

О. Б. ПТИЦЫН

МНОГОЦЕНТРОВЫЙ МЕХАНИЗМ САМООРГАНИЗАЦИИ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ И КООПЕРАТИВНОСТЬ ИХ ДЕНАТУРАЦИИ И РЕНАТУРАЦИИ

(Представлено академиком А. С. Спириным 4 V 1975)

Одним из важнейших биологических условий, накладываемых на структуру глобулярных белков, является устойчивость этой структуры в широком интервале изменений внешней среды. Действительно, микрокалориметрические исследования тепловой денатурации и ренатурации глобулярных белков ⁽¹⁾ указывают на весьма низкую термодинамическую стабильность частично свернутых состояний белковой молекулы, промежуточных между нативным и денатурированным. Это ведет к серьезным ограничениям возможных путей самоорганизации белков. Ниже будет предложен механизм самоорганизации, удовлетворяющий этим ограничениям, т. е. обеспечивающий малую стабильность частично свернутых состояний белковой цепи.

Простейшая общая модель глобулярного белка состоит из взаимодействующих между собой участков («структурных сегментов») и $m-1$ петель между ними. Роль таких сегментов могут играть α -спиральные участки или β -структурные шпильки, из которых третичная структура белка может формироваться, как из блоков. Считая термодинамические параметры всех сегментов и всех петель одинаковыми, получаем, что статистический вес комплекса из k структурных сегментов $Z_k = \sigma^k v^{k-1} g^{k\gamma(k)}$. Здесь σ и v — константы равновесия между структурированным и неструктурированным состояниями сегмента и петли, без учета «объемных» межсегментных взаимодействий, а $g^{k\gamma(k)}$ — фактор, учитывающий эти межсегментные взаимодействия (множитель g соответствует полному насыщению всех способных к межсегментным взаимодействиям групп каждого сегмента, а $\gamma(k)$ — доля этих групп, насыщенных в комплексе из k сегментов). Зависимость $\gamma(k)$ можно аппроксимировать функцией $\gamma(k) = 1 - k^{-1}$, которая удовлетворяет очевидным условиям $\gamma(1) = 0$ и $\gamma(\infty) = 1$, а также условию $\gamma(2) \approx 1/2$, вытекающему из того, что при образовании комплекса из пары α -спиралей экранируется в среднем около $1/2$ их гидрофобных поверхностей, а при объединении двух β -структурных шпилек в единую β -структуру насыщается около $1/2$ их свободных допоров и акцепторов водородных связей. Следовательно, $Z_k = \sigma^k v^{k-1} g^{k-1} = c S^{k-1}$, где $S = \sigma v g$ имеет смысл константы роста глобулярной структуры, а c — константы ее инициации (равной статистическому весу структурированного состояния сегмента в отсутствие объемных взаимодействий).

Рассмотрим одnocentровый путь самоорганизации глобулярной структуры, состоящий в образовании и росте одного «центра кристаллизации» ⁽³⁻⁶⁾. Очевидно, что доля промежуточных состояний будет наименьшей, если такой путь самоорганизации уникален, т. е. если среди всех комплексов из k сегментов один термодинамически намного более выгоден, чем остальные. В этом случае статистическая сумма частично или полностью свернутых состояний белковой молекулы

$$Z_f = c \sum_{k=2}^m S^{k-1} = g_n \frac{1 - S^{-(m-1)}}{1 - S^{-1}} = g_n \frac{1 - x}{1 - x^{1/(m-1)}}, \quad (1)$$

где $g_n = \sigma S^{m-1}$ — статистический вес полностью свернутого состояния, $x = \sigma/g_n$, а статистическая сумма развернутой цепи принята равной единице.

В области перехода, когда $g_n \approx 1$ (т. е. $x \approx \sigma$), $Z_f = g_n(1 - \sigma^{1/(m-1)})^{-1}$. Так как $\sigma \ll 1$, то при малых m статистическая сумма частично свернутых состояний цепи $Z_i = Z_f - g_n \ll g_n$, т. е. вероятность частично свернутых состояний мала. Однако при $m \gg 1$ $\sigma^{1/(m-1)}$ не будет мало по сравнению с 1, т. е. Z_i будет сравнимо с g_n . Разумная оценка $\sigma = 10^{-2} - 10^{-4}$ дает при $m \geq 8 - 14$ $\sigma^{1/(m-1)} \geq 1/2$ (т. е. $S \geq 2$) и $Z_i/g_n \geq 1$. Таким образом, для достаточно больших белков (с $m \gg 1$) вероятность частично свернутых состояний будет весьма велика даже для уникальных (а тем более для не уникальных) одноцентровых путей самоорганизации.

Рассмотрим теперь многоцентровый путь кристаллизации, начинающийся с образования p центров кристаллизации (из $q = m/p$ сегментов каждый), которые затем последовательно сливаются между собой (⁴⁻⁶). В этом случае

$$Z_f = (Z_q)^p - 1 + \sum_{l=2}^p g_{lq} (Z_q)^{p-1} = (Z_q)^{\frac{m}{q}} - 1 + g_n \frac{1 - S^{-(m-q)} (Z_q)^{\frac{m}{q} - 1}}{1 - S^{-q} Z_q}, \quad (2)$$

где

$$Z_q = 1 + \sigma S^{q-1} \frac{1 - S^{-(q-1)}}{1 - S^{-1}} \quad (3)$$

— статистическая сумма одного центра кристаллизации (включая все промежуточные структуры при его образовании), а $g_{lq} = \sigma S^{lq-1}$ — статистический вес комплекса из l центров.

В частности, при $p=2$ (двухцентровый путь)

$$Z_f = (Z_{m/2})^2 - 1 + g_n \approx g_n \left[1 + \frac{2\sqrt{\sigma/S}}{1 - S^{-1}} \right] + O(\sigma). \quad (4)$$

Из формул (1) и (4) следует, что для двухцентрового пути $Z_i = Z_f - g_n$ равна Z_i для одноцентрового пути, умноженной на величину $2\sqrt{\sigma/S} \ll 1$. Иными словами, для двухцентрового пути самоорганизации вероятность частично свернутых состояний значительно меньше, чем для одноцентрового пути. Это легко понять, так как стабильность комплекса структурных сегментов увеличивается с его размерами, а ближайшее к нативному промежуточное состояние соответствует для двухцентрового пути сворачиванию двух половинок молекулы, а для одноцентрового пути — сворачиванию всей молекулы, кроме одного сегмента.

С увеличением числа центров кристаллизации доля частично свернутых состояний будет медленно возрастать, оставаясь, однако, меньше, чем при одноцентровом пути. Так из формул (1) — (3) следует, что, например, при $m=12$ и $\sigma \approx 5 \cdot 10^{-4}$ доля частично свернутых состояний в середине перехода $\theta_i = (Z_f - g_n)/(Z_f + 1)$ равна 0,33; 0,03; 0,04; 0,10 и 0,14 соответственно для одно-, двух-, трех-, четырех- и шестицентрового путей самоорганизации. Действительно, при большом числе центров кристаллизации ближайшее к нативному промежуточное состояние соответствует сворачиванию всей молекулы, кроме одного центра, т. е. не очень сильно отличается от нативного.

Таким образом, предлагаемая гипотеза состоит в том, что кооперативность денатурации и ренатурации глобулярных белков есть следствие существующего им механизма самоорганизации из небольшого числа блоков, сравнимых по величине со всей молекулой. Для очень маленьких белков такими блоками могут служить непосредственно структурные сегменты, а для остальных белков эти сегменты должны предварительно объединяться в два или несколько «центров кристаллизации».

Предлагаемый механизм самоорганизации приводит к тому, что любой не очень маленький белок должен состоять из двух или нескольких «ядер» («доменов»). Такие ядра, действительно, наблюдаются в пространственных структурах многих белков (см., например, (7-9)), их наличие принято связывать с происхождением современных белков из маленьких «прабелков» путем сплавления или редупликации генов. Однако многоцентровый механизм самоорганизации может сохраняться и в тех случаях, когда из-за многочисленных приспособительных мутаций первоначальные ядра так плотно «срослись», что уже не прослеживаются в пространственной структуре белка. Таким образом, многоцентровый механизм самоорганизации современных белков может хранить память об одноцентровых механизмах самоорганизации маленьких прабелков, входящих в их состав, демонстрируя повторение онтогенезом филогенеза на молекулярном уровне.

Автор сердечно благодарит А. С. Спирина, Т. М. Бирштейн, В. И. Лима и А. В. Финкельштейна за чтение рукописи и ценную дискуссию.

Институт белка
Академии наук СССР
Пушкино Московской обл.

Поступило
28 IV 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. L. Privalov, N. N. Khechinashvili, J. Mol. Biol., v. 86, 665 (1974). ² O. B. Ptitsyn, V. I. Lim, A. V. Finkelstein, Proc. VIII FEBS Meeting, v. 25, Analysis and Simulation of Biochemical Systems, 1972, p. 421. ³ C. B. Anfinsen, Biochem. J., v. 128, 737 (1972). ⁴ О. Б. Прицын, Вестн. АН СССР, № 5, 57 (1973). ⁵ О. Б. Прицын, А. А. Рашин, ДАН, т. 213, 473 (1973). ⁶ O. B. Ptitsyn, A. A. Rashin, Biophys. Chem., v. 3, 1 (1975). ⁷ R. H. Kretsinger, Nature, New Biol., v. 240, 85 (1972). ⁸ D. Wetlaufer, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., v. 70, 697 (1973). ⁹ M. G. Rossman, A. Liljas, J. Mol. Biol., v. 85, 177 (1974).