

## ГЛАВА 3

# МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

Живий організм – це відкрита, самоврегульована гетерогенна система, що самовідтворюється і розвивається. В той же час він є складною хімічною системою: існує завдяки хімічним перетворенням речовин, що надходять ззовні, і виділенню речовин у навколишнє середовище завдяки метаболізму. Її найважливішими функціональними речовинами є вода і біополімери (білки й нуклеїнові кислоти). При чому будова й властивості клітини й організму диктуються нуклеїновими кислотами (ДНК і РНК), що задають генетичну програму синтезу білків. У свою чергу, жодна хімічна реакція в клітині не відбувається без участі спеціальних ферментів – білків. А усі біохімічні реакції здійснюються у водному середовищі.

Молекулярна біофізика вивчає фізико-хімічні властивості й функціональну роль біологічних макромолекул (біополімерів) та молекулярних комплексів (ультраструктур) живих організмів (рис. 3.1), які створюють функціональні одиниці клітин, характер взаємодії їх з іонами, молекулами і радикалами, їх просторової будови й енергетики процесів, що в них відбуваються.

Основне завдання цього розділу – з'ясування зв'язків фізичної структури і властивостей біологічно важливих молекул з виконуваними ними в організмі функціями.

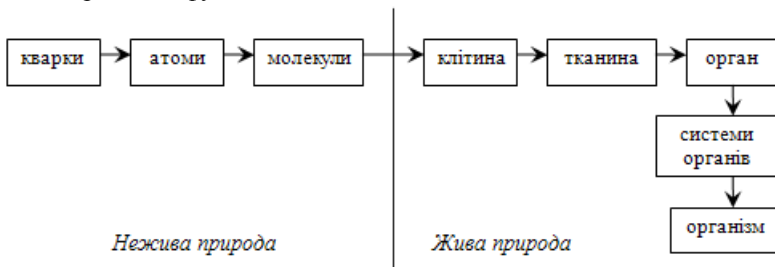


Рис. 3.1. Фізична ієрархія біосистем

*Біополімери* – це біологічно важливі макромолекули, які побудовані в основному з азоту, вуглецю, водню, кисню, фосфору і сірки. Велику роль відіграють такі іони, як  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ .

Крім того, значний вплив на живі системи здійснюють малі кількості таких металів як Fe, Zn, Cu, Mg та інші. У процентному відношенні людський організм містить елементи: Н – 60 %, О – 26 %, С – 11 %, N – 2,5%, Са – 0,2 %, Р – 0,13 %, S – 0,13 %, Na – 0,08 %, Cl – 0,03 %, Mg – 0,01 %.

Основна функція біомолекул – побудова клітин і забезпечення біоенергетичних процесів (у природі у всіх видів хребетних налічується близько 200 типів клітин).

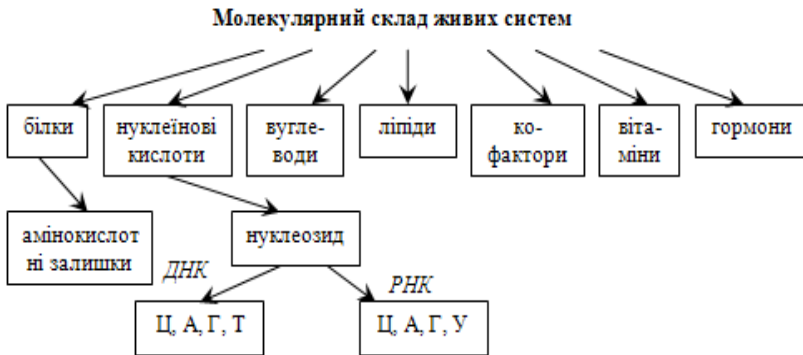
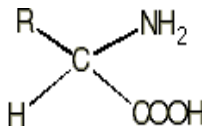


Рис. 3.2. Молекулярний склад живих систем

### § 3.1. КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНИХ БІОПОЛІМЕРІВ

*Амінокислоти.* Хімічна будова амінокислот, залишки яких фігурують в білках і поліпептидах (білкові ланцюги завдовжки до 100 ланок), має наступний вигляд:

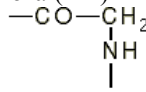


де  $R$  – радикал, як правило вуглеводневий, або містить, окрім атомів С і Н, інші атоми (в основному, О, S, N).

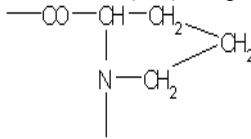
Усі білки складаються, в основному, з 20 канонічних амінокислотних залишків (АКЗ). Ряд амінокислот, що не фігурують у білках, бере участь у метаболізмі. Розглянемо деякі приклади:

## Основи біофізики і біомеханіки

1. Залишок – Гліцил (Gly).  
Амінокислота (АК) – Гліцин (G).



2. Проліл (Pro):  
Амінокислота (АК) – Пролін.

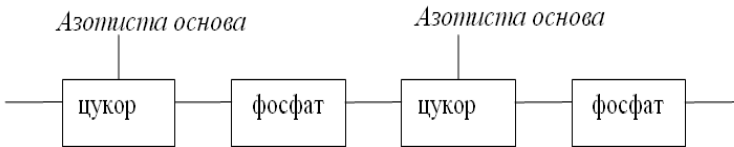


Із 20 залишків 14 є нейтральними, 3 – кислими, 3 – лужними. Окрім 20 канонічних залишків, у білках зустрічаються похідні від них (неканонічні залишки). Ряд фактів свідчить про те, що в нейтральному середовищі амінокислоти є диполярними іонами. Усе різноманіття білків визначається різноманіттям амінокислот, які у свою чергу відрізняються лише будовою радикалу *R*. При поліконденсації амінокислот у білковий ланцюг утворюється пептидний зв'язок –СО – NH –, і виділяється вода.

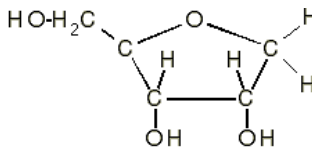
*Нуклеїнові кислоти (НК)*. НК є обов'язковими учасниками процесів синтезу білків. Нуклеїнові кислоти – це складні високомолекулярні біополімери, мономерами яких є нуклеотиди.

Уперше їх було виявлено в ядрі клітин, звідки й походить назва цих сполук (від лат. *нуклеус* – ядро). Основний ланцюг нуклеїнових кислот складається з ланок фосфорної кислоти і цукру (рибоза в РНК; дезоксирибоза в ДНК). До цукрів приєднуються азотисті основи, які вже не повторюють один одного.

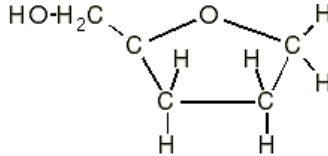
Загальна схема будови ланцюга:



**Рибоза:**



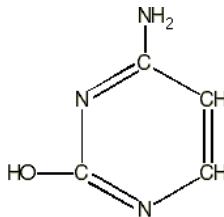
**Дезоксирибоза:**



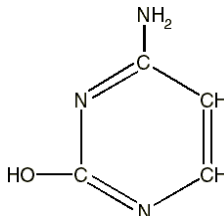
Нуклеїновим кислотам, як і білкам, притаманна первинна структура – певна послідовність розташування нуклеотидів, а також складніша вторинна і третинна структури, які формуються завдяки водневим зв'язкам, електростатичним та іншим взаємодіям. Окремі нуклеотиди сполучаються між собою у ланцюг за допомогою особливих «містків» між залишками пентоз двох сусідніх нуклеотидів. Ці «містки» є різновидом міцних ковалентних зв'язків.

Подібно до того, як у білках фігурують 20 амінокислотних залишків, так у ДНК і РНК фігурують 4 азотистих основ. Але поряд з канонічними основами зустрічаються похідні від них – мінорні основи. У ДНК фігурують цитозин (Ц), тимін (Т), аденін (А), гуанін (Г); у РНК – цитозин (Ц), тимін (Т), аденін (А), урацил (У).

**Цитозин:**

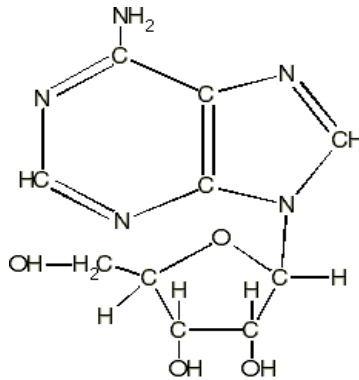


**Тимін:**



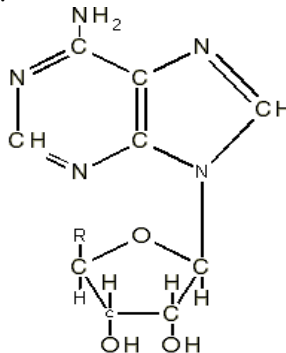
Для всіх азотистих основ характерна наявність центрального кільця за типом бензолового. Наявність подвійних зв'язків призводить до наявності делокалізованих електронів, що належать усьому кільцю. *Сполуки азотистих основ з рибозою і дезоксирибозою називаються нуклеозідами* (відповідно, рибонуклеозіди і дезоксирибонуклеозіди).

**Приклад:**  
**Аденозин**



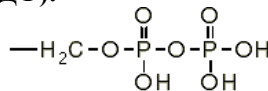
Аналогічні нуклеозиди Г, Т, У називаються відповідно: гуанозін, тимідин, уридин. У результаті фосфорилування утворюються ді- і тріфосфати. Ці мономерні з'єднання відіграють найважливішу роль у біоенергетичних процесах.

*Структурна схема:*

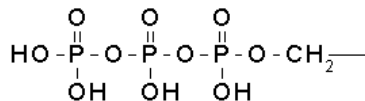


Замість *R*:

**Аденозиндифосфат (АДФ):**



**Аденозинтрифосфат (АТФ):**



Утворення нуклеїнової кислоти відбувається шляхом поліконденсації нуклеозидтрифосфату. При включенні у ланцюг кожного нуклеозиду відщеплюється одна молекула дифосфату – пірофосфорна кислота.

Нуклеїнові кислоти подібно до білкових ланцюгів є лінійними нерозгалуженими ланцюгами. Первинна структура нуклеїнової кислоти визначається послідовністю азотистих основ. Розшифрування структури ДНК має свою передісторію. У 1950 році американський учений **Ервін Чаргофф** та його колеги, досліджуючи склад ДНК, виявили певні закономірності кількісного вмісту залишків нітратних основ у її молекулі:

- кількість аденінових залишків у будь-якій молекулі ДНК дорівнює числу тимінових ( $A = T$ ), а гуанінових – цитозинових ( $G = C$ );
- сума аденінових і гуанінових залишків дорівнює сумі тимінових і цитозинових ( $A + G = T + C$ ).

Це відкриття сприяло встановленню просторової структури ДНК і визначенню її ролі в перенесенні спадкової інформації від материнської клітини до дочірньої, від одного покоління організмів до іншого.

У 1953 році **Джеймс Уотсон** і **Френсіс Крік** запропонували модель просторової структури ДНК, правильність якої згодом було підтверджено експериментально. Молекула ДНК складається з двох ланцюгів нуклеотидів, які з'єднуються між собою за допомогою водневих зв'язків. Ці зв'язки виникають між двома нуклеотидами, які ніби доповнюють один одного за розмірами. Встановлено, що залишок аденіну (A) завжди сполучається із залишком тиміну (T) (між ними виникає двоводневий зв'язок), а гуаніну (G) – із залишком цитозину (C) (між ними виникає триводневий зв'язок). Чітка відповідність нуклеотидів у двох ланцюгах ДНК має назву *комплементарність* (від лат. *комплементум* – доповнення).

Відповідно до запропонованої моделі будови ДНК два ланцюги нуклеотидів обвивають один одного, створюючи закручену праворуч спіраль (вторинна структура ДНК). При цьому діаметр спіралі становить приблизно 2 нм.

За певних умов (дія кислот, лугів, високої температури тощо) відбувається процес денатурації ДНК – розривання водневих зв'язків між комплементарними нітратними основами різних полінуклеотидних ланцюгів. При цьому ДНК повністю або частково розпадається на окремі ланцюги, через що втрачає свою біологічну активність. Денатурована ДНК після припинення дії факторів, які її спричиняють, може поновити свою структуру завдяки відновленню водневих зв'язків між комплементарними нуклеотидами (процес ренатурації ДНК).

Завдяки здатності формувати структури вищих порядків (третинну, тощо) молекула ДНК набуває вигляду компактних утворень. Наприклад, довжина молекули ДНК найбільшої хромосоми людини дорівнює приблизно 8 см, але вона укладена таким чином, що міститься в хромосомі завдовжки лише приблизно 5 нм. Це стає можливим завдяки просторовому ущільненню дволанцюгової спіралі ДНК з утворенням трьохмірної структури – суперспіралі. Це зумовлено взаємодією між ДНК і ядерними білками клітин еукаріотів. У багатьох прокариотів, деяких вірусів, а також у мітохондріях і хлоропластах еукаріотів ДНК з білками не взаємодіє і має кільцеву структуру.

Здатність подвійної спіралі ДНК приймати різні конформації має назву *поліморфізму ДНК*. Рентгеноструктурні дослідження кристалів полінуклеотидів виявили три основні типи структур – А-, В- і Z-форми. В-ДНК – це стандартна уотсон-кріковська структура, в якій площини пар основ перпендикулярні осі подвійної спіралі. В А-ДНК площини пар основ повернуті приблизно на  $20^{\circ}$  від нормалі до осі правої подвійної спіралі. На виток спіралі тут доводиться 11 пар основ. А-ДНК утворюється при висушуванні волокон В-ДНК. Z-ДНК – це ліва спіраль з 12 парами основ на виток. Буква Z вказує на зигзагоподібну форму цукрофосфатного остову ДНК в цій формі. Площина основ приблизно перпендикулярна осі спіралі. У клітині ДНК зазвичай знаходиться в В-формі, але окремі її ділянки можуть знаходитися в А-, Z- або навіть іншій конформації.

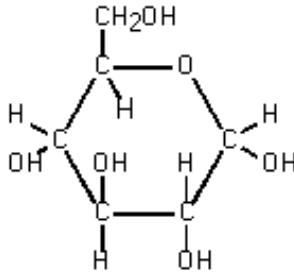
ДНК міститься, в основному, в хромосомах клітини, і її молекулярна вага досягає мільярдів (щонайдовші біополімери). РНК міститься в цитоплазмі ядер клітин, у рослинних вірусах і фагах.

Молекули рибонуклеїнових кислот (РНК) мають подібну до ДНК будову, але складаються лише з одного ланцюга. Прийнято розрізняти чотири типи РНК:

1. Рібосомальна РНК (молекулярна вага –  $2 \cdot 10^6$ );
2. Матрична РНК ( $3-7 \cdot 10^6$ ) (оскільки середня вага рибонуклеотиду дорівнює 224, то найкоротші ланцюги матричної РНК містять більше 150 нуклеотидів);
3. Транспортна РНК ( $2 \cdot 10^6$ ) (близько 80 нуклеотидів);
4. Вірусна РНК.

Вони розрізняються місцем розташування в клітині, формою, розмірами та функціями.

**Вуглеводи і ліпіди.** Вуглеводи (полісахариди) побудовані в основному з моносахаридних ланок, що мають у вільному мономерному стані формулу  $C_6H_{12}O_6$ . Найважливішою для організму моносахаридом є глюкоза. Її структурний вигляд:



*Функції полісахаридів:*

1. Джерела моно- і дисахаридів, які використовуються клітиною при диханні.

2. Входять до складу скелетоутворюючих речовин (мукополісахариди в кістках).

У мембранах клітин полісахариди знаходяться у комплексах з білками і ліпідами: мембрани утворені комплексами білків з ліпідами і, у ряді випадків, з полісахаридами. *Ліпіди* – природні жири, є тригліцерами жирних кислот.

*Кофактори. Вітаміни. Гормони.* Білки виконують свою найважливішу ферментативну функцію в більшій частині в комплексах з низькомолекулярними *кофакторами*. Кофактор відносно слабо зв'язаний з білком і здатний переходити від однієї молекули до іншої. Наприклад, кофактором є комплекс гем у гемоглобіні.

*Вітаміни* необхідні організму як каталізатори найважливіших біохімічних реакцій і присутні в малих кількостях.

*Гормони* – це сигнальні і регуляторні речовини (наприклад, інсулін).

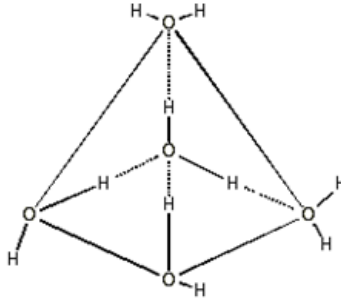
### § 3.2. БІОЛОГІЧНА РОЛЬ ВОДИ, ЇЇ СТРУКТУРА, ГІДРОФІЛЬНІ І ГІДРОФОБНІ ВЗАЄМОДІЇ

Перше місце серед складових речовин клітини займає вода. Вона становить майже 80 % маси клітини. Вода – це дуже важливий компонент клітини не тільки за кількістю, їй належить істотна і різнобічна роль у житті клітини. Вода визначає фізичні властивості клітини – її об'єм, пружність.

Важлива роль належить воді в утворенні структури молекул органічних речовин, зокрема структури білків. Велике значення має вода як розчинник: багато речовин надходять у клітину із зовнішнього середовища у водному розчині, а відпрацьовані продукти виводяться з клітини також у водному розчині. Нарешті, вода є безпосереднім учасником хімічних реакцій (розщеплення білків, вуглеводів, жирів тощо).



Біологічна роль води визначається особливістю її молекулярної структури, полярністю її молекул. Молекула води є диполем через свою асиметрію. У водному розчині атом  $O_2$  розташовується немов у центрі тетраедра, у двох вершинах якого знаходяться атоми H (рис. 3.2.1.).



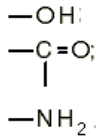
**Рис. 3.2.1.** Тетраедричні властивості молекули води

Дві пари електронів кисню, що не беруть участь в утворенні валентного зв'язку, знаходяться на витягнутих орбіталях, вісі яких направлені до двох вершин тетраедра. Ці електронні пари несуть негативний заряд і притягують атоми водню двох сусідніх молекул, тобто утворюють водневі зв'язки. Завдяки цим взаємодіям у рідкій воді формуються асоціації молекул, які називаються *кластерами*.

Структура кластерів схожа зі структурою льоду. Проте ця кристалічна решітка відрізняється певною «рихлістю» (саме цим пояснюється невисока щільність льоду). В той же час, навіть після повного танення льоду, в рідкій фазі води зберігаються льдоподібні структури – кластери. Між неструктурованою водою і кластерами постійно здійснюється обмін молекулами так, що в середньому час життя кластеру складає  $10^{-10}$  с. При  $20^\circ\text{C}$  у воді частина незв'язаних у кластери молекул складає 29,5 %. Із збільшенням температури середній розмір кластера зменшується, і частина незв'язаних молекул зростає (саме плавленням кластерів пояснюється висока теплоємність води).

Особливості молекулярної структури води пояснюють і її властивості, як розчинника. Фізичні причини розчинності або нерозчинності речовини у воді були з'ясовані після вимірювання термодинамічних параметрів процесів розчинення. У воді добре розчиняються органічні сполуки, котрі містять полярні групи і здатні вступати в електростатичну взаємодію з молекулами води або утворювати з ними водневі зв'язки.

Такими, зокрема, є групи:



У клітині міститься багато гідрофільних речовин: солі, вуглеводи, білки, низькомолекулярні органічні сполуки. Речовини, які добре розчиняються у воді, називаються *гідрофільними речовинами* (грец. «гідрос» – вода, «філео» – люблю).

Навпаки, неполярні сполуки погано розчиняються у воді. Речовини, які погано розчиняються у воді або зовсім не розчиняються у воді (наприклад, жири, клітковина тощо) називаються *гідрофобними речовинами* (грец. «гідрос» – вода, «фобос» – страх, ненавиджу). Було встановлено, що при поганій розчинності вуглеводню у воді зміна вільної енергії є позитивною, і, отже, ентропія системи зменшується. Прямими фізичними дослідженнями було показано, що при цьому відбувається збільшення частини кластерів. При розчиненні молекули вуглеводів вкорінюються в порожнини всередині комірок тетраедрів кластерів і витісняють звідти неструктуровану воду. Остання утворює нові кластери, і впорядкованість системи збільшується, а значить, ентропія зменшується. Тому гідрофобні взаємодії є результатом властивостей води, а не якихось особливих сил, що зв'язують неполярні групи одну з одною. Таким чином, асоціація неполярних молекул у воді за рахунок гідрофобних взаємодій визначається виштовхуючою дією води на неполярні сполуки, що зумовлено тенденцією молекул води до досягнення стану максимальної неупорядкованості.

Оскільки більшість білків функціонують у водному середовищі, то взаємодія складових їх мономерів з водою визначає просторову конформацію макромолекули білка в цілому.

### § 3.3. БЮФЗИКА БІЛКІВ

**Біологічні функції білків.** Усі найважливіші процеси в клітині і організмі відбуваються за обов'язкової участі білків. Найкраще відома роль білків в організмі – каталіз різних хімічних реакцій.

Ферменти – тип білків, що характеризується специфічними каталітичними властивостями, тобто кожний фермент каталізує одну або декілька реакцій. Ферменти каталізують реакції розщеплювання (катаболізм) і синтезу (анаболізм) складних молекул, зокрема, синтез та деградацію ДНК, РНК, білків, ліпідів та цукрів. Крім того, вони каталізують синтез та деградацію малих молекул, хімічні модифікації

та ряд інших реакцій, необхідних для життєдіяльності. Відомо біля 4 тисяч реакцій, що каталізуються ферментами, багато з них протікають поза межами клітин, наприклад, фермент пепсин розщеплює білки в процесі травлення. Прискорення реакції у результаті ферментативного каталізу часто величезне: наприклад, реакція, що каталізується ферментом оротат-карбоксилазою протікає в  $10^{17}$  разів швидше, ніж без каталізатора.

Хоча ферменти зазвичай складаються з сотень амінокислот, тільки невелика частина з них взаємодіє з субстратом, і ще менша кількість – у середньому 3-4 амінокислоти в одній молекулі білка, часто розташовані далеко одна від одної в первинній амінокислотній послідовності, – безпосередньо беруть участь у каталізі. Частина ферменту, яка з'єднується із субстратом і містить каталітичні амінокислоти, називається активним центром ферменту.

Білки-ферменти каталізують усі біохімічні процеси в клітині, тому каталітична (або ферментативна) функція білків є основною. Ферменти є необхідними учасниками біосинтезу білків, запрограмованого на генетичному рівні, і одночасно з цим білки виступають регуляторами генетичних функцій нуклеїнових кислот.

У багатоклітинному організмі білки виконують специфічні функції. Спеціалізовані білки – гаммаглобуліни – захищають організм від чужорідних біополімерів, виконуючи тим самим імунологічну функцію. Багато білків, що входять до складу крові, беруть участь у захисній відповіді організму як на пошкодження, так і на атаку патогенів. Прикладами першої групи білків служать фібриногени і тромбіни, що беруть участь у згортанні крові, а антитіла (імуноглобуліни), нейтралізують бактерії, віруси або чужорідні білки. Антитіла, що входять до складу адаптативної імунної системи, приєднуються до чужорідних для даного організму речовин, антигенів, і таким чином нейтралізують їх, направляючи до місць знищення.

Захист клітин від токсинів, шкідливих хімічних речовин із навколишнього середовища й продуктів власного метаболізму, а також багатьох фармацевтичних препаратів може здійснюватися мембранними білками-насосами. Різноманітність, специфічність і принцип дії таких білків-насосів, що відкачують шкідливі речовини із клітин, сильно варіює від організму до організму.

Механохімічна функція скоротливих білків лежить в основі м'язового скорочення. Скоротливі білки – це ферменти, в результаті каталітичної діяльності яких хімічна енергія перетворюється на механічну роботу.

Існування клітини і цілісного організму вимагає просторового розмежування мембранами, які характеризуються різною проникністю.

Деякі мембранні білки беруть участь у транспорті малих молекул через біологічні мембрани, змінюючи їхню проникність для цих молекул. Ліпідний компонент мембрани водонепроникний (гідрофобний), що запобігає дифузії полярних або заряджених молекул. Ці мембранні білки містять внутрішні канали, які дозволяють таким молекулам переміщуватися всередину або назовні, та мають можливість відкривати або закривати їх за певними умовами. Багато іонних каналів спеціалізується на транспорті тільки одного іона. Так, калійні і натрієві канали розрізняють ці схожі йони і пропускають тільки один із них.

Спеціальні (фіблярні) білки входять до складу шкіри, кісток, волосся, сухожилів і виконують опорну функцію, забезпечуючи не жорсткий, але надійний взаємозв'язок органів, а також їхню механічну цілісність і захист. Реакція організму на більшість зовнішніх дій будь-якої природи зводиться до перекодування зовнішніх сигналів на білкові взаємодії.

**Конформація поліпептидного ланцюга.** Білки – це високомолекулярні сполуки з певною хімічною будовою. Молекула білка складається з одного або декількох поліпептидних ланцюгів, утворених у результаті поліконденсації амінокислот. При об'єднанні амінокислот у білковий ланцюг утворюються пептидні зв'язки (-NH-CO-), на одному кінці яких знаходиться  $\text{NH}^{+3}$  група, на іншому COO- група.

Особливістю пептидного зв'язку є те, що 4 атоми N, H, C, O розташовуються в одній площині. Білок можна розглядати як ланцюг пов'язаних один з одним плоских пептидних ланок. Обертання цих ланок можливе лише довкола одинарних зв'язків вуглецю та амінокислот (рис. 3.3.1):

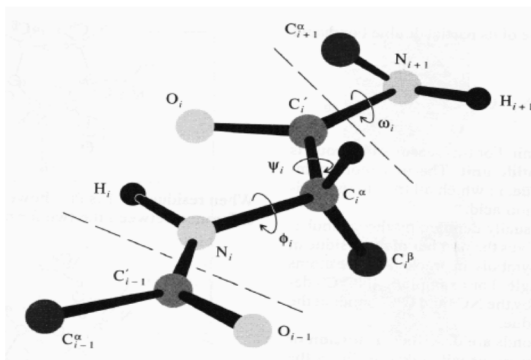


Рис. 3.3.1. Схематичне зображення кутів, які описують конформацію поліпептидного ланцюга



Рівень гідрофобності амінокислотних залишків

Гідрофобні $\Delta F_{\text{кДж/моль}}$	Три	Іле	Тир	Фен	Про
	12,50	12,40	12,00	11,10	10,85
Гідрофобні $\Delta F_{\text{кДж/моль}}$	Лей	Вал	Лиз	Гис	Мет
	10,10	7,06	6,27	5,85	5,45
Гідрофобні $\Delta F_{\text{кДж/моль}}$	Ала	Арг	Цис	Глу	Асп
	3,05	3,05	2,71	2,50	2,26
Гідрофобні $\Delta F_{\text{кДж/моль}}$	Тре	Сер	Гли	Асн	Глн
	1,84	0,17	0,00	-0,04	-0,42

Назви залишків: гліцил, аланіл, валіл, лейцил, ізолейцил (іле), фенілаланіл (фен), пролил, тритофоніл (три), серил (сер), треонил (тре), метионил (мет), аспарагинил (асп), глутаминил (глі), цистинил, аспаргил, глутамил (глу), тирозил, гистидил (гис), лизил (лиз), аргинил (арг).

Гіпотеза про визначальну роль гідрофобних взаємодій була доведена у 1944 році. Ідея полягала в тому, що гнучка молекула білка у воді згортається в глобулу (оскільки полярні залишки білка прагнуть до максимального контакту з водним оточенням, а неполярні – до мінімального контакту). З геометрії відомо, що мінімальною поверхнею при заданому об'ємі володіє куля. Прагнення неполярних залишків утворити всередині білкової частини якусь подібність краплі у вигляді кулі, а полярних – зосередитися на її поверхні, і приводить до утворення компактного тіла – глобули з гідрофобним ядром і гідрофільною поверхнею.

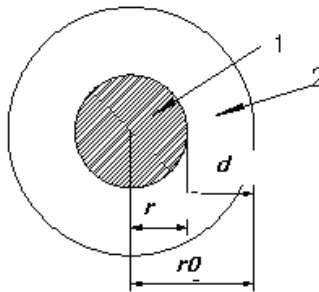


Рис. 3.4.1. Орієнтація водневих зв'язків у структурі білкової молекули  
1 – гідрофобне ядро; 2 – гідрофільна оболонка

У 1964 році Фішер встановив, що, знаючи загальне число амінокислотних залишків у ядрі і відношення полярних залишків до неполярних, можна передбачити форму глобули. Для простоти вважатимемо, що всі залишки мають однакові об'єми. Знайдемо відношення числа полярних залишків до неполярних, яке позначимо  $b_s$ . Вважатимемо, що радіус глобули  $r_0$ , і глобула покрита мономолекулярним шаром полярних залишків товщиною  $d$  (Фішер вважав, що  $d \sim 4-5\text{Å}$ ). При зроблених припущеннях відношення числа полярних і неполярних залишків дорівнює відношенню об'ємів сферичного шару і центрального ядра:

$$b_s = \frac{V_{\text{полярн}}}{V_{\text{неполярн}}} = \frac{3 \cdot S \cdot d}{S \cdot r} = \frac{3d}{r_0 - d}$$

Отже, чим меншим є  $r_0$ , тим більшою має бути відносна гідрофільність білка. На рис. 3.4.2. наведено теоретичну криву (крива Фішера) значень параметра  $b$  від об'єму глобули ( $V = 4/3r_0^3$ ), а також експериментальні значення.

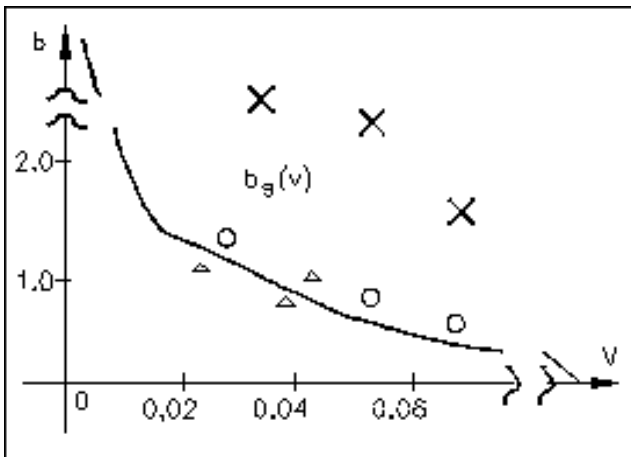


Рис. 3.4.2. Крива Фішера значень параметра  $b$  залежно від об'єму глобули ( $V = 4/3r_0^3$ ) (x – експериментальні значення)

Глобула може бути сферичною, строго кажучи, лише при  $b = b_s$  (відповідає кривий Фішера на графіку). Якщо  $b > b_s$ , тобто число полярних залишків у білку є більшим, ніж необхідно для того, щоб покрити гідрофобне ядро гідрофільним шаром, то глобула витягується до еліпсоїда і має більш велику поверхню, ніж у разі сфери.

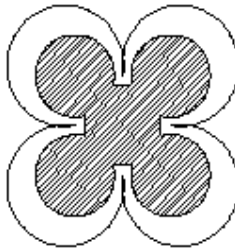


$$b \gg b_s$$



$$b < b_s$$

При  $b \gg b_s$  виникають фібрилярні структури, при  $b < b_s$  гідрофільні залишки не повністю закривають гідрофобне ядро, і гідрофобна взаємодія між такими відкритими ділянками призводить до агрегації білків і виникнення надмолекулярних структур.



$$b < b_s$$

Таким чином, білками, для яких значення  $b$  лежать вище кривою Фішера, є еліпсоїди і фібрили, а для яких значення  $b$  лежать на кривій – глобули. Під кривою розташовуються білки, які створюють надмолекулярну структуру. Формування гідрофобного ядра у глобулярних білках має принципове значення для їх функціонування. Білки при їх величезній молекулярній масі володіють порівняно компактною структурою перш за все, завдяки гідрофобним взаємодіям.

### § 3.5. ЗВ'ЯЗУВАННЯ ЛІГАНДІВ З МАКРОМОЛЕКУЛАМИ В БІОПОЛІМЕРАХ

*Комплексні сполуки* – це сполуки, до складу яких входять комплексні частинки (комплекси), що містять центральний атом (комплексоутворювач), оточений лігандами. Утворення комплексів



можна представити як результат взаємодії за доноро-акцепторним механізмом стабільних при звичайних умовах часток: атомів, іонів або молекул.

**Ліганди** (від лат. *ligo* – прив’язую) – це молекули або іони в комплексних сполуках, які безпосередньо пов’язані з центральним атомом.

Центральний атом та ліганди утворюють внутрішню сферу (комплекс), а молекули або йони, які оточують комплекс – зовнішню сферу. Центральним атомом можуть бути як метали, так і неметали.

Утворення комплексів між малою молекулою (іоном, метаболітом, гормоном) – лігандом, і центрами скріплення ліганду на макромолекулі М-коду лежить в основі функціонування багатьох біополімерів (целюлоза, крохмаль, білки та пептиди, ДНК, РНК) та широко використовується в різноманітних галузях хімічної технології (виділення, очищення, розділення платинових, рідкісноземельних та деяких інших металів).

Утворення комплексу  $ML$  між лігандом  $L$  і макромолекулою  $M$  можна розглядати як кінетичну реакцію, константа рівноваги якої дорівнює  $K$ :



$$K = \frac{[ML]}{[M][L]} \quad (3.5.2)$$

Позначимо через  $r$  концентрацію зв’язаного ліганду, через  $c$  – концентрацію вільного ліганду в розчині, через  $N$  – концентрацію центрів скріплення лігандів на макромолекулі. Тоді концентрація незайнятих лігандами центрів скріплення буде дорівнювати:

$$N - r = [M]$$

У цих позначеннях вираз для константи рівноваги:

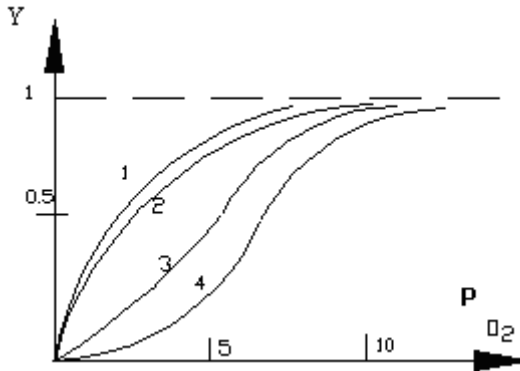
$$K = \frac{r}{c(N-r)} \quad (3.5.3)$$

При заповненні половини центрів скріплення з рівняння (3.5.3.) отримуємо:

$$r \frac{N}{2}, \quad K = \frac{\frac{N}{2}}{c(N-\frac{N}{2})} = \frac{1}{c} \quad (3.5.4)$$

Таким чином,  $K$  є обернено пропорційним до концентрації вільного ліганду в умовах 50 % заповнення центрів скріплення.

На рис. 3.5.1. представлено дані з насичення киснем міоглобіну і різних гемоглобінів людини: за віссю X відкладено парціальний тиск  $O_2 - P$ , за віссю Y – міру скріплення.



**Рис. 3.5.1.** Криві насичення  $O_2$  різних гемоглобінів людини: 1 – міоглобіну, 2 – фітального гемоглобіну, 3 – нормального гемоглобіну, 4 – гемоглобіну хворого на анемію

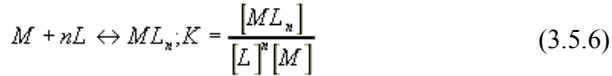
Рівняння для кривої скріплення можна отримати, якщо вирішити рівняння (3.5.3.) відносно  $r$ . Тоді отримаємо рівняння (3.5.5):

$$M + L \leftrightarrow ML, \quad r = \frac{KCN}{1 + KC} \quad (3.5.5)$$

Із збільшенням концентрації ліганду частина зайнятих центрів  $r$  буде прагнути до  $N$ . З рисунку видно, що лише зв'язування кисню з міоглобіном описується гіперболою, а зв'язування з гемоглобіном описується  $S$  – типовою залежністю, яка зумовлена взаємодією центрів скріплення між собою в процесі скріплення.

У 1909 році Хіллом була запропонована модель скріплення кисню з гемоглобіном, яка описувала експериментальні дані. Згідно з цією моделлю центри скріплення кисню на молекулах гемоглобіну не є незалежними. Саме приєднання однієї молекули кисню до одного з центрів збільшує спорідненість до кисню інших центрів, а скріплення двох молекул кисню ще більш полегшує зв'язок з третьою. Таке скріплення, при якому константи скріплення ідентичних центрів змінюються за їх заповненням, називається *кооперативним скріпленням*. Хілл розглянув модель максимальної кооперативності, тобто випадок, коли скріплення одного ліганду настільки збільшує спорідненість

останніх центрів, що вони заповнюються майже миттєво. Це означає, що в рівноважному розчині ліганду  $N$  і макромолекули, який має  $n$  ідентичних центрів скріплення, присутні або макромолекули з незайнятими центрами скріплення, або комплекси ліганду з макромолекулою, в яких усі центри зв'язування заповнені. Таким чином, модель максимальної кооперативності практично означає протікання такого кінетичного процесу:



В останньому виразі  $[M]$ ,  $[Ln]$ ,  $[N]$  – це концентрації комплексів, вільного ліганду і вільних центрів скріплення відповідно. Міра насичення центрів скріплення  $Y$  визначається як відношення концентрації зв'язаних макромолекул до загальної концентрації макромолекул у розчині.

$$Y = \frac{\text{кількість зв'язаних молекул}}{\text{загальна кількість}} = \frac{[ML_n]}{[M] + [ML_n]} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow \frac{Y}{1-Y} = \frac{ML_n}{[M]} = K[L]^n \quad (3.5.7)$$

Рівняння (3.5.7.) має назву **рівняння Хілла**. І хоча це рівняння виведене для випадку повної кооперативності, графіком Хілла користуються також і для аналізу процесів, кооперативність яких не є повною. В цьому випадку кооперативність характеризується коефіцієнтом Хілла  $h$ , який дорівнює максимальному тангенсу нахилу (рис. 3.5.2.).

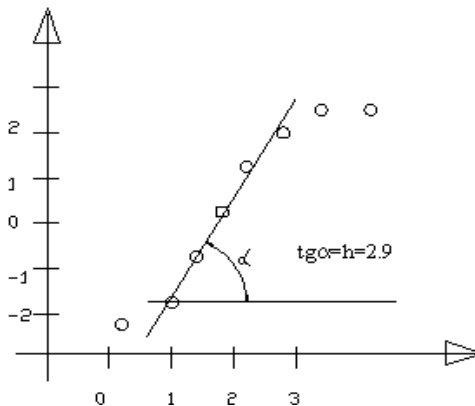


Рис. 3.5.2. Графік Хілла для насиченого гемоглобіном кисню

Зв'язування кисню з гемоглобіном, що має 4 центри зв'язку, характеризується параметром Хілла  $h = 2,9$ . Рівняння добре описує скріплення від 10 до 80 % насичення вуглецем (прямолінійна ділянка на рис. 3.5.2.).

За коефіцієнтом Хілла визначають рівень кооперативності процесу: при  $h = 1$  кооперативність відсутня (як у міоглобіні), при  $h < 1$  – маємо негативну кооперативність, тобто відбувається зменшення рівня спорідненості відповідно до заповнення центру. Кооперативне скріплення лігандів є лише одним із прикладів кооперативних процесів у біофізиці. До їх числа відносяться такі процеси як плавлення ДНК, оборотна денатурація білків, фазові переходи у мембрані клітин і багато інших.

Відзначимо фізичні процеси, що призводять до високої міри кооперативності скріплення кисню з гемоглобіном. Вільний і зв'язаний гемоглобін відрізняються характером заселеності електронних орбіталей комплексу Гем (комплекс Гем є кофактором, у центрі якого знаходиться двовалентне залізо) (рис. 3.5.3.).

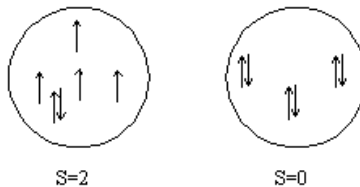


Рис. 3.5.3. Характер заселеності електронних орбіталей комплексу Гем

Зменшення спину призводить до зменшення іонного радіусу, і його структура стає компактнішою. В результаті відбувається більш щільна упаковка макромолекули  $\text{Hb}(\text{O}_2)_4$ , в процесі якої витрачається довгий фрагмент макромолекули оксигенованого гемоглобіну. Механізм оксигенації гемоглобіну є прикладом електронно-конформаційних взаємодій (ЕКВ), характерних для більшості біополімерів. Суть концепції ЕКВ полягає в тому, що у макромолекулах здійснюється сполучення електронних процесів з конформаційними (структурна перебудова).

### КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Поясніть, у чому полягає біологічна роль білків.
2. Поясніть будову білків. Яка роль амінокислотної послідовності у конформації білкових молекул і їх біологічній активності?

3. Конкуренція молекул води за місця утворення водневих зв'язків у білкових молекулах.
4. Умови виникнення іонних взаємодій у білках. Утворення специфічних дисульфідних зв'язків. Періодичні структури білкових молекул:  $\alpha$ -спіраль і  $\beta$ -форма
5. Геометрія поліпептидних ланцюгів. Кути внутрішнього обертання. Білки як виключно різноманітні макромолекули.
6. Молекулярний механізм взаємодії фермента з субстратом.
7. Гемоглобін як приклад алостеричного білка. Кооперативне скріплення. Рівняння Хілла. Електронно-конформаційні взаємодії.
8. Що таке комплексні сполуки при зв'язуванні макромолекул?
9. Що таке ліганди та їх роль в утворенні комплексних сполук?
10. Біологічна роль та структура нуклеїнових кислот.
11. Просторова будова ДНК. Характер сил, які стабілізують структуру ДНК (водневі зв'язки між комплементарними парами, стекінг-взаємодії).