

Лекция 4: Фундаментальные биологические процессы

1 Характеристики белков

1. Белки являются одними из самых важных молекул для живого организма. Белки могут осуществлять многочисленные биофизические и биохимические функции: хранение и перенос кислорода, сокращение мускул, перемещение клеток, митоз и так далее.
2. Белки представляют из себя гетерополимеры, состоящие из 20 различных аминокислот (Рис. 1). Аминокислоты ковалентно связываются через амидную связь, образуя полипептидную цепь. Аминокислоты отличаются боковым радикалом. Среднее количество аминокислот в белке, $N \approx 450$, но N может находиться в пределах от 30 до 10^4 .
3. Самым главным свойством белков является наличие уникального нативного состояния - одной, хорошо определённой структуры, которая позволяет белку выполнять свою биологическую функцию. Различие нативных структур для разных белков определяется различием их первичной структуры, то есть различием в последовательности аминокислот в белке. Большие белки часто формируют отдельные домены, количество аминокислот в каждом из которых редко превышает 100.
4. Нативное состояние белка стабилизируется электростатическими взаимодействиями и взаимодействиями Ван-дер-Ваальса между парами атомов белка, а также между

атомами белка и растворителя. Сложный баланс взаимодействий между атомами определяет нативную структуру белка:

- (a) Отталкивания, исключая взаимное проникновение объёмов Ван-дер-Ваальса двух атомов.
- (b) Солевые мостики или электростатические взаимодействия между заряженными аминокислотами.
- (c) Водородные связи, которые являются электростатическими и возникают в результате разделения водорода между донором и акцептором.
- (d) Гидрофобные взаимодействия, которые являются следствием того, что гидрофобные аминокислоты обладают меньшей свободной энергией, будучи внутри белка, а гидрофильные — будучи снаружи. Основная причина гидрофобных взаимодействий — взаимодействие между белком и растворителем.

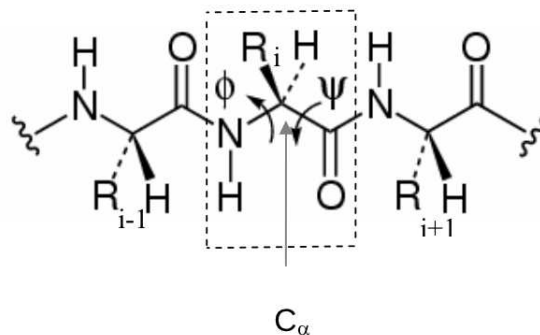


Рис. 1: Структура полипептидной цепи белка. Одна из аминокислот, i , обозначена пунктирным прямоугольником, состоит из амидной группы NH, карбоксильной группы CO, углерода C_{α} и бокового радикала R_i . Последний, вместе с атомом водорода, ковалентно связан с углеродом C_{α} . Аминокислоты различаются боковыми радикалами R_i , а белки состоят из 20 различных типов аминокислот.

2 Проблема фолдинга белков

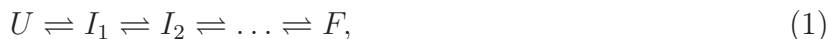
Белки синтезируются рибосомой, которая считывает генетическую информацию с ДНК. После этого, белки попадают в клеточную среду и образуют нативную структуру. Фолдинг является процессом самоорганизации, в котором ковалентно связанная последовательность аминокислот образует нативное состояние белка. Экспериментально было показано, что белки могут денатурировать и образовывать нативное состояние без внешнего вмешательства. Поэтому, нативное состояние белка определяется последовательностью аминокислот, и, скорее всего, является минимумом свободной энергии для полипептидной цепи белка.

Для того, чтобы понять проблемы обнаружения механизма фолдинга белков (или проблему фолдинга), можно рассмотреть парадокс Левинталя, сформулированный в 1967 году. Рассмотрим белок, состоящий из $N = 100$ аминокислот. Так как аминокислоты могут вращаться относительно друг-друга, каждая из аминокислот может принять одну из как минимум 10 конформаций. В таком случае, общее число конформаций, доступных белку составляет $C = 10^N = 10^{100}$. Будем считать, что скорость смены конформации порядка $s = 10^{14}$ конформаций в секунду. Если фолдинг белка – случайный процесс, в котором все конформации “опробуются”, то время фолдинга белка составит $\tau_F \sim C/s \sim 10^{80}$ лет, что превышает возраст вселенной. Поэтому, должен быть какойто направленный путь от растянутой полипептидной цепи к нативному состоянию.

3 “Старый” взгляд на проблему фолдинга

Парадокс Левинталя может быть разрешён, если считать, что белок образует нативное состояние, проходя через несколько хорошо определённых состояний. Эта теория была обоснована на изучении фолдинга белка ВРТИ. Этот белок состоит из 56 аминокислот, среди которых – 6 цистинов (Рис. 2), которые могут образовывать дисульфидные связи. В 70х годах прошлого века, Томасом Креightonом (Thomas Creighton) было показано, что у ВРТИ существует три хорошо определённых состояния, через которые он проходит на пути к нативной структуре. Эти состояния характеризуются последовательно формируемыми

дисульфидными связями. Как результат, процесс фолдинга этого белка может быть представлен в виде кинетической реакции, содержащей несколько промежуточных состояний:



где U – денатурированное состояние, F – нативное состояние, а I_n – промежуточные состояния, которые характеризуются конфигурацией дисульфидных связей.

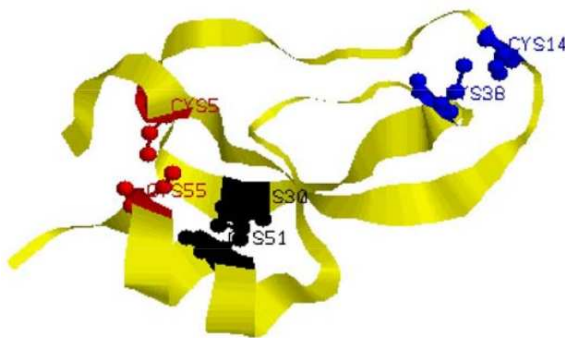
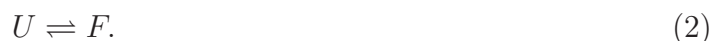


Рис. 2: Нативное состояние белка ВРТИ, включающее в себя три дисульфидные связи между цистинами, показанными красным, чёрным и синим цветом.

4 “Новый” взгляд на проблему фолдинга

Тем не менее, с помощью кинетических экспериментов, было показано, что даже небольшой белок ($N < 100$) может показывать очень направленный процесс фолдинга без каких-либо хорошо определённых промежуточных состояний. Результаты подобного эксперимента показаны на рисунке 3. Более того, кинетика фолдинга в этих случаях обычно экспоненциальная. Эти наблюдения предполагают следующую кинетическую схему фолдинга:



Энергитический ландшафт свободной энергии удобно представить в виде фронки фолдинга (Рис. 4).

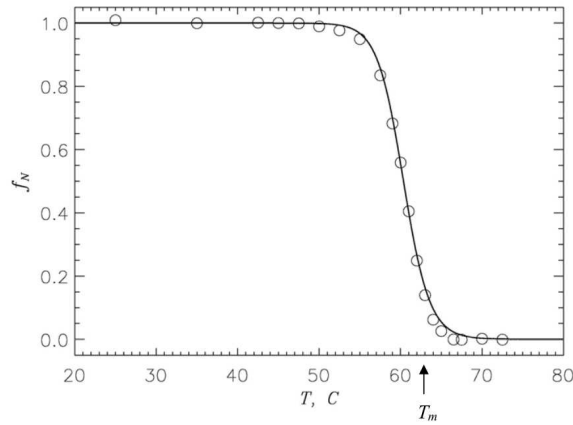


Рис. 3: Температурный фолдинг белка, показанный как доля белка в нативном состоянии (f_N). Резкий переход в районе "точки плавления" (T_m) показывает, что фолдинг происходит в один шаг.

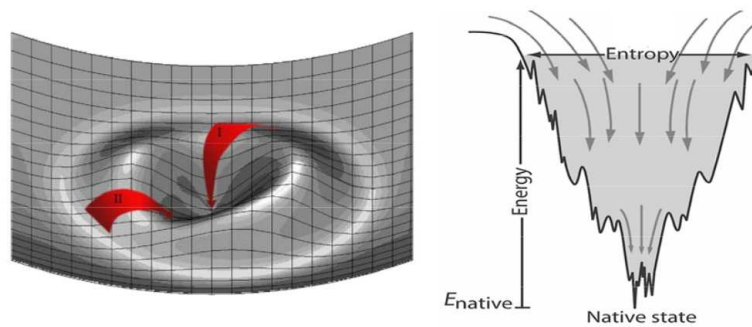


Рис. 4: Концептуальное изображение ландшафта свободной энергии (слева) и его энергетическая версия (справа). Свободная энергия минимальна на дне воронки, что соответствует нативному состоянию. Барьеры свободной энергии показаны как неровности на поверхности. Денатурированные состояния находятся на верхнем, широком, конце воронки. Сужение воронки при приближении к нативному состоянию показывает уменьшение энтропии, что компенсируется уменьшением энергии (то есть увеличением модуля притягательных взаимодействий). Красные стрелки показывают различные пути к нативному состоянию.