

ZAGADNIENIE PRZEBIEGU BIOSYNTETY BIAŁEK

Jeżeli będziemy rozpatrywać biosyntezę białek wyłącznie jako proces prowadzący do nagromadzania wiązań peptydowych (i innych), to dojdziemy do nieuniknionego wniosku, że proces syntezy białek jest uniemożliwiony przez termodynamikę. Jest to wniosek nieunikniony dlatego, że nagromadzanie wiązań chemicznych przy syntezie białka wymaga zużycia znacznych ilości energii. Wniosek ten wypływa także stąd, że proces rozpadu białka (hydroliza) przebiega samoczynnie i z wydzielaniem energii.

Termodynamika pozwala na samoczynny bieg tylko takich procesów, którym towarzyszy zmniejszenie wolnej energii układu. Procesy biochemiczne syntezy białek przebiegają samorzutnie i jednocześnie prowadzą do zwiększenia wolnej energii żywej materii. W ten sposób powstaje pozorną sprzeczność między teorią i faktami. Ta sprzeczność jest zasadniczą trudnością, której przewyciężenie otworzy szerokie perspektywy dla teoretycznego i doświadczalnego opracowania możliwych sposobów biosyntezy białka.

Wadliwość zwykłego podejścia do problemu biosyntezy polega na tym, że przy rozpatrywaniu jakiegokolwiek konkretnego przypadku traktuje się go w oderwaniu, bez uwzględnienia wszystkich biochemicznych właściwości tego procesu. Wszystko to robi się dlatego, by w wyniku uproszczenia można było rozpatrywać ten proces tylko ze stanowiska zwykłych prawidłowości fizyko-chemicznych. Uproszczone zaś prawidłowości w sposób nieunikniony prowadzą w kierunku wymagań termodynamiki, do skierowania procesu w stronę rozpadu białka.

Wyjaśnienie dróg biosyntezy białka jest możliwe dopiero w tym przypadku, gdy będziemy rozpatrywali tę syntezę nie w oderwaniu, lecz w związku z innymi procesami, z uwzględnieniem jakościowo nowych właściwości materii i jakościowo nowych prawidłowości warunkujących te procesy.

Wiadomo, że w rzeczywistości synteza białka w żywej materii przebiega z wydzieleniem energii. Stąd też proces biosyntezy wzięty w całości nie sprzeciwia się termodynamice i samorzutność jego jest naturalna. Zadanie polega więc na tym, aby odnaleźć i zrozumieć jakościowo nowe właściwości i prawidłowości naturalnego białka, które uwarunkowują możliwość jego syntezy.

* * *

Problem syntezy białka od dawna już przyciągał uwagę badaczy. Poświatnych doświadczeniach A. Danilewskiego (26) nad enzymatyczną syn-

teżą plasteinów z hydrolizatorów białek przeprowadzono wielką liczbę badań doświadczalnych i teoretycznych nad tym zagadnieniem (Okuniew, 38; Zawjałow 50; Błagowieszczenski i Jeriemiejew, 10; Jurgenson i Błagowieszczenski, 33; Mienzorow, 36; Cypierowicz, 24, 25; Tauber, 48; Nortrop i współpracownicy, 37). Jednakże całkiem jest jasne, że problem ten jeszcze jest daleki od rozwiązania. Otrzymane dotychczas wyniki są nie tylko skromne, ale w wielu przypadkach widocznie obce syntezie naturalnego białka.

Badania S. Brieslera (Briesler, 12, 13, 14; Briesler i Glikina, 18; Briesler, Glikina, Konikow i współpr., 19; Briesler, Konikow, 20) nad enzymatyczną resyntezą białek z ich hydrolizatów odkryły szereg godnych uwagi faktów i nowych możliwości. Poglądy Brieslera na biosyntezę białka (16, 17) nie wykluczają możliwości innych dróg biosyntezy.

Niewątpliwie, że takie lub inne teoretyczne rozwiązanie zagadnienia możliwych sposobów biosyntezy białka, źródeł energii i mechanizmu jej przenoszenia w istocie wyznacza drogi doświadczalnego podejścia do badania tego problemu.

* * *

Białka globularne są wysoko spolimeryzowanymi substancjami zbudowanymi z kilku dziesiątków różnych aminokwasów. Szereg właściwości białek globularnych wykazuje analogie właściwościami wysoko spolimeryzowanych substancji niebiałkowych. Ale białka globularne mają jeszcze szereg swoistych właściwości wyodrębniających je spośród wszystkich innych wysoko spolimeryzowanych substancji. Najbardziej zasadnicze z nich są monodispersyjność i globularna forma ich drobin.

W r. 1944 Briesler i Tałmud (22) zdołali dać najbardziej możliwe do przyjęcia objaśnienia natury globularnego stanu białek. Sprzeczność natury różnych reszt aminokwasowych wchodzących w skład białka i ich względna zawartość wytwarzają specjalny charakter substancji białkowej — stan globularny. Dalszy rozwój tej hipotezy (Afanasjew, Tałmud i Tałmud, 8; Tałmud, 47; Jakowlew 30; Afanasjew, 1, 2, 3, 4; Afanasjew i Iljina, 5, 6, 7; Dieborin, 27; Iljina, 29) wykazał, że stan globularny nie jest stanem zastygłym i niezmiennym, lecz ulega zmianom w zależności od właściwości otaczającego środowiska. To już pozwoliło na objaśnienie w szerokim zakresie właściwości białek i otworzyło szerokie perspektywy w badaniu natury białek i ich biologicznej aktywności.

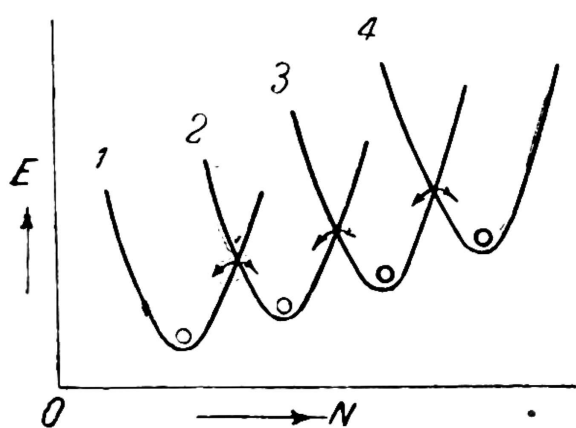
Na przykładzie białek globularnych widzimy, jak przy przejściu od poszczególnych aminokwasów lub kombinacji dwóch — trzech aminokwasów do setek, tysięcy i dziesiątków tysięcy różnorodnych reszt aminokwasowych połączonych razem, obserwuje się skok jakościowy w organizacji i właściwościach materii. Wyższy poziom organizacji wyraża się w globularnej formie drobin białka i pojawieniu się jego reakcji na zmiany otaczającego środowiska. Białka globularne podporządkowują się prawidłowościom właściwym nie tylko układom chemicznym i fizycznym, ale i zupełnie nowym, szczególnie biologicznym. Drobiną białkową warunkuje przemianę materii i uczestniczy w niej, może posiadać aktywność enzymatyczną, hormonalną, odpornościową i inną. Wszystkie te cechy są właściwe tylko globularnej makrodrobinie białka i zupełnie nie występują

w składnikach, z których białko jest zbudowane. W ten sposób globularne drobiny białka mają już szereg najbardziej elementarnych właściwości żywej materii.

Przyjmujemy za prawdopodobne, że globularna drobina białka przy odpowiednich warunkach może mieć zdolność do samorzutnego wzrostu kosztem aminokwasów albo peptydów otaczającego środowiska.

Stan globularny białkowej makrodrobiny jest możliwy i trwały dzięki temu, że zwijanie się makrodrobiny w globulę prowadzi do zmniejszenia energii drobiny. Stąd globularny stan jest trwały dzięki temu, że jest on energetycznie dogodny i przejście jego w stan fibrylarny jest strzeżone przez przegrodę aktywacyjną.

Briesler i Tałmud wykazali teoretycznie, że trwały stan globularny i monodispersyjność powinny mieć miejsce przy określonym wzajemnym stosunku hydrofobowości i hydrofilowości drobiny białka, to jest przy określonym składzie ilościowym i jakościowym. Doświadczalnie wykazał to Tałmud ze współpracownikami (Tałmud, 45, 46; Pasynskij i współpr., 39, 40) na doświadczeniach modelowych. Przy zakłóceniu tego wzajemnego stosunku energia drobiny białka powinna wzrastać, co obniża trwałość globuli białka. Globularna drobina białka znajduje się jakby w energetycznej depresji. W przypadku odpowiedniego ilościowego i jakościowego składu drobiny białka znajduje się ona w postaci globuli na dnie depresji. W przypadku nieodpowiedniego składu będzie ona „wychodzić” w takiej lub innej mierze z energetycznej depresji. Jest to przedstawione schematycznie na załączonym rysunku, gdzie stan globularnej drobiny został zilustrowany na osiach współrzędnych: N — liczba reszt aminokwasowych wchodzących w drobinę białka, a E — energia drobiny. Przy zachowaniu jakościowego stosunku wzajemnego w składzie globuli jej stany mogą być przedstawione przez krzywą 1 z minimum energii (patrz rys.).



Schemat zależności energii drobiny globularnej białka od jej składu.

Przy innym stosunku wzajemnym składu jakościowego drobiny białkowej stany jej można opisać już drugą krzywą 2. Oczywiście przy zmianie stosunku wzajemnego pomiędzy hydrofobowością i hydrofilowością części makrodrobiny białka w stronę stosunkowego podwyższenia hydrofobowości powinniśmy otrzymać krzywe z minimum przy większych wartościach N . Przy stosunkowym podwyższeniu hydrofilowości w makrodrobienie białka minimum krzywej powinno się przesuwać w stronę mniejszych wartości N .

W ten sposób można przedstawić widmo krzywych opisujących stan globuli białkowej w przeróżnych stosunkach wzajemnych hydrofobowości i hydrofilowości drobiny białka.

Przecinanie się krzywych (patrz rysunek) dopuszcza możliwość przeskakiwania globularnej drobiny białka z jednej krzywej na drugą. Te przeskoki mogą prowadzić globulę do stanów o nowych minimach energii.

Nowy stan globuli powinien wymagać również nowego ilościowego i jakościowego składu drobin białka. Przesuwaniu minimum w prawo powinno towarzyszyć zwiększenie ilościowego składu globuli (wzrost, synteza), przesuwanie minimum w lewo związane jest ze zmniejszaniem ilościowego składu globuli (rozpad, hydroliza).

Ilościowe zmiany składu globuli są możliwe naturalnie w obecności enzymów (katalizatorów) i aminokwasów lub peptydów w otaczającym środowisku.

W ten sposób można przedstawić możliwości i warunki wzrostu globularnej drobin białka.

Trzeba podkreślić, że te możliwości otwierają się tylko dla globularnych drobin białkowych. Jest to swojego rodzaju autosynteza.

Od strony energetycznej jasną jest rzeczą, że dlatego by globularna drobina zwiększyła się i przeszła w nowy stan, jest całkiem niezbędne uprzednie podniesienie jej energii do wartości przewyższającej wartość energii w punkcie przecięcia krzywych stanów energii. Dopiero po tym drobina może spaść do nowego minimum z odpowiednim obniżeniem energii. W ten sposób synteza białka (dodatkowe zwiększenie globularnej makrodrobiny białka) powinna następować z wydzielaniem energii, a więc termodynamicznie jest możliwa.

Przy istnieniu warunków wymagających przejścia globuli do minimum energii przy mniejszej liczbie reszt aminokwasowych enzymy (katalizatory) znajdujące się w otaczającym środowisku hydrolizują nadwyżkę i drobina przechodzi w nowy stan.

Przy bardzo silnych oddziaływaniach na globulę prowadzących do zakłócenia stanu globularnego albo do silnego osłabienia sił globulizujących (denaturacja cieplna, duże stężenia mocznika lub guanidyny itd.), makrodrobina białka staje się nietrwała i w całości ulega strawieniu przez enzymy.

Jakież działania mogą podnieść stan energetyczny globuli białkowej i stworzyć niezbędne warunki dla dokonania wzrostu globuli (syntezy białka)?

Takimi działaniami mogą być zmiany chemiczne biegunowych, a w szczególności jonogenicznych grup na powierzchni globuli. Utlenienie grup sulfohydrylowych do disulfidowych może obniżyć hydrofilowość drobin globularnej. Amidowanie grup karboksylowych także powinno obniżać hydrofilowość globuli. Dezaminowanie grup aminowych także powinno działać w tym samym kierunku. Można przedstawić i szereg innych oddziaływań chemicznych, prowadzących jakościowo do tych samych wyników.

W przeciwstawieniu do przytoczonych oddziaływań zmieniających zewnętrzną powłokę globuli i obniżających jej hydrofilowość można przedstawić drogi do podniesienia hydrofilowości globuli w wyniku pochłonięcia („solubilizacji“) hydrofobowych substancji przez drobinę globularną. I w tym przypadku narastanie hydrofobowości drobin globularnej powinno wywołać tendencję do wzrostu globuli.

Wreszcie istotne zmiany stanu energetycznego globul mogą wywołać zmiany pH oraz jonowej siły środowiska.

W ten sposób zagadnienie źródeł energii niezbędnej do syntezy białka i mechanizmu sprzężenia reakcyj dostarczających energii z reakcjami syntezy białka można wyobrazić sobie prosto. Źródłem energii do syntezy białka są procesy chemiczne, zmieniające skład i właściwości zewnętrznej powłoki globul, albo energia pochłaniania (solubilizacji) hydrofobowych substancji przez globule.

Sprzężenie reakcyj dostarczających energii z reakcjami syntezy białka przechodzi przez białkową drobinę globularną.

Czy są dowody doświadczalne przemawiające na korzyść opisanych poglądów na mechanizm syntezy białka? W charakterze więcej lub mniej bliskiej analogii można wskazać na doświadczalne badanie nad pochłanianiem (solubilizacją) substancji hydrofobowych przez roztwory mydlane (Klevens, 34). W badaniach tych wykazano, że micelle mydlane przedstawiające sobą utwory podobne do globul zwiększają się w rozmiarach (rosną) przy pochłanianiu przez siebie substancji hydrofobowych.

Szereg badań wykazało, że naturalne białka globularne nie są atakowane przez enzymy proteolityczne (Rice i współpr., 42; Straczicki, 43; Straczicki i Czernikow, 44; Huang i Niemann, 28). Podatność białek globularnych na atakowanie pojawia się przy działaniu tak zwanych denaturujących substancji, na przykład mocznika.

Tworzenie plastein następuje przy pH istotnie różniących się od optymalnych pH dla hydrolizy (Wasteneys i Borsook, 49; Borsook, 11). Wykazano, że ilość tworzącego się plasteinu jest proporcjonalna do ilości dodanego enzymu. To się nie zgadza z pojmowaniem syntezy jako odwrotności czysto katalitycznego procesu hydrolizy.

Wykryto, że plasteina tworzy się z roztworów peptonu przy dodaniu benzenu, toluenu, ksylenu, kwasu benzoowego, aldehydu benzoowego zamiast pepsyny. Te fakty wskazują na istotny wpływ substancji hydrofobowych.

Przy wzajemnym oddziaływaniu albuminy surowicy z barwnikiem oranż I tworzący się kompleks nie jest atakowany przez pepsynę (Carroll, 23).

W szeregu prac wykazano wpływ procesów utleniania na procesy proteolityczne. A. Błagowieszczenski (9) wypowiedział pogląd o wpływie procesów utleniania na syntezy enzymatyczne, a w szczególności na syntezy proteolityczne.

Wykazano doświadczalnie (Jörgensen, 31; Proskurjakow i Bundiel, 41), że przy działaniu utleniaczy w sposób istotny polepszają się właściwości naruszonego glutenu. Wykazano, że przy działaniu systemu peroksydazowego w naruszonej glutenie pojawiają się procesy syntetyczne, prowadzące do spadku ilości azotu aminowego i do zwiększenia azotu substancji osadzanych przez kwas trójchlorooctowy.

M. Jurgenson (32) wykazał na oczyszczonych preparatach pszenicznej proteinazy i świeżo odmytym glutenie pszenicznym, że przy jedno-

czesnym działaniu proteiny i układu peroksydaza + nadtlenek wodoru na produkty nie głębokiego rozszczepienia białek glutenu następuje reakcja syntetyczna. Przy tym następuje istotne zwiększenie ilości azotu, substancji osadzanych przez kwas trójchlorooctowy i spada ilość azotu wolnych grup aminowych.

Briesler wykazał (17), że przy enzymatycznej resyntezie białka pod wysokim ciśnieniem syntetyzuje się od razu wysokocząsteczkowa drobina globularna bez dostrzegalnego nagromadzenia produktów wielkości pośrednich. To wskazuje na to, że siły globulizacji są na tyle dostrzegalne, że energetycznie dogodnie jest przechodzenie układu w najbardziej wysoko molekularny stan globularny.

Interesujące wyniki otrzymał Briesler (15) przy badaniu roztworu albuminy surowicy potraktowanego benzenem. Zachowanie się takiego roztworu w ultrawirówce wskazuje na istnienie równoważnego układu drobin wyjściowego białka z jego podwojonymi drobinami, to jest produktami asocjacji. W świetle wyłożonych przez nas poglądów to zjawisko okazuje się całkowicie prawidłowe.

Wyłożone poglądy o możliwych sposobach samorzutnego wzrostu (syntezy) białek globularnych pozwalają zrobić szereg dalszych przypuszczeń.

Przy odpowiednich oddziaływaniach otaczającego środowiska globularna drobina białka może rosnąć, przyłączając do siebie aminokwasy albo peptydy, do pewnej granicy. W następnym stadium pod wpływem zmiany środowiska wyrosła globula może rozdzielić się na mniejsze globule, które następnie mogą wzrastać samodzielnie. W ten sposób można przedstawić mechanizm wzrastania nie tylko absolutnego stężenia globularnej substancji białkowej, ale i wzrastanie cząstkowej koncentracji drobin globularnych. Przy takiej syntezie rosnąca drobina globularna białka pozostaje podobna do siebie i po jej podziale również otrzymuje się drobin globularne. Nie ma potrzeby dodatkowych przypuszczeń co do dróg przejścia syntetyzowanego białka w stan globularny (rodzimy).

Przełożył T. Pietkiewicz

Opublikowano w czasopiśmie „Izwestija Akademii Nauk SSSR“, seria biologiczeskaja, 1952, nr 1, s. 115.

L I T E R A T U R A

1. Afanasjew P. W. 1948 DAN SSSR, 63, 61.
2. Afanasjew P. W. 1949 a. Biochimija 14, 259.
3. Afanasjew P. W. 1949 b. Izw. AN SSSR, Sier. Biol., 3, 253.
4. Afanasjew P. W. 1949 c. Biochimija, 14, 424.
5. Afanasjew P. W. i Iljina J. N. 1949 a. Izw. AN SSSR, Sier. Biol., 4, 495.
6. Afanasjew P. W. i Iljina J. N. 1950, a. Tamże 4, 20.
7. Afanasjew P. W. i Iljina J. N. 1950 b. DAN SSSR, 75, 71.
8. Afanasjew P. W., Tałmud B. A. i Tałmud D. Ł. 1947 DAN SSSR, 55, 615 i 725.
9. Błagowieszczenski A. W. 1939. Tr. M.D.U.Sb. po organicz. sintiezu
10. Błagowieszczenski A. W. i Jeremiejew G. W. 1934. Biochem. Zeitschr. 270, 66.
11. Borsook H., 1936. Erg. Enzymf., 4, 1.
12. Briesler S. E. 1947. DAN SSSR, 55, 145.
13. Briesler S. E. 1948 a. Sowieszczanije po białku.
14. Briesler S. E. 1948 b. Izw. AN Sier. Fiz, 12, 695.
15. Briesler S. E. 1949. Biochimija 14, 180.
16. Briesler S. E. 1950 a. Usp. Sowr. Biologii, 30, 90.
17. Briesler S. E. 1950 b. Dokład na konferencji po białku AN SSSR.
18. Briesler S. E. i Glikina M. W. 1947. DAN SSSR 57, 57.
19. Briesler S. E., Glikina M. W., Konikow A. P., Sielezniewa N. A. i Finogienow P. . 1949. Izw. AN SSSR 13, 392.
20. Briesler S. E., Konikow A. P. i Sielezniewa N. A. 1949. DAN SSSR, 65, 521.
21. Briesler S. E., Samsonow G. W. i Sielezniewa N. A. 1949. Biochimija, 14, 524.
22. Briesler S. E. i Tałmud D. Ł. 1944. DAN SSSR, 63, 326 i 367.
23. Carroll B. 1950. J. Amer. Chem. Soc. 72, 2763.
24. Cypierowicz A. S. 1947. Ukr. Biochim. Żurn., 19, 41.
25. Cypierowicz A. S. 1948. Tamże, 20, 227.
26. Danilewski A. J. 1886. Organo-plastyczne siły organizmu.
27. Dieborin G. A. 1950. DAN SSSR, 67, 889.
28. Huang H. T. a., Niemann C. J. 1950. J. Amer. Chem. Soc. 72, 4286.
29. Iljina J. M. 1950. DAN SSSR, 71, 355.
30. Jakowlew W. G. 1948. DAN SSSR, 60, 89.
31. Jørgensen H. 1935. Biochem. Zschr. 280, 1.
32. Jurgenson M. P. 1939. Biochimija 4, 702.
33. Jurgenson M. P. i Błagowieszczenski A. W. 1937. Biull. ekspierim biologii i medyciny, 3, 249.
34. Klevens H. B. 1950. Chem. Rev. 47, 1.
35. Manojłow S. E. 1949. Biochimija, 67, 329.
36. Mienzorow I. G. 1939. Biochimija, 4, 648.
37. Nortrop D., Kunitz M., Chierriott R. 1950. Kristalliczeskie fiermienty.

38. O k u n i e w W. N. 1895. Rol syczuźnego fiernienta (chimozina) pri assi-
milacijonnych procjessach organizma. Diss SPb.
39. P a s y n s k i j A. G., T a ł m u d B. A. i T a ł m u d D. Ł. 1947 a.
DAN SSSR, 56, 279.
40. P a s y n s k i j A. G., T a ł m u d B. A., T a ł m u d D. Ł. 1947 b.
Kollojdn. žurn, 9, 297.
41. P r o s k u r j a k o w N. I. i B u n d i e l A. A. 1938. Sb. AN SSSR.
1, 75. -
42. R i c e R. C., B a l l o w G. A., B o y e r P. D., L u c k J. M. a.
L U m F. G. 1945. J. Biol Chem. 158, 309.
43. S t r a c z i c k i j K. I. 1947. DAN SSSR, 58, 7.
44. S t r a c z i c k i j K. I. i C z e r n i k o w M. P. 1947. Biochimija,
12, 277.
45. T a ł m u d D. Ł. 1946. Kollojdn. žurn., 8, 247.
46. T a ł m u d D. Ł. 1947. Wiestnik AN SSSR, 7, 28.
47. T a ł m u d D. Ł. 1948. Sowieszczanije po bielku.
48. T a u b e r H. 1949. J. Amer. Chem. Soc. 71, 2952
49. W a s t e n e y s H. a B o r s o o k H. 1930. Physiol. Rev., 10, 110.
50. Z a w j a ł o w W. W. 1899. K teoriji bielkowego puszczewarienija. Diss.
Juriew.