

ИНСТИТУТ
ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ
ФИЗИКИ

А.С. ДАВЫДОВ

БИОЛОГИЯ И КВАНТОВАЯ МЕХАНИКА

«НАУКОВА ДУМКА»

Биология и квантовая механика / Давыдов А. С.— Киев : Наук. думка, 1979.— 296 с.

В монографии дано элементарное изложение основных свойств взаимодействий между атомами и молекулами и их взаимодействий с окружающей средой. Приведены краткие сведения о структуре белков и их биологических функциях, структуре ферментов и клеточных мембран. Кратко изложены основные представления о механизме фотосинтеза и передаче нервного импульса. Исследованы элементарные коллективные возбуждения в больших белковых молекулах, играющих важную роль в жизнедеятельности живых организмов. Развиваются представления о солитонах, переносящих энергию возбуждения вдоль белковых молекул. Анализируется устойчивость солитонов, объясняющая малую вероятность перехода их энергии в энергию беспорядочного теплового движения. Рассмотрены молекулярные механизмы сокращения мышц животных.

Предназначена для специалистов по физике и биологии, а также для преподавателей, аспирантов и студентов соответствующих факультетов. Ил. 69. Табл. 12. Список лит.: с. 282—291 (250 назв.).

Рецензенты

В. К. ЛИШКО, Э. Г. ПЕТРОВ

Редакция физико-математической литературы

Д $\frac{20402-313}{M221(04)-79}$ 184-79. 2007020000

© Издательство «Наукова думка», 1979

ПРЕДИСЛОВИЕ

Всесторонние и глубокие исследования биологических объектов на молекулярном уровне привели к тому, что в изучение биологических проблем вовлекается все большее число физиков. Однако успешному развитию биофизических исследований на молекулярном уровне все еще препятствует то, что физики, приступающие к таким исследованиям, плохо знакомы с биологическими явлениями.

Довольно сложная и специфическая терминология в значительной степени затрудняет чтение физиками оригинальных работ биологов, биохимиков и физиологов. С другой стороны, биологи обычно недостаточно знакомы с основами современных теоретических представлений в области квантовой молекулярной физики. Поэтому они не всегда понимают содержание оригинальных работ, в которых используется математический аппарат квантовой механики для описания модельных систем, относящихся к биологии. В связи с этим назрела необходимость появления книг обобщающего характера, написанных физиками, работающими в области биологии.

В последнее время появились хорошие книги М. В. Волькенштейна [12] и Л. А. Блюменфельда [10], в которых излагаются теоретические основы молекулярной биофизики и анализируются некоторые ее проблемы. Такие книги облегчают взаимопонимание физиков и биологов и способствуют более интенсивному развитию молекулярной биофизики.

В данной монографии делается попытка изложить некоторые вопросы биофизики на языке, доступном как физикам, не знающим биологии, так и биологам, не вполне владеющим математическим аппаратом современной квантовой механики.

В основу книги положено представление, что все своеобразие живых организмов, отличающее их от неживой природы, обусловлено особой организацией сложных молекулярных систем. В этих системах действуют те же элементарные законы, которые определяют свойства атомов и молекул, входящих в состав тел неживой природы. Поэтому изложению основных биологи-

ческих явлений предшествует элементарное описание взаимодействий атомов и молекул между собой и их взаимодействий с водной средой.

При описании строения белковых молекул, структуры и свойств ферментов и клеточных мембран, молекулярных основ фотосинтеза и передачи нервного импульса основное внимание уделено исследованиям элементарных коллективных возбуждений в больших белковых молекулах, играющих важную роль в жизнедеятельности живых организмов.

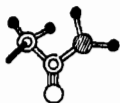
На основе оригинальных исследований автора с сотрудниками установлено, что в белковых молекулах при некоторых химических реакциях возникают элементарные коллективные возбуждения типа солитонов. Такие возбуждения перемещаются вдоль белковых молекул, перенося энергию возбуждения. Исключительной устойчивостью солитонов объясняется малая вероятность перехода их энергии в энергию беспорядочного теплового движения. Объяснение эффективности переноса энергии возбуждения вдоль белковых молекул — одна из центральных задач современной биоэнергетики.

Значительное место в книге уделено описанию молекулярного механизма сокращения мышц животных на основе гипотезы автора о роли солитонов в преобразовании химической энергии в механическое движение.

Автор выражает искреннюю благодарность доктору биологических наук В. К. Лишко и доктору физико-математических наук Э. Г. Петрову, прочитавшим рукопись и сделавшим ценные замечания.

Автор будет весьма удовлетворен, если эта книга заинтересует молодых исследователей и поможет им при самостоятельной работе в области молекулярной биофизики.

А. С. Давыдов



ГЛАВА

I

СВЯЗЬ БИОЛОГИИ И ФИЗИКИ

§ 1. Отличие живых организмов от неживой природы

Широкое внедрение физических методов исследования в биологию позволило изучать биологические явления на молекулярном уровне. Блестящими работами биохимиков, физиологов, биофизиков и кристаллографов установлены молекулярные структуры ряда важнейших биологических объектов. Например, выяснена структура дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — основного носителя наследственной информации, структура молекул миоглобина, запасующих кислород в мышцах животных, структура молекул гемоглобина, входящих в состав красных кровяных телец и переносящих кислород из легких к тканям, строение поперечнополосатых мышц и белковых молекул, входящих в их состав, структура некоторых ферментов, витаминов и ряда других важных биологических молекул.

Новые экспериментальные данные, полученные при исследовании биологических процессов на молекулярном уровне, поставили на повестку дня вопрос об их интерпретации. Поскольку все живые организмы построены из молекул и атомов, выяснение на молекулярном уровне механизма биопроцессов возможно только с помощью квантовой теории, успешно описывающей движение электронов и ядер, из которых состоят молекулы и атомы.

Тесная связь биологии и физики проявилась уже на ранних этапах развития естествознания. Однако наряду с материалистическим пониманием связи между физикой и биологией долгое время существовала глубоко ошибочная, антинаучная точка зрения, получившая название «витализм». Виталисты утверждали, что живое якобы отделено от неживого непроходимой пропастью и подчинено не природным закономерностям, а «жизненной силе» и поэтому непостижимо для человека.

Представления виталистов давно отвергнуты наукой. В настоящее время никто не сомневается в том, что жизнь есть особое

проявление физических и химических процессов, протекающих в сложных молекулярных системах, взаимодействующих с другими системами путем обмена энергией и веществом. Однако и сейчас некоторые ученые придерживаются мнения, что сложность биологических систем исключает возможность их истолкования на молекулярном уровне.

Следует, конечно, иметь в виду, что биологические объекты обладают рядом весьма своеобразных особенностей, отличающих их от тел неживой природы. К этим особенностям прежде всего относится самовоспроизводство и адаптация к изменяющимся внешним условиям, тончайшая регуляция и самосогласование всех биологических процессов, происходящих в живых системах и обеспечивающих их жизнедеятельность.

Молекулы, входящие в состав живых организмов, необычайно велики, многообразны и сложны. Самыми сложными и разнообразными из всех молекул, входящих в состав клеток, являются белковые молекулы. Их молекулярные массы варьируют от нескольких десятков тысяч до нескольких миллионов.

Величайшее разнообразие биологических организмов не означает чрезвычайного многообразия химических единиц, из которых они построены. Это разнообразие определяется многочисленными комбинациями одних и тех же соединений и атомных групп. Например, все белки состоят в основном из 20 остатков аминокислот. Молекулы ДНК строятся из четырех типов нуклеотидов.

При изучении тел неживой природы было установлено, что по мере усложнения атомных систем появляются новые качества. Понятия температуры, энтропии, звуковых волн и других элементарных коллективных возбуждений применимы к системе атомов и молекул, но неприменимы к одному атому.

Не может быть сомнения в том, что все своеобразие живых организмов, отличающее их от тел неживой природы, возникает в результате особой организации сложных молекулярных систем, в основе которых лежат те же элементарные законы, которые определяют свойства атомов и молекул и построенных из них тел неживой природы.

Рост, развитие и воспроизведение живых организмов связаны с разнообразными химическими реакциями. В их изучение значительный вклад внесла биохимия. Однако в биохимии главное внимание уделялось исследованию взаимодействия между атомами при непосредственном их соприкосновении. Как писал в 1957 г. лауреат Нобелевской премии Сент-Дьердьи [56], биохимия «все еще продолжает быть наукой Лукреция или Эпикура: буква — черта — буква». Биологические явления обусловлены более тонкими, слабыми, короткодействующими и далекодействующими силами (см. § 6). Они могут быть описаны только на языке кван-

товой механики, созданной в тридцатых и сороковых годах этого столетия на основе обобщения большого числа экспериментальных данных о свойствах атомов и молекул, их взаимодействиях между собой и с электромагнитным полем.

В настоящее время никто не отрицает применимость законов физики и химии к исследованию биологических явлений. Подавляющее большинство ученых согласны с тем, что все разнообразие проявления жизни в конечном счете можно объяснить на основании тех же физических и химических законов, которым подчиняются неживые системы. Однако некоторые придерживаются мнения, что требуется развитие новой, еще не созданной физики.

Конечно, квантовая физика не является застывшей наукой, она непрерывно развивается. Совершенствуются математические методы описания сложных молекулярных систем. Большую роль при этом играют исследования, основанные на использовании современных электронных счетных машин.

Основная задача теоретической биофизики в настоящее время состоит в теоретическом исследовании специфических особенностей, определяющих строение и свойства биологических молекул и простейших надмолекулярных структур. Успешному решению этих вопросов могут содействовать большие достижения в области экспериментальных исследований биологических явлений и теоретических исследований в области молекулярной физики и физики твердого тела.

Теоретическая биофизика должна учитывать существенное отличие биологических объектов от тел неживой природы. Все биологические объекты являются открытыми системами. Их жизнедеятельность возможна только при обмене с окружающей средой энергией и веществом. Основные процессы в живых организмах происходят при непрерывной затрате энергии. Эта энергия поставляется продуктами питания.

Если построение белков из аминокислот в клетках живых организмов требует затраты энергии, то их распад в водной среде клетки может происходить самопроизвольно с выделением энергии. По некоторым данным, период полураспада белков сердечной мышцы равен примерно 30 дням. Организм должен непрерывно заменять распадающиеся белковые молекулы новыми. Таким образом, все белки и, следовательно, все живые организмы находятся, как говорят физики, в метастабильном (неустойчивом) состоянии. Жизнь возможна только потому, что переход от такого неустойчивого состояния к устойчивому, соответствующему полному термодинамическому равновесию, требует очень большого времени.

§ 2. Возможность описания биологических явлений на молекулярном уровне

В настоящее время перед биофизикой стоит задача описания строения, свойств и функционирования простейших биологических систем: ферментов, структурных белков, клеточных и внутриклеточных мембран и органелл, входящих в состав клеток живых организмов. Особый интерес представляет выяснение вопросов хранения и эффективного использования химической энергии, извлекаемой из пищевых продуктов, для построения клеток и их биологической деятельности. Предполагается, что эти задачи могут быть решены на основе знания атомного состава основных биологических элементов при учете внутримолекулярных и межмолекулярных взаимодействий и вызываемых ими преобразований и конформационных изменений макромолекул, переносом энергии, электронов и протонов как вдоль молекул, так и между ними.

В неживой природе такие задачи решаются методами квантовой механики, статистической физики, равновесной и неравновесной термодинамики. С помощью квантовой механики обычно рассматриваются стационарные состояния идеализированных систем частиц и изменения состояний под влиянием внешних возмущений, представляющих действие внешних полей, которые можно полностью описать добавлением к гамильтониану (оператору энергии) соответствующих энергий взаимодействия системы с внешним полем. В таких случаях состояния систем называются «чистыми» [18] и описываются волновыми функциями, являющимися решениями уравнений Шредингера.

Однако полностью изолированных систем в природе нет. Все реальные системы являются частями больших систем, с которыми они взаимодействуют. Состояния реальных систем описываются не волновыми функциями, а статистическими операторами или матрицами плотности, учитывающими взаимодействие данной системы с ее окружением. В этом случае можно говорить только о средних значениях физических величин.

Если внешние условия постоянны (температура, давление и др.), то через некоторое время, называемое *временем релаксации*, устанавливается термодинамическое равновесие данной системы с окружающей средой.

В состоянии термодинамического равновесия средние значения физических величин, характеризующих систему, являются однозначными функциями параметров, определяющих внешние условия. В случае биологических систем, в которых происходят химические реакции, такими параметрами являются температура, давление, химический и электрохимический потенциалы и др.

Если интересоваться состояниями ферментов, структурных

белков, мембран и других биологических объектов в момент, когда они не выполняют «работы», т. е. не подвергаются быстрым, по сравнению с временем релаксации, воздействиям, то эти состояния близки к равновесным. В этих случаях их свойства с хорошим приближением описываются статистической теорией равновесных состояний.

Как известно, состояние системы, которая находится в термодинамическом равновесии с окружающей средой, имеет постоянную температуру и давление и может обмениваться с данной системой энергией, частицами и совершать работу при изменении объема, в квантовой статистической физике определяется статистическим оператором

$$\rho = \exp \left\{ \frac{G - H + \mu \hat{N} - PV}{\Theta} \right\}, \quad \Theta = kT, \quad (2.1)$$

где k — постоянная Больцмана; T — абсолютная температура; H — оператор энергии системы¹; $\hat{N}$ — оператор числа частиц; μ — химический потенциал; P — давление; V — объем системы; G — термодинамический потенциал Гиббса или гиббсовская свободная энергия.

Из условия нормировки

$$\text{Sp } \rho = 1 \quad (2.2)$$

находят явное выражение гиббсовской свободной энергии

$$G = -\Theta \ln \text{Sp} \left\{ \frac{\mu \hat{N} - H - PV}{\Theta} \right\}. \quad (2.3)$$

В выражениях (2.2) и (2.3) символ $\text{Sp } A$ (или $\text{Tr } A$) обозначает шпур(след) оператора A , т. е. сумму его диагональных матричных элементов. Таким образом, в более подробном написании равенства (2.2) и (2.3) имеют вид

$$\sum_i \langle i | \rho | i \rangle = 1, \quad (2.2a)$$

$$G = -\Theta \ln Z, \quad (2.3a)$$

где

$$Z \equiv \sum_i \langle i | e^{\mu \hat{N} - H - PV} | i \rangle, \quad (2.4)$$

¹ В биохимии энергия обычно измеряется в килокалориях на моль (ккал/моль). Одна килокалория соответствует энергии, необходимой для повышения температуры килограмма воды на один градус Цельсия (с 14,5 до 15,5° C). Моль соответствует количеству вещества в граммах, численно равному его молекулярной массе. В физике энергия обычно выражается в электронвольтах (эВ), эргах (эрг) или обратных сантиметрах (см⁻¹). Соотношение между этими единицами энергии следующее: 1 эВ = 1,602 × 10⁻¹² эрг = 8066,1 см⁻¹ = 23,05 ккал/моль.

и суммирование выполняется по всем возможным квантовым состояниям $|i\rangle$ системы.

Величина Z называется *суммой состояний*. Она характеризует все свойства системы. В самом деле, с помощью (2.1) средние значения энергии E , числа частиц N и объема V определяются выражениями

$$\begin{aligned} E &\equiv \langle H \rangle = \text{Sp} \{ \rho H \}, \\ N &\equiv \langle \hat{N} \rangle = \text{Sp} \{ \rho \hat{N} \}, \\ V &\equiv \langle \hat{V} \rangle = \text{Sp} \{ \rho V \}. \end{aligned} \quad (2.5)$$

Используя (2.3), можно преобразовать эти равенства к виду

$$E = - \Theta^2 \left[\frac{\partial}{\partial \Theta} \left(\frac{G}{\Theta} \right) \right]_{P, \mu}, \quad N = - \left[\frac{\partial G}{\partial \mu} \right]_{P, \Theta}, \quad V = \left[\frac{\partial G}{\partial P} \right]_{\mu, \Theta}. \quad (2.6)$$

Итак, для определения средних значений энергии, числа частиц и объема достаточно вычислить сумму состояний (2.4).

В статистической теории энтропия S системы определяется как среднее значение натурального логарифма матрицы плотности, умноженного на постоянную Больцмана k :

$$S = -k (\ln \rho) = -k \text{Sp} \{ \rho \ln \rho \}. \quad (2.7)$$

Подставляя в это равенство значение $\ln \rho$ из выражения (2.1) и учитывая (2.5), находим известное термодинамическое определение гиббсовской свободной энергии через средние значения энергии, числа частиц, объема и энтропию системы:

$$G = E - TS - \mu N + PV. \quad (2.8)$$

Для квазистатических процессов, т. е. процессов, протекающих достаточно медленно, так, что рассматриваемая система все время находится сколь угодно близко к состоянию равновесия, равенство (2.8) позволяет определить изменение гиббсовской свободной энергии ΔG при постоянных T , μ , P :

$$\Delta G = \Delta E - T \Delta S - \mu \Delta N + P \Delta V, \quad (2.9)$$

где ΔE — изменение внутренней энергии системы; $T \Delta S = Q$ — количество тепла, поступившего в систему из внешней среды; $P \Delta V$ — работа, совершаемая системой при увеличении объема V ; $-\mu \Delta N$ — работа, связанная с изменением числа частиц в системе (знак минус указывает, что для переноса частиц из системы в окружающую среду система должна совершить положительную работу).

При исследовании биологических систем все экстенсивные переменные, т. е. переменные, зависящие от размеров системы (E , G , S , V и др.), обычно относятся к одному молю. Следовательно, в (2.9) выражения ΔG , ΔE , ΔS и ΔV характеризуют изменения свободной гиббсовской энергии, внутренней энергии,

энтропии и объема одного моля рассматриваемой системы, а ΔN — изменение числа молей в системе. Если такие изменения совершаются при температуре 25°C и нормальном атмосферном давлении ($P = 1$ атм), то они называются стандартными и обозначаются нижним индексом 0:

$$\Delta G_0, \Delta E_0, \Delta S_0, \Delta N_0.$$

В биологических системах часто перемещаются не нейтральные частицы, а ионы заряда eZ ($Z = \pm 1, \pm 2, \dots$). В этом случае перенос частиц непосредственно связан и с переносом электрического заряда.

При переносе электрического заряда Δq из системы с электрическим потенциалом $U_{\text{вн}}$ во внешнюю среду с потенциалом $U_{\text{сн}}$ система совершает работу

$$\Delta W_{\text{эл}} = \Delta q (U_{\text{сн}} - U_{\text{вн}}). \quad (2.10)$$

Если учесть, что заряд одного моля ионов равен ZeN_0 ($N_0 = 6 \times 10^{23}$), то при перемещении ΔN молей $\Delta q = [U_{\text{сн}} - U_{\text{вн}}] ZF$, где $F = eN_0 = 96\,500$ Кл — число Фарадея. Таким образом, (2.10) преобразуется к виду

$$\Delta W_{\text{эл}} = ZF [U_{\text{сн}} - U_{\text{вн}}] \Delta N.$$

Объединяя это выражение с работой $-\mu \Delta N$ по переносу нейтральных частиц, получаем общее выражение работы переноса ионов

$$-\tilde{\mu} \Delta N, \quad (2.11)$$

где

$$\tilde{\mu} = \mu + ZF [U_{\text{вн}} - U_{\text{сн}}] \quad (2.12)$$

— *электрохимический потенциал*. Итак, электрохимический потенциал характеризует изменение свободной гиббсовской энергии на один моль добавляемого к системе заряженного вещества.

Из равенства (2.9), определяющего изменение свободной энергии Гиббса системы нейтральных частиц, находящейся при постоянном давлении и температуре, можно получить соответствующее равенство для системы заряженных частиц простой заменой химического потенциала μ электрохимическим потенциалом $\tilde{\mu}$. Следовательно, изменение свободной энергии заряженных частиц записывается в виде

$$\Delta G = \Delta E - T \Delta S - \tilde{\mu} \Delta N + P \Delta V. \quad (2.13)$$

Рассмотрим систему ионов, находящихся в растворе при постоянных давлении и температуре, разделенную полупроницаемой перегородкой на две подсистемы: 1 и 2. При изменении числа ионов в каждой подсистеме изменение свободной энергии

Гиббса, согласно (2.13), определяется выражением

$$\Delta G = \sum_{\alpha} (\tilde{\mu}_{1\alpha} \Delta N_{1\alpha} + \tilde{\mu}_{2\alpha} \Delta N_{2\alpha}), \quad (2.14)$$

где $\tilde{\mu}_{1\alpha}$ и $\tilde{\mu}_{2\alpha}$ — электрохимические потенциалы ионов типа α в подсистемах 1 и 2.

При равновесии в условиях постоянных температуры и давления свободная энергия Гиббса имеет минимальное значение. Следовательно, должно выполняться равенство

$$\sum_{\alpha} (\tilde{\mu}_{1\alpha} \Delta N_{1\alpha} + \tilde{\mu}_{2\alpha} \Delta N_{2\alpha}) = 0. \quad (2.15)$$

Если в системе не происходят химические реакции, то количество ионов каждого сорта сохраняется: $N_{1\alpha} + N_{2\alpha} = \text{const.}$ В этом случае равенство (2.15) выполняется при условии

$$\tilde{\mu}_{1\alpha} = \tilde{\mu}_{2\alpha}. \quad (2.16)$$

Таким образом, условием равновесия двух подсистем, разделенных полупроницаемой перегородкой, является равенство электрохимических потенциалов ионов каждого типа в обеих подсистемах.

Все предыдущие соотношения относились либо к равновесным состояниям, либо к весьма медленно меняющимся по сравнению с временами релаксации процессам, при которых в каждый момент времени систему можно считать равновесной.

При исследовании биологических систем приходится учитывать их большую неоднородность. В отличие от однородных систем, биологические системы имеют не одно, а много времен релаксации. Поэтому вопрос о применимости квазиравновесных представлений следует рассматривать независимо для каждого процесса.

Хотя реальные процессы протекают с конечной скоростью, при их термодинамическом описании приходится предположить, что они протекают бесконечно медленно. Поступая так, мы практически отказываемся от временного описания событий. Естественно, что скорости протекания биологических процессов и взаимодействия между ними должны играть большую роль в любых проявлениях жизни. Живые организмы неравновесны, и эта неравновесность поддерживается поступающей извне энергией и веществом.

Неравновесные процессы переноса энергии, количества движения, массы и заряда в газах, жидкостях и твердых телах изучаются статистической термодинамикой необратимых процессов с помощью методов статистической физики. Неравновесная

термодинамика возникла в связи с необходимостью изучения ряда термоэлектрических явлений (работы Онзагера 1931 г.). Развитые Онзагером и другими учеными методы неравновесной термодинамики оказались весьма полезными при исследовании разных явлений переноса. С помощью неравновесной термодинамики удастся описать кинетику химических реакций в однородной среде.

Неравновесные состояния в биологических системах возникают при действии на систему или ее часть внешних возмущений (химические реакции, приводящие к перестройке молекул, изменение электрохимического потенциала и др.). Такие кратковременные возмущения создают неравновесные состояния, стремящиеся далее к равновесным.

Хотя вопросу о возможности использования результатов неравновесной термодинамики в биологии посвящено много работ, они не привели к существенным практическим результатам. Основная трудность состоит в том, что биологические системы пространственно неоднородны. Вторым важным осложняющим обстоятельством является наличие механизма обратной связи между реакциями и процессами разного типа.

Иногда говорят, что обычная термодинамика и статистическая физика не применимы к открытым системам, к которым относятся биологические объекты. Это недоразумение. Трудности связаны с неоднородностью систем, а не с их «открытостью». Статистическая физика рассматривает равновесные состояния малых систем, обменивающихся энергией, частицами, зарядами и т. п. с большой внешней системой, находящейся при определенных постоянных условиях (температура, давление и т. д.).

Свободная гиббсовская энергия G , внутренняя энергия E и энтропия являются функциями равновесных состояний. Наиболее существенным свойством функций состояния является то, что их изменение при переходе системы из одного равновесного состояния в другое не зависит от того, по какому пути протекает процесс.

Все биологические молекулы и надмолекулярные структуры функционируют в водной среде, взаимодействие с которой часто играет решающую роль. Поэтому, рассматривая химические преобразования молекул и других биологических структур, необходимо учитывать и их водное окружение. Иными словами, говоря о молекулах и молекулярных структурах, мы всегда будем подразумевать и их водное окружение.

При оценке результатов химических реакций достаточно знать только начальное и конечное состояния системы. Если эти состояния близки к равновесным, то происходящие изменения функций состояния ($G, E, S, \dots$) будут определяться выражениями типа (2.8) независимо от того, через какие промежуточные стадии такие

изменения проходят. Однако при таких оценках мы ничего не можем сказать о скорости изменения и механизме происходящих явлений.

Все процессы, протекающие в живых организмах, относятся, строго говоря, к необратимым процессам. При этом суммарная энтропия системы и окружающей среды всегда возрастает, достигая максимального значения при наступлении равновесия. Закон возрастания энтропии относится именно к сумме энтропий системы и внешней среды. Энтропия системы может и уменьшаться, если это уменьшение компенсируется большим увеличением энтропии окружающей среды.

Во всех необратимых процессах, протекающих при постоянных температуре и давлении, уменьшается гиббсовская свободная энергия. Она достигает минимального значения при наступлении термодинамического равновесия. Этот важный результат второго начала термодинамики позволяет определять направление протекания процесса между двумя квазиравновесными состояниями. Поскольку гиббсовская свободная энергия является функцией состояния, ее изменение между двумя квазиравновесными состояниями будет иметь одинаковое значение как в случае обратимых, так и в случае необратимых процессов.

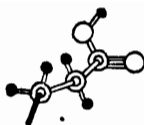
Термодинамика и статистическая физика, определяя направление протекания процессов, не выясняют скорости их протекания и молекулярного механизма. Последнее можно сделать только на основе динамических теорий. В связи с очень большим числом степеней свободы даже простейших биологических систем, казалось бы, их динамическое описание практически не осуществимо даже при использовании современных вычислительных машин. Некоторые физики и биологи придерживаются такого пессимистического мнения. К счастью, для этого пессимизма мало оснований.

Многие жизненно важные процессы связаны с изменением выделенных (обычно коллективных) степеней свободы, характеризующихся большим временем релаксации, из-за слабой связи с другими степенями свободы системы. Изменение этой степени свободы относится к существенно неравновесному процессу. Оно должно описываться только динамическими законами квантовой или классической физики. В неживой природе хорошим примером таких неравновесных возбуждений являются звуковые волны в газовой, жидкой и твердой среде. В жидкой и твердой среде типичные времена релаксации порядка 10^{-12} — 10^{-13} с. Однако звуковые волны переносят энергию (сигнал) на большие расстояния (километры), почти не передавая ее другим степеням свободы, связанным с беспорядочным тепловым движением молекул. Именно возможность выделения таких слабoreлаксирующих элементарных возбуждений (фононы, экситоны, плазмоны и др.) позво-

лила объяснить огромное число экспериментальных фактов в твердых телах и других системах.

Несомненно, что эффективное использование химической энергии пищевых продуктов живыми организмами для сокращения мышц, создания градиентов концентрации, переноса нервного импульса, синтеза белков и т. д., связано с возбуждением особых слаборелаксирующих степеней свободы¹. Одной из задач молекулярной биофизики является выяснение основных свойств таких возбуждений и механизма их работы. В последующих главах будут рассмотрены некоторые возбуждения этого типа.

¹ Важность выделения медленнорелаксирующих степеней свободы в биологии отмечалась также Л. А. Блюменфельдом [10].



ГЛАВА

II

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АТОМОВ В МОЛЕКУЛАХ И МОЛЕКУЛ МЕЖДУ СОБОЙ

§ 3. Химические элементы жизни

Из известных физикам четырех типов взаимодействий (ядерное, или «сильное», электромагнитное, «слабое» и гравитационное) только электромагнитное взаимодействие ответственно за электронное строение атомов и молекул и взаимодействия между ними.

Ядерное и «слабое» взаимодействия обладают очень малым радиусом действия: соответственно 10^{-13} и 10^{-14} см. На характерных для молекулярных систем расстояниях (примерно 10^{-8} см) их действие не проявляется. Ядерные силы определяют свойства атомных ядер, имеющих размеры приблизительно 10^{-13} см и состоящих из протонов и нейтронов. «Слабые» взаимодействия характеризуют процессы взаимопревращений протонов и нейтронов и других элементарных частиц. Они слабее ядерных примерно в 10^{12} раз.

Энергия гравитационного взаимодействия двух тел так же, как и электромагнитных взаимодействий тел, имеющих электрические заряды, убывает обратно пропорционально расстоянию между ними. Величина гравитационного взаимодействия пропорциональна произведению масс взаимодействующих тел. Однако коэффициент пропорциональности G имеет исключительно малое значение (приблизительно $6,67 \cdot 10^{-8}$ см³/г · с²). Поэтому гравитационное взаимодействие существенно, когда в нем участвуют тела очень большой массы (притяжение тел к Земле, взаимодействие планет и Солнца, взаимодействие между звездами и галактиками). Так, притяжение Луны к Земле равно $2 \cdot 10^{16}$ т. Вследствие малой массы гравитационное взаимодействие между отдельными атомами и молекулами ничтожно мало. Например, отношение гравитационного притяжения между электронами к их электростатическому отталкиванию равно $2,5 \cdot 10^{-43}$. Гравитационное притяжение электрона к протону в атоме водорода составляет только $8 \cdot 10^{-37}$ часть их кулоновского взаимодействия.

Движущиеся электрические заряды кроме электрического поля создают магнитное поле, которое действует на другие движущиеся заряды. При этом отношение магнитного взаимодействия к электростатическому пропорционально квадрату отношения их относительной скорости v к скорости света c . В атомах и молекулах это отношение очень мало, поэтому главное значение имеет электростатическое взаимодействие.

Кроме электрического заряда электроны и некоторые атомные ядра обладают малыми магнитными моментами. Прямое магнитное взаимодействие между этими магнитными моментами также составляет ничтожную долю электростатического взаимодействия. Более существенное значение имеет спин (механический момент) электронов. Характер движения электронов и, следовательно, среднее электростатическое взаимодействие между ними зависит от относительной ориентации их спинов.

Основными элементарными единицами, из которых строятся все живые организмы, являются атомы и молекулы. Атомы и молекулы, в свою очередь, состоят из отрицательно заряженных электронов и положительно заряженных атомных ядер, между которыми действуют электрические силы.

Молекулы, входящие в состав живых организмов (белки, нуклеиновые кислоты и др.), отличаются от молекул неживой природы прежде всего большими размерами. Например, относительная молекулярная масса молекулы миозина, входящей в состав мышечных волокон, достигает 500 000 а. е. м. Шесть легких элементов периодической системы Менделеева — водород (^1H), углерод (^{12}C), азот (^{14}N), кислород (^{16}O), фосфор (^{31}P) и сера (^{32}S) — играют совершенно исключительную роль в биологических системах¹.

Из атомов элементов H, C, O строятся углеводы и липиды, входящие в состав клеточных и внутриклеточных мембран. В состав белков входят H, C, O, N, S. В состав нуклеиновых кислот — H, C, O, N, P. Фосфор входит также в состав жизненно важных молекул, переносящих энергию в биологических системах.

Кроме указанных выше элементов, составляющих основу живой материи, в живых организмах играет существенную роль небольшое количество положительных (катионы) и отрицательных (анионы) ионов атомов других элементов. К таким элементам прежде всего относится кальций (^{40}Ca), составляющий около 2% веса человеческого тела, а также калий ($^{39}\text{K} \sim 0,35\%$), натрий ($^{23}\text{Na} \sim 0,1\%$), магний ($^{24}\text{Mg} \sim 0,06\%$). Они играют исключительную роль при регулировании мембранной и мышечной активности, проводимости нервного импульса и в других явлениях. Другие

¹ Верхним индексом у химического символа элемента обозначен электрический заряд ядра атома в единицах заряда протона.

катионы — железо (^{56}Fe), медь (^{63}Cu), цинк (^{65}Zn), кобальт (^{59}Co), марганец (^{55}Mn), молибден (^{98}Mo) — содержатся в ничтожных количествах (менее 0,001%). Но и они играют большую роль как активаторы многих ферментов. Некоторые из них входят в состав очень важных комплексов. Например, железо входит в состав гемоглобина и цитохромов, магний — в состав хлорофилла, кобальт — в состав витамина B_{12} .

Из простых анионов важнейшую роль играет хлор — он является составной частью всех биологических растворов. Ничтожные количества йода, брома и фтора также необходимы живым организмам.

§ 4. Электронное строение основных атомов биомолекул

Все атомы состоят из электронов и положительно заряженных атомных ядер. Электрический заряд ядра определяется числом протонов, входящих в его состав. В нейтральном атоме число электронов равно числу Z протонов. Средний радиус атома порядка 10^{-8} см, радиус ядра в сто тысяч раз меньше. Масса ядра в десятки тысяч раз превышает массу всех электронов атома. Электроны движутся в кулоновском поле ядра атома

$$U(r) = -Ze^2/r.$$

Между каждой парой электронов, находящихся на расстоянии r , действуют электрические силы отталкивания

$$U_{12}(r) = e^2/r.$$

Движение электронов в атоме управляется законами квантовой механики. Легчайший атом — атом водорода — состоит только из протона и электрона. Стационарные (не зависящие от времени) движения электрона в кулоновском поле протона определяются уравнением Шредингера

$$\left(-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 - \frac{e^2}{r}\right) \Psi(x, y, z) = E\Psi(x, y, z), \quad (4.1)$$

где

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}; \quad r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2},$$

m — масса электрона; e — заряд протона. Решения $\Psi(x, y, z)$ уравнения (4.1) хорошо изучены [18, 69]. Они определяют возможные значения энергии стационарных состояний движения электрона в атоме и среднее распределение плотности отрицательного электрического заряда в атоме в этих состояниях:

$$\rho(x, y, z) = e |\Psi(x, y, z)|^2. \quad (4.2)$$

Энергия стационарных состояний атома водорода

$$E_n = -E_a/2n^2 \quad (4.3)$$

зависит только от одного квантового числа n , принимающего целые значения 1, 2, ... Здесь $E_a = me^4/\hbar^2 \approx 27,21$ эВ — атомная единица энергии; $\hbar = 1,054 \cdot 10^{-27}$ эрг · с.

Отрицательный знак энергии в формуле (4.3) обусловлен особым выбором начала отсчета потенциальной энергии взаимодействия электрона и ядра атома. Абсолютная величина E_n определяет энергию, которую необходимо сообщить электрону, чтобы перевести его из данного состояния в бесконечность. Эта энергия называется энергией ионизации атома.

Каждому энергетическому состоянию (4.3) соответствуют волновые функции, имеющие в сферической системе координат вид

$$\Psi_{n,l,m}(r, \theta, \varphi) = \mathcal{R}_{nl}(r) Y_{lm}(\theta, \varphi). \quad (4.4)$$

При фиксированном значении n квантовые числа l и m имеют соответственно значения $l = 0, 1, \dots$; $m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \pm l$. Согласно (4.4) и (4.2), сферические функции $|Y_{lm}|^2$ характеризуют угловую зависимость распределения отрицательного электрического заряда в атоме водорода; $\rho(r, \theta)$ не зависит от угла φ и знака квантового числа m . Значения $l = 0, 1, 2, \dots$ принято обозначать соответственно малыми латинскими буквами $s, p, d, f, g, \dots$

В табл. 1 и 2 приведены функции $\mathcal{R}_{nl}(r)$ и $|Y_{lm}|^2$, характеризующие радиальную зависимость волновых функций (4.4) первых состояний в атоме водорода и угловое распределение электрического заряда; $a_0 = \hbar^2/me^2 = 5,292 \cdot 10^{-9}$ см — атомная единица длины (боровский радиус). Основному состоянию атома водорода соответствуют квантовые числа $n = 0, l = 0$. Это состояние кратко обозначается символом $1s$. Его энергия равна $-E_a/2$. Распределение заряда в этом состоянии, согласно данным табл. 2, сферически симметрично. Среднее значение электрического заряда в сфере радиуса r и толщины dr , согласно (4.2) и (4.4), определяется выражением

$$W(r) dr = 4\pi r^2 \rho(r) dr = e \left(\frac{r}{a_0} \right)^2 \exp \left(-\frac{2r}{a_0} \right) d \left(\frac{r}{a_0} \right),$$

из которого следует, что максимальный заряд находится на расстоянии $r = a_0$ от центра атома. Величина заряда экспоненциально уменьшается при возрастании $r \geq a_0$. Поэтому значение $r = a_0$ условно характеризует размер атома водорода в основном состоянии.

Первое возбужденное состояние атома водорода с энергией $E_2 = -E_a/8$

Таблица 1

Функция	Значение функции в атоме водорода
$\mathcal{R}_{10}(r)$	$2a_0^{-3/2} \exp(-r/a_0)$
$\mathcal{R}_{20}(r)$	$(2a_0)^{-3/2} (2 - r/a_0) \exp(-r/2a_0)$
$\mathcal{R}_{21}(r)$	$(2a_0)^{-3/2} (r/a_0 \sqrt{3}) \exp(-r/2a_0)$

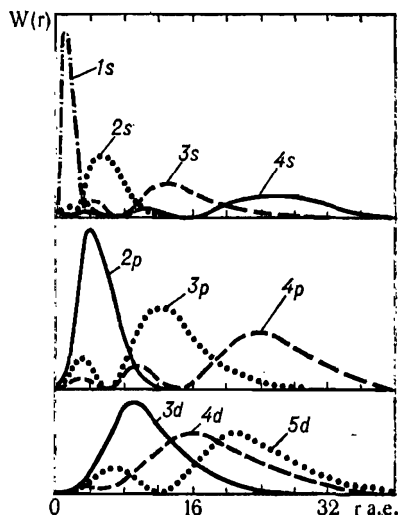


Рис. 1.

Среднее значение плотности $W(r)$ электрического заряда в атоме водорода в сферическом слое единичной толщины в зависимости от радиуса (по вертикальной оси отложены условные единицы).

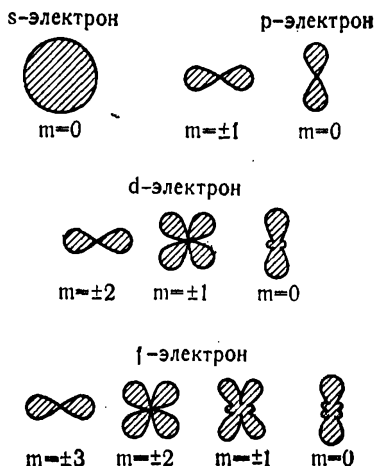


Рис. 2.

Угловое распределение средней плотности электрического заряда в атоме водорода в состояниях s , p , d и f .

характеризуется четырьмя волновыми функциями: одна функция Ψ_{200} для s -состояния и три функции Ψ_{210} , Ψ_{211} , $\Psi_{21,-1}$ для p -расстояний¹. Распределение электрического заряда в свободном атоме не зависит от знака квантового числа m . На рис. 1 и 2 изображены функции $W(r)$ и $|Y_{lm}|^2$ для первых стационарных состояний атома водорода.

Стационарные состояния атомов с Z -электронами определяются уравнением Шредингера в $3Z$ -мерном пространстве:

$$\left\{ \sum_{i=1}^Z \left[-\frac{\hbar^2}{2m} \nabla_i^2 + U(r_i) + \sum_{j<i} U_{ij}(r_{ij}) \right] - E \right\} \Psi(r_1, r_2, \dots) = 0.$$

Это уравнение не удается решить даже численными методами. Поэтому используют приближенные методы вычисления энергий и волновых функций. Наибольшее распространение получил так называемый метод самосогласованного поля (поле Хартри —

¹ При учете спина и магнитного момента электрона проявляются слабые магнитные взаимодействия (спин-орбитальное и релятивистские поправки), которые приводят к расщеплению уровней E_{2s} и E_{2p} . Однако это расщепление (тонкая структура) весьма мало: $e^2/32 \hbar c \approx 1,6 \cdot 10^{-6} E_a$.

Фока), идея которого сводится к тому, что каждый электрон в атоме рассматривается как движущийся в «самосогласованном поле» $U(r)$, создаваемом ядром вместе со всеми остальными электронами. Таким образом, удается найти приближенные энергетические состояния и волновые функции отдельных электронов в атоме.

Самосогласованное поле $U(r)$ можно считать сферически симметричным. В этом приближении радиальная часть $\mathcal{R}_{nl}(r)$ волновой функции $|nlm\rangle \equiv \mathcal{R}_{nl}(r) Y(\theta, \varphi)$ связанных одноэлектронных состояний будет удовлетворять уравнению

$$\left\{ \frac{d^2}{dr^2} + \frac{2m}{r} [E_{nl} + U(r)] - \frac{l(l+1)}{r^2} \right\} \mathcal{R}_{nl}(r) = 0, \quad (4.5)$$

где $E_{nl} = -\epsilon_{nl}$; ϵ_{nl} — положительная энергия связи электрона в атоме. Самосогласованное поле является сложной функцией радиуса r , поэтому одноэлектронные энергии E_{nl} зависят от двух квантовых чисел: n и l .

На больших расстояниях $U(r) = 0$, и решение уравнения (4.5) имеет асимптотический вид:

$$\mathcal{R}_{nl}(r) = A \exp(-r/a_{nl}), \quad (4.6)$$

где $a_{nl} = \hbar/\sqrt{2m\epsilon_{nl}}$; если ϵ_{nl} выражено в электронвольтах.

Таблица 2

	Угловое распределение электрического заряда в атоме водорода		
	$m = 0$	$m = \pm 1$	$m = \pm 2$
0 (s-состояние)	$\frac{1}{4\pi}$	—	—
1 (p-состояние)	$\frac{3}{4\pi} \cos^2 \theta$	$\frac{3}{8\pi} \sin^2 \theta$	—
2 (d-состояние)	$\frac{5}{16\pi} [3 \cos^2 \theta - 1]^2$	$\frac{42}{24\pi} \sin^2 \theta \cos^2 \theta$	$\frac{45}{96\pi} \sin^4 \theta$

Таблица 3

Номер оболочки	Квантовое состояние оболочки атома	Число состояний в оболочке	Номер оболочки	Квантовое состояние оболочки атома	Число состояний в оболочке
I	1s	2	IV	3d, 4s, 4p	18
II	2s, 2p	8	V	4d, 5s, 5p	18
III	3s, 3p	8	VI	4f, 5d, 6s, 6p	32

то

$$a_{nl} = \frac{1,95}{\sqrt{\epsilon_{nl}}} 10^{-8} \text{ см.} \quad (4.7)$$

Следовательно, чем меньше энергия связи электрона в атоме, тем на большем расстоянии от центра атома отлична от нуля его волновая функция.

Поскольку все электроны абсолютно одинаковы и их спины равны $1/2$, они удовлетворяют принципу Паули, согласно которому ни в одном из квантовых состояний $|nlm\rangle$ не может находиться больше двух электронов с противоположными спинами.

Одноэлектронные энергетические состояния атома можно объединить в группы, включающие состояния с близкими энергиями. Такие группы состояний принято называть *электронными оболочками*. В табл. 3 указаны состояния шести атомных оболочек в порядке возрастания энергии. Число квантовых состояний в каждой оболочке определяется с учетом того, что состояния типа s ($l=0$) однократны (синглетны), состояния типа p ($l=1$) трехкратны (триплетны), состояния типа d ($l=2$) пятикратны (квинтетны), состояния типа f ($l=3$) семикратны (септетны). При учете спиновых состояний общее число состояний удваивается.

В соответствии с принципом Паули, первая электронная оболочка заполняется двумя электронами в основном состоянии атома He. Это состояние кратко записывается $(1s)^2$ и называется *электронной конфигурацией* атома. В основном состоянии атома лития два электрона заполняют первую оболочку, а третий попадает во вторую. Следовательно, электронная конфигурация атома лития $(1s)^2 (2s)^1$. В атомах инертных газов полностью заполнены первые оболочки и пусты остальные. Например, электронная конфигурация ^{10}Ne : $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6$; ^{18}Ar : $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^2 (3p)^6$.

Электронные конфигурации основных состояний атомов шести элементов, входящих в состав биомолекул, имеют следующий вид: водород — $(1s)^1$, углерод — $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^2$, азот — $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^3$, кислород — $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^4$, фосфор — $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^2 (3p)^3$, сера — $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^2 (3p)^4$.

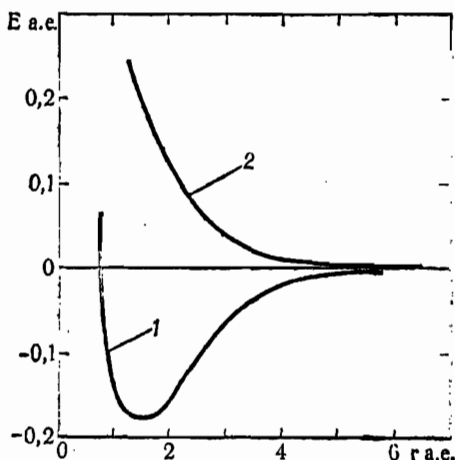
§ 5. Взаимодействие между атомами

5.1. Локализованные химические связи

Законы взаимодействия между атомами и молекулами, в частности химические силы, приводящие к образованию молекул, объяснила только квантовая механика.

Вследствие того что массы ядер в десятки тысяч раз превышают массы электронов, при теоретическом исследовании систем, состоящих из нескольких ядер и электронов, в первом приближении можно не учитывать движения ядер. Такое приближение назы-

Рис. 3.
Зависимость энергии взаимодействия двух атомов водорода от расстояния между ними:
1 и 2 — антипараллельные и параллельные спины электронов.



вается *адиабатическим*. В адиабатическом приближении энергия системы изображается функцией $U(R_1, R_2, \dots)$ от мгновенного пространственного расположения ядер атомов. Эта функция является эффективной потенциальной энергией, определяющей движение ядер атомов.

При нулевой температуре ядра совершают малые (нулевые) колебания около равновесных положений, соответствующих минимуму функции $U(R_1, R_2, \dots)$. В молекулах H_2 и O_2 энергия нулевых колебаний приблизительно равна соответственно 0,26 эВ и 0,09 эВ.

Простейшей молекулярной системой является система, состоящая из двух атомов водорода. Теоретическое исследование такой системы впервые было проведено в 1927 г. Гайтлером и Лондоном [147]. Этот год теперь считается годом начала развития квантовой химии. Здесь мы приведем только основные результаты теоретического исследования, детали которого излагаются в курсах квантовой механики (см., например, [18]).

Химическая валентность. В системе, содержащей два электрона, их спины могут быть либо параллельны, либо антипараллельны. Если спины взаимодействующих атомов водорода параллельны, то атомы отталкиваются друг от друга; их энергия взаимодействия как функция взаимного расстояния между ядрами представлена кривой 2 на рис. 3. Если спины электронов антипараллельны, то на расстояниях, превышающих 0,7 Å, между атомами действует притяжение, а на меньших расстояниях — резкое отталкивание. Минимум потенциальной энергии соответствует расстоянию 0,74 Å.

Оба упомянутых выше типа взаимодействия являются результатом проявления обычных кулоновских сил между электронами и

ядрами двух атомов водорода. Качественно это можно объяснить следующим образом. Если спины электронов параллельны, то при сближении атомов характер движения их электронов меняется так, что они с малой вероятностью попадают в пространство между ядрами (электроны с параллельными спинами не могут находиться в одном состоянии). Ядра как бы «оголяются» от экранирующих электронных оболочек со сторон, обращенных друг к другу. При этом суммарные силы взаимодействия между электронами и ядрами сводятся к отталкиванию. Если же спины электронов антипараллельны, то при сближении атомов характер движения электронов изменяется так, что они большую часть времени проводят в пространстве между ядрами. Кулоновское взаимодействие между «облаком» отрицательных электронов и положительным зарядом ядра приводит к притяжению.

Говорят, что в этом случае в пространстве между атомами волновые функции электронов, участвующих в химической связи, сильно перекрываются и наступает корреляция в их движении. Волновые функции электронов экспоненциально уменьшаются на расстояниях, превышающих размеры атомов (см. (4.6)), поэтому уменьшается экспоненциально и плотность электрического заряда электронов в области перекрывания функций в пространстве между ядрами. Следствием этого является экспоненциальное уменьшение химических сил при возрастании расстояния между атомами.

Указанное выше «перекрывание» волновых функций в пространстве между ядрами атомов не является простым наложением волновых функций свободных атомов. При образовании химической связи эти функции существенно деформируются, теряют сферическую симметрию и в значительной степени «втягиваются» в пространство между ядрами. Однако такое «втягивание» возможно только на расстояниях, превышающих удвоенный боровский радиус. При дальнейшем сближении ядер электроны не смогут попадать в пространство между ними, а будут двигаться в основном вне его. Это приведет к быстрому нарастанию сил отталкивания между атомами при дальнейшем их сближении.

Указанные выше изменения характера движения электронов при сближении атомов водорода являются следствием принципа Паули. При проведении количественных теоретических расчетов энергии взаимодействия между атомами принцип Паули выражается в требовании определенной симметрии функций, описывающих движение двух электронов относительно взаимной их перестановки. При параллельной ориентации спинов функция должна быть антисимметричной относительно такой перестановки (следовательно, равной нулю в центре расстояния между ядрами), а при антипараллельной — симметричной.

Взаимодействие, обусловленное корреляцией (согласованием) движения электронов, возникающей из-за определенной симметрии волновых функций относительно перестановки электронов, называют *обменным взаимодействием*. Это название не следует понимать в буквальном смысле. Обменное взаимодействие электронов не связано с реальным перескоком (обменом) электронов с одного атома на другой. Оно лишь отражает особую корреляцию в движении двух электронов. Когда их спины антипараллельны, они большую часть времени проводят между ядрами (обменное взаимодействие отрицательно); при параллельной ориентации спинов электроны «выталкиваются» из межядерного пространства (обменное взаимодействие положительно).

Итак, образование молекулы водорода возможно при встрече двух атомов водорода, имеющих антипараллельные спины (суммарный спин равен нулю). Кратко говорят, что химическая связь в молекуле водорода обусловлена спариванием электронов с противоположными спинами. Такие химические силы называют *ковалентными* или *гомеополярными*. Если два электрона спарены, то они не могут образовать новой химической связи, так как спин внешнего электрона будет всегда параллелен спину одного из «спаренных» электронов. Говорят, что химические связи обладают насыщением. Есть молекула H_2 , но нет молекулы H_3 .

Суммарный спин электронов основных состояний атомов инертных газов равен нулю, так как все электроны спарены (в каждом состоянии по два электрона). Такие атомы не вступают в химические связи друг с другом, так как взаимодействие любой пары спаренных электронов атома с электронами другого атома всегда приводит к отталкиванию.

Задача вычисления химической связи между атомами с многими электронами требует учета изменения характера движения всех электронов в атомах при их сближении. Эта задача значительно упрощается, если учесть, что такое изменение существенно затрагивает только наиболее слабо связанные электроны во внешних оболочках атомов. Электроны, входящие в состав заполненных оболочек, практически в образовании химической связи не участвуют. Электроны, участвующие в образовании химической связи, называются *валентными*.

Итак, электроны любого атома, в каждом его квантовом состоянии, можно разделить на две группы: валентные («неспаренные») электроны внешних электронных оболочек, занимающие «координатные состояния» по одному¹, и все остальные спаренные электроны, не участвующие прямо в образовании ковалентной химической связи.

¹ Строго говоря, электроны абсолютно неразличимы, поэтому нельзя сказать, какой электрон атома валентный. Можно лишь говорить о том, что в валентном состоянии находится то или иное число электронов.

Число внешних неспаренных электронов в данном состоянии атома определяет его химическую валентность. Валентность атома зависит от квантового состояния. Например, при возбуждении атома инертного газа, связанном с переходом электрона из заполненной оболочки в незаполненную (для этого необходима энергия примерно 10–20 эВ), он переходит в валентное состояние.

Ковалентная связь между одинаковыми атомами сохраняет симметрию распределения электрических зарядов относительно центра молекулы. При ковалентной связи между разными атомами максимальная плотность распределения электронного заряда смещается к одному из ядер атомов. В результате такого несимметричного смещения зарядов молекула приобретает электрический дипольный момент. Дипольный момент равен произведению заряда электрона ($4,8 \cdot 10^{-10}$ в системе СГСЭ) на некоторую долю длины химической связи $\alpha \cdot 10^{-8}$ см. Измеряется дипольный момент в единицах, получивших название дебай. В системе СГСЭ такая единица обозначается буквой D и равна 10^{-18} . О чисто ковалентной связи обычно говорят, когда дипольный момент связи не превышает 0,1D.

В некоторых случаях при образовании молекулы происходит столь значительное смещение электронов, что образуются ионы, имеющие устойчивую электронную конфигурацию, близкую к конфигурации атомов инертных газов. В этом случае химическая связь приобретает чисто ионный, или *гетерополярный* характер. Атомы металлов обычно образуют положительные ионы, отдавая электроны атомам металлоидов. Валентность атома в молекуле с ионными связями определяется числом электронов, которые он отдает (положительная валентность) другим атомам молекулы или приобретает от них (отрицательная валентность). Хотя такая перестройка электронных оболочек требует энергии, эта энергия компенсируется энергией, выделяемой при образовании связи атомов в молекуле. Чисто ионные связи характеризуются большими дипольными моментами ($> 1D$). Дипольные моменты молекул HCl и HF соответственно равны 1,03D и 2D. Обычно химические связи между атомами занимают промежуточное положение между чисто ионными и ковалентными.

Направленные валентности атомов. На основании анализа экспериментальных данных русский химик А. М. Бутлеров в 1861 г. ввел понятие о химической структуре молекулы, т. е. об определенном пространственном расположении атомов в молекуле. Квантовая механика дает простое объяснение направленных валентностей атомов с двумя и большим числом электронов.

Рассмотрим валентные состояния атомов, наиболее часто встречающихся в биомолекулах.

Атом азота в основном состоянии имеет конфигурацию $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^3$. Четыре электрона в состояниях $1s$ и $2s$ спарены

и не участвуют в химических связях. Подоболочка $2p$ имеет три разных координатных состояния: p_x , p_y , p_z . Три валентных электрона атома азота занимают по одному эти состояния. Угловые распределения плотностей электронов в этих состояниях определяются квадратами волновых функций:

$$\begin{aligned} |p_z\rangle &= \sqrt{3/4\pi} \cos \theta, \\ |p_x\rangle &= \sqrt{3/4\pi} \sin \theta \cos \varphi, \\ |p_y\rangle &= \sqrt{3/4\pi} \sin \theta \sin \varphi. \end{aligned} \quad (5.1)$$

Направления, в которых плотности зарядов электронов трех состояний (5.1) максимальны, составляют между собою прямые углы. Поэтому направления химических связей, образуемых электронами, находящимися в состояниях (5.1), также взаимно ортогональны. Действительно, молекула аммиака NH_3 имеет пирамидальное строение. Углы между направлениями связей $\text{N}-\text{H}$ имеют значения, равные $107^\circ 18'$. Отклонение от значения 90° объясняется взаимным отталкиванием ядер водорода, лежащих в основании пирамиды. Связи в молекуле аммиака не являются чисто ковалентными, так как молекула обладает сравнительно большим электрическим дипольным моментом (приблизительно $1,44\text{D}$).

Атом фосфора в основном состоянии имеет конфигурацию $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^2 (3p)^3$. Состояния его трех валентных электронов $3p$ также характеризуются угловыми функциями (5.1). Поэтому три валентных направления взаимно ортогональны.

Электронные состояния в оболочке $3d$ в атоме фосфора имеют энергии, мало отличающиеся от энергии состояния $3s$. Поэтому атом фосфора, наряду с соединениями типа PCl_3 , может образовывать соединения PCl_5 , переходя за счет энергии, выделяемой при образовании двух дополнительных связей, в электронное состояние с конфигурацией

$$(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^1 (3p)^2 (3d)^1.$$

Атомы кислорода и серы имеют соответственно электронные конфигурации $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^4$ и $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^6 (3s)^2 (3p)^4$. Из четырех внешних электронов этих атомов, находящихся в трех p -состояниях, два обязательно спарены. Остающиеся два валентных электрона должны образовать химические связи под прямым углом. Действительно, в молекуле H_2O угол между химическими связями равен $104^\circ 27'$, а в молекуле H_2S он равен $92^\circ 12'$. Небольшое увеличение угла между связями от значения 90° обусловлено взаимодействием протонов в молекуле.

Атом кислорода обладает значительно большей электроотрицательностью, чем атом водорода¹, поэтому электронные пары,

¹ В качестве меры электроотрицательности, следуя Муллену, принимают сумму энергий ионизации и энергии присоединения (сродства) электрона.

образующие связи O—H, смещены к атому кислорода. В связи с этим молекула воды имеет большой электрический дипольный момент, равный 1,84D. Дипольный момент каждой связи O—H равен 1,51D.

Нейтральные кислород и сера не проявляют в химических соединениях валентность, большую чем 2, так как для перевода электрона из состояний $2s$ и $3p$ соответственно в ближайшие по энергии состояния $3s$ и $4s$ нужна столь большая энергия, что она не компенсируется энергией образования двух дополнительных связей.

Ионизированные азот (N^+) и кислород (O^+) имеют сверх первой оболочки $(1s)^2$ соответственно электронные конфигурации $(2s)^1 (2p)^3$ и $(2s)^2 (2p)^3$, поэтому они могут проявлять валентности 4 и 3. Известны, например, устойчивые ионы $(NH_4)^+$ и $(H_3O)^+$. В четырехвалентном состоянии ион N^+ может образовать ионную связь и выступать в целом как пятивалентный. Таково, например, его состояние в соединениях N_2O_5 и др. Наличие ионной связи в этих соединениях проявляется в большом значении электрического момента молекулы.

Атом углерода в свободном состоянии имеет конфигурацию $(1s)^2 (2s)^2 (2p)^2$, которая соответствует двухвалентному атому. В химических соединениях CH_4 , CCl_4 , $C(CH_3)_4$ и других он выступает как четырехвалентный. Такая валентность атома углерода в химических соединениях указанного типа связана с малой энергетической разностью состояний $2s$ и $2p$. В свободном атоме углерода она приблизительно равна 4,34 эВ. При образовании же, вследствие изменения электронной конфигурации, двух дополнительных связей C—H выигрывается энергия примерно 8,62 эВ.

Из свойств симметрии молекулы CH_4 следует, что все связи эквивалентны. Поэтому перестройка («гибридизация») внешней электронной оболочки атома C при образовании молекулы происходит так, что четыре его электрона по одному занимают состояния, угловые волновые функции которых имеют вид

$$\begin{aligned}\psi_1 &= \frac{1}{2} (|s\rangle + |p_x\rangle + |p_y\rangle + |p_z\rangle), \\ \psi_2 &= \frac{1}{2} (|s\rangle + |p_x\rangle - |p_y\rangle - |p_z\rangle), \\ \psi_3 &= \frac{1}{2} (|s\rangle - |p_x\rangle + |p_y\rangle - |p_z\rangle), \\ \psi_4 &= \frac{1}{2} (|s\rangle - |p_x\rangle - |p_y\rangle + |p_z\rangle),\end{aligned}\tag{5.2}$$

трона к данному атому с образованием иона. Энергии ионизации атомов кислорода и водорода примерно одинаковы (13,6 эВ), а энергии сродства соответственно равны 3,1 эВ и 0,7 эВ.

где $|s\rangle = 1/\sqrt{4\pi}$, а остальные функции определены выражением (5.1).

Функции (5.2) называют *тетраэдральными* орбитами, так как они характеризуют валентности, направленные от атома углерода к четырем вершинам тетраэдра, составляя угол $109^\circ 28'$ между собой. Функции (5.2) характеризуют валентные состояния и атомов углерода при образовании кристалла алмаза.

При отмеченном выше переходе атома азота (в результате ионизации) в четырехвалентное состояние $(1s)^2 (2s)^1 (2p)^3$ четыре его внешних электрона находятся в состояниях, соответствующих функциям (5.2). Однако такой переход в атоме азота может осуществляться не только в результате его предварительной ионизации, но и в процессе взаимодействия с протоном. Например, молекула аммиака NH_3 при взаимодействии с протоном образует молекулу $(\text{NH}_4)^+$. При образовании этой молекулы один электрон подоболочки $2s$ как бы переходит к протону, оставшийся ион N^+ в молекуле NH_3 оказывается в четырехвалентном состоянии и дополнительно присоединяет образовавшийся атом водорода. Такую связь называют *донорно-акцепторной*, так как при образовании новой молекулы азот (донор) передал электрон протону (акцептору). Однако нельзя указать место этой связи в молекуле $(\text{NH}_4)^+$. Все атомы водорода в ней равноправны, азот находится в валентном состоянии, определяемом функциями (5.2). Молекула $(\text{NH}_4)^+$ не имеет электрического дипольного момента. Избыточный положительный заряд сосредоточен вблизи центра молекулы, имеющей тетраэдрическую структуру.

Донорами электронов, кроме азота, могут выступать кислород, фтор и некоторые другие атомы. Химики часто говорят, что донорно-акцепторная связь образуется за счет пары «неподеленных» электронов верхней s -подоболочки донора. При образовании связи эти электроны перемещаются в пространство между донором и акцептором. Иногда донорно-акцепторная связь пространственно локализована. Такая локализация проявляется в наличии в молекуле электрического дипольного момента.

Кратные связи между атомами. В некоторых молекулах связи между атомами осуществляются не одной, а двумя и тремя парами электронов. Такие связи называются соответственно *двойными* и *тройными*. Типичным примером молекул с тройной химической связью является молекула азота. Если обозначать, как делают химики, каждую химическую связь черточкой, соединяющей атомы, то молекулу N_2 можно записать в виде $\text{N}\equiv\text{N}$.

Выше отмечалось, что трехвалентное состояние атома азота характеризуется тремя функциями (5.1), согласно которым эти валентности направлены под прямым углом друг к другу. Если направить ось z вдоль линии, соединяющей два атома азота, то одна из химических связей образуется при перекрытии волновых

вых функций $|p_z\rangle$ обоих атомов. Соответствующая молекулярная функция не зависит от поворота вокруг оси z и не меняется при отражениях во всех плоскостях, проходящих через эту ось. Электроны, образующие такую связь, называются σ -электронами. К σ -электронам относятся все электроны, образующие одиночные связи между атомами.

Две другие пары электронов в молекуле азота образуют дополнительные связи. Одна пара электронов образует связь при перекрывании волновых функций состояний $|p_x\rangle$ обоих атомов. Вторая — при перекрывании волновых функций $|p_y\rangle$. Волновая функция молекулы, образованная из функций $|p_y\rangle$, меняет знак при отражении в плоскости xz , а функция молекулы, образованная из атомных функций $|p_x\rangle$, меняет знак при отражении в плоскости yz . Электроны, образующие такие химические связи, получили название π -электронов.

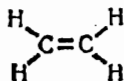
Энергия связи, образованной π -электронами, меньше, чем энергия связи, образованной σ -электронами, так как меньше перекрываются волновые функции π -электронов. Таким образом, в молекуле азота из трех химических связей только одна образована σ -электронами, а две другие — π -электронами. Это правило распространяется на другие тройные связи между атомами.

Тройная связь между атомами углерода наблюдается в молекуле ацетилена, имеющей линейную структуру $\text{H}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$. В этой молекуле валентное состояние атомов углерода описывается четырьмя функциями:

$$\psi_1 = |p_x\rangle, \quad \psi_2 = |p_y\rangle, \quad \psi_3 = \frac{1}{\sqrt{2}}(|s\rangle + |p_z\rangle), \quad \psi_4 = \frac{1}{\sqrt{2}}(|s\rangle - |p_z\rangle). \quad (5.3)$$

Электроны в состояниях ψ_3 и ψ_4 образуют две σ -связи в каждом атоме углерода. Одна из них идет на удержания атома водорода, а вторая составляет основную σ -связь между атомами углерода. Электроны в состояниях ψ_1 и ψ_2 ответственны за две π -связи между атомами углерода.

Атомы углерода могут образовать между собою и двойную связь. Такая связь наблюдается, например, в молекуле этилена



В этом случае валентное состояние атома углерода описывается четырьмя функциями вида

$$\begin{aligned} \psi_1 &= \frac{1}{\sqrt{3}}(|s\rangle + \sqrt{2}|p_x\rangle), \quad \psi_2 = \frac{1}{\sqrt{6}}(\sqrt{2}|s\rangle - |p_x\rangle + \sqrt{3}|p_y\rangle), \\ \psi_3 &= \frac{1}{\sqrt{6}}(\sqrt{2}|s\rangle - |p_x\rangle - \sqrt{3}|p_y\rangle), \quad \psi_4 = |p_z\rangle. \end{aligned} \quad (5.4)$$

Три σ -связи образуются первыми тремя функциями. Эти связи лежат в одной плоскости, перпендикулярной оси z , и составляют между собой углы 120° . Одна из них удерживает второй атом углерода, а две другие — атомы водорода. Электроны, находящиеся в состояниях ψ_1 , образуют σ -связь. Наибольшее перекрывание волновых функций $|p_z\rangle$ обоих атомов углерода осуществляется в том случае, когда координатные оси z обоих атомов параллельны. Это условие обеспечивает стабильность плоской структуры молекулы этилена.

В молекуле этана H_3C-CH_3 с одиночной σ -связью между атомами углерода возможно вращение групп CH_3 вокруг линии, соединяющей атомы углерода.

Атомы, имеющие внешние электроны в состояниях d или в состояниях, энергетически близких к свободным d -состояниям, могут образовать не только σ - и π -связи, но и слабые δ -связи, в которых волновые функции электронов, образующих связь, перекрываются в четырех областях межъядерного пространства, перпендикулярных линии связи.

Все приведенные выше примеры указывают на то, что валентное состояние атома существует не само по себе, а возникает путем перестройки электронных состояний в процессе образования молекул. При этом электронное состояние характеризует всю молекулу в целом. Выделение электронных состояний отдельных атомов (или ионов) и отдельных химических связей возможно только при большом упрощении, а в некоторых случаях, как мы увидим в следующем разделе, такое выделение вообще невозможно.

5.2. Неполная локализация химических связей

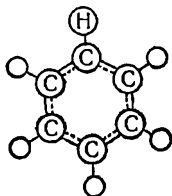
В предыдущем разделе рассматривались химические соединения, в которых приближенно можно указать число связей, удерживающих каждый атом в молекуле. В этом случае можно говорить о локальном характере связей и изображать черточкой каждую связь в структурной формуле молекулы. Такая возможность осуществляется не всегда.

Имеется большое число так называемых ароматических соединений и молекул с сопряженными связями, в которых локализация связей нарушена. Такие делокализованные связи осуществляются обычно π -электронами.

Типичным представителем ароматических молекул является молекула бензола, в состав которой входят шесть атомов углерода и шесть атомов водорода. Молекула бензола является плоской. Шесть атомов углерода располагаются в углах правильного шестиугольника. Валентное состояние этих атомов соответствует функциям (5.4). Три валентных электрона в состояниях ψ_1, ψ_2, ψ_3

участвуют в образовании локальных σ -связей, составляющих между собой углы, равные 120° . Одна связь удерживает водород, а две другие — соседние атомы углерода. Четвертый валентный электрон в состоянии ψ_4 с осью z , перпендикулярной плоскости молекулы, является π -электроном. Он участвует в образовании дополнительной связи одновременно с двумя соседними атомами углерода, а не с одним, как в случае локализованной связи в молекуле этилена и других аналогичных молекулах. Такая «делокализация» связи приводит к возможности перемещения π -электронов в бензольном кольце от одного атома углерода к другому с образованием кольцевого тока при включении магнитного поля, перпендикулярного плоскости кольца.

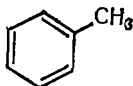
Если условиться изображать делокализованные связи итриховыми линиями, то структурная формула бензола будет иметь вид



Существенно, что во всех связях $C-C$ электронная плотность распределена одинаковым образом. Расстояние между всеми атомами углерода одинаково и равно $1,40 \text{ \AA}$. Часто, однако, для простоты используют условное обозначение молекулы бензола с чередующимися одинарными и двойными связями без обозначения групп CH :

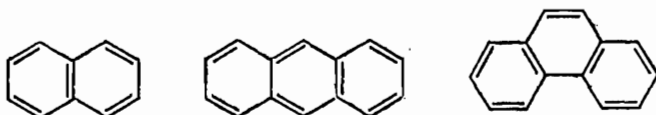


При изображении многочисленных производных бензола, образуемых замещением одного или нескольких водородных атомов радикалами, указываются только заместители. Например, изображение молекулы метилбензола (толуола) имеет вид

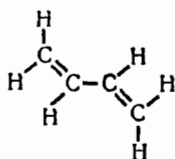


К ароматическим соединениям с делокализованными связями относятся также соединения с конденсированными бензольными ядрами: нафталин $C_{10}H_8$, антрацен $C_{14}H_{10}$, фенантрен $C_{14}H_{10}$ и др.

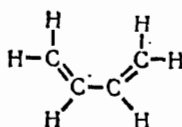
Их краткие изображения имеют такой вид:



Делокализованные связи π -электронов проявляются и в углеводородных молекулах, которые принято изображать в виде цепей углеродных атомов с чередующимися двойными и одинарными связями. Простейшим примером такой молекулы является плоская молекула бутадиена, которая может находиться в транс- и цис-конфигурациях



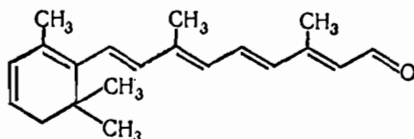
транс-форма



цис-форма

Валентные состояния атомов углерода в этих молекулах соответствуют функциям (5.4). Расстояние между средними атомами углерода (1,46 Å) меньше, чем расстояние между атомами углерода при образовании одинарной связи (1,54 Å). Расстояния же между крайними парами углеродных атомов (1,34 Å) несколько больше расстояний между атомами, связанными обычными двойными связями (1,32 Å). Это указывает на то, что π -электроны средних атомов углерода вызывают дополнительное взаимодействие между ними. Такое заключение подтверждается плоской структурой молекулы, которая стабилизируется взаимодействием π -электронов средних атомов углерода.

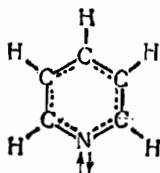
Примером молекулы с сопряженными связями может также служить ретинал $C_{19}H_{25}CHO$, участвующий в фоторецепторной системе зрения



Важнейшей особенностью соединений с сопряженными связями является их более высокая реакционная способность по сравнению с соединениями, имеющими изолированные связи.

К соединениям с сопряженными связями относятся и гетероциклические соединения. Их молекулы содержат кольца (из трех, четырех, пяти и большего числа атомов), в образовании

которых принимают участие атомы других элементов. Наиболее часто такими атомами являются атомы азота, кислорода и серы. В гетероциклических соединениях электронное строение связей в кольце такое же, как и в ароматических молекулах и условно обозначается в формулах, как и в формуле бензола, чередующимися двойными и одинарными связями. Примером шестичленного гетероцикла с одним гетероатомом азота является пиридин



В этой молекуле электронная конфигурация пяти внешних электронов атома азота соответствует функциям (5.4). Один электрон в состоянии $\psi_4 = |p_z|$ (ось z перпендикулярна плоскости кольца) входит в состав π -электронов кольца. Два электрона с противоположными спинами находятся в состоянии ψ_1 и не участвуют в химических связях. Иногда их называют «неподеленной парой» электронов. Два других электрона находятся в состояниях ψ_2 и ψ_3 и образуют две σ -связи с соседними атомами углерода. Молекулу пиридина принято условно обозначать формулой



§ 6. Взаимодействие между молекулами

6.1. Дисперсионные, или вандерваальсовы, взаимодействия

Уже при исследовании газов было установлено, что нейтральные молекулы притягиваются на больших расстояниях и отталкиваются на малых. Такие силы притяжения, не приводящие к образованию химических соединений, называют *силами Ван-дер-Ваальса*, по имени голландского ученого, заложившего основы теории реальных газов.

Для описания свойств реальных газов потенциальная энергия межмолекулярных взаимодействий как функция расстояния между центрами молекул может быть аппроксимирована функцией, получившей название *потенциала Леннарда — Джонса*,

$$U(r) = \frac{A}{r^{12}} - \frac{D}{r^6}. \quad (6.1)$$

где A и D — величины, зависящие от свойств молекул. Первый член в (6.1) соответствует силам отталкивания, а второй — силам притяжения.

Квантовая механика выяснила полностью физический смысл этих взаимодействий. Выражение для сил отталкивания в (6.1) является грубой аппроксимацией очень быстрого возрастания сил отталкивания, когда электронные оболочки взаимодействующих молекул (электронных систем со спаренными спинами) взаимно проникают друг в друга. Возникающее при этом вследствие корреляции в движении электронов обменное взаимодействие обуславливает экспоненциально возрастающее отталкивание.

В случае взаимодействия неполярных молекул их притяжение на больших расстояниях вызывается малой взаимной деформацией электронных оболочек. Электрические взаимодействия между электронами и ядрами приводят к взаимной поляризации молекул (смещению отрицательных зарядов относительно положительных). Возникающие наведенные электрические дипольные моменты ориентированы так, что вызывают притяжение, пропорциональное произведению коэффициентов поляризуемости α_i молекул¹. Поскольку поляризуемостью молекул определяется также оптическая дисперсия (показатель преломления), то такие силы притяжения между молекулами получили название *дисперсионных сил*.

Если свободные молекулы полярны, то в энергию вандерваальсового взаимодействия вносит вклад также ориентационное взаимодействие (*эффект Кеезома*), энергия которого также убывает обратно пропорционально шестой степени расстояния. Притяжение между электрическими диполями наибольшее, когда их противоположные концы обращены друг к другу. Эта ориентация сбивается тепловым движением. Поэтому усредненная величина взаимодействия зависит от температуры. Согласно расчетам Кеезома, вклад ориентационного взаимодействия молекул a и b в коэффициент D выражения (6.1) при не очень низкой температуре определяется выражением

$$D_{ор} = d_a^2 d_b^2 / 3kT,$$

где d_a и d_b — дипольные электрические моменты взаимодействующих молекул; kT — энергия теплового движения.

Кроме непосредственного взаимодействия постоянных диполей вклад в D будет также давать взаимодействие постоянного диполя одной молекулы с индуцированным им диполем другой молекулы. Такой поляризационный эффект (*эффект Дебая*) будет пропорционален произведению поляризуемостей на квадрат

¹ Для простоты мы не учитываем тензорный характер поляризуемости.

дипольных моментов, т. е.

$$D_{\text{пол}} = \alpha_a d_b^2 + \alpha_b d_a^2.$$

Основную роль при вандерваальсовом взаимодействии молекул играют дисперсионные силы, и лишь в случае молекул, обладающих большими дипольными моментами ($> 2D$), ориентационный эффект может вносить заметный вклад. Поляризационное же взаимодействие, как правило, незначительно.

Вандерваальсово взаимодействие является наиболее общим межмолекулярным взаимодействием. Оно играет очень большую роль в биологических системах. Это взаимодействие определяет также структуру молекулярных кристаллов. Исследованиями А. И. Китайгородского [32] установлено, что в первом приближении пространственное расположение молекул в молекулярном кристалле определяется моделью плотной упаковки. Согласно этой модели, атомам, входящим в состав молекул, соответствуют средние вандерваальсовы радиусы R . Эти радиусы для некоторых атомов указаны в табл. 4. С помощью вандерваальсовых радиусов молекула моделируется объемной фигурой, поверхность которой окаймляет межмолекулярные сферы внешних атомов. Тогда структура молекулярного кристалла характеризуется плотной упаковкой (выступ и впадине) таких объемных моделей молекулы. Объемные модели молекул полезны и при грубом определении структуры в биологических системах.

Вандерваальсовы взаимодействия относятся к типу слабых. При сближении молекул за счет вандерваальсовых сил выделяется энергия $(7 \div 100) \cdot 10^{-3}$ эВ, а при образовании химической связи — больше нескольких электронвольт.

В этом разделе речь шла только о вандерваальсовых взаимодействиях между невозбужденными молекулами. Молекула, находящаяся в возбужденном дипольном состоянии (колебательное или электронное возбуждение с переменным электрическим дипольным моментом), дополнительно взаимодействует с такой же невозбужденной молекулой с помощью особого *резонансного взаимодействия*. Это взаимодействие пропорционально квадрату дипольного момента возбужденного состояния и убывает обратно пропорционально только кубу расстояния, вследствие чего оно проявляется на расстояниях (50—100 Å), значительно больших,

Таблица 4

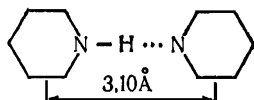
Атом	H	C	N	O	P	S
$R \text{ Å}$	1,17	1,80	1,58	1,52	1,90	1,85

чем расстояния проявления вандерваальсовых сил. Резонансное взаимодействие играет очень большую роль в молекулярных кристаллах и органических системах, вызывая перемещение энергии возбуждения и другие эффекты, которые будут рассмотрены в следующих главах.

6.2. Водородные связи между молекулами

Исключительно большое значение в биологических системах имеет особый тип межмолекулярного взаимодействия, *водородная связь*, которая осуществляется между атомами водорода, химически соединенными в одной молекуле, и электроотрицательными атомами F, O, N, Cl, S, принадлежащими другой молекуле. Понятие «водородная связь» было введено впервые в 1920 г. Латимером и Родебушем для объяснения свойств воды и других ассоциированных веществ. Рассмотрим отдельные примеры такой связи.

В п. 5.2 речь шла о молекуле пиридина и было отмечено, что атом азота в ней имеет два внешних электрона с антипараллельными спинами, не участвующих в образовании химической связи. Эта «свободная» или «неподеленная» пара электронов будет притягивать протон и образовывать с ним химическую связь. При этом молекула пиридина перейдет в ионное состояние $(C_5NH_6)^+$. Если имеются две пиридиновые молекулы, то они будут соревноваться в захвате протона, в результате образуется соединение



в котором тремя точками обозначен новый тип межмолекулярного взаимодействия, называемый водородной связью. В этом соединении протон находится ближе к левому атому азота. С таким же успехом протон может оказаться ближе к правому атому азота. Следовательно, потенциальная энергия протона как функция расстояния до правого или левого атома азота при фиксированном расстоянии между ними (примерно $3 \cdot 10 \text{ Å}$) должна изображаться кривой с двумя минимумами. Квантовомеханический расчет такой кривой, проведенный Рейном и Харрисом [224], приведен на рис. 4.

Квантовомеханическую теорию водородной связи $A-H \cdots B$ на основе донорно-акцепторных взаимодействий одним из первых развивал Н. Д. Соколов [59]. Причиной связи является вызываемое протоном перераспределение электронной плотности между атомами A и B. Кратко говорят, что происходит обобществление «неподеленной пары» электронов. В действительности же в

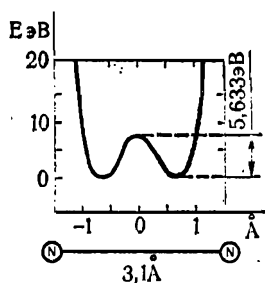


Рис. 4.
Потенциальная кривая энергии протона в зависимости от расстояния между атомами азота двух пиридиновых молекул.

образовании потенциальных кривых водородной связи участвуют и другие электроны молекул, хотя и в меньшей степени (см. ниже).

Энергия типичных водородных связей варьирует в пределах от 0,13 до 0,31 эВ. Она на порядок меньше энергии химических ковалентных связей, но на порядок больше энергии вандерваальсовых взаимодействий.

Наиболее простым межмолекулярным комплексом, образованным водородной связью, является комплекс $(\text{HF})_2$. Этот комплекс имеет линейную структуру. Расстояние между атомами фтора 2,79 Å. Расстояние между атомами в полярной молекуле HF равно 0,92 Å. При образовании комплекса выделяется энергия около 0,26 эВ.

С помощью водородной связи образуется димер воды $(\text{H}_2\text{O})_2$ с энергией связи около 0,2 эВ. Эта энергия равна примерно двукратной части энергии ковалентной связи OH. Расстояние между двумя атомами кислорода в комплексе равно примерно 2,76 Å. Оно меньше суммы вандерваальсовых радиусов атомов кислорода, равной 3,06 Å. На рис. 5 указано рассчитанное в работе [141] изменение электронной плотности атомов воды при образовании комплекса. Эти расчеты подтверждают, что при образовании комплекса изменяется распределение электронной плотности вокруг всех атомов реагирующих молекул.

О роли всех атомов в установлении водородных связей в комплексе можно судить также по взаимному влиянию двух водородных связей между азотистыми основаниями, тимином и аденином, входящими в состав двойной спирали молекулы ДНК [189]. Расположение минимумов потенциальных кривых протонов в двух связях отражает их взаимную корреляцию (рис. 6).

Наряду с обычной или слабой водородной связью, образованной водородом с выделением энергии, меньшей 1 эВ, и характеризующейся потенциальной энергией с двумя минимумами, водород образует некоторые комплексы с большим энергосвыделением. Например, при создании комплекса $(\text{FHF})^-$ выделяется энергия, равная 2,17 эВ. Такой тип взаимодействия называют *сильной*

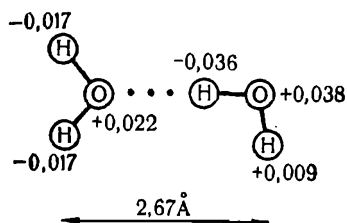


Рис. 5.

Изменение электронной плотности около атомов в комплексе, образованном водородными связями из двух молекул воды.

Заряд электрона принят равным единице. В свободной молекуле воды заряд 10 электронов распределен так, что около атома кислорода находится заряд 8,64, а у атомов водорода $2 \times 0,68$.

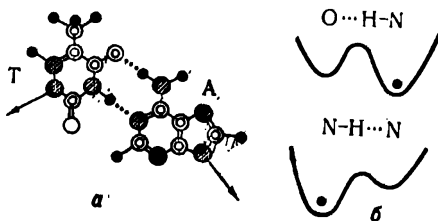


Рис. 6.

Водородные связи между азотистыми основаниями:

a — тиминном (Т) и аденином (А), входящими в состав молекул ДНК (стрелками указаны места присоединения оснований к цепям молекул сахара и фосфорной кислоты); *б* — потенциальные кривые водородных связей;

О — кислород; ● — водород; ⊙ — углерод;  — азот.

водородной связью. При образовании комплексов с сильной водородной связью значительно изменяется конфигурация молекул. Потенциальная энергия протона имеет один сравнительно плоский минимум, расположенный примерно в центре связи. Поэтому протон легко смещается. Легкая смещаемость протона под влиянием внешнего поля обуславливает большое значение поляризуемости комплекса.

Сильная водородная связь не проявляется в биологических системах. Что же касается слабой водородной связи, то она имеет решающее значение во всех живых организмах.

Исключительно большая роль водородной связи в биологических системах обусловлена прежде всего тем, что она определяет вторичную структуру белков, имеющую основное значение для всех жизненных процессов; с помощью водородных связей удерживаются пары оснований в молекулах ДНК и обеспечивается их устойчивая структура в виде двойных спиралей, и, наконец, водородная связь ответственна за весьма необычные свойства воды, важные для существования живых систем.

Вода является одним из основных компонентов всего живого. Организмы животных почти на две трети состоят из воды. Человеческий эмбрион в течение первого месяца содержит около 93% воды. Без воды не было бы жизни. Вода служит основной средой, в которой происходят биохимические реакции в клетке. Она образует жидкую часть крови и лимфы. Вода необходима для пищеварения, так как расщепление углеводов, белков и жиров происходит с присоединением молекул воды. Вода выделяется в клетке при построении белков из аминокислот. Физиологические

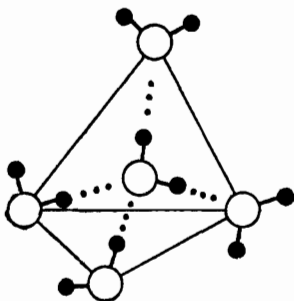


Рис. 7.
Структура льда.

Каждая молекула воды соединена водородными связями (три точки) с четырьмя молекулами воды, находящимися в вершинах тетраэдра.

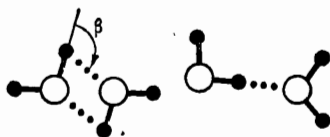


Рис. 8.
Водородная связь в димере ($\beta = 110^\circ$) и «линейная» водородная связь ($\beta = 0$).

свойства биополимеров и многих надмолекулярных структур (в частности, клеточных мембран) весьма существенно зависят от их взаимодействия с водой.

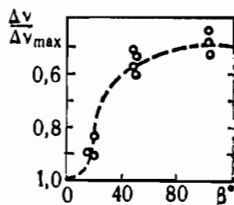
Рассмотрим некоторые свойства воды. Каждая молекула воды обладает большим электрическим моментом. Вследствие высокой электроотрицательности атомов кислорода молекула воды может образовывать водородные связи с одной, двумя, тремя и четырьмя другими молекулами воды. В результате получаются сравнительно устойчивые димеры и другие полимерные комплексы. В среднем каждая молекула в жидкой воде имеет четыре соседа. Состав и структура межмолекулярных комплексов зависят от температуры воды.

Наиболее упорядоченную структуру имеет кристаллическая вода (лед) при нормальном давлении и температуре ниже нуля градусов Цельсия. Кристаллы ее имеют гексагональную структуру. В элементарную ячейку входят четыре молекулы воды. Структура ячейки изображена на рис. 7. Вокруг центрального атома кислорода расположены в вершинах правильного тетраэдра на расстояниях 2,76 Å четыре других атома кислорода. Каждая молекула воды соединена с соседними четырьмя водородными связями. При этом угол между ОН-связями в молекуле приближается к «тетраэдрическому» значению $109,1^\circ$. В свободной молекуле он равен приблизительно 105° .

Структура льда напоминает структуру алмаза. Однако в алмазе между атомами углерода действуют химические силы. Кристалл алмаза — это большая молекула. Кристаллы льда относятся к молекулярным кристаллам. Молекулы в кристалле сохраняют в основном свою индивидуальность и удерживают друг друга водородными связями.

Рис. 9.

Экспериментальное значение [161] смещения инфракрасной частоты О—Н колебаний в воде при образовании водородной связи под углом β .



Решетка льда весьма рыхлая и содержит много «пустот», так как число ближайших молекул воды у каждой молекулы (координационное число) равно только четырем. При плавлении решетка льда частично разрушается, одновременно заполняются некоторые пустоты и плотность воды становится больше плотности льда. Это одна из основных аномалий воды. При дальнейшем нагревании до 4°C процесс уплотнения продолжается. При нагревании выше 4°C возрастает амплитуда ангармонических колебаний, уменьшается число ассоциированных молекул в комплексах (роях) и плотность воды уменьшается. По грубым оценкам в состав роев при комнатной температуре входит около 240 молекул, при 37°C — около 150, при 45 и 100°C соответственно 120 и 40.

Вклад водородной связи в полную энергию межмолекулярных взаимодействий (11,6 ккал/моль) составляет около 69%. Вследствие водородных связей температуры плавления (0°C) и кипения (100°C) воды существенно отличаются от температур плавления и кипения других молекулярных жидкостей, между молекулами которых действуют только вандерваальсовы силы. Например, для метана (CH_4) эти значения соответственно равны -186 и -161°C .

В жидкой воде наряду с остатками тетраэдрической структуры льда имеются линейные и циклические димеры и другие комплексы, содержащие 3, 4, 5, 6 и более молекул. Существенно, что в зависимости от числа молекул в цикле меняется угол β , образованный между связью ОН и водородной связью (рис. 8). В димере этот угол равен 110° , в пятичленном кольце $\beta \approx 10^\circ$, а в шести-членном кольце и гексагональной структуре льда он близок к нулю («линейная» водородная связь).

Оказывается, что наибольшая энергия одной водородной связи соответствует углу $\beta \approx 0$. Энергия водородной связи пропорциональна (правило Бадгера — Бауера) смещению $\Delta\nu$ частоты валентных инфракрасных колебаний группы ОН в молекуле воды по сравнению с частотой колебаний свободной молекулы. Максимальное смещение наблюдается в случае «линейной» водородной связи. В молекуле воды в этом случае частота $\nu_2 = 3720\text{ см}^{-1}$ уменьшается на 400 см^{-1} , а частота $\nu_1 = 3620\text{ см}^{-1}$ — на 340 см^{-1} . На рис. 9 приведен график зависимости отношения смещения

частоты $\Delta\nu$ к максимальному смещению $(\Delta\nu)_{\max}$ от угла β . Следовательно, этот график характеризует также зависимость энергии водородной связи от угла β . Такая зависимость является проявлением кооперативного характера водородной связи.

Предпринимались многократные попытки теоретического вычисления структуры и свойств воды при учете водородных связей и других межмолекулярных взаимодействий. Согласно статистической физике [36] термодинамические свойства системы взаимодействующих молекул, находящейся в объеме V при постоянном давлении P в статистическом равновесии с термостатом, определяются через статистическую сумму состояний

$$Z = \text{Sp} \left\{ \exp \frac{PV - H}{kT} \right\}. \quad (6.2)$$

Здесь V — объем системы; k — постоянная Больцмана; T — абсолютная температура; Sp означает, что надо взять след от статистического оператора, стоящего в фигурных скобках, где H — квантовый оператор энергии всей системы. Этот оператор равен сумме операторов кинетической энергии поступательного и вращательного движений молекул и оператора потенциальной энергии взаимодействия всех молекул.

Если известны все собственные функции $|s\rangle$ и полный спектр энергий E_s оператора H , то (6.2) принимает вид

$$Z = \sum_s \exp \frac{PV - E_s}{kT}. \quad (6.3)$$

Тогда свободная энергия Гиббса G системы при давлении P и температуре T определяется простым выражением

$$G \equiv E - ST + PV = -kT \ln Z. \quad (6.4)$$

Зная гиббсовскую свободную энергию¹, находим полную энергию $E = -P \left(\frac{\partial G}{\partial P} \right)_T - T^2 \left(\frac{\partial}{\partial T} \frac{G}{T} \right)_P$, энтропию $S = - \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_P$, объем $V = \left(\frac{\partial G}{\partial P} \right)_T$, теплоемкость $C_P = -T \left(\frac{\partial^2 G}{\partial T^2} \right)_P$ и т. д.

К сожалению, вследствие сложного характера взаимодействий между молекулами в воде (анизотропные дипольные молекулы, водородные связи, приводящие к комплексам переменного состава, в которых энергия водородных связей сама зависит от состава и структуры комплекса и т. д.) мы не можем записать оператор H в явном виде. Поэтому приходится прибегать к очень большим упрощениям. Так, Намети и Шерага вычислили статистическую сумму, исходя из того, что можно учесть только пять энергетических состояний молекул в комплексах в соответствии

¹ В литературе по физике [36, § 15] эту функцию обычно называют термодинамическим потенциалом.

с числом образуемых ими водородных связей (0, 1, 2, 3, 4) с соседними молекулами. С помощью этой модели им даже удалось показать, что плотность воды максимальна при 4°C . Однако в дальнейшем сами авторы подвергли критике развитую ими теорию, так как она не описывала многие экспериментальные факты. С другими попытками теоретических расчетов структуры воды можно познакомиться в обзоре Бен-Наима и Стиллингера [82].

Вследствие дипольного характера молекул воды и большой роли водородных связей исключительно важную роль играют и взаимодействия молекул воды с ионами и нейтральными молекулами в живых организмах. Взаимодействия, приводящие к гидратации ионов и особому типу взаимодействий, получивших название *гидрофобных* и *гидрофильных*, будут рассмотрены в следующих разделах этой главы.

Говоря о роли воды в биологических явлениях, следует отметить, что все живые организмы весьма успешно приспособились к определенной величине водородной связи между молекулами H_2O . Об этом свидетельствует тот факт, что замена H_2O молекулами тяжелой воды D_2O оказывает весьма существенное влияние на биологические системы [160]. Уменьшается растворимость полярных молекул, уменьшается скорость прохождения нервного импульса, нарушается работа ферментов, замедляется рост бактерий и грибов и т. д. Возможно, все эти явления связаны с тем, что водородное взаимодействие между молекулами D_2O сильнее, чем взаимодействие между молекулами H_2O . На большее значение водородной связи между молекулами тяжелой воды указывает более высокая температура ее плавления ($3,8^{\circ}\text{C}$) и большая теплота плавления ($1,51$ ккал/моль). Для обычной воды теплота плавления $1,43$ ккал/моль.

§ 7. Взаимодействие ионов и молекул с водой

7.1. Гидратация ионов в воде

Электрические дипольные моменты воды обуславливают ее высокую диэлектрическую проницаемость ($\epsilon \approx 79$). В электрическом поле иона полярные молекулы воды частично «выстраиваются» так, что в значительной степени экранируют это поле. Такой процесс образования ориентированного окружения вокруг иона получил название *гидратации* или *сольватации*. Второе название более общее, так как оно относится не только к воде, но и к другим растворителям. Полному «выстраиванию» дипольных моментов воды в поле иона препятствуют водородные связи между молекулами и тепловое движение.

Первая попытка расчета потенциальной энергии поляризации среды вокруг иона была предпринята Борном [85] в 1920 г.

Для расчета он использовал весьма простую модель растворителя в виде непрерывной изотропной среды с диэлектрической проницаемостью ϵ , окружающей сферический ион радиуса R и заряда Ze . В такой среде ион создает электрическое поле, вектор электрической индукции которого определяется выражением

$$D(r) = Ze\tau/r^2, \quad r \geq R.$$

Это поле поляризует среду. Поляризация характеризуется вектором диэлектрической поляризации

$$P(r) = \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) D(r)/4\pi.$$

Потенциальная энергия поляризации среды тогда определяется выражением [37]

$$U = -2\pi \int_R^{\infty} D(r) P(r) r^2 dr = -(Ze)^2 \left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) / 2R. \quad (7.1)$$

В биологических системах все процессы происходят при постоянных температуре и давлении, поэтому при отличной от нуля температуре T энергия гидратации E определяется изменением свободной энергии Гиббса в результате поляризации среды:

$$E = U - T\Delta S + P\Delta V, \quad (7.2)$$

где ΔS — изменение энтропии системы; ΔV — изменение объема. Энтропия гидратации имеет отрицательное значение, так как при упорядочении расположения молекул вокруг иона энтропия воды уменьшается. При комнатной температуре вклад энтропии в энергию гидратации (7.2) составляет примерно 10%. Величина $P\Delta V$ также незначительна.

Формула Борна (7.1), полученная на основе электростатической теории, может быть использована для грубой оценки величины энергии гидратации. Делались многократные попытки ее улучшения в рамках континуальной модели. При сравнении те-

ории Борна с экспериментом следует учитывать весьма большую неопределенность в выборе эффективных радиусов ионов. Обычно исходят из предположения, что размеры иона в твердой кристаллической решетке и в растворе примерно одинаковы. В этом приближении, следуя Полингу, радиус иона вычисляется делением пополам расстояния между ближайшими ионами в

Таблица 5

Одновалентный ион	Кристаллографический радиус (Å)	
	по Полингу	определенный другими методами
Li ⁺	0,69	0,94
Na ⁺	0,98	1,17
K ⁺	1,33	1,49
Cl ⁻	1,81	1,64

кристалле. Полученные радиусы называются *кристаллографическими* (табл. 5).

В связи с тем что молекула воды имеет конечные размеры ($\sim 1,93 \text{ \AA}$) и центр электрического диполя расположен не симметрично в молекуле, Латимер предложил в формуле Борна (7.1) использовать в качестве эффективного размера ионов кристаллографические радиусы, увеличенные на $0,1 \text{ \AA}$ для катионов и на $0,08 \text{ \AA}$ для анионов. Предлагалось также учитывать изменение диэлектрической поляризуемости воды вблизи иона. Аззам показал, что при учете водородных связей вблизи иона на расстоянии примерно $6 \text{ \AA}$ диэлектрическая проницаемость уменьшается почти в два раза. Предлагалось также учитывать температурную зависимость диэлектрической проницаемости. При повышении температуры диэлектрическая проницаемость уменьшается из-за разупорядочения ориентаций молекулы воды, вызванных полем иона. При учете этого обстоятельства энтропийный член формально проявляется уже в формуле (7.1).

Сравнительно простой электростатический расчет энергии гидратации на основе учета взаимодействия иона с жесткими диполями молекул воды предложили Мищенко и Сухотин. Для энергии гидратации они получили выражение

$$U = - \frac{127,2}{(r_i + r_{\text{H}_2\text{O}} + \beta)^2} \text{ [ккал/моль]},$$

где r_i — кристаллографический радиус иона; $r_{\text{H}_2\text{O}} \approx 1,93 \text{ \AA}$; $\beta = 0,25$ для катионов и для анионов.

Все электростатические теории являются феноменологическими. В них используются феноменологические понятия диэлектрической проницаемости, ее изменения вблизи иона и значение эффективного радиуса иона. Путем соответствующего подбора этих параметров можно получить удовлетворительное совпадение с экспериментальными данными об энергии гидратации.

Понятие радиуса свободного атома является весьма условным, так как распределение плотности электрического заряда спадает от центра атома экспоненциально и в некоторых состояниях атома не имеет сферической симметрии. В случае же иона в растворе вследствие взаимодействия с молекулами растворителя должно происходить перераспределение электронной плотности между ними и изменение структуры растворителя вблизи иона. Такие изменения обнаруживаются при спектральном, рентгеноструктурном и других исследованиях физических свойств электролитов. Естественно, что выяснение деталей взаимодействия иона с растворителем возможно только на языке квантовой теории.

Начиная с классической работы Бернала и Фаулера [9] делались многочисленные попытки расчета энергии гидратации с учетом структуры воды в ближайшем к иону окружении. Энергия

гидратации представлялась в виде суммы энергии взаимодействия иона с диполями молекул воды первой гидратной оболочки, имеющей тетраэдрическую структуру, и энергии взаимодействия этого комплекса радиуса $R_i + R_{H_2O}$ с окружающей водой, которая рассматривалась как непрерывная среда и вносила в энергию гидратации вклад

$$-\left(1 - \frac{1}{\epsilon}\right) \frac{(Ze)^2}{R_i + R_{H_2O}}.$$

С другими попытками учета структуры воды при гидратации можно познакомиться в монографиях К. П. Мищенко и Г. М. Полторатского [48] и Н. А. Измайлова [29]. Кроме учета структуры воды последовательная теория гидратации должна учитывать электронную структуру ионов. Учет влияния электронной структуры ионов рассматривался Ю. А. Кругляком [35], Н. А. Измайловым [29, 30] и др. Такие расчеты требуют привлечения квантовой теории. Предполагается, что на основании донорно-акцепторного механизма ион образует с первой гидратной оболочкой квазимолекулярную структуру.

В работе Д. А. Щеголева, Б. Х. Бунатяна и Ю. А. Кругляка [246] проведен квантовый расчет комплексов, образуемых ионами Li^+ , Na^+ и K^+ с водой. Определены радиусы первых гидратных оболочек и энергии связи комплексов $Li(H_2O)_n^+$, $Na(H_2O)_n^+$ и $K(H_2O)_n^+$. Исследована относительная стабильность комплексов с различными координационными числами. Показано, что у наиболее устойчивых комплексов ионов Li^+ $n = 6$, а у ионов Na^+ и K^+ $n = 8$. Отмечается, что ионы K^+ вызывают более слабую гидратацию, чем ионы Na^+ . Если эти результаты не изменятся при уточнении расчетов и при учете гидратации на более далеких расстояниях, то они будут иметь большое значение для объяснения различного поведения ионов Na^+ и K^+ в цитоплазме клеток.

Развитие более строгих методов учета структуры воды и электронной структуры ионов, по-видимому, особенно существенно при исследовании процессов перехода ионов из одной водной среды в другую через двойные липидные слои клеточных мембран. При этом могут проявиться интересные качественные закономерности, важные для понимания биологических процессов на молекулярном уровне.

7.2. Гидрофобные и гидрофильные взаимодействия

При изучении мономолекулярных слоев жирных кислот на поверхности воды Ленгмюр обнаружил, что в таких слоях полярные (карбоксильные) части молекул погружены в воду, а неполярные углеводородные концы выступают из воды.

Термодинамическая невыгодность контактов между неполярными частями больших молекул и водой определяется повышением свободной энергии. Небольшие неполярные молекулы (CH_4 , C_2H_6 и др.) при очень малых концентрациях могут растворяться в воде, размещаясь в «пустых» промежутках между большими ассоциатами молекул воды. Свободная энергия при этом понижается за счет вандерваальсовых взаимодействий и повышения энтропии смешения. Такая растворимость, однако, резко снижается при увеличении размеров молекул. Например, растворимость молекул C_6H_{12} и C_6H_{14} (диаметр 5 Å) примерно в 30 раз меньше растворимости молекул C_2H_6 (диаметр 3,8 Å) и почти в сто раз меньше растворимости молекул CCl_4 .

Взаимодействия между молекулами воды и большими неполярными другими молекулами значительно слабее, чем взаимодействия молекул воды между собой, обусловленные водородными связями. Внедрение больших молекул в воду должно приводить к разрыву водородных связей, поэтому эти молекулы выталкиваются (подобно маслу) из воды. Говорят, что они выталкиваются под влиянием *гидрофобных взаимодействий*. Главной причиной гидрофобных взаимодействий является относительно большая величина водородных связей между молекулами воды.

Гидрофобные взаимодействия не являются новым типом взаимодействий между молекулами. Это кооперативное проявление обычных вандерваальсовых взаимодействий и водородных связей между молекулами. Предлагалось даже [127] название «гидрофобные взаимодействия» заменить словами «гидрофобная гидратация». Учитывая широкое распространение термина «гидрофобное взаимодействие», мы будем им пользоваться, помня о его условности.

По вопросу о природе гидрофобных взаимодействий нет полного единодушия среди биологов. Так, например, высказывалось малоубедительное, как нам кажется, мнение, что гидрофобные взаимодействия определяются только изменением структуры воды. Предполагалось, что они связаны со сдвигом равновесия в сторону более упорядоченной, более рыхлой структуры воды. Такое упорядочение должно было бы приводить к понижению энтропии и, следовательно, к увеличению свободной энергии. Некоторые исследователи даже говорили об образовании льдоподобной структуры («айсбергов») вблизи неполярных молекул. Однако такое предположение не имеет ни экспериментального, ни теоретического подтверждения.

Полярные молекулы сравнительно легко растворяются в воде. Растворимость в этом случае обусловлена выигрышем свободной энергии при ориентации молекул воды в электрическом поле полярных молекул. При этом говорят, что проявляется *гидрофильное взаимодействие*. Гидрофильное взаимодействие также не

является новым типом взаимодействия. Это проявление суммарного эффекта гидратации, обусловленной парой электрических зарядов, связанных в дипольном моменте растворенной молекулы.

Во многих случаях крупные биологические молекулы (липиды) имеют гидрофобные и гидрофильные участки. При очень малой концентрации такие молекулы растворяются в воде. Однако, начиная с некоторой концентрации, они образуют скопления — *мицеллы*, в которых гидрофильные участки группируются на поверхности, а гидрофобные направлены внутрь.

Полярные группы биологически важных молекул часто содержат атомы кислорода, азота и водорода, которые могут образовывать с молекулами воды водородные связи, усиливая гидрофильность группы. Таковы, например, *гидроксильная группа*



карбоксильная группа

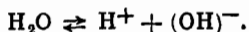


аминогруппа



В этих формулах буквой R обозначена остальная часть молекулы. Такие группы могут находиться в воде в состоянии ионов, что еще более повышает их гидрофильность.

Вследствие явления гидратации полярные молекулы в воде диссоциируют на ионы, так как уменьшение свободной энергии при образовании ионами гидратных оболочек больше энергии связи ионов в молекуле. В частности, в чистой воде происходит диссоциация



При 25° C концентрация этих ионов очень мала

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

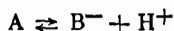
Обычно ион водорода в воде находится в виде иона гидроксония (H_3O^+).

Процесс диссоциации характеризуется указанием значения отрицательного десятичного логарифма концентрации протонов. Эта величина обозначается буквами pH. Для воды

$$\text{pH} = \lg \left(\frac{1}{[\text{H}]} \right) = 7.$$

Чистая вода считается электрохимически нейтральной. Если раствор содержит избыток протонов по сравнению с водой ($\text{pH} < 7$), то среда называется кислой. В щелочном растворе протонов меньше, чем в чистой воде ($\text{pH} > 7$). В клетках животных при нормальных условиях $\text{pH} = 7,0 \div 7,5$. Эти значения pH называются *физиологическими*. В воде кислота A (донор протона)

диссоциирует на протон H^+ и сопряженное основание B^- . Согласно закону действующих масс, константа равновесия K_A процесса диссоциации



при малых концентрациях определяется через концентрации¹

$$K_A = [H^+][B^-]/[A]. \quad (7.6)$$

Для воды $[A] = 1$, $[H^+] = [(OH)^-] = 10^{-7}$, следовательно, $K_{H_2O} = 10^{-14}$. Из равенства (7.6) следует

$$1/[H^+] = [B^-]/K_A [A]. \quad (7.7)$$

Диссоциация слабой кислоты A выражается числом

$$pK_A = -\lg K_A. \quad (7.8)$$

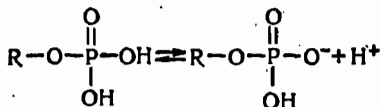
Из равенства (7.7) получаем соотношение

$$pH = pK_A + \lg ([B^-]/[A]). \quad (7.9)$$

Чем меньше значение pK_A , тем лучшим донором протонов является данная группа. Молекулы органических соединений диссоциированы в воде мало (слабые электролиты). Одной из самых сильных кислотных групп является фосфатная группа

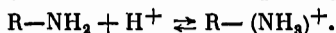


Значение pK_1 диссоциации ее первого гидроксила



равно 2. Соответствующая величина для карбоксильной группы (7.4) равна 3—4.

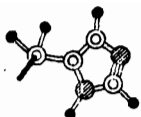
Аминогруппа (7.5) имеет основной характер (акцептор протона)



Значение pK_{NH_2} равно 9—10.

Гидратация ионов, гидрофобные и гидрофильные взаимодействия исключительно важны в биологии. Они в основном определяют вторичную структуру белковых молекул, структуру клеточных и внутриклеточных мембран, без которых не было бы индивидуальности клеток и многих жизненно важных биологических процессов. Именно гидрофобные взаимодействия являются причиной того, что живые организмы не растворимы в воде, хотя они состоят на две трети из воды.

¹ Квадратные скобки здесь и далее обозначают концентрации ионов соответствующих элементов.



ГЛАВА

III

БЕЛКИ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

Белковые молекулы являются самыми крупными, самыми сложными и разнообразными из всех молекул, входящих в состав клеток живых организмов. Основная задача биофизики белков состоит в установлении связи между строением белков и их биологическими функциями.

Молекулярные массы белков варьируют от нескольких десятков тысяч до нескольких миллионов дальтонов¹. Мы знаем, что по мере усложнения атомных систем появляются новые качества. Понятия температуры, энтропии, звуковых волн и других элементарных коллективных возбуждений применимы к системе атомов и молекул, но не применимы к отдельному атому. Таким же образом и макромолекулы белков обладают рядом свойств, присущих всей молекуле в целом и ее окружению.

Белки тесно связаны с основными проявлениями жизни. Некоторые белки — кератин, коллаген и другие — являются важными, хотя и инертными компонентами живых организмов. Они входят в состав структурных и соединительных тканей — кожи, волос, шерсти, рогов, перьев, костей и т. д. — и обеспечивают взаимосвязь различных органов животного, их механическую целостность и защиту от внешних влияний.

Все химические процессы в клетке осуществляются при участии белков — *ферментов*. Белки осуществляют также контроль всех процессов жизнедеятельности любых живых организмов от простейших бактерий до человека. Ферменты являются основными участниками расщепления белков, поступающих в организм в виде пищи, на более мелкие структурные единицы — *аминокислоты* (см. п. 10.2) и построения из аминокислот новых белков, необходимых организму.

¹ Один дальтон соответствует молекулярной массе атома водорода.

Белки ответственны за клеточные и внутриклеточные движения. Сократительные белки — миозин, актин, тропомиозин и тропонин — входят в состав мышечных волокон, жгутиков и ресничек (у низших животных). Они осуществляют превращение химической энергии в механическую энергию разнообразных форм движения живых организмов.

Белки в комплексе с липидами клеточных и внутриклеточных мембран обеспечивают активный транспорт веществ в клетку и из нее. Они участвуют в процессе дыхания, обеспечивающем окисление пищи с целью обеспечения энергией всех потребностей живого организма.

Белковые молекулы гемоглобина переносят кислород к клеткам. Некоторые специальные белковые молекулы защищают организм от чужеродных белков, выполняя важную иммунологическую функцию. Все рецепторы органов чувств (зрения, слуха, обоняния, вкуса и т. д.) являются белками.

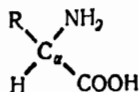
Все биологические процессы ускоряются и замедляются в живых системах под влиянием универсального механизма контроля, зависящего от способности белковых молекул переходить из одной формы в другую под влиянием слабых внешних воздействий.

§ 8. Структура белков

8.1. Аминокислоты

Белки являются полимерными молекулами очень большого молекулярного веса. Все поистине бесконечные в своем разнообразии белки, входящие в состав живых организмов на Земле, построены из небольшого числа (около 20) аминокислотных остатков. Молекулы аминокислот, входящие в состав живых систем на Земле (кроме глицина), оптически активны. Они вращают плоскость поляризации света влево и поэтому называются левыми.

Каждая аминокислота состоит из аминогруппы (NH_2) и карбоксильной группы (COOH), присоединенных к атому углерода, который называется α -углеродом и обозначается C_α . К этому атому присоединен также атом водорода и одна из 20 групп атомов, которыми аминокислоты отличаются друг от друга. Эту группу атомов принято обозначать буквой R и называть боковой цепью или радикалом. Таким образом, химическую формулу аминокислоты можно записать в виде



(8.1)

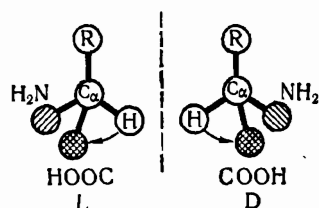


Рис. 10.
Зеркальные изомеры *L* и *D*
аминокислот:

● — азот; ● — ион ка-
лия.

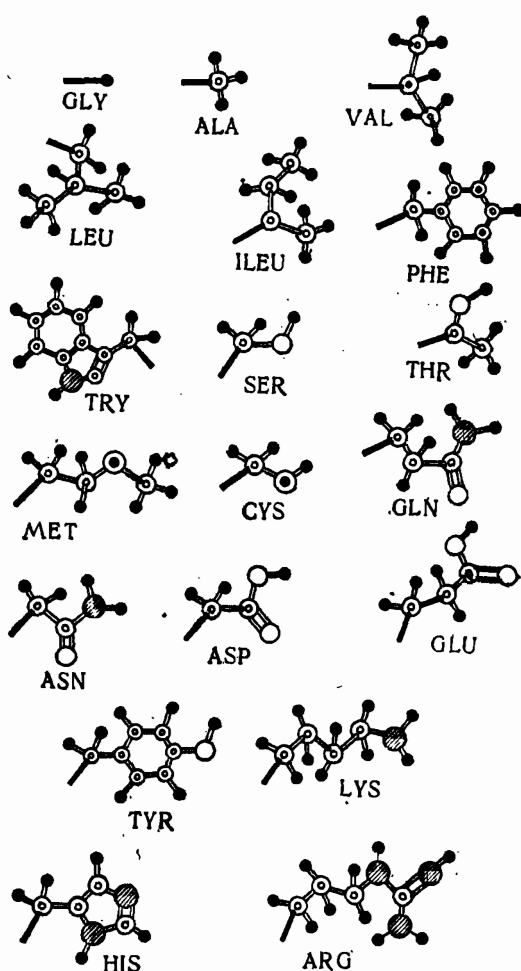


Рис. 11.
Структурные формулы бо-
ковых цепей (радикалов),
входящих в белковые моле-
кулы:

● — водород, ○ — кислород,
— углерод, ● — азот,
○ — сера, — связь с атомом C_{α}
полипептидной цепи.

На рис. 10 изображена пространственная структура двух пространственных изомеров аминокислот. Центральный атом углерода C_{α} , связанный одинарными связями (направленными к вершинам тетраэдра) с четырьмя атомами или группами атомов, называют *асимметричным атомом углерода*.

Оба зеркальных изомера *L* (левый) и *D* (правый) отличаются пространственным расположением атомов. Если смотреть со стороны радикала, то в *L*-изомере атом водорода, карбоксильная группа и аминогруппа расположены по ходу часовой стрелки. В *D*-изомере эти группы расположены в обратном порядке. Природные аминокислоты являются веществами *L*-ряда.

Таблица 6

№ п. п	Аминокислота	Обозначение		Химическая формула
		русское	международное	
Нейтральные				
1	Глицин	Гли	GLY	—H
2	Аланин	Ала	ALA	—CH ₃
3	Валин	Вал	VAL	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$
4	Лейцин	Лей	LEU	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
5	Изолейцин	Иле	ILEU	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_3 \text{H} \end{array}$
6	Фенилаланин	Фен	PHE	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{H} \end{array}$
7	Триптофан (+)	Три	TRY	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{HC} \quad \text{N} \quad \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{H} \end{array}$
8	Серин (+)	Сер	SER	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
9	Треонин (+)	Тре	THR	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Продолжение табл. 6

№ п. п	Аминокислота	Обозначение		Химическая формула
		русское	международное	
10	Метионин	Мет	MET	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{C}-\text{S}-\text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$
11	Цистеин (+) $\text{pK}_a \approx 9,0$	Цис	CYS	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{S}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
12	Глутамин (+)	Глун	GLN	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \end{array}$
13	Аспарагин (+)	Аспн	ASN	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O} \end{array}$
Кислотные				
14	Аспарагиновая кислота (+) $\text{pK}_a \approx 3,9$	Асп	ASP	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{O} \end{array}$
15	Глутаминовая кислота (+) $\text{pK}_a \approx 4,1$	Глу	GLU	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \quad \text{O} \end{array}$
16	Тирозин (+) $\text{pK}_a \approx 10,1$	Тир	TYR	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Щелочные				
17	Гистидин (+) $\text{pK}_a \approx 6,1$	Гис	HIS	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{C}=\text{CH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{H} \quad \text{HN} \quad \text{CH} \quad \text{NH} \end{array}$

Продолжение табл. 6

№ п. п	Аминокислота	Обозначение		Химическая формула
		русское	международное	
18	Лизин (+) $pK_a \approx 10,5$	Лиз	LYS	$ \begin{array}{ccccccc} & H & H & H & H & & \\ & & & & & & \\ - & C & - C & - C & - C & - NH_2 \\ & & & & & & \\ & H & H & H & H & & \end{array} $
19	Аргинин (+) $pK_a \approx 12,5$	Арг	ARG	$ \begin{array}{ccccccc} & H & H & H & & & \\ & & & & & & \\ - & C & - C & - C & - N & - H \\ & & & & & & \\ & H & H & H & & & \\ & & & & & C = NH \\ & & & & & \\ & & & & & NH_2 \end{array} $

Примечание. Крестиками отмечены полярные радикалы. Числа указывают константы ионизации.

В табл. 6 приведены химические формулы основных 19 радикалов, входящих в состав аминокислот. Их структурные формулы изображены на рис. 11. В некоторых случаях в состав белковых молекул могут входить вместо аминокислот иминокислота — пролин (Про), отличающаяся от аминокислот тем, что у нее к азоту присоединен только один атом водорода. Химическая формула пролина имеет вид



В водном растворе при некотором значении pH аминокислоты находятся в состоянии биполярного иона (цвиттериона):



При образовании цвиттериона (8.3) протон отщепляется от карбоксильной группы, тот же или другой протон из раствора присоединяется к аминогруппе. Молекула сохраняет нейтральность, однако приобретает большой электрический дипольный момент. Значение pH, при котором аминокислоты находятся в состоянии цвиттериона, называется *изоэлектрической точкой*. При понижении pH (добавление в раствор кислоты) протон из

раствора присоединяется к группе COO^- и молекула становится положительным ионом:



При повышении рН (добавление в раствор щелочи) происходит отрыв протона от аминогруппы в (8.3) и молекула приобретает отрицательный заряд:



Изменение рН раствора может также переводить и некоторые радикалы R в ионные состояния. У кислотных радикалов (табл. 6, № 14, 15) отщепляется протон. К щелочным радикалам (табл. 6, № 17—19) протон присоединяется.

8.2. Первичная структура белков

Живая материя строится из огромного количества разнообразных по величине, составу и форме белковых молекул. Например, в человеческом организме имеется более ста тысяч разных белков. Как отмечалось выше, все белки состоят из 20 более простых единиц, которые называются *аминокислотными остатками*.

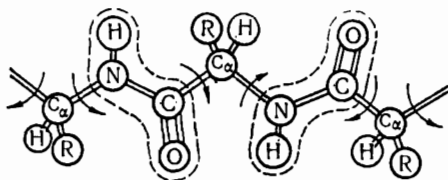
Образование белков из аминокислот происходит в клетках живых организмов путем последовательной полимеризации аминокислот в присутствии катализаторов. При каждом присоединении новой аминокислоты тратится от 0,14 до 0,21 эВ.

Полимеризация двух аминокислот сопровождается образованием молекулы воды при отщеплении водорода от аминогруппы одной аминокислоты и гидроксила OH от карбоксильной группы другой. При этом азот и углерод аминокислотных остатков соединяется между собой, образуя *пептидную связь*. Возникший димер имеет на одном конце аминогруппу, а на другом — карбоксильную группу и может таким же образом присоединить к себе третью аминокислоту. Этот процесс полимеризации при наличии соответствующих катализаторов и энергии может повторяться многократно.

Полимерные цепи (рис. 12), содержащие менее ста аминокислотных остатков, называются *полипептидами*. Образованные в живых системах полимерные цепи, содержащие более ста аминокислотных остатков, называются *белками*. Некоторые белки содержат сотни тысяч аминокислотных остатков.

Рис. 12.

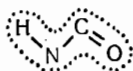
Полипептидная цепь с двумя пептидными группами (стрелками показаны возможные повороты вокруг одиночных связей).



Названия аминокислотных остатков, входящих в состав белков, образуются из названий соответствующих аминокислот путем прибавления окончания «ил». Например, остаток аминокислоты аспарагин называют аспарагином, остаток глутамина — глутамином, аланина — аланином и т. д.

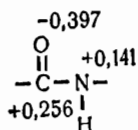
Специфичность полипептидов и белков определяется составом и последовательностью расположения аминокислотных остатков. Эта последовательность называется *первичной структурой белка*. Она записывается так, что свободная аминогруппа (N-концевая группа) располагается слева, а свободная карбоксильная группа (C-концевая группа) — справа. Запись начинается символом Н, затем указываются сокращенные обозначения последовательно расположенных аминокислотных остатков и заканчивается символом ОН. Например, Н — Вал — Лей — Глу — ... , Тир — Гли — Гли — ОН. Часто, однако, краевые символы Н и ОН в явном виде не выписываются.

Так как все аминокислотные остатки отличаются только радикалами, то белки являются квазипериодическими структурами. Четыре атома $\text{HNC}=\text{O}$, входящие в белковую молекулу (см. рис. 12) в виде повторяющихся структур



называются *пептидной* (или *амидной*) *группой* (рис. 13). Белок, состоящий из n аминокислотных остатков, содержит $n - 1$ пептидную группу.

Все атомы, входящие в состав пептидной группы, лежат в одной плоскости, что указывает на сопряженный характер пептидной связи между атомами N и C. Сопряжение осуществляется между π -электронами связи $\text{C}=\text{O}$ и неподеленной парой электронов атома азота. Частично двойной характер пептидной связи подчеркивается также тем, что ее длина (1,32 Å) значительно меньше длины (1,47 Å) ординарной связи между атомами N и C. Квантовый расчет показывает следующее распределение плотности электрического заряда около атомов пептидной группы:



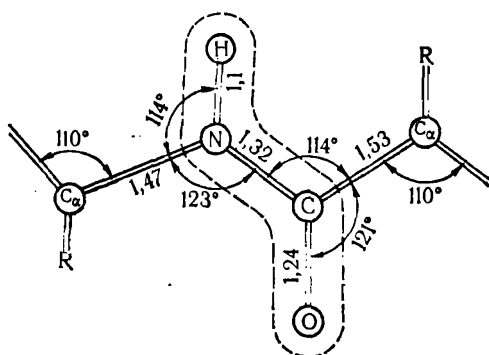


Рис. 13.

Пептидная группа в белковой цепи. В состав пептидной группы входят атомы Н, N, C, O, обведенные пиртиховой линией. Все они лежат в одной плоскости.

Таким образом, пептидная группа обладает дипольным электрическим моментом.

Одним из замечательных свойств клеток живых организмов является то, что они создают или поглощают аминокислоты и связывают их в нужной последовательности в разнообразные белковые молекулы. Некоторые одноклеточные организмы, например бактерии, способны синтезировать все необходимые им аминокислоты из простейшей пищи. Высшие животные потеряли способность создавать некоторые аминокислоты (триптофан, лизин и др.). Эти аминокислоты называют незаменимыми. Они должны быть получены с пищей. Например, человеку требуется около грамма незаменимых аминокислот в день. Такие аминокислоты получаются путем расщепления (переваривания) белков нужного состава, поступающих с пищей. Расщепление белков происходит в пищеварительной системе с помощью ферментов (см. п. 10.2).

Все белки в воде находятся в метастабильном состоянии. Их гидролиз — распад с присоединением молекул воды — происходит с выделением свободной энергии Гиббса, так как свободная энергия продуктов меньше свободной энергии расщепляемых белков. Из-за очень большого потенциального барьера такой энергетически допустимый распад происходит крайне медленно. Без ферментов переваривание пищи происходило бы в течение нескольких лет. С помощью ферментов расщепление белков осуществляется очень быстро в обход потенциального барьера.

Характерной особенностью пептидных групп является их способность образовывать водородные связи друг с другом, с молекулами воды и с другими молекулами, содержащими электроотрицательные атомы O, N, ...

Вследствие наличия простых одинарных связей каждой пептидной группы с соседними атомами углерода C_α плоскости пептидных групп могут поворачиваться вокруг этой связи относительно друг друга. Ограничение на повороты оказывает только вза-

имодействие между соседними радикалами (стерические препятствия).

Благодаря возможности вращения вокруг одинарных связей $C-S_{\alpha}$ и $C_{\alpha}-N$ (см. рис. 12) пептидная цепь оказывается весьма гибкой структурой. В растворе устанавливается форма, которая соответствует минимуму свободной энергии Гиббса, обусловленной внутримолекулярными взаимодействиями и взаимодействием с окружением. Образующаяся конфигурация белковой молекулы называется ее *вторичной структурой*.

8.3. Вторичная и более высокого порядка структуры белковых молекул

Биосинтез белковых молекул происходит в рибосомах клеток путем последовательного соединения пептидной связью аминокислотных остатков. Последовательность их расположения определяется молекулами ДНК, М-РНК и другими, несущими наследственную информацию. По мере синтеза полипептидная цепь как бы «выползает» из маленькой рибосомы в цитоплазму. В цитоплазме гибкая молекула белка принимает ту или иную форму — конформацию, или вторичную структуру, при сохранении всех ковалентных связей, обусловленных ее первичной структурой.

Сравнительная гибкость больших белковых молекул проявляется в наличии многих возможных конформаций, переходящих одна в другую при изменении внешних условий. Этим белковые молекулы существенно отличаются от малых органических молекул классической органической химии.

Одной из наиболее важных и интересных вторичных структур белковых молекул является α -спиральная структура, впервые установленная Полингом и Кори в 1953 г. [207]. Она возникает под действием внутримолекулярных водородных связей между пептидными группами молекулы белка.

Полинг и Кори показали, что α -спиральная структура, т. е. сворачивание пептидной цепи в спираль, обусловлена тремя цепочками водородных связей (рис. 14) между пептидными группами. Первая цепь связывает водород первой пептидной группы с кислородом четвертой, водород четвертой — с кислородом седьмой и т. д. Вторая цепь водородных связей осуществляется между водородом второй пептидной группы с кислородом пятой, водородом пятой — с кислородом восьмой и т. д. Третья цепь водородных связей осуществляется между водородом третьей пептидной группы с кислородом шестой, водородом шестой — с кислородом девятой и т. д. В результате образуется правая спираль с шагом 5,6 Å и диаметром 4,56 Å. Период спирали 27 Å. На пять оборотов спирали приходится 18 остатков аминокислот. Все радикалы располагаются с наружной стороны спирали.

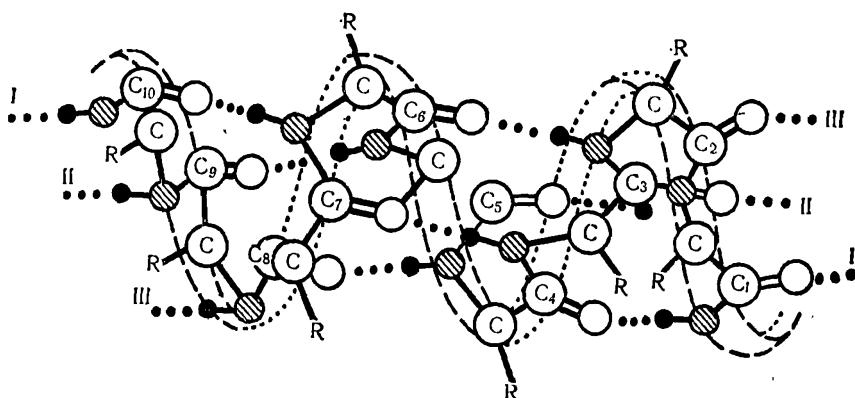


Рис. 14.

Три цепи водородных связей в α -спиральной молекуле белка:

○ — кислород; ● — водород; ▨ — азот; пептидные группы получают номера входящих в них атомов углерода.

Энергия образования одной водородной связи между пептидными группами порядка 0,21 эВ. Следовательно, эта водородная связь относится к типу слабых. О небольшой энергии связи свидетельствует и малое смещение характеристических инфракрасных колебаний атомов в пептидной группе. При образовании водородной связи частота колебаний N—H (3450 см^{-1}) и частота колебаний C=O (1630 см^{-1}) изменяются и становятся равными соответственно 3500 см^{-1} и 1660 см^{-1} (Амид I).

Колебание Амид I имеет энергию, равную 0,21 эВ, и большой электрический дипольный момент. Согласно измерениям Ю. Н. Чиргадзе и Е. П. Рашевской [65], величина дипольного момента равна 0,29D. Он направлен вдоль связи C=O. Поэтому исследование спектров инфракрасного поглощения в области длин волн 6000 Å позволяет судить о расположении этих связей и, следовательно, о расположении пептидных групп в молекуле. Ю. Н. Чиргадзе с сотрудниками [62—64, 98] разработали метод количественного анализа вторичной структуры белков в водных растворах и кристаллах, основанный на измерениях поляризации и интенсивности полосы поглощения, обусловленной колебаниями Амид I.

Белки и полипептиды, радикалы которых не содержат ароматических групп, поглощают свет в далекой ультрафиолетовой области спектра. Это поглощение обусловлено квантовыми переходами π -электронов пептидной группы, участвующих в образовании дополнительной связи между атомами C и N. Полосы поглощения соответствуют частотам $52\,600$, $60\,600$ и $66\,700\text{ см}^{-1}$. Наи-

более длинноволновая из них имеет энергию возбуждения приблизительно 6,52 эВ. Квантовый переход характеризуется большим дипольным моментом перехода (3,05D).

В α -спиральной молекуле белка эта полоса поглощения расщепляется на две полосы с максимумами в области длин волн 1980 Å и 1890 Å. Они поляризованы соответственно вдоль и поперек молекулы. Моффит (J. Chem. Phys., 1956, 25, 467) показал, что это так называемое давидовское расщепление обусловлено резонансным взаимодействием периодически расположенных в молекуле пептидных групп. Величина расщепления порядка 2500 см⁻¹.

Если в состав первичной структуры белка входит остаток аминокислоты — пролина (8.2), то соответствующая пептидная группа не имеет водорода, так как у пролина атом азота удерживает только один атом водорода, который отщепляется при образовании пептидной связи с выделением молекулы воды. Атом азота такой пептидной группы не может образовать водородную связь с атомом кислорода соседней группы. Поэтому в месте расположения пролина структура α -спирали нарушается — происходит «излом» спирали.

Изгибы спиральной структуры часто происходят также в местах нахождения остатка простейшей аминокислоты — глицина (Гли), радикал которого содержит только атом водорода. Такое нарушение спиральной структуры белковой молекулы наблюдается наиболее часто в окрестности остатка Гли, если с ним соседствуют остатки Сер, Асп, Арг.

Стабилизация структуры с нарушенными участками спиральной структуры (спираль с локальными изгибами) осуществляется за счет возникающих химических и водородных связей между боковыми радикалами соседних участков молекулы. Из химических связей наиболее существенна *дисульфидная связь* (S—S), возникающая между атомами серы двух радикалов. Такая связь может возникнуть при сближении и окислении (потеря атома водорода) цистеиновых остатков, содержащих группы SH. Возможны также связи между радикалами, содержащими карбоксильные группы, и другими радикалами, содержащими группы OH и NH.

В образовании вторичной структуры белка существенную роль играют и электростатические взаимодействия между радикалами, несущими электрические заряды. Отрицательные заряды получают радикалы остатков аспарагиновой и глутаминовой аминокислот при диссоциации в воде. Положительно заряжены остатки основных аминокислот: гистидил, лизил, аргинил. Процесс диссоциации зависит от pH среды.

Электрические взаимодействия между удаленными зарядами в значительной степени экранируются водой. Однако при сбли-

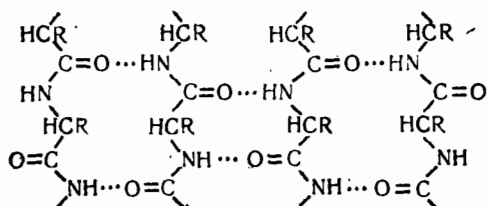


Рис. 15.
Бета-структура белковых молекул, состоящая из четырех антипараллельных цепей.

жении противоположно заряженных радикалов их гидратные оболочки разрушаются и возникают так называемые *солевые связи*. Выигрыш свободной энергии Гиббса при образовании солевых мостиков обусловлен как кулоновским взаимодействием, так и изменением структуры воды при разрушении гидратных оболочек.

Большинство белков при физиологическом значении pH несет суммарный отрицательный заряд. Некоторые белки в хромосомах содержат много лизина и аспаргина, поэтому при физиологических условиях они заряжены положительно.

При изгибах полипептидной цепи и последующем сближении отдельных ее участков возможно образование поперечных водородных связей между пептидными группами, а не продольных связей, приводящих к α -спиральной структуре. В этом случае оба участка полимерной цепи выстраиваются параллельно или антипараллельно друг другу (рис. 15). Такой тип водородных связей между пептидными группами называют β -формой. Он характерен для параллельно и антипараллельно уложенных полипептидных структур в белковых глобулах и в искусственно образованных полимерах: нейлоне, капроне и др.

В образовании стабильной формы белковой молекулы с нарушенными участками α -спиральной структуры существенную роль играют ее гидрофобные и гидрофильные взаимодействия с водой. Эти взаимодействия приводят к тому, что молекула сворачивается в клубок — глобулу, у которой на поверхности в основном располагаются участки с гидрофильными радикалами (глутамин, тирозин и др.), а внутри — с гидрофобными радикалами (лейцин, аланин, фенилаланин и др.).

Некоторые авторы к вторичной структуре белковой молекулы относят структуру, обусловленную только взаимодействиями между группами атомов внутри пептидной цепи (водородные, химические, ионные связи, дисульфидные мостики и т. д.). Конформацию всей молекулы белка, обусловленную ее взаимодействием с водным окружением, они относят к *третичной структуре*. Нам кажется такое разделение весьма условным.

В общем случае вторичная и третичная структуры белковой молекулы обусловлены ее первичной структурой, т. е. составом

и расположением аминокислотных остатков вдоль ее полипептидной цепи. Такая структура устанавливается после окончания синтеза всей белковой молекулы на рибосоме. Другими словами, в одинаковых внешних условиях белки с разной первичной структурой имеют и разные вторичную и третичную структуры — конфигурацию или конформацию¹. Такая конформация соответствует минимуму свободной гиббсовской энергии системы, состоящей из белковой молекулы и ее окружения. Поскольку форма белковой молекулы существенно зависит от ее взаимодействия с внешней средой (вода, другие молекулы), то один и тот же белок может иметь различную конформацию в разных внешних условиях.

В работах О. Б. Птицына [52] и ряда других авторов предложен метод предсказания вторичной структуры белка по его первичной структуре. Той же проблеме посвящены и исследования В. Лима [42]. В результате этих исследований установлено, что образование длинных спиралей возможно внутри глобулы из участков, содержащих гидрофобные группы. Спиральными будут также участки молекулы, расположенные на поверхности глобулы, если их гидрофобные радикалы направлены внутрь глобулы, а гидрофильные находятся в контакте с водой.

В некоторых случаях несколько пептидных цепей объединяются за счет дисульфидных мостиков, водородных и ионных связей и вандерваальсовых взаимодействий в единую молекулу. Таковы, например, молекулы гемоглобина, входящие в состав красных кровяных телец (эритроцитов) крови. Они состоят из четырех пептидных цепей (см. п. 9.1). В этом случае говорят о *четвертичной структуре* белковой молекулы.

К молекулам, обладающим четвертичной структурой, относятся многие ферменты, катализирующие биологические реакции в клетках (см. § 9). Например, фермент фосфорилаза, ответственный

¹ Мы будем пользоваться терминами конфигурация и конформация, не делая различия между ними. Иногда под конформационными изменениями понимают только изменения «схемы вторичных связей в молекуле», а конфигурационными изменениями предлагают называть изменения формы молекулы в пределах этой схемы вторичных связей [10]. Однако понятие «схема вторичных связей» весьма неопределенно. Если о наличии или отсутствии дисульфидных мостиков (S — S-связей), солевых мостиков и водородных связей можно говорить с некоторой определенностью, то вандерваальсовы, ионные, гидрофобные и гидрофильные взаимодействия имеются всегда и их роль в образовании вторичной структуры белковой молекулы весьма велика. Известно, что незначительное изменение слабых пелокальных (температура, pH) и локальных нехимических взаимодействий с другими молекулами и мембранами может довольно существенно изменить форму молекулы без изменения «схемы замыкания вторичных связей». Возникает также вопрос, к какому типу изменений формы следует относить переходы между цис- и транс-формами некоторых молекул.

ный за запасение и деградацию гликогена в клетках, состоит из двух пептидных цепей с молекулярной массой 96 000 дальтон. А фермент аспартилтранскарбомилаза, входящий в систему, синтезирующую цитидинтрифосфат (ЦТФ), состоит из 12 полимеров. Шесть из них имеют молекулярную массу 35 000 дальтон, а шесть других — 17 000 дальтон. Наличие белков с четвертичной структурой исключительно важно для их физиологической активности (см. п. 9.3).

Белковые молекулы иногда объединяются в более сложные структуры. Например, α -спиральные белковые молекулы часто скручиваются попарно во вторичные спирали. Глобулярные белковые молекулы могут сами образовывать спиральные структуры. Такова, например, структура актиновых нитей в мышечных волокнах (см. п. 19.2).

Вторичная и более высокого уровня структуры обусловлены слабыми водородными связями, гидрофобными, гидрофильными и вандерваальсовыми взаимодействиями. Поэтому эти структуры нарушаются при нагревании до 60—70° С. Для разрушения первичной структуры без участия ферментов необходимы более высокие температуры.

Процесс разрушения вторичной и более высокого уровня структур, при сохранении первичной структуры молекулы, называется *денатурацией белков*. Вареная и жареная пища содержит денатурированные белки. Денатурация белковых молекул может происходить и при ультрафиолетовом облучении, воздействии солей тяжелых металлов и некоторых органических соединений. При денатурации белок теряет свои биологические функции.

Возможно также значительное изменение структуры белковой молекулы («частичная денатурация») на поверхности воды и в местах раздела водной и неводной среды. Попав на поверхность воды, глобулярная молекула меняет свою форму. Она «развертывается» в двумерную структуру так, чтобы неполярные группы выступили из воды, а полярные и заряженные остались в воде. В результате такой «поверхностной денатурации» молекула глобулярного белка становится более реакционно способной, так как обнажаются группы, скрытые ранее в воде. Вообще говоря, изменение формы белковой молекулы будет происходить и на границе между водой и другой крупной молекулярной структурой, например ферментом.

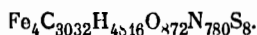
Обусловленное гидрофобными и гидрофильными взаимодействиями выстраивание белковых молекул происходит в биологических мембранах на границе между водной средой и двойным липидным (жировым) слоем (см. § 12).

§ 9. Некоторые биологические функции белков

9.1. Белки, запасрующие и переносящие кислород

У высших животных с помощью кровеносной системы кислород доставляется ко всем тканям, где требуется использовать химическую энергию окисления для выполнения различных физиологических функций. Кислород переносится красными кровяными тельцами крови (эритроцитами) от легких ко всем тканям.

Один эритроцит крови содержит около 280 миллионов белковых молекул гемоглобина. Относительная молекулярная масса такой молекулы равна 65 500 дальтон. В состав одной молекулы входит 9512 атомов:



Каждый из четырех атомов железа лежит в центре группы атомов (см. ниже), которая называется *гемом*. Гем придает крови красную окраску. Гем входит в состав белковой цепи, которая называется *глобином*. Четыре цепи глобинов состоят из двух тождественных пар. Две из них называются α -цепями, а две другие — β -цепями. Вместе четыре цепи содержат 574 остатка аминокислот и располагаются в виде тетраэдра. Из-за небольшого различия α - и β -цепей этот тетраэдр не вполне правилен. Молекула гемоглобина обладает почти сферической формой с размерами $64 \times 55 \times 50 \text{ \AA}$. Гемы имеют плоскую структуру и лежат в отдельных карманах, немного выступая на поверхность молекулы (рис. 16, а).

В мышцах позвоночных животных содержится более простая молекула *миоглобин* (рис. 16, б), состоящая только из одной полипептидной цепи с одним гемом, содержащим атом железа. Миоглобин входит в состав красных мышц. Он присоединяет и обратимо отдает молекулу кислорода, выполняя функцию резерва — хранителя кислорода. Этот кислород используется мышцей при резком увеличении мышечной деятельности и запасается в спокойном состоянии мышцы. Миоглобин придает мышцам красный цвет. Большое количество миоглобина содержится в организмах китообразных, проводящих длительное время под водой.

Структура молекулы миоглобина установлена Кендрию с сотрудниками [175] в 1957 г. на основе трудоемких рентгеноструктурных исследований. В 1962 г. за эти исследования Кендрию получил Нобелевскую премию в области химии.

Молекула миоглобина состоит из последовательно расположенных восьми α -спиральных участков, прерываемых искривлениями и нерегулярными областями. Спиральные участки выстраиваются так, чтобы неполярные белковые цепи аминокислотных остатков (их около 70) располагались внутри глобулы, не

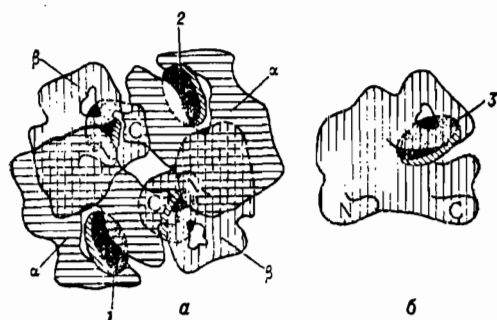


Рис. 16.

Схематическое изображение молекулы гемоглобина (а) и молекулы миоглобина (б).

Буквами N и C обозначены амидные и карбоксильные концы двух α-пептидных цепей. Диски 1—3 указывают расположение гемов.

соприкасаясь с водным окружением. Полярные группы (их около 74) и все боковые цепи, ионизируемые при физиологическом значении pH, располагаются на поверхности глобулы.

Миоглобины человека, тюленя, лошади и рогатого скота имеют одинаковую структуру. Атомы, входящие в состав гема, имеют плоскую структуру и лежат, погруженные в складку белковой цепи (глобина), содержащей 153 пептидные группы (см. рис. 16, б).

Гем представляет собой ферропротопорфирин (рис. 17) — порфириновый комплекс двухвалентного (или ферро) иона железа. Ион железа Fe^{2+} имеет шесть *d*-электронов и находится недалеко от центра плоского порфиринового кольца. В порфириновом кольце ион Fe^{2+} удерживается координационными связями с четырьмя атомами азота. Пятая координационная связь направлена перпендикулярно плоскости кольца, связывая ион железа с атомом азота остатка аминокислоты гистидина белковой группы молекулы. Шестая координационная связь либо свободна либо связывает молекулу кислорода.

Двухвалентный ион железа Fe^{2+} приобретает способность удерживать молекулу кислорода O_2 , когда он входит в состав гема и глобина. Один гем не присоединяет молекулярный кислород. Только специфическое окружение белком — глобином — делает такое обратимое присоединение возможным.

Процесс обратимого присоединения молекулы кислорода называется *оксигенацией*. Он не является процессом истинного окисления, который обусловлен отрывом электрона и переходом двухвалентного иона Fe^{2+} в трехвалентное ферри-состояние Fe^{3+} . Такое настоящее окисление происходит при извлечении иона Fe^{2+} из гема и соприкосновении его с воздухом. Процесс освобождения молекулы кислорода миоглобином называется *деоксигенацией*.

При оксигенации ион железа Fe^{2+} в миоглобине переходит в нулевое спиновое состояние (все шесть электронов попарно спарены) и смещается в плоскость порфиринового кольца. При освобождении молекулы кислорода ион Fe^{2+} выступает из плоскос-

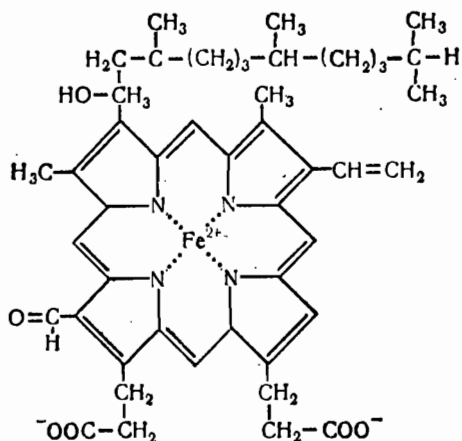


Рис. 17.

Ферропротопорфирин — порфириновый комплекс двухвалентного иона железа, входящий в состав гемов гемоглобина и миоглобина.

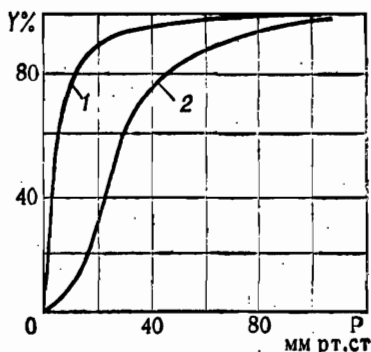


Рис. 18.

Зависимость оксигенации миоглобина (1) и гемоглобина (2) от парциального давления кислорода.

ти порфиринового кольца на $0,8 \text{ \AA}$ в направлении азота гистицила и увеличивает свой спин до двух. В этом состоянии спины двух d -электронов спарены, а спины остальных четырех d -электронов параллельны.

Степень оксигенации как функция парциального давления молекулярного кислорода описывается простой гиперболической кривой (рис. 18)

$$Y(P) = \frac{P}{K + P}. \quad (9.1)$$

Вначале количество присоединенного кислорода увеличивается линейно при возрастании давления кислорода, а затем скорость увеличения уменьшается, так как часть миоглобина уже присоединила кислород. Наконец, наступает насыщение — все молекулы миоглобина захватили кислород. В этом случае $Y(P) = 1$.

Трехмерная структура более сложной молекулы — гемоглобина — была установлена Перутцем и его сотрудниками [212—214] в 1959 г. после упорных 23-летних рентгенографических исследований монокристаллов гемоглобина в Кембриджском университете. В 1962 г. Перутц получил за эти исследования Нобелевскую премию в области химии.

Гемоглобин сравнительно легко выделяется и кристаллизуется. Монокристаллы гемоглобина содержат много воды. Это обеспечивает сохранение структуры глобулы в кристалле, поскольку пространственная структура гемоглобина, как и других белков, определяется в значительной степени его взаимодействием с

водным окружением. При обезвоживании кристаллы теряют свою регулярную структуру. Поэтому при исследованиях кристаллы сохраняются влажными в запаянных стеклянных капиллярах.

Перутцем и его сотрудниками были исследованы монокристаллы гемоглобина лошади с разрешением 2,8 Å как в оксигенированной, так и в дезоксигенированной формах.

Как уже отмечалось, гемоглобин в составе эритроцитов переносит кислород от легких ко всем тканям и частично участвует в переносе углекислого газа. Если бы не было носителя кислорода — гема — в крови, то литр артериальной крови мог бы растворить и перенести не более миллилитра кислорода. Присутствие гемов увеличивает это количество примерно в сто раз.

В гемоглобине четыре гема присоединены к четырем полипептидным цепям. Каждая из них очень похожа, хотя и не тождественна миоглобину. Присоединение молекулы кислорода происходит к каждому из четырех гемов. Реакция присоединения кислорода сопровождается изменением цвета крови. Гемоглобин, содержащий кислород, называют *оксигемоглобином*. Он придает крови ярко-алый цвет. Гемоглобин без кислорода имеет более темный цвет ¹.

При присоединении к гему молекула кислорода образует шестую координационную связь с ионом железа. Одновременно изменяется структура молекулы гемоглобина. Это изменение тщательно изучено Перутцем с сотрудниками [215, 216].

В α -цепях молекулы гемоглобина полость между спиральными участками, в которых помещается диск гема, достаточно широка, и молекула кислорода может присоединяться к иону железа без препятствий. В β -цепях полости, в которых находятся гемы, недостаточно широки для беспрепятственного вхождения молекулы кислорода. Присоединение кислорода в этом случае осуществляется после конформационного изменения молекулы, вызванного присоединением кислорода к α -цепям.

Оксигенация начинается с присоединения молекулы кислорода к иону железа одной из α -цепей. В порфириновом кольце расстояние от центра до атомов азота равно 2,01 Å. В геме без кислорода расстояние от иона Fe^{2+} до атомов азота равно 2,061 Å. Поэтому ион железа выступает на 0,8 Å из плоскости порфиринового кольца в направлении атома азота соседнего гистидинового остатка.

Значение спина иона железа Fe^{2+} в геме без кислорода равно 2. При присоединении молекулы кислорода спин иона железа уменьшается до нуля. Изменение электронного состояния иона железа увеличивает его связь с атомами азота. Это приводит к уменьшению расстояний между ионом и атомами азота до значений

¹ Крабы, омары и некоторые другие беспозвоночные имеют сине-зеленый пигмент крови гемоцианин, который в пиримидиновом кольце вместо железа содержит медь.

1,99 Å и смещению иона железа в плоскость порфиринового кольца. Одновременно также уменьшается на 0,9 Å расстояние от атома азота гистидинового остатка до плоскости кольца.

В молекуле гемоглобина главные соединения между четырьмя цепями осуществляются с помощью солевых мостиков между концевыми группами NH_3^+ и COO^- двух α - и двух β -цепей. Энергия одного солевого мостика приблизительно равна $(4,3 \div 8,6) \times 10^{-2}$ эВ. Переход иона железа при присоединении молекулы кислорода в низкоспиновое состояние, его смещение в плоскость порфиринового кольца и смещение атома азота гистидинового остатка к плоскости кольца, приводят к перемещению спирального участка гемоглобина этой цепи к центру глобулы. Это смещение выталкивает тирозиновый остаток цепи из области, где он находился, что приводит к разрыву двух солевых мостиков, соединяющих эту цепь с соседней α -цепью.

Присоединение второй молекулы кислорода ко второй α -цепи вызывает дальнейшее конформационное изменение молекулы гемоглобина, сводящееся к расширению полостей, в которых находятся гемы β -цепей. Вследствие этого возникает возможность присоединения молекул кислорода и ими.

Рентгенографическими исследованиями Перутца и его сотрудников установлено, что при присоединении трех молекул кислорода к гемоглобину происходит разрыв мостиков, соединяющих β -цепи, и смещение обеих цепей друг относительно друга так, что расстояние между ионами железа их гемов увеличивается от 33,4 Å до 40,3 Å. В контактах $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_2$ происходит сдвиг на 1 Å, а в контактах $\alpha_1\beta_2$ и $\alpha_2\beta_1$ — на 7 Å. При этом, однако, общий объем молекулы уменьшается. Описывая это изменение объема молекулы, Перутц отмечает, что изменение формы молекулы гемоглобина позволяет думать, что она «дышит», но парадоксально то, что она расширяется не когда поглощает кислород, а когда его освобождает.

Уменьшение объема молекулы связано с тем, что в оксигемоглобине в результате относительного смещения β - и α -цепей уменьшаются расстояния между атомами, входящими в состав этих цепей. Число атомов в цепях α_1 и β_1 , находящихся на вандерваальсовых радиусах, увеличивается от 98 до 110, а число контактов между атомами цепей α_1 и β_2 — от 69 до 80.

Изменение четвертичной структуры молекулы гемоглобина при присоединении трех молекул кислорода увеличивает вероятность присоединения четвертой молекулы в 70 раз по сравнению с вероятностью присоединения первой молекулы. Это замечательное свойство молекулы гемоглобина отражает взаимосвязь четырех структурных ее единиц. В результате такой взаимосвязи физиологическая активность молекулы гемоглобина носит положительный кооперативный характер. Положительная коопера-

тивность проявляется в том, что зависимость степени оксигенации от парциального давления P кислорода описывается не гиперболической функцией (9.1), как в случае миоглобина, а функцией

$$Y_+(P) = \frac{P^\alpha}{K + P^\alpha}, \quad \alpha = 2,8, \quad (9.2)$$

которая на графике имеет S-образную форму (см. рис. 18). Это свойство функции присоединения кислорода к гемоглобину открыто еще в XIX ст. датским физиологом Х. Бором.

Особенность функции (9.2) состоит в том, что в некоторой области значений P она имеет перегиб. В этой области незначительные изменения P приводят к очень большим изменениям $Y_+(P)$. Такая особенность степени оксигенации гемоглобина имеет важное физиологическое значение. Чтобы увеличить степень оксигенации от 10 до 90% относительно величины насыщения в миоглобине, не обладающем положительной кооперативностью, нужно 81-кратное изменение давления кислорода. Для гемоглобина в таком случае необходимо только трехкратное увеличение давления. Положительная кооперативность гемоглобина позволяет ему брать полную нагрузку кислорода в легких, перенести и отдать его почти целиком тканям даже в том случае, когда давление кислорода изменяется незначительно. Парциальное давление кислорода в альвеолах легких, артериях и тканях соответственно равно 105, 100 и 40 мм рт. ст. Потеря положительной кооперативности мутантным гемоглобином сопряжена с очень тяжелым заболеванием.

Кроме структурных изменений при присоединении молекулы кислорода к гему происходит отщепление протонов от гистидилов, расположенных в контакте с гемом. Это явление также было открыто Бором и носит название *эффекта Бора*. Поскольку вероятность отщепления протонов от гистидилов зависит от концентрации протонов в растворе (т. е. от значения pH), то сродство гемоглобина кислороду также должно зависеть от pH среды. Оно максимально при pH 9 и минимально при pH 6.

Гемоглобин также участвует в переносе углекислого газа CO_2 от тканей обратно в легкие. Парциальное давление CO_2 в тканях равно 60 мм рт. ст. В венах оно ниже (примерно 47 мм рт. ст.) и еще меньше в легких (около 35 мм рт. ст.). Молекулы CO_2 свободно проникают через клеточные мембраны.

Ионы железа не участвуют в переносе молекул CO_2 . Только часть углекислого газа присоединяется непосредственно к глобину. Большая же часть переносится красными кровяными тельцами и неклеточной составной частью крови в форме бикарбоната. Перенос бикарбоната облегчается эффектом Бора — присоединением протонов (исчезновение кислотных групп) в глобинах

молекул, освобожденных от кислорода. При захвате молекулой кислорода в легких протоны освобождаются, кислотность восстанавливается, это приводит к освобождению бикарбоната. В свою очередь, присутствие бикарбоната и молочной кислоты в тканях ускоряет освобождение кислорода молекулами гемоглобина.

9.2. Биокатализаторы — ферменты

Одно из наиболее важных свойств всех живых организмов (бактерий, растений и животных) состоит в способности к обмену веществ. Обменом веществ, или *метаболизмом*, называется химическая деятельность клеток, обеспечивающая их существование, рост, возбудимость, подвижность, воспроизведение, приспособление к изменяющимся условиям. Обмен веществ у всех живых организмов осуществляется при помощи особых молекул — *биологических катализаторов*.

Катализом называется явление ускорения химической реакции без изменения ее общего результата. Биологические катализаторы синтезируются клетками и называются *ферментами*. Некоторые ферменты состоят только из белка, обычно свернутого в глобулу. Многие другие ферменты состоят из двух компонентов. Основная непременная компонента состоит из полипептидных цепей (белок) и называется *апоферментом*. Вторая компонента состоит из органических молекул меньших размеров и называется *коферментом*. В этом случае каталитическое действие проявляет только совместная система: апофермент и кофермент. Часто в состав коферментов входят ионы некоторых элементов (магний, железо, кобальт, медь и др.), тогда их называют *протетическими группами*. Каталитическое действие некоторых ферментов проявляется только в присутствии некоторых ионов (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- и др.).

Хопкинс одним из первых обратил внимание на центральную роль ферментов в катализе химических реакций в клетке. В 1929 г. за открытие стимулирования роста витаминами ему была присуждена Нобелевская премия. Витамины обычно входят в состав более крупной молекулы, функционирующей в качестве кофермента.

Молекулы, подвергающиеся действию ферментов, называются *субстратами*. Образующиеся в результате каталитической реакции вещества называются *продуктами*. Название ферментов связывается с реакцией, которую они катализируют. Обычно фермент называют именем субстрата, на который он действует, с прибавлением суффикса «аза». Например, фермент, расщепляющий сахарозу на глюкозу и фруктозу, называется сахаразой.

Ферменты отличаются от обычных катализаторов в неживой природе исключительно высокой эффективностью и большой спе-

цифичностью. Во многих случаях фермент катализирует только одну вполне определенную реакцию. Клетка средних размеров содержит около 3000 различных ферментов. Каждый из них катализирует отдельную химическую реакцию. Многие ферментативные процессы представляют собой последовательность нескольких реакций, в которых образуются промежуточные продукты.

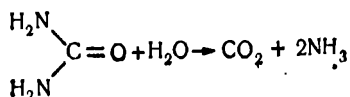
Субстрат образует связь с небольшим вполне определенным участком поверхности фермента, который называется *активным центром*. Однако за каталитические свойства ответственна вся огромная молекула фермента. Белки, действующие как ферменты, имеют относительную молекулярную массу от 10 до 100 тысяч дальтон. Еще большие значения относительных молекулярных масс соответствуют случаям, когда фермент состоит из нескольких белковых субъединиц.

Субстратами обычно являются соединения с относительной молекулярной массой от 100 до 1000 дальтон. Иногда ферменты действуют на очень большие молекулы, такие как ДНК, целлюлоза и др. При этом только малая часть этих молекул присоединяется к активному центру фермента. При связи фермента с субстратом образуется промежуточный комплекс, который затем распадается на первоначальный фермент и продукты реакции.

Ферментативная активность является одной из наиболее важных биологических функций глобулярных белков. Контролируемые ферментами реакции лежат в основе всех явлений жизни: роста, дыхания, мышечного сокращения, проведения нервного возбуждения, пищеварения, фотосинтеза, фиксации азота и др. Ферменты регулируют (ускоряют и замедляют) все биологические процессы: биосинтез других молекул и самих ферментов, процесс запасаания и использования химической энергии, процесс перемещения ионов через мембраны в сторону увеличения концентрации и т. д.

Фермент не может вызвать новых реакций. Он лишь ускоряет те реакции, которые возможны и без участия фермента, однако без фермента они происходят исключительно медленно из-за больших энергетических барьеров.

Комплекс фермент + субстрат существует временно — порядка нескольких миллисекунд. Он не влияет на равновесие реакции между начальным и конечным продуктом, определяемое только разностью их свободных гиббсовских энергий. Однако благодаря образованию комплекса фермента с субстратом скорость протекания реакций увеличивается во много раз. Например, гидролиз мочевины



хотя и сопряжен с выделением энергии около 0,6 эВ, в обычных условиях происходит крайне медленно, так как требует большой энергии активации. Фермент уреазы ускоряет эту реакцию в 10^7 раз.

Обычно эффективность фермента с повышением температуры возрастает, а затем резко падает, так как происходит денатурация белка. Для температур ниже температуры денатурации зависимость константы скорости реакции от температуры выражается эмпирической формулой (закон Аррениуса)

$$K = A \exp(-E^*/RT), \quad (9.3)$$

где E^* — энергия активации одного моля субстрата, или энергетический барьер реакции; R — газовая постоянная; T — абсолютная температура.

Согласно формуле (9.3), каталитическое действие фермента на химическую реакцию сводится формально к уменьшению энергии активации — снижению энергии потенциального барьера. Это весьма условное определение действия фермента. Оно не отражает молекулярного механизма протекания процесса ферментативного катализа, как и любое другое рассмотрение, использующее феноменологическое термодинамическое описание с помощью параметров равновесных состояний. Полное понимание явления возможно только на пути объединения термодинамического описания с описанием на молекулярном уровне структурных преобразований, происходящих с молекулами фермента, субстрата и продуктов реакции.

Согласно законам термодинамики, при постоянном давлении и температуре в химической реакции ($C \rightleftharpoons A + B$) распада молекулы C на молекулы A и B устанавливаются равновесные молярные концентрации $[C]_p$, $[A]_p$, $[B]_p$, определяемые изменением стандартной гиббсовской свободной энергии¹

$$\Delta G_0 = G_0(A + B) - G_0(C)$$

с помощью формулы

$$K \equiv \frac{[A]_p [B]_p}{[C]_p} = \exp(-\Delta G_0/RT), \quad (9.4)$$

¹ Напомним, что стандартная свободная энергия G_0 относится к стандартным условиям. Для чистых веществ (жидких, твердых и газообразных) стандартные условия соответствуют температуре 25°C и нормальному давлению. Для веществ, находящихся в растворе, в качестве стандартной принята концентрация в 1 моль при 25°C . Согласно (9.4) изменение стандартной свободной гиббсовской энергии связано с константой равновесия реакции соотношением

$$\Delta G_0 = -RT \ln K. \quad (9.4a)$$

При условиях, отличающихся от стандартных, изменение свободной гиббсовской энергии определяется равенством

$$\Delta G = \Delta G_0 + RT \ln \frac{[\text{продукты реакции}]}{[\text{реагирующие вещества}]}. \quad (9.4b)$$

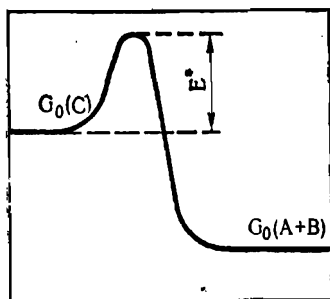


Рис. 19.

Энергетическая схема реакции $C \rightarrow A + B$ при отрицательном изменении стандартной гиббсовской свободной энергии G_0 и энергетическом барьере E^* .

где K — константа равновесия реакции. При отрицательном значении ΔG_0 распад молекулы C энергетически выгоден (рис. 19).

Если первоначальные концентрации не удовлетворяют равенству (9.4), то реакция будет происходить до тех пор, пока оно не установится. Однако законы термодинамики не могут определить время установления равновесия в системе. В ряде случаев из-за большого потенциального барьера реакции с большим отрицательным изменением стандартной свободной энергии годами и десятилетиями не могут достичь равновесия.

Если бы не было энергии активации, то все химические реакции в живых организмах немедленно пришли бы в равновесие. Все белковые молекулы распались бы на аминокислоты, и живые существа деградировали бы с переходом в наиболее вероятное состояние, соответствующее минимуму свободной гиббсовской энергии. Ферменты необходимы для регулирования как скорости реакций, так и последовательности их осуществления.

Как отмечалось, ферменты могут ускорять только энергетически возможные реакции, т.е. реакции, протекающие при постоянных давлении и температуре с уменьшением свободной гиббсовской энергии. Большое значение в живой природе имеют контролируемые ферментами реакции с повышением свободной гиббсовской энергии, если они сопрягаются с другими реакциями, компенсирующими повышение свободной энергии реакций первого типа. В качестве примера такой сопряженной реакции с компенсацией увеличения свободной энергии рассмотрим реакцию синтеза сахарозы ($C_{12}H_{22}O_{11}$) — тростникового или свекловичного сахара — из молекул глюкозы $C_6H_{12}O_6$ и фруктозы¹ $C_6H_{12}O_6$. Эту реакцию можно записать в виде



Самопроизвольно эта реакция может протекать только справа налево с выделением 0,24 эВ свободной гиббсовской энергии. Чтобы ее обратить, надо компенсировать это изменение свободной энер-

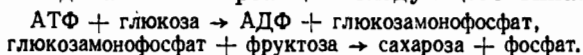
¹ Природной смесью равных количеств глюкозы и фруктозы является мед.

гии. Биологические организмы для этого используют молекулы аденозинтрифосфата (АТФ), которые в водной среде, теряя одну из своих фосфатных групп (см. § 15), превращаются в молекулы аденозиндифосфата (АДФ),



с изменением свободной энергии $\Delta G_0 = -0,32$ эВ, достаточным для компенсации увеличения свободной энергии реакции (9.5).

Чтобы осуществить реакцию синтеза сахарозы, надо осуществить ее одновременно с реакцией (9.6). Это сопряжение достигается с помощью промежуточного состояния, каким является молекула глюкозамонофосфата (молекула глюкозы с присоединенной к ней фосфатной группой). Осуществляется реакция синтеза сахарозы с помощью ферментов, обеспечивающих достаточную скорость последовательных реакций следующего типа:



Таким образом, положительное изменение свободной энергии при синтезе сахарозы оказалось скомпенсированным отрицательным ее изменением при превращении молекулы АТФ в молекулу АДФ. Молекула сахарозы в растворе находится в метастабильном состоянии и не распадается быстро из-за большого потенциального барьера. Аналогичный принцип сопряжения реакций лежит в основе синтеза белков из аминокислот и ряда других химических реакций в живых системах.

Итак, если реакция не может протекать самопроизвольно, то подключение новой реакции с большим выделением свободной энергии Гиббса может вызвать эту реакцию, если обе реакции имеют общий промежуточный компонент. Скорость течения таких реакций определяется соответствующими ферментами.

При осуществлении энергетически невыгодных реакций в клетках используется сопряжение их с реакцией (9.6) гидролиза молекул АТФ. Сопряжение этой реакции с другими осуществляется путем передачи фосфатной группы. Такой процесс называется *фосфорилированием*. Процесс фосфорилирования — перенос фосфатной группы — играет важную роль в сопряжении химических реакций типа сборки макромолекул из мономеров.

Для объяснения специфики работы ферментов Фишер в 1894 г. предложил гипотезу жестких шаблонов, или статической системы «ключ — замок», согласно которой фермент может выполнять каталитические действия только в том случае, когда форма субстрата точно соответствует форме реактивного центра фермента. Объясняя некоторые факты, эта гипотеза не могла объяснить многие особенности ферментативных реакций.

Вопрос о структурном соответствии фермента и субстрата подробно изучен в работах А. А. Баландина [5,6], развившего так называемую мультиплетную теорию катализа.

Для объяснения механизма действия фермента Эринг, Ламри и Спайкс [126] в 1954 г. предложили механизм «дыбы». Процесс разрыва некоторых связей в молекуле субстрата они объясняют натяжениями, возникающими в субстрате при его одновременном присоединении в нескольких местах фермента. При этом трудно объяснить освобождение продуктов реакции, поскольку для разрыва связи путем натяжения необходимо прочное присоединение субстрата к ферменту.

Широкое применение методов флуоресцентных и спиновых меток позволило установить [187], что присоединение субстрата к активному центру фермента может существенно изменить окружение метки, присоединенной в другом месте фермента. Было доказано, что локальные микрохимические изменения белковой молекулы — присоединение низкомолекулярного лиганда¹, окисление или восстановление иона переходного металла в активном центре и т. п. — способны приводить к существенным конформационным перестройкам биополимеров. Гипотеза нестатического, а индуцированного структурного соответствия между ферментом и субстратом активно развивалась Кошландом [179].

Согласно современным представлениям молекулы фермента и субстрата являются динамическими системами. Они меняют свою структуру в процессе создания комплекса фермент + субстрат и в процессе его распада на фермент и продукты реакции. Следовательно, соответствие фермента и субстрата является динамическим, а не статическим типа «ключ — замок».

Каталитическое и регуляторное действие ферментов в значительной степени определяется их трехмерной структурой и «гибкостью», т. е. возможностью перестройки. «Гибкость», или «податливость», формы фермента обусловлена сравнительно малым энергетическим барьером для скручивания белкового каркаса вокруг ординарных связей. По оценкам Шераги, этот барьер равен 0,03 эВ для связи N—C_α, 0,009 эВ для связи C_α—C и около 0,13 эВ для связи C—C в боковых цепях (радикалах). Поворот вокруг связи C—N в пептидной группе, вызывающий нарушение ее плоского строения, требует 0,9 эВ. Согласно расчетам Рамачандры и Сасихеран, изменение длины ковалентной связи в белковой молекуле на 0,1 Å требует 0,22 эВ энергии, а изменение угла между связями на 5° требует около 0,01 В энергии.

Процесс каталитического действия фермента начинается с присоединения субстрата к поверхности фермента в области активного центра. В присоединении могут участвовать как вторичные силы (ионные, вандерваальсовы, водородные), так и ковалентные. Для каталитического действия необходима строго определенная

¹ Лигандом называется любая молекула, взаимодействующая с белковой молекулой и связанная с ней. В частности, лигандом является субстрат.

ориентация субстрата по отношению к ферменту, которая осуществляется присоединением не в одной точке, а в некоторой области поверхности фермента. При этом возможна конформационная перестройка как этой области фермента, так и удаленных от нее частей. Образующиеся конформации системы фермент + субстрат определяются минимумом свободной энергии Гиббса этой системы.

Гиббсон и Шерага отмечают, что при определении устойчивой конформации надо учитывать и вклад, вносимый в свободную энергию колебаниями атомов относительно равновесных положений. Этот вклад зависит от «мягкости» колебаний и гибкости структуры. Такой учет в некоторых случаях может изменить относительную роль нескольких устойчивых состояний.

Представление о гибкости формы ферментов указывает, что малые молекулы и ионы, не вступая сами в химическую реакцию, могут изменить форму фермента так, что он будет способен выполнять каталитическую функцию с соответствующим субстратом. Этим можно объяснить тот факт, что некоторые ферменты активны только в присутствии определенных катионов: Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Co^{2+} и др. Эти ионы называются *коферментами*. Иногда в качестве активаторов — коферментов — выступают сложные органические соединения. В некоторых случаях такие молекулы, присоединенные далеко от активного центра, могут вызывать нужное его изменение. Нужное индуцированное изменение перемещается по ферменту «подобно ряду падающих domino».

Таким образом, согласно гипотезе о конформационном преобразовании ферментов, должны существовать «регуляторные» молекулы, которые, не участвуя в химической реакции, могут контролировать активность ферментов, изменяя их форму. В биологических системах наиболее важной группой таких молекул являются *гормоны*. Выделяясь в малых количествах, они играют исключительную роль в процессах регуляции в клетке. Поскольку гормоны не расходуются, они могут оказывать действие снова и снова. Иногда, как в случае адреналина, первоначальные гормоны индуцируют образование вторичных молекул, которые и действуют как регуляторы работы ферментов, изменяя их форму.

Все гормоны — органические вещества. Некоторые из них — белки, другие — более простые соединения (аминокислоты и стероиды). Гормоны синтезируются в клетках некоторых органов (эндокринные железы) живого организма. Путем диффузии или с потоком крови они переносятся к другим частям организма, где регулируют и координируют действие клеток даже при ничтожно малых концентрациях. Таким образом, гормоны обеспечивают химическую координацию во всем организме, дополняя координацию, осуществляемую нервной системой. В отличие от

быстрой регуляции со стороны нервной системы, регуляция гормонами осуществляется медленно и длительно.

Некоторые молекулы, присоединяясь к ферментам, изменяют их форму так, что нарушается либо каталитическая функция, либо функция присоединения. Такие молекулы называются *ингибиторами*. Если ингибиторы образуют с ферментом стойкое соединение, то их действие необратимо.

В некоторых случаях ингибитор прекращает каталитическую функцию фермента путем присоединения к активному центру. В этом случае говорят, что происходит конкурентное ингибирование. Если место активного центра и место присоединения ингибитора расположены на разных участках поверхности фермента, то говорят о неконкурентном ингибировании.

Место на поверхности фермента, к которому присоединяется регулирующая молекула — активатор или неконкурентный ингибитор, называется регулирующим, или *аллостерическим центром*. Название «аллостерический» было введено французским биохимиком Моно. Оно означает «другое место». Конформационное изменение аллостерического центра при присоединении регулирующей молекулы вызывает изменение активного центра.

Данные о конформационных изменениях ферментов при присоединении регулирующих молекул и субстратов получаются в результате исследований химических изменений и рентгенографических спектров. Такие исследования показали, что в ряде случаев изменение формы передается вдоль белковой молекулы на расстояния порядка 40—60 Å. Существенно, что в глобулярном ферменте передача изменения формы направлена в определенную область (активный центр), при этом другие области остаются неизменными. Величина смещений атомов в активном центре порядка 1—10 Å.

По-видимому, рецепторные белковые молекулы, входящие в органы чувств (зрение, обоняние, вкус, слух и др.), также меняют свою конформацию под влиянием внешних воздействий (свет, молекулы, звуковые колебания и др.), что и приводит к возникновению соответствующих нервных импульсов.

9.3. Аллостерические ферменты. Кооперативность

Среди ферментов особое место занимают ферменты, обладающие четвертичной структурой, т. е. состоящие из нескольких субъединиц, каждая из которых может проявлять каталитические свойства. В этом случае присоединение субстрата к одной или нескольким субъединицам изменяет свойства активных центров других субъединиц. Следовательно, сами молекулы субстрата оказывают регулирующее (аллостерическое) действие на молекулу фермента. Поэтому такие ферменты называются *аллостерическими*.

Аллостерический эффект представляет собой важнейший механизм обратной связи на молекулярном уровне. Возможно, аллостерическими свойствами обладают функциональные белки биологических мембран и сократительные белки.

Согласно современным представлениям, в основе аллостерических эффектов лежит возможность передачи конформационных изменений вдоль белковых молекул. Выяснение на молекулярном уровне характера таких изменений и возможностей их передачи без нарушений со стороны теплового движения является одной из центральных задач биофизических исследований.

Классическим примером аллостерических изменений конфигурации белковой молекулы при присоединении лигандов является молекула гемоглобина (см. п. 9.1).

Аллостерический эффект обычно связан с кооперативностью каталитического действия фермента. Известно три типа конформационных изменений фермента при присоединении субстрата.

1. Первая молекула субстрата изменяет субъединицу фермента, к которой она присоединена, но не изменяет других субъединиц, поэтому они присоединяют субстраты так же, как и первая. В этом случае отсутствует кооперативное действие. Зависимость числа $N(C)$ катализируемых субстратов от их концентрации $[C]$ изображается гиперболической кривой

$$N(C) = \frac{[C]}{K + [C]}, \quad (9.7)$$

2. Первая молекула субстрата, изменяя конформацию первой субъединицы, изменяет и конформацию соседних так, что они становятся более восприимчивы к присоединению и катализу субстрата, чем первая. Присоединение второго субстрата еще более усиливает такую восприимчивость и т. д. в зависимости от числа субъединиц в ферменте.

В этом случае зависимость числа катализируемых субстратов $N(C)$ от их концентрации $[C]$ изображается S-образной кривой

$$N_+(C) = \frac{[C]^\alpha}{K + [C]^\alpha}, \quad \alpha > 1. \quad (9.8)$$

Следовательно, фермент проявляет положительную кооперативность.

3. Первая молекула субстрата, присоединяясь к одной из субъединиц фермента, вызывает конформационное изменение, которое индуцирует в других субъединицах изменения активных центров, делающие их менее привлекательными для субстратов. Следовательно, присоединение других молекул субстрата менее благоприятно, чем первой молекулы. Зависимость числа катализируемых субстратов от их концентрации изображается кривой

$$N_-(C) = \frac{[C]^\alpha}{K + [C]^\alpha}, \quad \alpha < 1. \quad (9.9)$$

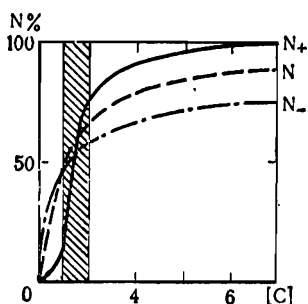


Рис. 20.

Три типа кооперативности ферментов: кривые N_+ и N_- соответствуют положительной и отрицательной кооперативности фермента; кривая N характеризует действие фермента, не проявляющего кооперативности.

В этом случае говорят, что фермент обладает отрицательной кооперативностью [179].

Отрицательная кооперативность впервые была обнаружена Конвеем и Кошландом в 1968 г. при исследовании фермента глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы. Позднее отрицательная кооперативность была обнаружена и у других ферментов. На рис. 20 изображены три кривые, характеризующие процент насыщения N ферментов субстратами в зависимости от их концентрации. Из рисунка следует, что при изменении концентрации в два раза (от 1 до 2) в случае положительной кооперативности полное насыщение фермента изменяется от 12 до 78%, при отрицательной кооперативности — от 48 до 60%, а при отсутствии кооперативности — от 40 до 68%.

Особенно большой положительной кооперативностью обладает фермент, преобразующий уридинтрифосфат (УТФ) в цитидинтрифосфат (ЦТФ). Он состоит из четырех субъединиц. Изменение концентрации субстрата в 1,5 раза изменяет его уровень активности от 10 до 90%. С другой стороны, ферменты с отрицательной кооперативностью весьма мало чувствительны к изменению окружающей среды.

В нескольких случаях фермент обладает несколькими активными центрами для катализа разных субстратов. Так, например, исследуя фермент СТР-синтетазу, Ливитский и Сталлкан в Калифорнийском университете обнаружили, что каждая его субъединица имеет активные центры для присоединения трех субстратов: уридинтрифосфата (УТФ), аденозинтрифосфата (АТФ) и глутамина. Кроме того, имеется также место для присоединения активатора — молекулы гуанозинтрифосфата (ГТФ).

Молекула ГТФ активирует фермент путем повышения эффективности реакционного центра глутамина на той же субъединице. Одновременно происходит дезактивация ГТФ активного центра на другой субъединице. При этом активные центры для субстратов АТФ и УТФ своей субъединицы остаются неизменными. Таким образом, эффект присоединения глутамина проявляется на

расстояниях 40—60 Å и не вызывает изменения расположенных на расстоянии 4—5 Å других активных центров [179].

Фермент ЦТФ-синтетаза проявляет большую положительную кооперативность по отношению к субстратам АТФ и УТФ. Присоединение первой молекулы АТФ изменяет форму молекулы так, что последующие молекулы АТФ присоединяются очень быстро. В связи с этим можно обнаружить только свободные ферменты и ферменты, присоединившие четыре молекулы АТФ. Эта положительная кооперативность указывает, что фермент очень чувствителен к малым изменениям количества молекул АТФ. Наоборот, активатор — молекула ГТФ — вызывает конформационные изменения, приводящие к отрицательной кооперативности. Следовательно, фермент мало чувствителен к большим флуктуациям концентраций ГТФ в окружающей среде. Полная нечувствительность могла бы привести к синтезу молекул ЦТФ в отсутствии активатора ГТФ. Это нежелательно, так как обе молекулы ЦТФ и ГТФ необходимы для синтеза молекул РНК. Таким образом, свойство кооперативности позволяет повысить и понизить чувствительность ферментов по отношению к некоторым субстратам, активаторам и ингибиторам.

Параллелизм между активаторами и ингибиторами и положительной и отрицательной кооперативностью не должен затемнять их дополнительную роль. Активатор включает действие фермента, ингибитор его выключает. Кооперативность обуславливает повышение и ослабление чувствительности фермента к изменению числа этих регуляторов. По отношению к активаторам ферменты могут не иметь кооперативности или иметь положительную или отрицательную кооперативность. То же справедливо по отношению к ингибиторам и субстратам.

Все виды контроля в биологических системах осуществляют ферментами, антителами, рецепторами и другими молекулами, в состав которых входят белки. Во всех этих случаях процесс регуляции непосредственно связан с конформационными изменениями молекул.

Несмотря на исключительную важность ферментативного катализа, аллостерического эффекта и явления кооперативности в биологических процессах, теоретическое описание этих явлений на молекулярном уровне еще отсутствует. В большинстве современных моделей, рассматривающих взаимодействие белков с лигандами, используется феноменологическое термодинамическое описание. Оно относится только к равновесным состояниям и не объясняет явлений на молекулярном уровне.

В теоретических исследованиях Ваймана, например, рассматривается равновесие нескольких молекул одного или большего числа лигандов s , которые могут присоединиться к белковой молекуле, имеющей несколько мест присоединения. Проводится

теоретическое вычисление функции насыщения Y , молекулы лигандом типа s . Под функцией насыщения понимается равновесное число лигандов, присоединившихся к молекуле. Иногда теория обобщается на случай, когда белковая молекула может иметь несколько конфигураций. Однако в теории не делается явных предположений ни о природе этих конфигураций, ни о характере взаимодействия лигандов с молекулой.

Используемое в теории статистическое описание требует отказа от индивидуализации элементов ансамбля. При этом, однако, теряется возможность исследования многих физиологических свойств биологических систем, которые, как правило, весьма гетерогенны. Их биологические функции существенно зависят от состава и пространственного расположения отдельных элементов, между которыми действуют весьма разнообразные силы.

Скорость реакций, катализируемых ферментами, зависит от концентрации фермента, субстрата и необходимых регуляторов (кофакторов). Для повышения скорости катализа в клетке высокая концентрация метаболитов поддерживается не во всей клетке, а в отдельных ее отсеках, где происходят реакции.

Если несколько ферментов катализируют цепь реакций, в которой продукт первой реакции служит субстратом для второй и т. д., то говорят, что эти ферменты образуют мультиферментную систему. В этом случае повышение скорости катализа обеспечивается тем, что ферменты присоединяются к мембране на возможно меньшем расстоянии. К мультиферментам относятся различные системы транспорта электронов (цепь дыхательных ферментов, цепь ферментов, осуществляющих перенос электронов при фотосинтезе, ферменты, осуществляющие биосинтез некоторых липидов и т. д.).

Пространственная близость соседних компонентов мультиферментных систем имеет особое значение в тех случаях, когда в реакциях образуются нестабильные промежуточные продукты. Например, в процессе транспорта электронов по дыхательной цепи митохондрий образуются свободные радикалы, такие как семихиноны. В свободном виде в растворе семихиноны существуют очень малое время, поэтому уменьшение расстояния, проходимого при их диффузии, крайне важно.

Многие ферменты связаны с внутренней или внешней поверхностью мембраны. Они катализируют реакции, целиком протекающие по одну сторону мембраны. Имеются также ферменты, проходящие через всю толщу мембраны. Они принимают субстрат на одной стороне мембраны и выделяют продукт на противоположной стороне. Такие ферменты называются *векторными*. Вследствие ограниченной проницаемости мембраны векторные ферменты обеспечивают образование концентрационных градиентов. Примером такой системы является $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - \text{АТФаза}$ плазм-

матических мембран, вызывающая векторное движение ионов Na^+ и K^+ в противоположных направлениях, если на внутренней стороне мембраны имеются ионы Mg^{+2} , АТФ и Na^+ , а на наружной поверхности мембраны K^+ . Убаин ингибирует эту реакцию только со стороны внешней поверхности мембраны.

9.4. Контроль биохимических реакций

Поведение живых организмов отличается большой приспособляемостью к изменяющимся окружающим условиям. Эта приспособляемость обусловлена саморегуляцией интенсивности протекающих в них биохимических реакций. В ответ на повышенную необходимость в расходе кислорода при интенсивной работе сердце увеличивает частоту сокращений; при приеме пищи увеличивается интенсивность выделения пищеварительных ферментов; повышение количества сахара в крови вызывает увеличение секреции инсулина поджелудочной железой; порез кровеносного сосуда вызывает преобразование протромбина в тромбин, который приводит к созданию тромба в месте пореза и т. д.

Способностью к саморегуляции обладает не только организм в целом, но и его отдельные клетки. Каждая клетка является автоматической саморегулирующейся системой. Она экономно извлекает из внешней среды нужные химические вещества и освобождается от переработанных продуктов. В клетке синтезируются белки, липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты, в клетке же происходят химические преобразования, обеспечивающие ее энергией.

Различные процессы, происходящие в клетке, взаимосвязаны и требуют тщательной регуляции. Такая регуляция осуществляется посылкой определенных сигналов, которые воспринимаются особыми приемниками, преобразующими сигналы в активные действия.

В биологических системах интенсивность химических реакций определяется наличием соответствующих ферментов. При этом процесс регуляции деятельности ферментов может осуществляться двумя путями: изменением концентрации ферментов и изменением активности ферментов (активация и ингибирование).

Моно с сотрудниками [197] в Пастеровском институте в Париже открыл явление подавления активности ферментов при повышении концентрации продуктов реакции выше некоторого уровня. Они как бы посылают сигналы ферментам о том, что дальнейшее повышение их концентрации не нужно. Было обнаружено, что когда среда, в которой культивировались бактерии *E. coli*, содержала избыток аминокислоты триптофана, клетки прекращали синтез фермента триптофансинтетазы, который участвует в синтезе этой аминокислоты.

Такой же эффект наблюдался при исследовании Умбергером и его сотрудниками синтеза бактерией *E. coli* аминокислоты изолейцина ILEU. Молекулы ILEU, меченые радиоактивными атомами, добавлялись в среду, в которой культивировались бактерии. Оказалось, что при увеличении концентрации молекул ILEU выше некоторой предельной бактерии прекращают синтез этих молекул. Таким образом, концентрация молекул ILEU являлась сигналом, контролирующим их синтез.

Умбергер с сотрудниками показал, что присутствие избытка аминокислоты проявляется в двух процессах: 1) подавляется активность ферментов, участвующих в синтезе аминокислоты; 2) прекращается синтез самих ферментов. Выяснилось также, что эти два механизма регуляции действуют совершенно независимо.

Влияние концентрации молекул на процесс их синтеза клетками обнаружен не только у бактерий, но и у клеток других организмов. Иногда повышение концентрации некоторых молекул вызывает не подавление, а повышение активности ферментов. Например, избыточное количество глюкозы приводит к повышению активности ферментов, участвующих в образовании запасов гликогена.

Ферменты синтезируются на бактериальных хромосомах. Моно и Жакоб в Пастеровском институте показали, что скорость синтеза фермента контролируется «регуляторным геном» хромосомы, а его структура — «структурным геном». Оба гена пространственно разделены в хромосоме.

Парди, Жакоб и Моно далее показали, что процесс контроля скорости синтеза фермента осуществляется регуляторным геном путем синтеза «репрессивных» молекул, которые контролируют эффективность структурных генов. Действие репрессивных молекул на структурный ген не прямое. Они присоединяются к особому месту хромосомы — «оператору». После присоединения репрессивной молекулы к оператору, он выключает действие структурного гена и, следовательно, прекращает синтез фермента. Процесс повышения скорости синтеза ферментов сводится к подавлению активности репрессора.

Зависимость активности ферментов от концентрации продуктов реакции была отмечена еще в 1950 г. сотрудниками Чикагского университета Новиком и Спилардом. Они показали, что избыток триптофана в бактерии *E. coli* немедленно останавливает его синтез. Следовательно, сигнал о избытке триптофана подавляет активность уже имеющихся ферментов.

Умбергер показал, что при увеличении концентрации молекул изолейцина выше определенного уровня они ингибируют первый фермент в цепи синтеза. Оказалось, что процесс ингибирования не требует затраты энергии.

Контролирующая система может не только подавлять, но и

повышать активность ферментов. Примером «положительного» контроля является запасание и использование клеткой животного крахмала — гликогена. Клетки животных запасают энергию в форме гликогена. Гликоген синтезируется от его предшественника — глюкоза-6-фосфата с помощью трех ферментов. Вначале глюкоза-6-фосфат преобразуется в глюкозу-1-фосфат, затем глюкоза-1-фосфат преобразуется в уридиндифосфатглюкозу. Наконец, последний преобразуется в гликоген.

Когда клетка хорошо снабжается пищевыми продуктами, она производит много глюкоза-6-фосфата. Большое количество этих молекул служит сигналом для стимулирования синтеза гликогена. Этот сигнал действует на третью ступень процесса — активирует фермент, преобразующий уридиндифосфатглюкозу в гликоген.

С другой стороны, когда снабжение клетки пищевыми продуктами падает, возникает необходимость использования запасенного гликогена. Это осуществляется путем активации фермента гликогенфосфорилазы, который расщепляет гликоген. Фермент активизируется молекулами аденозинмонофосфата (АМФ). Молекулы АМФ являются продуктами гидролиза молекул аденозинтрифосфата АТФ при совершении клеткой какой-либо работы. Накопление молекул АМФ указывает, что клетка использовала энергетический источник в виде молекул АТФ. Молекула АМФ активирует гидролиз гликогена, выделяемая энергия используется для синтеза молекул АТФ.

В некоторых случаях ингибирование и активация осуществляется одновременно. Например, при синтезе нуклеиновых кислот используется строго одинаковое число пуриновых и пиримидиновых оснований. Гергарт и Парди показали, что, хотя эти основания синтезируются при участии разных ферментов, они действуют согласованно. Повышение концентрации пуриновых оснований подавляет активность ферментов, участвующих в их синтезе, и активирует ферменты, участвующие в синтезе пиримидиновых оснований. Повышение концентрации пиримидиновых оснований вызывает обратный эффект.

Как правило, ферменты, участвующие в процессах регуляции, относятся к типу аллостерических (см. п. 9.3), т. е. проявляют свойства кооперативности.

На основании анализа экспериментальных данных Моно, Жакоб и Шанже пришли к заключению, что передача сигнала от регулирующей молекулы к ферменту (активация или ингибирование) осуществляется с помощью непрямого (аллостерического) эффекта [97]. Места присоединения регулирующей молекулы и субстрата пространственно разделены.

«Передача сообщения» от регулирующей молекулы к ферменту сводится к его конформационному изменению. В качестве

подтверждения этого заключения Шанже [97] указывает на эксперименты Герхарта, которые показали, что фермент транскарбомилазы имеет места присоединения для субстрата и ингибитора на разных субъединицах молекулы. После разъединения субъединиц одна из них может присоединить только субстрат, а другая — только ингибитор.

§ 10. Ферменты с известной пространственной структурой

10.1. Лизоцим

В 1922 г. Флеминг, который в 1929 г. открыл знаменитый пенициллин, обнаружил фермент, разрушающий клетки некоторых бактерий путем растворения их оболочек, и назвал его *лизоцимом*.

Лизоцим вырабатывается клетками животных. Он оказался первым ферментом, у которого была установлена пространственная структура. Подобно многим ферментам лизоцим является белковой молекулой. Ее первичная структура — состав и последовательность расположения аминокислотных остатков — найдена биохимическими методами Джолесом и его сотрудниками в Парижском университете и Канфильдом в Колумбийском университете.

Они установили, что молекула лизоцима представляет собой одну полипептидную цепь, состоящую из 129 аминокислотных остатков 20 разных типов. Молекула свернута в глобулу с максимальным размером около 40 Å. В четырех местах глобулы имеются дисульфидные связи между аминокислотными остатками (CYS) с номерами 6—127; 30—115; 64—80; 76—94. Нумерация остатков начинается от аминного конца. Всего в состав молекулы лизоцима входит 1950 атомов.

Физиологическая функция фермента зависит от его вторичной структуры — пространственной конфигурации. Пространственная конфигурация лизоцима была найдена в 1962 г. Филлипсом с сотрудниками в Лондонском королевском институте с помощью рентгеноструктурного метода. Они использовали также метод изомерного замещения, разработанный в 1953 г. Перутцем и примененный Кендрию и Перутцем при анализе структуры миоглобина и гемоглобина. Этот метод сводится к приготовлению и изучению ряда белковых кристаллов, в которых введено небольшое число тяжелых атомов (ртуть, уран) без нарушения структуры кристалла. Положения тяжелых атомов, имеющих большую плотность электронов, хорошо регистрируются рентгеноструктурным методом и служат реперными точками. Кристаллы лизоцима содержали около 35% (по весу) воды. В связи с этим окруже-

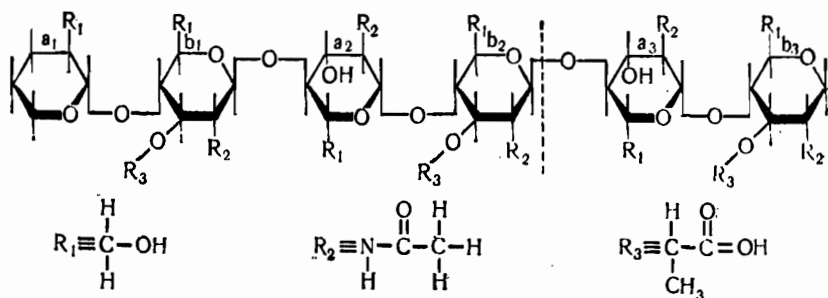


Рис. 21.

Шестиугольная молекула полисахарида, содержащая два типа (а и б) остатков сахаров.

Штриховая линия указывает место разрыва молекулы, осуществляемого ферментом лизоцимом.

ние молекул водой мало отличалось от естественного окружения в растворе.

С разрешением в $2 \text{ \AA}$ было установлено (см. обзорную статью Филлипса [219]), что молекула лизоцима содержит три длинных α -спиральных участка, содержащих аминокислотные остатки с номерами 5—15 (ARG—CYS—GLU—LEU—ALA—ALA—ALA—MET—LYS—ARG—HIS); 24—34 (SER—LEU—GLU—ASN—TRY—VAL—SYS—ALA—ALA—ALA—LYS—PHE); 86—96 (SER—ASP—ILEU—THR—ALA—SER—VAL—ASN—CYS—ALA—LYS). Имеется также несколько коротких спиральных участков с номерами 80—85, 119—122 и др.

Альфа-спиральные участки в молекуле лизоцима несколько деформированы так, что имеют симметрию третьего порядка. Кроме α -спиральных участков с водородными связями между пептидными группами, направленными вдоль цепи, имеются водородные связи между пептидными группами антипараллельно уложенных цепей остатков с номерами 41—45 и 54—50 (структура антипараллельной β -формы, см. п. 8.3). Одиночная водородная связь между первым остатком (LYS) и сороковым (THR) выделяет первые сорок аминокислотных остатков в компактную группу.

Общая структура молекулы лизоцима подтверждает правило, что аминокислотные остатки с кислотными (ASP, GLU) и основными (LYS, ARG, HIS) боковыми цепями, способные к диссоциации в воде, расположены на поверхности глобулы. Неполарные, гидрофобные, боковые цепи (LEU, ILEU), прикрытые от воды более полярными частями молекулы, расположены в глубине глобулы.

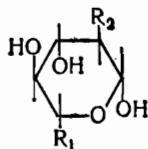
Аминокислотные остатки 1—85 и 97—129 образуют два «крыла» молекулы, между которыми размещаются α -спиральный

участок с номерами остатков от 86 до 96. Его гидрофобные боковые цепи погружены внутрь молекулы. Этот спиральный участок не полностью заполняет разрыв между двумя «крыльями». Остается глубокая «расщелина», которая является активным местом фермента.

Субстратом фермента лизоцима являются полисахаридные молекулы, входящие в состав стенок некоторых бактериальных клеток. Эти полисахаридные цепи образованы перемежающимися остатками двух родов аминоксахаридов, соединенных между собой мостами (гликозидные связи), образованными кислородными атомами. На рис. 21 изображен шестичленный полисахарид такого типа. Лизоцим также расщепляет полисахариды (с числом колец, большим четырех), обнаруженные в клетках омаров и содержащие только остатки аминоксахаридов типа *a*.

Присоединяясь к ферменту, полисахарид располагается вдоль «расщелины», образуя сложную сеть водородных связей. Исследование использованными рентгеноструктурными методами конформационных изменений при образовании комплекса фермент + субстрат невозможно из-за кратковременности существования такого комплекса. Эту трудность Филлипс с сотрудниками пытались обойти, исследуя кристаллы лизоцима в комплексах с несколькими конкурирующими ингибиторами.

Конкурирующим ингибитором лизоцима являются молекулы ацетилглюкозамина



и полисахарид, образованный из трех остатков этой молекулы. При присоединении этих ингибиторов к лизоциму образуются устойчивые комплексы, структура которых может быть исследована рентгеновскими методами. На основе таких исследований удалось установить конформационные изменения фермента, обусловленные связью с ингибитором, и сделать заключение о механизме ферментативного действия молекулы лизоцима.

Было установлено, что лизоцим разрывает гликозидную связь шестичленного полисахарида (см. рис. 20) между аминоксахаром b_2 и аминоксахаром a_3 .

Связь разрывается между атомом углерода аминоксахара b_2 и атомом кислорода гликозидной связи. Разрыв связи осуществляется путем присоединения к атому углерода и к атому кислорода соответственно водорода и группы OH, полученных из молекулы воды. Филлипс и его сотрудники указывают, что в процессе

расщепления существенную роль должны играть атомы кислорода аминокислотных остатков ASP52 и GLU35, лежащих на противоположных склонах «расщелины» фермента, в которую попадает молекула субстрата.

Следует отметить исключительно большое значение проведенных исследований, позволивших подойти к качественному объяснению механизма действия фермента на молекулярном уровне. Однако проведенные исследования еще не дают полной картины механизма действия фермента и происходящих при этом конформационных изменений. Исследование устойчивых комплексов фермента с ингибиторами может дать, в некотором приближении, сведения о первой фазе ферментативного действия — присоединении субстрата.

Однако остается невыясненным вопрос о механизме расщепления молекулы субстрата и о происходящих при этом конформационных изменениях как фермента, так и субстрата. Совершенно неясна и третья стадия процесса — освобождение продуктов реакции. Возможно, что выяснению этих вопросов могли бы помочь теоретические исследования некоторых модельных систем, учитывающих установленную структуру фермента и субстрата и принимающих во внимание их взаимодействия между собой и водой.

Теоретическое вычисление конформационных изменений макромолекул, в частности ферментов и субстратов при ферментативных реакциях, является одной из важных задач теоретической биофизики. Естественно, что проведение расчетов конформационных изменений таких больших макромолекул при учете взаимодействий между всеми ядрами и электронами абсолютно невозможно.

Поэтому расчеты проводятся при неизбежных значительных упрощениях. Предлагались многочисленные эмпирические и полумэмпирические расчетные схемы, использующие феноменологические потенциальные функции, характеризующие взаимодействия между молекулами и их фрагментами. Вычислению статистической суммы системы фермент — растворитель посвящены работы Шераги и других исследователей. При таких расчетах исследователи встречаются со значительными математическими трудностями. Надежность вычислений подвергается большим сомнениям, так как трудно установить пределы применимости полученных результатов.

Если не пытаться определить форму и полную энергию фермента, а только их изменения, то, принимая во внимание, что при ферментативном катализе первичная структура фермента не меняется, можно учитывать только слабые взаимодействия между группами атомов, не связанных химическими силами. Такая схема вычислений предлагалась Ладиком [182]. Однако практические вычисления этого типа удалось провести только при учете взаимодействий между сравнительно малым числом групп.

10.2. Семейство ферментов, расщепляющих белки

В процессе жизнедеятельности в протоплазме клеток даже у нерастаущих организмов происходит разрушение и синтез белков из аминокислот. Для синтеза белка определенного типа клетка должна иметь все аминокислоты, входящие в состав белка. Часть этих аминокислот синтезируется самой клеткой, некоторые же (незаменимые) должны извлекаться из пищи. Во время пищеварения белки, поступающие в организм, расщепляются на отдельные аминокислоты, из которых клетка синтезирует нужные ей белки.

Процесс расщепления белков осуществляется различными ферментами, каждый из которых действует на пептидные связи, граничащие с определенными боковыми цепями аминокислот. У всех животных, от самых низших до наиболее сложно организованных, химия пищеварения и участвующие в ней ферменты очень сходны. Эти ферменты синтезируются клетками. У простейших организмов (состоящих из одной клетки) синтез ферментов и пищеварение происходят в пределах этой же клетки. У многоклеточных животных синтез ферментов осуществляется внутри клеток, а пищеварение происходит в особой пищеварительной системе.

При расщеплении белков на каждую пептидную связь затрачивается молекула воды. Водород присоединяется к азоту одной части, а группа OH — к углероду другой части, в результате образуются две пептидные цепи с аминогруппой и карбоксильной группой на концах. Поскольку процесс расщепления белка связан с поглощением молекул воды, он называется *гидролизом*. Расщепление пептидных белков не требует затраты энергии, но требует обязательного участия ферментов.

Ферменты — *экзопептидазы* — расщепляют только пептидные связи, соединяющие концевые аминокислоты с остальной пептидной цепью. Из них карбоксипептидаза отщепляет аминокислоту от свободной концевой карбоксильной группы, а аминопептидаза отщепляет аминокислоту от свободной концевой аминогруппы.

Ферменты — *эндопептидазы* — расщепляют только пептидные связи внутри пептидных цепей. К этим ферментам относятся: *пепсин*, *трипсин*, *химотрипсин* и *эластаза*. Пепсин проявляет наибольшую активность в кислой среде ($\text{pH} 2$). Он расщепляет пептидные связи, примыкающие к гидрофобным аминокислотным остаткам Tyr и Phe , содержащим ароматические кольца.

Химотрипсин расщепляет пептидные связи, примыкающие к большому гидрофобному боковому цепям аминокислотных остатков (Tyr , Phe , Met , Leu , ...). Эластаза расщепляет только пептидные связи, примыкающие к малым гидрофобным боковым це-

пям аминокислот GLY, ALA и SER. Наиболее селективным пищеварительным ферментом является трипсин. Он разрывает только связи, соседние с лизинном или аргинином. Боковые цепи этих аминокислот сравнительно велики, гидрофильны и несут положительный электрический заряд в щелочной среде. Трипсин и химотрипсин проявляют наибольшую активность в щелочной среде $pH \approx 8$.

Пепсин выделяется в желудок слизистой оболочкой желудка, а трипсин и химотрипсин выделяются в двенадцатиперстную кишку поджелудочной железой. Однако для предотвращения переваривания белков клеток, в которых они синтезируются, пищеварительные ферменты синтезируются и выделяются не в готовом виде, а в форме неактивных предшественников — *пепсиногена*, *трипсиногена* и *химотрипсиногена*.

В пищеварительном тракте от предшественников пищеварительных ферментов отщепляются небольшие пептидные цепи, и они превращаются в активные ферменты. Пепсиноген с относительной молекулярной массой 42 500 превращается в пепсин с молекулярной массой 34 500 под действием имеющейся в желудке соляной кислоты, а также самого пепсина. Превращение трипсиногена в трипсин катализируется ферментом *энтерокиназой*. Этот фермент выделяется в очень малых количествах слизистой оболочкой желудка. Его функция состоит только в активации нескольких молекул трипсиногена. Образующиеся молекулы трипсина сами активируют другие молекулы трипсиногена и химотрипсиногена.

Из трех эндопептидаз — трипсина, химотрипсина и эластазы — пространственная структура фермента химотрипсина была определена первой. Это удалось сделать с помощью рентгеноструктурного анализа Блоу и его сотрудникам в Кембриджском университете. Затем группой Ватсона в Бристольском университете была определена пространственная структура фермента эластазы. Строуд, Кей и Дикерсон в Калифорнийском технологическом институте установили [234, 181] трехмерную структуру фермента трипсина. Исследование трехмерной структуры трипсина было особенно трудным из-за исключительной активности фермента. В щелочной среде в течение нескольких минут молекулы трипсина расщепляют друг друга.

Пространственное строение всех трех ферментов в основных чертах одинаково [234]. Каждая глобула стабилизируется шестью дисульфидными связями, водородными связями и гидрофобными взаимодействиями.

Еще до выяснения трехмерной структуры этих ферментов было установлено, что они теряют активность, если каким-либо образом изменить аминокислотные остатки: серин 195 и гистидин 57. Следовательно, можно было думать, что они входят в состав

активного центра фермента. Молекула трипсина состоит из 223 аминокислотных единиц. По причине, которая будет указана ниже, нумерация аминокислот в полипептидной цепи фермента начинается от концевой аминогруппы, которой приписывается номер 16.

После определения трехмерной структуры химотрипсина выяснилось, что и аспарагиновая кислота 102 также входит в состав активного центра фермента. Эти три аминокислотных остатка расположены сравнительно далеко друг от друга (на 57, 102 и 195-м местах) вдоль полипептидной цепи. Однако в ферментах, вследствие сворачивания полипептидных цепей, они оказываются соседними и действуют совместно при расщеплении субстратов.

Каталитическое действие ферментов проявляется при вполне определенном расположении фермента и субстрата. Это достигается присоединением субстрата к нескольким точкам поверхности фермента, включающим и его активный центр. Такая область фермента ответственна за «узнавание» своего субстрата.

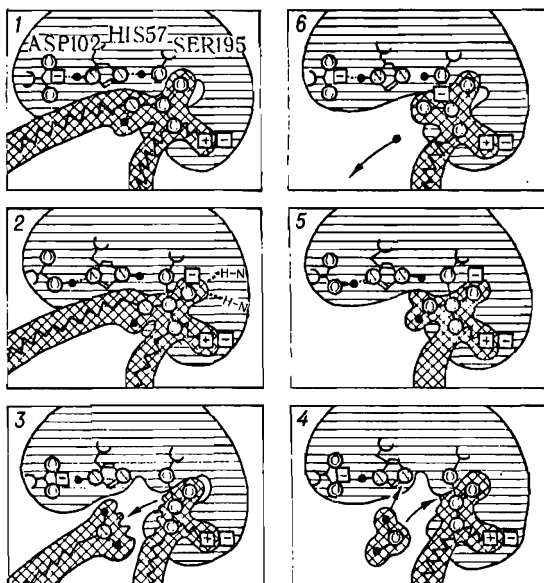
При исследовании пространственной структуры химотрипсина было найдено, что вблизи активного центра имеется глубокий гидрофобный «карман» на поверхности фермента. Блоу и его сотрудники предположили, что именно в этот карман входят большие гидрофобные боковые цепи субстратов, на которые действует фермент. Закрепление боковой цепи в кармане и взаимодействие с соседними местами активного центра обеспечивает точное расположение субстрата. Таким образом, глубокий гидрофобный карман на поверхности фермента отбирает для катализа только определенные места в полипептидной цепи.

Аналогичное место «узнавания» имеется и у двух других эндопептидаз. В ферменте эластазы такой карман частично блокирован боковыми цепями аминокислотных остатков с номерами 216 и 226. Поэтому он может присоединить нужным образом гидрофобные боковые цепи аминокислотных остатков GLY, ALA и SER, имеющих малые размеры.

В трипсине приемный карман не блокирован, но на его дне имеется боковая цепь аспарагиновой аминокислоты, несущая отрицательный электрический заряд. Поэтому трипсин катализирует только пептидные цепи, соседние с лизином или аргинином, боковые цепи которых имеют положительный электрический заряд.

Исследование характера присоединения субстрата к ферменту кристаллографическими методами невозможно, так как комплекс фермент + субстрат сохраняется только в течение сотых долей секунды. В связи с этим проводится исследование стабильных комплексов ферментов с соответствующими ингибиторами — малыми пептидными молекулами, присоединяющимися к активному центру.

Рис. 22.
Механизм каталитического разрыва ферментом пептидной связи N—C (по Строуду [234]).



Согласно Строуду [234], механизм работы фермента трипсина можно описать следующим образом. На первой стадии полипептидная цепь субстрата присоединяется к ферменту так, что боковая цепь аминокислотного остатка ARG или LYS с положительным зарядом входит в карман фермента с отрицательным зарядом. При этом соседняя пептидная группа HNCО присоединяется к активному центру, образованному аминокислотными остатками SER 195 и HIS 57 (рис. 22, 1).

Гидролиз пептидной связи начинается, когда кислород гидроксильной группы SER 195 образует химическую связь с углеродом пептидной группы субстрата. При этом двойная связь $C=O$ в пептидной группе превращается в одинарную и углерод переходит в состояние тетраэдрической валентности с отрицательным зарядом на кислороде. Протон гидроксильной группы SER 195 образует химическую связь с правым атомом азота HIS 57, что приводит к перестройке водородной связи левого атома азота HIS 57 с атомом кислорода ASP 102 (рис. 22, 2).

Образовавшееся промежуточное состояние неустойчиво. Водород от азота HIS 57 переходит к азоту пептидной цепи. Пептидная связь разрывается. Двойная связь между углеродом и кислородом снова восстанавливается. Остатки HIS 57 и ASP 102 возвращаются к первоначальному состоянию (рис. 22, 3), и первый фрагмент пептидной цепи с образовавшейся концевой аминогруппой NH_2 удаляется от фермента.

На этой стадии в реакцию вступает молекула воды из окружающей среды (рис. 22, 4). Ее протон связывается с правым атомом азота HIS 57 с одновременным преобразованием водородной связи между ASP 102 и левым атомом азота HIS 57. Гидроксильный ион OH^- молекулы воды присоединяется к углероду субстрата, который снова переходит в тетраэдрическое состояние с преобразованием двойной связи $\text{C}=\text{O}$ в одинарную $\text{C}-\text{O}^-$ (рис. 22, 5).

Далее связь $\text{H}-\text{O}$ разрывается с освобождением водорода. Разрывается также связь $\text{C}-\text{O}$ между оставшейся частью субстрата и SER 195. Протон от азота HIS 57 смещается к кислороду SER 195, вызывая перестройку водородной связи между HIS 57 и ASP 102 (рис. 22, 6). Электростатическое отталкивание между отрицательными электрическими зарядами ASP 102 и образовавшимся вторым фрагментом полипептидной цепи с концевой карбоксильной группой освобождает фермент, который теперь может приступить к расщеплению другого белка. Авторы предложенного механизма ферментативной активности трипсина постулируют возможность согласованной перестройки водородных связей остатка аминокислоты HIS 57 с соседними аминокислотными остатками ASP 102 и SER 195. Они считают, что такая возможность обусловлена специальным окружением этих остатков аминокислот.

Нет сомнения, что предложенный на молекулярном уровне механизм работы фермента трипсина представляет большой интерес, хотя и носит чисто описательный характер. Это объяснение не учитывает конформационных преобразований фермента.

Удалось также установить механизм активации трипсиногена, химотрипсиногена и эластогена. При синтезе в клетках поджелудочной железы эти молекулы содержат со стороны иминоконцов начальные участки, состоящие из 15 аминокислот. Операция активации предшественников ферментов состоит в отрыве этих начальных участков от молекулы. Оставшиеся части, начинающиеся с номера 16, и являются активными ферментами.

Рассмотренные выше пищеварительные ферменты относятся к большой группе ферментов, расщепляющих белки на отдельные фрагменты. Они теряют активность (ингибируются) при блокировании остатка аминокислоты серина. Поэтому они иногда называются «серино-ферментами». По-видимому, все они имеют активные центры, в которые входят такие же остатки аминокислот, как и у трипсина. Все эти ферменты расщепляют только пептидные связи в белках. Они не затрагивают других связей между атомами в белках и всех связей в небелковых молекулах. Специфичность этих ферментов определяется различными свойствами «мест узнавания», к которым присоединяются только субстраты определенного типа.

Кроме пищеварения серино-ферменты принимают участие во многих физиологических явлениях. Они участвуют в образовании и растворении кровяных сгустков, в иммунологических реакциях по отношению к чужеродным клеткам (антигенам) и организмам, в оплодотворении яйца сперматозоидом. Хотя эти ферменты выполняют различные биологические функции, они используют один и тот же способ действия — расщепление некоторых пептидных связей в белках.

Исключительно важна роль серино-ферментов как средства контроля над некоторыми физиологическими процессами. Эффективность такого контроля обусловлена тем, что их активность поддается очень тонкому контролю. Степень их активности легко управляется различными ингибиторами, которые могут иметь широкий спектр действия или, наоборот, быть специфичными, блокируя некоторые группы аминокислотных остатков или только одну.

Очень важным свойством серино-ферментов, обеспечивающим их действие только в определенном месте и в определенное время, является то, что они синтезируются в виде неактивных предшественников и становятся активными, только подвергаясь действию других ферментов. В каждом случае процесс активации заключается в отщеплении небольшого участка пептидной цепи путем разрыва только одной пептидной связи.

Одним из важных серино-ферментов является тромбин, участвующий в процессе свертывания крови человека и многих животных при повреждении ткани. Механизм свертывания крови очень сложен. Он состоит из нескольких последовательных реакций, в результате каждой из них образуется фермент, необходимый для последующей реакции.

Тромбоциты, или кровяные пластинки, находящиеся в плазме крови, попадая в поврежденное место, разрушаются. При этом разрушении выделяется *тромбопластин*, который катализирует превращение *протромбина* (один из белков плазмы, синтезируемый в печени) в *тромбин*. Тромбин действует как фермент, катализирующий превращение *фибриногена* в *фибрин*.

Фибриноген является длинной палочкообразной молекулой белка, растворенной в плазме крови. Относительная молекулярная масса фибриногена равна 33 000. Его растворимость обусловлена наличием в полипептидной цепи аминокислотных остатков аргинина и глицина, несущих электрические заряды.

Тромбин еще более специфичен, чем трипсин. Он разрывает только четыре пептидные связи, находящиеся между аминокислотными остатками аргинина и глицина. Трипсин же расщепил бы эту молекулу на 150 фрагментов. При гидролизе этих связей освобождается четыре небольшие пептидные цепи, несущие электрические заряды. Потеряв аминокислотные остатки с элект-

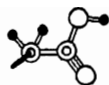
рическими зарядами, фибриноген превращается в нерастворимый фибрин.

Тромбин, как и трипсин, имеет вблизи активного центра приемный карман с аспарагиновой кислотой (ASP 189), к которому присоединяется аргининовая боковая цепь субстрата, однако, в отличие от трипсина, каталитическое действие тромбина проявляется только тогда, когда субстрат присоединяется также к другому месту фермента, которое может принять наименьшую боковую аминокислотную цепь — глицин.

Образовавшиеся в результате действия тромбина молекулы фибрина связываются водородными связями в полимолекулярные комплексы. Одновременно тромбин активирует другой фермент — так называемый стабилизирующий фактор тромбина, который стабилизирует комплекс, связывая ковалентными связями кислотные цепи глутаминовых кислот с основными цепями лизинов соседних молекул. Между волокнами фибрина этого комплекса задерживаются красные и белые кровяные тельца, увеличивая плотность сгустка и образуя кровяной тромб.

Растворение тромбов крови осуществляется серино-ферментом — *плазмином*. Он активируется так же, как трипсин, путем разрыва одной пептидной связи между аргинином и валином. Активированный фермент — *плазмин* — разрывает все пептидные связи, соседние с аргинином или лизином в молекулах фибрина.

Патологическое свертывание крови в кровеносных сосудах (тромбоз) часто обусловлено высоким уровнем ингибиторов плазмينا в крови. Гепаринполисахарид, извлекаемый из печени, подавляет превращение протромбина в тромбин.



ГЛАВА IV

КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ

§ 11. Поверхность клетки

Основной единицей любой живой ткани является клетка. Каждая клетка имеет внешнюю оболочку, отделяющую внутреннее содержание клетки от внешней среды. Эта оболочка состоит из нескольких слоев. Внутренний слой, непосредственно прилегающий к цитоплазме клетки, называется *цитоплазматической мембраной*. Цитоплазматическая мембрана играет наиболее активную роль в жизнедеятельности клетки.

Клетки многих организмов — зеленых растений, водорослей, грибов и большинства бактерий — снаружи цитоплазматической мембраны имеют клеточную жесткую стенку из целлюлозы, состоящей из полисахаридов и полимеров аминокислот. Основная функция жесткой поверхности клетки — предохранение содержимого клетки от механических воздействий. Поверх жесткой оболочки этих клеток находится внешняя поверхность клетки, имеющая фибриллярную структуру и содержащая большое количество различного типа рецепторов, с помощью которых клетка общается с внешним миром.

В лаборатории Габора в Канаде разработаны методы растворения целлюлозной оболочки растительных клеток с помощью специального фермента — целлюлазы. Клетки, лишенные целлюлозной оболочки, получили название протопластов. Такие оголенные клетки более доступны для внешних воздействий.

Клетки животных не имеют твердых оболочек. Однако и у них поверх цитоплазматической мембраны находится внешняя мембрана, имеющая фибриллярную структуру и содержащая большое число рецепторов.

Только в 50-е годы XX ст., после разработки методов электронной микроскопии и техники изготовления ультратонких срезов клеток, удалось выяснить основные черты строения различных клеточных и внутриклеточных мембран.

Для изготовления микрофотографий с помощью просвечивающего электронного микроскопа нужны тончайшие (десятые и сотые доли миллиметра) ровные слои препаратов. Такие тонкие слои вырезаются из замороженной суспензии клеток в воде. В других случаях ткань заливается полимеризующимся раствором или парафином и после его застывания на специальном аппарате «микротоме» из полученной твердой массы вырезают (строгают) тончайшие пленки-стружки. В качестве режущего инструмента используют свежий скол стекла или алмазные ножи.

В состав мембран входят только атомы легких элементов, имеющие сравнительно рыхлые электронные оболочки. Их положение плохо проявляется на электронных микрофотографиях. Поэтому тонкие срезы тканей «окрашивают» атомами тяжелых металлов (например, уранилацетатом, парами платины и т. д.), имеющих плотные электронные оболочки. Микрофотографии приготовленных таким образом срезов дают картину пространственного распределения тяжелых атомов в срезе. Предполагается, что распределение тяжелых атомов отражает структуру тонкого сечения клеточной мембраны. К сожалению, плоскость среза не всегда проходит через наиболее интересные участки поверхности клетки.

В конце 60-х годов были получены первые фотографии всей поверхности клетки с помощью растрового, или сканирующего, электронного микроскопа [53]. Растровый микроскоп дал уникальную возможность увидеть всю поверхность клетки целиком и исследовать отдельные ее участки. Можно получить изображения отдельных микроворсинок, складок и пузырьков. Весьма важно, что замедленная киносъемка с помощью растрового электронного микроскопа позволяет проследить за временными изменениями поверхности клетки.

Принцип действия растрового (сканирующего) микроскопа напоминает работу приемной телевизионной трубки и электронно-лучевой трубки телевизора. Очень узкий пучок электронов падает на исследуемый объект и последовательно обегает его поверхность. Интенсивность упругорассеянных и вторичных электронов от каждого участка поверхности объекта зависит от ее состава и рельефа. Эти электроны преобразуются в электрический сигнал и после усиления в виде узкого пучка попадают на электронно-лучевую трубку. На флуоресцирующем экране этой трубки электронный луч, пробегаая синхронно с лучем, падающим на объект, дает объемное, увеличенное в тысячи и десятки тысяч раз изображение поверхности объекта.

На внешней оболочке клетки расположено много микроворсинок, пузырьков и углублений, содержащих различного рода рецепторы и антигены, с помощью которых она специфически реагирует на внешние воздействия. Микроворсинки и другие рецепторы

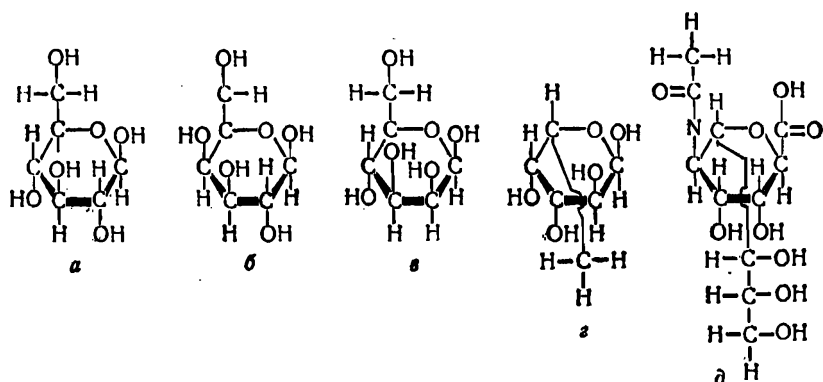


Рис. 23.

Некоторые углеводные молекулы — моносахариды, входящие в состав гликопротеидов внешних поверхностей клеточных мембран:

а — D-глюкоза; б — D-галактоза; в — D-манноза; г — L-фруктоза; д — сиаловая кислота.

внешней оболочки клетки, доступные для взаимодействия с другими клетками, являются гликопротеинами, т. е. углеводными цепями, связанными с белковыми цепями, или гликолипидами — углеводными цепями, ковалентно присоединенными к липидам (см. ниже).

В состав углеводных цепей этих сложных молекул входят глюкоза, галактоза, сиаловая кислота, фруктоза (рис. 23) и другие гетеросахариды. Гликопротеины мембран эритроцитов крови состоят на 60 % из углеводов и на 40 % из пептидов.

11.1. Узнавание клетками друг друга

В поверхностном слое клеточной мембраны заключены специальные механизмы узнавания клетками друг друга. Через поверхность клетки осуществляется образование клеточных агрегатов, восприятие специфических химических, физических и механических раздражений, обмен информацией между клетками.

Выступающие на поверхности клетки углеводные цепи, по-видимому, являются местами «узнавания», определяющими специфичность клеток, обусловленную их принадлежностью к определенной ткани, биологическому виду или индивидууму. Они ответственны за свойства узнавания, агрегации и адгезии. Если клетка одного млекопитающего попадает в органы другого, то она атакуется находящимися в составе плазмы крови антителами и лимфоцитами и уничтожается или отторгается.

Способность клеток узнавать друг друга проявляется при агрегации диссоциированных клеток. Механически смешанные дис-

пергированные клетки губок двух разных видов сами собой собираются в скопления, состоящие из клеток только одного вида. Эта способность клеток пока еще не получила объяснения.

Нормальные клетки, находясь во взвешенном состоянии в питательном растворе, имеют сферическую форму и не делятся. Только прикрепившись к дну сосуда, они начинают делиться. При соприкосновении с другой клеткой движение в направлении контакта прекращается. Оказавшись в окружении других клеток, клетка останавливается и перестает делиться. У многих опухолевых клеток такое контактное торможение отсутствует.

Химическое определение состава некоторых узнающих участков поверхности эндоплазматической мембраны основано на использовании антисывороток. Они позволяют обнаружить антигенные свойства молекулярных комплексов, отделенных от поверхности клетки.

С помощью ферментов, расщепляющих белки (например, трипсин, см. п. 10.2), удается отделить от мембраны гликопротеины с гетеросахаридными цепями и убедиться в их способности к взаимодействию с антителами.

Было установлено, что гликопротеины и гликолипиды с выступающими на поверхности мембраны отдельными углеводными цепями входят в состав цитоплазматической мембраны, охватывающей непрерывным образом внутреннюю часть клетки — *цитоплазму*. Цитоплазмой называется полужидкое основное вещество клетки, находящееся в непосредственном соседстве с цитоплазматической мембраной.

Специфичность гликопротеинов и гликолипидов определяется размером и формой гетеросахаридных концевых цепей, окруженных водной средой с внешней стороны мембраны. Разные последовательности углеводных остатков и различные типы связи между ними создают большое многообразие гетеросахаридных цепей, даже если полисахарид состоит всего из нескольких типов углеводных остатков. Такое многообразие усиливается нековалентными взаимодействиями моносахаридных остатков с соседними гетеросахаридными белками. Эти взаимодействия приводят к образованию комплексов на поверхности мембраны и их кооперативному действию.

В межклеточном взаимодействии принимают участие весьма разнообразные силы. При этом наряду с вандерваальсовыми и водородными существенное значение имеют электрические силы. Отрицательные заряды вносят карбоксильные группы (COO^-) сиаловой кислоты и фосфатные группы (PO_4^{4-}). Интенсивность таких электрических взаимодействий зависит от концентрации ионов и значения pH вблизи клеточной мембраны¹.

¹ В некоторых случаях значение pH у поверхности мембраны примерно на 0,3—0,4 единицы меньше, чем в окружающей среде.

Вследствие большой гетерогенности и островному (мозаичному) расположению гликопротеинов и гликолипидов распределение электрических зарядов на поверхности мембраны крайне неоднородно и при сближении клеток существенно сказывается на их ориентации. Не исключено, что при сближении клеток происходит такое перемещение заряженных групп, которое удерживает поверхности клеток в контактах на расстояниях вандерваальсовых радиусов.

На микрофотографиях обычно между мембранами соприкасающихся клеток виден просвет шириной от 100 до 200 Å. По некоторым данным ионы кальция способствуют слипанию клеток. Возможно, что этот эффект связан с локальной поляризацией мембран.

Большой интерес представляют самостоятельные движения клеток, за которыми можно проследить с помощью растрового электронного микроскопа. Так, например, клетки соединительной ткани мыши — фибробласты, имеющие в питательной среде сферическую форму, опускаясь на стекло, распыляются на нем и начинают двигаться по поверхности стекла, образуя на переднем конце широкую пластинку [53]. В некоторых случаях мембраны движущихся по стеклу клеток совершают волнообразные движения.

До последнего времени молекулярный механизм таких движений, как и других изменений формы внешней клеточной мембраны (при делении, экзцитозе и эндоцитозе и т. д.), остается невыясненным. Возможно, эти движения обусловлены нитевидными и трубчатыми структурами, примыкающими к внутренней поверхности цитоплазматической мембраны. Некоторые исследователи предполагают, что эти структуры представляют собой сократительные элементы клетки.

§ 12. Состав и структура клеточных мембран

У одноклеточных животных — прокариотов (бактерии и сине-зеленые водоросли) — клетка выполняет все жизненные функции: пищеварение, дыхание, циркуляцию веществ, выделение, передвижение и размножение. Прокариоты имеют ярко выраженную цитоплазматическую мембрану и следы других внутриклеточных мембран. В этих клетках отсутствуют органеллы, т. е. участки клетки, окруженные своими мембранами.

Клетки животных, зеленых растений, грибов и простейших (эукариоты) кроме внешней — плазматической мембраны — имеют внутри клетки широкий набор окруженных своими мембранами органелл, которые в свою очередь могут иметь внутренние мембраны. Цитоплазма пронизана также эндоплазматической сетью, состоящей из трубочек и мешочков, называемых *цистернами*.

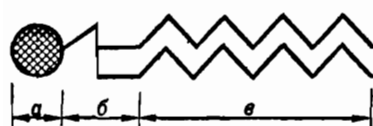


Рис. 24.

Схематическое изображение молекулы липида, входящей в состав клеточных мембран:

a — «голова» молекулы; b — «хребет»; c — гидрофобный хвост, состоящий из двух углеводородных цепей жирных кислот. Каждый угол цепи занят группой CH_2 , на концах CH_3 .

Все виды физиологической деятельности и биохимической активности клеток зависят от функционирования их наружных и внутренних мембран.

Цитоплазматическая мембрана и все внутренние мембраны разных клеток в основных чертах имеют одинаковое строение. В их состав входят молекулы жировых веществ, называемые *липидами*, белки и в малом количестве углеводы. Углеводы (сахара), входящие в состав мембран, обычно присоединены к белкам и называются *гликопротеинами*, либо к липидам, тогда они называются *гликолипидами*.

Липиды составляют около половины массы большинства мембран. Отдельные молекулы липидов имеют «голову» и два «хвоста», соединенные через промежуточную область — «хребет» (рис. 24). Углеводородные цепи (хвосты) липидных молекул в мембранах животных клеток представляют собой неразветвленные углеводородные цепи с одинарными (иногда двойными) связями между углеродными атомами. С одной стороны углеводородные цепи заканчиваются карбоксильными группами COOH , которыми они присоединяются к хребту молекулы (остаток глицерина), последний в свою очередь соединен с головой. Углеводородные цепи отталкиваются от воды (гидрофобны).

Голова липидной молекулы содержит группу атомов, которые часто несут электрические заряды, поэтому эта часть молекулы гидрофильна. Липиды, содержащие в головной части фосфат, называются *фосфолипидами*. Химическая структура фосфолипидов представлена на рис. 25. Схематическое изображение некоторых других мембранных липидов дано на рис. 26.

Различные фосфолипиды отличаются друг от друга как строением углеводородных цепей, так и составом полярных головок. Мембраны животных клеток содержат около 20% фосфолипидов, несущих отрицательный электрический заряд. Внешняя плазматическая мембрана наряду с фосфолипидами содержит большое количество холестерина и гликолипидов, углеводные части которых выступают из поверхности мембраны.

Молекулы, имеющие гидрофильные и гидрофобные участки, называются *амфифильными*. К этому типу молекул относятся и молекулы липидов. В водной среде молекулы липидов при некоторых условиях группируются в сферические пузырьки — *липосо-*

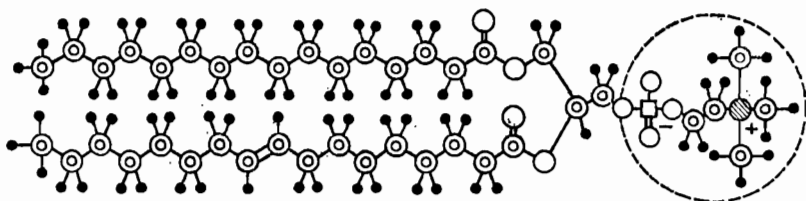


Рис. 25.

Типичная структура фосфолипидной молекулы с одной двойной связью в углеводородной цепи:

○ — кислород; ● — водород; ⊙ — углерод; ⊗ — азот; □ — фосфор.

мы. Обычно липосомы диаметром около $100 \text{ \AA}$ получают встряхиванием или обработкой ультразвуком водных суспензий фосфолипидов. Поверхность липосом образована двойным слоем липидных молекул (рис. 27), в котором гидрофильные головы молекул обращены к внешнему и внутреннему слою воды, а гидрофобные (липофильные) хвосты молекул — к средней части двойного слоя.

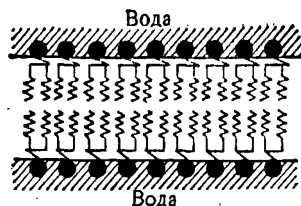
Таким образом, в двойном слое толщиной около $40\text{--}60 \text{ \AA}$ липидные молекулы лежат параллельно навстречу друг другу, касаясь хвостами. В случае одинарных (насыщенных) связей между углеродными атомами жирных кислот их расположение характеризуется большой регулярностью (гексагональная структура). При наличии нескольких двойных связей в углеродных цепях правильное расположение в соответствующих местах нарушается.

Расположение липидных молекул в виде двойного замкнутого слоя соответствует минимуму свободной энергии системы молекул в воде. Наличие двойного липидного слоя в биологических мембранах было предсказано Даниэлли и Даусоном в 1930 г., когда еще не были получены соответствующие экспериментальные данные. В настоящее время такое правильное расположение липидов как в мембранах липосом, так и в биологических мембранах подтверждено рентгеноструктурными данными.

В противоположность липидам, белковые молекулы обычно не образуют упорядоченной структуры на мембранах. Каждый тип мембран содержит большое разнообразие белковых молекул, различающихся составом, молекулярной массой и расположением. Поэтому изучение их рентгеновскими методами может дать только усредненную картину.

Именно белковые молекулы придают мембране специфические функциональные свойства. Многие из этих белков имеют глобулярную структуру и являются ферментами, контролирующими химические реакции, часть из них участвует в переносе молекул и ионов из области малой концентрации в область больших концентраций, т. е. вдоль градиента концентрации.

Рис. 27.
Поперечное сечение мембраны липосомы.



на ее внешней поверхности. Эта же мембрана содержит и внутренние белки (рис. 28).

Характер взаимодействия глобулярной молекулы с липидным слоем мембраны зависит от величины энергии взаимодействия полярных групп белковой молекулы с головами липидных молекул. Если эти взаимодействия достаточно сильны (например, когда участки белковой молекулы и липидного слоя имеют электрические заряды разного знака и т. д.), то происходит частичная денатурация белковой молекулы. Она раскручивается и распластывается по поверхности мембраны. При таком раскручивании и распластывании некоторые неполярные боковые цепи проникают между головками липидных молекул внутрь липидного слоя. В этом случае жидкостная структура липидного слоя делается более жесткой.

Будет ли глобулярная белковая молекула раскручиваться и распластываться между поверхностью липидного слоя и водой, зависит в значительной степени от расположения и природы неполярных боковых цепей аминокислот, входящих в состав белковой молекулы, и от величины поверхностного натяжения в липидном слое. При малой величине поверхностного натяжения многие неполярные боковые цепи белковой молекулы проникнут в липофильную область двойного липидного слоя. Такое проникновение будет сопровождаться повышением энтропии за счет большей свободы колебательных движений. При большом поверхностном натяжении в липидном слое малое число неполярных боковых групп проникнет в липидный слой, предпочитая оставаться внутри белковой группы.

Повышение энтропии при поверхностной денатурации отражает повышение гибкости боковых цепей белковой молекулы на границе липидного слоя и воды. Для некоторых молекул (methemoglobin) энтропия поверхностной денатурации на границе вода — липидный слой в четыре раза больше, чем на границе вода — воздух.

Кроме изменения энтропии при присоединении белковых молекул к мембране следует учитывать изменение электрических взаимодействий вследствие локального изменения диэлектрической постоянной, разрыва некоторых водородных связей в глобуле и образования новых водородных связей с молекулами воды и т. д. Характер присоединения белковой молекулы к мембране существенно зависит от величины и компактности гидрофобной области мо-

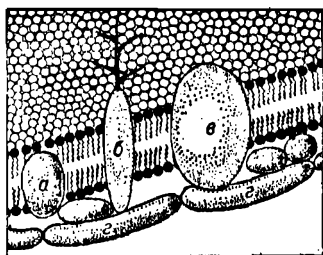


Рис. 28.

Схема расположения некоторых белковых молекул в мембране красных кровяных телец [93]:

а, б — «внутренние белки»; в — гликопротеид; г — полипептид спектрин.

лекулы белка. Во внешних белках эти области незначительны и находятся в основном вне мембраны.

Обычно мембраны содержат как внешние, так и внутренние белки [93]. При этом доля внутренних белков часто превышает 70 %. Выделение внутренних белков из мембран требует значительных воздействий. Во многих случаях после отделения они остаются еще связанными с липидами. При отделении от липидов они нерастворимы в воде или собираются в водных растворах в агрегаты.

Таким образом, внутренние белки и гликопротеины сильно взаимодействуют с двойным липидным слоем, глубоко внедряясь в него. Эти белки так же, как и фосфолипиды, должны быть амфифильными. Они содержат полярные (гидрофильные) боковые цепи и неполярные (гидрофобные) боковые цепи. Чем глубже белок погружен в липидный слой, тем больше он содержит гидрофобных остатков аминокислот. У гликопротеинов углеводные остатки сахаридов, ковалентно присоединенные к белкам, всегда выступают из липидного слоя мембраны. Если оба конца большой белковой молекулы гидрофильны, а средняя часть гидрофобна, то такая молекула пронизывает мембрану насквозь, выступая гидрофильными концами с обеих сторон мембраны.

Мембрана является живой активно функционирующей системой. За время жизни клетки отдельные компоненты мембраны непрерывно обновляются. Время обновления варьирует в широких пределах от часов до нескольких суток.

Клетки высших организмов содержат большое число различных мембранных структур. Они отличаются составом липидов и белков и их расположением. Именно разные состав и организация белков и липидов определяют разнообразные функциональные свойства мембран.

Возникает вопрос, каким образом в состав мембраны включаются нужные ей белки и липиды. Ответа на этот вопрос еще нет. Механизмы, посредством которых белки транспортируются от мест их синтеза к соответствующим мембранам, до настоящего времени остаются невыясненными.

12.1. Внутренние мембранные белки

Из внутренних белков наиболее хорошо изучен родопсин, который входит в состав фоторецепторных мембран дисков наружных сегментов клеток палочек сетчатки глаза. В родопсине имеется 36% гидрофильных и 64% гидрофобных остатков аминокислот. В темноте молекула родопсина погружена на одну треть в двойной липидный слой. При освещении она углубляется на половину своего диаметра.

В лаборатории Грина (Институт изучения ферментов Висконсинского университета) Капальди с сотрудниками [92, 93, 174] успешно провели исследование внутреннего белка — цитохромоксидазы, входящего в мембрану митохондрий, который является конечным звеном цепи электронного транспорта, синтезирующей молекулы АТФ (см. § 16). Им удалось отделить цитохромоксидазу от всех других белков мембраны. В суспензии, состоящей из выделенного белка и фосфолипидов, они получили пузырьки — липосомы. Двойной липидный слой поверхности липосом содержал только белковые молекулы цитохромоксидазы.

Исследователи убедились, что фермент сохраняет свои ферментативные свойства в таких искусственных мембранах. Это указывало на одинаковое взаимодействие молекул фермента с двойным липидным слоем естественных и искусственной мембран.

Фермент цитохромоксидаза может находиться в двух состояниях: окисленном и восстановленном. В окисленном состоянии молекулы фермента при соответствующей концентрации образуют на поверхности липидного слоя двумерную решетку. Такая решетка хорошо видна в электронном микроскопе и может быть изучена рентгеновскими методами. Проведенные исследования позволили установить, что отдельные молекулы фермента имеют на поверхности мембраны размеры $55 \times 60 \text{ \AA}$; третий размер, поперек мембраны, составляет $80\text{--}85 \text{ \AA}$. Следовательно, молекула цитохромоксидазы насквозь пронизывает мембрану, имеющую толщину только $45 \text{ \AA}$.

12.2. Динамические модели клеточных мембран

Исследования структуры биологических мембран, выполненные в последние годы различными методами (электронный парамагнитный резонанс, ядерный магнитный резонанс и др.), показали, что эти структуры не статические, а динамические. При физиологических температурах (около 37°C) белки и липиды могут совершать диффузионные движения вдоль поверхности мембраны. По своим свойствам липидный двойной слой в мембранах напоминает жидкие кристаллы. Поперек мембраны могут совершать диффузионное движение (раздвигая хвосты липидных молекул) белковые моле-

кулы-переносчики (см. § 13). Вблизи голов липидных молекул структура двойного слоя более упорядочена, чем вблизи хвостов. Центральная область двойного слоя толщиной 10—15 Å совершенно неупорядочена. Хвосты липидных молекул могут изгибаться и совершать трансляционные смещения.

Подвижность липидных молекул и молекул-переносчиков в мембране зависит от температуры и степени ненасыщенности связей между углеродными атомами углеводородных хвостов липидных молекул. Чем больше ненасыщенных связей, тем подвижнее молекулы при данной температуре.

Возможность диффузионного движения молекул двойного липидного слоя и растворенных в нем белковых молекул имеет большое значение для выполнения мембранами их физиологических функций. При понижении температуры подвижность липидных молекул уменьшается и замирают многие физиологические процессы.

Температура, при которой живет клетка, сказывается на количестве ненасыщенных связей в цепях жирных кислот липидных молекул. Например, бактерии, растущие при низкой температуре, имеют мембраны с большим числом ненасыщенных связей между атомами углерода, входящими в состав хвостов липидных молекул, чем те, которые живут при более высокой температуре. Клетки ног северного оленя, расположенные ближе к копытам, имеют мембраны с большим числом ненасыщенных связей между атомами углерода липидных молекул, чем клетки частей ног, расположенных ближе к туловищу. Эта разница обусловлена более низкой температурой нижних частей ног северного оленя.

Подвижность и характер расположения белковых молекул на мембранах разного типа существенно различаются. Вследствие взаимодействия между белковыми молекулами они часто собираются на мембранах в комплексы, выполняющие определенные физиологические функции.

В мембранах митохондрий имеются комплексы, состоящие из пяти типов белков. Четыре из них участвуют в цепи электронного транспорта (см. п. 16.1), пятый синтезирует молекулы АТФ. Такой комплекс обеспечивает связь цепей электронного транспорта с синтезом АТФ. В мембранах эритроцитов большие белковые молекулы спектрина, лежащие со стороны внутренней поверхности мембраны, связаны с проникающими через мембрану другими белковыми молекулами, в частности с молекулами гликопротеинов, выступающих с внешней стороны поверхности мембраны.

В цитоплазматических мембранах расположение отдельных белковых молекул и их комплексов контролируется сетью микротрубочек и микронитей, расположенных со стороны внутренней поверхности мембраны.

Наиболее хорошо изучено движение белковых молекул в фоторецепторных мембранах внешних дисков палочек сетчатки глаза. Эти мембраны содержат белковые молекулы одного типа — *родопсин*. Поэтому их можно исследовать с помощью рентгеноструктурных методов. Му-минг Пу и Конг [198] показали, что молекулы родопсина расположены равномерно по поверхности мембраны, углубляясь в нее примерно наполовину. Эффективный диаметр молекул равен 45 Å, средние расстояния между молекулами 70 Å. При 20° С молекулы родопсина совершают диффузионные движения вдоль поверхности мембраны. При этом средняя длина свободного пробега равна примерно 25 Å. Среднее время столкновений между молекулами $4 \cdot 10^{-8}$ с. Вязкость липидного слоя в десятки и сотни раз превышает вязкость воды.

Итак, согласно современным представлениям [198, 128, 227, 86], клеточные мембраны являются мозаичными структурами, содержащими в замкнутом двойном слое липидных молекул ориентированные двумерные растворы белковых молекул, гликопротеинов, гликолипидов и полисахаридов. Основу мозаичной структуры образует двойной слой липидных молекул с ионными и полярными группами атомов, лежащими на поверхности мембраны, соприкасаясь с водой.

Вследствие наличия в двойном слое «островков» белковых молекул, плавающих в липидном слое, некоторые мембраны имеют неодинаковую толщину. Наименьшая их толщина — в областях с открытыми головами липидных молекул, наибольшая — в областях выступающих полисахаридных цепей.

12.3. Кооперативные явления в мембранах

Под кооперативным (аллостерическим) эффектом обычно понимается явление, при котором изменение, возникшее на одном месте сложной структуры, передается к другому удаленному месту с помощью структурной или энергетической связи.

Модель мембраны в виде жидкой мозаики допускает диффузионную передачу локальных физических или химических воздействий на отдельные компоненты мембраны. Диффузия в вязкой липидной среде может играть существенную роль в медленных процессах. В частности, она, по-видимому, важна при транспорте малых полярных молекул через мембраны с помощью белковых молекул-переносчиков.

В быстрых процессах проявляются динамические изменения, обусловленные резонансной передачей возбуждения, переносом конформационного изменения, переносом протонов или электронов. Такие явления можно подразделить на два типа: *цис* и *транс* [227].

К *транс-эффектам* относятся кооперативные явления, которые соответствуют передаче локального изменения с одной стороны мембраны на другую сторону. Например, внутренний белок может состоять из двух (и большего числа) субъединиц, первая из которых находится на одной стороне мембраны, а вторая — на другой. В этом случае изменение, обусловленное присоединением гормона или другой молекулы к внешней субъединице, может привести к изменению второй субъединицы, обращенной к цитоплазме. К *цис-эффектам* относятся кооперативные изменения, охватывающие сравнительно большие участки мембраны при локальном ее возбуждении.

Многие явления, характеризующие поведение клеток: дифференциация, агрегация в колонии, регуляция роста, контактное торможение деления, влияние гормонов и ядов и т. д., являются проявлением кооперативных эффектов. Внешние возбуждения воспринимаются клеткой через систему локально расположенных на мембране выступающих цепей полисахаридов. К кооперативным явлениям следует отнести и передачу нервного импульса вдоль нервного волокна.

Несмотря на большие успехи, достигнутые в области изучения молекулярной структуры и функций клеточных мембран, многие их свойства остаются неясными. При теоретическом исследовании свойств мембран приходится использовать модельные представления, отражающие только некоторые свойства реальных мембран. Фрагментарный и спекулятивный характер таких теоретических построений не вызывает сомнений. Поэтому их следует рассматривать как некоторые рабочие гипотезы. Ценность этих гипотез заключается в том, что они могут стимулировать развитие новых теоретических и экспериментальных исследований.

При теоретическом исследовании кооперативных свойств мембран Шанже с сотрудниками рассматривали мембрану как упорядоченное собрание повторяющихся глобулярных белково-липидных единиц — *протомеров*, организованных в двумерную решетку.

Предполагалось, что: 1) протомеры имеют только два обратимых конформационных состояния *A* и *B*; 2) присоединение лиганда к протомеру *A* переводит его в состояние *B*; 3) учитывалось взаимодействие только соседних протомеров; 4) взаимодействие протомера с соседними протомерами изменяется на величину η , когда все они переходят в состояние *B*.

Исследование состояний такой системы протомеров, как функции концентрации лигандов и температуры, сводится к исследованию состояний двумерной модели Изинга [151].

Как известно, модель Изинга сильно идеализирует физические системы. Однако она часто дает качественное описание очень важных свойств таких систем. Точных решений двумерная модель

Изинга не имеет. Шанже с сотрудниками использовали приближение Брега — Вильямса, в котором взаимодействие с соседними протомерами заменяется взаимодействием с усредненным полем. Они показали, что для значений $\eta > 4kT$ кривые возбуждения протомеров как функции концентрации лигандов имеют разрыв при некоторой критической концентрации $C_{кр}$. Если концентрация лигандов переходит через критическое значение, то скачком возбуждаются все протомеры. При $\eta < 4kT$ кривые возбуждения изменяются непрерывно.

§ 13. Пассивный транспорт ионов и молекул через мембраны

В нормально функционирующих клетках сотни различных малых молекул и ионов должны присутствовать в концентрациях, значительно меньших или значительно больших, чем их концентрации в окружающей водной среде. Например, концентрация ионов калия в клетке человека в десятки раз превышает их концентрацию в крови. Для ионов натрия отношение таких концентраций обратное. Поддержание разных концентраций внутри и вне клетки абсолютно необходимо. Даже небольшое изменение концентрационных отношений приводит к полному нарушению жизненных процессов.

Клетки могут избирательно поглощать некоторые вещества. Например, живая клетка кишечной палочки (бактерии *E-coli*) может иметь концентрацию питательного вещества — молекулы молочного сахара (лактозу), в 500 раз превышающую его концентрацию в окружающей среде.

Контроль внутреннего содержания клеточного вещества осуществляется цитоплазматической мембраной. Она регулирует поступление в клетку и выход из нее различных веществ. Проницаемость цитоплазматической мембраны весьма избирательна. Одни молекулы она пропускает сравнительно свободно, другие с трудом или вовсе не пропускает. Селективность пропускной способности мембран может меняться под влиянием внешних условий.

Скорость проникновения в клетку небольших молекул пропорциональна их растворимости в маслах. Ионы и полярные молекулы не очень малых размеров проникают в клетку с помощью особых переносчиков (см. ниже).

Поглощение клетками очень крупных молекул может происходить путем «эндоцитоза». Клетка как бы заглатывает такие молекулы, образуя углубление мембраны в виде кармана. Затем этот карман закрывается и внутри клетки образуется пузырек с заключенной в нем молекулой. Процесс выделения клеткой крупных молекул (экзоцитоз) происходит в обратном порядке. Такое поглощение и выделение крупных молекул требует затраты энергии.

Движение молекул (ионов) через мембраны посредством диффузии из области большой концентрации в область малой концентрации молекул (ионов) называется *пассивным транспортом*. Некоторые молекулы (ионы) принудительно накачиваются или выкачиваются из клетки в направлении увеличения концентрации. Такое перемещение молекул (ионов) называется *активным транспортом* и осуществляется при затрате энергии (см. гл. V).

13.1. Транспорт молекул и ионов через мембраны, разделяющие электролиты

При теоретическом исследовании движения молекул и ионов через мембраны под влиянием градиента концентраций и электрического потенциала разные авторы рассматривают мембрану либо в виде однородной среды, характеризующейся определенными значениями коэффициентов диффузии и подвижности ионов, либо моделируют ее последовательностью потенциальных барьеров.

Детальное теоретическое исследование прохождения ионов через модельные системы, состоящие из мембран, разделяющих два электролита, проведено в монографии В. С. Маркина, Ю. А. Чизмаджиева [47]. Здесь мы рассмотрим простейший случай стационарных условий, при которых концентрации на границах мембраны пропорциональны их концентрациям в растворах.

Предположим, что на двух поверхностях (1 и 2) однородной мембраны молярные концентрации нейтральных молекул одного сорта равны соответственно C_1 и C_2 . Если $C_2 > C_1$ и концентрация меняется линейно внутри мембраны, то градиент концентрации (химический градиент), направленный перпендикулярно плоскости мембраны в сторону возрастания концентрации, имеет постоянное значение

$$\frac{dC}{dx} = (C_2 - C_1)/l. \quad (13.1)$$

Под влиянием градиента (13.1) в мембране возникает диффузионное движение (пассивный транспорт). Молярная плотность потока J_x молекул, т. е. число молей молекул, проходящих в секунду через единицу поверхности мембраны, направлена со стороны большей концентрации в сторону меньшей концентрации, т. е. против градиента концентрации¹. Его величина определяется уравнением диффузии, которое называется *законом Фика*,

$$J_x = -D \frac{\partial C}{\partial x}, \quad (13.2)$$

¹ К сожалению, во многих работах (см., например, [60]) при описании пассивного транспорта не пользуются общепринятым определением и называют градиентом концентрации величину, отличающуюся от (13.1) знаком. В этом случае изменяется знак и в уравнении (13.2). Тогда говорят о пассивном транспорте по градиенту концентрации.

где D — коэффициент диффузии через мембрану, имеющий размерность ($\text{см}^2/\text{с}$). Иногда вместо коэффициента диффузии мембрану характеризуют коэффициентом проницаемости

$$P = D/l \text{ [см/с]}. \quad (13.2a)$$

На движение ионов заряда eZ_h , где e — заряд протона, $Z_h = \pm 1, \pm 2, \dots$, оказывает влияние электрическое поле $E_x = -\frac{\partial U}{\partial x}$ внутри мембраны (U — электрический потенциал поля).

При наличии ионов их движение через мембрану удобно выражать плотностями парциальных токов

$$I_h = -eZ_h D_h \frac{\partial C_h}{\partial x} - eZ_h^2 F v_h C_h \frac{\partial U}{\partial x}, \quad (13.3)$$

где $F = eN_A = 96\,500$ Кл/моль — число Фарадея; v_h — подвижность ионов поперек мембраны.

Используя соотношение Эйнштейна $D_h = v_h RT$, выражающее коэффициент диффузии через подвижность и абсолютную температуру, можно преобразовать равенство (13.3) к виду

$$I_h = -eZ_h v_h C_h \left[\frac{RT}{C_h} \frac{\partial C_h}{\partial x} + Z_h F \frac{\partial U}{\partial x} \right]. \quad (13.4)$$

Выражение, стоящее в квадратных скобках равенства (13.4), называют *электрохимическим градиентом*.

Уравнение (13.4) характеризует линейную связь между парциальным током и электрохимическим градиентом. В ряде случаев такая связь является нелинейной (см. п. 18.3). Формально и в этих случаях можно сохранить понятие коэффициента диффузии D_h и коэффициента проницаемости $P_h = D_h/l = v_h RT/l$ мембраны, если считать, что их значения зависят от разности концентраций и электрических потенциалов.

При толщинах мембраны $60 \text{ \AA}$ и разности потенциалов 60 мВ напряженность электрического поля внутри мембраны достигает 10^5 В/см . Это поле достаточно велико, чтобы вызвать конфигурационное изменение молекул — переносчиков ионов. Поэтому можно ожидать изменения подвижности при изменении разности потенциалов на мембране.

Согласно уравнениям (13.4), подвижности v_h ионов типа k не зависят от наличия других ионов (принцип независимости потоков). Это предположение оправдывается при малых концентрациях ионов в мембранах. Однако точные оценки концентраций проникающих ионов внутри мембран в настоящее время отсутствуют. В работе Хочкина и Кейса [157] показано, что принцип независимости потоков не выполняется, по крайней мере для ионов калия.

В общем случае C_h и U являются сложными функциями координаты x внутри мембраны ($0 \leq x \leq l$). Пусть в растворе, окружа-

ющем мембрану, имеется ν ионов разного типа. Тогда уравнения (13.4) образуют систему ν уравнений относительно ν неизвестных функций $C(x)$ и $U(x)$. Дополняя систему уравнений (13.4) условием электронейтральности внутри мембраны

$$\sum_{k=1}^{\nu} z_k C_k(x) = 0 \quad (13.4a)$$

и вводя граничные условия на эти функции, т. е. указывая значения $C_k(0)$, $U(0)$, $C_k(l)$, $U(l)$, можно вычислить распределение концентраций $C_k(x)$ и потенциала $U(x)$ внутри мембраны. Задача эта в общем случае весьма сложна. Различные приближенные решения найдены в монографии В. С. Маркина и Ю. А. Чизмаджиева [47]. Там же приведены ссылки на оригинальные работы.

Многие ткани млекопитающих обладают системами облегченной диффузии для получения из плазмы крови ряда веществ (метаболитов) — сахара, аминокислот, пуринов, глицерина и др. Активность таких систем регулируется гормонами. Например, облегченная диффузия глюкозы в скелетные мышцы активируется инсулином.

Пассивная диффузия определяется величиной проницаемости мембраны и электрохимическим градиентом. Вода и растворенные в ней газы (кислород, углекислый газ) проникают через мембраны практически беспрепятственно. Большая скорость прохождения воды через биологические мембраны была установлена при использовании воды, меченой тритием. Прохождение молекул через двойной липидный слой указывает, что в этом жировом слое имеются сквозные поры. Сквозь такие поры могут проходить через мембрану и другие малые полярные молекулы.

По некоторым оценкам, диаметр пор равен $6-10 \text{ \AA}$, и занимают они только 0,06% всей поверхности мембраны. Возможно, что поры в липидном слое несут электрические заряды, так как мембрана хорошо отличает анионы от катионов. По-видимому, поры в липидном слое не статические, а динамические образования, возникающие вследствие флуктуационных смещений липидных молекул.

Скорость проникновения молекул через мембраны существенно зависит от температуры. Такую зависимость обычно рассматривают как следствие необходимости преодоления молекулой некоторого потенциального барьера. Допуская, что зависимость скорости проникновения от температуры подчиняется экспоненциальному закону $\sim \exp(-Q^*/kT)$, можно определить эффективную энергию активации Q^* .

Для этиленгликоля и глицерина таким образом были получены значения энергии активации, равные 12,6 и 16,1 эВ. Такие значения оказались близкими энергии гидратации молекул. В связи с этим было высказано предположение, что энергия активации

связана с необходимостью освобождения молекулы от гидратной оболочки перед входом в мембрану.

Приведенные выше рассуждения о природе температурной зависимости не учитывают изменения свойств пропускания самой мембраны, обусловленные изменением подвижности липидных молекул в мембране. При понижении температуры двойной липидный слой делается очень жестким и пропускная способность резко снижается.

13.2. Пассивный транспорт при участии переносчиков

При исследовании пассивного транспорта растворимых в воде веществ (сахара, аминокислоты, катионы) через искусственные мембраны, целиком состоящие из молекул фосфолипидов, было обнаружено, что такое движение происходит со скоростью на несколько порядков меньшей скорости движения тех же ионов через естественные мембраны. Поэтому предполагалось, что в естественных мембранах должны быть особые вещества, облегчающие прохождение малых полярных молекул и металлических ионов через липидный слой.

Эксперименты с биологическими мембранами показали, что гипотетические переносчики обладают очень высокой селективностью. Например, переносчик, облегчающий транспорт глюкозы через мембраны, не оказывает никакого влияния на транспорт аминокислот или других сахаров.

Валиномицин, нигерицин и другие антибиотики — *комплексоны* — оказались одними из первых соединений, у которых была открыта способность избирательно увеличивать вероятность прохождения ионов металлов через биологические и искусственные мембраны.

Для изучения механизма проницаемости мембран часто используются искусственные биомолекулярные фосфолипидные мембраны, или бислои. Такие мембраны образуются из пленок раствора фосфолипидов в неполярном растворителе (гептан, декан, ...). Пленкой закрывается отверстие в тефлоне, разделяющем сосуд на две части. При спонтанном «испарении» пленка утончается и образует биомолекулярный двойной слой толщиной 60—80 Å.

Первые данные о значительном увеличении антибиотиками проницаемости бислоев для ионов щелочных металлов были опубликованы А. А. Львом и Э. П. Бужинским [39].

Чаппель с сотрудниками в Кембриджском университете разработали метод исследования селективного ионного транспорта через мембраны с помощью измерения электрического сопротивления мембран. Двойной липидный слой закрывал малое отверстие между двумя камерами с раствором KCl, содержащим ионы K^+ .

С помощью электродов, погруженных в эти камеры, измерялось электрическое сопротивление двойного липидного слоя.

Измерения показали, что удельное сопротивление двойного липидного слоя при отсутствии валиномицина в растворе составляет $10^7 - 10^8$ Ом/см². Оно на несколько порядков выше удельного сопротивления ($10-10^4$ Ом/см²) типичных биологических мембран [128].

При добавлении в раствор KCl малых количеств валиномицина (около 10^{-7} г/мл) удельное сопротивление двойного липидного слоя падает на пять порядков. На эту же величину возрастает пропускная способность мембраны относительно ионов калия. В растворах NaCl, содержащих ионы Na⁺, добавление молекул валиномицина приводит к очень малому изменению сопротивления.

Повышение проводимости двойного липидного слоя ионами K⁺ при наличии молекул валиномицина достигает стационарного значения примерно через 40 мин после введения спиртового раствора валиномицина в раствор KCl. При этом повышение проводимости не зависит от того, присутствуют молекулы валиномицина по одну или по обе стороны мембраны. Это указывает на то, что повышение проводимости бислоя связано с растворением в нем молекул валиномицина.

В Калифорнийском университете в Лос-Анджелесе Красне с сотрудниками показали, что усиление транспорта ионов K⁺ валиномицином прекращается, если двойной липидный слой «замораживается» при понижении температуры. Понижение температуры приводит к снижению подвижности молекул валиномицина в липидном слое. Таким образом, эффективность действия молекул валиномицина непосредственно связана с их подвижностью в липидном слое мембраны.

Уменьшение сопротивления бислоев при растворении в них молекул валиномицина, энниатина, монамицина и некоторых других исследовалось во многих лабораториях мира. Однако, как отмечается в работе [51, с. 289], «многие проблемы, связанные с изучением механизма этого явления, и поныне остаются нерешенными».

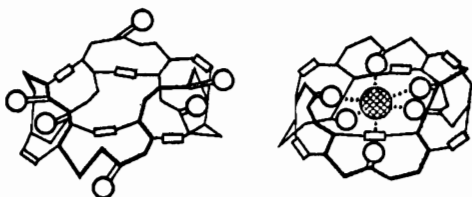
Антибиотики валиномицин, энниатин и монатицин представляют собой циклические депсипептиды, построенные из остатков аминокислот и оксикислот, соединенных между собой амидными и сложноэфирными связями.

В основе мембранной активности валиномицина и других родственных соединений лежит способность связывать ионы щелочных металлов с образованием липофильных (растворимых в липидах) положительно заряженных катионных комплексов, которые и участвуют в переносе ионов через внутреннюю гидрофобную зону мембраны. За способность переносить ионы через мембраны их называют *ионофорами*.

Рис. 29.

Схема конформационного изменения молекулы валиномицина при образовании комплекса с ионом калия:

○ — атом кислорода; ● — ион калия.



Антибиотик валиномицин впервые был выделен в 1955 г. Его синтез был проведен М. М. Шемякиным в 1963 г. Молекула валиномицина представляет собой 36-членную замкнутую структуру (цикл), содержащую 12 аминокислот. Она легко подвергается конформационным изменениям, поэтому ее конформационное состояние зависит от природы растворителя. В метанольных и этанольных растворах валиномицин образует весьма устойчивые комплексы с ионами K^+ , Pb^{2+} и Cs^+ . В воде способность к комплексообразованию резко падает, примерно с 10^4 до значений 1,3; 5,9 и 0,12 л/моль. Ионы натрия не образуют комплексов с валиномицином.

Конформация валиномицина в средах различной полярности и принципы его функционирования в качестве переносчика ионов калия были установлены М. М. Шемякиным, Ю. А. Овчинниковым и их сотрудниками [51].

Оказалось, что при образовании комплексов иона K^+ с молекулой валиномицина ее форма существенно меняется. В свободной молекуле валиномицина атомы сложноэфирных карбонильных групп молекулы направлены к внешней поверхности молекулы. При образовании комплекса с ионом K^+ в молекуле возникают дополнительные ион-дипольные взаимодействия положительного иона с атомами кислорода амидных карбониллов и сложноэфирных карбонильных групп (рис. 29). Молекула принимает форму браслета диаметром около 8 Å и высотой 4 Å. Внутри молекулы имеется полость диаметром 2,8 Å, в центре которой располагается ион K^+ .

Липофильная поверхность комплекса, как и свободной молекулы, объясняет их высокую растворимость в полярных органических растворителях и плохую растворимость в воде.

В комплексе иона K^+ с валиномицином последний окружен как бы жесткой сольватной оболочкой. Весьма интересно, что валиномицин не образует комплексов с ионами Na^+ , имеющими меньший радиус. Причина такой большой избирательности подробно обсуждается в монографии [51].

Как уже отмечалось, скорость прохождения катионов через естественные мембраны на несколько порядков выше скорости их прохождения через мембраны, состоящие только из двойного липидного слоя. При добавлении валиномицина в концентрации 10^{-7} — 10^{-8} моль пропускная способность таких искусственных

мембран сравнивается с пропускной способностью естественных мембран. В связи с этим было сделано предположение, что в естественных мембранах также присутствуют некоторые молекулы-переносчики, которые действуют подобно молекулам валиномицина.

Существование таких естественных переносчиков пока только постулируется. Все попытки обнаружить молекулы-переносчики в биологических мембранах не привели к успеху. Возможно, что их содержание в мембранах очень мало. Возможно также, что перенос ионов в естественных мембранах осуществляется и другими способами. Высказываются мнения, что в естественных мембранах существуют молекулярные или надмолекулярные образования, которые создают в мембранах проходы или поры.

Сторонники этих взглядов допускают существование в мембране не только малых пор, пропускающих молекулы воды, но и более крупных пор с диаметром, равным или превышающим диаметр ионов. Вероятность переноса ионов через такие поры сопряжена с дегидратацией иона при переходе его из водной среды в пору под влиянием взаимодействий ионов с группами атомов, выстилающих пору. Внутри пор катионы могут быть сольватированы нейтральными лигандными группами. Так, например, Хилл [154] предполагает, что при внедрении катиона Na^+ в натриевый канал нервных мембран образуются комплексы за счет связи с шестью кислородными атомами (лигандами). Движение иона рассматривается как процесс последовательных переходов между молекулами, образующими пору.

Гипотеза о существовании каналов — пор, избирательно пропускающих катионы через мембраны, — нашла поддержку в данных, полученных при изучении мембранной активности, обусловленной антибиотиками грамицидиновой группы (грамицидины А, В, С и D).

Грамицидины А, В и С представляют собой белковые цепи весьма близкого строения. Их первичная структура образована чередующимися гидрофобными остатками L- и D-аминокислот. Грамицидины А, В и С отличаются друг от друга только одиннадцатым остатком. Пептидная цепь грамицидинов имеет спиральную конформацию, которую принято называть π_{LD} -спиралью.

В отличие от α -спиральных структур, где карбоксильные группы $\text{C}=\text{O}$ ориентированы вдоль оси спирали, в π_{LD} -спиралях связи $\text{C}=\text{O}$ соседних пептидных (амидных) групп расположены антипараллельно. $\text{C}=\text{O}$ группы L-аминокислотных остатков ориентированы вдоль оси спирали по направлению к С-концу, соответствующие группы D-остатков и глицина к N-концу. Боковые цепи аминокислотных остатков направлены под углом примерно 90° к оси спирали и обеспечивают ее высокую липофильность.

Грамицидины очень плохо растворяются в воде и не образуют устойчивых комплексов с ионами щелочных металлов. Однако они весьма склонны к образованию димеров.

Расположение грамицидинов в двойном липидном слое мембран не установлено. Урри предположил, что грамицидины в мембране образуют димеры, в которых свернутые в виде α -спиралей соседние молекулы соединены «голова к голове» водородными связями между амидными концами полипептидных цепей. Такой димер представляет собой как бы полую трубу, прошивающую насквозь мембрану. Димер имеет длину, приблизительно равную толщине бислойной мембраны (30—50 Å).

Предполагается, что такая «труба» и является порой (каналом) для катионов. Грамицидины существенно увеличивают проницаемость бислойных липидных мембран для ионов щелочных металлов. Проницаемость пропорциональна квадрату концентрации молекул грамицидинов в водном растворе. Это подтверждает участие димеров в механизме увеличения проводимости. В отличие от катионной проницаемости, обусловленной валиномицином, проницаемость, вызываемая молекулами грамицидина, не зависит столь существенно от того, находится мембрана выше или ниже температуры фазового перехода липидного слоя. Следовательно, механизм проводимости не связан с движением молекул грамицидина в липидном слое.

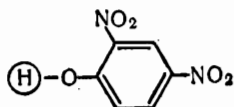
В последнее время многие ученые придерживаются мнения, что перенос ионов через мембраны осуществляется через ионные каналы — специализированные участки мембраны, включающие белковые молекулы и окружающие молекулы липидов. В качестве подтверждения такой точки зрения используют экспериментально установленную возможность блокирования транспорта ионов определенного типа ингибиторами. Так, например, транспорт ионов калия можно блокировать с помощью молекул тетраэтил-аммония.

Следует, однако, иметь в виду, что блокировка транспорта определенных ионов будет происходить и в том случае, когда ионы переносятся подвижными переносчиками. Несомненно, что в переносе ионов участвуют определенные белковые молекулы. В некоторых случаях перенос ионов связан с перемещением таких молекул внутри липидного слоя, в других же случаях белковые молекулы-переносчики пронизывают всю мембрану и движение иона осуществляется внутри комплекса, образованного белковой молекулой и липидными молекулами. По-видимому, в природе реализуются обе такие возможности.

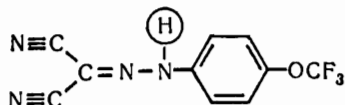
В обоих случаях изменение напряженности электрического поля внутри мембраны может приводить к конформационному изменению комплексов, участвующих в переносе ионов, и, следовательно, изменять проницаемость мембраны.

При исследовании механизма работы мембран часто используются ионофоры, увеличивающие проницаемость мембран для протонов (ионов H^+). К таким ионофорам относятся молекулы

2,4-динитрофенола (DNP)

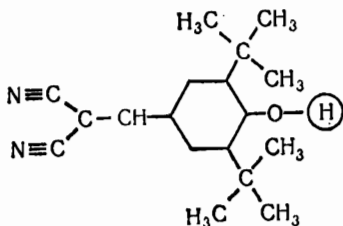


молекулы, имеющие структурную формулу



кратко обозначаемые FCCP;

молекулы, имеющие структурную формулу



кратко обозначаемые SF6847, и некоторые другие. В приведенных формулах молекулы изображены в состояниях с присоединенным протоном в местах, указанных кружками.

Все эти молекулы являются слабыми кислотами. Они легко отдают и приобретают протоны. Без протонов и при наличии протонов они растворимы в липидном слое клеточных мембран, поэтому такие молекулы могут переносить протоны через мембраны методом облегченной диффузии, т. е. под влиянием разности протонных концентраций и электрического поля. Механизм такого переноса аналогичен механизму переноса ионов калия валиномицином.

Перенос протонов через мембраны могут осуществлять и молекулы нигерицина. Однако такой перенос они осуществляют только в обмен на ионы калия. Эта особенность молекул нигерицина обусловлена тем, что они растворяются в липидном слое мембраны, присоединив ион калия или протон.

13.3. Молекулярный механизм мембранной активности валиномицина

Усиление избирательной способности транспортировки ионов щелочных металлов через мембраны с помощью переносчиков обусловлено тремя процессами: 1) узнаванием переносчиком иона и

его захватом в мембрану; 2) перемещением иона через всю толщу мембраны; 3) освобождением иона на другой стороне мембраны.

Исследования с помощью искусственных липидных мембран показали, что эти процессы осуществляются с помощью молекул валиномицина и родственных ему молекул.

Каков же возможный механизм переноса ионов K^+ молекулами валиномицина в таких мембранах? Высказываемое иногда предположение о том, что эти ионы переносятся через мембрану в виде комплексов по механизму прямого прохождения, согласно которому комплексы ионов K^+ образуются и распадаются в водных растворах, мало вероятно по трем причинам: 1) способность к комплексообразованию у молекул валиномицина в водном растворе в 10^4 раз меньше, чем в липидном слое; 2) вследствие плохой растворимости молекул валиномицина в воде их концентрация в водном растворе на несколько порядков меньше, чем в липидном слое; 3) для достижения стационарного значения проводимости мембраны требуется около 40 мин, в течение которых концентрация молекул валиномицина в липидном слое достигает высоких значений.

В силу указанных причин более вероятно, что происходит гетерогенная реакция комплексообразования, при которой молекулы валиномицина, локализованные в мембране, связывают ионы K^+ из водного раствора.

В отношении механизма движения ионов K^+ в липидном слое мембраны также нет единого мнения. Допускаются две возможности: 1) ионы K^+ перемещаются в липидном слое вместе с молекулами валиномицина в виде комплексов; 2) ионы K^+ перемещаются в липидном слое по механизму «эстафетной передачи», согласно которому эти ионы перескакивают с одной молекулы на другую.

Против второго механизма перемещения ионов можно выдвигать несколько возражений. Из-за большого потенциального барьера, связанного с выходом ионов в неполярную среду, переход ионов от одной молекулы валиномицина к другой в гидрофобной среде возможен только при их непосредственном соприкосновении. Следовательно, молекулы валиномицина в мембранах должны образовать «проводящие цепочки». Вследствие теплового движения такие цепочки будут разрушаться. Поэтому проводимость мембраны по механизму эстафетной передачи имела бы большое значение при низких температурах. Эксперимент же показывает, что при снижении температуры проводимость уменьшается и практически исчезает, когда липидный слой становится жестким — «замерзает».

Температурная зависимость ионной проницаемости мембран, содержащих молекулы валиномицина, указывает, что основной

механизм движения ионов обусловлен диффузионным движением под влиянием разности концентраций ионов K^+ на границах мембраны и приложенной к мембране разности электрических потенциалов.

Для описания движения комплексов через мембрану предлагались различные модели, отличающиеся допускаемым характером движения ионов. Различные авторы рассматривали процесс перемещения комплексов внутри мембраны либо как диффузионное движение через изотропную среду, характеризующуюся соответствующим коэффициентом диффузии, либо как прохождение через одиночный потенциальный барьер особой формы.

Например, в работе Холла с сотрудниками для феноменологического описания некоторых экспериментальных свойств прохождения ионов K^+ через мембраны вводился потенциальный барьер трапецеидальной формы с высотой $13 kT$ и шириной плоской части, равной $0,7$ толщины мембраны.

При других феноменологических описаниях свойств мембран, содержащих молекулы валиномицина, использовались модели в виде электрических цепочек, образованных последовательно соединенными сопротивлениями, величина которых выбиралась обратно пропорциональной скорости переноса ионов через границы и внутреннюю зону.

В экспериментах по исследованию влияния валиномицина на электрическое сопротивление липидных мембран обычно измеряется ток, проходящий через мембрану при определенной разности потенциалов и одинаковой концентрации ионов K^+ на ее поверхностях. В этом случае комплексы перемещаются в мембране только под влиянием электрического поля.

Если разность потенциалов равна нулю, то при пренебрежении кулоновским взаимодействием между комплексами движение комплексов в мембране будет определяться разностью их концентраций на поверхностях мембраны. Роль переносчиков ионов в этом случае можно описать следующим образом.

Пусть вблизи поверхностей 1 и 2 мембраны концентрации ионов K^+ соответственно равны $[K^+]_1$ и $[K^+]_2$ при $[K^+]_1 > [K^+]_2$. Молекулы валиномицина равномерно распределены по объему мембраны с концентрацией C . На поверхности 1 ионы K^+ захватываются и освобождаются молекулами валиномицина так же, как поглощаются и испаряются молекулы воды на поверхности раздела вода — насыщенный пар. Тогда концентрация комплексов (валиномицин и ион K^+) на поверхности 1 будет

$$C_1 = C [K^+]_1 / (\alpha_1 + [K^+]_1), \quad (13.5)$$

где $1/\alpha_1$ — параметр, характеризующий вероятность комплексообразования на поверхности 1.

Такие же процессы захвата и освобождения ионов K^+ происходят на поверхности 2, поэтому концентрация комплексов на этой поверхности

$$C_2 = C [K^+]_2 / (\alpha_2 + [K^+]_2). \quad (13.6)$$

Разность концентраций комплексов на обеих сторонах мембраны приводит к их диффузионному движению от поверхности 1 к поверхности 2.

Плотность потока комплексов и, следовательно, ионов K^+ определяется выражением

$$J = D \frac{C_1 - C_2}{l} = \frac{DC}{l} \left\{ \frac{[K^+]_1}{\alpha_1 + [K^+]_1} - \frac{[K^+]_2}{\alpha_2 + [K^+]_2} \right\}, \quad (13.7)$$

где D — коэффициент диффузии, зависящий от температуры; l — толщина мембраны. При таком диффузионном переносе ионов K^+ через мембрану концентрация молекул валиномицина внутри мембраны не меняется.

В некоторых случаях один ион может переноситься несколькими молекулами-переносчиками. Этот вид транспорта описан в работах [45, 47].

В настоящее время существует мнение, что в природных биологических мембранах перенос многих ионов осуществляется через специальные белково-липидные образования, вкрапленные в отдельные участки мембраны и пронизывающие ее насквозь. Эти каналы высокоселективны. Поэтому приходится вводить отдельно натриевые, калиевые, кальциевые и другие каналы. Необходимость введения большого числа весьма разнообразных каналов при отсутствии экспериментальных данных о возможности их выделения из мембраны несколько обесценивает представление об их реальном существовании. С другой стороны, подавление активности мембраны сравнительно малым числом молекул ингибиторов (некоторые яды) говорит в пользу их существования. Однако процесс ингибирования не противоречит и гипотезе о подвижных переносчиках.

Движение ионов в канале сводится к замене гидратной оболочки иона на сольватную оболочку полярных групп, выстилающих внутренность канала, к перемещению вдоль канала с помощью «эстафетного или прыжкового» механизма и замене сольватной оболочки на гидратную на выходе из канала.

До настоящего времени не установлены состав и структура предполагаемых каналов. Поэтому делаются попытки моделирования каналов на основе малообоснованных предположений о числе, высоте и расположении потенциальных барьеров по длине канала. Многочисленные модели этого типа рассмотрены в литературе.

Одним из недостатков феноменологических теорий пассивного транспорта ионов через специализированные ионные каналы в

мембранах является то, что описание пассивного транспорта ионов проводится в отрыве от активного транспорта тех же ионов.

В связи с мозаичной структурой биологических мембран, на поверхностях которых выступают колонии молекул белков, гликопротеинов и гликолипидов, возникает вопрос о возможности моделировать их электрическими двойными слоями с постоянными потенциалами на поверхностях.

13.4. Трансмембранная разность потенциалов

Широкое использование техники микроэлектродов (диаметром до 0,5 мкм) позволило проводить измерение разности потенциалов на внешней и внутренней поверхностях цитоплазматических мембран многих клеток. Особенно тщательно изучены разности потенциалов на мембранах крупных клеток нервного волокна — аксона и мышечных волокон.

В живых клетках в состоянии покоя разность потенциалов на цитоплазматической мембране — трансмембранная разность потенциалов — варьирует от 20 до 200 мВ. Клетки одного типа имеют одинаковую, характерную для них трансмембранную разность потенциалов. В цитоплазматической мембране аксона кальмара разность потенциалов равна 60 мВ, а в мышечном волокне — 90 мВ. Внутренний потенциал этих клеток, как и других, отрицателен.

При отсутствии суммарного тока через мембрану величина трансмембранной разности потенциалов ΔU выражается через молярные концентрации ионов на обеих поверхностях мембраны и их проницаемости в мембране с помощью уравнения Гольдмана — Хочкина — Каца. В случае одновалентных ионов оно имеет вид

$$\Delta U = -\frac{RT}{F} \ln \frac{\sum_{\alpha} P_{\alpha} [n_{\alpha}^{+}]_{\text{вн}} + \sum_{\alpha} P_{\alpha} [n_{\alpha}^{-}]_{\text{сн}}}{\sum_{\alpha} P_{\alpha} [n_{\alpha}^{+}]_{\text{сн}} + \sum_{\alpha} P_{\alpha} [n_{\alpha}^{-}]_{\text{вн}}}, \quad (13.8)$$

где $[n_{\alpha}^{+}]_i$ и $[n_{\alpha}^{-}]_i$ — молярные концентрации положительных и отрицательных ионов внутри (вн) и снаружи (сн) клетки; R — универсальная газовая постоянная; F — число Фарадея.

Если внутри и вне клетки находятся только два типа проникающих через мембрану одновалентных ионов, имеющих электрические заряды противоположного знака A^{+} и B^{-} , то из требования равенства электрохимических потенциалов в условиях равновесия следует соотношение

$$\ln \frac{[A^{+}]_{\text{сн}}}{[A^{+}]_{\text{вн}}} = \ln \frac{[B^{-}]_{\text{вн}}}{[B^{-}]_{\text{сн}}},$$

или

$$[A^{+}]_{\text{сн}} [B^{-}]_{\text{сн}} = [A^{+}]_{\text{вн}} [B^{-}]_{\text{вн}}. \quad (13.9)$$

Гликопротеины (карбоксильные группы сиаловой кислоты, аминокислотных остатков и т. д.) часто несут отрицательный электрический заряд, поэтому поверхность клетки обычно заряжена отрицательно. Эти заряды частично компенсируются положительными зарядами ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и других, входящих в состав окружающей среды. При физиологическом значении pH внутри клетки также имеются макромолекулы, несущие отрицательный электрический заряд.

Если внутри клетки или вне ее имеются заряженные макромолекулы, неспособные проникать через мембрану, то они оказывают существенное влияние на распределение ионов между клеткой и внеклеточной средой.

Рассмотрим это явление на простом примере. Пусть внутри и вне клетки имеется только два типа (A^+ и B^-) проникающих через мембрану одновалентных ионов и внутри клетки находятся неподвижные отрицательные заряды с молярной концентрацией δ . В состоянии равновесия внутри и снаружи клетки должны выполняться условия нейтральности

$$[\text{A}^+]_{\text{вн}} = [\text{B}^-]_{\text{вн}} + \delta, \quad [\text{A}^+]_{\text{сн}} = [\text{B}^-]_{\text{сн}} \equiv C. \quad (13.10)$$

Подставляя эти значения в равенство (13.9) для подвижных ионов, получаем уравнение

$$[\text{B}^-]_{\text{вн}}^2 + \delta [\text{B}^-]_{\text{вн}} - C^2 = 0, \quad (13.11)$$

из которого находим

$$[\text{B}^-]_{\text{вн}} = \sqrt{C^2 + \delta^2/4} - \delta/2 = \begin{cases} C - \delta/2, & \text{если } \delta \ll C; \\ C^2/\delta, & \text{если } \delta \gg C. \end{cases}$$

Из (13.10) и (13.11) следует, что при выполнении неравенства $\delta \ll C$

$$[\text{B}^-]_{\text{вн}} \approx C - \delta/2, \quad [\text{A}^+] \approx C + \delta/2.$$

Подставив эти значения и (13.10) в (13.8), найдем значение трансмембранного потенциала

$$\Delta U = -\frac{RT}{F} \times \ln \frac{P_A (C + \delta/2) + P_B C}{P_A C + P_B (C - \delta/2)}, \quad (13.12)$$

из которого следует, что даже при одинаковой проницаемости ионов $P_A = P_B$ на мембране имеется трансмембранная раз-

Таблица 7

Ион	Концентрация	
	внутри клетки	вне клетки
K^+	340	10,4
Na^+	49	463
Cl^-	114	592

ность потенциалов

$$\Delta U = - \frac{RT}{F} \ln \frac{2C + \delta/2}{2C - \delta/2} \approx - \frac{RT}{2CF} \delta. \quad (13.13)$$

Эта разность потенциалов называется *доннановской*.

Различные концентрации ионов внутри и вне клетки в основном создаются системами активного транспорта (см. гл. V). Значения концентрации трех основных ионов внутри и вне гигантского аксона кальмара приведены в табл. 7.

Проницаемость этих ионов через мембрану существенно зависит от внешних условий. В состоянии покоя при физиологических условиях соотношение коэффициентов проницаемости имеет вид

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

Следовательно, основной вклад в трансмембранный потенциал вносят только ионы K^+ и Cl^- . Согласно (13.8) при $30^\circ C$ получаем

$$\Delta U = - \frac{RT}{F} \ln \frac{340 + 0,45 \cdot 592}{10,4 + 0,45 \cdot 114} \approx - 59,7 \text{ мВ},$$

что хорошо согласуется с экспериментальным значением — 60 мВ.

§ 14. Принудительный транспорт молекул и ионов через биологические мембраны

14.1. Ионные насосы

Искусственные фосфолипидные мембраны позволили выяснить некоторые особенности селективности и механизма действия ионных переносчиков (ионофоров), обеспечивающих пассивный транспорт ионов из областей высоких в области малых концентраций. Наряду с пассивным транспортом в жизнедеятельности клетки большую роль играют процессы принудительного переноса молекул и ионов из областей их малых концентраций в области высоких концентраций.

Биологические мембраны являются асимметричными устройствами, позволяющими при затрате энергии устанавливать разность электрических потенциалов и разность концентраций ионов и молекул на двух сторонах мембран. Транспортные системы мембран, призванные создавать градиенты концентраций переносимых веществ на двух сторонах мембран, часто называют насосами. Так, например, говорят о натрий-калиевых насосах, создающих на мембранах градиенты концентрации ионов натрия и калия, о кальциевых насосах, создающих градиенты концентрации ионов кальция, о протонных насосах, создающих градиенты концентрации протонов.

Натрий-калиевые насосы входят в состав цитоплазматических мембран, окружающих клетки. Эти насосы обеспечивают малое

отношение концентрации ионов натрия к концентрации ионов калия внутри клетки, несмотря на то что вне клетки такое отношение велико.

Кальциевые насосы входят в состав мембран саркоплазматической сети мышечных волокон (см. п. 19.1). Эти насосы снижают концентрацию двукратно ионизированных атомов кальция в мышечных волокнах при их расслаблении до значения 10^{-7} моль, перегоняя их внутрь канальцев саркоплазматической сети, где их концентрация составляет 10^{-3} моль.

Натрий-калиевые и кальциевые насосы работают за счет потребления энергии гидролиза молекул АТФ с образованием молекул АДФ и неорганического фосфата (Φ_n). Эти насосы могут работать обратимо, используя градиенты концентрации ионов для синтеза молекул АТФ из молекул АДФ и Φ_n .

Протонные насосы входят в состав цитоплазматических мембран бактерий, внутренних мембран клеточных органелл — митохондрий (см. § 16), мембран тилакоидов, входящих в состав хлоропластов зеленых растений (см. § 17). Протонные насосы в цитоплазматических мембранах бактерий и во внутренних мембранах митохондрий работают за счет энергии окисления молекул углеводов и жиров. Протонные насосы в тилакоидах используют энергию света, поглощаемого растениями.

При переносе одного моля вещества со стороны мембраны с малой концентрацией C_1 на сторону с большей концентрацией C_2 надо затратить работу, равную изменению свободной энергии Гиббса,

$$\Delta G = RT \ln \frac{C_2}{C_1} \approx 0,863T \lg \frac{C_2}{C_1} \left[\frac{\text{ккал}}{\text{моль} \cdot K} \right], \quad (14.1)$$

где T — абсолютная температура в градусах Кельвина; R — газовая постоянная. Такая работа должна выполняться за счет сопряженного процесса, выделяющего энергию.

Совершая работу по переносу ионов и молекул через мембрану, клетка расходует значительную энергию. Так, например, живая клетка бактерии может накопить ионы калия внутри клетки до концентрации 10^{-1} моль при его концентрации вне клетки 10^{-4} моль. Согласно формуле (14.1), при 27°C она должна затратить на это энергию, равную 803 кал/моль.

Проблема выяснения механизма работы биологических ионных насосов остается одной из центральных в биологии. Обзор современного состояния этой проблемы дан в монографии В. К. Лишко [43].

Натрий-калиевый насос, который часто для упрощения называют натриевым насосом, осуществляя активный транспорт ионов натрия и калия через цитоплазматические мембраны, поддержи-

вает поперек мембраны разность электрических потенциалов, равную 60—100 мВ с отрицательным знаком внутри клетки. При этом внутри клетки устанавливается отношение концентраций ионов калия к концентрации ионов натрия в пределах от 6 до 15, в то время как вне клетки оно равно 0,03—0,04.

Важной особенностью натриевого насоса является то, что вынос ионов Na^+ из клетки не происходит, если во внешней среде нет ионов K^+ . Поглощение клеткой ионов K^+ возможно только в том случае, когда внутри клетки есть ионы Na^+ [135, 156, 245]. Другими словами, ионы натрия активируют натриевый насос на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны, а ионы калия — на ее внешней поверхности. В связи с этой особенностью натриевого насоса высказывалось мнение, что потоки ионов натрия и калия в сторону возрастания их концентраций осуществляются одним и тем же комплексом белков [135, 156, 177, 205].

Подтверждением такой точки зрения явились опыты Бейкера и Мэнила [75], которые показали, что замена внеклеточной жидкости средой, не содержащей ионов калия, практически мгновенно прекращает активный поток ионов натрия из клетки. Тем самым было показано, что связь ионных токов Na^+ и K^+ является прямой, а не косвенной.

Для объяснения встречных потоков ионов натрия и калия была предложена модель [67] натрий-калиевого обмена. Согласно этой модели внутри мембраны находится носитель, меняющий свое сродство к ионам натрия и калия. На внутренней поверхности мембраны носитель присоединяет ионы натрия и переносит их на внешнюю поверхность. Отдав ион натрия, носитель на внешней поверхности приобретает сродство к ионам калия. Захватывая ион калия, он переносит его на внутреннюю поверхность клетки, где снова, приобретая сродство к ионам Na^+ , может начать новый цикл.

Чтобы такая модель имела право на существование, необходимо найти объяснение изменений сродства переносчиков к присоединению ионов на внешней и внутренней сторонах мембраны. Чем обусловлен такой векторный характер переноса? Связан ли он с тем, что гидролиз молекул АТФ осуществляется только на внутренней стороне мембраны? Необходимо также объяснить, как энергия гидролиза используется для перемещения ионов.

Механизм работы натриевого насоса на основе натрий-калиевого обмена ионов не объясняет наблюдаемые в эксперименте непостоянные стехиометрические отношения чисел переносимых ионов натрия и калия. В мембранах эритроцитов человека натриевый насос выводит из клетки три иона натрия и вводит два иона калия [130, 222]. В гигантском аксоне кальмара это отношение равно трем или двум к одному [72, 89].

Большое значение имеет работа П. Г. Костюка с сотрудниками

[180], где показано, что в одной и той же клетке соотношение активных потоков натрия и калия не постоянно. При изменении поперечной разности потенциалов изменяется выход ионов калия, при неизменном натриевом токе. Эти исследования, по-видимому, указывают на то, что калиевый ток складывается из двух частей. Одна непосредственно связана с работой натриевого насоса, а вторая обусловлена движением ионов в электрическом поле мембраны. Проницаемость ионов калия через мембрану значительно выше, чем ионов натрия. Поэтому электрическое поле мембраны оказывает основное влияние на ионы калия.

Вывод натрия из клетки осуществляется натриевым насосом и в том случае, когда во внешней среде ионы калия заменены другими одновалентными катионами NH_4^+ , Li^+ , Cs^+ , Rb^+ [243] и Tl^+ [132]. Эти ионы переносятся внутрь клетки вместо ионов калия.

Интересно, что натриевые насосы в почках осуществляют активный транспорт ионов Na^+ и Cl^- в одном направлении (из клетки) без участия ионов калия. Это было подтверждено на искусственных фосфолипидных мембранах, в которые включались ионотранспортирующие комплексы, выделенные из почек.

Активный транспорт ионных токов натрия и калия может быть заторможен веществами, стимулирующими сердечную деятельность. Эти вещества называются кардиоактивными стероидами. К ним относятся производные строфантина — строфантин G и K или оубаин и некоторые другие.

Ингибирующее действие кардиоактивных стероидов на активный транспорт ионов натрия и калия в мембранах эритроцитов было отмечено в 1953 г. Шатцманом [226]. Производные строфантина в 20—30 раз снижают скорость выведения натрия из гигантских аксонов кальмара [88]. Теперь такие стероиды широко используют в исследованиях при необходимости подавления активного переноса ионов или для отделения активных потоков от пассивных.

Работа натриевого насоса обеспечивается энергией гидролиза молекул АТФ (более правильно — комплекса Mg AТФ^{2-}). Следовательно, такой гидролиз должен быть обусловлен комплексом белков и липидов, входящих в натриевый насос. Роль молекул АТФ в активном транспорте установлена прямыми опытами на гигантских аксонах кальмара, отравленных цианидом. Активное выведение натрия из такого волокна наблюдалось лишь в тех случаях, когда внутри волокна сохранялось некоторое количество молекул АТФ или они вводились туда искусственно [90, 87, 91]. Установлено, что тени эритроцитов, т. е. замкнутые мембраны эритроцитов, не содержащие цитоплазматических компонентов, способны поддерживать натриевые и калиевые градиенты только

в том случае, если в состав их внутри среды входят молекулы АТФ и ионы Mg^{2+} .

Ингибирование натриевого насоса стероидами и активация ионами натрия и калия показали, что его действие подобно действию фермента. Этот фермент должен вызывать и гидролиз молекул АТФ, чтобы использовать их энергию. Поэтому он назван Na, K-АТФ-азой. Впервые такой фермент был открыт в 1957 г. Сконом [228] в мембранных фракциях нерва краба.

В дальнейшем выяснилось, что фермент Na, K-АТФ-аза прочно вмонтирован в липидный слой плазматической мембраны так, что его активные центры располагаются на противоположных поверхностях мембраны. Молекулы АТФ расщепляются только на внутренней поверхности мембраны [195]. Образующийся при гидролизе неорганический фосфат остается в цитоплазме клетки [244].

В опытах на гигантских аксонах кальмаров установлено, что действие ингибитора оуабаина проявляется только с внешней поверхности мембраны [75, 88]. Ингибирование обусловлено присоединением молекул оуабаина к части фермента, выступающей с внешней стороны мембраны.

Используя меченные тритием молекулы оуабаина, удалось определить плотность расположения ферментов Na, K-АТФ-азы на поверхности мембраны. Бейкер и Виллис [76, 77] нашли, что в мембранах нервных клеток имеется 500—1500 ферментов на 1 мкм^2 ; у эритроцитов — только один фермент на 1 мкм^2 . По некоторым оценкам фермент совершает 6000—10 000 выбросов ионов в минуту [76, 120, 183].

Делались многократные попытки выделения ферментов Na, K-АТФ-азы из цитоплазматических мембран [43]. В настоящее время считают, что этот фермент состоит из двух полипептидных цепей с молекулярными массами 100 000 и 50 000 [70, 172, 210]. В структурной организации фермента, возможно, и в его действии, существенную роль играет гидрофобное окружение молекул липидов. Высказывалось даже предположение, что они принимают непосредственное участие в переносе ионов.

Ферменты, образующие кальциевые насосы в мембранах саркоплазматической сети мышечных волокон, жестко связаны с мембранами и проявляют активность только в контакте с липидами.

От кальциевого насоса требуется очень большая производительность. За очень короткое время после сокращения мышечного волокна надо снизить концентрацию ионов кальция в саркоплазме мышечного волокна от значения 10^{-8} моль до значения, меньшего 10^{-7} моль, при концентрации кальция в пузырьках саркоплазматической сети, равной 10^{-3} моль. Поэтому белки, участвующие в работе кальциевого насоса, составляют в мембранах саркоплазматических пузырьков около 60% их общего веса.

Белки кальциевого насоса называют ферментами Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы. Они могут быть выделены из мембран саркоплазматической сети. Белки кальциевых насосов, выделенные из мембран саркоплазматической сети, в растворе с липидами при встряхивании входят в состав образующихся небольших пузырьков — липосом. Если в такой раствор добавить молекулы АТФ и ионы кальция, то последние накапливаются внутри липосом. Такие эксперименты подтверждают, что кальциевые насосы при переносе ионов кальция через мембраны внутрь липосом используют энергию гидролиза молекул АТФ.

Установлено, что при активном переносе через мембраны саркоплазматической сети мышечных волокон двух ионов кальция затрачивается энергия гидролиза одной молекулы АТФ. Возможная модель работы кальциевого насоса сводится к следующему. Кальциевый насос захватывает два иона Ca^{2+} и одну молекулу АТФ, несущую четырехкратный отрицательный заряд. Фермент, входящий в состав белков кальциевого насоса, в присутствии ионов кальция вызывает гидролиз молекул АТФ. Энергия гидролиза вызывает конформационные изменения других белков, входящих в состав насоса, которые в свою очередь вызывают перемещение ионов кальция внутрь пузырька саркоплазматической сети. Конечно, такое описание не объясняет процесс перемещения ионов кальция. Характер преобразований в белках кальциевого насоса и механизм использования энергии гидролиза молекул АТФ остаются невыясненными.

14.2. Энергетизованное состояние мембраны

Согласно гипотезе Митчелла (см. п. 16.3), в клетках имеется только два типа насосов: протонные во внутренних мембранах митохондрий, в мембранах тилакоидов, входящих в хлоропласты зеленых растений (см. § 17), и в мембранах бактерий и натрий-калиевые в цитоплазматических мембранах клеток. Эти насосы управляют перемещениями других молекул и ионов через мембраны.

В цитоплазматической мембране энергетизованное состояние создается натрий-калиевым насосом, который использует энергию гидролиза молекул АТФ, синтезируемых в митохондриях (см. § 16). Натрий-калиевый насос переносит из внутренней области клетки во внешнюю среду три иона натрия в обмен на два иона калия, которые перемещаются внутрь клетки. При таких перемещениях ионов создается разность концентраций ионов натрия и калия и трансмембранный потенциал на мембране (отрицательный знак внутри клетки).

Протонные насосы, имеющиеся во внутренних (сопрягающих) мембранах митохондрий и тилакоидов, за счет энергии дыхания

создают значительную разность электрических потенциалов (до 220 мВ) и значительный градиент концентрации протонов. Переход мембраны в такое возбужденное (энергетизованное) состояние при принудительном переносе через мембрану протонов характеризуется электрохимическим мембранным потенциалом. Этот потенциал складывается из двух компонент: 1) разности электрических потенциалов с положительным знаком на той стороне мембраны, куда перемещаются протоны; 2) химического (осмотического) потенциала, пропорционального разности значений рН на обеих сторонах мембраны.

Разность электрических потенциалов действует на все ионы, находящиеся в мембране. Химическая (осмотическая) часть потенциала оказывает действие только на протоны.

Используя различные ионофоры, можно измерить отдельные компоненты электрохимического потенциала мембраны. Так, например, поскольку валиномицин увеличивает проницаемость мембраны для ионов калия, то присутствие молекул валиномицина в мембране вызывает выравнивание электрических потенциалов и остается только химическая часть потенциала, обусловленная разностью значений рН.

Ионофор нигерицин вызывает почти электрически нейтральный обмен протонов на ионы калия. Поэтому его наличие в мембране вызывает выравнивание значений рН, но сохраняет значение разности электрических потенциалов.

Полный электрохимический потенциал, независимо от того, из каких компонент он составлен, может быть измерен в энергетических единицах. Его можно определить как энергию, требуемую для перемещения протонов против направления поля, создаваемого этим потенциалом, т. е. в сторону более высокой концентрации протонов. Эта энергия выделяется при обратном движении протонов.

Согласно Митчеллу, полный электрохимический потенциал мембраны с помощью специальных ферментов используется для перемещения ионов и молекул в направлении увеличения их концентраций и для синтеза молекул АТФ (см. п. 16.3).

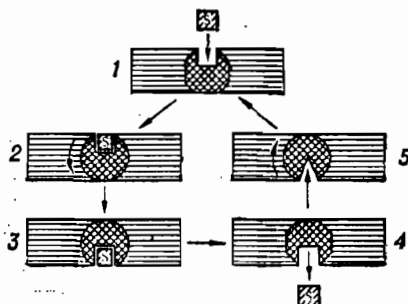
Полный электрохимический потенциал на сопрягающих мембранах митохондрий равен примерно 5,3 ккал/моль (0,23 эВ), на цитоплазматических мембранах бактерий его значение составляет 4,4 ккал/моль (0,19 эВ).

Большая разница в концентрациях ионов натрия внутри и вне клеток используется ими для активного транспорта через цитоплазматические мембраны сахаров и аминокислот (например, в кишечнике и почках). Ионы натрия образуют тройной комплекс с переносимой молекулой и молекулой-переносчиком и перемещаются внутри мембраны под действием градиента электрического поля мембраны. Совместный перенос ионов натрия и некоторых

Рис. 30.

Механизм активного транспорта [128]:

переносимая молекула S в растворе с наружной стороны мембраны (1) захватывается «носителем», который при этом меняет свою форму (2); затем носитель поворачивается на 180° (3), изменяет свою форму и освобождается от молекулы S (4), опять изменяет свою форму (5) и поворачивается, возвращаясь в исходное состояние.



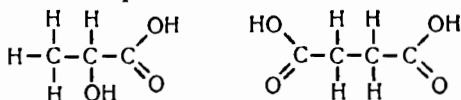
сахаров и аминокислот через мембраны клеток почек и кишечника называется *симпортом*.

В ряде случаев установлены белковые соединения, играющие роль переносчиков молекул через мембраны. Так, при исследовании транспорта молочного сахара (лактозы) через цитоплазматическую мембрану бактерии *E. coli* Моно, Коеи и Рикенберг в Пастеровском институте (Париж) установили, что носителем лактозы является гидрофобный белок, находящийся внутри мембраны, и что процесс транспорта напоминает каталитическую реакцию, инициируемую ферментом. Они показали, что система активного транспорта в мембране этой бактерии приводит к 500-кратному повышению концентрации лактозы внутри клетки по сравнению с концентрацией вне ее.

Белок, участвующий в переносе лактозы, по мнению группы Моно, осуществляет эту функцию путем ряда конформационных преобразований, происходящих при затратах энергии. В качестве наглядной, хотя и мало убедительной, иллюстрации этого процесса предложена «модель транспорта», изображенная на рис. 30.

Гидрофобный белок, переносящий лактозу, представлен в виде «вращающейся двери». Он имеет углубление с внешней стороны мембраны, способное захватывать молекулу лактозы. После захвата молекулы лактозы этот белок изменяет свою форму и поворачивается так, чтобы освободить ее на другой стороне мембраны. После этого он снова меняет форму и еще раз поворачивается на 180° . Далее восстанавливается первоначальная форма переносчика, и он способен повторить новый цикл.

В 1965 г. Кеннеди и Фокс в Гарвардской медицинской школе определили состав белкового переносчика и показали, что он способен как фермент присоединять лактозу. В 1970 г. Кабан с сотрудниками показали, что энергия, требуемая для активного транспорта лактозы бактерией *E. coli*, выделяется при окислении до CO_2 и H_2O молочной и янтарной кислот:



Однако до сих пор молекулярный механизм процесса переноса лактозы через мембрану и способ использования энергии окисления в этом процессе остаются невыясненными.

С помощью молекул-переносчиков осуществляется транспорт через мембрану многих соединений. Например, таким образом переносятся молекулы глюкозы в эритроциты крови.

Транспорт веществ при участии переносчиков отличается рядом свойств от прямого пассивного транспорта. Он очень специфичен, так как переносчики присоединяют только определенные вещества. Проявляется также зависимость насыщения от скорости переноса и от концентрации переносимого вещества. Насыщение наступает тогда, когда все молекулы-переносчики использованы для транспорта переносимых молекул. Наконец, так же, как при каталитических реакциях, осуществляемых ферментами, процесс транспорта молекул и ионов при участии переносчиков зависит от рН среды и подвержен действию ингибиторов и активаторов. Например, инсулин активирует транспорт глюкозы в некоторые клетки млекопитающих.

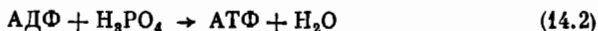
14.3. Окислительное фосфорилирование

Для переноса через мембрану молекул и ионов из области малой их концентрации в область большой концентрации необходимо поддерживать (раздельно или вместе) разность концентраций протонов (или ионов натрия) и разность электрических потенциалов на двух поверхностях мембраны независимо от того, происходит такой перенос с участием или без участия переносчиков.

Непрерывное поддержание такого «возбужденного» состояния мембраны требует затраты клеткой энергии. Если в клетку не поступает энергия, то разности потенциалов и концентраций веществ на поверхностях ее мембран выравниваются и клетка умирает.

Энергоснабжение клеток всех живых организмов происходит за счет окисления пищевых продуктов (дыхания) у животных и фотосинтеза у растений. При окислении органических веществ электроны от окисляемого вещества переходят к кислороду.

Энергия, выделяемая в процессе окисления, у высших животных первоначально используется во внутриклеточных органеллах — митохондриях (см. § 16) для синтеза, с помощью особых ферментов, называемых АТФ-азами, молекул аденозинтрифосфата (АТФ) из молекул аденозиндифосфата (АДФ) и фосфорной кислоты (рис. 31). Химическая реакция



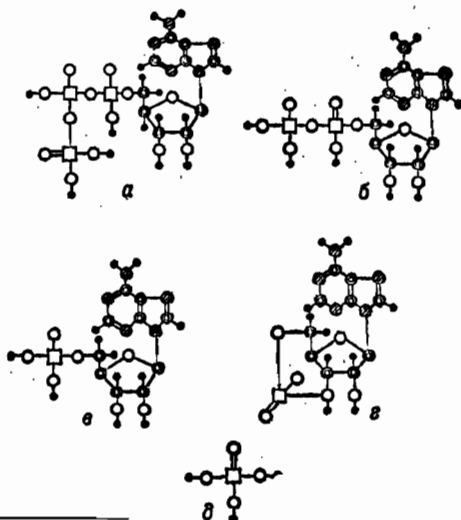
называется *фосфорилированием*.

При наличии специальных ферментов происходит обратная химическая реакция, называемая гидролизом молекул АТФ, так как

Рис. 31.

Структурные формулы молекул:

а — аденозинтрифосфат (АТФ); б — аденозиндифосфат (АДФ); в — аденозинмонофосфат (АМФ); г — циклический аденозинмонофосфат; д — фосфорная кислота; (●) — углерод; (■) — азот; (○) — кислород, (□) — фосфор, (●) — водород.



она требует участия воды. В физиологических условиях при гидролизе молекулы АТФ выделяется около 0,54 эВ (12,5 ккал/моль) энергии (см. п. 15.1). Эта энергия используется клеткой для активного транспорта через цитоплазматическую мембрану многих веществ и ионов и для многих других жизненно важных процессов (синтез аминокислот, белков и других составных частей клетки, выполнение механических движений и т. д.).

Процессы окисления пищевых продуктов и фосфорилирования сопряжены между собой. Они осуществляются системой взаимосвязанных ферментов, находящихся в мембранах клеток. Мембраны, содержащие такие комплексы ферментов, называются *сопрягающими*. Сопряженный процесс окисления и фосфорилирования называется *окислительным фосфорилированием*.

Цитоплазматические мембраны животных и растений и внешние мембраны митохондрий и хлоропластов неспособны к окислительному фосфорилированию. Для активного транспорта ионов и других веществ они используют в качестве источника энергии молекулы АТФ, синтезированные в митохондриях или хлоропластах.

Бактерии не имеют внутренних сопрягающих мембран. Поэтому их цитоплазматические мембраны содержат комплексы ферментов, синтезирующие молекулы АТФ за счет энергии окислительного фосфорилирования. Молекулы АТФ используются клеткой для внутренних потребностей (синтез аминокислот, белков и др.) и для активного транспорта. Кроме того, активный транспорт этими мембранами может осуществляться без участия молекул АТФ непосредственно за счет энергии, выделяющейся при окислении органических веществ.

У некоторых бактерий (кишечная палочка *E.-coli*) транспорт глюкозы внутрь клетки осуществляется третьим механизмом. Молекулы глюкозы внутри клетки превращаются в молекулы глюкозамонофосфата. Процесс фосфорилирования осуществляется специальными ферментами. Донорами фосфата служат молекулы фосфоэнолпирувата (ФЭП). В результате фосфорилирования количество свободных молекул глюкозы внутри клетки резко уменьшается и в клетку поступают другие молекулы глюкозы механизмом пассивного транспорта. Молекулы глюкозамонофосфата не могут пройти через мембрану и остаются в клетке.

Транспорт глюкозы в бактериях, осуществляемый путем фосфорилирования, получил название фосфоэнолпируватной фосфотрансферазной системы. Ее удалось разделить на две последовательные стадии. Вначале на внутренней поверхности мембраны фосфоэнолпируват фосфорилирует растворимый белок. Затем этот белок отдает свой фосфат глюкозе, превращая ее в глюкозамонофосфат. Обе стадии транспорта глюкозы осуществляются разными ферментами. Фермент, осуществляющий первую стадию, лежит на внутренней поверхности мембраны. Фермент, осуществляющий вторую стадию и освобождающий фосфорилированную глюкозу, прочно связан с мембраной.

Несмотря на большие успехи, достигнутые биохимиками в определении состава и выделения белков, ответственных за активный транспорт в мембранах, пока еще невозможно на молекулярном уровне объяснить механизм процессов переноса. Остается неясным, как присоединяется субстрат к молекулам-переносчикам, каков характер их движения через мембрану и освобождение на другой ее стороне.

14.4. Активный транспорт в мембранах бактерий

Весьма интересные исследования процессов активного транспорта через мембрану бактерий, называемых кишечной палочкой *E.-coli*, провели Лурия с сотрудниками в Массачусетском технологическом институте. С помощью антибиотика *колицина* им удалось вмешаться в некоторые стадии активного транспорта сахаров внутрь клетки этой бактерии. Следуя обзору Лурия [192] (см. также [220, 173]), опишем кратко результаты этих исследований.

Антибиотик *колицин* является молекулой белка. Он известен в четырех формах: К, Е1, Е2 и Е3. *Колицины* Е2 и Е3 разрушают в клетке механизм синтеза белков. *Колицины* К и Е1 нарушают механизм активного транспорта сахаров в клетках бактерий. Группа Лурия использовала *колицины* К и Е1 как средство воздействия на клетки бактерии *E.-coli*.

Бактерии *E.-coli* используют несколько различных механизмов для активного транспорта сахаров и других молекул внутрь

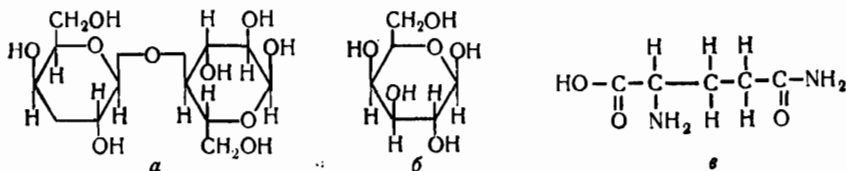


Рис. 32.

Структурные формулы молекул, переносимых активным транспортом через цитоплазматическую мембрану бактерий *E. coli*:

а — лактоза — молочный сахар (переносится за счет разности потенциалов, возникающей при окислении молочной и янтарной кислот); б — глюкоза (в переносе участвуют молекулы фосфоэнолпирувата); в — глютамин (при переносе используется гидролиз АТФ).

клетки. Молекулы глюкозы транспортируются внутрь клетки при участии молекул фосфоэнолпирувата (см. п. 14.3). Для переноса молекул молочного сахара используется энергия окисления молочной и янтарной кислот. Перенос молекул глютамина осуществляется за счет энергии гидролиза молекул АТФ.

Группой Лурия было показано, что присоединение белковых молекул колицина К и Е1 к клеткам бактерии *E. coli* сопровождается прекращением синтеза макромолекул: белков, ДНК, РНК и гликогена. Прекращается также активный транспорт молочного сахара (лактозы), глютамина, различных аминокислот и ионов калия и магния. В то же время клетка продолжает аккумулировать глюкозу, активный транспорт которой обеспечивается непосредственно энергией окисления молочной кислоты. Не нарушались также процессы транспорта веществ, не требующие затраты энергии (пассивный транспорт).

Согласно гипотезе Митчелла (см. п. 16.2), которая в настоящее время принимается многими учеными, активный транспорт многих веществ через мембраны осуществляется в том случае, когда на ее поверхности поддерживается разность потенциалов около 200 мВ с положительным знаком вне клетки и отрицательным внутри. Такое состояние мембраны называется энергизированным. Оно обеспечивается за счет энергии переноса электронов при окислении некоторых веществ или гидролиза молекул АТФ. Хотя молекулярный механизм этих процессов совершенно не установлен, использование гипотезы Митчелла оказывается полезным для интерпретации ряда явлений.

Молекулы колицина присоединяются к специальным рецепторам — молекулам липополисахаридам, выступающим из внешней жесткой оболочки бактерий. Присоединив молекулу колицина К (или Е1), бактерия некоторое время продолжает функционировать нормально. В этом первом состоянии молекула колицина находится вне бактериальной клетки и может быть удалена путем добавления в раствор фермента трипсина, который расщепляет молекулы колицина, как и другие белковые молекулы (см. п. 10.2).

Бактерия теряет способность к активному транспорту лактозы и глутамина (рис. 32), когда молекула колицина проникает через цитоплазматическую мембрану. Одновременно внутри клетки резко уменьшается число молекул АТФ и прекращается синтез белков и молекул ДНК и РНК.

Переход от активного состояния клетки бактерии ко второму, неактивному, состоянию происходит только в том случае, когда цитоплазматическая мембрана находится в энергизированном состоянии. Следовательно, для прохождения молекулы колицина через мембрану требуется затрата энергии. Скорость перехода зависит от состояния липидов в мембране. Переход затормаживается при охлаждении мембраны или включении в нее липидов с насыщенными углеродными связями, которые делают липидный слой более жестким. Цитоплазматическая мембрана бактерии переходит в энергизированное состояние за счет энергии двух независимых процессов: окисления молочной и янтарной кислот (перенос электрона к кислороду) и гидролиза молекул АТФ. Энергизация мембраны за счет энергии гидролиза осуществляется специальным ферментом АТФ-азой, находящимся в мембране. Этот же фермент может осуществлять обратную реакцию — синтез молекул АТФ из молекул АДФ и фосфата за счет энергии мембраны.

Опыты с мутантными бактериями *E-coli*, лишенными фермента АТФ-азы в цитоплазматической мембране, показали, что при присоединении к ним молекул колицина их поведение существенно отличается от поведения обычной бактериальной клетки. После присоединения молекулы колицина к таким мутантным клеткам также происходит прекращение активного транспорта лактозы, глутамина и ионов K^+ и Mg^{2+} , однако внутри клетки не прекращается синтез белков и молекул ДНК и РНК. При этом количество молекул АТФ внутри клетки даже возрастает.

Для объяснения наблюдаемых эффектов влияния молекул колицина на нормальные и мутантные бактерии *E-coli* делается предположение, что внедрение молекулы колицина в клетку сопровождается снижением мембранной разности потенциалов. Снижение разности потенциалов приводит к прекращению активного транспорта лактозы, глутамина, ионов калия и магния через мембрану. В нормальной бактериальной клетке фермент АТФ-аза, находящийся в мембране в безнадежной попытке восстановить необходимую разность потенциалов, производит интенсивный гидролиз молекул АТФ, снижая количество этих молекул внутри клетки. Следствием уменьшения числа молекул АТФ является прекращение синтеза молекул белка, ДНК и РНК.

В мутантной клетке, из-за отсутствия фермента АТФ-азы при присоединении молекулы колицина, гидролиз молекул АТФ в мембране не происходит. Их же синтез внутри клетки продолжается за счет окисления молекул глюкозы, поступление которых

внутри клетки не тормозится молекулами колицина. Число молекул АТФ внутри клетки возрастает. Они используются при синтезе белков и молекул ДНК и РНК. Таким образом, снижение мембранного потенциала в случае мутантных молекул прекращает только активный транспорт лактозы, глутамина и ионов калия и магния.

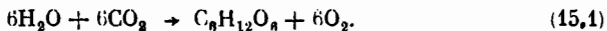
Вопрос о молекулярном механизме происходящих в мембране изменений при присоединении молекул колицина остается открытым. Возможно, что снижение разности потенциалов обусловлено конформационной перестройкой белковых молекул, участвующих в активном транспорте.



ГЛАВА V БИОЭНЕРГЕТИКА

§ 15. Метаболические реакции в клетке

Источником энергии для всех существующих на Земле живых организмов служит солнечный свет. Растения и фотосинтезирующие бактерии непосредственно используют энергию Солнца. В процессе фотосинтеза из воды и углекислоты создаются молекулы глюкозы, а при участии неорганических солей — и другие более сложные органические соединения. Например, при участии ферментов за счет энергии солнечного излучения происходит реакция образования сахара, известная еще в прошлом столетии,



В таких реакциях энергия солнечных лучей превращается в химическую энергию.

Одним из основных этапов развития жизни на Земле явилось появление зеленых растений. Только зеленые растения используют процесс фотосинтеза для построения своих организмов из углекислоты и воды. Они выделяют в атмосферу кислород, необходимый для всех животных.

Животные не могут непосредственно преобразовывать энергию солнечных лучей в химическую энергию. Они пополняют свои энергетические запасы, поедая растения (травоядные) или других животных, питающихся растениями (плотоядные). Для высокоорганизованных живых систем основными питательными веществами служат углеводы, жиры и белки. Путем окисления при дыхании эти вещества превращаются через ряд последовательных этапов в более простые соединения и в конце концов — в двуокись углерода, воду и соединения азота.

Некоторые организмы (анаэробные) не нуждаются в кислороде. Они получают энергию при химических реакциях. Например, нитритные бактерии окисляют аммиак до нитритов, нитратные бактерии окисляют нитриты до нитратов. Эти бактерии играют

важную роль в круговороте азота. В результате деятельности нитрифицирующих и нитратных бактерий аммиак превращается в легко доступные для зеленых растений нитраты.

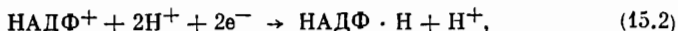
Энергия, выделяемая при химических превращениях в клетках животных, трансформируется, аккумулируется и используется для синтеза новых соединений, создания неравновесных распределений веществ и ионов внутри и вне клеток, для перемещения веществ, движения органов и т. д.

Реакция, обратная (15.1), называется *окислением*. Она сопровождается выделением около 30 эВ энергии. Однако только около 40% этой энергии используется клеткой для полезной работы, остальная часть расходуется в виде тепла.

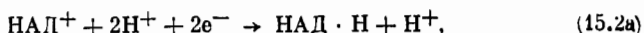
Процесс окисления обусловлен переносом атомов водорода от окисляемой молекулы к другой молекуле, которая рассматривается как восстановитель. В связи с тем что в воде и водной среде клетки всегда присутствуют протоны, при описании процесса окисления достаточно рассмотреть только перенос электронов. Необходимое количество протонов для образования атомов водорода заимствуется из водной среды. Обычно реакции окисления внутри клеток протекают в несколько этапов. Под действием специальных ферментов два электрона переносятся от пищевого вещества на какой-либо первоначальный акцептор. Другие ферменты переносят их далее, вдоль системы переноса электронов ко вторичному акцептору и т. д. Этот процесс заканчивается образованием молекулы воды, для чего каждому атому кислорода требуется два электрона и два протона.

Главными первичными акцепторами электронов в клетках служат окисленные формы НАД⁺ и НАДФ⁺ молекул НАД — никотинамидадениндинуклеотид, или пиридиннуклеотид с двумя фосфатными группами, НАДФ — никотинамидадениннуклеотид-фосфат, или пиридиннуклеотид с тремя фосфатными группами, и молекулы ФАД — флавинадениннуклеотид, или флавохинон, FMN — флавиномононуклеотид.

Окисленные формы этих молекул играют роль первичных акцепторов электронов и атомов водорода. При присоединении двух атомов водорода, в соответствии с реакцией



окисленная форма НАДФ переходит в восстановленную молекулу НАДФ · Н (рис. 33). Молекула НАД⁺ имеет такой же активный центр, как и молекула НАДФ⁺. При присоединении двух атомов водорода, в соответствии с реакцией



она превращается в восстановленную молекулу НАД · Н.

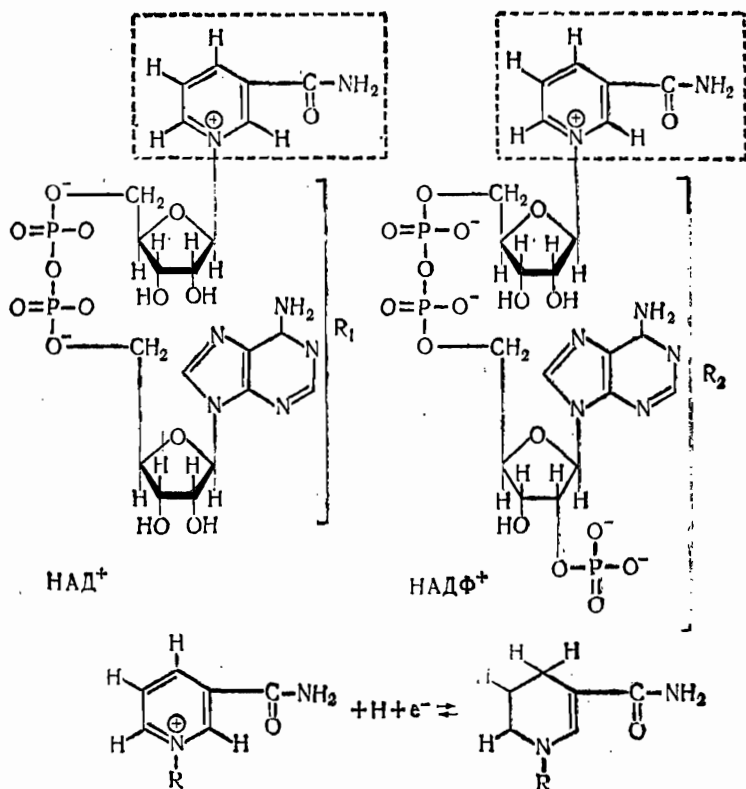


Рис. 33.

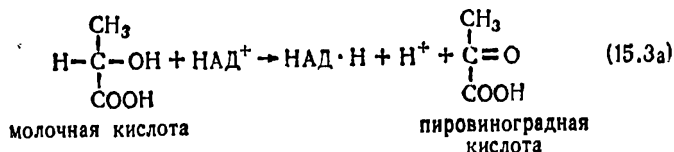
Структурные формулы молекул НАД^+ и НАДФ^+ и реакция присоединения к ним атома водорода и электрона. Активные части молекул обведены штриховой линией.

Молекулы НАД^+ и НАДФ^+ являются коферментами, осуществляющими реакции дегидрирования (отнятие двух атомов водорода) у соединений, содержащих группу атомов



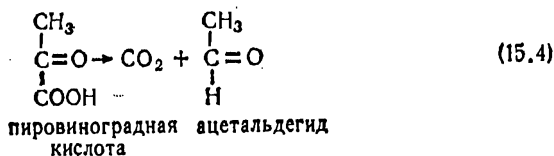
В присутствии ферментов (пиридинзависимых гидрогеназ) при участии молекул НАД^+ и НАДФ^+ от такой группы атомов отщепляются два атома водорода (два протона и два электрона). Один протон и два электрона присоединяются к молекуле НАД^+ или

НАДФ⁺, преобразуя их в восстановленные формы НАД · Н или НАДФ · Н, второй протон освобождается. По такому механизму, например, происходит окисление молочной кислоты (лактата) с образованием пировиноградной кислоты (пирувата) и НАД · Н



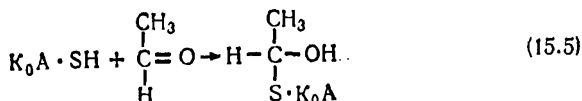
Восстановленные молекулы НАД · Н и НАДФ · Н могут служить донорами электронов (восстановителями) в других реакциях. Они принимают участие в большом числе биосинтетических процессов, в частности в синтезе жирных кислот и холестерина.

Продукт реакций (15.3a) — пировиноградная кислота — далее подвергается декарбоксилированию



При декарбоксилировании от карбоксильной группы отщепляется молекула углекислоты и образуется ацетальдегид. Вся углекислота, которую выдыхают животные, образуется в результате декарбоксилирования карбоксильной группы COOH.

Ацетальдегид с помощью кофермента, сокращенно обозначаемого K₀A · SH, имеющего на активном конце атомы водорода и серы, преобразуется (активируется) в молекулу, содержащую группу атомов (15.3)



«Активированная» молекула дегидрируется ферментом НАД⁺ или НАДФ⁺ по механизму типа (15.3a) до ацетилкофермента А



Первичный акцептор электронов — кофермент ФАД, структурная формула которого представлена на рис. 34, при участии ферментов (флавиновзависимые дегидрогеназы) производит дегидриро-

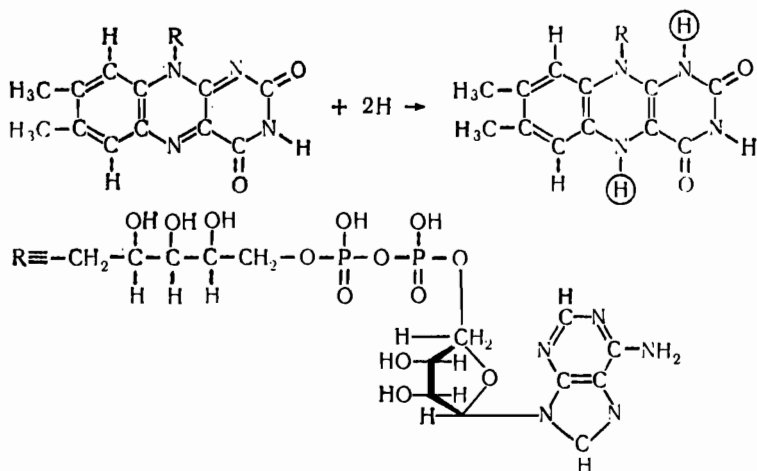


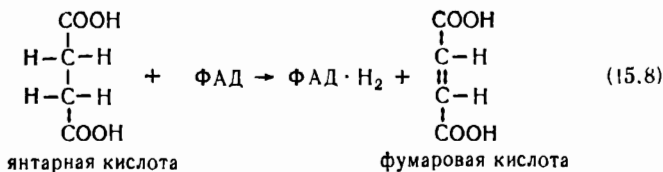
Рис. 34.

Реакция захвата атомов водорода флавинадениндуклеотидом (ФАД) с образованием его восстановленной формы ФАД · Н₂.

вание веществ, содержащих группу атомов



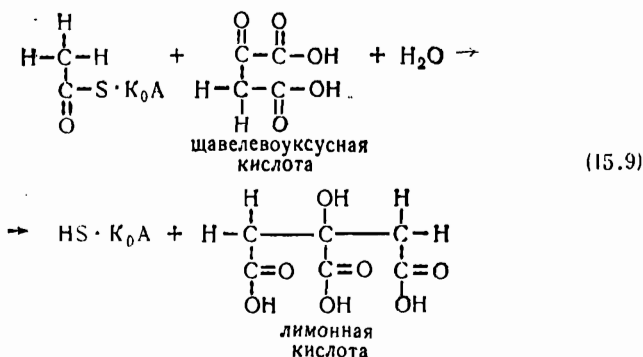
Примером такой реакции является дегидрирование янтарной кислоты с образованием фумаровой кислоты



Восстановленные пиридиннуклеотиды НАД · Н и НАДФ · Н и восстановленные флавины окисляются кислородом при участии нескольких цитохромов (система переноса электронов) (§ 16).

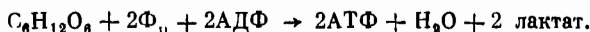
Рассмотренные выше отдельные этапы окислительных процессов происходят в клетках в некоторой последовательности, образуя циклы. Последовательность реакций, в результате которых углеродные цепи сахаров, жирных кислот и аминокислот превращаются в углекислоту, впервые описана Кребсом и получила название *цикла Кребса*, *цикла лимонной кислоты*, или *цикла трикарбоновых кислот*. Непременным участником цикла Кребса являются ацетилкофермент А и кофермент А (15.6). В водной среде

ацетилкофермент соединяется с щавелевоуксусной кислотой, образуя лимонную кислоту и свободный кофермент А, согласно реакции

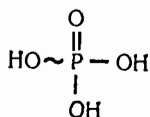


Лимонная кислота не содержит групп атомов (15.3) и (15.7), поэтому она не способна подвергаться непосредственному дегидрированию. Пройдя две стадии предварительной «активации», она преобразуется в изолимонную кислоту, содержащую группу атомов (15.3), которая и подвергается дегидрированию. В последующих процессах дегидрирования, декарбоксилирования и активации молекул с помощью кофермента А выделяются две молекулы CO_2 и 8 атомов водорода. В настоящее время установлено, что конечным этапом метаболизма жирных кислот, аминокислот и углеводов является цикл Кребса.

Последовательность реакций, в результате которых глюкоза и другие сахара превращаются в пировиноградную кислоту, называется *гликолизом*. При гликолизе за счет энергии окисления одной молекулы глюкозы синтезируются две молекулы АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата. При этом суммарную реакцию можно записать в виде



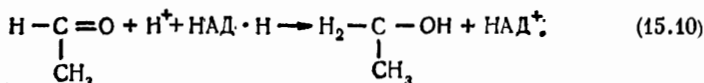
Здесь и в дальнейшем для краткости фосфорная кислота



называется *неорганическим фосфатом* и обозначается символом Ф_{II} . Последующее окисление лактата происходит согласно реакции (15.3а) с образованием пировиноградной кислоты (пирувата). Молекулы пировиноградной кислоты в соответствии с реакциями (15.4) и (15.5) превращаются далее в ацетилкофермент А, а затем через цикл Кребса образуется углекислота и вода.

Синтез молекул АТФ в ходе отдельных ферментативных реакций при гликолизе называется *субстратным фосфорилированием*. Образующиеся молекулы АТФ являются наиболее удобным и универсальным поставщиком энергии для многих биологических процессов.

При отсутствии кислорода пировиноградная кислота превращается в молочную кислоту. В клетках дрожжей пировиноградная кислота превращается в ацетальдегид, реакция (15.4), который с помощью особого фермента может принимать атомы водорода от НАД · Н с образованием этилового спирта



ацетальдегид

этиловый спирт

Процесс окисления аминокислот начинается с отщепления аминогруппы (NH_2). Эта стадия реакции называется дезаминированием. Оставшаяся углеродная цепь подвергается дальнейшим превращениям и в конце концов вступает в цикл Кребса. Так, например, аминокислота аланин после дезаминирования дает пировиноградную кислоту, аспарагиновая кислота после дезаминирования дает щавелевоуксусную кислоту.

Перенос электронов от питательных веществ к первичным рецепторам электронов, окисленным пиридиннуклеотидам (НАД^+ и НАДФ^+) и флавинам (ФАД и ФМН) является только первой стадией выделения энергии окисления.

Основными реакциями, в процессе которых освобождается энергия в форме, удобной для дальнейшего использования клетками, являются реакции окислительного фосфорилирования, при которых синтезируются молекулы АТФ.

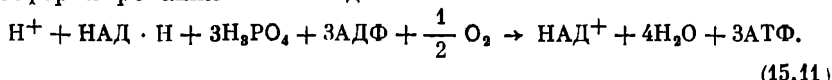
Такие реакции происходят в системах электронного транспорта, расположенных у многоклеточных животных во внутренних мембранах митохондрий, а в одноклеточных бактериях, не имеющих выделенного ядра, — в цитоплазматической мембране.

15.1. Молекула АТФ как универсальный аккумулятор энергии в клетке

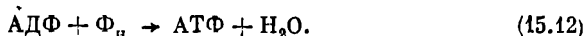
Современное представление о процессе окислительного фосфорилирования ведет свое начало от пионерских работ Белицера и Калькара. Калькар установил, что аэробное фосфорилирование сопряжено с дыханием. Белицер [7] подробно изучил стехиометрические отношения между сопряженным связыванием фосфата и поглощением кислорода и показал, что отношение числа молекул неорганического фосфата к числу атомов поглощенного кислоро-

да при дыхании равно не менее чем двум. Он же указал, что перенос электронов от субстрата к кислороду является возможным источником энергии для образования двух и более молекул АТФ на один атом поглощенного кислорода.

Донором электронов служит молекула НАД · Н, и реакция фосфорилирования имеет вид



Кратко эту реакцию записывают в виде



Синтез трех молекул АТФ в реакции (15.11) происходит за счет переноса двух электронов молекулы НАД · Н по цепи электронного транспорта к молекуле кислорода. При этом энергия каждого электрона понижается на 1,14 эВ.

В водной среде при участии специальных ферментов происходит гидролиз молекул АТФ

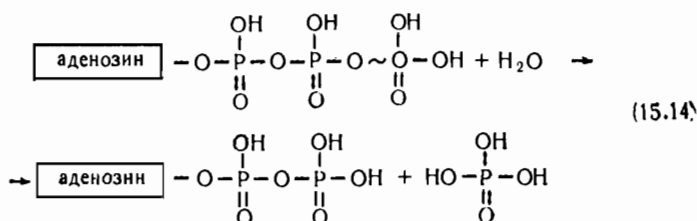


Структурные формулы молекул, входящих в реакции (15.12) и (15.13), приведены на рис. 31.

При физиологических условиях входящие в реакции (15.12) и (15.13) молекулы находятся в разных стадиях ионизации (АТФ, АТФ⁻, АТФ²⁻, ...). Поэтому химические символы в этих формулах следует понимать как условную запись реакций между молекулами, находящимися в разных стадиях ионизации. В связи с этим увеличение свободной энергии ΔG в реакции (15.12) и ее уменьшение в реакции (15.13) зависит от температуры, концентрации ионов Mg^{2+} , Ca^{2+} и от значения рН среды. При стандартных условиях $\Delta G_0 \approx -0,32$ эВ ($-7,3$ ккал/моль). Если ввести соответствующие поправки с учетом физиологических значений рН и концентрации ионов Mg^{2+} , Ca^{2+} внутри клеток, а также обычные значения концентраций молекул АТФ и АДФ и неорганического фосфата в цитоплазме клеток, то для свободной энергии гидролиза молекул АТФ получим значение $-0,54$ эВ ($-12,5$ ккал/моль). Свободная энергия гидролиза молекул АТФ не является величиной постоянной. Она может быть неодинаковой даже в разных местах одной клетки, если эти места различаются по концентрации АТФ, АДФ, Φ_{H} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , ...

Со времени появления пионерской работы Липмана (1941 г.) известно, что молекулы АТФ в клетке выполняют роль универсального кратковременного хранителя и переносчика химической энергии, используемой в большинстве процессов жизнедеятельности.

Выделение энергии в процессе гидролиза молекулы АТФ сопровождается преобразованием молекул



При этом разрыв связи, обозначенной символом $\sim$, приводит к отщеплению остатка фосфорной кислоты. По предложению Липмана такую связь стали называть «фосфатной связью, богатой энергией» или «макроэргической связью». Это название крайне неудачно. Оно совершенно не отражает энергетики процессов, происходящих при гидролизе. Выделение свободной энергии обусловлено не разрывом одной связи (такой разрыв всегда требует затраты энергии), а перестройкой всех молекул, участвующих в реакциях, образованием новых связей и перестройкой сольватных оболочек при реакции.

При растворении молекулы NaCl в воде образуются гидратированные ионы Na^+ и Cl^- . Выигрыш энергии при гидратации перекрывает затрату энергии при разрыве связи в молекуле NaCl. Было бы странным приписывать этот выигрыш энергии «высокоэргичности связи» в молекуле NaCl.

Как известно, при делении тяжелых атомных ядер выделяется большая энергия, что не связано с разрывом каких-либо высокоэргических связей, а обусловлено перестройкой осколков деления и уменьшением энергии кулоновского отталкивания между нуклонами в каждом осколке.

Справедливая критика представления о «макроэргических связях» высказывалась неоднократно [133, 193]. Тем не менее это представление широко внедрилось в научную литературу. Боль-

Таблица 8

Соединение	Свободная энергия		Соединение	Свободная энергия	
	ккал/моль	эВ		ккал/моль	эВ
Фосфоэнолпируват	-14,8	-0,64	АДФ	-7,3	-0,32
1,3-Дифосфоглицерат	-11,8	-0,51	Глюкозо-1-фосфат	-5,0	-0,22
Креатинфосфат	-10,3	-0,44	АМФ	-3,4	-0,15
АТФ	-7,3	-0,32	Глюкозо-6-фосфат	-3,3	-0,14

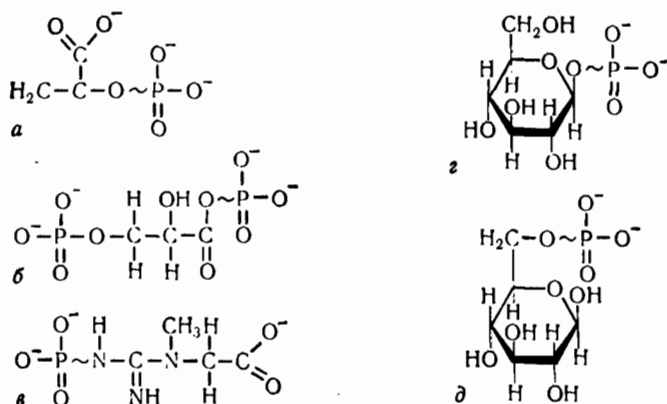


Рис. 35.

Структурные формулы фосфорилированных соединений:
 а — фосфоэнолпируват; б — 1,3-дифосфоглицерат; в — креатинфос-
 фат; д — глюкозо-1-фосфат; е — глюкозо-6-фосфат.

шой беды в этом нет, если выражение «высокоэнергетическая фосфатная связь» использовать условно, как краткое описание всего цикла преобразований, происходящих в водном растворе при соответствующем наличии других ионов, рН и т. д.

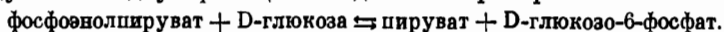
Итак, понятие *энергия фосфатной связи*, используемое биохимиками, условно характеризует разность между свободной энергией исходных веществ и свободной энергией продуктов реакций гидролиза, при которых отщепляются фосфатные группы. Это понятие нельзя путать с понятием *энергии химической связи* между двумя группами атомов в свободной молекуле. Последняя характеризует энергию, необходимую для разрыва связи.

В клетках содержится ряд фосфорилированных соединений, гидролиз которых в цитоплазме связан с выделением свободной энергии. Значения стандартных свободных энергий гидролиза некоторых из этих соединений приведены в табл. 8. Структурные формулы этих соединений изображены на рис. 31 и 35.

Большие отрицательные величины стандартных свободных энергий гидролиза обусловлены энергией гидратации отрицательно заряженных продуктов гидролиза и перестройкой их электронных оболочек. Из табл. 8 следует, что значение стандартной свободной энергии гидролиза молекулы АТФ занимает промежуточное положение между «высокоэнергетическими» (фосфоэнолпируват) и «низкоэнергетическими» (глюкозо-6-фосфат) соединениями. Это одна из причин того, что молекула АТФ является удобным универсальным переносчиком фосфатных групп.

С помощью специальных ферментов молекулы АТФ и АДФ осуществляют связь между высоко- и низкоэнергетическими

фосфатными соединениями. Например, фермент пируваткиназа переносит фосфат с фосфоэнолпирувата на АДФ. В результате реакции образуется пируват и молекула АТФ. Далее с помощью фермента гексокиназа молекула АТФ может передать фосфатную группу D-глюкозе, превратив ее в глюкозо-6-фосфат. Суммарный продукт этих двух реакций сведется к преобразованию



Весьма важно, что реакции этого типа могут проходить только через промежуточный этап, в котором обязательно участвуют молекулы АТФ и АДФ.

§ 16. Митохондрии — энергетические фабрики клеток

Одноклеточные животные — бактерии и синезеленые водоросли — не имеют выделенных ядер, содержащих генетический материал ДНК. Их называют прокариотами. Не имеют они и выделенных специализированных органелл для усвоения пищи и синтеза АТФ. Это клетки малых размеров. Их энергоснабжение полностью обеспечивается дыхательными ферментами и системами фосфорилирования, локализованными в поверхностной мембране.

Все другие живые организмы — эукариоты (животные, зеленые растения и водоросли, грибы и простейшие) — имеют сравнительно крупные клетки. Так, объем клеток тканей млекопитающих в тысячи раз превышает объем клеток бактерий. В состав таких крупных клеток входит ядро, содержащее молекулы ДНК и РНК, рибосомы, в которых синтезируются белки, и другие органеллы со специальными функциями.

Потребность крупных масс цитоплазмы клеток эукариотов не может быть удовлетворена только за счет молекул АТФ, образующихся в цитоплазматической мембране. Поэтому клетки этих животных содержат специализированные органеллы — *митохондрии*. Описание строения митохондрий можно найти в монографии [55].

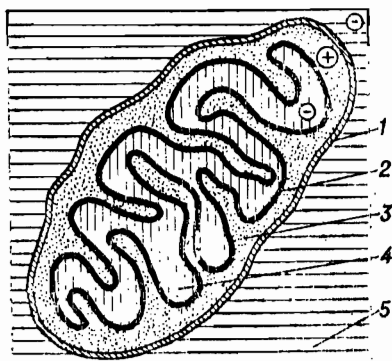
Как показали Кеннеди и Ленинджер в 1949 г., основное назначение митохондрий состоит в снабжении клеток энергией за счет окислительного фосфорилирования пищевых продуктов. Это своеобразные энергетические станции клеток.

Митохондрии представляют собой специально организованные надмолекулярные комплексы, находящиеся в цитоплазме клеток и имеющие в поперечнике размеры порядка 0,2—5 мкм. Форма митохондрий варьирует от эллипсоидальной до вытянутой палочкообразной. Число митохондрий в одних клетках очень мало (несколько штук), в других оно достигает нескольких тысяч и десятков тысяч. В некоторых клетках митохондрии составляют 15—20% общего объема цитоплазмы.

Рис. 36.

Схема строения митохондрии:

1 — внешняя мембрана; 2 — внутренняя мембрана с кристами; 3 — пространство между мембранами; 4 — матрикс; 5 — цитоплазма клетки.



Митохондрии в клетке могут перемещаться, изменять свои размеры и форму, сливаясь между собой или распадаясь на более мелкие. Обычно они сосредоточены в той части клетки, где обмен веществ наиболее интенсивен.

Каждая митохондрия окружена двумя мембранами (рис. 36). Внешняя сравнительно гладкая мембрана имеет строение, совпадающее со строением внешней цитоплазматической мембраны самой клетки. Внутренняя мембрана представляет собой замкнутый мешок с многочисленными складками и выступами, направленными поперек митохондрий. Такие складки называют *кристами*. Благодаря кристам значительно увеличивается поверхность внутренней мембраны. Полужидкое внутреннее содержимое, ограниченное внутренней мембраной, называется *матриксом*. Матрикс не сообщается с пространством между мембранами.

Толщина внутренней мембраны митохондрий порядка 70—90 Å. Количество белков, входящих в состав мембраны, превышает количество липидов почти в два раза. Около одной трети белков внутренней мембраны осуществляют функцию переноса электронов (цитохромы, железопротеиды, флавопротеины).

Матрикс и цитоплазма клетки имеют отрицательный потенциал. Жидкость в пространстве между внешней и внутренней митохондриальными мембранами имеет положительный потенциал так же, как и жидкость с внешней стороны плазматической мембраны клеток (см. рис. 36). Именно такое распределение потенциалов в клетке вызывает необходимость окружения основной мембраны митохондрии дополнительной внешней мембраной. Наличие такой мембраны дает возможность иметь на внешней поверхности внутренней мембраны положительный потенциал, а внешняя мембрана митохондрии значительно сокращает объем, в котором синтезируются молекулы АТФ. В пространстве между внешней и внутренней мембранами митохондрии значительно легче создать нужную концентрацию молекул АДФ и неорганического фосфата,

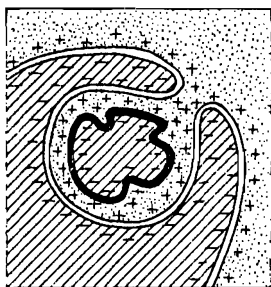


Рис. 37.
Захват (эндоцитоз) бактерии клеткой.

необходимых для синтеза молекул АТФ, чем в большом объеме клетки.

У митохондрий обнаружены некоторые свойства, весьма напоминающие свойства бактерий. Это дает основание считать, что митохондрии в клетках произошли от каких-то примитивных организмов, подобных бактериям, которые проникли в клетку, содержащую ядро, и превратились в эндосимбионтов. Митохондрии почти не отличаются от бактерий по размерам. Состав липидов в мембранах бактерий и внутренних мембранах митохондрий почти одинаков.

Митохондрии имеют автономный механизм синтеза белков и нуклеиновых кислот (молекулы ДНК, РНК, рибосомы), позволяющий им синтезировать свои собственные белки. Весьма интересно, что митохондриальная ДНК имеет кольцевое строение, как и ДНК бактерий [54].

Если митохондрии в свое время возникли в клетках эукариотов путем эндоцитоза (захвата клеткой) небольших одноклеточных организмов, то легко понять характер распределения электрического потенциала на поверхностях их двух мембран. Внешняя мембрана митохондрии является частью внешней мембраны клетки (рис. 37).

Митохондрии отличаются от остальных внутриклеточных органелл клетки тем, что в зависимости от условий существования они могут находиться как в функционально активной, так и в неактивной форме. Одним из ярких примеров того, насколько резкими могут быть изменения структуры митохондрий и содержания в них ферментов, служат глубокие изменения свойств дрожжей при изменении внешних условий. Дрожжи, выращенные в анаэробных условиях и использующие только брожение как источник энергии, имеют слабо развитые митохондрии с упрощенной внутренней мембраной, лишенной крист и не содержащей основных компонент дыхательной системы. Если к таким клеткам подвести кислород, то в цитоплазме происходит образование митохондрий, во внутренних мембранах митохондрий начинается осуществление биосинтез дыхательных ферментов, резко повышается поглощение кислорода.

Окисляя глюкозу при поглощении кислорода до CO_2 и H_2O дрожжи получают в 19 раз больше энергии, чем в случае, когда при брожении процесс заканчивается образованием этилового спирта.

Первая стадия извлечения энергии в митохондриях осуществляется ферментами цикла Кребса (см. § 15), находящимися в матриксе митохондрий. Образованные в результате этих реакций восстановленные пиридиннуклеотиды ($\text{НАД} \cdot \text{H}$, $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$) и флавины подвергаются дальнейшему окислению при участии нескольких переносчиков электронов, входящих в систему электронного транспорта — дыхательной цепи, находящейся во внутренних мембранах митохондрий.

Итак, восстановленные пиридиннуклеотиды и флавины являются основными промежуточными звеньями, передающими по два атома водорода атому кислорода с образованием воды. Такая передача атомов водорода осуществляется путем переноса электронов по цепи электронного транспорта и заимствования протонов из жидкости в пространстве между внешней и внутренней мембранами митохондрий.

16.1. Цепь электронного транспорта в митохондриях

Перенос электронов в мембранах митохондрий осуществляется последовательно системой переносчиков, которые объединяются в высокоорганизованные комплексы белковых молекул, входящих в состав мембран. На каждом этапе электрон переходит при понижении свободной энергии от одной молекулы к другой.

Молекула, отдающая электрон, называется *донором* (*восстановителем*), молекула, принимающая электрон, называется *акцептором* (*окислителем*). Процесс передачи электрона сопровождается окислением донора и восстановлением акцептора. Поэтому он

Таблица 9

Донор	Отнимается от донора	Акцептор	φ° эВ
H_2	$2e^-$	2H^+	-0,42
$\text{НАД} \cdot \text{H}$	$\text{H} + e^-$	НАД^+	-0,32
$\text{НАДФ} \cdot \text{H}$	$\text{H} + e^-$	НАДФ^+	-0,32
Лактат	$2e^-$	Пируват	-0,19
2 цитохром <i>b</i> (Fe^{2+})	$2e^-$	2 цитохром <i>b</i> (Fe^{3+})	+0,05
2 цитохром <i>c</i> (Fe^{2+})	$2e^-$	2 цитохром <i>c</i> (Fe^{3+})	+0,22
2 цитохром <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})	$2e^-$	2 цитохром <i>c</i> ₁ (Fe^{3+})	+0,25
2 цитохром <i>a</i> (Fe^{2+})	$2e^-$	2 цитохром <i>a</i> (Fe^{3+})	+0,28
H_2O	2H	$\frac{1}{2} \text{O}_2$	+0,82

называется *окислительно-восстановительной реакцией*. Иногда окислительно-восстановительная реакция сопровождается и передачей протона. В этом случае донор теряет атом водорода, а акцептор приобретает атом водорода. Отрыв атома водорода от молекулы называется *дегидрированием*. Дегидрирование в некотором смысле эквивалентно окислению. Иногда одновременно передается электрон и атом водорода.

Донор и акцептор (восстановитель и окислитель) образуют сопряженную восстановительно-окислительную пару. Способность донора отдавать электрон сопряженному акцептору принято характеризовать *окислительно-восстановительным* или *редокс-потенциалом* φ .

В табл. 9 приведены значения окислительно-восстановительных потенциалов φ^0 некоторых сопряженных пар, находящихся в стандартных условиях (одномолярные концентрации, рН7, температура 25° С) [40].

Окислительно-восстановительный потенциал φ^0 выражается в вольтах и может быть как положительным, так и отрицательным. Он характеризует относительное изменение свободной энергии системы при переносе двух электронов между компонентами восстановительно-окислительных пар.

При исследовании переходов с участием промежуточных состояний надо рассматривать только разность потенциалов конечного φ_k^0 и начального φ_n^0 состояний, так как промежуточные состояния восстанавливаются и тут же окисляются.

Если разность $\varphi_k^0 - \varphi_n^0$ положительна, то переход электрона связан с выделением энергии e ($\varphi_k^0 - \varphi_n^0$). Например, при переходе двух электронов от НАДФ · Н к двум цитохромам c (Fe^{3+}) выделяется энергия $0,22 + 0,32 = 0,54$ эВ. Если разность $\varphi_k^0 - \varphi_n^0$ отрицательна, то переход требует затраты энергии. Другими словами, переход электрона связан с выделением энергии при перемещении по градиенту потенциала φ^0 , т. е. в направлении увеличения окислительно-восстановительного потенциала.

Следует, конечно, иметь в виду, что такие энергетические оценки могут иметь только качественное значение, во-первых, потому что условия в клетке отличаются от стандартных и, во-вторых, потому что потенциалы φ^0 , как и свободные энергии, характеризуют равновесные состояния, а процессы переноса электронов являются существенно неравновесными.

Если известны концентрации доноров [D] и акцепторов [A] в клетке, то реальный окислительно-восстановительный потенциал φ выражается при n -электронном переносе через стандартный потенциал φ^0 с помощью уравнения Нернста

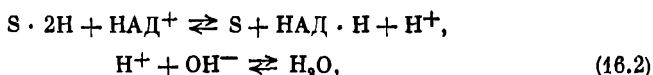
$$\varphi = \varphi^0 + \frac{RT}{nF} \ln ([A]/[D]), \quad (16.1)$$

где F — число Фарадея; R — газовая постоянная. Для двухэлектронных переносов это уравнение может быть записано в виде

$$\varphi = \varphi^0 + 0,03 \lg ([A]/[D]). \quad (16.1a)$$

Перенос электронов (атомов водорода) в сопряженной восстановительно-окислительной паре осуществляется при участии специальных ферментов.

Согласно современным представлениям наиболее вероятная схема переноса электронов по дыхательной цепи внутренних мембран митохондрий может быть описана следующим образом. От питательных веществ (пируват, сукцинат, малат и др.) — субстратов ($S \cdot 2H$) — ферменты — пиридиназависимые дегидрогеназы — переносят два атома водорода (два электрона) к молекулам $НАД^+$, которые выступают как первичные акцепторы электронов. При этом свободные ионы H^+ переходят во внутреннюю область митохондрий (матрикс), где они вместе с ионами гидроксила $ОН^-$ образуют молекулы воды. Эти реакции можно записать в виде



где S — окисленный субстрат.

В дальнейшем от молекулы $НАД \cdot H$ прямой перенос пары атомов водорода на молекулы флавиномоноуклеотида (ФМН) осуществляют ферменты — флавинозависимые дегидрогеназы. В результате образуются восстановленные молекулы $ФМН \cdot H_2$, согласно реакции, происходящей с внутренней стороны сопрягающей мембраны,



В этой реакции молекула $НАД \cdot H$ передает свои два электрона и один протон молекуле ФМН, второй протон заимствуется из окружающей среды.

Молекула ФМН располагается на внутренней стороне сопрягающей мембраны. По-видимому, она присоединена к большой белковой молекуле, которая пронизывает мембрану насквозь. Образующаяся в результате реакции (16.3) молекула $ФМН \cdot H_2$ передает (возможно, через канал присоединенной к ней белковой молекулы) два атома водорода на внешнюю поверхность сопрягающей мембраны. Там атомы водорода ионизируются. Электроны переходят на два железосерных белка (FeS), а оставшиеся протоны — в среду на внешней стороне сопрягающей мембраны.

Отдав два протона и два электрона, молекула $ФМН \cdot H_2$ возвращается в свою первоначальную форму (ФМН) и может быть снова восстановлена молекулой $НАД \cdot H_2$ с помощью реакции (16.3).

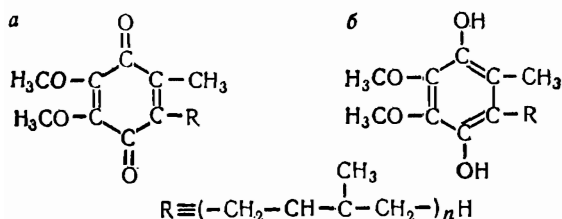
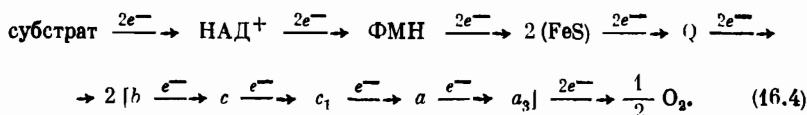


Рис. 38.
Структурная форма уби-
хинона (Q_n):
а — окисленная форма; б —
восстановленная форма.

Железосерные белки принимают и отдают электроны по одному. Эти электроны передаются небольшой кольцеобразной молекуле — окисленной форме убихинона (рис. 38), называемой коферментом убихином («вездесущий хинон») и обозначаемой буквой Q . В полностью окисленном состоянии (без двух атомов водорода) оба атома кислорода присоединены к кольцу двумя химическими связями. Присоединение одного электрона от молекулы (FeS) и протона из окружающей среды к одному атому кислорода переводит кофермент убихинон в семихионное состояние QH^* . Присоединение электрона и протона ко второму атому кислорода преобразует молекулу Q в восстановленную форму QH_2 .

Молекулы убихинона растворимы в липидном слое мембраны, поэтому они могут мигрировать от одной стороны мембраны к другой. Молекулы убихинона осуществляют перенос электронов от железосерных белков к другим составным частям цепи электронного транспорта митохондрий, которые называются *цитохромами*. Механизм такого переноса недостаточно ясен. Основными элементами цепи электронного транспорта, которую часто называют дыхательной цепью митохондрий, являются пять различных молекул цитохромов. Они обозначаются латинскими буквами b , c , c_1 , a и a_3 .

Возможную последовательность переноса пары электронов по дыхательной цепи можно кратко изобразить схемой



В этой схеме компоненты дыхательной цепи располагаются в порядке возрастания окислительно-восстановительных потенциалов. Кроме цитохромов в дыхательную цепь входят молекулы флавиномононуклеотида, железосерные белки, молекулы убихинона и некоторые другие белковые молекулы. Молекулы $НАД^+$ являются главным связующим звеном между циклом лимонной кислоты и цепью электронного транспорта, через которую пара электронов передается атому кислорода. Говорят о переносе пары электронов, потому что электроны появляются парами на молекуле $НАД \cdot H_2$. Заканчивается цепь переносом двух электронов к ато-

му кислорода. Внутри цепи электроны переносятся по два и по одному.

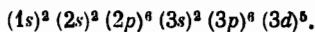
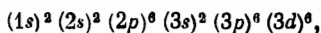
Цитохромами называются белковые молекулы, содержащие железопорфириновые кольца, близкие по строению к гемам в молекуле гемоглобина (см. рис. 17). Цитохромы, входящие в состав дыхательной цепи, исключительно важны, так как именно они позволяют осуществлять окисление пищевых продуктов кислородом воздуха. Предполагается, что появление молекул цитохромов в клетках около полутора миллиардов лет тому назад привело к существенному скачку в развитии жизни на Земле, так как позволило клеткам значительно улучшить использование энергии пищевых продуктов, доводя их окисление до CO_2 и H_2O .

В геме четыре лигандные группы плоского порфиринового кольца (см. рис. 17) образуют комплекс с ионом железа, находящимся в центре кольца. В образовании этого комплекса участвуют четыре из шести координационных валентностей иона железа. Оставшиеся две валентности иона железа расположены перпендикулярно плоскости кольца. В миоглобине и гемоглобине одна из валентностей используется для образования связи с гистидиновым остатком белковой цепи, а шестая участвует в присоединении молекул кислорода.

В цитохромах пятая и шестая валентности участвуют в удержании боковых групп аминокислотных остатков белковых цепей. Поэтому ионы железа в гемах цитохромов не могут переносить молекулярный кислород.

Гемоглобин переносит молекулы кислорода. При присоединении молекул кислорода к гемоглобину или миоглобину ион железа остается двухвалентным. Цитохромы же осуществляют окислительно-восстановительные реакции путем отрыва электрона (окисление) и присоединения электрона (восстановление) к ионам железа, входящим в состав их гемов.

При окислении ион железа из двухвалентного состояния Fe^{2+} переходит в трехвалентное состояние Fe^{3+} . При восстановлении происходит обратное преобразование. Ионы Fe^{2+} и Fe^{3+} имеют соответственно конфигурации

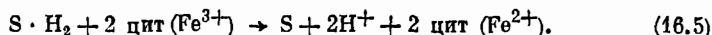


Цитохромы с ионами Fe^{2+} и Fe^{3+} называются ферроцитохромами и феррицитохромами.

В окислительно-восстановительной реакции всегда участвуют два электрона ¹, и, следовательно, должны участвовать два цито-

¹ В окислительно-восстановительных реакциях от одной молекулы к другой переносится пара электронов (иногда последовательно). При этом образуются новые независимые соединения со спаренными электронами.

хрома. Например, отрыв двух атомов водорода от субстрата $S \times \times H^2$ осуществляется при восстановлении двух феррицитохромов (Fe^{3+}) до ферроцитохромов (Fe^{2+}):



Если окислительно-восстановительный процесс протекает через несколько последовательных одноэлектронных состояний, то промежуточные продукты будут содержать неспаренные электроны (свободные радикалы). Образование радикалов зарегистрировано сигналами электронного парамагнитного резонанса при работе митохондрий.

Все цитохромы подразделяются на три главных класса a , b , c в зависимости от положения полос поглощения в спектрах. В табл. 10 приведена длина волны λ максимумов полос поглощения цитохромов.

Цитохромы b и c_1 образуют во внутренней мембране митохондрий комплекс, получивший название *цитохромредуктаза*. Цитохромы a и a_3 также образуют комплекс, получивший название *цитохромоксидаза*.

Из всех цитохромов только восстановленная форма цитохромоксидазы способна окисляться молекулой кислорода. Возможно, это свойство обусловлено тем, что в молекулах цитохромов a и a_3 содержится порфирин А вместо протопорфирина, входящего в состав других цитохромов. Структура порфирина А близка к структуре хлорофилла (см. п. 17.1). Он также имеет длинную изопреновую боковую цепь.

Цитохромредуктаза и цитохромоксидаза жестко связаны с внутренней мембраной митохондрий. Цитохром c легко выделяется из мембраны и может быть исследован в чистом виде.

Молекула цитохрома c является белком с молекулярной массой 12 300. Полимерная цепь содержит 104 остатка аминокислот. Только 12 из них различны в цитохромах c человека и лошади. Небольшие отличия в первичной структуре цитохромов различных животных имеют только те части молекулы, которые играют малую роль в их функционировании.

Взаимодействие между цитохромом c и цитохромоксидазой в основном электростатическое. На оксидазе имеется отрицательно заряженная группа остатков аминокислот, которые взаимодействуют с положительно заряженной группой в цитохроме c .

Трехмерная структура цитохрома c клеток лошади с разреше-

Эти процессы следует отличать от процессов образования комплексов с переносом заряда от одной составной части комплекса к другой. Образовавшийся комплекс является новым соединением с новыми свойствами. Если он распадается, то образуются свободные радикалы с неспаренными электронами.

нием 2—3 Å была установлена Диккерсеном с сотрудниками в 1971 г. [238, 113]. Оказалось, что структуры ферроцитохромов и феррицитохромов существенно различаются.

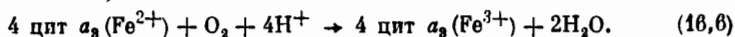
В феррицитохроме с полипептидная цепь обернута вокруг гема так, что ее гидрофобные боковые цепи направлены к гему, а полярные группы — к поверхности молекулы. Аминокислотные остатки с номерами 91—100 образуют α -спираль. Молекула состоит как бы из двух половинок. Гем связан с белковой цепью ковалентно и находится в «пещере», куда ведут два «отверстия». Конформация ферроцитохрома с оказалась более плотной и закрытой, чем конформация феррицитохрома.

Представляют интерес исследования скорости конформационных преобразований молекул цитохромов при переходах ионов $\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+}$. Исследуя кинетику изменения спектра феррицитохрома с при его восстановлении, Пехта и Фарагги [208] обнаружили, что период восстановления железа составляет 10^{-6} с. Однако полное совпадение со спектром поглощения стабильного ферроцитохрома наблюдалось через сотни миллисекунд (см. также [74]). В связи с результатами этих исследований возникает вопрос, успевают ли произойти конформационные преобразования цитохромов при их функционировании в цепях переноса электронов в митохондриях.

Окисленная форма цитохромоксидазы, содержащая цитохромы a и a_3 с ионом железа в состоянии Fe^{3+} , может принимать электроны от восстановленного цитохрома с, переводя ион железа в состояние Fe^{2+} . В этом состоянии цитохромоксидаза снова окисляется, но уже молекулярным кислородом.

Предполагают, что цитохромоксидаза представляет собой комплекс с молекулярной массой 240 000, состоящий из шести подсистем. Две из них — цитохромы a , остальные четыре — цитохромы a_3 . По-видимому, первоначально электроны принимаются цитохромами a , которые передают их подсистеме, состоящей из четырех цитохромов a_3 . Эта подсистема далее передает их непосредственно кислороду.

Для восстановления одной молекулы кислорода до двух ионов гидроксила OH^- необходимо четыре электрона в соответствии с реакцией



Доставляются ли они дыхательной цепью по одному, по два или сразу группами по четыре, пока неизвестно.

Таблица 10

Цитохром	λ н.м
b	563
c_1	554
c	550
$a + a_3$	600

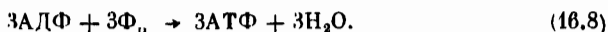
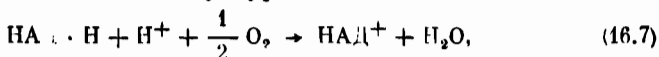
Детальное расположение компонент дыхательной цепи в сопрягающих мембранах митохондрий еще не установлено. Современные экспериментальные данные согласуются с предположением, что комплекс цитохромоксидаза пронизывает всю толщу мембраны. При этом цитохром a_3 обращен к матриксу, а цитохром a — к внешней стороне мембраны. На внутренней стороне сопрягающей мембраны, по-видимому, также находятся цитохромы b и флавиновая часть компонента цепи дыхания. На внешней стороне сопрягающей мембраны находятся цитохромы c_1 и c . Молекула цитохрома c имеет размеры 30, 34 и 34 Å и сравнительно легко отделяется от мембраны, что подтверждает ее поверхностное расположение.

Весьма интересно, что в мембранах пузырьков — липосом, образованных в суспензии, содержащей фрагменты сопрягающих мембран митохондрий, расположение белковых молекул обратное их расположению в сопрягающих мембранах, находящихся внутри митохондрий. Белки, выступающие в сторону матрикса на внутренней поверхности сопрягающих мембран митохондрий (цитохромы b и a_3 , ФМН ...), в мембране липосомы располагаются на внешней поверхности и, наоборот, белки, находящиеся на внешней поверхности сопрягающих мембран митохондрий (цитохромы a , c_1 , c ...), в липосомах находятся на внутренней стороне мембраны. Таким образом, мембрана липосомы представляет собой как бы «обращенную» сопрягающую мембрану митохондрий.

Это замечательное свойство дает возможность с помощью внешних воздействий на мембраны липосом изучать поведение белков, которые в естественных условиях в митохондриях расположены на трудно доступных внутренних поверхностях сопрягающих мембран.

При переносе пары электронов по всей дыхательной цепи (16.4) от НАД · Н к молекулярному кислороду, согласно данным табл. 9, в стандартных условиях выделяется энергия, равная 1,14 эВ. Она расходуется на синтез трех молекул АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата.

Суммарные уравнения процессов дыхания и фосфорилирования можно записать в виде двух уравнений



При стандартных условиях в реакции (16.7) выделяется свободная энергия $\Delta G^0 \approx 1,4$ эВ. В реакции (16.8) расходуется энергия $3 \times 0,32 \approx 0,96$ эВ. Таким образом, в стандартных условиях полезный коэффициент использования энергии дыхания равнялся бы примерно 69%. В реальных условиях, характерных для митохондрий, это значение может быть иным.

Ранее считалось, что синтез молекул АТФ происходит в трех участках дыхательной цепи. Предполагали, что ими являются: область расположения флавопротеидов, так как на участке НАД — Q выделяется около 0,27 эВ энергии, близкой к энергии 0,32, необходимой для синтеза АТФ в стандартных условиях; участок между цитохромом *b* и цитохромом *c*, где выделяется около 0,22 эВ энергии и, наконец, участок между цитохромоксидазой и кислородом, на котором выделяется около 0,53 эВ энергии.

Согласно новым экспериментальным данным, только две молекулы АТФ синтезируются при восстановлении каждого атома кислорода до воды. Возможно, что такое уменьшение эффективности синтеза молекул АТФ связано с необходимостью затраты энергии на транспорт молекул АДФ и неорганического фосфата внутрь матрикса и вывод молекул АТФ из этой области.

Скорость сопряженных процессов переноса электронов и фосфорилирования во внутренних мембранах митохондрий зависит от кинетики поступления «топлива» (глюкозы, жирных кислот, пирувата, аминокислот и др.), молекул АДФ, неорганического фосфата и молекул кислорода в митохондрии.

16.2. Гипотезы о механизме фосфорилирования во внутренних мембранах митохондрий

Главным назначением внутренних — сопрягающих — мембран митохондрий является синтез основных хранителей энергии в клетке — молекул АТФ за счет энергии переноса электронов по цепи окислительно-восстановительных ферментов, локализованных в мембране.

Плазматические мембраны клеток также способны синтезировать молекулы АТФ путем обращения работы натриевого насоса (см. § 14). При этом они используют энергию перемещения ионов поперек мембраны в направлении их меньших концентраций.

Ферменты, осуществляющие синтез молекул АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата одинаковы в сопрягающих мембранах митохондрий и в цитоплазматических мембранах бактерий. Они состоят из двух основных ферментов, обозначаемых буквами F_1 и F_0 , которые соединяются друг с другом небольшими молекулами белков F_2 и F_3 . Эти белки образуют так называемый F_1 — F_0 комплекс, или фермент АТФ-азу.

Входящий в комплекс F_1 — F_0 фермент F_1 состоит из пяти белковых субъединиц. Он имеет форму сферы диаметром около 90 Å, которая выступает над поверхностью мембраны в виде бугорка. В сопрягающей мембране митохондрий и цитоплазматической мембране бактерий комплекс F_1 — F_0 ориентирован так, что фермент F_1 располагается на внутренней стороне мембраны. В липосомах, образованных в суспензии фрагментов, входящих в состав этих

мембран, ферменты F_1 располагаются на внешней поверхности мембраны.

Фермент F_1 выделен из мембран группой исследователей (Ракер, Пуллман, Пенефски) в Научно-исследовательском институте здоровья в Нью-Йорке. Фермент F_0 можно извлечь из мембраны только при ее разрушении. Он пронизывает всю мембрану и имеет канал, пронизываемый для протонов. При прохождении двух протонов через комплекс F_1 — F_0 сопрягающей мембраны митохондрий внутри матрикса синтезируется одна молекула АТФ из молекулы АДФ и неорганического фосфата. Эта реакция обратима. При определенных обстоятельствах фермент перемещает протоны из матрикса наружу, используя энергию расщепления молекул АТФ. Расщепление молекул АТФ можно наблюдать и в растворе, содержащем изолированные молекулы фермента F_1 и молекулы АТФ. Прямая реакция синтеза молекул АТФ ферментом F_1 в растворе не наблюдается, так как в растворе нельзя создать нужный концентрационный градиент протонов.

Фермент F_1 состоит из пяти белковых субъединиц. Две из них (наиболее крупные) участвуют в синтезе и расщеплении молекул АТФ. Три другие, по-видимому, являются ингибиторами, регулируемыми эти реакции.

После удаления молекул фермента F_1 из митохондрий оставшиеся ферменты F_0 значительно увеличивают проницаемость сопрягающих мембран для протонов. Это подтверждает предположение о том, что фермент F_0 имеет канал, пропускающий протоны, который закрывается ферментом F_1 . Механизм синтеза молекул АТФ ферментом АТФ-азой остается не вполне понятным.

Перенос электронов по цепи электронного транспорта в сторону возрастания электроположительности ее звеньев происходит, по-видимому, по одноэлектронному механизму. Это подтверждается исследованиями, проведенными с помощью спектроскопических методов, которые показали, что в процессе транспорта электронов по дыхательной цепи митохондрий образуются свободные радикалы, такие как семихиноны. В связи с одноэлектронным механизмом переноса электронов возникает вопрос о том, как суммируется их энергия.

До сих пор остается нерешенным вопрос о механизме использования энергии, выделяемой при переносе электронов, ферментами, синтезирующими молекулы АТФ. В настоящее время высказываются три гипотезы о механизме такого сопряжения [230]: *химическая*, *конформационная*, или *метанохимическая*, и *гемиемостическая*, или *электроосмотическая*.

Согласно химической гипотезе, впервые выдвинутой Липманом в 1946 г. и развитой Слейтером в 1953 г. [229], в мембране происходит прямое преобразование химической энергии, освобождающейся при окислении и восстановлении переносчиков электронов,

в химическую энергию промежуточных соединений, которые с помощью фермента АТФ-азы, находящейся в мембране, обеспечивают синтез АТФ. Физический механизм процесса сопряжения окислительно-восстановительной реакции и фосфорилирования остается неизвестным. Эта гипотеза вызвала возражения в связи с тем, что до сих пор не удалось выделить из митохондриальной мембраны ни одного из постулированных промежуточных продуктов.

Конформационная, или механохимическая, гипотеза развивалась в работах Грина с сотрудниками [139, 146, 209]. Согласно механохимической гипотезе, химическая энергия окисления при переносе электронов вызывает конформационное изменение звеньев цепи электронного переноса, которое приводит к энергизированному состоянию всей мембраны. Энергия перехода мембраны из энергизированного в основное состояние используется при синтезе молекул АТФ. Молекулярный механизм такого процесса также остается невыясненным.

Экспериментальные данные действительно свидетельствуют о структурных изменениях внутренних мембран митохондрий при их энергизации, обусловленной электронным транспортом или действием АТФ [2, 96, 178, 204]. Авторы ряда работ [83, 137, 146, 209] полагают, что структурные изменения мембран происходят под действием электрического поля, возникающего при переносе электронов. Остаются невыясненными вопросы о том, как локальный перенос электронов сказывается на энергизации большого участка мембраны, каков физический механизм использования энергии энергизированного состояния для синтеза молекул АТФ.

Против конформационной гипотезы сопряжения иногда высказывается возражение, основанное на несовпадении времен окислительного фосфорилирования и конформационных изменений. Этот вопрос требует специального рассмотрения. Не исключено, что движение электронов адиабатически сопровождается движением конформационного изменения. Это приводит к значительному увеличению эффективной массы электрона и к снижению его скорости.

Хемиосмотическая гипотеза предложена Митчеллом в 1961 г. [196]. Большой вклад в развитие этой теории внесли советские ученые В. П. Скулачев и Е. А. Либерман [58, 59, 41].

16.3. Хемиосмотическая гипотеза о сопряжении процессов дыхания и фосфорилирования

Хемиосмотическая гипотеза Митчелла получает все новые и новые экспериментальные подтверждения. По-видимому, дальнейшее развитие наших представлений о механизме сопряжения процессов дыхания и фосфорилирования и понимание молекулярных

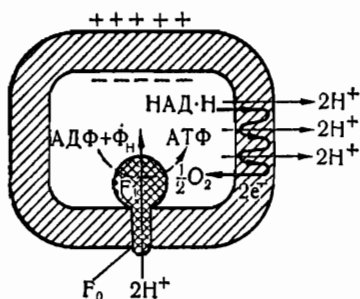


Рис. 39.

Схема комплексов ферментов цепи дыхания и фосфорилирования во внутренней мембране митохондрий [154а].

механизмов этих процессов будет происходить на основе этой гипотезы. Поэтому изложим более подробно основные положения гипотезы Митчелла.

Хемиосмотическая гипотеза относится к той стадии окислительного фосфорилирования, которая начинается электронным транспортом в дыхательной цепи и заканчивается синтезом молекул АТФ.

Основное предположение гипотезы Митчелла сводится к утверждению, что при переходе каждой пары электронов через ферменты дыхательной цепи от молекул НАД·Н к кислороду через мембрану митохондрий из матрикса наружу перемещаются шесть протонов, а внутри матрикса остаются шесть ионов OH^- . Перенос протонов осуществляется тремя циклами так, что пара электронов пересекает мембрану в обоих направлениях три раза. При каждом цикле из матрикса извлекается два протона (рис. 39).

Согласно хемиосмотической гипотезе, в сопрягающих мембранах отсутствует прямая связь ферментов дыхательной цепи с ферментами фосфорилирования. Поэтому их можно исследовать раздельно. Сопряжение дыхания и фосфорилирования осуществляется через мембрану.

При переносе протонов через мембрану она переходит в энергетизованное состояние, обусловленное возникшими градиентом концентрации протонов и разностью электрических потенциалов поперек мембраны. При переходе сопрягающей мембраны в энергетизованное состояние возникают силы, стремящиеся возвратить протоны обратно в матрикс. Под влиянием этих сил протоны проходят по каналу фермента F_0 из внешней области к ферменту F_1 , расположенному на внутренней стороне мембраны. Энергия перемещения двух протонов используется этим ферментом для синтеза одной молекулы АТФ в матриксе.

Протонный градиент сопрягающей мембраны используется также натриевым насосом мембраны, перемещающим ионы натрия наружу в обмен на протоны, движущиеся внутрь матрикса. Такой обмен ионами одинакового знака осуществляется только под влиянием разности концентраций протонов. Электрическое поле мем-

браны облегчает движение протонов и затрудняет движение ионов натрия. Равновесие наступает, когда градиент концентрации ионов натрия становится равным градиенту концентрации протонов, поддерживаемым внешним источником — дыханием.

Протонный градиент сопрягающей мембраны используется также для переноса молекул АДФ и неорганического фосфата в матрикс митохондрии и извлечения из него молекул АТФ. Неорганический фосфат входит в матрикс под влиянием электрического поля мембраны в виде отрицательного иона. Молекулы АДФ и АТФ находятся в клетке в состоянии ионов: АДФ^{3-} и АТФ^{4-} . Следовательно, переход АДФ^{3-} внутрь матрикса и вынос ионов АТФ^{4-} эквивалентен перемещению через мембрану из матрикса одного отрицательного заряда или перемещению внутрь матрикса одного положительного заряда.

Хотя детали молекулярных механизмов указанных выше процессов еще не установлены, многие качественные предположения хемиосмотической гипотезы получили экспериментальное подтверждение.

Активный транспорт протонов во внешнюю среду удалось наблюдать при изменении концентрации кислорода в водной суспензии митохондрий, содержащей источники электронов для дыхания (окисления), но не содержащей кислорода в начальный момент. При импульсной подаче кислорода в раствор величина рН быстро возрастает, что указывает на увеличение концентрации протонов. При прекращении подачи кислорода протоны медленно возвращаются назад и мембрана переходит в невозбужденное состояние. Выравнивание концентрации протонов внутри и вне митохондрий происходит значительно быстрее, если в раствор добавить протонные ионофоры, увеличивающие проницаемость мембран для протонов (см. п. 13.2).

С протонными ионофорами биохимики познакомились при изучении веществ, вызывающих прекращение процесса синтеза молекул АТФ без нарушения процесса дыхания, т. е. окисления углеводов и жиров. В 1948 г. Лумис и Липпман показали, что таким свойством обладают молекулы динитрофенола. Эти молекулы были названы разобщителями, так как они нарушали связь дыхания с фосфорилированием. Позднее было установлено, что все молекулы-разобщители являются протонными ионофорами. Хемиосмотическая гипотеза дает простое объяснение процессу разобщения. Протонные ионофоры, увеличивая проницаемость мембран для протонов, уменьшают градиент концентрации протонов на мембране, что и ведет к прекращению синтеза молекул АТФ, поскольку ферменты могут выполнять такой синтез только при использовании энергии протонного градиента.

В противоположность химической и конформационной гипотезам о механизме сопряжения дыхания и фосфорилирования, тре-

бующим непосредственного взаимодействия ферментов этих двух систем, хемиосмотическая гипотеза исходит из представления о независимости их действия и возможном пространственном их разделении.

Процессы, протекающие в дыхательной цепи митохондрий, можно разделить на три стадии.

1. Окисление молекулы НАД · Н молекулой убихинона Q (осуществляется молекулой FMN и пятью железосерными молекулами FeS).

2. Окисление восстановленной молекулы убихинона QH₂ феррицитохромом *c* (осуществляется двумя цитохромами *b*, одной железосерной молекулой и цитохромом *c*₁).

3. Окисление ферроцитохрома *c* кислородом (осуществляется цитохромами *a* и *a*₃ и двумя белками, содержащими атомы меди).

На каждой из этих стадий через мембрану из матрикса переползает на внешнюю сторону мембраны два протона. В такой длительной последовательности окислительно-восстановительных реакций пара электронов совершает три последовательных приближения к внешней и внутренней поверхности мембраны (см. рис. 39). Согласно Митчеллу, в таком перемещении электронов в мембране митохондрий существенную роль играют подвижные молекулы убихинона, которые при участии цитохромов, проходя через стадии $Q \rightarrow QH^* \rightarrow OH_2 \rightarrow Q$, совершают круговое движение от одной поверхности мембраны к другой. Это движение Митчелл назвал Q-циклом [154].

Дыхательная цепь в цитоплазматических мембранах бактерий более простая. Так, в дыхательной цепи цитоплазматических мембран бактерий *E. coli* отсутствует Q-цикл. Каждая пара электронов, пройдя через дыхательную цепь, выделяет во внешнюю среду только четыре протона. В этих бактериях процесс дыхания также начинается молекулой НАД · Н. Однако ее два атома водорода передаются не молекуле FMN, а молекуле флавинадениннуклеотида (ФАД). Молекула ФАД, подобно молекуле FMN, связана с белком, пересекающим всю мембрану. Через этот белок два атома водорода переносятся к внешней поверхности мембраны. Там протоны освобождаются, а электроны переходят к двум молекулам железосерных белков, которые переносят их на внутреннюю поверхность мембраны и передают молекуле убихинона. Последняя, захватив два протона из внутренней среды клетки и перейдя в восстановленную форму, перемещается к внешней стороне мембраны. На внешней стороне мембраны молекула QH₂ передает два электрона цитохромам *b*, а два протона выделяются во внешнее пространство. От цитохромов *b* два электрона через цепь других цитохромов переносятся внутрь клетки к атому кислорода и вместе с двумя протонами образуют молекулу воды.

Таким образом, в мембране бактерии *E-coli* два электрона пересекают мембрану дважды в каждом направлении.

Ферменты АТФ-фазы, образующие комплекс $F_1 - F_0$, одинаковы в мембранах бактерий и сопрягающих мембранах митохондрий. Молекулярный механизм синтеза молекул АТФ комплексом ферментов не известен. Один из возможных механизмов предложен Митчеллом. Предполагается, что к активному центру фермента F_1 присоединяется фосфатная группа. Два протона, перемещаясь по каналу фермента F_0 под действием градиента концентрации протонов и достигая фермента F_1 , освобождают фосфатную группу, переводя ее в реактивное соединение, которое вместе с молекулой АДФ образует молекулу АТФ. Некоторые ученые считают, что протоны, достигая фермента F_1 , вызывают его конформационное изменение, которое и обеспечивает синтез молекул АТФ.

При наличии в мембране протонных ионофоров происходит выравнивание концентрации протонов, при которой энергия, полученная ими в процессе окисления углеводов и жиров, переходит в тепло, а синтез молекул АТФ прекращается.

Для подтверждения хемиосмотической гипотезы необходимо показать, что градиент протонов, создаваемый на сопрягающих мембранах, является хорошим промежуточным звеном между процессом дыхания и фосфорилирования. Согласно хемиосмотической гипотезе, при синтезе одной молекулы АТФ расходуется два протона. Каждый протон, пересекая мембрану, выделяет энергию, равную электрохимическому потенциалу мембраны, т. е. около 5,3 ккал/моль (0,23 эВ). Следовательно, два протона выделяют 10,6 ккал/моль энергии. Достаточно ли этой энергии для синтеза одной молекулы АТФ в матриксе митохондрии? Правильный ответ на этот вопрос должен учитывать зависимость энергии синтеза молекулы АТФ от окружающей среды, в которой происходит синтез. При синтезе молекулы АТФ в цитоплазме клеток требуется около 12,5 ккал/моль (см. п. 15.1). Однако при синтезе молекулы АТФ в матриксе митохондрий из-за высокой концентрации молекул АДФ и неорганического фосфата требуется менее 10 ккал/моль энергии.

Выигрыш в энергии синтеза молекул АТФ в матриксе митохондрий компенсируется проигрышем около 4 ккал/моль энергии при перенесении молекул АТФ в цитоплазму клетки и молекул АДФ и неорганического фосфата из цитоплазмы в матрикс. Таким образом, для синтеза молекулы АТФ в матриксе и ее выноса в цитоплазму требуется энергия, которая выделяется при пересечении мембраны тремя протонами, т. е. около 16 ккал/моль.

Для изучения механизма работы ферментов, входящих в состав биологических мембран, исключительно большое значение имеют методы, развитые в 1971 г. в Корнельском университете учеными Кагава и Геккером, позволяющие включать в искусственные фос-

фолипидные мембраны липосом определенные типы белков, входящих в состав естественных мембран. Как отмечалось выше, при включении белков в мембраны липосом на их внешней поверхности оказываются те белки, которые в естественных мембранах расположены на внутренней стороне.

В первых экспериментах Кагава и Реккер включали в мембраны липосом комплексы ферментов $F_1 - F_0$, извлеченные из митохондрий. Как и следовало ожидать, в этом случае выступы ферментов F_1 располагались на внешней поверхности мембран липосом, а не на внутренней. При расщеплении молекул АТФ ферментом F_1 протоны транспортировались внутрь пузырьков, в соответствии с хемиосмотической гипотезой.

Используя тот же метод, Гинкел с сотрудниками в Корнельском университете включали в мембраны липосом отдельно каждый из трех комплексов ферментов цепи дыхания, которые, согласно хемиосмотической гипотезе, переносят по два протона на внешнюю поверхность сопрягающих мембран митохондрий. Добавляя в суспензии приготовленных таким образом липосом соответствующие окислители и восстановители ($\text{НАД} \cdot \text{H}$, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, O_2), они обнаружили, что каждый из этих комплексов вызывает транспорт протонов, приводящий к возникновению градиента протонов и разности электрических потенциалов на поверхностях мембран липосом [154a].

Реккер и Штоекениус в Калифорнийском университете в Лос-Анджелесе включали в фосфолипидные мембраны липосом комплексы ферментов $F_1 - F_0$, ответственных за синтез АТФ в митохондриях, и протонные насосы (молекулы бактериородопсина), извлеченные из галобактерий, живущих в соляных озерах (см. п. 17.7). Протонные насосы этих бактерий создают на мембранах протонные градиенты под действием света. Как и следовало ожидать, освещение липосом, содержащих искусственную комбинацию комплексов $F_1 - F_0$, извлеченных из митохондрий, и протонных насосов, взятых из галобактерий, приводило к синтезу молекул АТФ.

Изложенные результаты экспериментов с большой убедительностью показывают, что ферменты АТФ-азы и дыхательной цепи действуют в некотором смысле независимо и что для синтеза молекул АТФ комплексом ферментов $F_1 - F_0$ необходимо и достаточно наличие градиента концентрации протонов на сопрягающей мембране.

Таким образом, качественные предсказания хемиосмотической гипотезы Митчелла получили убедительное экспериментальное подтверждение, хотя не все детали окислительного фосфорилирования уже выяснены и нет никаких удовлетворительных объяснений механизма протекающих явлений на молекулярном уровне.

Несмотря на то что удается выделить ферменты фосфорилирования F_1 и F_0 , отдельные ферменты цепи дыхания и некоторые

их комплексы, имеется еще мало данных об их пространственной структуре и организации соответствующих комплексов. Без таких данных трудно надеяться на создание молекулярных теорий функционирования этих биологических объектов.

Несомненно, гипотеза Митчелла, дающая качественное описание явлений окислительного фосфорилирования, оказалась весьма полезной, так как стимулировала и, по-видимому, будет стимулировать в дальнейшем теоретические и экспериментальные исследования важных явлений энергообеспечения биологических процессов.

§ 17. Механизм фотосинтеза

Фотосинтезом называется процесс преобразования солнечной энергии в химическую энергию в клетках живых организмов. Способностью к фотосинтезу обладают весьма разнообразные организмы: зеленые растения, многоклеточные зеленые, бурые и красные водоросли и некоторые одноклеточные. К одноклеточным фотосинтезирующим организмам относятся синезеленые водоросли, зеленые и пурпурные бактерии. Фотосинтезирующие системы высших растений и водорослей являются основными поставщиками кислорода в атмосферу. На земной поверхности фотосинтез более чем наполовину осуществляется одноклеточными организмами и водорослями.

Все фотосинтезирующие клетки содержат один или несколько классов зеленых пигментов, называемых *хлорофиллами*. Накопление хлорофилла в листьях растений, выращенных в темноте, происходит только при освещении — листья зеленеют на свету. Кроме хлорофилла, большинство фотосинтезирующих клеток содержит еще два типа светопоглощающих вспомогательных пигментов: желтые каротиноиды и синие или красные фикобилины. Эти вспомогательные пигменты придают фотосинтезирующим организмам разнообразную окраску. Например, водоросли и бактерии могут быть бурыми, красными, пурпурными, сине-зелеными и т. д.

Простейшими фотосинтезирующими организмами являются синезеленые водоросли. Они существуют в форме одиночных клеток или колониями и могут находиться в почве, пресных водоемах и океанах.

Кроме углерода и кислорода живым организмам для синтеза белков и нуклеиновых кислот необходим азот. Из всех живых организмов наиболее независимое существование ведут синезеленые водоросли. Они способны и к фотосинтезу и к фиксации азота из атмосферы. Энергию они получают от Солнца. Источником углерода является CO_2 , донором электронов для восстановления CO_2 является вода.

Большинство живых организмов не способно извлекать азот из воздуха. Растения получают большую часть азота из почвы в

виде нитратов, которые они восстанавливают до аммиака и аминокислот. Пополнение запасов связанного азота в почве осуществляется азотофиксирующими бактериями, способными восстановить молекулярный азот.

Хлорофилл и другие пигменты в синезеленых водорослях и фотосинтезирующих бактериях распределены не равномерно, а разбросаны в виде мелких зерен хроматофоров в цитоплазме клеток. Наряду с другими пигментами синезеленые водоросли содержат синий пигмент *фикоцианин*. Кроме пигментных молекул хроматофоры содержат ферменты, необходимые для биохимических реакций фотосинтеза.

В клетках многоклеточных организмов пигментные молекулы и ферменты фотосинтезирующих систем находятся в небольших органеллах, называемых *хлоропластами*. В клетках зеленых растений обычно присутствуют как хлоропласты, так и митохондрии. На свету в клетках происходит фотосинтетическое образование глюкозы из CO_2 и H_2O и запасание глюкозы в виде крахмала и целлюлозы. В темноте фотосинтезирующие клетки дышат за счет кислорода воздуха и окисляют глюкозу в митохондриях.

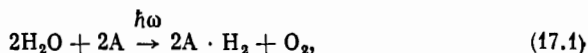
В каждой клетке высших растений имеется от 20 до 100 хлоропластов. У некоторых водорослей, например у хлореллы, в клетке имеется только один хлоропласт. Хлоропласты высших растений имеют эллипсоидальную форму с размерами осей от 1 до 10 мкм. У хлоропластов низших растений их форма весьма разнообразна: спиральная, звездчатая, пластинчатая.

Хлоропласты отделяются от цитоплазмы клеток двумя близко расположенными внешними мембранами. Во внутренней области хлоропласта располагаются *граны*. Граны представляют собой стопки, составленные из десяти — двадцати, а иногда и большего числа, параллельно уложенных плоских образований, называемых *тилакоидами*. В некоторых местах тилакоиды уложены весьма плотно. Небольшое число тилакоидов тянется из одной грани в другую.

Мембраны тилакоидов являются основными сопрягающими мембранами хлоропластов. Они содержат все главные ферменты, обеспечивающие фотосинтез и фотосинтетические фосфорилирование. По-видимому, молекулы хлорофилла располагаются со стороны внутренней поверхности мембраны тилакоида. В живых клетках полярность мембран тилакоидов обратна полярности сопрягающих мембран митохондрий. У тилакоидов внутренняя поверхность мембраны имеет положительный электрический потенциал, а внешняя — отрицательный. В связи с этим, в отличие от митохондрий, имеющих по одной внешней мембране, у хлоропластов две внешние замкнутые мембраны (мешок в мешке).

В состав хлоропластов входят молекулы ДНК, синтезирующие нужные им белки. Поэтому хлоропласты способны к росту и делению.

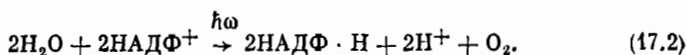
Еще в 1905 г. английский физиолог Блекман считал, что фотосинтез состоит из двух последовательных фаз: быстрой световой реакции и ряда медленных, независящих от света реакций, называемых *темновыми*. Однако только в 1937 г. Хиллу удалось получить прямое биохимическое доказательство существования независимых световой и темновой фаз фотосинтеза. Он показал, что при освещении растворов, содержащих хлоропласты и некоторые акцепторы электронов (А), например, такие как феррицианид, наблюдалось в отсутствие CO_2 выделение молекул кислорода в соответствии с реакцией



где $h\nu$ — квант света.

Эта реакция получила название *реакции Хилла*. Тем самым Хилл, а вслед за ним Варбург, Гаффон и другие продемонстрировали возможность разобщения процессов, в которых выделяется кислород, и темновых процессов, сопровождающихся восстановлением двуокиси углерода.

В дальнейшем было показано, что в качестве акцептора электронов может выступать также молекула НАДФ^+ . В присутствии хлоропластов при освещении происходит реакция



В 1954 г. Арнон и его сотрудники [71] обнаружили, что освещение растворов хлоропластов в присутствии АДФ и фосфата приводит к образованию молекул АТФ. Этот процесс был назван *фотосинтетическим фосфорилированием*, в отличие от окислительного фосфорилирования, осуществляемого в митохондриях. В результате многих исследований было установлено, что конечными стабильными продуктами первых световых реакций у высших растений и водорослей являются молекулы АТФ, $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ и O_2 , у бактерий образуются молекулы АТФ и $\text{НАД} \cdot \text{H}$ без выделения кислорода.

Начальной стадией реакции фотосинтеза является превращение световой энергии в энергию разделенных зарядов, т. е. отщепление электронов от молекул хлорофилла или от некоторого комплекса таких молекул, образующих реакционные центры.

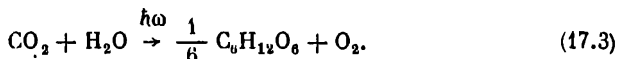
Пока неясен механизм, препятствующий рекомбинации зарядов, образующихся в первичной и последующих стадиях реакций переноса электронов во внутренних мембранах хлоропластов. Решение этой проблемы может способствовать созданию искусственных преобразователей солнечной энергии.

Молекулы АТФ, $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ и $\text{НАД} \cdot \text{H}$, синтезированные во внутренних мембранах хлоропластов, выделяются в строму, содержащую ферменты, осуществляющие темновую часть реакции

фотосинтеза — преобразование CO_2 в углеводы. Темновые реакции мало отличаются от обычных биохимических процессов в клетках. Все специфические особенности фотосинтеза связаны с первичными световыми процессами.

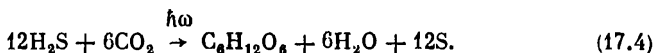
Общий баланс энергии в реакциях фотосинтеза показывает, что для преобразования одной молекулы CO_2 необходимо затратить энергию трех молекул АТФ и двух молекул НАДФ·Н (см. п. 17.5).

У всех фотосинтезирующих организмов, за исключением бактерий, суммарное уравнение фотосинтеза можно представить в виде

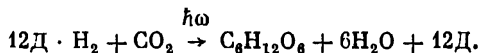


Реакция (17.3) происходит за счет энергии света при увеличении свободной энергии продуктов примерно на 5,21 эВ. Если учесть, что энергия красного фотона $h\nu$ равна примерно 1,7 эВ, то можно убедиться, что, согласно энергетическим оценкам, для осуществления реакции (17.3) необходимо поглощение не менее трех квантов света (см. п. 17.5). Проблема эффективного суммирования энергии этих квантов остается одной из центральных в понимании процессов фотосинтеза на молекулярном уровне.

Фотосинтезирующие бактерии не выделяют молекулярный кислород. Вместо воды в качестве доноров электронов они используют либо неорганические соединения (сероводород, тиосульфат, газообразный водород), либо органические вещества (молочную кислоту, изопропиловый спирт). Например, зеленые серные бактерии поглощают сероводород, согласно уравнению

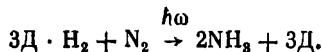


Ван-Хиль предложил суммарное уравнение фотосинтеза записывать в более общей форме:



В этом уравнении $\text{Д} \cdot \text{H}_2$ — донор атомов водорода, а Д — его окисленная форма. В роли $\text{Д} \cdot \text{H}_2$ может выступать вода, сероводород, изопропиловый спирт или другой возможный донор атомов водорода.

У фотосинтезирующих организмов в роли акцептора атомов водорода (электронов) не всегда используется молекула CO_2 . Например, у азотфиксирующих организмов акцептором атомов водорода, наряду с молекулой CO_2 , может служить молекулярный азот. Тогда уравнение фотосинтеза можно записать в виде



17.1. Хлорофилл и другие светочувствительные пигменты

Основным пигментом зеленых растений является молекула хлорофилла, участвующая в процессе поглощения света. Высшие растения содержат две формы хлорофилла: хлорофилл *a* и хлорофилл *b*. Структура хлорофилла *a* (рис. 40) установлена Вильштеттером и Фишером и подтверждена в 1960 г. Вудвордом, осуществившим полный синтез хлорофилла *a*.

В основе молекулы хлорофилла лежит плоское порфириновое кольцо, в центре которого находится ион атома магния, координационно соединенный с атомами азота порфиринового кольца.

Плоская структура порфиринового кольца обусловлена сопряженными двойными и простыми связями π -электронов между атомами углерода и азота. Эти электроны «делокализованы», т. е. равномерно распределены вдоль «периферии» порфиринового кольца (выделенная точками область на рис. 40). Изменение состояния движения π -электронов в кольце требует сравнительно небольшой энергии. Поэтому спектр поглощения света молекулой хлорофилла лежит в красной области. Дипольный электрический момент перехода в возбужденное состояние находится в плоскости порфиринового кольца.

Кроме порфиринового кольца молекула хлорофилла имеет длинную гидрофобную цепь — «хвост», в состав которого входят 20 углеродных атомов. Эта боковая цепь представляет собой остаток спирта фитола. Хлорофилл *b* отличается от хлорофилла *a* тем, что в последнем группа — CH_3 заменена группой — CNO . Таким образом, хлорофилл *b* содержит на один атом кислорода больше и на два атома водорода меньше, чем хлорофилл *a*.

Спектры поглощения обеих форм хлорофилла приведены на рис. 41. Максимумы полос поглощения хлорофилла *a* лежат в областях длин волн $\lambda \approx 700$ нм (красная) и $\lambda \approx 440$ нм (фиолетовая), максимумы полос поглощения хлорофилла *b* — в областях длин волн 660 и 460 нм.

Максимальная интенсивность солнечного света, достигающего земной поверхности, приходится на сине-зеленую и зеленую области длин волн (450—550 нм). Оказывается, что именно в этих областях поглощение света молекулами хлорофилла минимально.

Хлорофилл *a* найден у всех зеленых растений и водорослей. Хлорофилл *b* отсутствует у многих водорослей. Эти водоросли иногда содержат другие разновидности хлорофилла: *c* и *d*. Фотосинтезирующие бактерии, не выделяющие кислород, хлорофилла *a* не содержат. В их состав обычно входит особый тип хлорофилла — *бактериохлорофилл*.

Как указывалось выше, кроме молекул хлорофилла многие фотосинтезирующие клетки содержат также пигментные молекулы,

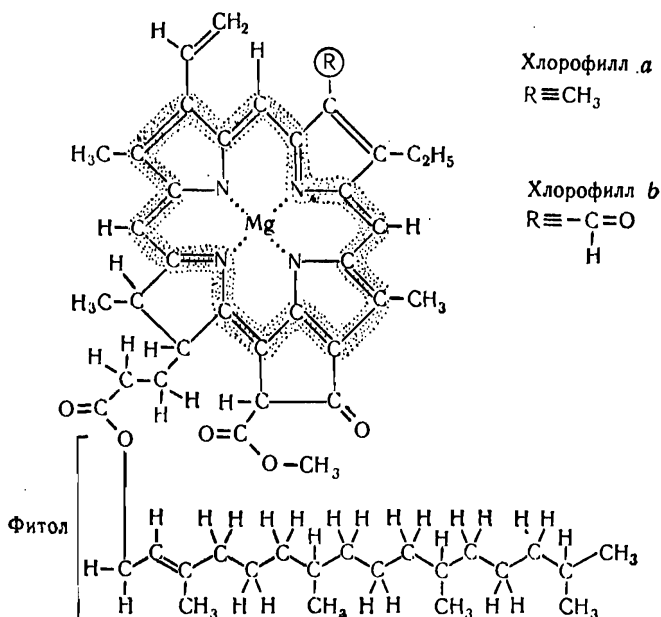


Рис. 40.

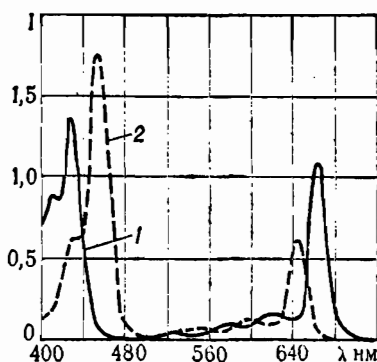
Структурные формулы хлорофилла *a* и хлорофилла *b*.

поглощающие свет в других областях спектра и придающие организмам различную окраску. Эти молекулы расширяют спектральную область света, используемую при фотосинтезе. Кроме того, каротиноиды предохраняют хлорофилл от необратимого фотоокисления кислородом.

Структурные формулы одного из каротинов и фикоцианилина указаны на рис. 42. Каротины имеют длинные полиизопреновые цепи сопряженных двойных и одиночных связей. На каждом конце молекулы находятся циклогексановые кольца. Фикоцианины, входящие в состав синезеленых водорослей, содержат четыре пирольных кольца. Они могут образовывать комплексы со специфическими белками.

На рис. 43 представлена схема первых энергетических уровней молекулы хлорофилла *a*. В основном состоянии молекула имеет нулевой спин. Все возбужденные состояния с нулевым спином называются *синглетными* (*S*). У молекулы возможны также возбужденные состояния со спином единица (в единицах $\hbar$). Они называются *триплетными* (*T*). Время жизни первого синглетного состояния $7 \cdot 10^{-9}$ с. Время жизни нулевого триплетного состояния $1,5 \cdot 10^{-3}$ с.

Рис. 41.
Спектры поглощения / света хлорофил-
лом *a* (1) и хлорофиллом *b* (2).



Под действием света в молекуле осуществляются только переходы в синглетные возбужденные состояния. Если молекулы хлорофилла при поглощении света переходят в возбужденные состояния $S_2, S_3, \dots$ с энергиями, превышающими энергию первого возбужденного состояния S_1 , то вследствие безызлучательных процессов за время $10^{-12} - 10^{-13}$ с они переходят в первое синглетное возбужденное состояние S_1 , отдавая избыток энергии растворителю.

Из синглетного состояния S_1 за время $\tau_s \approx 7 \cdot 10^{-9}$ с происходит переход в основное состояние S_0 с излучением света ($\lambda \approx 661$ нм). Это явление называется *флуоресценцией*. Имеется также небольшая вероятность безызлучательного перехода молекулы из возбужденного состояния S_1 в триплетное возбужденное состояние T_0 . Из-за слабого взаимодействия спина с электромагнитной волной время жизни триплетного состояния T_0 по отношению к излучению света $\lambda \approx 930$ нм при переходе в основное синглетное состояние сравнительно велико ($\tau_T \approx 1,5 \cdot 10^{-3}$ с). Большая длительность времени жизни триплетного состояния обусловлена маловероятным процессом изменения спина молекулы от единицы до нуля.

Растворы, содержащие молекулы пигментов только одного типа (хлорофилл *b*, хлорофилл *a*, каротиноиды и др.), при низких температурах имеют характерные спектры флуоресценции, соответствующие квантовым переходам π -электронов из нижайших синглетных возбужденных состояний в основное синглетное состояние молекулы. Наряду с этим основным излучением наблюдается слабое, медленно спадающее и более длинноволновое излучение, соответствующее переходам с нижайших триплетных состояний этих молекул в основное синглетное состояние.

В связи с тем что электронные переходы в пигментных молекулах сопровождаются изменением многих низкочастотных колебательных состояний молекул и окружающей среды, их полосы поглощения и люминесценции имеют значительную ширину.

При исследовании флуоресценции пигментов, входящих в со-

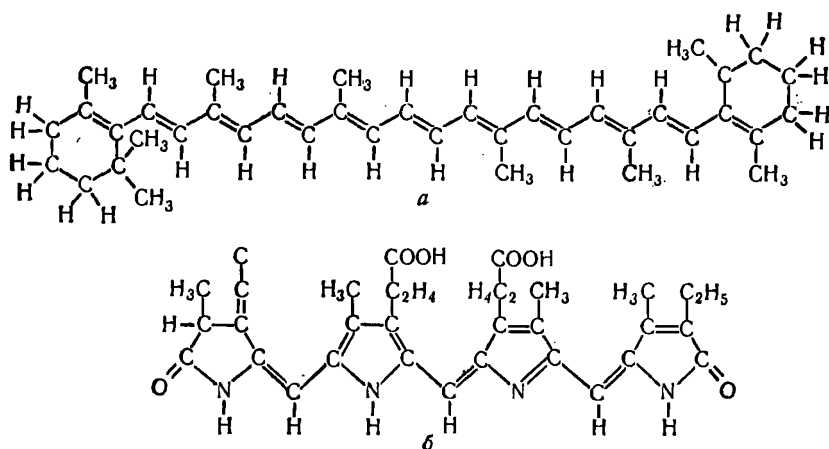


Рис. 42.

Структурные формулы фотосинтезирующих пигментов:

a — бета-каротин; *б* — фикоцианобилин.

став хлоропластов, наблюдается только флуоресценция хлорофилла *a*. Более коротковолновая флуоресценция хлорофилла *b* и других пигментных молекул не обнаруживается даже в том случае, когда хлоропласт освещается светом с длиной волны, совпадающей с длиной волны спектра поглощения соответствующего пигмента.

Таким образом, основная масса пигментных молекул выполняет роль светособирающих систем (антенн). Пигментные молекулы в хлоропластах образуют ансамбли упорядоченно расположенных молекул [131, 201].

Отмеченные выше свойства флуоресценции хлоропластов указывают, что в таких ансамблях происходит сравнительно быстрая (10^{-11} — 10^{-12} с) миграция энергии синглетного возбуждения по молекулам пигмента к молекулам хлорофилла *a*.

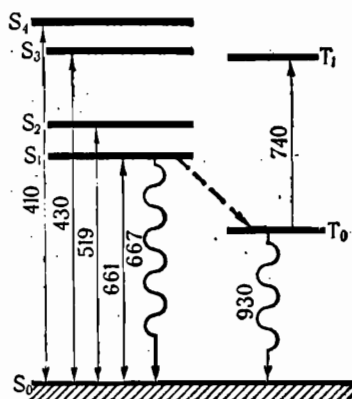
Квантовая теория систем слабо взаимодействующих одинаковых молекул показывает [17], что вследствие резонансного взаимодействия между возбужденной и невозбужденной молекулами в системе возникают коллективные бестоковые возбужденные состояния — *экситоны*, переносящие возбуждение от одних мест системы к другим. Резонансное взаимодействие с увеличением расстояния *r* убывает сравнительно медленно (как $1/r^3$) и может проявляться даже на расстояниях порядка 50 Å.

Когда экситон, перемещаясь по системе пигментных молекул, достигает молекулы хлорофилла *a*, имеющей более низкий уровень возбуждения, он переводит ее в возбужденное состояние,

Рис. 43.

Схема синглетных (S_i) и триплетных (T_i) энергетических уровней молекулы хлорофилла a .

Прямые стрелки соответствуют поглощению, волнистые стрелки — флуоресценции; цифры указывают длины волн в нанометрах.



отдавая избыток энергии тепловому резервуару. Такая небольшая потеря энергии исключает обратный переход энергии возбуждения с молекул хлорофилла a к пигментным светособирающим молекулам.

Молекула хлорофилла a , получившая энергию от светособирающих молекул, отдает ее в виде излучения света — флуоресценции. Это явление хорошо изучено при исследовании люминесценции молекулярных кристаллов, содержащих примесные молекулы с энергией возбуждения более низкой, чем энергия возбуждения молекул основного вещества, и называется сенсibilизированной люминесценцией.

Некоторое время считали, что молекулами, воспринимающими энергию возбуждения от светособирающих молекул, являются особые молекулы хлорофилла a' . Теперь установлено (см. п. 17.2), что эту роль выполняют в хлоропластах и хроматофорах особые фотосинтезирующие реакционные центры, в состав которых входит несколько молекул хлорофилла. Эти молекулы в реакционном центре образуют своеобразный комплекс, выступающий как единое целое со своим спектром возбужденных состояний. При этом энергия нижайшего из них меньше энергии отдельной молекулы хлорофилла. Установлено, что число реакционных центров в мембране значительно меньше числа светособирающих молекул (1/400).

Фотосинтезирующие реакционные центры (ловушки экситонов) входят в состав фотосинтезирующих систем (ФС), в которых осуществляются световые реакции фотосинтеза. Фотосинтезирующие системы наряду с реакционными центрами, воспринимающими энергию света, содержат ряд других молекул — ферменты, белки, липиды, липопротеиды, которые участвуют в организации фотосинтезирующей системы и в выполнении ею световой части биохимических реакций. Фотосинтезирующие системы сравнительно жестко вмонтированы в мембраны тилакоидов.

С точки зрения исследования первичных процессов фотосинтеза на молекулярном уровне особый интерес представляет изучение организации пигментных слоев и структуры фотосинтезирующих систем, в частности изучение реакционных центров, входящих в их состав.

17.2. Фотосинтезирующие центры в хлоропластах

Миграция энергии в хлоропластах к фотосинтезирующим центрам и последующий захват энергии этими центрами исключительно эффективны. Около 90% поглощенной солнечной энергии используется для фотосинтеза и менее чем 5% излучается в виде флуоресценции. Эти факты указывают, что как процесс собирания энергии реакционными центрами, так и световая часть реакции фотосинтеза происходит за время, значительно меньшее времени (10^{-9} с), необходимого для излучения света.

Какова природа фотосинтезирующих реакционных центров? Почему они работают с такой большой эффективностью? На эти вопросы пока еще нет окончательного ответа. В последние годы, однако, сделаны важные шаги в понимании световой стадии фотосинтеза.

Фотосинтезирующие реакционные центры принято обозначать P_λ , где нижний индекс указывает длину волны в нанометрах (10^{-7} см) максимума длинноволновой полосы поглощения света. Так, в хлоропластах известны фотосинтезирующие центры P_{680} , P_{680} , P_{700} , в различных фотосинтезирующих бактериях имеются хлоропласты P_{870} , P_{890} .

Первоначальный этап фотосинтеза в хлоропластах заключается в отрыве электронов, за счет энергии светового кванта, от комплекса молекул хлорофилла *a*, входящих в реакционные фотосинтезирующие центры P_λ . При этом образуются положительно заряженные парамагнитные центры $(P_\lambda)^+$, о чем свидетельствуют спектры электронного парамагнитного резонанса [240, 241]. Оторвавшиеся электроны переносятся на первичные акцепторы A_1 , природа которых в различных фотосинтезирующих системах еще не вполне установлена.

В восстановленном акцепторе A_1^- на энергетическом уровне (возможно, на нескольких уровнях), расположенном ниже возбужденного синглетного уровня P_λ , электрон некоторое время задерживается — попадает в ловушку. Предполагается, что из ловушки электрон не может перейти в основное состояние, отдавая энергию излучению.

О наличии ловушек в активных центрах свидетельствует явление термолюминесценции зеленых листьев растений. Если листья растений, клетки водорослей или суспензию хлоропластов после

экспозиции на свету перенести в темную камеру, то с помощью чувствительных фотоумножителей можно обнаружить очень слабое свечение, затухающее в течение десятка секунд. Спектр свечения близок к спектру флуоресценции хлорофилла *a*. Кривые затухания можно аппроксимировать суммой нескольких экспонент.

Если освещение и последующее наблюдение проводить при температуре ниже 40° С, то послесвечение отсутствует. Однако при постепенном нагревании до комнатной температуры можно зарегистрировать несколько периодически возникающих и затухающих свечений.

Термолюминесценция обусловлена переводом электрона, за счет энергии теплового движения, из ловушки на синглетный возбужденный уровень молекулы хлорофилла *a*. По мере повышения температуры электроны освобождаются из более глубоких ловушек. Энергия активации сравнивается с половиной энергии красного кванта. Термолюминесценция наблюдается и в том случае, когда предварительное освещение проводится при сравнительно низкой температуре.

17.3. Фотосинтезирующие системы бактерий и синезеленых водорослей

Фотосинтезирующие бактерии, принадлежащие к семейству *Rhodospirillum* и другим, способны осуществлять как фотофосфорилирование, так и окислительное фосфорилирование. У клеток, выращенных в анаэробных условиях и на свету, преимущественное развитие получает система фотосинтеза. Клетки, выращенные в темноте в аэробных условиях, имеют развитую дыхательную систему.

В бактериях и синезеленых водорослях фотосинтезирующие реакционные центры входят в состав фотосинтезирующих систем, находящихся в хроматофорах в цитоплазме клеток. Кроме молекул бактериохлорофилла в эти системы входят пигменты, цит-хромы, молекулы, содержащие негемовое железо и медь, липиды и белки.

Для выяснения деталей первой световой стадии фотосинтеза требовалось выделить реакционные центры из фотосинтезирующих систем хроматофоров. Это удалось осуществить Риду и Клайтону в 1968 г. Они выделили реакционные центры из хроматофоров бактерий *Chromatium vinosum*, отделив от них молекулы пигментов, цитохромов, белковые молекулы [206]. Фотосинтез в этих бактериях обусловлен возбуждением молекул бактериохлорофилла в области длин волн 870 нм. Поэтому реакционные центры хроматофоров этих бактерий кратко обозначаются P_{870} .

При исследовании изолированных реакционных центров P_{870} выяснилось, что они имеют относительную молекулярную массу около $7 \cdot 10^4$ дальтон.

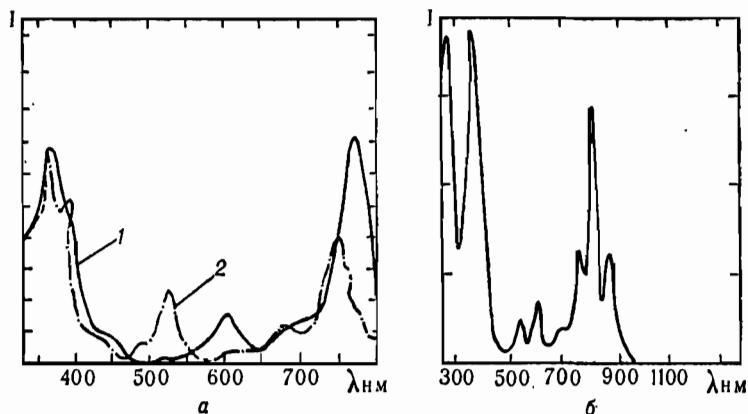


Рис. 44.

Спектры поглощения:

а — растворов бактериохлорофилла (1) и бактериофеофилла (2) в этаноле;
 б — реактивных центров P_{870} , извлеченных из бактерий *Rps. spheroides* R-26 [206].

Реакционный центр представляет собой комплекс четырех молекул бактериохлорофилла и двух молекул бактериофеофитина. Молекулы бактериофеофитина отличаются от молекул бактериохлорофилла тем, что в их порфириновых кольцах вместо ионов атома Mg^{2+} находятся два протона.

Сравнивая рис. 44, а и 44, б, можно убедиться, что полосы поглощения реакционного центра P_{870} в областях длин волн 535 и 780 нм в основном обусловлены бактериофеофитином, а полосы поглощения в областях длин волн 600, 800 и 865 нм — бактериохлорофиллом.

С помощью короткого импульса света можно вызвать фотоокисление (отрыв электрона) от реакционных центров P_{870} , находящихся в растворе. Окисленный реакционный центр $(P_{870})^+$ переходит в восстановленную форму P_{870} примерно через 0,1—1,0 с. Если в раствор добавить цитохром с (Fe^{2+}), то он окисляется, отдавая электрон и тем самым восстанавливая $(P_{870})^+$ до P_{870} . Окисление цитохрома с и восстановление центров $(P_{870})^+$ требует только около 1 мс.

Исследования спектра кругового дихроизма реакционного центра в фотоокисленной $(P_{870})^+$ и восстановленной P_{870} формах показали, что в спектре кругового дихроизма P_{870} в областях $\lambda = 800$ нм и $\lambda = 600$ нм имеется по две полосы с противоположными знаками дихроизма. Следовательно, полосы поглощения в областях длин волн 800 и 600 нм содержат по крайней мере по

два электронных перехода с противоположным знаком дихроизма и разной энергией.

Такое расщепление обусловлено сравнительно сильным резонансным взаимодействием четырех молекул бактериохлорофилла в реакционном центре P_{870} . При поглощении света они действуют как единое целое.

Согласно квантовой механике, резонансное взаимодействие в комплексе из четырех одинаковых молекул приводит к расщеплению электронных переходов изолированных молекул на четыре подуровня. Их проявление в спектре поглощения зависит от геометрии расположения молекул в комплексе, а точнее, от ориентации электрических дипольных моментов переходов четырех молекул. Если бы порфириновые кольца всех четырех молекул лежали параллельно, то в спектре поглощения из четырех энергетических подуровней проявился бы только один. Наличие в спектре поглощения пар, близких по энергии полос поглощения, может указывать на то, что в реакционном центре четыре молекулы бактериохлорофилла образуют как бы два димера с параллельно расположенными порфириновыми кольцами.

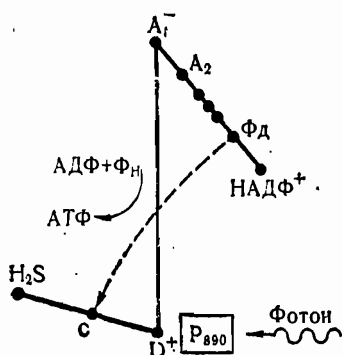
В спектре кругового дихроизма окисленного реакционного центра (P_{870})⁺ в области длин волн 800 и 600 нм имеются только одиночные полосы. Это указывает на изменение характера взаимодействия между молекулами бактериохлорофилла при окислении центра. Когда центр P_{870} теряет один электрон, две молекулы бактериохлорофилла обобществляют оставшийся неспаренный электрон. Такая перестройка π -электронов в паре молекул приводит к нарушению их резонансного взаимодействия с двумя другими молекулами комплекса.

При окислении P_{870} полоса поглощения света в области $\lambda = 760$ нм, обусловленная молекулами бактериофеофитина, изменяется незначительно. Из этого можно сделать вывод о слабом резонансном взаимодействии молекул бактериофеофитина с молекулами бактериохлорофилла, что обусловлено различной величиной энергии электронных возбужденных состояний этих молекул.

Кроме пигментных молекул в состав реакционных центров, извлеченных из бактерий *Rps. spheroides*, входили также три полипептида с молекулярными массами 21 000, 23 000 и 27 000 дальтон. Все они содержали около 70% неполярных аминокислотных остатков и, следовательно, были гидрофобными. По-видимому, белковые компоненты реакционных центров важны для установления их геометрической структуры и возможности внедрения в липидный слой мембраны.

Реакционные центры в комплексе с некоторыми ферментами, белками и липидами образуют фотосинтезирующие системы одного типа в хроматофорах бактерий, не выделяющих кислород при фотосинтезе. Эти фотосинтезирующие системы осуществляют первые

Рис. 45.
Энергетическая схема работы фотосинтезирующей системы в хроматофорах серых бактерий.



фотохимические реакции, сопровождающиеся синтезом молекул АТФ и НАДФ·Н за счет энергии разделенных зарядов, образованных реакционными центрами при поглощении света.

Энергетическая схема работы фотосинтезирующей системы зеленых серных бактерий, использующих в качестве первичного донора электронов H_2S , представлена на рис. 45. Активный центр этой системы P_{890} содержит молекулы бактериохлорофилла с максимумом поглощения в области $\lambda = 890$ нм. В результате поглощения кванта света происходит разделение зарядов — электрон переходит на первичный акцептор A_1 пока еще неизвестной природы [184, 239]. При этом донор электронов D реакционного центра переходит в окисленное состояние D^+ . Он восстанавливается при посредстве цитохрома c (Fe^{2+}) первоначальным донором электронов H_2S (вернее, ионом гидросульфида HS^-).

Электрон восстановленного акцептора через систему передатчиков восстанавливает фермент ферредоксин (Фд). От восстановленного Фд $^-$ электрон может перейти на молекулу НАДФ $^+$, образуя, в соответствии с реакцией (17.6), молекулу НАДФ·Н, либо через систему переносчиков перейти на цитохром c и затем вернуться к D^+ . Энергия, выделяемая при переходе электрона от Фд $^-$ к цитохрому c , используется для синтеза молекул АТФ (фотофосфорилирование).

Исследования А. Б. Рубина и др. [49] показали, что вода играет существенную роль в переносе электронов от первичного акцептора ко вторичному в фотосинтетических реакционных центрах пурпурных бактерий. Вода прежде всего является важным фактором в поддержании пространственной структуры отдельных белковых молекул и ферментов, входящих в состав фотосинтезирующего центра.

Не исключено, что вода играет в транспорте электронов и более активную роль. Высказывалась, например, гипотеза [176] о том,

что в цепи переносчиков могут проявляться и процессы переноса заряда по так называемым водным мостикам.

Фотохимическое разделение зарядов в фотосинтезирующих системах при поглощении света сопровождается сравнительно быстрой (10^{-10} — 10^{-12} с) конформационной перестройкой системы, которая и препятствует дальнейшей рекомбинации разделенных зарядов и обеспечивает высокую эффективность использования последующего транспорта электронов по системе переносчиков.

Такая весьма вероятная гипотеза, к сожалению, еще не получила прямого подтверждения. Одной из причин этого является недостаточное знание структуры фотосинтезирующих центров и природы входящих в них молекул.

В настоящее время многие исследователи считают [50], что первичным акцептором электронов A_1 в фотосинтезирующих пурпурных бактериях являются некоторые комплексы молекул хинонной природы, находящихся в окружении среды, содержащей полярные молекулы. Они, по-видимому, находятся на поверхности мембраны. Вторичный акцептор электронов A_2 также содержит молекулы хинонной природы (возможно убихинон), окруженные гидрофобной средой внутри мембраны.

Представляют интерес работы, в которых проведены оценки времен электронных переходов в фотосинтезирующих системах пурпурных бактерий. При поглощении света происходит разделение зарядов в фотосинтезирующем центре P_{870} образуется окисленный донор D^+ и возбужденный электрон переходит на первичный акцептор электронов A_1 , по-видимому, за время, измеряемое пикосекундами. Окисленный донор D^+ получает электроны от цитохрома c (см. рис. 45) в среднем в течение нескольких миллисекунд.

Скорость перехода электронов от первоначального акцептора A_1 ко вторичному акцептору A_2 измерялась А. Б. Рубиным и др. [94] в фотосинтезирующей транспортной системе реакционного центра P_{870} в пурпурных бактериях *R. rubrum* и *Rps. sphaeroides*. При температуре 300 К они получили для скоростей перехода электрона от A_1 и A_2 соответственно значения $2,7 \cdot 10^8 \text{ с}^{-1}$ и $4,5 \cdot 10^7 \text{ с}^{-1}$. Переход электрона от первичного акцептора A_1 к A_2 сопровождается потерей энергии. Этот избыток энергии передается колебаниям окружающей среды.

При измерении температурной зависимости скорости перехода оказалось, что в области температур 300—200 К она уменьшается экспоненциально с уменьшением температуры и остается постоянной при $T < 200$ К. По-видимому, при $T < 200$ К переход электрона в основном осуществляется по механизму квантово-механического туннелирования. При температуре выше 200 К наряду с механизмом туннелирования начи-

нают приобретать существенное значение процессы перехода через потенциальный барьер, которые зависят от температуры (см., однако, п. 23.1). Энергии активации оказались равными 0,54 и 0,42 эВ соответственно для бактерий *Rps. spheroides* и *R. rubrum*.

17.4. Две фотосинтезирующие системы у растений

Для понимания биохимической фазы фотосинтеза, предшествующей темновым реакциям в фотосинтезирующих клетках, выделяющих кислород, большое значение имели исследования, показавшие, что процесс фотосинтеза осуществляется двумя последовательными реакциями, вызываемыми поглощением световых квантов разной энергии двумя реакционными центрами.

При исследовании эффективности процесса фотосинтеза в хлоропластах выяснилось, что такая эффективность падает до нуля при освещении светом с длиной волны, превышающей $\lambda_0 = 680$ нм, хотя они поглощают свет и с большей длиной волны, вплоть до $\lambda = 800$ нм. Это явление вызвано красным падением квантового выхода фотосинтеза.

Эмерсон с сотрудниками в Иллинойском университете при исследовании фотосинтеза, осуществляемого водорослями хлореллы (см. обзор [185]), показали, что добавление к красному свету ($\lambda \approx 700$ нм) света более коротковолнового ($\lambda \approx 650$ нм) приводило к резкому увеличению выхода фотосинтеза. Интенсивность фотосинтеза, возбуждаемого одновременно двумя монохроматическими пучками света, оказалась выше суммы интенсивностей фотосинтезов, возбуждаемых каждым из них в отдельности. Это явление получило название *эмерсоновского усиления*.

Объяснение эмерсоновского усиления возможно на основе предположения, что для процесса фотосинтеза в клетках, выделяющих кислород, необходимы две возбуждаемые светом реакции. Обе они протекают при освещении светом с длиной волны $\lambda \leq 680$ нм, но только одна из них возможна при $\lambda > 680$ нм.

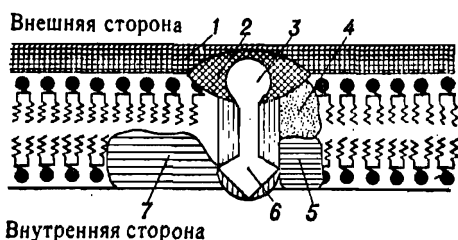
Хилл и Бенделл в Кембриджском университете предложили гипотезу [80], согласно которой световые реакции при фотосинтезе происходят в двух фотосистемах ФС I и ФС II, каждая из которых имеет свой реакционный центр.

Джюээнс постулировал, что реакция, индуцируемая длинноволновым светом, которую он отнес к фотосистеме I (ФС I), связана с реакционным центром P_{700} и не сопровождается выделением кислорода. Кислород выделяется в результате функционирования фотосистемы ФС II, которая активируется светом с более короткой длиной волны. Природа реакционного центра P_{650} этой системы окончательно еще не выяснена.

Рис. 46.

Упрощенная схема активного центра фотосистемы ФСII в мембране тилакоида [225]:

1 — пигментный слой; 2 — белковые компоненты; 3 — акцептор электронов X_{320} ; 4 — система цитохромов b ; 5 — молекулы пластохинона PQ; 6 — хлорофилл a ; 7 — фермент, расщепляющий воду.



В последнее время Бенгенсону и Нельсону [81] удалось выделить фотохимический центр ФСI из мембран хлоропластов. Они показали, что очищенный от пигментных молекул фотохимический центр ФСI, кроме молекул хлорофилла a , содержит шесть субъединиц — полипептидов с молекулярными массами 70 000, 25 000, 20 000, 18 000, 16 000 и 8000. Эти полипептиды в порядке убывания молекулярной массы нумеруются римскими цифрами. Полукристаллический агрегат, включающий около 20 молекул хлорофилла a и две субъединицы I, по-видимому, образует реакционный центр P_{700} .

Квазикристаллический комплекс 20 молекул хлорофилла, действующий как единое целое, обладает спектром поглощения в области больших длин волн, чем отдельные молекулы хлорофилла a . «Покраснение» спектра поглощения обусловлено разностью энергии взаимодействия возбужденной и невозбужденной молекулы со своими соседями [17].

Фотохимический центр ФСI пронизывает всю мембрану тилакоида насквозь так, что реакционный центр P_{700} находится на внутренней стороне мембраны. Акцептор электронов А, по-видимому, содержит Fe — S-белки и целую систему белков, связанных с ферредоксином. Он расположен на внешней стороне мембраны.

Ренгерсом [225] проведено наиболее полное исследование фотосистемы ФСII. Ее схематическое изображение представлено на рис. 46. Центральной частью фотосистемы является реакционный центр P_{680} , в состав которого входит комплекс $Chla_{II}$, состоящий из молекул хлорофилла a , и неизвестной природы акцептор электронов X_{320} . Реакционный центр ориентирован в мембране тилакоида так, что первичный донор электронов $Chla_{II}$ расположен с внутренней стороны мембраны, а первичный акцептор электронов X_{320} — вблизи внешней поверхности мембраны.

Акцептор электронов покрыт слоем белковых молекул, действующих как некоторый экран, делающий его малочувствительным к внешним воздействиям. Кроме того, эти молекулы осуществляют связь акцептора X_{320} с комплексом молекул пластохинона. Пластохинон соединен системой цитохромов с первичным донором электронов реакционного центра P_{700} фотосистемы ФСI.

Первичный донор электронов второй фотосистемы Chla_{11} соединен с ферментами, осуществляющими расщепление воды. В связи с тем, что для выделения из воды молекул кислорода требуется два электрона, некоторые считают, что в фотосистеме ФСII имеется два донора электронов.

При анизотропном расположении донорных и акцепторных молекул в реакционном центре ФСII вызываемое светом пространственное разделение зарядов обуславливает ток электронов от внутренней стороны мембраны к наружной стороне.

Предполагается, что обе фотосистемы, ФСI и ФСII, разделены пространственно, но объединены в единый функциональный комплекс. Иногда отождествляют такие комплексы с бугорками — квантосомами, видимыми при большом увеличении на внутренних поверхностях мембран тилакоидов. Связь между обеими системами осуществляется цепью ферментов — переносчиков электронов от первичного акцептора X_{320} (его обычно обозначают буквой Q) фотосистемы ФСII к донору электронов Chla_{11} фотосистемы ФСI.

По отношению к процессу переноса электрона от первичного акцептора X_{320} ко вторичному A_2 первичный акцептор выступает как донор (восстановитель), а вторичный — как окислитель. В п. 16.1 сказано, что каждая такая сопряженная пара характеризуется по отношению к переносу электрона окислительно-восстановительным потенциалом. Часто в целях сокращения значение окислительно-восстановительного потенциала сопряженной пары относят к молекуле, играющей роль донора электронов в этой паре (см. табл. 9).

Электрон легко перемещается (с выделением энергии) вдоль цепи переносчиков по градиенту окислительно-восстановительного потенциала, т. е. в сторону его больших значений. Обратный переход требует затраты энергии.

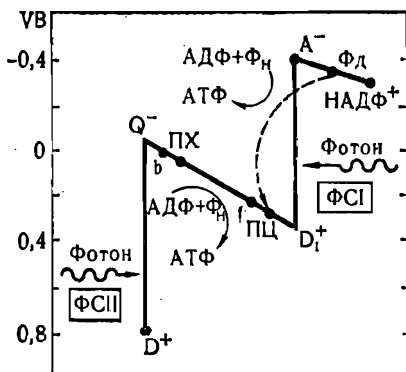
При фотосинтезе в клетках, выделяющих кислород, первичным электронным донором является молекула воды. Ее окислительно-восстановительный потенциал равен $+0,82$ В (см. табл. 9). Окончательным акцептором электронов в процессе световой части фотосинтеза является молекула НАДФ · Н. Ее окислительно-восстановительный потенциал равен $0,32$ В. Таким образом, для осуществления световой части фотосинтеза надо перенести электрон против градиента редокс-потенциала на величину, равную $1,14$ В. Этот переброс, согласно модели Хилла и Бенделла [80], осуществляется последовательно в два этапа системами ФСI и ФСII за счет энергии световых квантов (см. рис. 47).

Между системами ФСII и ФСI от акцептора электронов Q системы II к донору электронов D_1 системы I электрон перемещается по градиенту редокс-потенциала V с помощью системы ферментов (цепь электронного транспорта). При этом его энергия затрачива-

Рис. 47.

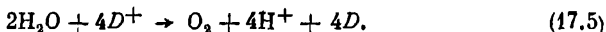
Энергетическая модель фотосинтеза [80]:

D^+ , Q^- и D_1^+ , A^- — соответственно окисленные донорные молекулы и восстановленные акцепторные молекулы фотосистем ФСII и ФСI; b и f — цитохромы; Фд — ферредоксин; ПХ — пластохинон; ПЦ — пластоцианин.

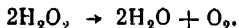


ется на синтез молекул АТФ из молекул АДФ и фосфата. Молекулы АТФ, как и конечный продукт молекулы НАДФ · Н световой части реакции фотосинтеза, используются в темновых реакциях.

При поглощении фотона ($\lambda = 650$ нм) системой ФСII образуются пространственно разделенные окисленный донор D^+ на внутренней поверхности тилакоидной мембраны и восстановленный акцептор Q^- на ее наружной поверхности. Окисленный донор D^+ на внутренней поверхности мембраны с помощью особых ферментов восстанавливается, окисляя воду. При этом во внутреннюю область тилакоида выделяются кислород и протоны согласно реакции



Выяснение молекулярного механизма окисления воды с выделением молекул кислорода, согласно суммарной реакции (17.5), является одной из центральных нерешенных проблем фотосинтеза. Можно предположить, что окисление воды ($H^+ + OH^-$) происходит путем отрыва электрона от иона гидроксила OH^- . Однако возникает вопрос, как появляющиеся радикалы OH образуют молекулу кислорода. Синтез молекулы кислорода мог бы происходить после образования радикалами OH молекул перекиси водорода H_2O_2 с последующим их распадом:



Однако радикалы OH появляются не одновременно. Они очень активны. Для образования H_2O_2 необходима предварительная стабилизация этих радикалов. Возможно, эта стабилизация обеспечивается некоторыми ионами металлов (Mg^{2+} и др.). Несмотря на многократные попытки, до настоящего времени не предложены конкретные промежуточные реакции, обеспечивающие суммарный процесс (17.5).

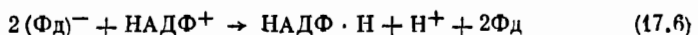
Электрон, присоединенный при поглощении кванта света системой ФСII к акцептору Q на внешней поверхности мембраны тила-

коида, перемещается по градиенту редокс-потенциала вдоль цепи электронного транспорта, включающей ферменты пластохинон, цитохром *b*, цитохром *f*, пластоцианин, и восстанавливает окисленный донор D_1^+ в фотосистеме I.

Во время перехода электрона из ФСII в ФСI происходит сопряженный с этим переходом процесс фосфорилирования — синтез молекул АТФ.

Система ФСI, поглощая фотоны, создает окисленный донор D_1^+ и восстановленный акцептор A^- соответственно на внутренней и наружной поверхностях мембраны тилакоида. Окисленный донор D_1^+ восстанавливается электроном, поступающим по цепи электронного транспорта от пластоцианина.

Возникший при поглощении кванта света восстановленный акцептор A^- на наружной поверхности мембраны передает через цепь переносчиков (включающую ферредоксин) электрон молекуле НАДФ $^+$. Одним из передатчиков электрона в этой цепи является фермент Фд, получивший название ферредоксин НАД $^+$ -оксидоредуктаза. Присоединяя электрон от акцептора A^- , этот восстановленный фермент (Фд) $^-$ может передать его окисленной молекуле НАДФ $^+$. Таким образом, в результате реакции



образуются молекулы НАДФ $\cdot$ H, которые далее используются в темновых реакциях. Реакция (17.6) требует затраты энергии. Эта энергия черпается за счет движения электрона от A^- к НАДФ $\cdot$ H по градиенту редокс-потенциала.

Рассмотренный выше поток электронов от воды к акцептору электронов Q и ФСII против градиента редокс-потенциала, далее от Q^- к D_1^+ через цепь переноса электронов по градиенту редокс-потенциала, затем под действием света против градиента редокс-потенциала от D_1^+ к A^- и, наконец, по градиенту редокс-потенциала от A^- к НАДФ $^+$ называется *нециклическим потоком электронов*.

Наряду с нециклическим потоком электронов, вызывающим синтез молекул АТФ на первом этапе движения электронов вдоль градиента редокс-потенциала и синтез молекул НАДФ $\cdot$ H на втором этапе, имеется циклический поток электронов в системе ФСI. Циклический поток электронов обусловлен движением электрона по градиенту редокс-потенциала от (Фд) $^-$ к пластоцианину, а затем к окисленному центру D_1^+ той же системы ФСI. Движение по градиенту редокс-потенциала, т. е. в сторону его увеличения, сопряжено с фосфорилированием. Это фосфорилирование ингибируется ядами (антимидионин А), которые прерывают поток электронов.

17.5. Механизм сопряжения реакций разделения электрических зарядов квантами света и фотофосфорилирования

При описании световой стадии фотосинтеза в предыдущих разделах использовалось традиционное представление о том, что процесс фосфорилирования непосредственно связан с транспортом электронов, возникающих при разделении электрических зарядов под действием света в фотосистеме в мембранах фотосинтезирующих бактерий и в двух фотосистемах в клетках, выделяющих кислород при фотосинтезе. В частности, в модели Хилла и Бенделла (рис. 47) предполагается, что сопряжение нециклического потока электронов и фосфорилирования в хлоропластах локализовано в мембранах тилакоидов между цитохромом *b* (редокс-потенциал 0,03 В) и цитохромом *f* (редокс-потенциал 0,37 В). Разность между редокс-потенциалами этих переносчиков электронов, равная 0,4 В, достаточна для синтеза молекул АТФ.

К сожалению, модель Хилла и Бенделла не объясняет механизм связи транспорта электронов, вызванного поглощением света, с процессом синтеза молекул АТФ.

В последнее время в литературе часто рассматривается фотофосфорилирование в хлоропластах клеток растений на основе хемиосмотической гипотезы Митчелла. Согласно этой гипотезе, сопряжение процессов электронного транспорта и фосфорилирования достигается путем энергизации мембран тилакоидов, сводящейся к образованию градиентов концентраций ионов H^+ и OH^- и разностей потенциалов между внешними и внутренними сторонами мембран.

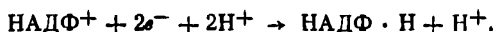
Переход мембраны тилакоида в энергизованное состояние, согласно хемиосмотической гипотезе, описывается следующей схемой [154а]. При поглощении двух квантов света (последовательно или одновременно) два близко расположенных на внутренней поверхности мембраны тилакоида реакционных центра P_{680} переходят в ионизированные состояния. Электроны перемещаются по белковым молекулам к внешней стороне мембраны.

Окисленные реакционные центры P_{680} восстанавливаются электронами из воды с помощью фермента, содержащего марганец. При этом выделяется атом кислорода (реакция (17.5)), который диффундирует из хлоропласта, а два протона остаются во внутренней области тилакоида.

Два электрона, попавшие после поглощения двух квантов света реакционными центрами P_{680} на внешнюю поверхность мембраны, захватываются вместе с двумя протонами из стромы небольшой молекулой пластохинона. Молекула пластохинона может диффундировать внутри мембраны тилакоида. Она родственна молекуле убихинона (Q) и обозначается буквами PQ.

Присоединив два электрона и два протона, молекула пластохинона восстанавливается до $\text{PQ} \cdot \text{H}_2$ и диффундирует к внутренней стороне мембраны. По-видимому, диффузия происходит под влиянием градиента концентрации молекул $\text{PQ} \cdot \text{H}_2$. На внутренней поверхности мембраны тилакоида концентрация этих молекул мала, вследствие того что они очень быстро преобразуются в молекулы PQ , отдавая два электрона цитохрому f и два протона во внутреннюю область тилакоида. Накопление молекул PQ вблизи внутренней поверхности мембраны тилакоида вызывает их диффузное движение к внешней поверхности, где они, захватывая электроны, выброшенные из реакционных центров P_{680} при поглощении света, и протоны из стромы, превращаются снова в молекулы $\text{PQ} \cdot \text{H}_2$.

В свою очередь молекулы цитохрома f , получив электроны от молекул $\text{PQ} \cdot \text{H}_2$, передают их дальше, к белковым молекулам, содержащим атомы меди и называемым пластоцианидами. Молекулы пластоцианида передают электроны реакционным центрам P_{700} первой фотосистемы. Электроны же, оторвавшиеся от этих центров при поглощении света, перемещаются к внешней поверхности мембраны тилакоида и захватываются железо-серными белками, от которых они переходят к молекулам ферредоксина, а от них — к молекулам ФАД. Присоединив эти два электрона и два протона из окружающей стромы, молекулы ФАД преобразуются в молекулы $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$. Последние отдают два электрона и один протон молекулам НАДФ^+ , преобразуя их в молекулы $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$, а второй протон переводят в строму в соответствии с реакцией



Участвующие в этой реакции молекулы НАДФ^+ образуются в темновых реакциях.

Образованием молекул $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ заканчивается световая стадия фотосинтеза. Эти молекулы используются в темновых реакциях фотосинтеза, происходящих в строме (см. п. 17.6).

Приведенная модель перемещения электронов и протонов в мембране тилакоида во время световой стадии фотосинтеза является весьма условной. Она опирается только на экспериментальные данные о том, что молекулы ферредоксина находятся на внешней поверхности мембраны тилакоида, а молекулы пластоцианида — на внутренней.

В описанной модели световой стадии фотосинтеза каждый электрон пересекает мембрану тилакоида дважды. Такое перемещение сопровождается исчезновением из стромы трех протонов и появлением внутри тилакоида четырех протонов. Перемещение протонов переводит мембрану тилакоида в энергизованное состояние. Внутри тилакоида образуется кислая среда со значением

pH 4. Возникает полный электрохимический градиент, равный примерно 4,8 ккал/моль. Он в основном определяется разностью концентраций протонов на двух сторонах мембраны, определяемой разностью значений pH, равной 3,5. Разность электрических потенциалов на мембране сравнительно мала, что связано с довольно большой проницаемостью мембраны для ионов хлора. Движение ионов хлора через мембрану снижает разность потенциалов.

Согласно хемиосмотической гипотезе, синтез молекул АТФ в тилакоиде осуществляется комплексом ферментов $CF_1 - F_0$, эквивалентным комплексу ферментов $F_1 - F_0$, входящему в состав сопрягающих мембран митохондрий. Однако ориентация комплекса $CF_1 - F_0$ в мембранах тилакоидов обратна ориентации комплекса $F_1 - F_0$ в митохондриях (см. рис. 39). Ферменты CF_1 находятся на внешней стороне мембраны тилакоида, образуя шишковидные выступы. Такое расположение обусловлено тем, что направление протонного градиента в тилакоидах противоположно направлению градиента протонов в мембранах бактерий и сопрягающих мембранах митохондрий. Интересно, что в липосомах, образованных в суспензиях из фрагментов мембран митохондрий, ферменты CF_1 выступают на внешней поверхности мембраны пузырьков так же, как и в естественных мембранах тилакоидов.

Для образования в строме на внешней поверхности тилакоида молекулы АТФ из внутренней его области через комплекс ферментов $CF_1 - F_0$ должны пройти три протона. Пересекая мембрану тилакоида, они выделяют энергию $3 \times 4,8$ ккал/моль = 14,4 ккал/моль. Этой энергии достаточно для синтеза молекулы АТФ.

Хемиосмотическая гипотеза дает объяснение ряду экспериментальных фактов. При освещении хлоропластов наблюдается повышение pH раствора (внутри тилакоида наблюдается подкисление), обратимое в темноте и чувствительное к ингибиторам электронного транспорта. Создание в темноте искусственного градиента протонов на мембранах тилакоидов сопровождается синтезом молекул АТФ.

В пользу гипотезы Митчелла говорят и исследования активного транспорта в мембранах бактерий (см. п. 14.4). Однако ряд фактов не вполне согласуется с первоначальной хемиосмотической гипотезой и требует ее модификации.

При исследовании временного изменения выхода фосфорилирования Изава с сотрудниками [169] обнаружили, что фосфорилирование начинается значительно раньше того момента, когда разность концентраций на внутренней и внешней сторонах мембраны достигает критической величины. Далее они показали, что при pH 8 фосфорилирование происходит одинаково хорошо как при работе ФСІ, так и при работе ФСІІ. Однако при снижении pH

до 6,5 и ниже фосфорилирование происходит при работе ФСII и не происходит при работе ФСI.

Эти факты противоречат первоначальной гипотезе Митчелла о том, что энергизованное состояние, ответственное за синтез молекул АТФ, характеризует мембрану как нечто целое. Согласно гипотезе Митчелла, следовало бы считать, что обе системы, ФСI и ФСII, несмотря на то что они используют фотоны разной энергии, поставляют ионы H^+ и OH^- в «общие резервуары».

Представляется более реальным предположение о том, что при фотофосфорилировании существенны специфические локальные свойства мембран в окрестностях ФСI и ФСII. Тогда при фосфорилировании будут проявляться локальные градиенты протонов, а не их средние значения в растворах, примыкающих к внешней и внутренней сторонам мембраны. Это предположение оправдывается наличием мозаичной структуры внешней и внутренней поверхностей мембран и возможностью независимого выделения ФСI и ФСII из мембраны, что указывает на их пространственное разделение в мембране.

При исследовании фосфорилирования в хлоропластах при импульсном режиме освещения Л. А. Блюменфельд с сотрудниками [13] обнаружили, что выход синтеза молекул АТФ повышается при увеличении частоты следования импульсов. Этот факт еще не получил объяснения. Авторы работы [13] считают, что в этом случае, возможно, проявляются некоторые кооперативные свойства процесса фотофосфорилирования. Возможно, что это явление также связано с локальным повышением разности концентраций H^+ вблизи ФСI и ФСII. При увеличении частоты следования импульсов света они не успевают продиффундировать далеко в сторону.

17.6. Темновая фаза фотосинтеза

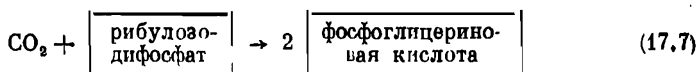
При освещении ФСI и ФСII в тилакоидах образуются молекулы АТФ и НАДФ · Н. Эти молекулы используются в строении хлоропластов для осуществления конечной фазы фотосинтеза — преобразование CO_2 в углеводы (шестиуглеродные остатки сахаров — гексозы). Нормальный фотосинтез может происходить только при концентрации CO_2 в воздухе, превышающей 0,008%. В настоящее время в земной атмосфере содержится около 0,03% углекислого газа.

Согласно исследованиям Бассгама [79] для преобразования одной молекулы CO_2 необходима затрата энергии двух молекул НАДФ · Н и трех молекул АТФ. Образование двух молекул НАДФ · Н требует четырех квантов света. В самом деле, согласно реакции (17.6) для образования молекулы НАДФ · Н необходимы два электрона, которые могут быть освобождены в активном

центре ФСІ только при поглощении двух квантов. Если предположить, что при каждом фосфорилировании затрачивается энергия перемещения одного электрона, то синтез трех молекул АТФ потребует поглощения системами ФСІ и ФСІІ не менее трех квантов. Таким образом, на преобразование одной молекулы CO_2 при фотосинтезе необходимо затратить не менее семи квантов света.

Темновые реакции преобразования CO_2 в углеводы, очевидно, в основном происходят одинаково во всех фотосинтезирующих системах. Возможно, что преобразование CO_2 при фотосинтезе осуществляется несколькими путями. Дадим краткое описание одного из них [185].

С помощью особого фермента молекулы CO_2 и рибулозодифосфата образуют две молекулы фосfogлицериновой кислоты:

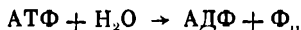


Далее при участии фермента рибулозодифосфаткарбоксилазы две молекулы фосfogлицериновой кислоты преобразуются в две молекулы триозофосфата. Эта реакция требует затраты энергии, которая черпается при сопряжении с реакциями



Затем две молекулы триозофосфата объединяются в одну молекулу фруктозодифосфата. Последняя при отщеплении фосфатной группы преобразуется в молекулу глюкозы и молекулу рибулозофосфата. Молекула глюкозы является основным продуктом фотосинтеза.

Молекула рибулозофосфата в сопряжении с реакцией гидролиза молекулы АТФ



преобразуется в молекулу рибулозодифосфата, которая совместно с CO_2 может дать реакцию (17.7) нового цикла.

17.7. Фотосинтезирующий механизм без молекул хлорофилла

Стокениус, Оестерхелт и Данон [103, 202, 233] открыли новый механизм фотосинтеза без участия молекул хлорофилла. Эта новая фотосинтезирующая система обнаружена в галобактериях — микроорганизмах, живущих в соленых озерах и бассейнах, в которых добывается соль путем испарения воды.

Галобактерии имеют цилиндрическую палочкообразную форму диаметром около 0,5 мкм и длиной 5 мкм. Бактерия окружена

гликопротеидной стенкой (комплексы белков с сахарами). Бактерии растут лучше всего в растворе поваренной соли при концентрации 4,3 молей. При концентрации соли менее 2 молей клеточная мембрана галобактерий распадается на отдельные фрагменты. В морской воде концентрация NaCl всего 0,6 молей.

Путем разрушения и центрифугирования клеток были найдены три основные фракции различного цвета и с различными молекулярными массами: 1) красно-оранжевая малой плотности; 2) ярко-пурпурная большой плотности, придающая бактериям основную окраску; 3) желтая с наибольшей плотностью.

Красно-оранжевая фракция, образующая основу мембраны, содержит молекулы, существенно различные по размерам и составу. Цвет фракции обусловлен наличием молекул бактериоруберина, которые предохраняют клетки от губительного для них синего света. В состав этой фракции также входят цитохромы, флавопротеины и другие компоненты дыхательной цепи, ответственные за окислительное фосфорилирование.

Желтая фракция состоит в основном из стенок газовых пузырьков, которые, находясь в цитоплазме бактерий, удерживают их на определенной глубине. В состав этой фракции входят также части жгутиков, прикрепленных к обоим концам бактерии и обеспечивающих ее передвижение в воде.

Ярко-пурпурная фракция состоит из белков и липидов в соотношении 3 : 1. Она обнаруживает явную кристаллическую структуру. В неповрежденной бактерии эта фракция образует островки на поверхности мембраны. Рентгеновские и электронно-микроскопические данные указывают, что эти островки имеют гексагональную решетку. В состав единичной ячейки входят три белковые молекулы и 40 молекул липидов. Эти данные подтвердили предположение Оестерхелта о том, что пурпурные участки мембран содержат белковые молекулы только одного типа с молекулярной массой 26 000. Большая часть белковой молекулы гидрофобна и погружена в липидный слой.

Оестерхелт также показал, что в состав каждой белковой молекулы пурпурной мембраны входит одна молекула ретиналя. Эти молекулы были названы *бактериородопсинами* по аналогии с молекулами родопсина, входящими в состав зрительного пигмента палочек сетчатки глаз животных. В родопсине ретиналь соединен с белком опсином.

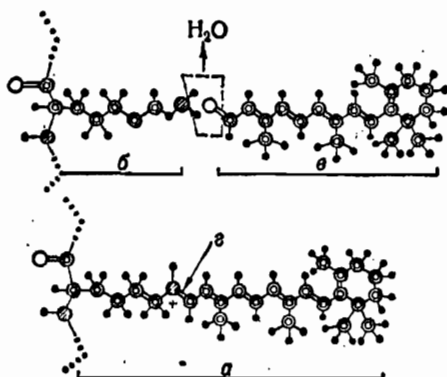
Бактериородопсин является хромопротеином (пигментом). Он имеет широкую полосу поглощения в желто-зеленой части спектра с максимумом в области 570 нм. Вторая полоса поглощения молекулы более узкая и расположена в ультрафиолетовой области спектра с максимумом при 280 нм.

Молекула бактериородопсина (рис. 48) образуется присоединением (с выделением молекулы воды) альдегидного конца моле-

Рис. 48.

Схема молекулы бактериородопсина (а), радикал лизинового амидного остатка (б), молекула ретиналя (в) и шиффовое основание (а):

● — водород; ⊙ — углерод, ⊗ — азот, ○ — кислород.



кулы ретиналя к аминогруппе лизинового аминокислотного остатка белковой молекулы. При этом между азотом лизинового остатка и углеродом альдегидного конца ретиналя образуется связь, получившая название *шиффового основания*, или *кетилина*. Эта связь в молекуле прикрыта гидрофобными участками белковой цепи, которые предохраняют ее от воздействия воды.

Изолированная молекула ретиваля имеет полосу поглощения в области 370 нм. Широкая полоса поглощения в области 570 нм в молекуле бактериородопсина обусловлена наличием связи типа шиффового основания. При поглощении света от атома азота этой связи отрывается протон. Поскольку конечное состояние протона относится к непрерывному спектру, полоса поглощения очень широкая. После отрыва протона (депротонирование) спектр поглощения молекулы смещается в область 412 нм и молекула «светлеет». После обратного присоединения протона (протоциирование) спектр поглощения снова смещается в область 570 нм.

При исследовании спектров поглощения суспензий неповрежденных бактерий обнаружено, что при освещении среда становится более кислой вследствие выделения протонов из мембраны и менее кислой, когда они возвращаются обратно. В обычных условиях такие изменения наблюдались при наличии эфира, который затормаживал возвращение протонов в мембрану. При облучении импульсным светом в области 570 нм переход в депротонированную форму и обратно происходил в течение нескольких миллисекунд.

На основе проведенных экспериментов Оостерхелт и Стоекениус пришли к заключению, что в неповрежденной клетке пурпурная мембрана бактерий действует как протонный насос. Было выдвинуто предположение, что освобождение протонов под действием света происходит на внешней стороне мембраны, а захват протонов — на внутренней стороне. В связи с этим поперек мембраны создается градиент концентрации протонов и разность электрических потенциалов. Свободная энергия такого электрохими-

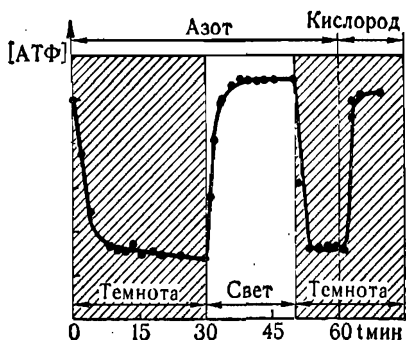


Рис. 49.

Относительное изменение с течением времени концентрации молекул АТФ в галобактериях, находящихся в солевом растворе, через который продувается кислород в темноте и азот в темноте и на свету [103, 233].

ческого градиента протонов используется для синтеза молекул АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата при участии ферментов АТФ-азы, которые, возможно, входят в состав красно-оранжевой фазы мембраны.

Таким образом, галобактерии могут производить синтез молекул АТФ как за счет химической энергии, выделяемой в процессе окисления в дыхательной цепи, так и за счет энергии света, поглощаемого пурпурными островками мембраны. Это подтверждается также тем обстоятельством, что бактерии синтезируют пурпурные островки на мембранах только тогда, когда они растут на свету при малой концентрации кислорода.

Данон в результате прямых экспериментов установила, что галобактерии могут синтезировать молекулы АТФ двумя путями, используя либо энергию света, либо химическую энергию окисления. Измеряя в темноте концентрацию молекул АТФ в галобактериях, находящихся в солевом растворе, через который пропускался азот, она обнаружила, что число молекул АТФ резко уменьшается до $\frac{1}{3}$ начальной величины. При освещении молекул в той же атмосфере азота светом в области 570 нм концентрация молекул АТФ быстро возрастает, а при прекращении освещения — снова падает. Если же через такой раствор продувать в темноте кислород, то концентрация молекул АТФ в бактериях резко возрастает за счет окислительного фосфорилирования (рис. 49) [233].

На основании этих измерений сделано предположение, что как свет, так и дыхание генерируют на мембране поперечный электрохимический потенциал, который используется ферментами АТФ-азы для синтеза молекул АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата. Ингибиторы, подавляющие активность фермента АТФ-азы, прекращают синтез молекул АТФ, обусловленный как светом, так и дыханием. Однако они не изменяют процесса окисления среды, вызываемого выбросом протонов.

Действие «разобщающих агентов» (антибиотиков) на суспензии галобактерий приводит к подавлению синтеза молекул АТФ,

образуемых при воздействии света и в процессе дыхания. При этом подавляется и окисление среды, вызываемое выбросом протонов из мембраны. Согласно гипотезе химического сопряжения, «разобщающие агенты» не затрагивают электронного транспорта вдоль дыхательной цепи, но отделяют его от ферментов, синтезирующих молекулы АТФ.

При действии на суспензии бактерий веществ, блокирующих электронный транспорт, прекращается синтез молекул АТФ, обусловленный дыханием, но не прекращается их синтез, обусловленный светом.

Все перечисленные факты хорошо согласуются с представлением о том, что пурпурные островки на мембранах галобактерий играют роль протонных насосов. Действие разобщающих агентов, согласно хемиосмотической теории Митчелла, обусловлено тем, что они увеличивают проницаемость протонов в мембране. В связи с этим снижается электрохимический градиент протонов и прекращается работа АТФ-азы.

Представляют большой интерес эксперименты Стоекениуса и Рэкера с искусственными липидными пузырьками, в которые включались фрагменты пурпурных мембран. При освещении светом таких пузырьков происходит изменение рН среды. Это изменение чувствительно к действию разобщающих агентов. Следовательно, свет порождает градиент концентрации протонов. В связи с тем что бактериородопсин был единственным белком в липидных пузырьках и потому, что он был одинаково активен в пузырьках, образованных из разных липидов, исследователи пришли к заключению, что именно бактериородопсин использует энергию света для образования градиента протонов.

Различие в действии света на бактериальные клетки и на липидные пузырьки проявилось в том, что липидные пузырьки при освещении вызывали не окисление, т. е. уменьшение рН, а увеличение значения рН в среде. Следовательно, под действием света протоны переходили из среды внутрь пузырьков. Это указывало на взаимно противоположное расположение молекул бактериородопсина в клетках и искусственных липидных пузырьках. Такое заключение было подтверждено экспериментальным путем при расщеплении замороженных двойных слоев пузырьков и клеток.

Весьма существенным подтверждением гипотезы Митчелла явились эксперименты Рэкера. Он присоединил фермент АТФ-азу (синтезирующую АТФ из АДФ и P_i), взятую из митохондрий сердца теленка, к липидным пузырькам, содержащим бактериородопсин. При освещении такие пузырьки синтезировали молекулы АТФ.

Таким образом, исследование галобактерий показало, что в организмах, лишенных хлорофилла, также возможно использование солнечной энергии для синтеза АТФ. Однако до сих пор

молекулярный механизм действия фотосинтезирующих организмов остается неразгаданным. Дальнейшее его выяснение потребует более детального изучения молекулярной структуры фотосинтезирующих центров. Возможно, что пурпурные мембраны окажутся наиболее удобными для этих исследований, так как их фотосинтезирующие системы имеют правильную кристаллическую структуру.

§ 18. Передача нервного импульса

Основным структурным элементом нервной системы высших животных является нервная клетка — *нейрон*. Каждая нервная клетка состоит из ядра, тела клетки и многочисленных отростков — *дендритов* (рис. 50). Один из дендритов обычно значительно длиннее других. Он называется *нервным волокном*, или *аксоном*.

Нервное волокно представляет собой полую трубку, стенки которой образованы мембранами, имеющими толщину около 70 Å. Структура мембран нервных волокон близка к структуре плазматических мембран других клеток (см. § 12).

Мембранные трубки нервных волокон человека имеют диаметр от 0,1 до 10 мкм. Диаметр нервных волокон других животных может быть значительно больше, например, диаметр самых крупных нервных волокон кальмара — *гигантских аксонов* — достигает нескольких миллиметров. Нервные волокна имеют длину от долей миллиметра до нескольких метров.

Периферические нервные волокна высших животных часто окружены небольшим слоем клеток сателлитов, которые называются *шванновскими клетками*. Шванновские клетки частично обволакивают нервное волокно и выполняют функцию защитного покрытия. По-видимому, шванновские клетки участвуют в синтезе ферментов и компонентов мембран нервных волокон. Большинство нервных волокон позвоночных животных, кроме самых тонких, окружены также толстой неклеточной жировой оболочкой, которую называют *миелиновой оболочкой*. Миелиновая оболочка порождается шванновскими клетками. В виде многих слоев она оборачивается вокруг нервного волокна.

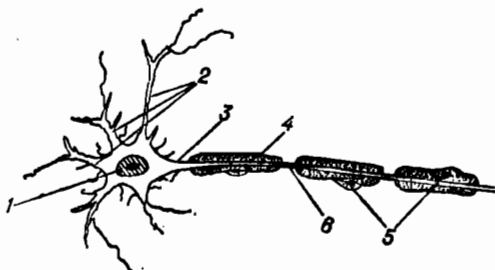
Через каждые 1—2 мм по длине волокна миелиновая оболочка прерывается узкими (около 1 мкм) кольцевыми щелями, которые называются *перехватами Ранье* (рис. 50). Участок миелиновой оболочки между двумя перехватами Ранье относится к одной шванновской клетке. Нервные волокна, покрытые миелиновой оболочкой, кажутся белыми.

В состав миелиновой оболочки входят белки, липопротеиды и липиды — холестерин и фосфолипиды с насыщенными связями. Она имеет очень высокое сопротивление и выполняет роль изолятора, уменьшающего утечку зарядов между перехватами Ранье.

Рис. 50.

Строение нервной клетки:

- 1 — ядро; 2 — дендриты; 3 — аксон;
 4 — миелиновая оболочка;
 5 — ядро шванновской клетки;
 6 — перехват Ранвье.



Нервные волокна многих животных не имеют миелиновой оболочки, хотя и окружены сложной системой шванновских клеток. К таким нервным волокнам, в частности, относится гигантский аксон кальмара, который часто используется в лабораторных исследованиях.

18.1. Немиелинизированные нервные волокна

Немиелинизированные нервные волокна представляют собой полые трубки, заполненные электролитом — *аксоплазмой* — и окруженные мембраной. В живом нервном волокне состав электролита внутри и снаружи разный. Концентрации некоторых главных ионов внутри и снаружи активного аксона кальмара указаны в табл. 11.

В состоянии покоя между внутренней и внешней поверхностью мембраны нервного волокна имеется разность электрических потенциалов 50—70 мВ. Внутри волокна потенциал отрицателен по отношению к внешней среде, потенциал которой обычно принимается равным нулю. Разность концентраций ионов и потенциалов обусловлена работой «ионных насосов», выбрасывающих за счет энергии гидролиза молекул АТФ три иона Na^+ из внутренней области аксона и впускающих два иона K^+ внутрь волокна.

Плохая ионная пропускная способность и большое электрическое сопротивление мембраны способствуют поддержанию такого энергизованного состояния. В состоянии покоя электрическое сопротивление мембраны приблизительно 10^3 Ом/см^2 , электрическая емкость 1 мкФ/см^2 . Цианистый калий подавляет действие натрий-калиевого насоса. Поэтому отравление нервных волокон цианистым калием приводит к постепенному выравниванию концентраций ионов Na^+ и K^+ внутри и вне аксона.

Таблица 11

Ион	Концентрация, ммоль/л	
	внутри	снаружи
Na^+	50	460
K^+	340	10,4
Cl^-	114	590
Ca^{2+}	0,4	10
Mg^{2+}	10	54

В состоянии покоя мембрана нервного волокна наиболее проницаема для ионов K^+ . По отношению к ионам K^+ проницаемость (P) других ионов имеет значения

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45. \quad (18.1)$$

Значения P_K , P_{Na} , P_{Cl} зависят от уровня мембранного потенциала.

В генезисе потенциала покоя гигантского аксона кальмара ведущую роль играют ионы K^+ . Если бы мембрана была проницаема только для ионов K^+ , то, согласно уравнению Нернста, разность потенциалов на внутренней и наружной поверхностях мембраны определялась бы соотношением

$$\varphi_K^0 = \varphi_{вн} - \varphi_{сн} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{сн}}{[K^+]_{вн}}. \quad (18.2)$$

Подставив в это соотношение значения концентраций $[K^+]_{сн} = 20$ ммоль и $[K^+]_{вн} = 400$ ммоль, получим $\varphi_K^0 = -75$ мВ.

На разность потенциалов между внутренней и внешней поверхностями мембран оказывают влияние также фиксированные отрицательные заряды на поверхностях мембраны. Они частично экранируются катионами саркоплазмы и внешней среды.

Согласно исследованиям Э. П. Бужинского, П. Г. Костюка, А. А. Лева и других ученых, большая часть ионов K^+ находится в протоплазме в свободном состоянии. В то же время почти половина ионов Na^+ в протоплазме либо связана, либо находится в некоторых внутриклеточных образованиях, а ионы Ca^{2+} почти целиком находятся в связанном состоянии [68] с анионами или во внутриклеточных органеллах (митохондриях и др.).

Одной из причин (возможно, не главной) меньшей проницаемости мембраны для ионов Na^+ по сравнению с проницаемостью для ионов K^+ является то, что электрическое поле вокруг иона Na^+ , имеющего меньший радиус ($r_{Na^+} = 0,98$ Å, $r_{K^+} = 1,33$ Å), значительно больше поля вокруг иона K^+ . Поэтому гидратная оболочка вокруг иона Na^+ имеет радиус 0,256 нм, а вокруг иона K^+ — только 0,198 нм.

Проницаемость ионов через мембрану может быть существенно изменена с помощью специальных ингибиторов. Так, например, тетродоксин (ТТХ) — водорастворимый паралитический яд, извлекаемый из некоторых рыб и калифорнийских саламандр, введенный в пространство снаружи аксона, полностью прекращает движение ионов Na^+ через натриевые каналы нервных и мышечных волокон. Однако, введенный внутрь аксона, он не оказывает никакого действия на проницаемость этих ионов.

Противоположное влияние на натриевую проницаемость оказывает батрахотоксин (БТХ) — стероидный алкалоид, получаемый из секрета кожных желез колумбийской лягушки. Он повышает проницаемость ионов Na^+ , вследствие чего потенциал покоя падает и в ряде случаев меняет знак. Батрахотоксин оказывает действие как с внешней, так и с внутренней стороны мембраны.

Другой ингибитор — тетраэтиламоний (ТЭА), введенный внутрь аксона, не изменяет проницаемости ионов Na^+ , но полностью прекращает движение ионов K^+ через мембрану.

Указанные выше свойства ингибиторов ТТХ и ТЭА свидетельствуют, что прохождение ионов натрия и калия через мембраны происходит независимо. Такие ингибиторы позволяют изучать отдельно прохождение через мембрану ионов обоих типов. Исследования показали, что проницаемость мембраны для ионов Na^+ и K^+ зависит от температуры и значения разности потенциалов $\Delta\varphi = \varphi_{\text{вн}} - \varphi_{\text{сн}}$ на мембране. При изменении $\Delta\varphi$ особенно существенно изменяется проницаемость ионов Na^+ . Уменьшение абсолютной величины $\Delta\varphi$, например путем кратковременного приложения внешнего положительного потенциала φ_g , приводит к резкому увеличению проницаемости ионов Na^+ при значениях $\varphi_g \geq \varphi_g^0$. Пороговое значение φ_g^0 зависит от концентрации ионов Mg^{2+} и Ca^{2+} . В нормальных условиях для аксона кальмара $\varphi_g^0 \approx \approx 15$ мВ.

Большая специфичность пропускной способности различных ионов мембранами и раздельное действие ингибиторов ТТХ и ТЭА на проницаемость ионов Na^+ и K^+ стали основанием для представления, что транспорт ионов через мембраны осуществляется с помощью специализированных белково-липидных комплексов, получивших название *ионных каналов*. Каждому иону соответствует свой канал.

Используя свойство тетродоксина прекращать транспорт ионов Na^+ , т. е. закрывать натриевые каналы, оказалось возможным установить, что на площади 1 мкм^2 мембраны находится около сотни натриевых каналов. В состоянии покоя проводимость одиночного натриевого канала оценивается величиной $4 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$, а калиевого — $12 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$.

Различные авторы предлагают феноменологические модели, описывающие характер прохождения ионов через каналы с помощью одномерного электрического поля специального профиля, совершенно не затрагивая вопроса о том, как создается это поле.

При прохождении иона через мембрану происходит постепенная его дегидратация и замещение молекул воды полярными груп-

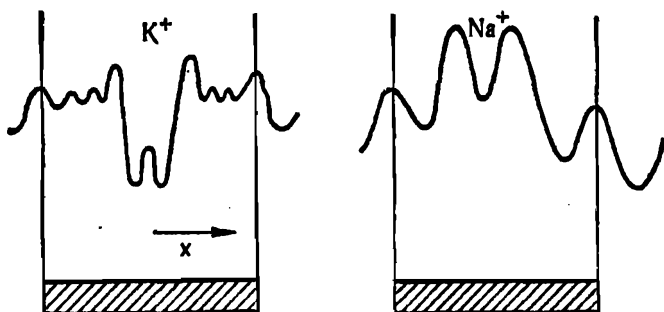


Рис. 51.

Схемы энергетических профилей ионов K^+ и Na^+ в мембранных каналах.

пами, которые выстилают внутреннюю поверхность канала. На рис. 51 схематически представлены энергетические профили ионов K^+ и Na^+ в предполагаемых мембранных каналах [46]. Подробный анализ различных феноменологических моделей ионных каналов проведен в монографии В. С. Маркина и Ю. А. Чизмаджиева [47].

Для поддержания разности концентраций ионов внутри и вне нервного волокна на нужном уровне необходима непрерывная работа натриевого насоса в течение всей жизни организма. Эта работа осуществляется за счет энергии гидролиза молекул АТФ. В нервах краба около 50% энергии метаболизма используется натриевыми насосами даже в спокойном состоянии нервных волокон. Гидролиз молекул АТФ осуществляется ферментом АТФ-азой. Для функционирования этого фермента кроме ионов Na^+ , K^+ необходимо присутствие ионов Mg^{2+} . Источником молекул АТФ служат процессы окислительного фосфорилирования, протекающие в митохондриях.

Фермент АТФ-аза входит в состав мембраны и имеет два активных участка: один — на внутренней, другой — на внешней стороне мембраны. Внешний (калиевый) центр взаимодействует с внеклеточными ионами K^+ . Если ионы K^+ отсутствуют во внешней области, работа насоса прекращается. Внутренний (натриевый) участок канала активируется ионами Na^+ .

Молекулярный механизм работы натриевого насоса, использующего энергию АТФ для перемещения ионов Na^+ в направлении увеличения их концентрации, неизвестен. Предполагают, что ионы переносятся особыми подвижными переносчиками. Согласно одной из гипотез, переносчики обеспечивают только транспорт ионов Na^+ из протоплазмы. Ионы K^+ перемещаются

внутри клетки под действием разности потенциалов, созданной активным транспортом ионов Na^+ . Согласно этой гипотезе, поток ионов Na^+ не должен зависеть от разности потенциалов на мембране (в пределах небольших допороговых изменений), поток же ионов K^+ внутрь клетки увеличивается при возрастании разности потенциалов. Это так называемое электрическое сопряжение транспорта ионов Na^+ и K^+ было подтверждено результатами исследований П. Г. Костюка с сотрудниками [34] на гигантских аксонах виноградной улитки. Следует, однако, отметить, что электрическое сопряжение не дает ответа на вопрос, почему натриевый насос не работает, когда во внешней среде отсутствуют ионы K^+ .

18.2. Потенциал действия

Возбуждение нервного волокна происходит при локальном сверхпороговом уменьшении отрицательного значения потенциала на мембране. Такое изменение можно вызвать искусственно, пропуская кратковременно ток через мембрану с помощью специальных микроэлектродов. Если импульс тока настолько мал, что сдвиг отрицательного потенциала на внутренней стороне мембраны не превышает некоторого порогового значения Φ_g , то после выключения возбуждающего тока (стимула) потенциал на мембране медленно и монотонно возвращается к первоначальному значению. Если же сдвиг потенциала превышает пороговое значение Φ_g^0 (для этого достаточен импульс тока 10^{-8} А), то происходит резкое уменьшение отрицательного потенциала и после прекращения стимула. Значение потенциала достигает нуля и продолжает быстро изменяться ($\sim 0,5$ мс) в положительном направлении (происходит обращение знака потенциала — *деполяризация мембраны*) до некоторого максимального значения ($+50$ мВ), затем медленно (в течение миллисекунд) возвращается к исходному значению. Весь этот процесс в нерве кальмара длится около 6 мс.

Такое спонтанное обращение знака мембранного потенциала называется *потенциалом действия*, или *спайком*. Возникновение потенциала действия обусловлено резким увеличением проницаемости ионов Na^+ при повышении (уменьшении отрицательного значения) потенциала на внутренней стороне мембраны. Ионы Na^+ , проникая внутрь волокна, еще более повышают потенциал на его внутренней поверхности. Это приводит к дальнейшему увеличению проницаемости ионов Na^+ и возрастанию скорости их проникновения внутрь волокна.

Система стремится к равновесному натриевому потенциалу, определяемому концентрацией ионов Na^+ снаружи и внутри волокна с помощью формулы Нернста

$$\varphi_{\text{Na}}^0 = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Na}^+]_{\text{он}}}{[\text{Na}^+]_{\text{вн}}} \quad (18,3)$$

Повышение потенциала на внутренней стороне мембраны вызывает с некоторым запаздыванием медленное увеличение проницаемости мембраны для ионов K^+ . Поскольку их концентрация велика внутри волокна, они устремляются наружу. Спустя примерно 0,3 мс после возникновения потенциала действия ионы K^+ начинают выходить из волокна быстрее, чем входят в него ионы Na^+ , так как проницаемость ионов Na^+ возрастает очень медленно. Возврат мембранного потенциала от максимального значения (около +50 мВ) к исходному (от -50 до -70 мВ) происходит не под влиянием обратного движения ионов, а под влиянием выхода наружу ионов K^+ . Ионы Na^+ , вошедшие в волокно в период возрастания потенциала действия, выходят из него только в результате работы натриевого насоса.

Натриевый и калиевый токи во время спайка очень незначительны. Так, гигантский аксон кальмара при каждом спайке поглощает от $3 \cdot 10^{-12}$ до $4 \cdot 10^{-12}$ моль/см² ионов Na^+ и теряет примерно столько же ионов K^+ . В течение одного импульса концентрация ионов K^+ внутри волокна изменяется только на сотысячную часть их общего количества. Поэтому невозможно обнаружить изменения в концентрациях ионов Na^+ и K^+ в волокне. Гигантский аксон кальмара может провести несколько сот тысяч импульсов после выключения его натриевого насоса, прежде чем концентрации ионов внутри и вне волокна выровняются.

После прохождения каждого импульса наступает период невозбудимости — абсолютный рефрактерный период, в течение которого нервное волокно не может возбудить второй потенциал действия. В результате инерционных изменений в проницаемостях ионов, обусловленных деполяризацией мембраны, нервное волокно не может реагировать на второе раздражение. Способность к возбуждению появляется вновь после восстановления нормальной проницаемости ионов, для этого требуется 0,5—2,0 мс.

Амплитуда потенциала действия гигантского аксона кальмара существенно зависит от температуры. Повышение температуры в диапазоне от 6 до 37°С приводит к значительному уменьшению амплитуды спайка. Такая зависимость является прямым следствием ускорения роста калиевой проводимости при повышении температуры. Одновременно увеличивается натриевая инактивация.

18.3. Уравнения Ходжкина — Хаксли

В настоящее время не выяснены на молекулярном уровне механизмы процессов, протекающих в мембранах при возникновении потенциала действия. Неизвестны причины, приводящие к изменению проницаемости мембран для ионов натрия и калия при изменении мембранного потенциала. Возможно, что такое изменение связано с конформационными изменениями свойств мембран и ионных каналов при изменении электрического поля в мембране. При разности потенциалов 70 мВ и толщине мембраны 70 Å электрическое поле в мембране весьма внушительно: 10^5 В/см.

Несмотря на отсутствие молекулярной теории потенциала действия, имеются феноменологические уравнения, предложенные в 1952 г. Ходжкиным и Хаксли, которые дают количественное описание процесса возникновения потенциала действия в гигантском аксоне кальмара [67, 155]. Эти уравнения описывают временное поведение мембранного потенциала при пространственно-однородном возбуждении нервного волокна.

Если $\varphi(t)$ — потенциал мембраны и C — емкость единицы длины волокна, то временное изменение потенциала определяется уравнением

$$C \frac{\partial \varphi}{\partial t} = -h(\varphi) m^3(\varphi) P_{Na} (\varphi - \varphi_{Na}^0) - n^4(\varphi) P_K (\varphi - \varphi_K^0) - P(\varphi - \varphi_1), \quad (18.4)$$

где $P_{Na} \approx 0,12 \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-2}$ и $P_K \approx 3,6 \cdot 10^{-2} \text{ Ом}^{-1} \text{ см}^{-2}$ — максимально возможная проводимость по натриевым и калиевым каналам; P — проводимость, характеризующая ток утечки, переносимый ионами хлора и другими ионами; φ_{Na}^0 и φ_K^0 — равновесные потенциалы для ионов, определяемые равенствами (18.2) и (18.3); $n(\varphi)$, $m(\varphi)$ и $h(\varphi)$ — функции, зависящие от потенциала φ , изменяющиеся в интервале от нуля до единицы. Эти функции удовлетворяют системе линейных уравнений

$$\frac{dn(\varphi)}{dt} = \alpha_n [1 - n(\varphi)] - \beta_n n(\varphi), \quad (18.5)$$

$$\frac{dm(\varphi)}{dt} = \alpha_m [1 - m(\varphi)] - \beta_m m(\varphi), \quad (18.6)$$

$$\frac{dh(\varphi)}{dt} = \alpha_h [1 - h(\varphi)] - \beta_h h(\varphi).$$

Функции α и β имеют размерность, обратную времени. Их зависимость от потенциала φ подбирается путем сопоставления теоретических и экспериментальных результатов. Для аксона кальмара эти функции изображены на рис. 52.

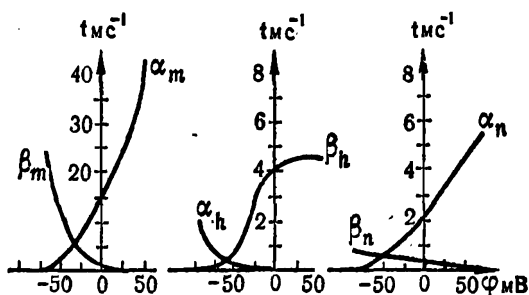


Рис. 52.
Зависимость параметров α и β от мембранного потенциала φ [68].

Решение уравнения (18.5) для случая постоянного потенциала имеет вид

$$n(t) = A - (A - n_0) \exp(t/\tau_n), \quad (18.7)$$

где n_0 — начальное значение; $A = \alpha_n/(\alpha_n + \beta_n)$; τ_n — время затухания,

$$\tau_n = (\alpha_n + \beta_n)^{-1}. \quad (18.8)$$

Для интерпретации феноменологических уравнений Ходжкина — Хаксли иногда используется представление о гипотетических частицах — *активаторах*, регулирующих проницаемость каналов. Например, полагают, что в калиевом канале имеется четыре одинаковых активирующих частицы и функция $n(t)$ характеризует вероятность того, что n -частица находится в канале. Если допустить, что ион может проходить через канал только в случае, когда в район канала под воздействием потенциала $\varphi(t)$ подходят одновременно четыре n -частицы, то ток ионов K^+ в канале будет определяться выражением $n^4(\varphi) P_K(\varphi - \varphi_K^0)$, которое использовано в уравнении (18.4).

Для описания экспериментальных данных о натриевом токе пришлось допустить, что проводимость натриевого канала обусловлена двумя типами частиц: тремя активирующими частицами m и одной инактивирующей частицей h . Натриевый канал пропускает ионы натрия, если в канале одновременно находятся три частицы m и не имеется частиц h . Если $m(\varphi)$ — вероятность наличия m -частицы в канале, а $h(\varphi)$ — вероятность отсутствия h -частицы, то натриевый ток в канале определяется выражением

$$m^3(\varphi) h(\varphi) [\varphi - \varphi_{Na}^0].$$

Как и любые феноменологические уравнения, уравнения Ходжкина — Хаксли имеют ограниченную область применения. Они описывают только сравнительно быстрые процессы, непосредственно связанные с генерацией потенциала действия.

Согласно модели Ходжкина — Хаксли, изменения ионных проводимостей при сдвигах мембранного потенциала обусловле-

ны влиянием электрического поля на пространственное распределение в мембране гипотетических заряженных активирующих частиц

Делались многократные попытки обнаружить активирующие частицы в каналах. Пока это никому не удавалось.

В связи с необходимостью проверки гипотезы Ходжкина — Хаксли об активации и инактивации ионных каналов гипотетическими активирующими частицами в последнее время большие надежды возлагались на исследования так называемых *воротных токов*.

Воротным током называют дополнительную компоненту тока смещения, обусловленную структурной перестройкой ионных каналов при резком изменении мембранного потенциала.

В 1973 г. Армстронгу и Кейнсу с сотрудниками удалось провести измерения воротного тока в натриевых каналах гигантских аксонов. Оказалось, что амплитуда воротного тока в сотни раз меньше амплитуды ионных токов. Поэтому для их измерения приходилось с помощью специальных ингибиторов (ТТХ и ТЭА) подавлять основные ионные токи. При деполяризации мембраны воротный ток направлен от внутренней к внешней стороне мембраны (против направления тока Na^+). Примерно за 0,8 мс (при 5°C) он достигает своего максимума, а затем падает по экспоненте.

Предложено несколько моделей для объяснения воротных токов. В основном эти модели носили феноменологический характер. Рассматривались движения гипотетических заряженных частиц или переориентация некоторых элементарных диполей, как бы выступающих поверхности каналов. Эти модели не могли дать ответ на основной вопрос — о природе носителей тока.

18.4. Распространение импульсов по нервным волокнам

Потенциал действия — нервный импульс — распространяется вдоль нервного волокна с некоторой скоростью без изменения амплитуды. Перемещение нервного импульса связано с перемещением вдоль волокна локальной деполяризации с положительным знаком заряда внутри мембраны. По мере продвижения волны деполяризации происходит реполяризация, так что в каждый данный момент небольшой участок нервного волокна оказывается деполяризованным. После прохождения нервного импульса через некоторую область волокна наступает рефрактерный период, длящийся от 0,4 до 2 мс в зависимости от диаметра волокна. В течение этого времени волокно не реагирует на другие раздражения.

Распространение потенциала действия $\varphi(x, t)$ вдоль гладкого нервного немиелинизированного волокна описывается системой

уравнений Ходжкина — Хаксли

$$C \frac{\partial \varphi}{\partial t} = \frac{1}{R} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} - J(\varphi), \quad (18.9)$$

где R — сумма внутреннего и внешнего сопротивлений электролитов на единицу длины волокна; $J(\varphi)$ — плотность электрического тока, протекающего через мембрану,

$$J(\varphi) = n^4 P_K (\varphi - \varphi_K^0) + h m^3 P_{Na} (\varphi - \varphi_{Na}^0) + P (\varphi - \varphi_1). \quad (18.10)$$

Функции n , h и m удовлетворяют системе уравнений (18.5) и (18.6).

Уравнение (18.9) является одномерным нелинейным уравнением диффузии. Впервые такие уравнения рассматривались в 1937 г. А. Н. Колмогоровым, И. Г. Петровским и И. С. Пискуновым. Они показали, что любое локальное возмущение в системе, описываемой уравнением типа (18.9), может приводить к уединенной волне, распространяющейся в системе с постоянной скоростью. Свойства такой уединенной волны определяются значениями параметров C и R и видом функции $J(\varphi)$. Постоянная скорость распространения обусловлена равновесием между выделением и поглощением энергии на каждой единице длины системы.

Явное решение уравнения с ионным током (18.20), зависящим от потенциала $\varphi(x, t)$, возможно только при использовании вычислительных машин. Для получения аналитических решений вводятся физические модели, отражающие основные особенности распространения импульса вдоль нервного волокна.

Простейшая модель сводится к замене тока (18.10) кусочно-постоянными значениями. Учитывая знакопеременность тока, полагают, что в момент включения он направлен внутрь волокна и в течение времени τ_i имеет постоянное значение J_i . Затем ток меняет направление и в течение времени τ_r имеет постоянное значение J_r , а затем падает до нуля. В этом случае автомодельное решение уравнения (18.9) сводится к задаче на собственные значения относительно скорости перемещения импульса. Из двух допустимых значений скорости только одна соответствует устойчивому решению. Она выражается через параметры переднего фронта бегущего импульса и порогового значения потенциала $\varphi_{пор}$ с помощью формулы

$$v = \sqrt{J_i / R c^2 \varphi_{пор}}, \quad (18.11)$$

которая впервые получена А. С. Компанейцем и В. Ц. Гуровичем [33].

Распространение нервного импульса вдоль волокна напоминает движение солитонов — уединенных весьма устойчивых волн, форма которых не зависит от условий их образования. В отличие

от солитонов повторное распространение импульса возможно только после истечения рефрактерного времени.

В гладких немиелинизированных нервных волокнах скорость проведения потенциала действия примерно пропорциональна квадратному корню из их диаметра. Относительно высокие скорости проведения нервных импульсов (20—30 м/с) обеспечиваются в таких волокнах за счет увеличения их диаметра. Гигантские аксоны некоторых беспозвоночных животных имеют диаметр 100—1000 мкм.

У позвоночных животных повышение скорости передачи импульса достигается путем миелинизации волокон.

В миелинизированных нервных волокнах ионы натрия входят внутрь волокна только в перехватах Ранвье. Передача импульса по волокну происходит дискретно-*сальтаторно*, путем перескока от одного перехвата Ранвье к другому. В этом случае импульс передается быстрее и с меньшей затратой энергии, чем в немиелинизированном волокне сравнимого диаметра.

Скорость распространения импульса зависит от расстояний между перехватами, которые в свою очередь определяются диаметром волокна. Эта связь такова, что скорость распространения импульса оказывается пропорциональной диаметру волокна, а не квадратному корню из диаметра, как в случае немиелинизированных волокон.

Если в немиелинизированных волокнах амплитуда потенциала с повышением температуры уменьшается, то в миелинизированных волокнах эта зависимость выражена слабо, что обусловлено высокой плотностью натриевого тока в перехватах Ранвье. Она почти на порядок выше, чем в гигантском аксоне кальмара. Слабая зависимость амплитуды потенциала действия в перехватах Ранвье от температуры обеспечила работу нервных волокон в органах теплокровных животных.

18.5. Синаптическая передача

Передача нервных импульсов между клетками и нервными окончаниями осуществляется через синаптические соединения.

Синаптической передачей называется однонаправленная передача нервного импульса от нервного волокна к нервной клетке, к другому нервному волокну, или другим клеткам, например к мышечному волокну. Наиболее хорошо изучены нервно-мышечные соединения.

Наблюдаются два типа передачи нервного импульса в синапсах: *химическая* и *электрическая*. При электрической передаче (впервые обнаруженной в синапсах речного краба) мембраны на месте контакта двух клеток работают как эффективный электрический выпрямитель, допускающий свободное прохождение тока от преси-

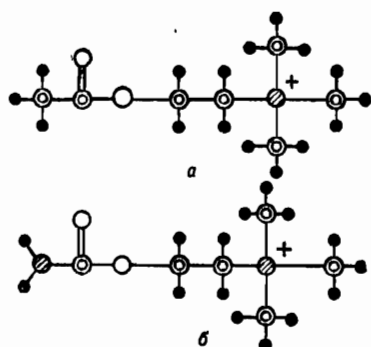


Рис. 53.

Структурные формулы молекул интермедиатов в химических синапсах:

а — ацетилхолин, б — карбохол. ⊙ — углерод; ⊗ — атом; ○ — кислород, ● — водород

наптической мембраны к постсинаптической и препятствующий течению тока в обратном направлении. Ток, проходящий через синаптический контакт, вызывает деполяризацию и возбуждение постсинаптической мембраны.

Гораздо чаще осуществляется химическая передача. Еще в 1921 г. Леви показал, что синаптическая передача осуществляется специальными химическими передатчиками — нейромедиаторами, которые синтезируются и накапливаются в пресинаптических нервных окончаниях, а затем освобождаются под действием нервного импульса и передаются постсинаптической мембране. Оказалось, что этими химическими веществами являются небольшие молекулы: ацетилхолин и родственные ему соединения (рис. 53), норадреналин, доамина, гистамин и др.

Синаптическая передача может быть возбуждающей и тормозящей. При возбуждающей передаче происходит деполяризация постсинаптической мембраны, что, при достижении определенного критического уровня, приводит к возникновению нервного импульса в постсинаптической мембране. Деполяризация постсинаптической мембраны вызывается молекулами нейромедиатора. В нервно-мышечном соединении и во многих других синапсах таким медиатором является молекула ацетилхолина.

При тормозящей передаче нейромедиатор вызывает временное повышение мембранного потенциала на постсинаптической мембране. В связи с этим для ее возбуждения надо приложить больший пороговый деполяризующий потенциал.

Характер синаптической передачи зависит не только от природы медиатора, но и от химической восприимчивости постсинаптической мембраны. Так, ацетилхолин оказывает возбуждающее действие в нервно-мышечных синапсах и служит тормозящим средством для сердца позвоночных животных, снижая частоту его сокращений.

В синаптическом соединении мембраны двух клеток отделены одна от другой узкой синаптической щелью. В области щели

обе мембраны более толстые и плотные, чем в других участках клетки. В области пресинаптической мембраны располагаются синаптические пузырьки, в которых находятся молекулы медиаторов. Количество и расположение пузырьков зависит от типа клеток, между которыми передается нервный импульс.

18.6. Нервно-мышечные синапсы

В области соединения нервного окончания с мышечным волокном нервное волокно, лишенное миелиновой оболочки, расщепляется на тонкие окончания. Каждое такое окончание располагается в мелкой канавке на поверхности мышечного волокна. Между нервным волокном и канавкой имеется щель толщиной около 500 Å, которую называют *синаптической щелью*. Она заполнена жидкостью. Внутри нервных окончаний вдоль части мембраны, прилегающей к синаптической щели, примерно на расстоянии 1 мкм имеются области, содержащие крошечные пузырьки. В каждом пузырьке имеется около 10^4 молекул ацетилхолина. В мембранах мышц против этих областей имеются значительные углубления, содержащие белковые молекулы — рецепторы молекул ацетилхолина (рис. 54).

Нервный импульс, прибывающий к нервному окончанию, вызывает поток ионов Ca^{+} через их мембрану, что способствует соединению синаптических пузырьков с мембраной и выбросу путем экзоцитоза содержащихся в них молекул ацетилхолина в синаптическую щель. Молекулы ацетилхолина диффундируют к мембране мышечного волокна и примерно через 0,3 мс соединяются с рецепторными молекулами, которые открывают натриевые каналы в мембране мышцы. При каждом импульсе открывается около 2000 каналов.

Возникающий вследствие открытия каналов поток ионов Na^{+} внутрь мышечного волокна вызывает электрический ток, деполяризующий мембрану. Эту деполяризацию называют *потенциалом концевой пластинки*, или возбуждающим постсинаптическим потенциалом. При нормальных условиях такой потенциал превышает пороговое значение и индуцирует в мембране мышечного волокна импульс, который и вызывает затем сокращение длины мышечного волокна.

Чтобы предотвратить повторное действие молекул ацетилхолина, поступивших в синаптическую щель, эти молекулы расщепляются на ацетат и холин специальным ферментом ацетилхолинэстеразой. Этот фермент прикреплен к сети волокон коллагена и мукополисахаридов, располагающихся около синаптической щели.

Согласно оценкам, проведенным Кацем в Лондонском университетском колледже [186], фермент ацетилхолинэстераза разрушает

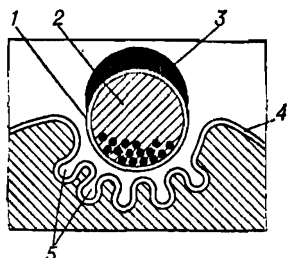


Рис. 54.

Схематическое изображение поперечного сечения нервно-мышечного синапса:

1 — мембрана нервного волокна; 2 — аксоплазма с синаптическими пузырьками, содержащими ацетилхолин; 3 — шванновская клетка; 4 — мембрана мышечного волокна; 5 — углубления в мембране, содержащие рецепторы ацетилхолина.

около трети молекул ацетилхолина до того, как они достигнут молекул рецепторов в мембране мышечного волокна. Быстро разрушаются и остальные молекулы ацетилхолина после того, как они в течение миллисекунд были присоединены к рецепторным молекулам. Скорость, с которой молекулы ацетилхолина связываются с рецепторными молекулами и разрушаются ферментом, обеспечивает возможность повторения нескольких сотен возбуждений в секунду.

Для исследования структуры рецепторов ацетилхолина в мембранах мышечных волокон необходимо выделить их из мембран. Решение этой задачи было облегчено после открытия молекулярной метки, связанной почти необратимо с молекулами-рецепторами.

Такой меткой оказались молекулы яда змей типа кобры. Жертвы этих змей погибают в результате паралича дыхательных мышц. Исследованиями Чен Юан-ли, Лестера и их сотрудников в Национальном Тайванском университете было показано, что молекулы яда блокируют рецепторы молекул ацетилхолина путем прочного присоединения к ним. Они не взаимодействуют с ферментом ацетилхолинэстеразой и не нарушают любой другой процесс нормальной активности мышц. Оказалось, что молекулы яда могут быть помечены радиоактивными атомами йода и водорода. Это позволило исследовать распределение рецепторов в неповрежденных мембранах.

Используя способность молекул ядов присоединяться к рецепторам молекул ацетилхолина, удалось выделить эти рецепторы из мембран электрических органов гигантского электрического ската (и некоторых других электрических рыб). Эти электрические органы развиваются в эмбрионе из тех же клеток, из которых развиваются мышцы. Большие плоские клетки — электродиски — электрических органов таких рыб весьма чувствительны к ацетилхолину. Они содержат очень большое число рецепторных молекул и удобны для их извлечения из мембран с помощью молекул ядов.

В 1971 и 1972 гг. такое выделение удалось провести в нескольких лабораториях. Было установлено, что рецепторные молекулы являются сильно асимметричными белковыми молекулами с

гидрофобными областями и небольшим числом молекул сахаров. Карлин из Колумбийского университета и Шанже из Пастеровского института в Париже высказали предположение, что действие молекулы ацетилхолина на рецепторную молекулу в постсинаптической мембране напоминает действие активаторов на ферменты (см. п. 9.3). Активирующая молекула, присоединяясь к ферменту в некотором месте, может вызвать конформационное его изменение, что скажется на эффективности фермента по отношению к субстрату. Согласно этой аналогии, открытие и закрытие ионных каналов в постсинаптической мембране связано с конформационным преобразованием акцепторной молекулы, вызываемым молекулами ацетилхолина.

Кац и Теслефф обнаружили кооперативное действие молекул ацетилхолина. Присоединение молекулы ацетилхолина к рецептору не только открывает некоторые каналы, но и увеличивает чувствительность рецептора к другим молекулам ацетилхолина. Такое кооперативное поведение, как и в случае ферментов, можно объяснить наличием в рецепторе нескольких субъединиц.

Исследуя с помощью электронных микроскопов очищенные рецепторы электрических дисков электрических рыб, Шанже и другие исследователи показали, что эти диски имеют структуру «розетки» с центральным отверстием, состоящей из пяти или шести субъединиц.

При присоединении молекул ацетилхолина к рецепторам каналы остаются открытыми в течение миллисекунды. Это время увеличивается в три раза, когда температура понижается на 10°C . Время, в течение которого каналы открыты, уменьшается при деполяризации мембраны. Закрытие каналов сопровождается отделением молекул ацетилхолина от рецепторов и последующим их разрушением ферментом ацетилхолинэстеразой.

Молекулярный механизм открытия ионных каналов при присоединении молекул ацетилхолина к рецепторам остается невыясненным.



ГЛАВА VI

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Одной из наиболее интересных проблем биофизики является вопрос о молекулярных основах превращения химической энергии гидролиза молекул АТФ в механическую энергию процессов движения.

Движение живых организмов наиболее наглядно представлено у скелетных животных, насекомых и моллюсков при их перемещении. Такие движения осуществляются сравнительно быстро сокращающимися мышцами. Большое значение имеют внутренние движения в живых организмах, связанные с работой медленных, так называемых *гладких мышц* кишечника (перемещение пищи), внутренние движения в артериях (перемещение крови) и др. У большинства беспозвоночных животных мышцы также относятся к типу гладких. Они очень разнообразны по форме и строению. Одноклеточные организмы перемещаются с помощью ресничек и жгутиков. Весьма разнообразные движения протоплазмы и многих органелл происходят во всех клетках животных.

В настоящее время наиболее хорошо изучены поперечно-полосатые мышцы позвоночных животных [8, 11, 31]. Кажущиеся на первый взгляд менее сложными гладкие мышцы, образующие двигательные элементы примитивных одноклеточных и многоклеточных организмов, изучены значительно хуже.

§ 19. Структурная организация поперечнополосатых мышц

Скелетные мышцы позвоночных животных представляют собой ткань, состоящую из миллионов отдельных мышечных волокон, заключенных в гладкую соединительную оболочку, которая на концах переходит в сухожилия, прикрепляющиеся к костям.

Каждое мышечное волокно представляет собой многоядерную цилиндрическую клетку, имеющую диаметр от 10 до 100 мкм и длину от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. Пучок мышечных волокон окружен соединительной тканью (эпимизиум). Соединительная ткань состоит из волокон *коллагена* и эластичных волокон — *эластина*.

Коллаген — фибриллярный белок, в котором три полипептидные цепи скручены вместе. Каждая пептидная цепь коллагена имеет относительную молекулярную массу 12 000 и содержит около 1000 аминокислотных остатков, среди которых многократно повторяются группы: глицин — пролин — оксипролин. Межцепочные водородные связи делают эту структуру очень прочной и устойчивой к растягиванию. Волокна коллагена по прочности сравнимы со сталью. При обработке этих волокон горячей водой коллаген превращается в растворимый белок — желатин. Сухожилия состоят целиком из коллагена. Эластин — эластичная соединительная ткань, содержит около 93% неполярных гидрофобных аминокислот. Волокна эластина способны к упругому растяжению подобно резине.

Оптические и особенно электронные микроскопы позволили получить много сведений о размерах, форме и расположении отдельных элементов, из которых построены мышечные волокна. Каждое мышечное волокно окружено мембраной, которая называется *сарколемой*. Сарколема имеет строение, напоминающее строение мембран нервных волокон, но без шванновских оболочек.

Большая часть объема мышечных волокон занята сократительными элементами — *миофибриллами*, которые расположены параллельными пучками вдоль волокна. Каждое волокно содержит около 10^8 миофибрилл. Миофибриллы окружены внутриклеточной жидкостью — *саркоплазмой*. В саркоплазме содержатся митохондрии, расположенные вдоль миофибрилл. Рядом с ними имеются запасы гликогена, которые используются митохондриями для синтеза молекул АТФ из неорганического фосфата и молекул АДФ (рис. 55). В наиболее активных мышцах митохондрии весьма многочисленны.

Продольные срезы скелетных мышц в оптическом микроскопе обнаруживают вдоль волокна характерное чередование оптически более плотных и менее плотных участков (рис. 56). Светлые полосы изотропны и называются *I*-дисками, темные полосы анизотропны и называются *A*-дисками. В покоей мышце *A*-диски имеют длину около 1,6 мкм. Длина *I*-дисков около 2 мкм. *I*-диски делятся пополам плотной поперечной мембраной шириной около 800 Å, которую называют *Z*-пластинкой. Центральная часть *A*-диска, имеющая ширину около 0,5 мкм, отличается меньшей плотностью по сравнению с остальной частью *A*-диска.

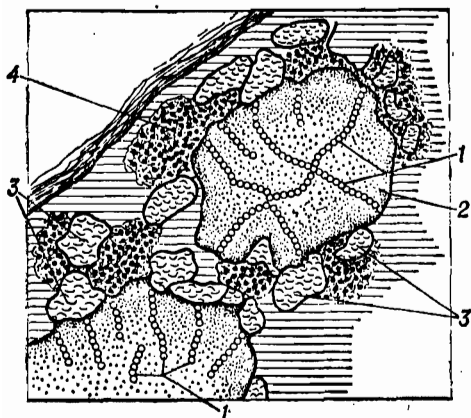


Рис. 55.
Поперечный разрез поперечнополосатой мышцы:

1 — сечение продольных трубок саркоплазматической сети; 2 — миофибриллы; 3 — митохондрии; 4 — зерна гликогена.

Она называется *H*-полосой. В средней части *H*-полосы имеется узкий более плотный участок, который называют *M*-полосой.

Участки между двумя *Z*-пластинками в покоей мышце имеют длину приблизительно 2,5 мкм. Они называются *саркомерами*. Вся миофибрилла состоит из повторяющихся саркомеров, которые являются элементарными сократительными элементами миофибрилл. Саркомеры в пучке миофибрилл мышечного волокна расположены друг против друга так, что в оптическом микроскопе видны расположенные поперек волокна чередующиеся темные и светлые полосы, образованные *A*- и *I*-дисками. В связи с этим такие мышцы получили название поперечнополосатых.

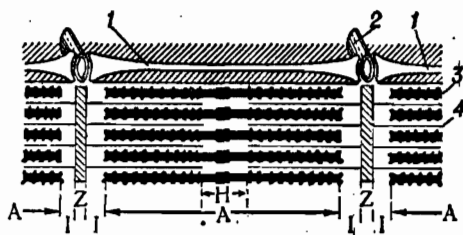
Мышечные волокна содержат также систему поперечных трубок (*T*-система), которые являются частью плазмолеммы. Поперечные трубки идут внутрь волокна, обволакивая каждую миофибриллу на уровне места соединения *A*- и *I*-дисков у мышц млекопитающих и некоторых рыб и на уровне *Z*-пластинок у многих видов холоднокровных животных. Вследствие этого поперечные полосы во всех миофибриллах одного мышечного волокна хорошо совпадают даже при очень сильном сокращении. Поперечные трубочки переносят потенциал действия внутрь волокна в виде волн деполяризации. Через эти трубочки внутри волокна вблизи каждой миофибриллы протекает внеклеточная жидкость, несущая ионы и другие вещества.

Кроме внутренних поперечных трубок, являющихся продолжением внешней мембраны, в мышечном волокне имеется хорошо развитая саркоплазматическая сеть мельчайших продольных трубочек, замкнутых с обоих концов. Оба конца трубки расширены и называются *концевыми цистернами*. Трубки саркоплазматической сети лежат параллельно миофибриллам, упираясь концевыми цистернами в поперечные трубки мембраны. Часто

Рис. 56.

Схема саркомера поперечнополосатой мышцы:

1 — трубки саркоплазматической сети, оканчивающиеся концевыми цистернами; 2 — поперечные трубки (выпячивающие мембраны внутрь волокна); 3 — толстые нити; 4 — тонкие нити.



концевые цистерны соседних трубок саркоплазматической сети объединяются в единую цистерну, расположенную вдоль поперечных трубок *T*-системы. Участок поперечной трубки с прилегающими к нему двумя концевыми цистернами называется *триадной структурой*.

19.1. Саркоплазматическая сеть поперечнополосатых мышц

Саркоплазматическая сеть и система поперечных трубок в мышцах работают совместно при возбуждении сокращения длины мышечного волокна и в процессе релаксации. Они обеспечивают координацию сокращений различных миофибрилл в мышечном волокне.

Стенки поперечных трубок и трубок саркоплазматической сети образованы мембранами, по структуре близкими к мембранам нервных волокон без шванновских оболочек. Мембраны концевых цистерн саркоплазматической сети содержат на внешней стороне ферменты, образующие *кальциевые насосы*. При наличии молекул АТФ в саркоплазме такие насосы перекачивают ионы Ca^{2+} внутрь концевых цистерн. В результате действия кальциевых насосов ионы Ca^{2+} накапливаются внутри концевых цистерн и их концентрация в саркоплазме снижается до значений, меньших 10^{-7} моль.

Нервный импульс двигательного нерва, достигая нервно-мышечного синапса, приводит к деполяризации сарколемы. Для того чтобы возбудить деполяризацию, мембранный потенциал на сарколеме нужно понизить от 90 мВ примерно до 50 мВ. Для этого требуется импульс тока силой несколько менее 10^{-8} А. Волна деполяризации по поперечным трубкам перемещается внутрь мышечного волокна. Достигая триадных систем, волна деполяризации приводит к быстрому увеличению проницаемости мембран концевых цистерн для ионов Ca^{2+} . Механизм такого увеличения проницаемости неизвестен. Возможно, что места контактов мембран поперечных трубок и концевых цистерн работают по принципу электрических синапсов.

Вследствие быстрого увеличения проницаемости мембран концевых цистерн для ионов Ca^{2+} они устремляются под действием градиента концентрации из цистерн в саркоплазму. Роль ионов Ca^{2+} в процессе возбуждения сокращения мышечных волокон была выяснена Маршем в 1952 г. Когда концентрация ионов Ca^{2+} в саркоплазме достигает значения $5 \cdot 10^{-6}$ моль и с помощью диффузии они достигают концевых областей А-дисков, начинается процесс сокращения длины миофибрилл за счет энергии гидролиза молекул АТФ, концентрация которых в саркомере, омывающей миофибриллы, сравнительно велика. Время перемещения ионов от концевых цистерн к активным участкам миофибрилл составляет примерно 10 мс. На это время сокращение отстает от нервного импульса.

Поскольку расположение трубок Т-системы по отношению к саркомерам строго коррелировано, то полностью коррелирован и процесс сокращения всех миофибрилл мышечного волокна. После прохождения волны деполяризации проницаемость мембран концевых цистерн снижается до начального уровня и кальциевые насосы быстро откачивают ионы Ca^{2+} из саркоплазмы до уровня 10^{-7} моль. Роль саркоплазматической сети в изменении концентрации ионов Ca^{2+} в саркоплазме впервые была выяснена Эбаши в Токийском университете.

Кроме инициирования сокращения и релаксации миофибрилл путем перемещения ионов Ca^{2+} в саркоплазму и обратно, трубки саркоплазматической сети выполняют другую очень важную роль, производя синтез молекул АТФ из молекул АДФ и неорганического фосфата, образовавшихся при гидролизе молекул АТФ во время процесса сокращения.

В отличие от митохондрий процесс синтеза АТФ в трубках саркоплазматической сети происходит быстро (за несколько тысячных долей секунды) методом анаэробного гликолиза (см. § 15). В качестве источника энергии при таком синтезе используется дефосфорилизация креатинфосфата, имеющегося в саркоплазме.

Уровень креатинфосфата в саркоплазме поддерживается путем его синтеза в серии ферментативных реакций за счет энергии гликогена. Продукт реакции — молочная кислота — транспортируется через мембрану с мышечного волокна и уносится потоком крови к печени. Некоторое количество молочной кислоты преобразуется в самой цитоплазме в пировиноградную кислоту (пируват), которая поступает в митохондрии и участвует в синтезе молекул АТФ.

Значительно более экономично используется гликоген при окислительном фосфорилировании в митохондриях (см. § 16). Митохондрии расположены вдоль миофибрилл. В качестве топлива также используется гликоген, гранулы которого располо-

жены островками вблизи митохондрий. Кислород переносится молекулами гемоглобина вместе с током крови в мелких капиллярах, расположенных между миофибриллами, и запасается в мышце молекулами миоглобина. Красный цвет мышц обусловлен молекулами миоглобина и цитохромов.

Синтез молекул АТФ в митохондриях протекает через ряд последовательных реакций (см. § 16). Поэтому он требует значительно большего времени, чем энергетически менее выгодный синтез молекул АТФ в трубках саркоплазматической сети. Однако эти трубки прилегают непосредственно к миофибриллам, поэтому при необходимости быстрого снабжения миофибрилл молекулами АТФ используются молекулы, синтезируемые в саркоплазматической сети.

В соответствии с уровнем активности поперечнополосатые мышцы подразделяются на три группы [221]. К первой группе относятся мышцы, которые работают медленно и непрерывно, например мышцы сердца. В этих мышцах саркоплазматическая сеть развита слабо. Синтез молекул АТФ осуществляется митохондриями, в изобилии окружающими миофибриллы. Для работы мышцы необходимо непрерывное снабжение митохондрий кислородом, поэтому мышцы пронизаны хорошо развитой сетью кровеносных сосудов, которые приносят кислород и уносят углекислый газ.

Ко второй группе относятся скелетные мышцы. Они сокращаются быстро, но работают нерегулярно и требуют отдыха для восстановления необходимой концентрации молекул АТФ, креатинфосфата и удаления молочной кислоты, выделяемой при гликолизе. Эти мышцы имеют хорошо развитую саркоплазматическую сеть и сравнительно мало митохондрий.

Мышцы, относящиеся к третьей группе, работают быстро и непрерывно. В них хорошо развита саркоплазматическая сеть и имеется большое число митохондрий. К мышцам этого типа относятся мышцы биологических звуковых локаторов летучих мышей. При полете летучие мыши непрерывно испускают звуковые волны высоких частот и ориентируются, принимая отражения этих волн от предметов, встречающихся на пути.

К особому типу относятся мышцы насекомых, крылья которых могут совершать десятки, сотни и даже тысячи взмахов в секунду (см. п. 21.2).

19.2. Микроструктура миофибрилл

Для выяснения механизма превращения химической энергии гидролиза молекул АТФ в механическую энергию сокращения мышечных волокон надо знать микроструктуру их сократительных элементов — миофибрилл. Поскольку миофибриллы состоят из одинаковых саркомеров, то достаточно знать детали структуры только одного саркомера.

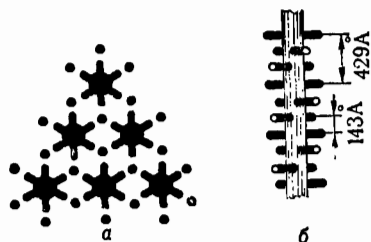


Рис. 57.

Схемы расположения в поперечном разрезе мышечного волокна толстых и тонких нитей саркомера (а) и спирального расположения голов миозиновых молекул в толстой нити саркомера (б).

Электронно-микроскопические исследования Хаксли [164], Хансон и других ученых [8, 142] показали, что каждый саркомер состоит из большого числа параллельно уложенных нитей (филаментов) двух типов: толстых и тонких (см. рис. 56).

Толстые нити занимают центральную часть саркомера. Они имеют длину 1,5 мкм и диаметр около 150—170 Å. В поперечном сечении толстые нити располагаются в виде гексагональной структуры на расстояниях около 450 Å одна от другой. Тонкие нити имеют длину около 1 мкм и диаметр примерно 60 Å. Они начинаются от Z-пластинок и тянутся к центру саркомера, заканчиваясь у края H-зоны A-диска.

В области от краев A-дисков до H-зоны тонкие нити расположены между толстыми нитями. При этом каждая толстая нить окружена шестью тонкими, каждая тонкая нить — тремя толстыми (рис. 57). Оси толстых нитей отстоят от осей тонких нитей примерно на 250 Å. В электронных микроскопах высокого разрешения на толстых нитях вне H-зоны можно наблюдать выступы, направленные к тонким нитям.

Толстые нити состоят из белков одного типа — *миозина*. Молекула миозина с молекулярной массой $5 \cdot 10^4$ дальтон походит на тонкий прут диаметром около 40 Å и длиной 1600—1700 Å с двумя выступами на одном конце. Она составлена из двух полипептидных цепей, содержащих каждая примерно по 1800 аминокислотных остатков. Следовательно, это наиболее длинные из известных в настоящее время полипептидных цепей. На большом протяжении каждая полипептидная цепь имеет конформацию α -спирали. Обе цепи закручены относительно друг друга и образуют двухспиральную структуру (суперспираль). На одном конце миозиновой молекулы обе полипептидные цепи скручены в глобулы, которые называются *головами миозиновой молекулы*. Они имеют размеры 200×40 Å. Длинный (~ 1500 Å) α -спиральный участок миозиновой молекулы называется *хвостом* (рис. 58). В головах миозиновой молекулы имеются очень важные ферменты, участвующие в биохимических процессах. В частности, они обладают АТФ-азной активностью [190, 211, 231].

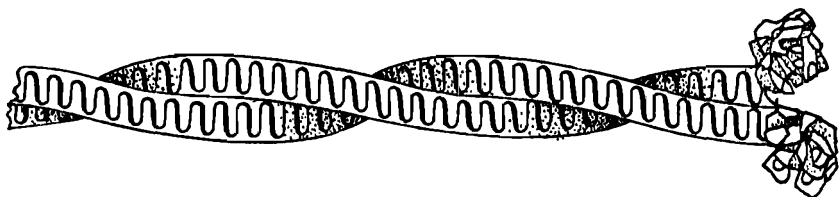


Рис. 58.

Схема строения суперспирали молекулы миозина.

В толстой нити, имеющей форму сигары, содержится около 200—400 молекул миозина. Они укладываются так, что головы молекул направлены к обоим концам нити, а хвосты — к середине. В средних сечениях толстой нити наложены друг на друга 20—30 молекул. По окружности нити на всем ее протяжении, кроме средней части (*H*-зоны), примерно на 100 Å над поверхностью выступают шесть рядов голов миозиновых молекул. В каждом ряду имеется около 30 голов. Они расположены парами напротив тонких нитей (см. рис. 57, *a*). Каждая пара голов повернута на 120° относительно соседней пары. Расстояние между соседними головами, имеющими одинаковое направление, равно приблизительно 429 Å. Таким образом, толстая нить образует структуру с винтовой осью третьего порядка. Важные сведения о периодической структуре мышечных волокон получены Хансон [145] при рентгеновских дифракционных исследованиях.

В состав тонких нитей входят три типа белков: актин, тропомиозин и тропонин. Основу тонкой нити составляет полимерная структура в виде двойной суперспирали, образованная глобулярными молекулами актина.

Отдельные молекулы актина называют G-актином. Их молекулярная масса около 60 000 дальтон и средние размеры 55 Å. Эти молекулы полимеризуются в двойную спираль при гидролизе молекул АТФ и наличии ионов Mg^{2+} . При гидролизе выделяются молекулы АДФ, которые связываются с молекулами G-актина [203]. Образующаяся длинная гибкая двойная спираль делает полуоборот на расстояниях 360—370 Å. Она называется F-актином. Природа связей между молекулами G-актина в такой полимерной цепи изучена плохо. Некоторые исследователи считают, что в полимерной цепи F-актина молекулы G-актина образуют димеры с молекулярной массой 1200 дальтон и размерами $105 \times 37 \times 27$ Å. Укладываются такие молекулы под углом так, что образуется период, равный 55 Å.

Молекулы актина полярны. В полимерной цепи тонкой нити, расположенной с одной стороны Z-пластинки, они имеют одно направление, а в нити, расположенной с другой стороны Z-пластинки, — противоположное направление.



Рис. 59.

Схема строения тонкой нити мышечного волокна:

1 — молекулы глобулярного актина; 2 — молекулы глобулярного тропомиозина; 3 — молекулы α -спирального тропомиозина.

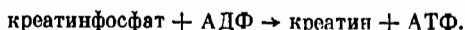
Молекула тропомиозина имеет также, как молекула миозина, двухспиральную структуру — две α -спирали, скрученные друг относительно друга. На каждый оборот суперспирали приходится около 36 оборотов α -спирали. В отличие от молекул миозина молекулы тропомиозина не имеют голов и значительно короче — их длина 410 Å и толщина 20 Å. Молекулярная масса молекулы 130 000 дальтон. Молекулы полярны. В тонкой нити они располагаются вблизи двух желобков, имеющих в двойной суперспирали, образованной молекулами G-актина (рис. 59). Присоединяясь конец к концу (с сохранением направлений дипольных моментов), они образуют две спиральные линии с радиусом около 30 Å [119]. При этом период повторения молекул тропомиозина вдоль направления тонкой нити равен 395 Å. Одна молекула тропомиозина охватывает семь глобулярных молекул актина.

Молекула тропонина представляет собой комплекс, состоящий из трех субъединиц [101]. Самая тяжелая, обозначаемая TnT, присоединяется к тропомиозину, меньшая TnI — к актину. Наименьшая субъединица TnC может присоединять кальций. Структура комплексов не установлена, так как они не образуют кристаллов. Располагаются молекулы тропонина по одной на каждой молекуле тропомиозина ближе к одному ее концу. Расстояние между соседними молекулами тропонина равно 400 Å.

19.3. Биохимия процесса мышечного сокращения

Мышцы способны использовать для сокращения около 30% химической энергии, запасенной в молекулах АТФ. Для понимания биохимических процессов, протекающих в мышцах, большое значение имело открытие в 1939 г. В. А. Энгельгардтом и М. Н. Любимовой [124] ферментативной активности комплексов актина с миозином (актомиозин). Они показали, что источником энергии сокращения мышц является гидролиз молекул АТФ при взаимодействии с актомиозином.

Образующиеся при гидролизе молекулы АДФ быстро восстанавливаются до АТФ при присоединении фосфатной группы в результате реакции



Креатинфосфат синтезируется в митохондриях в процессе окислительного фосфорилирования. Скорость дыхания и, следовательно, скорость образования АТФ в мышцах определяется скоростью потребления АТФ. При большой концентрации молекул АТФ в мышцах имеется малая концентрация молекул АДФ и неорганического фосфата. Они ингибируют активность цикла трикарбоновых кислот в митохондриях. При переходе от покоя к полной активности происходит быстрый гидролиз молекул АТФ, концентрация молекул АДФ и неорганического фосфата увеличивается, что приводит к интенсификации процесса гликолиза и окислительного фосфорилирования в митохондриях. При этом потребление кислорода может увеличиться в 20 и более раз.

При максимальной активности мышц, наряду с окислением глюкозы через цикл трикарбоновых кислот в митохондриях происходит усиленный процесс анаэробного гликолиза в трубках саркоплазматической сети. При этом выделяется молочная кислота, которая диффундирует в кровь. После некоторого периода максимальной работы у млекопитающих наблюдается учащенное дыхание. Поступающий кислород расходуется на окисление через цикл трикарбоновых кислот в тканях печени некоторой части избытка молочной кислоты, образовавшейся в период максимальной мышечной активности. При этом синтезируются молекулы АТФ. Остальная часть молочной кислоты, накопившейся в крови, превращается в печени в гликоген.

Актомиозин — комплекс миозина с F-актином — образуется в растворах при смешивании чистых фракций миозина и актина. Оказалось, что с нитями F-актина связываются только головы миозиновых молекул. При добавлении в раствор, содержащий актомиозиновые комплексы, молекул АТФ и ионов Mg^{2+} происходит диссоциация комплексов актомиозина. Головы миозиновых молекул отрываются от актиновых нитей. При этом происходит неконтролируемый гидролиз молекул АТФ.

Наличие молекул АТФ и ионов Mg^{2+} в саркоплазме живых мышечных волокон также приводит к разрыву связи тонких нитей с головами миозиновых молекул толстых нитей. После смерти животного количество молекул АТФ в саркоплазме постепенно сокращается и головы миозиновых молекул жестко прикрепляются к тонким нитям — происходит трупное окоченение (мышечные волокна не растягиваются).

При наличии ионов Mg^{2+} и молекул АТФ в саркоплазме тонкие нити сравнительно свободно перемещаются относительно толстых при паложении внешней нагрузки. Таким образом, комплексы Mg АТФ²⁻ играют роль расслабляющих агентов. Они препятствуют образованию связей (по-видимому, электростатических) между топкими нитями и головами миозиновых молекул.

Разрыв связей между тонкими нитями и головами миозиновых молекул, осуществляемый молекулами АТФ и ионами Mg^{2+} в мышцах, не приводит, однако, к гидролизу молекул АТФ. Комплексы $Mg\text{ АТФ}^{2-}$ присоединяются к головам миозиновых молекул. Такое существенно различное поведение тонких нитей в саркомере и F-актиновых нитей без молекул тропонина и тропомиозина в растворе с миозиновыми молекулами обусловлено наличием в тонких нитях кроме молекул актина двух других белков: *тропомиозина* и *тропонина*.

Гидролиз молекул АТФ, прикрепленных к головам миозиновых молекул, в саркомере происходит только в том случае, если уровень концентрации ионов Ca^{2+} в саркоплазме повысится до значения $5 \cdot 10^{-6}$ моль в результате выхода ионов Ca^{2+} из концевых цистерн саркоплазматической сети при поступлении нервного импульса. Таким образом, вследствие специальной организации четырех типов белков (миозина, актина, актомиозина и тропонина) процесс гидролиза молекул АТФ и, следовательно, процесс сокращения длин мышечных волокон, становится контролируемым [101, 119, 165, 166, 242]. Роль кальция в процессе сокращения была выяснена Маршем в 1952 г. [194]. Решающие эксперименты о контроле сокращения мышц ионами кальция в присутствии молекул тропонина и тропомиозина были выполнены Эбаши, Вебер, Мурей и др. [115—119, 155, 199].

Исследовались растворы голов миозиновых молекул и тонких нитей, извлеченных из мышечных волокон при удалении толстых нитей и отделении их от Z-пластинок. Голова миозиновой молекулы отделяется от остальной ее части с помощью специального фермента. Изолированные миозиновые головы имеют такую же химическую активность, как и неповрежденные молекулы, однако с изолированными головами работать более удобно.

При исследовании растворов миозиновых голов и тонких нитей в физиологических условиях (значения pH, концентрация ионов Mg^{2+} и т. д.) Эбаши показал, что так же, как и в случае неповрежденных мышечных волокон, гидролиз молекул АТФ полностью контролируется ионами Ca^{2+} . Однако, если из тонких нитей удалить молекулы тропомиозина и тропонина, то чувствительность к ионам Ca^{2+} полностью исчезает. Гидролиз молекул АТФ оставался неконтролируемым, пока не исчезали все молекулы АТФ. Таким образом, было показано, что кальциевый контроль становится возможным только в присутствии комплекса молекул тропонина и тропомиозина на тонких нитях. В отдельности тропомиозин и тропонин не оказывают такого действия.

Регулирующее действие ионов Ca^{2+} на процесс мышечного сокращения можно рассматривать по аналогии с действием моду-

ляторов (эффекторов) на ферменты. Когда ионы Ca^{2+} присоединяются к молекуле тропонина, сигнал о присоединении передается молекуле тропомиозина, которая передает его семи молекулам актина. Таким образом, тропомиозин выступает как медиатор информации от тропонина [119]. Молекулярный механизм такой передачи остается неизвестным.

В состоянии релаксации (малая концентрация Ca^{2+}) тропонин, действуя через тропомиозин, каким-то образом подавляет взаимодействие голов миозиновых молекул с актином. При повышении концентрации ионов Ca^{2+} это препятствие снимается, молекулы АТФ гидролизуются и мышцы сокращаются. Следовательно, комплекс молекул тропонин + тропомиозин действует как ингибитор, а ионы Ca^{2+} — как активатор мышечного сокращения.

Регулирующая роль ионов Ca^{2+} проявляется только при наличии в саркоплазме молекул АТФ. При отсутствии молекул АТФ (после смерти животного) головы миозиновых молекул жестко связываются с тонкими нитями — наступает трупное окоченение. В саркоплазме живых мышечных волокон молекул АТФ много. При физиологических условиях молекулы АТФ теряют четыре электрона и с ионами Mg^{2+} образуют комплексы $\text{Mg} \text{АТФ}^{2-}$. Эти комплексы активно соединяются с головами миозиновых молекул, образуя более сложные комплексы $\text{Mg} \text{АТФ}^{2-}$ -миозин, которые мы будем кратко называть АТФ-миозиновыми комплексами.

Одна из рабочих гипотез о механизме осуществления контроля мышечного сокращения ионами кальция была высказана Перри [211] в Оксфордском университете. Он предположил, что при отсутствии ионов Ca^{2+} молекулы тропонина и тропомиозина препятствуют контакту активных мест голов миозина и молекул актина. Присоединение ионов Ca^{2+} к молекулам тропонина вызывает такое конформационное изменение комплекса тропонин + тропомиозин, которое снимает это стерическое препятствие.

Косвенное подтверждение гипотеза Перри получила при исследованиях дифракции рентгеновских лучей, проведенных Хаксли в 1972—1973 гг. [162, 166] на сокращающихся мышцах. Было показано, что во время сокращения происходит небольшое, но определенное смещение дифракционной картины, обусловленное изменением тонких нитей. Можно было думать, что эти изменения отражают смещение молекул тропомиозина в желобках двойных спиралей тонких нитей. В состоянии релаксации молекулы тропомиозина лежат вблизи внешнего края желобков. При повышении концентрации ионов Ca^{2+} они смещаются внутрь желобков, освобождая активные места молекул миозина.

Смещение молекул тропомиозина в желобках тонких нитей зарегистрировано Хаксли при исследовании диффракции рентгеновских лучей на сокращающейся мышце. В исследованиях Коэна и Маргоссиана [100, 101] обнаружено, что присоединение ионов Ca^{2+} к субъединице TnC существенно изменяет ее связь с двумя другими субъединицами комплекса. В исследованиях Хитчука, Хаксли и Сент-Дьерди установлено, что при увеличении концентрации ионов Ca^{2+} ослабевает связь субъединицы TnI с актином.

Перечисленные результаты качественно подтверждают стерическую модель регулирования ионами Ca^{2+} процесса мышечного сокращения. При малой концентрации ионов Ca^{2+} тропониновый комплекс расширен, субъединицы TnI прочно связаны с актином и выталкивают молекулы тропомиозина со дна желобков двойной спирали. При этом молекула тропомиозина блокирует активные центры семи молекул актина от присоединения к ним головок миозиновых молекул (АТФ-миозиновых комплексов). При повышении уровня ионов Ca^{2+} их присоединение к субъединице TnC приводит к сжатию тропонинового комплекса и ослаблению его связи с молекулами актина. Вследствие этого молекулы тропомиозина смещаются в желобки и освобождают активные центры молекул актина. АТФ-миозиновые комплексы голов миозиновых молекул присоединяются к активным молекулам, происходит гидролиз молекул АТФ и распад АТФ-миозиновых комплексов, что и приводит к сокращению мышц. При этом молекулы АДФ и органический фосфат переходят в саркоплазму. Далее к головам миозиновых молекул снова присоединяются комплексы Mg АТФ^{2-} , образуя АТФ-миозиновые комплексы, готовые к новому циклу.

Вебер и Муррей [199] высказали предположение, что процесс гидролиза молекул АТФ предшествует переход АТФ-миозинового комплекса в особое высокоэнергетическое гипотетическое заряженное состояние. В этом состоянии комплекс имеет большую вероятность присоединения к тонким нитям, чем комплекс, находящийся в начальном низкоэнергетическом состоянии. Остается, однако, неясным, что приводит АТФ-миозиновый комплекс в высокоэнергетическое заряженное состояние. Ведь это состояние должно предшествовать процессу гидролиза с выделением энергии.

После открытия тропонина появилось убеждение, что только комплексы тропонина с тропомиозином ответственны за контроль мышечного сокращения ионами Ca^{2+} . Однако в 1970 г. Сент-Дьерди показал, что молекул тропонина не имеется в мышцах моллюсков. По-видимому, в этих мышцах ионы Ca^{2+} осуществляют контроль процесса сокращения непосредственно через молекулы тропомиозина.

§ 20. Современные представления о механизме сокращения мышц

Имеющаяся в настоящее время подробная информация об ультраструктуре и биохимии поперечнополосатых мышц позволяет выяснить молекулярный механизм процесса сокращения длины мышечных волокон. Теория должна объяснить, каким образом химическая энергия, выделяемая при гидролизе молекул АТФ, превращается в механическую энергию, вызывая сокращение длины саркомера на 20—50%.

Первоначальные попытки объяснения механизма сокращения мышц базировались на представлении, что такое сокращение обусловлено сокращением длин белковых нитей, входящих в состав саркомеров.

Я. И. Френкель в 1938 г. предполагал, что сокращение мышечных волокон возникает вследствие увеличения модуля упругости нитей за счет появления дополнительных связей между ними, создаваемых молекулами АТФ.

Кирквуд и Райземан в 1948 г. предложили полиэлектrolитическую модель, согласно которой молекулы АТФ вызывают такое распределение отрицательных зарядов в белковых молекулах, при котором они растягиваются под действием электростатических взаимодействий. При расщеплении молекул АТФ эти заряды утрачиваются и нити сокращаются.

Моралес и Боттс, наоборот, считали (1951 г.), что в состоянии релаксации нити заряжены положительно и сокращение их длин обусловлено компенсацией этих зарядов молекулами АТФ.

Сент-Дьерди высказал предположение, что миозиновые нити удерживаются в растянутом состоянии расширенной водной структурой, которую они сами создают вокруг себя. Сокращение происходит вследствие разрушения такой водной структуры под влиянием молекул АТФ.

В. А. Энгельгардт высказал предположение (1948 г.), что сокращение мышц связано с плавлением упорядоченной (кристаллической) структуры белковых нитей. Молекулы АТФ управляют этим процессом.

Астбери считал (1950 г.), что сокращение мышц обусловлено конформационными преобразованиями молекул миозина, возникающими вследствие их взаимодействия с молекулами актина.

Флори рассматривал (1950 г.) сокращение на основе представления о фазовых переходах в белковых нитях.

20.1. Модель скользящих нитей

Все попытки объяснить процесс сокращения мышц изменением длин белковых нитей, входящих в состав саркомеров, были опровергнуты прямыми экспериментальными данными. В 1953 г.

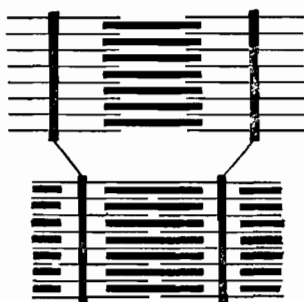


Рис. 60.
Схема сокращения длины саркомера согласно модели скользящих нитей.

независимо Г. Хаксли, Дж. Хансон [143] и А. Хаксли, Р. Нидергерке [161a] на основе тщательных электронно-микроскопических данных показали, что при сокращении и растяжении мышечных волокон длины толстых миозиновых нитей не изменяются.

На основании этих данных была предложена модель скользящихся нитей, согласно которой сокращение длины мышечного волокна обусловлено не изменением длин толстых и тонких нитей в саркомере, а скольжением тонких нитей относительно толстых, подобно складывающейся подзорной трубе (рис. 60). Тонкие нити, двигаясь в промежутках между толстыми нитями к центру саркомера, могут даже напоздать друг на друга при максимальных сокращениях.

С помощью исследования рассеяния рентгеновских лучей под малыми углами на живых сокращающихся мышцах [121, 142, 167, 168] модель скользящихся нитей получила полное обоснование. Было установлено, что при сокращении мышечных волокон основные периоды 429, 143 и 370 Å, характеризующие периодическую структуру молекул миозина и актина, оставались неизменными.

Экспериментально установленная модель скользящихся нитей поставила перед исследователями весьма важную задачу — дать объяснение механизму скольжения на молекулярном уровне. Какие силы вызывают скольжение тонких нитей относительно толстых? Как при этом с большой эффективностью используется сравнительно малая (около 0,54 эВ) энергия, выделяющаяся при гидролизе молекул АТФ, присоединенных к головам миозиновых молекул?

Рассмотрим некоторые попытки дать ответы на эти вопросы.

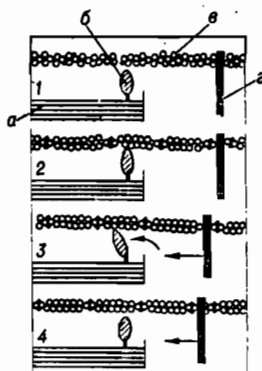
20.2. Феноменологические теории механизма сокращения поперечнополосатых мышц

В настоящее время распространено убеждение, что скольжение тонких нитей относительно толстых в сокращающейся мышце обусловлено активным движением голов миозиновых молекул.

Рис. 61.

Феноменологическая «вёсельная» модель сокращения поперечнополосатых мышц [199]:

а — толстая нить; б — голова миозиновой молекулы; в — тонкая нить; г — Z-пластинка; 1 — положение головы миозиновой молекулы в расслабленной мышце; 2 — удлинение головы миозиновой молекулы и образование связи с активной молекулой тонкой нити после того, как в саркоплазме повысилась концентрация ионов кальция; 3 — поворот головы миозиновой молекулы, сопровождающийся перемещением тонкой нити относительно толстой; 4 — отрыв головы молекулы миозина от тонкой нити и возвращение ее в исходное состояние.



Предполагается, что при гидролизе молекулы АТФ голова миозиновой молекулы удлиняется, образует связь с глобулярной молекулой актина тонкого волокна, затем поворачивается, передвигая к центру саркомера активное волокно относительно толстого миозинового, и, наконец, отсоединяется от актиновой молекулы, возвращаясь к прежнему размеру и положению в толстой нити. Присоединив новую молекулу АТФ, она может повторить этот цикл. Согласно этой модели, которую можно назвать вёсельной, скольжение тонких волокон относительно толстых напоминает движение воды около лодки с гребцами, сидящими на концах лодки лицом друг к другу (рис. 61).

В другой разновидности модели образования и разрыва «мостиков» (связей) между головами миозиновых молекул и тонкими нитями предполагается, что головы миозиновых молекул в толстых нитях расположены под углом в направлении к их концам. При поступлении ионов кальция в саркоплазму головы миозиновых молекул вытягиваются, образуют связи с актиновыми молекулами тонких нитей, затем сокращаются, подтягивая и сдвигая тонкие нити относительно толстых, наконец, отрываются и возвращаются к своему первоначальному размеру.

Представление об образовании мостиков (связей) между толстыми и тонкими нитями, которые замыкаются, тянут волокна, вызывая смещение нитей, затем тормозят движение и разрываются, лежит в основе многочисленных феноменологических теорий мышечного сокращения (Хаксли [161], В. И. Дещеревский [27, 28], М. В. Волькенштейн [11] и др.). Эти теории на основе феноменологических соображений объяснили эмпирическую связь, найденную Хиллом [149, 150], между скоростью v укорочения мышцы и приложенной к мышце нагрузкой P . Это уравнение имеет вид

$$v = b(P_0 - P)/(P + a), \quad (20.1)$$

где P_0 — максимальная изометрическая сила (т. е. при закрепленной длине мышцы); b — константа, имеющая размерность скорости; a — константа, имеющая размерность силы.

В некоторой области значений P и v уравнение (20.1) удовлетворительно описывает экспериментальные данные, если параметры P_0 , a и b подбираются из тех же экспериментов. Экспериментальные данные также хорошо описываются и экспоненциальным уравнением

$$v = B \ln \left(\frac{A}{P + F} \right), \quad (20.2)$$

предложенным Обером [73]. В уравнении Обера B и A имеют такую же размерность, как a и b в уравнении Хилла (20.1).

Уравнения (20.1) и (20.2) следует рассматривать как полезные интерполяционные формулы. Входящие в них параметры не связываются с молекулярными характеристиками мышц. Они не объясняют молекулярную природу явления. Остаются нерешенными вопросы, как энергия гидролиза АТФ расходуется на удлинение голов миозиновых молекул, образование связи, тянущее усилие и разрыв мостиков. Каков молекулярный механизм изменений в голове миозиновой молекулы, приводящий к этим явлениям? И, наконец, почему только голова огромной миозиновой молекулы принимает активное участие в механизме сокращения?

Попытка молекулярного истолкования модели скользящих нитей была предпринята Дависом [104]. Он предположил, что в области головы миозиновой молекулы имеются полипептидные цепи, которые могут принимать две различные конформации: вытянутую и укороченную α -спиральную. В покоящейся мышце, когда отсутствуют ионы кальция, осуществляется вытянутая форма полипептидной цепи вследствие взаимодействия отрицательного заряда комплекса $Mg \text{ АТФ}^{2-}$, прикрепленного к концу головы миозиновой молекулы с гипотетическим отрицательным зарядом, расположенным у основания головы.

При поступлении в саркоплазму ионов кальция нейтрализуется отрицательный заряд комплекса и образуется связь с тонкой нитью. При нейтрализации заряда комплекса $Mg \text{ АТФ}^{2-}$ исчезает отталкивание от отрицательного заряда, расположенного у основания головы миозиновой молекулы. Происходит конформационное преобразование вытянутой полипептидной цепи в α -спиральную. Голова миозиновой молекулы укорачивается и смещает тонкую нить относительно толстой нити. При укорочении головы миозиновой молекулы происходит сближение молекулы АТФ с АТФ-азным центром. Это приводит к гидролизу молекулы АТФ. Образовавшаяся молекула АДФ заменяется комплексом $Mg \text{ АТФ}^{2-}$, что приводит к новому удлинению головы миозиновой

молекулы и повторению всего цикла, если в саркоплазме имеются ионы кальция.

В предложенной Дависом модели используются произвольные предположения о размещении зарядов, о положении АТФ-азного центра и конформационных изменениях белков в голове миозиновой молекулы. Согласно Дэвису, взаимодействие комплекса $MgATP^{2-}$, находящегося на конце головы молекулы, с гипотетическим отрицательным зарядом, находящимся у основания головы, приводит к ее удлинению. Но это же взаимодействие должно было бы предотвратить подход комплекса $MgATP^{2-}$ к голове миозиновой молекулы и не позволило бы ему соединиться с головой. Модель Дэвиса совершенно обходит вопрос об использовании энергии АТФ при сокращении.

Итак, распространенное в настоящее время мнение, что модель скольжения может быть основана на представлениях об образовании и разрыве мостиков между толстыми и тонкими белковыми нитями в саркомере, не приближает нас к решению вопроса о механизме перехода энергии гидролиза молекул АТФ в энергию относительного смещения тонких нитей относительно толстых. Образно это положение можно охарактеризовать словами Сент-Дьерди [237]: «В настоящее время мышца находится в положении священного слона, имеющего девяносто девять имен, причем настоящим является лишь сотое, известное ему одному».

20.3. Молекулярная теория мышечного сокращения

При попытке построения качественной молекулярной теории сокращения поперечнополосатых мышц нами использованы квантово-механические расчеты внутримолекулярных возбуждений в упорядоченных молекулярных структурах [19—21, 105], изложенные в гл. VII.

При гидролизе молекул АТФ в физиологических условиях выделяется около 0,54 эВ энергии, которая используется при сокращении мышц. Этой энергии недостаточно для изменения электронных состояний молекулы. Поэтому нас будут интересовать только внутримолекулярные долгоживущие характеристические колебания (т. е. слабо связанные с другими степенями свободы) белковых молекул. Как известно, таким колебанием является колебание Амид I в пептидных группах, входящих в состав всех белковых молекул. Оно соответствует в основном валентному колебанию атомов $C=O$. Эти колебания имеют энергию около 0,21 эВ (частота 1660 см^{-1}) и электрический дипольный момент колебаний 0,30 Д [65].

В α -спиральной структуре длинной миозиновой молекулы имеется три цепи периодически расположенных пептидных групп,

объединенных водородными связями, которые и определяют спиральную структуру молекулы (см. п. 8.3). Вследствие правильного периодического расположения в такой цепи колебания Амид I пептидных групп с дипольным электрическим моментом колебаний, направленным приближенно вдоль оси спирали, не являются изолированными, а приобретают коллективный характер.

Качественно коллективность колебаний обусловлена резонансным взаимодействием между колебаниями, которое приводит к «перескоку» возбуждения с одной пептидной группы на другую. Этот процесс напоминает явление перехода колебаний одного маятника на другой в системе двух связанных маятников.

При наличии колебательного возбуждения в некоторой пептидной группе помимо резонансного взаимодействия, определяющего перескок возбуждения на соседнюю группу, изменяется ее статическое взаимодействие (водородная связь, вандерваальсово взаимодействие и др.) с соседними пептидными группами. Такое изменение взаимодействия вызывает тенденцию к локальной деформации молекулы в области возбужденной пептидной группы, поэтому мы будем называть его *деформирующим взаимодействием*.

Совместное действие резонансного и деформирующего взаимодействий приводит к коллективизации колебательного возбуждения Амид I в α -спиральной белковой молекуле. Это коллективное возбуждение описывается нелинейным уравнением Шредингера (см. § 22). Параметр нелинейности в этом уравнении определяется выражением

$$G = 4\chi^2/\omega, \quad (20.3)$$

где χ — коэффициент связи колебаний Амид I с изменениями равновесных расстояний R между пептидными группами; ω — коэффициент упругости относительно продольных деформаций молекулы. Если бы молекула была абсолютно жесткой, то ω равнялось бы бесконечности. В белковых молекулах продольная жесткость определяется водородными связями между пептидными группами, поэтому они относительно «мягкие».

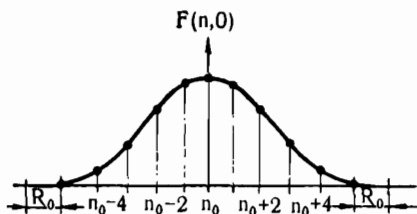
Как будет показано в п. 22.4, в белковой молекуле с тремя цепями водородных связей коллективные движения, описываемые нелинейным уравнением Шредингера с параметром нелинейности (20.3), охватывают сразу несколько пептидных групп, так что вероятность возбуждения пептидной группы номера n в цепочке номера α ($\alpha = 1, 2, 3$) определяется в момент времени t функцией

$$\Phi_{\alpha, l}(n, t) = \frac{A_{\alpha l}^2 G_l / 8J}{\text{ch}^2 \left[\frac{G_l}{4J} (n - n_0 - Vt/R) \right]}, \quad (20.4)$$

Рис. 62.

Схема распределения возбуждения по пептидным группам.

Отрезки между вертикальными линиями характеризуют относительные расстояния между пептидными группами в области возбуждения.



где $l = 9,7 \cdot 10^{-4}$ эВ — энергия резонансного взаимодействия между соседними пептидными группами, расположенными вдоль цепи; V — скорость перемещения возбуждения вдоль цепи. О значениях $A_{\alpha i}$ и G_i будет сказано ниже. В условных единицах функция $\Phi(n, t)$ при $t = 0$ изображена на рис. 62.

В области, охваченной возбуждением, равновесные расстояния между соседними пептидными группами уменьшаются так, что

$$R_{\alpha i}(n, t) = R \left[1 - \frac{\chi G_i}{4} \Phi_{\alpha i}(n, t) \right]. \quad (20.5)$$

Решения, описываемые функциями (20.4) и (20.5), называются *солитонами* или *частицеподобными* возбуждениями.

Движение солитона напоминает движение частицы. Его энергия является суммой внутренней и кинетической энергий. Кинетическая энергия пропорциональна квадрату скорости перемещения солитона. Коэффициент пропорциональности называется *эффективной массой* солитона.

В α -спиральной белковой молекуле возможно образование двух типов солитонов. Солитоны первого типа ($l = \text{нс}$) характеризуются значениями

$$A_{\text{нс}} \approx 0, \quad A_{2\text{нс}} = -A_{3\text{нс}} = \frac{1}{\sqrt{2}}, \quad G_{\text{нс}} = \frac{1}{2} G. \quad (20.6)$$

Эти возбуждения будем называть *несимметричными солитонами*. В образовании таких возбуждений участвуют только две из трех цепей пептидных групп. В связи с этим в области возбуждения уменьшаются расстояния между пептидными группами только у двух цепей, поэтому в области возбуждения белковая молекула прогибается (рис. 63). Этот прогиб вместе с возбуждением перемещается по белковой молекуле со скоростью V . Энергия такого солитона определяется выражением

$$E_V^{(\text{нс})} = E_0^{(\text{нс})} + \frac{1}{2} m_{\text{сол}}^{(\text{нс})} V^2. \quad (20.7)$$

Здесь $E_0^{(\text{нс})}$ — энергия покоящегося солитона, определяемая равенством

$$E_0^{(\text{нс})} = \xi_0 - 2J - L - \frac{G^2}{192\omega^2 J}, \quad \xi = \varepsilon - D, \quad (20.8)$$

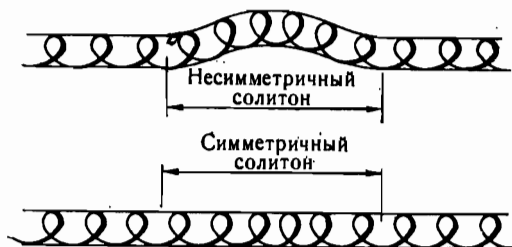


Рис. 63.
Распространение несимметричного и симметричного солитонов по α -спиральной белковой молекуле.

где $\varepsilon = 0,21$ эВ — энергия колебания Амид I; $L = 15,4 \times 10^{-4}$ эВ — энергия резонансного взаимодействия ближайших пептидных групп, находящихся на соседних цепях; $m_{\text{sol}}^{\text{HC}}$ — эффективная масса несимметричного солитона,

$$m_{\text{sol}}^{\text{HC}} = \frac{\hbar^2}{2Jz_0^2} + \frac{MG^2}{48\omega^2 z_0^2 J}, \quad (20.9)$$

M — масса, перемещающаяся вместе с одной пептидной группой; z_0 — равновесное расстояние между пептидными группами в каждой цепи вдоль оси молекулы.

Солитоны второго типа ($l = c$), которым соответствуют значения

$$A_{1c} = A_{2c} = A_{3c} = \frac{1}{\sqrt{3}}, \quad G_c = \frac{G}{3}, \quad (20.10)$$

будем называть *симметричными солитонами*. Энергия симметричного солитона в состоянии покоя определяется выражением

$$E_0^{(c)} = E_0^{\text{HC}} + 3L + \frac{5G^2}{1728\omega^2}. \quad (20.11)$$

Таким образом, энергия покоящегося симметричного солитона больше энергии несимметричного солитона. Поэтому он менее устойчив и, теряя избыток энергии, переходит в несимметричный солитон.

Несимметричные солитоны отличаются исключительно высокой стабильностью. Их энергия не переходит в энергию тепловых колебаний, так как они движутся со скоростью, меньшей скорости продольного звука в молекуле. Стабильность солитонов обусловлена тем, что они представляют собой связанное состояние колебательного возбуждения Амид I со смещениями пептидных групп из равновесных положений, приводящими к локальной деформации молекулы. Такая стабильность напоминает стабильность сверхпроводящего состояния электронов в металлах, которая также обусловлена взаимодействием электронов со смещениями атомов в кристаллической решетке, приводящими к ее локальной деформации (см. п. 22.4)

Именно высокая стабильность солитонов определяет большую эффективность переноса ими малых энергий колебательных возбуждений в белковых молекулах. Все другие способы бестокового переноса энергии, например с помощью экситонов, не обладают такой устойчивостью. Молекулярные экситоны имеют очень малую эффективную массу, поэтому они движутся со скоростями, большими скорости продольного звука в молекуле. При таком движении их кинетическая энергия быстро (10^{-12} — 10^{-13} с) преобразуется в тепловую энергию беспорядочного колебания атомов.

Являясь локальными возбуждениями, солитоны могут возникать только при локальном выделении энергии. В частности, они могут появляться в том случае, когда на конце белковой молекулы происходит экзотермическая химическая реакция.

На основе предположения о солитонах можно дать следующее объяснение молекулярному механизму скольжения тонких нитей относительно толстых в саркомерах мышечного волокна.

При поступлении нервного импульса к нервно-мышечным синапсам происходит деполяризация мембраны мышечного волокна, которая, распространяясь по мембранам трубок *T*-системы (см. п. 19.1), проникает внутрь мышечного волокна. Достигнув концевых цистерн саркоплазматической сети, такая волна деполяризации резко повышает проницаемость мембран концевых цистерн относительно ионов кальция. Ионы кальция устремляются в саркоплазму, окружающую тонкие и толстые нити саркомеров. Достигнув при своем диффузионном движении молекул тропонина в области голов миозиновых молекул на концах толстых нитей, они через молекулы тропомиозина запускают механизм гидролиза молекул АТФ, находящихся в комплексах $MgATP^{2-}$ на головах миозиновых молекул. Энергия гидролиза (0,54 эВ) передается молекулам миозина. В миозиновых молекулах возникают несимметричные солитоны, которые перемещаются от голов молекул, где они возникли, к их хвостам. При этом больше половины энергии гидролиза молекулы АТФ переносится солитоном в виде кинетической энергии, так как внутренняя энергия солитонов меньше 0,21 эВ.

Движение солитонов по миозиновым молекулам внутри толстой нити сопровождается их значительным изгибом (см. рис. 63). Поэтому в области возбуждений, пробегающих по пучку миозиновых молекул, толстая нить расширяется и расширенная область перемещается от концов толстой нити к ее середине (рис. 64). В результате расширения толстых нитей головы миозиновых молекул прижимаются к тонким нитям. Поэтому при движении «распухших» толстых нитей к середине саркомера они увлекают за собой тонкие нити.

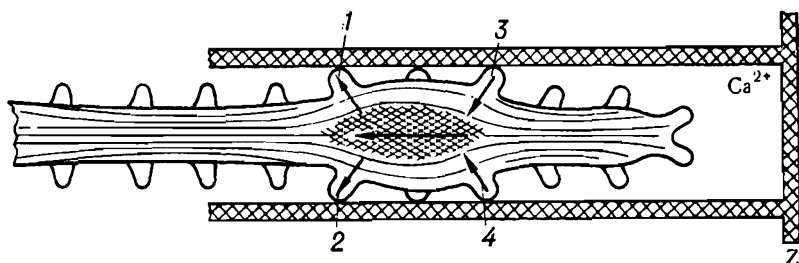


Рис. 64.

Схематический разрез правой половины саркомера плоскостью, проходящей через две тонкие нити.

Движение солитонов, возникающих на головах миозиновых молекул, вдоль хвостов молекул «внутри толстой нити» приводит к ее «распуханию» и перемещению «распухшей части» к центру саркомера. Малыми стрелками указаны направления движения голов миозиновых молекул, толкающих (1, 2) тонкие нити к центру саркомера и отходящих (3, 4) от тонких нитей.

Ионы кальция, достигающие при диффузии второго ряда молекул тропонина, с помощью молекул тропомиозина приводят в активное состояние молекулы актина, и происходит гидролиз молекул АТФ на втором ряду голов миозиновых молекул. Энергия гидролиза порождает солитоны в этих молекулах. Их движение внутри толстых нитей вызывает движение новых распухших областей толстых нитей, которые будут продвигать тонкие нити далее к центру саркомера.

При присоединении новых комплексов $MgATP^{2-}$ к головам миозиновых молекул, уже участвовавших в процессе сокращения, будет происходить их гидролиз и повторное движение солитонов по их длинным α -спиральным участкам.

Согласно предложенной нами модели, головы миозиновых молекул прижимаются к тонким нитям, проталкивают их на небольшое расстояние и отходят от них (как в модели образования и разрыва мостиков). Однако это движение обусловлено не удлинением, поворотом и сокращением самих голов, а продвижением внутри волокна волны возбуждения и деформации в виде солитонов. Эти возбуждения возникают в головах миозиновых молекул, на которых произошел гидролиз АТФ; поступая в α -спиральную часть молекулы, они самоформируются в виде солитонов и движутся по всей миозиновой молекуле к ее хвосту. При этом кинетическая энергия движения солитонов преобразуется в энергию сокращения или приводит к натяжению, если мышца находится под нагрузкой. В такой модели активными элементами сокращения являются все части миозиновой молекулы, а не только ее голова.

Релаксация мышцы наступает после восстановления очень малой проницаемости для ионов Ca^{2+} мембран концевых цистерн

саркоплазматической сети. Кальциевые насосы этих мембран извлекают ионы кальция из саркоплазмы. Прекращается гидролиз молекул АТФ и находящаяся в мышечных волокнах соединительная ткань, образованная резиноподобными молекулами эластина (растянутыми в процессе сокращения), возвращает мышцу к первоначальному размеру.

§ 21. Сократительные системы несkeletalных мышц

В предыдущих параграфах этой главы рассматривались наиболее изученные поперечнополосатые мышцы, к которым относятся скелетные мышцы и мышцы сердца человека, всех позвоночных животных и некоторых беспозвоночных. Например, членистоногие обладают только поперечнополосатыми мышцами.

Мускулатура стенок кровеносных сосудов всех внутренних органов позвоночных животных и человека (кроме сердца) и мускулатура большинства беспозвоночных животных состоит из длинных веретеновидных клеток, однородных на всем своем протяжении, кроме области, в которой находится палочковидное ядро клетки. Поэтому такие мышцы называются *гладкими*.

Гладкие мышцы сокращаются гораздо медленнее скелетных мышц. Если сокращение и расслабление скелетных мышц длится десятки доли секунды, то у гладких мышц на это требуется от 3 до 180 с. По-видимому, гладкие мышцы также имеют в своей структуре параллельные микронити, состоящие из актиновых и миозиновых белков. В некоторых случаях толстые и тонкие белковые нити удалось выделить из гладких мышц. В отличие от поперечнополосатых мышц в гладких мышцах не имеется Z-пластинок, расположение сократительных элементов не вполне упорядочено.

21.1. Синхронные летательные мышцы насекомых

Насекомые вместо скелета имеют твердую внешнюю оболочку. Их полет осуществляется с помощью крыльев, которые присоединяются системой рычагов к внешней оболочке. Движение крыльев связано с деформациями внешней оболочки. Для полета насекомые используют весьма разнообразные механизмы. Уже по внешнему виду можно отличить танцующий полет бабочек, парящий полет стрекозы, жужжащий полет комнатной мухи, пчелы и комара. Бабочка делает крыльями пять взмахов в секунду, а стрекоза — 35. У многих других насекомых биение крыльев происходит значительно чаще. Так, например, пчела делает крыльями 208—247 взмахов в секунду, москиты — 587, а комар — 1046.

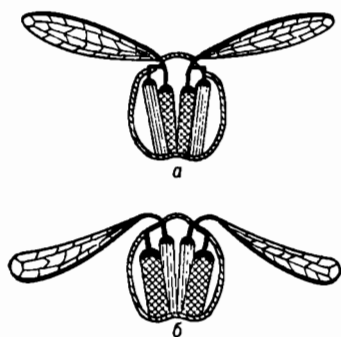


Рис. 65.

Синхронные летательные мышцы стрекозы:
 а — сокращение внутренней пары мышц поднимает крылья; б — сокращение внешней пары мышц опускает крылья.

Скелетные мышцы позвоночных животных относятся к так называемым *синхронным мышцам*. Они отвечают одним сокращением на каждый полученный от нерва импульс. К синхронным мышцам относятся и летательные мышцы насекомых, у которых число взмахов крыльев в секунду не превышает 50. В частности, к синхронным мышцам относятся летательные мышцы бабочек и стрекоз.

У насекомых с числом взмахов крыльев, превышающим 50, каждому нервному импульсу соответствует целая серия сокращений летательных мышц. Такие мышцы называются *асинхронными*.

Типичным примером синхронных летательных мышц являются мышцы стрекозы. У стрекозы средняя часть тела, несущая крылья, разделена на три сегмента. Имеющиеся у стрекозы две пары крыльев расположены так: одна пара — на среднем сегменте, вторая пара — на заднем. Оба сегмента почти полностью заполнены мышцами, управляющими движением крыльев. В каждом сегменте имеется четыре мышцы, нижние концы которых присоединены к корпусу сегмента, а верхние — к рычажной системе пары крыльев (рис. 65). Когда сокращается внутренняя пара мышц, крылья поднимаются, при сокращении внешней пары мышц крылья опускаются.

Каждая мышца состоит из большого числа мышечных волокон, тесно прилегающих друг к другу. Каждое волокно имеет 20—30 мкм в диаметре. Между волокнами находятся митохондрии. Число митохондрий в летательных мышцах значительно превышает число митохондрий в поперечнополосатых мышцах позвоночных животных. Мышцы ног и тела насекомых имеют такую же структуру, но содержат меньше митохондрий.

Каждое волокно состоит из саркомеров, в состав которых входят толстые и тонкие белковые нити, образующие в поперечном сечении гексагональные структуры. У стрекозы и некоторых других насекомых летательные мышечные волокна расположены в виде пластин, между которыми слоями лежат митохондрии.

У других насекомых волокна расположены в виде цилиндрических структур, окруженных митохондриями.

В отличие от мышц позвоночных животных, к которым кислород доставляется гемоглобином, входящим в состав крови, протекающей по тонким капиллярам, расположенным между мышечными волокнами, жидкая гемолимфа, находящаяся в полостях между мышечными волокнами насекомых, не содержит дыхательного пигмента — гемоглобина. Атмосферный кислород диффундирует к мышечным волокнам через тело насекомого с помощью разветвленной системы трубок — *трахей*, соединяющихся с внешним пространством. Особенно сильно развита система трахей в летательных мышцах, требующих много кислорода.

В мышцах ног и в мелких летательных мышцах некоторых насекомых трахеи проходят между волокнами, подобно капиллярам в мышцах позвоночных; кислород поступает в волокно, диффундируя через его поверхность. В крупных летательных мышцах насекомых система трахей глубоко внедряется внутрь волокна, перенося кислород значительно ближе к митохондриям.

Нервный импульс поступает внутрь мышечного волокна насекомого через систему поперечных трубок (*T*-систему) так же, как в поперечнополосатых мышцах позвоночных животных. Однако если в мышцах скелетных животных трубки *T*-системы лежат либо в области *Z*-пластинок (см. рис. 56), либо в областях границ *A*- и *I*-зон, то в мышцах насекомых трубки *T*-системы лежат на половине расстояния между *Z*-пластинкой и *H*-зоной.

Синхронные летательные мышцы насекомых имеют хорошо развитую саркоплазматическую сеть трубочек и пузырьков, в которых содержатся ионы Ca^{2+} во время релаксации. Из этой сети ионы кальция перемещаются к тонким и толстым белковым нитям саркомера при поступлении нервного импульса. В летательных мышцах стрекозы саркоплазматическая сеть почти полностью заполняет саркоплазму между трубками *T*-системы. У бабочек саркоплазматическая сеть образована цепями пузырьков, расположенных вокруг волокон.

21.2. Асинхронные мышцы насекомых

В 1949 г. Прингл в Кембриджском университете, изучая летательные мышцы мясной мухи, обнаружил, что частота поступления нервных импульсов к мышечным волокнам не отличается заметно от частоты нервных импульсов других животных. Однако крылья мухи колебались с частотой, значительно большей, чем частота поступления нервных импульсов. Оказалось также, что при обрезании части крыльев частота их колебаний увеличивалась. Прингл предположил, что частота взмахов крыльев опре-

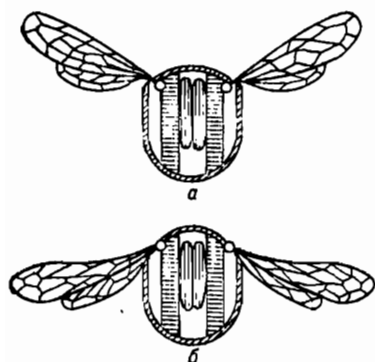


Рис. 66.

Асинхронные мышцы осы:

а — сокращение пары вертикальных мышц поднимает крылья; б — сокращение пары горизонтальных мышц опускает крылья.

деляется не нервными импульсами, а внутренними свойствами двигательной системы.

Дальнейшие исследования Прингла, Боуттигера, Роудера и других показали (см. [232]), что такими же свойствами обладают и мышцы других насекомых: комнатной мухи, пчелы, осы, комара. Мышцы этих насекомых названы *асинхронными*. В асинхронных мышцах единственный нервный импульс включает целую серию сокращений, частота которых достигает 10^3 с^{-1} .

Асинхронные мышцы обладают очень высокой дыхательной активностью. На единицу веса они выделяют значительно больше энергии, чем мышцы других типов. Они содержат очень много митохондрий, располагающихся вдоль миофибрилл.

Типичным примером асинхронных мышц являются летательные мышцы осы. Ее большой средний грудной сегмент почти целиком заполнен вертикальными и горизонтальными блоками мышц (рис. 66). Они управляют через стенки жесткого корпуса сегмента движением двух пар крыльев, которые связаны вместе и движутся как одно крыло.

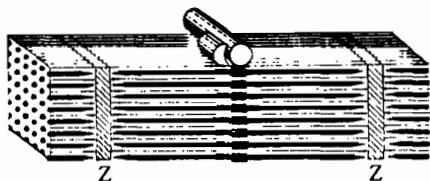
Вертикальные и горизонтальные мышцы сокращаются попеременно. Каждое сокращение слегка деформирует форму грудного сегмента, который связан рычажным механизмом с основаниями крыльев. Сокращение горизонтальных волокон приводит к опусканию крыльев. Сокращение вертикальных мышц поднимает крылья. Таким образом, крылья опускаются и поднимаются при попеременном сокращении двух блоков мышц.

С помощью электронных микроскопов установлена существенная разница в строении саркомеров синхронных и асинхронных мышц. В состоянии покоя в синхронных мышцах концы толстых нитей отделены от Z-пластинок расстояниями порядка 0,5 мкм. В асинхронных мышцах миозиновые нити сильно сужены на концах, занимают почти всю длину саркомера и подходят очень близко к Z-пластинкам (рис. 67).

Рис. 67.

Структура асинхронного мышечного волокна.

Толстые нити заостренными концами почти упираются в Z-пластинки; саркоплазматическая сеть развита слабо.



Эксперименты Смиса и Тайса в Колумбийском университете показали, что у мясной мухи активируемые ионами кальция ферменты, гидролизующие молекулы АТФ, находятся на концах миозиновых нитей [232]. Неясно, однако, как поступает и извлекается кальций из саркоплазмы. В асинхронных мышцах саркоплазматическая сеть развита очень слабо. Циклы сокращения и расслабления не связаны с выходом и изоляцией ионов кальция из саркоплазмы. Неясно, как осуществляется контроль нервными импульсами серий вибрационных сокращений.

Прингл с сотрудниками в Оксфордском университете доказали, что вибрационные сокращения асинхронных мышц обусловлены структурой самих изолированных мышечных волокон. Они удалили из мышечных волокон жука саркоплазму с помощью глицерина. Когда такие волокна были помещены в среду, содержащую молекулы АТФ и ионы кальция, они начали сокращаться и расслабляться с большой частотой.

21.3. Движение с помощью ресничек и жгутиков

Реснички и жгутики являются придатками к клеткам, обеспечивающими их передвижение в жидкой среде. Движение с помощью ресничек и жгутиков представляет собой главный способ передвижения у одноклеточных организмов.

Реснички и жгутики являются миниатюрными выростами клетки. Их диаметр около 0,2 мкм. Длина варьирует от 2 мкм до нескольких миллиметров. Если они длинные и их мало, то их называют *жгутиками*. Если короткие и многочисленные, то их называют *ресничками*.

У инфузорий каждая клетка снабжена сотнями миниатюрных ресничек, колебания которых обеспечивают поступательное их движение в жидкой среде.

Хотя жгутики значительно длиннее ресничек, они весьма сходны по структуре. Каждый из них состоит из 11 микротрубочек, называемых *аксонемой*. Микротрубочки заключены в матрикс и окружены общей мембраной, которая, по-видимому, составляет одно целое с мембраной всей клетки.

Микротрубочки — волокна — образуют структуру $9 + 2$, т. е. девять двойных микротрубочек расположены по кругу, в центре находятся два волокна.

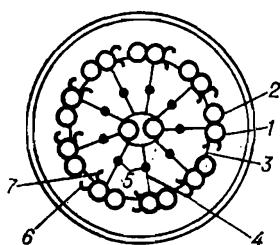


Рис. 68.

Схема поперечного сечения реснички:

1 — внешняя трубка А; 2 — внешняя трубка В, 3 — связь между внешними трубками; 4 — радиальная «спица»; 5 — поперечное сечение продольных нитей; 6 — наружная «ручка»; 7 — внутренняя «ручка».

Структура ресничек и жгутиков хорошо изучена с помощью электронного микроскопа. Трубчатая структура $9 + 2$ сохраняется по длине реснички. К основанию реснички периферические трубки утончаются. Основания ресничек и жгутиков имеют цилиндрическую структуру, которая называется *базальтовым тельцем*. Через нее в ресничку поступают молекулы АТФ, ионы Mg^{2+} и др.

В поперечном сечении две центральные трубки имеют диаметры 240 Å. Толщина стенок трубок 45 Å. Расстояние между трубками 360 Å. Обе трубки окружены оболочкой (рис. 68). Вокруг двух центральных трубок расположены девять пар периферических трубок. От одной из трубок пары, которую обозначают буквой А, отходят отростки толщиной 50 Å и длиной около 150 Å, которые называют «ручками». Во всех ресничках и жгутиках «ручки» ориентированы по часовой стрелке, если смотреть от основания реснички к ее свободному концу.

От каждой трубки А к центру тянутся тонкие нити — «спицы». Вокруг центральной части реснички расположены девять продольных нитей.

Стенки каждой внешней трубки толщиной около 45 Å состоят из 12 параллельных фибрилл диаметром 45 Å. Каждая фибрилла образована глобулярными белками. В составе А-трубок найден белок *диенин*, который определяет почти всю АТФ-азную активность ресничек. Возможно, что каждая молекула диенина, размер которой 9×14 нм, образует одну «ручку». По аминокислотному составу глобулярные белки, образующие периферические трубки, напоминают актин.

У многоклеточных организмов часто различные внутренние полости и протоки покрыты слоями мерцательного эпителия, образованного ресничками. В этих органах все реснички движутся одновременно, создавая ток жидкости. Обычно сокращения ресничек совершаются очень быстро — от 10 до 17 раз в секунду.

Если к суспензии экстрагированных глицерином изолированных ресничек и жгутиков добавить молекулы АТФ и ионы Mg^{2+} , то они начинают проявлять ритмическую активность, которая может продолжаться от нескольких минут до нескольких часов. Эти опыты показали, что механизм движения ресничек обусловлен их трубчатой структурой. Источником энергии являются

молекулы АТФ, гидролиз которых происходит в области «ручек» ресничек.

Механизм возникновения волнообразных движений ресничек и жгутиков при гидролизе молекул АТФ до сих пор остается неясным. Высказывалось мнение, что при гидролизе молекул АТФ изменяется матрикс, окружающий трубки. Существует также предположение, что при гидролизе молекул АТФ смещаются трубки друг относительно друга.

Микротрубочные структуры, напоминающие по строению трубки ресничек и жгутиков, по-видимому, играют важную роль в осуществлении некоторых клеточных функций, таких как деление клеток (митоз), сопровождающееся сложными перемещениями клеточного центра, хромосом и других органелл, внутриклеточный транспорт, течение цитоплазмы в клетках растений (циклоз) и др. В отличие от устойчивых микротрубочек ресничек и жгутиков цитоплазматические микротрубочки обычно являются переходящими структурами.

В ресничках, жгутиках, митотическом веретене и в цитоплазме некоторых клеток трубочки выполняют функции, связанные с сокращением. Микротрубочки, по-видимому, обеспечивают транспорт небольших молекул внутри клеток и могут играть определенную роль в локальных изменениях формы клетки.

Сказанное выше свидетельствует о важности исследований молекулярного механизма движений, обусловленных трубочками ресничек и жгутиков. Выяснение молекулярного механизма этих движений может стать основой понимания многих явлений, происходящих в живых клетках.

Волнообразные движения ресничек и жгутиков, имеющих указанную выше структуру, совершаются за счет энергии гидролиза молекул АТФ. Однако в последнее время высказывается предположение, что в природе реализуются движения некоторых бактерий в водной среде, обусловленные вращением тонких белковых образований (флагелл) без использования энергии гидролиза молекул АТФ.

Считают, что к такому способу передвижения прибегают бактерии кишечной палочки *E. coli*. Эти бактерии являются обычными обитателями кишечника человека и животных. Они имеют форму короткой палочки (длина 1—2 мкм, диаметр 0,5 мкм) с закругленными концами. К поверхности бактерии прикреплены шесть тонких жгутиков — флагелл, имеющих длину около 7 мкм и диаметр около 0,01 мкм, и некоторое число более мелких тонких волокон.

Берг с сотрудниками в Колорадском университете высказали гипотезу [83а, 83б, 154а], согласно которой движение бактерии *E. coli* обусловлено вращением флагелл в месте их прикрепления к мембране клетки. Предполагается, что каждая флагелла

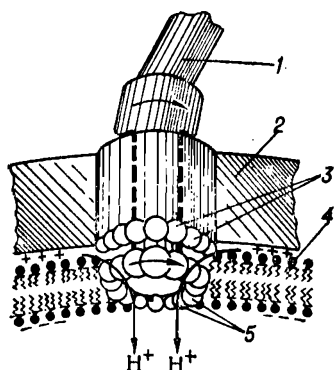


Рис. 69.

Схема механизма, приводящего во вращательное движение тонкие жгутики (флагеллы) бактерии кишечной палочки [83а]:

1 — флагелла; 2 — стенка клетки; 3 — 16 белковых единиц, образующих статор; 4 — плазматическая мембрана; 5 — 16 белковых единиц, образующих ротор, жестко связанный со стержнем флагеллы.

прикрепляется к стержню, который проходит через стенку клетки, как через подшипник (рис. 69), затем через закрепленное в стенке клетки кольцевое устройство (статор), состоящее из 16 белковых единиц, и заканчивается в цитоплазматической мембране вторым кольцевым устройством (ротор), также состоящим из 16 белковых единиц.

Берг с сотрудниками установили, что ротор флагеллы приводит во вращение электрохимическим градиентом протонов, создаваемым на мембране процессом дыхания. Под влиянием электрохимического градиента протоны проходят через ротор флагеллы и создают вращательный момент при взаимодействии с электрическими зарядами его белковых единиц. По расчетам Берга при обычных значениях электрохимического потенциала на цитоплазматической мембране бактерии (около 4,4 ккал/моль) требуется прохождение 250 протонов через ротор, чтобы осуществился полный поворот.

Гипотеза Берга, высказанная в 1970 г., первоначально встретила серьезные возражения, поскольку она постулировала весьма необычный для живых организмов характер движения. Однако в последнее время эта гипотеза находит экспериментальное подтверждение. Необходимы дальнейшие экспериментальные исследования для подтверждения этого своеобразного характера движения. Не известен пока еще и молекулярный механизм, обеспечивающий такое движение.

21.4. Специализированные мышечные клетки

Под влиянием нервного импульса в нервно-мышечном синапсе выделяются молекулы ацетилхолина. Попадая на специальные рецепторы мембраны мышцы, они вызывают резкое увеличение проницаемости мембраны по отношению к ионам Na^+ . Концентрация ионов вне мышечного волокна велика, поэтому

они устремляются внутрь волокна. Возникающий электрический ток деполяризует мембрану, что и приводит в последующем к сокращению длины мышечного волокна.

У некоторых животных выработались специализированные мышечные клетки, в которых процесс сокращения сведен к минимуму, а образование электрического тока доведено до максимума. К таким клеткам относятся электрические органы электрического угря, электрического ската и некоторых других электрических рыб.

Электрические органы этих рыб развиваются в эмбрионе из тех же тканей, из которых образуются мышцы у других животных. Вместо длинного мышечного волокна образуются большие плоские клетки, которые называются *электродисками*. Эти клетки либо не содержат, либо содержат в очень небольшом количестве сократительные мышечные волокна. Однако они содержат очень большое количество нервно-мышечных синапсов, расположенных только на одной сравнительно гладкой стороне мембраны, к которой подходит большое число нервных окончаний. Эта сторона электрического диска называется «внутренней». На второй сильно складчатой стороне электрического диска («внешней») синапсы отсутствуют.

Рецепторы внутренней стороны мембраны активируются молекулами ацетилхолина и ингибируются ядами (например, ядом кураре). Поэтому считают, что натриевые каналы этих мембран аналогичны натриевым каналам обычных мембран мышц.

При поступлении нервных импульсов к синапсам внутренней стороны мембраны электрического диска выделяются молекулы ацетилхолина. Попадая на рецепторы мембраны, они резко увеличивают ее проницаемость для ионов Na^+ . Возникает ток ионов Na^+ внутрь электрического диска, который создает между внутренней и внешней сторонами электрического диска разность потенциалов около 0,1 В.

Электрические диски расположены один над другим в виде колонны, что обуславливает суммирование электрических потенциалов. Большое число колонн располагается параллельными рядами, при этом их токи суммируются.

Электрические органы гигантского электрического ската *Torpedo* расположены возле головы и занимают большую часть его крыльев. Электрические колонны содержат по 500 электрических дисков. Они могут генерировать около 50 В при 20 А.

У гигантского пресноводного электрического угря Южной Америки имеется 4000 рядов электрических тарелок, которые составляют около 70% всей массы угря. Он может генерировать напряжение более 600 В при 1 А.



ГЛАВА VII

МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ И ЭЛЕКТРОНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Среди различных подходов к решению на молекулярном уровне некоторых биологических проблем в последние годы привлекают внимание попытки использования методов теории твердого тела. Эти попытки базируются на экспериментальных данных о периодической структуре белковых молекул и молекул ДНК. Известно, что матрица хлоропластов является высокоупорядоченной системой, обладающей трансляционной симметрией. Известно также квазикристаллическое расположение белковых молекул на некоторых мембранах, например молекул родопсина на мембранах сетчатки глаза, фотосинтезирующих центров в мембранах галобактерий (в виде поверхностной гексагональной решетки) (см. п. 17.7). Кооперативные явления, проявляющиеся в работе аллостерических ферментов, также указывают на определенную организацию макромолекул в соответствующих комплексах.

Особенно часто используются методы теории твердого тела при исследовании одного из центральных вопросов биоэнергетики — выяснения причин высокой эффективности переноса энергии, электронов и протонов в пределах одной макромолекулы и между молекулами.

Транспорт электронов по цепи электронного переноса в фотосинтезирующих системах, транспорт электронов по системе ферментов дыхательной цепи митохондрий, аллостерические свойства некоторых ферментов и многое другое, несомненно, указывает на большую эффективность переноса зарядов, энергии и информации на значительные расстояния в биосистемах.

Теоретическое исследование явлений переноса энергии и зарядов в сложных биологических системах, находящихся в водном окружении, неизбежно связано со значительными упрощениями и моделированием, отражающим главные свойства этих явлений.

В данной главе рассмотрим некоторые теоретические представления о миграции энергии и зарядов в биологических системах.

§ 22. Миграция энергии в одномерных молекулярных системах

При исследовании передачи энергии по белковым структурам наиболее часто использовалось представление об экситонах в молекулярных кристаллах.

Понятие экситона впервые введено Френкелем в 1931 г. [129] при теоретическом исследовании превращения света в тепло в твердых телах. Используя модель простейшего молекулярного кристалла, образованного атомами инертных газов, он рассмотрел коллективные возбужденные состояния кристалла, обусловленные резонансными взаимодействиями между возбужденными и невозбужденными атомами. К сложным молекулярным кристаллам теория экситонов впервые была применена в 1948 г. [16]. Общая теория экситонов в молекулярных кристаллах изложена в монографиях [1, 17, 22].

22.1. Экситоны в периодических одномерных молекулярных структурах

Предположим, что молекулы расположены вдоль оси z на равных расстояниях R друг от друга и что внутренние возбуждения (электронные или колебательные) каждой изолированной молекулы характеризуются энергией ε и дипольным электрическим моментом d , направленным под углом ϑ к оси z . Будем считать, что цепочка молекул достаточно жесткая, поэтому равновесные расстояния между молекулами при переходе цепочки в возбужденное состояние не меняются.

Энергию основного состояния цепочки (когда в ней нет возбужденных молекул) примем равной нулю. В одномерной модели можно учитывать взаимодействие только между соседними молекулами. Предположим, что в цепочке имеется N молекул. Число N достаточно велико, чтобы можно было пренебречь краевыми эффектами.

При переходе молекулы под номером n в возбужденное состояние, наряду с взаимодействиями, определявшими равновесные расстояния между молекулами в основном состоянии, надо учесть два новых взаимодействия.

1. Появляется резонансное взаимодействие между молекулами, приводящее к перескоку возбуждения от молекулы n к соседним молекулам $n \pm 1$. Энергия такого взаимодействия определяется равенством

$$J = d^2 R^{-3} (3 \cos^2 \vartheta - 1). \quad (22.1)$$

2. Дополнительное взаимодействие, обусловленное изменением взаимодействий прежнего типа (вандерваальсовы и др.). Изменение энергии этого взаимодействия ($-D$) приводит к увели-

чению притяжения, поэтому $D > 0$. Вследствие изменения взаимодействия молекулы n при ее возбуждении соседними молекулами возникает тенденция к деформации цепочки в области возбужденной молекулы. Поэтому взаимодействие $-D$ будем называть *деформационным взаимодействием*.

Оператор энергии коллективных возбужденных состояний цепочки, соответствующих внутримолекулярному возбуждению с энергией ε , определяется выражением

$$H_{ex} = \sum_n [(\varepsilon - D) B_n^+ B_n - J (B_{n+1}^+ B_n + B_{n-1}^+ B_n)]. \quad (22.2)$$

Здесь суммирование выполняется по всем N молекулам. Оператор B_n^+ указывает, что молекула n возбуждена, оператор B_n соответствует невозбужденной молекуле. Выражение $(\varepsilon - D) B_n^+ B_n$ определяет энергию возбуждения молекулы n без учета резонансного взаимодействия. Операторы $B_{n+1}^+ B_n$ и $B_{n-1}^+ B_n$ характеризуют переход возбуждения с молекулы n на молекулы $n \pm 1$. Значения D и J в (22.2) берутся при равновесных расстояниях R между молекулами в невозбужденной цепочке. Границы применимости этого приближения будут определены ниже.

Согласно правилам квантовой механики [18], для определения энергии коллективных возбужденных состояний цепочки, следует преобразовать оператор (22.2) к диагональному виду. Это осуществляется унитарным преобразованием к новым операторам

$$B_n = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_k A_k \exp(iknR), \quad (22.3)$$

$$A_k = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_n B_n \exp(-iknR), \quad (22.3a)$$

где k пробегает N дискретных, равноотстоящих значений, $k = \frac{2\pi}{R} \nu$ ($\nu = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$), в интервале

$$-\pi/R < k \leq \pi/R. \quad (22.4)$$

Подставив (22.3) в (22.2), находим

$$H_{ex} = \sum_k E(k) A_k^+ A_k, \quad (22.5)$$

где

$$E(k) = \varepsilon - D - 2J \cos kR \quad (22.6)$$

— энергии коллективных возбужденных состояний цепочки, соответствующие волновым функциям

$$\Psi_k(z, t) = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_n e^{i[knR - \omega(k)t]} \varphi(z - nR), \quad \hbar\omega(k) \equiv E(k). \quad (22.7)$$

Здесь $\varphi(z - nR)$ — волновая функция возбужденного состояния молекулы n . Такие коллективные возбуждения называются *экси-*

тонами. Из вида функции (22.7) следует, что в образовании экситонного состояния все молекулы цепочки играют одинаковую роль. Другими словами, возбуждение кристалла, соответствующее экситонному состоянию с определенным значением k и энергии $E(k)$, распределено по всей цепочке, а не сосредоточено на одной молекуле.

Волновую функцию (22.7) можно преобразовать к виду

$$\Psi_k(z, t) = A_k \exp \{i[kz - \omega(k)t]\}, \quad (22.8)$$

где

$$A_k = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_n e^{ik(nR-z)} \varphi(z - nR).$$

Функция (22.8) описывает плоскую волну при $\lambda = 2\pi/k$. Наибольший интерес представляют экситонные состояния, соответствующие длинам волн, значительно превышающим расстояния между соседними молекулами. В этом случае $kR \ll 1$ и энергия экситонов преобразуется к виду

$$E(k) = E(0) + \frac{\hbar^2 k^2}{2m^*}, \quad (22.9)$$

где первый член определяет внутреннюю энергию экситона

$$E(0) = \varepsilon - D - 2J, \quad (22.10)$$

а второй — соответствует кинетической энергии частицы с эффективной массой

$$m^* = \hbar^2/2JR^2. \quad (22.11)$$

Согласно (22.1), при $\varphi < 54^\circ 44'$ эффективная масса положительна, при $\varphi > 54^\circ 44'$ она отрицательна.

Экситонные состояния с определенным значением k и энергией $E(k)$, описываемые плоскими волнами (22.8), характеризуют стационарные состояния, при которых энергия возбуждения распределена по всей цепочке и не перемещается.

Чтобы исследовать вопрос о перемещении энергии возбуждения вдоль цепочки, необходимо рассмотреть нестационарные состояния. Рассмотрим состояние, при котором в момент времени t возбуждение распределено в области размером l_0 . Такое состояние описывается волновым пакетом

$$\Psi(z, t) = \int_{k_0 - \Delta k}^{k_0 + \Delta k} A(k) \exp \{i[kz - \omega(k)t]\} dk, \quad (22.12)$$

где $\Delta k = \pi/2l_0$. Из (22.12) следует, что возбуждение распространяется с групповой скоростью

$$v = \left[\frac{\partial \omega(k)}{\partial k} \right]_{k=k_0} = \frac{\hbar k_0}{m^*}, \quad (22.13)$$

где $\hbar k_0$ — средний импульс экситона в состоянии (22.12).

Итак, возбужденное состояние, сосредоточенное в момент времени t на отрезке l_0 , распространяется по молекулярной цепи со скоростью, определяемой формулой (22.13). При этом вдоль цепи переносится энергия $E(k_0)$. Чем больше резонансное взаимодействие $|J|$, тем меньше эффективная масса $|m^*|$, следовательно, тем с большей скоростью движется экситон при данном значении k_0 .

При переносе энергии вдоль молекулярной цепочки экситонами следует учитывать два важных обстоятельства.

1. Если в момент времени t область, охваченная возбуждением, определялась величиной l_0 , то к моменту времени $t + \tau$ она будет

$$l_\tau = \sqrt{l_0^2 + (\hbar\tau/m^*l_0)^2}, \quad l_0 = \frac{2\Delta k}{\pi}. \quad (22.14)$$

Говорят, что волновой пакет с течением времени «расплывается». При $\tau > m^*l_0/\hbar$ ширина пакета растет пропорционально времени со скоростью $\hbar/m^*l_0$. Расплывание проявляется тем значительней, чем меньше эффективная масса экситона.

Расплывание волновых пакетов с течением времени является одним из признаков нестрогой стационарности экситонных состояний, описываемых волновыми пакетами (22.12). В таких состояниях как энергия, так и импульс экситона не имеют строго определенных значений. Стационарные же состояния с определенными значениями k и $E(k)$ равномерно распределены по системе и не переносят энергии.

2. Экситоны при своем движении рассеиваются на фононах, т. е. на колебаниях молекул около их равновесных положений в цепочке. Они теряют (приобретают) энергию при рассеянии с излучением (поглощением) фононов. При низких температурах рассеяние возможно только при рождении фононов.

Процессы рассеяния экситонов на фононах определяются зависимостью энергии деформационного взаимодействия $-D$ от смещений u_n молекул из их равновесных положений. Оператор такой связи внутримолекулярного возбуждения со смещениями молекул можно записать в виде

$$H_{int} = \chi \sum_n (u_{n+1} - u_{n-1}) B_n^+ B_n, \quad (22.15)$$

где $\chi = -\left(\frac{\partial D}{\partial u_n}\right)_{u_n=0}$ — параметр связи экситонов с фононами.

При низких температурах в рассеянии экситонов главную роль играют только процессы потери экситоном энергии при рождении фононов. Такие процессы возможны в том случае, когда скорость экситонов превышает скорость продольных звуковых волн. Если w — параметр продольной упругости молекулярной цепочки, а M — масса отдельной молекулы, то скорость продольных звуко-

вых волн будет определяться выражением

$$V_a = R \sqrt{w/M}. \quad (22.16)$$

Следовательно, условие торможения экситонов при излучении фононов определяется неравенством

$$\frac{\hbar k}{m^*} > V_a \equiv R \sqrt{w/M}. \quad (22.17)$$

Отметим, что в одномерной молекулярной цепочке наша теория справедлива только для экситонов с волновым числом k , удовлетворяющем неравенству (22.17). В самом деле, только при скоростях экситона, превышающих скорость продольного звука, молекулы не успеют сместиться из своих положений равновесия R за время прохождения возбуждения.

Если неравенство (22.17) выполняется, то время жизни экситона τ_{ex} по отношению к излучению фонона при низких температурах будет обратно пропорционально квадрату параметра χ , входящего в оператор (22.15), и квадрату амплитуды нулевых колебаний молекул около равновесных положений, который определяется выражением

$$\langle u^2 \rangle_0 = \hbar/2 \sqrt{wM}. \quad (22.18)$$

Таким образом,

$$\tau_{ph} = [\langle u^2 \rangle_0 \chi^2]^{-1} = \frac{2 \sqrt{wM}}{\hbar \chi^2}. \quad (22.19)$$

Если температура не равна нулю, то выражение (22.18) заменяется выражением

$$\langle u^2 \rangle_T = \frac{\hbar}{2 \sqrt{Mw}} \operatorname{cth} \frac{\hbar \sqrt{w/M}}{2\Theta},$$

где Θ — абсолютная температура в энергетических единицах.

В двумерных и трехмерных периодических молекулярных системах также возможны коллективные возбужденные состояния типа молекулярных экситонов. Детали квантово-механических расчетов экситонов в таких системах изложены в монографиях [1, 17, 22]. Экситоны в этих системах характеризуются не волновым числом k , а волновым вектором $\mathbf{k}$ и энергией $E(\mathbf{k})$. Число различных векторов $\mathbf{k}$ равно числу N элементарных ячеек в кристалле. Совокупность N подуровней $E(\mathbf{k})$ называется *экситонной зоной*.

Экситоны в молекулярных системах порождаются электромагнитными волнами — *фотонами*. Если энергия фотона $\hbar\omega$ и его волновое число $|\mathbf{Q}| = \omega/c$, где c — скорость света, то превращению фотона в экситон (и обратно) осуществляется без участия фононов при выполнении одновременно закона сохранения энергии

$$\hbar\omega = E(\mathbf{k}) \quad (22.20)$$

и закона сохранения импульса

$$\hbar Q = \hbar k. \quad (22.20a)$$

В оптической области спектра длина волны излучения значительно превосходит расстояние R между молекулами $QR \ll 1$. В этом случае с излучением взаимодействуют только экситоны при $k \approx 0$. Поэтому равенство (22.20) можно заменить приближенным равенством $\hbar \omega = E(0)$. Таким образом, длина волны излучения, взаимодействующего с экситоном, определяется равенством

$$\lambda = \frac{2\pi c}{\omega} = 2\pi \hbar c / E(0).$$

Время жизни τ_{ex} экситона по отношению к излучению фотонов вычислялось В. М. Аграновичем [1, гл. III, § 5]. Оно оказалось следующим:

$$\tau_{ex} = \frac{2E(0)R}{3\pi c \hbar} \tau_0 = \frac{4R}{3\lambda} \tau_0, \quad (22.21)$$

где $\tau_0 = 3\hbar^4 c^3 / 4E^3(0) d^2$ — время жизни возбуждения с энергией $E(0)$ в изолированной молекуле.

Поскольку $R/\lambda \approx 10^{-3}$, время жизни экситона в одномерной молекулярной цепи по отношению к излучению фотонов в тысячи раз меньше времени жизни возбуждения в свободной молекуле.

Величина $1/\tau_{ex}$ определяет вероятность возбуждения экситона фотоном. Согласно (22.21), вероятность возбуждения фотонов в одномерной молекулярной цепочке в тысячи раз превышает вероятность возбуждения $1/\tau_0$ свободной молекулы.

Экситоны, соответствующие возбуждению нижайших электронных состояний молекул, возбуждаются видимым и ультрафиолетовым светом. Экситоны, соответствующие внутримолекулярным колебаниям, например колебаниям Амид I (частота 1660 см^{-1}) в белковых молекулах, возбуждаются инфракрасным излучением. Об использовании спектров экситонного поглощения для определения вторичной структуры белков говорилось в п. 8.3.

Основную роль в собственно биологических явлениях экситоны, по-видимому, играют в процессах фотосинтеза. При поглощении света молекулами хлорофилла образуются экситоны, которые быстро, до того как потеряют энергию при взаимодействии с фононами, переносят ее к фотосинтезирующим центрам.

Теория захвата экситонов другими примесными молекулами развивалась в работах В. М. Аграновича [1] и других исследователей. Пусть разность энергии минимума экситонной зоны E_{ex} и энергии возбуждения примесной молекулы E_f положительна. Тогда при захвате экситона энергия $E_{ex} - E_f$ должна перейти в энергию тепловых колебаний фононов. Согласно расчетам В. М. Аграновича, сечение захвата экситона одной примесной

молекулой определяется выражением

$$\sigma = \frac{\chi^2 R^2 (E_{\text{ex}} - E_t)^2}{\hbar^2 V_a \sqrt{2m^* \Theta}} \left[1 - e^{-\frac{E_{\text{ex}} - E_t}{\Theta}} \right]^{-1},$$

где R — параметр периодичности системы.

В случае низких температур, когда выполняется неравенство $E_{\text{ex}} - E_t > \Theta$, сечение захвата пропорционально $\Theta^{-1/2}$.

22.2. Солитоны в упорядоченных одномерных молекулярных структурах

Если возбуждение перемещается по молекулярной системе со скоростью, меньшей скорости звука, то это движение сопровождается локальной деформацией системы в области возбужденной молекулы. Поэтому при вычислении энергии коллективного возбуждения надо учитывать и энергию смещения молекул из положений равновесия [23, 25, 107].

Оператор энергии таких сложных возбужденных состояний должен содержать оператор энергии внутренних возбуждений (22.2), оператор энергии H_{ph} смещений u_n молекул из равновесных положений и оператор (22.15) взаимодействия внутренних возбуждений и смещений.

Оператор энергии смещений молекул в гармоническом приближении можно записать в виде

$$H_{\text{ph}} = \frac{1}{2} \sum_n \left[\frac{1}{M} p_n^2 + w (u_n - u_{n-1})^2 \right], \quad (22.22)$$

где M — масса молекулы; w — коэффициент упругости линейной цепи; p_n — оператор импульса, канонически сопряженный оператору смещения u_n .

Итак, гамильтониан энергии коллективных возбуждений содержит три слагаемых

$$H_{\text{tot}} = H_{\text{ex}} + H_{\text{ph}} + H_{\text{int}}. \quad (22.23)$$

Возбужденные состояния интересующего нас типа найдем в виде функции

$$|\Psi(t)\rangle = \sum_n a_n(t) e^{i\sigma(t)} B_n^\dagger |0\rangle, \quad (22.24)$$

где функция $|0\rangle$ описывает основное состояние всех молекул, находящихся в равновесных положениях в цепочке;

$$\sigma(t) \equiv -\frac{i}{\hbar} \sum_n [\beta_n(t) p_n - \pi_n(t) u_n]. \quad (22.25)$$

Из условия нормировки функции (22.24) следует

$$\sum_n |a_n(t)|^2 = 1. \quad (22.26)$$

Комплексные функции $a_n(t)$ и вещественные функции $\beta_n(t)$ и $\pi_n(t)$ находятся вариационным методом из условия минимума функционала

$$\Phi(\{a_n, \beta_n, \pi_n\}) \equiv \langle \Psi(t) | H | \Psi(t) \rangle. \quad (22.27)$$

При этом величины $|a_n|^2$ определяют вероятности распределения внутримолекулярных возбуждений по молекулам цепочки.

С помощью (22.23) — (22.25) находим равенства

$$\langle \Psi(t) | u_n | \Psi(t) \rangle = \beta_n(t),$$

$$\langle \Psi(t) | p_n | \Psi(t) \rangle = \pi_n(t),$$

из которых следует, что функции $\beta_n(t)$ и $\pi_n(t)$ характеризуют средние значения смещений и импульсов молекул в состоянии, определяемом функцией (22.24).

Условие минимума функционала (22.27) сводится к решению системы связанных уравнений

$$i\hbar \frac{\partial a_n}{\partial t} = \frac{\partial \Phi}{\partial a_n^*} = [\mathfrak{E}_0 + W + \chi(\beta_{n+1} - \beta_{n-1})] a_n - J(a_{n+1} + a_{n-1}), \quad (22.28)$$

$$\frac{\partial^2 \beta_n}{\partial t^2} + \frac{w}{M} (2\beta_n - \beta_{n+1} - \beta_{n-1}) = \frac{\chi}{M} (|a_{n+1}|^2 - |a_{n-1}|^2).$$

При этом

$$\mathfrak{E}_0 = \varepsilon - D, \quad \pi_n = M \frac{\partial \beta_n}{\partial t},$$

$$W = \frac{1}{2} \sum_n \left[M \left(\frac{\partial \beta_n}{\partial t} \right)^2 + w (\beta_n - \beta_{n-1})^2 \right].$$

Нас будут интересовать только возбуждения, при которых зависимость функций $a_n(t)$, $\beta_n(t)$ от номера молекулы — плавная. Тогда эти функции можно заменить непрерывными функциями $a(\xi, t)$, $\beta(\xi, t)$ от безразмерной переменной $\xi = z/R$ так, чтобы выполнялись равенства

$$a(n, t) = a_n(t), \quad \beta(n, t) = \beta_n(t).$$

В этом континуальном приближении уравнения (22.28) заменяются дифференциальными уравнениями

$$\left[i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - \Lambda + J \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} - 2\chi \frac{\partial \beta(\xi, t)}{\partial \xi} \right] a(\xi, t) = 0, \quad (22.29)$$

$$\left[\frac{\partial^2}{\partial t^2} - v_a^2 \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] \beta(\xi, t) - \frac{2\chi}{M} \frac{\partial}{\partial \xi} |a(\xi, t)|^2 = 0,$$

где $\Lambda = \mathfrak{E}_0 + W - 2J$; $v_a^2 = w/M$. Значение $V_a = v_a R$ определяет скорость продольного звука в цепи молекул. Вместо функции $\beta(\xi, t)$, характеризующей смещение отдельных молекул из их

равновесных положений в невозбужденной цепи, удобно ввести функцию

$$\rho(\xi, t) = -\frac{\partial \beta(\xi, t)}{\partial \xi}, \quad (22.30)$$

характеризующую относительное уменьшение расстояния R между соседними молекулами. Тогда уравнения (22.29) преобразуются к виду

$$\left[i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - \Lambda + J \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + 2\chi \rho(\xi, t) \right] a(\xi, t) = 0, \quad (22.31)$$

$$\left[-\frac{\partial^2}{\partial t^2} - v_a^2 \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] \rho(\xi, t) + \frac{2\chi}{M} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} |a(\xi, t)|^2 = 0. \quad (22.32)$$

Будем искать решения системы уравнений (22.31), (22.32) в виде возмущений, распространяющихся вдоль цепочки со скоростью $V = vR$, т. е. положим

$$\rho(\xi, t) = \rho(\xi - vt), \quad a(\xi, t) = \Phi(\xi - vt) e^{i\gamma(\xi, t)}.$$

Тогда из (22.32) следует

$$\rho(\xi, t) = \frac{2\chi |a(\xi, t)|^2}{w(1-s^2)}, \quad (22.33)$$

где s — отношение скорости распространения возмущения к скорости продольного звука, $s = \frac{v}{v_a} = \frac{V}{V_a} < 1$.

Подставив (22.33) в (22.31), найдем нелинейное уравнение Шредингера, определяющее функции $a(\xi, t)$,

$$\left\{ i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - \Lambda + J \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + G |a(\xi, t)|^2 \right\} a(\xi, t) = 0, \quad (22.34)$$

где параметр нелинейности

$$G = \frac{4\chi^2}{w(1-s^2)}. \quad (22.35)$$

Точное решение уравнения (22.34), нормированное условием (22.26), которое в континуальном приближении имеет вид

$$\int_{-\infty}^{\infty} |a(\xi, t)|^2 d\xi = 1,$$

определяется функцией

$$a(\xi, t) = \frac{\sqrt{\mu} \exp \left\{ i \left[\frac{\hbar v}{2J} (\xi - \xi_0) - E_V t / \hbar \right] \right\}}{\sqrt{2} \operatorname{ch} [\mu (\xi - \xi_0 - vt)]}. \quad (22.36)$$

Подставив это значение в (22.33), находим функцию, характеризующую относительные уменьшения расстояний между молеку-

лами,

$$\rho(\xi, t) = \frac{\chi\mu}{\omega(1-s^2)\operatorname{ch}^2[\mu(\xi - \xi_0 - vt)]}. \quad (22.37)$$

Квадрат модуля

$$|a(\xi, t)|^2 = \frac{\mu}{2\operatorname{ch}^2[\mu(\xi - \xi_0 - vt)]} \quad (22.38)$$

определяет распределение вероятности возбуждения отдельных молекул вдоль цепочки. Значение ξ_0 указывает положение максимальной деформации и наибольшей вероятности возбуждения в момент времени $t = 0$. Согласно (22.37) и (22.38), деформация и возбуждение распространяются вдоль цепочки со скоростью $V = vR$. Параметр

$$\mu = \frac{\chi^2}{\omega J(1-s^2)}$$

в выражениях (22.36) — (22.38) определяет область цепочки Δz , охваченную возбуждением,

$$\Delta z = \pi R / \mu. \quad (22.39)$$

Возбуждения, описываемые функциями (22.36) — (22.39), называются *солитонами*. Солитон, движущийся со скоростью $V = vR$, переносит энергию

$$E_V = E_0 + \frac{1}{2} m_{\text{sol}} V^2,$$

где E_0 — внутренняя энергия солитона,

$$E_0 = \varepsilon - D - 2J - \frac{\chi^4}{3\omega^2 J};$$

m_{sol} — эффективная масса солитона,

$$m_{\text{sol}} = \frac{\hbar^2}{2JR^2} + \frac{4\chi^4 \left(1 + \frac{3}{2}s^2 - \frac{1}{2}s^4\right)}{3\omega^2 JV_a^2(1-s^2)^3}.$$

При всех конечных значениях E_V скорость солитона всегда меньше скорости продольных звуковых волн в молекулярной цепи, т. е. $s \ll 1$. В мягких цепочках (малое значение ω) и при большой связи внутренних возбуждений со смещениями молекул (большое значение χ) эффективная масса экситона очень велика. Поэтому даже при малых скоростях движения кинетическая энергия солитона может быть большой.

Взаимодействие солитонов с электромагнитными волнами при низких температурах исследовалось в работе [26] для случая неподвижных солитонов и в работе [23] для бегущих солитонов. Оказалось, что взаимодействие фотонов с солитонами существенно отличается от их взаимодействия с экситонами.

Поскольку экситоны и фотоны описываются плоскими волнами, их взаимодействие осуществляется при выполнении законов сохранения энергии и импульса. Начальное и конечное состояния системы соответствуют недеформированной цепочке. Солитоны же являются локальными возбуждениями, поэтому при их взаимодействии со светом закон сохранения импульса может не выполняться.

При наличии солитонного возбуждения молекулярная цепочка локально деформируется. После излучения энергии эта локальная деформация должна исчезнуть. Энергия локальной деформации диссипирует в тепловую энергию колебаний молекул в цепочке. Поскольку эта энергия не излучается, то максимум излучения соответствует частоте

$$\omega = \frac{1}{\hbar} E_v - A, \quad (22.40)$$

где A — стоксово смещение,

$$A = \frac{2\pi\chi^4}{3\hbar\omega^2 J}. \quad (22.41)$$

Оно велико в мягких цепочках и при большой связи внутримолекулярных возбуждений со смещениями молекул, которая определяется параметром χ .

Большое стоксово смещение по отношению к частоте поглощения $E_v/\hbar$ позволило бы отличить излучение солитонов от излучения экситонов. К сожалению, вероятность излучения исключительно мала. Согласно вычислениям [23], радиационное время жизни солитонного возбуждения определяется выражением

$$\frac{1}{\tau_{\text{sol}}} = \frac{2\pi^2 R}{3\lambda\mu \text{ch}^2 \left(\frac{2\pi\hbar\nu}{2\mu J} \right)} \frac{1}{\tau_{\text{ex}}}, \quad (22.42)$$

где $\frac{1}{\tau_{\text{ex}}}$ и $\frac{1}{\tau_{\text{sol}}}$ — вероятности излучения экситона и солитона. Вероятность излучения (22.42) максимальна у покоящегося солитона.

Если учесть, что, согласно (22.39), $\Delta Z = \pi R/\mu$ — область, охваченная в молекулярной цепочке возбуждением, то при $\nu = 0$ можно записать

$$\frac{1}{\tau_{\text{sol}}} = \frac{2\pi\Delta z}{3\lambda} \cdot \frac{1}{\tau_{\text{ex}}}, \quad \Delta z = \frac{\pi R\omega J}{\chi^2}. \quad (22.43)$$

Поэтому для мягких цепочек, когда велико стоксово смещение $\Delta z \ll \lambda$, выполняется неравенство

$$\tau_{\text{sol}}^{-1} \ll \tau_{\text{ex}}^{-1}. \quad (22.44)$$

Следовательно, вероятность излучения фотонов солитонами очень мала. Вероятность же образования солитонов под воздействием света еще меньше. Действительно, поглощение фотона при рождении солитона должно сопровождаться локальной деформацией молекулярной цепи, т. е. уменьшением расстояния между молекулами. Такое смещение тяжелых молекул не успевает произойти за время квантового перехода, обусловленного светом частоты, близкой к частоте внутримолекулярных возбуждений. Квантовый переход произойдет в состоянии, при котором молекулы будут оставаться на своих прежних местах (принцип Франка — Кондона). Таким образом, непосредственно светом можно возбуждать только экситоны.

Солитоны могут возбуждаться только при локальных воздействиях. К таким воздействиям относятся химические реакции. Энергия, выделяемая при химической реакции, происходящей на конце молекулярной цепи, приводит к образованию солитона, который будет перемещаться по молекулярной цепи.

22.3. Сравнение свойств солитонов и экситонов

Как было отмечено выше, в одномерных молекулярных системах могут возникать коллективные возбуждения двух типов: экситоны и солитоны. Основные параметры этих коллективных возбуждений указаны в табл. 12.

Таблица 12

Параметр	Экситоны	Солитоны
Внутренняя энергия	$E_{\text{ex}}^0 = \varepsilon - D - 2J$	$E_{\text{sol}}^0 = E_{\text{ex}}^0 - \chi^4/3\omega^2 J$
Эффективная масса	$m_{\text{ex}} = \hbar^2/2JR^2$	$m_{\text{sol}} = m_{\text{ex}} + \frac{4\chi^4 M}{3\omega^2 JR^2}$
Область, охваченная возбуждением	$l_t = \sqrt{l_0^2 + \left(\frac{\hbar t}{m_{\text{ex}} l_0}\right)^2}$ $l_0 = 2\Delta k/\pi$	$l = \pi R \omega J / \chi^2$
Радиационное время жизни при излучении с длиной волны λ	$\tau_{\text{ex}} = \frac{4R}{3\lambda} \tau_0$	$\tau_{\text{sol}} = \frac{3\lambda \chi^2}{2\pi^2 R \omega J} \tau_{\text{ex}}$
Стоксово смещение по частоте	~ 0	$\frac{2\pi \chi^4}{3\omega \hbar J}$

Экситоны перемещаются в цепочке со скоростью, большей скорости продольного звука в цепочке. Поэтому они не успевают вызвать локальную деформацию цепочки. Экситоны переносят только энергию внутримолекулярного возбуждения. Их эффективная масса обратно пропорциональна резонансному взаимодействию. При движении экситоны тормозятся, излучая фононы.

Солитоны представляют собой коллективные возбуждения, перемещающиеся вдоль цепочки со скоростью, меньшей скорости продольных волн. Эти возбуждения являются комбинациями внутримолекулярного и деформационного возбуждений. Образно можно сказать, что солитоны представляют собой связанные состояния внутримолекулярных и деформационных возбуждений. Поэтому внутренняя энергия связанного состояния меньше суммы энергий составляющих его возбуждений. Это одна из основных причин большой устойчивости солитонов. Разрыв этого возбуждения на его составляющие требует затраты энергии.

Вследствие того что движение солитона сопровождается локальной деформацией цепи, его эффективная масса значительно больше эффективной массы экситона. Особенно велика эта разница в мягких цепочках и при большой связи внутренних возбуждений со смещениями молекул. Имея большую эффективную массу, солитоны движутся со скоростями, меньшими скорости звука. Поэтому они не затрачивают свою энергию на излучение фононов.

Исключительно большая устойчивость солитонов и их движение без потерь на излучение фононов напоминает явление сверхпроводимости металлов. Как известно, сверхпроводимость обусловлена спариванием электронов металлов, которое вызывается деформацией решетки кристалла в области электронов. Другими словами, связь электронов с деформацией решетки является причиной отсутствия сопротивления. Сверхпроводящее состояние возникает только в металлах, в которых имеется сильное взаимодействие электронов со смещениями атомов в решетке. Сильное электрон-фононное взаимодействие приводит к большому сопротивлению в нормальном состоянии металла и создает сверхпроводящее состояние без сопротивления при низких температурах, когда эффект спаривания не нарушается.

Впервые представление об особых типах возбуждения — уединенных волнах (позднее они были названы солитонами) — введено Скоттом-Расселом более ста пятидесяти лет назад. Свое открытие он описал следующими восторженными словами [226а]:

«Я наблюдал за движением баржи, которую с большой скоростью тянула по узкому каналу пара лошадей, как вдруг баржа резко остановилась. Но отнюдь не остановилась приведенная ею в движение масса воды в канале. Неистово бурля, она стала собираться вокруг носовой части судна, а затем вдруг, покинув его, с огромной скоростью покатила вперед, приняв форму обособ-

ленного крупного возвышения — округлого, гладкого и резко очерченного скопления воды, которое продолжило свой путь по каналу без сколько-нибудь заметного изменения формы или уменьшения скорости. Я поскакал за ним верхом и, когда нагнал его, оно все еще катило вперед со скоростью восьми-деяти миль в час, сохраняя свою первоначальную форму в виде фигуры фута тридцати длиной и один-полтора фута высотой...

Такой в августе месяце 1834 года оказалась моя первая встреча со столь своеобразным и прекрасным явлением...

Внутренняя энергия солитона меньше внутренней энергии экситона на величину $\chi^4/3w^3J$. Следовательно, образование солитонов энергетически более выгодно, чем образование экситонов.

Солитоны описываются нелинейным уравнением Шредингера, поэтому их колоколообразная форма (22.23), (22.24) не зависит от способа возбуждения. Они формируют сами себя. При движении солитона (при $s < 1$) его форма остается неизменной даже при небольшой потере энергии (если солитон совершает работу против внешних сил). Напротив, форма экситона определяется внешними условиями — распределением $A(k)$ в интервале k_0 — $-\Delta k \leq k \leq k_0 + \Delta k$ в выражении (22.12). С течением времени ширина пакета, в соответствии с (22.14), увеличивается.

При увеличении жесткости решетки ($w \rightarrow \infty$), резонансного взаимодействия и ослаблении связи внутренних возбуждений со смещениями молекул различия в свойствах солитонов и экситонов все более стираются. Эффективная масса солитона приближается к эффективной массе экситона. Уменьшается разность нулевых энергий. Область, охваченная возбуждением в состоянии солитонов, увеличивается.

С другой стороны, в мягких, легко деформируемых цепочках эти возбуждения существенно отличаются друг от друга. Имеются все основания считать, что в α -спиральных белковых молекулах при гидролизе молекул АТФ должны образовываться солитоны. Именно солитоны могут весьма эффективно переносить энергию возбуждения на сравнительно большие расстояния.

22.4. Солитоны в α -спиральных белковых молекулах

Примером молекулярных систем, состоящих из периодически повторяющихся групп атомов, слабо взаимодействующих между собой, являются α -спиральные белковые молекулы, у которых пептидные группы связаны водородными связями в виде трех цепей, располагающихся вдоль молекулы.

При гидролизе молекул АТФ выделяется около 0,54 эВ энергии. Этой энергии недостаточно, чтобы возбудить электронные состояния молекулы. Возможно возбуждение только характеристических вибрационных колебаний. Как известно, такими характерис-

тическими колебаниями в белковых молекулах являются колебания Амид I в пептидных группах. Эти колебания имеют частоту 1660 см^{-1} , что соответствует около $0,21 \text{ эВ}$ энергии. Дипольный момент колебаний также достаточно велик ($\sim 0,3D$) [65], чтобы обеспечить большое резонансное взаимодействие, ведущее к коллективизации возбуждения.

В работах [23, 25, 106, 107] исследованы коллективные возбуждения молекул, соответствующие колебаниям Амид I в пептидных группах, на основе предположения о независимости возбуждений в каждой из трех цепей. В этом случае задача сводится к одномерной молекулярной системе слабо связанных пептидных групп. Такие возбуждения рассмотрены нами в п. 22.2.

Первая попытка исследования возбуждений в трех параллельных взаимодействующих цепочках пептидных групп была принята в работе [26]. Альфа-спиральная молекула белка моделировалась квазиодномерной молекулярной кристаллической структурой с тремя молекулами в элементарной ячейке и с осью вращения третьего порядка. Исследовалось конфигурационное изменение спирали при наличии покоящегося солитона.

В работе [24] исследованы солитонные возбужденные состояния α -спиральных белковых молекул с реальным расположением пептидных групп. Изложим основные результаты этих исследований.

Равновесные положения пептидных групп в α -спиральной молекуле, ось которой совпадает с осью z , можно представить радиусами-векторами

$$R_{n\alpha} = R \left[e_x \cos \frac{2\pi}{p} (3n + \alpha) + e_y \sin \frac{2\pi}{p} (3n + \alpha) \right] + e_z \frac{l}{p} (3n + \alpha), \quad (22.45)$$

где циклический индекс $\alpha = 1, 2, 3$ соответствует трем цепочкам пептидных связей; l — шаг спирали ($5,4 \text{ \AA}$); R — ее радиус ($1,8 \text{ \AA}$) по центрам пептидных групп; $p = 3,6$ — число пептидных групп, приходящихся на один виток спирали; $n = 0, 1, 2, \dots$ — номера ячеек из трех ближайших пептидных групп с разными индексами α . Одна такая ячейка совпадала бы с элементарной кристаллографической ячейкой при $p = 3$. В белковой α -спирали трансляционно эквивалентными будут ячейки с номерами $n, n + 6, n + 9, \dots$, т. е. кристаллографическая элементарная ячейка белковой молекулы содержит 18 пептидных групп.

Будем учитывать лишь основное и одно из возбужденных состояний пептидной группы, соответствующее характеристическому амидному колебанию с энергией ϵ и электрическим дипольным моментом перехода d . Принимая во внимание взаимодействия только ближайших пептидных групп, можно записать оператор энергии коллективных возбужденных состояний белко-

вой молекулы в виде

$$H = \sum_{n\alpha} \{ (\epsilon + D_{n\alpha}) B_{n\alpha}^+ B_{n\alpha} + M_{n\alpha; n+1, \alpha} (B_{n\alpha}^+ B_{n+1, \alpha} + B_{n+1, \alpha}^+ B_{n\alpha}) + \\ + M_{n\alpha; n, \alpha+1} (B_{n\alpha}^+ B_{n, \alpha+1} + B_{n, \alpha+1}^+ B_{n\alpha}) \} + H_{ph}. \quad (22.46)$$

Здесь $B_{n\alpha}^+$ и $B_{n\alpha}$ — операторы рождения и уничтожения возбуждения ϵ на пептидной группе $n\alpha$; $M_{n\alpha; m\beta}$ — энергия резонансного диполь-дипольного взаимодействия между пептидными группами $n\alpha$ и $m\beta$; $D_{n\alpha}$ — деформационная энергия взаимодействия с соседними группами, возникающая при возбуждении пептидной группы $n\alpha$; H_{ph} — оператор смещений из равновесных положений пептидных групп вдоль направлений водородных связей,

$$H_{ph} = \frac{1}{2} \sum_{n\alpha} \left[\frac{1}{M} P_{n\alpha}^2 + w (U_{n\alpha} - U_{n+1, \alpha})^2 \right], \quad (22.47)$$

где M — эффективная масса, перемещающаяся вместе с пептидной группой; w — коэффициент упругости цепочки вдоль водородных связей; $P_{n\alpha}$ — оператор импульса, канонически сопряженный оператору смещения $U_{n\alpha}$ пептидной группы вдоль водородных связей. Изменения длин одинарных химических связей пептидных групп с атомами углерода C_α основной пептидной цепи очень малы, поэтому они не учитываются.

Связь внутренних возбуждений пептидных групп со смещениями молекул обусловлена зависимостью матричных элементов $D_{n\alpha}$ и $M_{n\alpha; m\beta}$ от расстояний между пептидными группами. В линейном по операторам смещений приближении можно написать

$$D_{n\alpha} = D_0 + \chi_1 (U_{n+1, \alpha} - U_{n-1, \alpha}), \\ M_{n\alpha; n+1, \alpha} = -J + \chi_2 (U_{n\alpha} - U_{n-1, \alpha}), \quad (22.48) \\ M_{n\alpha; n, \alpha+1} = L,$$

где χ_1 и χ_2 — параметры связи внутренних возбуждений пептидных групп с их смещениями из положений равновесия; $-J$ — энергия резонансных диполь-дипольных взаимодействий между соседними пептидными группами в одной цепочке; L — энергия такого же взаимодействия между соседними пептидными группами из разных цепочек. Согласно оценкам Н. А. Невской и Ю. Н. Чиргадзе [200], $J = 7,8 \text{ см}^{-1}$, $L = 12,4 \text{ см}^{-1}$.

Волновая функция, описывающая коллективные возбуждения системы с гамильтонианом (22.46), имеет вид

$$|\Psi(t)\rangle = \sum_{n\alpha} a_{n\alpha}(t) e^{i\sigma(t)} B_{n\alpha}^+ |0\rangle. \quad (22.49)$$

Здесь $|0\rangle$ — функция, характеризующая состояние, в котором все пептидные группы находятся в основном состоянии и отсутству-

ют колебательные возбуждения, соответствующие их смещениям из равновесных положений;

$$\sigma(t) = -\frac{i}{\hbar} \sum_{n\alpha} [\beta_{n\alpha}(t) P_{n\alpha} - \pi_{n\alpha}(t) U_{n\alpha}].$$

Условие нормировки функции (22.49) сводится к равенству

$$\sum_{n\alpha} |a_{n\alpha}(t)|^2 = 1. \quad (22.49a)$$

Квадрат модуля коэффициентов $a_{n\alpha}(t)$ в (22.49) характеризует вероятность распределения возбуждения по пептидным группам $n\alpha$ в состоянии коллективного возбуждения, описываемого функцией (22.49). Функции $\beta_{n\alpha}(t)$ и $\pi_{n\alpha}(t)$ характеризуют средние значения смещений пептидных групп $n\alpha$ и их канонически сопряженных импульсов в состоянии (22.49).

Комплексные $a_{n\alpha}(t)$ и вещественные $\beta_{n\alpha}(t)$, $\pi_{n\alpha}(t)$ функции вычисляются из условия минимума функционала

$$\langle \Psi(t) | H | \Psi(t) \rangle,$$

где H определено выражением (22.46), а $\Psi(t)$ — выражением (22.49).

Из условия минимума этого функционала получаем систему уравнений

$$i\hbar \frac{\partial a_{n\alpha}}{\partial t} = [\xi_0 + W + \chi_1 (\beta_{n+1,\alpha} - \beta_{n-1,\alpha})] a_{n\alpha} - J (a_{n-1,\alpha} + a_{n+1,\alpha}) + \\ + L (a_{n,\alpha+1} + a_{n,\alpha-1}) + \chi_2 [\beta_{n+1,\alpha} a_{n+1,\alpha} - \\ - \beta_{n-1,\alpha} a_{n-1,\alpha} - \beta_{n\alpha} (a_{n+1,\alpha} - a_{n-1,\alpha})], \quad (22.50)$$

$$M \frac{\partial^2 \beta_{n\alpha}}{\partial t^2} = w (\beta_{n+1,\alpha} + \beta_{n-1,\alpha} - 2\beta_{n\alpha}) + \chi_1 (|a_{n+1,\alpha}|^2 - |a_{n-1,\alpha}|^2) + \\ + \chi_2 [a_{n\alpha}^* (a_{n+1,\alpha} - a_{n-1,\alpha}) + (a_{n+1,\alpha}^* - a_{n-1,\alpha}^*) a_{n\alpha}],$$

где W — средняя энергия смещений молекул из равновесных положений,

$$W = \frac{1}{2} \sum_{n\alpha} \left[M \left(\frac{\partial \beta_{n\alpha}}{\partial t} \right)^2 + w (\beta_{n\alpha} - \beta_{n-1,\alpha})^2 \right];$$

$\xi_0 = \varepsilon - D$ — энергия возбуждения пептидной группы с учетом деформационного потенциала.

Интересуясь так же, как в случае линейных молекулярных систем, только возбуждениями, в которых функции $a_{n\alpha}(t)$, $\beta_{n\alpha}(t)$ плавно зависят от номера n , можно заменить их непрерывными функциями $a_\alpha(\xi, t)$, $\beta_\alpha(\xi, t)$ от безразмерной переменной ξ , выбрав так, чтобы при $\xi = n$ выполнялись равенства

$$a_\alpha(n, t) = a_{n\alpha}, \quad \beta_\alpha(n, t) = \beta_{n\alpha}.$$

В этом приближении система уравнений (22.50) преобразуется в систему дифференциальных уравнений

$$\begin{aligned} \left\{ i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - [\xi_0 + W - 2J] - 2\chi \frac{\partial \beta_\alpha}{\partial \xi} \right\} a_\alpha + J \frac{\partial^2 a_\alpha}{\partial \xi^2} - \\ - L(a_{\alpha+1} + a_{\alpha-1}) = 0, \\ \left[\frac{\partial^2}{\partial t^2} - v_\alpha^2 \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] \beta_\alpha = \frac{2\chi}{M} \frac{\partial}{\partial \xi} |a_\alpha|^2, \end{aligned} \quad (22.51)$$

где

$$\chi = \chi_1 + \chi_2, \quad v_\alpha^2 = w/M.$$

Наряду с функциями $\beta_\alpha(\xi, t)$, характеризующими смещения пептидных групп из равновесных положений, удобно рассмотреть функции

$$\rho_\alpha(\xi, t) = - \frac{\partial \beta_\alpha(t)}{\partial \xi}, \quad (22.52)$$

определяющие изменение расстояний между пептидными группами. С учетом (22.52) уравнения (22.51) преобразуются к виду

$$\begin{aligned} \left\{ i\hbar \frac{\partial}{\partial t} - [\xi_0 + W - 2J] + J \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} + 2\chi \rho_\alpha(\xi, t) \right\} a_\alpha(\xi, t) = \\ = L[a_{\alpha+1}(\xi, t) + a_{\alpha-1}(\xi, t)], \\ \left[\frac{\partial^2}{\partial t^2} - v_\alpha^2 \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} \right] \rho_\alpha(\xi, t) = - \frac{2\chi}{M} \frac{\partial^2}{\partial \xi^2} |a_\alpha(\xi, t)|^2. \end{aligned} \quad (22.53)$$

Решение системы уравнений, изображающее перемещение возбуждения вдоль белковой молекулы с постоянной скоростью, можно искать в виде

$$\begin{aligned} a_\alpha(\xi, t) = A_\alpha \Phi(\xi - vt) \exp \{ i [Q(\xi - \xi_0) - E_v t / \hbar] \}, \\ \rho_\alpha(\xi, t) = \rho_\alpha(\xi - vt). \end{aligned}$$

Условия нормировки (22.49а) теперь принимают вид

$$\sum_\alpha |A_\alpha|^2 = 1, \quad \int_{-\infty}^{\infty} \Phi^2(\xi - vt) d\xi = 1.$$

Уравнения (22.53) удовлетворяются, если функция $\Phi(\xi - vt)$ является решением нелинейного уравнения

$$JA_\alpha \frac{\partial^2 \Phi}{\partial \xi^2} + \{ \Lambda A_\alpha - L(A_{\alpha+1} + A_{\alpha-1}) \} \Phi + G_s |A_\alpha|^2 A_\alpha \Phi^3 = 0 \quad (22.54)$$

при значениях

$$\begin{aligned} \Lambda \equiv E_v - \xi_0 - W + 2J - \frac{\hbar^2 v^2}{2J}, \\ G_s = 4\chi^2/w(1 - s^2). \end{aligned}$$

Полагая

$$\Phi(\xi - vt) = \frac{\sqrt{\mu}}{\sqrt{2} \operatorname{ch} [\mu(\xi - \xi_0 - vt)]} \quad (22.55)$$

получаем следующую систему уравнений, с помощью которой определяются энергии коллективных возбуждений E_v , параметр μ и коэффициенты A_α ($\alpha = 1, 2, 3$):

$$\begin{aligned} (\Lambda - \mu^2 J) A_\alpha - L(A_{\alpha+1} + A_{\alpha-1}) &= 0, \\ A_\alpha (G_\alpha |A_\alpha|^2 - 4\mu J) &= 0, \quad \sum_\alpha |A_\alpha|^2 = 1. \end{aligned} \quad (22.56)$$

По найденным значениям A_α, μ, E_v определим функции a_α, ρ_α и β_α с помощью равенств

$$\begin{aligned} a_\alpha &= A_\alpha \Phi(\xi - vt) \exp \left\{ i \left[\frac{\hbar v}{2J} (\xi - \xi_0) - E_v t / \hbar \right] \right\}, \\ \rho_\alpha &= \frac{2\chi |A_\alpha|^2}{w(1-s^2)} \Phi^2(\xi - vt), \\ \beta_\alpha &= \frac{\chi |A_\alpha|^2}{w(1-s^2)} \{1 - \operatorname{th} [\mu(\xi - \xi_0 - vt)]\}, \end{aligned} \quad (22.57)$$

где $z_0 = 3l/p$ — расстояние по оси z спирали между пептидными группами, входящими в цепочку.

Энергия коллективного возбуждения $E_v = E_0 + \frac{1}{2} m_{\text{sol}} V^2$ выражается через их нулевую энергию E_0 и эффективную массу m_{sol} .

Система уравнений (22.56) имеет два типа решений, которым соответствуют два типа коллективных возбужденных состояний в α -спиральной белковой молекуле, которые мы будем называть *симметричными* и *несимметричными солитонами*.

Симметричные солитоны. В этом случае¹

$$\begin{aligned} A_{1c} &= A_{2c} = A_{3c} = 1/\sqrt{3}, \quad \mu_c = \chi^2 [3wJ(1-s^2)]^{-1}, \\ E_{0c} &= \xi_0 - 2J + 2L - \chi^4/27w^2J, \\ m_{\text{sol}}^c &= \frac{\hbar^2}{2Jz_0^2} + \frac{4\chi^4 \left(1 + \frac{3}{2}s^2 - \frac{1}{2}s^4\right)}{27w^2z_0^2v_\sigma^2J(1-s^2)^3}. \end{aligned} \quad (22.58)$$

Несимметричные солитоны. В этом случае имеется двухкратное вырождение

$$A_{1nc} = 0, \quad A_{2nc} = -A_{3nc} = 1/\sqrt{2}.$$

¹ К этому же типу решений относятся значения $A_1 = A_2 e^{-i2\pi/3} = A_3 e^{-i4\pi/3} = 1/\sqrt{3}$. Им соответствуют солитоны с теми же μ_c и m_{sol}^c и нулевой энергией $E_{01}^c = \xi_0 - 2J + L - \chi^4/27w^2J$.

При этом

$$\begin{aligned}\mu_{\text{HC}} &= \chi^2 [2wJ (1 - s^2)]^{-1}, \\ E_0^{\text{HC}} &= \xi_0 - 2J - L - \chi^4/12w^2J, \\ m_{\text{sol}}^{\text{HC}} &= \frac{\hbar^2}{2z_0^2J} + \frac{\chi^4 \left[1 + \frac{3}{2}s^2 - \frac{1}{2}s^4 \right]}{3w^2z_0^2v_a^2J (1 - s^2)^3}.\end{aligned}\quad (22.59)$$

Сравнивая значения (22.58) и (22.59), убеждаемся, что выполняются неравенства

$$\begin{aligned}E_0^c - E_0^{\text{HC}} &= 3L + \frac{5\chi^4}{108w^2J} > 0, \\ m_{\text{sol}}^{\text{HC}} - m_{\text{ol}}^c &= \frac{5\chi^4 \left[1 + \frac{3}{2}s^2 - \frac{1}{2}s^4 \right]}{27w^2z_0^2v_a^2J (1 - s^2)^3}.\end{aligned}$$

Кроме того,

$$\mu_c = \frac{2}{3} \mu_{\text{HC}}.$$

Таким образом, несимметричный солитон имеет меньшую нулевую энергию, большую эффективную массу и большую компактность. Следовательно, несимметричные солитоны в α -спиральных белковых молекулах более устойчивы. Они могут переносить энергию возбуждения без потерь на значительные расстояния.

В работе [24] получены следующие выражения для радиационного времени жизни симметричных и несимметричных солитонов:

$$\begin{aligned}\tau_c &\approx \frac{2\mu_c \text{ch}^2 (\pi\hbar v/4\mu_c J)}{3\pi^2 \cos^2 \delta} \tau_0, \\ \tau_{\text{HC}} &\approx \frac{2\mu_{\text{HC}} \text{ch}^2 (\pi/6\mu_{\text{HC}})}{1.94\pi^2 \sin^2 \delta} \tau_0,\end{aligned}\quad (22.60)$$

где $\tau_0 \approx 7 \cdot 10^{-3}$ с — радиационное время жизни возбуждения Амид I на изолированной пептидной группе; $\delta = 30^\circ$ — угол между осью спирали и дипольным моментом колебания.

Из (22.60) следует, что радиационное время жизни симметричных солитонов возрастает с увеличением их скорости. Радиационное время жизни несимметричных солитонов не зависит от скорости и сильно возрастает при уменьшении угла δ . Значение π/μ_{HC} определяет число пептидных групп, охваченных возбуждением. Если $\pi/\mu_{\text{HC}} = 3$, то, согласно (22.60), радиационное время жизни несимметричных солитонов, соответствующих колебаниям Амид I, равно 0,5 с, если же $\pi/\mu_{\text{HC}} = 6$, то $\tau_{\text{HC}} \approx 41$ с.

Итак, все сказанное выше подтверждает, что несимметричные солитоны являются идеальными переносчиками энергии гидролиза

молекул АТФ вдоль α -спиральных белковых молекул без существенных потерь.

В 1973 г. в Нью-Йорке состоялась конференция [138], посвященная исследованию механизма транспорта энергии в биологических системах. На конференции обсуждались такие вопросы: имеется ли кризис в биоэнергетике; какова природа кризиса; как может быть разрешен этот кризис.

Учитывая малую энергию, выделяемую при гидролизе молекул АТФ, ряд выступавших (Кларк, Грин, Штауб, Шоет) высказали мнение, что в биологических системах переносится вибрационная энергия характеристических колебаний $C=O$ в пептидных группах. Однако Вебер и другие оспаривали это утверждение, считая, что время жизни вибрационных возбуждений (10^{-12} с) слишком мало, чтобы они могли участвовать в переносе возбуждения.

Мы видим, что представление о переносе вибрационного возбуждения $C=O$ в форме антисимметричных солитонов снимает это возражение. Антисимметричные солитоны исключительно устойчивы и не передают свою энергию непосредственно тепловым колебаниям. В некотором смысле движение таких солитонов напоминает движение электронов в сверхпроводящем состоянии металла.

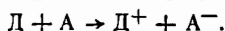
§ 23. Транспорт электронов в биологических системах

Многие биологические явления — функционирование цепей электронного транспорта в митохондриях, хлоропластах и хроматофорах, прохождение нервного импульса и другие — связаны с перемещением электрических зарядов: электронов и ионов. В отличие от переноса энергии нейтральными возбуждениями (экситонами, солитонами, фононами) перенос электрических зарядов возможен только при наличии электрических полей или градиентов концентраций.

Напряженность электрического поля направлена против градиента электрического потенциала ϕ . Вследствие потенциального характера электростатических взаимодействий выделяемая и поглощаемая при перемещении электрона энергия зависит только от разности потенциалов и не зависит от пути, по которому перемещается электрон. Перемещение электрона, имеющего отрицательный электрический заряд — e , из точки с потенциалом ϕ_1 в точку с потенциалом ϕ_2 связано с выделением энергии $e(\phi_2 - \phi_1)$, если $\phi_2 > \phi_1$. Движение в противоположном направлении требует затраты соответствующей энергии.

Если отсутствуют внешние источники (свет, тепловая энергия и др.), то перемещение электронов от одной молекулы к другой происходит в результате окислительно-восстановительных

реакций. В таких реакциях одна молекула — донор (Д) — теряет электрон, а другая молекула — акцептор (А) — приобретает электрон. Следовательно, окислительно-восстановительную реакцию можно изобразить формулой



Поскольку все биологические явления происходят не в вакууме, а в водной среде, содержащей различные ионы при разных концентрациях, то в процессах переноса электронов играет существенную роль среда и температура. Поэтому процессы переноса электронов в цитоплазме или другой среде (например, внутри мембран) определяются разностью свободных энергий начальных и конечных продуктов.

В стандартных физиологических условиях ($T \approx 25^{\circ} \text{C}$, $\text{pH} 7$, все концентрации одномолярны) каждая окислительно-восстановительная пара (Д + А) характеризуется стандартным окислительно-восстановительным или редокс-потенциалом (см. табл. 9), который выражается в вольтах. Во всех таблицах редокс-потенциал окислительно-восстановительных пар указывается по отношению к редокс-потенциалу реакции $\text{H}_2 \rightarrow \text{H}^{+} + \text{H}^{+}$, который принимается равным 0,42 В. Физический смысл имеет только разность редокс-потенциалов. В случае, если реагируют друг с другом две окислительно-восстановительные пары с известными стандартными редокс-потенциалами, для получения значения изменения стандартной свободной энергии надо из редокс-потенциала донора вычесть редокс-потенциал акцептора.

Перенос электрона от донора к акцептору связан с существенной перестройкой электронной структуры и некоторыми конформационными преобразованиями в системе. Скорость перехода определяется молекулярным механизмом самого процесса и температурой. Выяснению механизма электронного транспорта посвящено много экспериментальных и теоретических работ. Ниже мы рассмотрим некоторые из них.

23.1. Туннельный перенос электронов

Установлено, что темновой перенос электронов между соседними компонентами в цепи электронного транспорта в хлоропластах и хроматофорах происходит с заметной скоростью даже при гелиевых температурах. Это имеет место, например, при переносе электронов от цитохрома *c* к фотосинтезирующему центру P_{890} у серных пурпурных бактерий и от цитохрома *f* к фотосинтезирующему центру P_{700} у высших фотосинтезирующих организмов.

Низкотемпературный перенос электронов может осуществляться механизмом квантово-механического туннелирования. Впервые такое предположение было сделано в работе Де Волта и Чанса

{109} в 1960 г. Детальное исследование температурной зависимости времени переноса электрона от цитохрома на бактериохлорофилл показало, что в интервале $T = 30 \div 130$ К скорость переноса не зависит от температуры, а при $T > 130$ К скорость переноса экспоненциально возрастает с повышением температуры. Для объяснения такой зависимости авторы предположили, что перенос электрона осуществляется двумя механизмами: независимым от температуры туннельным переносом и экспоненциально зависящим от температуры надбарьерным переносом.

Принимая для скорости надбарьерного переноса простую зависимость $\exp\left(-\frac{\Delta V}{kT}\right)$, а для скорости переноса, обусловленного туннельным эффектом, выражение, заимствованное из теории α -распада, Де Волт и Чанс получили значение высоты барьера, приблизительно равное 0,14 эВ. При этом ширина барьера оказалась очень большой (~ 70 Å). Эти значения было трудно согласовать с другими данными.

В 1967 г. Чанс с сотрудниками высказали гипотезу, что весь процесс переноса электронов в интервале температур 4—300 К определяется туннельным механизмом. Наблюдаемую в эксперименте температурную зависимость они объяснили тем, что переход электрона может происходить и из вибронного состояния донора, включающего внутримолекулярное колебание энергии 0,14 эВ.

Возможность механизма туннельного переноса электронов в биологических структурах была исследована Гутманом [140]. Наиболее полное и подробное теоретическое исследование возможности туннельного переноса электронов между компонентами цепи электронного транспорта в хлоропластах и хроматофорах было выполнено Л. Н. Григоровым и Д. С. Чернавским [14] и Л. А. Блюменфельдом и Д. С. Чернавским [84]. Обзор современного состояния этого вопроса изложен достаточно полно в монографии Н. М. Чернавской и Д. С. Чернавского [61].

В основе теоретических исследований процесса туннелирования в биологических системах лежит представление, что перенос электрона между двумя соседними молекулами можно описать в одноэлектронном приближении, рассматривая туннельный переход электрона между двумя одномерными потенциальными ямами, разделенными потенциальным барьером той или иной формы.

Чтобы приблизить такую модель к реальным биологическим условиям, приходится вводить представление о колебательных подуровнях в потенциальных ямах, учитывать взаимодействие электрона с колебаниями разного типа в окружающей среде, обеспечивающими релаксационные процессы, без которых однонаправленный перенос электрона невозможен.

При теоретическом исследовании переноса электронов от цитохрома к реакционному центру при фотосинтезе Л. Н. Григоров и Д. С. Чернавский [14] показали, что, учитывая возбуждения нормальных колебаний среды и излучения фоонов, можно объяснить температурную зависимость скорости переноса, экспериментально найденную в работе [109]. Все эти вопросы достаточно полно изложены в монографии [61].

23.2. Роль белков в процессе электронного транспорта на большие расстояния

При исследовании ряда биологических явлений установлено, что перенос электронов без участия переносчиков осуществляется на расстояния, превышающие 30—70 Å. Так, например, в процессе разделения зарядов между фотодонором и первичным рецептором электронов в фотосинтезирующих центрах бактерий происходит перенос электронов на расстояния порядка 30—40 Å. Перенос электронов на такие большие расстояния трудно объяснить простым механизмом туннелирования.

К сожалению, процесс переноса электронов обычно изучался в белковых системах, детальная молекулярная структура которых неизвестна. Для выяснения молекулярного механизма процесса переноса электронов крайне важны исследования процессов переноса между молекулами с известной молекулярной структурой.

Удобной моделью для изучения механизма переноса электрона в гемосодержащих белках оказалась окислительно-восстановительная реакция между феррицитохромом *c* и ферропроизводными миоглобина. Впервые окисление оксимиоглобина (MbO_2) цитохромом *c* наблюдали японские ученые в 1964 г. Детальное исследование процесса переноса электрона в гемопротеинах проведено Б. П. Атанасовым, Г. Б. Постниковой, Ю. Х. Садыковым и М. В. Волькенштейном [3].

В результате исследований установлено, что перенос электрона от оксимиоглобина к цитохрому *c* осуществляется без участия переносчиков при непосредственном контакте гемопротеинов. Активным местом присоединения цитохрома *c* к миоглобину является поверхность миоглобина, на которую выступают His — A10 и His — 6H1. Следовательно, процесс переноса электрона с цитохрома *c* на молекулу миоглобина осуществляется вблизи ее N-конца. Этот конец удален от гема на расстояние 25 Å. Таким образом, проведенные исследования показали, что перенос электрона происходит между атомами железа гемов двух молекул, расположенных на расстоянии, превышающем 25—32 Å. Учитывая этот результат, авторы работы [3] приходят к такому заключению: «Маловероятно, что перенос электрона на таких расстояниях осуществляется по туннельному механизму».

Одно из возможных объяснений переноса электрона на столь большие расстояния связано с предположением, что процесс переноса облегчается участием белковых молекул между донором и акцептором электронов.

Вопрос о возможности перемещения электронов по белковым цепям обсуждается в литературе уже длительное время. Так, например, Сент-Дьердьи [235, 236] в 1941 г. высказал предположение, что белковые структуры могут обладать полупроводниковыми свойствами, в частности иметь зоны проводимости, по которым могли бы мигрировать электроны и дырки.

Идея о рассмотрении гигантских молекул биополимеров как твердых тел впервые высказана Йорданом [171]. Он пришел к заключению, что вследствие взаимодействия регулярно расположенных групп атомов в больших молекулах образуются энергетические зоны и становится возможной миграция энергии на большие расстояния.

Первые квантово-механические расчеты одноэлектронных энергетических состояний в биополимерах с помощью метода молекулярных орбит были выполнены в 1949 г. Эвансом и Гергели [125]. Они исследовали энергетическую структуру линейной системы пептидных групп, связанных водородными взаимодействиями. В изолированной пептидной группе имеется три дискретных уровня для четырех π -электронов. При учете связи между пептидными группами в цепочке, содержащей N групп, три дискретных уровня превращаются в три энергетические зоны, содержащие по N подуровней. Все состояния двух нижайших зон заняты 4 N электронами по два с противоположными спинами в каждом состоянии. Верхняя из этих двух зон называется *валентной зоной*. Третья зона не содержит электронов и называется *зоной проводимости*.

Согласно расчетам Эванса и Гергели, энергетическое расстояние между верхним заполненным подуровнем валентной зоны и нижним подуровнем зоны проводимости (т. е. ширина запрещенной зоны) оказалось равным 3,05 эВ. Ширина зоны проводимости и ширина валентной зоны соответственно равны 0,26 эВ и 0,12 эВ. Многочисленные более поздние теоретические исследования, проведенные Ито, Пульманом, Ладиком и другими, также приводили к значениям ширины запрещенной зоны порядка 4—6 эВ при ширине зоны проводимости 0,5—1,5 эВ.

Все теоретические расчеты энергетических зон белковых молекул основаны на больших упрощениях. Поэтому они не могут претендовать на точные количественные результаты. Из данных о спектрах поглощения белковых молекул следует, что ширина запрещенной зоны не меньше 4,8 эВ.

Большая энергетическая щель между валентной зоной и пустой зоной проводимости исключает возможность электронной

проводимости белков в темновых условиях. Белки являются диэлектриками, а не полупроводниками.

Ряд авторов в последнее время высказали предположение, что белки могут осуществлять перенос внешних электронов, поступающих от донорной молекулы, присоединенной к белковой молекуле. Предполагают, что если такой электрон попадает в зону проводимости, то он может перемещаться в зоне. Другая возможность перемещения заряда может осуществляться, если акцептор захватывает электрон из валентной зоны. В этом случае образовавшаяся дырка может перемещаться по валентной зоне в виде положительного заряда. Эти возможности отмечались в работах [235, 236].

Представление о движении электронов по белкам использовалось Коупом [102] для объяснения скорости окислительно-восстановительных реакций, осуществляемых ферментами. Донорно-акцепторная модель переноса электронов в белках предложена Е. Г. Петровым, И. И. Украинским, В. Н. Харкяненом [217]. Они исследовали процесс перехода электрона донорной группы, имеющей энергию вблизи дна вакантной зоны, через зону к пространственно удаленному акцептору. Наряду с подбарьерным переносом электрона исследовался процесс теплового заброса электрона в зону проводимости с последующим его переходом к акцептору. К сожалению, введение представления о больцмановском распределении электронов по подуровням зоны проводимости и учет их взаимодействия с вибрационными степенями свободы неоправданно усложнили теорию.

Представление о реальном движении лишнего электрона в зоне проводимости белков встречает затруднения. Боковые цепи различного типа нарушают трансляционную симметрию, поэтому белковая молекула должна содержать большое число ловушек для электрона. Роль ловушек будет мало существенной только при достаточно высокой температуре, но тогда на первый план выступают процессы рассеяния электронов на вибрационных степенях свободы.

Ниже, частично следуя работе [217], на простейшей модели рассмотрим влияние α -спиральной белковой молекулы на перенос электронов между донором и акцептором. Предположим, что энергетические состояния α -спиральной молекулы, состоящей из N ($\gg 1$) пептидных групп, расположенных на расстоянии a друг от друга, описываются гамильтонианом

$$H_0 = \sum_n \left\{ \varepsilon B_n^+ B_n - \frac{1}{2} L (B_n^+ B_{n+1} + B_{n+1}^+ B_n) \right\}, \quad (23.1)$$

где ε — энергия наиболее слабо связанного электрона в пептидной группе; n — номер пептидной группы в молекуле; $\frac{1}{2} L$ —

энергия взаимодействия электронов соседних пептидных групп.

Пусть оператор энергии донорной молекулы, присоединенной к группе n_1 , имеет вид

$$H_D = \varepsilon_1 C_{n_1}^+ C_{n_1}, \quad \varepsilon_1 < \varepsilon. \quad (23.2)$$

Взаимодействие между донорной молекулой и пептидной группой можно записать в виде

$$H_{int} = \delta_1 (B_{n_1}^+ C_{n_1} + B_{n_1} C_{n_1}^+). \quad (23.3)$$

Операторы $B_n^+ B_n$ характеризуют состояние, в котором электрон находится на уровне ε пептидной группы номера n , $C_{n_1}^+ C_{n_1}$ — состояние, в котором электрон занимает уровень ε_1 донорной молекулы. Операторы $B_n^+ B_m$ определяют переходы электрона с группы m на группу n ; $C_{n_1} B_{n_1}^+$ — переход электрона с донора на пептидную группу.

Поскольку исследуется состояние одного электрона в системе, должно выполняться равенство

$$C_{n_1}^+ C_{n_1} + \sum_n B_n^+ B_n = 1. \quad (23.4)$$

Все другие электроны и ядра атомов системы определяют конфигурацию цепочки и значения параметров ε , ε_1 , δ_1 и L нашей модели.

Итак, состояние наиболее слабо связанного электрона в нашей системе (донор + белковая молекула) определяется гамильтонианом

$$H = H_0 + H_D + H_{int}. \quad (23.5)$$

С помощью канонического преобразования

$$B_n = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_k e^{-ikna} A_k, \quad A_k = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_n e^{ikna} B_n \quad (23.6)$$

можно привести (23.5) к виду

$$H = \sum_k [\varepsilon A_k^+ A_k + V_{n_1}(k) C_{n_1}^+ A_k + V_{n_1}^*(k) C_{n_1} A_k^+] + \varepsilon_1 C_{n_1}^+ C_{n_1}, \quad (23.7)$$

где k — волновое число, пробегающее N равноотстоящих значений в интервале $-\frac{\pi}{2a} < k \leq \frac{\pi}{2a}$; ε_k — энергия N подуровней зоны проводимости;

$$\varepsilon_k = \varepsilon - L \cos ka; \quad (23.8)$$

L — полуширина зоны проводимости;

$$V_{n_1}(k) = \frac{\delta_1}{\sqrt{N}} \exp(-ikn_1 a). \quad (23.9)$$

Волновую функцию системы запишем в виде

$$|\Psi_{n_1}\rangle = \left(u_1 C_{n_1}^+ + \sum_k u_k A_k^+ \right) |0\rangle, \quad (23.10)$$

где $|0\rangle$ — состояние системы без электрона; $A_k^+ |0\rangle$ — состояние, в котором электрон находится на k -м подуровне зоны проводимости; $C_{n_1}^+ |0\rangle$ — состояние, в котором электрон находится на уровне ε_1 донорной молекулы. Из условия нормировки функции (23.10) следует равенство

$$|u_1|^2 + \sum_k |u_k|^2 = 1. \quad (23.11)$$

Неизвестные функции u_1 и u_k в (23.10) и энергия E системы определяются из условия минимума функционала

$$J \equiv \langle \Psi_{n_1} | H | \Psi_{n_1} \rangle.$$

Подставив сюда функцию (23.10) и (23.7), убедимся, что нахождение минимума J сводится к решению системы уравнений

$$\begin{aligned} (\varepsilon_k - E) u_k + V_{n_1}^*(k) u_1 &= 0, \\ \sum_k V_{n_1}(k) u_k + (\varepsilon_1 - E) u_1 &= 0. \end{aligned} \quad (23.12)$$

Из условия нетривиальной разрешимости системы уравнений (23.12) получаем уравнение

$$\varepsilon_1 - E = \frac{\delta_1^2}{N} \sum_k (\varepsilon_k - E)^{-1}, \quad (23.13)$$

определяющее $N + 1$ энергетических уровней E системы. Каждому такому значению E соответствуют равенства

$$(E - \varepsilon_k) u_k(E) = V_{n_1}^* u_1(E), \quad (23.14)$$

которые вместе с (23.11) позволяют определить значения $u_k(E)$, $u_1(E)$. В частности,

$$u_1(E) = [1 + \delta_1^2 (E - \varepsilon_k)^{-2}]^{-1}. \quad (23.15)$$

При выполнении неравенства $\varepsilon - E > L$, после перехода в (23.13) от суммирования по k к интегрированию, получаем

$$\varepsilon_1 - E = \frac{\delta_1^2}{\sqrt{(E - \varepsilon)^2 - L^2}}. \quad (23.16)$$

Из $N + 1$ уровней, определяемых уравнением (23.13), нас интересует только нижайший уровень E_1 . Его энергия мало отличается от ε_1 , поэтому, полагая $E_1 = \varepsilon_1 - \xi$, при $|\varepsilon - \varepsilon_1| > \xi$ из (23.16) находим $\xi = \delta_1^2 / \sqrt{(\varepsilon - \varepsilon_1)^2 - L^2}$. Следовательно, энергия электронного уровня донора, взаимодействующего с белковой

молекулой, принимает значение

$$E_1 = e_1 - \delta_1^2 / \sqrt{(e - e_1)^2 - L^2}. \quad (23.17)$$

Волновая функция, соответствующая состоянию электрона с энергией E_1 , согласно (23.10) и (23.14) имеет вид

$$|\Psi_{n_1}^1\rangle = u_1(E_1) \left(C_{n_1}^+ + \sum_k \frac{V_{n_1}^* A_k^+}{E_1 - e_k} \right) |0\rangle.$$

Подставляя значение (23.9) и переходя, согласно (23.6), к операторам B_n^+ , можно записать функцию $|\Psi_{n_1}^1\rangle$ в координатном представлении:

$$|\Psi_{n_1}^1(r)\rangle = u_1(E_1) \left\{ \varphi_D(r - n_1 a) + \frac{\delta_1}{N} \sum_{h,n} \frac{e^{ik(n_1-n)a} \varphi_n(r - na)}{E_1 - e_k} \right\},$$

где φ_D и φ_n — волновые функции электрона в свободной донорной молекуле и в пептидной группе номера n ;

$$\varphi_D(r - n_1 a) \equiv C_{n_1}^+ |0\rangle, \quad \varphi_n(r - na) \equiv B_n^+ |0\rangle.$$

После замены суммирования по k интегрированием волновая функция $|\Psi_{n_1}^1(r)\rangle$ преобразуется в виду

$$|\Psi_{n_1}^1\rangle = u_1(E_1) \left\{ \varphi_D(r - n_1 a) + \delta_1 \sum_n \frac{e^{-\Lambda_1 |n_1 - n|} \varphi_n(r - na)}{\sqrt{(e - E_1)^2 - L^2}} \right\}, \quad (23.18)$$

где

$$\Lambda_1 = \ln \frac{L}{e - E_1 - \sqrt{(e - E_1)^2 - L^2}}. \quad (23.19)$$

Таким образом, вследствие взаимодействия с белковой молекулой, волновая функция донорной молекулы становится отличной от нуля на протяжении всей белковой молекулы. Вклад в эту функцию от удаленных участков экспоненциально уменьшается при возрастании $|n_1 - n|$. Значения параметра Λ_1 для белков с шириной запрещенной зоны 3,5 эВ и полушириной 0,5 эВ при различных значениях E_1 следующие:

E_1 эВ	3,00	3,20	3,40	3,45	3,48
Λ_1	3,84	2,78	1,85	1,56	1,32

Предположим теперь, что наряду с донорной молекулой, присоединенной к n_1 пептидной группе, к узлу n_2 присоединена акцепторная молекула, имеющая вибранный уровень возбуждения с энергией e_2 . Тогда гамильтониан систем (донор, белковая

молекула, акцептор) можно записать в виде

$$H = \sum_k \{ \epsilon_k A_k^+ A_k + \epsilon_1 C_{n_1}^+ C_{n_1} + \epsilon_2 C_{n_2}^+ C_{n_2} + \\ + (V_{n_1}(k) C_{n_1}^+ A_k + V_{n_2}(k) C_{n_2}^+ A_k + \text{арм. сопр.}) \}, \quad (23.20)$$

где

$$V_{n_i}(k) = \frac{\delta_i}{\sqrt{N}} \exp(-ikn_{2i}a). \quad (23.20a)$$

Волновая функция стационарных состояний выбирается в виде

$$|\Psi\rangle = (u_1 C_{n_1}^+ + u_2 C_{n_2}^+ + \sum_k u_k A_k^+) |0\rangle \quad (23.21)$$

при условии нормировки

$$|u_1|^2 + |u_2|^2 + \sum_k |u_k|^2 = 1. \quad (23.22)$$

Неизвестные функции u_1 , u_2 , u_k и энергии E определяются системой однородных уравнений

$$\begin{aligned} (\epsilon_1 + V_{11} - E) U_1 + V_{12} U_2 &= 0, \\ V_{21} U_1 + (\epsilon_2 + V_{22} - E) U_2 &= 0, \end{aligned} \quad (23.23)$$

где

$$V_{11}(E) = \frac{\delta_1^2}{N} \sum_k (\epsilon_k - E)^{-1}, \quad V_{22}(E) = \frac{\delta_2^2}{N} \sum_k (\epsilon_k - E)^{-1},$$

$$V_{12}(E) = V_{21}(E) = \frac{\delta_1 \delta_2}{N} \sum_k \frac{\exp[-ik(a|n_2 - n_1|)]}{\epsilon_k - E}.$$

Переходя в этих выражениях, при $E < \epsilon - L$, от суммирования по k к интегрированию, получаем

$$V_{11}(E) = \frac{\delta_1^2}{\sqrt{(\epsilon - E)^2 - L^2}}, \quad V_{22}(E) = \frac{\delta_2^2}{\sqrt{(\epsilon - E)^2 - L^2}}, \quad (23.24)$$

$$V_{12}(E) = V_{21}(E) = \frac{\delta_1 \delta_2}{\sqrt{(\epsilon - E)^2 - L^2}} \exp(-\Lambda(E)|n_1 - n_2|), \quad (23.25)$$

где

$$\Lambda(E) = \ln \frac{L}{\epsilon - E - \sqrt{(\epsilon - E)^2 - L^2}}. \quad (23.26)$$

Из условия нетривиальной разрешимости системы уравнений (23.23) получаем уравнения, определяющие $N + 2$ энергетических уровней системы

$$[\epsilon_1 + V_{11}(E) - E][\epsilon_2 + V_{22}(E) - E] = V_{12}^2(E). \quad (23.27)$$

Уравнения $[\epsilon_1 + V_{11}(E) - E] = 0$ и $[\epsilon_2 + V_{22}(E) - E] = 0$ определяют энергетические состояния системы, содержащей либо

донорную, либо акцепторную молекулу, взаимодействующую с белковой молекулой. Функция $V_{12}(E)$ в (23.27) характеризует в состоянии системы с энергией E эффективное взаимодействие между донорной и акцепторной молекулами, осуществляемое через посредство белковой молекулы.

Примем для упрощения, что энергия основного электронного состояния свободной акцепторной молекулы $\epsilon_1 - \hbar\Omega$, так что ее первое вибронное возбуждение совпадает с энергией основного состояния донора, т. е. $\epsilon_2 = \epsilon_1$. Положим далее, что $\delta_1 = \delta_2$, тогда $V_{11}(E) = V_{22}(E)$, и из (23.27) следует уравнение, определяющее стационарные состояния системы,

$$E = \epsilon_1 + V_{11}(E) \pm V_{12}(E). \quad (23.28)$$

Стационарные состояния с энергиями, близкими к энергии ϵ_1 , определяются выражениями

$$E_{\pm}^{(1)} = \hbar \left[\omega_0 \pm \frac{1}{2} f \right], \quad (23.29)$$

где

$$\hbar\omega_0 \equiv V_{11}(\epsilon_1), \quad \frac{1}{2} \hbar f \equiv V_{12}(\epsilon_1). \quad (23.30)$$

Волновые функции этих состояний выражаются через волновые функции типа (23.18) для донорной и акцепторной молекул

$$|\Psi_{\pm}(t)\rangle = \frac{1}{\sqrt{2}} [\Psi_{n_1}^D \pm \Psi_{n_1}^A] \exp \left\{ -i \left(\omega_0 \pm \frac{1}{2} f \right) t \right\}. \quad (23.31)$$

В стационарных состояниях (23.31) электрон с одинаковой вероятностью распределен между основным состоянием донора и вибронным состоянием акцептора.

Составим функцию

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} (|\Psi_{+}(t)\rangle + |\Psi_{-}(t)\rangle) = [\Psi_{n_1}^D \cos ft/2 - i\Psi_{n_1}^A \sin ft/2]. \quad (23.32)$$

Эта функция при $t = 0$ описывает состояние системы, когда электрон находится на донорной молекуле. К моменту времени $t = \pi/f$ он перейдет к акцепторной молекуле, затем, к моменту времени $t = 2\pi/f$, снова вернется к донорной молекуле. Следовательно, электрон с частотой f будет переходить от донорной к акцепторной молекуле и обратно.

Реальный переход электрона от донорной молекулы к акцепторной возможен только в том случае, когда энергия колебательного возбуждения $\hbar\Omega$ акцепторной молекулы с частотой $\gamma > f$ переходит в диссипативную систему.

Исследование перехода электрона от донорной молекулы к акцепторной при наличии диссипативной среды может быть проведено в полной аналогии с исследованием процесса переноса

нейтрального возбуждения, теория которого развита в работе [108] (см. также [18, § 104]).

Предположим, что при $t = 0$ электрон находится в основном электронном состоянии донора (23.18). Согласно (23.32), значение f определяет частоту обмена возбуждением между донором и акцептором без учета диссипации. Пусть γ — частота диссипативного процесса исчезновения колебательного возбуждения в акцепторе. Тогда при выполнении неравенства $\gamma > f$, согласно [18], вероятность перехода электрона в вибронное состояние акцептора определяется выражением

$$\begin{aligned} W_{\text{вибр}}(t) &= \frac{f^2}{\gamma^2 - f^2} e^{-\gamma t} \left[\text{sh} \left(\frac{t}{2} \sqrt{\gamma^2 - f^2} \right) \right]^2 \approx \\ &\approx \frac{f^2}{\gamma^2 - f^2} \left[e^{-\frac{f^2 t}{2\gamma}} - 2e^{-\gamma t} + e^{-2\gamma t} \right], \end{aligned} \quad (23.33)$$

Вероятность перехода электрона в основное электронное состояние акцептора изменяется с течением времени:

$$\begin{aligned} W_{\text{осн}}(t) &= 1 - e^{-\gamma t} \left\{ 1 + \frac{\gamma^2}{f^2 - \gamma^2} [1 - \text{ch}(\sqrt{\gamma^2 - f^2} t)] + \right. \\ &\quad \left. + \frac{\gamma}{\sqrt{\gamma^2 - f^2}} \text{sh}(\sqrt{\gamma^2 - f^2} t) \right\}. \end{aligned} \quad (23.34)$$

Следовательно, при $t \rightarrow \infty$ $W_{\text{вибр}}(\infty) = 0$, $W_{\text{осн}}(\infty) = 1$.

Если выполняется неравенство $f > \gamma$, то соответствующие вероятности определяются функциями

$$\begin{aligned} W_{\text{вибр}}(t) &= \frac{f^2}{f^2 - \gamma^2} \sin^2(\sqrt{f^2 - \gamma^2} t/2), \\ W_{\text{осн}}(t) &= 1 - e^{-\gamma t} \left\{ 1 + \frac{\gamma^2}{f^2 - \gamma^2} [1 - \cos(\sqrt{f^2 - \gamma^2} t)] + \right. \\ &\quad \left. + \frac{\gamma}{\sqrt{f^2 - \gamma^2}} \sin(\sqrt{f^2 - \gamma^2} t) \right\}. \end{aligned}$$

В частности, при отсутствии релаксации ($\gamma \approx 0$)

$$W_{\text{вибр}}(t) = \sin^2 ft/2, \quad W_{\text{осн}}(t) = 0.$$

Итак, белковые молекулы могут способствовать переносу электрона от донорной к акцепторной молекуле. Существенно, что при этом незаполненные электронные состояния белковой молекулы учитываются в теории только как виртуальные состояния. Электрон переходит к акцепторной молекуле, не попадая в зону проводимости. Влияние белковой молекулы сказывается только в том, что изменяются волновые функции донорной и акцепторной молекул. В свободных донорной и акцепторной молекулах функции электронных состояний локализованы в основном

в объеме молекул. Если они прикрепляются к белковым молекулам с квазипериодической структурой, то волновые функции приобретают «протяженные хвосты» (см. (23.18)). Пространственное перекрывание этих функций и обеспечивает перенос электрона.

Для осуществления рассмотренного выше механизма переноса электронов нет необходимости наличия строгой периодичности в белковой молекуле. Достаточно, чтобы между субъединицами, составляющими белковую молекулу (пептидными группами), имелось достаточно сильное взаимодействие, приводящее к коллективизации ее свободных электронных состояний.

Рассматриваемый эффект будет тем значительней, чем меньше разность энергий свободных электронных состояний белковой молекулы и состояний донора и акцептора, между которыми происходит переход электрона. Равенство $\varepsilon_1 = \varepsilon_2$ также не обязательно, так как в конденсированной среде всегда найдутся колебания, компенсирующие эту разность. В таких случаях переход электрона уже на первом этапе будет сопровождаться рождением фононов,

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агранович В. М. Теория экситонов.— М.: Наука, 1968.
2. Аннаев Б., Колтовер В. К., Райзман Л. М., Сускина В. И. Исследование конформационных переходов в мембранах эндоплазматического ретикулума методом парамагнитного зонда.— Докл. АН СССР, 1971, 196, с. 969.
3. Атанасов Б. П., Постникова Г. Б., Садыков Ю. Х., Волькенштейн М. В. Изучение переноса электрона в гемопroteинах.— Молекуляр. биология, 1977, 11, с. 537.
4. Атауллаганов Ф. И., Атанасов Б. П., Постникова Г. Б., Садыков Ю. Х. Изучение переноса электрона в гемопroteинах.— Stud. biophys., 1976, 54, с. 41.
5. Баландин А. А. Мультиплетная теория катализа.— М.: Изд-во Моск. ун-та, 1963.
6. Баландин А. А. Основы химии ферментов и антиметаболитов с точки зрения теории катализа.— Докл. АН СССР, 1957, 114, с. 1008.
7. Белицер В. А., Цыбакова Е. Т. О механизме фосфорилирования, сопряженного с дыханием.— Биохимия, 1939, 4, с. 516.
8. Бендоль Дж. Мышцы, молекулы и движение.— М.: Мир, 1970.
9. Бернал Дж., Фаулер Р. Структура воды и ионных растворов.— Успехи физ. наук, 1934, 14, с. 586.
10. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики.— М.: Наука, 1974.— 2-е изд. 1977.
11. Волькенштейн М. В. Физика мышечного сокращения.— Успехи физ. наук, 1970, 100, с. 681.
12. Волькенштейн М. В. Молекулярная биофизика.— М.: Наука, 1975.
13. Гольфельд М. Г., Дмитриевский Л. Г., Блюменфельд Л. А. Фосфорилирование в хлоропластах в импульсном режиме освещения.— Биофизика, 1977, 22, с. 357.
14. Григорьев Л. Н., Чернавский Д. С. Квантовомеханическая модель переноса электронов от цитохрома к хлорофиллу в фотосинтезе.— Биофизика, 1972, 17, с. 195.
15. Грин Д., Флэйшер С. Молекулярная организация биологических преобразующих систем.— В кн.: Горизонты биохимии. М.: Мир, 1964, с. 293.
16. Давыдов А. С. Теория спектров поглощения молекулярных кристаллов.— Журн. эксперим. и теорет. физики, 1948, 18, с. 210.
17. Давыдов А. С. Теория молекулярных экситонов.— М.: Наука, 1968.

18. Давыдов А. С. Квантовая механика.— М. : Наука, 1973.
19. Давыдов А. С. Квантовая теория сокращения мышц.— Биофизика, 1974, 19, с. 670.
20. Давыдов А. С. Молекулярный механизм сокращения поперечнополосатых мышц.— Укр. физ. журн., 1975, 20, с. 179.
21. Давыдов А. С. Молекулярный механизм сокращения поперечнополосатых мышц.— В кн.: Биофизика и биохимия мышечного сокращения. М. : Наука, 1976, с. 254.
22. Давыдов А. С. Теория твердого тела.— М. : Наука, 1976.
23. Давыдов А. С., Еремко А. А. Радиационное время жизни солитонов в молекулярных цепях.— Укр. физ. журн., 1977, 22, с. 881.
24. Давыдов А. С., Еремко А. А., Сергеев А. И. Солитоны в альфа-спиральных белковых молекулах.— Укр. физ. журн., 1978, 23, с. 983.
25. Давыдов А. С., Кислуха Н. И. Солитоны в одномерных молекулярных цепях.— Журн. эксперим. и теорет. физики, 1976, 71, с. 1090.
26. Давыдов А. С., Супрун А. Д. Конфигурационные изменения в оптические свойства альфа-спиральных белковых молекул : Препринт Ин-та теорет. физики, ИТФ-73-1 Р.— Киев, 1973.
27. Дежневский В. И. Две модели мышечного сокращения.— Биофизика, 1968, 13, с. 928.
28. Дежневский В. И. Теории сокращения асинхронных мышц.— Биофизика, 1970, 15, с. 53.
29. Измайлов Н. А. Электрохимия растворов.— М. : Химия, 1973.
30. Измайлов Н. А., Круляк Ю. А. К вопросу о сольватации ионов.— Докл. АН СССР, 1960, 134, с. 1390.
31. Катц Б. Нерв, мышца и синапс.— М. : Мир, 1968.
32. Китайгородский А. И. Молекулярные кристаллы.— М. : Наука, 1971.
33. Компанец А. С., Гурович В. Ц. Распространение импульса по первому волокну.— Биофизика, 1966, 11, с. 913.
34. Костюк П. Г., Крышталъ О. А., Пидопличко В. И. Электронный натриевый насос и связанные с ним изменения проводимости поверхностной мембраны нейронов.— Биофизика, 1972, 17, с. 1048.
35. Круляк Ю. А. Квантовая теория сольватации ионов : Препринт Ин-та теорет. физики, ИТФ-73—42 Р; ИТФ-73—60 Р.— Киев, 1973.
36. Ландау Л., Лифшиц Е. Статистическая физика.— М. : Гостехиздат, 1951.
37. Ландау Л., Лифшиц Е. Электродинамика сплошных сред.— М. : Гостехиздат, 1957.
38. Лев А. А. Ионная избирательность клеточных мембран.— М. : Наука, 1975.
39. Лев А. А., Бужинский Э. П. Катионная специфичность модельных бимолекулярных мембран с введенным в них валиномицином.— Цитология, 1967, 9, с. 102.
40. Ленинджер А. Биохимия.— М. : Мир, 1976.
41. Либерман Е. А., Топалы В. П., Цофина Л. М., Ясайтис А. А., Скулачев В. П. Транспорт ионов и электрический потенциал митохондриальных мембран.— Биохимия, 1969, 34, с. 1083.
42. Лим В. Дальние взаимодействия и их связь со вторичной структурой в глобулярных белках.— Докл. АН СССР, 1972, 203, с. 480.
43. Лишко В. К. Натриевый насос биологических мембран.— Киев : Наук. думка, 1977.
44. Маркин В. С., Кришталик Л. И., Либерман Е. А., Топалы В. П. О механизме проводимости искусственных фосфолипидных мембран в присутствии переносчиков ионов.— Биофизика, 1969, 14, с. 256.
45. Маркин В. С., Пастушенко В. Ф. Коллективный перенос ионов через мембраны.— Биофизика, 1970, 15, с. 941.
46. Маркин В. С., Пастушенко В. Ф., Чисамаджиев Ю. А. Физика нервного импульса.— Успехи физ. наук, 1977, 123, с. 289.

47. Маркин В. С., Чизмаджиев Ю. А. Индуцированный ионный транспорт.— М.: Наука, 1974.
48. Мищенко К. П., Полторатский Г. М. Термодинамика и строение водных и неводных растворов.— М.: Химия, 1973.
49. Нокс П. П., Кононенко А. А., Рубин А. Б. Функциональная активность реакционных центров фотосинтетических единиц в хроматофорах *Rhodospirillum rubrum* при обезвоживании.— Вестн. Моск. ун-та, 1976, № 2, с. 62.
50. Нокс П. П., Лукашев Е. П., Кононко А. А., Венедиктов П. С., Рубин А. Б. О возможной роли макромолекулярных компонентов в функционировании фотосинтетических реакционных центров пурпурных бактерий.— Молекуляр. биология, 1977, 11, с. 1090.
51. Овчинников Ю. А., Иванов В. Т., Шкроб А. М. Мембранно-активные комплексы.— М.: Наука, 1974.
52. Птицын О. В. Связь вторичной структуры глобулярных белков с их первичной структурой.— Биофизика, 1970, 15, с. 757.
53. Ровенский Ю. А. Оболочка, зачем она нужна клетке.— Химия и жизнь, 1977, № 2, с. 52.
54. Рудин Д., Уилки Д. Биогенез митохондрий.— М.: Мир, 1970.
55. Рокер Э. Биоэнергетические механизмы.— М.: Мир, 1967.
56. Сент-Дьердьи А. Биоэнергетика.— М.: Физматгиз, 1960.
57. Скулачев В. П. Трансформация энергии в биомембранах.— М.: Наука, 1972.
58. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке.— М.: Наука, 1969.
59. Соколов Н. Д. Водородная связь.— Успехи физ. наук, 1955, 57, с. 205.
60. Финан Дж., Колъэн Р., Митчелл Р. Мембраны и их функции в клетке.— М.: Мир, 1977.
61. Чернавская Н. М., Чернавский Д. С. Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе.— М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977.
62. Чиргадзе Ю. Н. О возможности исследования малых конформационных изменений в структуре полипептидной цепи с помощью колебательной спектроскопии.— Биофизика, 1969, 14, с. 792.
63. Чиргадзе Ю. Н., Невская Н. А. Резонансные взаимодействия основных амидных колебаний в упорядоченных пептидных структурах.— Докл. АН СССР, 1973, 208, с. 447.
64. Чиргадзе Ю. Н., Овсепян А. М. Конформационные перестройки в глобулярных белках при гидратации.— Молекуляр. биология, 1972, 6, с. 721.
65. Чиргадзе Ю. Н., Рашидская Е. П. Интенсивность характеристических колебаний пептидных групп.— Биофизика, 1969, 14, с. 608.
66. Хилл Т. Статистическая механика.— М.: Изд-во иностр. лит., 1960.
67. Ходжкин А. Нервный импульс.— М.: Мир, 1965.
68. Ходоров В. И. Общая физиология возбудимых мембран.— М.: Наука, 1975.
69. Яцимирский К. Б., Яцимирский В. К. Химическая связь.— Киев: Вища школа, 1975.
70. Alexander D. R. Isolation a digoxin-binding protein from a brain membrane preparation containing Na, K-activated ATPase.— Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett., 1974, 45, p. 150.
71. Arnon D. I. Photosynthetic activity of isolated chloroplasts.— Physiol. Revs, 1967, 47, p. 317.
72. Askari A., Rao S. N. Studies on the partial reactions catalysed by the (Na + K) activated ATPase.— Biochim. et biophys. acta, 1971, 241, p. 75.
73. Aubert X. Le mécanisme contractile in vivo: aspects mécaniques et thermiques.— J. phys., Paris, 1956, 48, p. 105.
74. Avizim I., Schejter A. On conformation change attending the hydration of lyophilized cytochrome.— Biopolymers, 1972, 11, p. 2141.

75. *Baker P. E., Manil J.* The rates of action of K^+ and ouabain on the sodium pump in squid axons.— *Biochim. et biophys. acta*, 1968, 150, p. 328.
76. *Baker P. F., Willis J. S.* On the number of the sodium pumping sites in cell membranes.— *Biochim. et biophys. acta*, 1969, 183, p. 646.
77. *Baker P. F., Willis J. S.* Binding of the cardiac glycoside ouabain to intact cells.— *J. Physiol.*, 1972, 224, p. 441.
78. *Bangham A. D., Standish M. M., Watkins J. C.* Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids.— *J. Mol. Biol.*, 1965, 13, p. 238.
79. *Bassham J. A.* The path of carbon in photosynthesis.— *Sci. Amer.*, 1962, 206, N 6, p. 50.
80. *Bendall D. S., Hill R.* Haem-proteins in photosynthesis.— *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1968, 19, p. 210.
81. *Bengis C., Nelson N.* Subunit structure of chloroplast photosystem I reaction center.— *J. Biol. Chem.*, 1977, 252, p. 4564.
82. *Ben-Naim A., Stillinger F. H.* Aspects of the statistical-mechanical theory of water.— In: *Water and aqueous solutions* / Ed. R. A. Horne.— New York : Wiley, 1972, p. 295.
83. *Bennun A.* Hypothesis for coupling energy transduction with ATP synthesis or ATP hydrolysis.— *Nature. New Biol.*, 1971, 233, p. 5.
- 83a. *Berg H. C., Anderson R. A.* Bacteria swim by rotating their flagellar filaments.— *Nature*, 1973, 245, p. 380.
- 83b. *Berg H. C.* How bacteria swim.— *Sci. Amer.*, 1975, 233, N 2, p. 36.
84. *Blumenfeld L. A., Chernavskii D. S.* Tunneling of electrons in biological processes.— *J. Theor. Biol.*, 1973, 39, p. 1.
85. *Born M.* Volumen und Hydratations Wärme der Ionen.— *Z. Phys.*, 1920, 1, S. 45.
86. *Bretscher M. S.* Membrane structure; some general principles.— *Science*, 1973, 181, p. 622.
87. *Caldwell P. C., Keynes R. D.* The utilization of phosphate bond energy for sodium extrusion from giant axons.— *J. Physiol.*, 1957, 137, p. 12.
88. *Caldwell P. C., Keynes R. D.* The effect of ouabain on the efflux of sodium from a squid giant axon.— *J. Physiol.*, 1959, 148, p. 8.
89. *Caldwell P. C., Hodgkin A. L., Keynes R. D., Shaw T. I.* Partial inhibition of the active transport of cations in the giant axons of loligo.— *J. Physiol.*, 1960, 152, p. 591.
90. *Caldwell P. C., Hodgkin A. L., Keynes R. D., Shaw T. I.* The effects of injecting «energy-rich» phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of loligo.— *J. Physiol.*, 1960, 152, p. 501.
91. *Caldwell P. C., Hodgkin A. L., Keynes R. D., Shaw T. I.* The effects of injecting energy-rich phosphate compounds on the active transport of ions in the giant axons of loligo.— *J. Physiol.*, 1960, 152, p. 561.
92. *Capaldi R. A.* The structure of mitochondrial membranes.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, 70, p. 480.
93. *Capaldi R. A.* A dynamical model of cell membranes.— *Sci. Amer.*, 1974, 230, N 3, p. 26.
94. *Chamorovsky S. K., Remennikov S. L., Kononenko A. A., Venediktov P. S., Rubin A. B.* New experimental approach to the estimation of rate of electron transfer from the primary to secondary acceptors in the photosynthesis electron transport chain of purple bacteria.— *Biochim. et biophys. acta*, 1976, 430, p. 62.
95. *Chance B., Nishimura M.* On the mechanism of chlorophyll-cytochrome interaction; the temperature insensitivity of light-induced cytochrome oxidation in chromatin.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1960, 49, p. 19.
96. *Chance B., Pring M., Azzi A., Lee C. P., Mela I.* Kinetics of membrane transitions.— *Biophys. J.*, 1969, 9, p. A-90.
97. *Changeux J. P.* The control of biochemical reactions.— *Sci. Amer.*, 1965, 212, N 4, p. 36.

98. Chirgadze Yu. N., Nevskaya N. A. Infrared spectra and resonance interaction of Amid I vibration.— *Biopolymers*, 1976, 15, p. 607, 627.
99. Chizmadjev Yu. A., Attyan K. Ion transport across sodium channels in biological membranes.— *J. Theor. Biol.*, 1977, 64, p. 429.
100. Cohen C., Caspar D. L. D., Johnson J. P. et al. Tropomyosin-troponin assembly.— *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1972, 37, p. 287.
101. Cohen C. The protein switch of muscle contraction.— *Sci. Amer.*, 1975, 223, N 5, p. 36.
102. Cope F. W. Eye melanin free radical kinetics and mechanism in relation to Roginsky — Zeldovich equation.— *J. Chem. Phys.*, 1964, 40, p. 2653.
103. Danon A., Stoeckenius W. Photophosphorylation in halobacterium halobium.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974, 71, p. 1234.
104. Davies R. E. A molecular theory of muscle contraction.— *Nature*, 1963, 199, p. 1068.
105. Davydov A. S. Solitons and energy transfer along protein molecules. — *J. Theor. Biol.*, 1977, 66, p. 379.
106. Davydov A. S., Kislukha N. I. Solitons in one-dimensional molecular chains.— *Phys. status solidi (b)*, 1976, 75, p. 735.
107. Davydov A. S., Kislukha N. I. Solitary excitons in one-dimensional molecular chains.— *Phys. status solidi (b)*, 1973, 59, p. 465.
108. Davydov A. S., Serikov A. A. Energy transfer between impurity molecules of a crystal in the presence of relaxation.— *Phys. status solidi (b)*, 1972, 51, p. 57.
109. De Vault D., Chance B. Photosynthesis using a pulsed laser: Evidence for tunnelling.— *Biophys. J.*, 1966, 6, p. 825.
110. De Vault D., Parks J. H., Chance B. Electron tunnelling in cytochromes.— *Nature*, 1967, 215, p. 642.
111. De Vault D. Energy transduction in electron transport.— *Biochim. et biophys. acta*, 1971, 225, p. 135.
112. Dickerson R. E. X-ray studies of protein mechanisms.— *Annu. Rev. Biochem.*, 1972, 41, p. 815.
113. Dickerson R. E. The structure of cytochrome c and rates of molecular evolution.— *J. Mol. Evol.*, 1971, 1, p. 26.
114. Dickerson R. E. The structure and history of an ancient protein.— *Sci. Amer.*, 1972, 226, N 4, p. 58.
115. Ebashi S. Calcium binding and relaxation in the actomyosin system.— *Jap. J. Biochem.*, 1960, 48, p. 150.
116. Ebashi S. Relaxation and removal of calcium by muscle particulate fraction.— *Jap. J. Biochem.*, 1961, 50, p. 77.
117. Ebashi F., Ebashi S. Removal of calcium and relaxation in actomyosin systems.— *Nature*, 1962, 194, p. 378.
118. Ebashi S., Ebashi F., Kodama A. Troponin as the receptive protein in the contractile system.— *Jap. J. Biochem.*, 1967, 62, p. 137.
119. Ebashi S., Endo M., Ohtsuki I. Control of muscle contraction.— *Quart. Revs Biophys.*, 1969, 2, p. 351.
120. Ellary J. C., Keynes R. D. Binding tritiated digoxin to human red cell ghosts.— *Nature*, 1969, 221, p. 776.
121. Elliott G. E., Lowy J., Millmann B. M. Low angle X-ray diffraction studies of living striated muscle during contraction.— *J. Mol. Biol.*, 1967, 25, p. 31.
122. Engelhardt W. A. Ortho- und pyrophosphat in aeroben und anaeroben Stoffwechsel der Blutzellen.— *Biochem. Z.*, 1930, 227, S. 16.
123. Engelhardt W. A. Die Beziehungen zwischen Atmung und Pyrophosphatumsatz in Volgelerythrocyten.— *Biochem. Z.*, 1932, 251, S. 343.
124. Engelhardt W. A., Lubimova M. N. Myosin and adenosine triphosphatase.— *Nature*, 1939, 144, p. 689.
125. Evans M. G., Gergely J. A discussion of possibility of bands of energy levels in proteins.— *Biochim. et biophys. acta*, 1949, 3, p. 188.

126. *Eyring H., Lumry R., Spikes J. D.* Kinetics of enzyme-catalyzed reactions.— In: The mechanism of enzyme action.— New York : Hopkins press, 1954, p. 123.
127. *Franks F.* The hydrophobic interaction.— In: Water — a comprehensive treatise. New York : Plenumpress, 1975, vol. 4, p. 1.
128. *Fox C. F.* The structure of cell membranes.— *Sci. Amer.*, 1972, 226, N 2, p. 30.
129. *Frenkel Ja. I.* On the transformation of light into heat in solids I and II.— *Phys. Rev.*, 1931, 37, p. 17 and 276.
130. *Garrahan P. J., Glynn I. M.* The stoichiometry of the sodium pump.— *J. Physiol.*, 1967, 192, p. 217.
131. *Geacintov N. E., van Nostrand F., Becker J. E., Tinkel J. B.* Magnetic field induced orientation of photosynthetic systems.— *Biochim. et biophys. acta*, 1972, 267, p. 65.
132. *Gehring P. J., Hammond P. B.* The uptake of thallium by rabbit erythrocytes.— *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 1964, 145, p. 215.
133. *Gillespie R. J., Maw G. A., Veron C. A.* The concept of phosphate bond-energy.— *Nature*, 1953, 171, p. 1147.
134. *Glegg R. A., Garland P. B.* Non-haem iron and the dissociation of piericidin A sensitivity from site I energy conservation in mitochondrial from *Torulopsis utilis*.— *Biochem. J.*, 1971, 124, p. 135.
135. *Glunn I. M.* Sodium and potassium movements in human red cell.— *J. Physiol.*, 1956, 134, p. 278.
136. *Glunn I. M., Hoffman J. F., Lew V. L.* Some partial reactions of the sodium pump.— *Phil. Trans. Roy. Soc.*, 1971, 262, p. 91.
137. *Green D. E.* Electrochemical model of mitochondrial structure and function.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, 69, p. 726.
138. *Green D. E.* Mechanism of energy transduction in biological systems.— *Science*, 1973, 181, p. 583.
139. *Green D. E., Bam H.* Energy and the mitochondria.— New York : Acad. press, 1970.
140. *Gutmann F.* Electron tunnelling in biological structures.— *Nature*, 1968, 219, p. 1359.
141. *Hankins D., Woskowitz J. W., Stillinger F. H.* Water molecule interaction.— *J. Chem. Phys.*, 1970, 53, p. 4544.
142. *Hanson J.* Axial period of actin filaments.— *Nature*, 1967, 213, p. 353.
143. *Hanson J., Huxley H. E.* Sliding filament mechanism of muscle contraction.— *Nature*, 1954, 173, p. 973; *Symp. Soc. Exp. Biophys.*, 1955, 9, p. 228.
144. *Hanson J., Huxley H. E.* The molecular basis of contraction in cross-straited muscles.— *Struct. and Funct. Muscle*, 1960, 1, p. 183.
145. *Hanson J.* Recent X-ray diffractio studies of muscle.— *Quart. Revs Biophys.*, 1968, 1, p. 177.
146. *Harriis R. A., Penniston J. T., Asai J., Green D. E.* The conformational basis of energy conservation in membrane systems: III Correlation between conformational chang and functioal states.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1968, 59, p. 830.
147. *Hettler W., London E.* Wechselwirkung neutraler Atome und homöopolare Bindung nach der Quantenmechanik.— *Z. Phys.*, 1927, 44, S. 455.
148. *Hemetty G., Scheraga.* Structure of water and hydrophobic bonding in proteins.— *J. Chem. Phys.*, 1964, 41, p. 680.
149. *Hill A. V.* The heat of activation and heat of shortening in muscle twitch.— *Proc. Roy. Soc. B*, 1949, 136, p. 195.
150. *Hill A. V.* A further challenge to biochemists.— *Biochem. J.*, 1966, 345, p. 1.
151. *Hill T. L.* An introduction to statistical thermodynamics.— New York : Addiso Wesley, 1960.

152. *Hille B. J.* Pharmacological modification of the sodium channels of frog nerve.— *J. Gen. Physiol.*, 1968, 51, p. 199.
153. *Hille B. J.* The permeability of the sodium channel to organic cations in myelinated nerves.— *J. Gen. Physiol.*, 1971, 58, p. 599.
154. *Hille B. J.* The permeability of the sodium channel to metal cations in myelinated nerves.— *J. Gen. Physiol.*, 1972, 59, p. 637.
- 154 a. *Hinkle P. C., Mc Carthy R. E.* How cell make ATP.— *Sci. Amer.* 1978, 238, N 3, p. 104.
155. *Hodgkin A. L., Huxley A. F.* A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve.— *J. Physiol.*, 1952, 177, p. 500.
156. *Hodgkin A. L., Keynes R. D.* Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo.— *J. Physiol.*, 1953, 128, p. 28.
157. *Hodgkin A. L., Keynes R. D.* The potassium permeability of a giant nerve fibre.— *J. Physiol.*, 1955, 128, p. 61.
158. *Hokin L. E., Hokin M. A.* Biological transport.— *Annu. Rev. Biochem.*, 1963, 32, p. 553.
159. *Hoyle G.* How is muscle turned on and off? — *Sci. Amer.*, 1970, 222, N 4, p. 84.
160. *Hübner G., Jung K., Winker E.* Die Rolle des Wasser in biologischen Systemen.— Berlin : Akad.- Verl., 1970.
161. *Huxley A. F.* Theory of muscular contraction.— *Progr. Biophys. and Biophys. Chem.*, 1957, 7, p. 255.
- 161a. *Huxley A. F., Niedergerke R.* Sliding mechanism of muscle contraction.— *Nature*, 1954, 173, p. 971.
162. *Huxley A. F., Simmons A.* Proposed mechanism of force generation in striated muscle.— *Nature*, 1971, 233, p. 533.
163. *Huxley H. E.* Electron microscope studies on the organization of filaments in striated muscle.— *Biochim. et biophys. acta*, 1953, 12, p. 387.
164. *Huxley H. E.* Electron microscope studies of natural and synthetic protein filaments from striated muscle.— *J. Mol. Biol.*, 1963, 7, p. 281.
165. *Huxley H. E.* The mechanism of muscular contraction.— *Sci. Amer.*, 1965, 213, N 6, p. 80.
166. *Huxley H. E.* Structural changes in the actin and myosin containing filaments during contraction.— *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1972, 37, p. 361.
167. *Huxley H. E., Brown W.* X-ray diffraction studies of muscle.— *J. Mol. Biol.*, 1967, 30, p. 383.
168. *Huxley H. E., Brown W., Holmes K. C.* Constancy of axial spacing in frog sartorius muscle during contraction.— *Nature*, 1965, 206, p. 1358.
169. *Izawa S., Ort D. R., Gould J. M., Good N. E.* Electron transport reactions, energy conservation reactions and phosphorylation in chloroplasts.— In: *Proc. 3rd Int. Congr. Photosynth.*, Sept. 1974.— Amsterdam : Rehovot Els. Sci. Publ. co., 1974.
170. *Jacob E., Monod J.* Genetic regulatory mechanisms in synthesis of protein.— *J. Mol. Biol.*, 1963, 6, p. 306.
171. *Jordan P.* Über die physikalische Structure organischen Riesenmoleküle.— *Naturwissenschaften*, 1938, 26, S. 693.
172. *Jorgensen P. L.* Purification of Na, K-ATPase from the outer medulla of mammalian kidney after selective removal of membrane component by SDS.— *Biochim. et biophys. acta*, 1974, 356, p. 36.
173. *Jetten A. M., Jetten M. E. R.* Energy requirement for the initiation of colicin action.— *Biochim. et biophys. acta*, 1975, 387, p. 12.
174. *Jost P. C., Griffith O. H., Capaldi R. A., Vanderkool G.* Evidence for boundary lipid in membranes.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, 70, p. 480.
175. *Kendrew J. C.* The three-dimensional structure of protein molecule.— *Sci. Amer.*, 1961, 205, N 6, p. 96.

176. *Kihara T., McGray J. A.* Water and cytochrome oxidation-reductions.— *Biochim. et biophys. acta*, 1973, 292, p. 297.
177. *Koefoed-Johnsen V., Ussing H. H.* The nature of the frog skin potential.— *Acta physiol. scand.*, 1958, 42, p. 298.
178. *Koltover V. K., Beichman L. M., Jasaitis A. A., Blumenfeld L. A.* A study of spin-probe solubility in mitochondrial membranes correlated with ATP-dependent conformational changes.— *Biochim. et biophys. acta*, 1971, 234, p. 306.
179. *Koshland D. E.* Protein shape and biological control.— *Sci. Amer.*, 1973, 229, N 4, p. 52.
180. *Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I.* Potential-dependent membrane current during the active transport of ions in snail neurones.— *J. Physiol.*, 1972, 226, p. 373.
181. *Keteger M., Kay L. M., Stroud R. M.* Structure and specific binding of trypsin.— *J. Mol. Biol.*, 1974, 83, p. 209.
182. *Ladik J. J.* Towards the theoretical determination of the conformation of biological macromolecules.— In: *Quantum science: (A tribute to Per-Olov Löwdin)*.— New York: Plenum press, 1976, p. 539.
183. *Landowne D., Ritchie J. M.* The binding of tritiated ouabain to mammalian non-myelinated nerve fibres.— *J. Physiol.*, 1970, 207, N 9, p. 529.
184. *Leigh J. S., Dutton P. L.* The primary electron acceptor in photosynthesis.— *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1972, 46, p. 414.
185. *Levinne R. P.* The mechanism of photosynthesis.— *Sci. Amer.*, 1969, 221, N 6, p. 58.
186. *Lester H. A.* The response to acetylcholine.— *Sci. Amer.*, 1977, 236, N 2, p. 106.
187. *Lichtenstein G. L.* The dynamic structure of proteins and enzyme catalysis.— *Stud. Biophys.*, 1972, 33, p. 185.
188. *Lipmann F.* Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy.— *Adv. Enzymol.*, 1941, 1, p. 99.
189. *Lowdin P. O.* Proton tunneling in DNA and its biological implications.— *Rev. Mod. Phys.*, 1963, 35, p. 724.
190. *Lowe S., Cohen C.* Studies on the structure of myosin.— *J. Mol. Biol.*, 1967, 4, p. 293.
191. *Luck W. A. P.* Hydrogen bonds in liquid water.— *Weinheim: Chemie Verl.*, 1974.
192. *Luria S. E.* Colicins and the energetics of cell membranes.— *Sci. Amer.*, 1975, 233, N 6, p. 30.
193. *McClare C. W. F.* In defence of the 'high energy phosphate bond'.— *J. Theor. Biol.*, 1972, 35, p. 233.
194. *Marsh B. B.* The effects of ATP on the fibre volume of a muscle. Homogenate.— *Biochim. et biophys. acta*, 1952, 9, p. 247.
195. *Marchesi V. T., Palade G. E.* The localization of Mg—Mn—K-activated adenosine triphosphatase on red cell ghost membranes.— *J. Cell. Biol.*, 1967, 35, p. 385.
196. *Mitchell P.* Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transport by a chemiosmotic type of mechanism.— *Nature*, 1961, 191, p. 144.
197. *Monod J., Changeux J. P., Jacob F.* Allosteric proteins and cellular control systems.— *J. Mol. Biol.*, 1963, 6, p. 306.
198. *Mu-ming Poo, Cone R. A.* Lateral diffusion of rhodopsin in the photoreceptor membrane.— *Nature*, 1974, 247, p. 438.
199. *Murray J. M., Weber A.* The cooperative action of muscle proteins.— *Sci. Amer.*, 1974, 230, N 2, p. 1974.
200. *Nevskaya N. A., Chirgadze Yu. N.* Infrared spectra and resonant interaction of amide I and II vibrations of α -helix.— *Biopolymers*, 1976, 15, p. 637.
201. *Nostrand F. V., Geacintov N. E., Beker J. E.* The in vivo orientation of chlorophyll.— In: *Book Abstr. VI Int. Congr. Photobiol.* Oct. 1972, N 230.

202. *Oesterhelt D., Stoerkenins W.* Function of a new photoreceptor membrane.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1973, 70, p. 2853.
203. *Oosawa F., Asakura Sho, Oot T.* Physical-hemistry of muscle protein-actin.— *Progr. Theor. Phys., suppl.*, 1971, N 17.
204. *Packer L.* Metabolic and structural states of mitochondria.— *J. Biol. Chem.*, 1960, 235, p. 242.
205. *Panet R., Selinger E.* Synthesis of ATP coupled to Ca^{2+} released from sarcoplasmic reticulum vesicles.— *Biochim. et biophys. acta*, 1972, 255, p. 34.
206. *Parson W. W., Cogdell R.* The primary photochemical reaction of bacterial photosynthesis.— *Biochim. et biophys. acta*, 1975, 416, p. 105.
207. *Pauling L., Corey R. B., Hayward R.* The structure of protein molecules.— *Sci. Amer.*, 1954, 191, N 2, p. 51.
208. *Pecht J., Faraggi M.* Electron transfer to ferricytochrom c: Reaction with hydrated electron and conformation transitions involved.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1972, 69, p. 902.
209. *Penninston J. T., Harris R. A., Asai J., Green D. E.* The conformational basis of energy transformations in membrane system. I. Conformational changes in mitochondria.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1968, 59, p. 624.
210. *Perrone J. R., Hackney J. F., Dixon J. F., Hokin L. E.* Molecular properties of purified (sodium + potassium)-activated adenosine thriphosphatase and their subunits from the rectal gland of squalus acanthias and the electric organ of *Electrophorus electricus*. — *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, p. 4178.
211. *Perry S. V.* The structure and interaction of myosin.— *Progr. Biophys.*, 1967, 17, p. 325.
212. *Perutz M. F.* The hemoglobin molecule.— *Sci. Amer.*, 1964, 205, N 6, p. 96.
213. *Perutz M. F.* Relation between structure and sequence of haemoglobin.— *Nature*, 1962, 194, p. 914.
214. *Perutz M. F.* X-ray analysis structure and function of enzyme molecules.— *J. Biochem.*, 1969, 8, p. 455.
215. *Perutz M. F.* Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin.— *Nature*, 1970, 228, p. 726, 734.
216. *Perutz M. F.* Nature of haem-haem interaction.— *Nature*, 1972, 237, p. 495.
217. *Petrov E. G., Ukrainskii I. I., Kharkyanen V. N.* Donor-acceptor model of electron transfer through proteins.— *J. theor. Biol.*, 1978, 73, p. 29.
218. *Pething R., Szent-Györgyi.* Electronic properties of the casein methylglyoxal complex.— *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1977, 74, p. 226.
219. *Phillips D. C.* The three-dimensional structure of an enzyme molecule.— *Sci. Amer.*, 1966, 215, N 5, p. 78.
220. *Plate C. A., Suit J. L., Jetten A. M., Luria S. E.* Effect of colicin K on a mutant of *Escherichia coli*.— *J. Biochem. Chem.*, 1974, 249, p. 6138.
221. *Porter K. R., Franzini-Amstrong C.* The sarcoplasmic reticulum.— *Sci. Amer.*, 1965, 212, N 3, p. 82.
222. *Post R. L., Jolly P. C.* The linkage of sodium, potassium and ammonium active transport across the human erythrocyte membrane.— *Biochim. et biophys. acta*, 1957, 25, p. 118.
223. *Pullman A., Pullman B.* Quantum theory of atoms, molecules, solid state.— *New Yrok*, 1966.
224. *Rein R., Harris.* Studies of hydrogen bonded systems.— *J. Chem. Phys.*, 1965, 42, p. 2177.
225. *Renger G.* Studies on the structural and functional organization of system II of photosynthesis.— *Biochim. et biophys. acta*, 1976, 440, p. 287.
226. *Schatzman H. J.* Herzglykoside als Hemmstoffe für den activen Kalium

- und Natrium transport durch Erythrocyten membran.— J. helv. physiol. pharmacol. acta, 1953, 11, S. 346.
- 226a. *Scott-Russell J.* Report on waves.— In: Procceding Roy Society. Edinburgh, 1844, p. 319—320.
227. *Singer S. J., Nicolsen L.* The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.— Science, 1972, 175, p. 720.
228. *Skon J. C.* The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from periphedral nerves.— Biochim. et biophys. acta, 1957, 23, p. 394.
229. *Slater E. C.* Mechanism of phosphorylation in the respiratory chain.— Nature, 1953, 172, p. 975.
230. *Slater E. C.* The coupling between energy-yielding mitochondria.— Quart. Rev. Biophys., 1971, 4, p. 35.
231. *Slayter H. S., Lowey S.* Substructure of myosin molecule as visualized by electron microscopy.— Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1967, 58, p. 1611.
232. *Smith D. S.* The flight muscles of insects.— Sci. Amer., 1965, 212, N 6, p. 76.
233. *Stoeckenius W.* The purple membrane of salt-loving bacteria.— Sci. Amer., 1976, 234, N 6, p. 38.
234. *Stroud R. M.* A family of protein-cutting proteins.— Sci. Amer., 1974, 231, N 1, p. 74.
235. *Szent-Gyorgyi A.* The study of energy-levels in biochemistry.— Nature, 1941, 148, p. 157.
236. *Szent-Gyorgyi A.* Towards a new biochemistry.— Science, 1941, 93, p. 609.
237. *Szent-Gyorgyi A.* Bioenergetics.— New York : Acad. press, 1957.
238. *Takano T., Swanson R., Kallai O. B., Dickerson R. E.* Conformational changes upon reduction of cytochrome c.— Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 1971, 36, p. 397.
239. *Vernon L. P.* Photochemical and electron transport reactions of bacterial photosynthesis.— Bacteriol. Rev., 1968, 32, p. 243.
240. *Weaver E. C.* EPR studies of free radicals in photosynthetic systems.— Annu. Rev. Plant. Physiol., 1968, 19, p. 283.
241. *Weaver E. C.* New light-induced EPR signal in *Anacystis nidulans*.— Nature, 1970, 226, p. 183.
242. *Weber A., Murray J.* Molecular control mechanisms in muscle contraction.— Phys. Rev., 1973, 53, p. 612.
243. *Whittam R.* The asymmetrical stimulation of a membrane adenosine-triphosphate in relation to active cation transport.— Biochem. J., 1962, 84, p. 110.
244. *Whittam R., Ager M. E.* Vectorial aspects of adenosine-triphosphatase from periphedral nerves.— Biochim. et biophys. acta, 1957, 23, p. 394.
245. *Whittam R., Ager M. E.* The connection between active cation transport and metabolism in erythrocytes.— Biochem. J., 1965, 97, p. 214.
246. *Zhogolev D. A., Bunyatyan B. Kh., Kruglyak Yu. A.* Studies on primary hydrated complexes of Li^+ , Na^+ and K^+ ions.— Chem. Phys. Lett., 1973, 18, p. 135.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Аксон 200
Аксоплазма 201
Акцептор 155
Аминокислотные остатки 58
Аминокислоты 52, 53
Амфифильные молекулы 104, 108
Анаэробный гликолиз 220
Апофермент 73
Асинхронные мышцы 240
- Базальтовое тельце 244
Бактериородопсин 196
Бактериохлорофилл 178
- Валиномицин 119
Векторные ферменты 84
Водородная связь 39
Воротные токи 209
- Гем 67
Гидратация 45
Гидроксильная группа 50
Гидролиз 92, 136, 149
Гидрофильное взаимодействие 49
Гидрофобное взаимодействие 49
Гликолиз 147
Гликолипиды 101, 104
Гликопротеины 101, 104
Граны 172
- Дальтон 52
Дегидрирование 144, 156
Деаминарование 148
Декарбоксилирование 145
Денатурация белков 66
Дендрит 200
Деоксигенация 68
Депротонирование 197
- Дисульфидная связь 63
Донор 155
Донорно-акцепторная связь 31
- Ионофоры 118
Ингибиторы 80
- Кальциевые насосы 219
Карбоксильная группа 50
Квантосомы 188
Коллаген 217
Комплексоны 117
Кофермент 73, 79
Кристы 153
- Лиганд 78
Липосомы 104, 109
Липиды 104
- Матрикс 153
Метаболизм 73
Миелиновая оболочка 200
Миоглобин 67
Миозин 222
Миофибриллы 217
Митохондрии 152
- Нейрон 200
Нервное волокно 200
- Окисление 143
Окислитель 155
Окислительное фосфорилирование 137
Оксигемоглобин 70
Оксигенация 68
- Пептидная группа 59
Пептидная связь 58

Перехваты Раявье 200
 Пластоцианиды 192
 Полипептиды 58
 Прокариоты 103, 152
 Протестическая группа 73
 Протонирование 197
 Протопласты 99

Сарколема 217
 Саркомер 218
 Саркоплазма 217
 Семехиноны 84
 Синапс 211
 Синаптическая щель 213
 Сольватация 45
 Солевые связи 64
 Солитоны 210, 235, 258
 Сопрягающие мембраны 137
 Спайк 205
 Стерическое препятствие 61
 Строма 173
 Субстрат 73

Тетразтиламмоний 203
 Тетродоксин 202

Тилакоиды 172
 Трахея 241
 Тропомиязия 228
 Тропонин 226

Ферменты 53, 73
 Феррицитохром 159
 Ферроцитохром 159
 Фосфолипиды 104
 Фосфатная группа 51
 Фосфатная связь 150
 Фосфорилирование 77, 136, 173, 190

Хлоропласты 172
 Хлорофилл 171, 175
 Хроматофоры 172

Шиффовое основание 197
 Шванновские клетки 200

Цитоплазма 102
 Цитоплазматическая мембрана 99,
 102
 Цитохромы 158, 159

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	5
-----------------------	---

ГЛАВА I

СВЯЗЬ БИОЛОГИИ И ФИЗИКИ

§ 1. Отличие живых организмов от неживой природы	7
§ 2. Возможность описания биологических явлений на молекулярном уровне	10

ГЛАВА II

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АТОМОВ В МОЛЕКУЛАХ И МОЛЕКУЛ МЕЖДУ СОБОЙ

§ 3. Химические элементы жизни	18
§ 4. Электронное строение основных атомов биомолекул	20
§ 5. Взаимодействие между атомами	24
5.1. Локализованные химические связи (24). 5.2. Неполная локализация химических связей (33).	
§ 6. Взаимодействие между молекулами	36
6.1. Дисперсионные, или вандерваальсовы, взаимодействия (36). 6.2. Водородные связи между молекулами (39).	
§ 7. Взаимодействие ионов и молекул с водой	45
7.1. Гидратация ионов в воде (45). 7.2. Гидрофобные и гидрофильные взаимодействия (48).	

ГЛАВА III

БЕЛКИ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

§ 8. Структура белков	53
8.1. Аминокислоты (53). 8.2. Первичная структура белков (58). 8.3. Вторичная и более высокого порядка структуры белковых молекул (61).	
§ 9. Некоторые биологические функции белков	67
9.1. Белки, запасющие и переносящие кислород (67). 9.2. Биокатализаторы — ферменты (73). 9.3. Аллостерические ферменты. Кооперативность (80). 9.4. Контроль биохимических реакций (85).	
§ 10. Ферменты с известной пространственной структурой	88
10.1. Лизоцим (88) 10.2. Семейство ферментов, расщепляющих белки (92).	

ГЛАВА IV

КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ

§ 11. Поверхность клетки	99
11.1. Узнавание клетками друг друга (101).	
§ 12. Состав и структура клеточных мембран	103
12.1. Внутренние мембранные белки (109). 12.2. Динамические модели клеточных мембран (109). 12.3. Кооперативные явления в мембранах (111).	
§ 13. Пассивный транспорт ионов и молекул через мембраны	113
13.1. Транспорт молекул и ионов через мембраны, разделяющие электролиты (114). 13.2. Пассивный транспорт при участии переносчиков (117). 13.3. Молекулярный механизм мембранной активности валиномицина (122). 13.4. Трансмембранная разность потенциалов (126).	
§ 14. Принудительный транспорт молекул и ионов через биологические мембраны	128
14.1. Ионные насосы (128). 14.2. Энергетизованное состояние мембраны (133). 14.3. Окислительное фосфорилирование (136). 14.4. Активный транспорт в мембранах бактерий (138).	

ГЛАВА V

БИОЭНЕРГЕТИКА

§ 15. Метаболические реакции в клетке	142
15.1. Молекула АТФ как универсальный аккумулятор энергии в клетке (148).	
§ 16. Митохондрии — энергетические фабрики клеток	152
16.1. Цепь электронного транспорта в митохондриях (155). 16.2. Гипотезы о механизме фосфорилирования во внутренних мембранах митохондрий (163). 16.3. Хемисмотическая гипотеза о сопряжении процессов дыхания и фосфорилирования (165).	
§ 17. Механизм фотосинтеза	171
17.1. Хлорофилл и другие светочувствительные пигменты (175). 17.2. Фотосинтезирующие центры в хлоропластах (180). 17.3. Фотосинтезирующие системы бактерий и синезеленых водорослей (181). 17.4. Две фотосинтезирующие системы у растений (186). 17.5. Механизм сопряжения реакции разделения электрических зарядов квантами света и фотофосфорилирования (191). 17.6. Темновая фаза фотосинтеза (194). 17.7. Фотосинтезирующий механизм без молекул хлорофилла (195).	
§ 18. Передача нервного импульса	200
18.1. Немиелинизированные нервные волокна (201). 18.2. Потенциал действия (205). 18.3. Уравнения Ходжкина — Хаксли (207). 18.4. Распространение импульсов по нервным волокнам (209). 18.5. Синаптическая передача (211). 18.6. Нервно-мышечные синапсы (213).	

ГЛАВА VI

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

§ 19. Структурная организация поперечнополосатых мышц	216
19.1. Саркоплазматическая сеть поперечнополосатых мышц (219). 19.2. Микроструктура миофибрилл (221). 19.3. Биохимия процесса мышечного сокращения (224).	
§ 20. Современные представления о механизме сокращения мышц	229
20.1. Модель скользящих нитей (229). 20.2. Феноменологические теории механизма сокращения поперечнополосатых мышц (230). 20.3. Молекулярная теория мышечного сокращения (233).	

- § 21. Сократительные системы нескелетных мышц 239
 21.1. Синхронные летательные мышцы насекомых (239). 21.2. Асинхронные мышцы насекомых (241). 21.3. Движение с помощью ресничек и жгутиков (243). 21.4. Специализированные мышечные клетки (246).

ГЛАВА VII

МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ И ЭЛЕКТРОНОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

- § 22. Миграция энергии в одномерных молекулярных системах 249
 22.1. Экситоны в периодических одномерных молекулярных структурах (249). 22.2. Солитоны в упорядоченных одномерных молекулярных структурах (255). 22.3. Сравнение свойств солитонов и экситонов (260). 22.4. Солитоны в α -спиральных белковых молекулах (262).
 § 23. Транспорт электронов в биологических системах 269
 23.1. Туннельный перенос электронов (270). 23.2. Роль белков в процессе электронного транспорта на большие расстояния (272).

- Список литературы 282
 Предметный указатель 292

АЛЕКСАНДР СЕРГЕЕВИЧ
 ДАВЫДОВ

БИОЛОГИЯ И КВАНТОВАЯ МЕХАНИКА

*Печатается по постановлению ученого совета
 Института теоретической физики АН УССР*

Редактор Л. Е. Зборовская.
 Художественный редактор И. П. Антонюк.
 Оформление художника М. Н. Усова.
 Технический редактор Б. М. Кричевская.
 Корректоры О. Е. Исарова, Л. М. Тищенко,
 Р. С. Борисова.

Информ. бланк № 1925

Сдано в набор 11.01.79. Подп. в печ. 09.07.79. БФ 00185. Формат 60×90/16. Бумага типогр. № 1. Обычн. иов. гарн. Бис. печ. Усл. печ. л. 18,5. Уч.-изд. л. 18,78. Тираж 3000 экз. Заказ 9—143. Цена 3 руб. 10 коп.

Издательство «Наукова думка». 252601, Киев, ГСП, Репина, 3.

Главное предприятие республиканского производственного объединения
 «Полиграфкнига» Госкомиздата УССР, 252057, Киев-57, Довженко, 3.