

**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биофизики**

Г. Г. Мартинович

ФИЗИКА БИОСИСТЕМ

**Конспект лекций
для студентов специальности
1-31 04 01 «Физика (по направлениям)»,
1-31 04 01-01 «Физика
(научно-исследовательская деятельность)»**

**МИНСК
2022**

УДК 577.35(075.8)
ББК 28.071я73-2
М29

Рекомендовано советом
физического факультета БГУ
27 января 2022 г., протокол № 6

Р е ц е н з е н т
доктор биологических наук, доцент *Д. Г. Щербин*

Физика биосистем : конспект лекций / Г. Г. Мартинович. –
М29 Минск : БГУ, 2022. – 82 с.

Изложены современные представления о физических основах строения и функционирования обширного класса материальных объектов – биосистем. Основное внимание уделяется выводам уравнений, характеризующим закономерности процессов электрогенеза и транспорта в биосистемах.

УДК 577.35(075.8)
ББК 28.071я73-2

© БГУ, 2022

ВВЕДЕНИЕ

Курс «Физика биосистем» является введением в ту область знаний о живой природе, которая изучается *биофизикой*. Биофизика относится к группе «науки о жизни» – приоритетному направлению развития науки и технологии, объединяющему фундаментальные исследования, нацеленные на понимание и использование живых систем и их компонентов.

Термин «науки о жизни» – часто используемый аналог англоязычного термина «life sciences» – понимается в настоящее время гораздо шире, чем термин «биологические науки». Науки о жизни – это не только науки, изучающие жизнь и живые организмы, включая их структуру, функции, происхождение, эволюцию и распространение. Науки о жизни включают также смежные с биологией науки, использующие биологические системы как материалы и компоненты для создания новых диагностических, технологических устройств, сенсорных систем и т.д.

В XXI в. состояние развития наук о жизни характеризуется пониманием строения и функционирования живых систем на молекулярном уровне. Следующий шаг в понимании живых систем – это переход на субмолекулярный электронный уровень, который невозможно сделать без достижений современной физики.

Объектом исследования наук о жизни являются *живые системы* и их компоненты.

Живые системы – это многоуровневые диссипативные структуры, находящиеся вдали от положения термодинамического равновесия, способные к преобразованию энергии, самовоспроизводству, самообучению, к рецепции и генерации информации с оценкой ее ценности на каждом уровне организации и проходящие необратимый путь индивидуального и информационного развития.

Биофизика – это наука, изучающая физические и физико-химические основы строения и функционирования живых систем. Важнейшей задачей биофизики является изучение и объяснение структуры живых организмов и механизмов жизненных процессов. В основе биологических свойств и биохимических процессов живых систем лежат фундаментальные физические процессы, поэтому биофизика составляет теоретическую основу для развития наук о жизни.

Области исследования биофизики подразделяются на молекулярную биофизику, клеточную биофизику и биофизику сложных систем. Молекулярная биофизика изучает наноразмерные макромолекулы и

сравнимые по размерам надмолекулярные структуры. Биофизика клетки изучает физические явления и структуры в масштабе клеток, в том числе структурную организацию мембран и клеток и процессы в них. В биофизике сложных систем исследуются физические механизмы, объясняющие поведение и функционирование живых организмов, а также механизмы отклика живых организмов на физические воздействия.

Биофизика как междисциплинарная наука фокусирует внимание на физических принципах, идеях и методах, определяющих развитие современных научных направлений наук о жизни, включая новые области знаний, такие как наномедицина, биомолекулярная электроника, нанобиомеханика, синтетическая биология и др.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ СИСТЕМ. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ВОДЫ

Живые организмы имеют определенный химический состав. Из всего многообразия химических элементов в них обнаружено около 60 элементов, однако только 30 химических элементов имеют биологическое значение. Соотношение химических элементов в живых организмах отличается от их соотношения в объектах неживой природы. Например, в земной коре наиболее распространены кремний (Si), алюминий (Al), кислород (O) и натрий (Na) (около 90%), а живые организмы почти на 98% состоят из водорода (H), кислорода, азота (N) и углерода (C). Эти элементы способны соответственно образовывать одну, две, три и четыре устойчивые связи, в соответствии с общим правилом, чем легче элемент, тем более прочные связи он образует. В теле человека доля кислорода составляет 65%, углерода – 18%, водорода – 10% и азота – 3%.

Все химические элементы содержатся в организме или в виде ионов (катионов и анионов), или входят в состав химических соединений, как неорганических, так и органических. *Неорганическими* соединениями клетки являются вода и минеральные соли. Основными *органическими* соединениями являются белки, углеводы, липиды и нуклеиновые кислоты.

В зависимости от процентного соотношения в живых организмах химические элементы можно разделить на макроэлементы и микроэлементы. К *макроэлементам*, на долю которых приходится более 99% массы, относятся основные элементы органических молекул (углерод, кислород, водород, азот, фосфор (P) и сера (S)) и основные

ионы внеклеточной и внутриклеточной среды (Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} и Ca^{2+}).

К микроэлементам относятся железо (Fe), марганец (Mn), медь (Cu), молибден (Mo), цинк (Zn), йод (I), бор (B), кремний (Si), кобальт (Co), ванадий (V), селен (Se) и др. Их содержание в клетках – не более 0,01%. Ионы микроэлементов необходимы для функционирования специфических белков, включая ферменты.

Процентное содержание химических элементов в клетке не позволяет однозначно судить о их биологическом значении. Например, способность гемоглобина переносить кислород зависит от содержания 4 ионов железа, которые составляют лишь 0,3% от массы молекулы.

Структура и свойства воды. Высокое содержание кислорода и водорода в живых системах обусловлено тем, что водород и кислород являются составными элементами воды, на которую приходится 70-80% массы клетки. Вода составляет примерно 3/4 биомассы Земли, являясь самым простым химическим соединением, входящим в состав живых организмов. По количественному содержанию в клетке она занимает первое место, а в организмах ее в целом в 5 раз больше, чем во всех реках земного шара. У разных организмов и в разных тканях животных и растений содержание воды может сильно варьироваться. Около 60% массы тела взрослого человека (у мужчин – 61%, у женщин – 54%) приходится на долю воды. Вода входит в состав всех тканей человеческого тела: в крови ее около 81%, в мышцах – 75%, в костях – 20%.

Существует зависимость между интенсивностью обмена веществ и содержанием воды в органах и тканях, что свидетельствует о большой биологической роли воды. При снижении интенсивности обмена веществ у животных, например, при анабиозе, количество воды уменьшается. Уменьшается оно и с возрастом. Чем моложе организм или орган, тем больше в нем воды. У новорожденного ребенка содержание воды достигает 77%, в старческом возрасте снижается до 50%. Очевидно, что одной из причин снижения интенсивности обмена веществ является снижение содержания воды в организме. В процессе старения происходит постепенное обезвоживание организма.

Вода является аномальной жидкостью. По сравнению с другими жидкостями вода имеет необычно высокие температуру плавления и кипения, теплоту испарения, удельную теплоемкость, теплоту плавления, большое поверхностное натяжение и высокое значение диэлектрической проницаемости. Самое удивительное свойство воды – способность при нормальных условиях быть жидкостью. Из таблицы Менделеева следует, что свойства гидридов IV группы (H_2Po , H_2Te ,

H_2Se , H_2S , H_2O) с ростом массы атомов должны изменяться монотонно. Сопоставление температур плавления и кипения гидридов IV группы показывает, что вода должна плавиться при температуре -95°C , а закипать при -80°C , то есть существовать в жидком виде в диапазоне всего лишь 15°C .

Многообразие свойств воды и необычность их проявления определяется ее физической природой. Межъядерные расстояния O–H близки к 0,1 нм, расстояние между ядрами атомов водорода равно примерно 0,15 нм. Валентный угол HOH близок к тетраэдрическому ($104,31^\circ$). В соответствии с электронным строением атомов водорода и кислорода молекула воды располагает пятью электронными парами. Внутренняя электронная пара кислорода равномерно обрамляет ядро. Четыре внешних электрона группируются в две электронные пары, тяготеющие к ядру, но частично не скомпенсированные. Каждый из оставшихся двух электронов кислорода образует пару с одним электроном водорода. Электроны, образующие связи O–H, смещены к более электроотрицательному атому кислорода. В результате в молекуле воды формируются четыре полюса зарядов: два отрицательных за счет избытка электронной плотности у атома кислорода и два положительных у протонов. Благодаря такому строению, вода является диполем с дипольным моментом 1,86 Д (6×10^{-30} Кл·м). Между диполями молекул воды возникают слабые электростатические взаимодействия, называемые *водородными* связями. Именно способностью воды образовывать водородные связи и объясняется большинство её необычных физических свойств.

Водородная связь образуется в результате электростатического взаимодействия между электроотрицательным атомом (в биосистемах – O, N) и атомом водорода, ковалентно связанным с другим электроотрицательным атомом. Энергия водородной связи значительно меньше энергии обычной ковалентной связи (как правило не более 40 кДж/моль). Однако силы водородной связи достаточно для образования определенной пространственной молекулярной структуры воды. Поскольку электронные орбитали в каждой молекуле воды образуют тетраэдрическую структуру, водородные связи могут упорядочить расположение молекул воды в виде тетраэдрических координированных ассоциатов (рис. 1).

На линии между атомами кислорода разных молекул воды находится один атом водорода. Молекулы воды способны выступать одновременно донором и акцептором для образования водородной связи, в результате чего могут образоваться четыре водородные связи с соседними

молекулами. Координационное число воды в твердой фазе равно 4. При нарушениях правильной гексагональной структуры воды увеличивается число соседних молекул, окружающих данную молекулу. Поэтому координационное число воды в жидкой фазе выше, чем в кристаллической, и приблизительно равно 4,4.

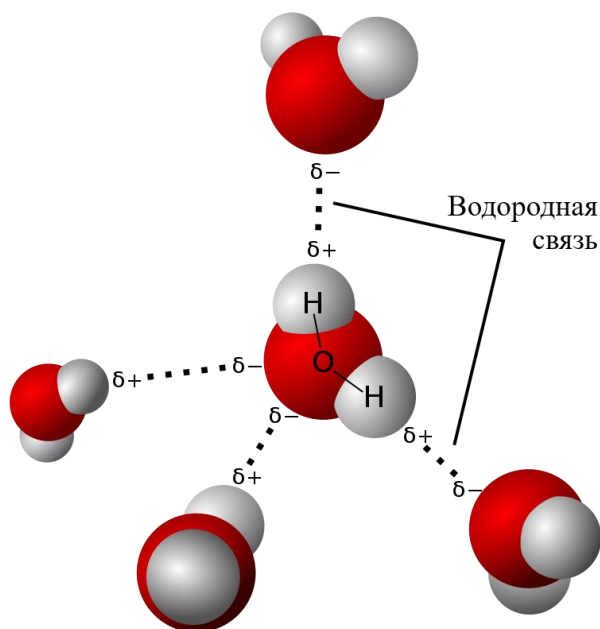


Рис. 1. Водородные связи между молекулами воды

Водородная связь играет важную роль и в процессах растворения, так как растворимость зависит от способности вещества образовывать водородные связи с растворителем. Образование упорядоченной структуры воды вызывает уменьшение энтропии ($\Delta S < 0$), что термодинамически не выгодно. Однако это явление сопровождается образованием водородных связей, что приводит к уменьшению энтальпии ($\Delta H < 0$), причем ($|\Delta H| > |T\Delta S|$). Таким образом, изменение свободной энергии Гиббса

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S < 0,$$

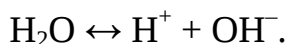
т.е. данный процесс является самопроизвольным.

При растворении веществ в результате образования сольватированных оболочек также происходит упорядочение структуры воды, то есть энтропия уменьшается ($\Delta S < 0$). При этом, образование дополнительных водородных связей с гидрофильными соединениями приводит к снижению энтальпии ($\Delta H < 0$), однако в случае растворения неполярных соединений причем ($|\Delta H| < |T\Delta S|$), т.е.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S > 0.$$

Таким образом молекулам неполярных веществ термодинамически выгоднее взаимодействовать друг с другом, чем с водой. Вследствие этого неполярные соединения будут выталкиваться из воды и образовывать ассоциаты. Это явление называется *гидрофобным эффектом*.

Электролитические свойств воды. pH. Вода является слабым электролитом и диссоциирует на ионы H^+ и OH^- . В простейшем случае диссоциацию воды можно описать схемой:



Однако следует отметить, что свободных протонов в водных растворах не существует. Образующий при диссоциации воды H^+ акцептируется другой молекулой воды, образуя ион гидроксония H_3O^+ .

Константа равновесия в уравнении диссоциации называется константой диссоциации. Для воды константа диссоциации

$$k_d = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} = 1,8 \cdot 10^{-16} \text{ моль/л.}$$

Поскольку степень диссоциации воды чрезвычайно мала (при 18°C $\alpha = 1,5 \cdot 10^{-9}$), то молярная концентрация воды в воде практически неизменна и равна 55,56 моль/л, т.е.

$$[\text{H}_2\text{O}] = 1000 : 18 \approx 55,5 \text{ моль/л.}$$

Тогда выражение для k_d можно записать в виде:

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = [\text{H}_2\text{O}] \cdot k_d.$$

Записанное в левой части данного выражения произведение называется *ионным произведением воды*. При 298 К оно равно 10^{-14} моль²/л².

Прологарифмируем полученное выражение:

$$\lg[\text{H}^+] + \lg[\text{OH}^-] = -14.$$

Если концентрации ионов H^+ и OH^- равны, то такой раствор называется нейтральным. Для нейтрального раствора

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ моль/л или}$$

$$\lg[\text{H}^+] = \lg[\text{OH}^-] = -7.$$

Величина отрицательного десятичного логарифма молярной концентрации ионов водорода обозначается как

$$\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$$

и называется *водородным показателем среды*. Для нейтральной среды pH 7, для кислой среды $\text{pH} < 7$, а для щелочной $\text{pH} > 7$.

Измерение pH является одной из наиболее важных процедур в биохимии, медицине, поскольку от величины pH зависят многие

структурные особенности и функциональные свойства биомакромолекул, например, каталитическая активность ферментов.

Нормальная величина рН крови 7,4. У людей, страдающих диабетом, значение рН крови снижено по сравнению с нормальной величиной. Такое состояние называется *ацидозом*. При некоторых других заболеваниях величина рН крови может быть выше нормы – состояние, называемое *алкалозом*.

КЛЕТКА И КЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ: СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ

Фундаментальной, структурной и функциональной единицей живых систем является клетка. То есть клетка – это элементарная живая система, основа строения и жизнедеятельности всех организмов. Существующие в настоящее время организмы подразделяются на две большие группы – прокариоты и эукариоты. К прокариотам относятся бактерии, а к эукариотам – грибы, растения и животные, большинство из которых являются многоклеточными организмами и только некоторые – одноклеточными. Одноклеточных организмов по числу гораздо больше, чем многоклеточных.

Все типы клеток имеет три общие компоненты: плазматическую мембрану, область, содержащую ДНК, и цитоплазму. Простейшими клетками являются клетки прокариотов, более сложными – клетки тканей животных и растений. Прокариотические клетки имеют относительно малые размеры (1–5 мкм) и содержат генетический материал в форме отдельного филамента ДНК. Свое название эти клетки получили из-за отсутствия ядра (или кариона). Наиболее простое строение имеют микоплазмы, размером до 0,3 мкм в диаметре и содержащие нуклеиновую кислоту в количестве, достаточном для синтеза приблизительно 800 белков.

Эукариотические клетки гораздо больше по размерам, чем прокариотические клетки – их диаметр варьирует от 10 мкм до нескольких мм (наибольшие среди них яйцеклетки). Средний диаметр эукариотических клеток – 30-60 мкм. Приблизительное соотношение объемов типичных эукариот и прокариот составляет 2000:1. Целесообразность больших размеров эукариот обусловлена наличием у них внутриклеточных структурных образований – органелл и внутренних компартментов, отсутствующих у прокариотических клеток.

Величина отношения площади поверхности клетки к ее объему является характеристикой, связующей транспорт веществ через

мембраны с активностью процессов в клетках (метаболизмом). Если клетка имеет сферическую форму с радиусом R , то эта величина равна

$$4\pi R^2 : (4/3)\pi R^3 = 3/R.$$

Когда клетка расширяется в диаметре, ее объем увеличивается более быстро, чем площадь поверхности. Вероятно, нижний предел размеров клетки устанавливается минимальным числом каждого типа биомолекул, требуемых для клетки, а верхний предел – скоростью диффузии растворенных молекул в водных системах. Например, для обеспечения энергией аэробных организмов необходимо окисление питательных веществ кислородом, который поступает в клетку через плазматическую мембрану. При увеличении размеров клетки отношение площади поверхности к объему снижается, и, как следствие, метаболическая утилизации кислорода идет быстрее, чем восполнение его концентрации в клетке вследствие диффузии. Таким образом, метаболизм, требующий кислорода, становится невозможным в тех случаях, когда размеры клетки превышают конкретную величину, определяя теоретический верхний предел размеров клетки.

Эукариотические клетки (содержащие карион) являются структурными элементами всех многоклеточных организмов. В структуре эукариот выделяют ряд важных компартментов, среди которых следует упомянуть *ядро*, *митохондрии*, *эндоплазматический ретикулум*, *аппарат Гольджи* и *лизосомы* (рис. 2). Растительные клетки также содержат хлоропласты, которые наряду с митохондриями относятся к энергопреобразующим органеллам. Внутренний объем клетки заполнен *цитоплазмой*, содержащей многочисленные растворимые компоненты.

Цитоплазма эукариотических клеток пронизана трехмерной сеткой из белковых нитей (филаментов), называемой *цитоскелетом*. В зависимости от диаметра филаменты разделяются на три группы: *микрофиламенты* (6-8 нм), *промежуточные волокна* (около 10 нм) и *микротрубочки* (около 25 нм). Все эти волокна представляют собой полимеры, состоящие из субъединиц особых глобулярных белков.

Цитоскелет служит клетке механическим каркасом, который придает клетке типическую форму и обеспечивает связь между мембраной и органеллами. Наряду с этим, компоненты цитоскелета определяют направление и координируют движение, деление, изменение формы клеток в процессе роста, перемещение органелл, движение цитоплазмы.

Наиболее крупной (диаметром около 5-10 мкм) органеллой эукариотической клетки является ядро. Оно отделено от остальной клетки оболочкой, состоящей из внутренней и внешней ядерных

мембран. В ядре расположен почти весь генетический материал клетки в форме ДНК-содержащих хромосом. ДНК в комбинации с гистоновыми белками составляет хроматин.

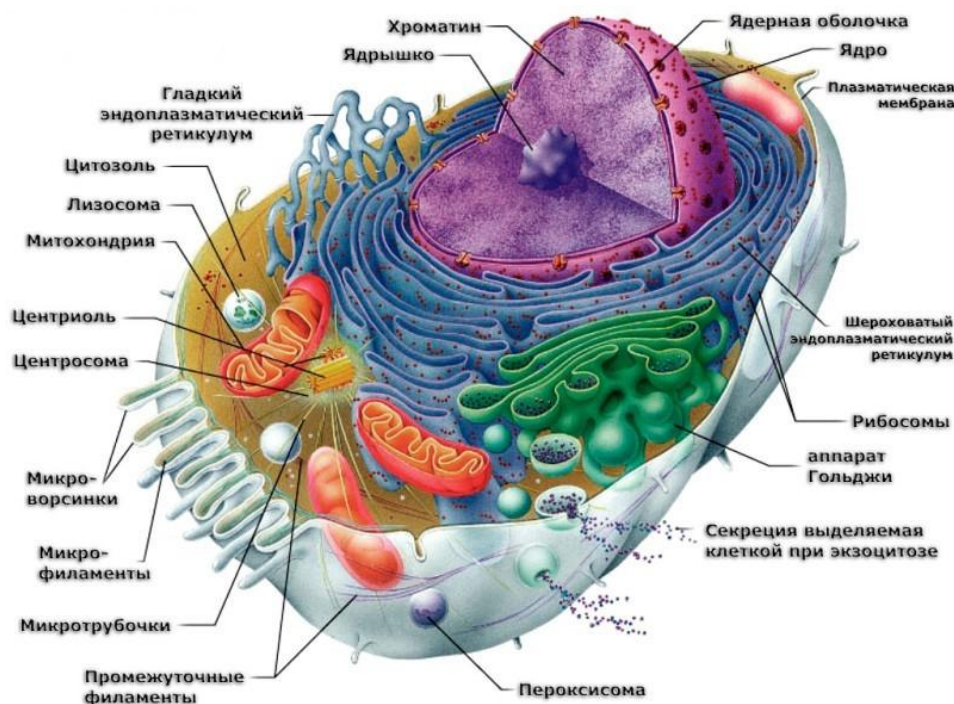


Рис. 2. Схематическое изображение эукариотической клетки

Внешняя мембрана ядра связана с мембранами эндоплазматического ретикулума, представляющего собой замкнутую систему связанных друг с другом трубкообразных полостей и мешочков, составляющую единое целое с перинуклеарным пространством.

Эндоплазматический ретикулум бывает гладким и шероховатым. Мембраны шероховатого эндоплазматического ретикулума содержат множеством рибосом — надмолекулярных структур, участвующих в биосинтезе белка. В эндоплазматическом ретикулуме синтезируются белки, которые будут функционировать в составе мембран, лизосом или секретироваться из клетки. Остальные белки синтезируются в цитоплазме на рибосомах, не связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума.

Гладкий эндоплазматический ретикулум не имеет связанных рибосом и занимает в клетке сравнительно небольшой объем. В мембране гладкого эндоплазматического ретикулума локализована система микросомального окисления, участвующая в метаболизме физиологических соединений и детоксикации гидрофобных

ксенобиотиков (чужеродных веществ). Мембрана гладкого эндоплазматического ретикулума также содержит ферменты, участвующие в синтезе жирных кислот и фосфолипидов. В мембране эндоплазматического ретикулума образуются почти все липиды, необходимые для построения новых клеточных мембран, включая фосфолипиды и стероиды.

Подобно эндоплазматическому ретикулуму, аппарат Гольджи представляет собой сложную сеть ограниченных мембранами полостей, имеющих форму диска и являющихся местом посттрансляционной модификации и сортировки белков. Основу аппарата Гольджи составляют мембранные структуры, называемые диктиосомами. В диктиосоме плотно друг к другу (на расстоянии 20-25 нм) расположены в виде стопки плоские мембранные мешки, или цистерны диаметром около 1 мкм. Количество таких мешков в одной диктиосоме может достигать 20 штук. Если диктиосомы расположены независимо друг от друга, то такая структура аппарата Гольджи называется диффузной. Если диктиосомы связаны между собой каналами в единую трехмерную систему, то такая структура называется сетчатой.

Наиболее важными в клеточном метаболизме являются митохондрии, представляющие собой органеллы, по размерам приближающиеся к бактериям (около 1х2 мкм). Они найдены в большом количестве почти во всех эукариотических клетках. Обычно в эукариотической клетке содержится около 2000 митохондрий, общий объем которых составляет до 25 % объема клетки. Каждая митохондрия ограничена двумя мембранами – гладкой внешней и складчатой внутренней. Складки внутренней мембраны входят в глубь митохондрий, образуя поперечные перегородки – кристы. Внешняя мембрана, как и внутренняя, имеет толщину около 6 нм. Мембраны отделены друг от друга межмембранным пространством толщиной около 5–10 нм. Внутренняя поверхность мембран, незаполненная кристами, называется матриксом. Главной функцией митохондрий является захват богатых энергией субстратов (жирные кислоты, пируват, аминокислоты) из цитоплазмы и их окислительное расщепление с образованием CO_2 и H_2O , сопряженное с синтезом основного переносчика химической энергии между внутриклеточными компонентами – аденозин-5'-трифосфата (АТФ).

Лизосомы – это органеллы диаметром 0,1–2,0 мкм, основная функция которых заключается в расщеплении клеточных компонентов и биомакромолекул. Обычно клетка содержит несколько сотен лизосом. Деградация клеточных компонентов достигается за счет присутствия в лизосомах около 60 типов различных расщепляющих ферментов –

гидролаз (протеиназ, нуклеаз, гликозидаз, фосфорилаз, фосфатаз, сульфатаз), максимальная активность которых достигается при pH 5,0.

В мембране лизосом находятся АТФ-зависимые протонные насосы – H^+ -АТФазы, при функционировании которых на мембране лизосом создается градиент электрохимического потенциала протонов. Внутренняя среда лизосом имеет pH 5,0, в то время как в цитоплазме pH 7,0–7,3. При pH, характерных для цитоплазмы, лизосомные ферменты обладают низкой активностью. Очевидно, это служит механизмом защиты клеток от самопереваривания в том случае, если лизосомный фермент случайно попадает в цитоплазму. Кроме того, липиды и белки лизосомной мембраны содержат олигосахариды, которые препятствуют взаимодействию лизосомных ферментов с мембранами лизосом.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. ФОЛДИНГ

Белки являются главной составной частью живых организмов и молекулярной основой процессов жизнедеятельности. Практически все биологические процессы протекают с участием белков. С точки зрения физики **белки** выступают как *биомолекулярные наноустройства, способные использовать энергию экзергонических процессов для совершения полезной работы.*

Белки являются высокомолекулярными природными полимерами, состоящие из аминокислот, соединенных пептидной связью. Аминокислоты – это органические кислоты, содержащие одну или несколько аминогрупп (рис. 3). Аминогруппа может быть присоединена к первому за карбоксильной группой атому углерода, или ко второму атому и т.д. Атомы углерода нумеруются греческими буквами, и в зависимости от того, к какому по порядку атому присоединена аминокислота, её называют α -аминокислота, β -аминокислота и т.д. В состав белков входят только α -аминокислоты.

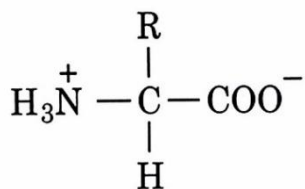


Рис. 3. Общая схема строения аминокислот

У α -аминокислот с α -углеродом связана карбоксильная группа, водород и аминокислотный остаток. Карбоксильная группа в водном растворе диссоциирует на ионы с образованием протона и отрицательно

заряженной группы COO^- , а аминогруппа (NH_2) присоединяет протон и становится положительно заряженной. Таким образом, в водном растворе аминокислоты находятся в виде цвиттер-ионов (диполярных ионов).

В состав белков входит 20 аминокислот (точнее, 19 аминокислот и одна иминокислота – пролин), которых иногда называют протеиногенными аминокислотами. Все протеиногенные аминокислоты, за исключением глицина имеют ассиметричные (хиральные) атомы углерода и различаются своей пространственной конфигурацией, т.е. являются энантиомерами. Энантиомерами называют стереоизомеры, которые являются зеркальными отражениями друг друга. На основе направления поворота плоскости поляризации проходящего через стереоизомеры света энантиомеры разделяются на D-изомеры и L-изомеры. Все хиральные аминокислоты в составе белков – L-изомеры. D-изомеры встречаются довольно редко и имеют определённые функции, например, могут входить в состав антибиотиков.

Аминокислоты подразделяют на: неполярные (глицин, пролин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин), ароматические (фенилаланин, тирозин, триптофан), полярные незаряженные (серин, треонин, цистеин, аспарагин, глутамин), заряженные отрицательно (аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота) и положительно (лизин, аргинин и гистидин)).

Выделяют первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуру белка. *Первичной* структурой белка называется последовательность расположения аминокислот в полипептидной цепи. Макромолекулы белков состоят из одной или нескольких полипептидных цепей, построенных из аминокислотных остатков. Концевой аминокислотный остаток, содержащий свободную NH_2 -группу, называют N-концевым остатком (N-концом), а содержащий свободную COOH -группу – С-концевым остатком (С-концом). Аминокислоты соединяются в полипептид с помощью ковалентных пептидных связей.

Электронная конфигурация пептидной группы описывается резонансом двух структур, одна из которых содержит двойную связь (I и II на рис. 4). Причиной резонанса является делокализованность электронной плотности между азотом и углеродом. В пептидной группе $-\text{CO}-\text{NH}-$ углеродный атом существует в форме sp^2 -гибридизации. Неподделенная пара электронов атома азота сопрягается с π -электронами двойной связи между углеродом и кислородом. В итоге электронная плотность пептидной группы смещается к кислороду. В результате

такого сопряжения выравниваются длины связей внутри радикала. Таким образом, пептидная связь за счет резонанса канонических структур, охватывающего все четыре атома пептидной группы ($\text{H}-\text{N}-\text{C}=\text{O}$), обеспечивает жёсткость связи, как если бы она была двойной.

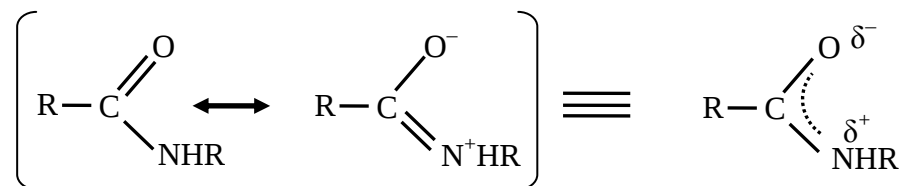


Рис. 4. Электронная конфигурация пептидной группы

Все четыре атома, образующие пептидную связь, лежат в одной плоскости (рис. 5). В случае полипептида вращение возможно вокруг связи около азота ($\text{N}-\text{C}$, угол вращения обозначен как ϕ) или между углеродами каждого пептидного звена ($\text{C}-\text{C}$, угол вращения обозначен как ψ), но затруднено в месте соединения звеньев из-за их частично двойного характера связи. Типичная величина энергетического барьера вращения вокруг $\text{C}-\text{N}$ -связи (ΔG) около 80 кДж/моль.



Рис. 5. Пространственное строение пептидной группы

Заряды на атомах пептидной связи перераспределены и, следовательно, имеют тенденцию к формированию водородных связей. Группа $\text{H}-\text{N}$ становится потенциальным донором водородной связи, а группа $\text{O}=\text{C}$ – её акцептором. Возникновение водородных связей между этими группами приводит к формированию вторичных структур белка.

Вторичной структурой белка называется упорядоченное строение полипептидных цепей, обусловленное водородными связями между группами $\text{C}=\text{O}$ и $\text{N}-\text{H}$ разных аминокислот.

Одним из основных элементов вторичной структуры белков является α -спираль. Альфа-спираль – это правозакрученная спираль, содержащая 3,6 аминокислотного остатка на виток и с периодом повторяемости

0,54 нм. Вторым элементом вторичной структуры белков является β -структура или β -нить (рис. 6). Остов полипептидной цепи в β -структуре вытянут таким образом, что имеет уже не спиральную, а зигзагообразную, гофрированную форму. Для β -структуры характерно отсутствие внутрицепочечных водородных связей. Вместо них образуются межцепочечные водородные связи между пептидными группами соседних полипептидных цепей.

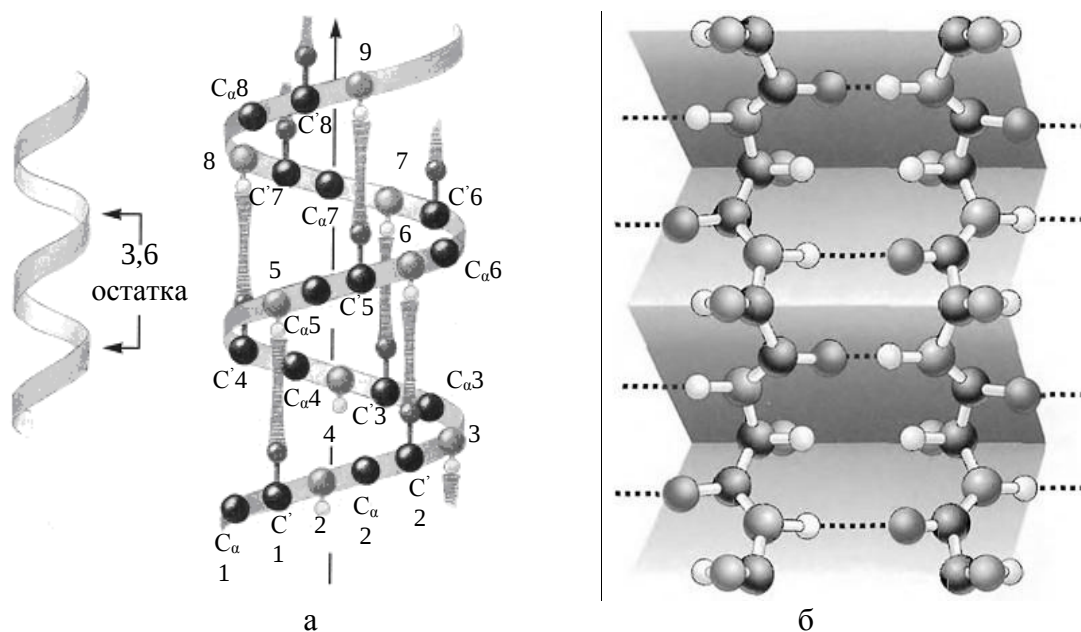


Рис. 6. Структура α -спирали (а) и β -нитей (б)

Укладка вторичных структур в глобулу приводит к формированию третичной структуры. Третичной структурой белка называется пространственная структура полипептидной цепи. Стабилизация элементов третичной структуры в белковой глобуле обеспечивается взаимодействиями между боковыми радикалами аминокислот между собой и окружающими молекулами растворителя.

При взаимодействии с окружающими молекулами воды молекула белка сворачивается так, чтобы неполярные боковые группы аминокислот оказались изолированы от водного раствора; на поверхности молекулы оказываются полярные гидрофильные боковые группы. В гидрофобной области биологических мембран, наоборот, на поверхности белковой молекулы оказываются неполярные гидрофобные боковые группы.

Основными взаимодействиями, стабилизирующую структура белка, являются ковалентные связи (дисульфидные мостики между двумя остатками цистеина), электростатические взаимодействия (ионные связи)

между противоположно заряженными боковыми группами аминокислотных остатков, водородные связи и гидрофобные взаимодействия (рис. 7).

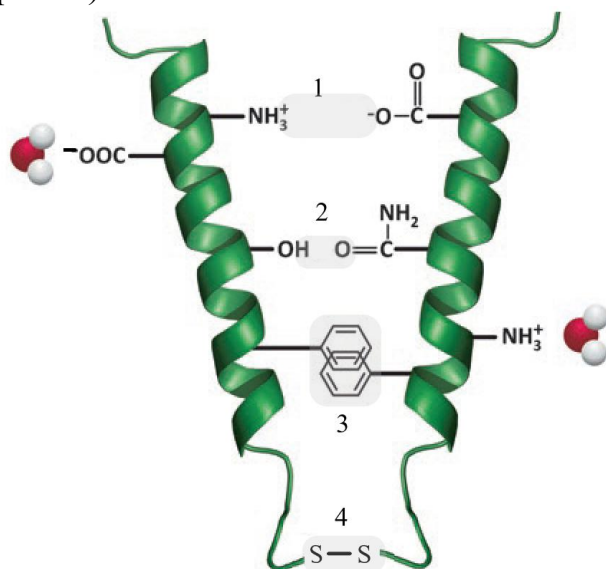


Рис. 7. Связи, стабилизирующие третичную структуру белка:

- 1) электростатическое взаимодействие; 2) водородная связь; 3) гидрофобное взаимодействие; 4) дисульфидная связь

Взаимное расположение нескольких полипептидных цепей в составе единого белкового комплекса определяет *четвертичную* структуру белка. В стабилизации четвертичной структуры принимают участие те же типы взаимодействий, что и в стабилизации третичной. Кроме этого некоторые типы белков могут объединяться в более сложные надмолекулярные белковые структуры, состоящие из десятков белков одного или нескольких типов.

Белки являются главной составной частью живых организмов и молекулярной основой процессов жизнедеятельности. Практически все биологические процессы протекают с участием белков. Они обеспечивают протекание биохимических процессов, преобразование энергии, передачу и обработку информации, транспорт веществ и многие другие функции. В зависимости от выполняемых функций белки подразделяются на структурные, сократительные, транспортные, защитные, рецепторные, сигнальные, каталитические и др.

Фолдинг белка. Функционирование белков в живых системах определяется их пространственной структурой. Вся необходимая для построения трехмерной структуры белка информация содержится в химической последовательности аминокислот в его цепи. Если синтез полипептидной цепи – это биохимический процесс, то сворачивание

белка в трехмерную структуру – физический процесс. В клетках процесс сворачивания белка регулируется набором определенных молекулярных механизмов (шапероны, изомеразы и др.). Физико-химический процесс сворачивания полипептидной цепи в уникальную трехмерную структуру, в результате которого белок приобретает характерный только для него тип функционирования называется *фолдингом*.

В растворе процесс сворачивания полипептидной цепи может быть запущен подбором соответствующих внешних условий. Явление самопроизвольного формирования третичной структуры после денатурации (рефолдинг) впервые было показано на примере панкреатической рибонуклеазы А в экспериментах К.Анфинсена, за которые он был удостоен Нобелевской премии по химии в 1972 г.

С термодинамической точки зрения самоорганизация белка является переходом белковой молекулы в наиболее статистически вероятную конформацию. Самоорганизация трехмерной структуры белков возникает из стремления молекул к термодинамическому равновесию, что принципиально отличает ее от самоорганизации в неравновесных, работающих на потоке энергии в системах. Основную проблему самоорганизации белков сформулировал С.Левинталь в форме парадокса, получившего его имя.

Парадокс заключается в следующем. С одной стороны, нативная пространственная структура по всем тестам ведет себя как самая стабильная из всех структур цепи. С другой стороны, нет никаких гарантий, что эта структура самая стабильная из всех возможных, поскольку не существует возможности проверить это. Согласно Левинталю, если бы молекула белка длиной хотя бы 100 аминокислотных остатков «перебирала» все возможные конформации, прежде чем свернуться в нативную форму, этот процесс потребовал бы времени, превышающего время существования Вселенной. В действительности максимальное время сворачивания ограничивается минутами, типичное время – порядка нескольких мс.

Левинталь предположил, что при выборе «нужной» структуры среди бесчисленного множества возможных самоорганизующийся белок следует по какому-то специальному «пути сворачивания», и та структура, где этот путь заканчивается, и является его нативной структурой. Таким образом, уникальная трехмерная структура белка соответствует не глобальному, а просто быстро достижимому минимуму свободной энергии цепи. В аминокислотной последовательности запрограммирована не только структура нативного состояния белка, но и путь его достижения.

Основной движущей силой в формировании трехмерной структуры является взаимодействие радикалов аминокислот с молекулами воды. Энергия, которая выделяется при образовании внутрибелковых контактов и высвобождении молекул связанной воды расходуется на сворачивание цепи в компактную форму. Образование нативной конформации представляет собой результат сбалансированного действия целого ряда энергетических и энтропийных факторов.

При сворачивании белковой цепи из-за роста упорядоченности происходит уменьшение энтропии полипептидной цепочки ($\Delta S_b < 0$). Это термодинамически невыгодно, так как увеличивает свободную энергию белка за счет положительного члена ($-T\Delta S_b > 0$). Однако формирование трёхмерной структуры белка сопровождается также снижением энтальпии системы за счёт образования внутримолекулярных ковалентных и нековалентных связей ($\Delta H_b < 0$). Наряду с этим уменьшение упорядоченности молекул воды в результате изменения структуры сольватной оболочки белка приведет к увеличению энтропии связанных молекул воды ($\Delta S_v > 0$), в результате чего выражение ($-T\Delta S_v$) будет отрицательным.

Суммарное изменение свободной энергии при фолдинге будет определяться следующим выражением

$$\Delta G_{\text{фол}} = \Delta H_b - T\Delta S_v - T\Delta S_b.$$

Если

$$(-T\Delta S_v) + \Delta H_b > (-T\Delta S_b),$$

то изменение свободной энергии укладки $\Delta G_{\text{фол}} < 0$, и, следовательно, термодинамически выгодно. Таким образом, для сворачивания полипептидной цепочки в устойчивую трехмерную структуру необходима компенсация падения энтропии белка снижением энтальпии и ростом энтропии окружения на каждом этапе сворачивания.

ФИЗИКА ФЕРМЕНТОВ

Ферменты являются белками, ускоряющими химические реакции, т.е. биокатализаторами. Ферменты, как и неорганические катализаторы, ускоряют только энергетически возможные реакции, не смещают положения равновесия, а лишь ускоряют его достижение и не расходуются в процессе реакции.

Специфическими свойствами биологических катализаторов являются высокая эффективность действия (ферменты способны ускорять биохимические реакции в 10^8 - 10^{10} раз), высокая специфичность ферментов к субстратам и к типу катализируемой реакции и высокая

чувствительность ферментов к неспецифическим физико-химическим факторам среды (температуре, pH, ионной силе раствора и т.д.).

Согласно современным представлениям, ускорение реакции в присутствии ферментов обусловлено с тем, что фермент образует комплекс с субстратом. Образование фермент-субстратного комплекса характеризуется высокой специфичностью.

Первой моделью, объясняющей специфичность фермент-субстратного взаимодействия, явилась модель Фишера («ключ – замок»), согласно которой субстрат стерически соответствует активному центру фермента (участку фермента, к которому присоединяется субстрат). В модели Фишера фермент рассматривался как жесткая структура, активный центр которой представлял собой «слепок» субстрата. Однако данная модель не объясняла групповую специфичность ферментов, когда структура субстратов, подходящих к одному ферменту, достаточно разнообразна.

В рамках более поздней модели индуцированного соответствия (модели Кошланда) конформация фермента и его активного центра модулируется субстратом. Присоединение субстрата вызывает конформационные перестройки в ферменте, в результате которого происходит необходимая для катализа ориентация групп активного центра в пространстве. При образовании фермент-субстратного комплекса конфигурация электронного облака реагирующей молекулы изменяется так, что облегчается ее вступление в реакцию, и, следовательно, уменьшается энергия активации реакции.

Температурная зависимость реакции с константой скорости k_p описывается формулой Аррениуса

$$k_p = Ae^{-\Delta G_a/RT},$$

где A – частотный фактор (вероятность порядка частоты столкновения с барьером частицы), k – постоянная Больцмана, ΔG_a – высота потенциального барьера, $e^{-\Delta G_a/RT}$ – доля молекул, энергия которых превышает энергию активации.

Рассмотрим изменение скорости реакции при снижении порога активации. Пусть константа скорости некатализируемой реакции равна

$$k_1 = Ae^{-\Delta G_{a1}/RT},$$

а константа скорости катализируемой реакции

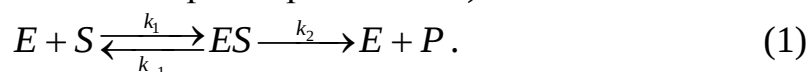
$$k_2 = Ae^{-\Delta G_{a2}/RT}.$$

Тогда отношение скоростей катализируемой и некатализируемой реакции будет

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{Ae^{-\Delta G_{a2}/RT}}{Ae^{-\Delta G_{a1}/RT}} = e^{(-\frac{\Delta G_{a2}}{RT} + \frac{\Delta G_{a1}}{RT})} = e^{\frac{\Delta G_{a1} - \Delta G_{a2}}{RT}}.$$

При снижении порога активации на 40 кДж/моль скорость реакции увеличится в 6×10^6 раз.

Модель Михаэлиса-Ментен. Первоначальное описание кинетики ферментативных реакций было предложено Л.Михаэлисом и М.Ментен. В рамках модели Михаэлиса-Ментен присоединение субстрата к свободному ферменту E приводит к образованию фермент-субстратного комплекса $[ES]$ с константой скорости реакции k_1 , из которого образуется продукт P (константа скорости реакции k_2) или комплекс распадается на субстрат и фермент (константа скорости реакции k_{-1}):



Согласно закону действующих масс, скорость образования фермент-субстратного комплекса:

$$v_1 = k_1[E][S],$$

где $[E]$ – концентрация фермента, $[S]$ – концентрация субстрата.

Скорость распада фермент-субстратного комплекса:

$$v_2 = k_{-1}[ES] + k_2[ES],$$

где $[ES]$ – концентрация фермент-субстратного комплекса.

Если в системе концентрация субстрата намного превышает концентрацию фермента ($[S] \gg [E]$), то число существующих в каждый момент фермент-субстратных комплексов остается постоянным и система находится в стационарном состоянии

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0.$$

В стационарном состоянии реакции скорости образования и распада фермент-субстратного комплекса равны

$$v_1 = v_2,$$

то есть

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]. \quad (2)$$

Разделим обе части (2) на k_1 и введя обозначение константы Михаэлиса

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1},$$

получим

$$[E][S] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}[ES] = K_m[ES]. \quad (3)$$

Поскольку общая концентрация фермента равна

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

перепишем (3) в виде

$$[E][S] = [E]_0[S] - [ES][S] = K_m[ES]. \quad (4)$$

Из (4) следует, что доля фермент-субстратного комплекса составляет

$$\frac{[ES]}{[E]_0} = \frac{[S]}{K_m + [S]}. \quad (5)$$

Скорость ферментативной реакции определяется скоростью образования продукта

$$v_0 = k_2[ES]. \quad (6)$$

В условиях насыщения субстратом концентрация фермент-субстратного комплекса будет равна общей концентрации фермента. В этом случае скорость реакции максимальна

$$v_m = k_2[E]_0. \quad (7)$$

С учетом (5)–(7) получаем **уравнение Михаэлиса-Ментен**

$$v_0 = \frac{v_m[S]}{K_m + [S]}. \quad (8)$$

Из (8) следует, что константа Михаэлиса K_m численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной.

Одним из способов нахождения величины константы Михаэлиса и максимальной скорости ферментативной реакции является метод Лайнуивера-Берка. В обратных координатах (координатах Лайнуивера-Берка) гиперболическая зависимость (8) примет вид линейной зависимости (рис. 8 б):

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_m}{v_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_m}. \quad (9)$$

График функции (9) отсекает на оси абсцисс $-1/K_m$, а на оси ординат величину $1/v_m$.

Активности ферментов зависит от физико-химических условий, включая температуру и pH. При увеличении температуры будет увеличиваться скорость образования фермент-субстратного комплекса, а значит и скорость реакции. При высоких температурах (выше 80°C) структура большинства ферментов нарушается в результате денатурации, что негативно сказывается на их активности. Температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна, называется температурным оптимумом фермента. Для ферментов животного происхождения температурный оптимум находится в интервале 40–50°C.

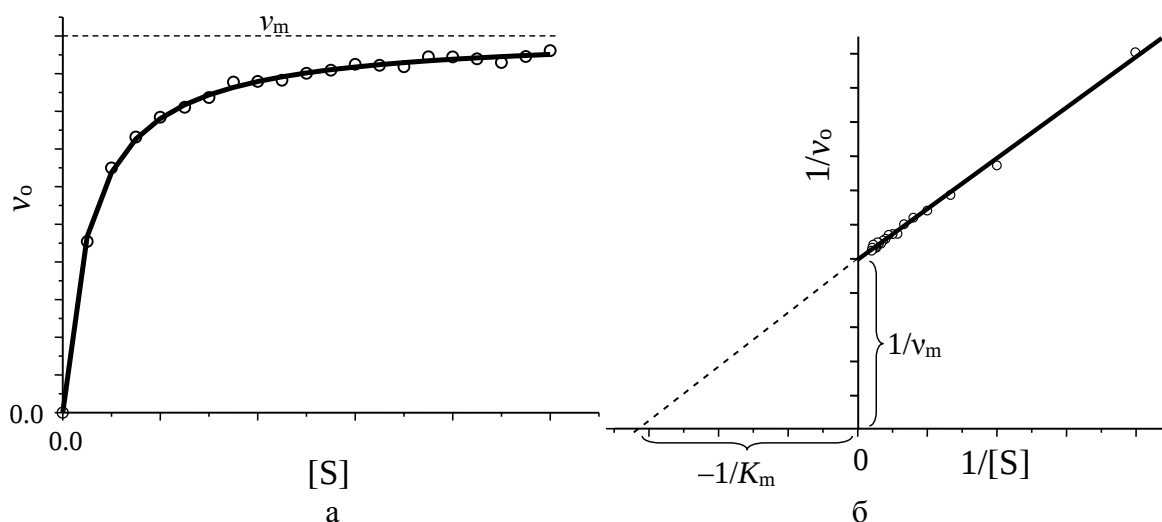


Рис. 8. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в прямых (а) и обратных координатах (б)

При изменении рН (концентрации ионов водорода) изменяется состояние заряженных аминокислот, что вызывает изменение структуры и активности ферментов. Кроме этого, при изменении рН может измениться ионизация субстрата, что повлияет на образование фермент-субстратного комплекса. Для большинства ферментов оптимальной для функционирования является нейтральная среда. С другой стороны, существуют ферменты, оптимум активности которых располагается в кислой или щелочной среде. Например, активность пепсина – фермента, гидролизующего белки в желудке, – максимальна при рН 1,5–2,5.

СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты являются полимерами, состоящими из нуклеотидов, основная функция которых хранение и передача наследственной информации. Нуклеотиды, в свою очередь, состоят из гетероциклического азотистого основания, моносахарида и остатка фосфорной кислоты. В нуклеиновых кислотах встречаются, в основном, пять азотистых оснований, три пиримидиновых (урацил, тимин (5-метилурацил) и цитозин) и два пуриновых (аденин и гуанин). Моносахарид, входящий в состав нуклеотида, относится к пентозам. В зависимости от вида пентозы, присутствующей в нуклеотиде, выделяют два основных типа нуклеиновых кислот – рибонуклеиновые кислоты (РНК), которые содержат рибозу, и дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК), содержащие 2-дезоксирибозу. Именно молекулы ДНК осуществляют функцию хранения наследственной информации.

Считывание и перекодирование генетической информации осуществляется при синтезе белков, который протекает с участием разных типов РНК. В молекулах ДНК и РНК отдельные нуклеотиды связаны в единую полимерную цепь сложноэфирными связями между остатками фосфорной кислоты и гидроксильными группами при 3-м и 5-м атомах углерода моносахарида.

Азотистое основание, связанное с моносахоридом называется нуклеозидом. Таким образом нуклеотид – это фосфат нуклеозида. В зависимости от числа фосфатных групп выделяют моно-, ди- и трифосфатнуклеозиды.

Нуклеотиды не только формируют нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). Они и их производные необходимы для протекания метаболических и регуляторных процессов. Например, никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) и его фосфат (НАДФ⁺) являются растворимыми коферментами оксидоредуктаз – белков, осуществляющих направленный перенос электронов в биосистемах. Циклический аденозин-5'-монофосфат (цАМФ) и циклический гуанозин-5'-монофосфат являются участниками внутриклеточных процессов передачи информации. Кроме того, нуклеозидтрифосфаты выступают в роли универсальных источников энергии в живых организмах. Основным участником энергетического обмена в клетке, осуществляющим перенос химической энергии между внутриклеточными компонентами, является адениновый рибонуклеотид с тремя фосфатными группами – аденозин-5'-трифосфат (АТФ) (см. разд. «Преобразование энергии в биосистемах»). Энергия гидролиза АТФ используется для различных процессов в организме, включая мышечное сокращение, активный транспорт веществ и биосинтез. Следует отметить, что образование полимерных цепей нуклеозидмонофосфатов в клетках также осуществляется с использованием энергии экзергонических процессов в результате работы специализированных молекулярных машин – ДНК- и РНК-полимераз. Полимеразы соединяют нуклеозидмонофосфаты, используя в качестве субстратов нуклеозидтрифосфаты, энергия гидролиза фосфатных связей которых используется для осуществления биосинтеза.

Пространственная структура полинуклеотидных цепей ДНК и РНК была определена методом рентгеноструктурного анализа. Впервые правильную модель двойной спирали ДНК предложили в 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик (за эту работу они в 1962 г. получили Нобелевскую премию), что стало одним из самых крупных открытий биохимии XX века.

Согласно предложенной модели молекула ДНК представляет собой двойную спираль и состоит из двух полинуклеотидных цепей, закрученных в противоположные стороны вокруг общей оси (рис. 9). Пуриновые и пиримидиновые основания расположены внутри спирали, а остатки фосфата и 2-дезоксирибозы – снаружи. Диаметр спирали составляет 2 нм, расстояние между соседними основаниями вдоль оси спирали 0,34 нм, они повернуты относительно друг друга на 36° . Таким образом, на полный виток спирали (360°) приходится 10 нуклеотидов, что соответствует длине спирали по оси 3,4 нм.

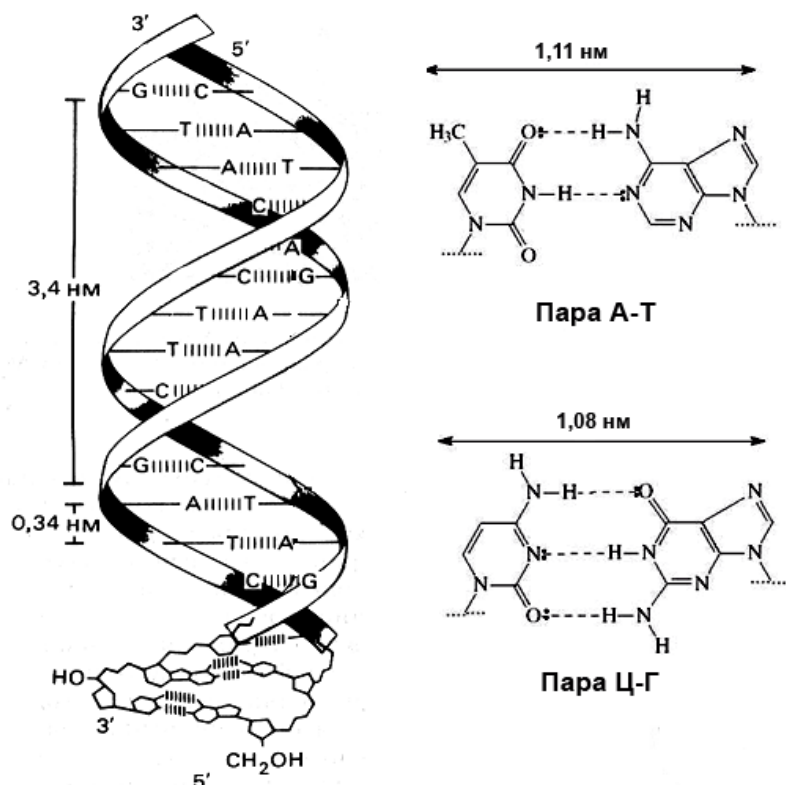


Рис. 9. Двойная спираль ДНК

Полинуклеотидные цепи удерживаются вместе водородными связями между парами оснований. Размеры оснований и двойной спирали подобраны в природе таким образом, что тимин (Т) образует водородные связи только с аденином (А), а цитозин (Ц) – только с гуанином (Г). При этом между аденином одной цепи и тимином другой образуется две водородные связи: одна – между амино- и кетогруппами, другая – между двумя атомами азота пурина и пиримидина соответственно. Между гуанином и цитозином образуется три водородные связи: две из них – между амино- и кетогруппами соответствующих оснований, третья – между атомами азота пурина и пиримидина. В связи с этим

последовательность в одной цепи определяет их последовательности в другой. Это и есть ключевое свойство ДНК – избирательность в образовании связей (комплементарность).

В течение 25 лет модель Уотсона-Крика рассматривалась как единственно возможная структура ДНК. Однако позже было установлено, что молекула ДНК может принимать и другие формы. Основной формой ДНК является В-форма, структуру которой и описывала модель Уотсона-Крика. Две другие охарактеризованные формы называются А- и Z-формы.

А-форма ДНК, открытая Р. Франклин, возникает в условиях пониженной влажности. Она является правозакрученной спиралью, в которой каждый виток спирали содержит 11 пар нуклеотидов, расстояние между соседними парами оснований составляет 0,26 нм, а диаметр молекулы – 2,6 нм. Z-форма ДНК является левозакрученной спиралью, содержащей 12 пар оснований на виток, с расстоянием между соседними парами оснований 0,37 нм и диаметром молекулы 1,8 нм. Встречаются ли А- и Z-формы в живых организмах до сих пор окончательно не установлено.

ЛИПИДЫ И ЛИПИДНЫЕ СТРУКТУРЫ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Липиды – это гетерогенная группа органических соединений, общим физическим свойством которых является слабая растворимость в воде. В живых системах липиды являются источником энергии, служат регуляторами функциональной активности белков (коферменты), участвуют в трансдукции сигналов. Физико-химические свойства липидов делают их неотъемлемыми структурными компонентами биологических мембран.

В состав липидов биологических мембран входят, в основном, фосфолипиды (глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды) и стероиды. Фосфолипиды состоят из жирных кислот, остатка фосфорной кислоты и спирта. В состав глицерофосфолипидов входит трехатомный спирт глицерин, в состав сфингофосфолипидов – мононенасыщенный двухатомный аминспирт сфингозин. Входящие в состав биологических мембран стероиды являются одноатомными спиртами, ядром молекулы которых служит гетероциклический циклопентанпергидрофенантрен. Содержание стероидов в клеточных мембранах регулирует их текучесть. В клетках растений основным стероидом является ситостерин. В мембране клеток животных – холестерин. В организме человека

холестерин также используется в биосинтезе стероидных гормонов и витамина D₃.

Фосфолипиды являются амфифильными молекулами, одна часть которых проявляет гидрофобные, а другая гидрофильные свойства (рис. 10). Углеводородные цепи обеспечивают неполярный характер части молекулы, а остальная сравнительно небольшая головная часть является полярной или имеет электрический заряд. Углеводородные цепи могут быть полностью насыщенными или содержать до 6 ненасыщенных двойных связей. При физиологических условиях полярные части липидных молекул являются либо отрицательно заряженными (фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, кардиолипин), либо электронейтральными (находятся в форме цвиттерионов – содержат отрицательный и положительный заряды) (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин).

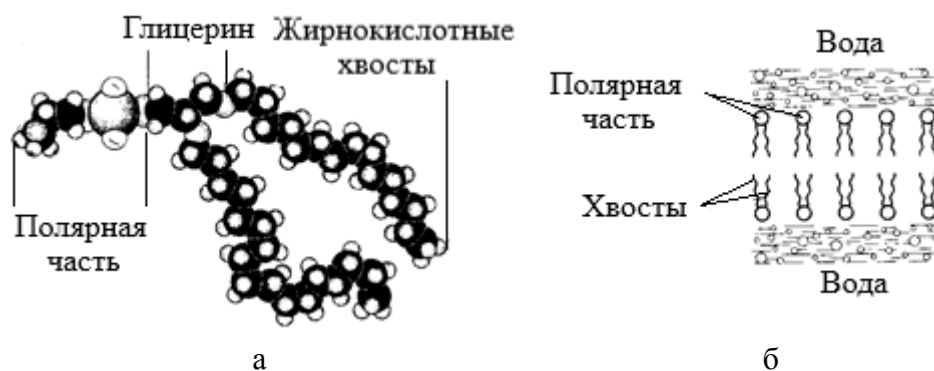


Рис. 10. Структура (а) и схематическое изображение (б) молекулы фосфолипидов (в липидном бислое)

Взаимодействие липидов с водой приводит к спонтанному формированию липидных ассоциатов. Формирование липидных ассоциатов определяется гидрофобными взаимодействиями. Гидрофобный эффект приводит к минимизации области контакта углеводородных заместителей и максимизации области контакта полярных голов амфифильных молекул с водой. При постоянных давлении и температуре данный процесс ведет к минимизации свободной энергии системы. Энергия взаимодействия между молекулами воды больше, чем энергия взаимодействия молекул воды с жирнокислотными остатками липидных молекул. Поэтому углеводородные цепи «выталкиваются» из водной фазы, что приводит к понижению энтальпии системы. С другой стороны, при образовании липидных ассоциатов уменьшается площадь гидрофобной поверхности обращенной в сторону воды, и таким образом минимизируется число

упорядоченных молекул воды на границе раздела липид-вода, что вызывает увеличение энтропии.

Широко распространенной формой молекулярных липидных ассоциатов в водной среде является двойной слой липидов, служащий основой молекулярной организации биологических мембран. Липидный бислой представляет собой термодинамически устойчивую структуру, образованную липидными молекулами в водной среде и состоящую из двух монослоев липидных молекул, ориентированных углеводородными цепями друг к другу, а полярными головами – в сторону водной фазы (рис. 10).

Молекулы липидов в бислое обладают высокой подвижностью. Динамические свойства бислоя определяются положением липидных молекул (трансляционный порядок), их ориентацией (вращательный порядок) и конфигурацией химических связей в каждой молекуле липида (конфигурационный или конформационный порядок). Трансляционный порядок характеризуется частотой перескоков молекул из одного положения в соседнее в единицу времени. Обычно вращательный порядок определяется угловой скоростью вращательного движения молекулы вокруг длинной оси, перпендикулярной плоскости бислоя.

Очевидно, что характер молекулярной подвижности определяется анизотропной структурой липидного бислоя и межмолекулярными взаимодействиями в нем. Обычно, выделяют следующие основные типы молекулярного движения в мембране: латеральное, вращательное и «флип-флоп».

Под латеральной диффузией понимают хаотическое тепловое перемещение молекул липидов в плоскости бислоя (частота 10^8 – 10^4 с⁻¹). Латеральная диффузия липидов вдоль слоя характеризуется довольно большим коэффициентом диффузии $D \sim 10^{-7}$ – 10^{-8} см²/с, величина которого сильно зависит от состава мембран и температуры. Понижение температуры и увеличение содержания холестерина приводят к уменьшению скорости латеральной диффузии.

Частота перескоков молекул вследствие латеральной диффузии определяется соотношением

$$\nu = 2\sqrt{3} \left(\frac{D}{S} \right),$$

где D – коэффициент латеральной диффузии, S – площадь, занимаемая одной молекулой на поверхности мембраны.

Среднеквадратичное перемещение в случае диффузии в плоскости мембраны (двухмерный случай диффузии, см. разд. «Транспорт веществ в клетках») будет

$$\bar{l} = \sqrt{4Dt}.$$

Вследствие латеральной диффузии липиды за 1 с липиды могут переместиться на расстояние в несколько мкм.

В бислое молекулы липидов интенсивно вращаются вокруг своей длинной оси (частота 10^{10} – 10^7 с⁻¹). Движение «флип-флоп», по существу, представляет собой специальный случай вращательной динамики и характеризует переход молекулы липида из одного монослоя мембраны в другой (частота 10^{-2} – 10^{-6} с⁻¹). В обычном бислое характерное время трансмембранного перехода составляет ~1000 с. В биологических мембранах перенос липидов из одного слоя в другой осуществляется флиппазами и флоппазами за счет энергии гидролиза АТФ. Низкая скорость нерегулируемого «флип-флоп» перехода и наличие специфических энергозависимых переносчиков липидов приводит к асимметрии липидного состава в слоях мембраны. Приведенные выше константы латеральной и вращательной диффузии липидов в мембранах свидетельствуют, что при физиологических условиях мембранные системы проявляют свойства *двумерной жидкости*.

Жидкие поверхности имеют поверхностное натяжение σ

$$\sigma = \left(\frac{\partial G_s}{\partial S} \right)_T,$$

где G_s – избыточная поверхностная свободная энергия Гиббса, T – температура и S – площадь поверхности. Поверхностное натяжение приводит к минимизации площади поверхности и придает ей определенную жесткость.

Величина поверхностного натяжения σ для липидных систем составляет порядка 50 мН/м. Расстояние между границами раздела «полярная область – гидрофобная область» (гидрофобная толщина бислоя d_L) составляет примерно 3 нм. Поверхностное натяжение, возникающее на двух границах бислоя, должно быть уравновешено давлением гидрофобной части бислоя. Таким образом, плотность латерального давления (сила на единицу площади) бислоя равна $2\sigma/d_L$, что численно составляет более 300 атм.

Изменение латеральных сил в монослое может вызывать изменение конформации встроженных в бислой белков, что, в свою очередь, может привести к неспецифической модификации их функций. Например, предполагается, что латеральные силы управляют функционированием механочувствительных ионных каналов.

С точки зрения динамического состояния липидный бислой может находиться в различном агрегатном состоянии: твердом

(конденсированном, гелевом) или жидкокристаллическом (жидком) (рис. 11). Жидкокристаллическим состоянием называется такое физическое состояние, при котором существует дальний порядок во взаимной ориентации и расположении молекул, но агрегатное состояние жидкое. Для нормального функционирования биологических мембран липидная фаза должна быть в жидкокристаллическом состоянии.

Переход из твердого в жидкокристаллическое состояние сопровождается *транс-гош*-изомеризацией углеводородных цепей (частота 10^{11} – 10^8 с⁻¹). В углеводородных цепях наименьшей энергией обладает *транс*-конформация, в которой цепь максимально вытянута и не меняет своего направления, тогда как в *гош*-конформации ее направление меняется и образуется дефект упаковки.

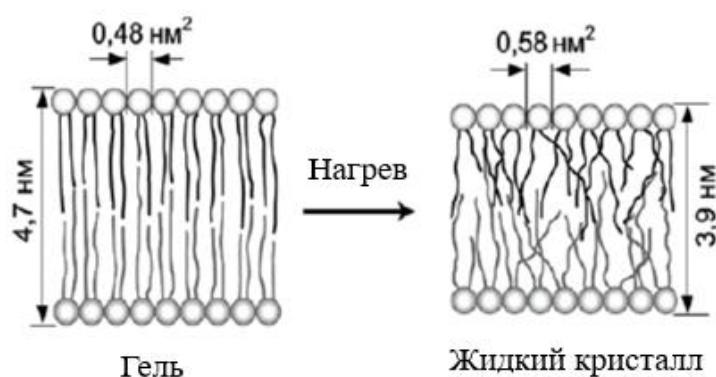


Рис. 11. Схематическое изображение фазовых состояний липидного бислоя

Гош-конформация (поворот на $\pm 120^\circ$ относительно *транс*-конформации) сравнительно мало превышает по энергии *транс*-конформацию (на 2–3 кДж/моль), но эти состояния разделяет энергетический барьер высотой 12–17 кДж/моль. Пологая величину барьера (ΔE) равной 12 кДж/моль находим, что частота возникновения *гош*-конформаций при комнатной температуре

$$\nu = \frac{kT}{h} e^{-\Delta E/RT} \approx 10^{-10} \text{ с}.$$

где h – постоянная Планка, T – температура (К).

Последовательность *гош-транс-гош* для трех смежных С-С связей приводит к появлению в цепи излома (кинка), в результате чего участки цепи выше и ниже цепи излома оказываются значительно смещенными друг относительно друга (рис. 12). Образование кинка сопровождается уменьшением длины углеводородной цепи примерно на 0,127 нм. При этом часть цепи сдвигается на 0,15 нм, увеличивая общий объем занимаемый молекулой липида на 0,025–0,050 нм³.

В ненасыщенных жирных кислотах почти все двойные связи в мембранных липидах находятся в *цис*-конформации (двойная связь в *гош*-конформации). Как и в случае *гош*-конформации, это приводит к изменению общего направления цепи – образуется дефект. Такие пространственные дефекты бислоя, индуцируемые включением в него ненасыщенных жирных кислот, являются более стабильными. В результате появления дефектов бислоя становится более разупорядоченным («рыхлым»).

Гелевая состояние липидного бислоя характеризуется высокой степенью упорядоченности. Возможны только колебания или вращения углеводородных цепей, большинство которых находится в *транс*-конформации. Коэффициент латеральной диффузии молекул в твердом состоянии составляет $\sim 10^{-11} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$, тогда как для жидкокристаллического состояния характерны более высокая подвижность молекул.

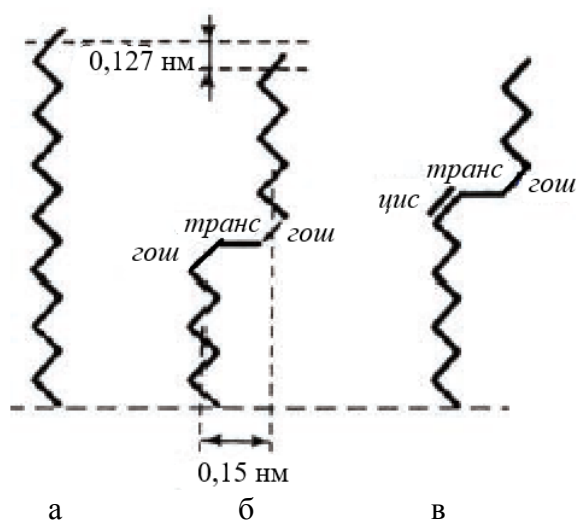


Рис. 12. Схема углеводородных цепей в биомембране:

а – в полностью *транс*-конфигурации; б – в *гош-транс-гош*-конфигурации;
в – в *цис-транс-гош*-конфигурации.

В жидком кристалле за счёт теплового движения возможны *транс-гош*-переходы, хвосты молекул изгибаются, их параллельность друг другу в отдельных местах нарушается, причём особенно сильно в середине мембраны. Это приводит к тому, что толщина мембраны в твердом кристалле больше, чем в жидком. При переходе из твёрдого в жидкокристаллическое состояние площадь мембраны несколько увеличивается, поскольку значительно увеличивается площадь, приходящаяся на одну молекулу (от $0,48 \text{ нм}^2$ до $0,58 \text{ нм}^2$).

Переход из твердого состояния в жидкокристаллическое называется главным фазовым переходом в бислое и может осуществляться при

изменении температуры. Температура, при которой половина липидов находится в жидкой фазе, половина – в твердой, называется температурой фазового перехода ($T_{\text{фп}}$). Температура фазового перехода зависит от химического состава, содержания воды, pH, величины электрического заряда, ионного состава раствора.

$T_{\text{фп}}$ увеличивается с увеличением длины углеводородных цепей, уменьшается с увеличением степени ненасыщенности. $T_{\text{фп}}$ насыщенных жирных кислот выше 0°C , тогда как $T_{\text{фп}}$ ненасыщенных жирных кислот ниже 0°C . Природные мембраны как правило содержат ненасыщенные жирные кислоты, для которых температура фазового перехода ниже 0°C , то есть при нормальных условиях биологические мембраны находятся в жидкокристаллическом состоянии. При постепенном охлаждении органов, тканей и отдельных клеток до $-(10-30)^{\circ}\text{C}$ в мембранах происходит «вымораживание» липидов с $T_{\text{фп}} > T_{\text{окрСр}}$. Образуются твердые участки или домены из которых вытесняются белки в жидкую фазу. Такое явление (разделение фаз) снижает жизнеспособность клеток и тканей при использовании методов глубокой заморозки.

Однако даже в отсутствие макроскопического фазового разделения бислоя, температурные флуктуации могут приводить к формированию липидных доменов со значительным временем жизни. В бислоях с липидным составом, моделирующим внешний монослой плазматической мембраны, при физиологических температурах установлено присутствие доменов размером $\sim 3-40$ нм. Неравномерное распределение молекул, приводящее к образованию липидных доменов (кластеров) в бислое, реализуется вследствие наличия смеси различных липидов, различий липидных молекул по структуре полярных групп, по степени ненасыщенности и длине углеводородных цепей. Возникновение структурных различий внутри и вне домена приводит к различию физико-химических свойств, например, к различию доменов по высоте.

При фазовом переходе в липидах скачком изменяется энтропия, являющаяся первой производной свободной энергии, что означает переход первого рода. Изменение упорядоченности системы (энтропии) при фазовом переходе можно оценить на основе экспериментально определяемой зависимости теплоёмкости липидов от температуры.

Измерив поглощение теплоты при фазовом переходе ΔQ и зная количество образца в пробе n (в молях), можно рассчитать молярную энтальпию перехода $\Delta H = \Delta Q/n$ и затем молярную энтропию перехода $\Delta S = \Delta H/T$ ($\Delta G = 0$ для $T_{\text{фп}}$).

Величина энтропии перехода возрастает с ростом длины углеводородных цепей жирных кислот, причем на каждый моль CH_2 -

групп прирост энтропии составляет 2,9 Дж/К, а на отдельную группу – $4,8 \cdot 10^{-24}$ Дж/К. Изменение числа микросостояний системы можно найти воспользовавшись уравнением Больцмана

$$S = k \ln w,$$

где k – постоянная Больцмана, а w – число возможных микросостояний системы. При фазовом переходе из твердого состояния в жидкокристаллическое упорядоченность углеродных цепей значительно уменьшается, о чем свидетельствует увеличение количества возможных состояний каждой метиловой группы ($w_2/w_1=1,4$).

С электрической точки зрения липидная мембрана представляет собой жидкий диэлектрик с диэлектрической проницаемостью $\epsilon=2$. То есть биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор, в котором пластинами являются электролиты наружного и внутреннего растворов с погруженными в них головами липидов. Проводники второго рода разделены диэлектрическим слоем, образованным неполярной частью липидных молекул – двойным слоем их хвостов. На основании исследования электрических параметров биологических мембран впервые была определена толщина липидного бислоя. В 1935 г. К. Коул и Х. Кёртис установили, что мембраны обладают высоким электрическим сопротивлением ($\approx 10^7$ Ом·м²) и большой удельной емкостью ($\approx 0,5 \cdot 10^{-2}$ Ф/м²).

Емкость плоского конденсатора

$$C = \frac{\epsilon \epsilon_0 S}{d},$$

где электрическая постоянная $\epsilon_0=8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м, d – расстояние между пластинами конденсатора, S – площадь пластин. Отсюда можно выразить удельную емкость (емкость единицы площади)

$$C_{yd} = \frac{C}{S} = \frac{\epsilon \epsilon_0}{d}.$$

Тогда расстояние между пластинами конденсатора, соответствующее в случае мембран толщине мембранного бислоя, будет

$$d = \frac{\epsilon \epsilon_0}{C_{yd}} \approx 3,5 \text{ нм}.$$

Поскольку разность потенциалов между цитоплазмой и внеклеточной средой достигает порядка 0,1 В, при толщине мембраны 3,5 нм напряженность электрического поля в мембране составит около $3 \cdot 10^7$ В/м. Таким образом мембрана является более совершенным электрическим изолятором, чем многие жидкие изоляторы, применяемые в технике.

Биологические мембраны кроме липидов содержат также белки и углеводы. Основными компонентами мембраны являются белки и липиды. Соотношение этих компонентов примерно равно для большинства мембран. Примером необычного состава служит миелиновые оболочки нервных клеток, которые на три четверти представлены липидами. Внутренняя мембрана митохондрий, напротив, на три четверти состоит из белков.

Белки и некоторые липидные молекулы плазматической мембраны несут ковалентно связанные углеводные компоненты, экспонированные на наружной стороне мембраны. Эти гликопротеины и гликолипиды вместе с дополнительными несвязанными гликопротеинами и полисахаридами образуют клеточную оболочку (гликокаликс). Углеводы составляют всего несколько процентов от массы мембраны.

Белки мембран принято делить на интегральные и периферические. Интегральные белки имеют обширные гидрофобные участки на поверхности и нерастворимы в воде. С липидами мембран они связаны гидрофобными взаимодействиями и частично погружены в толщу липидного бислоя, а зачастую и пронизывают бислой, оставляя на поверхности сравнительно небольшие гидрофильные участки. Периферические белки связаны с поверхностью липидного бислоя электростатическими взаимодействиями.

Современные представления структурной организации биологических мембран базируются на жидко-мозаичной модели, описывающей мембрану как жидкий бислой, состоящий из смеси различных липидов, в который встроены белки. Молекулы могут свободно перемещаться в плоскости бислоя, что обеспечивает текучесть мембраны. Из-за большого разнообразия липидных и белковых молекул, формирующих мембрану, она выглядит подобно мозаике.

В рамках данной модели мембрана рассматривается как сложная, гетерогенная, динамическая, высоко кооперативная система. Молекулярная организация мембраны может изменяться под действием физических факторов и химических агентов, что, в свою очередь, может влиять на функционирование клетки. Однако жидко-мозаичная модель не учитывает функционального значения физической гетерогенности в липидной организации мембран.

Липиды в плазматической мембране имеют тенденцию к кластеризации (минимизация свободной энергии системы), что приводит к латеральной гетерогенности плазматической мембраны, возникающей, например, из-за более плотной упаковки холестерина с насыщенными и мононенасыщенными фосфолипидами, чем с полиненасыщенными

фосфолипидами. Домены, содержащие высокую концентрацию холестерина и сфинголипидов и имеющие высокую устойчивость в мембране, были названы «липидными рафтами» (англ. raft – плот).

Установлено, что липидные рафты имеют малые размеры (менее 50 нм) и способны свободно дрейфовать в мембране. Толщина рафтовых участков мембран, как правило, больше, чем толщина бислоя в жидкой фазе. Кроме холестерина и сфинголипидов липидные рафты обогащены многими рецепторными белками клеточной поверхности, а также многими сигнальными белками, которые связываются рецепторами и активируются ими. Предполагается, что липидные рафты играют важную роль в различных физиологических процессах, включая клеточную адгезию, внедрение патогенных вирусов и бактерий, запуск клеточного отклика (от активации клеточного деления до апоптоза). Таким образом, поверхность клеточной мембраны можно представить в виде жидкой мозаики со структурами типа доменов и рафтов (жидко-мозаичная доменно-рафтовая модель биологической мембраны).

Важным структурным дополнением многих плазматических мембран является наличие белкового цитоскелета. В результате, как правило, не ковалентных белок-белковых взаимодействий в мембране формируется непрерывная мембранная белковая сеть, во многом определяющая структурные и функциональные свойства мембраны. Эти структурные особенности строения плазматических мембран были учтены в твердо-каркасной жидко-мозаичной модели мембран, предложенной академиком НАН Беларуси, доктором биологических наук, профессором С.В. Коневым.

Согласно С.В. Коневу, мембрана описывается в виде непрерывного твердо-упругого белкового каркаса, ячейки которого заполнены липидным бислоем. Белковый каркас представляет собой единую энергетическую систему относительно слабых ионных, водородных, ван-дер-ваальсовых сил межпротомерного и внутрипротомерного взаимодействия, а часть интегральных белков не входит в состав каркаса и находится в трансляционно-свободном состоянии. Плазматическая мембрана разбивается цитоскелетом на компартменты размером от 30 до 500 нм в зависимости от типа клеток.

В каждом компартменте мембраны молекулы совершают ограниченные границами движения в латеральной плоскости, при этом латеральная подвижность достаточно высока, так как липидная фаза является жидко-неупорядоченной. Молекулы диффундируют в пределах одного участка, затем перемещаются в другой и так далее. Перемещение молекул из компартмента в компартмент происходят за время, гораздо

большее, чем время нахождения в компартменте, и носят характер прыжковой диффузии (длительность процесса перескока молекулы между компартментами гораздо больше времени нахождения молекулы в пределах каждого компартмента). Таким образом, модель мембраны в зависимости от того, учитывается или не учитывается молекулярная гетерогенность в компартментах, может быть представлена либо как твердо-каркасная жидко-мозаичная модель, либо как твердо-каркасная жидко-мозаичная доменно-рафтовая модель.

Биологические мембраны играют огромную роль в процессах жизнедеятельности и выполняют ряд общих и специфических функций. Основными функциями биологических мембран являются барьерная, матричная и механическая. Барьерная функция обеспечивает избирательный, регулируемый, активный и пассивный обмен веществ клетки и органелл с окружающей средой. Матричная функция обеспечивает взаимное расположение и ориентацию мембранных белков, обеспечивает их оптимальное взаимодействие. Механическая функция обеспечивает прочность и автономность клеток и внутриклеточных структур.

Общие для всех мембран функции барьера для ионов и молекул и матрицы для белковых ансамблей обеспечиваются главным образом липидным бислоем, который устроен в принципе одинаково во всех мембранах. Однако набор белков индивидуален для каждого типа мембран, что позволяет мембранам участвовать в выполнении самых разных функций в различных клетках и клеточных структурах. С участием мембран происходит регулируемый транспорт веществ в клетки, преобразование энергии, рецепция и передача информации и многие другие биофизические процессы.

ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

Транспорт растворенных веществ и растворителя необходим для поддержания всех клеточных функций, включая клеточный метаболизм, преобразование энергии, трансдукцию сигнала и другие. Ключевыми физическими явлениями, определяющие перенос веществ в клетках и субклеточных структурах, являются диффузия и электродиффузия. Рассмотрим основные характеристики и закономерности диффузионных явлений.

Диффузией называется процесс, в котором частицы вследствие *теплового движения* переносятся из области с высокой концентрацией в область с низкой концентрацией. То есть, необходимым условием

существования диффузии является неоднородное распределение молекул в растворе (наличие областей с разной концентрацией молекул).

Среди различных форм выражения концентраций для описания явлений в биосистемах наиболее часто используется молярная концентрация, которая определяется как отношение количества растворенного вещества, выраженного в молях, к количеству раствора, выраженному в литрах

$$c = \frac{n}{V},$$

где c – молярная концентрация (М, моль/л), n – количество вещества (моль), V – объем (л).

Если концентрация вещества по всему объему одинакова, то направленного перемещения вещества не происходит. Молекулы совершают случайные блуждания, однако число молекул, движущихся в разных направлениях, одинаково, и суммарный поток вещества равен нулю.

Количественной характеристикой движения вещества служит величина, называемая диффузионным потоком. *Диффузионный поток $J(x,t)$* численно равен количеству (молей) частиц, проходящих за единицу времени через единичную площадку, перпендикулярную направлению потока. Часто эту величину называют также *плотностью диффузионного потока*.

Диффузия является следствием молекулярных столкновений и возникает как результат «случайных блужданий» молекул. Для анализа случайных блужданий рассмотрим одномерный случай перемещения частиц. Пусть в произвольной плоскости пространства ($x=x_0$) находится группа частиц, которые в момент времени ($t=0$) начинают перемещаться. Предположим, что частицы могут двигаться (совершать скачки) только вдоль оси x и что длина каждого скачка одна и та же и равна δ . Движение частиц осуществляется случайным образом, поэтому вероятность того, что частица совершит очередной скачок влево или вправо одинакова (равна $1/2$) и не зависит ни от того, каким был ее предыдущий скачок, ни от других частиц. Будем считать, что каждый очередной скачок частица делает через равные промежутки времени τ («время оседлой жизни»), и, следовательно, за время t она сделает $n = t/\tau$ скачков. Таким образом, при случайном блуждании вдоль оси x положение молекулы после i -й стадии будет

$$x_i = x_{i-1} \pm \delta. \quad (10)$$

Перемещение молекулы после n -й стадии равно

$$x_n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i.$$

Так как для каждой частицы вероятность скакнуть влево или вправо одна и та же, то при большом числе блужданий среднее перемещение молекулы становится равной нулю:

$$\langle x_n \rangle = 0.$$

Однако область пространства, в которой побывает молекула, со временем будет увеличиваться и ее размеры могут быть оценены среднеквадратичным перемещением, величина которого для одномерного случая будет

$$\bar{l} = \sqrt{\langle x_n^2 \rangle}.$$

Согласно (10) смещение частицы после n -го скачка равно

$$x_{n+1} = x_n \pm \delta. \quad (11)$$

Возведем обе части равенства (11) в квадрат:

$$x_{n+1}^2 = x_n^2 + \delta^2 \pm 2x_n \delta.$$

Усредним этот результат по всем частицам:

$$\langle x_{n+1}^2 \rangle = \langle x_n^2 \rangle + \delta^2. \quad (12)$$

Третье слагаемое в уравнении (12) исчезло, поскольку $\langle x_n \rangle = 0$.

Равенство (12) справедливо для любого n , значит,

$$\langle x_1^2 \rangle = \delta^2; \langle x_2^2 \rangle = \langle x_1^2 \rangle + \delta^2 = 2\delta^2; \langle x_3^2 \rangle = \langle x_2^2 \rangle + \delta^2 = 3\delta^2 \text{ и т. д.}$$

Таким образом,

$$\langle x_n^2 \rangle = n\delta^2 \quad (13)$$

Из (13) следует, что среднеквадратичное смещение случайно блуждающей частицы за n шагов, будет увеличиваться пропорционально корню квадратному из n

$$\sqrt{\langle x_n^2 \rangle} = \delta\sqrt{n}.$$

Учитывая, что за время t молекула совершит n перемещений, имеем

$$\langle x^2 \rangle = n\delta^2 = \delta^2 \frac{t}{\tau}.$$

Введем обозначение

$$D = \frac{\delta^2}{2\tau} \quad (13)$$

и определим величину D как *коэффициент диффузии* молекул. Получим

$$\langle x^2 \rangle = 2Dt. \quad (14)$$

Таким образом, среднеквадратичное перемещение частицы пропорционально времени (*уравнение Эйнштейна-Смолуховского*)

$$\bar{l} = \sqrt{2Dt}. \quad (15)$$

Для случайного блуждания молекулы в трехмерном случае выполняется соотношение

$$\langle r^2 \rangle = \langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle + \langle z^2 \rangle.$$

Так как движение произвольно, то исследование случайных блужданий в двух других направлениях (y и z) приводит к выражениям, совпадающим с (14), следовательно,

$$\langle r^2 \rangle = 6Dt.$$

Для двухмерного случая

$$\langle x^2 \rangle + \langle y^2 \rangle = 4Dt.$$

Подобные результаты могут быть получены и в случае, если величина перемещения δ варьирует от стадии к стадии.

Коэффициент диффузии. Скалярная величина D в уравнении (15) является коэффициентом диффузии и характеристикой как растворителя, так растворенного вещества. Для разбавленных растворов коэффициент диффузии не зависит от концентрации растворенного вещества. В то же время коэффициент диффузии зависит от температуры, давления, формы и размеров диффундирующих молекул, а также от молекулярных свойств среды, в которой имеет место диффузия, таких как вязкость.

Рассмотрим диффузионное движение молекулы в растворе. При движении частицы в жидкости со скоростью v на нее действует сила трения, величина которой равна

$$F_f = fv, \quad (16)$$

где f – коэффициент вязкого трения.

Стокс показал, что для сферической частицы (молекулы) в нетурбулентном потоке

$$f = 6\pi\eta r, \quad (17)$$

где r – радиус сферической частицы, η – вязкость.

Тогда сила сопротивления при перемещении сферической частицы радиуса r через вязкую среду с вязкостью η со скоростью v , выражается *законом Стокса*

$$F_f = 6\pi\eta rv.$$

Работа, выполняемая при перемещении против силы трения, равна энергии теплового движения

$$\int F_f dx = kT,$$

где k – постоянная Больцмана, а T – абсолютная температура.

Перемещение δ частицы, движущейся со скоростью v , за время τ по величине равно $\delta = v\tau$. С учетом этого соотношения выражение (16) можно переписать в виде

$$F_f = f \frac{\delta}{\tau},$$

$$\int F_f dx = \int_0^{\delta} f \frac{x}{\tau} dx = f \frac{\delta^2}{2\tau} = kT.$$

Используя обозначение (13), получим в одномерном случае для коэффициента диффузии молекул, совершающих случайные блуждания, **уравнение Стокса-Эйнштейна**

$$D = \frac{kT}{f} = \frac{kT}{6\pi\eta r}, \quad (18)$$

Величина, обратная коэффициенту вязкого трения, называется *подвижностью частицы* u_p и определяется как отношение скорости частицы v к силе F_f , действующей на частицу

$$u_p = \frac{v}{F_f} = \frac{1}{6\pi\eta r}. \quad (19)$$

Соотношение (19) связывает подвижность частицы с ее радиусом. Используя уравнения (17) и (18) можно записать **соотношение Эйнштейна** для коэффициента диффузии

$$D = u_p kT. \quad (20)$$

Подвижность частиц можно выразить через молярные величины. Так, с учетом (19) имеем

$$v = u_p F_f = u_p N_A \frac{F_f}{N_A} = u F_N,$$

где $u = u_p N_A$ – *молярная механическая подвижность*, $F_N = F_f N_A$ – сила, приходящаяся на моль частиц, N_A – число Авогадро. Таким образом,

$$D = u_p kT = u N_A kT = uRT, \quad (21)$$

где R – газовая постоянная.

Используя (18) и предполагая, что молекулярная масса вещества M пропорциональна объему сферической частицы ($M \sim 4/3\pi r^3$), для относительно больших молекул при постоянных η и T имеем

$$D\sqrt[3]{M} = \text{const}, \text{ или } D = \frac{\text{const}}{\sqrt[3]{M}}. \quad (22)$$

Следовательно, если молекула А имеет массу в восемь раз большую, чем молекула Б, то молекула Б диффундирует в два раза быстрее молекулы А. Выражение (22) справедливо для крупных белковых молекул, имеющих почти сферическую форму с молекулярным весом $M > 10^3$. Для малых молекул с $M < 10^3$ коэффициент диффузии $D \sim M^{-1/2}$. Это отклонение обусловлено тем, что молекулы малых размеров нельзя рассматривать как сферические.

Закон Фика. Для вывода первого закона Фика (на основе модели случайных блужданий) рассмотрим разбавленный раствор, содержащий только два компонента – растворитель и растворенное вещество. Считаем, что в разбавленном растворе число молекул растворенного вещества намного меньше числа молекул растворителя. Поэтому молекулы растворенного вещества при случайном блуждании сталкиваются только с молекулами растворителя и взаимодействием между молекулами растворенного вещества можно пренебречь.

Рассмотрим площадку площадью S , расположенную в точке x_0 перпендикулярно оси x . Пусть после столкновения с молекулами растворителя каждые τ секунд молекула растворенного вещества перемещается на расстояние либо $+\delta$, либо $-\delta$. Рассмотрим два элементарных объема (рис. 13).

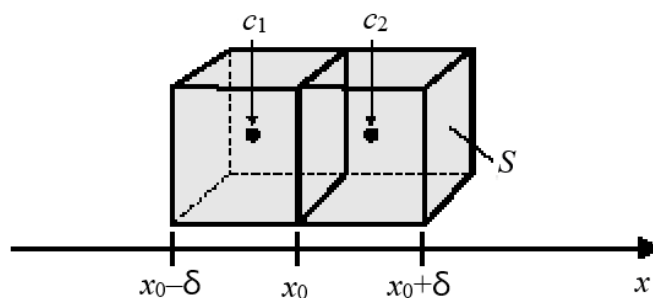


Рис. 13. Иллюстрация вывода первого закона Фика

Пусть концентрация вещества в левом объеме равна c_1 , а в правом – c_2 . Половина всех частиц растворенного вещества ($1/2 c_1 S \delta$) в левом объеме будут перемещаться в левую сторону, половина – в правую. В правом объеме также половина всех частиц растворенного вещества ($1/2 c_2 S \delta$) будут перемещаться в левую сторону, а половина – в правую. Поток частиц слева направо через единицу площади площадки S за время τ будет

$$J_1 = \frac{1}{2} \frac{c_1 S \delta}{S \tau} = \frac{1}{2} \frac{c_1 \delta}{\tau},$$

а поток частиц справа налево будет

$$J_2 = \frac{1}{2} \frac{c_2 S \delta}{S \tau} = \frac{1}{2} \frac{c_2 \delta}{\tau}.$$

Если учесть, что длина скачка δ представляет собой изменение координаты Δx , то суммарный поток через единичную площадку

$$J = \frac{\delta}{2\tau} c_1 - c_2 = -\frac{\delta^2}{2\tau} \frac{c_2 - c_1}{\delta} = -\frac{\delta^2}{2\tau} \frac{\Delta c}{\Delta x}.$$

Переходя от приращений к дифференциалам и учитывая (13) получим

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x}. \quad (23)$$

Полученное выражение представляет собой **первый закон Фика**. Согласно данному выражению поток частиц является результатом различия числа частиц по обе стороны от исходной плоскости. Диффузионный поток растворенного вещества прямо пропорционален градиенту концентрации вещества $c(x, t)$.

Для трехмерного случая выражение для потока в общем виде будет:

$$\vec{J} = -D \vec{\nabla} c,$$

где ∇ – оператор Набла. Знак « $\rightarrow$ » указывает на то, что вектор потока направлен в сторону, противоположную направлению вектора градиента концентрации.

С точки зрения термодинамики диффузия частиц происходит из-за движения системы к более устойчивому состоянию, характеризующемуся минимумом энергии. При наличии разности концентраций в различных точках раствора движение частиц будет направлено против направления градиента концентрации вещества. Можно предположить наличие силы, действующей на молекулы в растворе и обеспечивающей их перемещение с преодолением сил трения (характеризуемых вязкостью растворителя).

Будем считать, что на ансамбль молекул в растворе действует сила F_N . Так как скорость движения моля молекул пропорциональна силе. Тогда

$$J = cv = ucF_N, \quad (24)$$

Эквивалентную силу, вызывающую движение частиц, можно рассчитать используя первый закон Фика и формулу Эйнштейна для коэффициента диффузии:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} = -uRT \frac{\partial c}{\partial x} = uc \left(-\frac{RT}{c} \frac{\partial c}{\partial x} \right) =$$

$$= uc \left(-RT \frac{\partial \ln c}{\partial x} \right) = uc \left(-\frac{\partial RT \ln c}{\partial x} \right).$$

С учетом того, что мерой запасенной энергии в растворе незаряженных частиц является величина химического потенциала

$$\mu = \mu_0 + RT \ln c, \quad (25)$$

где μ_0 – химическое сродство (постоянная для одной фазы величина), можно записать

$$F_N = -\frac{\partial(RT \ln c)}{\partial x} = -\frac{\partial \mu}{\partial x}. \quad (26)$$

Подставляя уравнение (26) в уравнение (24), получим

$$J = uc \left(-\frac{\partial \mu}{\partial x} \right). \quad (27)$$

Таким образом, диффузия молекул происходит в результате диссипации энергии, запасенной в виде концентрационного градиента веществ. В процессе диффузии происходит уменьшение концентрационного градиента между областями пространства.

Диффузия веществ через мембраны. Живые организмы представляют собой многофазные системы. Фазы отделены друг от друга границами раздела, у которых происходит резкое изменение физических свойств системы. Примерами фаз в организме могут являться липидные (бислой плазматических мембран и мембран органелл) и водные фазы (цитозоль клетки и межклеточная жидкость).

Большинство веществ перемещается через мембрану с помощью специфических белков-переносчиков. Однако транспорт многих малых молекул через мембраны при наличии их концентрационных градиентов происходит и без участия переносчиков. При перемещении через мембраны молекулы переходят из водной среды в липидную фазу, а затем из липидного бислоя – опять в водную среду. Физико-химические свойства окружения молекул в этих средах различаются. Важнейшей характеристикой при анализе механизмов движения молекул в таких системах является растворимость молекул в различных фазах.

Рассмотрим двухфазную систему, содержащую вещество А. Фазы характеризуются величинами концентрации (c_1, c_2) и химического потенциала (μ_1, μ_2) вещества А. Пусть dn молей вещества А из фазы 1 переносится в фазу 2. Температура и давление в системе не изменяются. Общее изменение свободной энергии в этом процессе является суммой соответствующих изменений в обеих фазах:

$$dG = dG_1 + dG_2.$$

Изменение dG равно

$$dG = -SdT + VdP + \sum_i \mu_i dn_i.$$

При постоянных давлении и температуре для каждой из фаз имеем

$$dG_1 = \mu_1 dn_1; dG_2 = \mu_2 dn_2.$$

Изменение количества вещества A в фазе 2 равно $dn_2 = dn$, а убыль того же вещества в фазе 1 будет равна $dn_1 = -dn$.

Изменение свободной энергии при постоянных T и P будет

$$dG = \mu_1 dn_1 + \mu_2 dn_2 = (\mu_2 - \mu_1)dn. \quad (28)$$

В состоянии равновесия

$$dG = 0. \quad (29)$$

Из уравнений (28) и (29) следует, что в состоянии равновесия

$$\mu_1 = \mu_2.$$

С учетом (25) имеем:

$$\mu_{01} + RT \ln c_1 = \mu_{02} + RT \ln c_2,$$

$$\frac{\mu_{01} - \mu_{02}}{RT} = \ln c_2 - \ln c_1 = \ln \frac{c_2}{c_1}$$

или

$$\frac{c_2}{c_1} = e^{\frac{\mu_{01} - \mu_{02}}{RT}}.$$

Стоящая справа величина определяет *коэффициент распределения* k вещества A между первой и второй фазами:

$$k = \frac{c_2}{c_1} = e^{\frac{\mu_{01} - \mu_{02}}{RT}} = e^{-\frac{\Delta G}{RT}}, \quad (30)$$

где $\Delta G = \mu_{02} - \mu_{01}$.

Величина k является функцией температуры и величины изменения свободной энергии ΔG , необходимой для совершения работы по перемещению частицы из одной фазы в другую.

Процесс диффузии веществ через мембрану, например в клетку, может быть разделен на несколько стадий: растворение вещества в мембране, диффузия через нее, вход вещества в клетку и накопление в клетке. Такая модель диффузии описывается *теорией «растворения-диффузии»*, согласно которой молекулы растворенного вещества сначала растворяются в мембране, а затем диффундируют через нее.

Для того чтобы найти связь переменных, характеризующих мембрану, с переменными, характеризующими растворы, необходимо

сформулировать граничные условия у поверхности раздела «мембрана – раствор». Предположим, что у поверхностей между мембраной и растворами растворенное вещество распределено в соответствии с его растворимостью в мембране и растворителе. Следовательно, при равномерном распределении растворенного вещества в мембране имеем для коэффициента его распределения на обеих границах мембраны

$$k = \frac{c(0,t)}{c_e(t)} = \frac{c(d,t)}{c_c(t)}. \quad (31)$$

где $c_e(t)$ – концентрация вещества внутри клетки, $c(x,t)$ – концентрация вещества в мембране, $c_c(t)$ – концентрацию вещества снаружи клетки.

В случае диффузии в стационарных условиях через тонкие мембраны $dC/dx = \text{const}$. Тогда поток вещества через мембрану одинаков по всей толщине мембраны, и в соответствии с первым законом Фика будет

$$J(t) = -D \frac{dc(x,t)}{dx} = -D \frac{c(d,t) - c(0,t)}{d} = \frac{Dk}{d} (c_e(t) - c_c(t)). \quad (32)$$

где D – коэффициент диффузии растворенного вещества в мембране, d – толщина мембраны.

Введя обозначение

$$P = \frac{Dk}{d}, \quad (33)$$

получим

$$J(t) = P(c_e(t) - c_c(t)). \quad (34)$$

Величина P называется *коэффициентом проницаемости* или просто *проницаемостью*. Эта величина прямо пропорциональна коэффициенту диффузии D и коэффициенту распределения k вещества в мембране и обратно пропорциональна толщине мембраны d . Выражение (34), называется **первым законом Фика для мембран**. Таким образом, транспорт вещества через мембрану по диффузионному механизму идет в направлении, противоположном направлению градиента концентрации вещества. Такой тип транспорта называется *пассивной диффузией*.

Облегченная диффузия. Облегченная диффузия – тип пассивного транспорта веществ через мембрану, который происходит с участием специализированных белков-переносчиков.

Переносчик связывает молекулы растворенного вещества с одной стороны мембраны, затем транспортирует через мембрану на другую сторону, где они высвобождаются. При облегченной диффузии каждая молекула белка-переносчика транслирует одну молекулу

переносимого вещества. Облегченная диффузия также, как и простая диффузия, обеспечивает перенос растворенного вещества против градиента его концентрации.

Однако транспорт, осуществляемый переносчиками, имеет ряд отличительных черт:

1. Скорость транспорта вещества переносчиком в мембране значительно выше, чем скорости растворения и диффузии в мембране растворенного вещества.

2. Облегченный транспорт – субстратоспецифичен. Скорости переноса даже близких по структуре веществ через мембраны могут сильно различаться.

3. С ростом концентрации субстрата скорость облегченного транспорта увеличивается до некоторой предельной величины $v_{\max}$, которое достигается, когда каждый переносчик функционирует с максимальной скоростью.

4. Скоростью облегченного транспорта можно управлять, например, используя фармакологические препараты и гормоны.

Механизм транспорта с участием переносчика в простейшем случае может быть описан следующей кинетической схемой:



где c_c – концентрация переносимого вещества снаружи клетки, п – белокс-переносчик, c_v – концентрация вещества в клетках.

Процесс переноса соответствует четырем стадиям транспорта вещества по механизму облученной диффузии: связывание у одной поверхности молекулы субстрата молекулой переносчика, транслокация (транспорт) образовавшегося комплекса переносчик – субстрат к другой поверхности мембраны, диссоциация молекулы субстрата из комплекса (выход в раствор), конформационное изменение молекулы переносчика (в исходное состояние).

Кинетические уравнения связывания транспортером молекул переносимого вещества аналогичны уравнениям связывания субстрата ферментом. Обозначим константу образования комплекса переносчик – субстрат как k_m . Тогда в соответствии с уравнением Михаэлиса-Ментен для скорости транспорта будем иметь выражение

$$v = \frac{v_{\max}}{1 + k_m / c_c}, \quad (35)$$

где $v_{\max}$ – максимальная скорость транспорта субстрата в клетки. Мерой сродства транспортера к его субстрату является k_m – концентрация субстрата, при которой скорость транспорта субстрата равна половине

максимальной скорости. Чем меньше значение k_m , тем прочнее связывается субстрат с переносчиком и тем больше скорость транспорта субстрата.

Активный транспорт. Большое число веществ транспортируется через мембраны по механизмам активного транспорта. При активном транспорте молекулы переносятся из среды, где их концентрация ниже, в среду с более высокой концентрацией, то есть в направлении, противоположном тому, которое имеет место при пассивной и облегченной диффузии. Требуемая для активного транспорта энергия поступает в результате сопряжения с экзергоническими процессами, например, при гидролизе АТФ.

В связи с тем, что энергия, высвобождаемая при гидролизе АТФ, используется либо непосредственно транспортером, либо для создания градиента вещества через мембрану, выделяют две основные категории активного транспорта – первичный (другое название – прямой активный транспорт) и вторичный (непрямой активный транспорт). Первичный активный транспорт протекает при использовании энергии самими трансмембранными белками (насосами) для индуцирования конформационных изменений, результатом которых является транспорт молекул через мембрану.

Белковые насосы транспортируют ионы и другие растворенные вещества через мембраны в направлении концентрационного градиента, обеспечивая различия в концентрациях в 10^5 раз. Помимо наиболее часто используемого гидролиза АТФ, в клетках могут использоваться и другие источники энергии для активного транспорта, в том числе свет, энергия электронов (при окислении веществ) и др. Энергия преобразуется в форму трансмембранных электрических или химических градиентов транспортируемых ионов. Большинство известных биологических насосов транслоцируют катионы.

ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК

Миграция ионов. Внеклеточная и внутриклеточная среда являются электролитами с различным содержанием ионов. Асимметрическое распределение ионов между клеткой и внеклеточной средой является фундаментальным свойством всех живых систем и определяет электрические свойства клеток. Наличие разности электрических потенциалов приводит направленному движению ионов, называемому *миграцией*. Рассмотрим основные характеристики и закономерности миграции ионов в растворе электролита с концентрацией ионов c_i .

Пусть U – разность потенциалов между электродами, помещенными в раствор электролита на расстоянии d . Величина напряженности электрического поля в растворе будет равна

$$E = \frac{U}{d}. \quad (36)$$

Величина E определяет силу, действующую на ионы в растворе. Пусть N_i – число ионов i -го типа, приходящихся на единицу объема раствора (концентрация ионов), z_i – валентность ионов i -го типа. Ион i -го типа несет заряд $Q = z_i e$, где e – элементарный положительный заряд.

В электрическом поле на ионы действует сила, величина которой равна

$$F_i = QE = z_i e E. \quad (37)$$

Действующая сила индуцирует *миграцию ионов*, скорость которой равна

$$v_i = u_{pi} F_i, \quad (38)$$

где u_{pi} – *механическая подвижность иона* – аналог подвижности частицы u_p при диффузии (уравнение (19)). Используя выражение (38), получим

$$v_i = u_{pi} F_i = u_{pi} z_i e E. \quad (39)$$

Обозначим

$$u_{ei} = u_{pi} z_i e. \quad (40)$$

Величина u_{ei} называется *электрической подвижностью иона* и представляет собой скорость, с которой ион движется в растворе под действием электрического поля напряженностью $1 \text{ В} \cdot \text{м}^{-1}$.

Уравнение (39) с учетом (40) будет иметь вид

$$v_i = u_{ei} E. \quad (41)$$

Миграционный поток ионов i -го типа J_i , вызываемый силой F_i , будет равен

$$J_i = v_i N_i = u_{ei} N_i E. \quad (42)$$

Направленное движение ионов с зарядом $Q = z_i e$ создает ток I_i , равный

$$I_i = z_i e J_i. \quad (43)$$

Так как поток представляет собой число ионов, пересекающих под прямым углом единичную площадку за единицу времени, то I_i представляет собой ток, проходящий через единичную площадку, то есть плотность тока ионов i -го типа. Подставляя уравнение (42) в уравнение (43), имеем

$$I_i = z_i e J_i = z_i e u_{ei} N_i E. \quad (44)$$

В выражении (44) от концентрации ионов перейдем к молярной концентрации

$$I_i = z_i e u_{ei} N_i E = z_i (e N_A) u_{ei} \frac{N_i}{N_A} E = z_i F u_{ei} c_i E, \quad (45)$$

где N_A – число Авогадро, $F = e N_A$ – постоянная Фарадея, $c_i = N_i / N_A$ – молярная концентрация ионов в растворе.

Ток, текущий в проводнике, в соответствии с законом Ома записывается как

$$i = \frac{U}{R} = G U, \quad (46)$$

где R – сопротивление проводника, G – его проводимость. Величину G можно выразить как

$$G = \frac{1}{R} = \kappa \frac{S}{d}, \quad (47)$$

κ – удельная проводимость проводника, S – площадь его сечения, d – длина проводника.

Комбинируя уравнения (46) и (47) и (36), получим

$$i = G U = \kappa S \frac{U}{d} = \kappa S E, \quad (48)$$

где i – ток, текущий через поперечное сечение проводника площадью S .

Для плотности тока можно записать

$$I = \frac{i}{S} = \kappa \frac{S}{S} \frac{U}{d} = \kappa E. \quad (49)$$

Выражение для проводимости, обусловленной ионами i -го типа, можно записать, используя выражения (45) и (49):

$$\kappa_i = z_i F u_{ei} c_i, \quad (50)$$

где κ_i – парциальная удельная проводимость, то есть вклад ионов i -го типа в проводимость раствора электролита.

Суммарная плотность тока, обусловленная движением всех ионов в растворе, равна

$$I = \sum_{i=1}^n I_i = \left(\sum_{i=1}^n z_i F u_{ei} c_i \right) E = \kappa E, \quad (51)$$

где $\kappa = \sum_{i=1}^n z_i F u_{ei} c_i = \sum_{i=1}^n \kappa_i$ – удельная проводимость.

Поскольку удельная проводимость растворов электролита зависит от концентрации ионов для сравнения способности различных

электролитов проводить электрический ток используют молярную электрическую проводимость. Молярная проводимость ионов i -го типа равна

$$\lambda_i = \frac{\kappa_i}{c_i} = z_i F u_{ei}. \quad (52)$$

Величины удельной и молярной проводимости используются в качестве количественной меры способности электролита проводить электрический ток.

Электродиффузия ионов. При наличии разности градиента концентрации ионов направленное движение ионов также будет происходить в результате диффузии. Движение ионов, вызываемое одновременным влиянием градиента концентраций ионов и градиента электрического потенциала, называется *электродиффузией*.

Поток ионов, возникающий при электродиффузии, можно представить в виде двух слагаемых: одно из них обусловлено диффузионным перемещением ионов, второе – действием на ионы электрического поля. Тогда плотность потока ионов J_i может быть записана как

$$J_i = (J_i)_{\text{диф}} + (J_i)_{\text{эл}}. \quad (53)$$

На основании первого закона Фика:

$$(J_i)_{\text{диф}} = -D_i \frac{dc_i}{dx}. \quad (54)$$

Теперь рассмотрим слагаемое плотности потока ионов, вызванного действием электрической силы:

$$(J_i)_{\text{эл}} = v_i c_i \quad (55)$$

В электрическом поле напряженностью E на ион i -го типа действует сила:

$$F_i = z_i e E = -z_i e \frac{d\varphi}{dx}, \quad (56)$$

где $\varphi(x)$ – электрический потенциал.

Сила F_i сообщает иону, имеющему коэффициент трения f_i , скорость:

$$v_i = \frac{F_i}{f} = u_{pi} F_i \quad (57)$$

Используя соотношение Эйнштейна для коэффициента диффузии, можно получить:

$$v_i = -\frac{D_i}{kT} z_i e \frac{d\varphi}{dx} = -D_i \frac{z_i F}{RT} \frac{d\varphi}{dx}. \quad (58)$$

Тогда слагаемое плотности потока ионов, вызванного действием электрической силы будет:

$$(J_i)_{\text{эл}} = -c_i D_i \frac{z_i F}{RT} \frac{d\varphi}{dx}. \quad (59)$$

Для общего потока – суммы потоков, обусловленных диффузией и электрическим полем, получаем **уравнение Нернста – Планка**:

$$J_i = -D_i \left(\frac{dc_i}{dx} + z_i c_i \frac{F}{RT} \frac{d\varphi}{dx} \right). \quad (60)$$

Это уравнение описывает движение ионов при одновременном влиянии градиентов концентрации и электрического потенциала.

Используя выражение Эйнштейна для коэффициента диффузии (21) и подставив его в уравнение (60), получим

$$\begin{aligned} J_i &= -u_i RT \left(\frac{dc_i}{dx} + z_i c_i \frac{F}{RT} \frac{d\varphi}{dx} \right) = -u_i c_i \left(\frac{RT}{c_i} \frac{dc_i}{dx} + z_i F \frac{d\varphi}{dx} \right) = \\ &= -u_i c_i \left(\frac{dRT \ln c_i}{dx} + z_i F \frac{d\varphi}{dx} \right). \end{aligned} \quad (61)$$

Мерой запасенной энергии в растворе заряженных частиц является величина электрохимического потенциала

$$\tilde{\mu}_i = \mu_{0i} + RT \ln c_i(x) + z_i F \varphi(x). \quad (62)$$

Тогда с учетом производной данного выражения по x уравнение (61) будет

$$J_i = u_i c_i \left(-\frac{d\tilde{\mu}_i}{dx} \right). \quad (63)$$

Это выражение называется **уравнением Теорелла**. Согласно (63) электродиффузия ионов происходит в результате диссипации энергии, запасенной в виде градиента электрохимического потенциала ионов.

Из уравнения (63) следует, что для двух компартментов, разделенных мембраной, условием равновесия будет

$$\tilde{\mu}_1 = \tilde{\mu}_2,$$

т.е.

$$\mu_{01} + RT \ln C_1 + zF\varphi_1 = \mu_{02} + RT \ln C_2 + zF\varphi_2. \quad (64)$$

Из (64) можно выразить равновесное распределение частиц между компартментами при наличии мембранного потенциала

$$\frac{c_1}{c_2} = \exp \left[-\frac{zF(\varphi_1 - \varphi_2)}{RT} \right]. \quad (65)$$

Если частица не заряжена ($z = 0$) или мембранный потенциал равен нулю, тогда уравнение упрощается до вида

$$c_1 = c_2. \quad (66)$$

С другой стороны, наличие концентрационного градиента в состоянии равновесия приведет к формированию диффузионного потенциала

$$\varphi_i = \varphi_1 - \varphi_2 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_2}{c_1}.$$

Потенциал, характеризующий равновесное распределение ионов, называется **потенциалом Нернста**.

Мембранный потенциал. Электрический потенциал φ_v внутри жизнеспособной клетки всегда отличен от потенциала φ_c снаружи клетки. Разность потенциалов на мембране, возникающая в результате асимметрического распределения зарядов, называется **мембранным потенциалом** и равна

$$\varphi_m = \varphi_v - \varphi_c. \quad (67)$$

Мембранный потенциал является одной из характеристик клеточного гомеостаза, то есть его величина поддерживается в процессе функционирования клеток постоянной. Для некоторых типов клеток (нейроны, кардиомиоциты, β -клетки поджелудочной железы и др.) изменение клеточной активности сопровождается изменением мембранного потенциала или возникновением так называемого потенциала действия (см. раздел «Физика нервного импульса»).

Для того, что бы понять как формируется мембранный потенциал рассмотрим следующую модель. Пусть клетка содержит только два типа ионов K^+ и Cl^- , концентрация ионов снаружи равна 0. Концентрации ионов калия и хлора равны, тогда потенциал снаружи и внутри клетки одинаков и равен 0. Возникновение мембранного потенциала проиллюстрируем на примере, когда мембрана проницаема только для ионов K^+ . Концентрация ионов K^+ внутри клетки выше концентрации данных ионов снаружи клетки. Следовательно, в системе будет происходить диффузия ионов K^+ из клетки наружу. При этом внутренняя среда клетки заряжается отрицательно относительно внешней среды (ибо в клетке остаются ионы хлора), что приводит к возникновению мембранного потенциала как следствия транспорта ионов K^+ . Электрическая сила, действующая на ионы калия, будет вызывать их миграцию в направлении, противоположном направлению диффузии. Движение ионов будет происходить до тех пор, пока градиенты химических и электрических потенциалов не уравниют друг друга. Для равновесного состояния мембранный потенциал описывается уравнением Нернста:

$$\varphi_M = \varphi_B - \varphi_C = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_C}{[K^+]_B} = \varphi_K, \quad (68)$$

где $[K^+]_C$ и $[K^+]_B$ – концентрации ионов K^+ снаружи и внутри клетки. Мембранный потенциал в этом случае равняется равновесному **калиевому потенциалу**. Таким образом, формирование мембранного потенциала обеспечивается неравномерным распределением катионов и анионов.

Клеточные мембраны проницаемы не только для ионов K^+ , но также для ионов Na^+ и Cl^- . Выражение для мембранного потенциала, учитывающее электродиффузионные потоки для всех трех типов ионов, было выведено Д. Гольдманом в 1943 г на основе приближения постоянного поля.

В рамках модели Гольдмана предполагается, что напряженность электрического поля в мембране постоянна, то есть электрический потенциал φ линейно зависит от расстояния x в мембране

$$\frac{d\varphi}{dx} \approx -\frac{\varphi_B - \varphi_C}{d} = -\frac{\varphi_M}{d}. \quad (69)$$

Плотность потока ионов i -го типа в мембране в стационарном состоянии определяется уравнением Нернста – Планка:

$$J_i = -D_i \left(\frac{dc_i(x)}{dx} + z_i c_i(x) \frac{F}{RT} \frac{d\varphi(x)}{dx} \right), \quad (70)$$

где $c_i(x)$ – концентрация иона i -го типа в мембране, D_i – коэффициент диффузии иона i -го типа, $\varphi(x)$ – электрический потенциал в мембране.

Введем обозначение

$$u = \frac{F\varphi_M}{RT}, \quad (71)$$

где u – мембранный потенциал, выраженный в единицах RT/F . Тогда уравнение (70) с учетом (71) принимает вид

$$J_i = -D_i \left(\frac{dc_i(x)}{dx} - z_i c_i(x) \frac{u}{d} \right). \quad (72)$$

Преобразовав уравнение (72), получаем линейное дифференциальное уравнение

$$\frac{dc_i(x)}{dx} - c_i \frac{z_i u}{d} + \frac{J_i}{D_i} = 0. \quad (73)$$

Решением уравнения (73) с учетом

$$k_i = \frac{c_i(0)}{c_{iB}} = \frac{c_i(d)}{c_{iC}}$$

является функция

$$c_i(x) = (k_i c_{ib} - A_i) e^{\frac{z_i u x}{d}} + A_i, \quad (74)$$

где

$$A_i = \frac{J_i d}{z_i u D_i},$$

c_{ib} – концентрация иона i -го типа в клетке, c_{ic} – концентрация иона i -го снаружи клетки. При $x=d$ получаем

$$c_i(d) = k_i c_{ic} = (k_i c_{ib} - A_i) e^{z_i u} + A_i. \quad (75)$$

Из этого уравнения можно выразить поток

$$J_i = \frac{k_i D_i z_i u}{d} \frac{c_{ib} e^{z_i u} - c_{ic}}{e^{z_i u} - 1}. \quad (76)$$

С учетом формулы для коэффициента проницаемости (33) выражение для потока ионов i -го типа приобретает вид

$$J_i = P_i z_i u \frac{c_{ib} e^{z_i u} - c_{ic}}{e^{z_i u} - 1}. \quad (77)$$

В состоянии покоя суммарный ток через мембрану I равен нулю:

$$I = F \sum_i z_i J_i = 0. \quad (78)$$

При применении этого условия к мембране, проницаемой для ионов K^+ , Na^+ , Cl^- , имеем

$$J_K + J_{Na} - J_{Cl} = 0.$$

С учетом того, что для K^+ , Na^+ $z = 1$ и Cl^- $z = -1$ получим:

$$P_K u \frac{[K^+]_b e^u - [K^+]_c}{e^u - 1} + P_{Na} u \frac{[Na^+]_b e^u - [Na^+]_c}{e^u - 1} + P_{Cl} u \frac{[Cl^-]_b e^{-u} - [Cl^-]_c}{e^{-u} - 1} = 0.$$

где $[Na^+]_b$ и $[Na^+]_c$ – концентрации ионов Na^+ внутри и снаружи клетки, $[Cl^-]_b$ и $[Cl^-]_c$ – концентрации ионов Cl^- внутри и снаружи клетки.

После сокращения находим

$$P_K ([K^+]_b e^u - [K^+]_c) + P_{Na} ([Na^+]_b e^u - [Na^+]_c) - P_{Cl} ([Cl^-]_b - [Cl^-]_c e^u) = 0.$$

Используя соотношение

$$e^u = e^{\frac{\phi_m F}{RT}},$$

получаем **уравнение Гольдмана**

$$\phi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_c + P_{Na} [Na^+]_c + P_{Cl} [Cl^-]_b}{P_K [K^+]_b + P_{Na} [Na^+]_b + P_{Cl} [Cl^-]_c}. \quad (79)$$

В частном случае при $P_K \gg P_{Na}$ и $P_K \gg P_{Cl}$ уравнение Гольдмана переходит в уравнение Нернста для ионов калия (аналогично уравнению (68)). Величина мембранного потенциала различна для разных типов клеток и может варьировать от -10 мВ (у фибробластов) до -90 мВ (у кардиомиоцитов).

ФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Генерация и распространение электрических импульсов является важнейшим электрическим явлением в клетках и тканях нашего организма, лежащим в основе многих физиологических процессов. Молекулярные механизмы и физические закономерности этих процессов рассмотрим на примере работы нейронов головного мозга.

Головной мозг человека представляет собой самую сложную форму существования материи в известной человеку части Вселенной. Человеческий мозг состоит из 10^{11} клеток, включающих в себя различные типы нейронов и глиальных клеток. Основную роль в обработке и хранении информации в мозге выполняют нейроны.

В структуре типичного нейрона кроме основного тела клетки выделяют многочисленные короткие отростки (дендриты) и, как правило, один длинный отросток (аксон). С помощью дендритов нейроны воспринимают, а посредством аксонов передают возбуждение. На периферии аксоны покрыты шванновскими клетками, образующими миелиновую оболочку с высокими изолирующими свойствами.

Передача сигналов между нейронами и от нейронов к мышечным клеткам происходит в нервных окончаниях (синапсах), которые являются местом контакта между нейронами, а также между нейронами и мышечными клетками. В синапсах хранятся химические вещества, нейромедиаторы, выполняющие сигнальные функции при передаче информации между клетками. Каждый из нейронов мозга человека способен образовывать до 10^4 связей (синапсов) с другими клетками.

Передача сигналов в нервной системе отличается от таковой в микропроцессоре. Нейрон генерирует электрические импульсы, которые распространяются по аксону до синапсов. Параметры таких импульсов едины для всех типов нейронов – длительность единичного «пика» 1 мс, амплитуда 90 мВ, минимальная пауза между импульсами порядка 4 мс (можно сказать, что наша биологическая нейросеть работает на частоте в 200 Гц). Получив импульс, синапсы аксона начинают выделять в окружающую среду нейромедиаторы. Взаимодействуя с мембраной дендритов других нейронов, нейромедиаторы могут вызывать как рост,

так и снижение величины мембранного потенциала за счет регуляции числа активных ионных каналов. Таким образом, одиночный импульс, прошедший по аксону, может нести в себе гораздо больше информации, чем привычное для программиста «машинное слово». Миллиарды нейронов соединяются между собой в огромные нейронные сети. Электрические заряды и белковые молекулы кодируют и передают в них огромное количество бит информации.

В организме человека мозг является одним из самых важных органов, что характеризуется большим потреблением поступающей в организм энергии. Хотя головной мозг составляет около 2% массы тела, при спокойном состоянии организма он утилизирует около 20% поглощенного кислорода и 60% глюкозы. Кислород в клетках мозга используется для окисления глюкозы до H_2O и CO_2 , то есть электроны с глюкозы с участием ряда промежуточных участников переносятся на кислород, теряя свою энергию. Энергия электронов преобразуется в электрическую и затем используется для образования АТФ – одного из основных источников энергии для работы молекулярных машин клетки.

Молекулярные основы электровозбудимости клеток. В клетках центральной нервной системы наиболее энергоемким процессом, потребляющим до 40% производимого АТФ, является работа Na^+/K^+ -насоса (Na^+/K^+ -АТФазы) клеточных мембран. Активный транспорт ионов Na^+ и K^+ компенсирует постоянный поток ионов через ионные каналы, возникающий при прохождении нервного импульса.

Ионные каналы являются специфическими интегральными белками, обеспечивающими перенос ионов через мембраны клеток. Ионные каналы проводят ионы со скоростью, близкой к диффузионному пределу. Скорость прохождения для селективных ионных каналов варьирует от 10^6 до 10^8 ионов в секунду, что соответствует току от 10^{-12} до 10^{-10} А. Для сравнения, через Na^+/K^+ -насос в течение одной секунды транспортируется 300 ионов Na^+ и 200 K^+ , что соответствует току примерно $1,5 \cdot 10^{-17}$ А.

В зависимости от изменения мембранного потенциала или взаимодействия с соответствующими лигандами, ионные каналы могут находиться в одном из двух конформационных состояний – открытом или закрытом, что и определяет проницаемость канала. Ионные каналы чаще всего находятся в закрытом состоянии и открываются лишь на короткое время.

В мембранах нервной клетки имеются каналы, проницаемые для ионов Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Cl^- . В генерации и распространении нервного импульса участвуют Na^+ -, K^+ -, и Cl^- -каналы. Кальциевые каналы

располагаются в синапсах. При их открытии ионы Ca^{2+} входят в синапс и активируют высвобождение нейромедиаторов.

Возбуждение нервной клетки под действием химического сигнала (реже электрического импульса) приводит к возникновению *потенциала действия* (рис. 14). Это означает, что потенциал покоя, который для нейронов составляет -60 мВ, скачком изменяется на до $+30$ мВ и спустя 1 мс принимает исходное значение.

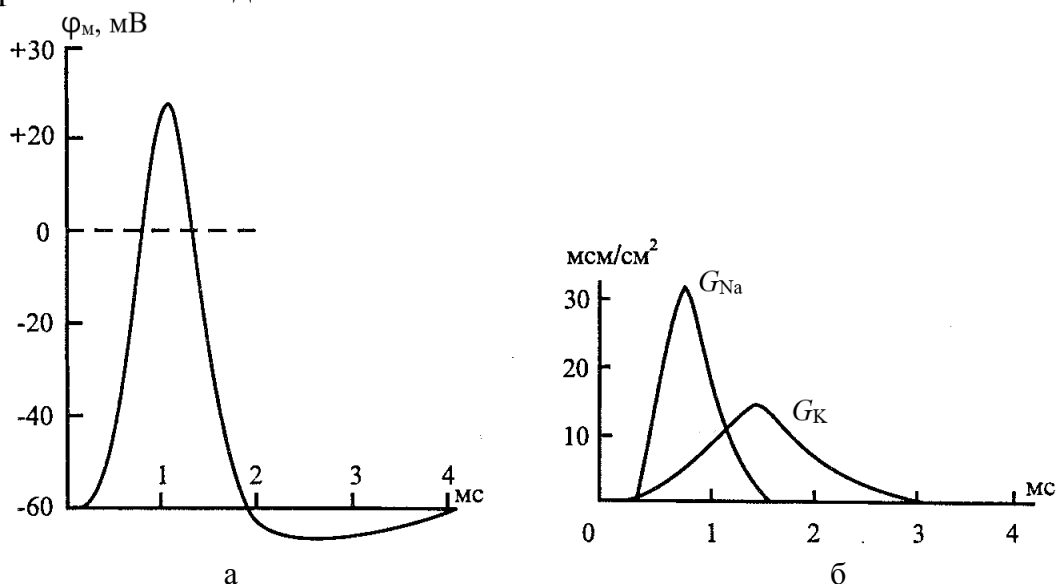


Рис. 14. Изменение трансмембранной разности электрических потенциалов (а) и ионной проводимости (б) при генерации потенциала действия

Опыты, проведенные с радиоактивным изотопом натрия, позволили установить, что при возбуждении проницаемость для натрия резко возрастает. Если в состоянии покоя соотношение коэффициентов проницаемости мембраны аксона кальмара для разных ионов:

$$P_K : P_{\text{Na}} : P_{\text{Cl}} = 1 : 0,04 : 0,45,$$

то в состоянии возбуждения

$$P_K : P_{\text{Na}} : P_{\text{Cl}} = 1 : 20 : 0,45,$$

то есть, по сравнению с невозбужденным состоянием, при возбуждении коэффициент проницаемости для натрия возрастает в 500 раз. Таким образом, процесс генерации потенциала действия начинается с открывания Na^+ -каналов. Ионы Na^+ устремляются в клетку (из-за градиента концентраций), что вызывает локальное изменение знака мембранного потенциала (деполяризацию). В результате изменения мембранного потенциала, вызванного входом ионов Na^+ , открываются потенциал-управляемые K^+ -каналы и ионы K^+ начинают выходить из клетки. В результате мембранный потенциал принимает первоначальное

значение. Восстановление исходных концентрационных градиентов ионов осуществляется Na^+/K^+ -насосом за счет энергии гидролиза АТФ. После этого нервная клетка вновь становится возбудимой.

Распространение потенциала действия по мембране нервной клетки основано на том, что локальная деполяризация стимулирует открывание соседних потенциал-управляемых ионных каналов, в результате чего возбуждение распространяется в виде деполяризационной волны в направлении синапсов.

Мембранный потенциал и ионные токи. Для описания изменений мембранного потенциала при возбуждении часто использую подход, основанный на представлении ионных проводимостей в виде эквивалентных электрических цепей. Параметры соответствующих звеньев эквивалентной электрической схемы мембраны клетки могут быть рассчитаны на основе макроскопической модели электродиффузии через ионные каналы.

В биологических мембранах токи отдельных ионов обеспечиваются ионными каналами. В каждом из каналов ион движется отдельно от других ионов. Поэтому при анализе макроскопической проводимости мембраны необходимо рассматривать парциальное сопротивление и проводимость индивидуально для каждого типа ионного канала.

Согласно формуле (47) и (50) парциальное сопротивление раствора электролита может быть определено как

$$R_i = \frac{d}{\kappa_i S} = \frac{d}{z_i F u_{ei} c_i S}.$$

Поскольку концентрационные профили отдельных ионов в мембране $c_i(x)$ известны, то для слоя единичной площади толщиной dx , расположенного в ионном канале i -го типа, можно определить величину сопротивления

$$dR_i = \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)}, \quad (80)$$

а парциальное сопротивление и парциальная проводимость канала в мембране равняются

$$R_i = \frac{1}{G_i} = \int_0^d \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)} \text{ и } G_i = \left(\int_0^d \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)} \right)^{-1}. \quad (81)$$

Общая проводимость единицы площади мембраны равна

$$G_M = \sum_{i=1}^n G_i. \quad (82)$$

В уравнении Нернста-Планка воспользуемся следующим выражением для коэффициента диффузии

$$D_i = u_{pi} kT = \frac{u_{ei} kT}{z_i e} = \frac{u_{ei} RT}{z_i F},$$

и вынесем за скобки сомножитель $u_{ei} c_i(x)$

$$\begin{aligned} J_i &= -\frac{u_{ei} RT}{z_i F} \frac{dc_i(x)}{dx} - u_{ei} c_i(x) \frac{d\varphi(x)}{dx} = -u_{ei} c_i(x) \left(\frac{RT}{z_i F} \frac{dc_i(x)}{c_i(x) dx} + \frac{d\varphi(x)}{dx} \right) = \\ &= -u_{ei} c_i(x) \frac{d}{dx} \left(\frac{RT}{z_i F} \ln c_i(x) + \varphi(x) \right). \end{aligned}$$

Для плотности тока, текущего через мембрану, имеем

$$I_i = z_i F J_i = -u_{ei} z_i F c_i(x) \frac{d}{dx} \left(\frac{RT}{z_i F} \ln c_i(x) + \varphi(x) \right). \quad (83)$$

Разделяя переменные в уравнении (83), а затем интегрируя, получим

$$I_i \int_0^d \frac{dx}{u_{ei} z_i F c_i(x)} = - \int_{x=0}^{x=d} d \left(\frac{RT}{z_i F} \ln c_i(x) + \varphi(x) \right), \quad (84)$$

и в результате

$$I_i = \frac{\varphi(0) - \varphi(d) - \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i(d)}{c_i(0)}}{\int_0^d \frac{dx}{u_{ei} z_i F c_i(x)}}. \quad (85)$$

Используя соотношение для равновесного распределения концентраций ионов по обе стороны мембраны, получим:

$$\frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i(d)}{c_i(0)} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_{ic}}{c_{ib}} = \varphi_i. \quad (86)$$

Выражение (86) представляет собой равновесный потенциал Нернста для иона i -го типа. Если обозначить мембранную проводимость для иона i -го типа с учетом (81), а трансмембранный потенциал как

$$\varphi_M = \varphi(0) - \varphi(d), \quad (87)$$

то уравнение (85) можно записать в виде

$$\boxed{I_i = G_i (\varphi_M - \varphi_i)}. \quad (88)$$

Таким образом, ионный ток через каналы для ионов i -го типа будет течь в том случае, если величина мембранного потенциала отличается от значения равновесного потенциала Нернста для данного иона.

Так как в клеточных мембранах содержатся каналы для нескольких типов ионов, то соотношение между мембранным потенциалом и плотностью тока, текущего через все типы ионных каналов в мембране, может быть проиллюстрировано эквивалентной электрической схемой, в которой указан вклад каждого типа каналов (рис. 15а). Схема учитывает вклад калиевых и натриевых ионных каналов, а также каналов утечки. Для большинства клеток их роль выполняют хлорные каналы. Однако в ряде случаев к каналам утечки относят и кальциевые каналы.

Плотность суммарного мембранного тока будет равна

$$I_M = \sum_i I_i, \quad (89)$$

и уравнение (88) примет вид

$$I_M = \sum_i G_i (\varphi_M - \varphi_i). \quad (90)$$

Состояние клетки, при котором мембранный потенциал остается постоянным, называется *состояние покоя*. Для данного состояния суммарный ток через мембрану равен нулю. Следовательно, в состоянии покоя для клетки выполняется условие

$$\sum_i G_i (\varphi_M^{\pi} - \varphi_i) = 0. \quad (91)$$

где φ_M^{π} – мембранный потенциал покоя.

Из (91) найдем теперь выражение для потенциала покоя

$$\boxed{\varphi_M^{\pi} = \sum_i \frac{G_i}{G_M} \varphi_i}. \quad (92)$$

Согласно (92) мембранный потенциал покоя представляет собой взвешенную сумму равновесных потенциалов Нернста для всех ионов. Взвешивающий фактор для каждого иона представляет собой отношение проводимости иона G_i к суммарной мембранной ионной проводимости G_M . Из (92) видно, что значение мембранного потенциала определяется теми ионами, для которых проводимость максимальна.

С использованием (92) уравнение (90) можно переписать в виде:

$$I_M = \left(\sum_i G_i \right) \varphi_M - \sum_i G_i \varphi_i = G_M \left(\varphi_M - \sum_i \frac{G_i}{G_M} \varphi_i \right) = G_M (\varphi_M - \varphi_M^{\pi}). \quad (93)$$

Таким образом, ионный ток через мембрану будет течь в том случае, если величина мембранного потенциала отличается от значения потенциала покоя.

Модель Ходжкина-Хаксли. Физическая трактовка распространения нервного импульса основывается на работах английских биофизиков А.Ходжкина и Э.Хаксли, за которые они были удостоены Нобелевской премии в 1963 г. Было показано, что распространение нервного импульса связано с перезарядкой конденсаторов, которые представляют собой клеточные мембраны. Таким образом, электрическая схема возбудимой мембраны учитывает наряду с ионными токами вклад емкостного тока.

Модель базируется на следующих предположениях:

1. Изменение токов, текущих через мембрану, и мембранного потенциала является следствием изменения проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ .

2. Перенос ионов Na^+ и K^+ осуществляется разделенными не взаимодействующими структурами.

3. Пропускная способность мембраны управляется электрическим полем. Во внутренней структуре мембраны присутствуют заряженные частицы, управляющие её проводимостью.

4. Суммарный ток через мембрану является суммой емкостного тока и ионных токов.

В мембране нейрона электрический ток через мембрану складывается из ионных токов калия I_K , натрия I_{Na} и так называемого тока утечки I_Y (в основном ионы Cl^-), а также емкостного тока. Емкостной ток обусловлен перезарядкой конденсатора, который представляет собой мембрана. Его величина определяется количеством заряда, перетекающего с одной обкладки на другую за единицу времени dq/dt , а поскольку заряд конденсатора $q = C_m \Delta \phi = C_m \phi_m$, то емкостной ток $C_m d\phi_m/dt$.

Исходное уравнение мембранного тока, возникающее в ответ на сдвиг потенциала, можно описать в виде

$$I_m = C_m \frac{d\phi_m}{dt} + I_K + I_{\text{Na}} + I_Y, \quad (96)$$

где I_m – общий ток через мембрану, C_m – емкость мембраны.

Эквивалентная электрическая схема мембраны, соответствующая уравнению (96) представлена на рис 15б. Как следует из эквивалентной электрической схемы мембраны и соответствующего ей уравнения в рамках модели Ходжкина-Хаксли предполагалось, что разные виды ионов проникают через мембрану по пространственно разделенным путям. Это соответствует современным представлениям о существовании селективных ионных каналов.

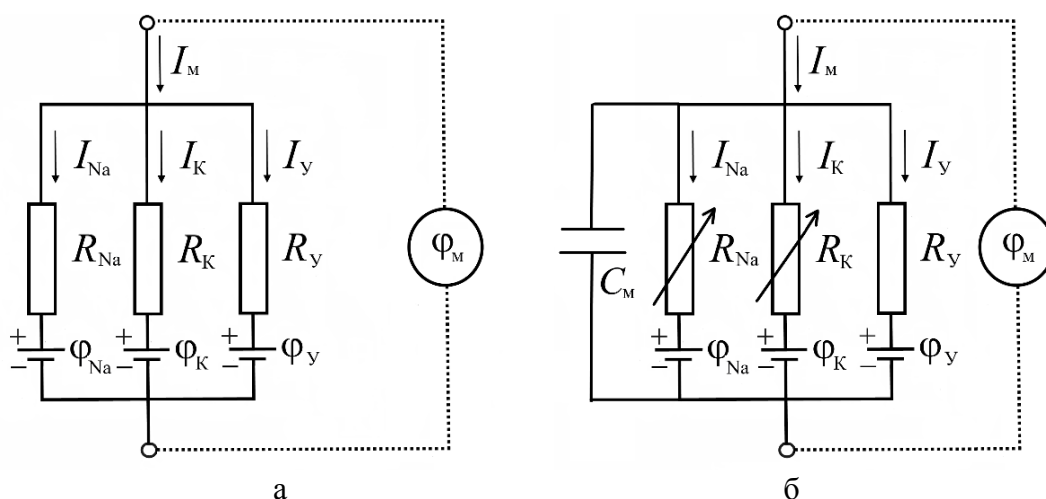


Рис. 15. Эквивалентная электрическая схема мембраны не возбудимых (а) и возбудимых (б) клеток

Согласно представленной эквивалентной электрической схеме в модели предполагается, что токи, текущие по каналам, подчиняются уравнению (90). Ранее данная связь была обоснована в рамках модели электродиффузии через ионные каналы. С учетом уравнения (90) ток через мембрану будет

$$I_M = C_M \frac{d\phi_M}{dt} + G_K(\phi_M - \phi_K) + G_{Na}(\phi_M - \phi_{Na}) + G_Y(\phi_M - \phi_Y). \quad (97)$$

Уравнение Гольдмана, описывающее мембранный потенциал, было выведено дедуктивным методом с использованием электродиффузионного уравнения Нернста-Планка. Уравнения, описывающие изменение во времени ионных токов и зависимость этого процесса от потенциала деполяризации, были предложены А.Ходжкина и Э.Хаксли, на основании анализа экспериментальных данных, измеренных при разных ϕ_M , и, таким образом, выведены индуктивным методом.

Модель Ходжкина-Хаксли предполагает, что проводимость мембраны для ионов Na^+ и K^+ регулируется некими управляющими частицами, перемещающимися в мембране при изменении электрического поля. Предполагается, что K^+ может проходить сквозь мембрану, лишь если к определенному ее участку под влиянием электрического поля подойдут 4 однозарядных частицы. Если через n обозначить вероятность того, что к каналу подошла одна частица, то вероятность нахождения четырех частиц будет n^4 . Калиевая проводимость будет

$$G_K = \bar{g}_K \cdot n^4, \quad (98)$$

где $\bar{g}_K$ – максимальная проводимость мембраны для ионов K^+ (все каналы открыты). Вероятность подхода частицы изменяется от 0 до 1 и определяется уравнением:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1-n) - \beta_n n, \quad (99)$$

где константы скоростей α_n и β_n зависят от величины мембранного потенциала.

Натриевый канал открывается, если одновременно в данный участок попадают три активирующие частицы и удаляется одна блокирующая. Обозначив вероятность прихода активирующей частицы m и вероятность удаления блокирующей частицы h , получаем

$$G_{Na} = \bar{g}_{Na} \cdot m^3 h, \quad (100)$$

где $\bar{g}_{Na}$ – максимальная проводимость мембраны для ионов Na^+ . Кинетика перераспределения частиц m и h описывается следующими уравнениями:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1-m) - \beta_m m, \quad \frac{dh}{dt} = \alpha_h(1-h) - \beta_h h, \quad (101)$$

где константы скоростей α_m и β_m , α_h и β_h зависят от мембранного потенциала. При деполяризации α_m и β_m возрастают, а α_h и β_h убывают. Подобрав коэффициенты α_n , β_n , α_m , β_m , α_h и β_h можно, таким образом, получить теоретическую кривую изменения мембранного тока, которая практически совпадает с экспериментальной.

Зная величины G_K , G_{Na} и G_Y , а также емкость мембраны C_m , можно найти плотность полного мембранного тока через мембрану в каждый момент времени:

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + \bar{g}_K n^4 (\varphi_m - \varphi_K) + \bar{g}_{Na} m^3 h (\varphi_m - \varphi_{Na}) + g_Y (\varphi_m - \varphi_Y). \quad (102)$$

Вся совокупность уравнений (99), (101), (102), описывающих ионные токи через возбудимые мембраны при изменении потенциала φ_m , называется уравнениями Ходжкина-Хаксли. Использование этих уравнений позволяет математически описать не только ионные токи при фиксированном потенциале, но и изменения потенциала в функционирующем нервном волокне. Изменения проницаемости мембраны при первоначальной деполяризации мембраны приводят к изменению потенциала. Это сопровождается изменением параметров α и β , следовательно, изменением проводимости проницаемости, новым изменением потенциала и т.д. В результате получается та сложная по форме кривая изменения во времени потенциала на мембране, которая и

представляет собой потенциал действия. Хорошее совпадение рассчитанных и измеренных в опыте потенциалов действия подтверждает правильность модели Ходжкина-Хаксли.

Кабельное уравнение. Процесс возбуждения (возникновение ионных токов через мембрану) математически описывается уравнениями Ходжкина-Хаксли. Распространение потенциала по нервному волокну описывается кабельным уравнением, для вывода которого рассмотрим нервное волокно в приближении электрического кабеля с постоянным диаметром на всем своем протяжении (дендрит цилиндрической формы). Волокна, по которым распространяется нервный импульс, обычно сравнивают с кабелем, имеющим неидеальные электрические свойства (низкая проводимость внутриклеточного электролита, недостаточные изолирующие свойства и большая ёмкость мембраны). Эквивалентная электрическая схема, отражающая его кабельные свойства, представлена на рис.16. Если аксон погружен в большой объём проводящей жидкости, то его наружным сопротивлением можно пренебречь и наружный потенциал считать постоянным.

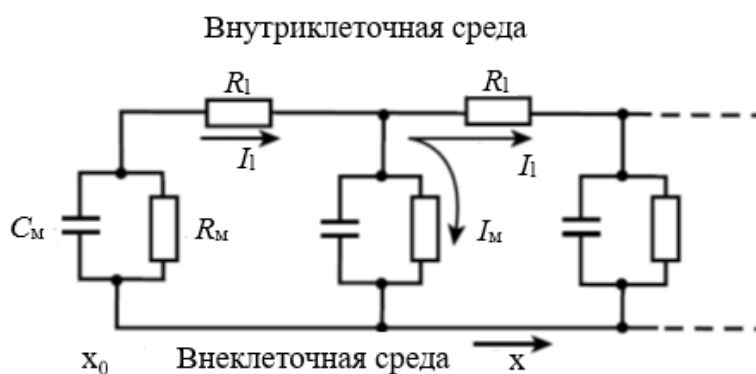


Рис. 16. Эквивалентная электрическая схема нервного волокна

Пусть в точке $x_0=0$ происходит деполяризация мембраны: внутриклеточный потенциал увеличивается по сравнению с потенциалом покоя на некоторую величину ϕ_0 . Под действием разности потенциалов между участком в области возбуждения и соседним невозбужденным участком (с координатой x) во внутриклеточном электролите начинает протекать ток I_1 . Внутриклеточный ток (направленный перенос ионов) приводит к снижению потенциала на мембране на величину ϕ , которая зависит от x . Принимая потенциал внеклеточной среды нулевым, найдем зависимость потенциала ϕ на мембране от времени на участке нервного волокна протяженностью dx , удаленном на расстоянии x от начала отсчета.

Сопротивление внутреннего электролита (аксоплазмы) на единицу длины обозначим r_l (Ом/см). Для цилиндрического волокна

$$r_l = \frac{4R_l}{\pi D^2}, \quad (103)$$

где R_l – удельное сопротивление 1 см³ внутреннего электролита, D – диаметр волокна. Сопротивление мембраны на единицу длины обозначим r_m (Ом·см). Для цилиндрического волокна

$$r_m = \frac{R_m}{\pi D}, \quad (104)$$

где R_m – удельное сопротивление 1 см² мембраны.

Согласно закону Ома, продольный ток I_l пропорционален проводимости участка мембраны и падению напряжения на данном участке

$$I_l = -\frac{1}{r_l} \frac{d\varphi}{dx}.$$

С увеличением расстояния x продольный ток уменьшается из-за утечки в наружную среду. Эта часть составляет мембранный ток (I_m) и равна убыли продольного тока на участке dx

$$I_m = -\frac{dI_l}{dx} = \frac{1}{r_l} \frac{d^2\varphi}{dx^2}. \quad (105)$$

Распространение мембранного потенциала по волокну $\varphi(x,t)$ в общем случае определяется **кабельным уравнением**, которое получается из условия равенства полного тока через мембрану I_m сумме емкостного и ионного тока

$$\boxed{\frac{1}{r_l} \frac{d^2\varphi}{dx^2} = I + C_m \frac{d\varphi}{dt}}. \quad (106)$$

Задача определения скорости распространения импульса сводится к решению кабельного уравнения в системе уравнений Ходжкина-Хаксли.

В стационарных условиях ($d\varphi/dt=0$) по закону Ома мембранный ток будет

$$I_m = \frac{\varphi}{r_m}.$$

С учетом (105) получим

$$\frac{r_m}{r_l} \frac{d^2\varphi}{dx^2} = \varphi. \quad (107)$$

Обозначим $\lambda^2 = r_m/r_l$ и преобразуем уравнение (107) к виду

$$\lambda^2 \frac{d^2 \varphi}{dx^2} - \varphi = 0.$$

Решением этого уравнения является функция

$$\varphi = \varphi_0 \cdot e^{-x/\lambda},$$

где λ – константа длины нервного волокна. То есть сигнал экспоненциально затухает с увеличением расстояния, ослабляясь в e раз ($\varphi = \varphi_0/e$) при $x = \lambda$.

Эффективность проведения нервного импульса обеспечивается слабым затуханием величины φ по длине волокон, то есть высокими величинами λ . С учетом (103) и (104) получим

$$\lambda = \sqrt{\frac{r_m}{r_l}} = \sqrt{\frac{R_m D}{4 R_l}}.$$

Удельное сопротивление внутренней среды определяется электролитным составом протоплазмы, примерно одинаковым у всех видов животных. Повышение величины λ у разных организмов обеспечивается либо увеличением диаметра волокна, либо удельного сопротивления мембраны.

Распространение нервных импульсов по аксону в некоторой степени аналогично передаче электрических сигналов по кабельно-релейной линии. Отсутствие затухания при распространении импульса обусловлено наличием потенциалуправляемые ионных каналов (молекулярные «генераторы»), обеспечивающих генерацию потенциалов действия.

ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В БИОСИСТЕМАХ

Функционирование биологических систем происходит в результате совершения различных видов полезной работы (биосинтез, активный транспорт, мышечное сокращение, трансдукция сигнала, теплопродукция и т.д.) и невозможно без источников внешней энергии. Из многообразия различных форм энергии биологическими системами используются только энергия солнечного света и химическая энергия, запасенная в органических соединениях. При этом, биологические системы избегают прямого использования энергии внешних источников для совершения полезной работы. Поступающая из вне энергия первоначально преобразуется в электрическую энергию, а затем трансформируется в химическую энергию или используется для совершения полезной работы.

Принцип энергетического сопряжения. В общих терминах способность выполнять полезную работу количественно определяется свободной энергией Гиббса G и является функцией давления P , температуры T и химического строения (числа молей вещества n_i). Приращение G при постоянной температуре можно записать в виде:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S.$$

Свободная энергия Гиббса является термодинамической функцией, определяющей направление и предел самопроизвольного протекания процессов для системы, находящейся при постоянных давлении и температуре. Согласно второму закону термодинамики, в любой изолированной системе ($\Delta H=0$) свободная энергия не может увеличиваться

$$\Delta G = -T\Delta S \leq 0.$$

То есть при постоянных давлении и температуре возможен только такой самопроизвольный процесс, который ведет к уменьшению энергии Гиббса.

Уменьшение свободной энергии в любом спонтанном процессе происходит, главным образом, вследствие увеличения энтропии. Применение второго закона термодинамики показывает, что *живые клетки функционируют как открытые системы только когда внутренний порядок (состояние с низкой энтропией) сохраняется вследствие увеличения энтропии в окружающей среде (принцип неэнтропии Шредингера).*

Процессы, при протекании которых происходит уменьшение энергии Гиббса ($\Delta G < 0$) и совершается работа, называются *экзергоническими*. Процессы, в результате которых энергия Гиббса увеличивается ($\Delta G > 0$) и над системой совершается работа, называются *эндергоническими*.

В живых системах протекает множество процессов, в результате которых энтропия уменьшается, а свободная энергия увеличивается. К ним относится биосинтез различных веществ, активный транспорт, фосфорилирование АДФ и т.д. Протекание таких процессов в живых системах происходит с участием макромолекулярных белковых комплексов, осуществляющих сопряжение внутриклеточных экзергонических и эндергонических процессов. Сопряжение экзергонических и эндергонических процессов в живых системах описывается *принципом энергетического сопряжения*, согласно которому *энергия, необходимая для протекания эндергонического процесса, поступает за счет осуществления экзергонического процесса при участии в обоих процессах общего компонента.*

Иллюстрацией сопряженных процессов в механике может выступать движение связанных грузов (рис. 17). Более тяжелый груз (на рис. 17 а справа) будет опускаться вниз, при этом его потенциальная энергия будет уменьшаться (экзергонический процесс). Более легкий груз (на рис. 17 а слева) движется вверх с увеличением потенциальной энергии (эндергонический процесс). При соединении двух грузов (сопряженный процесс) потенциальная энергия, высвобождаемая в результате движения тяжелого груза вниз, используется для подъема более легкого груза.

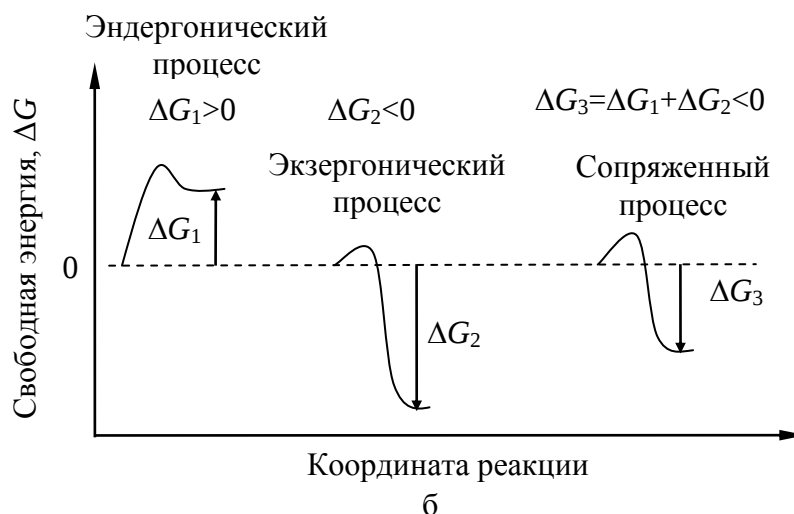
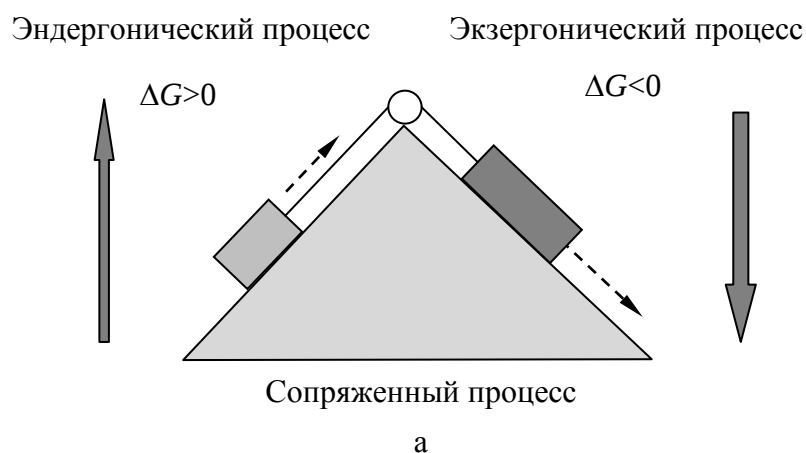


Рис.17. Энергетическое сопряжение при механическом (а) и химическом (б) процессах

Аналогичная ситуация наблюдается при протекании биохимических процессов. Например, фосфорилирование глюкозы является эндергоническим процессом и не может протекать самопроизвольно. Осуществление этого процесса в живых системах происходит путем сопряжения с другой химической реакцией, величина изменения

свободной энергии для которых отрицательна. Чтобы осуществлять такое «сопряжение» процессов, клетке пришлось создать в ходе эволюции специальные молекулярные «энергопреобразующие» устройства, которые представляют собой ферментные комплексы. Важным внутренним источником энергии для функционирования этих молекулярных преобразователей является аденозинтрифосфат.

Аденозин-5'-трифосфат (АТФ) – адениновый рибонуклеотид с тремя фосфатными группами (рис. 18) – является основным участником энергетического обмена в клетке, осуществляющим перенос химической энергии между внутриклеточными компонентами.

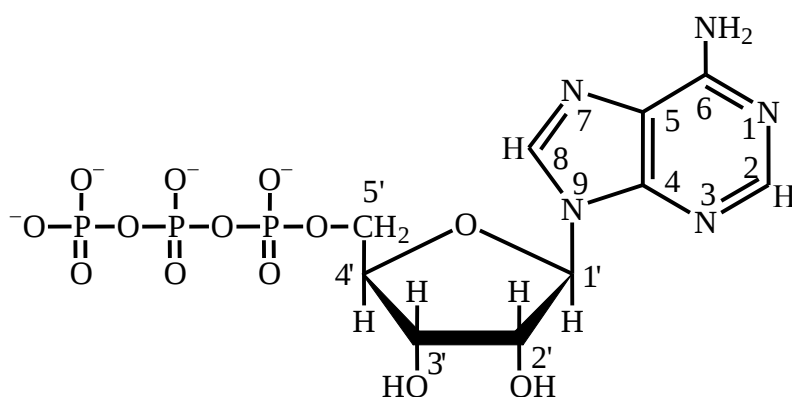


Рис. 18. Аденозин-5'-трифосфат

При pH 7,0 молекулы АТФ^{4-} и АДФ^{3-} являются анионами с высокими значениями отрицательных зарядов. Реакция гидролиза АТФ является источником энергии для различных процессов в организме, включая мышечное сокращение, активный транспорт веществ и биосинтез. Величина изменения свободной энергии в реакции гидролиза АТФ



при стандартных биохимических условиях, то есть при 25 °C, pH 7,0, избытке Mg^{2+} и концентрации участников реакций 1 М, составляет $\Delta G^{0'} = -30,5$ кДж/моль. При физиологических условиях в зависимости от ионного окружения, величины pH, концентрации АТФ^{4-} , АДФ^{3-} и фосфата (Ф) энергия гидролиза АТФ может изменяться от 20 кДж/моль до 60 кДж/моль. Однако в одних и тех же клеточных компартментах энергия гидролиза АТФ практически не зависит от типа клеток.

Способность поддерживать энергетический баланс («энергетический» гомеостаз) является одним из фундаментальных

свойств клеток. При физиологических условиях энергия гидролиза АТФ ($\Delta G_{\text{АТФ}}$) в цитоплазме или *цитозольный «потенциал фосфорилирования»* определяется как

$$\Delta G_{\text{АТФ}} = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[\text{АДФ}][\text{Ф}]}{[\text{АТФ}]}$$

и составляет от -53 кДж/моль до -60 кДж/моль. Клетки с различным метаболизмом и различными значениями трансмембранного потенциала (φ_m) характеризуются близкими по величине значениями $\Delta G_{\text{АТФ}}$. Например, для клеток сердца, печени и эритроцитов трансмембранный потенциал составляет -86 мВ, -56 мВ и -10 мВ соответственно, тогда как величина $\Delta G_{\text{АТФ}}$ равна -56 кДж/моль.

Если принять, что за сутки человек весом 70 кг расходует 12000 кДж, то ему необходимо потреблять минимум 200 молей (12000 кДж / 60 кДж моль $^{-1}$) или примерно 100 кг АТФ. В организме человека содержится в среднем около 50 г АТФ. Следовательно, для обеспечения организма энергией молекулы АТФ должны многократно расщепиться и вновь синтезироваться из АДФ и фосфата.

Синтез АТФ осуществляется путём ферментативного фосфорилирования (присоединения остатка фосфорной кислоты) молекулы аденозин-5'-дифосфата (АДФ) и может протекать как в биологических мембранах, так и цитозоле клетки. В биологических мембранах синтез АТФ осуществляется ферментом H^+ -АТФ-синтазой за счет запасенной электрической энергии.

Запасание электрической энергии в клетках осуществляется топливными элементами, функции которых выполняют мембранные электрон-транспортные цепи (ЭТЦ) бактерий, хлоропластов и митохондрий. В ЭТЦ хлоропластов и бактерий в электрическую энергию преобразуется энергия квантов света, а в ЭТЦ митохондрий — химическая энергия, высвобождаемая в результате окислительно-восстановительных процессов.

Процесс преобразования энергии с участием ЭТЦ протекает в биологических мембранах, разделяющих растворы с различным содержанием ионов. Высвобождаемая в ходе многоступенчатого переноса электронов по белковым и небелковым переносчикам энергия используется для трансмембранного переноса протонов специальными белковыми комплексами ЭТЦ, выполняющими функции молекулярных преобразователей энергии. Перенос протонов происходит в направлении раствора электролитов с более высоким значением электрохимического потенциала ионов водорода и приводит к запасанию энергии на мембране. Запасенная электрическая энергия может преобразоваться в

химическую энергию (АТФ) или используется для совершения полезной работы (например, для движения микроорганизмов и активного транспорта ионов).

Перенос электронов в биосистемах. Скорость и направление переноса электронов в биосистемах регулируется специальными белками, называемыми оксидоредуктазами. Электроны в водном растворе не могут находиться в свободном виде, поэтому для переноса электронов с одного субстрата на другой оксидоредуктазы содержат специфические группы, выполняющие функции переносчиков электронов, называемые редокс-коферментами. В качестве таких молекул-переносчиков в оксидоредуктазах служат относительно небольшие (по сравнению с размером белков) органические или неорганические соединения. Коферментами различных оксидоредуктаз выступают никотинамид- и флавинсодержащие нуклеотиды, тиолсодержащие соединения, хиноны и соединения, содержащие ионы металлов переменной валентности. В молекулах-переносчиках электроны локализуются в системе π -уровней органических молекул с сопряженными связями (пиридиннуклеотидов, флавинов, хинонов) или на атомах металлов переменной валентности, таких как железо или медь.

По способам взаимодействия с ферментом различают растворимые коферменты и простетические группы. Растворимый кофермент присоединяется к молекуле фермента во время реакции подобно субстрату, химически изменяется и затем снова высвобождается. Первоначальная форма кофермента регенерируется во второй, независимой реакции. Простетической группой называется кофермент, который ковалентно связан с ферментом и во время реакции его не покидает. Электроны, переносимые на кофермент, далее переносятся на следующий субстрат или другую молекулу кофермента.

Перенос электронов с участием белков происходит без непосредственного контакта донора и акцептора электрона, что является ключевым отличием данных процессов от окислительно-восстановительных процессов в растворах. В ЭТЦ расстояния между различными простетическими группами переносчиков, непосредственно передающих электрон, составляют около 10–15 Å. Ввиду ограниченной подвижности простетических групп непосредственный контакт между ними оказывается невозможным. То есть, донорно-акцепторные группы, отделены друг от друга диэлектрическими по природе белковыми структурами, образующими потенциальные барьеры. Перенос электронов между такими донорно-акцепторными группами происходит путем туннелирования. *Туннельный перенос электрона* – физический

эффект, обусловленный квантовой природой частицы, и состоящий в преодолении электроном потенциального энергетического барьера, когда значение его энергии меньше высоты барьера.

Туннелирование электрона неотделимо от сопряженных процессов смещения ядер, поэтому при рассмотрении механизма переноса электронов в реальных белковых молекулах также учитываются положения ядер, при движении которых изменяются энергетические уровни электронов. Зависимость константы скорости переноса электрона (k_{ET}) от энергии реорганизации белковой среды (λ) описывается **формулой Маркуса**

$$k_{ET} = \frac{4\pi^2 V_{if}^2}{h\sqrt{4\pi\lambda RT}} \exp\left(-\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right), \quad (108)$$

где V_{if} – электронный матричный элемент.

Величина электронного матричного элемента при туннельном переходе определяется энергией кулоновского взаимодействия между донором и акцептором (которое убывает с расстоянием l как e^2/l) и перекрытием электронных волновых функций донора и акцептора, степень которого определяется туннельным фактором T

$$V_{if} \sim \frac{e^2}{l} T.$$

Величина туннельного фактора определяет прозрачность барьера. Снижение прозрачности туннельного барьера с увеличением расстояния выражается экспоненциальной функцией

$$T = e^{-l/b}, \quad (109)$$

где b – эффективная длина затухания волновой функции, зависящая от высоты барьера

$$b = h/(4\pi\sqrt{2m\Delta E}),$$

m – масса частицы, ΔE – разность между высотой барьера и полной энергии частицы.

В рамках представленной модели энергия реорганизации λ соответствует работе, выполняемой при структурной перестройке в молекулах переносчиков и их белкового окружения, индуцированной переходом электрона. То есть, λ соответствует работе, которая потребовалось бы для сдвига ядер из начального равновесного состояния до равновесных значений координат конечного состояния при условии, что система останется на начальном терме, а переноса энергии не происходит.

В электрон-транспортной цепи величина изменения свободной энергии Гиббса ΔG^0 определяется разностью редокс-потенциалов донорно-акцепторных пар и является общей термодинамической движущей силой процесса переноса электронов. Перенос электронов происходит в направлении участника с более высоким редокс-потенциалом.

Следует отметить, что перенос электронов между донором и акцептором в белках происходит не по прямой, а вдоль более сложного пути ("электронной тропы"), на котором потенциальный барьер ниже. Путь переноса электронов образуется отдельными группами атомов белков, формирующих друг с другом комплексы. Участками "электронных троп" могут быть α -спиральные участки и ароматические аминокислоты, обладающие системой сопряженных связей с делокализованными π -электронами. Отклонению электрона с "тропы" препятствует резкое повышение потенциального барьера. Конкретные пути переноса электрона не являются строго фиксированными. Они зависят от конформационного состояния белковой глобулы и могут меняться в различных физико-химических условиях.

Электрон-транспортная цепь митохондрий. Одним из основных преобразователей энергии в клетках животных и растений является ЭТЦ митохондрий. Компонентами ЭТЦ митохондрий (рис. 19) являются три белковых комплекса (комплексы I, III и IV), встроенные во внутреннюю митохондриальную мембрану, и две подвижные молекулы-переносчики – убихинон (кофермент Q) и цитохром *c*. Комплексы дыхательной цепи являются интегральными белками, построенными из большого числа полипептидов и содержащими ряд простетических групп (флавинмонопнуклеотид (ФМН), железосерные центры и группы гемов). Сукцинатдегидрогеназа, относящаяся к компонентам цикла Кребса, иногда рассматривается как комплекс II дыхательной цепи. Однако сукцинатдегидрогеназа переносит электроны от сукцината на кофермент Q без трансмембранного переноса протонов, и, таким образом, не является молекулярным преобразователем энергии.

Электроны, передаваемые от НАДН, не переносятся непосредственно на кислород. Они проходят через полтора десятка промежуточных окислительно-восстановительных систем, большинство из которых – простетические группы в комплексах I, III и IV. При окислении НАДН в комплексе I электроны переносятся на убихинон через ФМН и железосерные центры. При этом окисленная форма кофермента Q восстанавливается до убихинола. Убихинол переносит электроны к комплексу III, который поставляет их через Fe_2S_2 -центр и гем c_1 на

цитохром *c*. От цитохрома *c* электроны поступают к комплексу IV, в котором через медьсодержащие центры (Cu_A и Cu_B) и гемы *a* и *a*₃, наконец, поступают на O_2 . Поток электронов происходит в направлении участников с более высоким редокс-потенциалом и сопровождается образованием комплексами I, III и IV трансмембранного градиента электрохимического потенциала протонов.

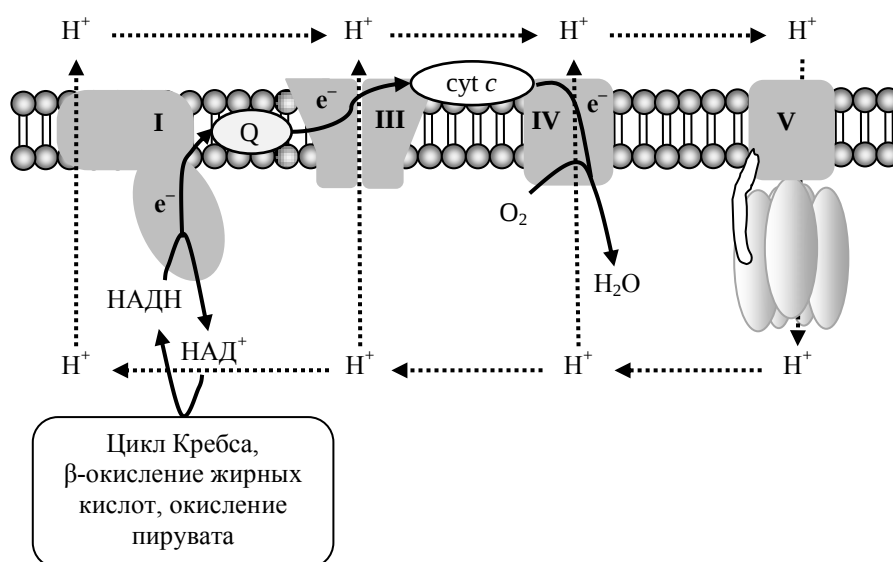


Рис. 19. Ключевые участники сопряжения внутримолекулярного переноса электронов с трансмембранным переносом протонов во внутренней мембране митохондрий: I – комплекс I; III – комплекс III; IV – комплекс IV, V – H^+ -АТФ-синтаза, Q – кофермент Q, cyt *c* – цитохром *c*

Эффективность работы дыхательной цепи такова, что около 90% энергии, высвобождаемой при окислении молекулы НАДН, трансформируется в энергию электрохимического потенциала протонов. Энергия, запасенная в трансмембранной разности электрохимических потенциалов протона, используется для транспорта пирувата и фосфата внутрь митохондрий. Однако основная часть запасенной на мембране митохондрий электрической энергии с помощью фермента H^+ -АТФ-синтазы трансформируется в энергию химических связей молекулы АТФ.

Молекулярный мотор H^+ -АТФ-синтаза. H^+ -АТФ-синтаза состоит из двух частей. Схематическое изображение АТФ-синтазного комплекса митохондрий представлено на рис. 20. Мембранная часть H^+ -АТФ-синтазы называется фактором сопряжения F_0 . Водорастворимый фрагмент H^+ -АТФ-синтазы, выступающий из мембраны в виде сферического образования, называется фактором сопряжения F_1 . В

митохондриях H^+ -АТФ-синтаза встроена во внутреннюю мембрану, а комплекс F_1 обращен в сторону матрикса. Образование АТФ из АДФ и неорганического фосфата (Φ) происходит в каталитических центрах H^+ -АТФ-синтазы, расположенных в комплексе F_1 . Белковый комплекс F_1 можно сравнительно легко отделить от мембраны, при этом он сохраняет способность катализировать гидролиз АТФ. Однако изолированный фактор сопряжения F_1 не способен синтезировать АТФ. Связано это с тем, что работа АТФ-синтазы в режиме синтеза АТФ сопряжена с переносом через нее протонов, путь которых пролегает через F_0 и направлен в сторону F_1 . Такой направленный перенос протонов возможен только в том случае, если H^+ -АТФ-синтаза встроена в мембрану замкнутых энергопреобразующих органелл или в плазматическую мембрану бактериальной клетки.

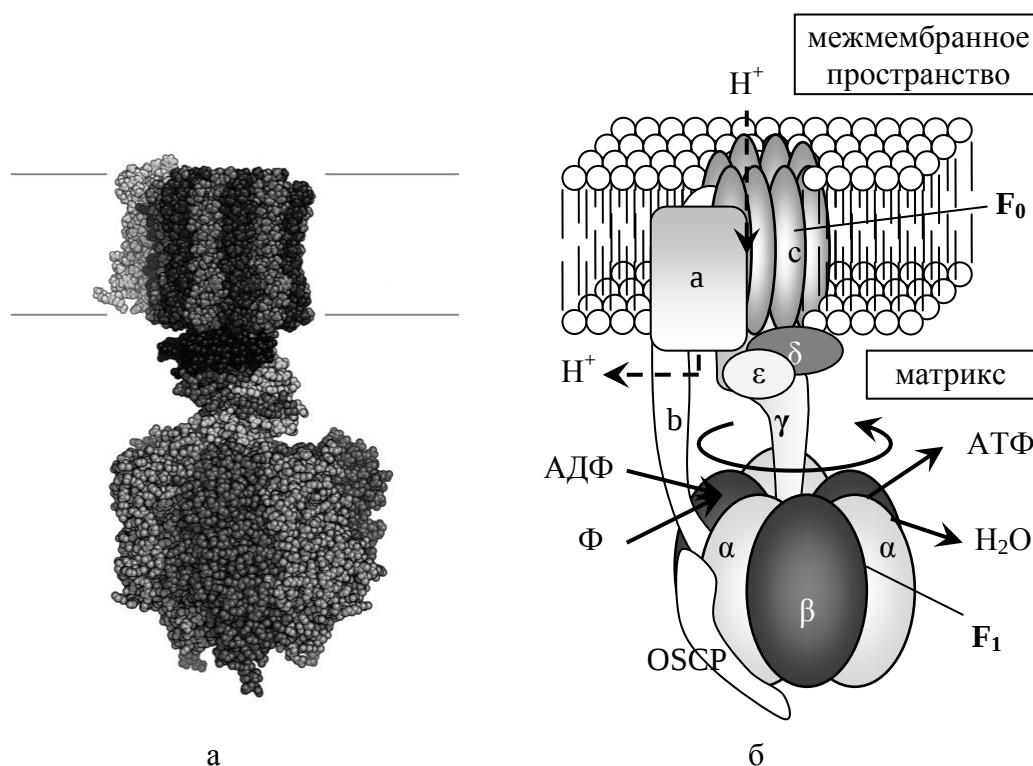


Рис. 20. Пространственная модель (а) и схематическое изображение H^+ -АТФ-синтазы (б)

Представления об H^+ -АТФ-синтазе как молекулярной машине, работа которой связана с ее вращением, хорошо согласуются со структурой фермента, в которой можно выделить две группы белковых субъединиц. Одна из них образует статор мотора, который неподвижен относительно

мембраны, а другая соответствует подвижному ротору, вращающемуся внутри статора (см. рис. 20).

Статор включает в себя шарообразный гексамер, образованный тремя субъединицами α и тремя субъединицами β , а также субъединицами a и b мембранного комплекса F_0 . Ротор состоит из субъединиц γ и ϵ комплекса F_1 . Субъединица γ жестко сцеплена с кольцом из субъединиц c и во время работы АТФ-синтазы кольцо из субъединиц c вращается подобно маховому колесу вместе с субъединицами γ и ϵ , обеспечивая синтез АТФ.

С точки зрения техники функционирование H^+ -АТФ-синтазы аналогично работе электродвигателя. Причем энергия для работы данного «мотора» вырабатывается с помощью водородно-кислородного топливного элемента, реализованного природой в виде ЭТЦ митохондрий. Электрический (протонный) ток, протекающий через фактор сопряжения F_0 , обеспечивает периодическое протонирование/депротонирование карбоксильных групп субъединиц c , создавая условия для направленного вращения ротора электромотора.

Сопряженное функционирование ЭТЦ (топливного элемента) и H^+ -АТФ-синтазы (электродвигателя) организует замкнутый протонный цикл, в котором возникает направленное движение носителей положительного заряда – протонный ток.

Протонный цикл является аналогом электрической цепи (рис.). В протонном цикле, как и в случае электрической цепи, может быть определена разность потенциалов ($\Delta\bar{\mu}_{H^+}$), протонный ток (I_{H^+}) и протонная проводимость ($G_m(H^+)$), равная отношению силы тока, протекающего через данный компонент, к падению потенциала на нем. В обоих случаях имеются генераторы разности потенциалов (батарея ($\Delta\phi$) и ЭТЦ ($\Delta\bar{\mu}_{H^+}$)). И в том, и в другом случае разность потенциалов используется для совершения работы (свет лампы и синтез АТФ). В обеих цепях может наблюдаться короткое замыкание. Скорости физико-химических процессов как в батарее, так и в дыхательной цепи связаны с током электронов и протонов в остальной части цепи, а он, в свою очередь, зависит от сопротивления в этой части цепи. При увеличении тока разность потенциалов в обеих цепях падает. Действие агентов, разобщающих окисление и синтез АТФ, приводит к повышению протонной проводимости мембран и вызывает короткое замыкание (рис. 21).

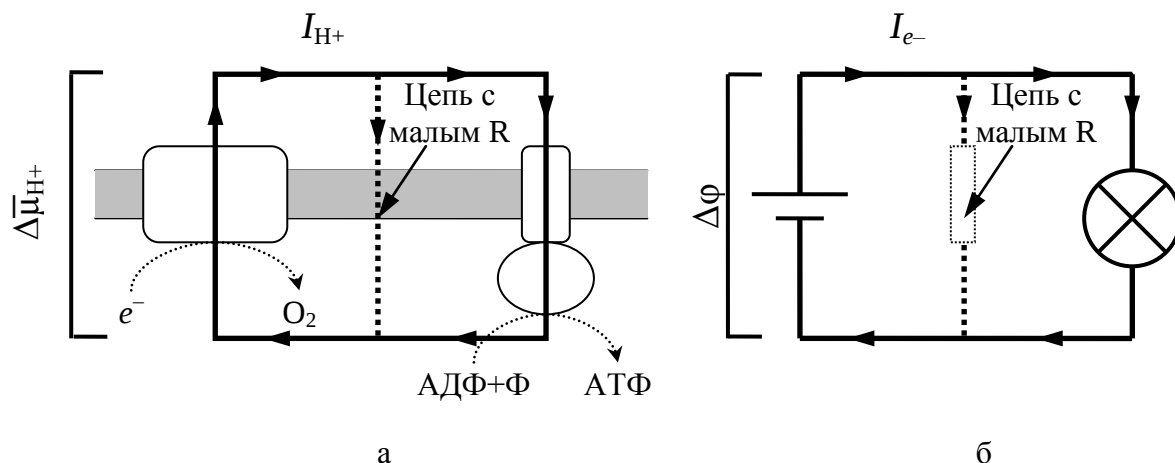


Рис. 21. Аналогия между протонным циклом (а) и электрической цепью (б)

При функционировании протонного цикла можно выделить различные стадии и аналогичные им процессы в электрической цепи. В разомкнутой цепи разность электрических потенциалов максимальная, но ток не течет, поскольку напряжение батареи уравнивается падением потенциалов в цепи. В этих условиях окислительно-восстановительные процессы в батарее не протекают. Разомкнутому протонному циклу соответствует состояние в митохондриях, при котором отсутствует обратный трансмембранный перенос протонов в матрикс. Как и в случае электрической цепи, мембранный потенциал в этих условиях максимальный: протонный ток не течет, поскольку разность электрохимических потенциалов протонов на мембране уравнивается разностью редокс-потенциалов в дыхательной цепи (с учетом стехиометрии H^+/e^-). Нормальный режим работы электрической цепи и протонного цикла, в котором совершается полезная работа, наблюдается при разности потенциалов, ниже максимальной. При введении в электрическую цепь параллельного участка с малым сопротивлением она может быть замкнута накоротко. Ток в этом случае течет, не совершая работы, а энергия рассеивается в виде тепла. В митохондриальной мембране разобщение протонного цикла происходит при действии искусственных протонофоров или активации специальных белков-разобщителей. Короткое замыкание в протонной цепи путем увеличения проводимости мембраны для протонов служит механизмом дополнительного образования тепла в ряде организмов.

МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ В БИОСИСТЕМАХ

Одним из основных свойств живых систем является их способность принимать, обрабатывать и передавать информацию. Процессы рецепции и обработки информации протекают как в одноклеточных, так и в многоклеточных организмах. В многоклеточных организмах в процессе эволюции произошла специализация функций различных типов клеток. При этом клетки приобрели способность реагировать изменением функциональной активности и метаболизма не только на факторы окружающей среды (как в одноклеточных), но и на изменения, происходящие в других клетках.

Системы рецепции и обработки информации, функционирующие в животных и растительных клетках, основаны на единых принципах. Ключевую роль в процессах приема, обработки и передачи информации играют биологические мембраны. Передача сигналов между клетками осуществляется с помощью первичных мессенджеров (посредников). В качестве первичных мессенджеров выступают различные химические соединения (факторы роста, гормоны, нейромедиаторы и др.) и физические факторы (свет, электрическое поле и др.). Рецепция первичной информации осуществляется, в основном, специфическими белками-рецепторами, активация которых приводит к образованию в клетке вторичных мессенджеров, таких как циклический аденозин-5'-монофосфат (цАМФ), ионы кальция (Ca^{2+}), монооксид азота (NO) и др., которые обеспечивают дальнейшую передачу сигнала внутри клетки на эффекторы и усиление сигнала путем включения ферментативных каскадов.

Вторичные мессенджеры участвуют в передаче информации от плазматической мембраны клеток к внутриклеточным мишеням и обладают двумя основными свойствами: во-первых, имеют относительно небольшую по сравнению с биополимерами молекулярную массу; во-вторых, после образования вторичный мессенджер быстро (при сопоставлении со временем передачи сигнала) расщепляется, а в случае Ca^{2+} откачивается. Поскольку группа вторичных мессенджеров (в отличие от первичных) немногочисленна, кодирование специфической информации осуществляется путем регуляции их внутриклеточной концентрации. Различия в амплитуде, кинетике и пространственной организации участников внутриклеточной трансдукции сигналов играют важную роль в реализации биологических ответов.

Активация рецептора и последующая передача сигнала в клетке

представляет собой цепь взаимосвязанных событий, ключевым механизмом которых является образование комплексов между соответствующим лигандом (первичным или вторичным мессенджером) и белком (рецептором, ферментом, ионным каналом, фактором транскрипции и т.д.). Закономерности образования комплексов рассмотрим на примере лиганд-рецепторного взаимодействия.

Каждый первичный мессенджер связывается со своим специфическим рецептором. Взаимодействие лиганда с рецептором является высокоспецифичным процессом, поскольку типичные первичные мессенджеры вызывают физиологические эффекты уже при концентрациях в 10^{-10} моль/л ($6 \cdot 10^{13}$ молекул на литр). Если принять, что типичная клетка имеет диаметр около 12 мкм и занимает объем 10^{-12} л, то в этом объеме при указанной концентрации может находиться 60 молекул (для сравнения укажем, что число ионов в таком же объеме равно $1,8 \cdot 10^{11}$, число молекул АТФ в таком же объеме может достигать 10^{10} , а число молекул вторичного мессенджера цАМФ при передаче информации от плазматической мембраны к клеточным эффекторам может достигать 10^6).

Образование комплекса можно рассмотреть как физико-химический процесс, описываемый следующей схемой



где R – рецептор, L – лиганд, LR – лиганд-рецепторный комплекс.

В состоянии равновесия для уравнения (110) согласно закону действующих масс можно записать

$$k_{+1}[L]([R_0] - [LR]) = k_{-1}[LR], \quad (111)$$

где k_{+1} и k_{-1} – константы скоростей ассоциации и диссоциации лиганд-рецепторного комплекса, $[R_0]$ – общее число рецепторов ($[R_0] = [R] + [LR]$), $[L]$ – концентрация лиганда, $[LR]$ – концентрация лиганд-рецепторного комплекса.

Рецепторы обладают высоким сродством к лиганду, количественной характеристикой которого является константа сродства. Константа сродства (она же константа ассоциации или связывания) характеризует соотношение между занятыми и свободными от лиганда рецепторами в условиях равновесия:

$$k_c = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[LR]}{[L]([R_0] - [LR])}. \quad (112)$$

Чаще вместо константы сродства используется обратная ей константа диссоциации:

$$k_d = \frac{1}{k_c} = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[L]([R_0] - [LR])}{[LR]}. \quad (112)$$

Из (112) можем записать

$$k_d[LR] = [L]([R_0] - [LR]) \quad (113)$$

или

$$(k_d + [L])[LR] = [L][R_0]. \quad (114)$$

Отсюда следует, что зависимость доли занятых лигандом рецепторов от концентрации лигандов будет описываться следующим уравнением

$$\frac{[LR]}{[R_0]} = \frac{[L]}{k_d + [L]}. \quad (115)$$

Из уравнения (115) видно, что при $k_d = [L]$ число лиганд-рецепторных комплексов равно половине числа всех доступных для связывания рецепторов. Таким образом, константа диссоциации равна концентрации лиганда, при которой происходит связывание лигандов половиной рецепторов. Для нахождения константы диссоциации k_d или обратной ей константы сродства k_c , как и в случае ферментативной реакции, можно прибегнуть к координатам Лайнуивера – Берка.

Взаимодействие лигандов с рецепторами осуществляется в центрах связывания лигандов. Наиболее часто центры связывания образованы за счет тех же функциональных групп аминокислот, что и связывающие центры ферментов, то есть карбоксильными группами, аминогруппами, гидроксильными группами, тиоловыми группами, имидазольным ядром гистидина и индольной группой триптофана. Однако следует отметить, что рецепторы отличаются более высокой степенью сродства к лигандам, чем ферменты к субстратам.

Уравнение (115) описывает кривую, аналогичную изотерме адсорбции Ленгмюра. С увеличением концентрации лиганда ($[L] \rightarrow \infty$) доля занятых рецепторов стремится к общему числу рецепторов ($[LR] \rightarrow [R_0]$). Таким образом, количество лигандов, необходимых для активации клеточного ответа, определяется количеством рецепторов на клеточной мембране. Данный этап трансдукции сигнала может регулироваться изменением концентрации лигандов и рецепторов.

Следует отметить, что уравнение связывания (115) аналогично уравнениям, описывающим ферментативные процессы и облегченный транспорт веществ через мембраны. Это обусловлено тем, что скорости протекания этих процессов ограничены числом белков, участвующих в них.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рубин А.Б. Биофизика. В 2-х книгах. Кн.1. Теоретическая биофизика. М.: МГУ. 2004.
2. Рубин А.Б. Биофизика. В 2-х книгах. Кн.2. Биофизика клеточных процессов. М.: МГУ. 2004.
3. Мартинович Г.Г., Сазанов Л.А., Черенкевич С.Н. Клеточная биоэнергетика: физико-химические и молекулярные основы. М.: ЛЕНАНД, 2020.
4. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г., Хмельницкий А.И. Биологические мембраны. Минск: БГУ, 2009.
5. Черенкевич С.Н., Хмельницкий А.И. Транспорт веществ через биологические мембраны. Минск.: БГУ, 2007.
6. Биофизика / Антонов В.Ф. [и др.] // М.: ВЛАДОС, 2006.
7. Ревин В.В., Максимов Г.В., Кольс О.Г. Биофизика. Саранск, Изд. Мордов. ун-а. 2002.
8. Твердислов В.А., Сидорова А.Э., Яковенко Л.В. Биофизическая экология. М.: URSS, 2020.
9. Блюменфельд Л.А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики. М.: URSS. 2002.
10. Шредингер Э. Что такое жизнь? Физический аспект живой клетки. Москва-Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2002.
11. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Лекции по медицинской биофизике. М.: МГУ, 2007.
12. Ремизов А.Н., Максина А.Г., Потапенко А.Я. Медицинская и биологическая физика. М.: Дрофа, 2003.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ СИСТЕМ. СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ВОДЫ.....	4
КЛЕТКА И КЛЕТОЧНЫЕ ОРГАНЕЛЛЫ: СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ	9
СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ. ФОЛДИНГ	13
ФИЗИКА ФЕРМЕНТОВ	19
СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.....	23
ЛИПИДЫ И ЛИПИДНЫЕ СТРУКТУРЫ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ	26
ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ	36
ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК.....	47
ФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА.....	55
ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В БИОСИСТЕМАХ	66
МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ В БИОСИСТЕМАХ...	78
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	81

Учебное издание

Мартинovich Григорий Григорьевич

ФИЗИКА БИОСИСТЕМ

**Конспект лекций
для студентов специальности
1-31 04 01 «Физика (по направлениям)»,
1-31 04 01-01 «Физика
(научно-исследовательская деятельность)»**

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *Т. В. Музыка*

Подписано в печать 28.02.2022. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.
Усл. печ. л. 4,88. Уч.-изд. л. 4,85. Тираж 50 экз.

Белорусский государственный университет.
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/270 от 03.04.2014.
Пр. Независимости, 4, 220030, Минск.

Отпечатано с оригинал-макета заказчика
на копировально-множительной технике
физического факультета
Белорусского государственного университета.
Пр. Независимости, 4, 220030, Минск.