

К проблеме нуклеации (образования клеток) при самоорганизации наноструктур белка *in vitro* и *in vivo*

© Е. Рапис

Лаборатория прикладной физики Тель-Авивского университета, Рамат-Авив,
64230 Тель-Авив, Израиль

(Поступило в Редакцию 27 сентября 2004 г.)

До сих пор не существует убедительной теории или гипотезы происхождения биологических клеток. Понимание проблемы тормозится отсутствием экспериментальной модели их возникновения и деления на основе кардинального процесса жизни — самоорганизации наноструктур белка. Экспериментально показано, что при конденсации открытой, далекой от термодинамического равновесия системы белок–вода *in vitro* возникает самоорганизация наноструктур белка. Только в этом случае протеин находится в неравновесном состоянии, необходимом для его активной работы. Данная форма самоорганизации белка сопровождается нуклеацией с появлением серии дефектов, разделяющих пленку протеина на ячейки (клетки) с ядрами. Такой характер структурообразования протеина в неравновесном (активном) состоянии может считаться неким приближением к экспериментальной модели нуклеации белка с формированием и делением биологических клеток, поскольку их основой также является самоорганизующийся белок на наноуровне. Это связано с одинаковыми условиями его конденсации *in vitro* и *in vivo*. В обоих случаях при быстром удалении воды из открытой далекой от термодинамического равновесия системы белок–вода возникают условия, необходимые для самоорганизации неравновесного состояния наноструктур протеина с нуклеацией в форме „клеток“ с ядрами.

Введение

До сих пор остается загадкой происхождение строительных единиц живого — биологических клеток. Эта проблема является важнейшей в рамках нового, быстро развивающегося направления науки о белке — протеомики. В последнее время четко обозначены ее задачи, включая интеграцию структурной информации в общую сеть от атома до клетки. Это должно привести к открытию главного функционального принципа самоорганизации. Последний лежит в основе всех биологических процессов и прежде всего появления и деления клеток макромасштаба.

Несмотря на это, до сих пор самым распространенным остается метод рентгеноструктурного анализа белка [1], изучающий равновесные энергетические неактивные его кристаллы на уровне Å.

И в то же время накапливается все больше данных о том, что излучение структур индивидуальных молекул белка, визуализируемых на уровне Å, часто неинформативно по отношению к его функционированию. Поэтому делаются попытки анализировать структуры большего комплекса. При этом в противоположность исследования и folding, т.е. сворачивания молекулярных цепей белка на атомном уровне, требуется получить оценку наноструктур нековалентных макромолекулярных комплексов с уникальным строением и биологической функцией на наноуровне. Оказалось, что именно этот масштаб представляет особый интерес, так как только с него природа начинает создавать макромолекулярные содружества для ключевых процессов в живом (деления, размножения, функционирования и т.д.).

Отсюда становится очевидным, что понимание проблемы происхождения клеток тормозится отсутствием особого метода, позволяющего получить *in vitro* экспериментальную модель самоорганизации белка в неравновесном состоянии от нано- до макроуровня.

Использованные нами приемы исследования [2–7] показали, что при конденсации открытой, далекой от термодинамического равновесия системы белок–вода *in vitro* действительно удается воспроизвести процесс самоорганизации наноструктур белка. Опыты показали, что только в этом случае протеин находится в неравновесном состоянии, необходимом для его активной работы. Самое интересное, что этот процесс сопровождается появлением серии дефектов, разделяющих пленку протеина на ячейки (клетки) с ядрами, аналогичными по морфологии живым клеткам (рис. 1).

Возникает вопрос, почему же в одном белке, в его пленке, высыхающей на твердой подложке и на открытом воздухе, образуются структуры, напоминающие по форме живые клетки. Ведь хорошо известно, что биологические клетки содержат кроме белка еще множество ингредиентов, из которых наиболее значимы ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), АТФ (аденазинтрифосфорная кислота) и др. Какова же роль одного белка в процессе происхождения клеток? В этом отношении очень интересны новые сенсационные данные. Экспериментально убедительно доказана автономность работы белка в живом [8]. Опыты, названные бриллиантовыми, показали возможность нормального по времени, абсолютно точного (секунда в секунду) цитокинеза, т.е. деления тела клетки, ее белковой цитоплазмы. В этом случае цитокинез происходит при полном удалении

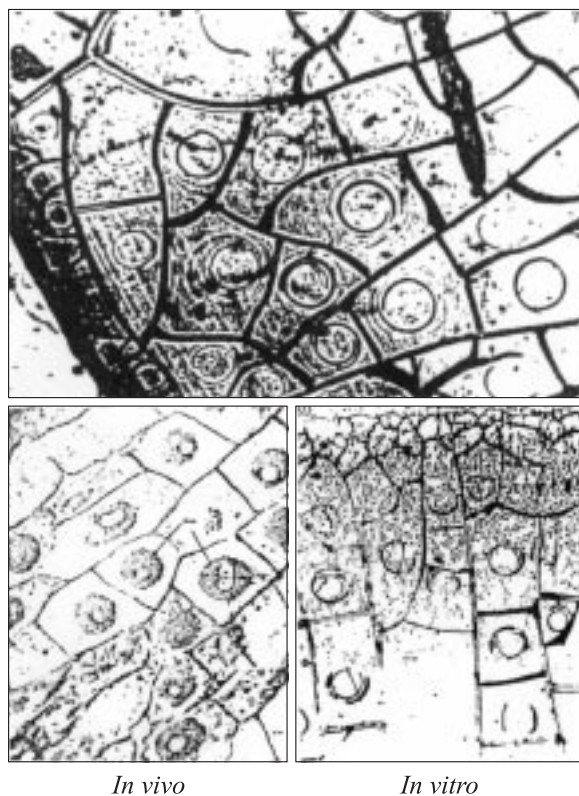


Рис. 1. Неравновесная наноструктурная пленка белка „протос“ (система лизоцим–вода). Геометрически подобные блоки (клетки) с ядрами по виду напоминающие форму живых клеток (*in vitro*); биологические клетки (*in vivo*). Оптический микроскоп, ув. 200.

всего генетического аппарата, а значит без деления ядра (т.е. без кариокинеза).

Однако механизм такого процесса так и остался непонятным. Не ясно, каким образом белок протоплазмы клеток без ДНК может выполнять ведущую функциональную роль, откуда берутся „источники сигналов для работы сжимающих мышцеподобных его волокон“ в делящихся клетках животных и растений [9,10]. Иначе говоря, в биологии не известны причины появления таких разделяющих белковую протоплазму трещин в теле клетки, а следовательно, не известно происхождение и самих клеток.

Для более детального рассмотрения этой проблемы целесообразно было провести дополнительные специальные эксперименты с отвердеванием белка в термодинамических и кинетических условиях, наиболее близких к его функционированию в живом, а именно в открытой и неравновесной системе белок–вода в сравнении с закрытой и равновесной. Опыты во многом повторяли методику проведенных ранее экспериментов [5–7], но отличались ракурсом интерпретации. Последняя касалась особого внимания к процессу нуклеации пленок белка и их комплекса с образованием доменов (клеток) с ядрами при конденсации.

Методика

Исследовалось отвердевание открытой, на воздухе, системы белок–вода (яичный лизоцим, яичный белок, сыворотка крови человека с гемолизом эритроцитов). Сыворотку крови человека с выраженным гемолизом эритроцитов, т.е. с комплексом белков плазмы и высокой концентрацией гемоглобина, получали путем забора 5.0 ml венозной крови, хранили ее в закрытой пробирке в холодильнике при температуре 1–2°C в течение 10 суток. Капли или масса материала помещалась на предметное стекло, высушивалась при комнатной температуре и атмосферном давлении и визуализировалась динамика процесса конденсации под микроскопом (оптический, поляризационный, электронный сканирующий, конфокальный лазерный микроскопы; 1-я серия). Во второй серии опытов такая же система высушивалась в закрытых условиях и процесс конденсации и полимеризации белка происходил при более медленном испарении воды. Подробнее методика изложена ранее [1–7]. Проведено всего 3 тысячи опытов.

Результаты

Эксперименты показали, что в 1-й серии опытов при конденсации яичного белка, яичного лизоцима, а также сыворотки крови (с гемолизом эритроцитов) в открытой, далекой от термодинамического равновесия системе закономерно возникает аналогичный процесс самоорганизации раствора белка и сыворотки крови с гемолизом эритроцитов.

В динамике процесса конденсации белка и его комплекса при достижении определенной критической точки уплотнения ранее гомогенной пленки начинается процесс нуклеации. Он сопровождается внезапным треском и появлением серии геометрически связанных упорядоченных крупномасштабных дефектов: прямолинейных, спиральных (орбитальных) и др. Они делят трехмерную пленку белка или его комплекса (в сыворотке крови) на отдельные ячейки (клетки). Каждая клетка приобретает четкие и ровные двойные границы и центрально расположенные ядерные зоны со спиральными вихрями противоположного вращения о нано- до макроуровня. При этом возникают различные формы прерывистой симметрии: спиральной (эллипсоидной) и суперспиральной (вращательной), трансляционной радиальной, поворотной, киральной, симметрии „дикообраза“ или симметрии „птичьего крыла“ с чертами фрактальной геометрии и др.

Во 2-й серии опытов в закрытой равновесной системе белка (яичного и чистого лизоцима) возникают двумерные кристаллы сетчатой формы и отсутствуют описанные выше процессы нуклеации с разными видами прерывистой симметрии на нано- и макроуровне.

Резкое различие этих двух состояний белка (яичного альбумина и лизоцима) было подтверждено рентгено-структурным анализом, который показал, что в неравновесном состоянии протеина (1-я серия опытов) происходит спонтанное образование наноструктур (порядок появлялся только с 0.5–1.0 nm (4.33–10) Å) при отсутствии решетки дальнего порядка, которая с неизбежностью возникает в равновесных кристаллах (2-я серия опытов).

Удалось доказать, что в условиях открытой далекой от равновесия системе (в 1-й серии) при конденсации белка и сыворотки крови формируется анизотропная фаза пленки жидкого кристалла с электрической пульсацией и крупномасштабными дефектами. Точно такие свойства встречаются также во многих коллоидальных суспензиях при их отвердевании [11] и в жидкокристаллической фазе различных материалов [11–14]. В то время как при солидизации коллоидальной суспензии белка в закрытой, близкой к равновесию системе (2-я серия) не возникает физическая фаза пленки жидких кристаллов [15], появляется твердокристаллическая фаза независимо от размера [12]. Проведенные опыты показали, что в неравновесных условиях в одном белке (в яичном и в лизоциме) без каких-либо других ингредиентов живого (ДНК, АТФ и др), а также в сыворотке крови с гемолизом эритроцитов при наличии массы других ингредиентов происходит однозначная супрамолекулярная самоорганизация наноструктур белка с нуклеацией и появлением трехмерных кластерных пленок в фазе жидкого кристалла на мезо- и макроуровне. При этом выявлено не идентифицированное ранее неравновесное состояние протеина с особыми структурными, электрическими, оптическими и магнитными свойствами [2–7].

Обсуждение

Из полученных данных можно наметить некую конву общности взаимосвязей в процессе самоорганизации белка в неравновесном состоянии *in vitro* и *in vivo*. На основании опытов с чистым белком складывается впечатление, что именно в массе одного уплотняющегося белка без других ингредиентов живого как бы заложена автономная временная программа активности с закономерным появлением нуклеации (или доменизации) белка. Из этих опытов становится ясно, каким образом при удалении генетического аппарата сохраняется способность протеина к делению его пленки на ячейки (клетки) с центрами (ядрами) округлой формы.

Понятно, что в этом случае речь идет о важнейшей роли белковой составляющей в делении клеток живого. И в то же время выявляется пока только наглядная общность поведения белка с нуклеацией в биотических условиях (*in vivo*) и в абиотических условиях (на стекле).

Для того чтобы глубже понять этот феномен в живом, необходимо коснуться действующих в эксперименте *in vitro* причинных факторов нуклеации, т.е. деления пленки белка трещинами на клетки в неравновесных условиях.

Роль кинетики процесса убедительно доказана нашими простыми опытами. Меняя скорость удаления растворителя (воды) из системы белок–вода, мы принципиально изменяли ее характер — делали ее неравновесной в открытых условиях и равновесной в закрытых. В первом случае (1-я серия), в открытой системе, возникла нелинейная осциллирующая динамика процесса самоорганизации наноструктур белка в неравновесном состоянии. При этом появлялась текстура в виде клеток (доменов) с ядрами, которые имеют несомненное сходство с процессами нуклеации белка. Во втором случае (2-я серия), в закрытой равновесной системе, нуклеации не наблюдалось.

Эти результаты совершенно не двусмысленно подтверждают известные данные теории и эксперимента о том, что нуклеация и рост соседних зерен (или ячеек, блоков, клеток) при самоорганизации материи происходит только в нелинейной нестабильной системе, а текстура образуется как ее функция. Следует напомнить научное предсказание, сделанное в 1952 г. [16]. По мнению авторов, в неравновесных системах с нелинейной динамикой межповерхностный ток организуется в ячейистые (клеточные) образцы, подобные ячейками Бенара [17]. Последний описал неравновесные процессы при конвекции тепла с образованием структур в форме ячеек или клеток с центрами и спиральной волнистостью, которая появлялась примерно через 72 h.

Эти данные совпадают с поведением других пленчатых структур, возникающих в ходе конденсации с нелинейной динамикой, приобретаая при этом неравновесное состояние [18–20].

Очевидно, что появление ячеек (клеток) во всех приведенных примерах и в белке имеет общие универсальные причины, связанные с процессами самоорганизации материи в неравновесном состоянии. Это полностью соответствует и подтверждает концепцию [21] о переходе от простого деления конденсирующейся материи в направлении повышения сложности при спонтанной самоорганизации, поскольку этот процесс является вершиной конденсации и осуществляет программу данной системы [21]. Он способен генерировать определенно организованную, алгоритмически повторяющуюся и функциональную супрамолекулярную архитектуру от нано- до макроуровня. Литературные данные свидетельствуют также о том, что характер процесса находится под временным кинетическим контролем. Неравновесность в свою очередь определяет появление упорядоченных на наномасштабе когерентных, диссипативных структур с нелинейной динамикой.

В этом случае появляются универсальные функциональные и структурные свойства с доменами, блоками, клетками, играющими большую роль в самоорганизации

сложных структур различных видов материи и в развитии живых клеток [21].

Несмотря на это, появление ячеек (клеток) в белке *in vitro* в отличие от ячеек в масле (феномен Бенара), от блоков при высыхании „такыра“ в пустыне [22] или от высыхания обычной грязи (являющейся также примером неравновесного состояния материи) представляет собой особый „самоценный“ феномен, так как он, по-видимому, имеет непосредственное отношение к образованию клеток в живом организме.

Результаты проведенных нами опытов в 100% случаев позволили обнаружить в белке не только аналогичный, свойственный другим неравновесным системам феномен образования отдельных ячеек (клеток), но и не описанные ранее специфические их особенности — наличие геометрически правильно расположенных, ярко очерченных центральных зон. Причем в каждой клетке определялось только одно ядро соответственно ее размеру. Все эти структуры имели строгое геометрическое подобие и в расположении доменов (клеток) и их ядер, создающих целостную очень упорядоченную систему, имеющую удивительное феноменологическое сходство с клетками и клеточными пластинами живых биологических систем. Особо следует подчеркнуть, что в образцах высыхающей гемолизированной сыворотки, где кроме комплекса белков (сыворотки и гемоглобина) было много различных составляющих крови (органических и неорганических веществ), картина упорядочения не только не изменяется, но становится еще более выраженной, исключительно выразительной и типичной для чистого белка, отличаясь только красным цветом. По-видимому, это объясняется автономностью работы белка, в котором протекают конкурентно активные автоволновые процессы с наиболее высокой частотой колебаний, которые падают морфологию других веществ [7]. Однако пока все эти удивительно важные явления остаются фактически неизученными. Можно думать, что только последующее специфическое глубокое исследование механизма неравновесности в такой экспериментальной модели позволит раскрыть сущность специфики процесса самоорганизации протеина в целом не только в абиотических, но и в биотических условиях.

Для того чтобы понять это своеобразие, необходимо создать общую теоретическую модель самоорганизации и симметрии белка, учитывая особенности его равновесного и неравновесного состояния. В этом состоит основная задача последующих исследований.

Однако уже сегодня на основе сопоставления ряда полученных и известных фактических данных важно подчеркнуть отдельные моменты. Так, наличие в неравновесном состоянии белка *in vitro* спиральных вихрей при его фазовом переходе (из жидкого в твердое), очевидно, связано с гидродинамической турбулентностью. Объяснить ее появление при небольшой скорости испарения воды из открытой на воздухе системы белок-вода при ее конденсации можно на основе экспери-

ментов, проведенных авторами [23]. Они показали, что особая „эластическая турбулентность“ возникает даже при незначительной скорости солидизации (отвердевания), что связано с высокой вязкостью и эластичностью полимерных сред, к которым относится и коллоидальная система белок-вода.

В то же время турбулентностью, как известно, объясняют процесс рождения дефектов с определенной периодичностью, иначе говоря, с прерывистой симметрией [24]. Отсюда как будто становится понятным, каким образом в пленке белка *in vitro* образуется при конденсации прерывистая симметрия определенного вида (спиральная, или орбитальная, радиальная, поворотная, „ежикоподобная“ и др., аналогичная симметрия белка *in vivo* (Петухов С.В., 1999).

В новейших работах по биокосмологии обнаружена именно такая прерывистая спиральная (или орбитальная) симметрия в космосе и в протеине. Авторы связывают ее появление с орбитальными взаимодействиями электромагнитных полей. Тогда как появление асимметрии с наличием ядер объясняют действием ядерных сил (J. Sakina-Weave, 2003).

Причем образование клеток (их границ) пленке белка в наших опытах *in vitro* [5–7] было связано с возникновением крупномасштабных дефектов в жидкокристаллической его фазе, что соответствует описанным свойствам жидких кристаллов различного происхождения [9]. Это позволяет понять, почему в белке живого организма, где он чаще всего находится именно в жидкокристаллическом фазовом состоянии, также наблюдаются крупномасштабные дефекты, которые неизбежно приводят к возникновению нуклеации в белке с образованием структурных системных единиц клеток в его пленках с симметрией, аналогичной пленкам и блокам в эксперименте *in vitro* на нано- и макроуровне. Это совпадает с мнением Минц Р., Кононенко Е. [13] о том, что деление клеток в морфологии живого можно рассматривать, как движение линейного дефекта (борозды деления) через ее тело и мембрану. Это, по их мнению, объясняется „наличием жидкокристаллических фаз и их участием в биологических функциях“ [11–13].

Собственные экспериментальные исследования позволили подтвердить высказанное теоретическое предположение. Можно считать, что в жидкокристаллической фазе белка появляется эластичность, которая подчиняется законам специальной эластической теории. А электрический пульс в пленке белка можно связать с известным свойством периодических изменений эластической упругости [25,26]. Согласно эластической теории, считается, что характер поведения свободной энергии зависит от ориентации неравновесных эластических сил, направление которых отражает ход ее диссипации и минимизации.

Указанные теоретические предпосылки для обоснования процесса нуклеации пленок протеина, а также реальная возможность экспериментально смоделировать подобную морфологическую картину *in vitro* позволяют

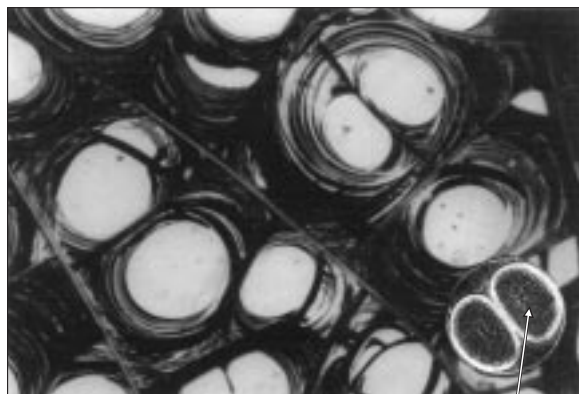


Рис. 2. Деление центра первичной „материнской“ спирали (ядра) клетки высохшей пленки белка на стекле (*in vitro*, ув. 120). Внизу подобное деление яйца змеи (*in vivo*, ув. 185). Оптический микроскоп.

высказать некоторые соображения. Можно предполагать, что рождение определенного структурного порядка с нуклеацией и появлением „клеток“ с ядрами при конденсации жидкокристаллической пленки белка на нано- и макроуровне *in vitro*, а также при образовании пластов и клеток в живом на том же масштабе имеет внутреннее единство. Оно, по-видимому, определяется характером релаксации и минимизации энергии неравновесного состояния протеина в том и в другом случае. Появление аналогичных видов симметрии в пленке белка при самоорганизации *in vitro* и *in vivo* является основным аргументом в пользу единых причин нуклеации в биотических и в абиотических условиях, отражающих в конечном итоге путь стабилизации энергии при самоорганизации его наноструктур.

Такое предположение подтверждается рядом известных морфологических, функциональных, экспериментальных и теоретических данных.

1. Так, эмбриологи без каких-либо объяснений описывают морфологические наблюдения за автономным процессом появления клеток в живом яйце, рисуя повторяющуюся единообразную картину. Авторы представляют это следующим образом: на вегетативном полюсе яйца в поверхностном диске цитоплазмы уплотняется ее кортикальный слой. Он становится очень вязким, плотным и однородным (в нем отсутствуют хромосомы, ДНК и др. включения). Перед дроблением в белке резко возрастает напряжение и возникает первая борозда деления — дефект. Это является началом системного дефектообразования с соответствующим появлением 2, 4–8, 16 и т. д. блоков (рис. 2). Их называют клетками, несмотря на отсутствие в начальной стадии деления четвертой стороны, отделяющей их от массы гомогенного бесструктурного протеина. Вот и все, что удалось пока нам найти по этой проблеме в эмбриологии [27,28].

Судя по данному описанию, для появления клеток в яйце (*in vivo*) достаточно как будто тех же процессов, которые мы наблюдаем в эксперименте, а именно возникновение серии дефектов (трещин) в пленке протеина с внутренним напряжением при уплотнении его вязкой массы в неравновесных условиях живой системы. Как ни странно, но различие состоит лишь в наличии биотических условий в яйце (*in vivo*) и абиотических в эксперименте на стекле (*in vitro*).

2. Хорошо известно, что белок в живом организме самоорганизуется и выполняет самые разнообразные функции, обладающие подчас огромной силой и скоростью. Однако до сих пор основным источником энергии для его активности считается АТФ. Собственные экспериментальные данные *in vitro* позволили показать, что при самоорганизации одного белка без АТФ (лизозима, яичного белка) возникает его высокоэнергетическое неравновесное состояние, без которого невозможна происходящая структурная перестройка, а следовательно и функциональная работа [2–7].

В этих опытах появилась возможность обнаружить неравновесное состояние белка при аналогичных конформационных переходах *in vitro* и *in vivo* и тем самым наглядно доказать его энергетический вклад в процесс самоорганизации протеина на стекле и в живом организме при одновременном участии в нем АТФ с реакцией фосфорилиции.

Аналогия (пока только качественная) состоит: в соответствии в обоих случаях пространственной геометрической (внешней) формы клеток и ядра (рис. 1). Вихревые спиральные (орбитальные) пленки, окружающие центры „клеток“ *in vitro* похожи также на спиральные белковые микротрубочки цитоскелета, расположенные вокруг клеточных ядер живого организма [29–30]. Кроме того, образование тремерных, наслаивающихся друг на друга пленок в виде „кип“ *in vitro* аналогично „кипам“ мембран в органеллах живых клеток (в митохондриях, в аппарате Гольджи и т. д.) [29].

Известно, что в живом организме в структурно- и формообразовании (мембран, пластов, пленок, волокон, тканей, клеток с ядрами, органеллами и т. д.) существует как бы единый план построения, связанный в основном с находящимся в них белковыми комплексами. Последнее неизбежно, так же как и в описанных опытах *in vitro*, возникают при конденсации различных жидких или жидкообразных систем белка с водой, переходя в более плотные или в твердообразные биологические образования. Однако до сих пор остаются неизвестными причины геометрической общности разных белков, клеток, тканей независимо от их характера и особенностей живого организма.

Полученные нами данные позволили это объяснить способностью протеина различной природы в неравновесном состоянии при самоорганизации создавать подобные формы эпитаксиально растущих наноструктурных пленок (мембран) в виде „кип“, что соответствует поведению целого класса органических полимеров. Однако

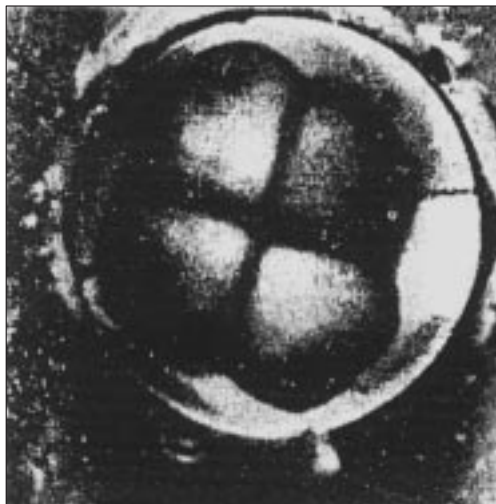


Рис. 3. Картина деления яйца *in vivo*. Борозда первого деления проходит через анимальный полюс. Стадия образования четырех клеток.

насколько нам известно, до сих пор не описаны формы самоорганизации полимеров с „клетками“ и с ядрами, которые по форме близки живым клеткам.

Опыты позволили наблюдать не только статику, но и аналогичную динамику более поздних фаз самоорганизации белка, когда спонтанно начиналось деление блоков и их центров („ядер“) на середине ширины поля подобно делению клетки и ядра в живом и образованию суперспиралей (рис. 3). Начало процесса в центральной зоне и в том и в другом случаях свидетельствует, видимо, о том, что именно здесь локализуется наиболее активная энергетическая зона.

Кроме того, следует отметить появление дефектов и „каналов“ между блоками с исключительно ровными двойными стенками в опытах *in vitro*, имеющими сходство с пограничными зонами в живом. Как известно, их называют в морфологии межклеточными пространствами, щелями или бороздами, в которых находится межклеточная жидкость. Это также совпадает с полученными экспериментальными данными о возникновении „двойниковых“ эффектов при дроблении на блоки гелеобразной массы белка (рис. 1).

Прежде всего из перечисленных результатов исследования видно, что свойства нуклеации неравновесного состояния белка при самоорганизации наноструктурных его пленок *in vitro* в неравновесных условиях совпадает по геометрическим особенностям с формированием пластов клеток с ядрами *in vivo*. Хотя понятно, что „клетки“ *in vitro* далеко не идентичны живым, однако выявленная нами общность структурно-каркасных свойств, симметрии и масштабов белка *in vitro* и *in vivo*, а также его функциональная активность и в том и в другом случаях кажется принципиально важной для дальнейшего детального изучения проблемы.

Заключение

Описанная *in vitro* морфологическая форма структурообразования протеина в неравновесном (активном) состоянии может считаться неким приближением к экспериментальной модели процесса нуклеации с появлением и делением биологических клеток, поскольку основой их в живом также является процесс самоорганизации на наноуровне. Приведенные пока лишь качественные данные все же дают возможность уже сейчас условно представить в общих чертах источник энергии, необходимый для нуклеации с образованием дефектов в белке *in vitro* и *in vivo*. Поведение и структурообразование при конденсации неравновесной жидкокристаллической фазы пленки белка позволило думать об универсальных свойствах, которые согласуются с теорией кластерных наноструктурных пленок [29,30] и, в частности, с теорией намагических анизотропных жидкокристаллических и эластических пленок [31].

Полученные нами экспериментальные данные дали возможность впервые визуализировать динамику спонтанного фазового перехода белка при его конденсации и самоорганизации *in vitro* в условиях, наиболее приближенных к процессам, происходящим в живом на клеточном уровне: по кинетике (достаточная скорость дегидратации для создания неравновесных условий *in vitro* и *in vivo*, где она связана с быстрым гидролизом АТФ), по термодинамическим параметрам (в открытой системе вдали от термодинамического равновесия, *in vitro* и *in vivo*), по масштабам (клеточный макроскопический и наноуровень, рентгеноструктурный анализ, оптический и электронный микроскопы, *in vitro* и *in vivo*), а также по растворителю (вода, *in vitro* и *in vivo*).

Результаты опытов показали, что при самоорганизации наноструктур протеина (на мезо- и макромасштабе — на клеточном уровне) появление новой фазы жидкого кристалла с эластическими свойствами сопровождается формированием крупномасштабных дефектов, ведущих к процессу нуклеации с образованием многослойных пленок, которые делятся на блоки (клетки) с центрами в форме ядра в каждой из них в абиотических и биотических условиях.

Важно подчеркнуть, что процесс *in vitro* протекает в одном белке без каких-либо дополнительных источников энергии (без АТФ, ДНК и др.), а приводит к одинаковым формам и масштабам симметрии *in vivo*. Это, по-видимому, свидетельствует о единстве причинных факторов в обоих случаях и дает основание высказать предположение об автономности работы белка в живом организме. Можно думать, что более детальное количественное сопоставление динамики самоорганизации белка *in vitro* в одном белке и *in vivo* позволит сделать заключение о том, в какой мере белок конкурентно активен, а следовательно, может работать автономно в сложной системе с массой ингредиентов и т.д. Проведенные опыты с гемолизированной сывороткой как

будто исключают предположение о том, что белок в живом организме в сложной системе и в содружественной работе с массой ингредиентов изменяет свой путь самоорганизации и формирования архитектуры, так как в соответствии с концепцией, изложенной в работе [21], супрамолекулярная химия в процессе самоорганизации является результатом осуществления определенной конформационной молекулярной программы, соответствующей существующему коду не только *in vitro*, но и *in vivo* (в живом): „Это запрещает системам эволюционировать в других направлениях, в направлении продукции другой сущности“ [21].

Таким образом, можно утверждать, что тщательный анализ экспериментальной модели самоорганизации белка в неравновесном состоянии с нуклеацией от нанодо макромасштаба окажется чрезвычайно полезным для изучения проблемы происхождения и деления живых клеток.

В заключение считаю своим приятным долгом поблагодарить за моральную поддержку и помощь в проведении исследований, в обсуждении полученных результатов, выдвинутых гипотез и высказанные при этом ценные замечания и предложения М. Амусью, А. Ареля, В. Буравцева, В. Волкова, А. Заикина, М. Клингера, Л. Маневича, Ю. Неемана, И. Пригожина.

Список литературы

- [1] *Sali A.* et al. // *Nature*. 2003. Vol. 422. N 13. March. P. 216–225.
- [2] *Ranic E.* // Письма в ЖТФ. 1988. Т. 14. Вып. 17. С. 1561–1564.
- [3] *Ranic E., Гасанова Г.* // Письма в ЖТФ. 1991. Т. 36. Вып. 4. С. 62–71.
- [4] *Ranic E.* // Письма в ЖТФ. 1995. Т. 21. С. 13–20.
- [5] *Ranic E.* // Письма в ЖТФ. 1997. Т. 23. С. 28–38.
- [6] *Ranic E.* // ЖТФ. 2000. Т. 70. Вып. 1. С. 122–133.
- [7] *Ranic E.* Белок и жизнь (Самоорганизация и симметрия наноструктур белка). Иерусалим; Москва: ЗЛО „Милта-ПКПТИГ“, 2003. С. 257.
- [8] *Zhang D., Nicklas B.* // *Nature*. 1996. Vol. 382. August. P. 466–468.
- [9] *Heald R.* et al. // *Nature*. 1996. Vol. 382. August. P. 420–426.
- [10] *Buckingham M.* // *Nature*. 2000. Vol. 408. December. P. 773.
- [11] *Poulin Ph.* et al. // *Science*. 1997. Vol. 275. March. P. 1770–1773.
- [12] *Zapotocky M.* et al. // *Science*. 1999. Vol. 283. January. P. 209–211.
- [13] *Милиц Р., Кононенко Е.* // *Природа*. 1984. № 6. С. 36–54.
- [14] *Инденбом В., Никитенко В., Струнин В.* Теория дислокаций и дислокационная физика // *Природа*. 1974. Т. 4. С. 74. Там же. № 6. С. 82.
- [15] *Xiao Bing* et al. // *Nature*. 1995. Vol. 376. P. 188–200.
- [16] *Sternling C., Scriven L.* // *A 1. Journal*. 1959. Vol. 5. P. 514–517.
- [17] *Benard H.* // *Rev. Gen. Sci. Pur. Appl.* 1990. N 11. P. 1261–1309.

- [18] *Avnir D., Darin D., Pfeifer P.* // *Nature*. 1984. Vol. 308. April. P. 261–267.
- [19] *Parkinson J.* // *Science*. 1995. Vol. 270. N 11. November.
- [20] *Preskill J.* // *Science*. 1996. Vol. 272. N 5. P. 966–967.
- [21] *Lehn J.M.* // *PNAS*. 2002. Vol. 99. April. P. 16.
- [22] *Groisman A., Kaplan E.* // *Europhys. Lett.* 1994. Vol. 25. N 6. P. 415–420.
- [23] *Groisman A., Steinberg V.* // *Nature*. 2000. Vol. 405. May. P. 53–55.
- [24] *Service R.* // *Science*. 1997. Vol. 276. April. P. 356–357.
- [25] *Aggeli A.* et al. // *Nature*. 1997. Vol. 386. March. P. 259–262.
- [26] *Maruyama T.* et al. // *Science*. 1996. Vol. 274. P. 233–236.
- [27] *Nicklas R.* // *Chromosoma*. 1967. Vol. 21. P. 1.
- [28] *Бодемер Г.* Современная эмбриология. М.: Мир, 1971.
- [29] *Kjer Nielson L.* et al. // *Curr. Biol.* 1999. Vol. 9. P. 385–388.
- [30] *Linstedt A.* // *Curr. Biology*. 1999. Vol. 9. P. 893–896.
- [31] *Trau M.* et al. // *Science*. 1996. Vol. 272. May. P. 706–707.