

14-2002-176

На правах рукописи
УДК 538.97, 577.322

А-187

АВДЕЕВ
Михаил Васильевич

**ИЗУЧЕНИЕ ФРАКТАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
ПОВЕРХНОСТИ БЕЛКОВ**

Специальность: 01.04.07 — физика конденсированного
состояния

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Работа выполнена в Лаборатории нейтронной физики им. И.М.Франка
Объединенного института ядерных исследований.

Актуальность темы

В современной физике конденсированного состояния большой интерес проявляется к изучению так называемых надатомных структур (наноструктур) - систем с характерными размерами 1-100 нм. Среди них особое место занимают биологические макромолекулы, в частности белки. Белки представляют собой сложные естественные полимерные образования, которые являются компонентом живой клетки и выполняют различные функции. Так, белки отвечают за транспортировку и хранение веществ в клетке, служат катализаторами химических реакций, выполняют регуляторные, рецепторные и защитные функции, служат строительным материалом клеток и др. В качестве мономеров в белках используются остатки аминокислот. Все животные и растительные белки состоят из двадцати аминокислот. Степень полимеризации может изменяться от десятков (пептиды) до нескольких тысяч, а оценки количества различных белков, существующих в природе, составляют миллиарды. Белки воспроизводятся согласно генетическому коду, хранящемуся в клетках и, таким образом, являются неотъемлемой составляющей жизнедеятельности клетки. Массовое исследование структур белков во второй половине XX столетия определило собой революционный прорыв в понимании функционирования живых организмов на микроуровне и дало человечеству множество медицинских и биохимических приложений.

В начале 80-х годов прошлого столетия после того, как с помощью рентгеноструктурного анализа были определены пространственные структуры некоторых белков, обнаружилось, что белки, будучи полимерами, проявляют в своей организации так называемые фрактальные свойства. В это время в физике полимеров уже широкое развитие получили идеи самоподобия или масштабной инвариантности [1]. Развитие теории критических явлений [2] в приложении к физике полимеров позволило описать многочисленные степенные зависимости в термодинамике полимерных цепей и привело к определению семейства экспонент, характеризующих полимерные системы. Появившееся понятие фрактальной (дробной) размерности [3] стало активно использоваться как одна из фундаментальных структурных характеристик, с помощью которой определялась взаимосвязь между вышеупомянутыми экспонентами. Структуры, обладающие фрактальной размерностью (фракталы), являются по своей сути разупорядоченными системами, которые, тем не менее, обладают масштабной инвариантностью. Такого рода структуры активно исследовались и продолжают исследоваться во всех областях физики [4-7], включая гидродинамику, статистическую физику, астрофизику и др..

В отличие от обычных полимеров, структура и поведение белков в растворе носит более сложный характер, так как для реализации своих функций белки должны обладать специфической структурой. Например, структура белков-катализаторов химических реакций, ферментов, обеспечивает необходимое перемещение связываемых химических комплексов и их взаимодействие с активными центрами в ферментах; структура связывающих белков обеспечивает требуемый контакт с другими биополимерами и т.д. Тем не менее, являясь полимерами в растворе, белки в той или иной мере проявляют фрактальные свойства. При этом возникает вопрос, насколько эти свойства специфичны для данного белка или семейства белков, или, другими словами, существует ли связь между фрактальными характеристиками структуры белков и их функциональными свойствами, такими как распознавание и избирательность при

Научные руководители

доктор физико-математических наук,
профессор В.Л. Аксенов

доктор физико-математических наук,
профессор И.Н. Сердюк

Официальные оппоненты

доктор физико-математических наук,
профессор В.Б. Приезжев

кандидат химических наук
В.В. Волков

Ведущая организация

Институт теоретической и экспериментальной
биофизики РАН, г. Пущино

Защита состоится "8" 10 2002 года в 14.30 часов на заседании диссертационного совета Д 720.001.06 при Лаборатории нейтронной физики и Лаборатории ядерных реакций Объединенного института ядерных исследований (141980, г. Дубна Московской области).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ОИЯИ.

Автореферат разослан "6" 09 2002 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



А.Г. Попоко

Объединенный институт
ядерных исследований

взаимодействии с другими объектами, а также насколько эти характеристики существенны при описании физических и химических свойств белков?

Настоящая работа посвящена исследованию фрактальных свойств поверхности белков. Проявление фрактальных свойств в структуре белковой поверхности активно изучается в последние 15 лет [8, 9]. Интерес к этому вопросу обусловлен прежде всего тем, что все взаимодействия белков друг с другом и с другими объектами происходят посредством контакта, т.е. через поверхность. Поэтому естественно предположение о том, что характеристики поверхности могут значительно влиять на такого рода взаимодействия. Единого мнения по данному вопросу нет. Полученные до сих пор результаты [10-12] указывают на то, что существует корреляция между областями взаимодействия на поверхности белков и фрактальной размерностью этих областей: локальная фрактальная размерность последних больше, чем средняя фрактальная размерность всей поверхности. Это дает повод думать о возможном соответствии между структурой поверхностных неоднородностей и взаимодействиями белков. Однако ряд авторов подвергает сомнению данную гипотезу, считая, что только средняя фрактальная размерность поверхности отражает специфические свойства белков в растворе, такие как диффузия химических комплексов на поверхности ферментов [13] или взаимодействие белка с растворителем [14]. Появление большого количества белковых структур, определенных с помощью кристаллографического анализа, делает возможным более детальное и тщательное исследование вопроса фрактальности белковой поверхности. В частности, количества кристаллографических данных (более 15000 структур), собранных в настоящее время в банке белковых структур PDB [15], достаточно, чтобы проводить изучение поверхностей для белковых семейств, связанных какими-либо общими функциональными или структурными свойствами. Для выяснения вопроса соответствия фрактальной организации поверхности белков и их взаимодействия в настоящей работе рассмотрен ряд белковых семейств, отличающихся друг от друга по характеру взаимодействия с другими биополимерами. Использование данных кристаллографии в исследовании белков всегда поднимает вопрос о том, насколько структуры белков в кристалле и растворе идентичны. В настоящей работе проводится сравнение кристаллического и нативного состояния белка с точки зрения фрактальной организации его поверхности.

Цель работы состоит:

1. В изучении и сравнении фрактальных свойств поверхности белков при различном пространственном разрешении для различных семейств белков;
2. В развитии методики нейтронного малоуглового рассеяния для изучения фрактальных свойств поверхности белков в растворе.

В соответствии с целью работы поставлены следующие основные задачи:

1. По данным кристаллографии высокого разрешения из банка белковых структур PDB исследовать, как изменяется зависимость площади поверхности белков от объема при различном пространственном разрешении для различных семейств белков.
2. Оценить фрактальную размерность белков, используя вышеупомянутую зависимость. Сравнить результаты с оценками фрактальной размерности, полученными другими методами.

3. Исследовать возможность использования малоуглового рассеяния нейтронов, в частности, метода тройного изотопического замещения, для определения фрактальной размерности поверхности белков в растворе.
4. Провести эксперимент по малоугловому рассеянию нейтронов с использованием тройного изотопического замещения на белке фактор элонгации EF-Tu (*E. coli*). Оценить фрактальную размерность поверхности белка из экспериментальной кривой. Сравнить полученный результат с модельными расчетами на основе данных из банка белковых структур.

Результаты, выносимые на защиту

1. Предложена методика исследования поверхности белков, построенной по кристаллографическим данным высокого разрешения. Настоящая методика позволяет проводить изучение поверхности белковых семейств при различном разрешении, выявляя влияния формы, асимметрии, крупных и мелких неоднородностей на структуру поверхности.
2. На основе анализа фрактальных свойств поверхности различного разрешения для ряда белковых семейств показано, что белковая поверхность проявляет двухуровневую организацию: первый (неоднородности меньше 10 Å) и второй (неоднородности больше 10 Å) уровни поверхности обладают разными фрактальными размерностями.
3. Установлено, что фрактальная организация мелких неоднородностей поверхности белков (первый уровень) одинакова для всех белков, независимо от их принадлежности тому или другому семейству. Оценки фрактальной размерности первого уровня колеблются около 2.1.
4. Показано, что фрактальная организация крупных неоднородностей поверхности белков (второй уровень) проявляет заметные различия для разных белковых семейств. Фрактальная размерность второго уровня значительно больше размерности первого. Наблюдается корреляция между фрактальной размерностью данного уровня и относительной площадью взаимодействия белков.
5. С помощью метода малоуглового рассеяния нейтронов с использованием тройного изотопического замещения определена фрактальная размерность поверхности белка фактор элонгации Tu (EF-Tu), которая равна 2.66(5) и соответствует второму уровню неоднородностей поверхности белка. На основе сравнения экспериментальной кривой рассеяния EF-Tu с кривыми, рассчитанными по кристаллографическим данным, установлено, что фрактальные структуры крупных неоднородностей поверхности белка (второй уровень) в растворе и кристалле совпадают.
6. На основе моделирования кривых рассеяния по кристаллографическим данным высокого разрешения установлены границы применимости метода тройного изотопического замещения при определении фрактальной размерности поверхности белков.
7. Предложено объяснение двухуровневой организации белковой поверхности на основе связи структуры поверхности с фрактальной структурой полипептидной цепи белка.

Научная повизна

Впервые проведен анализ геометрических свойств поверхности белков при различном пространственном разрешении. Это позволило выявить качественные механизмы роста поверхности белков с ростом объема и масштабы, где проявляются эти механизмы.

Впервые анализ геометрических свойств поверхности белков при различном пространственном разрешении применен для нескольких семейств белков. Показано, что рост поверхности белков с ростом объема различается для разных семейств белков и может быть обусловлен как ростом поверхностных неоднородностей, так и ростом асимметрии формы.

Впервые установлено, что фрактальные свойства поверхности белков проявляются по разному на разных масштабах. Фрактальные размерности мелких (размер меньше 1 нм) и крупных (размер больше 1 нм) неоднородностей поверхности белков различны. Фрактальная размерность мелких неоднородностей одинакова для всех белков, независимо от их принадлежности тому или другому семейству, и ее оценки колеблются около 2.1. В то же время структура крупных неоднородностей поверхности белков проявляет заметные различия для разных белковых семейств, и ее фрактальная размерность значительно больше размерности мелких неоднородностей.

Впервые рассмотрена возможность использования метода тройного изотопического замещения в малоугловом рассеянии нейтронов для определения фрактальной размерности поверхности белков в растворе. Экспериментально определена фрактальная размерность поверхности белка фактор элонгации Tu, которая равна 2.66(5).

Впервые обозначена возможная связь между фрактальными структурами поверхности белков и их полипептидных цепей.

Практическая ценность работы

Развитая в работе методика исследования геометрических неоднородностей поверхности белков может быть использована для произвольного семейства белков. По- существу, данная методика может быть применена для произвольного набора белков, что дает возможность классифицировать белки по фрактальным свойствам их поверхности.

Примененный и исследованный в настоящей работе метод тройного изотопического замещения в малоугловом рассеянии нейтронов дает возможность оценки фрактальной размерности поверхности белков в их нативном состоянии – в растворе. Использование этого метода позволяет сравнивать фрактальные структуры белков в кристалле и растворе. В случае же, когда кристаллизация белка невозможна, малоугловое рассеяние нейтронов с использованием тройного изотопического замещения остается фактически единственным методом для изучения фрактальных свойств поверхности данного белка.

Апробация работы

Основные результаты работы опубликованы в 9-ти статьях.

Результаты, представленные в работе, докладывались на российских и международных конференциях, конференциях молодых учёных в ОИЯИ, на семинарах

в отделе Нейтронных исследований конденсированных сред Лаборатории нейтронной физики им. И.М. Франка:

1. The 9th International Conference on Computational Modelling and Computing in Physics, September 16-21, 1996, Dubna, Russia.
2. Конкурс молодых ученых ЛНФ, Дубна, ОИЯИ, 1997.
3. The 5th Summer School on Neutron Scattering "Cold Neutrons: Large Scales-High Resolution", August 9-15, Zuoz, Switzerland, 1997.
4. II научная конференция молодых ученых и специалистов, февраль 1998, Дубна ОИЯИ, Россия.
5. The International Workshop on Deuteration of Biological Molecules for Structural and Dynamics Studies, May 19-25, 1998, Dubna, Russia.
6. The International School and Symposium on Small-Angle Scattering, October 8-11, 1998, Matrahaza, Hungary.
7. The 5th International Multidisciplinary Conference "Fractal 1998: Complexity and Fractals in Science", October 25-28, 1998, Valetta, Malta.
8. International workshop "New Models and Nuclear Methods in Biophysics and Biochemistry", January 24-26, 2002, BLTP, Dubna, Russia.

Личный вклад автора

Основные результаты, изложенные в диссертации, получены при непосредственном участии автора. При исследовании фрактальной структуры поверхности белков им освоено и применено два дополняющих друг друга метода: анализ данных из Банка белковых структур (PDB) и малоугловое рассеяние нейтронов. Автором предложено и проведено исследование поверхности белков, построенной с различным пространственным разрешением для нескольких семейств белков.

За исключением биохимической работы, связанной с приготовлением образцов, автор принимал активное участие во всех этапах экспериментов по малоугловому рассеянию нейтронов, полученных на различных установках, начиная с проведения измерений и первичной обработки данных и заканчивая их интерпретацией.

Структура и объём работы

Диссертация состоит из введения, четырех глав и заключения. Работа изложена на 101 странице, включая 39 рисунков, 10 таблиц и 138 наименований литературы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении описывается предмет исследований, обосновывается актуальность темы диссертационной работы, формулируются цели и задачи исследования. Кратко излагаются структура и содержание диссертации.

В первой главе собраны сведения, относящиеся к общим вопросам определения, построения и анализа молекулярной поверхности белков. В ней описываются методы построения и аппроксимации молекулярной поверхности, а также методы оценки ее параметров. В частности, обсуждается возможность использования четырехточечных

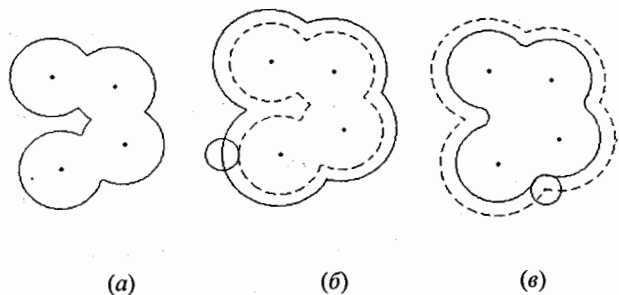


Рис. 1. Примеры схематического построения поверхности Ван-дер-Ваальса (а), доступной поверхности (б) и молекулярной поверхности (в).

проективных фильтров [16], изучавшихся автором [A1]^{*} в одномерном случае, при аппроксимации молекулярной поверхности сплайнами. На основе качественного сравнения обуславливается выбор методов построения и аппроксимации молекулярной поверхности, используемых в настоящей работе.

Понятие *молекулярной поверхности* белков формировалось в течение 70-х годов прошлого столетия [17-20]. Молекулярная поверхность состоит из контактной поверхности и объединения поверхностей шара, моделирующего растворитель, когда он находится в соприкосновении более, чем с одним атомом молекулы. На Рис. 1. схематично изображено построение молекулярной поверхности в сравнении с другими способами задания поверхности белка. Пример молекулярной поверхности, построенной по набору координат атомов и их радиусов, представлен на Рис. 2.

Существует большое количество методов построения молекулярной поверхности и ее приближений, а также методов оценки ее параметров. Эти методы можно разделить на две группы в зависимости от того, *численное* или *аналитическое* представление поверхности реализуется в том или ином методе. В первом случае поверхность представляется как набор точек в трехмерном пространстве, во втором – как набор параметров, по которым можно восстановить поверхность. В данной главе кратко

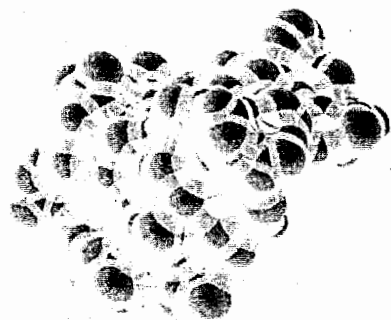


Рис. 2. Пример молекулярной поверхности по Конноли [21] для крамбина (PDB индекс 1cgn). Различными цветами обозначены участки:

- - шар-растворитель касается одного атома (сферическая поверхность);
- - шар-растворитель касается двух атомов (тороидальная поверхность);
- - шар-растворитель касается трех атомов (сферическая поверхность).

описаны основные алгоритмы построения молекулярной поверхности и ее приближений различного разрешения, а также выделены те методы, которые используются в диссертационной работе. Детального сравнения работы этих методов и созданных на их основе программ, насколько известно автору (2001г.), не проводилось, что, несомненно, является довольно актуальной проблемой. В настоящей работе основным критерием выбора методов построения молекулярной поверхности и ее приближений являлась простота реализации того или иного метода, что позволяет проводить его быстрое и достоверное тестирование. В случае молекулярной поверхности высокого разрешения предпочтение было отдано программе Павлова SHMQQQ [22], обладающей прозрачным кодом и допускающей модификации без значительных временных затрат. Кроме того, реализованный в данной программе способ представления поверхности белков (метод кубиков) может быть естественным образом использоваться для определения фрактальной размерности методом пиксельного объединения.

Во второй главе представлены некоторые аспекты теории фракталов. Основной целью в главе поставлено выделение и классификация основных понятий, определений и методов, используемых в настоящей работе. Вместе с главными определениями даны общие способы оценки фрактальной размерности, которые дополнительно обсуждаются в применении к фрактальным поверхностям. Подробно освещен вопрос применения малоуглового рассеяния для определения размерности фрактальных структур. При изучении данного вопроса автор принимал участие в исследованиях различных фрактальных систем, в частности алюмосиликатных аэро- и ксерогелей [A9] и гуминовых кислот [A2, A7, A8]. Основные результаты этих исследований, касающиеся фрактальной структуры данных систем, приведены в настоящей главе. Также представлен литературный обзор исследований фрактальных свойств молекулярной поверхности белков.

Под фракталами понимают объекты, представляющие собой системы, разупорядоченные одинаковым образом при любом масштабе, или, другими словами, обладающими масштабной инвариантностью. Отсюда следует, что фрактальная система в некоторой степени является *самоподобной*, т.е. любая ее часть ведет себя как целое или повторяет структуру целого. Последнее следует понимать в статистическом смысле, т. е. подобны не структуры как таковые, а распределения массы внутри системы, хотя и существуют примеры модельных объектов, которые действительно самоподобны с точностью до координат точек, составляющих их. Математическим параметром, с помощью которого оказалось возможным описывать полностью разупорядоченные системы, является понятие фрактальной (дробной) размерности. Существует несколько различных типов размерности, характеризующие различные свойства фрактальной системы. Реальные системы имеют конечные размеры и состоят из частиц (атомы, молекулы, коллоидные частицы), также обладающих конечным размером. Поэтому фрактальные свойства в реальных системах могут проявляться лишь в некотором ограниченном диапазоне масштабов. Существует различные методы оценки размерности, обладающие различной точностью при различных масштабах. Один из самых используемых методов оценки фрактальной размерности является метод клеточной размерности. В этом методе d-мерная система покрывается сеткой из кубиков с длиной ребра ϵ , после чего строится зависимость $N(\epsilon)$ числа кубиков, содержащих точки системы, от длины ребра. Для фрактальной системы

$$N(\epsilon) \propto \epsilon^{-D}, \quad (1)$$

* Буквой А обозначены работы по теме диссертации

где D - фрактальная размерность. Данный способ универсален: им можно определять фрактальную размерность как объемных, так и поверхностных фракталов. Часто его используют как определение фрактальной размерности (клеточная размерность). Другой способ, который используется в настоящей работе, основан на построении зависимости площади поверхности A от ограниченного его объема V для семейства подобных тел [23], обладающих фрактальной поверхностью,

$$A \sim V^p, \quad (2)$$

где $p=D/3$. Фрактальную размерность системы можно также определять из кривой малоуглового рассеяния нейтронов или рентгеновских лучей. Характер спада интенсивности рассеяния на фрактальной системе от модуля вектора рассеяния q , зависящего от угла рассеяния θ и длины падающего излучения λ как:

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta/2) \approx \frac{2\pi\theta}{\lambda}, \quad (3)$$

различается для объемного (массового) [24]:

$$I(q) \propto q^{-D}, \quad 1 \leq D < 3, \quad (4)$$

и поверхностного [24-26] фрактала:

$$I(q) \propto q^{-(6-D_s)}, \quad 3 < 6 - D_s \leq 4, \quad (5)$$

где D и D_s - соответствующие этим случаям фрактальные размерности. Как легко видеть, эти случаи разделяются по кривой рассеяния, что довольно широко используется в применениях малоуглового рассеяния [27]. В данной главе подробно рассмотрен вопрос использования малоуглового рассеяния при исследовании фрактальных структур. Обозначены проблемы и ограничения данного метода. В рамках этого вопроса представлены результаты исследований алюмосиликатных аэро- и ксерогелей [A9] и полимерных комплексов гуминовых кислот [A2, A7, A8].

В отношении к обзору исследований фрактальных свойств поверхности белков по литературным данным следует отметить, что все методы исследований, примененные до сих пор, можно условно разделить на четыре группы:

- 1) анализ фрактальной структуры контуров сечений белковой поверхности;
- 2) анализ зависимости площади поверхности от размера пробного тела;
- 3) анализ зависимости площади поверхности от объема;
- 4) анализ интенсивности малоуглового рассеяния.

В настоящей главе проводится сравнение результатов, соответствующих этим группам. Также представлены концепции фрактальной природы поверхности белков, предложенные разными авторами, и области применения фрактального подхода в физике и химии белков.

Третья глава посвящена результатам исследования фрактальных свойств поверхности пяти белковых семейств на основе работ [A3, A4, A6]. В частности, приведены данные анализа поверхности белков этих семейств при различном пространственном разрешении, на основе которых развивается и обсуждается концепция двухуровневой организации белковой поверхности и ее связь с фрактальной структурой полипептидной цепи белков.

При исследовании использовались кристаллографические данные, высокого пространственного разрешения, полученные с помощью дифракции рентгеновских лучей и собранные в банке белковых структур (Protein Data Bank, PDB) [15]. Основная идея исследований касалась вопроса о том, как изменяется зависимость площади поверхности белка от его объема (2) внутри некоторого семейства при различном

разрешении. Фрактальные характеристики поверхности сильно влияют на такую зависимость, и при некоторых ограничениях по ней можно оценить фрактальную размерность поверхности, используя (2), что и осуществляется в настоящей главе. Фрактальная размерность молекулярной поверхности определялась также и с помощью зависимости (1).

Исследовалось три вида белков: глобулярные белки, ДНК-связывающие белки и тРНК-связывающие белки (аминоацил-тРНК-синтетазы). Термин "глобулярные белки" в настоящей работе является условным. Под глобулярными белками понимаются белки с компактной структурой и формой, близкой к сферической. Среди рассматриваемых глобулярных белков белки с различными функциональными свойствами (ферменты, двигательные белки, токсины и др.). ДНК-связывающие белки выполняют регуляторные функции при синтезе РНК на ДНК [28]. тРНК-связывающие белки (аминоацил-тРНК-синтетазы) участвуют в присоединении аминокислот к соответствующим тРНК в процессе синтеза белков [29]. Для каждой аминокислоты существует соответствующая только ей аминоацил-тРНК-синтаза. Выбор изучаемых в работе видов белков был обусловлен двумя причинами. Во-первых, наличием в банке кристаллографических данных количества белковых структур, достаточного для построения степенной зависимости (2). Во-вторых, выбранные виды взаимодействуют с разными объектами и значительно различаются по относительной площади взаимодействия, что могло бы обуславливать различие в организации структуры их поверхности. Качественно для глобулярных белков - эта малая площадь взаимодействия, для ДНК-связывающих белков - большая площадь взаимодействия, и аминоацил-тРНК-синтетазы по данному параметру занимают промежуточное положение. На основе выбранных видов белков было изучено пять семейств: глобулярные белки, ДНК-связывающие белки, однодоменные тРНК-связывающие белки, двудоменные тРНК-связывающие белки и домены двудоменных тРНК-связывающих белков. Количество мономерных единиц, интервал изучаемых молекулярных масс и отношение максимального к минимальному исключенному объему внутри этих семейств указаны в Табл 1. Для построения поверхности белков использовались координаты атомов из PDB (разрешение $\approx 2 \text{ \AA}$). Построение

Таблица 1.

Число объектов в изучаемых семействах, интервал исследуемых молекулярных масс и отношение максимального к минимальному исключенному объему V_{\max} / V_{\min} для этих объектов

№	Семейство	Число объектов	Интервал молекулярных масс, кDa	V_{\max} / V_{\min}
1.	Глобулярные белки	25	5÷35	7
2.	ДНК-связывающие белки	8	8÷24	3
3.	Однодоменные тРНК-связывающие белки	16	42÷67	1.5
4.	Двудоменные тРНК-связывающие белки	13	47÷56	1.5
5.	Домены двудоменных тРНК-связывающие белки	26	10÷41	4

поверхностей белков в изучаемых семействах осуществлялся методами, обладающими различным пространственным разрешением. Примеры изображения белков, а также восстановленных разными методами их поверхностей показаны на Рис. 3, 4. Каждое приближение поверхности дает свою информацию о структуре поверхности внутри семейства. Так, приближение эллипсоидами инерции (Рис. 4, а) позволяет судить об изменении формы с ростом объема в целом и позволяет определить, является ли рассматриваемое семейство изометричным, т.е. растет ли линейный размер молекул с ростом объема равномерно во всех направлениях. Для изометричных семейств показатель p в зависимости (2) равен $2/3$. Таким образом, если в случае приближения эллипсоидами инерции имеется отличие p от $2/3$, рассматриваемое семейство является неизометричным. Использование метода сферических гармоник (Рис. 4, б) позволяет выявить влияние доменной структуры белков на зависимость (2). Построение поверхности по C_α -атомам (Рис. 4, в) исключает вклад в зависимость (2) от мелких неоднородностей на поверхности белков. Наконец, зависимость (2) для молекулярной поверхности высокого разрешения (Рис. 4, г) отражает все возможные механизмы роста поверхности с ростом объема.

Примеры зависимости (2) в двойном логарифмическом масштабе и соответствующих линейных приближений для различных семейств и пространственных разрешений показаны на Рис. 5, 6. Коэффициенты линейной корреляции подгонок в общем случае не отличались от единицы более чем на 2%. Это свидетельствует о надежном приближении зависимости $A(V)$ степенной функцией в исследуемых диапазонах V для всех исследованных семейств. Полученные показатели p для всех семейств собраны в Табл. 2. Как видно по приближению эллипсоидами инерции, из всех семейств только однодоменные тРНК-связывающие белки не могут рассматриваться как изометричные ($p > 2/3$). Необычное для этого же семейства значение показателя $p = 0.5$ в случае сферических гармоник связано с особенностями оценки площади поверхности с помощью программы Cysol [30], которые подробно обсуждаются в данной главе. Разница показателей p в случае приближения по C_α -атомам и в случае молекулярной поверхности высокого разрешения интерпретируется в работе как разница во фрактальной структуре поверхности на двух масштабах: мелкие неоднородности (размер меньше 10 \AA) и крупные неоднородности (размер больше 10 \AA). Наличие двухуровневой организации поверхности белков подтверждает и тот факт, что показатель p в случае молекулярной поверхности высокого разрешения не может быть получен согласно выражению (2) из фрактальной размерности D , определенной по зависимости (1) с помощью покрытия поверхности пробными кубами. Примеры зависимостей вида (1) для некоторых белков даны на Рис. 7. Степенная зависимость наблюдается в интервале $2-10 \text{ \AA}$. Невозможность использования этой зависимости для оценки фрактальной размерности больших неоднородностей связано, по-видимому, с влиянием кривизны поверхности белков. Средние значения найденной таким образом размерности внутри семейств приведены в Табл. 3, откуда видно, что эта размерность слабо различается для всех рассмотренных в работе белков. В рамках интерпретации, развитой в диссертационной работе, эта размерность соответствует уровню мелких неоднородностей поверхности белков. Данный уровень обладает приблизительно одинаковой фрактальной размерностью для всех белков. Это подтверждается и в других работах [13, 31, 14, 32], где исследуется тот же интервал размеров. Фрактальная размерность уровня крупных неоднородностей оценена для изометричных семейств по показателю p в случае аппроксимации по C_α -атомам и представлена в Табл. 3. Как видно из этой таблицы, размерность этого уровня значительно различается для

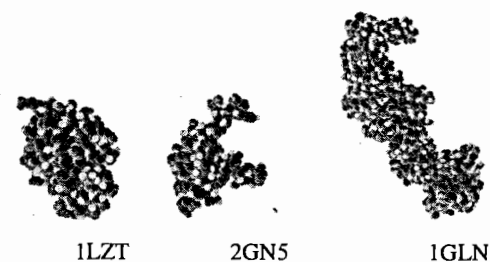


Рис.3. Типичное изображение глобулярных (1LZT), ДНК-связывающих (2GN5) и тРНК-связывающих (1GLN) белков. Для построения изображений использовалась программа Rasmol2.8 [33].

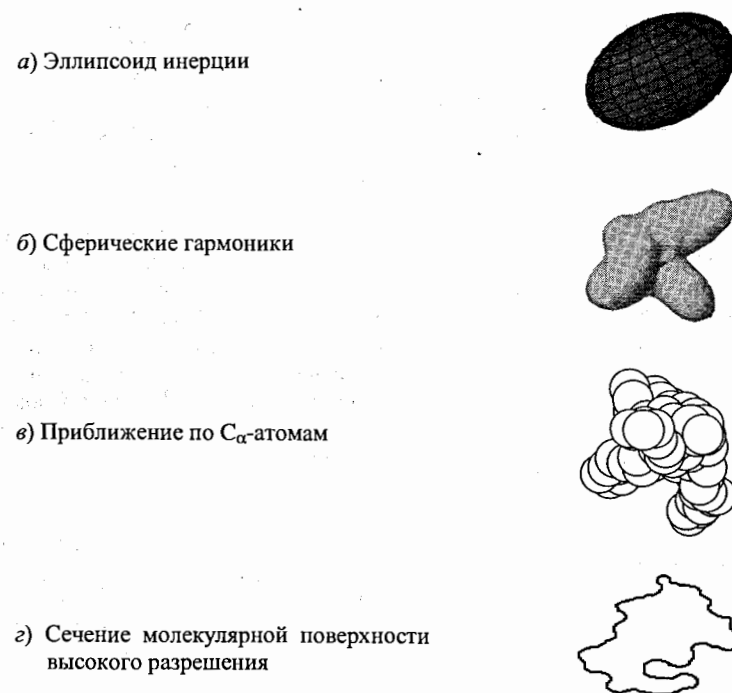


Рис.4. Пример построения поверхности с различным пространственным разрешением для одного (2GN5) из ДНК-связывающих белков. При построении изображения б использовалась программа Cysol [30]. Молекулярная поверхность высокого разрешения строилась модифицированной программой SHMQQQ [34].

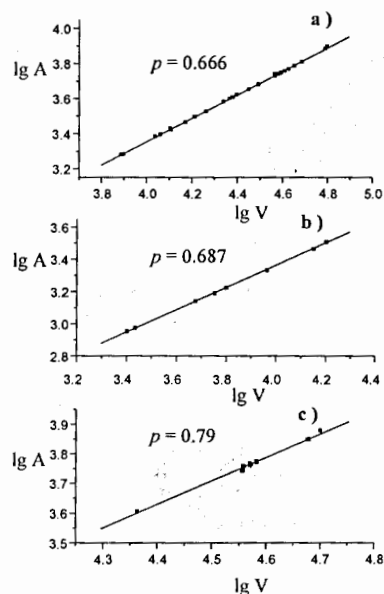


Рис. 5. Зависимость площади поверхности аппроксимирующего эллипсоида от объема для глобулярных (а), ДНК-связывающих (б) и однодоменных тРНК-связывающих (с) белков. Наклон p соответствует показателю степени в выражении (2).

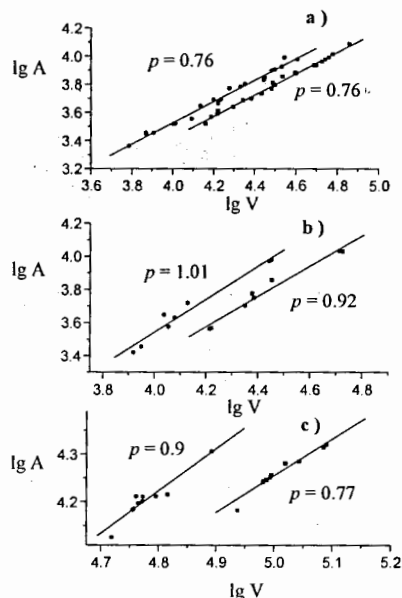


Рис. 6. Зависимость площади поверхности по C_{α} -атомам (■, графики справа) и молекулярной поверхности высокого разрешения (●, графики слева) от объема для глобулярных (а), ДНК-связывающих (б) и однодоменных тРНК-связывающих (с) белков. Наклон p соответствует показателю степени в выражении (2).

Таблица 2. Показатель p зависимости (2) для всех изучаемых семейств, полученный при разных способах построения поверхности.

Семейство	Эллипсоиды инерции	Сфер. гармоника	C_{α} -атомы	Мол. поверхность высокого разрешения
Глобулярные белки	0.666(3)	0.669(7)	0.76(1)	0.76(2)
ДНК-связывающие белки	0.687(4)	0.686(2)	0.92(5)	1.01(7)
Однодоменные тРНК-связывающие белки	0.79(2)	0.50(4)	0.77(4)	0.9(1)
Двудоменные тРНК-связывающие белки	0.69(2)	0.72(2)	0.82(1)	0.97(3)
Домены двудоменных тРНК-связывающих белков	0.668(3)	0.67(1)	0.82(1)	0.87(2)

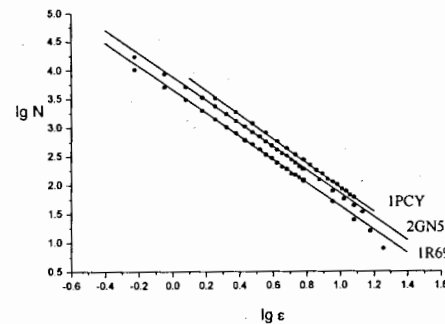


Рис. 7. Зависимость числа пробных кубов N , покрывающих молекулярную поверхность высокого разрешения, от линейного размера куба ϵ (Å) для глобулярных белков (1PCY), ДНК-связывающих белков (2GN5, 1R69).

Таблица 3. Значения средней фрактальной размерности $\langle D \rangle$, полученной из зависимости (1), для рассмотренных белковых семейств (уровень мелких неоднородностей) и фрактальной размерности D из зависимости (2) в случае приближения по C_{α} -атомам (уровень крупных неоднородностей).

Семейство	$\langle D \rangle$	D
Глобулярные белки	2.10(2)	2.28(3)
ДНК-связывающие белки	2.06(2)	2.8(2)
Однодоменные тРНК-связывающие белки	2.13(3)	-
Двудоменные тРНК-связывающие белки	2.14 (2)	2.46(3)
Домены двудоменных тРНК-связывающих белков	2.13 (3)	2.46(3)

исследуемых семейств. В работе обсуждается качественное соответствие между этой размерностью и относительной площадью взаимодействия белков внутри семейства. Также качественно рассматривается влияние кривизны поверхности белков на разницу в показателях p в случае аппроксимации поверхности по C_{α} -атомам и молекулярной поверхности высокого разрешения.

В заключении обсуждается связь между фрактальной размерностью макроуровня и размерностью полипептидной цепи белков, исследованной в [35, 36]. В рамках объяснения двухуровневой организации поверхности белков фрактальная структура поверхности белка есть результат конкуренции двух характеристик белка: компактности и площади взаимодействия. Белок является плотноупакованной системой, а необходимая площадь взаимодействия с другими объектами достигается посредством фрактальной структуры его полипептидной цепи, выходящей на поверхность.

В четвертой главе представлены результаты эксперимента по малоугловому рассеянию нейтронов с использованием тройного изотопического замещения (ТИЗ) на белке фактор элонгации Tu (EF-Tu). Описаны методы изоморфного замещения в малоугловом нейтронном рассеянии на основе замещения дейтерий/водород и обусловлен выбор метода тройного изотопического замещения. На основе экспериментальных данных сделана оценка фрактальной размерности поверхности белка. Проведено сравнение экспериментальных данных с результатами моделирования кривых рассеяния по кристаллографическим данным высокого разрешения. Исследованы ограничения применимости метода тройного изотопического замещения при определении фрактальной размерности поверхности белков. Результаты этой главы опубликованы в работе [A5].

Согласно (5) фрактальную размерность поверхности можно определить из кривой малоуглового рассеяния. Выражение (5) верно в случае однородного приближения, когда распределение рассеивающих центров внутри объекта заменяется постоянной рассеивающей плотностью. В реальности рассеяние от мелких неоднородностей рассеивающей плотности внутри белка интерферирует с так называемым рассеянием на форме белка, которое отвечает рассеянию на однородном теле, ограниченном молекулярной поверхностью белка, а следовательно, отвечающем рассеянию на поверхностных неоднородностях. Поэтому для использования (5) необходимо выделить из общего рассеяния белка в растворе рассеяние на его форме. Для этого может быть использован ряд методик, описанных в данной главе. Все они основаны на замещении водород/дейтерий. В частности, к таким методикам принадлежит примененный в настоящей работе метод тройного изотопического замещения.

Метод тройного изотопического замещения был предложен М.Ю.Павловым и И.Н.Сердюком в 1987 г. [37, 38]. В данном методе используются три типа частиц: недеитерированные, полностью дейтерированные и частично дейтерированные частицы. Принципиальная схема метода представлена на Рис. 8. При реализации этой схемы измеряются интенсивности от двух растворов $I_{1,2}(q)$ и $I_3(q)$, в которых плотности рассеяния частиц удовлетворяют условию

$$\rho_3(\mathbf{r}) = (1 - \delta) \rho_1(\mathbf{r}) + \delta \rho_2(\mathbf{r}). \quad (6)$$

Здесь $\rho_1(\mathbf{r})$, $\rho_2(\mathbf{r})$ и $\rho_3(\mathbf{r})$ - рассеивающие плотности частиц, одинаковых по структуре, но разных по изотопному составу, а δ - доля частиц с плотностью $\rho_2(\mathbf{r})$ в первом растворе. Тогда разность интенсивностей рассеяния первого и второго раствора (Рис. 8) пропорциональна интенсивности рассеяния данных частиц в вакууме,

$$I_{12}(q) - I_3(q) = n\delta(1-\delta)I_F(q), \quad (7)$$

с эффективной плотностью рассеяния

$$\rho_F(\mathbf{r}) = \rho_1(\mathbf{r}) - \rho_2(\mathbf{r}). \quad (8)$$

Метод тройного изотопического замещения обладает рядом специфических особенностей [37, 38], которые отличают его, в частности, от рассмотренного также в данной главе метода триангуляции [39, 40], и обусловили его применение в настоящей работе:

- 1) Вклад межчастичной интерференции, включая рассеяние на агрегации самих частиц, в результирующую кривую отсутствует;
- 2) Результирующая кривая не чувствительна к эффекту, вызванному дейтерообменом между частицей и растворителем;
- 3) Вклад любых других частицы, присутствующих в обоих растворах с одинаковыми концентрациями, в разностную кривую отсутствует;

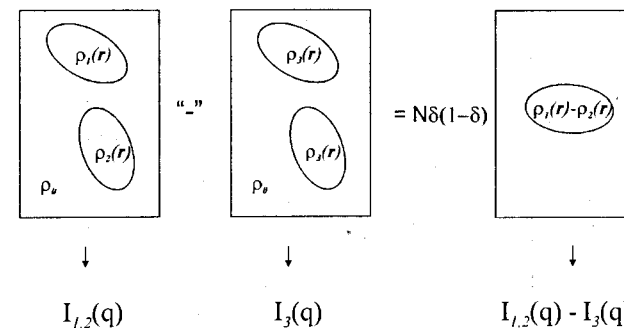


Рис. 8. Схема проведения эксперимента по тройному изотопическому замещению.

- 4) Любая компонента постоянной плотности, присутствующая во всех трех типах частиц, не будет влиять на результирующую кривую при любом соотношении тяжелой и легкой воды в растворителе.

Ранее эти четыре утверждения были подтверждены экспериментально на белке - фактор элонгации Tu в различных условиях и комплексах [34, 38]. Проверка проводилась в области Гинье [41], т. е. параметры $I(0)$, R_g разностной кривой сравнивались с расчетными или определенными другими методиками.

В настоящей работе ТИЗ использовался для получения кривых рассеяния от формы того же белка в широком диапазоне значений модуля вектора рассеяния q . Белок фактор элонгации Tu (EF-Tu), молекулярная масса 44 кДа, участвует в процессе формирования белковых цепей в рибосоме [29]. Его назначение заключается в связывании различных комплексов аминокил-тРНК с рибосомой в определенном месте на поверхности последней. В процессе элонгации EF-Tu взаимодействует с несколькими объектами, включая АДФ (аденозиндифосфат), АТФ (аденозинтрифосфат), аминокил-тРНК, фактор элонгации Ts и рибосому.

Методически эксперимент по тройному изотопическому замещению начинают с приготовления раствора, содержащего частично дейтерированные частицы. Это требует большой биохимической работы с использованием разных D_2O/H_2O сред выращивания белков. После получения белка с промежуточной степенью дейтерирования определяется его точная степень дейтерирования. Это делается с помощью метода вариации контраста: ищутся точки компенсации γ_H , γ_D , γ_{HD} , соответствующие плотностям протонированного белка, дейтерированного белка и белка с промежуточной степенью дейтерирования. Из (6) следует эквивалентное выражение для точек компенсации однокомпонентной частицы:

$$(1 - \delta) \gamma_H + \delta \gamma_{HD} = \gamma_D, \quad (9)$$

откуда и находится значение δ . Далее, по известному значению δ готовится первый раствор - смесь протонированных и дейтерированных частиц с долей δ дейтерированных частиц. Чтобы минимизировать влияние точности определения δ на разностную кривую, необходимо использовать растворитель с плотностью рассеяния, при которой интенсивности рассеяния полностью протонированной и полностью дейтерированной частицами совпадают [38, 34].

Три типа частиц EF-Tu в составе комплекса EF-Tu-АДФ (*Escherichia coli*): дейтерированные (далее обозначаемый как D-Tu), протонированные (H-Tu) и частично

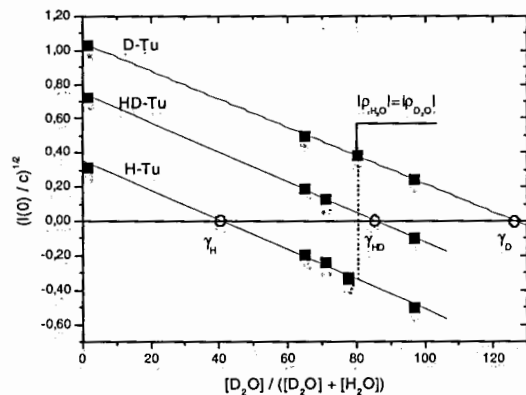


Рис. 9. Нахождение точек компенсации протонированного, дейтерированного и частично дейтерированного белка EF-Tu из *Escherichia coli*. Экспериментальные ошибки не превосходят размеры точек.

дейтерированные (HD-Tu), были приготовлены согласно методу, разработанному в [42]. Общая концентрация белков в растворах составляла приблизительно 4 мг/мл в измерениях точки компенсации белка с промежуточной степенью дейтерирования и выбора содержания D_2O в буфере в схеме ТИЗ и 23 мг/мл в основных измерениях по схеме ТИЗ. Данные по рассеянию нейтронов были получены на малоугловом дифрактометре ЮМО [43, 44] импульсного реактора ИБР-2 в Лаборатории нейтронной Физики им. И.М.Франка, Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия, и малоугловом дифрактометре D11 [45] стационарного реактора в Институте Лауэ-Ланжевена, Гренобль, Франция.

После нахождения в области Гинье значений интенсивности в нулевой угол $I(0)$ для комплексов с тремя разными степенями дейтерирования строились зависимости $(I(0)/c)^{1/2} \sim \eta$ (Рис. 9), где c – концентрация, а η – относительное содержание D_2O в буфере, и определялись точки компенсации γ_H , γ_D , γ_{HD} , которые составили:

$$\gamma_H = 0.41, \gamma_D = 1.25 \text{ и } \gamma_{HD} = 0.88$$

Значение $\gamma_D = 1.25$ – условное и означает, что точка компенсации лежит за пределами достижимого контраста с использованием смеси тяжелой и легкой воды. Значение δ в схеме ТИЗ определялось из выражения (9) и составило 0.56(2).

Кривые рассеяния для трех степеней дейтерирования показаны на Рис. 10. Как видно из этого рисунка, кривые сильно различаются, что отражает значительную разницу во вкладах в рассеяние от неоднородностей белка. Разностная кривая, полученная в итоге, показана на Рис. 11 в двойном логарифмическом масштабе. В интервале $0.1+0.22 \text{ \AA}^{-1}$ эта кривая обнаруживает степенную зависимость с показателем $-3.34(4)$, который согласно выражению (5) отвечает фрактальной поверхности с размерностью $D=2.66(4)$. С точки зрения развиваемой в третьей главе концепции двухуровневой организации белковой поверхности полученное значение фрактальной размерности отвечает уровню крупных (размер больше 10 \AA) неоднородностей поверхности белка. Расчетные

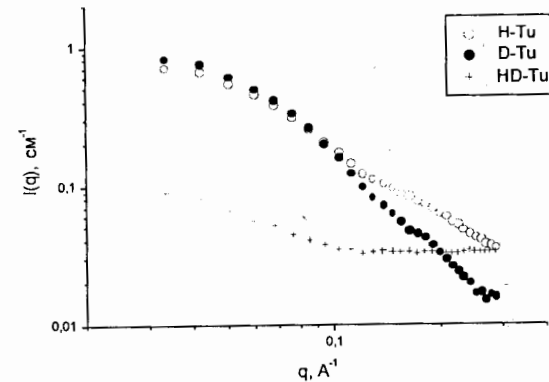


Рис. 10. Кривые рассеяния для трех степеней дейтерирования белка EF-Tu из *Escherichia coli*. Экспериментальные ошибки не превосходят размеры точек.

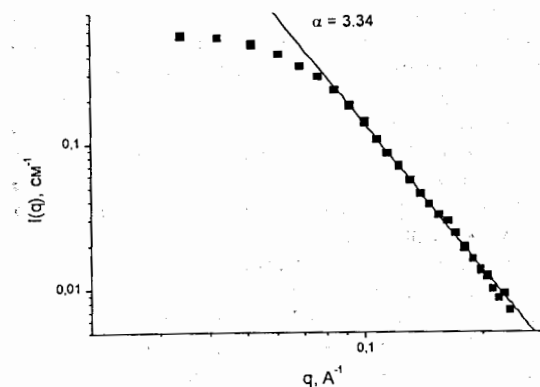


Рис. 11. Разностная кривая ТИЗ для белка EF-Tu из *Escherichia coli* и ее подгонка к степенному закону $I \sim q^{-\alpha}$. Относительные экспериментальные ошибки не превосходят 5%.

разностные кривые ТИЗ были получены на структуре EF-Tu из *Thermus Thermophilus* [46], PDB индекс 2tuc. Кристаллическая структура, содержащая немодифицированный EF-Tu из *Escherichia coli*, отсутствует (2000г.). Сравнение расчетов с экспериментальными данными было сделано в предположении о слабых различиях пространственных структур EF-Tu из *Thermus Thermophilus* и *Escherichia coli*, особенно для неоднородностей с размерами больше 10 \AA . Это предположение подтверждается как практически идентичными первичными структурами обоих белков, так и тем фактом, что рассчитанные для EF-Tu из *Thermus Thermophilus* кривые малоуглового

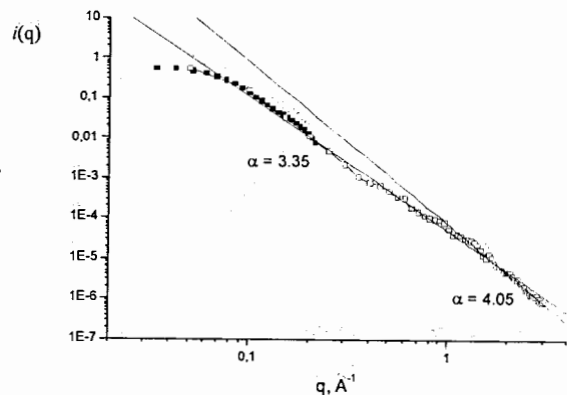


Рис. 12. Сравнение нормированных экспериментальной кривой рассеяния ТИЗ для белка EF-Tu из *E. coli* (■) с кривой рассеяния от формы для белка EF-Tu из *Thermus Thermophilus* (□).

рассеяния совпадали с экспериментальными кривыми для EF-Tu из *Escherichia coli* при малых значениях q , когда выполняется однородное приближение. Моделирование рассеяния формой белка проводилось с помощью метода М.Ю.Павлова и Б.А.Федорова [22]. Сравнение экспериментальной кривой рассеяния ТИЗ и расчетной кривой рассеяния формой белка представлено на Рис. 12. Видно, что в области эксперимента эти две кривые совпадают. Подгонка степенной зависимостью для кривой от формы дает для показателя степени в q -интервале $0.1 \div 1.1 \text{ \AA}^{-1}$ значение $-3.35(7)$, что соответствует поверхностной размерности $2.65(7)$ и фактически совпадает со значением, полученным экспериментальным путем в более узком q -интервале. Белок EF-Tu по своей сути является связывающим белком с большой относительной площадью взаимодействия, что может обуславливать довольно большую изрезанность его поверхности, как и в случае ДНК-связывающих белков. Таким образом, использование метода тройного изотопического замещения позволяет получить кривую рассеяния от формы частицы до $q \sim 0.25 \text{ \AA}^{-1}$ и достаточно точно оценить фрактальную размерность структуры крупных поверхностных неоднородностей. Для наглядности моделирование кривой рассеяния от формы было проведено до $q = 3 \text{ \AA}^{-1}$ (Рис. 12). В интервале $1.5 \div 3 \text{ \AA}^{-1}$ наблюдается степенная зависимость с показателем $-4.05(10)$, отвечающая уровню мелких неоднородностей (размеры $2 \div 4 \text{ \AA}$) и свидетельствующая о его слабой фрактальной структуре. Использование для EF-Tu зависимости (1) в диапазоне размеров пробных тел $2 \div 10 \text{ \AA}$, как и в случае других белков, исследуемых в главе 3, дает значение фрактальной размерности, близкое к 2.1 ($D = 2.08(5)$). Также на основе моделирования кривых рассеяния ТИЗ проведен анализ возможности использования метода тройного изотопического замещения для $q > 0.5 \text{ \AA}^{-1}$. Показано, что в данной области на кривую тройного изотопического замещения сильное влияние оказывают корреляции в расположении неполярных атомных групп на уровне вторичной структуры белка.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ РАБОТЫ

1. Предложена методика исследования поверхности белков, построенной по кристаллографическим данным высокого разрешения. Данная методика позволяет проводить изучение поверхности белковых семейств при различном разрешении, выявляя влияния формы, асимметрии, крупных и мелких неоднородностей на структуру поверхности.
2. На основе анализа фрактальных свойств поверхности различного разрешения для белковых семейств, включая глобулярные белки, ДНК-связывающие белки, однодоменные и двудоменные тРНК-связывающие белки, а также домены двудоменных тРНК-связывающих белков показано, что белковая поверхность проявляет двухуровневую организацию: поверхностные неоднородности с размерами больше и меньше 10 \AA обладают разными фрактальными размерностями.
3. Установлено, что фрактальная организация уровня, отвечающего мелким неоднородностям поверхности, одинакова для всех белков, независимо от их принадлежности тому или другому семейству. Оценки фрактальной размерности этого уровня колеблются около 2.1 .
4. Показано, что уровень поверхности белков, отвечающий крупным неоднородностям, проявляет заметные различия для разных белковых семейств. Его фрактальная размерность больше 2.2 и в случае ДНК-связывающих белков достигает $2.8(2)$. Возможным параметром соответствия с фрактальной размерностью этого уровня является относительная площадь взаимодействия белка с другими биополимерами, что подтверждает наличие соответствия между фрактальной организацией поверхности белка и характером его взаимодействия.
5. С помощью метода малоуглового рассеяния нейтронов с использованием тройного изотопического замещения определена фрактальная размерность поверхности белка фактор элонгации Tu (EF-Tu), которая равна $2.66(5)$ и соответствует уровню крупных неоднородностей поверхности белка. На основе сравнения экспериментальной кривой рассеяния EF-Tu с кривыми, рассчитанными по кристаллографическим данным, установлено, что фрактальные размерности данного уровня поверхности белка в растворе и кристалле совпадают. Таким образом, с точки зрения фрактальной структуры поверхность белка в его нативном состоянии (раствор) идентична поверхности белка в кристаллическом состоянии.
6. Показано, что метод тройного изотопического замещения дает достаточно точную оценку фрактальной размерности крупных неоднородностей поверхности для белков с молекулярной массой больше 10 кДа . Вместе с тем при больших значениях переданного импульса, $q > 0.5 \text{ \AA}^{-1}$, соответствующих размерам $< 15 \text{ \AA}$, на кривую тройного изотопического замещения сильное влияние оказывают корреляции в расположении неполярных атомных групп на уровне вторичной структуры белка.
7. Предложено объяснение двухуровневой организации белковой поверхности на основе связи структуры поверхности с фрактальной структурой полипептидной цепи белка. В рамках этого объяснения фрактальная структура поверхности белка есть результат конкуренции двух характеристик белка: компактности и площади взаимодействия. Белок является плотноупакованной системой, а необходимая площадь взаимодействия с другими объектами достигается посредством фрактальной структуры его полипептидной цепи, выходящей на поверхность.

Список публикаций по теме диссертации

- [A1] M.V.Avdeev, N.D.Dikoussar "Spline approximation and smoothing using adaptive projective filters" In Proceedings of the 9th International Conference on Computational Modelling and Computing in Physics, September 16-21, Dubna, Russia, 1996, Eds. E.P.Zhidkov, A.V.Fedorov, R.R.Schanbaghyān, JINR, Dubna (1997)
- [A2] A.Timchenko, M.Avdeev, I.Serdyuk, O.Trubetskaya, R.Oberthur, H.Kihara "Comparative analysis of conformation of humic acids of different origin by X-ray and neutron scattering" In Proceedings of the German-Russian User Meeting "Condensed Matter Physics with Neutrons at IBR-2», April 2-4, 1998, Dubna, Russia, JINR, Dubna (1998)
- [A3] Авдеев М.В., Аксенов В.Л., Тимченко А.А., Сердюк И.Н. «Общие свойства поверхности семейства ДНК-связывающих белков» Поверхность 6 (1998) 5
- [A4] V.L.Aksenov, M.V.Avdeev, I.N.Serdyuk, A.A.Timchenko "Comparative analysis of geometrical properties of surface for some protein families" In "Complexity of fractals", Ed. M.Novak, World Scientific, Singapore (1998)
- [A5] V.L.Aksenov, M.V.Avdeev, A.A.Timchenko, G.Zaccari and I.N.Serdyuk "Study of EF-Tu by triple isotopic substitution" In Proceedings of the International Workshop on Deuteration of Biological Molecules for Structural and Dynamics Studies, Frank Laboratory of Neutron Physics, May 19-25, 1998, Dubna, Russia, JINR, Dubna (1998)
- [A6] Аксенов В.Л., Авдеев М.В., Тимченко А.А., Сердюк И.Н. «Общие свойства поверхности семейства тРНК-связывающих белков» Поверхность 3 (1999) 3
- [A7] M.Avdeev, A.Timchenko and I.Serdyuk "Study of humic acids by small-angle scattering" In Proceedings of International School and Symposium on Small-Angle Scattering, Matrahaza, Hungary, October 8-11, 1998, Ed. L.Rosta, RISSP, Budapest (1999)
- [A8] А.А. Тимченко, О.Е. Трубецкая, О.А. Трубецкой, В.Л. Аксенов, М.В. Авдеев, Р. Обертюр, Х. Кихара, И.Н. Сердюк "Анализ конформации гуминовых веществ методами диффузного рассеяния нейтронов и рентгеновских лучей" Поверхность 4 (1999) 73
- [A9] K.Sinko, L.Cser, R.Mezei, M.Avdeev, H.Peterlik, G.Trimmel, U.Schubert and P.Fratzl "Structure investigation of intelligent aerogels" Physica B 276-278 (2000) 392

Список цитируемой литературы

1. Де Жен П. Идеи скейлинга в физике полимеров. М.: Мир. 1982.
2. Ма: Ма Ш. Современная теория критических явлений. М.: Мир. 1980.
3. Mandelbrot B.B. The Fractal Geometry of Nature. San Francisco: Freeman. 1982.
4. Fractals in Physics / Eds. Pietronero L., Tosatti E. Amsterdam: North Holland. 1986.
5. Федер Е. Фракталы. М.: Мир. 1991.
6. The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry / Ed. Avnir D. Great Britain: John Wiley & Sons. 1989.
7. Complexity of fractals / Ed. Novak M. Singapore: World Scientific. 1998.
8. Elber R. // The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry / Ed. Avnir D. Great Britain: John Wiley & Sons. 1989. P.407.
9. Dewey T.G. // J. Chem Phys. 1993. V.98. P.2252.
10. Lewis M., Rees D.C. // Science. 1985. V.230. P.1163.
11. Aqvist J., Tapia O. // J. Mol. Graphics. 1987. V.5. P.30.
12. Farin D., Avnir D. // Characterization of Porous Solids / Eds. Unger K.K. et al., Amsterdam: Elsevier Publishers. 1988. P.421.

13. Pfeifer P., Welz U., Wippermann H. // Chem. Phys. Lett. 1985. V.113. P.535.
14. Fedorov B.A., Fedorov B.B., Schmidt P.W. // J. Chem. Phys. 1993. V.99. P.4076.
15. Berman H.M., et al. // Nucleic Acids Research. 2000. V.228. P.235.
16. Dikoussar N.D. // Comput. Phys. Commun. 1994. V.79. P.39.
17. Lee B., Richards F.M. // J. Mol. Biol. 1971. V.55. P.379.
18. Richmond T. J. // J. Mol. Biol. 1984. V.178. P.63.
19. Richards F. M. // Annu. Rev. Biophys. Bioeng. 1977. V.6. P.151.
20. Richmond T. J., Richards F. M. // J. Mol. Biol. 1978. V.119. P.537.
21. Connolly M. L. // QCPE Bull. 1981. V.1. P.75.
22. Pavlov M.Yu., Fedorov B.A. // Biopolymers (1983) 22, 1507
23. Pfeifer P. // Appl. Surf. Sci. 1984. V.18. P.146.
24. Schmidt P.W. // The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry / Ed. Avnir D. Great Britain: John Wiley & Sons. 1989. P.95.
25. Bale H.D., Schmidt P.W. // Phys. Rev. Lett. 1984. V.53. P.596.
26. Kjems J., Schofield R. // Scaling Phenomena in Disordered Systems / Eds. Pynn R., Skjeltorp A. New York: Plenum Press. 1985. P.141.
27. Schmidt P.W. // Modern aspects of small-angle scattering / Ed. Brumberger H. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1995. P.1.
28. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М.: Просвещение. 1987.
29. Спирин А.С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. М.: Высшая школа. 1986.
30. Svergun D.I. // Acta Cryst. A. 1994. V.50. P.391.
31. Farin D., Peleg S., Yavin D., Avnir D. // Langmuir. 1985. V.1. P.399.
32. Islam S.A., Weaver D.L. // Proteins. 1991. V.10. P.300.
33. Sayle R.A., Milnerwhite E.J. // Trends in Biochem. Sci. 1995. V.20. P.374.
34. Pavlov M.Yu., et al. // J. Appl. Cryst. 1991. V.24. P.243.
35. Isogai Y., Itoh T. // J. Phys. Soc. Japan. 1984. V.53. P.2162.
36. Xu J., Chao Y., Chen R. // J. Theor. Biol. 1994. V.71. P.239.
37. Pavlov M.Yu., Serdyuk I.N. // J. Appl. Cryst. 1987. V.20. P.105.
38. Serdyuk I.N., Pavlov M.Yu. // J. Macromol. Chem. 1988. V.15. P.167.
39. Ramakrishnan V.R., Moore P.B. // J. Mol. Biol. 1981. V.153. P.719.
40. Ramakrishnan V.R., et al. // J. Mol. Biol. 1981. V.153. P.739.
41. Свергун Д.И., Фейгин Л.А. Рентгеновское и нейтронное малоугловое рассеяние. М.: Наука. 1986.
42. Serdyuk I.N., et al. // Biophys. Chem. 1994. V.53. P.123.
43. Останевич Ю.М. Препринт P13-87-407 Дубна: ОИЯИ. 1987.
44. Ostanovich Yu.M. // J. Macromol. Chem. 1988. V.15. P.91.
45. Ibel K. // J. Appl. Cryst. 1976. V.9. P.630.
46. Berchtold H., et al. // Nature. 1993. V.365. P.126.