

УДК 577.3

О ШИРИНЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕХОДОВ БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ДАВЛЕНИЯ

© 2019 г. С.А. Потехин, Р.С. Хусаинова*

Институт белка РАН, 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 4

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail: spot@vega.protres.ru

Поступила в редакцию 12.10.2018 г.

После доработки 12.10.2018 г.

Принята к публикации 20.10.2018 г.

Представлена теоретическая оценка полуширины конформационного перехода макромолекул, вызванного увеличением давления. Анализ выполнен в рамках модели перехода между двумя состояниями. Показано, что полуширина определяется в основном изменением (скачком) объема при переходе. Получена формула, по смыслу подобная формуле Вант-Гоффа для полуширины переходов, вызванных ростом температуры, которая позволяет оценить эффективное изменение объема для одностадийного перехода под воздействием давления по величине его полуширины. Выполненные оценки показывают, что переходы «гель–жидкий кристалл» фосфолипидов имеют полуширину порядка нескольких мегапаскалей (десятки атмосфер), в то время как у белков эта величина приблизительно в 100 раз больше и составляет сотни мегапаскалей (несколько тысяч атмосфер). Показано, что при денатурации белков под воздействием давления скачок объема может существенно меняться на интервале от начала до конца перехода.

Ключевые слова: сканирующая микрокалориметрия; высокое давление; теоретический анализ; переход между двумя состояниями; ширина перехода; макромолекулы.

DOI: 10.1134/S0006302919030013

Существенное увеличение количества статей по влиянию высокого давления на самые разные биохимические процессы отражает растущий интерес к тем возможностям, которые открывает это направление науки [1]. В частности, изучалось влияние высокого давления на стабильность структуры и кинетику денатурации белков [2–16], а также полинуклеиновых кислот [17–19]. Изучалось также влияние высокого давления на ДНК–белковые взаимодействия [20–22] и структурный полиморфизм липидов [23–28]. Особый интерес вызывают возможности применения высокого давления для кристаллизации [29–32] и ренатурации белков [33–37], для изменения их агрегационных свойств [38,39]. Изучалось влияние давления на энзиматические свойства ферментов [40–43], их субъединичный состав [44–46] и связывание ими лигандов [47–50]. Перспективным в биотехнологическом плане кажется использования высокого давления для инактивации вирусов и стерилизации продуктов [51–53]. Показано, что возможной причиной подавления роста бактерий может быть диссоциация рибосом

под воздействием давления [54]. Изучается возможность использования высокого давления для приготовления пищи [55–57].

В 2007–2009 гг. в Институте белка РАН совместно с Институтом физики высоких давлений им. Л.Ф. Верещагина РАН был разработан и изготовлен уникальный сканирующий микрокалориметр, способный работать при давлениях до 6000 атмосфер [58,59]. Проведенные испытания показали, что по своим техническим параметрам прибор не имеет аналогов. Для осуществления надежных измерений требуется не более 0,3 мг биологического материала (белки, нуклеиновые кислоты, липиды и т.д.). Подобные приборы, известные по международным публикациям, способны работать в лучшем случае при давлениях до 200 атмосфер и/или имеют на порядок меньшую чувствительность. Прибор позволяет получать необходимую информацию о зависимости энтальпии конформационных переходов биологически важных макромолекул (белки, полинуклеиновые кислоты, липиды, полисахариды) от температуры и давления, что, в свою очередь,

позволило приступить к систематическому изучению объемных изменений при конформационных превращениях биологически важных макромолекул.

Наши первые экспериментальные работы по микрокалориметрии высокого давления на липидах [60–62], белках [63–65] и модельных полимерах [66,67] показали перспективность этого направления исследований [68]. Но для того чтобы ясно себе представлять, как могут меняться термодинамические параметры того или иного термодинамического процесса под воздействием давления и какую термодинамическую информацию можно извлечь из полученных зависимостей, необходимо, в частности, проанализировать поведение простейших термодинамических моделей, в той или иной степени отражающих реальные конформационные переходы в макромолекулах. В частности, ранее нами был проведен анализ последствий воздействия высокого давления на термотропные конформационные переходы (например, денатурацию биополимеров) с использованием равновесной модели перехода между двумя состояниями [69]. Было показано, как будут меняться основные термодинамиче-

ские функции перехода с ростом давления и от чего зависят эти изменения. Была выведена формула, определяющая температуру перехода от давления. Подводя итог проведенным исследованиям, можно утверждать, что сканирующая микрокалориметрия при высоком давлении способна давать уникальную информацию об объемных изменениях при конформационных переходах макромолекул. Предлагаемая новая работа является продолжением этих исследований и посвящена теоретической оценке полуширин переходов под воздействием давления.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотрим поведение макромолекулы, способной находиться в двух различных состояниях, например, в виде компактной глобулы (нативное состояние) и развернутого клубка (денатурированное состояние). Проанализируем распределение молекул между этими двумя состояниями. Пусть $[N]$ и $[D]$ – концентрации молекул в исходном и конечном состояниях, K – константа равновесия между молекулами в этих состояниях:

$$N \rightleftharpoons D$$

$$K = \frac{[D]}{[N]} = \exp\left(-\frac{\Delta G}{RT}\right) = \exp\left(\frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta H}{RT}\right) = \exp\left(\frac{\Delta S}{R} - \frac{\Delta E}{RT} - \frac{P\Delta V}{RT}\right).$$

Здесь P и T – давление и абсолютная температура, R – универсальная газовая постоянная. ΔG , ΔS , H , ΔE , и ΔV – соответственно изменения парциальных значений свободной энергии, энтропии, энтальпии, энергии и объема при переходе. Пусть при определенных значениях давления P_m и температуры T_m изменение свободной энергии ΔG обращается в ноль и соответственно константа равновесия K обращается в единицу. Такую точку (P_m , T_m) обычно называют серединой перехода между состояниями N и D . Очевидно, что если есть хотя бы одна точка, удовлетворяющая вышеуказанному требованию, то будет и кривая на двухмерной фазовой диаграмме P – T , отделяющая области, где молекула преимущественно нативная, от области, где она преимущественно денатурированная.

Пусть доля молекул в денатурированном состоянии будет составлять F . Тогда концентрация молекул в денатурированном $[D]$ и нативном $[N]$ состояниях будет равна $[D] = [N]_0 F$ и $[N] = [N]_0 (1 - F)$ соответственно, где $[N]_0$ – полная концентрация молекул.

Тогда имеем:

$$K = \frac{[D]}{[N]} = \frac{F}{1 - F}. \quad (1)$$

Получим частную производную логарифма константы равновесия по давлению:

$$\frac{\partial \ln K}{\partial P} = \frac{\partial}{\partial P} \left(-\frac{\Delta G}{RT}\right) = -\frac{1}{RT} \frac{\partial \Delta G}{\partial P} = -\frac{\Delta V}{RT}. \quad (2)$$

Из формулы (2) видно, что если реакция (переход) происходит с увеличением объема ($\Delta V > 0$), то в соответствии с принципом Ле Шателье равновесие будет смещаться в сторону исходного состояния при увеличении давления, то есть доля молекул в исходном состоянии при данной температуре будет увеличиваться. Иными словами, исходное состояние будет увеличивать свою стабильность по отношению к температуре, и середина перехода T_m будет смещаться в область больших температур. Такая ситуация наблюдается, например, при плавлении липидов [60–62] и плавлении суперспиральной структуры молекулы белка коллагена [63]. Ясно, что в этой ситуации никакое сколь угодно большое увеличение давления не способно вызвать переход в денатурированное состояние при некоей температуре T , если молекула находилась в нативном состоянии

при этой температуре и атмосферном давлении. Возможно, именно по этой причине работ по изучению влияния давления на конформационные переходы, происходящие с увеличением объема, крайне мало [70], так как работа с такими объектами требует сканирования не только по давлению, но и по температуре.

Если процесс идет с уменьшением объема, доля молекул в исходном состоянии при данной температуре в результате увеличения давления будет уменьшаться, то есть исходное состояние будет дестабилизироваться, а середина перехода T_m будет смещаться в область более низких температур. В этом случае увеличение давление при фиксированной температуре неизбежно будет приводить к денатурации образца. Пример такого поведения макромолекул демонстрируют миоглобин и рибонуклеаза [3, 10–12, 16].

Пусть макромолекула уменьшает парциальный объем при денатурации и при увеличении давления претерпевает конформационный переход. В данный момент нас будет интересовать, насколько резко будет происходить этот переход, какова ширина этого перехода в единицах давления. На рис. 1 изображен такой переход по давлению. Аналогично формуле Вант-Гоффа [71] для переходов по температуре, мы будем использовать понятие полуширины перехода. По определению полушириной перехода мы будем называть такую величину изменения давления $\Delta P_{1/2}$, которая обеспечит переход из начального состояния в конечное при условии, что производная доли молекул в денатурированном состоянии по давлению постоянна в этом диапазоне давлений и равна производной в середине происходящего процесса:

$$\left(\frac{\partial F}{\partial P}\right)_{F=1/2} \cdot \Delta P_{1/2} = 1. \quad (3)$$

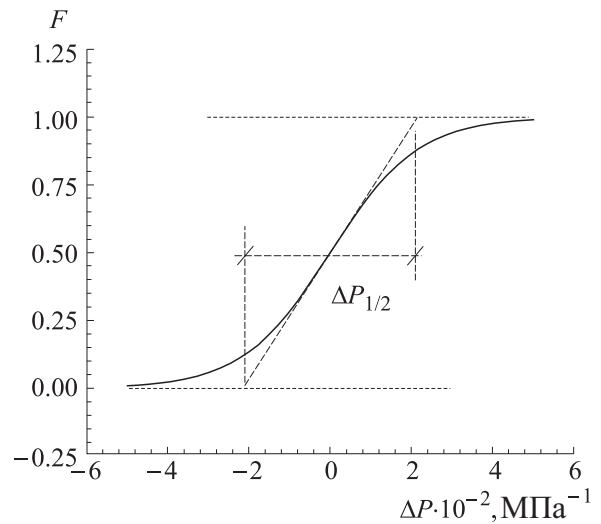


Рис. 1. Зависимость доли молекул в денатурированном состоянии F от величины отклонения давления ΔP от середины перехода P_0 при заданной температуре. На рисунке также указана полуширина перехода $\Delta P_{1/2}$ и продемонстрирован способ ее определения через производную доли молекул в денатурированном состоянии в середине перехода. Зависимость соответствует переходу при температуре 50°C с изменением парциального объема $\Delta V = -25 \text{ см}^3/\text{моль}$.

Таким образом, полуширина перехода, происходящего при увеличении давления, может быть оценена как величина, обратная частной производной доли молекул в денатурированном состоянии по давлению в середине перехода:

$$\Delta P_{1/2} = \left[\left(\frac{\partial F}{\partial P}\right)_{F=1/2} \right]^{-1}. \quad (4)$$

Для оценки $\left(\frac{\partial F}{\partial P}\right)_{F=1/2}$ прологарифмируем уравнение (1) с последующим дифференцированием:

$$\frac{\partial \ln K}{\partial P} = \frac{\partial \ln F}{\partial P} - \frac{\partial \ln(1-F)}{\partial P} = \frac{1}{F} \frac{\partial F}{\partial P} + \frac{1}{(1-F)} \frac{\partial F}{\partial P} = \frac{1}{F(1-F)} \frac{\partial F}{\partial P}.$$

Учитывая соотношение (2), получим:

$$\frac{\partial F}{\partial P} = -\frac{\Delta V}{RT} F(1-F).$$

В середине перехода $F=1/2$ и соответственно

$$\left(\frac{\partial F}{\partial P}\right)_{F=1/2} = -\frac{\Delta V}{4RT}. \quad (5)$$

Объединяя уравнения (4) и (5), получим:

$$\Delta P_{1/2} = \left[\left(\frac{\partial F}{\partial P}\right)_{F=1/2} \right]^{-1} = -\frac{4RT}{\Delta V}. \quad (6)$$

Таким образом, чем более значительное уменьшение объема происходит при конформационном переходе, тем более узкий переход будем наблюдать при увеличении давления. На рис. 2 приведены расчетные зависимости доли молекул в денатурированном состоянии F от величины отклонения давления P от середины перехода P_0 для трех переходов с различным изменением парциального объема. Изменения объема выбраны в диапазоне значений, характерном для глобулярных белков. Проведенные до настоящего

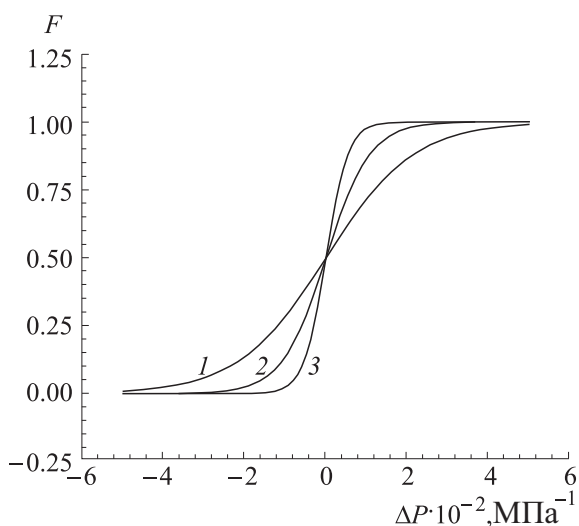


Рис. 2. Расчетные зависимости доли молекул в денатурированном состоянии F от величины отклонения давления ΔP для трех переходов с различным изменением парциального объема, а именно -25 (1), -50 (2) и -100 (3) $\text{см}^3/\text{моль}$. Полагали, что переходы происходят при температуре 50°C .

го времени исследования влияния давления на стабильность структуры белков показали [70], что у подавляющего большинства изученных белков изменение объема при денатурации отрицательно и не превосходит по абсолютной величине $100 \text{ см}^3/\text{моль}$. Используя формулу (6), легко оценить численные значения полуширин для переходов с использованными при построении кривых изменениями объемов. При изменении объема в -25 , -50 и $-100 \text{ см}^3/\text{моль}$ полуширины будут соответственно равны 428 МПа ($\approx 4240 \text{ атм}$), 214 МПа ($\approx 2120 \text{ атм}$) и 107 МПа ($\approx 1060 \text{ атм}$). Полученные оценки достаточно хорошо согласуются с экспериментальными данными по полуширинам денатурационных переходов реальных белков (см., например, работы [2, 72–74]).

Столь высокие значения полуширин переходов, вызванных увеличением давления у белков, накладывают определенные ограничения на точность оценки изменения парциальных объемов при денатурации. Обычно для оценки объемных денатурационных изменений исследователи используют несерийное оборудование, способное работать при давлениях до нескольких сотен мегапаскаль (несколько тысяч атмосфер). Оценки делаются на основании данных по влиянию давления на константу равновесия между нативным и денатурированным белком. В свою очередь, для оценки константы равновесия требуется экстраполяция наблюдаемого параметра для нативного и денатурированного белка на область перехода. Таким образом, для корректной оценки зависи-

мости константы равновесия от давления требуется, чтобы измерения проводились в широком диапазоне — от давлений, при котором белок нативен, до давлений, где белок полностью денатурирован. Учитывая большие значения полуширин переходов, оценки объемов менее $40 \text{ см}^3/\text{моль}$ вряд ли могут быть сколько-нибудь точными в таких экспериментах.

При переходе «гель — жидкий кристалл» липидного бислоя размеры кооперативного участка обычно составляют порядка $150\text{--}200$ молекул [60,75]. Изменение объема в расчете на одну молекулу в зависимости от длины гидрофобного ацильного «хвоста» (от 14 до 19 метиленовых групп у диацилфосфатидилхолинов) меняется приблизительно от 16 до $40 \text{ см}^3/\text{моль}$ [62]. Полагая размер кооперативного участка равным 150 молекулам, получим, что полное изменение объема при переходе для кооперативной единицы 1,2-димиристоилфосфатидилхолина (14:0 PC) будет равно 2340 см^3 , а для 1,2 динонадекоилфосфатидилхолина (19:0 PC) — 6150 см^3 . Соответственно, полуширины переходов для этих липидов будут приблизительно в 100 раз уже, чем для белков. Для 14:0 PC полуширина будет составлять $4,2 \text{ МПа}$ ($\approx 41 \text{ атм}$), а для 19:0 PC — $1,8 \text{ МПа}$ ($\approx 17 \text{ атм}$). Судя по результатам работ [76,77], выполненные оценки хорошо согласуются с экспериментальными данными.

По сравнению с другими биомолекулами влияние гидростатического давления на конформационную стабильность ДНК и РНК изучено слабо. В большинстве случаев спиральная форма ДНК или РНК стабилизировалась при увеличении давления. Степень стабилизации была намного меньше тех эффектов, которые наблюдались для других макромолекул при тех же давлениях [78]. Таким образом, объемные изменения при разворачивании двойных спиралей полинуклеиновых кислот, вероятно, намного меньше, чем при денатурационных переходах белков и переходах «гель — жидкий кристалл» у липидов.

Следует заметить, что формула (6) может быть переписана в форму, удобную для оценки эффективного изменения объема реакции по полуширине перехода:

$$\Delta V_{\text{эфф}} = -\frac{4RT}{\Delta P_{1/2}}. \quad (7)$$

Как и в случае совпадения истинной энтальпии процесса с ее эффективным значением при термотропных переходах, совпадение эффективного значения изменения объема при баротропном процессе с его истинным значением может служить доказательством отсутствия промежуточных состояний в ходе процесса. Однако надо учитывать, что для достаточно широких перехо-

дов изменение объема в разных точках процесса (при разных давлениях) может быть разным. Величина этих различий определяется различием сжимаемости молекулы в конечном и начальном состоянии, т.е. скачком изотермического коэффициента сжимаемости $\Delta\chi_T$:

$$\Delta\chi_T = -\frac{1}{V_2} \left(\frac{\partial V_2}{\partial P} \right)_T + \frac{1}{V_1} \left(\frac{\partial V_1}{\partial P} \right)_T \approx -\frac{1}{\bar{V}} \left(\frac{\partial \Delta V}{\partial P} \right)_T.$$

Здесь индексы 1 и 2 означают соответственно начальное и конечное состояния, \bar{V} – средний парциальный объем молекулы в этих состояниях.

Используя полученные нами ранее параметры переходов «гель – жидкий кристалл» для серии гомологичных фосфолипидов [62] и сделанные в этой статье оценки полуширины этих переходов под воздействием давления, легко показать, что изменения скачка объема на интервале давлений, равном их полуширине, не может превышать одного процента. Из этого следует важный для экспериментаторов вывод: попытки оценки величины скачка коэффициента сжимаемости при работе с баротропными переходами при постоянной температуре у липидов надо признать бесперспективными, а предположение о постоянстве изменения объема при обработке соответствующих экспериментальных данных вполне адекватным.

В случае денатурации белков ситуация коренным образом отличается. У коллагена, например, в состав кооперативной единицы входит около 150 аминокислотных остатков и денатурационный эффективный объем составляет около 145 см^3 [63]. Таким образом, полуширина перехода по давлению, рассчитанная по формуле (6), должна быть около 72 МПа (710 атм). Учитывая, что у коллагена при постоянной температуре объем меняется приблизительно на 35% при изменении давления на каждые 100 МПа, величина скачка объема может измениться на 25% на интервале от начала до конца перехода. Это уже заметная величина, и возможность изменения объема при увеличении давления должна учитываться при обработке экспериментальных данных.

У большинства других белков изменения скачка объема на ширине перехода могут быть еще больше из-за большой величины этой полуширины. Например, в случае лизоцима изменения скачка объема могут превосходить величину этого скачка [65]. Естественно, в таких случаях наличие конечной величины скачка коэффициента сжимаемости должно учитываться в обязательном порядке при обработке экспериментальных данных.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 14-04-00993-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II (Proc. 2nd Int. Conf. on High Pressure Bioscience and Biotechnology)*, Ed. by R. Winter (Springer, Dortmund, 2002).
2. C. Y. Tan, C. H. Xu, J. Wong, et al., *Biophys. J.* **88**, 1264 (2005).
3. F. Meersman, L. Smeller, and K. Heremans, *Biophys. J.* **82**, 2635 (2002).
4. R. Kitahara, A. Okuno, M. Kato, et al., *Magn. Reson. Chem.* **44**, S108 (2006).
5. K. Ruan, R. Lange, F. Meersman, et al., *Eur. J. Biochem.* **265**, 79 (1999).
6. J. A. Kornblatt, M. J. Kornblatt, C. Clery, and C. Balny, *Eur. J. Biochem.* **265**, 120 (1999).
7. K. Ruan, C. Xu, Y. Yu, et al., *Eur. J. Biochem.* **268**, 2742 (2001).
8. K. Goossens, J. Haelewyn, F. Meersman, et al., *Biochem. J.* **370**, 529 (2003).
9. H. Herberhold, S. Marchal, R. Lange, et al., *J. Mol. Biol.* **330**, 1153 (2003).
10. N. Takeda, M. Kato, and Y. Taniguchi, *Biochemistry* **34**, 5980 (1995).
11. T. Yamaguchi, H. Yamada, and K. Akasaka, *J. Mol. Biol.* **250**, 689 (1995).
12. J. F. Brandts, R. J. Oliveira, and C. Westort, *Biochemistry* **9**, 1038 (1970).
13. J. Torrent, J. Font, H. Herberhold, et al., *Biochim. Biophys. Acta (Proteins & Proteomics)* **1764**, 489 (2006).
14. S. Marchal, J. Font, M. Ribó, et al., *Acc. Chem. Res.* **42**, 778 (2009).
15. J. Font, A. Benito, J. Torrent, et al., *Biol. Chem.* **387**, 285 (2006).
16. M. Ribó, J. Font, A. Benito, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1764**, 461 (2006).
17. A. R. Amiri and R. B. Macgregor Jr., *Biophys. Chem.* **156**, 88 (2011).
18. C. G. Heden, T. Lindahl, and I. Toplin, *Acta Chem. Scand.* **18**, 1150 (1964).
19. M. C. Lin, P. Eid, P. T. T. Wong, and R. B. Macgregor Jr., *Biophys. Chem.* **76**, 87 (1999).
20. L. M. T. R. Lima, D. Foguel, and J. L. Silva, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97** 14289 (2000).
21. D. F. Senear, V. Tretyachenko-Ladokhina, M. L. Opel, et al., *Nucl. Acids Res.* **35** 1761 (2007).
22. D. Foguel, J. L. Silva, and G. de Prat-Gay, *J. Biol. Chem.* **273**, 9050 (1998).
23. P. T. C. So, S. M. Gruner, and S. Erramilli, *Phys. Rev. Lett.* **70**, 3455 (1993).
24. R. Winter and C. Czeslik, *Z. Kristallogr.* **215**, 454 (2000).

25. M. Pisani, T. Narayanan, G. Di Gregorio, et al., *Phys. Rev. E* **68**, 21924 (2003).
26. C. Czeslik, R. Winter, G. Rapp, and K. Bartels, *Biophys. J.* **68**, 1423 (1995).
27. P. Mariani, B. Paci, P. Bosecke, et al., *Phys. Rev. E* **54**, 5840 (1996).
28. M. Pisani, S. Bemstorff, C. Ferrero, and P. Mariani, *J. Phys. Chem. B* **105**, 3109 (2001).
29. M. D. Collins, *A Dissertation presented to the Faculty of the Graduate School of Cornell University* (Ithaca, NY, USA, 2006).
30. R. Fourme, I. Ascone, R. Kahn, et al., in *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II*, Ed. by R. Winter (Springer, 2002), pp. 161–170.
31. Y. Suzuki, H. Suto, T. Sawada, and K. Tamura, in *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II*, Ed. by R. Winter (Springer, 2002), pp. 171–174.
32. A. Kadri, C. Charron, M. C. Robert, et al., in *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II*, Ed. by R. Winter (Springer, 2002), pp. 175–178.
33. B. E. Schoner, K. S. Bramlett, H. Guo, and T. P. Burris, *Mol. Genet. Metab.* **85**, 318 (2005).
34. Q. Zong, P. A. Osmulski, and L. P. Hager, *Biochemistry* **34**, 12420 (1995).
35. J. St John, J. F. Carpenter, and T. W. Randolph, *Biotechnol. Prog.* **18**, 565 (2002).
36. C. Böde, F. G. Tölgyesi, L. Smeller, et al., *Biochem. J.* **370**, 859 (2003).
37. J. L. Silva, Y. Cordeiro, and D. Foguel, *Biochim. Biophys. Acta* **1764**, 443 (2006).
38. T. W. Randolph, M. Seefeldt, and J. F. Carpenter, *Biochim. Biophys. Acta* **1595**, 224 (2002).
39. D. Foguel and J. L. Silva, *Biochemistry* **43**, 11361 (2004).
40. S. Kunugi, M. Kitayaki, Y. Yanagi, et al., *Eur. J. Biochem.* **248**, 567 (1997).
41. Ohmae, C. Murakami, K. Gekko, and C. Kato, *J. Biol. Macromol.* **7**, 23 (2007).
42. M. Trovaslet, S. Dallet-Choisy, F. Meersman, et al., *Eur. J. Biochem.* **270**, 119 (2003).
43. P. Masson, N. Bec, M.-T. Froment, et al., *Eur. J. Biochem.* **271**, 1980 (2004).
44. S. Marchal, H. M. Girvan, A. C. F. Gorren, et al., *Biophys. J.*, **85**, 3303 (2003).
45. R. Lange, I. Heiber-Langer, C. Bonfils, et al., *Biophys. J.* **66**, 89 (1994).
46. G. B. Ogunmola, A. Zipp, F. Chen, and W. Kauzmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 1 (1977).
47. G. B. Ogunmola, W. Kauzmann, and A. Zipp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**, 4271 (1976).
48. V. L. Valente-Mesquita, M. M. Botelho, and S. T. Ferreira, *Biophys. J.* **75**, 471 (1998).
49. M. J. Kornblatt, R. Lange, and C. Balny, *Eur. J. Biochem.* **271**, 3897 (2004).
50. J.-M. Zhou, L. Zhu, and C. Balny, *Eur. J. Biochem.* **267**, 1247 (2000).
51. J. L. Silva, A. C. Oliveira, A. M. Gomes, et al., *Biochim. Biophys. Acta* **1595**, 250 (2002).
52. J. L. Silva, D. Foguel, A. T. Da Poian, and P. E. Prevelige, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **6**, 166 (1996).
53. Y. Rigaldie, A. Largeteau, G. Lemagnen, et al., in *Advances in High Pressure Bioscience and Biotechnology II*, Ed. by R. Winter (Springer, 2002), pp. 315–319.
54. M. Gross, K. Lehle, R. Jaenicke, and K. H. Nierhaus, *Eur. J. Biochem.* **218**, 463 (1993).
55. R. Hayashi, in *Engineering and Food*, Ed. by W. E. L. Spiess and H. Schubert (Elsevier Appl. Sci., England, 1989), pp. 815–826.
56. Oey, M. Lille, A. V. Loey, and M. Hendrickx, *Trends Food Sci. Tech.* **19**, 320 (2008).
57. N. K. Rastogi, K. S. M. S. Raghavarao, V. M. Balasubramaniam, et al., *Crit. Rev. Food Sci.* **47**, 69 (2007).
58. С. А. Потехин, А. А. Сенин, Н. Н. Абдурахманов и Е. В. Межбурд, *Дифференциальный адиабатный сканирующий микрокалориметр высокого давления*, Патент № 2364845 с приоритетом изобретения от 19 марта 2008 г.
59. A. A. Senin, L. N. Dzhavadov, and S. A. Potekhin, *Rev. Sci. Instrum.*, **87**, 034901 (2016).
60. S. A. Potekhin, A. A. Senin, N. N. Abdurakhmanov, and R. S. Khusainova, *Biochim. Biophys. Acta (Biomembranes)* **1778**, 2588 (2008).
61. S. A. Potekhin, A. A. Senin, N. N. Abdurakhmanov, and R. S. Khusainova, *Biochim. Biophys. Acta (Biomembranes)* **1808**, 1806 (2011).
62. S. A. Potekhin, A. A. Senin, and R. S. Khusainova, *Thermochim. Acta* **560**, 17 (2013).
63. S. A. Potekhin, A. A. Senin, N. N. Abdurakhmanov, and E. I. Tiktopulo, *Biochim. Biophys. Acta (Proteins and Proteomics)* **1794**, 1151 (2009).
64. A. Y. Yegorov and S. A. Potekhin, *Thermochim. Acta* **610**, 10 (2015).
65. А. Е. Егоров и С. А. Потехин, *Молекуляр. биология* **52**, 36 (2018).
66. V. Y. Grinberg, T. V. Burova, N. V. Grinberg, et al., *Polymer* **87**, 283 (2016).
67. V. Y. Grinberg, A. A. Senin, N. V. Grinberg, et al., *Polymer*, **138**, 288 (2018).
68. С. А. Потехин, *Успехи биол. химии* **58**, 285 (2018).
69. С. А. Потехин, А. Е. Егоров и Р. С. Хусаинова, *Биофизика* **60**, 837 (2015).
70. С. А. Royer, *Biochim. Biophys. Acta* **1595**, 201 (2002).
71. P. L. Privalov, *Microcalorimetry of macromolecules. The physical basis of biological Structures* (J. Wiley & Sons, Inc., 2012).

72. K. Ruan, C. Xu, T. Li, et al., *Eur. J. Biochem.* **270**, 1654 (2003).
73. M. Kato, Y. Sato, K. Shirai, et al., *Eur. J. Biochem.* **270**, 4587 (2003).
74. M. Dumoulin, H. Ueno, R. Hayashi, and C. Balny, *Eur. J. Biochem.* **262**, 475 (1999).
75. D. B. Mountcastle, R. L. Biltonen, and M. J. Halsey, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**, 4906 (1978).
76. S. Kaneshina, H. Ichimori, T. Hata, and H. Matsuki, *Biochim. Biophys. Acta* **1374**, 1 (1998).
77. H. Ichimori, T. Hata, H. Matsuki, and S. Kaneshina, *Biochim. Biophys. Acta* **1414**, 165 (1998).
78. R. B. Macgregor Jr., *Biopolymers* **48**, 253 (1998).

On the Width of Conformational Transitions of Biologically Important Macromolecules under the Influence of Pressure

S.A. Potekhin* and R.S. Khusainova**

**Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya 4, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

***Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The paper presents a theoretical assessment of the half-width of the conformational transition of macromolecules caused by an increase in pressure. The study was made using an equilibrium model of transition between two states. It is shown that the half-width of the transition is determined mainly by the volume increment upon this transition. Formula that on sense is akin to van't Hoff equation for the half-width of the transitions caused by growth of temperature is formulated. The formula allows estimating the volume increment for two state transition caused by pressure raising using its half-width. Our estimates show that gel to liquid crystal transitions in phospholipids have a half-width of the order of several megapascals (dozens of atmospheres), while for proteins this value is approximately 100 times more and reaches to hundreds of megapascals (several thousands of atmospheres). It has been shown that at a denaturation of proteins under the pressure raised, the volume increment can vary significantly over the interval from the beginning to the end of the transition.

Keywords: scanning microcalorimetry, high pressure, theoretical analysis, two state transition, width of transition, macromolecules