

tion. The correct codon-anticodon pairing is shown to play the key role in cooperativity origin. Template independent binding of tRNA to small ribosomal subunits is revealed, meanwhile, anticodon arm is not able to bind to 40S ribosomes in the absence of template.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Number of tRNA binding sites on 80S ribosomes and their subunits* / M. V. Rodnina, A. V. El'skaya, Yu. P. Semenov, S. V. Kirillov // FEBS Lett.—1988.— **231**, N 1.— P. 71—74.
2. *Potapov A. P. A stereospecific mechanism for the aminoacyl-tRNA selection at the ribosome* // Ibid.—1982.— **146**, N 1.— P. 5—8.
3. *Потапов А. П. Механизм стереоспецифической стабилизации кодон-антикодоновых комплексов на рибосомах в ходе трансляции* // Журн. общ. биологии.—1985.— **46**, № 1.— С. 63—77.
4. *Rose III S. J., Lowry P. T., Uhlenbeck O. C. Binding of yeast tRNA^{Phe} anticodon arm to Escherichia coli 30S ribosomes* // J. Mol. Biol.—1983.— **167**, N 1.— P. 103—117.
5. *Нехай С. А., Саминский Е. М. Связывание фрагмента фенилаланиновой тРНК из дрожжей, содержащего антикодоновую петлю, с 30S субчастицами и 70S рибосомами Escherichia coli* // Биополимеры и клетка.—1989.— **5**, № 2.— С. 62—69.
6. *Falvey A. K., Staehelin T. Structure and function of mammalian ribosomes. I. Isolation and characterization of active liver ribosomal subunits* // J. Mol. Biol.—1970.— **53**, N 1.— P. 1—19.
7. *Кириллов С. В., Махно В. И., Семенов Ю. П. Влияние молекулярного веса поли(U) и присутствия белка S1 на стабильность комплекса тРНК с малой субчастицей рибосом* // Докл. АН СССР.—1976.— **229**, № 2.— С. 488—491.
8. *Role of a template sugar-phosphate backbone in the ribosomal decoding mechanism* / A. P. Potapov, K. A. Soldatkin, A. P. Soldatkin, A. V. El'skaya // J. Mol. Biol.—1988.— **203**, N 4.— P. 885—893.
9. *Maxam A. M., Gilbert W. A new method for sequencing DNA* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1977.— **74**, N 2.— P. 560—564.
10. *Nirenberg M., Leder P. RNA codewords and protein synthesis* // Science.—1964.— **145**, N 3639.— P. 1399—1407.
11. *Interaction of tRNA with the A and P site of rabbit-liver 80S ribosomes and their 40S subunits* / M. V. Rodnina, A. V. El'skaya, Yu. P. Semenov, S. V. Kirillov // Eur. J. Biochem.—1989.— **185**, N 3.— P. 563—568.
12. *Ackers G. K., Shea M. A., Smith F. R. Free energy coupling within macromolecules. The chemical work of ligand binding at the individual sites in co-operative systems* // J. Mol. Biol.—1983.— **170**, N 1.— P. 223—243.
13. *Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке.*— М.: Мир, 1980.— 407 с.
14. *Dahlquist F. W. The quantitative interpretation of maximum in Scatchard plots* // FEBS Lett.—1974.— **49**, N 2.— P. 267—268.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН УССР, Киев

Получено 14.01.91

УДК 539.2+541.64+577.32

Г. Г. Новошинский, Е. В. Кузьмин, Р. И. Кузьмина

СВОЙСТВА СИСТЕМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ТЕМПЕРАТУРЫ И УРОВНЯ ВЛАЖНОСТИ

В отличие от мембран, обуславливающих пространственные размеры клеток, не рассматривался вопрос о принципах внутренней структурной организации и механизмах сохранения нативной структуры клеток при неблагоприятных факторах внешней среды, в частности при переходе клеток или организмов в состояние ксеро- или криоанабиоза. С позиции статистической физики делается попытка определить роль биополимеров в организации нативной структуры клеток и их защитную функцию при изменении температуры и влажности. Показано, что белки могут образовывать структурный каркас клетки и сохранять внутренние резервы для перехода к жизнедеятельному состоянию при возвращении в физиологические условия.

При рассмотрении проблемы устойчивости некоторых видов клеток и организмов к неблагоприятным факторам внешней среды вплоть до полной «остановки» жизнедеятельности (анабиоз) необходимо исследовать

© Г. Г. НОВОШИНСКИЙ, Е. В. КУЗЬМИН, Р. И. КУЗЬМИНА, 1991

довать физико-химические свойства протоплазмы биосистем в различных состояниях. Способность живых систем переходить в состояние анабиоза сыграло существенную роль в возникновении и развитии первых организмов на Земле [1]. Для более полного понимания механизма сохранения жизнеспособности вне физиологических условий требуется определить поведение «сухого» компонента протоплазмы клеток — биополимеров при различных уровнях влажности и температуры.

Уже не подлежит сомнению тот факт, что у эукариотических клеток либо имеется гелевый каркас [2], либо он может самоорганизоваться из золя водорастворимых белков [3]. В силу своего гетерополимерного строения (20 видов аминокислот) белки обладают широким спектром взаимодействий как друг с другом, так и с окружающими их другими компонентами протоплазмы и растворителем. Естественно предположить, что белки и являются той составляющей клетки, которая поддерживает нативную структуру при переходе в состояние анабиоза и сохраняет внутренние силы для обратного перехода при благоприятных факторах внешней среды.

С другой стороны, экспериментально установлено, что искусственные полимеры могут образовывать гель, поведение которого и было исследовано в широком диапазоне концентрации и температуры [4]. В частности, построены (x, T) -фазовые диаграммы сшитых гомополимерных цепей, установлены зависимости объема гелевой сетки и условия перехода из одного агрегатного состояния в другое как от внешних факторов (температура, состав растворителя, pH и др.), так и от внутренних (условия гелеобразования, степень гидролиза).

Существующая у гетерополимеров иерархия взаимодействий наряду с конформационной свободой цепей делает невозможным такое же тривиальное описание поведения системы взаимодействующих биополимеров в присутствии растворителя без ряда упрощающих предположений.

1. Полимерная цепь рассматривается как траектория случайного блуждания по узлам периодической решетки с параметром a и координационным числом связей z , где каждый узел решетки занят либо мономером цепи, либо молекулой растворителя.

2. Каждая цепь состоит из $n \gg 1$ мономеров, связанных $n-1$ сильными ковалентными связями. Момеры цепей имеют одинаковый средний объем $v_a \sim a^3$ и представляют собой непроницаемые шарики.

3. Все потенциалы в рассматриваемой системе являются короткодействующими, т. е. взаимодействуют только ближайшие по узлам периодической решетки соседи.

Для свободной невозмущенной цепи [5] было показано, что она находится в конформации статистического клубка с радиусом $R_0 \sim n^{1/2}$ и внутренней плотностью $x_{вн} \sim n^{-1/2}$ (n — индекс полимеризации). С другой стороны, белки протоплазмы находятся преимущественно в состоянии глобулы — плотно упакованном образовании с радиусом $R_{гл} \sim n^{1/3}$ и внутренней плотностью $x_{гл} \sim 1$.

Для модельного описания свойств протоплазмы предположим, что ее полимерная фракция (за исключением крупных органелл) состоит из двух типов макромолекул: цепей в конформации статистического клубка (1) и глобул (2), которые погружены в однокомпонентный растворитель (вода). Введем объемные доли компонентов:

$$x_1 = P_1 n_1 / N = \omega_1 x, \quad x_2 = P_2 n_2 / N = \omega_2 x, \quad x_b = N_b / N = 1 - x, \quad (1)$$

где N — полное число узлов решетки, N_b — число молекул растворителя, P_1 и P_2 — число цепей и глобул соответственно, причем $P_1 n_1 + P_2 n_2 + N_b = N$, $\omega_1 + \omega_2 = 1$.

Каждый мономер цепи обладает функциональностью z , а сама цепь — функциональностью $\sigma_1 = (z-2)n_1 + 2 \sim (z-2)n_1$, так как у каждого мономера (кроме концевых) имеются две крепкие ковалентные связи величины U_1 . Функциональность стабильной глобулы равна числу свободных связей ее поверхностных мономеров $n^{2/3}$. Полное число

связей в системе:

$$N_{\text{св}} = N_{11} + N_{12} + N_{22} + N_{1\text{в}} + N_{2\text{в}} + N_{\text{вв}}, \quad (2)$$

где N_{ij} — число связей между структурными единицами i и j .
Для связей справедливы соотношения:

$$2N_{11} + N_{12} + N_{1\text{в}} = \sigma_1 P_1;$$

$$2N_{22} + N_{21} + N_{2\text{в}} = \sigma_2 P_2;$$

$$2N_{\text{вв}} + N_{1\text{в}} + N_{2\text{в}} = z N_{\text{в}}.$$

Используя (1) и (2), находим

$$N_{\text{св}} = \frac{1}{2} N \left(\frac{\sigma_1 \omega_1}{n_1} + \frac{\sigma_2 \omega_2}{n_2} \right) x + z(1-x) = \frac{1}{2} z N (1 - kx), \quad (3)$$

где $k = 1 - C_1 - C_2$, а $C_i = \frac{\sigma_i \omega_i}{n_i}$.

Обычно вводятся концентрации связей в виде:

$$y_{ii} = N_i / N_{\text{св}}, \quad 2y_{ij} = N_{ij} / N_{\text{св}}, \quad (4)$$

тогда имеем

$$y_{11} + y_{12} + y_{1\text{в}} = \psi_1, \quad \psi_1 = C_1 x / (1 - kx);$$

$$y_{22} + y_{12} + y_{2\text{в}} = \psi_2, \quad \psi_2 = C_2 x / (1 - kx); \quad (5)$$

$$y_{\text{вв}} + y_{1\text{в}} + y_{2\text{в}} = \psi_{\text{в}}, \quad \psi_{\text{в}} = (1 - x) / (1 - kx),$$

причем $\psi_1 + \psi_2 + \psi_{\text{в}} = 1$.

Рассмотрим взаимодействия U_{ij} между структурными единицами i и j в системе гомополимерных цепей и глобул. Связи с $U_{ij} < 0$ соответствуют притяжению, а с $U_{ij} > 0$ — отталкиванию. Внутренняя энергия системы равна $E = E_0 + E_{\text{int}}$, где $E_0 = U_{11} n_1 P_1 + E_2(n_2) P_2$ — энергия ковалентного связывания в цепях и внутреннего взаимодействия в глобулах, а E_{int} — объемные взаимодействия в системе, имеющие вид

$$E_{\text{int}} = U_{11} N_{11} + U_{12} N_{12} + U_{22} N_{22} + U_{1\text{в}} N_{1\text{в}} + U_{2\text{в}} N_{2\text{в}} + U_{\text{вв}} N_{\text{вв}}. \quad (6)$$

Вычисляя энергию системы на узел решетки, можно доказать, что $E_0/N \sim x$, а, как было показано в [5, 6], линейные по x члены не дают вклада в описание термодинамических свойств системы. Используя (3) — (5), E_{int} может быть представлена в виде

$$E_{\text{int}}/N = \frac{1}{2} z(1 - kx) \sum_{i,j} U_{ij} y_{ij}, \quad i, j = 1, 2, \text{в}. \quad (7)$$

Выбирая в качестве независимых переменных полимерные концентрации y_{11} , y_{12} и y_{22} , получаем:

$$E_{\text{int}}/N = \frac{1}{2} z \{ [(2U_{1\text{в}} - U_{\text{вв}}) C_1 + (2U_{2\text{в}} - U_{\text{вв}}) C_2] x + U_{\text{вв}} (1 - x) \} + \\ + (1 - kx) [\varepsilon_{11} y_{11} + \varepsilon_{22} y_{22} + 2\varepsilon_{12} y_{12}], \quad (8)$$

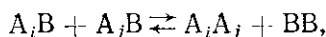
где введены эффективные параметры взаимодействия

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} z (U_{ij} + U_{\text{вв}} - U_{i\text{в}} - U_{j\text{в}}). \quad (9)$$

Тогда выражение для внутренней энергии системы принимает вид

$$E/N = \varepsilon_0 + \varepsilon_1 x + (1 - kx) (\varepsilon_{11} x_{11} + \varepsilon_{22} x_{22} + 2\varepsilon_{12} x_{12}). \quad (10)$$

Взаимодействие между мономерами i и j в присутствии молекул растворителя В можно трактовать как химическую реакцию вида



причем при $\epsilon_{ij} < 0$ энергетически выгоднее ассоциация мономеров и реакция идет направо, а при $\epsilon_{ij} > 0$ между мономерами преобладают силы отталкивания и реакция идет налево. Таким образом, параметр ϵ_{ij} отражает конкуренцию взаимодействия между мономерами полимера в присутствии молекул растворителя.

Так как клетка функционирует при некоторой физиологической температуре $T_\Phi \neq 0$, то при описании свойств системы необходимо учитывать и энтропийный вклад. Свободная энергия системы равна

$$F = E - TS,$$

где E — внутренняя энергия, рассмотренная выше; S — энтропия системы. Не существует точного выражения для энтропии при произвольном пространственном распределении объектов, однако для хаотической смеси макромолекул энтропия имеет вид [5, 6]

$$-S = \sum_i P_i \ln x_i + N_b \ln x_b. \quad (11)$$

Нормируя на N , приводим (11) к виду

$$-S/N = S_1 x + \frac{1}{n_{\text{эфф}}} \ln x + (1-x) \ln(1-x), \quad (12)$$

где $1/n_{\text{эфф}} = \sum_i \frac{\omega_i}{n_i}$, $S_1 = \sum_i \frac{\omega_i}{n_i} \ln \omega_i$.

Объединяя выражения (10) и (12), можно получить общее выражение для свободной энергии. Однако при хаотическом распределении компонентов, когда справедливо приближение среднего поля

$$y_{ij} = \psi_i \psi_j, \quad (13)$$

выражение для внутренней энергии (10) упрощается и в итоге имеем

$$f_s = F/N = \epsilon_0 + (\epsilon_1 - TS_1)x + \frac{\epsilon x^2}{1-kx} + T \frac{x}{n_{\text{эфф}}} \ln x + (1-x) \ln(1-x). \quad (14)$$

Здесь вся иерархия взаимодействий описывается одним средним параметром

$$\epsilon = \epsilon_{11}C_1^2 + \epsilon_{22}C_2^2 + 2\epsilon_{12}C_1C_2, \quad (15)$$

где C_i играют роль концентрации компонентов полимерной фракции.

В целом система «полимер — растворитель» может находиться в двух состояниях: в виде однородной гомогенной смеси с хаотическим распределением цепей, глобул и молекул растворителя либо в состоянии расслоения, когда она разделена на две фазы (одна — чистый полимер, другая — чистый растворитель). В состоянии расслоения свободная энергия системы имеет вид (без учета границы раздела фаз)

$$f_{\text{рассл}} = f(1) - (1-x)f(0) = \epsilon_0 + \left[(\epsilon_1 - TS_1) + \frac{\epsilon}{1-k} \right] x.$$

Свободная энергия смешения по определению равна

$$f_{\text{см}} = f(x) - f_{\text{рассл}} = \frac{-\epsilon}{1-k} \frac{x(1-x)}{1-kx} + T \left\{ \frac{x}{n_{\text{эфф}}} \ln x + (1-x) \ln(1-x) \right\}. \quad (16)$$

Из анализа выражения (16) следует, что при эффективном отталкивании мономеров ($\epsilon > 0$) $f_{\text{см}} < 0$ при любых значениях x и T , в этом случае система всегда находится в пространственно однородном состоянии. Если $\epsilon < 0$ (что соответствует притяжению), то $f_{\text{см}} > 0$ при $T \rightarrow 0$ и система расслаивается на две фазы, а при $T \rightarrow \infty$ $f_{\text{см}} < 0$ и энтропия

«разбалтывает» систему, переводя ее в пространственно однородную.

Для возникновения трехмерной пространственной структуры необходима пороговая концентрация полимера x^* , при которой в системе может возникнуть бесконечный кластер [7]. Данная концентрация зависит от степени полимеризации, конформации макромолекул, соотношения цепей и глобул. При изменении доли глобул от нуля до единицы эта концентрация изменяется от $x_{\text{вн}}^* \sim n_1^{-1/2}$ до $x_{\text{гл}}^* \sim 0,16$ [6]. Мощность бесконечного кластера $P(x)$ определяет долю полимерной фракции, принадлежащей связанной пространственной структуре — гелевой сетке. При $x < x^* P(x) = 0$, т. е. протекание по полимерной фракции отсутствует. А при $x > x^* P(x)$ быстро нарастает до единицы и фактически весь полимер включен в гелевую сеть.

По мере повышения концентрации в системе увеличивается число контактов между цепями и глобулами, согласно выражению (5). Часть этих контактов может переходить в устойчивые связи с энергией, превышающей все остальные взаимодействия

$$|\varepsilon_{RR}| \gg |\varepsilon_{Ri}| \sim |\varepsilon_{ij}|, \quad i \neq R, \quad j \neq R,$$

так как из-за гетерополимерности в цепях и глобулах присутствуют реакционноспособные R -мономеры. Связь RR стабильна до температуры $T_R \sim |\varepsilon_{RR}|$ и называется сшивкой. При образовании сшивок цепи разбиваются на более короткие фрагменты — участок цепи между двумя сшивками называется субцепью.

Каждая цепь имеет n_R реакционноспособных R -мономеров с некоторым распределением вдоль ее длины. При концентрации $x > x^*$ в среднем у каждой цепи прореагируют n_R^* R -мономеров. Для образования трехмерной гелевой сетки необходимо, чтобы каждая цепь была связана прямо или косвенно (через глобулы) не менее чем с двумя другими цепями [8]. Очевидно, что эффективная функциональность цепи $f < n_R^*$, так как при образовании сшивок могут возникать петли, «мертвые» концы и другие неэффективные фрагменты. Отсюда следует критерий гелеобразования $f \geq f_{\text{кр}}$, $f_{\text{кр}} > 2$. Однако при этом в цепях и глобулах могут остаться непрореагировавшие R -мономеры, которые способны образовывать «паразитарные» сшивки при увеличении концентрации в процессе обезвоживания. В этом случае система теряет свою нативную структуру и процесс коллапсирования станет необратимым.

Будем считать процесс гелеобразования закончившимся, когда $f = \text{const}$. Механизм, препятствующий образованию «паразитарных» сшивок, является темой отдельного исследования.

Можно полагать, что гелевая сетка содержит $C_{\text{эфф}} = (f - 1) P_1$ субцепей длиной $n_c = n/(f - 1)$ и $J_{\text{эфф}} = f \cdot P_1/2$ сшивок, которые связаны между собой соотношением

$$C_{\text{эфф}} = \frac{1}{2} \varphi J_{\text{эфф}}, \quad \varphi = 4 \left(1 - \frac{1}{f} \right),$$

где φ — среднее координационное число сшивки, т. е. количество субцепей, связывающих каждую эффективную сшивку с другими соседними сшивками.

Благодаря наличию пространственной связности в системе возникает дополнительная упругая энергия, имеющая энтропийную природу. Это обусловлено тем, что каждая субцепь имеет наиболее вероятное расстояние между концами R_0 с максимальным конформационным набором состояний, т. е. с максимумом энтропии. Поскольку субцепи сшиты в единую пространственную сетку, то такой гель может не только аффинно деформироваться, но и изменять свой объем. Согласно теореме Флори о гелях [5] и теории высокоэластичности [12], изменение энтропии сетки относительно ее максимума при изотропном сжатии — набухании можно записать в виде [13]

$$-\Delta S_{\text{упр}} = C_{\text{эфф}} D(\eta), \quad D(\eta) = \frac{3}{2} (\eta^{2/3} - 1) - \ln \eta. \quad (17)$$

Здесь $D(\eta)$ — функция, описывающая упруго-деформационные свойства отдельной субцепи в геле (или «блоба» по Флори), где

$$\eta = \left(\frac{R}{R_0}\right)^3 = \frac{V}{V_0} = \frac{x_0}{x}, \quad (18)$$

R — среднее расстояние между концами субцепи, V и V_0 — объемы гелевой сетки в деформированном и недеформированном состояниях, а x и x_0 — соответствующие концентрации. При отсутствии деформаций упругая энергия $F_{\text{упр}} = -T\Delta S_{\text{упр}}$ минимальна и равна нулю, что отражено свойствами функции $D(\eta)$:

$$D(1) = D'(1) = 0, \quad D''(1) > 0.$$

Вклад энтропийной упругости в свободную энергию сетки равен

$$\Delta F_{\text{упр}} = T \cdot C_{\text{эфф}} \cdot D(\eta). \quad (19)$$

Одновременно со сшиванием цепей исчезает их трансляционная подвижность относительно друг друга. При этом полная свободная энергия системы принимает вид

$$f_s = \frac{F}{N} = \epsilon_{RR} \frac{J_{\text{эфф}}}{N} + \frac{\epsilon x^2}{1 - kx} + T(1 - x) \ln(1 - x) + T \frac{C_{\text{эфф}}}{N} D(\eta), \quad (20)$$

где первый член — энергия всех сшивок; второй — остаточные взаимодействия; третий — конформационная энтропия молекул растворителя; четвертый — упругая энергия.

Отличительная особенность гелевой сетки по сравнению с простым раствором цепей — наличие состояния с нулевым осмотическим давлением $\Pi = 0$ [4]. Оно является равновесным состоянием системы, поскольку положительные силы расширения и отрицательные силы сжатия, действующие на сетку, точно компенсируют друг друга. При этом свободная энергия системы минимальна, так как $\Pi = \delta F / \delta V$ и сетка в силу своей пространственной связности стремится приобрести равновесный объем (посредством изменения концентрации) до достижения состояния равновесия при изменении внешних условий: температура, состав растворителя, pH и др.

Осмотическое давление определяется стандартно [5, 6, 10]:

$$v_a = \frac{\Pi}{T} = x^2 \frac{\delta}{\delta x} \left(\frac{f_s}{xT} \right) = \frac{\epsilon}{T} \left(\frac{x}{1 - kx} \right)^2 - x - \ln x + x_0^3 \left[\frac{x}{x_0} - \left(\frac{x}{x_0} \right)^{1/3} \right]. \quad (21)$$

При $\epsilon < 0$ (когда между мономерами имеется притяжение), приравнявая (21) нулю и перенормируя на $2|\epsilon|$, получаем:

$$t_0 = \frac{T}{2|\epsilon|} = \frac{x^2}{2(1 - kx)^2} \cdot \frac{1}{x_0^3 \left[\frac{x}{x_0} - \left(\frac{x}{x_0} \right)^{1/3} \right] - x - \ln x}. \quad (22)$$

Так же можно определить линию спинодали [5, 6, 10, 11], которая ограничивает область абсолютной неустойчивости системы и находится из условия $\delta \Pi / \delta x = 0$. Отсюда

$$t_{\text{сп}} = \frac{1}{(1 - kx)^3} \cdot \frac{1}{1/(1 - kx) + x_0^2 \left[1 - \frac{1}{3} \left(\frac{x_0}{x} \right)^{2/3} \right]}. \quad (23)$$

Обе линии представлены на рис. 1. В области I выше линии спинодали гель (либо макромолекулярный раствор) всегда находится в

однородном состоянии. Ниже линии спинодали (область II) система распадается на две фазы: чистый полимер и чистый растворитель. Каждой конкретной температуре t_p соответствует равновесная концентрация x_p с соответствующим объемом V_p , при которой осмотическое давление равно нулю. Если гель находится в состоянии А с меньшей концентрацией (большой объем), то осмотическое давление отрицательно и сетка сжимается, вытесняя растворитель, до достижения

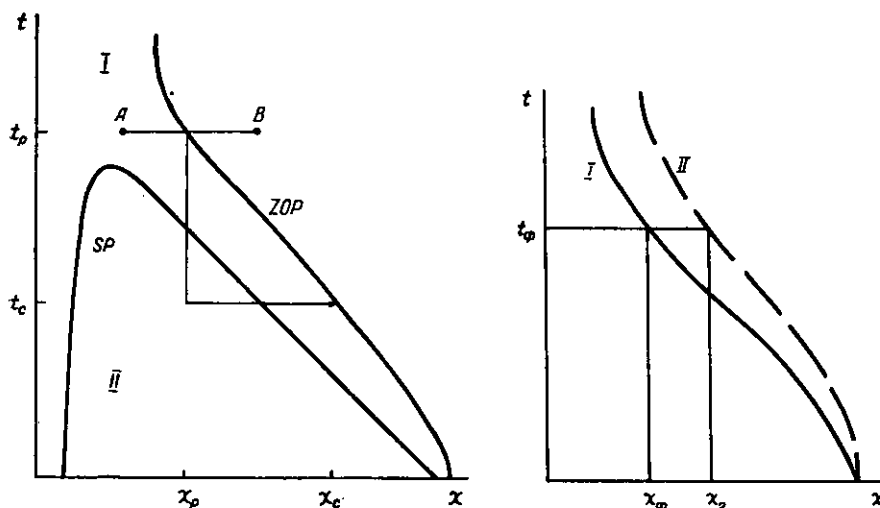


Рис. 1. Фазовая диаграмма гелевой сетки: ZOP — линия нулевого осмотического давления; SP — линия спинодали

Рис. 2. Нулевое осмотическое давление при образовании «паразитарных» сшивок: I — нативная структура; II — после образования дополнительных сшивок

равновесной концентрации x_p . В состоянии В концентрация больше — осмотическое давление положительно и сетка набухает, впитывая растворитель, до достижения той же концентрации x_p .

При быстром охлаждении системы до температуры t_c точка состояния оказывается ниже спинодали в области II — начинается процесс расслоения. Гелевая сетка сжимается, вытесняя растворитель, до достижения нового равновесного значения концентрации x_c . В силу пространственной связности системы точка ее равновесного состояния по-прежнему соответствует линии нулевого осмотического давления. При медленном охлаждении система постоянно подстраивает свой объем к равновесному значению концентрации и, такого же резкого разделения на две фазы не происходит.

Если $\epsilon > 0$ (эффективное отталкивание мономеров), то осмотическое давление всегда положительно, а гель — максимально набухший. Неограниченному набуханию препятствуют сшивки, не давая цепям оторваться друг от друга.

Зная тенденции поведения гелевой сетки в приближении теории среднего поля, обратимся к общему выражению для внутренней энергии (10). Будем считать, что гелевая сетка образована. Тогда (после соответствующей перенормировки) выражение

$$E = \epsilon_{11}y_{11} + \epsilon_{22}y_{22} + 2\epsilon_{12}y_{12} \quad (24)$$

описывает «остаточные» взаимодействия между полимерными компонентами системы. Всего можно выделить восемь вариантов распределения знаков параметров ϵ_{ij} . Все варианты приведены в таблице, где знак «—» означает эффективное притяжение пары мономеров, а знак «+» — отталкивание.

При $\epsilon_{11} < 0$ имеющаяся гелевая сеть из цепей стремится к самопроизвольному сжатию, но наличие глобул может существенно менять поведение всей системы. По-видимому, один из этих вариантов (кроме

первого) соответствует реальному взаимодействию в анабиотических системах.

При $\epsilon_{11} > 0$ гелевая сеть всегда набухшая, хорошо удерживает растворитель и обезвоживание возможно только за счет внешнего осмоса, что переводит систему в неравновесное состояние с большим значением свободной энергии. Такие системы можно переводить в состояние анабиоза только искусственным путем.

Распределение знаков эффективных параметров взаимодействий в системе глобулы-цепи и характер поведения системы

Distribution of signs of effective parameters of interactions in the system of globule-chain and character of behaviour of the system

Поведение системы при понижении температуры	ϵ_{11}	ϵ_{22}	ϵ_{12}
Сампроизвольное сжатие с вытеснением растворителя	--	--	--
При недостаточной концентрации может образоваться сетка из глобул. Имеются две взаимопроникающие сетки. Растворитель удерживается на границе раздела сеток	--	--	+
Глобулы «прилипают» к цепям, препятствуя сжатию геля	--	+	--
Глобулы находятся в порах гелевой сетки и удерживают растворитель	--	+	+
Глобулы «прилипают» к цепям и могут образовывать между ними дополнительные сшивки. Возможно формирование глобулярной сетки. Цепи удерживают растворитель	+	--	--
Глобулы стремятся образовать отдельную фазу. Также возможно образование двух взаимопроникающих сеток, причем глобулярная сетка стремится к сжатию	+	--	+
Глобулы, отталкиваясь друг от друга, прилипают к сетке. Гель набухший и хорошо удерживает растворитель	+	+	--
В поры набухшей сетки погружены отталкивающиеся глобулы. Система удерживает растворитель	+	+	+

Как уже отмечалось, для обратимости процессов сжатия -- набухания необходимо выполнение условия $f = \text{const}$, при этом одновременно выполняется $C_{эф} = \text{const}$. В общем случае при обезвоживании функциональность может увеличиться — при повышении концентрации увеличивается вероятность встречи непрореагировавших R -мономеров, что приводит к образованию новых эффективных «паразитарных» сшивок. При этом меняется структура гелевого каркаса: сетка становится более густой, уменьшается средняя длина субцепей. Соответственно для новой гелевой системы изменяются значения параметров в выражении для свободной энергии и появляется другая линия нулевого осмотического давления, что проиллюстрировано на рис. 2.

Если в процессе сжатия новых сшивок не возникает, то обратный процесс будет идти вдоль прежней линии нулевого осмотического давления и система вернется к физиологической концентрации при температуре t_f . Если же при сжатии функциональность цепей увеличивается, то обратный процесс будет идти по новой линии II, и при той же температуре система «выйдет» на другую концентрацию x_2 . Это приводит к необратимости процесса сжатия и потере нативной структуры системы.

Из этого можно сделать вывод, что основным критерием обратимости состояния анабиоза является сохранение нативной структуры гелевого каркаса, который выполняет структурообразующую и защитную функции при обезвоживании и замораживании.

Резюме

На відміну від мембран, обумовлюючих простірні розміри клітин, не розглянуто питання про принципи внутрішньої структурної організації та механізми збереження нативної структури клітин при несприятливих факторах навколишнього середовища, зокрема при переході клітин чи організмів у стан ксеро- або криоанабіозу. З позиції статистич-

вої фізики робиться спроба визначити роль біополімерів в організації нативної структури клітин та їх захисну функцію при зміні температури і вологості. Показано, що білки можуть утворювати структурний каркас клітини і зберігати внутрішні резерви для переходу до життєдіяльного стану при поверненні у фізіологічні умови.

Summary

Unlike membranes which limit the size of a cell, the problems on the principle of inside structure organization of a cell under unfavourable conditions of the environment, in particular during the change of cell or organism in the state of a xero- or kryoanabiosis have not examined yet. An attempt to determine the role of biopolymers on organizing of nature structure cells and their protective function while changing the temperature and the humidity is being done from the point of view of statistical physics. It is shown that proteins are able to form the structure skeleton of a cell and to keep inside reserves for coming back to a vital state when it is placed in physiological conditions.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голдовский А. М. Анабиоз и его практическое значение.— Л.: Наука, 1986.— 168 с.
2. Де Дюв К. Путешествие в мир живой клетки.— М.: Мир, 1987.— 255 с.
3. Тарусов Б. Н. Биофизика.— М.: Высш. шк., 1968.— 567 с.
4. Tanaka T. Gels // Sci. Amer.— 1981.— 244, N 1.— P. 110—127.
5. Де Жен П. Идея скейлинга в физике полимеров.— М.: Мир, 1982.— 368 с.
6. Займан Дж. Модели беспорядка.— М.: Мир, 1982.— 591 с.
7. Шкловский Б. И., Эфрос А. Л. Электронные свойства легированных полупроводников.— М.: Наука, 1979.— 416 с.
8. Flory P. J. Elasticity activity the incompemente networks // Macromolecules.— 1982.— 15.— P. 99—100.
9. Хохлов А. Р. Статистическая физика макромолекул.— М.: Изд-во МГУ, 1985.— 192 с.
10. Tanaka T. Collaps of gels and the critical endpoint // Phys. Rev. Lett.— 1978.— 40, N 12.— P. 820—823.
11. Hochberg A., Tanaka T., Nicoli J. Spinodal line and critical point of a acrylamide gels // Ibid.— 1979.— 43, N 3.— P. 217—219.
12. Grussley W. Elasticity and chain size in gauss networks // Macromolecules.— 1975.— 8.— P. 865—868.
13. Кузьмин Е. В., Кузьмина Р. И., Новошинский Г. Г. Модельное исследование анабиотических свойств протоплазмы // Гелеобразование и клеточный анабиоз.— Красноярск: Изд-во Ин-та физики Сиб. отд-ния АН СССР, 1989.— Ч. 3—54 с.

Краснояр. гос. ун-т

Получено 22.05.90

УДК 547.963.4

С. В. Коношенко, С. И. Чмелева

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ГЕМОГЛОБИНОВ ДВУХ ВИДОВ РЫБ: КАРПА (*CYPRINUS CARPIO L.*) И ТОЛСТОЛОБА (*HYBORHYNALMICHTHYS MOLITRIX*)

Методом изоэлектрофокусирования в градиенте рН 6:8 изучена микрогетерогенность гемоглобина карпа и толстолоба. Установлены видовые различия гемоглобинов в характере изоэлектрических спектров и в аминокислотном составе двух электрофоретически гомогенных фракций. Определены показатели сродства фракций гемоглобинов к кислороду.

Введение. Гемоглобин является одним из компонентов общей системы молекулярных механизмов адаптации, действие которых направлено на поддержание оптимального уровня жизнедеятельности организма в различных условиях существования. Имеющиеся в литературе данные

© С. В. КОНОШЕНКО, С. И. ЧМЕЛЕВА, 1991

ISSN 0233-7657. БИОПОЛИМЕРЫ И КЛЕТКА. 1991. Т. 7. № 3

73