB}) \cdot R\, dR + 2\pi \sum_\alpha \sum_\beta f_\alpha f_\beta e^{i\varkappa S_\parallel r_{\alpha\beta\parallel}} J_0(\varkappa S_\perp r_{\alpha\beta\perp})\Big]. \qquad (2)$$

Здесь N — число молекул в рассеивающем объеме; Q — поперечное сечение образца, перпендикулярное оси волокон; R_{AB} — расстояние между молекулами; $r_{A\alpha}$ — расстояние α-атома молекулы A от начала координат, связанного с молекулой; знаки $\perp$ и $\parallel$ означают, что векторы параллельны или перпендикулярны оси волокон.

Как видно из полученного решения, интенсивность рассеянного излучения должна складываться из трех частей. Первый член этого выражения соответствует рассеянию беспорядочным скоплением атомов, второй член характеризует межмолекулярную диффракцию, третий — внутримолекулярную диффракцию.

Первый член уравнения требует появления фона на рентгенограмме, убывающего с возрастанием угла рассеяния, что в действительности и наблюдается (4).

Второй член характеризует межмолекулярную диффракцию и как видно из соотношения (2), является функцией только $S_\perp$*. Таким

* Если сдвиг цепей не является полностью беспорядочным, а имеются некоторые запрещенные взаимные положения, налагаемые взаимодействием боковых цепей, интенсивность межмолекулярного рассеяния будет функцией и $S_\parallel$. Можно показать, что максимумы межмолекулярной диффракции на экваторе будут при этом иметь форму диффузных пятен, что в действительности наблюдается на рентгенограммах многих фибриллярных белков.

К статье Н. С. Андреевой и В. И. Ивероновой, т. 101, № 1, стр. 111

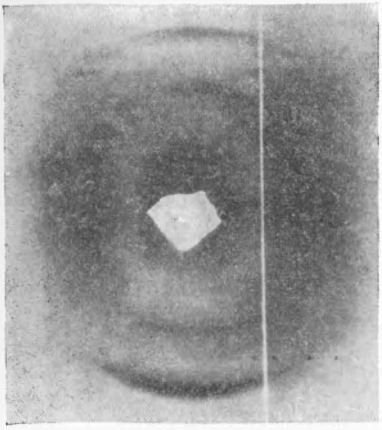


Рис. 1. Рентгенограмма коллагена с текстурованным диффузным кольцом

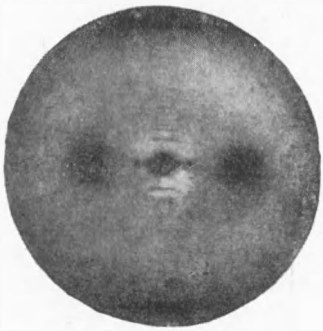


Рис. 2. Рентгенограмма кератина со следами одномерной диффракции

*К статье Н. С. Андреевой и В. И. Ивероновой, ДАН, т. 99, № 6, стр. 991**



Рис. 1. Рентгенограмма фиброина шелка (меридиональное поле), полученная нами на монохроматическом CuK_{α}-излучении

---

* В виду того, что в статье Н. С. Андреевой и В. И. Ивероновой «О структуре фиброина шелка», помещенной в ДАН, т. 99, № 6, стр. 991, 1954 г., рентгенограмма фибриона шелка помещена не полностью, редакция печатает ее здесь еще раз.

образом, максимумы межмолекулярной диффракции должны быть размыты вдоль слоевых линий второго ряда. Он аналогичен члену уравнения, характеризующего рассеяние рентгеновских лучей многоатомной жидкостью, только функции $\sin \mu r$ заменены здесь цилиндрическими функциями. Такие интерференции действительно наблюдаются на рентгенограммах некоторых фибриллярных белков (1).

Анализ третьего члена в выражении для интенсивности показывает, что возможны два случая, которым будут соответствовать разные диффракционные картины внутримолекулярного рассеяния.

Первый соответствует наличию более или менее правильной периодичности в расположении некоторых атомных группировок вдоль цепи. Такими группировками в фибриллярных белках могут быть только атомы остова цепи. В этом случае расстояние $r_{\alpha\beta}$ можно представить как разность векторов $n\mathbf{z} - \vec{\rho}_{\alpha\beta}$, где $\mathbf{z}$ — период вдоль цепи; n — целое число; $\vec{\rho}_{\alpha\beta}$ — расстояние между атомами α и β, находящимися в пределах одного периода. Окончательное выражение может быть записано

$$I_3 = 2\pi \frac{\sin^2 \pi LSp}{\sin^2 \pi LS} \sum_{\alpha} \sum_{\beta} f_\alpha f_\beta J_0 (\varkappa S_\perp \rho_{\alpha\beta\perp}) e^{i\varkappa (S_\parallel \rho_{\alpha\beta\parallel})}; \qquad (3)$$

суммирование производится по всем атомам в пределах одного периода, p — число периодов цепи. Выражение (3) можно кратко записать в виде $I_3 = LF^2$, где L — одномерная функция Лауэ, а F — структурный множитель цепи. Отсюда видно, что на рентгенограммах должны наблюдаться следы одномерной диффракции в виде прямолинейных штрихов, перпендикулярных оси волокна. С увеличением угла рассеяния F^2 падает. За счет бесселевской функции ослабление F^2 вдоль экватора рентгенограммы будет резче, чем вдоль меридиана ($S_\perp$ вдоль меридиана растет пропорционально $\sin^2 \vartheta$, а вдоль экватора пропорционально $\sin \vartheta$). Следовательно, следы одномерной диффракции должны быть особенно отчетливо видны на меридиане вблизи центрального пятна. При $S_\parallel = 0$ экспоненциальная функция обращается в единицу, и интенсивность рефлексов определяется только бесселевской функцией, следовательно, на экваторе рентгенограммы должен появиться ряд штрихов, интенсивность которых резко убывает с удалением от центрального пятна. Нулевой штрих пересечет центральное пятно. За счет дезориентировки цепей, которая всегда имеет место в фибриллярных белках, экваториальные максимумы размоются в диффузные пятна, либо дуги. На форме меридиональных рефлексов малые степени дезориентировки должны сказаться мало.

Второй случай соответствует нарушению периода вдоль цепи, которое может быть вызвано взаимодействием различного рода боковых группировок. Это нарушение должно быть связано с большей дезориентировкой цепей, чем в первом случае. Член, характеризующий внутримолекулярную диффракцию, запишется в виде:

$$I_3 = 2\pi \sum_{\alpha} \sum_{\beta} f_\alpha f_\beta J_0 (\varkappa S_\perp r_{\alpha\beta\perp}) e^{i\varkappa (S_\parallel r_{\alpha\beta\parallel})}.$$

На меридиане рентгенограммы в этом случае не должны наблюдаться какие-либо четкие максимумы. На экваторе появятся вытянутые вдоль экватора интерференции, которые за счет дезориентировки цепей размоются вдоль дебаевских линий, образуя текстурованные диффузные кольца.

Коротко резюмируя изложенное, можно сказать, что за счет внутримолекулярного рассеяния на рентгенограмме должны появиться или прямолинейные меридиональные интерференции и диффузные максимумы на экваторе (малый угловой разброс цепей и сохранение пери-

одичности остова цепи), или только текстурованные диффузные кольца большой угловой разброс цепей и нарушение периодичности).

Оба эти случая представлены на рентгенограммах фибриллярных белков. Например, на рентгенограмме коллагена, помимо интерференционной картины сравнительно упорядоченной фазы, анализ которой не затрагивается в данной работе, можно наблюдать в области $\sin\vartheta/\lambda \sim 0{,}11 - 0{,}12$ текстурованное диффузное кольцо* (см. рис. 1). В области $\sin\vartheta/\lambda \sim 0{,}24$ наблюдается второе довольно слабое диффузное кольцо. Как показали наши экспериментальные данные, полученные при съемке некоторых образцов коллагена на монохроматическом излучении, это кольцо также является текстурованным и имеет максимумы интенсивности на экваторе. Рассеяние текстуры (угловой разброс) в коллагене заметно больше, чем, например, в кератине. Положение первого диффузного кольца соответствует значениям $r_{\alpha\beta\perp}$, заключенным в пределах от 3 до 5 Å, что является вполне вероятным для атомов остова полипептидной цепи. Положение второго кольца соответствует максимуму второго порядка бесселевской функции для этих значений расстояний между атомами. Следов одномерной диффракции, которые могли бы соответствовать периодичности в остове цепи, на рентгенограммах коллагена не наблюдается.

На рентгенограммах кератинов, наоборот, четко выявляются на меридиане следы одномерной диффракции. Наиболее сильный рефлекс, соответствующий 5,1 Å, имеет явно прямолинейную форму. Нами показано, что это особенно хорошо выявляется при съемке на монохроматизированном излучении при отсутствии на рентгенограмме фона от белого спектра. Эта интерференция придает видимую эллиптическую форму примыкающей к ней группе колец. На рис. 2 приведена репродукция рентгенограммы кератина [6]. На ней, помимо рефлексов сравнительно упорядоченной фазы, можно наблюдать прямолинейные меридиональные штрихи. След первичного луча пересекает прямолинейная интерференция. В области $\sin\vartheta/\lambda \sim 0{,}24$ на рентгенограммах кератина нами наблюдалось диффузное кольцо с максимумом текстуры на экваторе.

Таким образом, рентгенографические экспериментальные данные подтверждают предположение о наличии в волокнах некоторых фибриллярных белков участков с приблизительно параллельным расположением цепных молекул, упаковка которых носит указанный выше характер.

В кератине мы сталкиваемся со случаем сохранения правильной периодичности вдоль цепи и довольно строгой параллельности в упаковке цепей в стекловидной фазе и с малым содержанием упорядоченной фазы. В коллагене, наоборот, параллельность в упаковке цепей в стекловидной фазе существенно нарушена, но наряду с этой фазой коллаген содержит значительное количество упорядоченной фазы, что, повидимому, свидетельствует о локальных скоплениях структурно однотипных группировок.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
13 IX 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. И. Китайгородский, Рентгеноструктурный анализ мелкокристаллических и аморфных тел, 1952, стр. 279. [2] А. Г. Пасынский, Белки в промышленности и сельском хозяйстве (конференция по белку), М., 1952, стр. 113. [3] В. А. Каргин, Сборн. докл. на 6-й конфер. по высокомолекул. соединениям, Изд. АН СССР, 1949, стр. 281. [4] А. Л. Зайдес, Строение каучука, коллагена и производных целлюлозы, 1937. [5] R. Corey, R. W. G. Wyckoff, J. Biol. Chem., 114, 407 (1936). T. Mac-Arthur, Nature, 152, 38 (1943).

* Ряд экспериментальных данных указывает на то, что это кольцо нельзя считать образованным из близко лежащих дуг упорядоченной фазы ([5]).