

12. Usdin E., Snyder S.H. Frontiers in catecholamine research. *International catecholamine symposium, 3rd*, University of Strasbourg, 1973, p. 49.
13. Levashov A.V., Khmel'nitsky Y. L., Klyachko N. L., Chernyak V. Ya., Martinek K. Enzymes entrapped into reversed micelles in organic solvents: Sedimentation analysis of the protein-aerosol OT-H₂O-Octane system *J. of Col. and Int. Sci.*, 1982, vol. 88, iss. 2, pp. 444-457.
14. Siegel L.M., Monty K.J. Determination of molecular weights and frictional ratios of proteins in impure systems by use of gel filtration and density gradient centrifugation. Application to crude preparations of sulfite and hydroxylamine reductases. *Biochim. Biophys. Acta*, 1966, vol. 112, pp. 346-362.
15. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem.*, 2004, vol. 25, iss. 13, pp. 1605-1612.
16. Patabhi V., Ibrahim B. Syed, Shamaladevi N. Trypsin Activity Reduced by an Autocatalytically Produced Nonapeptide. *J.Biomol.Struct.Dyn.*, 2004, vol. 21, pp. 737-744.
17. Capasso M., Rizzi C.M., Menegatti E., Ascenzi P., Bolognesi M. Crystal structure of the bovine α -chymotrypsin:kunitz inhibitor complex. An example of multiple protein:protein recognition sites. *J.Mol.Recog.*, 1997, vol. 10, pp. 26-35.
18. Medved L. V., Weisel J. W. Recommendations for nomenclature on fibrinogen and fibrin. *J. Thromb. Haemostasis*, 2009, vol. 7, iss. 2, pp. 355-359.

РАЗРЕШЕНИЕ ПЕРЕКРЫВАЮЩИХСЯ ПОЛОС ПОГЛОЩЕНИЯ ХРОМОФОРОВ БЕЛКОВ С ПОМОЩЬЮ НЕОДНОРОДНЫХ РАЦИОНАЛЬНЫХ БАЗОВЫХ СПЛАЙНОВ

Лавриненко И.А., Холявка М.Г., Артюхов В.Г.
Воронежский государственный университет
Университетская площадь, 1, Воронеж, 394006, РФ
e-mail: lavrinenko_ia@bio.vsu.ru

Аннотация. Предложен подход и методика разрешения перекрывающихся полос поглощения хромофоров белков с помощью неоднородных рациональных базовых сплайнов. Исследованы особенности и границы эффективного применения данной методики. Сущность подхода состоит в следующем: в качестве опорного спектра используется базовая линия, представляющая собой сглаживающий сплайн к спектру поглощения исследуемого образца. Вычитанием сплайна из спектра светопоглощения получается функция, сходная с производной второго порядка спектра поглощения этого образца. Данная функция представляет собой остаток между регистрируемым значением отклика и значением, вычисленным в соответствии с рассматриваемой моделью. По местоположению и амплитуде остатков могут быть выявлены плохо разрешенные пики полос поглощения исследуемого вещества. При этом уменьшение количества контрольных точек NURBS до минимума превращает данную кривую в типичную базовую линию, с помощью которой обычно оцениваются пики в спектрах поглощения. Предложенный подход может найти применение в задачах разрешения сложных сигналов, регистрируемых от многокомпонентных систем в случае плохого разделения их составляющих хроматографическими, электрофоретическими или другими физико-химическими методами исследования.

Ключевые слова: разностная спектрофотометрия, базовая линия, разрешение полос поглощения, NURBS.

RESOLUTION OF THE OVERLAPPING BEAMS OF PROTEINS CHROMOPHORES ABSORPTION BY NON-UNIFORM RATIONAL BASIS SPLINEES

Lavrinenko I.A., Holyavka M.G., Artyukhov V.G.
Voronezh State University
University Square, 1, Voronezh, 394006, Russia
e-mail: lavrinenko_ia@bio.vsu.ru

Abstract. An approach and a technique for resolving overlapping absorption bands of proteins chromophores by non-uniform rational basis splinees is proposed. The features and boundaries of the effective application of this technique are investigated. The essence of the approach is in follows: the baseline is used as a reference spectrum, it is a smoothing spline to the absorption spectrum of the sample under study. By subtraction of the spline from the light absorption spectrum a function similar to the derivative of the second order of the absorption spectrum of this sample yields. This function is the remainder between the registered value of the response and the calculated in accordance with this model value. By location and amplitude of the residues, poorly resolved peaks of the test substance absorption bands can be detected. At the same time, a decrease in the number of NURBS control points to a minimum turns this curve into a typical baseline, it helps to estimate peaks in the absorption spectra. The proposed approach can find application in problems of solving complex signals recorded from multicomponent systems in the case of poor separation of their components by chromatographic, electrophoretic or other physical and chemical methods.

Keywords: difference spectrophotometry, baseline, resolution of absorption bands, NURBS.

Молекулярные спектры поглощения в ультрафиолетовом и видимом диапазонах длин волн характеризуются, как

правило, широкими плохо разрешенными перекрывающимися полосами. В отличие от отдельных атомов, имеющих только лишь электронные уровни потенциальной энергии, для молекул характерно появление дополнительных колебательных и вращательных уровней с более низкими величинами квантования относительно электронных. Это приводит к образованию «спектральных пакетов», состоящих из очень близко расположенных друг к другу линий светопоглощения разной интенсивности. В большинстве случаев, взаимное перекрытие таких «пакетов», обязанных своим происхождением различным типам хромофоров, существенным образом затрудняет интерпретацию тонкой структуры спектров поглощения даже для изолированных молекул с минимально возможной кинетической энергией и соответствующими значениями доплеровского сдвига.

Однако в физике конденсированных сред, прежде всего, в жидкостях, приходится работать не с отдельными молекулами, а с их ансамблями, что делает разрешение и идентификацию полос поглощения хромофоров молекулы более сложной задачей. Так, например, формирование диполями полярного растворителя локальных электрических полей, вызывающих, наряду с кинетической энергией растворенных молекул, неквантуемые сдвиги в потенциальных уровнях энергии молекул растворенного вещества, приводит к формированию практически непрерывного спектра светопоглощения.

Возможными вариантами решения данной проблемы могут быть приемы, направленные на минимизацию межмолекулярного взаимодействия путем изоляции отдельных молекул, а также уменьшения кинетической энергии системы вплоть до «вымораживания» вращательных и колебательных мод. Отчасти, это может быть достигнуто с помощью различных методов: квазилинейчатых спектров Шпольского, матричной изоляцией молекул в инертных газах, низкотемпературной селективной лазерной спектроскопией и т.п. Однако результаты исследований молекулярной системы с измененными физическими характеристиками не всегда можно корректно перенести на исходную, целевую систему из-за нелинейных эффектов, приводящих, например, к несоответствию положения, формы и интенсивности пиков светопоглощения.

Другое направление, ориентированное на повышение разрешающей способности в спектрах поглощения молекул, заключается в применении алгоритмов математической обработки сигналов и данных, реализуемых аппаратно или в программном исполнении. Наиболее известными решениями являются методы базовой линии, дифференциальной (разностной) и производной спектрофотометрии. Общий принцип этих методов заключается в уменьшении постоянной составляющей светопоглощения за счет ее вычитания, что приводит к повышению соотношения значений ординаты анализируемого спектра и, как следствие, увеличению разрешения. Несомненно, все эти методы имеют также и присущие им по определению недостатки: некоторая субъективность в построении базовой линии, ограничения в разрешении, накладываемые шумовой компонентой, артефакты численного дифференцирования, пики-сателлиты производных высших порядков и т.д.

В дополнение к существующему набору математических инструментов в данной области исследований, нами предлагается подход, комбинирующий приемы разностной и производной спектрофотометрии. В этой схеме, в качестве опорного спектра используется базовая линия, представляющая собой сглаживающий сплайн к спектру поглощения исследуемого образца. Вычитанием сплайна из спектра светопоглощения (аналогично приему в методе разностной спектрофотометрии), получается функция, сходная с производной второго порядка спектра поглощения этого образца. Данная функция фактически представляет собой не что иное, как остаток (residuals) между регистрируемым значением отклика и значением, вычисленным (предсказанным) в соответствии с рассматриваемой моделью.

В связи с вышеизложенным, нами была предпринята попытка реализовать данный подход и представить способ повышения разрешения в спектрах поглощения белков, где в качестве базовой линии выступают неоднородные рациональные базовые сплайны (Non-uniform rational basis spline, NURBS). В настоящее время технология применения кривых NURBS получила широкое распространение в решении задач 2^x и 3^x мерной графики, в частности, в системах автоматического проектирования (CAD) [1, 2]. Следует также отметить, что уравнения NURBS могут описывать не только NURBS-кривые, но и обычные базовые (фундаментальные) сплайны (B-spline). Так как кривая Безье (Bezier curve) является частным случаем B-сплайна, то уравнение NURBS также может описывать как кривые Безье, так и их обобщение – рациональные кривые Безье.

Объекты и методы исследований. Объектом исследования выступали спектры поглощения бромелина, полученные на спектрофотометре UV-2401(PC) (Shimadzu) в диапазоне длин волн 240–320 нм. Спектральная ширина щели составляла 0,5 нм, шаг сканирования – 0,2 нм, скорость сканирования соответствовала режиму «Slow».

Построение базовой линии к исследуемому спектру поглощения осуществлялось с помощью кривых NURBS путем варьирования количества контрольных точек (узлов сетки) и порядка базового сплайна. Разрешение полос поглощения в опытных спектрах осуществлялось вычитанием построенных к ним кривым NURBS (т.е. получаемых остатков, residuals).

Референтный поиск плохо разрешенных полос поглощения в спектрах выполняли путем вычисления второй производной.

Для сопоставления результатов оценки местоположения пиков плохо разрешенных полос поглощения, полученных с помощью кривых NURBS и путем дифференцирования функции по второй производной, использовали *in silico* модель спектра светопоглощения, несущего в своей основе распределение Гаусса. Эта модель позволяет исключить из анализа шумовую компоненту, обусловленную тепловыми флуктуациями в регистрируемых спектрах поглощения и снять ограничения разрешающей способности спектрофотометра по абсциссе и ординате, что характерно для физических систем в целом.

Результаты и обсуждение. На первом этапе было проведено сравнение результатов разрешения полос

поглощения модельного спектра (см. рис. 1А, поз. 3), представляющего собой суперпозицию двух распределений Гаусса (см. рис. 1А, поз. 1 и 2, см. табл. 1) с помощью дифференцирования (см. рис. 1В, поз. 1) и предлагаемого нами способа с применением NURBS-модели (см. рис. 1В, поз. 2).

Из представленных данных следует (см. табл. 1), что оценка положения пиков полос поглощения по абсциссе, полученная с использованием дифференцирования второго порядка и с помощью NURBS-кривой полностью совпадает. Соотнесение этих результатов вычисления (в частности, с применением дифференцирования) к исходным пикам полос поглощения указывает на то, что возникающая разница в оценке местоположения этих пиков определяется особенностями преобразования модельного спектра. К специфике дифференцирования спектров поглощения также можно отнести и возникновение пиков-спутников (характерных для производных высоких порядков) [3]. Другими словами, вычисление плохо разрешенных полос поглощения с помощью производной (а также NURBS-вычислений) будет давать в той или иной степени ошибку в местоположении исходного пика соответствующей полосы поглощения. Вместе с тем, следует отметить, что возникающая разница в положении пика не зависит от реализации выбранного метода численного дифференцирования (односторонняя левая или правая конечная разность, двусторонняя центральная конечная разность), т.к. эта разность превышает шаг сетки (0,1 нм), как минимум в 3 раза (см. табл. 1). Возможные несоответствия в оценке положения пиков полос поглощения в интегральном спектре и его второй производной отмечались нами и ранее [4, 5].

Как видно на рисунке 1В, разность между исходным спектром поглощения и его NURBS-кривой (т. е., остатками) (поз. 2) является зеркальным отображением второй производной относительно оси абсцисс для данного спектра (поз. 1).

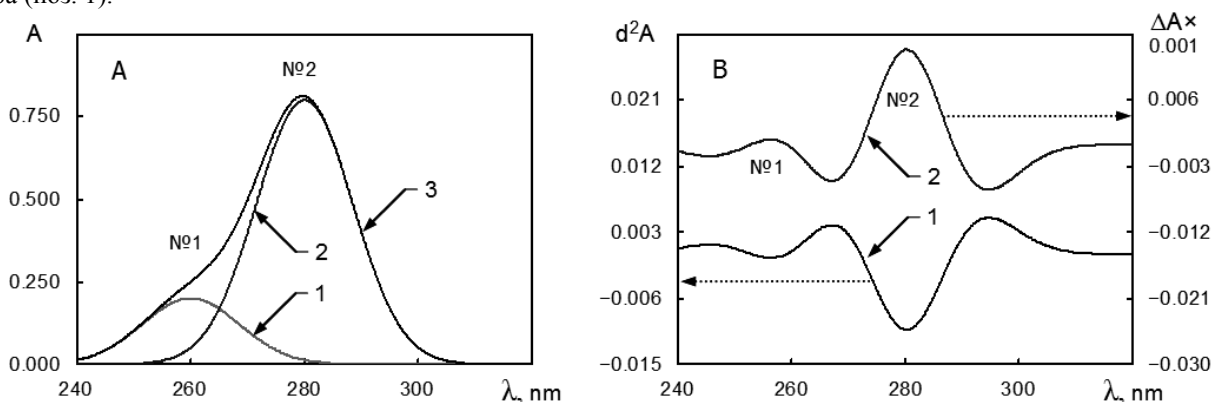


Рисунок 1 – Модельный спектр поглощения (А): 1 и 2 – распределение Гаусса, 3 – суперпозиция распределений 1 и 2; разрешение полос поглощения (В): с помощью второй производной – 1 и NURBS-модели – 2. А – поглощение, d^2A – вторая производная, $\Delta A \times 0,001$ – NURBS-остатки, λ , нм – длина волны

Таблица 1 – Положение пиков полос поглощения в модельном спектре

№ полосы	Исходные пики полос	Суперпозиция полос	По данным второй производной	По результатам вычислений NURBS
1	260,0	–	256,4 (-3,6)	256,4 (-3,6)
2	280,0	279,7 (-0,3)	280,3 (+0,3)	280,3 (+0,3)

Примечание – значения длин волн приведены в нм; в скобках указана разность в местоположении пика относительно исходного значения; кривые NURBS построены с применением В-сплайнов 2 порядка; разрешение модельного спектра по абсциссе – 0,1 нм

К модельному спектру поглощения были построены NURBS-кривые различных порядков (от 2-го до 8-го). NURBS-остатки отображают зависимость степени сглаживания NURBS-кривой модельного спектра от ее порядка (см. рис. 2А, поз. 2А-8А). Используя минимальную сумму квадратов в качестве целевой функции, данные остатки нормировали ко второй производной спектра поглощения (см. рис. 2А, поз. 1, 2В-8В).

График зависимости коэффициента нормирования NURBS-остатков от порядка NURBS-кривой показан на рисунке 2В (широкие столбцы). Зависимость минимальной суммы квадратов от порядка сплайна при его нормировании ко второй производной нелинейно коррелирует с коэффициентом нормирования NURBS-остатков (узкие столбцы).

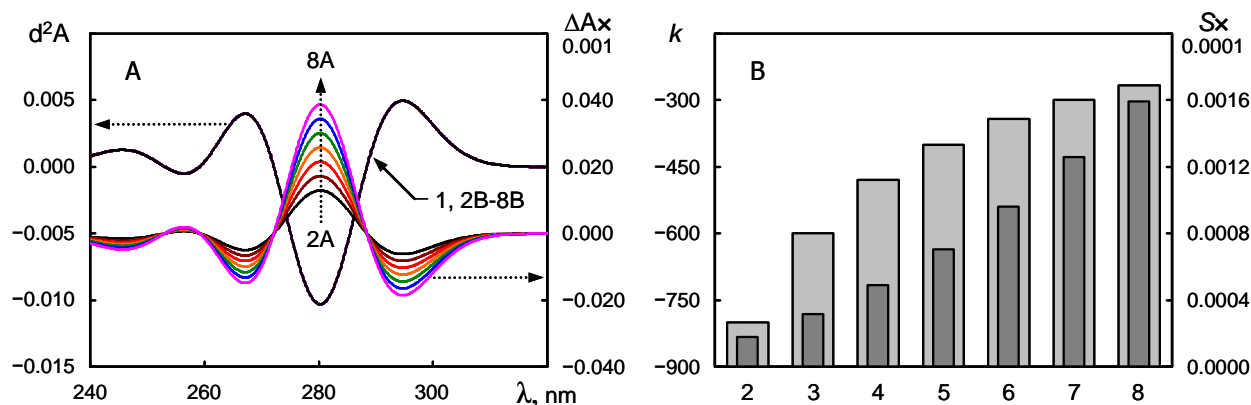


Рисунок 2 – Разрешение полос поглощения с помощью NURBS-остатков сплайнов различных порядков (A): 1 – вторая производная, 2A-8A – NURBS-остатки сплайнов и 2B-8B – NURBS-остатки, нормированные ко второй производной модельного спектра поглощения с порядком от 2 до 8, соответственно; зависимость коэффициентов нормирования (k) – ■ (широкий столбец) и минимальной суммы квадратов (S) – ■ (узкий столбец) от порядка сплайна (B).
 d^2A – вторая производная, $\Delta A \times 0,001$ – NURBS-остатки, λ , нм – длина волны,
 k – коэффициент нормирования, $S \times 0,0001$ – минимальная сумма квадратов разностей между NURBS-остатками и второй производной; ось абсцисс на см. рис. B – порядок кривой NURBS

Использование сплайнов более высокого (чем 8) порядка нецелесообразно, из-за увеличения объемов вычислений и снижения динамики роста коэффициента k (см. рис. 2B). В данном случае предпочтительнее выполнить передискретизацию к большему шагу сетки, получить NURBS-кривую и восстановить ее опорные точки к исходному шагу, например кубической интерполяцией, что будет рассмотрено нами далее. При этом рост порядка сплайна делает NURBS сглаживающей аппроксимацией интегрального спектра, которая, в свою очередь, может быть использована в качестве фильтра низких частот, т.е. для устранения шумов спектра поглощения и его последующего дифференцирования. Предлагаемые приемы обработки спектров поглощения, связанные с передискретизацией и свойствами сглаживания NURBS-кривой, были успешно апробированы нами ранее [6].

Таким образом, в результате операций над модельным спектром поглощения установлено, что вторая производная этого спектра и NURBS-остатки могут быть сведены друг к другу через коэффициент пропорциональности, взятый с обратным знаком ($-k$), где степень соответствия остатков NURBS к производной будет определяться порядком ее базового сплайна.

Далее нами была проведена сравнительная оценка особенностей разрешения в спектрах поглощения белка (см. рис. 3A) путем вычисления второй производной его спектра (см. рис. 3B, поз. 1) и с помощью кривых NURBS (см. рис. 3B, поз. 1). Непосредственное дифференцирование исходного спектра поглощения и с применением NURBS-кривых 8 порядка с малым шагом опорных точек (0,2 нм – значение, при котором осуществлялась регистрация спектра) указывает на необходимость сглаживания исходного спектра поглощения белка, как минимум, кубическими сплайнами (CSS) из-за наличия случайных ошибок фотометрических измерений.

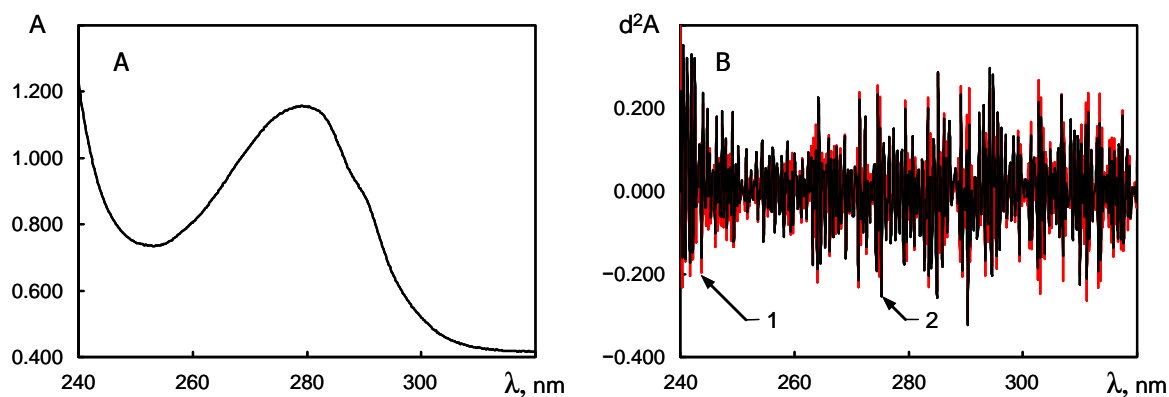


Рисунок 3 – Спектр поглощения бромелина (A); разрешение полос поглощения (B): с помощью второй производной – 1 и нормированных ко второй производной NURBS-остатков – 2.
A – поглощение, d^2A – вторая производная, λ , нм – длина волны

На рисунке 4 показаны вторые производные (поз. 1) и нормированные к ним NURBS-остатки (поз. 2) спектра поглощения бромелина после сглаживания кубическим сплайном (см. рис. 4A) и последующей низкочастотной фильтрацией окном Кайзера-Бесселя (Kaiser-Bessel Lowpass Filtering, KBLF, см. рис. 4B). В первом варианте из-за невысокого сглаживающего эффекта NURBS-кривой в данном конкретном случае амплитуда составляющей шумовой

компоненты выражена меньше, чем при дифференцировании, однако, по-прежнему, достаточно высока (см. рис. 4А). Следует отметить, что снижение порядка NURBS-сплайна приведет к еще большему уменьшению составляющей шумовой компоненты, т.к. NURBS-кривая при большом количестве узлов сетки и малом шаге будет фактически «копировать» исходный спектр. Для второго случая (см. рис. 4В) амплитуда шумовой составляющей уменьшилась (поз. 1 и 2) за счет эффективного сглаживания спектра поглощения посредством KBLF. Соответственно это минимизирует разницу между вариантами дифференцирования и применения NURBS-кривых. Положение пиков полос поглощения для всех представленных вариантов остается неизменным, также как и для рассмотренного ранее модельного спектра.

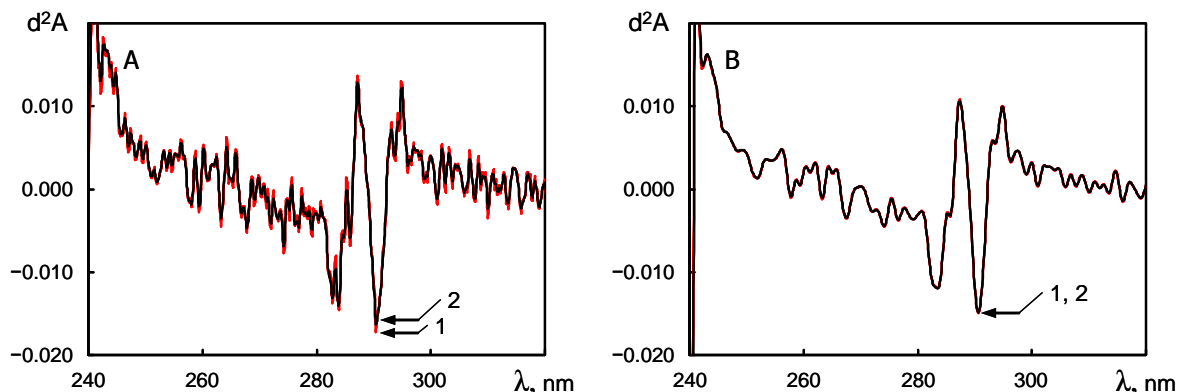


Рисунок 4 – Разрешение полос поглощения спектра молекулы бромелина после предварительного сглаживания кубическим сплайном (А) и последующей фильтрации окном Кайзера-Бесселя (В): с помощью второй производной – 1 и нормированных ко второй производной NURBS-остатков – 2.
 d^2A – вторая производная, λ , нм – длина волны

Из анализа этих данных следует, что использование кривых NURBS с малым шагом узлов сетки (несмотря на высокие порядки В-сплайна, вплоть до 8), при прочих равных условиях не дает ощутимых преимуществ по отношению к производной спектроскопии второго порядка.

Нами рассмотрены возможности применения NURBS с передискретизацией шага сетки. Для этого были изучены варианты кривых NURBS со следующими интервалами между контрольными узлами: 0,5 нм, 1,0 нм, 2,0 нм и 5,0 нм. В качестве анализируемого спектра поглощения выступил исходный, без обработки сглаживающими фильтрами, спектр светопоглощения бромелина.

Как следует из представленных графиков на см. рис. 5А, с увеличением шага сетки от 0,5 нм до 5,0 нм (поз. 1–4) растет отношение сигнал/шум и это значение становится приемлемым к интервалу в 5,0 нм (поз. 4). Последующее кубическое сглаживание (CSS) (см. рис. 5В, поз. 2) NURBS-остатков (поз. 1), полученных передискретизацией, дает возможность выявить и идентифицировать полосы поглощения спектра бромелина, которые принадлежат боковым группам фенилаланина (247,0 нм, 252,0 нм, 258,0 нм, 263,4 нм и 267,6 нм), а также тирозина и триптофана (273,2 нм, 283,0 нм и 291,4 нм).

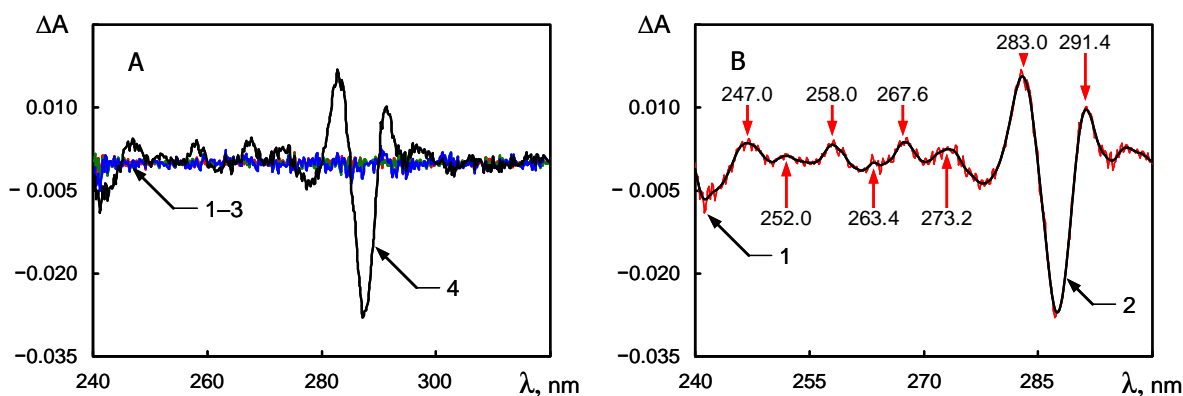


Рисунок 5 – Разрешение полос поглощения бромелина с помощью кривых NURBS (А): передискретизация 0,5 нм – 1, 1,0 нм – 2, 2,0 нм – 3 и 5,0 нм – 4; последующее сглаживание NURBS-остатков кубическим сплайном (В): исходные данные – 1 и результат сглаживания – 2.
 ΔA – NURBS-остатки, λ , нм – длина волны

В заключение следует отметить, что возможности NURBS-кривых, особенности их применения, а также

предлагаемого в настоящей работе метода анализа спектров поглощения полностью не раскрыты и требуют дальнейшего изучения.

Список литературы / References:

1. Голованов Н.Н. *Геометрическое моделирование*. Москва: Физматлит, 2002, 472 с. [Golovanov N.N. *Geometric modeling*. Moscow: Fizmatlit, 2002, 472 p. (In Russ.)]
2. Piegl L. & Tiller W. *The NURBS Book*. New York: Springer-Verlag, 1997, 327 p.
3. Talsky G. *Derivative Spectrophotometry. Low and Higher Order*. Weinheim: Verlagsgesellschaft VCH, 1994, 228 p.
4. Lavrinenko I.A., Vashanov G.A., Ruban M.K. Analysis of the Contribution of Chromophores in side Groups of Amino Acids to the Absorption Spectrum of Hemoglobin. *Journal of Applied Spectroscopy*. 2014, vol. 80, pp. 899-904.
5. Lavrinenko I.A., Vashanov G.A., Artyukhov V.G. Decomposition of the Hemoglobin UV Absorption Spectrum into the Absorption Spectra of a Prosthetic Group and Apoprotein Using an Additive Model. *Biophysics*, 2015, vol. 60, pp. 197-204.
6. Лавриненко И.А. Разрешение, идентификация и анализ перекрывающихся полос поглощения хромофоров некоторых простых и сложных белков в диапазоне длин волн 240-320 нм. *дис. ... канд. биол. наук*, Воронеж, 2015, 217 с. [Lavrinenko I.A. Resolution, identification and analysis of overlapping absorption bands of chromophores of some simple and complex proteins in the wavelength range 240-320 nm. *PhD Thesis*, Voronezh, 2015, 217 p. (In Russ.)]

ХИРАЛЬНЫЕ ИЕРАРХИИ БЕЛКОВЫХ СТРУКТУР КАК ИНСТРУМЕНТ ФОЛДИНГА

Е.В. Малышко, В.А. Твердислов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”
ул. Ленинские горы, д. 1, кор. 2, г. Москва, 119991, РФ
e-mail: katyamalyshko@mail.ru

Аннотация. Одна из базовых физических концепций молекулярной биофизики “белок – машина” основана на представлениях об иерархическом устройстве белковых макромолекул и наличии в них “выделенных механических степеней свободы”, конструктивно связанных с формированием вторичных и третичных структур в процессах фолдинга. Развивается концепция, согласно которой структурная иерархия и выделенные механические степени свободы образованы внутримолекулярными и межмолекулярными знакопеременными хиральными структурами, спиральями и суперспиральями. В качестве системного фактора выявлено закономерное чередование знака хиральности L-D-L-D при переходе на более высокий уровень структурно-функциональной организации белковых макромолекул. Составлена периодическая таблица суперспиральных структур в белках, предложена термодинамическая модель фолдинга, учитывающая знакопеременное хиральное структурирование. С учетом хиральной противофазности структурных уровней белков и ДНК обсуждается возможность представления системы биологических макромолекул как периодической системы.

Ключевые слова: хиральность, белки, нуклеиновые кислоты, иерархии структур, фолдинг, периодическая система биомолекул.

CHIRAL HIERARCHIES OF PROTEIN STRUCTURES AS AN INSTRUMENT OF FOLDING

E.V. Malyshko, V.A. Tverdislov

M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Chair of Biophysics
GSP-1, 1-2 Leninskiye Gory, Moscow, 119991, Russia
e-mail: katyamalyshko@mail.ru

Abstract. One of the basic physical concepts of molecular biophysics "protein-machine" is based on the ideas of a hierarchical arrangement of protein macromolecules and the presence of "selected mechanical degrees of freedom" in them structurally associated with the formation of secondary and tertiary structures in folding processes. We develop a concept according to which the structural hierarchy and the selected mechanical degrees of freedom are formed by intramolecular and intermolecular alternating chiral structures, helices and supercoils. Regular alternation of the chirality sense is revealed in transitions from the lowest to higher level of structural and functional organization in protein macromolecules where it is L-D-L-D. A periodic table of supercoiled structures in proteins is made and a thermodynamic folding model that takes into account alternating chiral structuring is proposed. The possibility of representing a system of biological macromolecules as a periodic system is discussed according to chiral antiphase of structural levels in proteins and DNA macromolecules.

Key words: chirality, nucleic acids, proteins, structural hierarchies, folding, periodic system of biomacromolecules.

Одним из важнейших физических инструментов, обусловивших естественный переход материи из неживой природы в живую, стало явление хиральности, важность которого для органического мира сравнима с понятием спина в квантово-размерных системах. Подобно спину в атомах и молекулах, хиральность послужила инструментом структурной стратификации в макромолекулярных биологических системах, в свою очередь предопределившей возможность детерминированной самосборки молекул и формированию из них молекулярных машин. Нам