

Концентрированные белки (10 баллов)

Е.А. Макеева, Т.И. Бидыло

1. Сможет ли биохимик приготовить **1М** раствор белка в воде или каком-нибудь другом растворителе? А приготовить **5М** раствор каких-либо сферических наночастиц? Ответы обоснуйте. (4 балла)

1) Наночастицы любого вещества, будь то белок или фуллерен, обладают массой и размером. При этом, наночастицы, как любое твердое вещество, сложно сжимаемы; если объем 1 моля наночастиц окажется больше 1 литра, то, дополнительно добавив растворитель, мы уже не сможем уместить получившийся раствор в 1 л. Оценим концентрации частиц в твердых веществах, состоящих из плотно упакованных наночастиц: чтобы была возможность приготовить растворы, эти концентрации должны оказаться строго меньше заданных в условии.

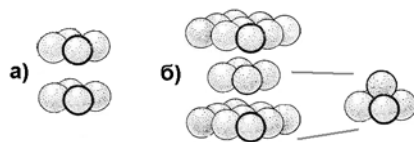
Очевидно, что чем меньше частицы, тем больше их может поместиться в 1 литре.

Поскольку для одной частицы $V = m/\rho$, то наименьший занимаемый объем при фиксированной плотности будет у частицы с минимальной массой. Значит, наибольшей концентрацией (из расчета на 1 л) будет обладать белок с минимальной массой частиц, т.е. с минимально возможным для белка числом остатков из самой легкой аминокислоты. Это будет (Gly)₅₀, масса одного остатка Gly равна $75 - 18 = 57$ Да, всего белка $57 \cdot 50 + 18 \approx 2,9$ кДа (полным баллом также оценивался расчет массы «усредненного» белка из 50 аминокислот с массой $110 \cdot 50 + 18 \approx 5,5$ кДа).

Рассмотрим 1 л белка (Gly)₅₀ (10^3 см^3). В качестве оценки сверху рассчитаем мольную концентрацию белка в самом себе, грубо считая, что его молекулы полностью заполняют весь объем без пустот (при наличии пустот число частиц и, соответственно, их концентрация будет меньше). Количество белка в 1 литре тогда составит: $\rho \cdot V/M = 1,38 \cdot 10^3 / 2900 = 0,48$ моль, то есть 1М раствор белка даже теоретически невозможно приготовить ни в воде, ни в любом другом растворителе.

2) Повторим ту же схему решения для сферических **наночастиц**. В этом случае, ни масса ни плотность частицы не известны, однако в решении они и не понадобятся, поскольку мы можем сразу оценить минимальный размер (диаметр) частиц – **1 нм**.

Если сферические частицы упакованы «как кубики» (рис. а, центры частиц лежат в вершинах куба с ребром 1 нм), то на одну частицу приходится объем $(1 \cdot 10^{-9})^3 \text{ м}^3$, в 1 л ($1 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$) будет содержаться $1 \cdot 10^{-3} / (1 \cdot 10^{-9})^3 = 1 \cdot 10^{24}$ частиц или $1 \cdot 10^{24} / N_A = 1 \cdot 10^{24} / 6,02 \cdot 10^{23} = 1,66$ моль частиц.



Однако, если в упаковке рис (а) каждый второй слой «сдвинуть» так, чтобы он попал в лунки предыдущего слоя, то частицы упакуются плотнее (рис. б). При этом расстояние между слоями уменьшится в 1,4 раза (от $2R$ до $\sqrt{2} R$; $\sqrt{2} R$ – высота квадратной пирамиды, все стороны которой равны $2R$, рис. б). Соответственно концентрация увеличится до $1,66 \cdot 1,4 \approx 2,3M$, но и так не сможет достигнуть $5M$. Полным баллом оценивались работы с любым вариантом упаковки сферических наночастиц.

Значит, $5M$ раствор наночастиц нельзя получить даже теоретически.

2. Приведите два примера, где в человеческом организме содержатся такие концентрированные растворы, если их локальные объемы различаются более чем в 10^8 раз. Как называются белки, образующие эти два раствора, и зачем понадобилось их концентрировать? Почему организмом при этом используются именно растворы, а не твердые материалы? (3,5 балла)

а) **Гемоглобин** в эритроците – концентрация до 370 г/л.

б) Попробуем логически вывести вторую «емкость» с концентрированным раствором белка. Поскольку объем пропорционален третьей степени линейного размера, размеры «емкостей» будут отличаться более чем в $\sqrt[3]{1 \cdot 10^8} \approx 500$ раз. При размере эритроцита около 10 мкм объем второй «емкости» будет либо меньше **20** нм, либо больше **5** мм. Первый вариант сравним с размерами самих белков (заведомо исключаются органеллы клеток, сложно подобрать что-либо разумное). Поскольку большинство растворов белков прозрачны (гемоглобин – скорее исключение, связанное с наличием атома переходного металла), то нужно представить себе, где в человеческом теле нужны прозрачные «емкости», чьи размеры > 5 мм. Это – хрусталики в глазах (диаметр ~ 9 -10 мм) (с натяжкой также можно назвать роговицу и белок альбумин). Используя Интернет несложно найти, что основной белок хрусталика - **кристаллин** (массовая доля превышает 50%).

Чтобы объяснить, зачем понадобились именно концентрированные растворы белков, необходимо понять, какие функции выполняют эритроциты и хрусталики, и представить, почему они не смогут эффективно работать, если их содержимое разбавить водой, или же оно затвердеет (закристаллизуется).

в) Максимально возможные концентрации белков были нужны чтобы:

- **эритроцит**: увеличить емкость по кислороду и углекислому газу (уменьшить затраты на транспорт газов в организме)

- **хрусталик**: получить максимальный показатель преломления в минимальном объеме. Это позволяет уменьшить габариты хрусталика и, соответственно, глаза, а также улучшает его физико-биологические характеристики (например, скорость и легкость фокусировки).

д) В твердых телах молекулы вещества «фиксированы» около своих положений, поэтому, в отличие от растворов, твердые тела не могут так же обратимо свободно менять свою форму, и имеют гораздо более низкую реакционную способность. Скорость реакций с газами для эритроцита критична, поэтому его нельзя заполнить твердым гемоглобином. Возможность изменения формы эритроцита также важна для увеличения скорости газообмена: «протискиваясь» сквозь узкие капилляры, эритроцит может приобретать форму бочонка, обеспечивая при этом более тесный контакт внутреннего содержимого и стенок капилляров, т.е. ускоряя газообмен с окружающими тканями. При этом эритроцит может «катиться» как гусеница танка по капилляру (раствор внутри эффективно перемешивается), что также ускоряет процессы газообмена.

Для хрусталика же пластичность формы дает возможность фокусировать взгляд на разных расстояниях.

3. Оцените молярную (моль/л) и массовую (г/л) концентрации фибриногена в плазме, если его молекула имеет длину около 50 нм и содержит около 3 000 аминокислотных остатков (считать, что фибриноген целиком состоит из аминокислот). (2,5 балла)

При решении этого пункта допускалось любое оценочное упрощение/предположение о взаимном расположении молекул. Например, что все молекулы находятся в центре прямоугольных параллелепипедов со сторонами 50х50х100 нм. Тогда на одну молекулу приходится объем $50 \cdot 10^{-9} \cdot 50 \cdot 10^{-9} \cdot 100 \cdot 10^{-9} = 2,5 \cdot 10^{-22} \text{ м}^3$ или $2,5 \cdot 10^{-19} \text{ л}$. В 1л плазмы будет $1/(2,5 \cdot 10^{-19}) = 4 \cdot 10^{18}$ молекул фибрина, что составит $4 \cdot 10^{18}/N_a = 6,6 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$ или **6,6 μM** .

Массовая концентрация составит $n \cdot M = 6,6 \cdot 10^{-6} \cdot 110 \cdot 3000 = 2,2 \text{ г/литр}$.

Если же при решении считать, что на одну молекулу приходится куб с ребром 50нм, то все концентрации получатся в 2 раза больше.

Важно отметить, что, несмотря на довольно грубые приближения и допущения, мы получаем очень близкий к реальности результат: в норме литр плазмы содержит **2 – 4 г** фибриногена.