



МЕЖДУНАРОДНЫЙ СИМПОЗИУМ «ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БИОПОЛИМЕРОВ В РАСТВОРЕ И КЛЕТКАХ»

23—26 сентября 1985 г. в Пушкино состоялся симпозиум с участием стран — членов СЭВ и СФРЮ. Научная программа симпозиума включала следующие вопросы: взаимодействие биополимеров с растворителем; структура, термодинамические свойства и конформационные перестройки биополимеров в растворе; динамика белков и нуклеиновых кислот; гетеромолекулярные взаимодействия в растворах биополимеров; биополимеры в надмолекулярных структурах, клетках и тканях.

Всего состоялось шесть пленарных заседаний и четыре стендовые сессии, на которых было представлено 30 докладов и 150 стендовых сообщений. Все доклады носили обзорный характер, конкретные результаты были приведены на стендах. В тематике симпозиума основной акцент был сделан на термодинамических исследованиях биополимеров.

Доклады первого пленарного заседания были посвящены теоретическим исследованиям взаимодействия биополимеров с растворителем. А. З. Паташинский и Б. И. Шумило (Новосибирск) изложили предложенную ими статистическую теорию структуры жидкости и некоторых свойств растворенных в ней биополимеров. В докладе Г. Н. Саркисова (Пушино) проведен сравнительный анализ различных теоретических подходов к проблеме сольвофобных взаимодействий. Другому важному фактору в формировании пространственно устойчивой конформации биологических макромолекул — водородным связям биополимер — вода был посвящен доклад С. Светины (Белград). Г. Г. Маленков (Москва) рассказал об использовании методов численного моделирования систем биополимеры — вода на примере изучения гидратации оснований нуклеиновых кислот и их комплементарных пар.

На втором пленарном заседании были приведены экспериментальные данные по изучению взаимодействий биополимеров с

растворителем. Так, в докладе Ю. И. Хургина и Н. Г. Церевитиновой (Москва) рассмотрены современные термодинамические и спектроскопические данные по гидратации белков в растворе и твердом состоянии; обсуждена роль гидратации в образовании функционально активной структуры белков. В. А. Букным (Пушино) представлен сравнительный анализ возможностей различных экспериментальных и теоретических методов в исследовании гидратации ДНК. Вопрос о гидратации фибриллярных коллагеноподобных полипептидов рассмотрен в докладе Ф. Айзенменгера (Берлин). Гидратация биополимеров в тканях была описана в докладе В. Василеску (Бухарест).

В ряде работ, доложенных на стендовой сессии, проанализированы теоретические вопросы гидратации и сольвофобных взаимодействий, например были предприняты попытки теоретических оценок роли воды в конформации биополимеров в растворе и тканях. Состояние воды в растворах биополимеров, термодинамику гидратации и сольвофобных взаимодействий исследовали на основании экспериментальных данных, полученных различными методами (микроркалориметрия, акустическая и ИК-спектроскопия, ЯМР, малоугловое рассеяние рентгеновских лучей и нейтронов, измерение диэлектрических характеристик и т. д.). С. И. Аксенов (Москва) посвятил свое сообщение роли воды в регуляции биологических процессов. Во многих работах подчеркивалась связь между характеристиками гидратного окружения и функциональным состоянием биополимеров.

Общие тенденции и основные идеи были сформулированы в дискуссии по проблеме «Взаимодействие биополимеров с растворителем» под председательством А. П. Сарвазяна (СССР) и Д. Вучелича (СФРЮ). В частности, отмечался разнородный в понятиях «гидратация», «гидратационная вода» и не очень хорошее соответствие при определении гидратационных характеристик раз-

личными методами. Обсуждая этот вопрос, Г. Г. Маленков заметил, что неопределенность возникает как следствие природы явления, а не как недостаток договоренности между исследователями: разные методы отражают разные стороны гидратационного процесса и поэтому вряд ли удастся выработать некие общие количественные критерии.

Третье пленарное заседание было посвящено термодинамическим свойствам биополимеров в растворе. На симпозиуме были широко продемонстрированы возможности акустической спектроскопии и прецизионной ультразвуковой велосимметрии. Так, в докладах А. П. Сарвазяна, Д. П. Харакоза и В. А. Букина (Пушино) был дан обзор результатов ультразвуковых исследований релаксационных процессов, гидратации, структурных переходов и молекулярных взаимодействий в растворах белков и нуклеиновых кислот. Показана связь между акустическими, термодинамическими и кинетическими свойствами биополимеров. Пользуясь аддитивными схемами, можно определять не только вклад отдельных компонентов системы, но и (что гораздо важнее) отклонения от аддитивности, характеризующие взаимодействия.

На стендах был приведен ряд работ, выполненных в Институте биофизики АН СССР в Пушино совместно с югославскими коллегами. Было показано, что переход от пептидов к олиго- и полипептидам не приводит, а переход к глобуле белка приводит к нарушению аддитивности. Переход белка из одной формы в другую, связывание с лигандами, олигомеризация и прочие изменения, связанные с перестройкой третичной структуры, сопровождаются отклонениями от аддитивности, определяемыми значительным изменением гидратации.

Б. Атанасов (София) докладывал об электростатических аспектах термодинамики белков. В. Пфайл (Берлин) остановился на тепловых свойствах глобулярных белков, исследуемых методом сканирующей микрокалориметрии. В. Я. Малеев (Харьков) обсуждал диэлектрические свойства водных растворов ДНК и белков.

Четвертое пленарное заседание было посвящено конформационным переходам в биополимерах. Л. А. Блюменфельд (Москва) описал конформационную релаксацию белков после быстрых локальных химических возмущений, длящаяся от микросекунд до секунд, что позволяет регистрировать ход ее по оптическим, магнитным и химическим характеристикам. На примере реакции, катализируемой малатдегидрогеназой, обсуждалась корреляция между конформа-

ционными изменениями фермента и химической трансформацией субстрата.

Внимание исследователей в области физики нуклеиновых кислот в настоящее время сосредоточено в основном на явлениях полиморфизма ДНК, на условиях возникновения и характеристиках различных форм и переходах между ними. Ю. С. Лазуркин и М. Д. Франк-Каменецкий (Москва) привели экспериментальные и теоретические данные группы исследователей по образованию крестообразной, Z- и H-форм в суперспиральной ДНК, которая, как известно, гораздо богаче конформационными возможностями, чем линейная двуспиральная. Последовательности оснований, которые могут переходить в одну из альтернативных форм, встречаются в природе и, по-видимому, играют регуляторную роль. Детально результаты этих исследований были представлены на стендах. Большой интерес вызвало сообщение В. И. Лямичева, С. М. Миркина и М. Д. Франк-Каменецкого (Москва) об обнаруженном ими рН-зависимом структурном переходе полипурин-полипиримидинового кластера отрицательно сверхспирализованной ДНК в отличную от всех известных альтернативную H-форму.

В докладе В. И. Иванова (Москва) была отмечена аналогия между фазами вещества и формами ДНК, связанными друг с другом кооперативными переходами. Было рассказано о новом общем подходе к исследованию полиморфизма ДНК в растворе — методе фазовых диаграмм. Подробно экспериментальный материал был представлен на стендах, где автором вместе с Э. Е. Миняй, Д. Д. Крыловым, А. Т. Карапетяном и Л. С. Шляхтенко были сообщены результаты изучения равновесия между A-, B-, Z- и клубкообразными формами в различных условиях, особенности поведения и переходов между формами макромолекул ДНК в окрестности тройной точки.

А. Р. Хохлов (Москва) рассмотрел вопрос о применении методов статистической физики в теориях перехода спираль — клубок, компактной формы ДНК, белка как гетерополярной глобулы и т. д. А. Ю. Гросберг (Москва), работая в направлении построения теории коллапса и глобулярного состояния гетерополимера, предложил (совместно с Е. М. Кагановой) модель описания перехода клубок — глобула в гетерополимере с произвольной первичной структурой.

Серия теоретических и экспериментальных работ исследователей Института белка АН СССР (Пушино) совместно с коллегами из ГДР была посвящена внутримолекулярным фазовым переходам в глобулярных

белках. Согласно современной концепции белковой денатурации, существуют три термодинамически стабильных состояния белка: нативное, «расплавленной глобулы» и статистического клубка. Диаграмму состояний глобулярного белка анализировал в своем докладе Е. И. Шахнович (Пушино). Экспериментальные исследования методами диффузного рассеяния рентгеновских лучей, ЯМР, квазиупругого светорассеяния, сканирующей и изотермической микрокалориметрии, кругового дихроизма и др. показали, что состояние «расплавленной глобулы» отделено от нативного фазовым переходом 1-го рода. Кооперативность поглощения тепла связана с разрушением специфической плотной упаковки боковых групп в гидрофобном ядре. При этом плотность упаковки изменяется мало, а линейные размеры белковой молекулы возрастают всего на 11%. Переход «расплавленная глобула» — клубок значительно менее кооперативен и недостаточно изучен.

В стендовых сообщениях были изложены также результаты исследования конформационных переходов в белках, нуклеиновых кислотах, иммуноглобулинах, гликопротеинах под действием денатурирующих факторов. Привлекло внимание сообщение Ю. В. Грико (Пушино) об изучении различными физическими методами явления холодной денатурации белков, ранее предсказанного из общих термодинамических соображений. В отличие от теплового, холодной переход в состояние, подобное беспорядочному клубку, сопровождается понижением энтропии и энтропии. В ряде работ применялось весьма информативное сочетание теоретического и экспериментального подходов к изучению нуклеиновых кислот.

Пятое пленарное заседание было посвящено вопросам структуры и динамики биополимеров в растворе. М. В. Волькенштейн (Москва) в докладе о физико-химических аспектах эволюции белков утверждал, что первичная структура эволюционно организуется путем запоминания случайного выбора с последующим редактированием. Пространственная структура белка от одного вида к другому меняется мало. Гораздо существеннее различие в регуляции количества, места и времени синтеза белка. О. Б. Птицын (Пушино) рассказал об общих принципах организации пространственной структуры белка: об иерархии взаимодействий, роли водородных связей, гидрофобных и ван-дерваальсовых взаимодействий в стабилизации специфической третичной структуры.

В. Г. Туманян (Москва) теоретически рассмотрел и сравнил полиморфизм регу-

лярных структур коллагена и ДНК. На множество возможных конформаций с большим люфтом структуры накладываются ограничения, приводящие к тому, что реально существует лишь небольшое количество форм. Э. Палечек (Брно) говорил об исследовании локально измененных участков в двуспиральной ДНК полярографическим методом. Использованы также методы, включающие применение энзиматических и химических структурных зондов, поскольку основания, содержащиеся в дефектах структуры, более доступны для взаимодействия со средой, чем находящиеся в регулярной спирали. Теоретическое и экспериментальное исследование внутримолекулярной конформационной лабильности ДНК было проведено также в работах из Берлина, Киева, Ленинграда, Москвы, Пушино.

Л. В. Абатуров (Москва) в докладе и в работах с соавторами, приведенных на стендах, представил данные по динамической структуре глобулярных белков в растворе и кристалле. Ряд работ других авторов также был посвящен этой проблеме. Применялись как модельный, так и безмодельный подходы к изучению механизмов внутримолекулярной флуктуационной подвижности. Показано, что смещения осуществляются скачками между ограниченным числом дискретных конформеров, а не носят характер непрерывной ограниченной диффузии. Методами ЯМР, ИК-спектроскопии, дейтерообмена, релеевского рассеяния мессбауэровского излучения, низкотемпературной калориметрии, протеолитической деградации и др. изучено влияние гидратации, температуры, водно-спиртовых смесей, мутационных замен аминокислот и прочих факторов на внутримолекулярную подвижность в глобулярных белках. Резкое усиление флуктуаций происходит при денатурационных фазовых переходах. Локальные обратимые изменения третичной структуры при сохранении неизменной вторичной структуры функционально важны и могут реализоваться в процессе регуляции биологической активности белков. При этом нарушается энергетический баланс внутримолекулярных взаимодействий, и конформационный сигнал распространяется по всей макромолекуле, увеличивая подвижность белка в целом. Сообщения завершили дискуссией на тему «Динамика и конформационные перестройки биополимеров в растворе» под председательством М. В. Волькенштейна (СССР) и Э. Палечека (ЧССР).

Шестое пленарное заседание было посвящено белок-нуклеиновому взаимодействию и биополимерам в надмолекулярных струк-

турах. Г. В. Гурский (Москва) изложил термодинамические и стереохимические аспекты белок-нуклеинового узнавания, на основе которых можно было бы объяснить корреляцию между белковыми и нуклеиновыми последовательностями, вовлеченными в специфические взаимодействия. Группой исследователей изучено связывание с ДНК как природных лигандов, так и синтетических олигопептидов. Последние образуют спирали — изогеометричные спирали ДНК, связывающиеся с ДНК прочнее и специфичнее природных лигандов. В докладе К. К. Эбралидзе и А. Д. Мирзабекова (Москва) были представлены новые данные по устройству гистонового октамера. Результаты получены при помощи метода ДНК-гистоновых сшивок, позволяющего локализовать расположение гистонов.

А. А. Богданов и А. М. Копылов (Москва) изложили результаты работ последних лет по изучению структуры рибосомной РНК в растворе и в составе рибосомы. Определена первичная структура 2500-нуклеотидной рРНК и гипотетически выведены высшие структуры. При этом использовали методы филогенетического анализа (сравнение структур РНК из различных источников) и определения доступности групп для различных агентов. Исходя из структурных аналогий различных РНК и специфичности белок-нуклеинового взаимодействия, авторам удалось объяснить некоторые структурные основы регуляции.

Доклады В. М. Морозова (Пушино), Н. Г. Есиповой (Москва) и ряд стендовых сообщений были посвящены анализу физико-химических свойств надмолекулярных структур биополимеров. Доказано, что конформационные и энергетические свойства составляющих сильно меняются. В агрегированном состоянии открываются дополнительные возможности эффективной регуляции ферментативной активности. Обсуждались проблемы термодинамического состояния конденсированных структур и связи между физическими свойствами комплексов и их функционированием.

Стендовые работы, касающиеся гетеромолекулярных взаимодействий в растворах биополимеров, охватывали результаты исследования: 1) свойств комплексов ДНК с гистонами и их моделями; 2) особенностей связывания различных лигандов с ДНК; 3) специфичности взаимодействия аминокислот и белков с нуклеиновыми кислотами и их компонентами; 4) взаимодействия ионов с молекулами нуклеиновых кислот; 5) субстрат-ферментных взаимодействий; 6) свойств пептидных биорегуляторов и т. д. В стендовой сессии на тему «Биополимеры в надмолекулярных структурах, клетках и тканях» были рассмотрены конформационное состояние и переходы ДНК в составе нуклеопротеинов и фаговых частиц, в комплексе с гистонами, структурные изменения коллагена, мышечных белков в различных надмолекулярных организациях, структурные переходы в эритроцитарной мембране и протеолипосомах и т. д.

Дискуссия по биологическим макромолекулам и биологическим процессам (председатели Л. А. Блюменфельд, СССР и К. Е. Райнерт, ГДР) завершила научную часть симпозиума. Было замечено, что в последние годы предпринимаются попытки перейти от исследования физико-химических свойств изолированных молекул и их комплексов к исследованию свойств тех же молекул в тканях, к структуре, свойствам и термодинамическим характеристикам функционирующих молекул. Ограниченность физико-химических методов исследования преодолевается изучением параллелей между свойствами тех же молекул в растворе и клетках, сочетанием различных методов исследования одних и тех же объектов, а также поиском новых методов, как можно меньше влияющих на исследуемые свойства молекул.

В заключение участники симпозиума отметили значительность полученных результатов, разнообразие применяемых методов, плодотворность межлабораторных контактов, а также хорошую организацию симпозиума.

А. Г. ГАБРИЕЛЯН