

УДК 548

**РОЛЬ СВЯЗАННОЙ ВОДЫ И ОСАДИТЕЛЕЙ В САМООРГАНИЗАЦИИ
БИОКРИСТАЛЛОВ****Н.А. Бульенков, Е.А. Желиговская****Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва*

E-mail: lmm@phyche.ac.ru

Статья поступила 13 февраля 2014 г.

Показано, что параметры элементарных ячеек биокристаллов можно представить как суммы псевдопериодов спирали 30/11 из молекул воды, являющейся основным элементом структуры гидратационных оболочек биомолекул. Высказано предположение, что в структуре биокристалла молекулы связанной воды образуют решетку с ребрами в виде спиралей 30/11, отстоящих друг от друга на расстоянии длины соответствующего псевдопериода. Показана роль осадителя в стабилизации такой решетки. На этой основе объяснены полиморфизм биокристаллов, а также возможность существования больших полостей и широких сквозных каналов в структурах биокристаллов, если в качестве осадителя использовали молекулы полиэтиленгликоля и им подобные соответствующей длины.

Ключевые слова: кристаллы белков, связанная вода, модульный дизайн.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время четко наметился кризис в естествознании, имеющий следующие корни: 1) редукционизм и слабое междисциплинарное взаимодействие между различными науками; 2) отсутствие прямых экспериментальных и теоретических методов изучения аperiodических структур и структур неравновесных веществ, более сложных по своему строению, чем кристаллические; 3) незнание кооперативных структурных механизмов различных процессов, особенно таких, как самоорганизация и формообразование, а также взаимных превращений в биосистемах.

Господствующие в современной науке позитивистские взгляды на создание новых знаний определяют роль накопления новых экспериментальных знаний и их дальнейшего обобщения как главенствующую. Однако для преодоления указанного кризиса необходим переход от инструментальной революции к концептуальной. В связи с этим весьма существенной становится роль методов дизайна — пока единственного способа создавать модели потенциально возможных структур. Поэтому Ж.-М. Лен назвал дизайн основной идеей будущих технологий [1].

Развитие нанотехнологии является одним из признаков грядущей научной революции, результатом которой станет создание системного структурного междисциплинарного мегаестествознания, способного конструировать потенциально возможные структуры субъективной реальности. Лучшими примерами реализации таких структур и возможных в них кооперативных переходов являются системные гетерогенные биологические структуры, прошедшие долгий путь детерминированного эволюционного развития на основе структур связанной воды. Поэтому моделирование таких возможных структур биосистем начинается с построения структур связанной воды, соразмерных с другими компонентами биосистем, подходящих к ним по форме и образующих с ними и между собой водородные связи.

Для этого требуется развитие обобщенной кристаллографии, подходы к развитию которой были созданы Дж. Берналом и А. Маккеем [2, 3] и, судя по областям ее применения, имеют междисциплинарный характер [4]. Сейчас наука впервые обращается к миру потенциально возможных структур и к методу дизайнера, результаты которого должны соответствовать экспериментальным данным. На это обращал внимание в том числе А.А. Любищев, который видел решение проблемы детерминированной биохимической самоорганизации в виде создания новой неевклидовой кристаллографии [5]. Идея создания обобщенной кристаллографии тетраэдрических структур связанной воды как общей системообразующей структурной составляющей, определяющей форму гетерогенных биосистем, открывает новые возможности для создания теоретической системной биологии, что подтверждает мысль М. Хайдеггера [6]: "Современная мысль почти только то и делает, что гоняется за упущенным целым... Пока мы будем видеть целое только в конце наших построений, мы никогда не увидим их конца."

В кристаллических структурах по их структурным мотивам, изображенным в координационных полиэдрах [7], можно однозначно выделить минимальные периодически повторяющиеся фрагменты их структур — "кристаллические модули" или "кристаллические молекулы" по Е.С. Фёдорову [8], которые полностью определяют стехиометрию, симметрию, дальний порядок и даже морфологию кристалла (строение и ориентацию его важнейших граней и ребер). В модуле все атомы размещены только по его вершинам, ребрам и граням и не содержатся внутри него. Поэтому модульное разбиение кристаллического пространства является его разбиением по всем химическим связям, включая направленные и слабые водородные связи, и соответствует полной связанности в структуре кристалла [9].

Кооперативное преобразование евклидовых кристаллических модулей в неевклидовы модули структур искривленных пространств постоянной кривизны возможно путем введения в их замкнутую связанную оболочку соответствующих дисклинаций и диспираций [10]. Например, кристаллический модуль льда Ih можно преобразовать в связанный неевклидов модуль путем введения в него диспирации с угловой компонентой $+60^\circ$ и осью, параллельной оси третьего порядка. При этом в нем сохраняется подгруппа точечной симметрии исходного кристаллического модуля D_3 . Такие неевклидовы модули можно объединить в одномерную структуру спирали $30/11$, а из этих структур потом можно построить все разновидности дисконтинуальных системо- и формообразующих структур связанной воды, которые могут быть вложены в трехмерное евклидово пространство биосистем [11].

Модульная концепция самоорганизации всех стабильных связанных структур позволяет охватить все континуальные кристаллические структуры (равновесные и неравновесные) и дисконтинуальные напряженные неравновесные структуры. Из тетраэдрических неевклидовых модулей можно построить системообразующие упорядоченные модульные структуры связанной воды, а на их основе возможно образование гетерогенных структур биосистем, другие структурные составляющие которых соответствуют структурам связанной воды по форме и по положению водородных связей [11, 12]. Из этих же модулей можно построить иерархические системообразующие фрактальные структуры, на основе которых создаются иерархические биосистемы [11, 12].

Дисконтинуальные структуры связанной воды могут служить основой для образования кристаллов биомолекул, в первую очередь белков, а также их концентрированных коллоидных растворов. Целью данной работы является: 1) проверка этого предположения, для чего проводится моделирование решеток связанной воды для разных биокристаллов; 2) объяснение на этой основе полиморфизма биокристаллов; 3) выяснение роли более мелких ионов и молекул-осадителей в формировании и стабилизации структур биокристаллов.

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И СТРОЕНИЯ БИОКРИСТАЛЛОВ

По сравнению с кристаллами других органических или неорганических веществ кристаллы биомолекул имеют ряд отличительных особенностей, связанных прежде всего с их большой молекулярной массой и сложным химическим строением [13].

Во-первых, они имеют большие размеры элементарной ячейки (50—250 Å), что затрудняет процесс их расшифровки.

Во-вторых, они всегда содержат растворитель, из раствора в котором они выросли. На долю растворителя в биокристалле приходится от 30 до 75—80 об. %. Необходимость присутствия в кристалле растворителя вызвана обязательным возникновением больших полостей при укладке крупных молекул. Кроме того, укладка биомолекул в кристалле может быть также и рыхлой, ввиду чего относительный объем, занимаемый биомолекулами в кристалле, падает, а объемная доля растворителя возрастает. В роли растворителя чаще всего выступает водный раствор низкомолекулярных солей и полиэтиленгликоля (ПЭГ).

Роль водного растворителя в самоорганизации белковых кристаллов не сводится только к заполнению пространства между крупными белковыми молекулами. Прежде всего, еще на стадии раствора он способствует образованию вторичной и третичной (глобулярной) структур белка, так как участки молекулы с гидрофобными неполярными остатками стремятся экранироваться от водного раствора, а участки с гидрофильными полярными остатками — наоборот, контактировать с ним. При этом часть молекул воды растворителя оказывается в связанном состоянии, образуя водородные связи с гидрофильными группами молекулы белка и тем самым формируя ее гидратационную оболочку.

Так как в биокристаллах содержание водного растворителя остается высоким, считается, что в ходе кристаллизации конформация биомолекулы меняется незначительно. Связанная вода в биокристалле присутствует или в виде гидратационных оболочек биомолекул, или структурируется под воздействием низкомолекулярных растворенных веществ. На долю связанной воды приходится до 30 % от всего количества воды. Остальная вода присутствует в кристалле в несвязанном, неупорядоченном состоянии. Структуры связанной воды, образованные при взаимодействии молекул воды с другими молекулами раствора, влияют на способ укладки биомолекул в кристалл.

Эти особенности структур биокристаллов приводят к их повышенной хрупкости и разрушению при высыхании, а также к полиморфизму, когда в зависимости от состава маточного раствора и других условий молекулы одного и того же белка упаковываются в кристалл различным образом и с разной объемной долей растворителя. Как уже сказано выше, по нашему мнению, полиморфизм связан с многообразием возможных структур связанной воды в биокристалле.

ДИСКОНТИНУАЛЬНАЯ РЕШЕТКА ИЗ СПИРАЛЕЙ 30/11 КАК ОСНОВА ДЛЯ САМООРГАНИЗАЦИИ БИОКРИСТАЛЛОВ

В самоорганизации биосистем структуры связанной воды играют детерминирующую роль как системообразующие компоненты, соразмерные с другими компонентами биосистемы. Они определяют конформацию органических компонент биосистемы, особенно на уровне образования интермедиатов. Моделирование системы состоит в подборе для биополимера наиболее подходящей по размерам и форме структуры связанной воды для образования нативных и стабильных гидратированных биосистем. Решающим моментом для такого моделирования является атомная структура биополимера, установленная методом рентгеноструктурного анализа. По структуре биосистемы можно в дальнейшем изучать ее самоорганизацию, а также кооперативные механизмы взаимодействия этого белка с другими веществами.

Ранее было показано [11], что спирали 30/11 связанной воды являются важным элементом гидратационных оболочек биомолекул в водной среде (в частности, в маточном растворе). Повторяющаяся единица такой спирали (рис. 1, а) состоит из двух молекул воды, а при присоединении тридцати повторяющихся единиц она прирастет на одиннадцать полных оборотов, что соответствует длине (периоду) вдоль ее оси $a_{30} = 44,12 \text{ Å}$ при длине водородной связи $2,75 \text{ Å}$. Длина проекции одной повторяющейся единицы спирали на ее ось равна $44,12/30 = 1,47 \text{ Å}$, а соответствующий ей угол поворота составляет $360^\circ \times 11/30 = 132^\circ$. Спираль 30/11 имеет следующие псевдопериоды a_N с минимальным углом закрутки α_N относительно начала отсчета: а) $N = 4$, $a_4 = 1,47 \text{ Å} \times 4 = 5,88 \text{ Å}$ и $\alpha_4 = 132^\circ \times 4 = 528^\circ = 180^\circ \times 3 - 12^\circ = -12^\circ$ по модулю 180° ;

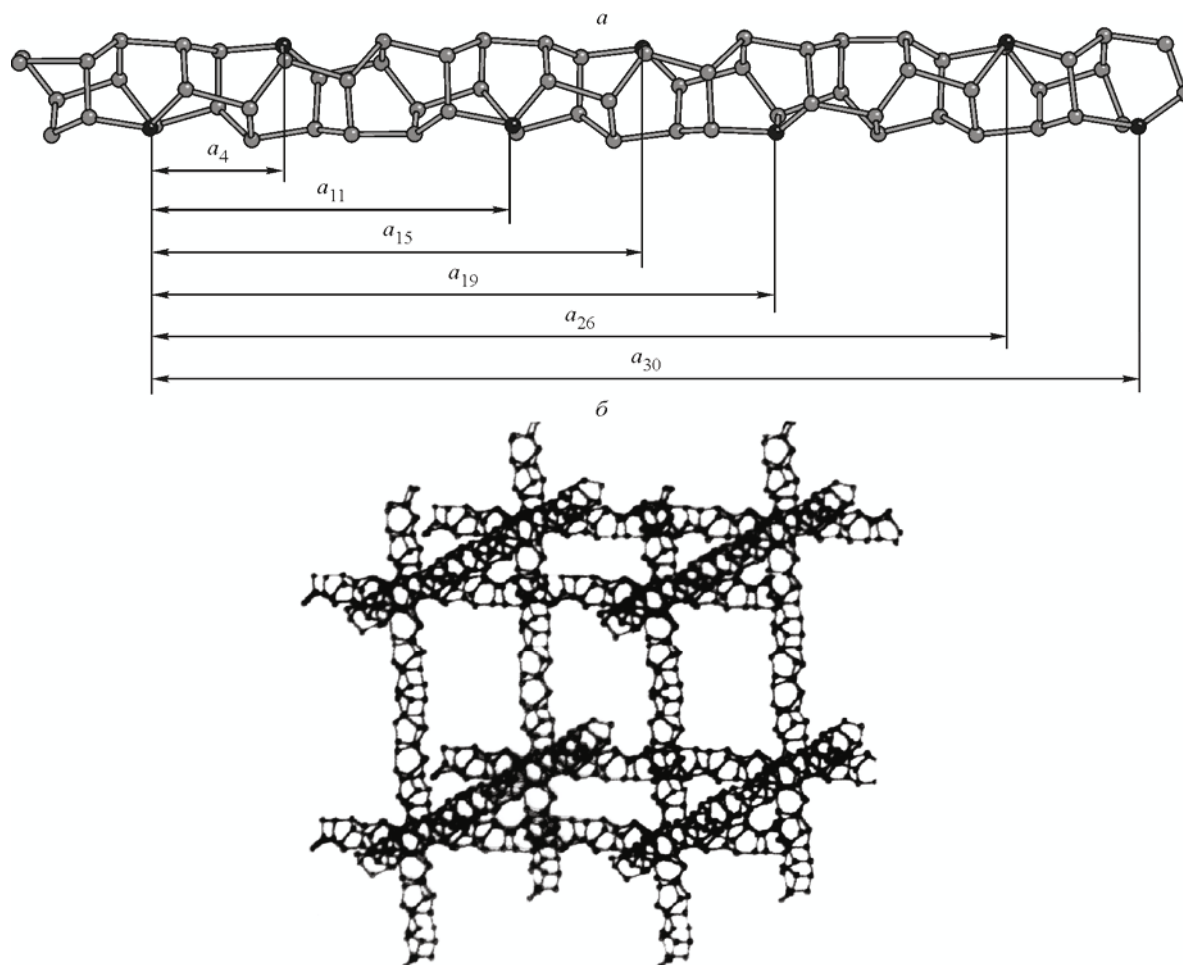


Рис. 1. Спираль 30/11 и ее псевдопериоды (а); решетка с ребрами из спиралей 30/11 с углами между ребрами 90° и периодами $a = b = c = a_{26}$ (б)

б) $N = 11$, $a_{11} = 1,47 \text{ \AA} \times 11 = 16,18 \text{ \AA}$ и $\alpha_{11} = 132^\circ \times 11 = 1452^\circ = 1440^\circ + 12^\circ = 360^\circ \times 4 + 12^\circ = +12^\circ$ по модулю 360° ; в) $N = 15$, $a_{15} = 1,47 \text{ \AA} \times 15 = 22,06 \text{ \AA}$ и $\alpha_{15} = 132^\circ \times 15 = 1980^\circ = 180^\circ \times 11 = 0^\circ$ по модулю 180° . Исходя из этих псевдопериодов, находим, что $a_{15} = a_4 + a_{11} = 22,06 \text{ \AA}$, $\alpha_{15} = 0^\circ$ по модулю 180° ; $a_{19} = a_4 + a_{15} = 27,94 \text{ \AA}$, $\alpha_{19} = -12^\circ$ по модулю 180° ; $a_{26} = a_{11} + a_{15} = 38,24 \text{ \AA}$, $\alpha_{26} = +12^\circ$ по модулю 180° .

Показано [1], что 12 спиралей 30/11 могут пересекаться в кластере из 27 молекул воды, называемом *T*-узлом; при этом центральная молекула этого кластера принадлежит каждой из этих спиралей. Углы между осями этих спиралей составляют 36° , 60° , 72° , 90° , 108° , 120° и 144° , причем можно выделить тройки спиралей, в которых углы между осями каждой пары спиралей одинаковы и равны 36° , 90° , 108° или 120° [11]. Поэтому можно построить трехмерные решетки с ребрами из спиралей 30/11 и узлами в виде соответствующих фрагментов *T*-узлов (рис. 1, б). Периоды этих решеток будут равны одному или сумме нескольких каких-либо псевдопериодов спирали 30/11, а углы между ребрами будут принимать указанные значения 36° , 60° , 72° , 90° , 108° , 120° и 144° . Возможны и другие типы узлов, в которых соединяются три спирали 30/11, так что два из углов между осями спиралей равны одному из вышеперечисленных значений, а третий равен $k \times 132^\circ$ по модулю 360° (т.е. 132° , $2 \times 132^\circ - 360^\circ = -96^\circ$, $3 \times 132^\circ - 360^\circ = 36^\circ$, $4 \times 132^\circ - 360^\circ = 168^\circ$, $5 \times 132^\circ - 720^\circ = -60^\circ$, $6 \times 132^\circ - 720^\circ = -72^\circ$ и т.д.) [11].

Было замечено [11], что молекулы белков кристаллизуются в гексагональную, тетрагональную или моноклинную (с углом около 108°) решетки, периоды которых можно с хорошей

точностью представить как сумму каких-либо псевдопериодов спирали 30/11. Кроме того, кристаллы белков содержат большое количество воды (до 80 об. %), в том числе частично в структурированном состоянии, и при высыхании разрушаются [13]. Поэтому было высказано предположение [11], что кристаллизация белков происходит с формированием описанной выше решетки из связанной воды с ребрами из спиралей 30/11. В принципе эта решетка, основные параметры которой совпадают с параметрами элементарной ячейки кристалла белка, может быть в некотором смысле "дисконтинуальной" и "фрактальной", т.е. ее более крупные ячейки могут быть разбиты на меньшие спиральями 30/11, выходящими из основных ребер решетки через меньшие псевдопериоды. Возникновение такой решетки объясняет следующие свойства кристаллов белков: а) возможное наличие в них широких пустых каналов, заполненных неструктурированной водой и б) низкую плотность заполнения ячеек решетки биокристаллов белками (до 20 об. %) и в) возможность разнообразного размещения в ячейках молекул белка в зависимости от условий выращивания кристалла.

Отметим, что разбиение периодов решетки биокристалла на псевдопериоды подчиняется их золоточисленной метрике $a_N = 10\varphi(m + k(1 + \varphi^{-2}))$, где $\varphi \approx 1,618$ — золотое сечение, и выражается через псевдопериоды решетки $a = a_{11} \times m + a_{15} \times k$, причем сумма этих псевдопериодов охватывает остальные псевдопериоды $a_{15} = a_4 + a_{11}$, $a_{19} = a_4 + a_{15}$ и $a_{26} = a_{11} + a_{15}$ [11].

Ребра такой решетки могут быть элементами структуры гидратационных оболочек и крупных биомолекул, и мелких молекул, присутствующих в растворе. Рассмотрим это на примере строения гидратационной оболочки молекулы ПЭГ.

РОЛЬ МОЛЕКУЛ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В ОБРАЗОВАНИИ БИОКРИСТАЛЛОВ И УВЕЛИЧЕНИИ ИХ СТАБИЛЬНОСТИ

Спираль 30/11 из молекул связанной воды можно разбить на две спирали 15/4, связанные между собой водородными связями (рис. 2, а). Как и в случае спирали 30/11, каждая повторяющаяся единица такой спирали 15/4 состоит из двух молекул воды, поэтому на один ее период приходится 30 молекул воды и 4 полных оборота.

Известно, что в кристаллическом состоянии молекулы ПЭГ образуют спирали 7/2, в которых каждая повторяющаяся единица состоит из одного мономера ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), период составляет 7 единиц и за период делается два полных оборота [14]. Если такую спираль раскрутить в 2 раза, то на ее период будет приходиться 1 полный оборот и 7 повторяющихся единиц, и она будет описываться формулой $7/1 = 14/2 = 28/4$. Далее, если каждый ее участок в четыре периода (28 мономеров) раскрутить еще на 96° , то 4 полных оборота она будет совершать уже за 30 единиц в один мономер, так как за две единицы в один мономер такая спираль наберет недостающие $96^\circ = ((4 \times 360^\circ - 96^\circ)/28) \times 2$. Так как расстояния между атомами О последовательности ОССО в *gosh*-конформации составляет 2,8—2,9 Å, а длина водородной связи между молекулами воды в жидкости 2,75—2,85 Å, то описанной выше раскрученной спиралью ПЭГ можно заменить одну из двух спиралей 15/4, составляющих спираль 30/11 воды, так что атом О каждого мономера ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$) займет позицию атома О молекулы воды в спирали 15/4 (рис. 2, б). При этом на каждую повторяющуюся единицу из двух молекул воды спирали 15/4 придется два мономера ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$). Длины водородных связей между атомами О цепочки ПЭГ и молекул воды спирали 15/4 не изменятся. Вид вдоль общей оси спиралей ПЭГ и 15/4 воды показан на рис. 2, в. Внутренний диаметр равен 5 Å, а внешний — около 10 Å. Значения углов внутреннего вращения вокруг связей О—С, С—С и С—О одного шага ОССОССО спирали 15/4 соответствуют конформации *TGTGGG*, т.е. атомы О молекулы ПЭГ находятся в положении *G*, как это и есть в кристалле.

Небольшие добавки ПЭГ в воду существенно улучшают ее гидродинамические свойства за счет уменьшения турбулентности [15]. В частности, растет скорость истечения струи из планга и в разы увеличивается дальность ее полета. Возможно, это связано с подобным строением гидратированной формы молекулы ПЭГ, вытянутой за счет внешнего направленного воздействия, когда подобные "иголки", находясь в объеме струи, усиливают ламинарность потока.

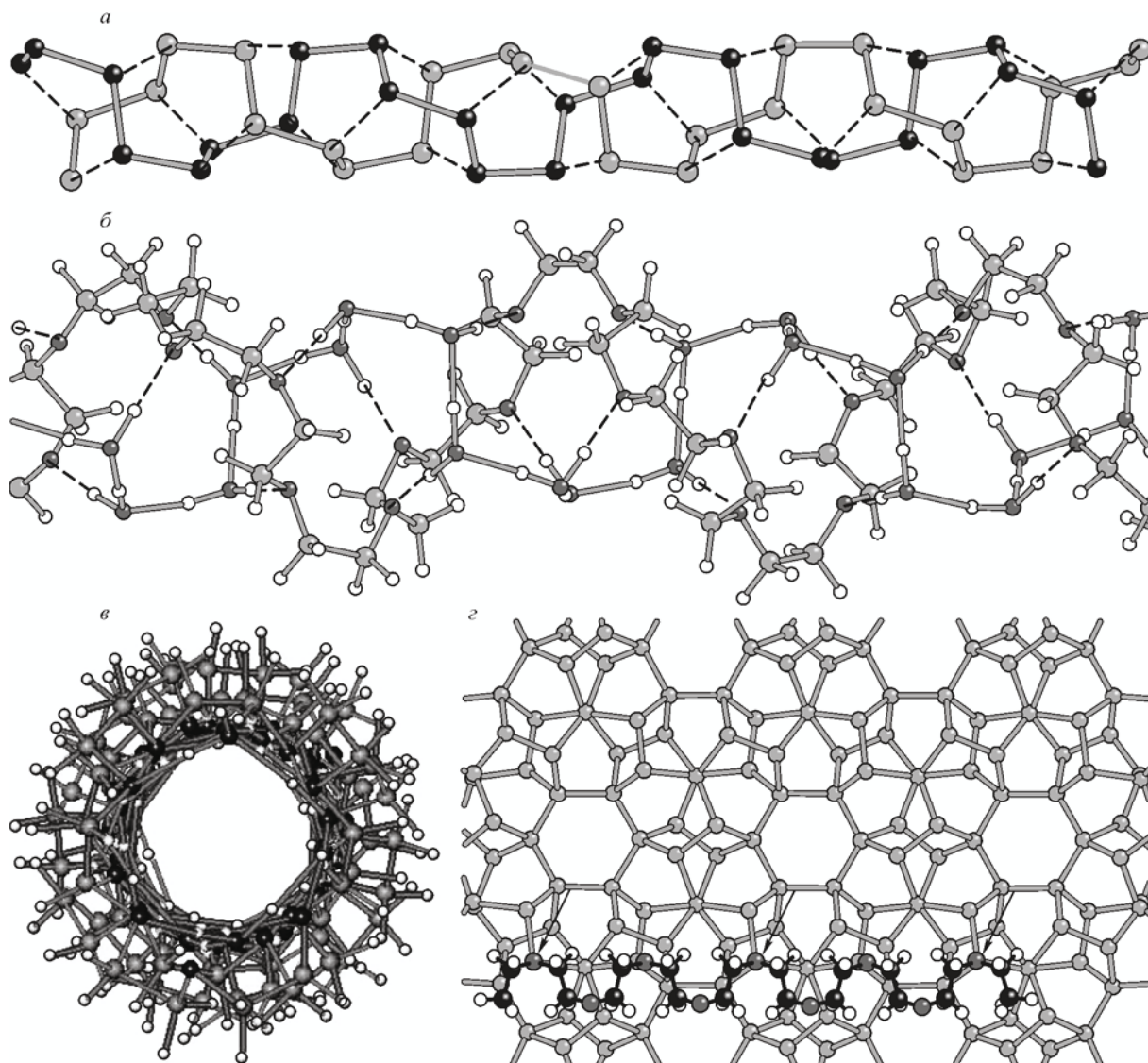


Рис. 2. Разделение спирали 30/11 на две спирали 15/4 из черных и из серых атомов; водородные связи между спиралями 15/4 обозначены пунктиром (а); замена одной из двух спиралей 15/4, составляющих спираль 30/11, на молекулу ПЭГ (б), водородные связи между атомами О молекул воды и ПЭГ обозначены пунктиром, все ковалентные связи в молекулах ПЭГ и воды и водородные связи между молекулами воды обозначены сплошными линиями; вид перпендикулярно общей оси спиралей 15/4; то же, вид вдоль оси спиралей 15/4 (в); меандровая конформация ПЭГ (черные линии), положенная на спираль 30/11 в структуре поверхностного слоя воды (серые линии) (г), стрелками указаны места образования водородных связей между атомами О молекул ПЭГ и воды

Кроме того, молекулы ПЭГ могут укреплять поверхностный слой струи, точно так же встраиваясь в структуру поверхностного слоя воды, состоящего из спиралей 30/11 [16].

Интересно, что так называемая меандровая конформация молекулы ПЭГ, в которой углы внутреннего вращения в участках ОССО соответствуют последовательности *GTG*, также соизмерна параметрам спирали 30/11 и структуре поверхностного слоя воды (рис. 2, г). При этом соответствие между структурами поверхностного слоя воды и меандровой конформации ПЭГ таково, что только 1/4 часть атомов О молекул ПЭГ может образовывать водородные связи с молекулами воды поверхностного слоя (см. рис. 2, г).

Молекулы ПЭГ с молекулярными весами от 200 до 8000 и длиной в подобном гидратированном состоянии от ~ 7 до ~ 270 Å являются наиболее распространенными осадителями.

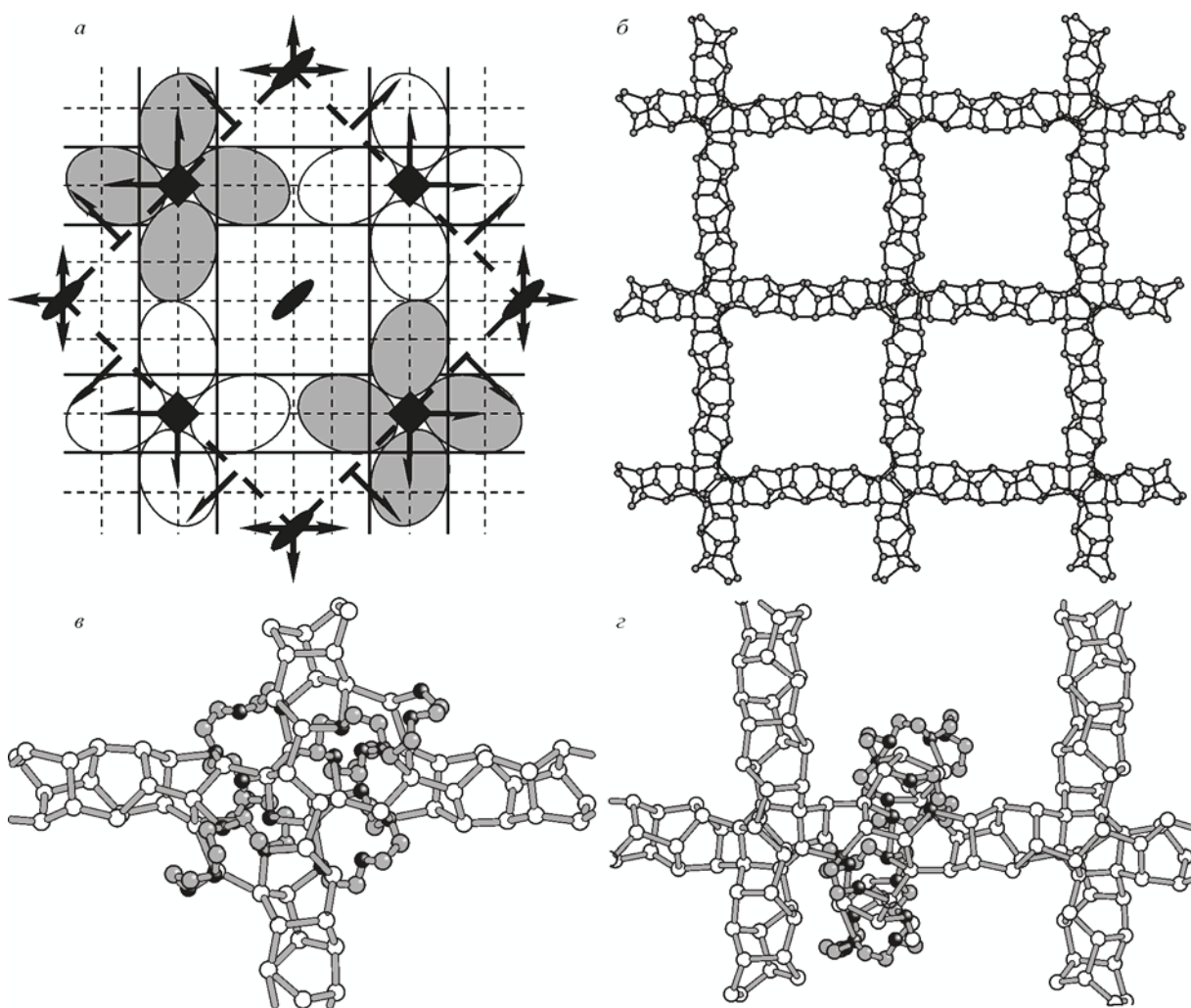


Рис. 3. Схема карты электронной плотности кристалла HSA с нанесенной на нее решеткой из спиралей 30/11 связанной воды, вид вдоль оси c (а); фрагмент решетки связанной воды с размерами $a_{15} \times a_{15}$ (б); положения молекул ПЭГ, укрепляющие узел этой решетки (в); положения молекул ПЭГ, находящихся на расстоянии псевдопериода a_4 от узла решетки (г)

По-видимому, они могут стабилизировать решетку из спиралей 30/11, замещая в ней одну из двух спиралей 15/4, образующих спираль 30/11.

Примером кристалла белка, в котором стабилизация водной структуры молекулами ПЭГ, по-видимому, имеет решающее значение, могут служить кристаллы сывороточного альбумина человека (human serum albumin, HSA), полученные из раствора, содержащего ПЭГ 400 и KH_2PO_4 ([17], исправленный вариант структуры см. [18] и частично [19]). Эти кристаллы уникальны тем, что содержание маточного раствора в них достигает 78 об. %, а вдоль оси c проходит широкий сквозной канал с сечением в виде квадрата со стороной ~ 90 Å. Кристаллы образуются в виде тетрагональных пластин, описываются пр. гр. $P4_21_2$, а их элементарная ячейка содержит 8 молекул белка и имеет параметры $a = b = 186,5$ Å, $c = 81,0$ Å. Сквозной квадратный канал вдоль оси c хорошо виден на карте распределения электронной плотности (см. схему на рис. 3, а), полученной для этих кристаллов ([17], помещена на обложке этого номера Science).

Согласно нашим представлениям, этот кристалл HSA образован на основе решетки из спиралей 30/11 из молекул связанной воды с периодами $a_{\text{lat}} = a_{15} \times 6 = 22,06 \times 6 = 133,36$ Å и $c_{\text{lat}} = a_{11} \times 5 = 16,18 \times 5 = 80,9$ Å, которые соответствуют экспериментальным значениям

$a\sqrt{2}/2 = 186,5 \times \sqrt{2}/2 = 131,9 \text{ \AA}$ (с отклонением $\Delta = 1,1 \%$) и $c = 81 \text{ \AA}$ ($\Delta = 0,13 \%$) (рис. 3, б). На рис. 3, а положения основных ребер этой решетки нанесены на схематически представленную карту электронной плотности кристаллов HSA. Непрерывный канал вдоль оси c шириной около 90 \AA ($a_{15} \times 4 = 22,06 \times 4 = 88,24 \text{ \AA}$) в принципе заполнен неструктурированной водой, но на оригинальном рисунке [17, обложка] на нем видны мелкие пики электронной плотности вблизи узлов указанной решетки связанной воды. Эти пики могут быть вызваны только молекулами ПЭГ 400 и анионами соли KH_2PO_4 , которые могут занимать фиксированное положение внутри широкого канала только будучи чем-либо связанными, а связывать их могут только структуры связанной воды. Это указывает на то, что и внутри канала разрушены не все узлы и ребра решетки из спиралей 30/11, которая и фиксирует положение молекул ПЭГ (и ионов) внутри канала и, в свою очередь, стабилизирована ими. На рис. 3, в и г приведены фрагменты решетки связанной воды из спиралей 30/11 и положения гидратированных молекул ПЭГ, соответствующие положениям пиков на карте электронной плотности. Молекулы ПЭГ в положениях, соответствующих рис. 3, в, стабилизируют узлы решетки. Молекулы ПЭГ в положениях, соответствующих рис. 3, г, могут стабилизировать дополнительные ребра этой решетки, находящиеся на расстоянии псевдопериода a_4 от узлов. Молекула ПЭГ 400 содержит 9 мономеров, а длина ее в рассматриваемой конформации составляет около 13 \AA , что соответствует размеру ее изображения на карте электронной плотности [17, обложка].

Отметим, что для рекомбинантного сывороточного альбумина человека (rHSA) при кристаллизации в нейтрализованном растворе ПЭГ 400 была получена и другая, более обычная кристаллическая форма [19], отличающаяся от описанной выше тетрагональной с широким каналом вдоль оси c . Она характеризуется часто встречающейся моноклинной пространственной группой $P2_1$ и имеет параметры $a = 58,9$, $b = 38,3$, $c = 60,7 \text{ \AA}$ и $\beta = 101,9^\circ$. Молекулы белка упакованы в ней гораздо более плотно, так что растворитель занимает только около 33 об. % кристалла. В этом случае также параметры решетки можно выразить через псевдопериоды спирали 30/11: $a = 2a_{15} + a_{11} = 60,30 \text{ \AA}$ ($\Delta = 2,4 \%$), $b = 2a_{11} + a_4 = 38,24 \text{ \AA}$ ($\Delta = 0,2 \%$) и $c = 2a_{15} + a_{11} = 60,30 \text{ \AA}$ ($\Delta = 0,7 \%$).

РОЛЬ ОСАДИТЕЛЕЙ В ОБРАЗОВАНИИ БИОКРИСТАЛЛОВ И ИХ ПОЛИМОРФИЗМЕ

Помимо крупных молекул типа ПЭГ в качестве осадителей могут выступать и мелкие молекулы органических веществ, а также другие соединения, содержащие тетраэдрические анионы типа PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , мелкие анионы Cl^- , F^- , I^- и катионы типа K^+ . Тип и концентрация осадителя мало влияют на конформацию биополимера, оставляя ее примерно такой же, как в нативной форме, но влияют на ориентацию молекул белков в пространстве и способы их укладки. Под влиянием разных осадителей один и тот же малоструктурированный белок может давать до двух десятков полиморфных форм. Биокристаллы редко содержат сквозные внутренние каналы типа рассмотренного выше для кристаллов HSA, и обычно характеризуются моноклинной и триклинной симметрией.

Например, для белка BPR (bovine pancreatic ribonuclease) известно не менее 13 полиморфных форм [20—22], условия получения которых различались видом и концентрацией осадителя. Большинство форм кристаллов BPR принадлежит к моноклинной и ромбической сингониям с пространственными группами $P2_1$, $C2$, $P2_12_12_1$ и величиной параметров решетки от ~ 30 до $\sim 80 \text{ \AA}$. Разбиение этих значений параметров на псевдопериоды спирали 30/11 для некоторых форм приведено в таблице, а схема укладки молекул BPR в решетке из спиралей 30/11 связанной воды для случая пространственной группы $P2_1$ приведена на рис. 4.

Тетраэдрические анионы типа PO_4^{3-} и SO_4^{2-} стабилизируют в пространстве ячейки решетки из спиралей 30/11, занятые биомолекулами, путем образования водородных связей с этими биомолекулами и с молекулами воды, образующими ребра этих ячеек в виде спиралей 30/11. При этом суммарная длина связей $\text{P}\cdots\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ составляет около 5 \AA , а всего мостика, например, между NH-группой биомолекулы и молекулой связанной воды $\text{N}\cdots\text{H}\cdots\text{O}\cdots\text{P}\cdots\text{O}\cdots\text{H}\cdots\text{O}$ — $7\text{—}8 \text{ \AA}$.

Параметры элементарных ячеек некоторых форм кристаллов ВРР и разбиение их на псевдопериоды спирали 30/11 связанной воды

Название, ссылка	Параметры кристаллической решетки $a, b, c, \text{Å}$, угол β град.	Объем на молекулу белка в ячейке, Å^3	Период решетки, выраженный через псевдопериоды $a_4 = 5,88 \text{ Å}$, $a_{11} = 16,18 \text{ Å}$, $a_{15} = 22,06 \text{ Å}$, $a_{19} = 27,94 \text{ Å}$ и $a_{26} = a_{11} + a_{15} = 38,24 \text{ Å}$ спирали (30/11) и отклонение от эксп. данных Δ
Рибонуклеаза ВРР I, [17]	$P2_12_12_1$ ($Z = 4$) $a = 44,63$ $b = 76,3$ $c = 37,6$	32010	$a = 2a_{15} = 44,12, \Delta = 1,2 \%$ $b = 2a_{15} + 2a_{11} = 2a_{26} = 76,48, \Delta = 0,3 \%$ $c = a_{15} + a_{11} = 2a_{11} + a_4 = 38,24, \Delta = 1,7 \%$
Рибонуклеаза ВРР VI, [17]	$C2$ ($Z = 4$) $a = 70,60$ $b = 38,99$ $c = 51,65$ $\beta = 103,96^\circ$	34494	$a = 2a_{19} + a_{11} = 72,06, \Delta = 2,1 \%$ $b = 2a_{11} + a_4 = 38,24, \Delta = 1,9 \%$ $c = 2a_{15} + a_4 = 50,00, \Delta = 3,2 \%$
Рибонуклеаза ВРР XIII, [17]	$P2_1$ ($Z = 4$) $a = 51,35$ $b = 76,0$ $c = 31,56$ $\beta = 106,11^\circ$	29582	$a = 2a_{15} + a_4 = 50,00, \Delta = 2,7 \%$ $b = 2a_{15} + 2a_{11} = 2a_{26} = 76,48, \Delta = 0,7 \%$ $c = 2a_{11} = 32,36, \Delta = 2,5 \%$
Рибонуклеаза ВРР III, [17]	$P2_1$ ($Z = 4$) $a = 42,91$ $b = 45,38$ $c = 77,2$ $\beta = 114,31^\circ$	34250	$a = 2a_{15} = 44,12, \Delta = 2,8 \%$ $b = 2a_{15} = 44,12, \Delta = 2,8 \%$ $c = 2a_{15} + 2a_{11} = 2a_{26} = 76,48, \Delta = 0,9 \%$
Рибонуклеаза ВРР II, [18]	$P2_1$ ($Z = 2$) $a = 30,13$ $b = 38,11$ $c = 53,29$ $\beta = 105,75^\circ$	29447	$a = 2a_{11} = 32,36, \Delta = 7,4 \%$ $b = 2a_{11} + a_4 = 38,24, \Delta = 0,4 \%$ $c = a_{15} + 2a_{11} = 54,42, \Delta = 2,1 \%$ или $c = 2a_{19} = 55,88, \Delta = 4,9 \%$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ранее было показано, что спирали 30/11, состоящие из молекул связанной воды, являются основным элементом структуры гидратационных оболочек биомолекул [11]. Это обстоятельство, а также возможность представить размеры элементарных ячеек биокристаллов как суммы псевдопериодов спирали 30/11 связанной воды позволяют предположить существование в биокристаллах соответствующей решетки из спиралей 30/11 связанной воды с расстоянием между ребрами решетки, равным этим псевдопериодам. На этой основе логично объясняется полиморфизм биокристаллов, связанный с многообразием таких решеток, и возможность наличия в них больших полостей и широких каналов. Стабилизация ребер (спиралей 30/11) ячеек, занятых биомолекулами, происходит за счет самих биомолекул и мелких ионов-осадителей; наличие для этого более крупных молекул ПЭГ (или им подобных) не обязательно. Стабилизация спиралей 30/11 связанной воды в больших полостях или широких каналах требует присутствия достаточно длинных молекул ПЭГ и происходит за счет их встраивания в структуру спирали 30/11 в качестве одной из двух составляющих ее спиралей 15/4. Тем самым положение молекулы ПЭГ внутри большой полости или широкого канала фиксируется, и она становится видима на карте электронной плотности. На долю структурированной воды в биокристалле приходится не более 30 %, остальная вода находится в жидком, неупорядоченном состоянии.

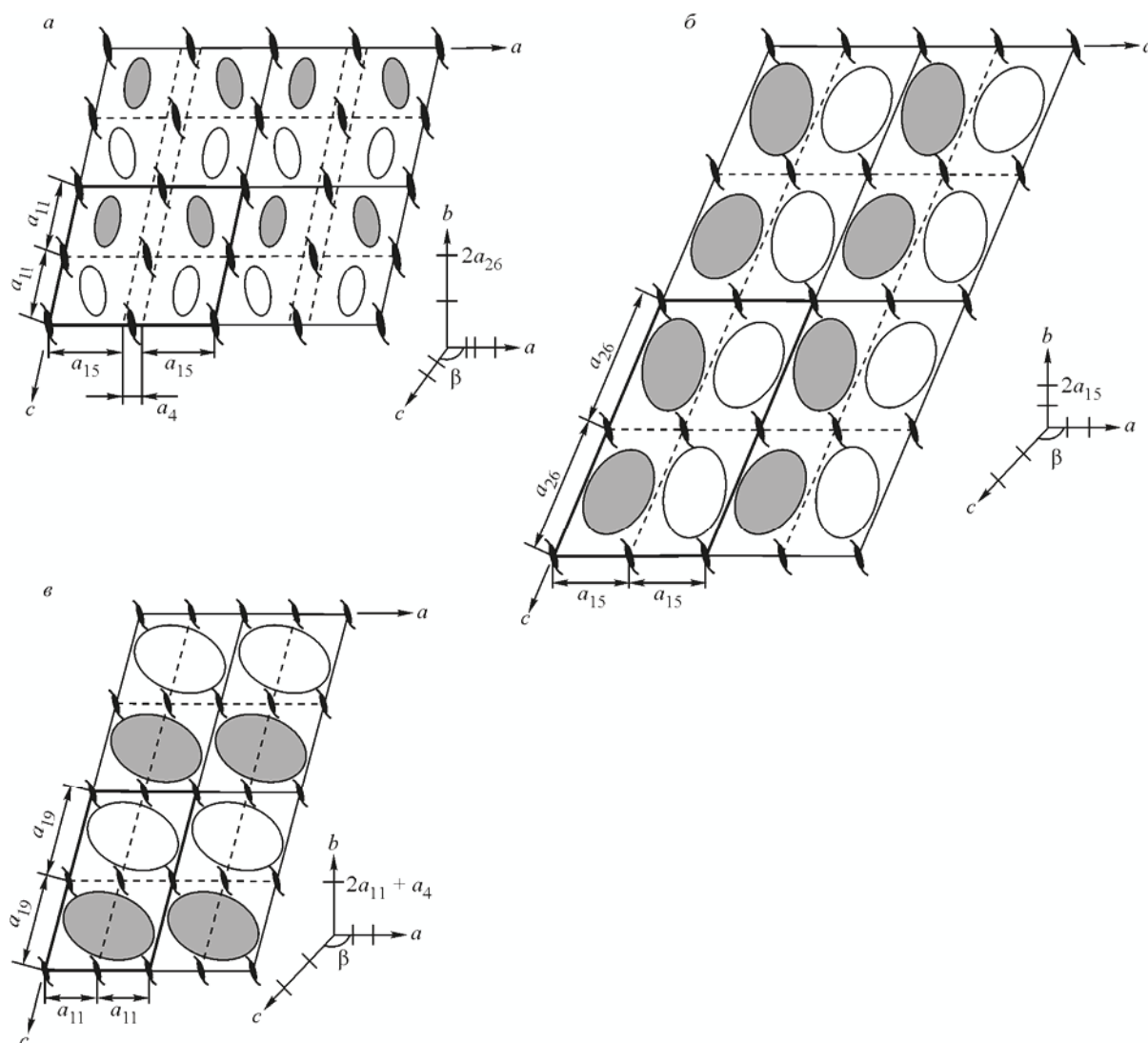


Рис. 4. Схема возможной укладки молекул BPR в решетке из спиралей 30/11 связанной воды для случая пространственной группы $P2_1$ для кристаллов BPR XIII (а), III (б) и II (в). Показано 4 соседних элементарных ячейки кристалла в проекции вдоль оси b , границы одной из ячеек выделены жирными линиями; приведено разбиение элементарной ячейки ребрами решетки из спиралей 30/11 и показано положение молекул белка в ячейках этой решетки. Молекулы, выделенные серым цветом, сдвинуты на половину периода вдоль оси b по сравнению с молекулами, обозначенными белым цветом. На мелких врезках показано разбиение элементарной ячейки на псевдопериоды по всем трем осям

В биокристалле из-за высокого содержания водного растворителя конформация биомолекулы изменяется незначительно по сравнению с той, которая сформировалась еще в исходном растворе таким образом, чтобы соответствовать возможной структуре гидратационной оболочки. Таким образом, структуры связанной воды из спиралей 30/11 играют двоякую системообразующую роль в самоорганизации биокристаллов, определяя и конформацию биомолекул в растворе, и способ их укладки в кристалле, а структура биокристаллов зависит не только от состава, конформации и размера биомолекулы, но и от состава маточного раствора, так как осадители также оказывают существенное влияние на стабилизацию решетки из спиралей 30/11.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лен Ж.-М. Супрамолекулярная химия. Концепции и перспективы. – Новосибирск: Наука СО РАН, 1998.
2. Бернал Дж.Д., Карлайл С.Х. // Кристаллография. – 1968. – 13, № 5. – С. 927.

3. *Mackay A.L.* // *Comp. Maths. Appls.* – 1986. – **128**, Nos. 1/2. – P. 21 – 37.
4. *Бульенков Н.А.* // *Кристаллография.* – 2011. – **56**, № 4. – С. 729 – 746.
5. *Любищев А.А.* // *Знание — сила.* – 1973. – № 5. – С. 26.
6. *Хайдеггер М.* Что такое метафизика? – М.: Академический проект, 2007.
7. *Белов Н.В.* Структура ионных кристаллов и металлических фаз. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1947.
8. *Федоров Е.С.* Структура и симметрия кристаллов. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1949.
9. *Бульенков Н.А.* // *Вест. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского, Сер. Физика твердого тела.* – 1998. – Вып. 1. – С. 19 – 30.
10. *Bulienkov N.A.* *Fields Inst. Monographs. V. 10. Quasicrystals and Discrete Geometry / Ed. Patera J.* Providence, Rhode Island: Am. Math.Soc., 1998. – P. 67.
11. *Бульенков Н.А.* // *Биофизика.* – 1991. – **36**, № 2. – С. 181 – 243.
12. *Бульенков Н.А.* // *Биофизика.* – 2005. – **50**, № 5. – С. 934 – 958.
13. *Современная кристаллография.* – Том 2. Структура кристаллов. / Б.К. Вайнштейн, В.М. Фридкин, В.Л. Инденбом. – М.: Наука, 1979.
14. *Takahashi Y., Tadokoro H.* // *Macromolecules.* – 1973. – **6**, N 5. – P. 672–675.
15. *Bailey F.E., Kolesky J.V.* *Poly(ethylene oxide).* – London: Academic Press, 1976.
16. *Бульенков Н.А., Желиговская Е.А.* // *Журн. физ. химии.* – 2006. – **80**, № 10. – С. 1784 – 1805.
17. *Carter D.C., He X.M., Munson S.H. et al.* // *Science.* – 1989. – **244**. – P. 1195 – 1198.
18. *Carter D.C., He X.M.* // *Science.* – 1990. – **249**. – P. 302 – 303.
19. *He X.M., Carter D.C.* // *Nature.* – 1992. – **358**. – P. 209 – 215.
20. *King M.W., Bello J., Pignataro E.H., Harker D.* // *Acta Crystallogr.* – 1962. – **15**, Part 2. – P. 144.
21. *Avey H.P., Boles M.O., Carlisle C.H. et al.* // *Nature.* – 1967. – **213**. – P. 557 – 562.
22. *Kartha G., Bello J., Harker D.* // *Nature.* – 1967. – **213**. – P. 862 – 865.