

## О характере процесса релаксации энергии возникающего при высыхании коллоидального раствора белка в открытой и в закрытой системах

© Е. Рапис

Лаборатория прикладной физики Тель-Авивского университета, Рамат-Авив, 64239 Тель-Авив, Израиль

(Поступило в Редакцию 27 декабря 2004 г.)

Многочисленные экспериментальные исследования показали, что при высыхании одного и того же коллоидального раствора белка в открытой (на воздухе) и в закрытой системах возникают два различных термодинамически неравновесных процесса с различающимся характером релаксации энергии. Они продемонстрировали, что для возникновения неравновесного состояния белка критически важно относительно быстрое удаление воды (в данном случае ее испарение) из системы белок–вода. Это может рассматриваться в какой-то мере как упрощенный экспериментальный эквивалент существующей в живом организме реакции быстрого гидролиза АТФ (аденазинтрифосфорной кислоты), поскольку при этом также происходит быстрый захват воды из системы белок–вода. Выявленная аналогия и внешнее сходство структур белка, их симметрии (ее видов и масштабов), возникающих при высыхании коллоидального раствора протеина на стекле и в живом организме, дает основание предполагать наличие сходных по термодинамическим параметрам процессов релаксации при самоорганизации неравновесного состояния белка в этих двух случаях. Отсюда появляется возможность начать исследование белка не только в равновесном, но и в неравновесном, еще малоизученном его состоянии.

Проведенные нами многолетние экспериментальные исследования, опубликованные ранее, дают повод обсудить соображения о характере релаксации энергии при высыхании коллоидального раствора белка в разных условиях (в открытой и в закрытой системах, в неравновесном состоянии разной степени). Опыты убедительно и наглядно, со 100%-ной повторяемостью показали, что в одном и том же коллоидальном растворе (белок–вода) в открытой (на воздухе) и в закрытой системах на твердой подложке при комнатной температуре возникают два различных процесса с отличающимся характером релаксации энергии.

В закрытой системе при медленной дегидратации возникает равновесная кристаллическая структура белка с решеткой дальнего порядка на уровне А. В открытой системе, в которой процесс испарения воды значительно ускоряется, возникают более неравновесные условия. Характер релаксации энергии в таких системах изменяется. Среда возбуждается, становится активной, в ней появляются автоволновые процессы, возникает способность к самоорганизации. Это выражается в наличии самоподобия, копирования, размножения трехмерных спиральных вихревых структур с серией упорядоченных дефектов. Последние достигают макроуровня, происходит деление гомогенной массы на блоки (домены или клетки с центральной зоной — ядром), возникают все признаки автокатализа, для которого характерно высокоэнергетическое состояние.

В этом случае, как видно, в белке появляются признаки, характерные для поведения различных неравновесных систем (реакция Белоусова–Жаботинского, феномен Бенара и др.), где непременно возникают нелинейная динамика и высокоэнергетическое состояние в

процессе самоорганизации с высвобождением порций свободной энергии при ее диссипации. В данном случае при высыхании раствора белка происходит структурообразование, динамика которого по существу отражает путь стабилизации энергии.

Итак, появление двух различных видов релаксации энергии при одном и том же процессе высыхания раствора белка в слабонеравновесных и в более неравновесных условиях (в закрытой и в открытой системах) объясняется действием 2-го закона неравновесной термодинамики. При этом один путь высыхания оказывается энергетически активным, а другой — консервативным. Возникает вопрос: какое отношение имеет наблюдаемый нами феномен к тому, что происходит с белком в живом организме? Есть ли хоть что-то общее в этих совершенно, казалось бы, далеких процессах — процессах жизни и высыхания раствора белка?

Выявленная аналогия и внешнее сходство структур и их симметрии (ее видов и масштабов), возникающих на стекле и в живом, дают повод к размышлению и ставят задачу выяснить причину общности. Возможно, что-то их сближает? Для того чтобы появилась жизнь с ее активностью, высокой энергией, подвижностью, неравновесностью, нелинейностью, очевидно, на роль мотора живого из двух состояний белка — активного и консервативного должно быть отобрано именно то, что обладает всеми свойствами активного поведения. Иначе говоря, логика подсказывает, что Природа в процессе эволюции должна выбрать для жизни более неравновесное состояние белка. Отсюда следует, что такая форма белка представляет особый интерес для изучения живых систем. Но именно это состояние мы и обнаружили в процессе исследования высыхания

раствора белка на воздухе, в открытой системе, в опытах *in vitro*. Возможно, что в этих двух разных процессах общим, сближающим их, является именно активность белка, неравновесность, возникающая в открытой системе с выраженной неравновесностью не только в живой системе, но и на стекле. Исходя из этого предположения, попробуем по-иному взглянуть на некоторые аспекты релаксации энергии, обеспечивающей работу белка в неравновесном состоянии в живом организме.

Так, в настоящее время в биологии принято считать, что основным источником энергии, необходимой для работы белка (для его конформационных переходов), является быстрый гидролиз АТФ с дальнейшей фосфорилицией протеина. Последняя считается источником энергии для его синтеза и работы [1–4]. В современной биологии можно считать общепринятым мнение о том, что АТФ играет ключевую энергетическую роль в работе белка (при его конформационных переходах) [1–7]. Несмотря на это, до сих пор остается загадкой источник каталитической силы белка (энзима), его высокоэнергетического состояния и характера процесса релаксации. С другой стороны, показано, что основой всех явлений в живом, в том числе и в белке, является процесс самоорганизации, неравновесный по определению [8,10]. В то же время полученные экспериментальные данные позволили установить, что в неравновесных условиях при высыхании коллоидального раствора белка в открытой системе на твердой подложке возникает явно выраженное его неравновесное состояние, находящееся в процессе самоорганизации [11–16]. По-видимому, в этом состоит общность двух процессов.

Возможно, что проведенные опыты окажутся полезными для того, чтобы обратить особое внимание на фактор спонтанной самоорганизации и выделить его из сложных, неразделимо протекающих процессов в живом организме. Для этого, несомненно, требуется изучение динамики конденсации и структурообразования белка в неравновесном состоянии при выраженных неравновесных термодинамических условиях, которые можно моделировать отдельно от других процессов лишь *in vitro*. Эти опыты пока не получили распространения. До сих пор преимущественно изучается равновесное состояние белка с образованием кристаллов, т.е. с решеткой дальнего порядка (метод рентгеноструктурного анализа и др.).

И в то же время сделаны только первые, самые начальные шаги в изучении неравновесного состояния белка [11–16]. Но и они уже достаточно убедительно показали, что *in vitro* процессы структурообразования и автокатализа в неравновесном состоянии белка могут происходить и без участия АТФ, которой при высыхании белка попросту нет.

Опыты *in vitro* продемонстрировали, что для возникновения выраженного неравновесного состояния белка критически важно относительно быстрое удаление воды (в данном случае ее испарение) из системы белок–вода. Можно считать, что тем самым удалось экспериментально получить упрощенный эквивалент реально

существующей в живом организме реакции — быстрого гидролиза АТФ, т.е. быстрого захвата воды. Тем самым представилась возможность из очень сложного процесса взаимодействия живых систем выделить одно звено: быструю дегидратацию белка (системы белок–вода) и наглядно исследовать ее функциональную роль в процессе полимеризации (иначе — в синтезе) белка в упрощенном виде *in vitro*. Опыты также показали, что, несмотря на простоту условий, при достаточной скорости удаления воды возникает выраженная неравновесность в системе, которая приводит к появлению неравновесного состояния белка в процессах конденсации и самоорганизации.

Это позволило ответить на вопрос об источнике энергетического потенциала *in vitro* при высыхании (конденсации) коллоидального раствора белка без АТФ, поскольку известно, что самоорганизация сопровождается рождением свободной энергии (при ее релаксации и минимизации) в процессе стабилизации неравновесного состояния [8–10]. Именно этот механизм обеспечивает в приведенных опытах работу белка, состоящую в структурообразовании с конформационной его перестройкой.

Такое объяснение полностью согласуется с концепцией работы [17], в которой считается, что спонтанная самоорганизация является вершиной конденсации, осуществляющей программу данной системы. По мнению автора, этот процесс самостоятельно способен генерировать нелинейную динамику с появлением функционирующих организованных, алгоритмически повторяющихся супрамолекулярных диссипативных структур от нано- до макромасштаба *in vitro* и *in vivo*. Эта программа запрещает системе эволюционировать в направлении другой сущности. Исходя из приведенных данных, можно представить себе очень схематично работу АТФ *in vivo* как своеобразный механизм быстрого забора воды с помощью фосфатной химической системы, которая формирует скоростную реакцию дегидратации протеина (при гидролизе АТФ) и выделение энергии при фосфорилиции белка. Экстраполируя результаты опытов *in vitro*, можно думать, что *in vivo* быстрая дегидратация также инициирует в системе белок–вода неравновесные условия, которые необходимы для генерации процесса самоорганизации неравновесного состояния белка.

Можно предполагать, что в живом организме оба источника энергии, возникающей при самоорганизации белка и зависящей от его фосфорилиции, чаще всего взаимодействуют, создавая максимальную активность и подвижность в живых биологических системах. Но нельзя исключить, что *in vivo* возможны также отдельные варианты самоорганизации без участия АТФ.

Все сказанное можно подтвердить рядом теоретических и экспериментальных данных, а также результатами биологических исследований.

1. Общепризнано положение о том, что работа живого организма, связанная с процессами самоорганизации, осуществляется только в условиях открытой, далекой от термодинамического равновесия системы, тогда как

приближение к равновесному состоянию внутренней среды организма ведет к его смерти [1–9,18,19].

2. Полученные нами экспериментальные данные соответственно показали, что процессы самоорганизации белка в неравновесном состоянии с конформационными перестройками возникали при высыхании коллоидального раствора белка только в открытой, далекой от термодинамического равновесия системе белок–вода, хотя, естественно, и происходили без участия АТФ [11–16].

3. Следует отметить наличие экспериментальных и клинических фактов работы белка в отсутствие АТФ: например, работа белка в пробирке без АТФ [18,19], широко проводимая в клинической практике реакция антиген–антитело, работа чистого лиофилизированного белка при его гидратации.

4. Кроме того, в самое последнее время накапливается все больше конкретных биологических фактов, которые косвенно подтверждают роль неравновесности и наноструктур в работе белка в живых системах. Например, показано, что энзимы работают с огромной скоростью, обладая уникальной способностью к синхронизации. Это поведение обозначено как „нестабильная динамика“ белка. В частности, это касается его микротрубочек [20]. С гидролизом АТФ, стимулирующим быструю полимеризацию, связывают появление условий для когерентного поведения белка [21,23]. Особенно наглядно это видно на макроуровне при митозе, когда микротрубочки как бы „собираются и разбираются“ с очень большой скоростью. Важно отметить, что именно с наномасштаба начинаются все процессы в живом: деление, размножение, функционирование и т. д., достигая макромасштаба.

## Заключение

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования *in vitro* позволили установить в белке универсальные термодинамические энергетические свойства самоорганизации материи от нано- до макромасштаба. Последние, как известно, присущи неорганической, органической и живой материи [8–10,17,19]. В частности, можно считать, что в белке также возникают диссипативные структуры в неравновесных условиях в ходе стабилизации его неравновесного высокоэнергетического состояния. Это значит, что механическую работу и генерацию силы мотора протеина можно связать с его собственной динамикой процесса самоорганизации со структурными (конформационными) перестройками, достигающими макроуровня.

Выявленная аналогия и внешнее сходство структур белка, их симметрии (ее видов и масштабов), возникающих при высыхании его коллоидального раствора на стекле и в живом организме [11–16], дают основание предполагать наличие сходных по термодинамическим параметрам процессов релаксации энергии при самоорганизации неравновесного состояния белка в этих двух случаях. Отсюда появляется возможность начать экспериментальное исследование белка не только в равновесном, но и в неравновесном, пока еще малоизученном, его состоянии.

Более детальное изучение неравновесного состояния протеина и его роли в живом организме может оказаться полезным для развития протеомики (науки о белке), биологии, биотехнологии, фармакологии, медицины (особенно ее диагностических и лечебных аспектов), а также для технологии, где все большее значение приобретают органические полимеры, в частности наноструктуры белка.

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

## Список литературы

- [1] *Alberts Bruce D., Liwis J., Raff M., Roberts K., Watson // Molecular Biology of the Cell.* 1989.
- [2] *Де Робертис Э., Новинский В., Сазс Ф.* Биология клетки. М.: Мир, 1973.
- [3] *Альбертс Бруце, Брей Д.* и др. // Молекулярная биология клетки. Ч. 5. М.: Мир, 1987.
- [4] *Alberts Bruce et al. // Molecular Biology of the Cell.* 1994.
- [5] *Kimura K. et al. // Science.* 1998. Vol. 282. P. 487–490.
- [6] *Evans D. et al. // Nature.* 1995. Vol. 394. P. 23–26.
- [7] *Yaffe et al. // Science.* 1997. Vol. 278. P. 1957–1961.
- [8] *Пригожин И., Стенгерс И.* Порядок из хаоса. М.: Прогресс, 1986.
- [9] *Winfree A. // The Geometry of Biological Time.* Berlin: Springer, 1980.
- [10] *Avnir D. et al. // Chem. Phys. Lett.* 1987. Vol. 135. N 3.
- [11] *Panuc E. // Письма в ЖТФ.* 1988. Т. 14. Вып. 17. С. 1561–1564.
- [12] *Panuc E. // Письма в ЖТФ.* 1995. Т. 21. С. 13–20.
- [13] *Panuc E. // Письма в ЖТФ.* 1997. Т. 23. С. 28–38.
- [14] *Panuc E. // ЖТФ.* 2000. Т. 70. Вып. 1. С. 122–133.
- [15] *Panuc E. // ЖТФ.* 2001. Т. 71. Вып. 10. С. 104–111.
- [16] *Panuc E.* Белок и жизнь. (Самоорганизация и симметрия наноструктур белка). Иерусалим; Москва: ЗЛЮ „Милта-ПКПТИТ“, 2003. С. 257.
- [17] *Lehn J.M. // PNAS.* 2002. Vol. 99. N 8. P. 4763–4768.
- [18] *Nishizaka T. et al. // Nature.* 1995. Vol. 377. P. 251–255.
- [19] *Dobbie J. et al. // Nature.* 1998. Vol. 396. P. 383–385.
- [20] *Howard J., Hyman A. // Nature.* 2003. Vol. 422. P. 753–756.
- [21] *Pollard Th. // Nature.* 2003. Vol. 422. P. 741–745.
- [22] *Schliwa M., Wochlke G. // Nature.* 2003. Vol. 422. P. 759–765.
- [23] *Groisman A., Stainberg V. // Nature.* 2000. Vol. 405. May. P. 53–55.