

01;12
©1995

К ВОПРОСУ О САМООРГАНИЗАЦИИ БЕЛКА

Е.Г.Рапис

В настоящем письме на основе ряда экспериментальных наблюдений предложена гипотеза о возможной природе самоорганизации белка в системе белок-вода. Этот процесс рассматривается в рамках теории самоорганизации [9-16] и определяется соответствующей структурой белка в реалистичных неравновесных условиях для открытой системы. При этом в механизме неравновесности, инициирующем самоорганизацию, существенную роль играют поверхностные краевые эффекты в зонах структурных взаимодействий белковых молекул (или их ансамблей) между собой или с окружающей средой.

Наблюдая на микроскопическом (надмолекулярном) уровне за фазовым переходом белка (из жидкой в твердую фазу), можно видеть некоторые стороны динамики процесса самоорганизации в переходной жидкокристаллической фазе. Это позволяет судить о связях данного явления с известными в биологии свойствами белка.

Появление неравновесности является тем энергетическим сигналом, который вызывает в среде белка процесс диффузии с колебаниями автоволнового типа (или пространственно-временные диссипативные структуры). Они упорядочивают среду, превращая жидкие хаотично расположенные полипептидные цепи в симметричные 3-мерные функционирующие молекулы белка [1-8]. При этом изменяется их конформация на вторичную, третичную, четвертичную.

Процесс синхронизируется, копируется и, ускоряясь, создает автокаталитический эффект, который распространяется на все структурные уровни. Это позволяет наблюдать при структурообразовании белка спирали микро- и макроскопически. Связать это можно с активностью белковой среды, фундаментальным свойством которой при автоволновых колебаниях является образование спиралей [15,16].

Фазовый переход оказывается завершенным, когда колебания прекращаются и исчезает активность субстрата, а спиральные структуры необратимо остаются, свидетельствуя о возникновении твердой стационарной фазы процесса.

В целом явление самоорганизации белка зависит от общих физико-химических свойств его полимерных биомолекул (подобных описанным в [17-19]).

Недавние эксперименты [20-22] показали, что дегидратация (испарение воды) в открытой неперемешиваемой системе белок-вода приводит к структурообразованию с агрегацией и уплотнением белка. Динамику структурно-геометрических проявлений процесса удалось наблюдать микроскопически, не нарушая его спонтанность. При этом происходит самоорганизация белка через автоволновые колебания, бегущий фронт которых распространяется к центру, образуя спирали (рис. 1, А, Б, В) [20-22].

В так называемой "розетке высыхания" вначале недифференцированная масса белка оказывается раздробленной трещинами на отдельные морфологические единицы-блоки со спиралью и центром (наподобие ядра клетки) в каждой из них. Реакция заканчивается появлением упорядоченной структуры, имеющей прерывистую: радиальную, спиральную и поперечную симметрию (рис. 1).

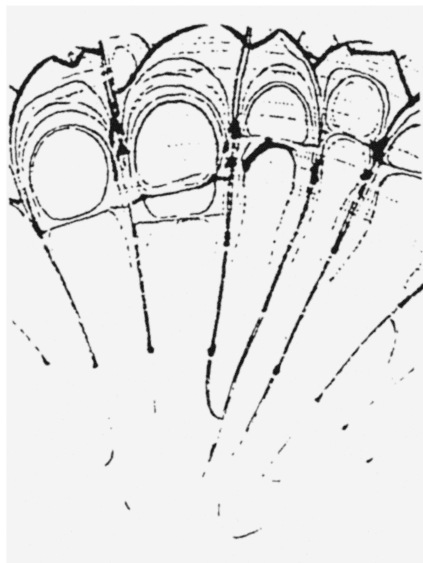
Анализ проведенных экспериментов позволил дать обоснование высказанной гипотезы.

Термодинамические закономерности процесса самоорганизации белка

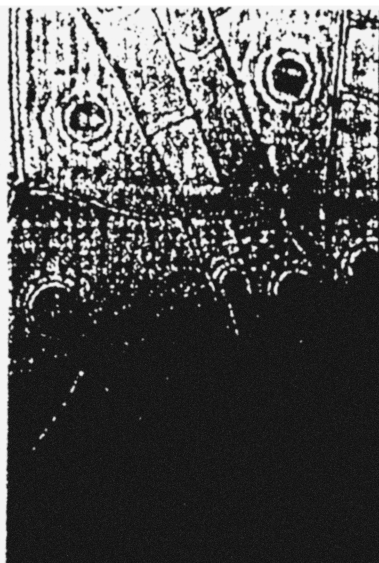
Экспериментальные данные показали, что самоорганизация возникает только при определенных термодинамических условиях. Так, в системе белок-вода в условиях закрытой (покровным стеклом) капли вблизи от равновесия происходит кристаллизация белка, но не возникает процесса самоорганизации (рис. 2). В то же время в открытой системе без ее перемешивания в неравновесных условиях вдали от равновесия с удивительным постоянством предсказуемо возникает процесс самоорганизации через автоволновые колебания [20-22].

То, что нам удалось наблюдать микроскопически именно автоволновые колебания (диссипативные структуры), подтверждается их свойствами, которые совпали с известными в термодинамике [9-16]:

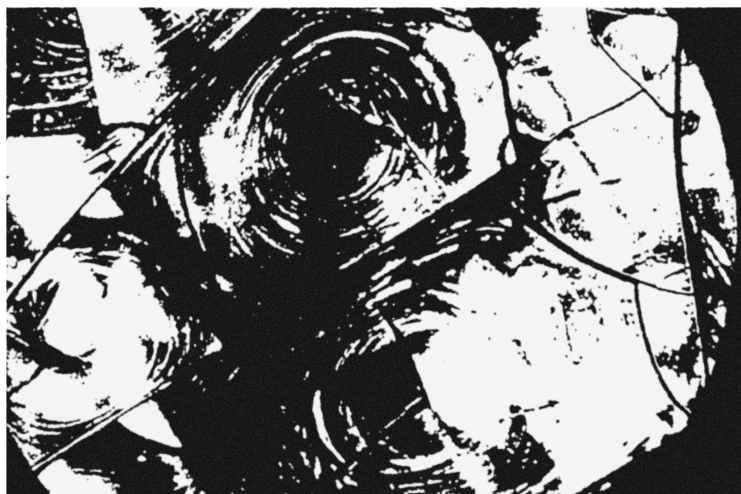
Рис. 1. Структурообразование яичного белка в процессе фазового перехода в неравновесных условиях: в открытой системе белок-вода вдали от термодинамического равновесия. Световой микроскоп. Ув. 7 × 20. Поляризационный микроскоп. Скращенные николи. Ув. 7 × 20. Видны "блоки", образуемые трещинами, подобные клеткам, фронт волн, распространяющийся от трещин и дислокаций (А), спиральные волны и спиральные трещины (А, Б, В), светящиеся в поляризованном свете (Б, В).



α



δ



ϵ

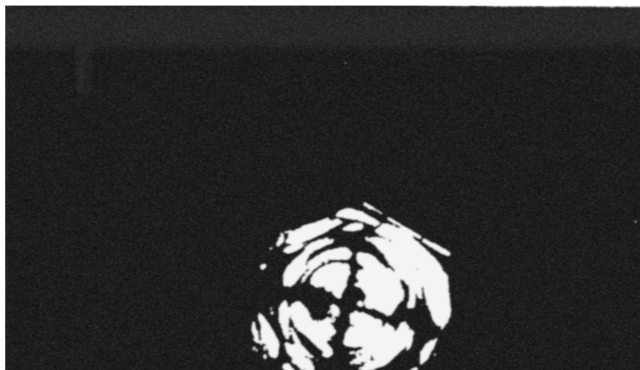


Рис. 2. Морфология *L*-спирали в придатках кожи (по данным рентгеноструктурного анализа) оказалась одинаковой с поведением белка при его самоорганизации, при дегидратации в системе белок-вода. Поляризационный микроскоп (Мин. 8), скрещенные николи. Ув. 7×20 . Видна анизотропная спираль с желтой интерференционной окраской и крестом погасания, не исчезающего при любом повороте столика микроскопа.

- а) бегущий фронт волн;
- б) чередование окраски волн, их дихроизм (см. рис. 1);
- в) возникновение спиральных структур с центрами;
- г) способность к согласованному изменению цвета;
- д) аянигиляция (погасание) при встрече, отсутствие интерференции;
- е) синхронизация колебаний по всем направлениям;
- ж) накопление информации;
- з) необратимость процесса;
- и) протекание его согласно закону “все или ничего”, и др.

Механизм неравновесности

В отличие от химической концентрационной неравновесности (подобно реакции Белоусова-Жаботинского), известной для метаболических колебаний в организме, наши опыты показали, что химический фактор не оказалась существенным при агрегации и структурообразовании белка. Так, в обоих случаях (в открытой и закрытой системе, в равновесных и неравновесных условиях), несмотря на наличие химической реакции полимеризации, без которой не может протекать любой вид агрегации и структурообразования белка, самоорганизация возникала только при определенных условиях (термодинамически неравновесных, в открытой системе).

Кроме того, наблюдения за динамикой процесса показали, что автоволновые колебания чаще всего локализуются и связаны с краевыми поверхностными зонами структурной неоднородности (например, край капли, край блока, образованный трещиной, дислокацией (рис. 1) или поверхностью подложки и т. д.). Таким образом, пограничный слой при структурных взаимодействиях играет важную роль в характере поведения системы.¹ При этом опыты показали, что автоволновые колебания по времени следуют за возникновением определенных структурных взаимодействий и неоднородностей (например, после возникновения трещин высыхания, после образования капли на стекле и т. д.).

В связи со спецификой данного механизма неравновесности, с учетом геометрии образующейся системы и ее граничными условиями, отмечаются необычные, ранее не описанные свойства процесса самоорганизации. Так, спиральные волны начинаются не от центра (в отличие от реакции Белоусова-Жаботинского), а распространяются от периферии, от границ блока (рис. 1, А): колебания ограничены для распространения энергии. В результате в каждом блоке образуется одна спираль с хорошо выраженной центральной зоной (рис. 1).

Связь между структурными уровнями

Наличие связи между различными структурными уровнями (молекулярным, микро- и макроуровнем) базируется на следующих экспериментальных данных:

а) динамический процесс фазового перехода из жидкого состояния в твердую фазу белка сопровождается образованием спиральных волн и трещин на микро- и макроуровне (рис. 1). В то же время известно, что в динамике фазового перехода происходят пространственные конформационные структурные изменения, которые сопровождаются более плотной укладкой и появлением анизотропии. Мы и наблюдаем анизотропию (двойное лучепреломление в поляризованном свете при скрещенных николях) микроскопически (рис. 3).

Этот переход экспериментально удается видеть в динамике: так, жидкая среда, раствор белка при низкой его концентрации, оптически изотропна, и это соответствует присутствию на молекулярном уровне жидких полипептидов, в процессе повышения концентрации белка, его агрегации и

¹ Живая природа дает много примеров активности краевых структурных зон и их взаимодействий. Возможно, с этих позиций найдет объяснение механизм "ключ к замку".

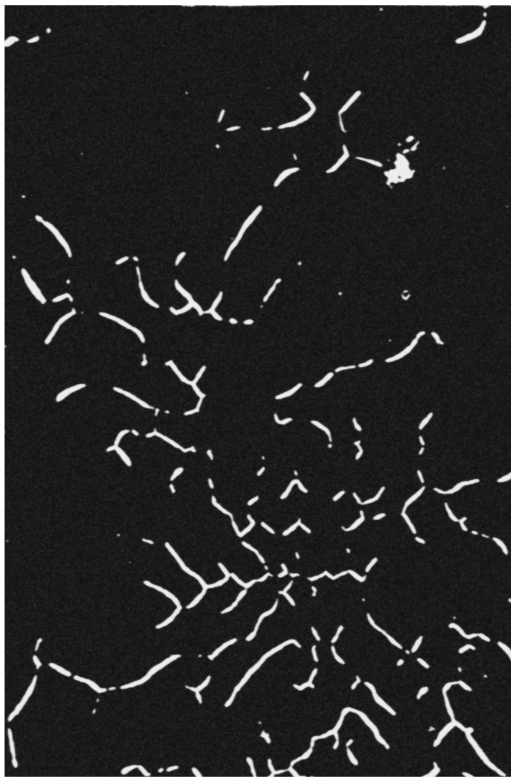


Рис. 3. Капля белка, высохшая под покровным белком. Поляризационный микроскоп, скрещенные николи. Ув. 7×8 . Нитчатый, сетевидный кристалл белка с двойным лучепреломлением, красновато-желтой интерференционной окраской и волнистым погасанием.

уплотнения появляются спиральные волны и возникает анизотропия, которая на молекулярном уровне соответствует образованию 3-мерных молекул белка, получивших название "folding": анизотропия исчезает, если мы снова растворяем белок водой (это значит, что исчезают, растворяются не только видимые спирали, но и меняется конформация, возникает первичная структура белка).

Таким образом, устанавливаются некоторая идентичность событий на молекулярном и микро-, макроуровне и их взаимодействие в процессе самоорганизации белка.

б) Заканчивается процесс отвердевания белка в организме *in vivo* (волос, придатков кожи) и вне его *in vitro* (в системе белок-вода) образованием одинаковой морфологической структуры — анизотропной спирали с центром погасания, не исчезающем при любом повороте микроскопи-

ческого столика (рис. 3). При этом молекулярную основу наблюдаемой картины открывает метод рентгеноструктурного анализа, обнаруживая *L*-спирали в придатках кожи [8].

Кроме того, "розетка высыхания" белка делится закономерно идущими линиями, образуемыми дислокационными трещинами. Это и создает упорядоченную симметричную структуру (рис. 1). Однако направление соскальзывания дислокаций не случайно, а по аналогии с "розеткой спекания" металлических порошков и полимеров [23,24] их можно связать с кристаллографической решеткой белка [23].

Зависимость процесса самоорганизации от общих свойств молекул белка

Экспериментальные данные показали способность к самоорганизации различных растворимых белков при их структурообразовании независимо от химического состава (гемоглобин, альбумин, глобулин, кристаллин, лизоцим, цитохром, миоглобин и др.). Поскольку белок так ведет себя в биологической модели *in vitro*, это позволяет считать, что данное свойство заложено в общих физико-химических особенностях макрополимерных молекул белка и прямо не связано с генетической информацией, т. е. с его первичной структурой. Это совпадает с данными о подобных процессах в других макрополимерах (ДНК, полиэтиленгликоль, ксантан и др.) [17-19].

Значение полученных результатов исследований и предложенной гипотезы состоит в том, что использование простой экспериментальной модели сложного явления позволяет наблюдать за процессом самоорганизации белка *in vitro* в различных условиях на микроуровне. Это намного облегчает задачу перехода к практическому использованию теории самоорганизации, основанной на физике неравновесных термодинамических процессов, в проблемах биологии, биотехнологии и медицины. А это необходимо, так как самоорганизацию, иначе говоря, природу функционирующего белка, понять на какой-либо другой основе невозможно. Ибо процессы в живом организме осуществляются только в неравновесных термодинамических условиях. И потому возникает возможность экспериментально проверять и изучать то, что было лишь предметом теоретических дискуссий.

Завершая письмо, считаю необходимым и приятным долгом выразить глубокую благодарность за помощь в работе и конструктивное ее обсуждение М. Амусье, М. Клингеру, Д. Наджи, А. Арэлю, И. Пригожину, Р. Лефевру, Ш. Шехтеру, Э. Бенякову и многим другим, кто посчитал возможным выслушивать и обсуждать результаты работы.

Список литературы

- [1] Kobata J. // Science. 1986. V. 233. P. 1037-1039.
- [2] Gilbert U. // Nature. 1991. V. 349. P. 90.
- [3] Richards F.M. // Scientific American. 1991. N 1. P. 34-41.
- [4] Kauffman S.A. Scientific American. August, 1991.
- [5] Siman S.M., Peskin C.S., Oster G.F. // Proc. Nath. Acad. Sci. USA. 1992. V. 59. P. 3770-3774.
- [6] Anfinsen C.B. // Science. 1973. V. 181. P. 223.
- [7] Альбертс Б., Брей Д. и др. Молекулярная биология клетки. Ч. 5. М.: Мир, 1987.
- [8] Albert B., Bray D., Liwis J., Raff M., Roberts K., Watson S. Molecular Biology of The Cell. 1989.
- [9] Николис Г., Пригожин И. Самоорганизация в неравновесных системах. М.: Наука, 1983.
- [10] Пригожин И., Стенгерс И. Порядок из хаоса, М.: Прогресс, 1986. С. 432.
- [11] Николис Г., Пригожин И. Познание сложного, М.: Мир, 1990.
- [12] Чернавский Д.С., Григорьев Л.Н., Полякова М.Г. Колебательные процессы в биологических системах. Т. 1. М.: Наука, 1967.
- [13] Zaikin A.N., Zhabotinski A.M. // Nature. 1970. V. 225. P. 525.
- [14] Prigogine J. From Being to Becoming. Time and Complexity in the Physical Sciences. San Francisco: W.H. Freeman "Company", 1980.
- [15] Кринский В.И., Михайлов А.С. // Автоволны. Сер. "Физика". 1984. В. 10. С. 22-29.
- [16] Васильев Э.А., Романовский Ю.М., Ятно В.Г. Современные проблемы физики. 1987.
- [17] Bouligand Y., Livolant F. // J. Physique (Paris). 1984. V. 45. P. 1899-1923.
- [18] Livolant F. // J. Physique. 1986. V. 47. P. 1605-1616.
- [19] Livolant F., Bouligand Y. // J. Physique. 1986. V. 47. P. 1813-1827.
- [20] Rapuc E.G. // Письма в ЖТФ. 1988. Т. 14. В. 17. С. 1560-1565.
- [21] Rapuc E.G., Гасанова Г.Ю. // ЖТФ. 1991. Т. 61. В. 4. С. 62-71.
- [22] Rapuc E.G., Gasanova G.Y. // Sov. Phys.- Techn. Phys. 1991. V. 36. N 4. P. 400-412.
- [23] Гегузин Я.Е. Почему и как исчезает пустота. М.: Наука, 1976.
- [24] Измайлова В.Н., Ребиндер П.А. Структурообразование в белковых системах. М.: Наука, 1974. С. 268.

Медицинский центр Саклер
Медицинский факультет
Тель-Авивского университета
Израиль

Поступило в Редакцию
8 декабря 1994 г.