

„Твист“ растущих бактериальных колоний

© Е.Г. Рапис

Лаборатория прикладной физики Тель-Авивского университета, Израиль

(Поступило в Редакцию 20 мая 2003 г.)

Показано, что „твист“ в растущих бактериальных колониях на макроуровне объясняется характером и особенностями самосборки (самоорганизации) кластерных пленок белка, поскольку имеется идентичность поведения и свойств симметрии протеина в открытой термодинамически неравновесной системе *in vitro* и *in vivo*. В процессе конденсации системы белок–вода идет самосборка эластичных пленок белка, подчиняющаяся закономерностям теории упругости. При увеличении вязкости в системе происходит фазовый переход протеина (из жидкокристаллического в твердообразную форму) с нелинейной хаотической динамикой, проявляющейся и в макромасштабах. При этом в пространстве постоянно возникают вихревые движения в двух противоположных направлениях („твист“). Такая модификация белка названа „протос“. Предложена гипотеза: при формировании эластичной неравновесной пленки белка „протос“ действуют закономерности поведения и ориентации упругих сил и магнитных полей, связанных с наличием в системе противоположных электрических зарядов.

Введение

Сравнительно недавно были получены сведения о том, что бактерии растущих колоний при подсыхании питательной среды неожиданно начинают спирально вращаться в двух противоположных направлениях [1,2]. Этому наблюдаемому в микроскоп явлению, поразившему исследователей своей таинственной красотой, до сих пор не найдено определенных научных объяснений и адекватных математических моделей. Соответственно возникают следующие вопросы. Что означает спиральный „танец“ бактерий? Какие силы объединяют и кружат согласовано отдельные элементы? Сами ли это бактериальные клетки или их производные? Ранее Ноэл Мендельсон видел нечто подобное, а именно: спиральные скручивающие движения при формировании волокон из клеток растущих бактериальных колоний [3–5]. Ему удалось обнаружить указанные вихревые движения под микроскопом (т.е. макроскопически). Далее группа американских математиков посчитала данное явление универсальным, поскольку оно отражает важные для динамики системы упругие свойства конденсирующейся материи. На основании экспериментальных данных о поведении таких волокон в рамках теории упругости была создана новая математическая модель динамики. Как показала практика, ее предсказательная ценность в ряде задач, например, в отношении прогноза солнечных вспышек оказалась более реальной, чем разработанная ранее для этой цели „модель резины“. И все-таки остаются неясными важные вопросы, в частности, какие ингредиенты живой материи являются источником описанных процессов, каковы механизмы из возбуждения, почему возникают спирально-винтовые противоположные направления движения при росте волокон в живых объектах?

Известно, что растущие волокна любых биологических клеток — продукт процессов синтеза. При этом в клетках бактерий, вероятнее всего, синтезируются

не отдельные молекулы белка, а их агрегаты, т.е., по нашему мнению, происходит самосборка пленок протеина. Множество таких пленок и образуют спирально скрученные волокна, видимые в опытах на макроуровне.

В последнее время в литературе отмечается, что функцией синтеза и транспорта белка обладают катализаторы клеточных органелл (аппарат Гольджи, эндоплазматическая сеть и др.), основой которых также являются самоорганизующиеся мембраны (пленки) в виде „кип“. Кроме того, получены дополнительные сведения, говорящие о реальном вращении в белке отдельных гамма-волокон вокруг вертикальной оси [6]. Автор работы [6] наблюдал это движение на микроуровне и объяснил его действием фосфорисценции, которая питает энергией процесс.

Из перечисленных фактов, казалось бы, вытекает, что „танец“ бактериальных колоний должен быть связан со спиральным вращением гамма-волокон белка в процессе его самоорганизации, происходящем на микроуровне. Однако остается непонятным следующее: каким образом процесс, наблюдаемый лишь на микроуровне, — одни гамма-волокна белка, вращающиеся вокруг вертикальной оси, становится видимым в макроскопическом масштабе в форме всеобщего спирального движения в двух противоположных направлениях? Для того чтобы проверить роль белка в появлении описанных закономерностей, мы провели эксперименты (описанные ниже), связанные с самосборкой пленки протеина в различных масштабах на: микро-, мезо- и макроуровне (классификацию масштабов см., например, в работах [7–12]), исключая из реакции другие ингредиенты живого.

Методика исследования

Изучалась динамика процессов конденсации коллоидной системы белок–вода в равновесных и неравновесных условиях. На одинаковые твердые подложки (предмет-

ное стекло) помещалось разное количество материала (в виде массы или капель) системы белок–вода *in vitro*. На одной из подложек создавалась открытая, а на другой — закрытая система (закрыта покровным стеклом). Отметим, что в открытой системе по сравнению с закрытой существенно увеличивается скорость испарения воды, меняется кинетика процесса. Таким образом, конденсация белка происходила в разных кинетических и термодинамических условиях при одинаковых прочих параметрах — комнатной температуре и атмосферном давлении.

Затем проводилось сравнительное визуальное изучение феноменологии и симметрии образующегося материала и возникающих движений с помощью оптического, поляризационного (МИН-8), электронного сканирующего (JEOL) и конфокального лазерного сканирующего (CSL) микроскопов. Всего было проведено 5 серий исследований, включающих более 25 000 опытов с 15 разными, растворимыми в воде белками: яичным белком, бычьим сывороточным альбумином, глобулином человека и кролика, гемоглобином человека, кристаллином человека, лизоцимом, фибрином и др.

Результаты экспериментов

Перейдем к описанию результатов выполненных экспериментов. Основные результаты проведенных опытов состоят в следующем. При высыхании открытой системы белок–вода на прозрачной твердой смачиваемой подложке нами наблюдались автоволновые процессы, возникали дефекты разного направления, которые в совокупности образовывали геометрически упорядоченные, регулярно повторяющиеся структуры в виде блоков или „клеток“ [7–12] (рис. 1). В динамике процесса дегидратации постоянно происходило движение фронта трехмерных, многоцветных разномасштабных флуктуаций с чередованием зон плотности. Они имели спиральную форму, накладывались друг на друга подобно неисчезающим стоячим автоволнам.

Далее из жидкой коллоидальной суспензии открытой системы белок–вода при ее конденсации *in vitro* неизбежно возникали жидкокристаллические пленки с серией крупномасштабных дефектов. Затем количество таких дефектов увеличивалось, создавая прерывистую в пространстве спиральную зеркальную и киральную симметрию структуры, происходил также процесс спонтанного образования блоков „клеток“ или „доменов“ с ядрами. Более плотная фаза как в нано- так и в макромасштабе представляла собой многочисленные наслаивающиеся друг на друга тонкие пленки в виде „кип“ разной окраски. Чаще всего в опытах наблюдались сильноанизотропные пары противоположного вращения в виде каскадов спиральных вихрей с образованием трехмерных самокомплементарных конусообразных древовидных пленочных структур (см. рис. 1, 2) [10–12]. Такие пленки имели сеть мелких дефектов древовидного

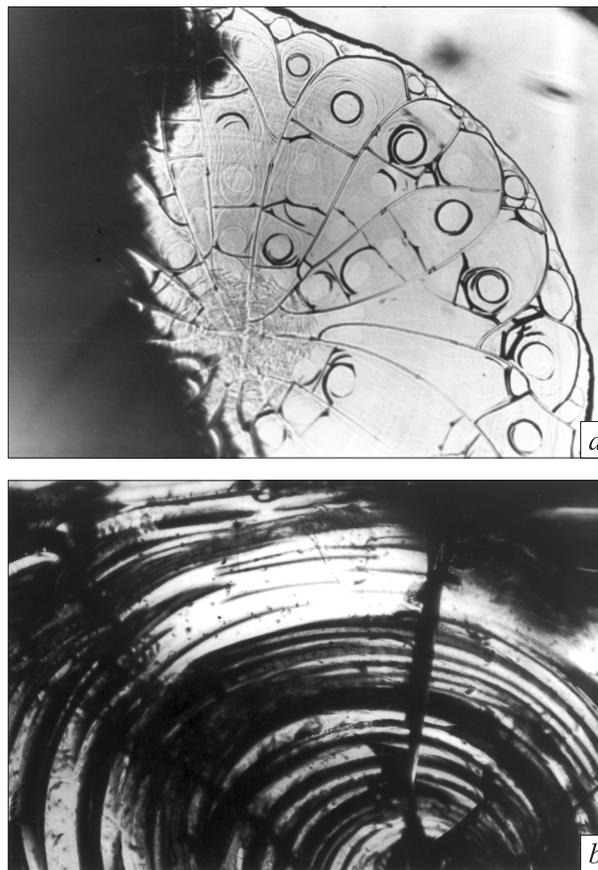


Рис. 1. *a* — деление неравновесной пленки белка серией крупномасштабных дефектов (прямолинейных и спиральных) на клетки с ядром ракушечного типа. *b* — трехмерные вихри противоположного вращения. Процесс нуклеации. Оптический микроскоп. $\times 200$.

типа, разрезающих наружную их сторону, создающих прерывистую в пространстве симметрию „птичьего крыла“, или так называемую симметрию „дикобраза“ [13,14]. Этот факт согласуется с поведением пленки, которое наблюдалось ранее [15]. Постоянно возникали лавинообразные движения дефектов, изгибающихся линий и пленок с яркой периодической флюоресценцией в лазерных лучах (при использовании конфокального лазерного электронного микроскопа), типа приведенных на рис. 3. Как правило, такая пленка имела один „корпус“, от которого отходили две ветви противоположного направления. Они выглядели как два конусообразных конца, напоминающих полумесяц. Каждый конец имел продолжение в виде тонкой соединяющей их линии — „хвоста“. Последние в свою очередь связывали последовательно несколько пар подобных пленок, как бы описывая в „домене“ несколько параллельных эллипсоидных „орбит“ с дефектами и образованием структур. Такие орбиты напоминали по виду звездные магнитные линии. Удавалось наблюдать также соединение ветвей противоположного направления вращения с постоянно

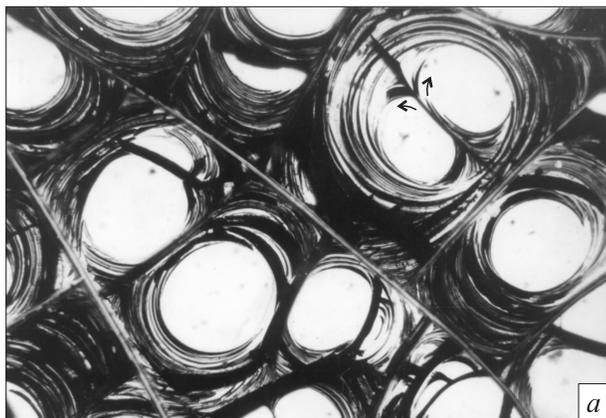


Рис. 2. *a* — дальнейшая стабилизация процесса. Появление в ядре „клетки“ прямолинейных дефектов. *b* — деление центрального поля с образованием двух „дочерних“ спиральных вихрей (типа coil-coil) *in vitro*. Оптический микроскоп. $\times 140$.

повторяющейся прерывистой спиральной и киральной симметрией. Это сходно с поведением магнитных сил (см., в частности, работу [16]) в высокотемпературных сверхпроводниках второго рода при наличии антиферромагнитных свойств ([17]).

Результаты проведенных нами экспериментов позволяют установить аналогию в поведении пленки белка „протос“ с характером роста бактериальных колоний. Как видим, в обоих случаях возникает „твист“ с противоположным направлением движения на макроуровне. Отсюда следует, что в описанном выше поведении бактериальных колоний можно увидеть унифицированные закономерности сложных процессов самоорганизации протеина *in vitro* и *in vivo*. Вот почему при подсыхании питательной среды, т.е. уменьшении концентрации воды в растущих бактериальных колониях, внезапно (при достижении некоторого критического уровня плотности)

так же, как и на стекле, возникает кооперативный переход белка из жидкой фазы в более плотную, наблюдаются явления самосборки пленок с нелинейной хаотической динамикой.

Опираясь на вышеизложенные факты, можно предположить, что в изменившихся условиях возникает более выраженный и энергетически активный и синхронный процесс самоорганизации протеина. Он подобно тайфуну в земной атмосфере вовлекает в свою орбиту не только вновь формирующиеся волокна, но и бактериальные клетки, рождая „танец“ на макроскопическом уровне с вихревой спиральной динамикой и зеркальной симметрией. Этот пример — яркая и, можно сказать, исключительно редкая демонстрация макродинамики при появлении спиральной зеркальной и киральной симметрии в процессе самоорганизации живого белка, соответствующая поведению его на стекле (*in vitro* и *in vivo*).

Таким образом, получаем, что в описанных случаях „твиста“ в культуре растущих бактериальных колоний и скручивания их клеточных волокон *in vivo*, а также в уплотняющейся пленке белка *in vitro* визуализируются на мезо- и макроуровне частицы материи (белка), движущиеся (как можно предположить) по неким силовым линиям со спиральным зеркальным направлением вращения. Известно, что только магнитные линии оптически визуализируются как движущиеся в электрическом поле [18]. Поэтому есть основания полагать, что описанная визуализация спирально организованных потоков вещества по силовым эллипсоидным линиям может объясняться наличием в системе магнитного поля, если только будет доказано наличие в пленке белка поляризации ее материала.

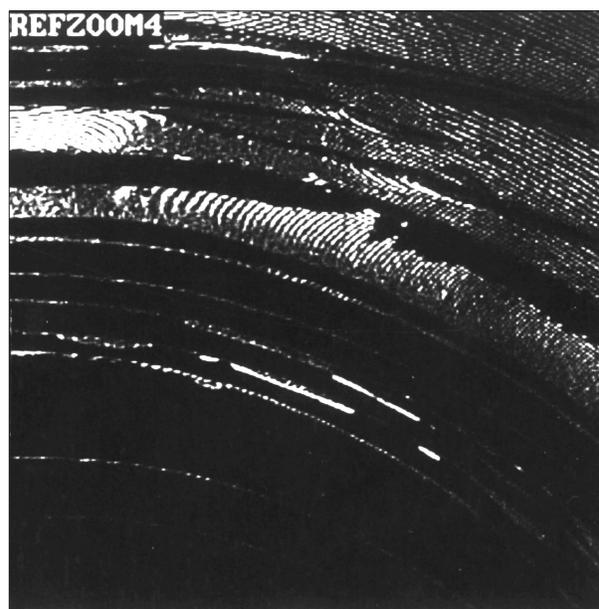


Рис. 3. Периодичность флюоресценции твердотельного нестабильного протеина (чередование зон с различной степенью свечения), нуклеация, конусовидные наноструктуры *in vitro*. Конфокальный сканирующий лазерный микроскоп. $\times 1\,000\,000$.

Опираясь на имеющиеся экспериментальные данные биологии о существовании поляризации биологических систем (наличия положительного и отрицательного полюсов в каждой клетке; в белковых микротрубочках; в белковом веретене при митозе; в эмбриональных структурах и др.) [19–23], можно с большой долей уверенности предполагать дипольную поляризацию пленки белка „протос“ в наших опытах. Это подтверждается возникновением в пленке автоволновых процессов, движущихся с разной скоростью навстречу друг другу полупрозрачных полусфер, появлением право- и левостороннего вращения и т.д. [9–11].

Приведенные выше факты свидетельствуют о формировании в системе разных полюсов, где собираются одноименные электрические заряды (плюс и минус). Однако пока этому нет четких количественных объяснений. В то же время наблюдаемое явление трудно понять с позиций имеющихся теоретических представлений о наличии электролитов в коллоидальной системе белка и образования в ней магнитных диполей ([24]). В частности, затруднительно объяснить, как могут дипольные взаимодействия превратить биологический объект в дипольное образование? В этом отношении интересны новые данные о свойствах коллоидальной суспензии, к которой относится раствор белка. Оказывается, что в такой открытой системе при конденсации возникает удивительное, нетривиальное поведение частиц суспензии. Они образуют длинный ряд аттракций одноименных зарядов ([25]). Вполне возможно, что указанные особенности коллоидальной массы белка при конденсации приводят к формированию аттрактивных положительных и отрицательных полюсов. Однако для решения этого принципиально важного вопроса должна быть развита адекватная условиям эксперимента теория образования различных электрических полюсов в биологических объектах в целом.

Пока мы позволим себе лишь высказать гипотезу о том, что при образовании эластичной пленки протеина действуют закономерности поведения и ориентации упругих свойств магнитных полей, связанных с определенной поляризацией материала. Приведем несколько примеров в пользу данной гипотезы. Прежде всего следует подчеркнуть, что уже доказана предсказательная ценность математической модели (в рамках теории упругости), которая создана математиками на базе наблюдавшихся закономерностей поведения скручивающихся бактериальных волокон [3–5]. Кроме того, в пленке белка экспериментально удалось установить некоторые феноменологические признаки, характерные для магнитных полей [9–11] и свойственные живым биологическим объектам. А именно: прерывистая спиральная зеркальная и киральная симметрии, а также симметрия „птичьего крыла“, называемая магнитной; анизотропия высокой степени; деление по середине ширины поля пленки белка [10,11] биологических клеток (ее ядер и цитоплазмы); пересоединение магнитных полей [26–29]; наличие древовидных конусообразных

структур с фрактальными свойствами: соединение ветвей с противоположным направлением вращения (подобно антиферромагнитному соединению); образование „кип“ пленок с чередованием окраски (рис. 3); оптическая активность; магнитная чувствительность [10,11]. Указанные пространственные и временные особенности и черты весьма характерны для систем с хаотическим нелинейным поведением (см., например, [29–31]).

Заключение

В заключение отметим следующее. Приведенные экспериментальные данные, показывающие сложную пространственно-временную картину процессов самосборки в растущих бактериальных колониях на макроуровне, могут (с нашей точки зрения) объясняться известными закономерностями поведения нелинейных динамических систем. Предложенная в работе интерпретация базируется на известных явлениях поляризации в белке, а именно: установленной нашими опытами в „протос“ спиральной зеркальной и киральной симметрии на мезо- и макроуровне; на наличии магнитной чувствительности, а также на вышеперечисленных аналогиях. Эти данные свидетельствуют о том, что самосборка неравновесной пленки белка подчиняется общим физическим закономерностям конденсации и самоорганизации материи. Несомненно, предложенная гипотеза нуждается в подтверждении дополнительными количественными измерениями различных физических параметров рассматриваемой системы, в частности, упругости, электропроводности и др. Однако уже сегодня наши опыты, раскрывающие особенности поведения белка „протос“ на стекле, позволяют понять причину возникновения „твиста“ в бактериальных колониях *in vitro*. Но самым главным результатом исследования можно считать то обстоятельство, что теперь может быть развита достаточно простая и реалистичная модель динамики неравновесной пленки белка, которая позволит исследовать и понять глубже причины формирования на макроуровне „твиста“ бактерий в двух противоположных направлениях при самосборке пленок белка не только в бактериальных колониях, но и в других биологических системах живого организма. Количественная математическая модель находится в стадии разработки и будет предъявлена нами в последующей работе.

Считаю своим приятным долгом поблагодарить за моральную помощь в проведении исследований, в обсуждении полученных результатов, выдвинутых гипотез и высказанные при этом ценные замечания и предложения профессоров: М. Амусь, Е. Браудо, В. Буравцева, В. Волкова, А. Заикина, М. Клигера, Л. Маневича, Ю. Неемана, И. Пригожина, М. Сафро.

Список литературы

- [1] *Ben Jacob E., Garik P.* // Nature. 1990. Vol. 343. P. 23–530.
- [2] *Ben Jacob E. et al.* // Physica A. 1992. Vol. 187. P. 387–424.
- [3] *Mendelson N. et al.* // J. Bact. 1982. Vol. 151. P. 455.
- [4] *Mendelson N.* // Science. 1992. Vol. 3. P. 32–35.
- [5] *Mendelson N.* // Proc. Nat. 1 Acad. Sci. Usa. 1978. Vol. 75. N 5. P. 2478.
- [6] *Noji H.* // Science. 1998. Vol. 28. P. 1844–1845.
- [7] *Ranic E., Гассанова Г.* // ЖТФ. 1991. Том 61. Вып. 4. С. 62–71.
- [8] *Ranic E.* // Письма в ЖТФ. 1995. Том 21. С. 13–20.
- [9] *Ranic E.* // Письма в ЖТФ. 1997. Том 23. С. 28–38.
- [10] *Ranic E.* // ЖТФ. 2000. Т. 70. Вып. 1. С. 122–133.
- [11] *Ranic E.* // ЖТФ. 2001. Т. 71. Вып. 10. С. 104–111.
- [12] *Rapis E.* Nanostructures in Protein Film. Book Abstracts, Forth Interdisciplinary of the Int. Congress. Haifa: Technion, 1998. P. 119–120.
- [13] *Poulin Ph. et al.* // Science. 1997. Vol. 275. P. 1770–1773.
- [14] *Jorome B. et al.* // Nature. 1997. Vol. 386. P. 589–592.
- [15] *Langmuir J.* // J. Chem. Phys. 1933. Vol. 1. P. 756.
- [16] *Heagy J. et al.* // Physical Rev. 1994. Vol. 73. N 26.
- [17] *Zhang Zh. et al.* // Science. 1997. Vol. 276. N 4. P. 377–383.
- [18] *Boebinger G. et al.* // Science American. 1996. P. 59–66.
- [19] *Gonzalez-Reyes A. et al.* // Nature. Vol. 375. P. 654–658.
- [20] *Krant R. et al.* // Nature. 1996. Vol. 383. P. 50–57.
- [21] *Hyams J.* // Nature. 1996. Vol. 387. P. 397.
- [22] *Zheng Y. et al.* // Nature. 1995. Vol. 378. P. 578–580.
- [23] *Heald R. et al.* // Nature. Vol. 382. P. 420–425.
- [24] *Gilat G.* // Chem. Phys. Lett. 1985. Vol. 121. P. 9–12.
- [25] *Murray Ch.* // Nature. 1997. Vol. 385. P. 203–206.
- [26] *Brummel N. et al.* // Science. 1993. Vol. 269. P. 1370–1373.
- [27] *Allen P.* // Nature. 1995. Vol. 375. P. 729–732.
- [28] *Bishop D. et al.* // Science. 1992. Vol 255.
- [29] *Matsuda T. et al.* // Science. 1996. Vol. 271. P. 1393–1400.
- [30] *Ecke R. et al.* // Science. 1995. Vol. 269. P. 1704.
- [31] *Stolum H.* // Science. 1996. Vol. 271. P. 1710–1715.