

ФАЗОВЫЕ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ ВОДА–БЕЛОК(ПОЛИПЕПТИД)–СОЛЬ И РЕАКЦИЯ НА ВНЕШНИЕ ФАКТОРЫ СРЕДЫ

© 2014 г. С.П. Рожков, А.С. Горюнов

Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Институт биологии
Карельского научного центра РАН, 185910, Петрозаводск, Пушкинская ул., 11

E-mail: rozhkov@krc.karelia.ru

Поступила в редакцию 14.08.13 г.

На основе экспериментальных и теоретических сведений о фазовой диаграмме и термодинамических особенностях поведения квазитрехкомпонентной системы вода–белок(полипептид)–соль теоретически определены фазовые состояния, в которых система в наибольшей степени способна к саморегуляции в ответ на изменения температуры и/или концентрации солей в среде.

Ключевые слова: термодинамическая устойчивость, кластеры белка, гель, фазовая диаграмма, квазистинадаль, критические явления.

Способность адаптироваться к действию внешних факторов среды и лежащий в основе этой способности принцип гомеостаза является существенным свойством живых систем на всех уровнях структурной организации, включая молекулярный [1]. Изучение состава биологических растворов и механизмов его регуляции в связи с проблемой осмотического гомеостаза и создания оптимального микроокружения для функционирования биомакромолекул чрезвычайно важно и является предметом многочисленных исследований [2]. Однако общие физико-химические и термодинамические закономерности взаимодействия между молекулами биополимеров, ионами и водой, фазообразующие свойства водно-солевых растворов биополимеров и их роль в возникновении простейших биологических систем, начиная с первых этапов биологической эволюции, до сих пор остаются не вполне понятными.

Вопрос о физико-химическом состоянии цитоплазмы и других висцеральных жидкостей с точки зрения формирующих их термодинамических фаз ставился неоднократно [3–5]. Существуют предположения, что цитоплазма или межклеточная жидкость может находиться в особом мезофазном (промежуточном между жидким и кристаллическим) состоянии с пони-

женной термодинамической устойчивостью [5], либо в основе такого состояния может лежать непрерывный фазовый переход критического типа в слое воды, структурированной [6,7] или поляризованной [4] с участием внутриклеточных белков. Изучение механизмов клеточных реакций на воздействие изменяющихся условий среды, в том числе температуры и/или концентрации солей, является чрезвычайно важной областью исследований в биологии. К настоящему времени накоплен огромный экспериментальный материал по этим вопросам, позволивший начать расшифровку цитофизиологических процессов в сфере слабых внутри- и межмолекулярных связей белков [3,4]. Вместе с тем существующая неопределенность представлений о конформационных изменениях белков и сопровождающих эти изменения процессах агрегации, ассоциации и полимеризации существенно усложняют понимание механизмов этих процессов.

Если кооперативные переходы в молекулах белков и связанные с ними фазовые диаграммы (ФД) белков являются предметом многочисленных исследований, то фазовые свойства и ФД растворов белковых молекул долгое время оставались без внимания. Вместе с тем фазовые переходы (ФП) в растворах, в которых определяющее значение имеет вода, сопряжены с конформационными изменениями белков, поскольку силы, задающие конформацию белка в растворе, ответственны и за межмолекулярное взаимодействие. В последние годы для раство-

Сокращения: ФД – фазовая диаграмма, ФП – фазовый переход, L–L – фазовый переход типа жидкость–жидкость, НКТР, ВКТР – нижняя и верхняя критическая температура растворения.

ров глобулярных белков были предложены классические варианты диаграммы фазового равновесия, известные для флюидных систем типа газ-жидкость с ФП 1 рода, заканчивающимся критическим ФП при определенной температуре и составе. ФД позволяет представить фазовые равновесия и ФП: жидкость-твердое тело (кристалл), жидкость-жидкость, золь-гель, обозначить область существования метастабильных мезоскопических кластеров белка и олигомеров [8-13]. Обычно ФД строятся и анализируются с использованием различных потенциалов взаимодействия белок-белок. Но такой подход предсказывает существование в дисперсии белков только верхней критической температуры растворения (КТР). Термодинамический же подход с учетом роли воды [14] позволяет объяснить существование дисперсий с ретроградной растворимостью (нижняя КТР), с нормальной растворимостью (верхняя КТР), а также с диаграммой, содержащей одновременно верхнюю и нижнюю КТР (ВКТР и НКТР).

К настоящему времени белковые растворы, исследованные на предмет построения ФД [15], в равной степени представлены системами как с НКТР, так и ВКТР [16]. ФД имеют фундаментальную значимость для решения проблем кристаллизации белков, анализа явлений ассоциации и агрегации в физиологических и биотехнологических процессах, структурно-динамических изменений, обуславливающих патологию конденсационных заболеваний. В данной работе рассматривается возможность использования теоретических ФД, основанных на термодинамическом подходе и характеризующих систему вода-белок(полипептид)-соль [17-19], для анализа роли фазовых явлений при моделировании цитоплазмы и межклеточной жидкости и адаптивных реакциях такой системы на изменение температуры и концентрации соли.

ТЕОРИЯ

Для растворов глобулярных белков, в отличие от растворов полимеров, фазовый подход стал развиваться сравнительно недавно. Это было связано с обнаружением в них фазового перехода типа жидкость-жидкость (L-L), который проявляется в том, что при определенных условиях (температура, концентрация) в исходно гомогенном растворе начинают возникать микронные капли плотной жидкости с концентрацией белка на порядок большей, чем средняя по объему [10]. В связи с этим было предложено строить фазовые диаграммы для растворов бел-

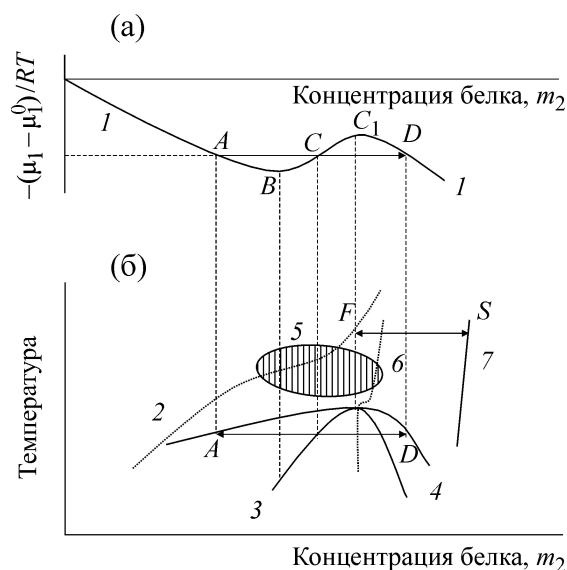


Рис. 1. Схематическое представление изотерм (а) и фазовой диаграммы (б) модельной системы вода-белок(полипептид)-соль в координатах: химический потенциал воды $(\mu_1 - \mu_1^0) -$ молярная концентрация белка m_2 (а) и в координатах: температура $T -$ концентрация белка m_2 (б). Цифрами обозначено: 1 – изотерма с «петлей Ван-дер-Ваальса»; 2 – линия растворимости; 3 – спинодаль; 4 – бинадаль; 5 (заштриховано) – область экспериментального обнаружения динамических кластеров белка; 6 – линия гелеобразования; 7 – граница твердой фазы. $F \leftrightarrow S$ – равновесие жидкой и твердой фаз. $A \leftrightarrow D$ – метастабильное равновесие: разбавленная фаза – плотная фаза. Точка C – точка перегиба изотермы. Их совокупность для всех изотерм составляет квазиспинудаль. Общая точка спинодали, бинадали и квазиспинодали на рис. 1б – критическая точка.

ка в координатах температура-концентрация белка.

На рис. 1б схематически представлена теоретическая фазовая диаграмма раствора белка, наиболее часто используемая для анализа его фазового состояния [8,9] и отображающая, в частности, ФП типа L-L. Здесь наличие стабильных, метастабильных и нестабильных областей и соответствующих границ – спинодали и бинадали – позволяет установить взаимно-однозначное соответствие особых точек на этих кривых с точками на кривых зависимостей химического потенциала воды $(\mu_1 - \mu_1^0)$ белкового раствора от концентрации белка m_2 [11,12]. Так, приведенная на рис. 1а изотерма $(\mu_1 - \mu_1^0)$ аналогична изотерме, характеризующей равновесие газ-жидкость с ФП первого рода, где «газ» – молекулы белка в растворе меньшей концентрации, а «жидкость» – концентрированная (конденсированная, «плотная») фаза белкового раствора большей концентрации. Изотер-

ма между точками A и D на рис. 1а образует петлю, подобную петле Ван-дер-Ваальса [11,12].

На рис. 1б кривая 3 – спинопаль – геометрическое место точек $B-C_1$ различных изотерм. В промежутке между точками химический потенциал воды растет. Спинопаль отделяет неустойчивую по отношению к возникновению новой фазы область ФД от метастабильной. Внутри спинопали любая флуктуация плотности ведет к фазовому переходу с мгновенным образованием геля. Кривая 4 – бинопаль, отделяющая метастабильную область ФД от стабильной. На ней возможно метастабильное фазовое равновесие $A-D$ типа L-L, если флуктуация плотности достигнет определенного размера. Линия 2 – линия растворимости (насыщения), характеризующая равновесную концентрацию белка в растворе в присутствии кристаллической фазы. Линия 7 – граница твердой фазы, а линия 6 – условная линия гелеобразования. Здесь общая точка бинопали и спинопали – точка ВКТР, соответствующая определенной критической температуре и составу. Выше этой точки раствор макроскопически однородный. В то же время заштрихованная область ФД соответствует экспериментально обнаруживаемым динамическим кластерам белка [8,13,20]. Горизонтальные отрезки $F \leftrightarrow S$ и $A \leftrightarrow D$ характеризуют фазовое равновесие раствор-кристалл и метастабильное равновесие жидкость-плотная жидкость соответственно.

Точки C изотерм (рис. 1а) являются точками перегиба, наличие которых на изотермах, согласно положениям термодинамической теории непрерывных фазовых переходов [5,21], указывает на возможность ФП и в закритической области – в окрестности линии наименьшей устойчивости, называемой квазиспинопалью. Она распространяется вдоль линии гелеобразования (пунктир 6 на рис. 1б) и соответствует несколько меньшим концентрациям белка. Критическая точка является общей для спинопали, бинопали и квазиспинопали. На квазиспинопали неравновесные флуктуационные зародыши обеих граничных фаз достигают наивысшего в данных условиях развития, создавая своеобразную мезофазу, которая может выглядеть макроскопически однородной [21]. Таким образом, если придерживаться гипотезы о мезофазном состоянии цитоплазмы либо гипотезы о непрерывном фазовом переходе критического типа в слое структурированной цитоплазматической воды, то наиболее интересными областями ФД раствора белка являются область критической точки и мезофазная область вблизи квазиспинопали. Вероятно, это именно та область, в которой происходит образование эксперимен-

тально регистрируемых предгелевых кластеров [16] или мезоскопических кластеров белка [8].

Обычно ФД, представленная на рис 1б, используется для анализа бинарной системы вода-белок. Ранее в серии работ [11,17,18] нами был использован подход к построению ФД водно-солевых растворов белков, основанный на анализе термодинамической устойчивости системы вода-белок(полипептид)-соль по отношению к процессам диффузии. Критерием устойчивости системы вода-белок-соль по отношению к процессам диффузии, т.е. способности противостоять росту флуктуаций, является положительный знак второй производной свободной энергии Гиббса по составу:

$$\delta^2 G / \delta x_i^2 = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \left(\frac{\partial^2 G}{\partial m_i \partial m_j} \right) \delta m_i \delta m_j > 0. \quad (1)$$

Здесь x_i – концентрация i -го компонента системы, m_i и $G/m_i = \mu_i$ – молярная концентрация и химический потенциал i -го компонента раствора (1 – вода, 2 – белок, 3 – электролит). Детерминант устойчивости, состоящий из коэффициентов уравнения (1), может принимать положительные значения в диапазоне: $0 \leq \det(\partial^2 G / \partial m_i \partial m_j) < \infty$. Каждая отдельная фаза существует до тех пор, пока для нее выполняются условия устойчивости – положительные значения детерминанта устойчивости. Чем ближе их значения к нижнему пределу, тем меньше устойчивость. Критическое состояние определяется тем, что детерминант устойчивости $\det(\partial^2 G / \partial m_i \partial m_j) = 0$. Из условия равенства нулю детерминанта устойчивости было получено аналитическое выражение для коэффициента устойчивости μ_{12} , которое характеризует изменение химического потенциала воды от концентрации белка [11,17,18]: $\mu_{12} = (\partial \mu_1 / \partial \mu_2) = \varphi(z, \nu, \Delta, m_1, m_2, m_3)$. Здесь z (заряд белка) и ν (число ионов соли, адсорбированных на молекуле белка в специфических центрах сорбции) являются переменными функции φ . Переменной также является скорость изменения коэффициента активности соли от ее концентрации (ионной силы ζ):

$$\Delta \approx -m_3 \frac{\partial}{\partial m_3} \left(\frac{A \zeta^{1/2}}{1 + r \kappa \zeta^{1/2}} - \sum \alpha_i \zeta^i \right),$$

где в скобках под знаком дифференциала стоит выражение Дебая-Хюккеля для коэффициента активности электролита, расширенное для больших концентраций соли введением эмпирических поправок α_i .

Из условия равенства нулю коэффициента устойчивости $(\partial\mu_1/\partial\mu_2) = 0$ было получено уравнение линии критических точек (точек C_1 на рис. 1а) и тем самым установлена связь между критическим составом системы вода–белок–соль (критическим отношением молярных концентраций компонентов, белка и соли) и индивидуальными параметрами, характеризующими белок и электролит, при которых система достигает критической точки (уравнение 2):

$$\frac{m_2}{m_1} = \frac{2 + 2\sqrt{1 + (2 + \Delta)^2 v^2 z^{-2}}}{v(2 + \Delta)}. \quad (2)$$

Из условия $\partial^2\mu_1/\partial\mu_2^2 = 0$ было также получено уравнение линии, являющейся геометрическим местом точек C на рис. 1а как точек перегиба изотерм (квазиспинодали по терминологии [5,21]):

$$\frac{m_2}{m_1} = 2 \frac{v(2 + \Delta)}{\Delta z^2} \left(1 \pm \sqrt{1 - \frac{\Delta z^2}{(2 + \Delta)v^2}} \right). \quad (3)$$

Поскольку параметр Δ зависит от температуры ($1/\Delta \sim T^{3/2}$) (так как коэффициенты уравнения Дебая–Хюккеля для активности электролита зависят от температуры), то и критический состав m_2/m_3 также зависит от температуры, как показано в [19]. На рис. 2 представлены зависимости эффективной температуры и критического состава m_2/m_3 для критических точек и квазиспинодали. Из рис. 2 следует, что при составах $m_2/m_3 > Q$ квазиспинодаль по температуре выше, чем линия критических точек, т.е. система оказывается в закритической по температуре области ФД (рис. 1б). Это означает, что при температурах выше критической, в однофазной в целом области, теоретически возможны состояния системы, в котором существуют неравновесные флуктуационные зародыши обеих граничных фаз – высокоупорядоченного полиэлектролитного геля как аналога белкового кристалла [22] и гомогенного раствора. Вероятно, это состояние можно определить как предгелевое кластерообразование (pregelation clustering) [16], регистрируемое экспериментально [8]. Оно создает своеобразную мезофазу, которая может выглядеть макроскопически однородной и в то же время является промежуточной между жидкой и кристаллической. Критическое состояние от закритического отличается как по составу, так и зависимостью состава от температуры и параметров z и v . Если при постоянной концентрации белка с ростом концентрации соли температура критической точки растет (кривая 1 на рис. 2), то температура соответствующей точки на квазиспинодали с

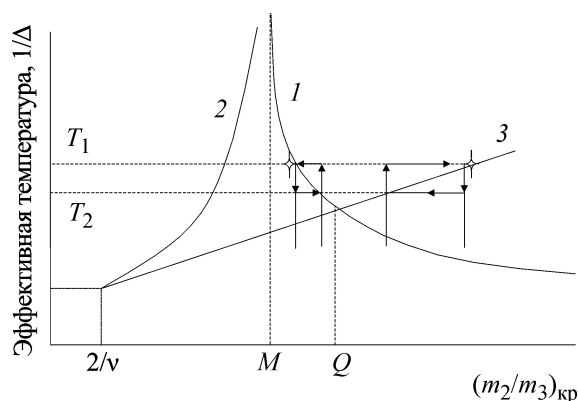


Рис. 2. Связь критического состава $X = (m_2/m_3)_{кр}$ с эффективной температурой $T \sim 1/\Delta$. Кривая 1 характеризует положение критических точек при низких концентрациях соли, соответствующих $\Delta < 0$; кривая 2 – критические точки для больших концентраций соли, $\Delta > 0$. Кривая 3 представляет собой квазиспинодаль. При $(m_2/m_3) > Q$ квазиспинодаль попадает в закритическую область ФД. Точка M соответствует условию $\Delta = 0$ и наблюдается при $m_2/m_3 = (1/v)[1 + (1 + 4v^2/z^2)^{0.5}]$. Стрелками показано изменение составов m_2/m_3 при изменениях температуры от T_1 до T_2 и обратно, необходимое для поддержания определенного фазового состояния «цитоплазмы» в области квазиспинодали и «межклеточной жидкости» в критическом состоянии.

ростом концентрации соли уменьшается (кривая 3 на рис. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Особое внимание в последние годы было обращено на существование в заштрихованной области фазовой диаграммы (рис. 1б) постоянно возникающих динамических мезоскопических белковых кластеров с временами жизни в несколько секунд [8,23], метастабильных по отношению к кристаллической фазе, поскольку в таких кластерах высока вероятность образования зародышей кристаллической фазы. Помимо этого, в динамических структурах такого рода могут идти процессы полимеризации белков, которые являются первым этапом последующего образования фибрилл, в том числе амилоидоподобных [23]. В этой же области фазовой диаграммы раствора в присутствии малых концентраций соли часто регистрируются кластеры другого типа – олигомеры, содержащие несколько молекул белка [13]. По-видимому, существование мезоскопических белковых кластеров и олигомеров в закритической, макроскопически гомогенной области фазовой диаграммы можно отнести к явлению непрерывного закритического фазового перехода, который достигает максимального развития в области

квазиспинодали фазовой диаграммы. Можно предположить [12], что олигомеры белка соответствуют зародышам плотной гелевой фазы. Мезоскопические же кластеры белка – метастабильные «осколки» набухшего геля, которые сохраняют элементы структуры высокоупорядоченного полиэлектролитного геля – белкового кристалла. Поэтому в таких кластерах легко образуются зародыши кристаллической фазы.

Мезофазное состояние раствора возникает в термодинамически устойчивой однородной за критической области ФД вблизи квазиспинодали. Однако термодинамические коэффициенты устойчивости, характеризующие это состояние и представляющие собой производные от термодинамических сил $X_i = (T, P, \mu_i)$ по сопряженным с ними координатам $x_i = (S, V, c_i)$ ($\partial X_i / \partial x_i$), где T, P, μ_i, S, V, c_i – температура, давление, химический потенциал, энтропия, объем и концентрация соответственно), имеют пониженные значения [5, 21]. Из-за малых значений кинетических коэффициентов, которые пропорциональны коэффициентам устойчивости, мезофаза должна иметь ряд особенностей по сравнению с граничными фазами, к примеру жидкой и кристаллической [5]: повышенную теплоемкость, повышенную сжимаемость, мезофаза вязкая и плохо проводит тепло, самодиффузия компонент в ней идет замедленно, имеет место выраженная оптическая неоднородность из-за наличия флуктуаций на микроуровне при сохранении макроскопической прозрачности. В наибольшей степени такому описанию (в том числе исторически [4]) подходит состояние динамического белкового геля (пунктир б на рис. 1б). Системы с пониженной устойчивостью медленно и слабо реагируют на кратковременные внешние воздействия, такие как изменение температуры и давления. Поэтому мезофазная система незаметно, без существенного изменения своего агрегатного состояния и состава, испытывает воздействие этих факторов, лишь в той или иной степени приближаясь к свойствам граничных фаз. Это может проявиться лишь в некотором слабом изменении ее структурно-динамических свойств [5]. Если основа этих свойств – существование флуктуационных зародышей (мезоскопических белковых кластеров и олигомеров) обеих граничных фаз, то умеренное внешнее воздействие будет приводить лишь к изменению их среднего числа и/или размера, без потери состава из-за низкой самодиффузии. При прекращении действия внешних факторов система легко, без затрат энергии на плавление или другие структурные изменения, возвращается в исходное структурно-динамическое состояние. В то же

время выход из мезофазного состояния под влиянием сильно изменяющихся физико-химических факторов может приводить к превращению геля в раствор (дисперсию), либо к его расслаиванию (синерезис), что также характерно для состояния геля.

Как следует из уравнений (2) и (3), критическая область и область квазиспинодали, которая, как мы предполагаем, в значительной степени и соответствует мезофазной области, при заданной температуре достигается простым изменением состава, например, ростом концентрации полипептида. Допустим, что раствор полипептида, моделирующий цитоплазму, находится в мезофазном состоянии в за критической области вблизи квазиспинодали, а раствор аналогичного полипептида, моделирующий межклеточную жидкость, имеет меньшую концентрацию по полимеру (или большую концентрацию соли) и находится вблизи критического состояния ФД. Рассмотрим, может ли такая система быстро и согласованно реагировать на изменения температуры (при сохранении уровня солености) или солености (при сохранении температуры) за счет перераспределения молекул полипептида между условной цитоплазмой и условной межклеточной жидкостью и тем самым в определенных пределах компенсировать изменения структурно-динамических параметров условной цитоплазмы, определяющих норму функции на единицу структуры [1].

При уменьшении температуры от T_1 до T_2 (показано стрелками на рис. 2) прежний за критический состав раствора (m_2/m_3) уже не будет соответствовать квазиспинодали (кривая 3 на рис. 2) как однородной системе с минимальной устойчивостью. При этом если фазовая (макроскопическая) однородность системы и сохраняется, то коэффициенты устойчивости, характеризующие кинетику процессов в мезофазе, будут возрастать, ее вязкость – уменьшаться, а скорость самодиффузии компонент раствора – увеличиваться. Если концентрация полипептида при этом будет понижаться за счет выхода его в окружающее «цитоплазму» пространство (условно в межклеточную жидкость), а концентрация соли будет увеличиваться за счет поступления ее из окружающего пространства (что соответствует уменьшению (m_2/m_3)), то система способна достичь состояния квазиспинодали при новой температуре (процесс показан стрелками на рис. 2). Поскольку «избыточный» полипептид уже быстрее диффундирует в окружающее «цитоплазму» пространство (условно межклеточная жидкость), то там его концентрация растет и (m_2/m_3) увеличивается, пока раствор не достигнет состояния критиче-

ской точки, где флуктуации концентрации полипептида максимальны. Известно, что в критическом состоянии, когда фазы тождественны, растворяющая способность критической фазы ко всем компонентам сопряженных фаз максимальна, а всякая диффузия вещества прекращается. Тем самым молекулы полипептида, покинувшие «цитоплазму», остаются в ее ближайшем окружении в «межклеточной жидкости». Таким образом, в процессе изменения температуры из-за образования критической фазы в «межклеточной жидкости» не происходит потери концентрации полипептида со временем, что могло бы произойти за счет его дальнейшей диффузии из «межклеточной жидкости» по градиенту концентрации при обычном фазовом состоянии. Если температура возвращается к исходному значению T_1 , то сохраненный таким образом в «межклеточной жидкости» полипептид может вновь пополнить условную «цитоплазму» и тем самым вся система вернется к исходному состоянию.

Как видно из предлагаемой на рис. 2 схемы, наличие мембраны не является строго обязательным, если мезофаза обладает свойствами фазы, т.е. существует граница раздела. Но поскольку эволюционно мембрана существует (механизм проникновения полипептидов через мембрану в данном случае не рассматривается, так же как и возможная десорбция–адсорбция полипептида на мембране), то критическое состояние и само наличие белковых кластеров плотной жидкости в окружающем «цитоплазму» пространстве (условно в межклеточной жидкости) позволяет создавать и поддерживать постоянство внешнего осмотического давления в относительно широком диапазоне изменения состава и даже температуры раствора [24]. Поэтому в состоянии температурного или солевого стресса «клетка», частично изменив внутренний состав и даже структуру белковых комплексов, может переключать «работу» по поддержанию осмотического гомеостаза цитоплазмы на межклеточную жидкость и тем самым избегать возможного изменения объема «клеток». Это могло бы способствовать поддержанию целостности существующей мембраны.

Поскольку критический и закритический состав (уравнения (2) и (3)) зависят также от заряда белка z и числа связанных с белком ионов ν , существует множество вариантов более тонкой настройки критического и закритического состава. Эффекты различных адсорбентов, в том числе ионов солей, для регуляции функций цитоплазмы достаточно подробно описаны в литературе [4].

Из уравнений (2) и (3) следует, что при заданной температуре и прочих равных условиях мезофазное состояние и состояние критического фазового перехода достигаются простым изменением молярных концентраций биополимера и/или электролита. Как свидетельствуют экспериментальные наблюдения, в мезоскопических белковых кластерах, образование которых сопряжено с этими фазовыми состояниями, могут идти процессы полимеризации и/или кристаллизации [8,23]. Это также может приводить к изменению эффективной молярной концентрации полипептида. Таким образом, за счет возможной полимеризации и деполимеризации могут возникать условия для запуска циклических процессов накопления и расходования полипептидной компоненты для сохранения нужного m_2/m_3 , структурно-динамического и фазового состояния внутриклеточной жидкости в целом. Такая динамика процессов и сопутствующая структурная организация, хотя и является следствием проб и ошибок, могла играть определенную роль на начальных этапах биологической эволюции [25].

Есть основания считать, что некоторые элементы предлагаемой модели участвуют в реальных механизмах реакции цитоплазмы и межклеточной жидкости на изменение физико-химических условий среды. Так, многие признаки фазовых переходов проявляются в каскаде однотипных реакций цитоплазмы на любой раздражитель, известных как неспецифический адаптационный синдром клеточных систем [26]. Одними из важнейших проявлений этого синдрома является перераспределение ряда компонентов между цитоплазмой и средой, в том числе и белков и ионов, усиление синтеза и распада макромолекул в условиях стресса [27], т.е. фактически изменение m_2 и m_3 цитоплазмы и межклеточной жидкости. Это сопровождается фазными изменениями физико-химических показателей цитоплазмы, таких как вязкость, светорассеяние и др. [3]. Обнаруженное в последнее десятилетие явление высвобождения белков теплового шока во внеклеточное пространство в ответ на стрессовое воздействие [28] может являться нижней, древнейшей ступенью в сложной иерархии механизмов защиты [29]. Известно, что увеличение концентрации осмолитов (в т.ч. солей) в межклеточном пространстве при нагреве защищает клетки от термоповреждений. Предполагается, что это следствие компенсационного механизма регуляции избытка осмотического внутриклеточного давления, благодаря которому клеткам удается сохранять свой осмотический гомеостаз [30]. Это согласуется со схемой рис. 2, согласно которой увеличение

температуры должно быть сопряжено с уменьшением m_2 и/или увеличением m_3 в межклеточной жидкости. Таким образом, фазовый подход к белковым молекулярным растворам (дисперсиям) может быть использован не только для решения задач биотехнологии, фармацевтики, медицины, но и на молекулярном уровне позволяет подойти к пониманию ряда проблем эволюционных процессов, направленных на развитие механизмов адаптации живых систем к изменяющимся условиям среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. П. Нефедов, А. А. Ясайтис, В. Н. Новосельцев и др., *Гомеостаз на различных уровнях организации биосистем* (Наука, Новосибирск, 1991).
2. П. Хочачка и Дж. Сомеро, *Биохимическая адаптация* (Мир, М., 1988).
3. В. Я. Александров, *Реактивность клеток и белки* (Наука, Л., 1985).
4. Г. Линг, *Физическая теория живой клетки: незамеченная революция* (Наука, СПб., 2008).
5. В. К. Семенченко, *Журн. физ. химии* **36**, 15 (1962).
6. А. Г. Дудолоадов и К. С. Тринчер, *Биофизика* **16**, 547 (1971).
7. Т. Л. Челидзе, *Биофизика* **19**, 96 (1974).
8. P. G. Vekilov, *J. Phys.: Condens. Matter* **24**, 19101 (2012).
9. A. C. Dumetz, A. M. Chockla, E. W. Kaler, and A. M. Lenhoff, *Biophys. J.* **94**, 570 (2008).
10. N. Asherie, *Methods* **34**, 266 (2004).
11. S. P. Rozhkov, *J. Cryst. Growth* **273**, 266 (2004).
12. S. P. Rozhkov and A. S. Goryunov, *Biophys. Chem.* **170**, 34 (2012).
13. A. Stradner, F. Cardinaux, and P. Schurtenberger, *J. Phys. Chem. B.* **110**, 21222 (2006).
14. A. Shirayayev, D. L. Pagan, J. D. Gunton, et al., *J. Chem. Phys.* **122**, 234911 (2005).
15. S. Grouazel, F. Bonnete, J.-P. Astier, et al., *J. Phys. Chem. B.* **110**, 19664 (2006).
16. M. Muschol and F. Rozenberger, *J. Chem. Phys.* **107**, 1953 (1997).
17. С. П. Рожков, *Журн. физ. химии* **62**, 1925 (1988).
18. С. П. Рожков, *Биофизика* **50**, 115 (2005).
19. S. P. Rozhkov and A. S. Goryunov, *Biophys. Chem.* **151**, 22 (2010).
20. S. P. Rozhkov and A. S. Goryunov, *Eur. Biophys. J.* **28**, 639 (2000).
21. И. И. Базаров, *Термодинамика*, 3-е изд. (Высш. шк., М., 1983).
22. Дж. А. Рапли, в кн.: *Структура и стабильность биологических макромолекул*, под ред. С.Н. Тимашева и Г.Д. Фасмана (Мир, М., 1973), сс. 255–319.
23. W. Pan, O. Galkin, L. Filobelo, et al., *Biophys. J.* **92**, 267 (2007).
24. С. П. Рожков, *Биофизика* **46**, 53 (2001).
25. Ю. Н. Журавлев, А. В. Тузинкевич и Е. Я. Фрисман, *Биофизика* **56**, 143 (2011).
26. А. Д. Браун и Т. П. Моженок, *Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы* (Наука, Л., 1987).
27. Г. И. Блехман и Н. А. Шеламова, *Успехи соврем. биологии* **112**, 281 (1992).
28. Б. А. Маргулис и И. В. Гужова, *Цитология* **51**, 219 (2009).
29. А. Л. Пухальский, Г. В. Шмарина, И. В. Капустин и др., *Цитология* **52**, 1016 (2010).
30. И. И. Морозов и В. Г. Петин, *Цитология* **50**, 182 (2008).

Phase States of Water–Protein (Polypeptide)–Salt System and Reaction to External Environment Factors

S.P. Rozhkov and A.S. Goryunov

*Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences,
ul. Pushkinskaya 11, Petrozavodsk, 185910 Russia*

Phase states of a quasi three-component water-protein (polypeptide)-salt system most capable of self-regulation in response to the medium temperature and/or salinity changes have been determined on the basis of experimental and theoretical data concerning phase diagrams and thermodynamic behavior of the system.

Key words: thermodynamic stability, protein clusters, gel, phase diagram, quasi-spinodal, supercritical phenomena