

И. Д. ИВАНОВ, В. К. НЕКРАСОВА

ЛОКАЛЬНАЯ ПРИМЕСНАЯ ПРОВОДИМОСТЬ БЕЛКОВ

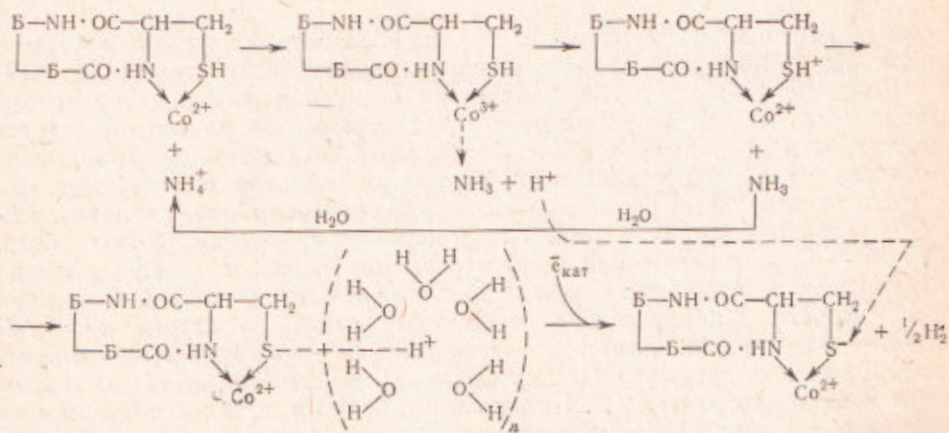
(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 16 XII 1969)

Исходя из данных полярографии белков, можно рассматривать структурную модель белковой макромолекулы как систему из плотноупакованных участков (глобулы, Г) и рыхлоупакованных — аглобулярных структур (АГС) (1). Здесь мы попытаемся провести аналогию между свойствами полупроводников и свойствами белковых молекул в условиях полярографии (реактив Брдицка: NH_4Cl , NH_4OH , Co^{2+} или Co^{3+}).

Многие органические вещества приобретают проводимость в присутствии примесей ионов металлов, образующих координационные соединения с органическими веществами. В случае с электронакцепторной примесью вокруг центрального атома сосредотачиваются л-электроны органических лигандов, оставляя свободные «дырки».

Белки полярографически активны лишь в комплексе с ионами Co^{2+} , Co^{3+} или Ni^{2+} в слабощелочной среде (рН 9). Молекула белка, адсорбированная на поверхности катода, играет роль полупроводникового катализатора выделения водорода (возможно, с участием SH-группы).

Каталитическое выделение водорода на катоде вероятно происходит по следующей схеме:



Молекула белка образует комплекс с ионом Co (II), а ион аммония играет роль электронакцепторной примеси. В результате миграции электрона к иону аммония в молекуле комплекса возникает последовательный ряд «дырок», терминальной из которых является протон. Последний восстанавливается на катоде до молекулярного водорода по предлагаемой нами схеме.

Важно отметить, что независимо от химической природы полярографически активного центра в результате образования комплекса с ионом кобальта, молекула белка приобретает положительный заряд — протон, который восстанавливается на катоде до молекулярного водорода. Приобретение положительного заряда приводит к окислению отдельных групп молекулы, о чем свидетельствует возникновение двухступенчатых поляро-

графических воли белка при потенциалах: $E_1 \approx -1,4$ в; $E_2 \approx -1,6$ в (против насыщенного каломельного электрода).

Поскольку на поверхности глобулы находятся преимущественно гидрофильные остатки аминокислот, структурных препятствий для образования

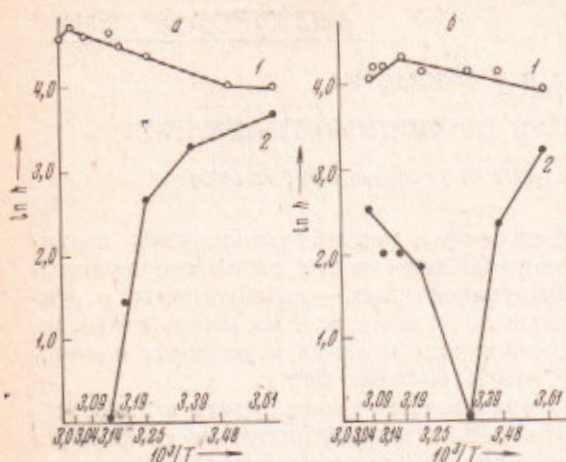


Рис. 1

Рис. 1. Связь между температурой, $\ln h_1$ (1) и $\ln h_2$ (2) для химотрипсина (а) и трипсина (б). Полярogramмы снимались в реактиве Брэдичка с Co^{3+} при концентрации химотрипсина и трипсина 150 $\mu\text{г}/\text{мл}$ на осциллографическом полярографе ОП-02 в режиме: начальное напряжение $-0,8$ в/сек; диапазон тока 10 (размер полярограмм); скорость накладывания напряжения 2,8. Регистрировались производные полярограммы $dI/dE - E$

комплекса с ионом кобальта здесь практически нет. Образованный комплекс представляет собой пространственно более упорядоченную структуру в отличие от комплекса иона кобальта с гидрофильными участ-

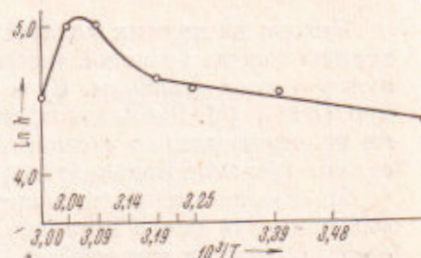


Рис. 2

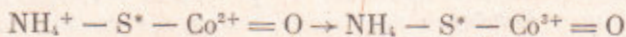
Рис. 2. Связь $\ln h$ и температуры для субтилизина. Условия аналогичны условиям рис. 1

ками аглобулярных структур, так как для образования последнего имеются некоторые стерические препятствия из-за гидрофобных групп на АГС.

Комплекс кобальта с гидрофильными остатками аминокислот аглобулярных структур менее упорядочен и это отражается на второй ступени полярограммы белка. Свидетельством большей упорядоченности комплекса кобальта с глобулой и меньшей — комплекса кобальта с аглобулярными структурами является более положительное значение E_1 по сравнению с E_2 .

В случае, когда снимается производная полярограммы белка $dI/dE - E$, регистрируемая нами как высота первой и второй ступеней h_1 и h_2 , мы, по существу, имеем дело с симбатным определением электропроводности деполаризатора (молекулы белка) на катоде $\sigma = I/E$, где σ — электропроводность; I — сила тока, E — накладываемое напряжение. На рис. 1а представлены данные по изменению $\ln h_1$ и $\ln h_2$ химотрипсина в зависимости от $1/T$. По-видимому, белки в комплексе с ионом кобальта обладают свойствами примесных полупроводников дырочного типа.

Структура дырочного комплекса может быть представлена



по аналогии с комплексом, предложенным Давтян и Мисюк (²). Следует подчеркнуть, что речь идет о примесной проводимости комплексов белка с ионами кобальта локального типа.

Из данных рис. 1а следует, что изменения $\ln h_1$ и $\ln h_2$ химотрипсина от $1/T$ резко различаются между собой. Изменение проводимости комплекса иона кобальта с глобулой в зависимости от температуры типично для примесных полупроводников. «Аномальную» проводимость для АГС можно объяснить значительным влиянием структуры воды на полярографически

активные центры аглобулярных участков (¹). Все факторы, влияющие на структуру воды, значительно отражаются на h_2 молекулы белка и роль структуры воды доминирует при изменении проводимости АГС.

Как указывалось выше, Γ является более окисленной, что выражается в разряде полярографически активного центра глобулы при более положительном потенциале по сравнению с аглобулярными участками; в присутствии иона кобальта количество «дырок» в глобуле увеличивается при повышении температуры в большей степени, чем в АГС.

При низких температурах усиливается тенденция воды находиться в виде кластеров, и АГС приобретает свойство твердого тела с более высокой степенью упорядоченности структуры.

Увеличение электропроводности для АГС с уменьшением температуры и увеличением упорядоченности системы связано, вероятно, с уменьшением ингибирующего действия свободной воды.

Природа белка, вероятно, влияет на проводимость комплексов белка из-за того, что последовательность полярных и неполярных остатков аминокислот различная на разных участках полипептидной цепи. Естественно предположить, что сплошные полярные участки, расположенные на АГС, с повышением температуры будут вести себя как полярные группы на поверхности глобулы, т. е. h_2 должна увеличиваться аналогично h_1 с изменением температуры. Сплошные же неполярные участки АГС будут иметь типичную для полярографической волны АГС белка зависимость от температуры, т. е. с повышением последней h_2 будет снижаться.

На рис. 1б представлены кривые связи $\ln h_1$ и $\ln h_2$ с $1/T$ для трипси-на. Выше 22° кривая $\ln h_2$ идет аналогично кривой $\ln h_1$. По-видимому, при температурах выше 22° $\ln h_2$ увеличивается за счет увеличения концентрации свободных электронов. В интервале $3-22^\circ$ на ходе кривой $\ln h_2$ сказывается преобладающее влияние воды в виде кластеров.

На рис. 2 представлены данные по изменению высоты волны h полярограммы субтилизина при различных температурах. Субтилизин относится к ферментам, не имеющим серосодержащих аминокислотных остатков, и имеет только одну белковую волну. Судя по потенциалу $E = -1,705$ в при 22° в реактиве Брдишка с Co^{3+} h субтилизина можно было бы отнести к волне, обусловленной аглобулярными участками. Однако кривая $\ln h(1/T)$ подчиняется тенденции, свойственной полярографическим волнам глобулы.

Кроме того, в полипептидной цепи субтилизина преобладают гидрофобные остатки аминокислот (153 аминокислотных остатка из 275 неполярны), которые способствуют свертыванию цепи в виде глобулы с образованием гидрофобного ядра (^{2, 4}). Поэтому логичнее рассматривать h субтилизина как волну, обусловленную разрядом полярографически активного центра глобулы. Более отрицательное напряжение для получения волны субтилизина связано с тем, что у субтилизина в состав полярографически активных центров входят какие-то другие группы, поскольку фермент серосодержащих аминокислотных остатков не имеет.

На основании изложенного следует отметить различную природу электропроводности Γ и АГС. Влияние воды на электропроводность белков и нуклеиновых кислот неоднократно обсуждалось в литературе (^{5, 6}). Однако не было установлено, что в макромолекуле белков существует два типа полупроводников и что структура воды играет существенную роль, в основном, в проводимости аглобулярных структур.

Институт микробиологии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
9 XII 1969

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. Д. Иванов, Е. Е. Рахлеева, Полярография структуры и функции биополимеров, «Наука», 1968. ² О. К. Давтян, Э. Г. Мисюк, В кн. Топливные элементы, «Наука», 1968, стр. 323. ³ E. L. Smith, R. J. De Lange et al., J. Biol. Chem., 243, № 9, 2184 (1968). ⁴ М. В. Волькенштейн, Физика ферментов, «Наука», 1967. ⁵ Д. Эли, В кн. Горизонты биохимии, М., 1964, стр. 261. ⁶ Н. В. Андреева, К. Ф. Турчин, В кн. Водородная связь, «Наука», 1964.