



№ 3, 2001 г.

И. Яминский

БЕЛОК, ПОБЕЖДАЮЩИЙ БАКТЕРИИ

© “Квант”

Использование и распространение этого материала
в коммерческих целях
возможно лишь с разрешения редакции



Сетевая образовательная библиотека “VIVOS VOCO!”
(грант РФФИ 00-07-90172)

vivovoco.nns.ru
vivovoco.rsl.ru
www.ibmh.msk.su/vivovoco

Белок, побеждающий бактерии

И. ЯМИНСКИЙ

БЕЛКОМ, ПРИМЕЧАТЕЛЬНЫМ во многих отношениях, является лизоцим. Во-первых, лизоцим – это фермент. А ферменты, как известно, – это биологические катализаторы, благодаря которым в клетках происходят многие химические превращения. Во-вторых, лизоцим обнаружен практически во всех живых организмах. Так, у позвоночных он содержится в слезах, в слюне, селезенке, легких, почках, лейкоцитах, а также в других местах и частях тела и выполняет функции неспецифического антибактериального барьера. Попросту говоря, он способен разрушать клеточную стенку бактерий и микробов и тем самым приводить их к гибели, или, выражаясь по-научному, к лизису. В-третьих, благодаря этим качествам лизоцим нашел полезное для человека применение – его используют в медицине как противомикробное средство, в том числе в качестве добавки в продукты детского питания. В-четвертых, большое количество лизоцима входит в состав куриного белка. Это может быть любопытно гурманам, которые обожают крутые яйца, яйца всмятку, яичницу или другие блюда из куриных яиц. В пятых, лизоцим – это белок, для которого полностью расшифрована его химическая формула, кроме того, определено пространственное расположение всех составляющих его атомов. Последнее было сделано с помощью методов рентгеноструктурного анализа (об этом – чуть позже).

С точки зрения современной химии, лизоцим является молекулой, которая состоит из повторяющихся звеньев – аминокислот, строительных единиц всех белковых молекул, имеющих более простую химическую формулу. У лизоцима аминокислоты, чередуясь, образуют длинную цепь. Таким образом, лизоцим является полимером, или, точнее, имея в виду его биологическое происхождение, – биополимером. Как

это практически всегда происходит с белками, биологические свойства биополимеров зависят не только от химического состава, но и от того, как составляющие белок полимерные цепи уложены в пространстве. Оказывается, что незначительное отклонение в пространственной укладке этих цепей может радикально менять биологическую активность белка. Причем для полноценного функционирования белка точность укладки отдельных функциональных групп должна достигать сотых долей нанометра. Нанометр – это привычная мера длины в микромире и составляет 10^{-9} м. В этих мерах длины размер одной молекулы куриного лизоцима составляет $2,8 \times 3,0 \times 3,2$ нм. По сути дела молекула лизоцима имеет форму слегка сплющенного того же самого куриного яйца. Правда размеры ее меньше, чем у куриного яйца, в десять миллионов раз.

Но вернемся к рентгеноструктурному анализу. И здесь снова лидирует лизоцим. Лизоцим – это первый фермент, для которого методом рентгеноструктурного анализа установлено его пространственное строение, или, как говорят биологи, – его третичная структура. До последнего

времени рентгеноструктурный анализ был единственным методом, с помощью которого можно было заглянуть внутрь белковой молекулы. Недавно появилась альтернативная возможность изучения белковых молекул с помощью метода ядерного магнитного резонанса.

Существенным моментом для обих этих методов является следующее. Оказывается, для того чтобы узнать, как устроена одна-единственная белковая молекула, нужно сначала строго упорядочить в пространстве сотни миллиардов таких молекул. Это сделать можно, если из белковых молекул вырастить кристалл. При рентгеноструктурном анализе такой кристалл просвечивают рентгеновскими лучами под разными углами, а затем по картине дифракции этих лучей с помощью математических методов восстанавливают расположение отдельных атомов. Чем больше и совершеннее кристалл, тем полнее и точнее получаемые данные. Для установления полной картины устройства белковой молекулы в практических экспериментах необходимо выращивать кристаллы размером более 0,1 мм.

Получение белковых кристаллов

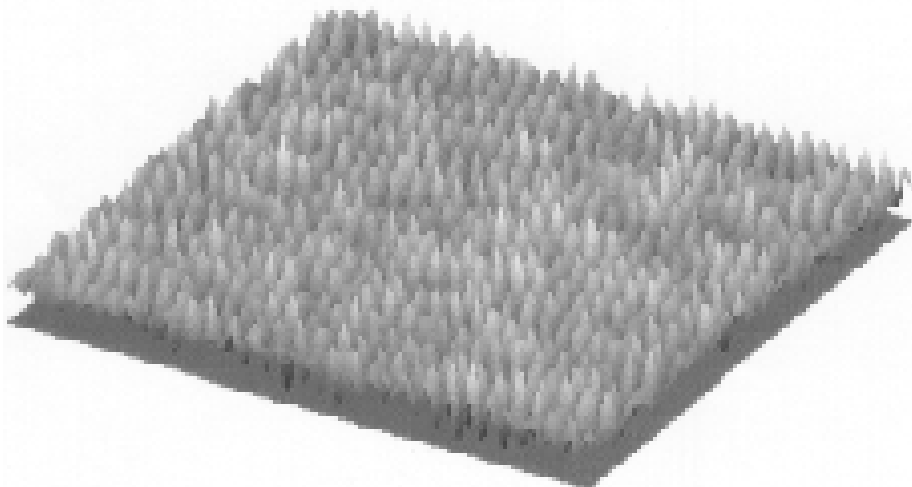


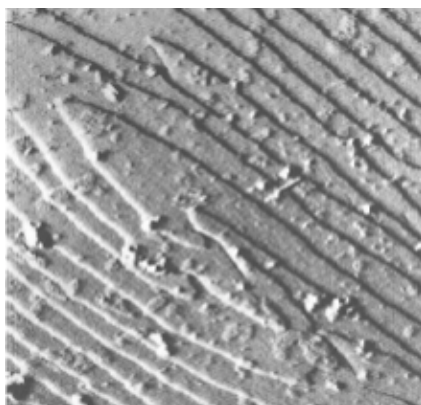
Рис.1. Молекулярная решетка ромбического кристалла лизоцима, грань (010). Изображение размером 130X 130 нм получено с помощью атомно-силового микроскопа

— дело очень тонкое. До сих пор так и не удалось кристаллизовать многие белки. Кристаллы лизоцима растут из насыщенного раствора только в строго определенных условиях, например в узком температурном интервале. В раствор лизоцима надо добавить немного поваренной соли NaCl. Кроме того, для успешного роста кристалла необходима добавка некоторого количества соляной кислоты HCl. Ионы Cl^- активируют лизоцим, а при их отсутствии его активность резко падает.

После изобретения атомно-силового микроскопа¹ стало возможным непосредственно увидеть, как молекулы лизоцима упакованы на гранях кристалла (рис.1). В атомно-силовом микроскопе игла, закрепленная на упругой микропластине, скользит по поверхности исследуемого образца. По изгибу микропластины, который регистрируют с помощью оптической системы, судят о высоте объекта. С помощью такого микроскопа удалось увидеть периодическую атомную решетку на поверхности кремния, графита, слюды, различных полупроводников и металлов.

Возможности атомно-силового микроскопа, однако, не безграничны, и поэтому визуализировать отдельные атомные дефекты в виде отсутствия или наоборот наличия одного дополнительного атома на поверхности, как правило, не удастся. А потребность наблюдения таких одиночных дефектов велика, например для изучения молекулярных механизмов роста кристаллов. Если знать законы роста кристаллов на уровне отдельных атомов, то можно делать совершенные кристаллы больших размеров. А это уже необходимо для различных прикладных задач, например в ювелирном деле при выращивании синтетических драгоценных камней. Здесь можно упомянуть и о разработке в Лос-Аламосе, где пытаются вырастить кристаллы калия дигидрофосфата размером почти в один метр. Такие кристаллы нужны для нелинейного преобразования лазерного света при создании установки управляемого термоядерного

¹ Устройство этого микроскопа во многом аналогично устройству сканирующего туннельного микроскопа, о котором можно прочитать, например, в статье И.Яминского «Закон Ома для разомкнутой цепи и ... туннельный микроскоп», опубликованной в «Кванте» №5 за 1999 год. (Прим. ред.)



4,7 мкм

Рис.2. Изображение дефекта на поверхности кристалла лизоцима — винтовой спирали. Размер участка поверхности порядка микрометра, высота ступенек соответствует размеру одной молекулы

синтеза. Для работы такой установки необходимы 40 совершенных кристаллов метровых размеров.

При изучении вопросов роста кристаллов неожиданным образом на помощь пришел лизоцим. У большинства неорганических кристаллов строительными кирпичиками являются отдельные атомы, размеры которых составляют доли нанометра. Другое дело молекулы лизоцима — они почти в 100 раз больше. Из-за больших размеров белковых моле-

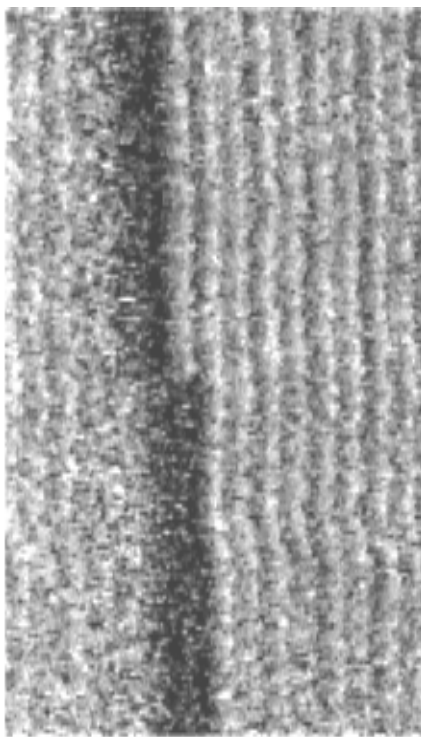


Рис.3. Молекулы лизоцима встраиваются в изломы на ступенях. На рисунке представлен излом шириной в одну молекулу

кул кристалл лизоцима может служить модельной системой при наблюдении роста кристаллов в атомно-силовой микроскоп. Ведь законы роста у неорганических и органических кристаллов одни и те же, поэтому для микроскопии лучше выбирать такие кристаллы, строительные единицы которых имеют больший размер. Тогда в атомно-силовой микроскоп можно с молекулярным разрешением наблюдать структуру дефектов (рис.2), видеть элементарные ступени и изломы на них (рис.3.).

Уникальные возможности атомно-силового микроскопа состоят в том, что он позволяет наблюдать за состоянием поверхности образца не только в воздухе или вакууме, но и в жидких средах. В случае растущего кристалла это позволяет, снимая кадр за кадром через небольшие промежутки времени, смотреть, как двигаются элементарные ступени, и измерять абсолютную скорость движения этих ступеней. На рисунке 4 представлена серия кадров, снятых с интервалом в 50 секунд. Ступени двигаются в направлении слева направо, скорость их движения составляет 5 нм/с. Эти наблюдения были недавно проведены автором статьи вместе с коллегами Л.Н.Рашковичем и Н.В.Гвоздевым на кафедре физики полимеров и кристаллов физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова.

Итак, судьба лизоцима оказалась вполне успешной — его хорошо изучили, его используют в полезных случаях, а самое главное — он часто встречается в живой природе и выполняет там жизненно важные функции. Но нельзя сказать, что про него все известно и не будет новых открытий. Подтверждение тому — новый факт о структуре кристалла лизоцима, недавно обнаруженный с помощью атомно-силового микроскопа. Раньше считалось, что в элементарную ячейку ромбического кристалла лизоцима входит лишь одна молекула. Наблюдения в атомно-силовой микроскоп показали, что геометрические центры соседних молекул лизоцима в одном слое имеют некоторое смещение. Кроме того, молекулы в соседних слоях ориентированы по-разному. На это указывает измерение сил трения на соседних молекулярных слоях роста: каждый второй слой выглядит чуть более шероховатым, чем промежуточные

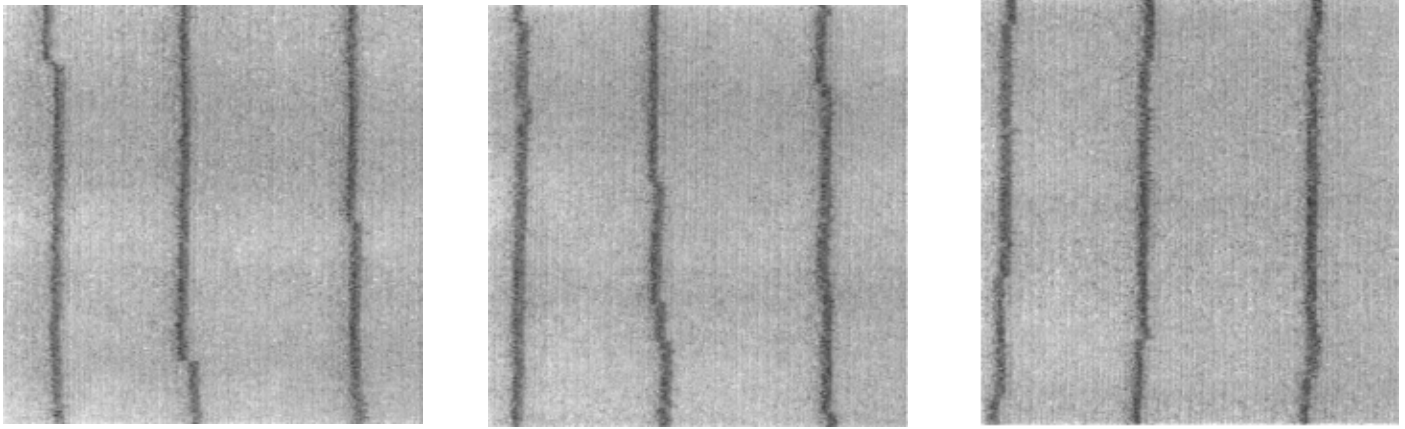


Рис. 4. Атомно-силовой микроскоп позволяет наблюдать поверхность кристалла, погруженного в жидкость, и наблюдать процесс его роста. Представленные кадры сняты с интервалом в 50 секунд. Заметно, что в процессе измерений происходит движение молекулярных ступеней (на рисунке справа налево), другими словами, что кристалл растет

между ними (рис.5). Молекула куриного лизоцима имеет слегка несимметричную форму. На ее поверхности имеется косая щель, в которой находится гидрофобный карман. Слово «гидрофобный» в буквальном переводе означает «водобоязненный», что правильно отражает свойства такого кармана: в водных растворах молекула белка ориентируется таким образом, чтобы избежать контакта с водой. Молекулы поворачиваются друг к другу гидрофобными частями благодаря появлению значительных сил притяжения между этими участками – гидрофобных сил. Следует заметить, что в изолированной молекуле белка, находящейся в растворе, сорбция и гидролиз веществ происходят именно в гидрофобном кармане. В природных условиях гидрофобные силы притяжения компенсируются электростатическими силами отталкивания, в результате в живых системах кристаллы лизоцима практически никогда не образуются. В искусственных системах можно подобрать концентрации примесных ионов таким образом, чтобы нарушить это равновесие и добиться кристаллизации белка.

В медицине применяются и другие белки в кристаллическом виде. В

1922 году Ф.Баттинг и Ч.Бест открыли простой белок инсулин и выявили, что он способствует снижению сахара в крови человека. Если организм человека неспособен самостоятельно производить этот белок в достаточных количествах, то может возникнуть тяжелый недуг – сахарный диабет. Механизм поддержания человека в норме в этом случае достаточно прост, хотя требует от больного значительного терпения, – нужно постоянно вводить в организм небольшие дозы инсулина. Оказалось, что лучше использовать препара-

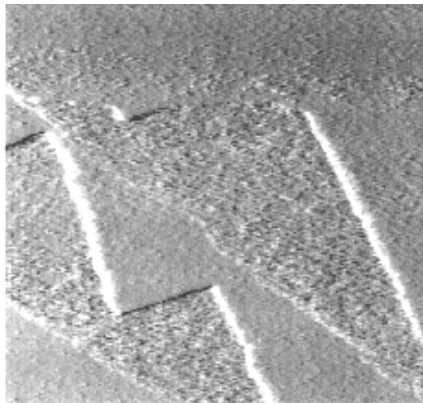


Рис.5. Соседние молекулярные слои роста имеют различную шероховатость, что хорошо видно в атомно-силовой микроскоп. Размер кадра 2 × 2 мкм

рат, содержащий кристаллы инсулина. В этом случае в организме человека происходит медленное растворение кристаллов, и эффект действия лекарства более продолжительный, нежели при применении просто раствора белка.

Аналогичное происходит и в совершенно ином процессе. Хорошая хозяйка знает, что квашенная капуста получится удачной, если взять поваренную соль не мелкого помола, а крупного, т.е. ту соль, которая состоит из кристалликов соли большего размера. В такой соли кристаллики растворяются медленно, концентрация растворенной соли ниже и поддерживается на этом уровне более долгое время. Поэтому закваска, или, по-научному, ферментативный процесс, идет более успешно. Кстати, само слово фермент происходит от латинского *fermentum*, что в переводе и значит закваска, брожение.

Подводя итоги, можно сказать, что заслуга лизоцима есть и в успехах современной молекулярной биологии, и в результатах изучения вопросов роста кристаллов. Поэтому вполне закономерно, что рассказ о лизоциме содержится в учебниках не только биологии, но и смежных наук.

Вниманию наших читателей!

Издательство «Бюро Квантум» и редакция журнала «Квант» подготовили к печати второе издание книги И.Ш.Слободецкого и Л.Г.Асламазова «Задачи по физике», вышедшей в свет более двадцати лет назад в серии «Библиотечка «Квант».

Книга, ставшая уже классикой научно-популярного жанра, содержит сравнительно немного задач, но каждая из них демонстрирует возможности и особенности физического подхода к анализу реальных явлений. Решения же некоторых задач представляют собой эссе на заданную физическую тему.

Авторы книги стояли у истоков со-

здания журнала «Квант», много лет работали в его редакционной коллегии и активно участвовали в формировании того, что сейчас называют «квантовским» стилем. Редакция журнала «Квант» посвящает новое издание этой замечательной книги светлой памяти ее авторов.