

**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ФИЗИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ  
Кафедра биофизики**

---

**Г. Г. Мартинович**

# **БИОФИЗИКА КЛЕТКИ**

**Конспект лекций  
для студентов специальности  
1-31 04 07 «Физика наноматериалов  
и нанотехнологий»**

---

**МИНСК  
2022**

УДК 576.32/.36(075.8)  
ББК 28.05я73-2  
М29

Рекомендовано советом  
физического факультета БГУ  
31 марта 2022 г., протокол № 8

Р е ц е н з е н т  
кандидат биологических наук *М. Л. Лукьяненко*

**Мартинovich, Г. Г.**

М29 Биофизика клетки : конспект лекций / Г. Г. Мартинovich. –  
Минск : БГУ, 2022. – 86 с.

Изложены современные представления о физических и физико-химических основах функционирования клеток. Основное внимание уделяется таким фундаментальным клеточным явлениям, как перенос электронов и преобразование энергии, механизмы электрогенеза и клеточного движения, механизмы передачи и обработки информации в клетках.

УДК 576.32/.36(075.8)  
ББК 28.05я73-2

© БГУ, 2022

## РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ

Биофизика клетки является ключевым разделом современной биофизики. *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.

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. Науки о жизни – это мультидисциплинарное комплексное направление исследования живых систем, включающее биологические науки, а также смежные с биологией науки, в которых биологические системы используются как материалы и компоненты для создания новых диагностических, технологических устройств, сенсорных систем и т.д.

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.

Фундаментальной, структурной и функциональной единицей живых систем является клетка. *Биофизика клетки* изучает физические и физико-химические основы строения и функционирования клеток и является основой для развития клеточных технологий и клеточной инженерии.

Важнейшей задачей биофизики клетки является изучение физических явлений и структур в масштабе клеток, в том числе структурной организации мембран и процессов в них.

В программе подготовки студентов специализации «Нанобиоматериалы и нанобиотехнологии» специальности 1-31 04 07 «Физика наноматериалов и нанотехнологий» вопросы биофизики клетки изучаются в рамках двух курсов «Физика мембранных систем» и «Биофизика клетки». В курсе «Биофизика клетки» основное внимание уделяется таким фундаментальным клеточным явлениям как перенос электронов и преобразование энергии, механизмы электрогенеза и клеточного движения, а также механизмы передачи и обработки информации в клетках.

## РАЗДЕЛ 2. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ

Функционирование клеток происходит в результате совершения различных видов полезной работы (биосинтез, активный транспорт, движение, трансдукция сигнала, теплопродукция и т.д.) и невозможно без источников внешней энергии. Ключевыми физическими понятиями, используемыми для описания механизмов клеточных процессов, являются работа и энергия.

Термин энергия (от греч. *energia* – деятельность) используется для описания результатов действия силы. Результатом действия силы является совершенная работа, а количественной мерой совершенной работы является величина изменения энергии. То есть, *энергия* – это количественная характеристика способности системы производить изменения в окружающем мире (*работу*).

Энергия – это универсальная мера движения и взаимодействия всех видов материи. При этом работа и энергия – взаимосвязанные величины. Обе величины, энергия и работа, измеряются в джоулях ( $1 \text{ Дж} = 1 \text{ Н} \cdot \text{м}$ , устаревшая единица – калория ( $1 \text{ кал} = 4,187 \text{ Дж}$ )).

Система в состоянии производить работу, когда она переходит из начального состояния в конечное с уменьшением энергии. Как пример, рассмотрим совершение механической работы под действием силы тяжести. Пусть имеется поток воды, движущийся сверху вниз. Благодаря силе земного притяжения энергия предмета (потенциальная механическая энергия), в данном случае энергия воды, тем выше, чем дальше этот предмет удален от центра Земли. Перепад высот между высшей и низшей точками (высота водопада) определяет *разность потенциалов* и является «движущей силой» процесса. Поток воды самопроизвольно устремляется вниз, в направлении противоположном градиенту потенциала, и может совершать полезную работу, например, вращение колеса водяной мельницы. Величина совершаемой работы, при этом, будет зависеть не только от величины «движущей силы» процесса (в данном случае высоты водопада), но и от массы падающей воды. В общем случае величина совершенной работы может быть рассчитана как произведение двух величин

$$A = \Phi_u \cdot \Phi_e, \quad (2.1)$$

где  $A$  – работа,  $\Phi_u$  – фактор интенсивности,  $\Phi_e$  – фактор емкости. *Фактор интенсивности* характеризует «движущую» силу процесса и определяется как разность соответствующих потенциалов. *Фактор емкости* характеризует количество вовлеченного в процесс вещества. В зависимо-

сти от вида совершенной работы (механическая, электрическая, химическая и др.) могут меняться параметры, определяющие величину фактора интенсивности (например, электрический потенциал или химический потенциал) и фактора емкости (например, заряд или количество вещества), но в каждом случае работа будет определяться на основе уравнения (2.1).

Рассмотрим перемещение иона в электрическом поле напряженностью  $E$ . Работа, совершаемая против действующей на ион с зарядом  $Q=ze$  электрической силы  $F=QE$ , при перемещении его на расстояние  $dx$ , будет равна:

$$dA_{эл} = -Fdx = -zeE dx, \quad (2.2)$$

где  $e$  – элементарный заряд,  $z$  – валентность иона.

Напряженность поля определяется величиной градиента электрического потенциала  $\varphi$ :

$$E = -\frac{d\varphi}{dx}. \quad (2.3)$$

Из уравнений (2.2) и (2.3) следует, что работа, выполняемая в электрическом поле при перемещении иона с зарядом  $ze$  из точки с потенциалом  $\varphi_1$  в точку с потенциалом  $\varphi_2$ , равна:

$$A_{эл} = \int_{\varphi_1}^{\varphi_2} dA_{эл} = ze \int_{\varphi_1}^{\varphi_2} d\varphi = ze(\varphi_2 - \varphi_1) = ze\Delta\varphi.$$

Энергия, затрачиваемая на перемещение одного моля ионов, отличается от энергии, затрачиваемой на перемещение одного иона, в  $N_A$  раз ( $N_A$  – число Авогадро). Работа, необходимая для перемещения  $n$  молей ионов из области с потенциалом  $\varphi_1$  в точку с потенциалом  $\varphi_2$  равна

$$A_{эл} = nN_A ze\Delta\varphi = nZF\Delta\varphi, \quad (2.4)$$

где  $F=N_Ae$  – постоянная Фарадея (заряд одного моля одновалентных ионов,  $F=9,6485 \times 10^4$  Кл  $M^{-1}$ ). Таким образом, электрическая работа также является функцией двух величин: фактора интенсивности (разность электрических потенциалов) и фактора емкости (заряд).

Поскольку *энергия системы равна работе, которая была затрачена на создание этой системы*, электрическую энергию 1 моля ионов с валентностью  $z$  в поле с потенциалом  $\varphi$  можем определить как работу, совершаемую при перемещении одного моля ионов в поле с потенциалом  $\varphi$ , из области, потенциал в которой принимается равным нулю, то есть согласно (2.4)

$$E_{эл} = A_{эл} = zF\Delta\varphi = zF(\varphi - 0) = zF\varphi.$$

В биологических системах при перемещении веществ (ионов и нейтральных молекул) между компартментами, различающимися концен-

трациями этих веществ, совершается осмотическая работа, величина которой определяется также на основе уравнения (2.1). Осмотическая работа – это работа, которую надо совершить, чтобы увеличить концентрацию вещества в данном растворе.

В случае сжатия газа осмотическая работа может быть рассчитана на основе выражения:

$$dA_{\text{осм}} = PdV,$$

где  $P$  – осмотическое давление,  $dV$  – изменение объема. Однако в биологических системах осмотическая работа совершается преимущественно при переносе ионов или нейтральных молекул через мембрану. При этом не происходит изменения объема, но происходит изменение концентрации, и, следовательно, изменение осмотического давления. Работа при изменении давления на величину  $dP$  при постоянном объеме с учетом, что  $P=RTC$  (уравнение Вант-Гоффа), равна:

$$dA_{\text{осм}} = VdP = \frac{n}{C} dP = \frac{n}{C} d(RTC) = nRT \frac{dC}{C},$$

где  $C$  – молярная концентрация,  $R$  – универсальная газовая постоянная ( $R=8,314 \text{ Дж К}^{-1} \text{ М}^{-1}$ );  $T$  – температура (К).

При переносе ионов или молекул через мембрану из одного водного раствора, где их концентрация равна  $C_1$ , в другой водный раствор, где концентрация равна  $C_2$ , совершается работа, равная:

$$A_{\text{осм}} = nRT \int_{C_1}^{C_2} \frac{dC}{C} = nRT \ln \frac{C_2}{C_1}.$$

С другой стороны, осмотическая работа может быть рассчитана как функция фактора интенсивности (разность химических потенциалов) и фактора емкости (количество вещества). То есть, при переносе  $n$  молей молекул (или ионов) из водного раствора с химическим потенциалом

$$\mu_1 = \mu_0 + RT \ln C_1$$

в водный раствор с потенциалом

$$\mu_2 = \mu_0 + RT \ln C_2$$

работа равна

$$A_{\text{осм}} = n\Delta\mu = n(\mu_2 - \mu_1) = nRT \ln \frac{C_2}{C_1}.$$

Величина осмотической энергии системы определяется относительно величины энергии некоторой другой системы, принятой за стандарт. *Осмотическая энергия* 1 моля ионов (молекул) равна работе, которую нужно затратить, чтобы изменить концентрацию ионов (молекул) от 1 М до

данной величины  $C$ . Таким образом, осмотическая энергия ионов (молекул) в растворе с концентрацией  $C$  равна:

$$E_{\text{осм}} = RT \ln \frac{C(\text{М})}{1 \text{ М}} = RT \ln C.$$

В последнем уравнении  $C$  – это безразмерная концентрация – число, равное отношению молярной концентрации вещества к концентрации 1 М. Общая работа, выполняемая при создании раствора, содержащего 1 моль ионов, рассматриваться как величина, определяющая энергию ионов в растворе. При создании раствора энергия затрачивается на то, чтобы: 1) поместить моль ионов в растворитель (в зависимости от природы растворителя, в частности от полярности его молекул, на это потребуется разное количество энергии, величина которой называется *химическим сродством* иона к растворителю и обозначается  $\mu_0$ ); 2) сконцентрировать раствор до значений молярной концентрации  $C$ ; 3) поместить моль ионов в электрическое поле с потенциалом, существующим в данном растворе. Рассчитанная таким образом энергия моля ионов называется *электрохимическим потенциалом* данного иона

$$\tilde{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + zF\varphi. \quad (2.5)$$

Таким образом, электрохимический потенциал можно определить как работу по переносу 1 моля заряженных частиц из бесконечно удалённой точки с нулевым потенциалом в раствор с потенциалом  $\varphi$ .

В биологических системах электрическая, осмотическая и химическая энергия может быть использована для совершения работы. Количественной мерой превращения этих видов энергии служит изменение такой термодинамической функции состояния как *свободная энергия*.

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  $\Delta G$  при постоянной температуре можно выразить через изменение энтальпии ( $\Delta H$ ) и энтропии ( $\Delta S$ ) 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 свободной

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 негэнтропии 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. 1). Более тяжелый груз (на рис. 1 справа) будет опускаться вниз, при этом его потенциальная энергия будет уменьшаться (экзергонический процесс). Более легкий груз (на рис. 1 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.

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 экзергоническим процессом. 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.



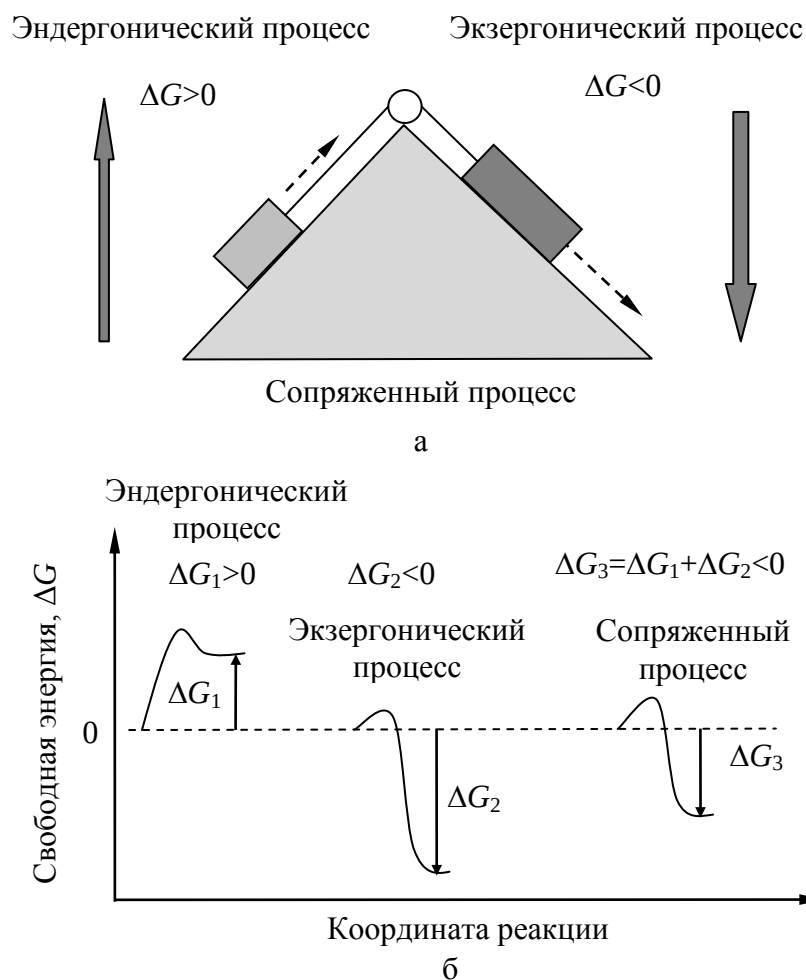


Рис.1. Энергетическое сопряжение при механическом (а) и химическом (б) процессах

**Аденозин-5'-трифосфат (АТФ)** – адениновый рибонуклеотид с тремя фосфатными группами (рис. 2) – является основным участником энергетического обмена в клетке, осуществляющим перенос химической энергии между внутриклеточными компонентами.

При pH 7,0 молекулы  $\text{АТФ}^{4-}$  и  $\text{АДФ}^{3-}$  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  $\text{Mg}^{2+}$  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<sup>4-</sup>, АДФ<sup>3-</sup> 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.

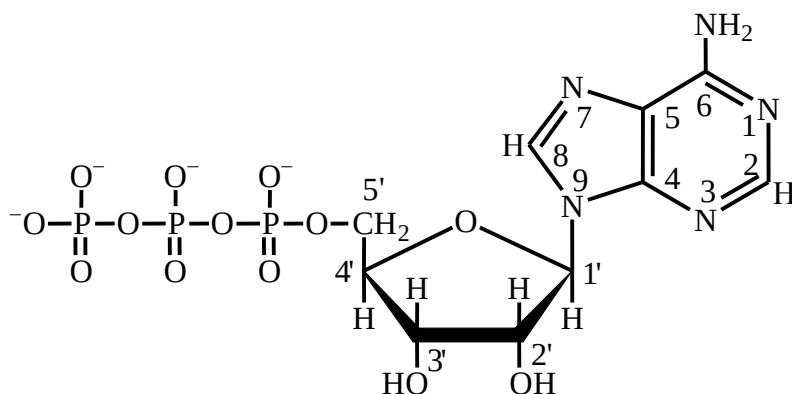


Рис.2. Аденозин-5'-трифосфат

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 ( $\phi_m$ ) 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<sup>-1</sup>) 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. Таким образом, в биологических системах большая часть функционально значимых процессов происходит на основе физических механизмов, обеспечивающих перенос электронов.

### РАЗДЕЛ 3. ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОСИСТЕМАХ

**3.1. Физико-химические основы редокс-процессов.** С точки зрения химии межмолекулярный перенос электрона представляет собой окислительно-восстановительную реакцию.

*Окислительно-восстановительными* или *редокс-реакциями* (от англ. *redox – reduction/oxidation*) называются реакции, сопровождающиеся переносом электронов от одних молекул или ионов к другим. Взаимодействующие в окислительно-восстановительной реакции вещества образуют сопряженные пары, которые принято называть *окислительно-восстановительными парами* (или *редокс-парами*). Оба компонента редокс-пары различаются суммарным числом электронов. Компонент, содержащий большее количество электронов, называется *восстановленной формой*, другой компонент – *окисленной формой* соответствующего соединения. В ходе редокс-реакции электроны с восстановленной формы одной редокс-пары (такие молекулы, доноры электронов, называют *восстановителями*) переносятся на окисленную форму (такие молекулы, акцепторы электронов, называют *окислителями*) другой пары. При этом восстановитель окисляется, а окислитель восстанавливается.

*Окислением* называется процесс потери электронов восстановителем, в ходе которого он переходит в сопряженную окисленную форму



*Восстановлением* называется процесс присоединения электронов окислителем, в ходе которого он переходит в сопряженную восстановленную форму

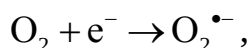


Реакции (3.1) и (3.2) – две части одного процесса. Как пример, рассмотрим катализируемую НАДФН-оксидазой реакцию одноэлектронно-

го восстановления кислорода НАДФН:



В этой реакции принимают участие две сопряженные пары НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН (окисленная форма – НАДФ<sup>+</sup>, восстановленная форма – НАДФН) и O<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>•−</sup> (окисленная форма – O<sub>2</sub>, восстановленная форма – O<sub>2</sub><sup>•−</sup>). Окислителем в этой реакции является кислород



а восстановителем никотинамидадениндинуклеотид фосфат (НАДФН)



Физическим процессом в окислительно-восстановительной реакции является перенос электрона от молекулы, в которой он находится на орбитали с высокой энергией электрона (восстановитель), на молекулу, имеющую электронную вакансию на орбитали, соответствующей более низкой энергии электрона (окислитель). Энергия электрона на доноре и акцепторе характеризуется редокс-потенциалами. *Редокс-потенциал* (или *восстановительный потенциал*, поскольку он характеризует реакцию восстановления) является мерой способности соединений принимать электроны в окислительно-восстановительных реакциях. Способность принимать электроны (восстанавливаться) выше у соединений с более высоким потенциалом. Алгебраическая разность редокс-потенциалов участников электронного переноса характеризует движущую силу процесса.

Перенос электронов от одних молекул или ионов к другим может происходить по металлическому проводнику, в результате чего генерируется электрический ток и химическая энергия непосредственно преобразуется в электрическую. Законы термодинамики позволяют количественно охарактеризовать это превращение и установить связь между химическими и электрическими величинами.

Рассмотрим систему (рис. 3), в которой две редокс-пары, будучи пространственно разобщенными, участвуют в окислительно-восстановительной реакции путем передачи электронов по металлическому проводнику от восстановителя к окислителю. Металлический проводник (проводник 1-го рода), контактирующий с раствором (проводником 2-го рода), называется электродом.

Окислительно-восстановительная реакция, протекающая на границе раздела физически и химически разнородных материалов (металла и раствора), сопровождается возникновением разности потенциалов, называемой электродным редокс-потенциалом. Металл принимает лишь косвенное участие в потенциалопределяющей реакции, являясь посредни-

ком в передаче электронов от восстановителя к окислителю. На границе раздела металл-раствор на вещество в окисленной форме переносятся электроны от металла, на который, в свою очередь, переходят электроны от вещества в восстановленной форме.

Скорость переноса электронов из металла в раствор к молекулам вещества в окисленной форме постепенно уменьшается по мере роста величины положительного заряда поверхности металла, а скорость переноса электронов в обратном направлении – от молекул вещества в восстановленной форме к металлу – возрастает. И наоборот, скорость переноса электронов из раствора от молекул вещества в восстановленной форме к металлу постепенно уменьшается по мере роста величины отрицательного заряда поверхности металла, а скорость переноса электронов в обратном направлении возрастает. В результате, при равенстве скоростей прямого и обратного процессов в зависимости от преобладания процессов окисления или восстановления устанавливается характерный для данной редокс-пары скачок потенциала.

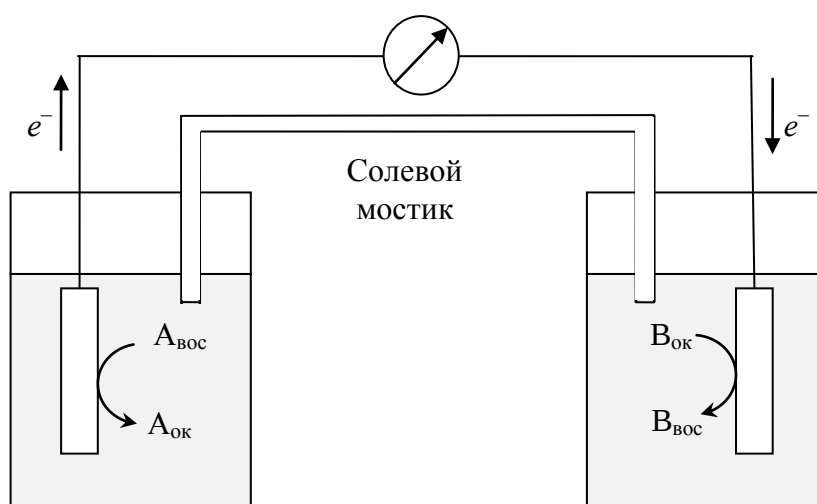


Рис. 3. Схема определения редокс-потенциалов

В живых системах белки выступают своеобразными аналогами электродов. В растворе и электроды и белки способны обмениваться электронами с редокс-активными соединениями. При изменении концентраций редокс-активных соединений в растворе изменяется разность потенциалов на границе металл-раствор. При изменении концентраций редокс-активных соединений в клетке изменяется конформация и активность белков.

Редокс-потенциал системы определяют как электродвижущую силу (ЭДС) в вольтах (В), измеренную относительно известного потенциала. В качестве условно-нулевого потенциала выбран потенциал стандартного водородного электрода (системы  $2\text{H}^+/\text{H}_2$ ), в котором давление продуваемого молекулярного водорода равно 1 атм, а активность ионов водорода в растворе равна 1.

*Стандартным редокс-потенциалом* ( $E^0$  или  $E^{0'}$ ) любого соединения называют его потенциал по отношению к водородному при стандартных условиях (концентрации окисленных и восстановленных форм редокс-пары равны 1 М, температура (Т) 298 К, рН 0 ( $E^0$ ) или, в случае биологических систем, рН 7,0 ( $E^{0'}$ )). Значение стандартного редокс-потенциала соединения определяет величину изменения свободной энергии ( $\Delta G^{0'}$ ) в реакции перехода из восстановленной в окисленную форму

$$\Delta G^{0'} = -zeE^{0'},$$

где  $e$  – элементарный заряд,  $z$  – число электронов, которые присоединяет частица окисленной формы, переходя в восстановленную форму вещества.

Для определения редокс-потенциала используют высокоомный вольтметр, с помощью которого измеряют электрическое напряжение между двумя электродами, погруженными в растворы, содержащие разные редокс-пары (рис. 4). Соединение растворов, содержащих редокс-пары, металлическим проводником приводит к возникновению электрического тока. Следовательно, в этой системе возникает ЭДС. Эта ЭДС способна совершать работу по переносу электронов в металлическом проводнике (а, следовательно, и любые виды работы, в которые можно преобразовать энергию электрического тока) за счет редокс-реакции. Таким образом, данная система представляет собой устройство, в котором химическая энергия, характеризуемая изменением свободной энергии (термодинамического потенциала), преобразуется в энергию электрического тока. Такая система называется *гальваническим элементом*. Функционирующий гальванический элемент представляет собой замкнутую электрическую цепь, в которой окислитель и восстановитель соединены проводником, не участвующим в редокс-реакции, например, раствором электролита.

Количественная зависимость величины редокс-потенциала ( $E$ ) от химической природы редокс-пары, температуры, отношения концентраций вещества в окисленной ( $[A_{\text{ок}}]$ ) и восстановленной ( $[A_{\text{вос}}]$ ) форме устанавливается уравнением Нернста:

$$E = E^{0'} + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[A_{\text{ок}}]}{[A_{\text{вос}}]}. \quad (3.4)$$

Для вывода данного уравнения рассмотрим процессы преобразования энергии в гальваническом элементе. Поскольку ЭДС гальванического элемента возникает в результате химической реакции, протекающей в элементе, то она должна быть связана с термодинамическими характеристиками этой реакции. Между водородным электродом (с потенциалом  $E_{\text{вод}}$ ) и электродом, взаимодействующим с редокс-парой (с потенциалом  $E$ ), существует разность потенциалов  $E - E_{\text{вод}}$ . Под действием этой ЭДС совершается работа по переносу электронов ( $A_{\text{эл}}$ ), которая в расчете на 1 моль электронов равна

$$A_{\text{эл}} = zF(E - E_{\text{вод}}). \quad (3.5)$$

Фактически это работа обратимого переноса 1 моля электронов из металла в раствор или из раствора в металл. Как известно, ЭДС в замкнутом контуре равно падению напряжения вдоль всего контура (второй закон Кирхгофа):

$$\text{ЭДС} = (E - E_{\text{вод}}) + IR_{\text{внутр}}, \quad (3.6)$$

где  $I$  – сила тока в контуре,  $R_{\text{внутр}}$  – сопротивление внутренней части элемента – электролита, разделяющего электроды. Из (3.6) видно, что напряжение гальванического элемента, используемого в качестве источника тока, меньше его ЭДС. Если же уменьшать силу тока, что достигается увеличением сопротивления внешней цепи, то в пределе при бесконечно малой силе тока разность электрических потенциалов между электродами становится равной ЭДС элемента. Но бесконечно малая сила тока соответствует бесконечно медленному протеканию химической реакции. Следовательно, в этом случае процесс является равновесным и полезная работа ( $A_{\text{эл}}$ ) равная убыли свободной энергии Гиббса в системе (следствие второго начала термодинамики), то есть

$$\delta A_{\text{эл}} = -dG. \quad (3.7)$$

При изменении химической переменной на  $d\xi$  работа по переносу электронов составит

$$\delta A_{\text{эл}} = zF(E - E_{\text{вод}})d\xi, \quad (3.8)$$

а изменение свободной энергии Гиббса

$$dG = \Delta G d\xi.$$

С учетом того, что  $E_{\text{вод}} = 0$ , выражение (3.8) примет вид

$$\delta A_{\text{эл}} = zFE d\xi. \quad (3.9)$$

Тогда

$$\Delta G = -zFE . \quad (3.10)$$

При переходе из восстановленной формы редокс-пары в окисленную изменение свободной энергии Гиббса определяется следующим образом:

$$\Delta G = \Delta G^{0'} + RT \ln \frac{[A_{\text{вос}}]}{[A_{\text{ок}}]} = -RT \ln K_p + RT \ln \frac{[A_{\text{вос}}]}{[A_{\text{ок}}]}, \quad (3.11)$$

где  $K_p$  – константа равновесия.

Получаем, что

$$-zFE = -RT \ln K_p + RT \ln \frac{[A_{\text{вос}}]}{[A_{\text{ок}}]}, \quad (3.12)$$

или

$$E = \frac{\Delta G}{-zF} = \frac{RT}{zF} \ln K_p + \frac{RT}{zF} \ln \frac{[A_{\text{ок}}]}{[A_{\text{вос}}]}. \quad (3.13)$$

Таким образом, *редокс-потенциал представляет собой меру свободной энергии реакции окисления-восстановления для любой замкнутой редокс-системы, находящейся в состоянии равновесия.*

Введя обозначение

$$E^{0'} = \frac{RT}{zF} \ln K_p, \quad (3.14)$$

в (3.13) получим уравнение Нернста (3.4).

Для редокс-пары  $A_{\text{ок}}/A_{\text{вос}}$  константа равновесия реакции  $A_{\text{ок}} + ze^- \rightarrow A_{\text{вос}}$  будет

$$K_p = \frac{[A_{\text{вос}}]}{[A_{\text{ок}}][e^-]^z}. \quad (3.15)$$

Выражение (3.14) с учетом (3.15) можно записать в виде

$$E^{0'} = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[A_{\text{вос}}]}{[A_{\text{ок}}][e^-]^z}, \quad (3.16)$$

$$E^{0'} = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{[A_{\text{ок}}][e^-]^z}{[A_{\text{вос}}]} = -\frac{RT}{zF} \ln \frac{[A_{\text{ок}}]}{[A_{\text{вос}}]} - \frac{RT}{zF} \ln [e^-]^z. \quad (3.17)$$

Используя выражение (3.4) и (3.17), получаем следующее выражение для восстановительного потенциала редокс-пары

$$E = -\frac{RT}{F} \ln [e^-]. \quad (3.18)$$

Таким образом, восстановительный потенциал можно рассматривать как «электрондвижущую силу», которая определяется концентрацией



отдаваемых или принимаемых системой электронов и характеризует затрачиваемую на их перенос энергию.

**3.2. Молекулярные основы редокс-процессов.** 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. В молекулах-переносчиках электроны локализуются в системе  $\pi$ -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.

Коферментами различных оксидоредуктаз выступают никотинамид- и флавинсодержащие нуклеотиды, тиолсодержащие соединения, хиноны и соединения, содержащие ионы металлов переменной валентности.

Никотинамидные коферменты (рис. 4) – коферментная форма никотиновой кислоты или ниацина (известного, как витамин B<sub>5</sub> или витамин PP). К этой группе коферментов, универсальных по распространению (они найдены во всех клетках) и биологической роли, относятся никотинамидадениндинуклеотид НАД<sup>+</sup> (NAD<sup>+</sup>) и никотинамидадениндинуклеотид фосфат НАДФ<sup>+</sup> (NADP<sup>+</sup>), а также восстановленные (по пиридиновому кольцу) формы этих соединений (соответственно НАДН (NADH) и НАДФН (NADPH)). Никотинамидсодержащие нуклеотиды переносят гидрид-ион (2e<sup>-</sup> и 1 H<sup>+</sup>) и являются растворимыми коферментами. Стандартный редокс-потенциал пары НАД<sup>+</sup>/НАДН при pH 7,0 составляет  $E^{0'} = -320$  мВ, а редокс-потенциал пары НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН –  $E^{0'} = -324$  мВ.

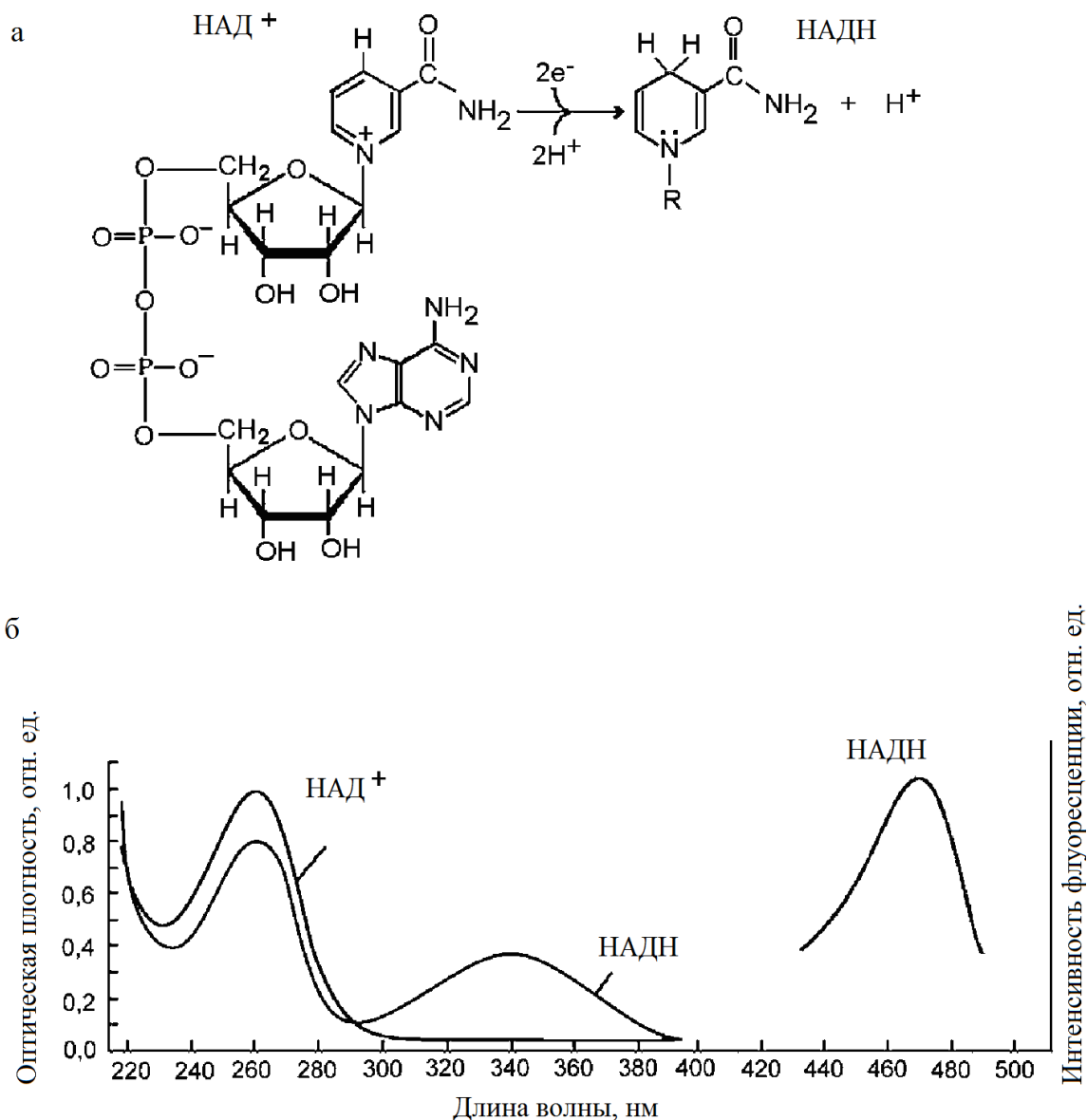


Рис. 4. Никотинамидные коферменты: строение (а) и спектры поглощения и флуоресценции НАД<sup>+</sup> и НАДН (б)

В клетках млекопитающих электроны, высвобождаемые при гидролизе жиров и углеводов, транспортируются в дыхательную цепь митохондрий с помощью НАДН. Окисленная форма динуклеотида НАД<sup>+</sup> состоит из 5'-АМФ и нуклеотида, содержащего в качестве основания амид никотиновой кислоты (рис. 4 а). Структурно (но не функционально) похожим коферментом является НАДФ<sup>+</sup>, в котором через 2'-ОН-группу рибозы аденозина присоединен фосфат. Несмотря на близкое структурное родство НАД<sup>+</sup> и НАДФ<sup>+</sup> осуществляют различные функции в обмене веществ. НАДН переносит электроны из катаболических путей в дыха-

тельную цепь и, таким образом, участвует в энергетическом обмене. НАДФН, напротив, является основным восстановителем при биосинтезе.

В окислительно-восстановительных реакциях никотинамидных коферментов участвует только *никотинамидное кольцо*. Никотинамид является амидом пиридин-3-карбоновой (никотиновой) кислоты. В окисленной форме кольцо несет положительный заряд. По этой причине кофермент в окисленном состоянии обозначают как  $\text{НАД}^+$ . При окислении субстрата ( $\text{АН}_2$ ) дегидрогеназа отщепляет два атома водорода, то есть два электрона и два протона. Однако на  $\text{НАД}^+$  переносится только два электрона и протон (гидрид-ион). Второй протон высвобождается в среду. Акцептором гидрид-иона является атом углерода в *пара*-положении к атому азота кольца  $\text{НАД}^+$ . В этом месте появляется алифатическая  $\text{СН}_2$ -группа, в кольце изменяется положение двойных связей и исчезает положительный заряд. При окислении или восстановлении никотинамидного кольца изменяются также спектральные характеристики кофермента, что позволяет использовать спектральные методы для анализа данных процессов.

Как и любой нуклеотид,  $\text{НАД}^+$  поглощает кванты ультрафиолетового света в области длин волн 240-280 нм с максимумом в спектре поглощения при 260 нм. В спектре поглощения динуклеотида в окисленном состоянии отсутствуют другие полосы поглощения, а в спектре динуклеотида в восстановленном состоянии ( $\text{НАДН}$ ) присутствует широкая дополнительная полоса поглощения в области 300-380 нм с максимумом при 340 нм. Динуклеотид в окисленном состоянии не флуоресцирует, для восстановленной формы наблюдается флуоресценция и спектр флуоресценции имеет максимум при 470 нм (рис. 4 б). По этим спектральным полосам можно судить о редокс-состоянии динуклеотида.

Флавиновые коферменты (рис. 5) – коферментная форма витамина рибофлавина (витамина  $\text{В}_2$ ). Флавинмононуклеотид ФМН (FMN) и флавинадениндинуклеотид ФАД (FAD) и их восстановленные формы ( $\text{ФМНН}_2$  ( $\text{FMNH}_2$ ) и  $\text{ФАДН}_2$  ( $\text{FADH}_2$ )) найдены в дегидрогеназах, оксидазах и монооксигеназах.

Флавиновые коферменты ковалентно связаны с ферментами, то есть являются их простетическими группами. Диапазон изменений величины стандартного редокс-потенциала  $E^{0'}$  для флавиновых групп составляет от –300 мВ до –200 мВ. Активной группой обоих коферментов является *флавин* (изоаллоксазин), имеющий сопряженную систему из трех колец (рис. 5 а). В ФМН к флавину присоединен фосфорилированный полиол *рибит*. ФАД состоит из ФМН и связанного с ним АМФ. Оба соединения являются функционально близкими коферментами.

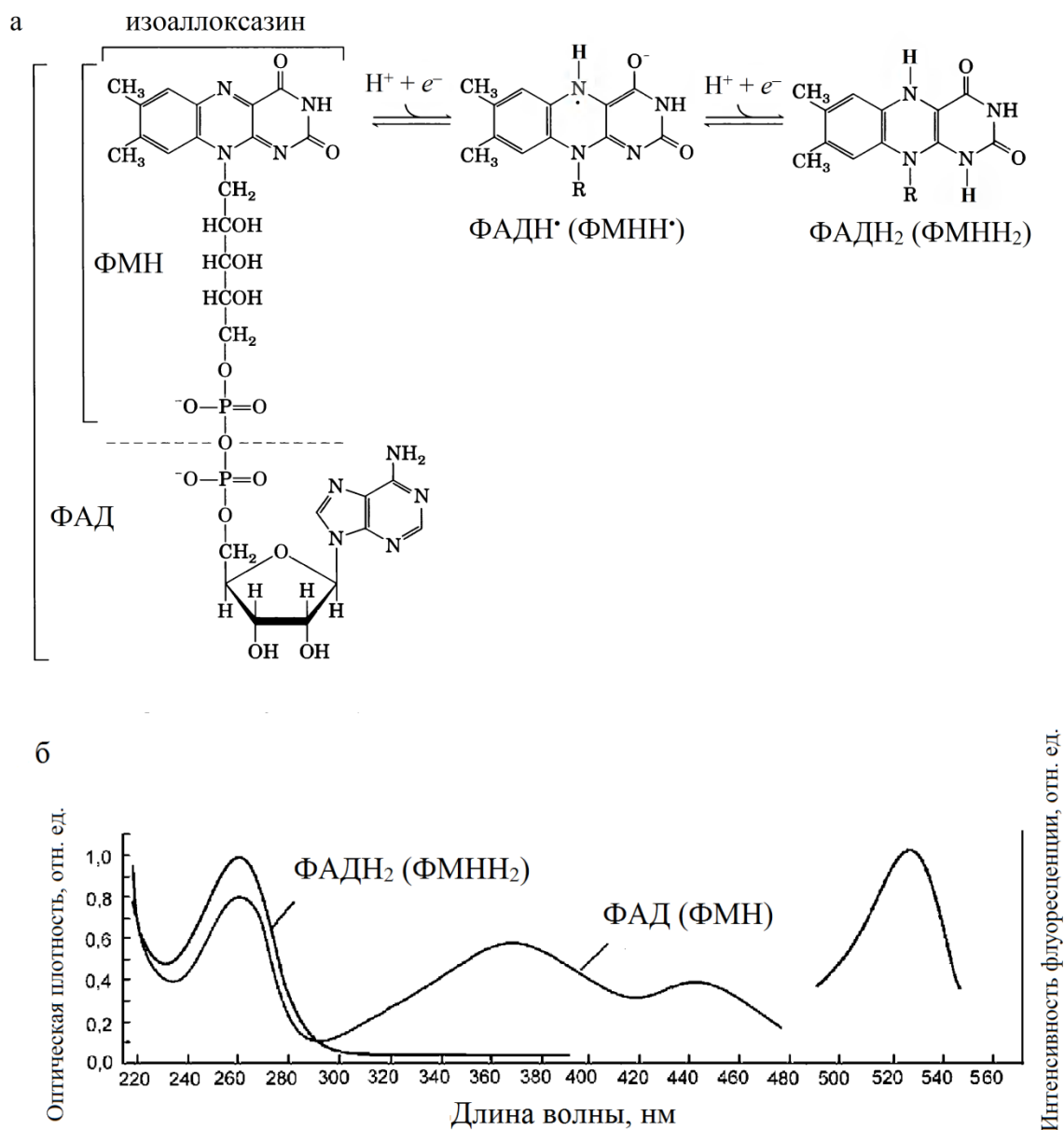


Рис. 5. Флавиновые коферменты: строение (а) и спектры поглощения и флуоресценции (б)

Редокс-свойства флавинов определяются способностью атомов азота в изоаллоксазиновом кольце принимать от окисляемого субстрата два электрона и два протона. Следует отметить, что флавины могут участвовать в одно- или двухэлектронном переносе. Принимая один электрон, флавины переходят в полувосстановленную семихинонную форму (ФМНН<sup>•</sup> или ФАДН<sup>•</sup>) и принимая два электрона, переходят в полностью восстановленную форму (ФМНН<sub>2</sub> или ФАДН<sub>2</sub>). Это позволяет им служить «переключателями» (посредниками) между системами двухэлек-

тронного (НАД<sup>+</sup>/НАДН) и одноэлектронного переноса (Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup>).

В спектрах поглощения флавиннуклеотидов в окисленной форме кроме «нуклеотидной» полосы при 260 нм присутствуют дополнительные полосы при 370 и 450 нм. Максимум спектра флуоресценции флавиннуклеотидов находится при 530 нм (рис. 5 б). Поэтому определение оптических свойств клеток, в частности, отношения оптических плотностей при длинах волн 370 и 450 нм или интенсивностей флуоресценции при 470 и 530 нм, позволяет получить данные об относительном содержании восстановленных пиридиннуклеотидов и окисленных флавиннуклеотидов.

Наиболее важными представителями тиолсодержащих коферментов, участвующих в регуляции клеточного метаболизма, являются липоевая (1,2-дителиолан-3-пентановая) кислота (рис. 6) и пептид глутатион.

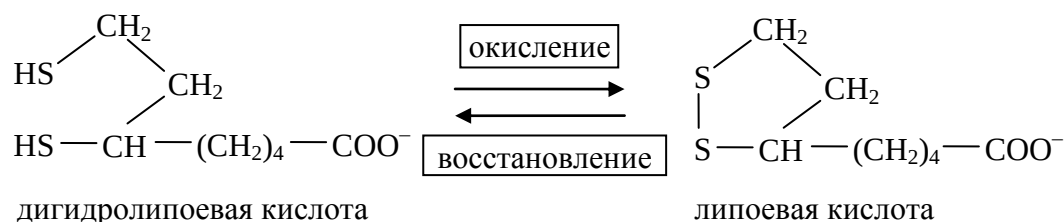


Рис. 6. Структура липоевой и дигидролипоевой кислот

В липоевой кислоте функцию окислительно-восстановительного центра выполняет внутримолекулярный дисульфидный мостик (-S-S-). В результате присоединения молекулярного водорода (два электрона и два протона) к липоевой кислоте в окисленной форме происходит восстановление тиолов (SH)<sub>2</sub> и образуется восстановленная форма – дигидролипоевая кислота. Липоевая кислота, прежде всего, участвует в окислительном декарбоксилировании 2-кетокислот, являясь простетической группой мультиферментных пируват- и кетоглутарат-дегидрогеназных систем. Амид липоевой кислоты (липоамид) ковалентно связан с остатком лизина молекулы фермента. Стандартный редокс-потенциал для липоевой кислоты при pH 7,0 имеет значение  $E^0' = -290$  мВ.

Наличие тиоловых (сульфгидрильных) групп в молекуле кофермента придает ей свойства антиоксиданта. Дигидролипоевая кислота служит донором электронов для восстановления других антиоксидантов (витамина С, витамина Е и глутатиона).

В гидрофобных фазах биологических систем функции растворимых редокс-коферментов выполняют хиноны. Важнейшим представителем класса хинонов в клетках млекопитающих является *убихинон*, в клетках растений – *пластохинон* (рис. 7).

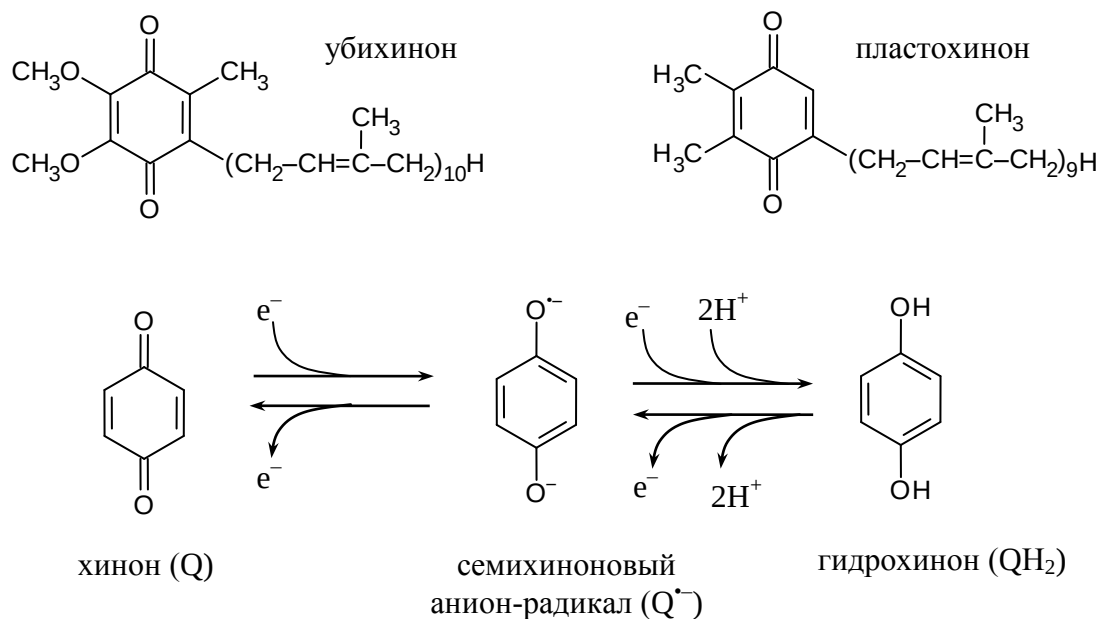


Рис. 7. Структура убихинона, пластохинона и их редокс-форм

Убихинон, или кофермент Q (Q), – это гидрофобное соединение, структурно представляющее собой 2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинон с изопреновой цепью в 6-м положении. Число остатков изопрена в боковой цепи убихинона в разных организмах варьируется от 6 до 10. В митохондриях клеток большинства млекопитающих, включая человека, встречается убихинон только с 10 изопреновыми звеньями, который обозначается как  $\text{Q}_{10}$ .

Убихинон не растворим в воде, но хорошо растворяется в растворителях с низкой диэлектрической постоянной. Убихинон выполняет в гидрофобной фазе мембраны такую же функцию, какую выполняет НАДН в водном окружении цитоплазмы или матрикса митохондрий, – транспортирует электроны, поступающие из различных метаболических путей, в электрон-транспортную цепь.

Хиноны, также как и флавины, могут участвовать в одно- или двух-электронном переносе. При одноэлектронном восстановлении убихинона возникает полувосстановленная форма – *убисемихинон*. При полном восстановлении хинон превращается в ароматический *гидрохинон* (убихинол). Функция убихинона как переносчика электронов в дыхательной цепи будет рассмотрена ниже.

Похожая система пластохинон/гидропластохинон принимает участие в реакциях фотосинтеза. Структурно пластохинон представляет собой 2,3-диметил-1,4-бензохинон с боковой цепью из девяти изопреновых единиц (рис. 7). К этому классу окислительно-восстановительных систем

принадлежат также витамины Е и К. Некоторые производные хинонов используются в фармакологии и косметике.

Функции переносчиков электронов выполняют также ионы железа, которые содержатся как в комплексах с серой (*железосерные кластеры*), так и в виде комплексов с порфиринами – сложными гетероциклическими молекулами, содержащими четыре атома азота. Такие комплексы называются *гемами*, а комплексы гемов с полипептидными цепями – *цитохромами*.

Разные типы цитохромов отличаются по спектральным свойствам. Диапазон изменений величины стандартного редокс-потенциала  $E^0$  для цитохромов составляет от 0 мВ до +500 мВ. Различия в величинах редокс-потенциалов обусловлены влиянием разных боковых заместителей в молекуле гема и различной структурой белка, образующей разное микроокружение гема.

Многие оксидоредуктазы содержат железосерные кластеры, принимающие участие в переносе электронов внутри фермента. Существуют центры с одним (FeS), двумя (Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>), тремя (Fe<sub>3</sub>S<sub>3</sub>) или четырьмя атомами железа и серы (Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>), которые в белках присоединяются к цистеинам.

**3.3. Перенос электронов в белках.** 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 электрон-транспортных цепях 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.

Рассмотрим сопровождающие перенос электрона ядерные перестрой-

ки в донорно-акцепторном комплексе. В исходном состоянии ядерные конфигурации донорно-акцепторного комплекса соответствуют состоянию, когда электрон локализован на доноре. Ядерная конфигурация конечного состояния после переноса электрона и изменения электронного состояния отличается от начальной и система имеет другую энергию. Работа, выполняемая при структурной перестройке в молекулах переносчиков и их белкового окружения, индуцированная переходом электрона, соответствует энергии реорганизации  $\lambda$ . То есть,  $\lambda$  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 электрона не происходит. Величина энергии активации  $\varepsilon_a$  связана с величиной энергии реорганизации  $\lambda$  следующим соотношением

$$\varepsilon_a = \frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda}. \quad (3.19)$$

В электрон-транспортной цепи величина изменения свободной энергии Гиббса  $\Delta G^0$  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.

Зависимость константы скорости переноса электрона ( $k_{ET}$ ) от энергии реорганизации белковой среды ( $\lambda$ ) описывается **формулой Маркуса**

$$k_{ET} = \frac{4\pi^2 V_{if}^2}{h\sqrt{4\pi\lambda RT}} \exp\left(-\frac{(\Delta G^0 + \lambda)^2}{4\lambda RT}\right), \quad (3.20)$$

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

$$T = e^{-l/b}, \quad (3.21)$$

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



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

$m$  – масса частицы,  $\Delta E$  – разность между высотой барьера и полной энергии частицы.

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  $\alpha$ -спиральные участки и ароматические аминокислоты, обладающие системой сопряженных связей с делокализованными  $\pi$ -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.

Таким образом перенос электронов в белках является дискретным и осуществляется с участием специальных групп-переносчиков по туннельному механизму. Пространственная организация электрон-транспортных белков определяет взаиморасположение редокс-центров, структура которых обеспечивает необходимый редокс-потенциал и возможность быстрого и обратимого изменения их редокс-состояния. Эти центры расположены друг от друга на расстояниях порядка 10–30 Å, что приводит к слабому перекрытию их электронных оболочек за счет суперобменного взаимодействия через белковую глобулу, достаточного для обеспечения туннелирования электрона между центрами с требуемой скоростью.

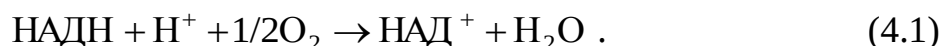
При этом роль белка не ограничивается только статической функцией, обеспечивающей фиксацию активных центров в пространстве. Конформационные перестройки белковой глобулы осуществляют оптимальную по скорости и энергии диэлектрическую релаксацию в окружении редокс-центров, обеспечивая эффективную стабилизацию разделенных зарядов по мере переноса заряда между центрами. То есть, в процессе функционирования структура белка изменяется строго определенным образом, обеспечивая оптимальную траекторию переноса электронов. Изменение физико-химических условий в клетке и действие внутриклеточных регуляторов может приводить к полной остановке транспорта электронов с участием белков или изменять их специфичность по отношению к субстратам. В результате происходит изменение направления переноса электронов между клеточными компонентами, и, как следствие, функциональной активности клетки.

## РАЗДЕЛ 4. ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В КЛЕТКАХ

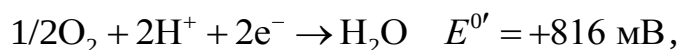
**4.1 Митохондриальная система транспорта электронов.** Одним из основных преобразователей энергии в клетках животных и растений является электрон-транспортная цепь митохондрий.

*Электрон-транспортная цепь* (дыхательная цепь) митохондрий – комплекс ферментов, катализирующих перенос электронов от НАДН на  $O_2$ , сопряженный с генерацией градиента электрохимического потенциала протонов.

Процесс окисления, катализируемый в дыхательной цепи, описывает реакция



Из-за большой разности редокс-потенциалов акцептора ( $O_2$ ) и донора (НАДН) электронов реакция (4.1) является высоко экзергонической. Рассчитаем энергию, выделяющуюся в этой реакции. Используя значения стандартных восстановительных потенциалов участников реакции



получим, что разность редокс-потенциалов для реакции (4.1) составляет +1136 мВ. Соотношение между свободной энергией Гиббса и редокс-потенциалом описывается выражением:

$$\Delta G^{0'} = -zF\Delta E^{0'} . \quad (4.2)$$

Используя соотношение (4.2) получим, что изменение энергии при стандартных условиях ( $\Delta G^{0'}$ ) в реакции (4.1) равно  $-219,2$  кДж/моль. Если бы реакция (4.1) могла протекать без участия ферментов, то выделение такого количества энергии привело бы к разрушению внутриклеточных структур. Однако, восстановленная форма НАДН устойчива и без ферментов не окисляется кислородом. Фактически дыхательная цепь «разбирает» по частям энергию реакции взаимодействия НАДН и кислорода, и проводит эту реакцию так, чтобы освобождающаяся энергия была запасена в форме, пригодной для совершения работы – синтеза АТФ. Таким образом, ферменты дыхательной цепи не только увеличивают скорость химической реакции (многие окислительно-восстановительные реакции протекают в водных растворах с высокой скоростью и без ферментов), как и другие катализаторы, но и обеспечивают преобразование химической энергии в электрическую путем сопряжения процессов переноса электронов с процессами трансмембранного переноса протонов.

Компонентами ЭТЦ митохондрий (рис. 8) 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 (флавиномононуклеотид (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.

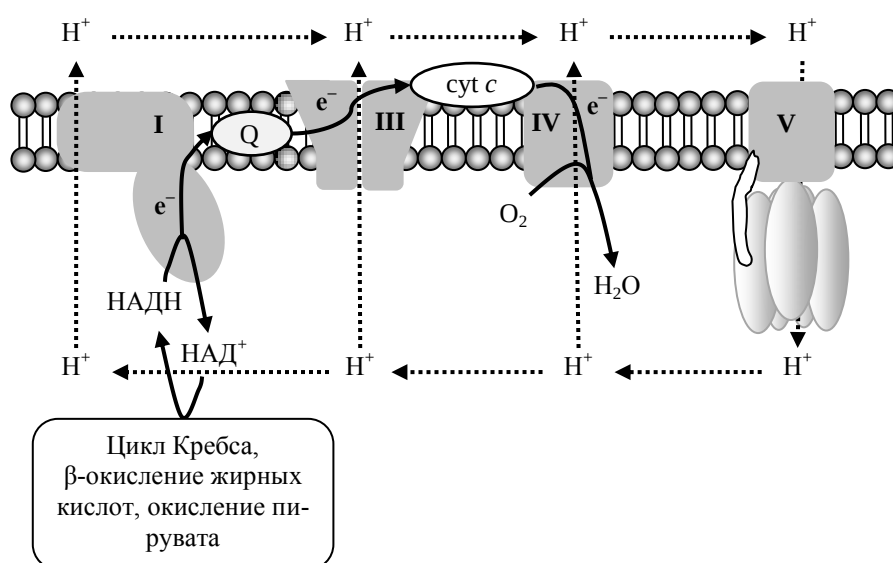


Рис. 8. Ключевые участники сопряжения внутримолекулярного переноса электронов с трансмембранным переносом протонов во внутренней мембране митохондрий: I – комплекс I; III – комплекс III; IV – комплекс IV, V – H<sup>+</sup>-АТФ-синтаза, Q – кофермент Q, cyt *c* – цитохорм *c*

Рассмотрим подробнее сопряженный с генерацией электрохимического градиента протонов путь двух электронов от НАДН к кислороду, состоящий из трех этапов, каждый из которых катализируется тремя липопротеидными комплексами, встроенными во внутреннюю мембрану митохондрий. Первая стадия окисления НАДН катализируется комплексом I, один из активных центров которого контактирует с водной фазой матрикса и связывает НАДН.

*Комплекс I (НАДН:убихинон оксидоредуктаза, НАДН-дегидрогеназа, ЕС 1.6.5.3)* – самый большой фермент дыхательной цепи, состоит из 44 субъединиц и имеет молекулярную массу 970 кДа. Белок обеспечивает

трансмембранный перенос протонов как в митохондриях, так и во многих бактериях. Простетическими группами белка являются ФМН и железосерные кластеры. Комплекс I содержит два домена – мембранный и гидрофильный, ориентированный в матрикс митохондрий. В сопряжении транспорта электронов и протонов участвуют 14 субъединиц (7 гидрофильных и 7 гидрофобных) общей массой ~ 550 кДа, состав которых постоянен для разных видов организмов – от бактерий до человека.

В состав митохондриального комплекса I входит 28 атомов железа, упакованных в 8 железосерных кластерах ( $2 \text{ Fe}_2\text{S}_2$ ,  $6 \text{ Fe}_4\text{S}_4$ ). В составе бактериальных комплексов I содержится от 9 (*Thermus thermophilus*, *Escherichia coli*) до 10 (*Aquifex aeolicus*) железосерных кластеров. Структура бактериального комплекса I из *Thermus thermophilus*, установленная в исследованиях под руководством Л. Сазанова, представлена на рис. 9.

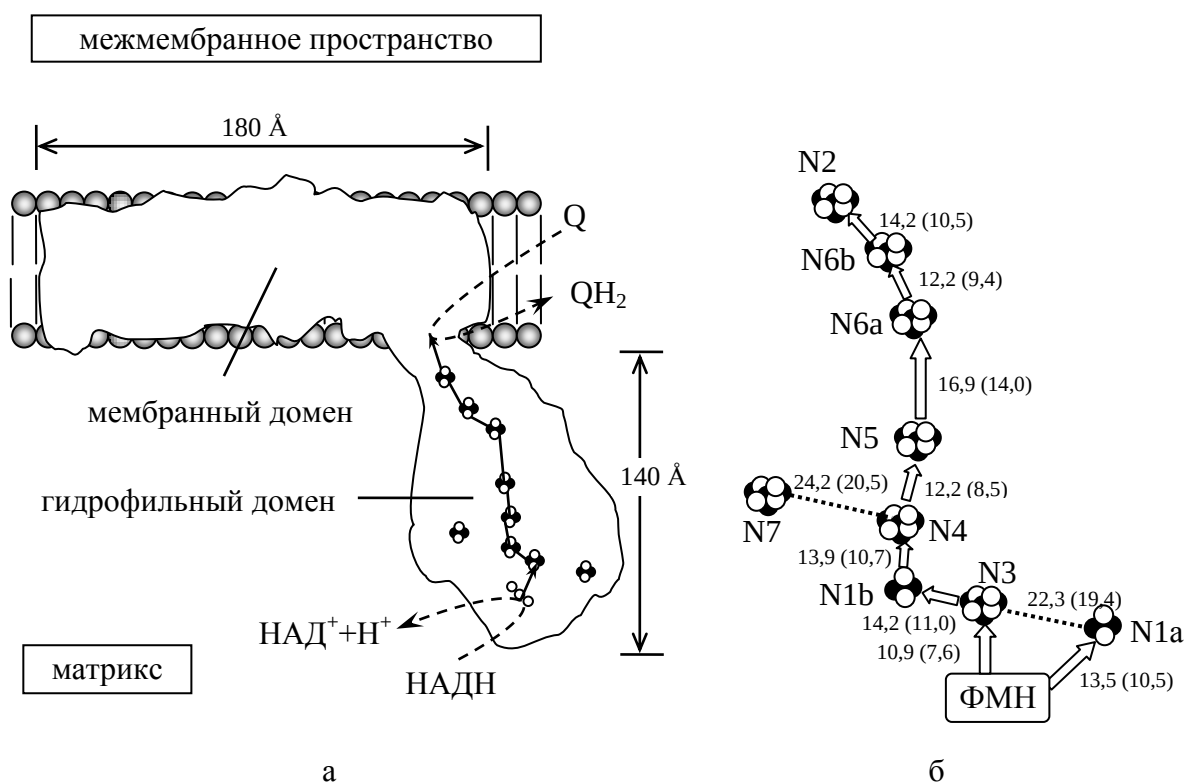


Рис. 9. Структура бактериального комплекса I из *Thermus thermophilus* (а) и расположение его простетических групп (расстояние между центрами кластеров, а также (в скобках) между их краями указано в ангстремах) (б)

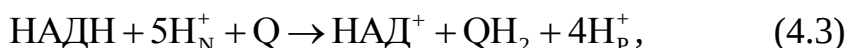
Гидрофильный домен фермента содержит место связывания НАДН и все простетические группы фермента, включая ФМН, 8 железосерных кластера (N1a, N1b, N3, N4, N5, N6a, N6b, N2), консервативных для ферментов всех видов, и 1 дополнительный центр (N7), обнаруженный в комплексе I некоторых бактерий. Кластер N7 расположен на расстоянии

более 20 Å от остальных редокс-активных центров и не вовлечен во внутрибелковый электронный транспорт. Железосерные кластеры N1a и N1b являются кластерами Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> типа, остальные – Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> типа. Два электрона, отщепленные от НАДН, переносятся через ФМН и железосерные центры на убихинон, который связывается с активным центром, расположенным внутри гидрофобной фазы мембраны.

Путь переноса электронов от НАДН к убихинону в комплексе I, проходящий через ФМН и железосерные кластеры, составляет более 100 Å. ФМН присоединяет сразу два электрона от НАДН и затем по одному электрону последовательно переносит их на кластер N3. Дальнейший перенос электронов осуществляется в последовательности N3→N1b→N4→N5→N6a→N6b→N2. Расстояние между редокс-центрами в электрон-транспортной цепи фермента составляет около 14 Å и соответствует максимально возможному расстоянию для переноса электрона в биологических системах. У большинства железосерных кластеров фермента редокс-потенциал составляет около –250 мВ. Наиболее высокий редокс-потенциал у Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> центра N2 ( $E^{0'} = -100$  мВ). Именно через этот центр осуществляется передача электронов их убихинон (рис. 9). Перенос электронов с железосерных кластеров на убихинон ингибируется хиноноподобными ингибиторами – пестицидом ротеноном и антибиотиком пирицидином А.

Железосерный центр N1a ( $E^{0'} = -370$  мВ) в флавинсодержащей субъединице не относится к основной цепи внутрибелкового переноса электронов. Возможно, этот центр выполняет роль временного депо для электронов при интенсивном переносе с ФМН. Данный кластер также играет важную роль в восстановлении кислорода при генерации активных форм кислорода (АФК) в комплексе I.

Суммарный процесс, осуществляемый комплексом I, описывает схема



где протоны отрицательно заряженного матрикса обозначают индексом N (от англ. – *negative*), а протоны положительно заряженного межмембранного пространства митохондрий – индексом P (от англ. – *positive*). Таким образом, комплекс I является протонным насосом, работающим за счет энергии окисления НАДН убихиноном. В результате происходит реакция, в ходе которой электроны из водного окружения (из молекулы НАДН) попадают в гидрофобное окружение мембраны (в молекулу убихинола). Восстановленный убихинон, в свою очередь, передает электроны на простетические группы комплекса III.

Комплекс III (убихинол:цитохром *c* оксидоредуктаза, комплекс *bc*<sub>1</sub>, EC 1.10.2.2) является димером двух идентичных мономеров, каждый из которых состоит из 11 субъединиц и имеет молекулярную массу 250 кДа. Редокс-активные центры расположены в трех субъединицах: цитохроме *b*, железосерном белке Риске и цитохроме *c*<sub>1</sub>. Цитохром *b* содержит два гема группы *b*: *b*<sub>L</sub> – гем с низким редокс-потенциалом ( $E^{0'} = -40$  мВ), *b*<sub>H</sub> – гем с высоким редокс-потенциалом ( $E^{0'} = +40$  мВ). Белок Риска – железосерный центр ( $\text{Fe}_2\text{S}_2$ ,  $E^{0'} = +280$  мВ), а цитохром *c*<sub>1</sub> – гем *c*<sub>1</sub> ( $E^{0'} = +220$  мВ). Структура и топология простетических групп фермента показана на рис. 10. Гем *b*<sub>L</sub>, железосерный центр и гем *c*<sub>1</sub> располагаются вблизи наружной стороны внутренней мембраны, гем *b*<sub>H</sub> – ближе к матриксу. Перенос электронов от убихинола к цитохрому *c*, который находится в межмембранном пространстве, происходит с участием железосерного кластера и гема *c*<sub>1</sub>. Гемы цитохрома *b* участвуют в переносе электронов в направлении матрикса.

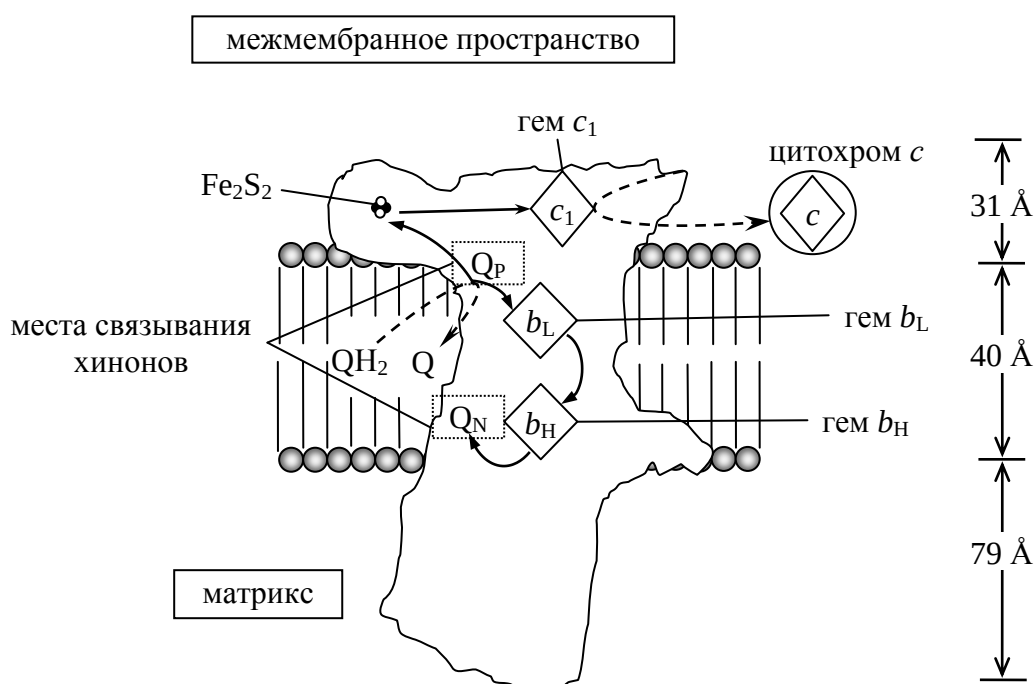


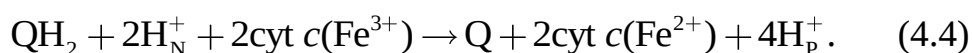
Рис. 10. Структура мономера комплекса III и расположение его простетических групп

Каждый мономер комплекса III содержит два отдельных центра связывания с хинонами. Один из них расположен вблизи матрикса митохондрий (центр связывания убихинона  $\text{Q}_\text{N}$ ), другой – ближе к наружной стороне внутренней мембраны (центр связывания убихинола  $\text{Q}_\text{P}$ ). В функ-

циональной димерной форме комплекса III мономерные структуры формируют два внутренних кармана, каждый из которых содержит участок связывания убихинола  $Q_R$  от одного мономера и участок связывания убихинона  $Q_N$  от другого мономера. Хиноновые производные перемещаются внутри этих разделенных карманов.

Комплекс III может находиться в двух различных конформациях. В одной из них железосерный центр белка Риске располагается вблизи гема  $c_1$ , в другой – вблизи гема  $b_L$ . При окислении и восстановлении железосерного центра происходят переходы белка между двумя этими конформациями.

Экзергонический процесс транспорта электронов через простетические группы комплекса III сопряжен с эндергоническим переносом протонов. Суммарная реакция, катализируемая ферментом, описывается уравнением



Комплекс III передает электроны цитохрому  $c$ , выполняющему функции подвижной молекулы-переносчика в межмембранном пространстве митохондрий. Цитохром  $c$  содержит одну простетическую группу – гем  $c$  и является растворимым белком с молекулярной массой 12 кДа. В итоге, электроны из гидрофобной фазы, где они входят в состав убихинола, попадают в водное окружение в составе цитохрома  $c$ . Цитохром  $c$  переносит электроны к комплексу IV, который катализирует третий этап сопряженного с генерацией электрохимического градиента протонов переноса двух электронов от НАДН к кислороду.

*Комплекс IV (цитохром  $c$ -оксидаза, ферроцитохром  $c:O_2$  оксидоредуктаза, EC 1.9.3.1)* состоит из 13 субъединиц и имеет молекулярную массу 200 кДа. Редокс-активные центры фермента располагаются в субъединицах I (57 кДа) и II (26 кДа). В состав цитохром  $c$ -оксидазы входят металлы переменной валентности: 3 иона меди, ион цинка и 2 иона железа. Ионы железа располагаются в гемах  $a$  и  $a_3$ , а ионы меди – в редокс-центрах  $Cu_A$  и  $Cu_B$ . Ионы меди обуславливают способность цитохромоксидазы поглощать кванты красного света (600-630 нм). В транспорте электронов участвуют ионы меди и гемовые группы, ион цинка выполняет регуляторную функцию. Структура и топология простетических групп фермента показана на рис. 11.

Место связывания цитохрома  $c$ , образованное кольцом отрицательно заряженных аминокислотных остатков ( $Asp^{136}$ ,  $Asp^{187}$  и  $Glu^{227}$ ), расположено на субъединице II. Эта субъединица также содержит медьсодержащий центр  $Cu_A$ , состоящий из двух ионов меди, связанных с атомами се-

ры цистеиновых остатков, аналогично железосерным кластерам. Остальные редокс-центры входят в состав субъединицы I. От цитохрома *c* электроны поступают на медьсодержащий центр  $\text{Cu}_A$ . Медьсодержащий центр  $\text{Cu}_B$ , состоящий из одного иона меди, вместе с ионом железа гема  $a_3$  формирует железомедный (Fe-Cu) центр (*гем-медный биядерный центр*), расстояние между атомами металлов которого составляет 4,5 Å. Электроны от медьсодержащего центра  $\text{Cu}_A$  переносятся к Fe-Cu центру через гем *a*. У гема  $a_3$  отсутствует один из аксиальных лигандов, что позволяет ему связывать кислород. Ингибиторы комплекса IV – цианид и азид – также связываются с гемом  $a_3$ .

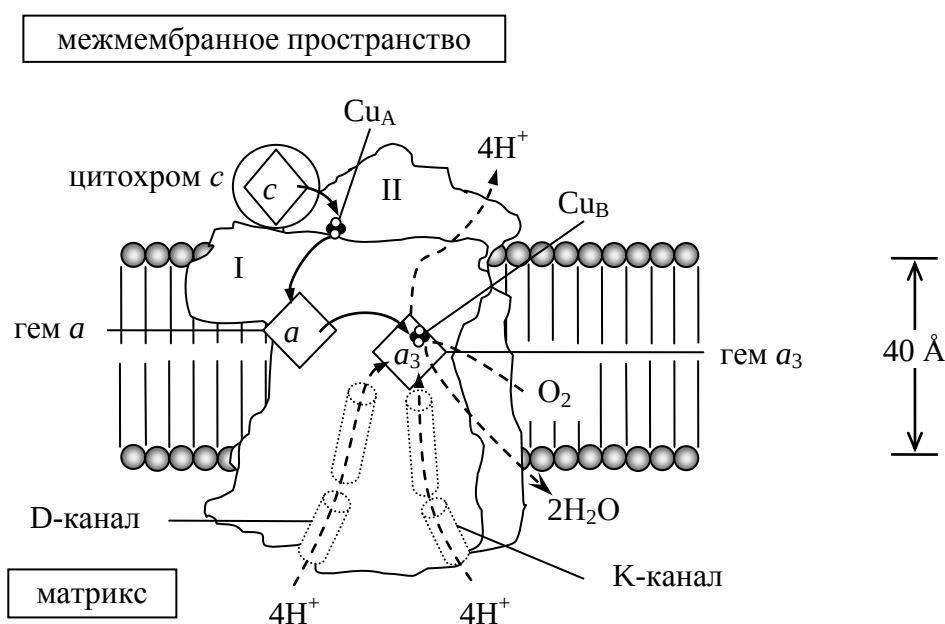


Рис. 11. Структура комплекса IV и расположение его простетических групп

Перенос электронов через простетические группы цитохром *c*-оксидазы сопряжен с переносом протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. Суммарная реакция, катализируемая комплексом IV, описывается уравнением



**4.2. Механизмы трансмембранного транспорта протонов.** Для объяснения механизма сопряжения в электрон-транспортных комплексах процессов электронного переноса и трансмембранного переноса протонов предложены две модели (рис. 12). Первая, в качестве гипотезы предложенная П. Митчеллом, получила название *окислительно-*



*восстановительной петли*. Схематически такой механизм изображен на рис. 12а. Согласно данному механизму в трансмембранном переносе электронов участвуют две различные группы переносчиков: одни могут переносить протоны и электроны ( $X_1$  и  $X_2$ ), вторые – только электроны ( $Y_1$  и  $Y_2$ ). Вся система организована в пространстве в виде петли, так что электроны дважды пересекают мембрану: один раз вместе с протонами, а другой – без них. Процесс начинается реакцией восстановителя ( $S_1H_2$ ) с активным центром комплекса, расположенным в матрике митохондрий. Два атома водорода ( $2H^+ + 2e^-$ ), отщепленные от восстановителя, переносятся редокс-коферментами ( $X_1$  и  $X_2$ ) на другую сторону мембраны. Здесь протоны и электроны расходятся: протоны остаются в водной фазе межмембранного пространства, а электроны транспортируются назад по простетическим группам комплекса ( $Y_1$  и  $Y_2$ ) и попадают на молекулу окислителя ( $S_2$ ). В результате в матрике появляется очередной восстановитель, а на мембране возникает разность электрохимических потенциалов протонов. Реакция дальнейшего окисления  $S_2H_2$  может проходить с участием следующего комплекса.

Согласно модели описания функционирования комплексов, названной *протонным насосом*, процесс переноса протонов и процесс переноса электронов осуществляется с участием разных групп. Перенос электронов происходит путем туннелирования через простетические группы фермента ( $X_1, X_2, X_3, X_4$ ), а перенос протонов – в результате протонирования-депротонирования аминокислотных остатков белка. Принципиальная схема такого насоса показана на рис. 12б.

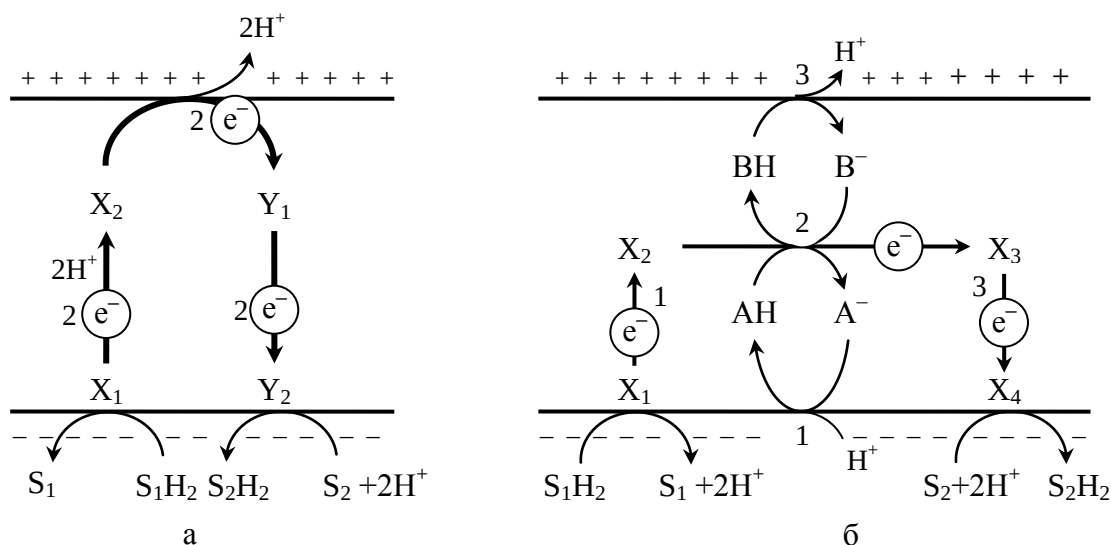


Рис. 12. Генерация трансмембранного градиента протонов: а – схема, иллюстрирующая механизм «окислительно-восстановительной петли»; б – схема, иллюстрирующая механизм «протонного насоса»

Компоненты  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ , и  $X_4$  являются переносчиками только электронов (например, атомы железа, связанные с различными группами белка), а группы А и В (аминокислотные остатки, являющиеся слабыми кислотами) – акцепторами протона. При этом группы А и В доступны для протонов матрикса митохондрий и межмембранного пространства за счет специальных полуканалов, образованных специфической укладкой полипептидных цепей. Изменения свойств одной группы белка вследствие конформационных переходов могут приводить к изменениям свойств другой группы. В модели протонного насоса предполагается, что восстановление компонента  $X_2$  электроном изменяет сродство группы А к протону (шаг 1, на рис. 12б). В результате протон из матрикса попадет внутрь мембраны. Дальнейший перенос электрона на компонент  $X_3$  инициирует передачу протона от АН к В<sup>-</sup> и выбросом его через полуканал в межмембранное пространство при окислении  $X_3$  группой  $X_4$  (шаг 2 и 3, на рис. 12б). При функционировании дыхательных комплексов митохондрий реализуются обе модели – петля и протонный насос.

Первой описанной моделью сопряжения переноса электронов и трансмембранного транспорта протонов была модель функционирования комплекса III дыхательной цепи, получившая название *Q-цикла*. Согласно данной модели убихинон в полувосстановленной форме ( $\cdot\text{QH}$ ) присоединяет электрон от комплекса I и протон из матрикса с образованием убихинола (на рис. 13 стадия 1). Незаряженный убихинол ( $\text{QH}_2$ ) диффундирует к противоположной стороне мембраны. У границы мембраны с межмембранным пространством в центре связывания  $\text{Q}_\text{P}$  восстановленный убихинон отдает два электрона, при этом два протона высвобождаются в межмембранное пространство. Один электрон переходит на железосерный кластер ( $\text{Fe}_2\text{S}_2$ ) белка Рiske, второй электрон – на ион железа гема  $b_\text{L}$  (на рис. 13 стадия 2 и 3). Редокс-потенциал пары  $\text{Q}^\bullet/\text{QH}_2$  ( $E^{0'} = +280$  мВ) равен редокс-потенциалу железосерного центра белка Рiske, тогда как редокс-потенциал пары  $\text{Q}/\text{QH}_2$  ( $E^{0'} = +45$  мВ) значительно ниже. Поэтому одноэлектронное окисление убихинола происходит с меньшими тепловыми потерями, чем двухэлектронное. От железосерного кластера электрон передается далее на ион железа цитохрома  $c_1$ , а затем на окислитель убихинола – цитохром  $c$ .

Редокс-потенциал пары  $\text{Q}/\text{Q}^\bullet$  ( $E^{0'} = -40$  мВ) значительно ниже, чем редокс-потенциал  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  центра, тем не менее, электрон от семиубихинонового радикала переносится на гем  $b_\text{L}$ , а не на железосерный центр. Связано это с конформационными перестройками белка: присоединение электрона группой  $\text{Fe}_2\text{S}_2$  вызывает конформационный переход белка, в результате которого железосерный центр удаляется от центра связыва-

ния  $Q_F$  на расстояние около  $20 \text{ \AA}$ , перемещаясь к гему  $c_1$ . Это смещение протекает за время менее  $1 \text{ мс}$ .

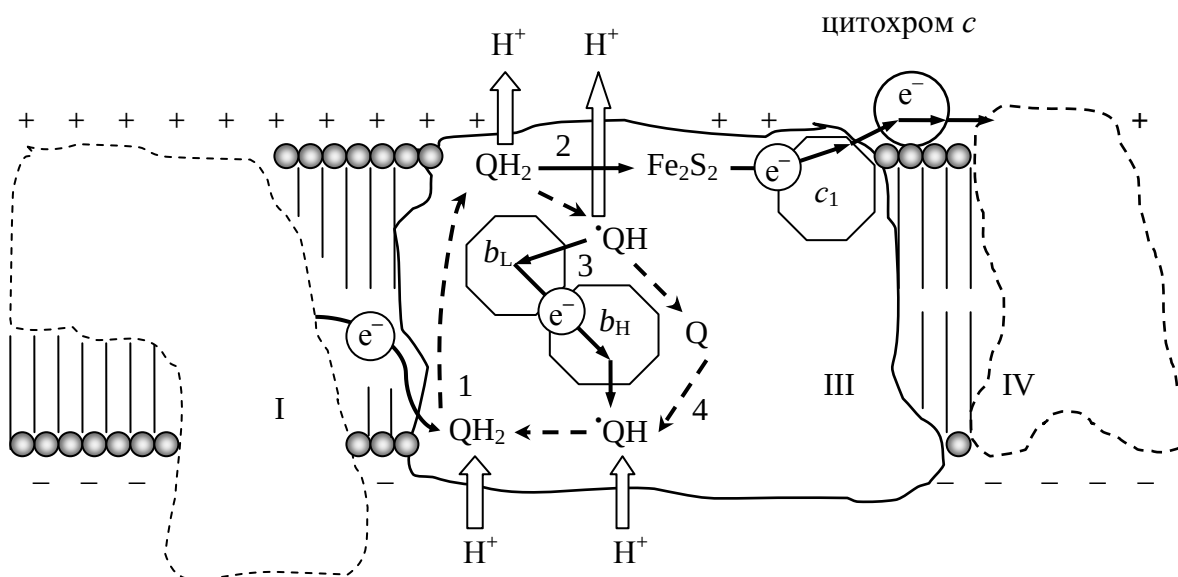


Рис. 13. Стадии окисления-восстановления хинонов в Q-цикле с участием комплекса III:  $QH_2$  – убинол;  $^*QH$  – семиубихинон;  $Q$  – убинон

В отсутствие альтернативы для перехода электрон от  $Q^{\bullet-}$  переносится на ион железа в геме  $b_L$ . Редокс-потенциал пары  $Q/Q^{\bullet-}$  равен редокс-потенциалу гема  $b_L$ , поэтому тепловые потери при переходе электрона семихинонового радикала на гем  $b_L$  минимальны. Электрон от гема  $b_L$  переносится в мембране на гем  $b_H$ , расположенному ближе к матриксу митохондрий, а затем на убинон.

Окисленный убинон, образовавшийся у границы с межмембранным пространством, диффундирует назад к той стороне мембраны, которая обращена к матриксу. Здесь убинон получает электрон от гема  $b_H$ , поступивший от другого убинола и протон из водной фазы матрикса (на рис. 13 стадия 4). Редокс-потенциал гема  $b_H$  выше, чем у редокс-пары  $Q/Q^{\bullet-}$ , поэтому такой переход электрона кажется маловероятным. Однако связывание убинона с центром  $Q_F$  вызывает смещение редокс-потенциала хинона к более высоким значениям, что и определяет переход электрона. В центре  $Q_F$  образуется полувосстановленный убинон ( $^*QH$ ), который затем принимает электрон от комплекса I и протон из матрикса, формируя восстановленный убинол и весь процесс начинается заново. Таким образом, передача одного электрона от комплекса I к цитохрому  $c$  сопровождается переносом двух протонов из матрикса в межмембранное пространство митохондрий. Перенос двух электронов через комплекс III к цитохрому  $c$  сопровождается, соответственно,

трансмембранным переносом четырех протонов. В результате окисления  $\text{QH}_2$  цитохромом *c* высвобождаяемая энергия запасается, таким образом, в виде разности электрохимических потенциалов протонов.

Из вышесказанного следует, что электроны, передаваемые от НАДН, не переносятся непосредственно на кислород. Они проходят через полтора десятка промежуточных окислительно-восстановительных систем, большинство из которых – связанные простетические группы в комплексах I, III и IV. Поток электронов происходит в направлении участников с более высоким редокс-потенциалом и сопровождается образованием комплексами I, III и IV трансмембранного градиента электрохимического потенциала протонов.

Расчет величины энергии, запасаемой в электрохимическом градиенте протонов, произведем с использованием уравнения:

$$\Delta G = n\Delta\tilde{\mu}, \quad (4.5)$$

где  $n$  – количество вещества (в молях) в системе,  $\Delta\tilde{\mu}$  – изменение электрохимического потенциала.

Электрохимический потенциал протона, для которого заряд  $z = +1$ , согласно уравнению (2.5) будет равен

$$\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = \mu_0 + RT \ln[\text{H}^+] + F\varphi. \quad (4.6)$$

Перейдем к десятичному логарифму в выражении (4.6)

$$\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = \mu_0 + 2,3RT \log_{10}[\text{H}^+] + F\varphi. \quad (4.7)$$

Используя определение рН, преобразуем выражение (4.7)

$$\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = \mu_0 - 2,3RT \cdot \text{pH} + F\varphi. \quad (4.8)$$

Определим величину разности электрохимического потенциала для протона через митохондриальную мембрану

$$\Delta\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = 2,3RT \log_{10} \frac{[\text{H}^+]_{\text{P}}}{[\text{H}^+]_{\text{N}}} + F(\varphi_{\text{P}} - \varphi_{\text{N}}), \quad (4.9)$$

$$\Delta\tilde{\mu}_{\text{H}^+} = F\Delta\varphi - 2,3RT \cdot \Delta\text{pH}. \quad (4.10)$$

Матрикс митохондрий является более щелочной средой ( $\text{pH}_{\text{N}} \approx 8,0$ ), чем межмембранное пространство ( $\text{pH}_{\text{P}} \approx 7,25$ ), то есть  $\Delta\text{pH}$  составляет 0,75 единиц. Если принять разность потенциалов  $\Delta\varphi$  равной 160 мВ, получим, согласно (4.10), что изменение свободной энергии при переносе одного моля протонов составляет около 20 кДж/моль. Поскольку при окислении 1 моля НАДН переносится 10 молей протонов, суммарное изменение свободной энергии составит 200 кДж/моль. Таким образом, эффективность работы дыхательной цепи такова, что около 90% энергии,

высвобождаемой при окислении молекулы НАДН, трансформируется в энергию электрохимического потенциала протонов.

Единица измерения электрохимического потенциала – джоуль·моль<sup>-1</sup>. Для перевода величины разности электрохимического потенциала в вольты ее необходимо разделить на число Фарадея. Полученное частное П. Митчелл, создатель хемиосмотической теории, по аналогии с электродвижущей силой предложил называть *протон-движущей силой*

$$\Delta p = \frac{\Delta \tilde{\mu}_{H^+}}{F} = \Delta \varphi - \frac{2,3RT}{F} \cdot \Delta pH. \quad (4.11)$$

Из (4.11) видно, что протон-движущая сила складывается из двух составляющих: электрической и концентрационной. Электрическая составляющая обусловлена разностью электрических потенциалов; концентрационная составляющая – разностью концентраций (активностей) ионов водорода по обе стороны мембраны.

Известно, что любая из составляющих может служить источником энергии для функционирования АТФ-синтазы. В митохондриях основной вклад в величину протон-движущей силы ( $\Delta p \sim 200\text{--}220$  мВ) вносит электрическая составляющая ( $\Delta \varphi \sim 160\text{--}180$  мВ). В хлоропластах наблюдается обратная ситуация. Трансмембранная разность электрических потенциалов из-за высокой проводимости мембран тилакоидов для ионов  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$  обычно невелика ( $\Delta \varphi \sim 10\text{--}20$  мВ), но за счет постоянной работы электрон-транспортной цепи поддерживается достаточно высокая трансмембранная разность рН ( $\Delta pH \sim 2,5\text{--}3,0$ ).

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 АТФ.

**4.3. Окислительное фосфорилирование.** Для объяснения сопряжения процессов окисления и фосфорилирования П. Митчелл в 1961 году предложил теорию хемиосмотического энергетического сопряжения, в основе которой постулировалось, что *электрон-транспортные цепи митохондрий, хлоропластов и бактерий сопряжены с системой синтеза АТФ через разность электрохимических потенциалов протонов на энергопреобразующих мембранах.*

В сущности, П. Митчелл впервые предложил рассматривать биохимический реактор как физическую систему. В основе его хемиосмотической теории лежат три постулата. Согласно первому постулату *фосфорилирование происходит только в мембранах замкнутых везикул.* То

есть, подчеркивается необходимость наличия замкнутой диэлектрической границы для ионов (изолятора для протонов) – липидного бислоя.

Согласно второму постулату *перенос электронов между компонентами электрон-транспортной цепи сопровождается переносом протонов через мембрану*. То есть, белковыми переносчиками дыхательной цепи энергия электронов преобразуется в электрическую энергию (энергию, запасаемую при создании градиента электрохимического потенциала протонов). Данная форма энергии (в отличие от поступающих извне химической или световой энергии) может использоваться живыми системами непосредственно для совершения работы (синтез АТФ, трансмембранный транспорт ионов, движение бактерий, теплопродукция и т.п.).

В третьем постулате указывается *необходимость специального фермента – АТФ-синтазы, осуществляющего фосфорилирование АДФ за счет энергии градиента электрохимического потенциала протонов*. Таким образом, постулировалась необходимость в живой системе специальных молекулярных устройств – потребителей электрической энергии.

$H^+$ -АТФ-синтаза ( $H^+$ -АТФаза F-типа,  $F_0F_1$ -АТФаза, ЕС 3.6.1.34) состоит из двух частей. Схематическое изображение АТФ-синтазного комплекса митохондрий представлено на рис. 14. 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 (Ф) 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 протекает 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.

Водорастворимый фрагмент митохондриальной  $H^+$ -АТФ-синтазы представляет собой белковый комплекс, который состоит из 10 субъединиц шести типов, получивших название субъединиц  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  и белок OSCP (OSCP – oligomycin sensitivity conferring protein). Одна молекула фермента содержит три одинаковые  $\alpha$ - и три одинаковые  $\beta$ -субъединицы,

а также по одной субъединице  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  и OSCP. На субъединицах  $\alpha$  и  $\beta$  находятся центры связывания АТФ и АДФ, однако каталитической активностью обладают только  $\beta$ -субъединицы.

Полипептидные цепи  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц уложены в похожие по строению белковые глобулы, которые все вместе образуют ансамбль, состоящий из шести субъединиц ( $\alpha_3\beta_3$ ). Этот ансамбль имеет вид слегка приплюснутого шара высотой 8 нм и шириной 10 нм. В центре шара находится субъединица  $\gamma$ , которая образована двумя протяженными полипептидными цепями и напоминает слегка деформированный изогнутый стержень длиной около 9 нм. Нижняя часть субъединицы  $\gamma$  выступает из шара на 3 нм в сторону мембранного комплекса  $F_0$ . На выступающей части субъединицы  $\gamma$  находятся минорные субъединицы  $\epsilon$  и  $\delta$ . Белок, обеспечивающий чувствительность к олигомицину, или OSCP, расположен снаружи комплекса  $F_1$  и служит для связывания с комплексом  $F_0$ .

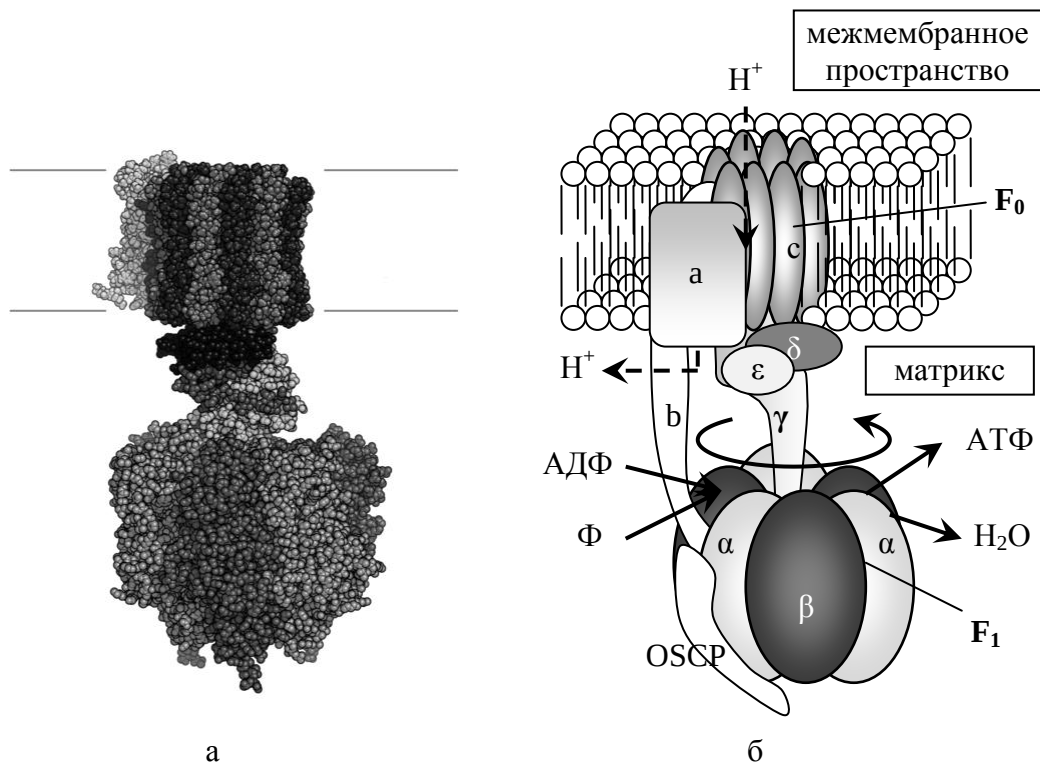


Рис. 14. Пространственная модель (а) и схематическое изображение  $H^+$ -АТФ-синтазы (б)

Мембранный фрагмент  $F_0$  состоит из полипептидных субъединиц трех типов. В его состав входят субъединица типа а (30 кДа) и субъединица типа б (17 кДа), а также 8 субъединиц с (8 кДа). Таким образом, компонентной состав митохондриальной  $H^+$ -АТФ-синтазы будет следующим  $3\alpha:3\beta:\gamma:\delta:\epsilon:OSCP:a:b:8c$ . Субъединица б содержит лишь один

сравнительно короткий участок, погруженный в мембрану. Остальная часть субъединицы *b* заметно выступает из мембраны в сторону комплекса  $F_1$  и закрепляется за расположенный на его поверхности белок OSCP (рис. 14). Субъединицы *c* образуют единый ансамбль ( $c_8$ ), имеющий форму цилиндра, погруженного в мембрану. Выступающая из комплекса  $F_1$  в сторону  $F_0$  субъединица  $\gamma$ , по-видимому, погружена внутрь этого цилиндра и закреплена в нем.

На границе между субъединицами *a* и *c* образуются два специфических «каналоподобных» кармана, через которые проходит перенос протонов. Данные карманы непосредственно не связаны друг с другом. Один из карманов находится ближе к той стороне мембраны, которая обращена в область с повышенной концентрацией ионов водорода. Этот карман обеспечивает поступление протонов к определенным функциональным группам атомов в  $F_0$ , расположенным внутри фермента. Другой карман, обращенный в противоположную сторону мембраны, обеспечивает выход протонов в область с меньшей концентрацией ионов водорода.

Перенос протонов проходит с участием кольца из субъединиц *c*. Каждая из этих субъединиц в своей центральной части содержит остаток глутаминовой кислоты  $\text{Glu}^{59}$  (в  $\text{H}^+$ -АТФ-синтазе хлоропластов –  $\text{Asp}^{61}$ ), которая способна присоединять и отдавать протоны через соответствующие протонные карманы, переходя из протонированного ( $-\text{COOH}$ ) в депротонированное состояние ( $-\text{COO}^-$ ) и обратно. При взаимодействии в «полуканале» карбоксильной группы с раствором, в котором концентрация  $\text{H}^+$  повышена, происходит ее протонирование ( $-\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow -\text{COOH}$ ). Карбоксильная группа соседней субъединицы *c* при взаимодействии во другом «полуканале» с раствором, в котором концентрация  $\text{H}^+$  понижена, депротонируется и становится заряженной отрицательно ( $-\text{COOH} \rightarrow -\text{COO}^- + \text{H}^+$ ).

Вращение кольца  $c_8$  осуществляется за счет взаимодействия положительно и отрицательно заряженных аминокислотных остатков на границе субъединицы *a* и одной из субъединиц *c*. Ключевую роль в создании вращающегося момента играет положительный заряд аминокислотного остатка аргинина  $\text{Arg}^{176}$  (в  $\text{H}^+$ -АТФ-синтазе хлоропластов –  $\text{Arg}^{210}$ ) субъединицы *a* и отрицательный заряд депротонированного аминокислотного остатка глутаминовой кислоты  $\text{Glu}^{59}$  субъединицы *c*. Расстояние между атомами, на которых локализованы эти заряды, составляет около 2,5–3 Å. Под действием вращательного момента, созданного притяжением разноименных зарядов, происходит поворот кольца  $c_n$  на угол  $\Delta\theta = 360^\circ/n$ , где  $n$  – число субъединиц в кольце  $c_n$ . После поворота кольца отрицательно заряженная карбоксильная группа субъединицы *c* приближается к карману с кислым раствором и становится электронейтральной в результате



протонирования. Далее данная протонированная группа начинает двигаться вместе с вращающимся кольцом, пока не достигнет кармана с щелочным раствором, где произойдет отсоединение протона.

Синтез АТФ связан со структурными перестройками  $H^+$ -АТФ-синтазы, в ходе которых изменяются состояния каталитических центров фермента. Каждая из трех каталитических  $\beta$ -субъединиц может поочередно находиться в одном из трех конформационных состояний, различающихся по степени сродства молекул АТФ, АДФ и Ф к каталитическому центру. В большинстве ферментативных реакций энергии активации (энергии активационного барьера) соответствует энергия взаимодействия участников реакции в переходном состоянии. В ходе реакции, катализируемой АТФ-синтазой, наиболее высокому активационному барьеру соответствует энергия, затрачиваемая на отщепление АТФ (высвобождение, а не синтез!) с поверхности фермента. Таким образом, в цикле ферментативного синтеза АТФ *энергия от внешнего источника необходима, в первую очередь, для освобождения прочно связанной молекулы АТФ из каталитического центра.*

С точки зрения техники функционирование  $H^+$ -АТФ-синтазы аналогично работе электродвигателя. При этом 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.

**4.4. Молекулярные и физические основы фотосинтеза.** Фотосинтез в высших растениях включает ряд фотофизических и биохимических процессов, которые принято разделять на две стадии – световую и темновую. *Световая стадия* объединяет процессы, идущие под влиянием света. *Темновая стадия* включает реакции, в которых запасенная в АТФ и НАДФН энергия используется для синтеза глюкозы (цикл Кальвина) и других органических продуктов.

В высших растениях и водорослях фотосинтез происходит в специальных органеллах – хлоропластах, число которых в клетках варьирует от нескольких до ста. Обычно на клетку высших растений в среднем приходится 10-30 хлоропластов. Хлоропласты окружены двумя мембранами. Внутренняя мембрана хлоропластов ограничивает *строму* пластиды, аналогичную матриксу митохондрий.

Во внутреннем пространстве хлоропластов находятся тилакоиды – плоские мембранные мешки, стопки которых образуют граны. Количество гран в хлоропластах высших растений может достигать 40-60. Число

тилакоидов на одну грану варьирует от нескольких до 50 и более. Толщина таких стопок может достигать 0,5 мкм. Внутреннее содержимое тилакоида называют люменом. Световые стадии фотосинтеза происходят в тилакоидной мембране, в то время как темновые реакции – в строме хлоропластов. Мембраны тилакоидов содержат светособирающие пигмент-белковые и электрон-транспортные комплексы, а также АТФ-синтазный комплекс. В строме хлоропластов находятся молекула ДНК, рибосомы; там же в виде зерен происходит первичное отложение запасаемого полисахарида крахмала.

В световых реакциях электроны переносятся по электрон-транспортной цепи от одного переносчика к другому, подобно транспорту электронов по дыхательной цепи митохондрий. В дыхательной цепи митохондрий электроны переносятся с НАДН на  $O_2$  с образованием воды и выделением энергии, а при фотосинтезе электроны от воды переносятся с затратой энергии на НАДФ<sup>+</sup>. Таким образом, фотосинтетический перенос электронов в энергетическом отношении подобен «подъему в гору». Возбуждение электронов за счет энергии поглощенных квантов света происходит в двух реакционных центрах фотосистем.

*Фотосистемой* (ФС) называется структурно-функциональный мембранный компонент фотосинтетического аппарата, включающий в себя реакционный центр, светособирающие комплексы и связанные с ними переносчики электронов.

Главными светопоглощающими пигментами фотосистем тилакоидных мембран являются хлорофиллы двух типов: хлорофилл *a* и хлорофилл *b*. Кроме хлорофилла к светопоглощающим пигментам, участвующим в фотосинтезе, относятся вспомогательные пигменты – каротиноиды и фикобилины.

Все фотосинтетические пигменты поглощают фотоны, но только одна молекула в каждой фотосистеме способна к фотохимическому превращению. Этот специализированный трансформирующий энергию пигмент, представляющий собой молекулу хлорофилла *a* в комплексе с белком, называется *фотохимическим реакционным центром*. Все прочие пигментные молекулы в каждой фотосистеме объединены в *светособирающие* или *антенные комплексы*. Их функция заключается в светосборе – поглощении световой энергии. Эту энергию они затем очень быстро передают реакционному центру, в котором и происходит фотохимический акт.

Рассмотрим основные стадии фотосинтеза. На первой стадии происходит поглощение световой энергии хромофорами и миграция энергии электронного возбуждения к хлорофиллу в реакционном центре. Затем в

результате окисления хлорофилла *a* первичным акцептором электроны из возбужденного реакционного центра поступают в электрон-транспортную цепь хлоропластов. Высвобождаемая в электрон-транспортной цепи энергия электронов запасается в НАДФН и АТФ. Далее в темновой стадии фотосинтеза с участием НАДФН и АТФ происходит образование органических соединений из  $\text{CO}_2$ .

Свойства свободных хлорофиллов и хлорофиллов в составе светособирающих комплексов различаются. Возбуждение изолированных хлорофиллов сопровождается последующей диссипацией энергии в виде теплового излучения или излучением кванта света. В составе светособирающих комплексов возбужденный хлорофилл передает энергию соседнему хлорофиллу в результате переноса энергии.

Миграция энергии между взаимодействующими частицами может осуществляться на основе различных механизмов, включающих индуктивно-резонансный, обменно-резонансный и полупроводниковый (зонная проводимость). Безызлучательный перенос энергии между молекулами хлорофилла осуществляется по индуктивно-резонансному механизму. Донорами и акцепторами энергии могут выступать как молекулы разных веществ (фикобилины  $\rightarrow$  хлорофиллы, хлорофилл *b*  $\rightarrow$  хлорофилл *a*), так и молекулы одного и того же вещества (хлорофилл *a*  $\rightarrow$  хлорофилл *a*).

Перенос энергии по индуктивно-резонансному механизму происходит в результате диполь-дипольного взаимодействия между молекулами донора и акцептора. При реализации этого механизма миграции энергии взаимодействие осуществляется с помощью электромагнитного поля (на больших расстояниях – 20–100 Å) и не требует физического контакта взаимодействующих частиц.

Для пояснения эффекта индуктивно-резонансного переноса энергии обычно пользуются моделью колебаний двух гармонических осцилляторов (например, связанных маятников) с одинаковыми собственными частотами. Если в начальный момент времени колеблется только один осциллятор, то в дальнейшем происходит перекачка энергии в другой осциллятор, и осцилляторы обмениваются энергией, пока колебания не затухнут.

Константа скорости переноса энергии по индуктивно-резонансному механизму  $k_T$  определяется формулой Фёрстера:

$$k_T = \left( \frac{R_0}{R_{DA}} \right)^6 \frac{1}{\tau_D}, \quad (4.12)$$

где  $\tau_D$  – время жизни молекул донора в возбужденном состоянии в отсутствие переноса энергии,  $R_{DA}$  – расстояние между донором и акцептором,  $R_0$  – Ферстеровский радиус для этой пары донора и акцептора, то есть расстоянием, на котором эффективность переноса энергии составляет 50%. Ферстеровский радиус зависит от условий эксперимента (*const*) и ряда факторов

$$R_0^6 = \text{const} \cdot k_D \Phi^2 \int_0^\infty \frac{F_D(\nu) \epsilon_A(\nu)}{\nu^4} d\nu, \quad (4.13)$$

где  $k_D$  – квантовый выход флуоресценции донора в отсутствие акцептора;  $F_D$  – нормированная интенсивность флуоресценции донора;  $\epsilon_A$  – молярный коэффициент поглощения акцептора;  $\nu$  – частота излучения. Таким образом, для осуществления переноса энергии по индуктивно-резонансному механизму необходимо выполнение *условия резонанса* (разность энергий основного и возбужденного энергетических уровней обеих молекул должна быть одинакова) и *условия индукции* (взаимодействие между молекулами должно быть достаточно сильным).

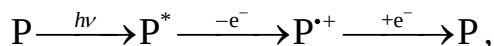
Светособирающие комплексы представляет собой высокоупорядоченные пигмент-белковые структуры, обеспечивающие оптимальное взаимодействие хромофоров друг с другом. Благодаря этому, достигается высокая скорость переноса энергии возбуждения от молекул, поглощающих свет, к фотохимическому реакционному центру. Среднее время переноса энергии возбуждения от одного пигмента к другому составляет  $\tau \approx 10^{-12} - 10^{-11}$  с. Общее время миграции возбуждения к реакционному центру обычно не превышает  $10^{-10} - 10^{-9}$  с. Эффективность миграции приближается к 100%.

На ярком солнечном свете отдельная молекула хлорофилла поглощает кванты света сравнительно редко, в среднем не чаще, чем 10 раз в секунду. Однако на один фотохимический реакционный центр приходится большое количество молекул хлорофилла (200 – 400), что обеспечивает эффективный сбор света и достаточно частое срабатывание реакционного центра.

Фотохимический реакционный центр Р является димером молекул хлорофилла и выполняет роль ловушки энергии возбуждения, блуждающего по пигментной матрице светособирающей антенны. Возбуждение молекул хлорофилла в реакционных центрах фотосистем приводит к разделению заряда и инициирует перенос электрона в электрон-транспортной цепи хлоропластов. Следует отметить, что реакция фотоиндуцированного обратимого окисления и восстановления хлорофилла была открыта во второй половине 1940-х гг. А.А. Красновским, что по-

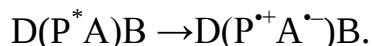
служило началом понимания механизма действия фотосинтетического аппарата.

Последовательность изменений состояния реакционного центра представляет схема



где  $P$  – основное состояние центра,  $P^*$  – возбужденное состояние центра,  $P^{*+}$  – окисленное состояние центра. Разделение и перенос зарядов, происходящие после возбуждения реакционного центра  $P$ , протекают с участием молекул первичного (А) и вторичного (В) акцепторов электрона, а также первичного донора электрона D.

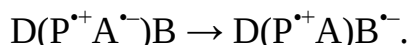
Возбужденный реакционный центр  $P^*$  обладает низким редокс-потенциалом, то есть, является хорошим восстановителем, и поэтому легко отдает электрон находящемуся рядом с ним первичному акцептору электрона А:



После потери электрона в реакционном центре  $P^+$  образуется «вакансия» для электрона («дырка»). Эта «дырка» обладает большим сродством к электрону, то есть является хорошим окислителем. В результате очень быстрого ( $\tau \approx 10^{-12}$  с) переноса электрона от  $P^*$  к А реализуется второй принципиально важный этап преобразования солнечной энергии при фотосинтезе – разделение зарядов в реакционном центре. При этом образуются окислитель  $P^{*+}$  и восстановитель  $A^-$ .

Молекулы  $P^{*+}$  и  $A^-$  расположены в мембране асимметрично: реакционный центр  $P^{*+}$  находится ближе к поверхности мембраны, обращенной внутрь тилакоида, а акцептор  $A^-$  расположен ближе к внешней стороне. Поэтому в результате фотоиндуцированного разделения зарядов на мембране возникает разность электрических потенциалов  $\Delta\phi$ . Индуцированное светом разделение зарядов в реакционном центре подобно генерации разности электрических потенциалов в обычном фотоэлементе. Однако эффективность работы (разделения зарядов) фотосинтетических реакционных центров значительно выше всех используемых в технике фотопреобразователей энергии и, как правило, превышает 90%.

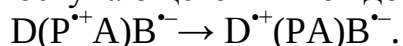
Стабилизация разделенных зарядов обеспечивается главным образом за счет вторичных процессов электронного транспорта, следующих за переносом электрона от  $P^*$  к А. От восстановленного первичного акцептора  $A^-$  электрон очень быстро ( $\tau \approx 10^{-10}$ – $10^{-9}$  с) уходит на вторичный акцептор электрона В:



При этом происходит не только удаление электрона от положительно заряженного реакционного центра  $P^{*+}$ , но и заметно снижается энергия

всей системы. Для переноса электрона в обратном направлении (переход  $B^{\cdot-} \rightarrow A$ ) необходимо преодолеть достаточно высокий энергетический барьер  $\Delta E \approx 0,3 - 0,4$  эВ, где  $\Delta E$  – разность энергии двух состояний системы, при которых электрон находится, соответственно, на переносчике А или В. Поэтому после переноса электрона на вторичный акцептор В существенно уменьшается вероятность его возвращения назад и рекомбинации с положительно заряженной “дыркой”  $P^{*+}$ .

Вторым фактором, способствующим стабилизации разделенных зарядов, служит быстрое восстановление окисленного фотореакционного центра  $P^{*+}$  за счет электрона, поступающего к  $P^{*+}$  от донора электрона D:



Получив электрон от молекулы донора D, реакционный центр возвращается в исходное восстановленное состояние P. Такова последовательность событий, происходящих в фотореакционных центрах всех фотосинтезирующих систем. После разделения заряда перенос электронов на конечный акцептор осуществляется компонентами электрон-транспортной цепи.

Электрон-транспортная цепь в тилакоидных мембранах хлоропластов высших растений имеет сходное с дыхательной цепью строение: состоит трех белковых комплексов (фотосистемы I и II, комплекс  $b_6f$ ) и двух подвижных переносчиков (пластохинон и пластоцианин).

Фотосистема II максимально активируется квантами света с длинами волн короче 680 нм, а фотосистема I – квантами света с длинами волн не меньше, чем 700 нм. Реакционные центры фотосистем I и II в соответствии с оптическими характеристиками фотохимически активных молекул хлорофилла *a*, входящих в состав центров, получили название  $P_{700}$  и  $P_{680}$ . Спектр поглощения хлорофилла *a* реакционного центра фотосистемы I характеризуется максимумом при 700 нм, а спектр поглощения реакционного центра фотосистемы II – максимумом при 680 нм. Номера фотосистем отражают порядок, в котором эти процессы были открыты, поскольку фотосинтетический перенос электронов у растений начинается с фотосистемы II.

*Фотосистема II ( $H_2O$ :пластохинон редуктаза (светозависимая), EC 1.10.3.9)* является белковым комплексом, в состав которого входит около 30 полипептидов. Простетические группы фотосистемы II располагаются в комплексе двух трансмембранных белковых субъединиц с молекулярными массами около 32 кДа, называемых D1 и D2 (рис. 15). Несмотря на то, что субъединицы D1 и D2 имеют сходное строение, путь переноса электронов связан с переносчиками электронов, ассоциированными с субъединицей D1.

Структурными компонентами ФС II являются реакционный центр ФС II  $P_{680}$ , первичный акцептор электронов – феофитин (Pheo, аналог хлорофилла, в котором центральный ион  $Mg^{2+}$  замещен на два  $H^+$ ), два связанных пластохинона ( $PQ_A$  и  $PQ_B$ ) и водорасщепляющий комплекс. Пространственное расположение простетических групп и путь переноса электронов в фотосистеме II показаны на рис. 15. Перенос электрона от возбужденной молекулы димера хлорофилла  $P_{680}^*$  ( $E^{0'} = -580$  мВ) на молекулу феофитина ( $E^{0'} = -499$  мВ) происходит через соседние молекулы хлорофилла за несколько пикосекунд ( $(0,6-3) \cdot 10^{-12}$  с). В результате образуется состояние с разделенными зарядами  $D(P_{680}^{++}Pheo^{\cdot-})PQ_A$ . Вследствие рекомбинации зарядов (обратного возврата электрона от  $Pheo^{\cdot-}$  на  $P_{680}^{++}$ ) время жизни в данном состоянии составляет лишь  $10^{-8}$  с. Однако этот процесс предотвращается благодаря более быстрому ( $2 \cdot 10^{-10}$  с) переносу электрона от  $Pheo^{\cdot-}$  на молекулу акцептора электрона  $PQ_A$  (комплекс пластохинона с ионом  $Fe^{2+}$ ). При этом теряется около 30% энергии, запасенной в результате первичного фотоакта, но образуется более стабильное состояние  $D(P_{680}^{++}Pheo)PQ_A^{\cdot-}$  (время жизни  $1,5 \cdot 10^{-4}$  с). Таким образом, электрон, оторванный от молекулы хлорофилла  $P_{680}$ , передается на систему хиноновых переносчиков электрона, расположенной от реакционного центра на расстоянии 27 Å. Поступивший из реакционного центра электрон переносится с феофитина через  $PQ_A$  на акцептор  $PQ_B$ , образуя семихиноновый радикал  $PQ_B^{\cdot-}$ . Редокс-потенциал пары  $PQ_B/PQ_B^{\cdot-}$  ( $E^{0'} = +50$  мВ) выше редокс-потенциала пары  $PQ_A/PQ_A^{\cdot-}$  ( $E^{0'} = -30$  мВ). При этом перенос электрона от одной молекулы связанного пластохинона  $PQ_A$  на другую  $PQ_B$  облегчается негемовым железом, связанным с четырьмя имидазолами гистидинов белка. Радикал пластохинона  $PQ_B^{\cdot-}$  быстро протонируется ( $7,6 \cdot 10^{-4}$  с) и затем восстанавливается вторым электроном до гидрохинона. То есть, для восстановления пластохинона  $PQ_B$  необходимо поступление двух электронов от пластохинона  $PQ_A$  и двух протонов из стромы.

В свою очередь, восстановление катион-радикала окисленного реакционного центра  $P_{680}^{++}$  осуществляется электронами, переносимыми от воды ионами марганца водорасщепляющего комплекса. Водорасщепляющий комплекс образован четырьмя полипептидами, один из которых содержит ионы марганца. Марганцевый центр окисления воды состоит из четырех атомов Mn, которые образуют два димера Mn-Mn с расстоянием около 2,7 Å между двумя атомами Mn в димере и с расстоянием около 3,3 Å между двумя димерами. Роль промежуточного переносчика электрона между  $P_{680}^{++}$  и марганцевым комплексом выполняет остаток тирозина в субъединице  $D_1$  (часто обозначается как  $Tyr_z$ , см. рис. 15).

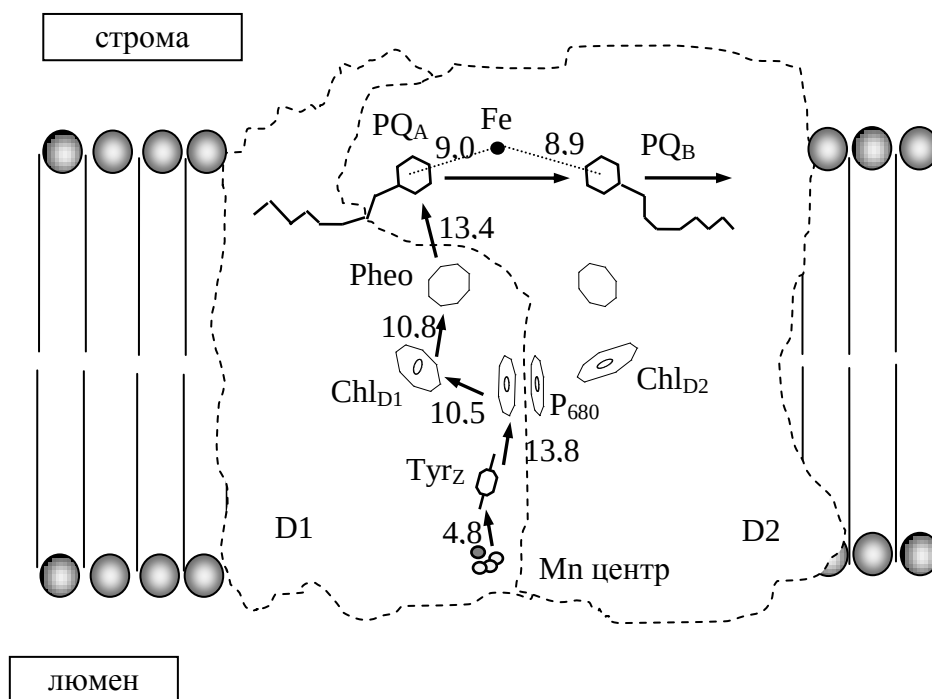
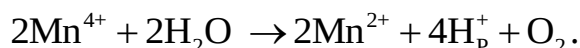
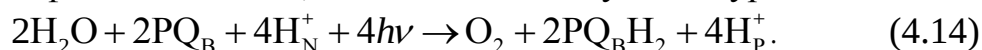


Рис. 15. Расположение простетических групп в субъединицах D1 и D2 фотосистемы II (расстояние между центрами групп указано в ангстремах)

Отдавая электроны окисленному хлорофиллу  $P_{680}^{++}$ , ионы марганца окисляются. В результате последовательного четырехкратного срабатывания реакционного центра  $P_{680}$  в Mn-содержащем активном центре накапливаются четыре сильные окислительные эквиваленты (или четыре “дырки”) в форме окисленных ионов марганца ( $Mn^{4+}$ ), которые, взаимодействуя с двумя молекулами воды, катализируют реакцию разложения воды:



Таким образом, после последовательной передачи четырех электронов от водорасщепляющего комплекса к окисленному  $P_{680}^{++}$  происходит разложение двух молекул воды, сопровождающееся образованием одной молекулы кислорода и четырех ионов водорода, которые попадают во внутритилакоидное пространство хлоропласта. Суммарная реакция, катализируемая фотосистемой II, описывается следующим уравнением:



Далее электроны с участием несвязанных пластохинонов переносятся на комплекс  $b_6f$ .

Комплекс  $b_6f$  (Пластохинол:пластоцианин редуктаза, ЕС 1.10.99.1) является димером с молекулярной массой 217 кДа и по строению и функциям подобен комплексу  $bc_1$  митохондрий (см. раздел 4.1). Моно-



мер комплекс  $b_6f$  содержит цитохром  $b_6$ , железосерный белок Рiske и цитохром  $f$  (рис. 16). Цитохром  $b_6$  содержит два гема группы  $b$  ( $b_L$  – гем с низким редокс-потенциалом ( $E^{0'} = -30$  мВ),  $b_H$  – гем с высоким редокс-потенциалом ( $E^{0'} = +150$  мВ)) и гем  $c_i$ . Редокс-потенциал гема  $f$  равен  $+365$  мВ. В дополнение к четырем гемам в комплексе  $b_6f$  имеется еще  $\beta$ -каротин. Функции гема  $c_i$  являются наименее изученными. Гем  $c_i$  расположен вблизи гема  $b_H$  и, вероятно, экранирует его от пластохинонов. Предполагается, что за счет возможной передачи электронов пластохинонам от обоих гемов такая конфигурация восстановительного центра комплекса  $b_6f$  уменьшает время жизни семихиноновых радикалов. Таким образом снижается способность комплекса образовывать супероксидный анион-радикал, что важно для клеток с оксигенным фотосинтезом, поскольку в них высока концентрация  $O_2$ .

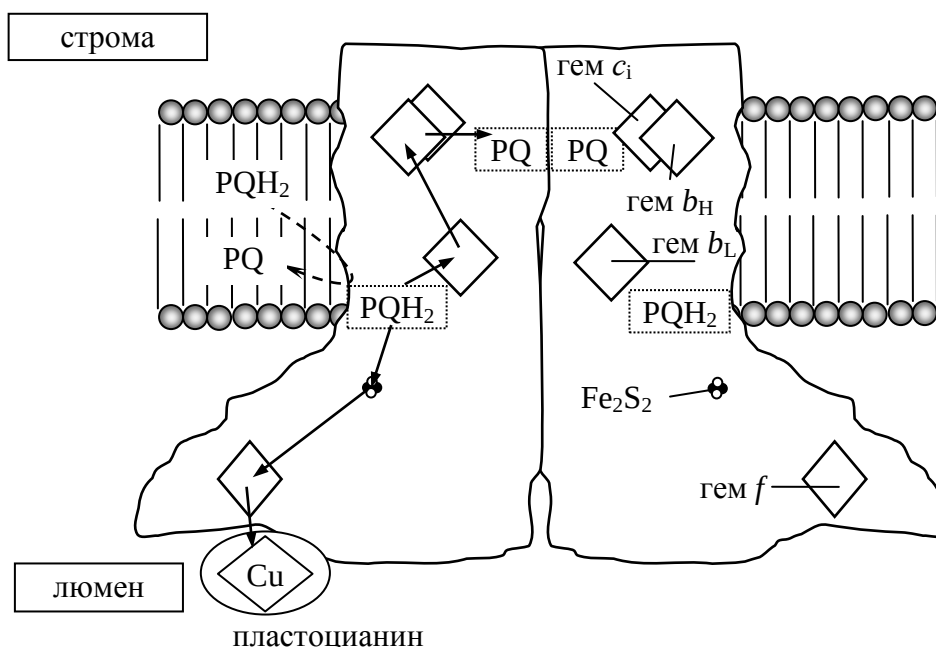
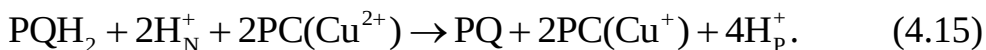


Рис. 16. Расположение простетических групп в комплексе  $b_6f$

В комплексе имеются два центра связывания пластохинонов: один из них ( $PQH_2$ ) находится вблизи положительно заряженной стороны тилакоидной мембраны (со стороны люмена), другой ( $PQ$ ) – вблизи отрицательно заряженной стороны тилакоидной мембраны (со стороны стромы). Подобно митохондриальному комплексу III центры связывания пластохинонов в комплексе  $b_6f$  ориентированы в специальные карманы, образуемые между мономерами белка. Белок Рiske располагается за пределами бислоя в люмене. Там же располагается и домен, содержащий гем  $f$ . Электрон-транспортный комплекс  $b_6f$  осуществляет перенос электронов от пластохинонов к водорастворимому белку пластоцианину

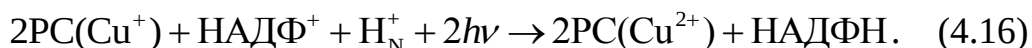
(электрон-переносающий аналог цитохрома *c*, содержащий в качестве редокс-центра ион меди) на основе механизма, называемого Q-циклом (см. раздел 4.2). Согласно данному механизму перенос одного электрона от ФС II к пластоцианину сопровождается переносом 2 протонов из стромы в люмен. Суммарная реакция, катализируемая комплексом  $b_6f$ , описывается уравнением



Из-за небольшого объема люмена тилакоидов перенос даже небольшого количества протонов в них приводит к значительным изменениям pH. Разность в величине pH между стромой (pH 8,0) и люменом тилакоидов (pH 5,0) создает достаточную для синтеза АТФ протон-движущую силу (~180 мВ).

*Фотосистема I (Пластоцианин:ферродоксин оксидоредуктаза (светозависимая), ЕС 1.97.1.12)* включает 14 белковых субъединиц. Две наиболее крупные субъединицы с молекулярными массами 83,2 кДа и 82,5 кДа связывают реакционный центр  $\text{P}_{700}$  (димер хлорофилла *a*), первичные и вторичные акцепторы электрона  $\text{A}_0$  (мономеры хлорофилла *a*),  $\text{A}_1$  (филлохинон) и железосерный центр  $\text{FeS}_\text{X}$ . Железосерные центры  $\text{FeS}_\text{A}$  и  $\text{FeS}_\text{B}$  связаны с более мелкой гидрофобной субъединицей. Пространственное расположение простетических групп и путь электронов в фотосистеме I показаны на рис. 17.

Существуют две ветви переноса электронов от возбужденного хлорофилла *a* реакционного центра  $\text{P}_{700}^*$ , каждая из которых содержит одни и те же редокс-коферменты (хлорофиллы и филлохинон). Перенос электронов по одной из ветвей в десять раз эффективнее, чем по другой. Первичным редокс-процессом, индуцированным светом, является перенос электрона от возбужденного реакционного центра  $\text{P}_{700}^*$  ( $E^{0'} = -1300$  мВ) на молекулу первичного акцептора электрона ( $\text{A}_0$ ) – хлорофилла *a* ( $E^{0'} = -1000$  мВ). От возбужденного хлорофилла *a* электрон поступает на другую молекулу хлорофилла *a* ( $E^{0'} = -800$  мВ) и далее на филлохинон ( $E^{0'} = -705$  мВ). От витамина  $\text{K}_1$  электрон переносится на железосерный кластер  $\text{FeS}_\text{X}$  ( $E^{0'} = -700$  мВ), который содержит по 4 иона железа и серы ( $\text{Fe}_4\text{S}_4$ ). Последующие акцепторы электронов  $\text{FeS}_\text{A}$  ( $E^{0'} = -580$  мВ) и  $\text{FeS}_\text{B}$  ( $E^{0'} = -530$  мВ) также являются железосерными кластерами  $\text{Fe}_4\text{S}_4$  типа. Водорастворимый ферредоксин  $\text{Fd}$  ( $E^{0'} = -420$  мВ), участвующий в передаче электрона от ФС I к флавопротеину ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктазе, содержит железосерный кластер  $\text{Fe}_2\text{S}_2$ . Суммарная реакция, катализируемая фотосистемой I и ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктазой, описывается следующим уравнением:



С учетом уравнений (4.14)-(4.16) итоговый процесс, осуществляемый с участием компонент электрон-транспортной цепи тилакоидов, описывается схемой

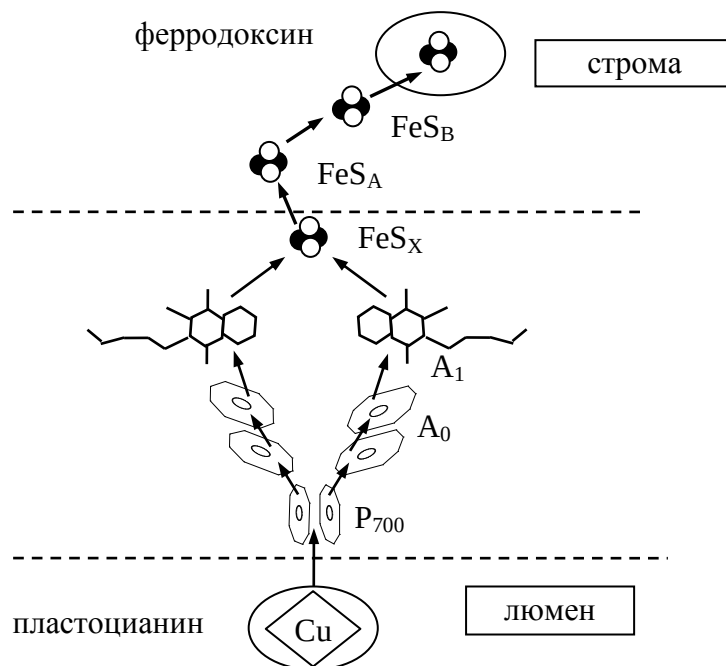
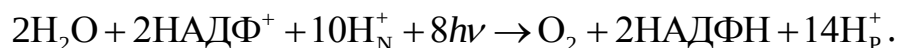


Рис. 17. Расположение протетических групп фотосистемы I

Рассмотренный выше путь переноса электронов между донором электронов  $\text{H}_2\text{O}$  и акцептором  $\text{НАДФ}^+$  называется *нециклическим*. В мембране тилакоидов осуществляется еще один вид транспорта электронов, инициируемый светом, называемый *циклическим*. В данном процессе осуществляется циклический перенос электронов между фотосистемой I и комплексом  $b_6f$ , также сопровождаемый ростом градиента электрохимического потенциала протонов. Этот обходной путь, или шунт, включает фотосистему I и несколько переносчиков электронов (пластохиноны, комплекс  $b_6f$  и пластоцианин), входящих в соединяющую фотосистемы II и I электрон-транспортную цепь. При циклическом переносе белок стромы ферредоксин, принявший электрон от возбужденного хлорофилла  $a$  реакционного центра ФС I ( $\text{P}_{700}^*$ ), передает его через комплекс  $b_6f$  пластоцианину (а не на  $\text{НАДФ}^+$ , как при нециклическом переносе). Электрон от пластоцианина поступает на окисленный хлорофилла  $a$  реакционного центра ФС I ( $\text{P}_{700}^{*+}$ ), и после следующего возбуждения  $\text{P}_{700}$  квантом света

цикл замыкается. Таким образом, при освещении фотосистемы I электроны могут совершать циклические переходы – покидать реакционный центр и вновь возвращаться в него.

Энергия, необходимая для перемещения одного электрона через такой цикл, обеспечивается поглощением одного кванта света. Циклический поток электронов не сопровождается образованием НАДФН и выделением  $O_2$ , однако при этом происходит формирование трансмембранного электрохимического градиента протонов, энергия которого используется для фосфорилирования АДФ (*циклическое фотофосфорилирование*). Предполагается, что циклическое фотофосфорилирование включается в растительной клетке тогда, когда она вполне обеспечена восстановителями в форме НАДФН, но существует потребность в АТФ для других метаболических нужд.

## РАЗДЕЛ 5. МЕХАНИЗМЫ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗА КЛЕТОК

**5.1. Электродиффузия ионов в растворе.** 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

$$E = \frac{U}{d}. \quad (5.1)$$

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

$$F_i = QE = z_i e E. \quad (5.2)$$

Действующая сила индуцирует *миграцию ионов*, скорость которой равна

$$v_i = u_{pi} F_i, \quad (5.3)$$

где  $u_{pi}$  – механическая подвижность иона. Используя выражение (5.3), получим

$$v_i = u_{pi} F_i = u_{pi} z_i e E. \quad (5.4)$$

Обозначим

$$u_{ei} = u_{pi} z_i e. \quad (5.5)$$

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 (5.4) с учетом (5.5) будет иметь вид

$$v_i = u_{ei} E. \quad (5.6)$$

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

$$J_i = v_i N_i = u_{ei} N_i E. \quad (5.7)$$

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

$$I_i = z_i e J_i. \quad (5.8)$$

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 (5.7) в уравнение (5.8), имеем

$$I_i = z_i e J_i = z_i e u_{ei} N_i E. \quad (5.9)$$

В выражении (5.9) от концентрации ионов перейдем к молярной концентрации

$$I_i = z_i e u_{ei} N_i E = z_i (e N_A) u_{ei} \frac{N_i}{N_A} E = z_i F u_{ei} c_i E, \quad (5.10)$$

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

$$i = \frac{U}{R} = G U, \quad (5.11)$$

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

$$G = \frac{1}{R} = \kappa \frac{S}{d}, \quad (5.12)$$

$\kappa$  – удельная проводимость проводника,  $S$  – площадь его сечения,  $d$  – длина проводника.

Комбинируя уравнения (5.11) и (5.12) и (5.1), получим

$$i = GU = \kappa S \frac{U}{d} = \kappa SE, \quad (5.13)$$

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

Для плотности тока можно записать

$$I = \frac{i}{S} = \kappa \frac{S}{S} \frac{U}{d} = \kappa E. \quad (5.14)$$

Выражение для проводимости, обусловленной ионами  $i$ -го типа, можно записать, используя выражения (5.10) и (5.14):

$$\kappa_i = z_i F u_{ei} c_i, \quad (5.15)$$

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

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

$$I = \sum_{i=1}^n I_i = \left( \sum_{i=1}^n z_i F u_{ei} c_i \right) E = \kappa E, \quad (5.16)$$

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

$$\lambda_i = \frac{\kappa_i}{c_i} = z_i F u_{ei}. \quad (5.17)$$

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

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

$$J_i = (J_i)_{\text{диф}} + (J_i)_{\text{эл}}. \quad (5.18)$$

На основании первого закона Фика:

$$(J_i)_{\text{диф}} = -D_i \frac{dc_i}{dx}. \quad (5.19)$$

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

$$(J_i)_{\text{эл}} = v_i c_i \quad (5.20)$$

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

$$F_i = z_i e E = -z_i e \frac{d\phi}{dx}, \quad (5.21)$$

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

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

$$v_i = \frac{F_i}{f} = u_{pi} F_i \quad (5.22)$$

Используя соотношение Эйнштейна для коэффициента диффузии, можно получить:

$$v_i = -\frac{D_i}{kT} z_i e \frac{d\phi}{dx} = -D_i \frac{z_i F}{RT} \frac{d\phi}{dx}. \quad (5.23)$$

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

$$(J_i)_{\text{эл}} = -c_i D_i \frac{z_i F}{RT} \frac{d\phi}{dx}. \quad (5.24)$$

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

$$J_i = -D_i \left( \frac{dc_i}{dx} + z_i c_i \frac{F}{RT} \frac{d\phi}{dx} \right). \quad (5.25)$$

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

Используя выражение Эйнштейна для коэффициента диффузии

$$D_i = u_{pi} kT, \quad (5.26)$$

и подставив его в уравнение (5/25), получим

$$\begin{aligned} J_i &= -u_i RT \left( \frac{dc_i}{dx} + z_i c_i \frac{F}{RT} \frac{d\phi}{dx} \right) = -u_i c_i \left( \frac{RT}{c_i} \frac{dc_i}{dx} + z_i F \frac{d\phi}{dx} \right) = \\ &= -u_i c_i \left( \frac{dRT \ln c_i}{dx} + z_i F \frac{d\phi}{dx} \right). \end{aligned} \quad (5.27)$$

Мерой запасенной энергии в растворе заряженных частиц является величина электрохимического потенциала (2.5). Тогда с учетом производной данного выражения по  $x$  уравнение (5.25) будет

$$J_i = u_i c_i \left( -\frac{d\tilde{\mu}_i}{dx} \right). \quad (5.28)$$

Это выражение называется **уравнением Теорелла**. Согласно (5.28) электродиффузия ионов происходит в результате диссипации энергии, запасенной в виде градиента электрохимического потенциала ионов.

Из уравнения (5.28) следует, что для двух компартментов, разделенных мембраной, условием равновесия будет

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

т.е.

$$\mu_{01} + RT \ln C_1 + zF\varphi_1 = \mu_{02} + RT \ln C_2 + zF\varphi_2. \quad (5.29)$$

Из (5.29) можно выразить равновесное распределение частиц между компартментами при наличии мембранного потенциала

$$\frac{c_1}{c_2} = \exp \left[ -\frac{zF(\varphi_1 - \varphi_2)}{RT} \right]. \quad (5.30)$$

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

$$c_1 = c_2. \quad (5.31)$$

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**.

**5.2. Электродиффузия ионов через мембрану.** Регуляция потоков ионов через мембрану, обеспечиваемая специфическими ион-транспортными мембранными белками, является основным механизмом формирования трансмембранной разности электрических потенциалов. Электрический потенциал  $\varphi_v$  внутри жизнеспособной клетки всегда отличается от потенциала  $\varphi_c$  снаружи клетки. Разность потенциалов на мембране, возникающая в результате асимметрического распределения зарядов, называется **мембранным потенциалом** и равна

$$\varphi_m = \varphi_v - \varphi_c. \quad (5.32)$$

Мембранный потенциал является одной из характеристик клеточного гомеостаза, то есть его величина поддерживается в процессе функциони-



рования клеток постоянной. Для некоторых типов клеток (нейроны, кардиомиоциты,  $\beta$ -клетки поджелудочной железы и др.) изменение клеточной активности сопровождается изменением мембранного потенциала или возникновением так называемого потенциала действия (см. раздел 5.3).

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. Если мембрана проницаема только для ионов  $K^+$ , то равновесное распределение ионов в системе приведет к возникновению мембранного потенциала. Поскольку концентрация ионов  $K^+$  внутри клетки выше концентрации данных ионов снаружи клетки, 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:

$$\varphi_M = \varphi_B - \varphi_C = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_C}{[K^+]_B} = \varphi_K, \quad (5.33)$$

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 асимметрическим 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  $\varphi$  линейно зависит от расстояния  $x$  в мембране

$$\frac{d\varphi}{dx} \approx -\frac{\varphi_B - \varphi_C}{d} = -\frac{\varphi_M}{d}. \quad (5.34)$$

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

$$J_i = -D_i \left( \frac{dc_i(x)}{dx} + z_i c_i(x) \frac{F}{RT} \frac{d\varphi(x)}{dx} \right), \quad (5.35)$$

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

$$u = \frac{F\varphi_M}{RT}, \quad (5.36)$$

где  $u$  – мембранный потенциал, выраженный в единицах  $RT/F$ . Тогда уравнение (5.35) с учетом (5.36) принимает вид

$$J_i = -D_i \left( \frac{dc_i(x)}{dx} - z_i c_i(x) \frac{u}{d} \right). \quad (5.37)$$

Преобразовав уравнение (5.37), получаем линейное дифференциальное уравнение

$$\frac{dc_i(x)}{dx} - c_i \frac{z_i u}{d} + \frac{J_i}{D_i} = 0. \quad (5.38)$$

Решением уравнения (5.38) с учетом равновесного распределения ионов на границе мембрана-раствор

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

является функция

$$c_i(x) = (k_i c_{iB} - A_i) e^{\frac{z_i u x}{d}} + A_i, \quad (5.39)$$

где

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

$k_i$  – коэффициент распределения  $i$ -го типа иона на границе мембрана-раствор,  $c_{iB}$  – концентрация иона  $i$ -го типа в клетке,  $c_{iC}$  – концентрация иона  $i$ -го типа снаружи клетки. При  $x=d$  получаем

$$c_i(d) = k_i c_{iC} = (k_i c_{iB} - A_i) e^{z_i u} + A_i. \quad (5.40)$$

Из этого уравнения можно выразить поток

$$J_i = \frac{k_i D_i z_i u}{d} \frac{c_{iB} e^{z_i u} - c_{iC}}{e^{z_i u} - 1}. \quad (5.41)$$

С учетом формулы для коэффициента проницаемости

$$P_i = \frac{k_i D_i}{d}$$

выражение для потока ионов  $i$ -го типа приобретает вид

$$J_i = P_i z_i u \frac{c_{ib} e^{z_i u} - c_{ic}}{e^{z_i u} - 1}. \quad (5.42)$$

В состоянии покоя суммарный ток через мембрану  $I$  равен нулю:

$$I = F \sum_i z_i J_i = 0. \quad (5.43)$$

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  $K^+$ ,  $Na^+$   $z = 1$ , а для  $Cl^-$   $z = -1$  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**

$$\phi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_c + P_{Na} [Na^+]_c + P_{Cl} [Cl^-]_b}{P_K [K^+]_b + P_{Na} [Na^+]_b + P_{Cl} [Cl^-]_c}. \quad (5.44)$$

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 (5.33)). Величина мембранного потенциала различна для разных типов клеток и может варьировать от  $-10$  мВ (у фибробластов) до  $-90$  мВ (у кардиомиоцитов).

**5.3. 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. 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.

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 кана-

лы 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  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насос в течение одной секунды транспортируется 300 ионов  $\text{Na}^+$  и 200  $\text{K}^+$ , 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  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Cl}^-$ . В генерации и распространении нервного импульса участвуют  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -, и  $\text{Cl}^-$ -каналы. Кальциевые каналы располагаются в синапсах. При их открытии ионы  $\text{Ca}^{2+}$  входят в синапс и активируют высвобождение нейромедиаторов.

Возбуждение нервной клетки под действием химического сигнала (реже электрического импульса) приводит к возникновению *потенциала действия* (рис. 18). Это означает, что потенциал покоя, который для нейронов составляет  $-60$  мВ, скачком изменяется на до  $+30$  мВ и спустя 1 мс принимает исходное значение.

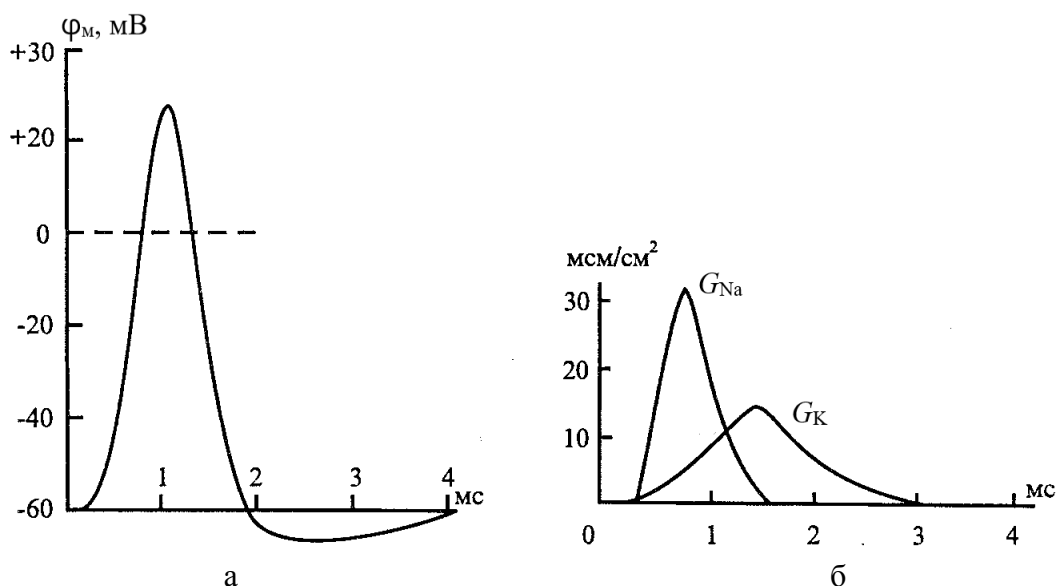


Рис. 18. Изменение трансмембранной разности электрических потенциалов (а) и ионной проводимости (б) при генерации потенциала действия

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:

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

то в состоянии возбуждения

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

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 (5.12) и (5.15) 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

$$dR_i = \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)}, \quad (5.45)$$

а парциальное сопротивление и парциальная проводимость канала в мембране равняются

$$R_i = \frac{1}{G_i} = \int_0^d \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)} \text{ и } G_i = \left( \int_0^d \frac{dx}{z_i F u_{ei} c_i(x)} \right)^{-1}. \quad (5.46)$$

Общая проводимость единицы площади мембраны равна

$$G_m = \sum_{i=1}^n G_i. \quad (5.47)$$

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

$$I_i = z_i F J_i = -u_{ei} z_i F c_i(x) \frac{d}{dx} \left( \frac{RT}{z_i F} \ln c_i(x) + \varphi(x) \right). \quad (5.48)$$

Разделяя переменные в уравнении (5.48), а затем интегрируя, получим

$$I_i \int_0^d \frac{dx}{u_{ei} z_i F c_i(x)} = - \int_{x=0}^{x=d} d \left( \frac{RT}{z_i F} \ln c_i(x) + \varphi(x) \right), \quad (5.49)$$

и в результате

$$I_i = \frac{\varphi(0) - \varphi(d) - \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i(d)}{c_i(0)}}{\int_0^d \frac{dx}{u_{ei} z_i F c_i(x)}}. \quad (5.50)$$

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

$$\frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i(d)}{c_i(0)} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_{ic}}{c_{ib}} = \varphi_i. \quad (5.51)$$

Выражение (5.51) представляет собой равновесный потенциал Нернста для иона  $i$ -го типа. Если обозначить мембранную проводимость для иона  $i$ -го типа с учетом (5.46), а трансмембранный потенциал как

$$\varphi_M = \varphi(0) - \varphi(d), \quad (5.47)$$

то уравнение (5.50) можно записать в виде

$$I_i = G_i(\varphi_M - \varphi_i). \quad (5.48)$$

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. 19а). 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

$$I_M = \sum_i I_i, \quad (5.49)$$

и уравнение (5.48) примет вид

$$I_M = \sum_i G_i(\varphi_M - \varphi_i). \quad (5.50)$$

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

$$\sum_i G_i(\varphi_M^p - \varphi_i) = 0. \quad (5.51)$$



где  $\varphi_{\text{м}}^{\text{п}}$  – мембранный потенциал покоя.

Из (5.51) найдем теперь выражение для потенциала покоя

$$\varphi_{\text{м}}^{\text{п}} = \sum_i \frac{G_i}{G_{\text{м}}} \varphi_i. \quad (5.52)$$

Согласно (5.52) 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  $G_{\text{м}}$ . Из (5.52) видно, что значение мембранного потенциала определяется теми ионами, для которых проводимость максимальна.

С использованием (5.52) уравнение (5.50) можно переписать в виде:

$$I_{\text{м}} = \left( \sum_i G_i \right) \varphi_{\text{м}} - \sum_i G_i \varphi_i = G_{\text{м}} \left( \varphi_{\text{м}} - \sum_i \frac{G_i}{G_{\text{м}}} \varphi_i \right) = G_{\text{м}} (\varphi_{\text{м}} - \varphi_{\text{м}}^{\text{п}}). \quad (5.53)$$

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  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .

2. Перенос ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  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  $I_{\text{к}}$ , натрия  $I_{\text{на}}$  и так называемого тока утечки  $I_{\text{у}}$  (в основном ионы  $\text{Cl}^-$ ), 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

$$I_M = C_M \frac{d\phi_M}{dt} + I_K + I_{Na} + I_Y, \quad (5.54)$$

где  $I_M$  – общий ток через мембрану,  $C_M$  – емкость мембраны.

Эквивалентная электрическая схема мембраны, соответствующая уравнению (5.54) представлена на рис 19б. 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.

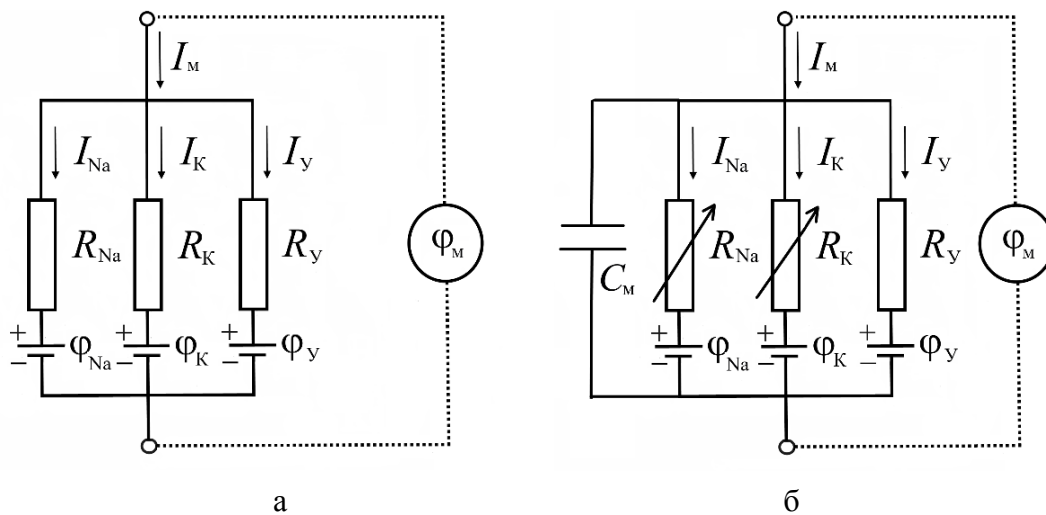


Рис. 19. Эквивалентная электрическая схема мембраны не возбудимых (а) и возбудимых (б) клеток

Согласно представленной эквивалентной электрической схеме в модели предполагается, что токи, текущие по каналам, подчиняются уравнению (5.48). Ранее данная связь была обоснована в рамках модели электродиффузии через ионные каналы. С учетом уравнения (5.48) ток через мембрану будет

$$I_M = C_M \frac{d\phi_M}{dt} + G_K(\phi_M - \phi_K) + G_{Na}(\phi_M - \phi_{Na}) + G_Y(\phi_M - \phi_Y). \quad (5.55)$$

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  $\varphi_m$ , и, таким образом, выведены индуктивным методом.

Модель Ходжкина-Хаксли предполагает, что проводимость мембраны для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  регулируется некими управляющими частицами, перемещающимися в мембране при изменении электрического поля. Предполагается, что  $\text{K}^+$  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

$$G_K = \bar{g}_K \cdot n^4, \quad (5.56)$$

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

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n, \quad (5.57)$$

где константы скоростей  $\alpha_n$  и  $\beta_n$  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

$$G_{\text{Na}} = \bar{g}_{\text{Na}} \cdot m^3 h, \quad (5.58)$$

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

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m, \quad \frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h, \quad (5.59)$$

где константы скоростей  $\alpha_m$  и  $\beta_m$ ,  $\alpha_h$  и  $\beta_h$  зависят от мембранного потенциала. При деполяризации  $\alpha_m$  и  $\beta_m$  возрастают, а  $\alpha_h$  и  $\beta_h$  убывают. Подобрать коэффициенты  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_h$ , и  $\beta_h$  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:

$$I_m = C_m \frac{d\varphi_m}{dt} + \bar{g}_K n^4 (\varphi_m - \varphi_K) + \bar{g}_{Na} m^3 h (\varphi_m - \varphi_{Na}) + g_Y (\varphi_m - \varphi_Y). \quad (5.60)$$

Вся совокупность уравнений (5.57), (5.59), (5.60), описывающих ионные токи через возбудимые мембраны при изменении потенциала  $\varphi_m$ , 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  $\alpha$  и  $\beta$ , 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. 20. Если аксон погружен в большой объём проводящей жидкости, то его наружным сопротивлением можно пренебречь и наружный потенциал считать постоянным.

Пусть в точке  $x_0=0$  происходит деполяризация мембраны: внутриклеточный потенциал увеличивается по сравнению с потенциалом покоя на некоторую величину  $\varphi_0$ . Под действием разности потенциалов между участком в области возбуждения и соседним невозбужденным участком (с координатой  $x$ ) во внутриклеточном электролите начинает протекать ток  $I_i$ . Внутриклеточный ток (направленный перенос ионов) приводит к

снижению потенциала на мембране на величину  $\phi$ , которая зависит от  $x$ . Принимая потенциал внеклеточной среды нулевым, найдем зависимость потенциала  $\phi$  на мембране от времени на участке нервного волокна протяженностью  $dx$ , удаленном на расстоянии  $x$  от начала отсчета.

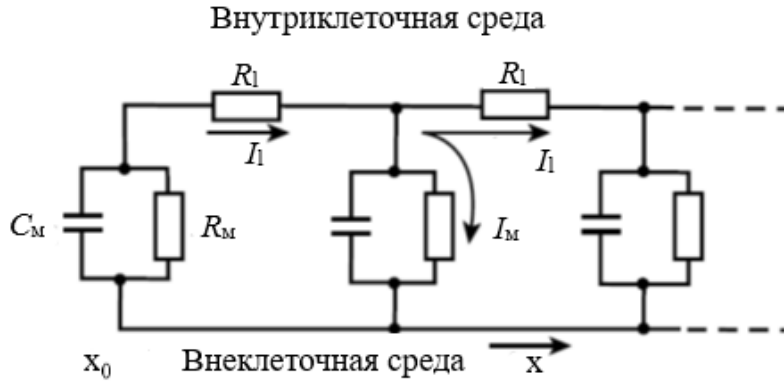


Рис. 20. Эквивалентная электрическая схема нервного волокна

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

$$r_l = \frac{4R_l}{\pi D^2}, \quad (5.61)$$

где  $R_l$  – удельное сопротивление  $1 \text{ см}^3$  внутреннего электролита,  $D$  – диаметр волокна. Сопротивление мембраны на единицу длины обозначим  $r_m$  (Ом·см). Для цилиндрического волокна

$$r_m = \frac{R_m}{\pi D}, \quad (5.62)$$

где  $R_m$  – удельное сопротивление  $1 \text{ см}^2$  мембраны.

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

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

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  $dx$

$$I_m = -\frac{dI_l}{dx} = \frac{1}{r_l} \frac{d^2\phi}{dx^2}. \quad (5.63)$$

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

ионного тока

$$\boxed{\frac{1}{r_l} \frac{d^2 \varphi}{dx^2} = I + C_m \frac{d\varphi}{dt}}. \quad (5.64)$$

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 (5.63) получим

$$\frac{r_m}{r_l} \frac{d^2 \varphi}{dx^2} = \varphi. \quad (5.65)$$

Обозначим  $\lambda^2 = r_m/r_l$  и преобразуем уравнение (5.65) 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  $\lambda$  – 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  $\varphi$  по длине волокон, то есть высокими величинами  $\lambda$ . С учетом (5.61) и (5.62) получим

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

Удельное сопротивление внутренней среды определяется электролитным составом протоплазмы, примерно одинаковым у всех видов животных. Повышение величины  $\lambda$  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 потенциалуправляемых ионных каналов (молекулярные «генераторы»), обеспечивающих генерацию потенциалов действия.

## РАЗДЕЛ 6. БИОФИЗИКА МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

На основании структуры, сократительных свойств и механизмов регуляции различают три вида мышечной ткани: скелетные мышцы, гладкая мускулатура и сердечная мышца (миокард). Скелетные мышцы прикреплены к костям, осуществляя их поддержку и движение. Гладкая мускулатура окружает полые и трубчатые органы и участвует в регуляции тонуса сосудов. Сердечная мышца обеспечивает работу сердца. Молекулярно-клеточные механизмы мышечного сокращения рассмотрим на примере скелетных мышц.

Скелетные мышцы состоят из цилиндрических мышечных волокон (клеток). Волокна скелетных мышц характеризуются периодическим чередованием светлых и темных полос, отражающих пространственную организацию толстых и тонких филаментов в миофибриллах, – основных внутриклеточных элементах мышечных клеток. Миофибриллы представляют собой нитевидные образования диаметром 1-2 мкм, состоящие, в основном, из актина (~20-25% мышечного белка) и миозина (~65% мышечного белка). Темные (анизотропные) полосы содержат нити миозина и концы актиновых нитей. Светлые (изотропные) полосы содержат только актиновые нити. Актиновые нити прикрепляются к поперечной мембране (Z-дису) и расходятся в разные стороны от Z-диска, проникая между миозиновыми нитями. Участок миофибриллы длиной 2-3 мкм между двумя Z-дисками является основным сократительным элементом – саркомером.

Актиновая нить или «фибриллярный актин» (F-актин) образуется в результате полимеризации мономеров актина (G-актина, 42 кДа). G-актин обладает АТФазной активностью и полимеризация осуществляется за счет энергии гидролиза АТФ. Разноименно заряженные концы F-актина полимеризуются с различной скоростью. На каждой молекуле актина есть участок связывания миозина.

Молекула мышечного миозина построена из шести субъединиц: двух идентичных тяжелых цепей (~223 кДа) и четырех легких цепей (~20 кДа), связанных нековалентно. Каждая тяжелая цепь миозина имеет форму длинного стержня диаметром 2 нм и длиной 150 нм с глобулярной головкой на N-конце. Протяженные участки двух тяжелых цепей свернуты в двойную суперспираль, а четыре небольших субъединицы связаны с глобулярными головками. В мышечном волокне миозин образует толстые миозиновые филаменты, которые представляют собой пучки из сотен молекул миозина, расположенных параллельно. Головка молекулы

миозина обладает  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой АТФазной активностью, которая регулируется малыми субъединицами.

Основой всех типов клеточного движения (мышечное сокращение, рост нейтрофил, хемотаксис и др.) служит взаимодействие актина и миозина, которое происходит посредством образования соединяющих нити «мостиков». В мостиковой модели генерации силы структурные изменения миозина происходят циклически и связаны с гидролизом АТФ.

В покоящейся мышце взаимодействие между актином и миозином предотвращают  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые регуляторные белки тропомиозин и тропонин. При активации повышение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к образованию комплексов  $\text{Ca}^{2+}$  с тропомиозином. В результате этого изменяется химическое сродство в субъединице белка и происходит смещение молекулы тропомиозина в сторону от миозин-связывающего центра. Последующее взаимодействие миозина и актина (образование мостиков) запускает циклические структурные перестройки актин-миозинового комплекса. После присоединения к актину головка миозина связывается с АТФ, что приводит к отделению миозина от актина. В свободном миозине запускается расщепление АТФ на АДФ и фосфат. Гидролиз АТФ вызывает аллостерические изменения в глобулярной части миозина. Содержащая продукты реакции головка миозина снова соединяется с актином, но в другом месте. Актин ускоряет высвобождение АДФ и фосфата из активного центра, что запускает конформационное изменение головки миозина, производящее перемещение толстого филамента по направлению к Z-дису (или, что эквивалентно, движению свободных концов тонких филаментов друг к другу). После сбрасывания АДФ происходит связывание новой молекулы АТФ и цикл повторяется. Цикл будет повторяться до тех пор, пока есть АТФ и у актина доступны места связывания миозина (сохраняется высокая внутриклеточная концентрация  $\text{Ca}^{2+}$ ). Таким образом, актин-миозиновый комплекс является механохимическим преобразователем энергии АТФ.

Цепь последовательных процессов, приводящая к сокращению мышечного волокна под действием потенциалов действия, называется *электромеханическим сопряжением*. Сокращением мышечного волокна управляют мотонейроны. Возникший в мотонейроне потенциал действия распространяется по аксону в синапс, где при деполяризации мембраны активируются потенциал-зависимые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы. Существующая трансмембранная разность электрохимических потенциалов  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к появлению потока ионов в клетки и повышению внутри синапса концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ . Рост концентрации ионов кальция активирует экзоцитоз синаптических везикул, содержащих нейромедиатор ацетилхолин. Высво-



божденный ацетилхолин диффундирует мышечному волокну и связывается с лиганд-зависимыми  $\text{Na}^+$ -каналами, вызывая деполяризацию мембраны. Деполяризация мембраны активирует высвобождение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из саркоплазматического ретикулума, что приводит к повышению концентрации ионов в цитоплазме мышечной клетки. Связывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с тропомиозином вызывает смещение последнего и запуск актин-миозинового цикла. Повышение  $\text{Ca}^{2+}$  также активирует работу  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы. Понижение внутриклеточной концентрации несвязанного кальция ниже порогового значения приводит к расслаблению мышцы.

Основным характеристическим уравнением механики мышечного сокращения является **уравнение Хилла**, выражающее изменение скорости сокращения мышцы в зависимости от её нагрузки:

$$v = \frac{b(P_0 - P)}{P + a}, \quad (6.1)$$

где  $P$  – сила (нагрузка),  $v$  – скорость сокращения мышцы при нагрузке  $P$ ,  $P_0$  – максимальное значение изометрической силы ( $P=P_0$  при  $v=0$ ),  $a$  – константа, имеющая размерность силы,  $b$  – константа, имеющая размерность скорости. Из уравнения (6.1) следует, что максимальная скорость  $v_{\text{макс}}$  развивается при  $P=0$

$$v_{\text{макс}} = \frac{b}{a} P_0, \quad (6.2)$$

Из уравнения (6.2) можно выразить соотношение связи для эмпирических параметров  $a$  и  $b$

$$b = \frac{a}{P_0} v_{\text{макс}}. \quad (6.3)$$

Параметр  $a$  для портняжной мышцы лягушки равен  $0,25P_0$ .

При укорочении на величину  $\Delta l$  мышца совершает работу

$$A = P \Delta l.$$

Развиваемая, при этом, мышцей мощность  $W = dA/dt$  пропорциональна скорости сокращения  $v = dl/dt$

$$W = P v. \quad (6.4)$$

Зависимость мощности от развиваемой силы получим, подставляя (6.1) в (6.4),

$$W = P \frac{b(P_0 - P)}{P + a}. \quad (6.5)$$

Функция (6.5) имеет куполообразную форму и достигает максимума при

$$P_{\text{опт}} = \sqrt{a(P_0 + a)} - a. \quad (6.6)$$

Согласно (6.6) для  $a=0,25P_0$  максимум достигается при  $P=0,31P_0$ .

Полученное при обобщении большого количества опытов уравнение (6.1) указывает на существование в мышце внутреннего вязкого (зависящего от скорости) трения, препятствующего ее сокращению. Объяснение этого явления и физического смысла констант впервые были даны на основе количественной физической теории мышечного сокращения, которая была предложена А. Хаксли и усовершенствована В.И. Дещеревским.

Согласно кинетической теории мышечного сокращения Дещеревского каждый миозиновый мостик в процессе сокращения проходит последовательно через три состояния: свободное (разомкнутое) состояние около некоторого положения равновесия 0 на толстой нити; тянущее замкнутое состояние, во время которого развивается тянущая сила  $+f$ , и замкнутое тормозящее состояние, которое препятствует дальнейшему скольжению нитей, и мостик развивает отрицательную по направлению силу  $-f$ , после чего он размыкается. Для любого мостика переходы между состояниями – мономолекулярные процессы, т.е. явления, не зависящие непосредственно от состояния других мостиков. Таким образом, весь цикл функционирования мостика может быть представлен в виде трех реакций первого порядка



где  $\alpha$  – число мостиков в свободном состоянии,  $n$  – число мостиков в тянущем замкнутом состоянии,  $m$  – число мостиков в замкнутом тормозящем состоянии,  $k_1$  – константа скорости замыкания свободного мостика,  $v/\delta$  – константа скорости перехода мостика в тормозящее состояние,  $v$  – скорость скольжения нитей,  $\delta$  – длина зоны, в которой мостик развивает тянущую силу,  $k_2$  – константа скорости перехода в разомкнутое состояние. Полное число мостиков, доступных для замыкания, равно

$$\alpha_0 = \alpha + n + m.$$

Тогда для тянущих и тормозящих мостиков можно записать систему дифференциальных уравнений:

$$\begin{aligned}\frac{dn}{dt} &= k_1(\alpha_0 - n - m) - v \frac{n}{\delta} \\ \frac{dm}{dt} &= v \frac{n}{\delta} - k_2 m\end{aligned}\quad (6.8)$$

В стационарных условиях  $v = \text{const}$  и  $dn/dt = dm/dt = 0$ , а сумма сил, развиваемых тянущими и тормозящими мостиками, равна силе, развиваемой мышцей

$$P = f(n - m). \quad (6.9)$$

С учетом (6.9) в стационарных условиях для системы (6.8) можно получить следующее решение

$$v = \frac{k_2 \delta \frac{k_1}{k_1 + k_2} (f \cdot \alpha_0 - P)}{P + \frac{k_1}{k_1 + k_2} f \cdot \alpha_0}. \quad (6.10)$$

Если максимальное значение изометрической силы обозначить как  $P_0 = f \cdot \alpha_0$ , а константы  $a$  и  $b$  выразить следующим образом

$$\begin{aligned}a &= \frac{k_1}{k_1 + k_2} f \cdot \alpha_0, \\ b &= k_2 \delta \frac{k_1}{k_1 + k_2},\end{aligned}$$

то соотношение (6.10) полностью совпадёт с уравнением Хилла (6.1).

## РАЗДЕЛ 7. МЕХАНИЗМЫ ОБРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ В КЛЕТКАХ

**7.1. Рецепция информации в клетках.** 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. 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 ( $\text{Ca}^{2+}$ ), монооксид азота ( $\text{NO}$ ) 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  $\text{Ca}^{2+}$  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 (7.1) согласно закону действующих масс можно записать

$$k_{+1}[L]([R_0] - [LR]) = k_{-1}[LR], \quad (7.2)$$

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:

$$k_c = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[LR]}{[L]([R_0] - [LR])}. \quad (7.3)$$

Чаще вместо константы сродства используется обратная ей константа диссоциации:

$$k_d = \frac{1}{k_c} = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[L]([R_0] - [LR])}{[LR]}. \quad (7.4)$$

Из (7.4) можем записать

$$k_d[LR] = [L]([R_0] - [LR]) \quad (7.5)$$

или

$$(k_d + [L])[LR] = [L][R_0]. \quad (7.6)$$

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

$$\boxed{\frac{[LR]}{[R_0]} = \frac{[L]}{k_d + [L]}}. \quad (7.7)$$

Из уравнения (7.7) 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 (7.7) 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.

**7.2. Системы передачи и усиления сигнала в клетках.** В основу классификации клеточных сигнальных систем положены названия вторичных мессенджеров и ферментов, регулирующих концентрацию вторичных мессенджеров. К числу основных сигнальных систем относятся: аденилатциклазная (цАМФ-зависимая), фосфатидил-инозитольная, НАДФН-оксидазная (супероксид-синтазная) и NO-синтазная. Рассмотрим основные этапы передачи сигнала на примере аденилатциклазной и фосфатидилинозитольной систем трансдукции.

Первичный мессенджер взаимодействует с соответствующим рецептором, что приводит к изменению конформации белка. Это повышает вероятность взаимодействия активированного рецептора с преобразователем сигнала, роль которого в аденилатциклазном пути передачи информации выполняют G-белки. G-белки – это семейство гетеротримерных белков, обладающих ГТФазной активностью. G-белки являются своеобразными «переключателями» в процессе передачи сигнала в клетку. Функционирование этих переключателей основывается на циклических переходах между связыванием и гидролизом ГТФ, что переводит их из активного в неактивное состояние и обратно. Активированный в результате взаимодействия с рецептором G-белок передает сигнал на специальный фермент-усилитель. В аденилатциклазном пути усиление сигнала осуществляется с помощью фермента аденилатциклазы, который катализирует образование цАМФ из АТФ. Взаимодействие G-белка с ферментом-усилителем сигнала приводит к изменению свойств фермен-

та и, соответственно, к изменению его активности. В результате активации аденилатциклазы увеличивается концентрация вторичного мессенджера цАМФ, белком-эффектором которого является протеинкиназа А. Активация протеинкиназы А осуществляет усиление и дальнейшую передачу сигналов через ферментативные каскады.

Молекулярным механизмом, регулирующим функционирование белков при передаче сигналов в ферментативных каскадах, является фосфорилирование белков. Селективное введение фосфатных групп в сериновые, треониновые и тирозиновые остатки белковых молекул, осуществляемое протеинкиназами, существенно изменяет заряд и конформацию макромолекулы, приводя к изменениям ферментативной активности белков и метаболизма клетки в целом. Субстратами протеинкиназ служат разнообразные ферменты, ионные каналы, сократительные белки, факторы транскрипции и другие типы белков. В результате фосфорилирования факторов транскрипции изменяется экспрессия различных генов, и тогда внешний информационный сигнал реализуется в изменении набора белков, которые синтезирует данная клетка.

В неактивном состоянии протеинкиназа А представляет собой димер, состоящий из каталитической и регуляторной субъединиц. Активация протеинкиназы обеспечивается связыванием цАМФ с регуляторной субъединицей, что вызывает диссоциацию комплекса и активацию каталитической субъединицы. Каталитическая субъединица в свободном состоянии может фосфорилировать определенный белок, активация или инактивация которого и обуславливает ответ на воздействие внешнего сигнала.

Рассмотренный механизм обеспечивает проведение и усиление внеклеточного сигнала. Одна молекула рецептора, находящегося в активном состоянии, может взаимодействовать с  $10\text{--}100$  G-белками. Одна активная молекула аденилатциклазы способна катализировать образование  $100$  молекул цАМФ. Следовательно, рецепторный сигнал усиливается в  $10^3\text{--}10^4$  раз. цАМФ не является конечной мишенью действия рецепторного сигнала и активирует ферменты, которые, в свою очередь, также могут активировать ряд ферментов. В процессе передачи сигнала на внутриклеточные эффекторы с помощью таких ферментативных каскадов коэффициент усиления может достигать  $10^4\text{--}10^8$ . Теоретически показано, что коэффициент усиления сигнала ферментативными системами в клетке может достигать астрономических величин:  $10^{12}\text{--}10^{40}$ . Однако внутри одной клетки запасы субстратов весьма ограничены, поэтому реальная концентрация вторичных мессенджеров или конечных продуктов ферментативной реакции не превышает  $10^{-2}$  М. Если учесть, что концентра-

ция лиганд-рецепторных комплексов обычно составляет  $10^{-12}$ – $10^{-9}$  М, то внутри клеток рецепторный сигнал увеличивается не более чем в  $10^7$ – $10^{10}$  раз.

Принципиально важной особенностью функционирования сигнальных систем клеток является необходимость инактивации развивающегося во времени концентрационного изменения, запускаемого лиганд-рецепторным взаимодействием. «Выключение» усилительного каскада передачи сигнала осуществляется различными способами, которые включают инактивацию рецепторов путем фосфорилирования протеинкиназами, выключение активированных ферментов путем дефосфорилирования фосфатазами, выключение G-белков путем гидролиза ГТФ, восстановление исходного уровня вторичного мессенджера в цитоплазме путем расщепления цАМФ фосфодиэстеразой.

В фосфатидилинозитольном пути передачи информации активное участие принимают мембранные фосфолипиды, в частности, фосфатидилинозитол. Внешний сигнал после взаимодействия с рецептором через  $G_q$ -белок активирует фермент фосфолипазу  $C_\beta$  (ФЛС $_\beta$ ). Активация фосфолипазы  $C_\beta$  приводит к гидролизу мембранного фосфолипида фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата (ФИФ $_2$ ) на два соединения, служащие внутриклеточными мессенджерами: водорастворимый инозитол-1,4,5-трифосфат (ИФ $_3$ ) и липидорастворимый диацилглицерол (ДАГ).

Гидрофобный ДАГ активирует мембранную протеинкиназу C (PKC), запуская ответную реакцию клетки через фосфорилирование соответствующих субстратов. Гидрофильный инозитолтрифосфат диффундирует в цитоплазму и в результате взаимодействия с ИФ $_3$ -рецепторами на мембране внутриклеточных депо (эндоплазматический ретикулум, митохондрии) вызывает освобождение ионов кальция. Выход ионов  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо активирует так называемый депозависимый, или «емкостной», вход  $Ca^{2+}$  через каналы плазматической мембраны. «Емкостная» модель входа  $Ca^{2+}$  в клетки основывается на гипотезе, согласно которой вход  $Ca^{2+}$  из наружной среды регулируется степенью заполнения ИФ $_3$ -чувствительных  $Ca^{2+}$ -депо таким образом, что опустошение депо активирует вход  $Ca^{2+}$ . По аналогии с конденсатором в электрической цепи  $Ca^{2+}$ -депо препятствуют входу  $Ca^{2+}$ , когда они заполнены («заряжены»), но активируют вход  $Ca^{2+}$  в клетку при их опустошении («разрядке»). При повышении внутриклеточной концентрации свободного кальция активируются многие кальций-зависимые процессы. Например, ионы  $Ca^{2+}$  образуют комплекс с белком кальмодулином. Этот комплекс активирует кальмодулин-зависимую протеинкиназу, катализирующую



фосфорилирование неактивного белка, что обуславливает дальнейшее развитие клеточного ответа.

Внутриклеточная концентрация инозитолтрифосфата понижается в результате поэтапного гидролиза до инозитола. Далее инозитол включается в состав фосфатидилинозитола, и только в мембране фосфорилируется до фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата, который может быть снова использован в данном пути передачи сигнала.

Фосфорилирование белков, осуществляемое протеинкиназами, является наиболее общим механизмом внутриклеточной сигнализации во всех типах клеток. Выделяют два типа фосфорилирования: 1) фосфорилирование по сериновым и треониновым аминокислотным остаткам, 2) фосфорилирование по тирозину. Протеинкиназы также подразделяются на серин/треониновые и тирозиновые. Фосфорилирование тирозина играет ключевую роль в пролиферации и дифференцировке клеток и отсутствует у одноклеточных эукариот. Таким образом, данный тип фосфорилирования служит показателем передачи сигналов у многоклеточных организмов.

Передача внутриклеточного сигнала посредством фосфорилирования остатков тирозина определяется активностью как тирозинкиназ, так тирозинфосфатаз. Тирозинфосфатазы являются ферментами, катализирующими дефосфорилирование белков. Без активации рецепторов активность тирозинфосфатаз на 2-3 порядка выше, чем активность тирозинкиназ. Поэтому для того, чтобы сигнализация с участием тирозинкиназ была эффективной, активность тирозинфосфатаз также должна регулироваться. Выделяют два типа тирозинфосфатаз: рецепторные и цитоплазматические. Регуляция рецепторных тирозинфосфатаз осуществляется первичными мессенджерами, а активность цитоплазматических тирозинфосфатаз – вторичными мессенджерами. Одним из способов регуляции тирозинфосфатаз является активация НАДФН-оксидазной системы.

В НАДФН-оксидазной системе передача сигналов осуществляется с участием активных форм кислорода (АФК). Такой тип клеточной сигнализации называется редокс-сигнализацией. Основными молекулами группы АФК, участвующими в процессах трансдукции сигнала, являются супероксидный анион-радикал и пероксид водорода. Сравнение основных этапов передачи информации в аденилатциклазной системе и НАДФН-оксидазной системе показано на рис. 21.

В передаче сигнала от тирозинкиназных рецепторов на фермент-усилитель – НАДФН-оксидазу участвует белок Ras, обладающий также как и G-белки ГТФазной активностью, но в отличие от G-белков являю-

щийся мономером. Активированная НАДФН-оксидаза катализирует перенос электронов от НАДФН к кислороду с образованием супероксидного анион-радикала. Образующийся в результате супероксидной дисмутации пероксид водорода приводит к инактивации тирозинфосфатаз, что приводит к увеличению фосфорилирования в клетках.

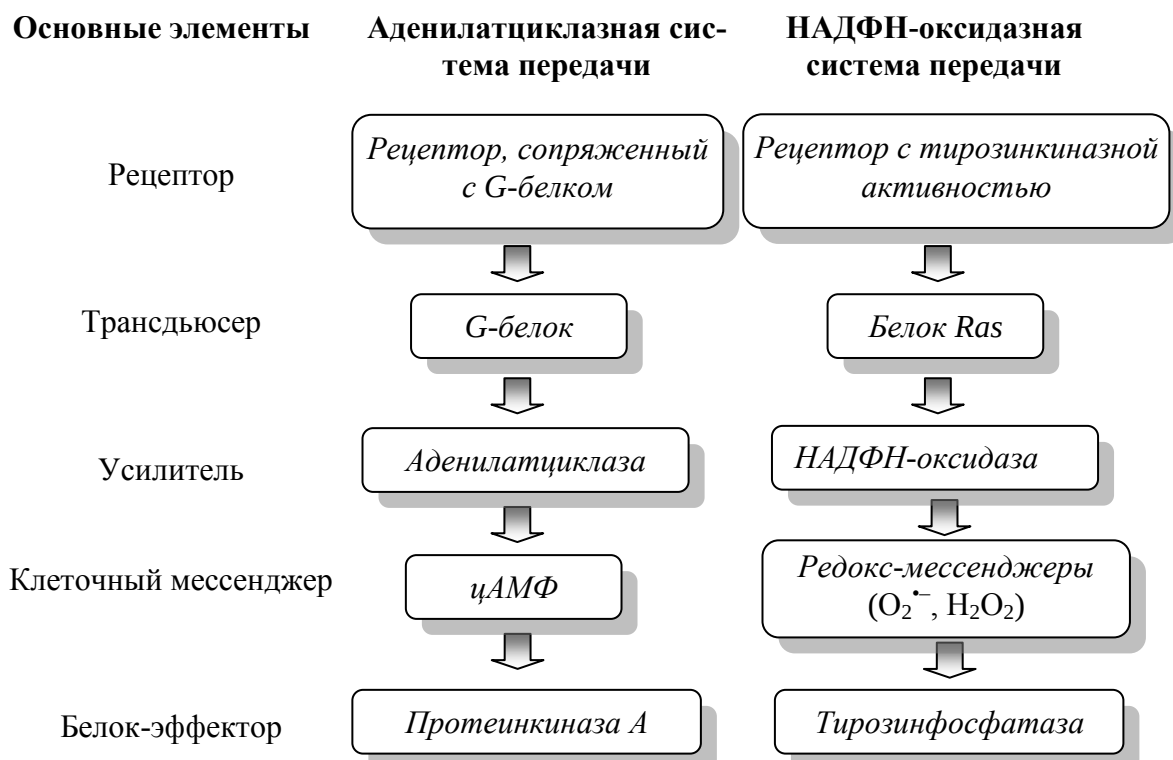


Рис. 21. Основные элементы аденилатциклатной и НАДФН-оксидазной систем трансдукции сигнала

Молекулярным механизмом регуляции функционирования белков в редокс-сигнальных каскадах является неферментативное окисление депротонированных тиоловых групп цистеиновых остатков в молекулах белков-мишеней, приводящее к изменению их каталитических или сигнальных функций. Данный механизм не является специфическим для ряда редокс-активных соединений и запускается как эндогенными, так и экзогенными акцепторами электронов. Поэтому важным элементом для регуляции активности белков-мишеней при редокс-сигнализации является их клеточная колокализация с ферментом-усилителем. Таким образом, если в аденилатциклатной системе регуляция клеточного функционирования осуществляется путем присоединения/отсоединения фосфатных групп, то при передаче редокс-сигнала – путем переноса электронов между белком-мишенью и мессенджером. Регуляцию функционирования

внутриклеточных мишеней путем изменения их редокс-состояния в результате межмолекулярного переноса электронов называют редокс-регуляцией. Редокс-регуляция – это тип физико-химической регуляции, который может осуществляться не только с участием окислителей и восстановителей, но и при действии различных модуляторов (химических, физических) активности систем, генерирующих и утилизирующих АФК. Следует также отметить, что редокс-регуляция клеточной активности может осуществляться не только при непосредственном действии на клетки окислителей либо восстановителей, но также и при действии молекул, модифицированных окислителями. Важно отметить различия понятий «редокс-сигнализация» и «редокс-регуляция».

В процессах редокс-сигнализации с участием редокс-мессенджеров осуществляется передача информации между внутриклеточными компонентами. В процессах редокс-регуляции осуществляется модулирование функционирования белков путем изменения окислительно-восстановительного состояния тиоловых групп, то есть, в процессах редокс-регуляции происходит взаимодействие редокс-мессенджеров и белков. Редокс-регуляция белков может осуществляться как в результате локального изменения редокс-состояния (что имеет место при редокс-сигнальных процессах), так и в результате изменения редокс-состояния клетки в целом (что имеет место при изменении редокс-гомеостаза). Таким образом, важным элементом нормального функционирования редокс-сигнальных процессов является поддержание определенного редокс-гомеостаза.

## 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.
13. Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О. Мембранная биоэнергетика. М.: МГУ, 2010.
14. Мартинович Г.Г. Активные формы кислорода в регуляции функций и свойств клеток: явления и механизмы. Минск: БГУ, 2021.
15. Мартинович Г.Г. Физика биосистем: конспект лекций. Минск: БГУ, 2022.

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| РАЗДЕЛ 1. ВВЕДЕНИЕ .....                                             | 3  |
| РАЗДЕЛ 2. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ .....         | 4  |
| РАЗДЕЛ 3. ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ В БИОСИСТЕМАХ..... | 11 |
| РАЗДЕЛ 4. ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В КЛЕТКАХ.....                      | 26 |
| РАЗДЕЛ 5. МЕХАНИЗМЫ ЭЛЕКТРОГЕНЕЗА КЛЕТОК.....                        | 52 |
| РАЗДЕЛ 6. БИОФИЗИКА МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ.....                        | 71 |
| РАЗДЕЛ 7. МЕХАНИЗМЫ ОБРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ В КЛЕТКАХ.....              | 75 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....                                               | 84 |

Учебное издание

**Мартинovich Григорий Григорьевич**

## **БИОФИЗИКА КЛЕТКИ**

**Конспект лекций  
для студентов специальности  
1-31 04 07 «Физика наноматериалов  
и нанотехнологий»**

В авторской редакции

Ответственный за выпуск *Т. В. Музыка*

Подписано в печать 26.04.2022. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.  
Усл. печ. л. 5,11. Уч.-изд. л. 5,02. 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.