

М. В. ВОЛЬКЕНШТЕЙН

ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

МОСКВА «НАУКА»
ГЛАВНАЯ РЕДАКЦИЯ
ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1978

ФИЗИКА ЖИЗНЕННЫХ ПРОЦЕССОВ

МОСКВА «НАУКА»
ГЛАВНАЯ РЕДАКЦИЯ
ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
1978

Общая биофизика, Волькенштейн М. В.
Монография, Главная редакция физико-математической литературы издательства «Наука», М., 1978.

Монография посвящена основным проблемам физики надмолекулярных биологических систем — биофизики клетки и общим вопросам биофизики. Рассмотрены молекулярные основы биофизики, термодинамическая теория неравновесных процессов в открытых системах. Дано подробное изложение современных представлений о мембранном транспорте, распространении и генерации нервного импульса, о механохимических процессах (в частности, о мышечном сокращении), о сопряженных процессах в митохондриях, о фотобиологических процессах (фотосинтез, зрительная рецепция). В заключительных главах книги рассмотрены нелинейные процессы (в частности, колебательные) и проблемы эволюционного и индивидуального развития. Особенность книги состоит в изложении биофизики как части единой физической науки.

Табл. 21, илл. 221, библиограф. 1104 назв.

| | |
|--|------------|
| Предисловие | 7 |
| Глава 1. Молекулярные основы биофизики | 9 |
| § 1.1. Содержание молекулярной биофизики | 9 |
| § 1.2. Молекулярное узнавание | 12 |
| § 1.3. Взаимодействие антиген — антитело | 17 |
| § 1.4. Рецепция запаха | 28 |
| § 1.5. Межклеточные взаимодействия | 34 |
| § 1.6. Молекулярная регуляция биосинтеза белка | 38 |
| § 1.7. Биосинтез белка в клетках эукариотов | 43 |
| Глава 2. Термодинамика неравновесных систем | 51 |
| § 2.1. Функция диссипации | 51 |
| § 2.2. Сопряжение химических реакций | 58 |
| § 2.3. Стационарное состояние линейной системы | 62 |
| § 2.4. Сопряжение химических реакций с процессами диффузии | 67 |
| § 2.5. Процессы, удаленные от равновесия | 72 |
| § 2.6. Энтропия | 79 |
| § 2.7. Энтропия и информация в биологии | 87 |
| Глава 3. Мембранный транспорт | 96 |
| § 3.1. Мембраны клетки | 96 |
| § 3.2. Термодинамика пассивного мембранного транспорта | 101 |
| § 3.3. Термодинамика активного мембранного транспорта | 111 |
| § 3.4. Термодинамическая модель натриевого насоса | 116 |
| § 3.5. Модельная теория пассивного ионного транспорта | 121 |
| § 3.6. Модельная теория активного ионного транспорта | 130 |
| § 3.7. Структура мембран | 136 |
| § 3.8. Конформационные свойства мембран | 142 |
| § 3.9. Индуцированный ионный транспорт | 151 |
| Глава 4. Нервный импульс | 160 |
| § 4.1. Аксон и нервный импульс | 160 |
| § 4.2. Распространение нервного импульса | 175 |
| § 4.3. Генерация импульса | 185 |
| § 4.4. Активация и инактивация натриевой проводимости | 193 |
| § 4.5. Синаптическая передача | 206 |
| Глава 5. Механохимические процессы | 211 |
| § 5.1. Термодинамика механохимических процессов | 211 |
| § 5.2. Структура мышцы и мышечных белков | 219 |
| § 5.3. Биохимия и механика мышцы | 226 |
| § 5.4. Термомеханические свойства мышцы | 232 |
| § 5.5. Теории мышечного сокращения | 238 |
| § 5.6. Теория стационарного мышечного сокращения | 246 |
| § 5.7. Теория термомеханических свойств мышцы | 252 |
| § 5.8. Инициация мышечного сокращения | 258 |

| | |
|--|------------|
| § 5.9. Кинетические свойства мышцы | 264 |
| § 5.10. Задачи физики мышцы | 268 |
| § 5.11. Движение жгутиков и ресничек | 270 |
| § 5.12. Другие механохимические системы | 276 |
| Глава 6. Сопряженные процессы в митохондриях | 280 |
| § 6.1. Биологическое окисление | 280 |
| § 6.2. Строение и свойства митохондрий | 288 |
| § 6.3. Термодинамика окислительного фосфорилирования | 293 |
| § 6.4. Хемосмотическое сопряжение | 298 |
| § 6.5. Экспериментальные исследования хемосмотического сопряжения | 307 |
| § 6.6. Электронно-конформационные взаимодействия | 314 |
| § 6.7. Цитохром с | 327 |
| Глава 7. Фотобиологические процессы | 334 |
| § 7.1. Фотосинтез | 334 |
| § 7.2. Хлорофилл и другие пигменты | 339 |
| § 7.3. Две фотохимические системы | 347 |
| § 7.4. Исследования флуоресценции | 355 |
| § 7.5. Ферментативные процессы фотосинтеза | 359 |
| § 7.6. Хлоропласты | 361 |
| § 7.7. Первичные физические процессы фотосинтеза | 370 |
| § 7.8. Зрение | 372 |
| § 7.9. Молекулярный механизм фоторецепции | 379 |
| § 7.10. Мембраны фоторецепторов | 387 |
| Глава 8. Нелинейные динамические процессы | 393 |
| § 8.1. Введение | 393 |
| § 8.2. Физико-математические основы кинетики нелинейных процессов | 397 |
| § 8.3. Автокаталитические химические системы | 408 |
| § 8.4. Нелинейные химико-диффузионные системы | 418 |
| § 8.5. Периодические химические реакции | 423 |
| § 8.6. Нелинейные ферментативные процессы | 433 |
| § 8.7. Автоколебания в ферментативных реакциях | 440 |
| § 8.8. Автоколебания при фотосинтезе | 446 |
| § 8.9. Периодические явления в мембранах | 451 |
| § 8.10. Фибрилляция возбудимой среды | 455 |
| § 8.11. Нелинейность и регуляция | 463 |
| § 8.12. Нелинейные динамические процессы и фазовые переходы | 465 |
| Глава 9. Проблемы развития | 473 |
| § 9.1. Живая природа | 473 |
| § 9.2. Происхождение жизни | 476 |
| § 9.3. Теория добиологической эволюции | 483 |
| § 9.4. Полинуклеотидные и полипептидные системы | 492 |
| § 9.5. Термодинамика и эволюция | 499 |
| § 9.6. Теория перехода к биологической эволюции | 504 |
| § 9.7. Физико-химические основы биологической эволюции и ценность информации | 509 |
| § 9.8. Ценность информации и генетический код | 521 |
| § 9.9. Онтогенез | 528 |
| § 9.10. Теоретическое моделирование онтогенеза | 535 |
| § 9.11. Иммуниет | 543 |
| Литература | 557 |
| Предметный указатель | 588 |

Эта книга представляет собой вторую часть монографии, посвященной современной биофизике. Первая часть — «Молекулярная биофизика» — опубликована в 1975 г. Исходная идея, лежащая в основе этой двухтомной монографии, состоит в том, что биофизика есть физика явлений жизни, а не вспомогательная область биологии или физиологии.

В «Молекулярной биофизике» изложена физика важнейших для жизни биологических макромолекул — белков и нуклеиновых кислот. В данной книге рассматриваются биологические явления, реализующиеся на надмолекулярном и клеточном уровнях строения. Эти сложные процессы протекают в организмах преимущественно в условиях, далеких от термодинамического равновесия. Соответственно, их теоретическое исследование основывается на термодинамике необратимых процессов, на кинетике. Организмы, клетки, надмолекулярные биологические структуры представляют собой динамические, а не статистические системы. Теория таких систем находится в начальной стадии своего развития. Тем не менее ряд научных фактов и положений, относящихся к этой области физики, установлен надежно.

В отличие от многих книг, посвященных биофизике, здесь предпринята попытка по возможности отделить физику явлений жизни от физиологии как таковой. Те или иные явления рассматриваются на основе общих физических принципов, а не на основе физиологической классификации явлений. Поэтому, например, рецепция запаха описана в связи с явлениями молекулярного узнавания, осязательная рецепция — в связи с механохимическими процессами, а зрительная рецепция — в главе, посвященной фотобиологии.

Современная физика — единая наука о строении и свойствах вещества и полей, о строении и свойствах материи — должна служить теоретической основой любых областей естествознания. Это уже реализовано в химии. Ввиду чрезвычайной сложности биологических явлений теоретическая биология развивалась пока практически независимо от физики. Однако процесс объединения этих дисциплин уже начался. В книге соответственно рассматриваются и некоторые общебиологические проблемы, в том числе и важнейшие из них, а именно проблемы развития.

Основное внимание в книге уделено теоретико-физическому рассмотрению биологических явлений. Однако описаны и экспериментальные факты. Книга представляет собой обзорную монографию, которая может служить также пособием для научных работников, аспирантов и студентов, занимающихся биофизикой и обладающих необходимым знанием физики. Книгу можно читать и независимо от «Молекулярной биофизики» при некотором знакомстве с белками и нуклеиновыми кислотами.

В ряде глав изложены результаты, полученные автором и его сотрудниками. Параграфы 3.5, 3.6, 4.3, 4.4, 5.6, 5.8, 8.6, 9.8, 9.11 основаны целиком на оригинальных работах.

Я благодарю за множество ценных советов и замечаний А. М. Жаботинского и Д. С. Чернавского. Я благодарю также Л. А. Блюменфельда, Г. П. Георгиева, Б. Ф. Диброва, А. А. Красновского, В. И. Крицкого, Е. А. Либермана, М. А. Лившица, Н. Я. Орлова, М. А. Островского, Е. Е. Селькова, Е. Е. Фесенко и С. Н. Фишман за предоставленные ими материалы и полезные советы.

М. Волькенштейн

§ 1.1. СОДЕРЖАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОФИЗИКИ

Биофизика есть физика сложных макроскопических молекулярных систем — клеток и организмов. Их функционирование, реализуемое в условиях относительно малых изменений температуры и давления, определяется в конечном счете химическими, молекулярными процессами. Организм есть химическая машина, управление и регуляция которой осуществляются посредством молекулярных сигналов, молекулярных источников, преобразователей и рецепторов информации.

Физика биологически функциональных молекул, к которым в первую очередь относятся молекулы белков и нуклеиновых кислот, изложена в монографии [1]. Приведем здесь некоторые основные положения молекулярной биофизики.

Живая система принципиально гетерогенна. Она построена из множества различных низко- и высокомолекулярных веществ. Очевидно, что свойственные живым системам механизмы управления и регуляции, механизмы молекулярной сигнализации не могли бы функционировать в гомогенной системе, построенной из однотипных молекул. Гетерогенность присуща всем уровням биологической организации вплоть до структуры отдельной биологической макромолекулы — нуклеиновой кислоты или белка. Эти информационные макромолекулы представляют собой своего рода тексты, записанные соответственно четырех- или двадцатибуквенным алфавитом. Существенны именно структурно-функциональные различия между разными «буквами» одного и того же текста. Гомогенные макромолекулы гомополимеров содержатся в живых организмах, но не участвуют в наиболее важных процессах биосинтеза и метаболизма. Они выполняют опорную функцию (например, целлюлоза в растениях), служат в качестве депо необходимых веществ (крахмал в растениях, гликоген в животных) и т. д.

Уже малые индивидуальные различия в структуре функциональных атомных групп (например, различия изомерных углеводородных радикалов), практически не играющие роли в обычной химии, оказываются весьма существенными для реализации тонкого химического баланса в живой системе. Высокий

уровень химической и структурной индивидуализации неразрывно связан с биологической функциональностью. Одно из проявлений такой индивидуализации — *хиральность* биологических молекул, обладающих определенными оптически-активными конфигурациями (см. [1], § 2.6).

Чрезвычайное многообразие молекул в живых системах не означает очень широкого многообразия «химических мотивов», в них представленных. Напротив, оно возникает в результате различного комбинирования ограниченного числа атомных групп, принадлежащих к еще меньшему числу классов органических соединений. Все белки, начиная с вирусных и кончая белками, образующими наиболее сложные организмы растений и животных, строятся из двадцати канонических аминокислот, все ДНК — из четырех нуклеотидов. Те же или сходные группировки фигурируют в ряде биорегуляторов (см. [1], § 2.9). Это химическое единство живой природы непосредственно связано с пройденным ею путем химической и биологической эволюции (см. гл. 9).

Основные биологически функциональные вещества — биополимеры, белки и нуклеиновые кислоты — представляют собой макромолекулы, содержащие единичные связи, не сопряженные с двойными связями. Внутренние повороты вокруг единичных связей приводят к появлению поворотных изомеров (ротамеров), т. е. к различным *конформациям* цепи. Статистическая механика макромолекул основана именно на рассмотрении их флуктуирующего ротамерного строения ([1], гл. 3, [2—4]). Конформационная гибкость биополимерных молекул определяет их важнейшие физико-химические и, в конечном счете, биологические свойства — возникновение и динамику специфической пространственной структуры, отбираемой в процессе эволюции.

Отсутствие делокализованных π -электронов в биополимерной цепи непосредственно доказывается ее гибкостью. Гибкая цепь не содержит сопряженных связей. Конформационная подвижность означает отсутствие π -электронной подвижности.

Особо важная роль конформационных движений в биологической функциональности биополимеров связана с тем, что их участие в биохимических процессах прежде всего каталитическое. ДНК и мРНК являются матричными катализаторами биосинтеза белка ([1], гл. 9), белки действуют как ферменты ([1], гл. 6, 7). Эти биополимеры сохраняют свою целостность в биохимических процессах. Основой биомолекулярных процессов является *молекулярное узнавание*, определяемое слабыми взаимодействиями (см. ниже). Соответственно динамика таких процессов есть прежде всего конформационная динамика, так как само существование различных конформаций и их измене-

ния также определены слабыми невалентными взаимодействиями, что дает возможность реализовать биомолекулярные процессы в мягких условиях и поддерживать эти условия. В отличие от обычной химии, в которой конформационные превращения имеют значение второстепенное по сравнению с электронными перестройками, в биохимии и те и другие процессы связаны неразрывно. Каталитическая функция белков и нуклеиновых кислот означает их непосредственное участие в электронных перестройках соответствующих субстратов, но это участие реализуется посредством конформационной подвижности. Тем самым, актуальной (но еще далеко не изученной) проблемой молекулярной биофизики является исследование *электронно-конформационных взаимодействий* (ЭКВ) в биологических молекулярных и надмолекулярных системах ([1], § 6.7). Именно явления ЭКВ, а не особые электронные (например, полупроводниковые) свойства белков и нуклеиновых кислот (свойства, по видимому, несуществующие или несущественные) ответственны за их биологическую значимость. Специфические электронные свойства, сводящиеся прежде всего к делокализации π -электронов в системе сопряженных связей, присущи многим низкомолекулярным соучастникам ферментативных процессов — ряду коферментов, простетическим группам и т. д. Эти свойства регулируют ЭКВ в биополимере.

Биологически функциональна целостная пространственная структура молекулы белка. Эта конформационная структура полипептидной цепи поддерживается и стабилизируется опять-таки главным образом слабыми взаимодействиями ([1], гл. 4). Возникает глобула — аperiодический кристалл, своеобразная молекулярная машина, поведение и свойства которой зависят от индивидуального поведения и положения каждого ее элемента. Все элементы белковой молекулы связаны друг с другом сильными химическими взаимодействиями вдоль полипептидной цепи и целой гаммой слабых невалентных взаимодействий. Белковая глобула есть *система*. Иными словами, поведение ее *кооперативно* на всех уровнях строения, начиная с первичной структуры. Кооперативна любая полимерная цепь, так как конформация данного ее звена не независима от конформаций соседних звеньев. В этом смысле рассмотрение свойств биологических макромолекул основывается на ряде положений физики конденсированного состояния, физики твердых и жидких тел. Процессы денатурации биополимеров, в частности переходы спираль — клубок ([1], §§ 4.5, 8.4), подобны фазовым переходам, в частности, плавлению кристалла.

Изучение денатурации белков проводится с целью получения информации о структуре и свойствах нативных молекул. Это — грубый способ. Сведения о сложной машине получаются путем

ее разрушения. Наиболее мощный метод познания структуры биополимеров — рентгенографический ([1], §§ 5.1, 5.2). Вместе с тем очень велика и роль ряда других методов, прежде всего спектральных и оптических ([1], гл. 5,7), являющихся сегодня более доступными и дающих более разнообразную информацию, чем рентгенография. Конечно, эта информация гораздо менее точна и детальна.

В молекулярной биофизике как таковой, т. е. в физике белков и нуклеиновых кислот, не возникают проблемы, связанные с неравновесным поведением живой открытой системы. Биополимеры исследуются *in vitro* на тех же основаниях, как и любые другие вещества, не участвующие в процессах жизнедеятельности. Именно это обстоятельство определило быстрое развитие молекулярной биофизики, ставшей сегодня наиболее разработанной областью биофизики в целом.

§ 1.2. МОЛЕКУЛЯРНОЕ УЗНАВАНИЕ

Узнавание (распознавание) сигнала рецептором есть основное свойство регулируемой и регулирующей системы, будь то человеческий мозг или электронная вычислительная машина. Такого рода системы являются узнающими [5]. Они осуществляют классификацию объектов, информация о которых сообщается рецепторам. Эта классификация основывается на некотором принципе, заложенном в системе.

Узнающие системы могут быть не обучающимися и обучающимися. Вторые представляют особый интерес для кибернетики, теории автоматического регулирования, для моделирования деятельности головного мозга животных и человека и т. д. В качестве примера обучаемой узнающей системы можно назвать перцептрон — схему, моделирующую важные черты работы мозга, прежде всего его способность узнавать и классифицировать сигналы, получаемые полем рецепторов [5, 6].

Очевидно, что возможность обучения узнающей системы определяется ее способностью обучаться, т. е. наличием в ее устройстве элементов памяти. Узнавание сигналов такой системой и является обучением с последующим «экзаменом» [5]. Способность обучаться, т. е. узнавать, запрограммирована в устройстве системы.

Обращаясь к глубинным уровням биологической организации, мы встречаемся с обучаемыми клеточными системами и с необучаемыми молекулярными системами узнавания. Клеточное узнавание имеет принципиальное значение для процессов развития, в частности, для возникновения иммунитета (см. § 9.11). Молекулярное узнавание определяет все важнейшие молекулярно-биологические процессы — ферментативную

активность, редупликацию ДНК, все этапы биосинтеза белка, взаимодействие антиген — антитело (см. § 1.3) и т. д.

Молекула белка-фермента узнает молекулу субстрата или некоторую ее часть, как, например, в случае протеолитических ферментов, катализирующих гидролиз пептидных связей. Узнавание выражается в образовании реакционного комплекса со специфическим субстратом. Комплексы с ингибиторами и активаторами, с аллостерическими эффекторами также возникают в результате специфического узнавания. В узнавании участвуют непосредственно активный центр фермента, включающий и соответствующий кофактор, и косвенно вся белковая глобула. Само образование глобулы можно трактовать как результат узнавания, в частности, узнавания гидрофобных остатков гидрофобными же остатками, вследствие чего формируется ядро глобулы.

Более простой случай узнавания реализуется при комплементарном связывании нуклеотидов в двойной спирали ДНК, в гибридной двойной спирали ДНК — РНК, в синтетических полинуклеотидах, при взаимодействии кодон — антикодон.

В биосинтезе белка ([1], гл. 9) мы встречаемся с ферментативным узнаванием, происходящем в акте транскрипции, в котором необходимым образом участвует РНК-полимераза, и в акте трансляции, где узнающими системами, наряду с мРНК, служат аминоксил — тРНК-синтетаза, вся рибосома и ряд других факторов.

Из приведенных выше данных следует определение термина «молекулярное узнавание». Это понятие имеет смысл применительно к системам, в которых узнающее устройство сохраняет свою целостность в акте узнавания и в ряде случаев возвращается в исходное состояние, совершив преобразование молекулярного сигнала. Одна молекула фермента перерабатывает множество молекул субстрата, одна рибосома «читает» весь текст, записанный в цепи мРНК.

Можно было бы говорить о молекулярном узнавании и применительно к обычным химическим реакциям, причем с тем большим основанием, чем они специфичнее. Однако «узнающий» реагент изменяется радикальным образом в ходе реакции и утрачивает способность к дальнейшим актам узнавания.

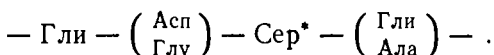
Таким образом, применяемое здесь определение молекулярного узнавания указывает на специфичность слабых, главным образом нехимических взаимодействий молекул. Для узнавания существенно стерическое соответствие структуры рецептора и структуры сигнальной молекулы, соответствие, фиксированное или индуцируемое. Специфическое понижение свободной энергии происходит вследствие многоточечного взаимодействия, которое и описывается как континуальное соответствие молекулярных поверхностей и находит свое наглядное выражение в атомных

моделях. В сущности, старое представление Фишера о соответствии «ключ — замок» и сводится к узнаванию.

Достижение соответствия, как правило, связано с определенной перестройкой взаимодействующих систем и, следовательно, с конформационными превращениями. Реализуются электронно-конформационные взаимодействия — ЭКВ.

Молекулярное кодирование в биологии основывается в конечном счете на молекулярном узнавании. Генетический код связан с функционированием ряда узнающих систем, перечисленных выше. Естественно возникает вопрос о ферментном коде, т. е. о классификации соответствий между активными центрами ферментов и субстратами.

Громадное число комбинаций из 20 сортов аминокислотных остатков на поверхности реактивной полости фермента, в его активном центре, обеспечивает практически неограниченное многообразие функциональности ферментов. Можно думать о наличии фиксированных комбинаций, кодирующих узнавание характерных атомных групп субстратов. Точнее, следует говорить о кодовых сорбирующих комбинациях и о кодовых каталитических комбинациях, действующих согласованно, но пространственно разделенных. Имеются некоторые указания на возможность существования такого кода. Так, важный для катализа остаток Сер содержится в активном центре ряда эстераз, протениаз и фосфомуаз [7]. Для многих из этих ферментов характерна последовательность



Установлено, что Сер «узнает» ацильную группу, будучи ее промежуточным акцептором [8]. Подробно изучены кодовые свойства и других функциональных групп ферментов: имидазольной группы Гис, ϵ -аминогруппы Лиз, карбоксильных [9], сульфгидрильных и дисульфидных групп [10]. Тем не менее, сегодня можно лишь поставить проблему ферментного кода. Решение этой проблемы требует обширной и разнообразной информации о структуре активных центров, получаемой прежде всего методом рентгеноструктурного анализа.

Взаимодействие, определяющее узнавание субстрата или ингибитора белком, есть процесс передачи информации молекулярным сигналом рецептору. Как подчеркивает Каствлер, в большинстве реальных случаев передается не вся информация, содержащаяся в данном объекте, но лишь некоторая ее часть, именуемая *сигнатурой* [11]. Сигнатурой молекулы служат все те ее особенности, благодаря которым она становится участником данной реакции. В случае образования фермент-субстратного

комплекса сигнатурой субстрата являются его функциональные группы, взаимодействующие с активным центром. В свою очередь, сигнатура фермента есть его активный центр, т. е. ограниченная совокупность аминокислотных остатков, непосредственно взаимодействующих с субстратом. Узнавание сводится здесь к структурному соответствию молекулярных сигнатур, реализуемому в результате многоточечных слабых взаимодействий.

Если обратиться к обучаемым узнающим системам, возникающим на более высоких уровнях биологической организации, то станет очевидным, что в результате обучения система должна перестать «обращать внимание» на несущественные обстоятельства [5]. Иными словами, система обучается узнаванию сигнатуры.

Совершенство молекулярного узнавания имеет первостепенное значение для молекулярной биологии и биофизики, в частности, для процессов развития и эволюции (см. гл. 9).

Специфичность ферментов не абсолютна. Данный фермент зачастую катализирует не определенную реакцию одного строго заданного субстрата, а однотипные реакции группы сходных субстратов. Это определяется двумя причинами. Первая непосредственно связана с общей программой онтогенеза и филогенеза, приводящей к оптимальной экономии числа действующих белков. В тех ситуациях, в которых биологически существенна одна и та же реакция группы родственных субстратов, она может быть эффективно реализована единственным ферментом. Конечно, вся названная группа должна характеризоваться одной и той же сигнатурой или близкими сигнатурами.

Вторая причина наличия конечного интервала специфичности имеет молекулярно-кинетический характер. Реальная молекулярная узнающая система, фермент, предназначена не только для узнавания сигнала, но и для его достаточно быстрого преобразования. Степень специфичности узнавания, вообще говоря, симбатна степени связывания субстрата, т. е. выражается свободной энергией взаимодействия. Если выигрыш свободной энергии слишком велик, то прочность фермент-субстратного комплекса может быть настолько большой, что число оборотов фермента окажется чрезмерно низким. Необходимо оптимальное соотношение между стабильностью и скоростью преобразования [12]. Эта ситуация с особенной ясностью проявляется в более простых случаях узнавания в полинуклеотидах и нуклеиновых кислотах. Приведем две таблицы, заимствованные из [12].

Табл. 1.1 характеризует точность узнавания азотистых оснований РНК. Комплементарные пары АУ и ГЦ оказываются действительно наиболее прочными; так, АУ значительно прочнее АА или УУ. Однако возможно образование и некомплементарных пар, что и является одной из важнейших причин мутагенеза.

Константы стабильности достаточно низки, вследствие чего образование пар в полярных средах затруднено.

Таблица 1.1

Константы ассоциации $K_{\text{асс}}$ при спаривании оснований в неполярных растворителях C_6H_6 и CCl_4 при 25°C ($2'$, $3'$, $5'$ -O-замещенные рибонуклеозиды) [12]

| C_6H_6 \ CCl_4 | $K_{\text{асс}}$, моль $^{-1}$ | | | |
|---|---------------------------------|--------------------|----------------|----------------------------|
| | У | А | Ц | Г |
| У | 15 | 550 | < 50 | < 10^3 |
| А | 45 | 22 | < 50 | < 10^3 |
| Ц | < 28 | < 28 | 28 | > 10^4 |
| Г | < $1,12 \cdot 10^3$ | < $1,2 \cdot 10^3$ | $3 \cdot 10^4$ | $1,2 \cdot 10^3 \sim 10^3$ |

Полужирным шрифтом показаны значения $K_{\text{асс}}$ в растворителе C_6H_6 , курсивом — в CCl_4 .

Табл. 1.2 свидетельствует о преимуществах в узнавании триплетов. Дублеты обладают слишком низкими значениями $K_{\text{асс}}$. Кодоны, содержащие более трех нуклеотидов, напротив, дают слишком прочное связывание. Время жизни пары кодон — антикодон не должно превышать нескольких миллисекунд, так как в противном случае оно будет лимитировать скорость работы каталитической системы.

Как указывает Эйген [12], константы стабильности для элементарных триплетов, входящих в состав олигомерных двойных спиралей, содержащих более чем четыре звена, заметно меньше, чем для триплетов и квадруплетов. По-видимому, это объясняется лучшими возможностями для вертикальных (stacking) взаимодействий в случае коротких экспонированных последовательностей, т. е. возможностями конформационных перемещений, приводящих к оптимальному связыванию. В молекулярном узнавании отчетливо проявляются кооперативные конформационные свойства биополимеров.

Характеристики узнавания, определяемые константами стабильности, относятся, конечно, лишь к термодинамическому равновесию. Биологические процессы репликации ДНК, транскрипции и трансляции — кинетические процессы, идущие с участием соответствующих ферментов ([1], гл. 8, 9). В их основе лежит узнавание ДНК ДНК-полимеразой, лигазами, РНК-полимеразой, узнавание мРНК и тРНК рибосомой.

Для кинетических процессов существенны не только относительные глубины минимумов свободной энергии, отвечающих

Т а б л и ц а 1.2

Константы ассоциации $K_{\text{асс}}$ при спаривании три- и тетрауклеотидов с антикодонами тРНК в водном растворе 1,0 М NaCl, 10 мМ MgCl₂ и 10 мМ фосфата при pH 7 и 0 °С [12—14]

| Формил-Мет-тРНК AA <u>УАЦ</u> УЦ | $K_{\text{асс}}$, моль ⁻¹ | Тир-тРНК AA* <u>АУ*Г</u> УЦ | $K_{\text{асс}}$, моль ⁻¹ |
|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| <u>АУГ</u> | 1200 ± 200 | <u>УАЦ</u> | 700 |
| АУГА | 13 500 | УАЦА | 90 000 |
| АУГУ | 1 400 | <u>УАУ</u> | 700 |
| АУГЦ | 900 | УАУА | 37 000 |
| АУГГ | 1 000 | Фен-тРНК | |
| <u>ГУГ</u> | 1 200 | Ау <u>ААГ*</u> УЦ* | |
| ГУГА | 9 800 | <u>УУЦ</u> | 900 |
| ГУГУ | 1 000 | УУЦА | 10 000 |
| | | <u>УУУ</u> | 300 |
| | | УУУА | 1 000 |

А* — N(6)-диметил-А, У* — псевдо-У, Г* — 2-О-метил-Г, Ц* — 2-О-метил-Ц. Дважды подчеркнуты регулярные кодоны, один раз — кодоны, соответствующие «вилянию» ([1], стр. 593). Рамкой выделены антикодоны.

«структурам узнавания», но и барьеры, эти минимумы разделяющие. Узнавание непосредственно связано с ускорением соответствующего процесса, т. е. со снижением активационного барьера в результате слабых взаимодействий. Количественная теория этих процессов еще далеко не построена.

В следующем параграфе мы рассмотрим сравнительно хорошо изученные структурные соответствия во взаимодействиях антител с антигенами.

§ 1.3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕН — АНТИТЕЛО

Иммунологическая защита организма позвоночного животного от чужеродных белков и других биополимеров, именуемых в этом случае *антигенами*, в конечном счете сводится к взаимодействию специфических белков — *антител* — с антигенами. Имунный ответ, т. е. появление антител в организме, есть результат узнавания антигенов определенными популяциями клеток. Этот процесс развивается на организменном уровне, в нем участвуют различные клеточные узнающие системы, являющиеся обучающимися в том смысле, что они приобретают память об

однажды введенном антигене и отвечают на его вторичное введение усиленной выработкой антител. Эти важные процессы, имеющие непосредственное отношение к общей проблеме клеточной дифференциации, рассмотрены в § 9.11. Здесь мы остановимся на структуре антител и антигенов и их взаимодействиях, определяющих молекулярное узнавание.

Антитела (АТ) представляют собой белки, относящиеся к группе иммуноглобулинов. У человека имеется пять основных классов иммуноглобулинов, обозначаемых IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, в свою очередь разделяемых на подклассы [15]. Важнейшими являются IgG. Их молекулярный вес равен примерно 150 000, константа седиментации 7S. IgM имеют молекулярный вес $(9-10) \cdot 10^5$, константу седиментации около 19S. IgM, по видимому, представляют собой пентамеры IgG.

С помощью ряда химических и физико-химических методов установлена схема строения макромолекулы IgG [16, 17]. На рис. 1.1 показана схема строения IgG кролика по Портеру [15, 18]. Молекула состоит из двух тяжелых цепей, обозначаемых γ ,

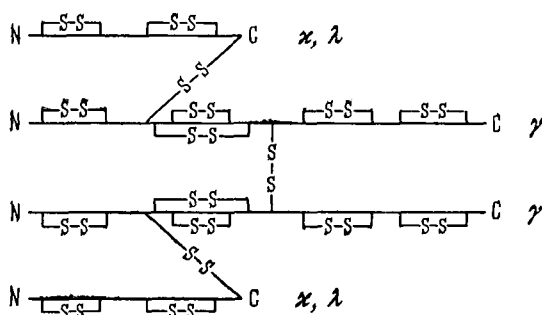


Рис. 1.1. Схема строения антитела IgG по Портеру.

и двух легких, обозначаемых в зависимости от типа АТ κ или λ . Их молекулярные веса равны соответственно $53\,500 \pm 4000$ и $23\,800 \pm 1000$ (кролик), а числа аминокислотных остатков 446 и 214 (последние числа относятся к миеломному белку человека IgG, первичная структура которого была полностью расшифрована [19]).

Белковые цепи в молекуле IgG связаны дисульфидными мостиками, показанными на рис. 1.1.

Структура молекулы IgG была установлена, в частности, в результате ее расщепления на отдельные полипептидные цепи под действием различных химических агентов и протеолитической фрагментации. Схема фрагментации IgG папаином, установленная Эдельманом, показана на рис. 1.2 [15].

АТ к самым различным антигенам (АГ) характеризуются принципиальным единством строения — схема, приведенная на рис. 1.1, универсальна. Исследование первичной структуры полипептидных цепей IgG показало закономерное расположение внутрицепочных S—S-связей, изображенных на рис. 1.1. Примерно на каждые 100 остатков приходится один дисульфидный

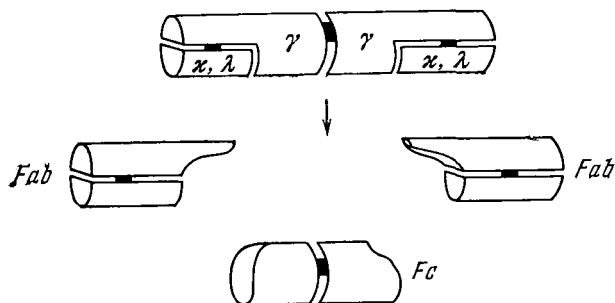


Рис. 1.2. Схема фрагментации IgG папаином по Эдельману.

мостик, формирующий петлю, содержащую примерно 60 остатков. Такой участок с петлей, согласно предположению Эдельмана, представляет собой компактную глобулу, названную *доменом* [19]. Схема доменной структуры IgG приведена на рис. 1.3.

АТ к различным АГ характеризуются различиями первичной структуры. Эти различия локализованы в совершенно определенной области макромолекулы IgG — в вариабельной, или V-области. Вариабельная область занимает примерно половину Fab фрагментов папаинового протеолиза (см. рис. 1.2), т. е. в нее входит около половины легкой цепи и половины прилежащего участка тяжелой цепи у их N-концов. Соответствующие домены на рис. 1.3 отмечены буквой V. Первичные структуры остальных областей тяжелой и легких цепей постоянны в пределах данной группы IgG. У человека длина V-областей κ-цепей варьирует от 107 до 112 остатков, длина постоянной C-области равна 107 остаткам [15].

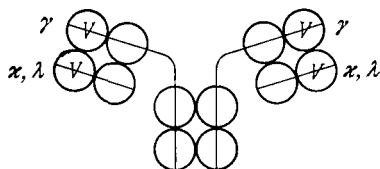
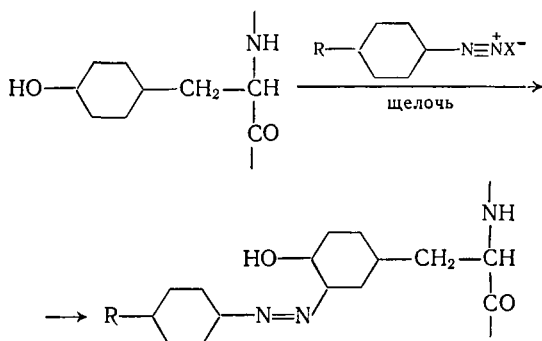


Рис. 1.3. Схема доменной структуры IgG по Эдельману.

Из сказанного следует, что именно V-области ответственны за взаимодействие АТ — АГ, поскольку специфичность АТ определяется особенностями первичной структуры. Активный центр АТ, в котором локализовано взаимодействие АТ — АГ, должен

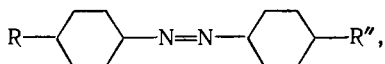
содержать V-область и действительно, как показано прямыми опытами, он расположен в *Fab* фрагментах [20]. Симметричная структура IgG, т. е. наличие двух тождественных *Fab*-фрагментов, указывает на то, что IgG имеет два активных центра, т. е. «валентность» АТ равна двум (см. стр. 23).

Антигенами являются биополимеры, прежде всего белки и полисахариды. В 1919 г. Ландштейнер открыл прекрасный способ получения искусственных синтетических АГ [21]. Метод основан на соединении diazотированных ароматических аминосоединений с тирозилом белка в слабощелочном растворе. Схема реакции Ландштейнера следующая:



Таким способом можно ввести в белок в принципе любой радикал R. R-фенилазобелок можно использовать в качестве АГ и стимулировать выработку соответствующих АТ.

Сопоставление иммунологических свойств радикалов R, присоединенных к белкам, и самих белков показало, что фактором, определяющим антигенную специфичность, является радикал R, а белок играет второстепенную роль. Это было доказано перекрестными реакциями. АТ, полученное в результате воздействия антигена R—Б (Б—белок), реагирует с другим антигеном R—Б' (Б'—другой белок), но не реагирует с антигеном R'—Б (R'—радикал, отличный от R). Антиген R—Б дает с соответствующим АТ труднорастворимый осадок. Если добавлять к системе R-антиген—R-антитело малые молекулы, содержащие ту же детерминантную группу R, например,

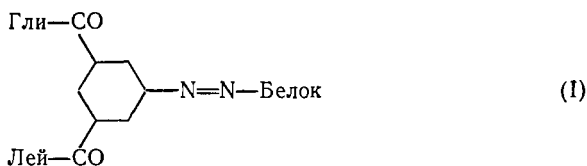


то реакция тормозится, а при дальнейшем повышении концентрации низкомолекулярного соединения прекращается вовсе. Такого рода малые молекулы не создают антител в организме подопытного животного и, следовательно, не являются антигенами. Однако они взаимодействуют с ранее возникшими антите-

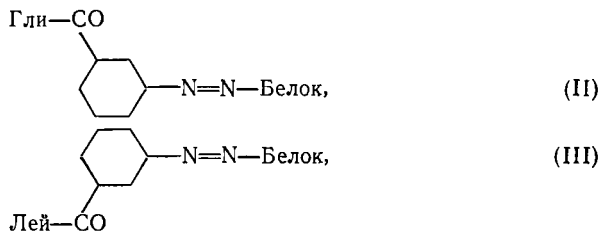
лами, образуя растворимые соединения. Это — так называемое *гаптенное действие*, а указанные малые молекулы называются *гаптенами*. Гаптены конкурируют с АГ, взаимодействуя с теми же активными областями АТ. Взаимодействие подобно обычной химической реакции и подчиняется закону действия масс. АГ содержит детерминантную группу и высокомолекулярный носитель, а гаптен — только детерминантную группу. Исследование иммунохимической реакции показывает, что природные АГ содержат ряд детерминантных групп и в этом смысле поливалентны.

В дальнейшем было показано, что АТ не только поливалентны в смысле наличия нескольких тождественных групп, узнающих АГ, но могут быть и полифункциональными. Установлено, что некоторые АТ взаимодействуют с несколькими АГ, структурно сильно различающимися. Это имеет существенное биологическое значение [117].

Спрашивается, какие свойства детерминантных групп определяют их взаимодействие с антителами? Выясняется, что существенно пространственное строение детерминантной группы. Искусственный АГ типа



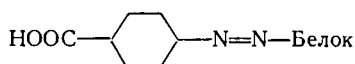
вызывает образование двух типов антител к антигенам (II) и (III)



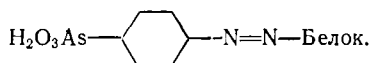
но не к антигену (I), как целому. Это показывает, что размеры детерминантных групп и адекватных им реактивных участков антител относительно невелики [22].

Наличие реактивных групп (активных центров) в АТ непосредственно доказывается красивыми опытами Прессмана и Штернбергера [23]. Кролик иммунизировался искусственными АГ, содержащими в качестве детерминантных групп остаток

n-азобензойной



и *n*-азофениларсиновой кислот



Полученные АТ подвергались йодированию, чем полностью подавлялась их иммунологическая активность. Однако, если йодирование проводилось в присутствии гаптен, то активность сохранялась. Отсюда следует, что введение йода в активную область АТ уничтожает ее активность, а гаптен защищает эту область от йода. Сказанное изображено схематически на

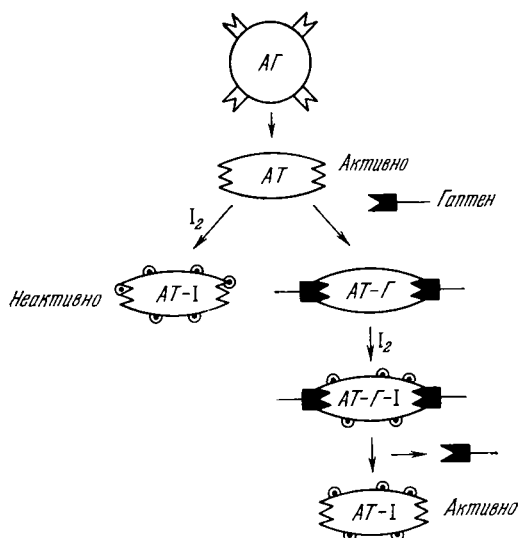
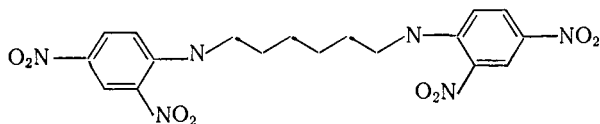


Рис. 1.4. Схема йодирования антител.

рис. 1.4. По-видимому, между активной областью, с одной стороны, и гаптен или детерминантной группой АГ — с другой, имеется структурное соответствие. Гаптен конкурирует с детерминантной группой за место в активной области антитела. Сродство АТ к гаптену, структурно сходному с детерминантной группой, определяется либо методом равновесного диализа, либо по торможению реакции преципитации антигена антителом при различных концентрациях гаптена.

Структура комплекса АТ с соответствующим двухвалентным (бифункциональным) динитрофенильным гаптенем (ДНФ)



была изучена методом электронной микроскопии [24]. На рис. 1.5, *а* показана электронная микрофотография комплекса

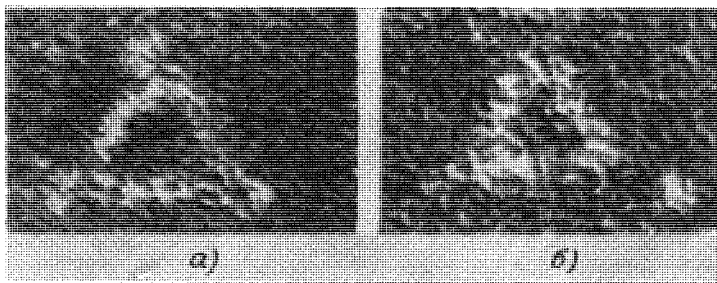
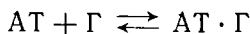


Рис. 1.5. Электронные микрофотографии комплекса АГ с АТ (*а*) и комплекса АГ с АТ, обработанным пепсином (*б*).

АГ с АТ, а на рис. 1.6 — схема, основанная на ее интерпретации [17]. Двухвалентные АТ, взаимодействуя с двухвалентными же ДНФ, образуют циклы. Молекулы ДНФ не видны на микрофотографии, выступают у вершин треугольника, по-видимому, являются фрагментами *Fc*.

Предварительная обработка АТ пепсином приводит к отщеплению *Fc*, но остаются фрагменты *Fab*, по-прежнему дающие циклические комплексы с ДНФ, но уже без выступов (рис. 1.5, *б*).

Взаимодействие АТ с гаптенем (Г), как уже сказано, подобно взаимодействию с соответствующими АГ. Константа равновесия реакции



выражается как

$$K = \frac{[АТ \cdot Г]}{[АТ][Г]} = \exp \frac{T \Delta S - \Delta H}{RT}. \quad (1.1)$$

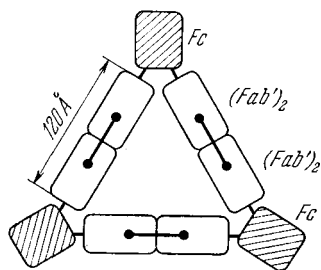


Рис. 1.6. Комплекс антиген — антитело.

Схема, основанная на электронных микрофотографиях; «гаптель» — молекула ДНФ.

Для определения K пользуются гаптенами, окрашенными или мечеными радиоактивными атомами. Величину K можно найти и по торможению реакции АТ с АГ (преципитации). По температурной зависимости K определяют значения ΔH , примерно равные нескольким ккал/моль; значения ΔS , как правило, положительны. Последнее можно объяснить освобождением гидратирующих молекул воды при образовании комплексов.

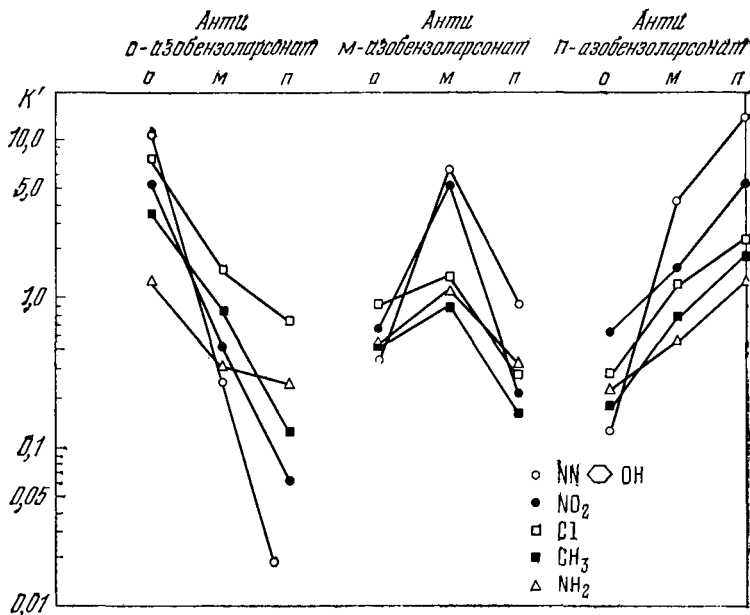


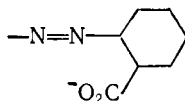
Рис. 1.7. Влияние положения заместителя на значение K' для гаптена (по Прессману).

Детальные исследования зависимости констант связывания от структуры Г или соответствующей детерминантной группы АГ были проведены Полингом, Прессманом и их сотрудниками [25—27]. В частности, были получены АТ к ионам орто-, мета-, пара-азобензоларсоната. Антитела к каждой из этих групп действуют так, как если бы они вступали в структурное соответствие с ван-дер-ваальсовой поверхностью детерминантной группы. Взаимодействие таких АТ с другими замещенными азобензольной группы определяется исходным АГ. На рис. 1.7 приведены результаты, полученные для таких трех систем — даны значения относительной константы связывания K' , равной отношению константы связывания замещенного бензоларсоната к константе связывания незамещенного бензоларсоната в этих системах [27].

Антитело к *орто*-азобензоларсонату связывает *орто*-замещенные, слабее *мета*-замещенные и хуже всего *пара*-замещенные.

В табл. 1.3 приведены результаты исследования ряда *пара*-систем [27]. Были получены АТ к различным гаптенным группам. Звездочка указывает гомологичную заряженную группу, числа — относительные константы связывания гомологичного гаптена с антителом (для производных бензола принято значение этой константы, равное 1,0).

Для АТ к *орто*-азобензоату



относительные константы связывания *пара*-гаптенных $R-C_6H_4-CO_2^-$ равны для ряда $R = H, F, Cl, Br, I$ соответственно 1,00, 0,6, 0,5, 0,4, 0,5.


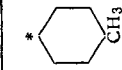
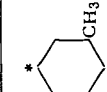
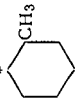
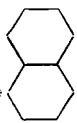
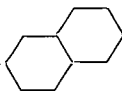

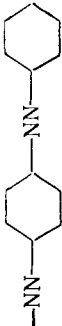

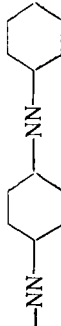
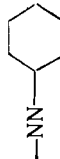
Эти данные показывают, что для образования связи АТ—АГ или АТ—Г необходимо достаточно точное соответствие активного участка АТ с поверхностью гаптенной группы. Чрезвычайно существенно относительное расположение компонентов гаптенной группы. Для АТ к *пара*- $NN-C_6H_4-AsO_3H^-$ относительные константы связывания $^+OAsO_3H^-$, $H_3CAsO_3H^-$, $H_5C_6AsO_3H^-$ и $H_5C_6CH_2AsO_3H^-$ соответственно равны 0, 0, 1, 0. Удаление бензольного кольца (необходимого для связывания) от арсоната на одну метильную группу CH_2 уничтожает связывание [27].

Связывание сильно зависит от природы заряженной группы. Так, те же АТ к *пара*- $NN-C_6H_4-AsO_3H^-$ одинаково сильно связывают $C_6H_5AsO_3H^-$ и $C_6H_5PO_3H^-$, но не связывают $C_6H_5SO_3^-$, $C_6H_5CO_2^-$ и $C_6H_5SbO_5H_4^-$. Существенное значение имеет радиус иона.

Описанные результаты и другие данные, им подобные, свидетельствуют о комплементарности, о структурном соответствии активного участка АТ и детерминантной (гаптенной) группы АГ. Очевидно, что размеры активного участка АТ должны быть соизмеримы с размером гаптена. Методом торможения реакции АТ с АГ были исследованы взаимодействия АТ к поли-L-аланину с олигопептидами аланина. Оптимальным гаптенном, сильнее всего тормозящим реакцию, оказался пентапептид. На этом основании размеры активного участка были оценены в $25 \times 11 \times 2 \text{ \AA}^3$ [28]. Считается, что вообще в активных участках фигурируют 10—20 аминокислотных остатков, т. е. около 1% всех остатков молекулы АТ. Следует отметить, что число остатков в активном центре фермента того же порядка, но мономерные

Таблица 1.3

Связывание в различных пара-системах

| Система | • | Гаплены | | | | | |
|---|-------------|---|---|---|---|---|---|
| | |  |  |  |  |  |  |
|  | $N(CH_3)_2$ | 1,0 | 1,45 | 0,86 | 1,05 | 2,0 | |
|  | AsO_3H^- | 1,0 | 2,7 | 1,1 | 1,1 | 2,9 | 3,9 |
|  | AsO_3H^- | 1,0 | 1,9 | 0,78 | 0,21 | 0,52 | 6,0 |
|  | COO^- | 1,0 | 1,8 | 0,21 | 0,03 | 0,03 | 1,98 |
|  | COO^- | 1,0 | 3,0 | 0,66 | 0,08 | 0,18 | 10 |

молекулы ферментов, как правило, значительно меньше молекул антител.

При денатурации антител их способность к специфическому связыванию АГ или Г исчезает. Однако удается в некоторых случаях осуществить и ренатурацию антител с восстановлением их активности. Присутствие гаптена способствует ренатурации.

Значения свободных энергий связывания, стерическое структурное соответствие активного центра АТ и гаптенной группы, оценки размеров активных центров показывают, что взаимодействие АТ с гаптенем весьма сходно по характеру с взаимодействием фермента с субстратом, приводящим к образованию михаэлисова комплекса ([1], гл. 6). Естественно возникает вопрос о конформационных свойствах антител, о конформационных превращениях в акте взаимодействия.

Было показано, что папаиновые фрагменты IgG характеризуются большей компактностью, чем молекула в целом [29]. Это указывает на конформационное превращение. Различные протеазы разрывают тяжелую цепь в одном и том же участке. Можно думать, что этот участок неупорядочен и служит своего рода шарниром. Электронные микрофотографии комплексов АТ—Г, подобные приведенным на рис. 1.5, показывают, что углы между *Fab*-фрагментами могут изменяться. Все эти данные свидетельствуют об известной гибкости молекул IgG. Прямые доказательства конформационной лабильности молекул IgG и IgM были получены путем изучения поляризованной люминесценции (см. [1], § 5.8). Время вращательной релаксации τ комплексов IgG с 1-диметиламинонафталин-5-сульфонилом (ДНС, дансил) было оценено в 170—220 нс [30, 31]. Близкое значение τ дал расчет, основанный на моделировании IgG жестким эллипсоидом вращения. Однако в более точных исследованиях было получено $\tau = 60$ нс [32]. Это значение соответствует броуновскому движению не всей молекулы белка, но ее относительно малых участков, т. е. указывает на гибкость молекулы. Значения τ для отдельных *Fab*- и *Fc*-фрагментов равны соответственно 64 и 33 нс. При их свободной связи среднее τ должно составлять 56 нс, что хорошо согласуется с найденными для целой молекулы значениями. По-видимому, субъединицы IgG, сходные с папаиновыми фрагментами, обладают свободой вращения [33—35]. Взаимодействие гаптена с АТ приводит к заметному увеличению τ , что свидетельствует об изменении конформации АТ [36]. С другой стороны, методом кругового дихроизма установлено, что при образовании комплекса АТ—АГ изменяется и конформация АГ [37]. Результаты оптических измерений подтверждаются и исследованиями спектров ЭПР антител, содержащих парамагнитные метки ([38]; детальный обзор и дальнейшие подробности см. в [15, 39]).

Таким образом, конформационные перестройки действительно реализуются при взаимодействиях АТ—АГ. Есть основания думать, что они сводятся к изменению взаимных ориентаций доменов. В этом отношении также имеется сходство с фермент-субстратными комплексами. Принципиальное отличие взаимодействия АТ—АГ от взаимодействия фермент—субстрат состоит в том, что в первом случае практически отсутствуют электронные перестройки. Соответственно речь идет о чисто конформационных эффектах, но не об ЭКВ. В этом смысле первый случай значительно проще второго.

Узнавание антигена антителом определяется слабыми взаимодействиями, реализуемыми при структурном соответствии. Узнается сигнатура АГ—его детерминантная, гаптенная группа. Результатом узнавания является связывание АГ, но не химическое превращение (как в случае фермента).

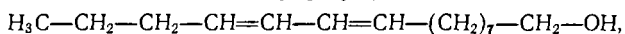
В свое время Полинг выдвинул идею, согласно которой узнающая система антитела способна к обучению [40]. Полинг считал, что все молекулы АТ имеют одну и ту же первичную структуру. Специфические АТ образуются в результате конформационного свертывания полипептидных цепей, индуцируемого молекулами АГ, и достижения таким образом структурного соответствия. Однако в дальнейшем было показано, что первичные структуры различных АТ разнятся. Подобно ферменту, иммуноглобулин — необучаемая узнающая система.

§ 1.4. РЕЦЕПЦИЯ ЗАПАХА

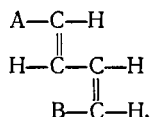
С другими яркими примерами узнавания мы встречаемся в первичных процессах, определяющих рецепцию запаха. Обязательная рецепция имеет особое значение для ряда организмов, определяя важные черты их поведения. Сказанное относится, в частности, к насекомым. Насекомые пользуются «языком запахов» — выделяемые ими специальные вещества, именуемые *феромонами*, служат для сигнализации. Имеются феромоны, применяемые общественными насекомыми — муравьями — в качестве сигналов тревоги и указателей пути к запасам пищи [41]. Бабочки пользуются феромонами в качестве половых аттрактантов. Бабочки-самцы прилетают издалека, за много километров, руководствуясь запахом самки, что было показано еще Фабром [42]. Фабр помещал самку сатурнии в жестяную, деревянную или картонную коробку. Если коробки были достаточно герметичны, самцы не прилетали. Вместе с тем они прилетали к веточке, на которой ранее сидела самка, и даже на стул, на котором ранее лежала эта веточка. «Итак доказано, — пишет Фабр, — что нельзя допустить здесь способ уведомления, подобный беспроводному телеграфу, потому что всякое препят-

ствие — худой или хороший проводник — прекращает совершенно сигналы самки. Для того чтобы эти сигналы могли распространяться на далекие расстояния, одно условие необходимо, — это чтобы помещение, в которое заключена самка, было не вполне закрыто, чтобы внутренний воздух сообщался с наружным» [42]. Действительно, строгие расчеты распределения летучих веществ в воздухе при ветре различной силы показывают, что их концентрация может быть заметной на расстоянии многих километров от источника пахучего вещества [41, 43].

Сигнализация у насекомых, основанная на обонятельной рецепции, установлена однозначно; фигурирующие иногда в литературе утверждения об электромагнитной сигнализации у насекомых [44] ошибочны. Ряд феромонов удалось выделить в чистом виде, в частности, половой аттрактант самки тутового шелкопряда (*Bombyx mori*), названный бомбиколом. Бутенандт выделил 4 мг бомбиколола из 313 000 бабочек и определил его строение [45—48]. Он нашел формулу бомбиколола



причем группировка атомных групп относительно сопряженных двойных связей имеет вид



где А — это $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, В — это $\text{HO}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_7-$. Чувствительность бабочек к бомбиколу чрезвычайно велика — 10^{-18} г его, растворенного в 1 см^3 петролейного эфира, т. е. около 2500 молекул, достаточно, чтобы вызвать возбуждение у самца шелкопряда. Выделен и целый ряд других феромонов [43]. Ориентация насекомых в полете по присутствию феромона в воздухе изучена экспериментально [118]. Ориентация по запаху установлена и для ряда других организмов — рыб, млекопитающих и т. д. Выдвинуто предположение о том, что сигнализация у пчел определяется не их «танцем» по Фришу, но обонятельной рецепцией ([49], см. также [141]). С помощью феромона, меченого тритием, установлено, что феромон действительно проникает в антенны шелкопряда, сорбируется на поверхности возбудимой мембраны рецептора, а затем инактивируется и метаболизируется [119].

Что же воспринимается при взаимодействии молекул пахучего вещества с обонятельными рецепторами? Ответ на этот вопрос можно получить, не входя в рассмотрение устройства самих рецепторов, различных, скажем, для насекомых и млекопитающих.

Высокая чувствительность обонятельных рецепторов свидетельствует о том, что запах переносится молекулами. Пороговые концентрации пахучих веществ, воспринимаемых человеком, составляют $4 \cdot 10^{-7}$ мг/л для скатола, $4,4 \cdot 10^{-8}$ мг/л для этилмеркаптана и $5 \cdot 10^{-9}$ мг/л для тринитробутилтолуола [50]. Для того чтобы обладать запахом, вещество должно быть достаточно летучим и растворяться в воде и в липидах — окончания нервных волокон покрыты водяной пленкой, и для проникновения в нервные клетки вещество должно пройти сквозь клеточные мембраны (см. гл. 3).

Было выдвинуто предположение, что рецепция основана на резонансе атомных колебаний молекул пахучего вещества и каких-то молекулярных структур рецептора. Эта, так называемая вибрационная, или квантовая, теория запаха [43, 51—53, 146] исходит из аналогии рецепции запаха со зрительной и слуховой рецепцией. При зрительной рецепции воспринимаются электромагнитные колебания в видимой области спектра (см. гл. 7), при слуховой — механические, акустические, колебания. Почему бы обонятельным рецепторам не реагировать на колебания молекул, частоты которых лежат в инфракрасной области спектра?

Несмотря на тщательные изыскания, эту теорию нельзя считать аргументированной. Характер запаха и его интенсивность плохо коррелируют с колебательным спектром вещества. Вещества, содержащие различные атомные группы и поэтому обладающие сильно разнящимися наборами колебательных частот, зачастую имеют сходные запахи. С другой стороны, запах и пороговая концентрация вещества могут меняться при сохранении одних и тех же атомных групп в молекулах, но при изменении их положения (например, ОН-группы [54]). Оптические антиподы имеют тождественные спектры, но в ряде случаев различные запахи.

Мембраны обонятельной слизистой носа человека окрашены в желтый или коричневый цвет обонятельным пигментом. Райт предположил, что обонятельный пигмент относится к каротиноидам и ответствен за резонансные колебательные взаимодействия. Эти утверждения также ничем не доказаны.

Колебательная теория противоречит элементарным термодинамическим соображениям. Носовая полость практически замкнута, это своего рода черное тело, и если в него попадают молекулы, то их излучение должно находиться в термодинамическом равновесии со стенками полости. Следовательно, колебания в такой системе не могут восприниматься.

Монкрифф предположил, что рецепция запаха основана на узнавании формы молекулы, на стерическом соответствии между структурой молекулы пахучего вещества и структурой некоторой полости в рецепторной клетке [55]. Руководствуясь

этой идеей, Эймур провел исследования запахов множества органических соединений. Восприятие запаха человеком субъективно в смысле его оценки как приятного или неприятного, в смысле установления сходства между запахами. Тем не менее, Эймуру удалось систематизировать запахи [56, 57]. Согласно Эймуру, имеется семь первичных запахов, а именно (в скобках приведены примеры веществ):

- 1) камфорный (камфора),
- 2) мускусный (пентадеканолактон),
- 3) цветочный (фенилметилэтилкарбинол),
- 4) мятный (ментол),
- 5) эфирный (дихлорэтилен),
- 6) едкий, острый (муравьиная кислота),
- 7) гнилостный (бутилмеркаптан).

Сопоставление структур веществ, обладающих этими запахами, показало, что запах определяется не химическим составом, а формой и размерами молекул. Так, вещества, характеризующиеся камфорным запахом, имеют форму, близкую к сферической с диаметром порядка 7 \AA . В эту группу попадают молекулы с сильно различающимся химическим строением, например, камфора $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$, гексахлорэтан C_2Cl_6 , дихлоридэтиламин тиофосфорной кислоты $\text{C}_2\text{H}_6\text{NCl}_2\text{SP}$, циклооктан C_8H_{16} . Вещества с мускусным запахом имеют форму диска с диаметром около 10 \AA . Для веществ с мятным запахом помимо специфической формы необходимо наличие группы атомов, способной образовать водородную связь в определенном положении.

На рис. 1.8 показаны структуры молекул и формы полостей, которые этим структурам соответствуют. Едкий и гнилостный запахи определяются, по-видимому, не столько структурой, сколько способностью соответствующих молекул приобретать заряд — электрофильные вещества с малыми размерами молекул имеют едкий запах (HCOOH , SO_2 , Cl_2 и т. д.), нуклеофильные — гнилостный (H_2S). Сложные запахи возникают в тех случаях, когда разные группы одного и того же вещества попадают в несколько различных полостей. Одно и то же вещество может иметь различные первичные запахи, если его молекулы могут разместиться в полостях различных типов. Эти положения стереохимической теории Эймура установлены на основании ряда фактов, прямо или косвенно свидетельствующих в ее пользу. Наличие различных рецепторных клеток доказано с помощью микроэлектродной техники. Исходя из теории Эймура, удалось провести направленный синтез пахучего вещества путем соединения нескольких веществ, обладавших первичными запахами, соответствующими структуре их молекул. Убедительные аргументы в пользу теории дают опыты, в которых изменение запаха

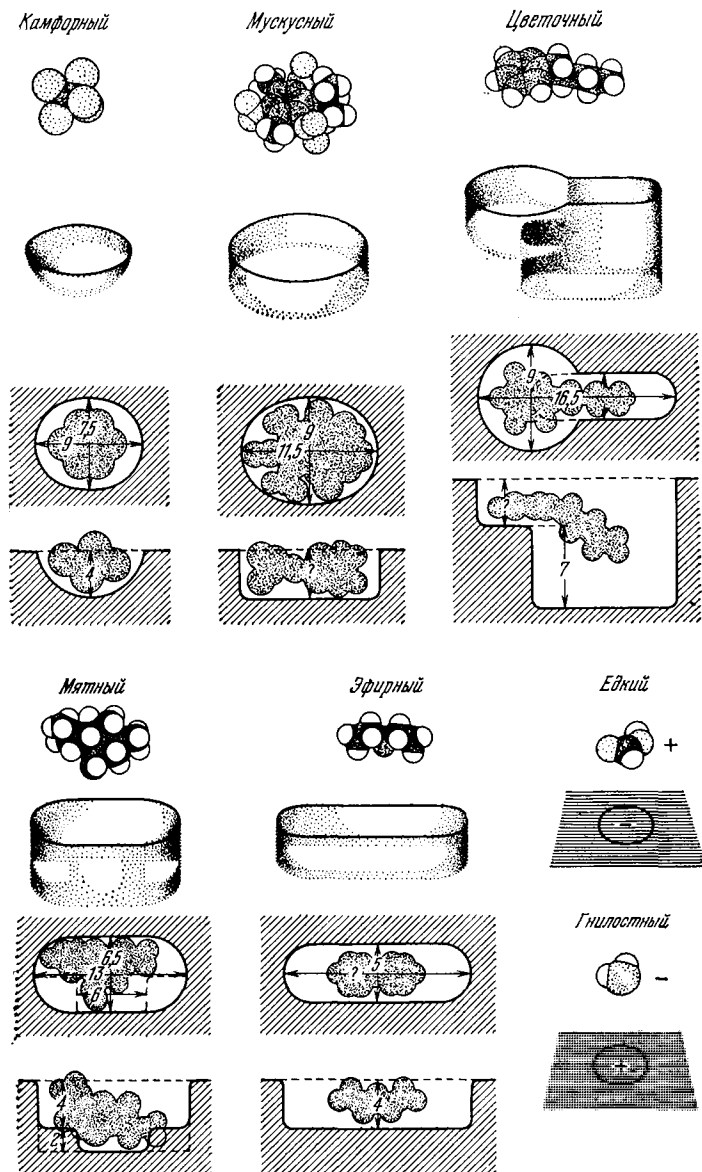


Рис. 1.8. Структуры молекул и ячеек в рецепторных клетках для семи основных запахов по Эймуру.

достигалось изменением формы молекулы в результате замены водорода на метильную группу.

Лафор и Дравниекс предложили эмпирическую формулу, связывающую порог восприятия запаха с физико-химическими параметрами, характеризующими растворимость вещества в воде [58]. Эти параметры в свою очередь связаны с молярным объемом вещества, с его способностью образовывать водородные связи и с поляризуемостью молекул. Специфичность пространственной структуры в этих параметрах не проявляется. Непосредственного физического смысла предложенная формула не имеет, и полученные корреляции оставляют желать лучшего. Можно думать, что найденные совпадения определяются зависимостью выбранных параметров от пространственного строения молекул и их способности вступать в слабые взаимодействия с молекулярной структурой рецепторных клеток (см. также стр. 150).

Таким образом, сейчас можно считать, что обонятельная рецепция основана на прямом узнавании молекулярной структуры, реализуемом посредством слабых взаимодействий. Детальный механизм процесса остается пока неизвестным (см. также [145]).

Конечно, существенна не только пространственная структура, но и физические характеристики молекул, ответственные за ее слабые взаимодействия с рецепторными полостями. Несомненно, что важную роль должны играть поляризуемость и дипольный момент молекулы. Так, пиридин C_5H_5N , имеющий острый неприятный запах, сходен по пространственной структуре со слабо пахнущим бензолом C_6H_6 . Но пиридин — полярное, а бензол — неполярное вещество.

Сложность проблемы определяется отсутствием в настоящее время объективных критериев запаха. Приходится пользоваться психофизиологическими понятиями типа «приятный» или «неприятный», «сильный» или «слабый». Попытка корреляции характеристик молекул с такими оценками предложена в работе [120]. Проблема рецепции вкуса не менее сложна. Можно утверждать, что первичный акт рецепции связан с функциональностью белковых и липидных молекул рецепторных мембран. Кислый вкус определяется наличием свободных ионов водорода, соленый — такими анионами, как Cl^- . Горький и сладкий вкус возникают при воздействии на рецепторы веществ самого разнообразного строения (горек хинин и сульфат натрия, сладок — сахар и сахарин), и в этом смысле во вкусовой рецепции нет узнавания молекулярной структуры. Недавно были открыты специфические белки растительного происхождения, обладающие высокой вкусовой активностью [59]. Два из них, монеллин и тауматин, обладающие интенсивно сладким вкусом, могут рассматриваться как хемостимулирующие белки. Третье

вещество — гликопротеид миракулин — является модификатором вкуса. После того, как миракулин воздействует на язык, кислота воспринимается как сладкое вещество. Предполагается, что миракулин связывается плазматической мембраной. Кислота изменяет конформацию мембраны, стимулируя «сладкий» ее участок [60]. Вкус определяется воздействием на специфические центры рецепторных мембран. Эти воздействия в конечном счете сводятся к молекулярному узнаванию.

§ 1.5. МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Молекулярное узнавание в биологических системах реализуется не только на уровне самих молекул, но и на уровне надмолекулярных клеточных структур.

Межклеточные взаимодействия имеют определяющее значение для существования и развития многоклеточного организма. Взаимодействия эти в высокой степени специфичны в смысле контактов клеток определенного сорта. Они имеют динамический характер — направленные перемещения клеток ответственны за морфогенетическое развитие организма (см. § 9.9). В результате взаимодействий клеток возникают тканевые структуры.

Можно считать установленным, что межклеточные взаимодействия осуществляются посредством молекулярных, химических сигналов [61, 62]. Это доказывается, в частности, прямыми опытами, в которых взаимодействие клеток нарушалось введением между ними кусочка целлофана. При замене целлофана полосками агара, через который могут проходить более крупные молекулы, взаимодействие восстанавливалось.

Еще в 1907 г. Уилсон показал, что разделенные клетки морской губки объединяются вновь при помещении в морскую воду, причем образуются вполне сформировавшиеся маленькие губки. Позднее было установлено, что такого рода регенерация видоспецифична — из смеси клеток, принадлежавших губкам разных видов, образуются разные виды губок. Сходные явления наблюдаются и у клеток гораздо более сложных организмов [62, 63].

Очевидно, что такого рода узнавание, приводящее к упорядочению клеток, требует молекулярной сигнализации, контакта и адгезии клеточных поверхностей.

Прямые опыты показывают, что при контакте и взаимодействии клеток происходит резкое увеличение проницаемости клеточных мембран [64]. Наличие межклеточной коммуникации доказывается прохождением малых неорганических ионов (в частности, Ca^{++}) из одной клетки в другую. Установлено также, что сравнительно большие молекулы флуоресцирующих краси-

телей способны переходить из клетки в клетку, если между клетками имеется функциональный контакт.

Образованию контакта предшествует химическая сигнализация между клетками. Сигнализация осуществляется, по-видимому, путем выделения в окружающую среду веществ, являющихся факторами агрегации, узнаваемых клетками. Эти вещества специфичны для сорта ткани, но не для вида. Если поместить в один и тот же сосуд клетки зародыша мыши и зародыша цыпленка, принадлежащие к разным тканям, то образуются раздельные скопления клеток. Если же смешать клетки, взятые у зародышей двух разных видов, но принадлежащие одной и той же ткани, то образуется единое скопление [61].

В некоторых случаях удалось выделить эти сигнальные вещества ([65], см. также [66]). Они представляют собой гликопротеидные частицы, содержащие 47% аминокислот и 49% сахара. Константа седиментации равна 62,5S. Частицы имеют вид сфер диаметром 800 Å, снабженных рядом радиальных отростков длиной 1100 Å и толщиной 45 Å. Таким образом, частица обладает достаточно сложной структурой, функциональность которой пока остается неизвестной.

Перемещение клеток, приводящее к их сортировке, можно объяснять различными способами [62]. Первая гипотеза исходит из представления о хемотаксисе — о миграции клеток определенного типа по направлению к сигнальному веществу, образуемому только клетками этого типа. Вторая гипотеза исходит из предположения о том, что поверхность клетки изменяется под влиянием диспергирующих агентов. Ее изменение приводит к появлению механической активности, клетки приобретают подвижность и беспорядочно движутся в агрегате до тех пор, пока не восстановится прежняя структура их поверхности. При этом возрастает их адгезивность. В таком случае все клетки одного типа будут постепенно накапливаться в кортикальной области агрегата и оттеснять другие клетки к его середине. Третья гипотеза исходит из дифференциальной адгезивности клеток. Сегрегация обусловлена случайными движениями и количественными различиями в адгезивности клеток. Проблема сводится к рассмотрению термодинамического равновесия в образующейся системе. Экспериментальные данные всего объясняются третьей гипотезой. Однако нельзя считать, что мы располагаем сейчас сколько-нибудь полной теорией рассматриваемых явлений. Приведенные факты свидетельствуют о специфической химической сигнализации между клетками, о направленных механохимических процессах и о специфических контактных взаимодействиях, определяемых свойствами клеточных мембран. Узнавание на клеточном уровне является сложным процессом и влечет за собой ряд явлений биоэнергетического

характера. Сколько-нибудь полную физическую теорию этих явлений пока нельзя построить, так как имеющиеся биохимические сведения для этого недостаточны. Однако предложен ряд моделей, полезных для дальнейшего развития теории.

В работах [67, 68] предложена теория самосортировки клеток, исходящая из того, что подвижность и дифференцированная адгезивность достаточны для такого процесса. Предполагается, что конечная конфигурация, образуемая клетками, отвечает минимуму свободной энергии их поверхностей. Аналогом такой системы являются капли несмешивающихся жидкостей. Построена двумерная решеточная модель, «клетки» решетки моделируют живые клетки или среду. Вводится величина энергии контакта клеток. Модель, оперирующая изотропными клетками, представляет упорядоченные структуры, не имеющие, однако, биологических аналогов [67]. Напротив, в подобных же модельных системах, содержащих анизотропные клетки, оказывается возможным возникновение аналогов биологических структур [68].

В работе [69] спонтанная сегрегация клеток из смешанных агрегатов исследуется на той же основе адгезивности. Рассматривается детализированная модель межмолекулярных взаимодействий, в которой энергия взаимодействия одинаковых клеточных поверхностей отличается от таковой для разных поверхностей. Теория подобна теории разделения несмешиваемых жидкостей.

В указанных исследованиях отсутствуют представления о специфической межклеточной сигнализации. В работе [70] показано, что система клеток, притягивающихся друг к другу посредством хемотаксиса, в ответ на испускаемые ими сигналы может агрегировать. Агрегация инициируется случайными флуктуациями. Если сигнализация кооперативна, то агрегация приводит к характеристическому потоку, подобному наблюдаемому у некоторых миксомицетов. Эта работа представляет существенный интерес.

Было проведено детальное экспериментальное исследование агрегации эмбриональных клеток цыпленка [121]. Удалось выделить макромолекулярные факторы, способствующие агрегации, и ввести в них меченые атомы. Оказалось, что эти вещества специфически связываются определенными тканями. На клеточных поверхностях имеются, по-видимому, специфические рецепторы, узнающие факторы, промотирующие агрегацию. Кинетика связывания свидетельствует о его кооперативном характере. Идентификация этих факторов и дальнейшие физико-химические исследования должны привести к выяснению физических основ клеточной агрегации.

Эдельман предложил интересную гипотезу о природе взаимного узнавания клеток, их движения, а также роста тканей,

основанную на поверхностной модуляции [143]. Согласно этой гипотезе поверхности клеток данного типа содержат молекулы специфических гликопротеидов. Последние расщепляются определенными протеазами, и остающиеся на поверхностях фрагменты узнают друг друга. Таким образом, состояние поверхности модулируется протеазами, которые, тем самым, управляют адгезией клеток в развивающихся тканях. Указанные гликопротеиды являются молекулами, ответственными за ассоциацию клеток. Эдельман отмечает обширность разнообразных явлений модуляции поверхности: связи АТ—АГ, присоединение вирусов, взаимодействия клеток с гормонами, взаимодействия сперматозоида с яйцеклеткой и т. д. Гипотеза Эдельмана важна и может служить основой для дальнейших исследований.

Отметим, что представление о существенной функции протеаз согласуется с фактами, установленными в совсем иной области биологии. Александров показал, что имеется корреляция между теплоустойчивостью белков ряда организмов и теплолюбивостью этих организмов. Так, ареал травяной лягушки (*Rana temporaria*) простирается от 43° до 70° с. ш., ареал озерной лягушки (*R. ridibunda*) — от 40° до 60° с. ш. Температура денатурации ряда белков озерной лягушки на несколько градусов выше, чем травяной. Конечно, эти температуры существенно выше физиологических. Александров убедительно объяснил эти и подобные им эффекты соответствием между генотипически обусловленным уровнем теплоустойчивости белков и средней температурой существования вида [144]. Известно, что протеолиз хорошо коррелирует с денатурацией. Важнейшая роль протеаз, предполагаемая Эдельманом, конкретизирует объяснение фактов, открытых Александровым.

Следует подчеркнуть, что распространенные в литературе представления о том, что специфическое взаимодействие сходных надмолекулярных и клеточных структур определяется специфичностью микро- или макроскопических межмолекулярных сил, нельзя считать убедительными. Эти представления вводились вначале для объяснения синапсиса хромосом — один из создателей квантовой механики Иордан считал, что между тождественными участками двух гомологичных хромосом действуют квантомеханические резонансные силы [122, 123]. В дальнейшем Джеле рассмотрел специфическое дисперсионное взаимодействие ([124, 125]; см. также [126, 127]). Однако трудно ожидать существенных различий во взаимодействии структур, построенных из сходных биополимеров, и дисперсионные силы в этих случаях не могут обладать специфичностью. Более подробная критика этих представлений приведена в книге «Молекулы и жизнь» (см. [76], стр. 416—419).

На уровне организма в целом важнейшее значение имеет химическая сигнализация посредством гормонов, регулирующих поведение ряда систем, образующих организм. Гормоны во многих случаях воздействуют не только на клеточные мембраны, но непосредственно влияют на гены, на ДНК и, тем самым, участвуют в регуляции белкового синтеза (см. ниже и [71]). Так, гормон альдостерон регулирует прохождение ионов Na^+ и K^+ через клеточные мембраны. С помощью радиоактивной метки показано, что альдостерон проникает в клеточное ядро. Через некоторое время после того, как концентрация альдостерона стала внутри клетки максимальной, перемещение ионов через мембрану усиливается. Это происходит вследствие усилившегося синтеза специфического белка. Действительно, если клетки предварительно обработаны антибиотиком пурамицином, то гормон своего действия не оказывает. Между тем известно, что пурамицин блокирует действие генов, препятствует биосинтезу белка.

Активность гормонов связана во многих случаях с функционированием важного сигнального вещества живых клеток — циклической АМФ (см. ниже).

Все изложенное подтверждает общие положения современной биологии, согласно которым живой организм следует трактовать как весьма сложную химическую машину. Процессы сигнализации, регуляции, управления в такой машине реализуются посредством молекул на основе молекулярного узнавания.

§ 1.6. МОЛЕКУЛЯРНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА БЕЛКА

Явления молекулярного узнавания, реализуемые посредством слабых взаимодействий, ответственны за совокупность регуляторных процессов в живой клетке, определяющих весь ход ее развития (см. гл. 9). Молекулярные взаимодействия формируют необходимые для регуляторных процессов обратные связи. Это относится, в частности, к функционированию аллостерических ферментов ([1], гл. 7). Здесь мы рассмотрим молекулярную регуляцию биосинтеза белка, регуляцию действия генов.

Синтез белка искажается при воздействии мутагенов на ДНК. Немутагенные вещества также могут существенно влиять на работу генов. Это ярко выражается в явлении так называемого *индуцированного синтеза ферментов*. Клетки *E. coli* дикого типа, растущие в среде из неорганических солей с негалактозидным источником углерода (с янтарной кислотой), почти не синтезируют фермент β -галактозидазу, катализирующий гидролиз галактозида — лактозы до глюкозы и галактозы. Добавление индуктора, например, метилтиогалактозида к растущей

культуре *E. coli* дикого типа увеличивает скорость синтеза β -галактозидазы в 10^3 раз. Галактозид служит индуктором синтеза, а дикий тип *E. coli* представляет собой индуцируемый тип. Имеются мутантные штаммы *E. coli*, синтезирующие β -галактозидазу и без действия индуктора. Такие мутанты называются *конститутивными*. Опыты с мечеными атомами показали, что индуцированный синтез фермента происходит *de novo* из свободных аминокислот. Индуктор воздействует на генетическую систему клетки. Жакоб и Моно провели генетический анализ индуцированного синтеза, исходя из простой гипотезы, получившей в дальнейшем веские подтверждения [72, 73]. Гипотеза состояла в том, что индуцированный синтез подавляется специфическим соединением, находящимся в цитоплазме. Это соединение — *репрессор* — синтезируется под контролем особого *гена-регулятора*. В дальнейшем было установлено, что репрессоры представляют собой белки [74, 75].

Репрессор действует на ген-оператор, управляющий переносом информации от нескольких структурных генов к синтезируемому белкам. При воздействии репрессора прекращается работа всей совокупности этих генов.

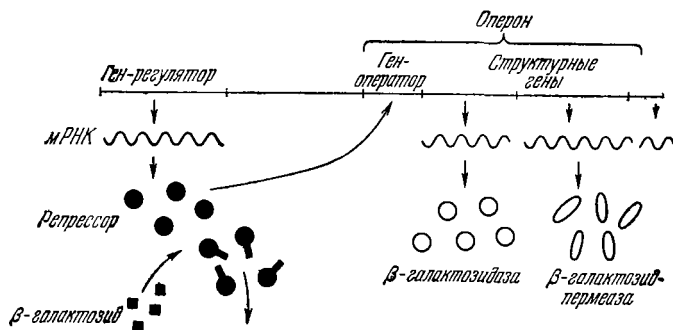


Рис. 1.9. Схема оперона.

Индуктор синтеза взаимодействует с белком-репрессором и выключает его влияние на ген-оператор. Возможен и противоположный процесс активации некоторым метаболитом неактивного репрессора. Такой метаболит называется *коррепрессором*.

На рис. 1.9 показана схема описанной генетической системы. Группа структурных генов, контролируемая одним геном-оператором, называется *опероном*. В рассматриваемом примере репрессор β -галактозидазы контролирует синтез по крайней мере двух ферментов: β -галактозидазы и β -галактозидпермеазы. Второй фермент определяет скорость поступления β -галактозидов в бактериальные клетки сквозь мембраны. В отсутствие

β -галактозидпермеазы клетки *E. coli* не могут накапливать β -галактозидазу. Синтез двух ферментов необходимым образом коррелирован.

Описанная модель (оперон) полностью подтверждена генетическими исследованиями, доказавшими существование гена-регулятора и гена-оператора и установившими свойства соответствующих мутаций (см., например, [76], гл. 7). Синтез β -галактозидазы в *E. coli* контролируется так называемым Лак-опероном. На него действует Лак-репрессор — тетрамерный белок с молекулярным весом 150 000. На основе модели оперона проведено теоретическое рассмотрение химической дифференцировки системы, развивающейся в процессе онтогенеза (см. § 9.10).

В настоящее время известны системы, в которых один специфический репрессор воздействует на несколько несвязанных оперонов (см. также [77]).

Контроль гена-оператора над опероном, по-видимому, определяется тем, что синтез мРНК начинается с того конца оперона, который примыкает к соответствующему оператору.

Описанный способ контроля и регуляции биосинтеза белка у прокариотов еще не может обеспечить регуляторные нужды клетки. Белки, кодируемые одним и тем же опероном, могут требоваться в разных количествах и в разное время. Для понимания соответствующих регуляторных явлений необходимо детальное рассмотрение механизма синтеза мРНК на ДНК, протекающего с неизменным участием РНК-полимеразы (см. [78]). Процесс образования начала молекулы РНК существенно отличается от последующего роста ее цепи. Соответственно рационально рассматривать начало синтеза РНК (инициацию) и продолжение этого синтеза (элонгацию) как две самостоятельные стадии.

ДНК-зависимый синтез РНК подавляется рядом антибиотиков, таких, как актиномицин, которые блокируют матрицу ДНК [79]. Антибиотики группы рифамицина, напротив, действуют не на матрицу ДНК, но на РНК-полимеразу [80]. Установлено, что этот фермент содержит специфический центр, в котором связывается рифамицин. Центры связывания РНК-полимеразы с матрицей и рифамицином формируются различными полипептидами [81]. Рифамицин оказывает свое действие на стадии инициации, препятствуя образованию первой межнуклеотидной связи. Другие вещества ингибируют элонгацию, влияя на РНК-полимеразу. Напротив, актиномицин препятствует элонгации, взаимодействуя с ДНК, а не с ферментом [78].

Регуляция транскрипции далеко не всегда реализуется по схеме Жакоба и Моно посредством репрессора, негативного регуляторного фактора. В случае фаговых ДНК считывание определенных генов не происходит и в отсутствие каких-либо ре-

прессоров. Для включения этих генов необходимы позитивные регуляторные факторы.

При заражении клетки *E. coli* Т-четными фагами (Т2 и Т4) реализуется четко отрегулированная временная последовательность процессов транскрипции. Через несколько минут после заражения происходит выключение синтеза мРНК и белков клетки-хозяина и синтезируется несколько новых ферментов, необходимых для синтеза фаговой ДНК, а затем осуществляется синтез структурных белков фага. Как показал Хесин и его сотрудники, специфические фаговые мРНК появляются при фаговой инфекции не сразу, а последовательно [82, 83]. На ранних и поздних стадиях развития фага Т2 в клетке *E. coli* образуются отличающиеся друг от друга наборы мРНК, синтезируемые на разных группах генов. РНК-полимераза способна узнавать промоторы генов мРНК, образующиеся на ранних стадиях фаговой инфекции. Аналогичные группы «ранних» и «поздних» РНК обнаруживаются и при развитии фага Т4 [84]. Оказалось, что появление разных групп мРНК фага Т4 зависит от процессов синтеза белка и репликации фаговой ДНК.

Модели, предлагаемые для объяснения этих регуляторных явлений, исходят из рассмотрения сложной субъединичной структуры РНК-полимеразы, которая изменяется при воздействии белковых регуляторных факторов [74]. Детальные молекулярные механизмы временной регуляции белкового синтеза пока неизвестны. Так или иначе, эти механизмы должны определяться молекулярным узнаванием на уровне фермента и матрицы, на уровне молекул белков и нуклеиновых кислот.

Регуляторные воздействия на биосинтез белка реализуются, по-видимому, на всех его стадиях. Регуляции подлежит работа полимераз, аминоацил — тРНК-синтазы и рибосом. Воздействия химических соединений на биосинтез далеко не сводятся к мутагенезу. Так, антибиотики влияют на трансляцию кода, воздействуя на рибосомы. Стрептомицин нарушает трансляцию в бесклеточной системе (см. [85]). Этот антибиотик внедряется в 30S субъединицы рибосомы.

Важным регулятором функциональности генов на уровне трансляции является *циклическая аденозинмонофосфорная кислота* цАМФ. Остановимся на свойствах этого вещества (см. [86, 87, 128]), структура которого показана на рис. 1.10. Циклическая АМФ функционирует как химический сигнал, регулирующий ферментативные реакции в клетках, запасующих сахара и жиры. Циклическая АМФ регулирует также транскрипцию генов. Впервые со свойствами цАМФ столкнулись при изучении активности гормона адреналина. Этот гормон повышает уровень сахара (глюкозы) в крови. Глюкоза поступает в кровь из клеток, запасующих животный крахмал — гликоген. Сложный

процесс воздействия адреналина состоит из многих стадий. Адреналин является медиатором лишь первой из них, активируя фермент аденилатциклазу. Под действием этого фермента АТФ трансформируется в цАМФ, активирующую фермент, действующий в первом звене последовательности реакций, завершающейся конверсией гликогена в глюкозу. Как показали Сазерленд и его сотрудники, цАМФ играет роль «вторичного мессенджера» — универсального внутриклеточного посредника при действии ряда гормонов — «первичных мессенджеров» [129].

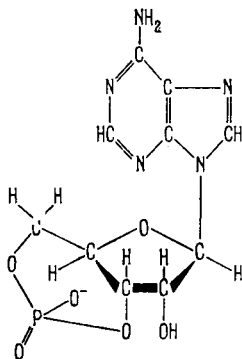


Рис. 1.10. Циклическая аденозинмонофосфорная кислота (цАМФ).

Циклическая АМФ присутствует в разнообразных клетках в количествах примерно в 1000 раз меньших, чем АТФ. Содержание цАМФ в клетке контролируется посредством ферментативной регуляции скорости ее синтеза из АТФ и превращения цАМФ в инертную нециклическую АМФ.

Эти малые количества цАМФ все же на два-три порядка больше количества гормона. Тем самым обеспечивается более чем 100-кратное усиление внешнего сигнала, действующего на клетку [128].

Воздействие цАМФ на гены состоит в стимуляции их активности в процессе транскрипции. Циклическая АМФ служит химическим триггером, включающим в ряде случаев процесс транскрипции гена. Ее действие состоит в связывании белка-рецептора цАМФ. Транскрипция начинается, когда комплекс цАМФ с белком-рецептором активирует некоторый промоторный участок ДНК в начале оперона (опыты проводились с *E. coli* и активировался оперон лактозы, Лак-оперон). РНК-полимераза присоединяется к активированному промоторному участку и затем перемещается вдоль цепи ДНК, организуя синтез мРНК. Комплекс цАМФ — рецептор не содействует транскрипции при наличии специфического белка, Лак-репрессора. Циклическая АМФ может стимулировать транскрипцию ряда различных оперонов. Действие цАМФ в клетках эукариотов иное, но она и здесь влияет на генетическую систему — на матричную активность хроматина (см. [128]).

Роль цАМФ действительно универсальна. Это вещество участвует в процессе зрительного возбуждения и регулирует агрегацию «общественных амёб». Разнообразие функций цАМФ демонстрируется различием между механизмом деградации гликогена и липидов, с одной стороны, и стимулированием транс-

крипции генов — с другой. Сформулирована гипотеза, согласно которой дифференцировка эмбриональных клеток может определяться содержанием в них цАМФ и цГМФ (а также неорганических катионов — щелочных, щелочно-земельных и Zn^{++}) [130].

Редупликация ДНК, происходящая на определенной стадии развития клетки, также представляет собой регуляторный процесс. В работах [88, 89] предложена гипотеза, согласно которой репликация ДНК индуцируется некоторым белковым веществом. Генетический элемент (хромосома или эписома) реплицируется как целое после такой индукции. Подобный элемент именуется *репликоном*.

В отличие от оперона репликон начинает функционировать под действием некоторого инициатора, а не индуктора, связывающего репрессор. Инициатор является не негативным, но позитивным регуляторным фактором. Циклическая хромосома ДНК бактерии или фага содержит структурный ген, ответственный за синтез активирующего белка, действующего на ген-репликатор. Возможно, что при этом происходит разрыв кольца и хромосома реплицируется как целое. Гипотеза репликона приводит к ряду генетических выводов о природе мутантов структурных генов и репликатора, подтверждаемых экспериментально [90]. Многие факты, включая результаты прямых электронно-микроскопических исследований, показывают, что во время деления бактериальной клетки инициатор связан с клеточной мембраной. Молекулярные процессы лежат в основе клеточных.

§ 1.7. БИОСИНТЕЗ БЕЛКА В КЛЕТКАХ ЭУКАРИОТОВ

Генетический аппарат многоклеточных организмов — эукариотов — иной, чем у бактерий — прокариотов, не имеющих ядер. Хромосомы эукариотов содержат не только ДНК, но и белки — они построены из нуклеопротеидов. Важнейшие белки хромосом — гистоны, представляющие собой основные белки, содержащие значительные количества лизина и аргинина (см. ниже стр. 45). Кроме того, в хромосомах присутствуют разнообразные негистоновые белки.

Все соматические клетки одного организма содержат один и тот же набор генов, тождественный набору генов в исходной зиготе. В то же время клетки различных тканей сильнейшим образом отличаются друг от друга и морфологически и функционально. Их различия сводятся к тому, что в разных клетках одного и того же организма функционируют различные белки. Это означает, что в разных клетках работают разные гены и молекулярный смысл дифференцировки, приводящей к специализации клеток эукариотов, состоит в регуляции работы генов.

В клетке данного сорта трансляция осуществляется лишь для малой доли генов.

Ряд фактов показывает, что модель оперона Жакоба и Моно, описанная в предыдущем параграфе, неприменима для эукариотов. В то же время общие принципы регуляции функционирования ДНК, впервые введенные в этой модели, сохраняют свое значение. Гены эукариотов действуют независимо друг от друга, но их совокупности образуют целостные регуляторные системы, которые можно назвать *транскриптонами*. Оперон есть бактериальный транскриптон.

Вследствие не преодоленных еще трудностей при расчленинии ДНК эукариотов на отдельные функциональные отрезки основные результаты, относящиеся к организации транскриптона, получены путем исследования РНК, синтезируемой на ДНК. В работах Георгиева и его сотрудников было показано существование в животных клетках нового типа РНК — ядерной РНК, которая является предшественником мРНК [91, 92]. Соответственно эта РНК обозначается как про-мРНК. Про-мРНК имеет очень большой молекулярный вес, она состоит в среднем из 10 000—15 000 нуклеотидов. мРНК, на которой строятся белки, состоит в среднем всего лишь из тысячи нуклеотидов.

Установлено, что про-мРНК превращается в мРНК, но при этом большая часть про-мРНК распадается. Участки про-мРНК, из которых получается мРНК, и распадающиеся участки синтезируются на разных участках ДНК.

Вся про-мРНК связана со специфическими белковыми частицами — *информоферами*. Комплексы про-мРНК с информоферами в синтезе белка не участвуют.

Исходя из этих фактов, Георгиев предложим модель транскриптона эукариотов, состоящего из большой акцепторной зоны и относительно малой структурной зоны, непосредственно ответственной за синтез одного или нескольких белков. Акцепторная зона не несет структурной информации, но содержит участки, взаимодействующие с регуляторными белками. В начале транскриптона, величина которого много больше оперона бактерий, находится промоторный участок, к которому присоединяется РНК-полимераза. Перемещение полимеразы вдоль транскриптона (и, следовательно, транскрипция) регулируется в результате взаимодействия регуляторных белков с акцепторными участками. Синтезируется гигантская про-мРНК, вблизи 3'-конца которой находится отрезок, соответствующий функциональной, структурной, мРНК. Затем происходит распад всей неинформационной части про-мРНК, а оставшаяся мРНК переносится из ядра в цитоплазму, где и служит матрицей для синтеза белков.

Эта модель обеспечивает гораздо более тонкую регуляцию действия генов, их блокирование и деблокирование, чем в слу-

чае прокариотов. Дело в том, что взаимодействие регуляторных белков и гистонов с акцепторными участками влияет на структуру хроматина и хромосом, определяя способ упаковки ДНК. От способа упаковки зависит возможность продвижения РНК-полимеразы вдоль транскриптона. Кроме того, и в отсутствие компактной упаковки нуклеопротеидов в растянутом транскриптоне присоединение регуляторных белков препятствует перемещению РНК-полимеразы.

В составе одного транскриптона имеются различные акцепторные участки, узнающие различные регуляторные белки. Тем самым, разные регуляторные белки могут влиять на работу данного транскриптона. И наоборот, разные транскриптоны могут узнавать один и тот же белок. Соответственно присоединение или отделение одного белка может включать или выключать целую совокупность транскриптонов.

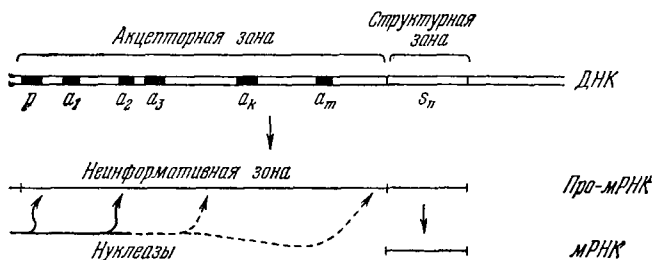


Рис. 1.11. Схема транскриптона.

p — промотор, a₁, ..., a_m — акцепторные центры, s_n — структурные гены.

Большие размеры акцепторного участка ДНК и, значит, неинформационной части про-мРНК, оказываются необходимыми именно для осуществления тонкой и многообразной регуляции, без которой не мог бы существовать дифференцированный многоклеточный организм. Согласно модели Георгиева, мРНК лежит в конце гигантской про-мРНК. Поскольку имеются акцепторные участки, одинаковые у разных транскриптонов, то в начальной части про-мРНК должны находиться последовательности, одинаковые у различных про-мРНК. Это было подтверждено экспериментально [92].

Схема транскриптона по Георгиеву показана на рис. 1.11. Для понимания молекулярного строения транскриптона и, следовательно, хромосом, необходимо прежде всего исследовать взаимодействие ДНК с гистонами и негистоновыми белками. Гистоны состоят из ряда фракций — индивидуальных белков. Установлена первичная структура гистонов, выделенных из различных организмов. Почти для всех фракций эта структура

исключительно устойчива в эволюции. Так, гистоны H2 из гороха и из тимуса телят различаются лишь двумя аминокислотными остатками из ста двух [93, 94].

Постоянство первичной структуры гистонов, возможно, определяется тем, что у гистонов функциональна вся молекула: некоторые ее участки ответственны за связывание с ДНК, другие участки — за взаимодействия между белками (см., например, [95—97]). В каждой хромосоме содержится десятки тысяч одинаковых молекул гистона; небольшое изменение структуры локального комплекса гистон—ДНК может привести в результате многократного повторения к радикальному изменению структуры хромосомы в целом. Это также может существенно ограничивать скорость изменения первичной структуры гистонов в процессе эволюции. Данные, характеризующие структуру гистонов, приведены в [98, 99].

Гистоны, по-видимому, образуют солевые связи с фосфатными группами ДНК. Весовое соотношение гистоны/ДНК в дезоксирибонуклеогистоне из тимуса телят составляет 1,3/1, и в среднем число основных групп гистонов примерно равно числу фосфатных групп в связанной с ними ДНК. Предположительно α -спиральные участки гистонов располагаются в бороздке двойной спирали ДНК; неспиральные и неосновные остатки образуют петли [100]. Проведены детальные исследования конформационных свойств гистонов и нуклеогистонов [101].

В ходе развития клетки конформации хромосомных белков и их ДНК-комплексов изменяются, и геном испытывает функциональные изменения, становясь более или менее доступным действию регуляторных белков цитоплазмы. По-видимому, главная роль гистонов состоит именно в регуляции структуры хромосом, но не в регуляции дифференцированной транскрипции генов в клетках разного типа. В то же время установлены изменения состава и тонкой структуры хромосомных белков на разных стадиях развития клеток и их дифференцировки. Найдены клеточно-специфичные гистоны.

Общая ситуация достаточно сложна. С одной стороны, гистоны характеризуются относительно большим постоянством первичной структуры у разных видов. С другой стороны, в разных клетках не только варьирует относительное содержание основных гистоновых фракций, но наблюдаются видовая и тканевая специфичность ряда фракций. И то, и другое создает возможности регуляции активности генома, отсутствующие у прокариотов, но природа этой регуляции еще недостаточно изучена (см. [98, 102]).

Основная проблема молекулярной биофизики нуклеогистонов состоит в установлении структурных и функциональных характеристик взаимодействий гистонов с ДНК, в исследовании

соответствующих явлений молекулярного узнавания. Как уже сказано, характер этих взаимодействий изменяется во время развития клеток. На гигантских хромосомах двукрылых насекомых на определенной стадии развития появляются «пуффы» — вздутые участки, являющиеся локусами наиболее интенсивного синтеза РНК. В этих участках происходят конформационные и химические (фосфорилирование, ацетилирование, метилирование) изменения гистонов, что и обеспечивает изменение функциональности соответствующих генов. По-видимому, в «пуффах» гистоны слабее связаны с ДНК, они более доступны действию протеаз и легко отделяются. Соответственно в «пуффах» гистоны не мешают работе РНК-полимеразы. В нормальных условиях гистоны препятствуют транскрипции. Синтез РНК стимулируется их удалением из изолированных фракций хроматина.

Во всех организмах эукариотов хромосомы проходят митотический и, соответственно, мейотический цикл. В интерфазе митоза хромосомы невидимы в обычном микроскопе, генетический материал клеточного ядра представлен нуклеопротеидными хроматиновыми нитями, наблюдаемыми с помощью электронной микроскопии. В профазе хромосомы спирализуются и уплотняются, становясь хорошо видимыми в микроскопе. Дальнейшие события при митозе состоят в удвоении хромосом (в репликации ДНК) и в их расхождении к двум полюсам, расположенным на разных концах клеток. Митоз завершается делением клетки [104].

Хромосомы яйцеклеток позвоночных и некоторых насекомых на определенных стадиях роста представляют собой двойные нити, в которых на небольших расстояниях друг от друга располагаются вздутия, петли, именуемые *хромомерами*. Хромосомы принимают вид «ламповых щеток». На стадии «ламповых щеток» происходят интенсивные процессы биосинтеза — транскрипция и трансляция [105]. Добавление гистонов к хромосомам — «ламповым щеткам» вызывает исчезновение петель и резкое ингибирование синтеза РНК [106].

Георгиев исследовал механизм ингибирования синтеза РНК гистонами методом двойной радиоактивной метки. АТФ или ГТФ, меченные P^{32} -фосфатом, использовались для определения инициации образования цепи, а C^{14} -УТФ — для определения общей скорости ее роста. Добавление гистонов уменьшало соотношение C^{14}/P^{32} в синтезируемой РНК. Это показывает, что либо происходит уменьшение скорости роста цепи, либо образуются сравнительно короткие цепи, т. е. гистоны мешают движению полимеразы вдоль матрицы [107]. Матричная активность хроматина примерно в 10 раз меньше, чем свободной ДНК [108, 109]. Удаление определенных гистонов из хроматина

увеличивает его матричную активность, причем основную роль здесь играет гистон (см., например, [110]).

Хроматин и модельные комплексы ДНК с гистонами и негистоновыми белками исследовались с помощью богатого арсенала методов, в частности, методами спектроскопии [111, 112]. По-видимому, ДНК плотно упакована в дезоксинуклеопротейдах (ДНП), и конформация ДНК в ДНП отлична от обычной *B*-конформации. Из химических данных следует, что гистоны расположены в основном в широкой бороздке ДНК и вне ее [113]. Из исследований модельных комплексов следует, что гистоны распределяются на ДНК равномерно — участки с большим содержанием гистонов чередуются с участками свободной или почти свободной ДНК [98]. Около половины ДНК «открыто», свободно от гистонов [131].

В отличие от гистонов, негистоновые белки (НГБ) хромосом содержат не основные, а кислотные остатки. НГБ характеризуются большой гетерогенностью — их молекулярные веса варьируют в широком интервале от 10 000 до 150 000. Они разнообразны функционально — в НГБ содержатся сложные ферментативные системы, в том числе полимеразы. Разнятся не только НГБ разных видов, но и разных тканей одного и того же вида [132].

Доказано, что изменение функции генов, их транскрипции в клеточном цикле сопровождается изменениями состава НГБ и их метаболизма. Стероидные гормоны, влияющие на транскрипцию, воздействуют на НГБ. Содержание НГБ в активной форме хроматина выше, чем в неактивной. Изменения НГБ происходят в клетках, зараженных и трансформированных вирусами, вызывающими рак.

Установлено, что некоторые НГБ способны узнавать специфические нуклеотидные последовательности в ДНК — они связываются с ДНК хозяина, но не с чужеродной ДНК. НГБ снижают ингибирующее влияние гистонов на транскрипцию.

Таким образом, НГБ, по-видимому, регулируют активность генов на уровне транскрипции. Свойства и строение НГБ изучены еще недостаточно, но то, что о них известно, позволяет сформулировать гипотезу о механизме их действия ([132—134], см. также [135]).

НГБ активно фосфорилируются. Фосфорилирование и дефосфорилирование модифицирует их свойства. Способность НГБ стимулировать синтез РНК в бесклеточной системе зависит от состояния их фосфорилирования. Гипотеза состоит в том, что ген включается присоединением негистонового белка к специфическому участку ДНК, репрессированному гистонами. НГБ фосфорилируется и приобретает отрицательные заряды. Поэтому он отталкивает также отрицательно заряженную ДНК

и покидает ее вместе с положительно заряженным гистоном. Остается свободный участок ДНК, способной к транскрипции в РНК [132].

В хромосомах взаимодействие ДНК с белками приводит к образованию «сверхспиральной» структуры, в которой молекулы ДНК свертываются в хроматиды со значительным уменьшением линейных размеров. Предложен ряд моделей нуклеостоновой структуры хроматина. Крик и Круг разработали модель, в которой свертывание ДНК в хроматине определяется резкими изломами двойной спирали примерно через каждые 20 пар оснований [136]. Эта модель хорошо объясняет большую совокупность фактов.

Устройство «сверхспирали» хроматина зависит от природы и, в частности, от конформаций гистонов и негистоновых белков.

Цанев и Сендов предположили существование специфического кода для блокирования генов, считая, что кодирование определяется различными комбинациями пяти гистонов [114]. Эта гипотеза противоречит, однако, приведенным фактам, не свидетельствующим о регуляторной роли гистонов. Аргументы в пользу того, что гистоны ответственны за элонгацию цепи ДНК [115], также недостаточно убедительны.

Структура хроматина изучена недостаточно. Сведения о предлагаемых моделях и возможной связи структуры и функции содержатся в ряде обзоров (см., в частности, [116, 132—134]).

В то же время идея о «втором коде», определяющем регуляцию транскрипции, т. е. о коде соответствия между структурой регуляторного белка и структурой ДНК, обоснована в работе Гурского и соавторов [137]. Речь идет об универсальном коде для узнавания ДНК белком, т. е. о соответствии между аминокислотными последовательностями в стереоспецифичном участке регуляторного белка и последовательностью нуклеотидов в том участке ДНК, к которому этот белок присоединяется. В работе [137] предполагается, что участок регуляторного белка состоит из двух антипараллельных сегментов полипептидной цепи, образующих β -структуру. Узнавание основано на комплементарности этой структуры и последовательности пар оснований ДНК. Важное свойство такой последовательности состоит в асимметричном распределении гуанинов между двумя нитями ДНК. В предлагаемом коде шесть основных аминокислотных остатков (Сер, Тре, Асп, Гис, Глн, Цис) и их последовательность в стереоспецифичном участке белка определяет последовательность пар оснований, с которой данный белок преимущественно связывается. Код, разработанный на основе стереохимии, подтвержден на примере взаимодействия Лак-репрессора с Лак-оператором (см. стр. 40). Это единственный пока

случай белково-нуклеинового взаимодействия, для которого точно установлены и последовательность аминокислот в белке и последовательность оснований в ДНК ([139, 140], см. также [142]).

В этой главе мы остановились главным образом на явлениях молекулярного узнавания, т. е. на специфических взаимодействиях в биомолекулярных системах. Можно считать установленным, что в основе таких разнообразных явлений, как взаимодействие антиген — антитело, рецепция запаха, регуляция биосинтеза белка в прокариотах и эукариотах, а также во взаимодействиях клеток лежат в принципе сходные механизмы узнавания. Именно узнавание на внутримолекулярном, межмолекулярном и надмолекулярном уровнях должно рассматриваться как молекулярная основа биофизики. Особо важную роль здесь играет матричный синтез. В конечном счете молекулярные взаимодействия ответственны за основные особенности живых организмов — за ферментативный катализ биосинтеза белка и за регуляцию того и другого, за мембранный транспорт молекул, ионов и электронов, за механохимические процессы. Мы постоянно будем встречаться с этими взаимодействиями в последующем изложении.

Описанные в §§ 1.6 и 1.7 явления регуляции не стали еще предметом детальных физических исследований. Для этого пока не хватает биологической информации. Однако общие физические принципы регуляции намечены. В то же время уже установленные факты позволяют подойти к построению физико-математических моделей регуляторных процессов (см. гл. 9).

§ 2.1 ФУНКЦИЯ ДИССИПАЦИИ

Мы ознакомились с основами молекулярной биофизики — с явлениями молекулярного узнавания и молекулярной регуляции, в конечном счете ответственными за функционирование живых организмов и клеток. Задача физики состоит в количественном теоретическом и экспериментальном исследовании этого функционирования.

Живые организмы представляют собой открытые динамические системы. Важнейшие процессы, в них протекающие, — химические реакции и транспорт вещества. Прямые и обратные связи, определяющие поведение живой клетки, регуляцию ее жизнедеятельности, реализуются специфическими молекулами и надмолекулярными системами на основе молекулярного узнавания. Ряд явлений, сюда относящихся, может изучаться *in vitro*, т. е. в условиях, отличных от существующих в открытой системе клетки. Такое изучение биологических молекул, прежде всего белков и нуклеиновых кислот, позволило построить и развить молекулярную биофизику и заложить молекулярные основы биофизики в целом.

Переходя к живым системам, к ситуации *in vivo*, необходимо рассмотреть особенности открытых неравновесных систем. Такое рассмотрение начинается с термодинамического исследования. Как мы увидим, термодинамика в целом недостаточна для феноменологической трактовки живых систем потому, что они имеют динамический, а не статистический характер и далеки от равновесия. Но именно поэтому необходимо изложение термодинамики открытых систем. Нужно определить ее возможности в биологии. Неравновесная термодинамика с успехом применяется к анализу ряда биофизических проблем. Краткое обсуждение этих вопросов дано в книге [1]. Здесь приводится значительно более подробное изложение.

Изменение энтропии в открытой системе складывается из продукции энтропии внутри системы $d_i S$ и из потока энтропии $d_e S$, т. е. из выделения энтропии в окружающую среду и поступления энтропии в систему из окружающей среды:

$$dS = d_i S + d_e S. \quad (2.1)$$

Согласно второму началу $d_i S \geq 0$, знак $d_e S$ не определен.

Для описания кинетических процессов необходимо определить продукцию энтропии в единицу времени. Термодинамика открытых систем есть, в сущности, кинетика. Определим функцию диссипации σ как скорость продукции энтропии в единице объема. Иными словами, скорость продукции энтропии внутри открытой системы равна

$$\frac{d_i S}{dt} = \int \sigma dV \geq 0. \quad (2.2)$$

Функция диссипации выражается суммой произведений обобщенных потоков J_i и обобщенных сил X_i , являющихся причинами этих потоков:

$$\sigma = \sum_i J_i X_i \geq 0. \quad (2.3)$$

В биологических системах протекают химические реакции. В этом случае обобщенный поток есть скорость реакции v , т. е. производная координаты реакции ξ по времени:

$$J_{\text{хим}} = v = \dot{\xi}. \quad (2.4)$$

Координата ξ выражает степень прохождения реакции:

$$\xi(t) = \xi(0) + \int_0^t v dt = \xi(0) + \int_0^t \frac{dn_\gamma}{\nu_\gamma}, \quad (2.4a)$$

где n_γ — число молей реагента γ , ν_γ — его стехиометрический коэффициент в реакции. Обобщенная сила равна средству, деленному на абсолютную температуру:

$$X_{\text{хим}} = \frac{\mathcal{A}}{T} \equiv -\frac{1}{T} \sum_\gamma \nu_\gamma \mu_\gamma, \quad (2.5)$$

где μ_γ — химический потенциал реагента γ . Суммирование проводится по всем реагентам и продуктам. Химический потенциал равен

$$\mu_\gamma = \left(\frac{\partial G}{\partial n_\gamma} \right)_{n_{\gamma'}, p, T} = \mu^0(p, T) + RT \ln c_\gamma, \quad (2.6)$$

где G — свободная энергия Гиббса, c_γ — концентрация (активность) реагента γ .

Константа равновесия реакции $K(p, T)$ определяется формулой, выражающей закон действия масс

$$K(p, T) = c_{1\text{eq}}^{\nu_1} c_{2\text{eq}}^{\nu_2} \dots c_{r\text{eq}}^{\nu_r}. \quad (2.7)$$

Индекс «eq» обозначает равновесную концентрацию. В состоянии равновесия

$$\mathcal{A}_{\text{eq}} = - \sum v_{\nu} \mu_{\nu}^0 - RT \sum v_{\nu} \ln c_{\nu \text{eq}} = 0. \quad (2.8)$$

Сравнивая (2.7) и (2.8), находим

$$RT \ln K(p, T) = - \sum v_{\nu} \mu_{\nu}^0. \quad (2.7a)$$

Следовательно, сродство \mathcal{A} выражается формулой:

$$\mathcal{A} = RT \ln \frac{K(p, T)}{c_1^{v_1} c_2^{v_2} \dots c_r^{v_r}}. \quad (2.9)$$

С другой стороны, согласно (2.4a), (2.5) и (2.6)

$$\mathcal{A} = - \sum v_{\nu} \left(\frac{\partial G}{\partial n_{\nu}} \right)_{p, T, n_{\nu'}}.$$

Но

$$\left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{p, T} = \sum_{\nu} \left(\frac{\partial G}{\partial n_{\nu}} \right)_{p, T} \frac{dn_{\nu}}{d\xi} = \sum_{\nu} \left(\frac{\partial G}{\partial n_{\nu}} \right)_{p, T} v_{\nu}.$$

Следовательно,

$$\mathcal{A} = - \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{p, T}. \quad (2.10)$$

Согласно (2.3) для химических процессов

$$\sigma = \sum_i v_i \frac{\mathcal{A}_i}{T} \geq 0. \quad (2.11)$$

В свою очередь обобщенные потоки (v_i) зависят от обобщенных сил и наоборот. В линейном приближении

$$J_i = \sum_{k=1}^N L_{ik} X_k, \quad i = 1, 2, \dots, N, \quad (2.12)$$

Вблизи равновесия (для химических реакций критерий близости к равновесию есть $\mathcal{A} \ll RT$, см. далее стр. 59) согласно теореме Онзагера феноменологические коэффициенты L_{ik} образуют симметричную матрицу

$$L_{ik} = L_{ki}. \quad (2.13)$$

Докажем эту теорему (ср. [2—6]). Изменение энтропии, вызванное флуктуацией параметра ξ , можно представить в виде

$$\Delta_i S = \int_{\xi^{\text{eq}}}^{\xi} d_i S,$$

где ξ^{eq} — равновесное значение ξ . В случае химической реакции ξ есть ее координата. Имеем (опускаем индекс i в $\Delta_i S$)

$$\Delta S = \int \sigma dt = \int \frac{\mathcal{A}}{T} v dt = \int_{\xi^{eq}}^{\xi} \frac{\mathcal{A}}{T} d\xi. \quad (2.14)$$

С точностью до линейных членов

$$\mathcal{A} = \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi} \right)_{eq} (\xi - \xi^{eq}),$$

так как в состоянии равновесия $\mathcal{A}_{eq} = 0$. Следовательно,

$$\Delta S = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi} \right)_{eq} \frac{(\xi - \xi^{eq})^2}{T} = \frac{1}{2} \frac{\mathcal{A}(\xi - \xi^{eq})}{T} < 0, \quad (2.14a)$$

поскольку флуктуация энтропии отрицательна. Таким образом, \mathcal{A} убывает до нуля, приближаясь к равновесию. Далее, обозначим $\xi - \xi^{eq} = \Delta \xi$. При одновременных флуктуациях r параметров

$$\Delta S = \frac{1}{2T} \sum_{i, k} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_k} \right)_{eq} \Delta \xi_k \Delta \xi_i < 0. \quad (2.15)$$

Очевидно, что

$$X_i = \frac{\mathcal{A}_i}{T} = \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_i)}. \quad (2.16)$$

Линейную зависимость (2.12) можно записать в виде

$$v_i = \frac{d(\Delta \xi_i)}{dt} = \sum_k L_{ik} \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_k)}. \quad (2.17)$$

Рассмотрим произведение $\Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t + \tau)$, где τ — малый промежуток времени. Имеем

$$\Delta \xi_k(t + \tau) \approx \Delta \xi_k(t) + \tau \frac{d(\Delta \xi_k)}{dt},$$

или, в силу (2.17),

$$\Delta \xi_k(t + \tau) \approx \Delta \xi_k(t) + \tau \sum_j L_{kj} \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_j)}. \quad (2.18)$$

Значение $\Delta \xi_i(t)$ не определяет состояние системы в момент $t + \tau$ однозначно — при данном $\Delta \xi_i(t)$ существует ряд других параметров $\Delta \xi_k(t)$ и возможен ряд процессов, ведущих к различным значениям $\Delta \xi_i(t + \tau)$. Среднее значение $\Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t + \tau)$ за

достаточно большой промежуток времени θ равно

$$\overline{\Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t + \tau)} = \lim_{\theta \rightarrow \infty} \frac{1}{\theta} \int_0^{\theta} \Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t + \tau) dt, \quad (2.19)$$

и в нашем случае

$$\overline{\Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t + \tau)} = \overline{\Delta \xi_i(t) \Delta \xi_k(t)} + \tau \sum_j L_{kj} \overline{\Delta \xi_i(t) \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_j)}}. \quad (2.20)$$

Согласно эргодической теореме среднее по времени эквивалентно среднему, вычисленному с соответствующей функцией вероятностей флуктуации. Эта функция распределения, найденная Эйнштейном, равна [7]

$$P = C \exp(\Delta S/k_B). \quad (2.21)$$

C находится из условия нормировки

$$C \int \exp(\Delta S/k_B) d\Gamma = 1. \quad (2.22)$$

Имеем

$$\begin{aligned} \overline{\Delta \xi_i(t) \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_j)}} &= C \int \Delta \xi_i(t) \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_j)} \exp(\Delta S/k_B) d\Gamma = \\ &= C k_B \int \Delta \xi_i(t) \frac{\partial}{\partial (\Delta \xi_j)} [\exp(\Delta S/k_B)] d\Gamma. \end{aligned}$$

Интегрируя по частям, находим

$$\begin{aligned} \int \Delta \xi_i(t) \frac{\partial}{\partial (\Delta \xi_j)} [\exp(\Delta S/k_B)] d\Gamma &= \\ &= \Delta \xi_i(t) \exp(\Delta S/k_B) \Big|_{-\infty}^{+\infty} - \int \exp(\Delta S/k_B) \frac{\partial (\Delta \xi_i)}{\partial (\Delta \xi_j)} d\Gamma. \end{aligned}$$

Неинтегральный член обращается в нуль, так как вероятность P отклонения от равновесия быстро убывает с увеличением этого отклонения, т. е. с ростом $|\Delta S|$. В силу условия нормировки (2.22) и независимости флуктуаций $\Delta \xi_i$, выражаемой как

$$\frac{\partial (\Delta \xi_i)}{\partial (\Delta \xi_j)} = \delta_{ij},$$

где δ_{ij} — символ Кронекера, получаем

$$\overline{\Delta \xi_i(t) \frac{\partial (\Delta S)}{\partial (\Delta \xi_j)}} = -k_B \delta_{ij}. \quad (2.23)$$

Следовательно,

$$\overline{\Delta\xi_i(t)\Delta\xi_k(t+\tau)} = \overline{\Delta\xi_i(t)\Delta\xi_k(t)} - k_B\tau L_{ki}. \quad (2.24)$$

Аналогичным образом находим

$$\overline{\Delta\xi_k(t)\Delta\xi_i(t+\tau)} = \overline{\Delta\xi_k(t)\Delta\xi_i(t)} - k_B\tau L_{ik}. \quad (2.25)$$

Если флуктуации $\Delta\xi_i$, $\Delta\xi_k$ не меняются при изменении знака всех скоростей, то в силу симметрии уравнений механики при изменении знака времени $t \rightarrow -t$ должно быть

$$\overline{\Delta\xi_i(t)\Delta\xi_k(t+\tau)} = \overline{\Delta\xi_k(t)\Delta\xi_i(t+\tau)}$$

и из (2.17) и (2.18) следует, что

$$L_{ki} = L_{ik}. \quad (2.13)$$

Очевидно, что этот вывод имеет общее значение.

Соотношения, обратные (2.12), можно записать в виде

$$X_i = \sum_k R_{ik} J_k, \quad (2.26)$$

причем коэффициенты R_{ik} также образуют симметричную матрицу.

Вследствие того, что $\sigma \geq 0$, на феноменологические коэффициенты L_{ik} (и соответственно R_{ik}) наложены определенные условия. Рассмотрим без ограничения общности случай двух сил и двух потоков

$$J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2, \quad J_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2. \quad (2.27)$$

Согласно (2.3) и (2.12)

$$\sigma = L_{11}X_1^2 + (L_{12} + L_{21})X_1X_2 + L_{22}X_2^2 \geq 0. \quad (2.28)$$

Величина σ положительна при любых значениях переменных X_1 и X_2 и обращается в нуль, лишь если $X_1 = X_2 = 0$. Следовательно,

$$L_{11} > 0, \quad L_{22} > 0 \quad (2.29)$$

и

$$(L_{12} + L_{21})^2 < 4L_{11}L_{22}. \quad (2.30)$$

Вследствие симметрии коэффициентов

$$L_{12}^2 < L_{11}L_{22}. \quad (2.30a)$$

Знак недиагонального коэффициента L_{12} может быть любым. В общем случае

$$L_{ii} > 0, \quad L_{ii}L_{jj} > L_{ij}^2. \quad (2.31)$$

Потоки J_i и силы X_i могут быть как скалярными, так и векторными. Допустим, что имеются два разных потока (s — скаляр, v — вектор)

$$J_s = L_{ss}X_s + L_{sv}X_v, \quad J_v = L_{vs}X_s + L_{vv}X_v. \quad (2.32)$$

Очевидно, что L_{ss} — скаляр, L_{vs} и L_{sv} — векторы, L_{vv} — тензор второго ранга. Если система изотропна, то сила не может быть причиной потока, имеющего другую тензорную размерность (принцип Кюри). Следовательно, в этом случае $L_{sv} = L_{vs} = 0$ и

$$J_s = L_{ss}X_s, \quad J_v = L_{vv}X_v,$$

и сопряжение между скалярными и векторными процессами отсутствует. Докажем это утверждение [4, 5].

Тензорная величина ранга n преобразуется при ортогональном преобразовании координат как

$$L'_{i_1, i_2, \dots, i_n} = \sum_{j_1, j_2, \dots, j_n} U_{i_1}^{j_1} U_{i_2}^{j_2} \dots U_{i_n}^{j_n} L_{j_1, j_2, \dots, j_n},$$

где i_k, j_k — декартовы координаты, $U_{i_k}^{j_k}$ — элементы матрицы преобразования U , определитель которой равен ± 1 . Если система изотропна, то она инвариантна относительно отражения в центре (инверсии), т. е. относительно преобразования $x' = -x, y' = -y, z' = -z$, которое можно записать так:

$$r' = \begin{pmatrix} -1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} r \equiv I r.$$

Если $U = I$, то тензор L преобразуется по закону

$$L' = (-1)^n L.$$

Но в силу инвариантности $L' = L$ и, следовательно, все коэффициенты при L с нечетными n обращаются в нуль. В нашем случае для L_{sv} и L_{vs} имеем $n = 1$. Значит, эти коэффициенты равны нулю.

Вследствие инвариантности изотропной системы относительно вращений тензор L_{vv} приобретает форму

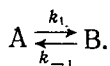
$$L_{vv} = L_{vv} \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix},$$

т. е. обращается в скаляр.

Если система анизотропна, но centrosymmetric (любые кристаллы, построенные из симметричных молекул и лишённые винтовой симметрии), то инвариантность относительно инверсии сохраняется и по-прежнему $L_{sv} = L_{vs} = 0$.

§ 2.2. СОПРЯЖЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Рассмотрим простейшую химическую реакцию вблизи равновесия [8]



Кинетическое уравнение реакции имеет вид

$$\dot{c}_B = -\dot{c}_A = k_1 c_A - k_{-1} c_B. \quad (2.33)$$

Поток есть скорость реакции

$$J_{\text{хим}} = v = -\dot{c}_A = \dot{c}_B. \quad (2.34)$$

В равновесии $v = 0$, $(\dot{c}_A)_{\text{eq}} = (\dot{c}_B)_{\text{eq}} = 0$, т. е.

$$k_1 c_A^{\text{eq}} = k_{-1} c_B^{\text{eq}}.$$

Константа равновесия равна

$$K = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{c_B^{\text{eq}}}{c_A^{\text{eq}}}.$$

Допустим, что система неравновесна, но близка к равновесию. Тогда

$$c_A = c_A^{\text{eq}} + \alpha_A, \quad c_B = c_B^{\text{eq}} + \alpha_B,$$

причем отклонения от равновесных концентраций α малы:

$$\alpha_A \ll c_A^{\text{eq}}, \quad \alpha_B \ll c_B^{\text{eq}}.$$

Очевидно, что

$$c_A + c_B = c_A^{\text{eq}} + c_B^{\text{eq}}$$

и

$$\alpha_A + \alpha_B = 0.$$

При таких условиях

$$J_{\text{хим}} = k_1 (c_A^{\text{eq}} + \alpha_A) - k_{-1} (c_B^{\text{eq}} + \alpha_B) = \alpha_A (k_1 + k_{-1}) = k_1 \alpha_A \frac{1+K}{K}. \quad (2.35)$$

Сродство в этом случае равно

$$\mathcal{A} = \mu_A - \mu_B. \quad (2.36)$$

В равновесии $\mu_A^{\text{eq}} = \mu_B^{\text{eq}}$ и $\mathcal{A}_{\text{eq}} = 0$. Линейная термодинамика дает

$$J_{\text{хим}} = v = L \frac{\mathcal{A}}{T} = L \frac{\mu_A - \mu_B}{T}, \quad (2.37)$$

где L — феноменологический коэффициент. Пользуясь выражением для химического потенциала (2.6), находим

$$\begin{aligned} \mathcal{A} &= \mu_A^0 + RT \ln c_A^{\text{eq}} + RT \ln \left(1 + \frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \right) - \\ &- \mu_B^0 - RT \ln c_B^{\text{eq}} - RT \ln \left(1 + \frac{\alpha_B}{c_B^{\text{eq}}} \right) = \\ &= RT \left[\ln \left(1 + \frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \right) - \ln \left(1 + \frac{\alpha_B}{c_B^{\text{eq}}} \right) \right] \approx \\ &\approx RT \left(\frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} - \frac{\alpha_B}{c_B^{\text{eq}}} \right) = RT \frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \frac{1+K}{K} \end{aligned} \quad (2.38)$$

и, значит,

$$J_{\text{хим}} = \frac{LR}{c_A^{\text{eq}}} \alpha_A \frac{1+K}{K}. \quad (2.39)$$

Сравнивая (2.39) с (2.35), находим значение коэффициента L :

$$L = \frac{k_1 c_A^{\text{eq}}}{R}. \quad (2.40)$$

Так как $\frac{|\alpha_A|}{c_A^{\text{eq}}} \ll 1$ и $\frac{|\alpha_B|}{c_B^{\text{eq}}} = \frac{|\alpha_A|}{c_B^{\text{eq}}} \ll 1$, имеем

$$\frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \ll \frac{c_B^{\text{eq}}}{c_A^{\text{eq}}} = K.$$

Следовательно,

$$\frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \ll K \left(1 - \frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \right) \approx K$$

или

$$\frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} \frac{1+K}{K} \ll 1,$$

т. е. согласно (2.38)

$$\frac{\mathcal{A}}{RT} \ll 1. \quad (2.41)$$

Это и есть условие близости к равновесию, эквивалентное $\alpha_A \ll c_A^{\text{eq}}$. Покажем, что из него непосредственно следует линейное соотношение (2.37). Представим скорость реакции в виде

$$v = \dot{c}_B = k_1 c_A - k_{-1} c_B = k_1 c_A \left(1 - \frac{k_{-1}}{k_1} \frac{c_B}{c_A} \right) = k_1 c_A \left(1 - \frac{1}{K} \frac{c_B}{c_A} \right)$$

и сродство — в виде (ср. (2.9))

$$\mathcal{A} = RT \ln \frac{K}{c_A^{-1} c_B};$$

отсюда

$$\frac{c_B}{c_A} = K \exp\left(-\frac{\mathcal{A}}{RT}\right).$$

Следовательно, зависимость v от \mathcal{A} , вообще говоря, экспоненциальна:

$$J_{\text{хим}} = v = k_1 c_A \left[1 - \exp\left(-\frac{\mathcal{A}}{RT}\right) \right].$$

Однако, если справедливо условие близости к равновесию (2.41), то, ограничиваясь линейным членом в разложении в ряд экспоненты, получаем

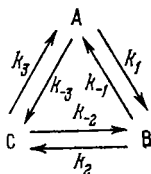
$$v = \frac{k_1 c_A}{R} \frac{\mathcal{A}}{T} = L \frac{\mathcal{A}}{T}.$$

Вблизи равновесия $c_A \approx c_A^{\text{eq}}$. Следовательно, снова имеем

$$L = \frac{k_1 c_A^{\text{eq}}}{R} = \frac{v_{\text{eq}}}{R}, \quad (2.40)$$

где v_{eq} — равновесная скорость прямой реакции $A \rightarrow B$.

Рассмотрим теперь сопряжение нескольких реакций. Допустим, что три реакции образуют цикл



Тогда имеем для потоков

$$\left. \begin{aligned} J_1 &= k_1 c_A - k_{-1} c_B, \\ J_2 &= k_2 c_B - k_{-2} c_C, \\ J_3 &= k_3 c_C - k_{-3} c_A \end{aligned} \right\} \quad (2.42)$$

и для сродства

$$\left. \begin{aligned} \mathcal{A}_1 &= \mu_A - \mu_B, \\ \mathcal{A}_2 &= \mu_B - \mu_C, \\ \mathcal{A}_3 &= \mu_C - \mu_A = -(\mathcal{A}_1 + \mathcal{A}_2). \end{aligned} \right\} \quad (2.43)$$

Функция диссипации, выраженная через независимые переменные и умноженная на T , равна

$$\sigma T = J_1 \mathcal{A}_1 + J_2 \mathcal{A}_2 + J_3 \mathcal{A}_3 = (J_1 - J_3) \mathcal{A}_1 + (J_2 - J_3) \mathcal{A}_2. \quad (2.44)$$

Потоки $J_1 - J_3$ и $J_2 - J_3$ независимы. Имеем

$$\left. \begin{aligned} J_1 - J_3 &= L_{11} \mathcal{A}_1 + L_{12} \mathcal{A}_2, \\ J_2 - J_3 &= L_{21} \mathcal{A}_1 + L_{22} \mathcal{A}_2. \end{aligned} \right\} \quad (2.45)$$

В равновесии $\mu_A^{\text{eq}} = \mu_B^{\text{eq}} = \mu_C^{\text{eq}}$, $\mathcal{A}_1 = \mathcal{A}_2 = 0$, $J_1 - J_3 = J$, $-J_3 = 0$ и $J_1 = J_2 = J_3 = 0$. Потоки равны нулю согласно принципу детального равновесия, из которого следует, что [9]

$$k_1 k_2 k_3 = k_{-1} k_{-2} k_{-3}. \quad (2.46)$$

Вблизи равновесия

$$\left. \begin{aligned} J_1 &= k_1 \alpha_A - k_{-1} \alpha_B, \\ J_2 &= k_2 \alpha_B - k_{-2} \alpha_C, \\ J_3 &= k_3 \alpha_C - k_{-3} \alpha_A, \end{aligned} \right\} \quad (2.47)$$

и

$$\left. \begin{aligned} \mathcal{A}_1 &= RT \left(\frac{\alpha_A}{c_A^{\text{eq}}} - \frac{\alpha_B}{c_B^{\text{eq}}} \right) = \frac{RT}{k_1 c_A^{\text{eq}}} (k_1 \alpha_A - k_{-1} \alpha_B), \\ \mathcal{A}_2 &= RT \left(\frac{\alpha_B}{c_B^{\text{eq}}} - \frac{\alpha_C}{c_C^{\text{eq}}} \right) = \frac{RT}{k_2 c_B^{\text{eq}}} (k_2 \alpha_B - k_{-2} \alpha_C). \end{aligned} \right\} \quad (2.48)$$

Отсюда

$$J_1 = \frac{k_1 c_A^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_1, \quad J_2 = \frac{k_2 c_B^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_2, \quad J_3 = -\frac{k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT} (\mathcal{A}_1 + \mathcal{A}_2);$$

следовательно,

$$\left. \begin{aligned} J_1 - J_3 &= \frac{k_1 c_A^{\text{eq}} + k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_1 + \frac{k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_2, \\ J_2 - J_3 &= \frac{k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_1 + \frac{k_2 c_B^{\text{eq}} + k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT} \mathcal{A}_2. \end{aligned} \right\} \quad (2.49)$$

Мы находим

$$L_{11} = \frac{k_1 c_A^{\text{eq}} + k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT}, \quad L_{22} = \frac{k_2 c_B^{\text{eq}} + k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT}$$

и

$$L_{12} = L_{21} = \frac{k_3 c_C^{\text{eq}}}{RT}.$$

Теорема Онзагера выполняется в условиях близости к равновесию.

Система сопряженных процессов с недиагональными коэффициентами L_{ik} должна удовлетворять условию

$$\sigma = \sum_i J_i X_i \geq 0.$$

Условие это относится к сумме в целом. Иными словами, если ее отдельные члены отрицательны, т. е. соответствующий процесс невозможен в отсутствие сопряжения, он реализуем вследствие сопряжения, когда функция диссипации положительна.

Для химической системы

$$\sigma = \sum_i v_i \frac{\mathcal{A}_i}{T} \geq 0.$$

Реакция j , для которой $v_j \mathcal{A}_j < 0$, может протекать в открытой системе в результате сопряжения, если

$$\sum_{i \neq j} v_i \mathcal{A}_i > |v_j \mathcal{A}_j|.$$

Примером реакции, не осуществимой в отсутствие сопряжения, является поликонденсация аминокислот в полипептидную цепь. Это эндергоническая реакция, сопровождаемая увеличением свободной энергии. Образование каждой пептидной связи происходит с выделением одной молекулы воды. При избытке воды в клетке должна превалировать обратная реакция гидролиза. Однако в действительности поликонденсация сопряжена с экзергонической реакцией расщепления АТФ, и функция диссипации в целом положительна (см. [1], гл. 9).

§ 2.3. СТАЦИОНАРНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИНЕЙНОЙ СИСТЕМЫ

Если на термодинамическую систему наложены ограничения, фиксирующие постоянные значения некоторой совокупности обобщенных сил, причем остальные обобщенные силы могут меняться, система придет в стационарное, хотя и неравновесное состояние. Очевидно, что такая ситуация может осуществиться только в открытой системе. Итак, если X_1, X_2, \dots, X_k постоянны, а $X_{k+1}, X_{k+2}, \dots, X_N$ свободно изменяются, то

$$\begin{aligned} J_i &= 0 & \text{для } i > k, \\ J_i &\neq 0 & \text{для } i \leq k. \end{aligned}$$

Энтропия такой системы не достигает максимума, и функция диссипации отлична от нуля. Допустим, что система обменивается с окружающей средой и веществом, и энергией, но масса ее остается постоянной. В системе имеются тепловой поток J_T и

поток вещества J_M , причем последний равен нулю:

$$\sigma = J_T X_T + J_M X_M \quad (2.50)$$

и

$$\left. \begin{aligned} J_T &= L_{11} X_T + L_{12} X_M, \\ J_M &= L_{21} X_T + L_{22} X_M = 0. \end{aligned} \right\} \quad (2.51)$$

Считая фиксированной силу X_T (скажем, это фиксированная разность температур), имеем

$$\sigma = L_{11} X_T^2 + (L_{12} + L_{21}) X_T X_M + L_{22} X_M^2. \quad (2.52)$$

Дифференцируем это выражение по X_M при $X_T = \text{const}$:

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_M} = 2L_{22} X_M + (L_{12} + L_{21}) X_T.$$

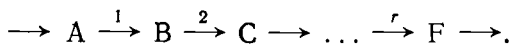
Если система близка к равновесию и выполняется теорема Онзагера, то $L_{12} = L_{21}$ и

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_M} = 2(L_{12} X_T + L_{22} X_M) = 2J_M = 0. \quad (2.53)$$

Следовательно, в стационарном состоянии, близком к равновесию, продукция энтропии σ минимальна (действительно, $\partial^2 \sigma / \partial X_M^2 = L_{22} > 0$). Это — теорема Пригожина [2, 10]. Она непосредственно связана с теоремой Онзагера и справедлива лишь в пределах применимости линейной термодинамики. Коэффициенты L_{ih} здесь независимы от X_i .

Если X_T также может изменяться произвольным образом, то $J_T = J_M = 0$, σ обращается в нуль и система достигает равновесия.

Рассмотрим открытую химическую систему. Вещество А поступает в нее извне, претерпевает ряд последовательных реакций внутри системы, и конечный продукт реакции F покидает систему [2]:



Кинетические уравнения имеют вид

$$\frac{dn_A}{dt} = \frac{d_{ex} n_A}{dt} - v_1, \quad \frac{dn_B}{dt} = v_1 - v_2, \dots, \quad \frac{dn_F}{dt} = \frac{d_{ex} n_F}{dt} + v_r, \quad (2.54)$$

где производные с индексом «ex» характеризуют обмен с внешней средой.

В стационарном состоянии все скорости выравниваются:

$$\frac{d_{ex} n_A}{dt} = v_1 = v_2 = \dots = v_r = - \frac{d_{ex} n_F}{dt} = v, \quad (2.55)$$

и содержание всех реагентов в системе постоянно:

$$\dot{n}_\rho = 0 \quad (\rho = A, B, \dots, F).$$

Имеем

$$T\sigma = \mathcal{A}_A \frac{d_{\text{ex}} n_A}{dt} + \sum_{\rho=1}^r \mathcal{A}_\rho v_\rho + A_F \frac{d_{\text{ex}} n_F}{dt} > 0, \quad (2.56)$$

где

$$\mathcal{A}_A = \mu_A^{(1)} - \mu_A^{(2)}, \quad \mathcal{A}_F = \mu_F^{(1)} - \mu_F^{(2)},$$

верхний индекс (1) относится к системе, а (2) — к окружающей среде. В стационарном состоянии

$$T\sigma = \left(\mathcal{A}_A + \sum_{\rho} \mathcal{A}_\rho - \mathcal{A}_F \right) v = \mathcal{A}v > 0, \quad (2.57)$$

где \mathcal{A} соответствует глобальному (суммарному) процессу $A^{(2)} \rightarrow F^{(2)}$. С другой стороны, в линейной области

$$\sigma = \sum_{\rho=1}^{r+2} \sum_{\rho'=1}^{r+2} L_{\rho\rho'} \frac{\mathcal{A}_\rho}{T} \frac{\mathcal{A}_{\rho'}}{T} > 0. \quad (2.58)$$

Определение минимума (2.58) при данном значении суммарного сродства \mathcal{A} проводим с помощью множителей Лагранжа g . Продифференцируем функцию

$$\Phi = \sum_{\rho} \sum_{\rho'} L_{\rho\rho'} \frac{\mathcal{A}_\rho}{T} \frac{\mathcal{A}_{\rho'}}{T} - 2g \sum_{\rho} \frac{\mathcal{A}_\rho}{T}$$

по $\mathcal{A}_{\rho'}/T$ и приравняем производную нулю. Имеем

$$\frac{\partial \Phi}{\partial (\mathcal{A}_{\rho'}/T)} = 2 \sum_{\rho'} L_{\rho\rho'} \frac{\mathcal{A}_{\rho'}}{T} - 2g = 0.$$

Скорость $v_\rho = \sum_{\rho'} L_{\rho\rho'} (\mathcal{A}_{\rho'}/T) = g = \text{const}$. Следовательно, условие постоянства скоростей эквивалентно минимуму производства энтропии и действительно означает стационарность.

Определим теперь условия стабильности стационарного состояния. Условие минимума σ дает некий критерий эволюции, показывая, что система необходимым образом переходит в стационарное неравновесное состояние из любого близкого к нему состояния. Без ограничения общности рассмотрим случай двух сопряженных химических реакций [2]:

$$\sigma = L_{11} \left(\frac{\mathcal{A}_1}{T} \right)^2 + 2L_{12} \frac{\mathcal{A}_1}{T} \frac{\mathcal{A}_2}{T} + L_{22} \left(\frac{\mathcal{A}_2}{T} \right)^2 > 0. \quad (2.59)$$

Вычислим $\dot{\sigma}$, считая коэффициенты L_{12} постоянными:

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \dot{\sigma} = & \left(L_{11} \frac{\mathcal{A}_1}{T} + L_{12} \frac{\mathcal{A}_2}{T} \right) \frac{d(\mathcal{A}_1/T)}{dt} + \\ & + \left(L_{12} \frac{\mathcal{A}_1}{T} + L_{22} \frac{\mathcal{A}_2}{T} \right) \frac{d(\mathcal{A}_2/T)}{dt} = v_1 \frac{d(\mathcal{A}_1/T)}{dt} + v_2 \frac{d(\mathcal{A}_2/T)}{dt}. \end{aligned} \quad (2.60)$$

В замкнутой системе \mathcal{A}_1 и \mathcal{A}_2 зависят от координат реакций ξ_1 , ξ_2 , а также от давления и температуры, которые будем считать постоянными. Тогда можно написать

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \dot{\sigma} = & \frac{v_1}{T} \left[\left(\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_1} \right)_{p, T} v_1 + \left(\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_2} \right)_{p, T} v_2 \right] + \\ & + \frac{v_2}{T} \left[\left(\frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_1} \right)_{p, T} v_1 + \left(\frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_2} \right)_{p, T} v_2 \right]. \end{aligned} \quad (2.61)$$

Как указывалось выше, сродство \mathcal{A} есть производная от свободной энергии системы по координате соответствующей реакции, взятая со знаком минус, т. е.

$$\mathcal{A}_i = - \left(\frac{\partial G}{\partial \xi_i} \right)_{p, T}. \quad (2.10)$$

Следовательно, $\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_2} = \frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_1}$, и мы получаем

$$\frac{1}{2} \dot{\sigma} = \frac{1}{T} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_1} v_1^2 + 2 \frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial \xi_2} v_1 v_2 + \frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial \xi_2} v_2^2 \right) < 0. \quad (2.62)$$

Величина эта отрицательна, так как величины \mathcal{A}_i убывают с ростом ξ_i . В замкнутой системе продукция энтропии может только убывать во времени.

В открытой системе к выражению (2.62) добавляется выражение, описывающее обмен веществом с внешней средой:

$$\frac{1}{2} \dot{\sigma} = \frac{1}{2} \dot{\sigma}_i + \frac{1}{T} \sum_{\nu} \left(v_1 \frac{\partial \mathcal{A}_1}{\partial n_{\nu}} + v_2 \frac{\partial \mathcal{A}_2}{\partial n_{\nu}} \right) \frac{d_{\text{ex}} n_{\nu}}{dt}. \quad (2.63)$$

Здесь первый член всегда отрицателен, знак второго зависит от конкретной ситуации. Внутренние необратимые процессы всегда понижают скорость продукции энтропии. Из неравенства (2.62) следует, что если система достигла состояния с минимумом продукции энтропии, то она не может покинуть его спонтанно.

Дифференциал функции диссипации можно представить в виде

$$d\sigma = d_J \sigma + d_X \sigma \equiv \sum_i X_i dJ_i + \sum_i J_i dX_i. \quad (2.64)$$

При вычислении $d\sigma/dt$ по формуле (2.60) мы ограничивались $d_X \sigma/dt$, учитывая изменение во времени лишь для сил X_i (т. е.

для \mathcal{A}_i/T). Однако вследствие условия Онзагера $L_{12} = L_{21}$ в линейной области $d_X\sigma = d_J\sigma$, что нетрудно проверить. Тем самым, $d_X\sigma$ есть полный дифференциал;

$$d_X\sigma = 1/2 d\sigma \quad \text{и} \quad \frac{d_X\sigma}{dt} = 1/2 \frac{d\sigma}{dt}.$$

В стационарном состоянии, как мы видели, $\dot{\sigma}_i < 0$, т. е. $d_X\sigma < 0$, $d\sigma < 0$. Соответственно вариационное условие стабильности стационарного состояния состоит в том, что

$$\delta\sigma = 2\delta_X\sigma \geq 0. \quad (2.65)$$

Знак вариации σ противоположен знаку дифференциала — любая флуктуация может вызвать лишь избыточную продукцию энтропии. Допустим, что $J_M = 0$ в стационарном состоянии с фиксированными силами X_1, \dots, X_k и нефиксированными X_{k+1}, \dots, X_r . При флуктуации δX_M имеем $J_M = L_{MM}\delta X_M$, где $L_{MM} > 0$ и

$$\delta_X\sigma = J_M \delta X_M = L_{MM}(\delta X_M)^2 > 0.$$

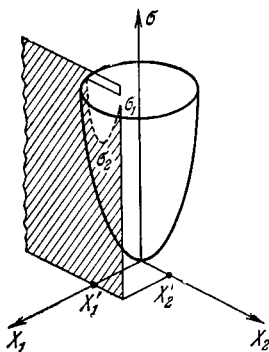
Для химической системы это условие запишется в виде

$$T\delta_X\sigma = \sum_i v_i \delta\mathcal{A}_i > 0.$$

В стационарном состоянии (индекс «st»)

$$d_X\sigma = \frac{1}{T} \sum_i v_i^{\text{st}} d\mathcal{A}_i = 0,$$

Рис. 2.1. Схема, поясняющая поведение стационарной линейной системы.



если все \mathcal{A}_i независимы. Этого всегда можно достичь образованием подходящих линейных комбинаций скоростей и значений сродства индивидуальных реакций. Следовательно, можно положить стационарные значения v_i^{st} равными нулю. Тогда получаем

$$v_i = v_i^{\text{st}} + \delta v_i = \delta v_i,$$

и условие стабильности принимает вид

$$T\delta_X\sigma = \sum_i \delta v_i \delta\mathcal{A}_i \geq 0. \quad (2.66)$$

Как мы видели (см., например, (2.52)), σ выражается квадратичной функцией от X . Представим это схематическим рис. 2.1 [8] для случая двух сил X_1 и X_2 . Если при $X_1 = \text{const}$ X_2 может варьировать, точка, изображающая σ , будет двигаться по параболе, получаемой пересечением поверхности $\sigma(X_1, X_2)$ пло-

скостью $X_1 = \text{const}$, пока она не достигнет минимума σ_2 . Если упразднены все ограничения, σ будет двигаться по поверхности до равновесной точки $\sigma = 0$.

Возвращение флуктуировавшей линейной системы в стационарное состояние, достаточно близкое к равновесию, происходит экспоненциально, без осцилляций:

$$\delta\xi = \xi(t) - \xi^{\text{st}} = (\xi(0) - \xi^{\text{st}}) \exp(-t/\tau), \quad (2.67)$$

где ξ^{st} — стационарное значение координаты реакции, τ — время релаксации.

§ 2.4. СОПРЯЖЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ С ПРОЦЕССАМИ ДИФФУЗИИ

Организм, клетка — химические машины, функционирующие в результате протекания химических реакций и переноса вещества между клеткой и окружающей средой. Этот перенос имеет направленный характер, он происходит в направлении, нормальном к клеточной мембране. Соответственно поток вещества (диффузия) есть вектор.

Перенос вещества и биохимические реакции взаимосвязаны в процессах метаболизма. Эта взаимосвязь определяет, в частности, активный транспорт сквозь мембраны, рассматриваемый в следующей главе. Здесь нас интересует феноменологическое описание взаимосвязи, т. е. сопряжения химических реакций и транспорта вещества (диффузии).

Как уже сказано выше (см. стр. 57), прямое сопряжение скалярного и векторного процессов невозможно в изотропной системе в силу принципа Кюри. Невозможно оно и в анизотропных centrosимметричных системах. Однако биологические системы, в которых сопрягаются диффузия и химические реакции, а именно, мембраны, построены из хиральных молекул, лишенных центра и плоскости симметрии. В таких системах в принципе возможно прямое сопряжение, и векторные коэффициенты $L_{sv} = L_{vs}$ не обязаны равняться нулю (см. стр. 57). Теория прямого сопряжения диффузионных и химических процессов в мембранах, непосредственно учитывающая хиральность среды, пока не развита. Можно представить себе, например, транспорт неких участников реакции вдоль винтового канала, в котором расположены симметричные реакционные центры. Тогда течение реакции будет различным для веществ, поступающих с разных сторон канала. К тому же результату приводит рассмотрение модели, состоящей из симметричных каналов, в которых находятся асимметричные реакционные центры. Однако пока нет оснований утверждать, что эти эффекты значительны. Взаимосвязь химических реакций и транспорта веществ может определяться не прямым, но косвенным сопряжением, возникающим в

условиях стационарности. В целом проблема требует дальнейших исследований.

В стационарном состоянии возникает связь между необратимыми процессами, которые не сопряжены непосредственно феноменологическими коэффициентами. Вернемся к примеру, рассмотренному на стр. 63. Наряду с веществами, участвующими в реакции



будем вводить в систему инертное вещество Q, в реакции не участвующее [2]. Его транспорт сопряжен, однако, с транспортом вещества A. Тогда

$$\left. \begin{aligned} T \frac{d_{\text{ex}} n_A}{dt} &= L_{11} \mathcal{A}_A + L_{12} \mathcal{A}_Q, \\ T \frac{d_{\text{ex}} n_Q}{dt} &= L_{21} \mathcal{A}_A + L_{22} \mathcal{A}_Q, \\ T \frac{d_{\text{ex}} n_F}{dt} &= L_F \mathcal{A}_F, \\ v &= L_{\text{хим}} \frac{\mathcal{A}_{\text{хим}}}{T}. \end{aligned} \right\} \quad (2.68)$$

Последнее уравнение относится к химической реакции $A \rightarrow F$. Из условий стационарности находим

$$\frac{dn_A}{dt} = \frac{d_{\text{ex}} n_A}{dt} - v = 0, \quad \frac{dn_F}{dt} = \frac{d_{\text{ex}} n_F}{dt} + v = 0, \quad \frac{dn_Q}{dt} = \frac{d_{\text{ex}} n_Q}{dt} = 0, \quad (2.69)$$

или

$$v = \frac{d_{\text{ex}} n_A}{dt} = - \frac{d_{\text{ex}} n_F}{dt}, \quad \frac{d_{\text{ex}} n_Q}{dt} = 0.$$

Следовательно,

$$\mathcal{A}_A = \frac{1}{L_{11} - (L_{12}^2/L_{22})} T v, \quad \mathcal{A}_F = - \frac{T}{L_F} v, \quad \mathcal{A}_Q = \frac{-(L_{21}/L_{22})}{L_{11} - (L_{12}^2/L_{22})} T v. \quad (2.70)$$

Сродство \mathcal{A}_Q инертной компоненты отлично от нуля и пропорционально скорости химической реакции, в которой вещество не участвует. Вследствие этой реакции возникает разность концентраций Q внутри и вне системы

$$c_Q^{(1)}/c_Q^{(2)} = K \exp(-\mathcal{A}_Q/RT). \quad (2.71)$$

Тем самым реализуется косвенное сопряжение транспорта инертного вещества и химической реакции.

Напишем функцию диссипации для системы, в которой имеется транспорт и химическая реакция (для транспорта обобщенная сила выражается через градиент химического

потенциала μ_i):

$$\sigma T = \sum_i J_i \nabla(-\mu_i) - v \sum_i v_i \mu_i, \quad (2.72)$$

и рассмотрим косвенное сопряжение в общем виде [11].

Условие непрерывности для i -й компоненты есть

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -\nabla J_i + v_i v. \quad (2.73)$$

Условие стационарности, т. е. постоянство концентрации c_i , выразится как

$$\nabla J_i = v_i v. \quad (2.74)$$

Подставляя в (2.72) это выражение, находим

$$\sigma T = -\nabla \sum_i J_i \mu_i. \quad (2.75)$$

Проинтегрируем σ для случая одномерного потока вдоль оси x . Получаем полную диссипацию на единицу площади

$$\sigma^{\text{tot}} = \int_0^{\Delta x} \sigma dx = \frac{1}{T} \sum_i (J_i(0) \mu_i(0) - J_i(\Delta x) \mu_i(\Delta x)). \quad (2.76)$$

Аналогичное интегрирование ∇J_i дает (ср. (2.74))

$$\int_0^{\Delta x} \frac{dJ_i}{dx} dx = J_i(\Delta x) - J_i(0) = v_i \int_0^{\Delta x} v dx = v_i J_{\text{хим}}^{\text{tot}}. \quad (2.77)$$

Из двух последних уравнений следует, что

$$T \sigma^{\text{tot}} = \sum_i J_i(0) [\mu_i(0) - \mu_i(\Delta x)] + J_{\text{хим}}^{\text{tot}} \sum_i [-v_i \mu_i(\Delta x)], \quad (2.78)$$

или

$$T \sigma^{\text{tot}} = \sum_i J_i(\Delta x) [\mu_i(0) - \mu_i(\Delta x)] + J_{\text{хим}}^{\text{tot}} \sum_i [-v_i \mu_i(0)].$$

Суммы в последних членах правых частей (2.78) выражают значения сродства реакции при $x = \Delta x$ и $x = 0$ для проникающих в систему (в мембрану) компонентов. Переходя к феноменологическим уравнениям, напомним

$$\left. \begin{aligned} J_i(0) &= \sum_k L_{ik}^0 \Delta \mu_k + L_{i, \text{хим}}^0 \mathcal{A}^{\Delta x}, \\ J_{\text{хим}}^{\text{tot}} &= \sum_i L_{\text{хим}, i}^0 \Delta \mu_i + L_{\text{хим}}^0 \mathcal{A}^{\Delta x}, \end{aligned} \right\} \quad (2.79)$$

или

$$\left. \begin{aligned} J_i(\Delta x) &= \sum_k L_{ik}^{\Delta x} \Delta \mu_k + L_{i, \text{хим}}^{\Delta x} \mathcal{A}^0, \\ J_{\text{хим}}^{\text{tot}} &= \sum_i L_{\text{хим}, i}^{\Delta x} \Delta \mu_i + L_{\text{хим}}^{\Delta x} \mathcal{A}^0. \end{aligned} \right\} \quad (2.80)$$

В макроскопических (проинтегрированных) выражениях появились перекрестные макроскопические коэффициенты $L_{i, \text{хим}}^0$ или $L_{i, \text{хим}}^{\Delta x}$. Симметричны ли они? В локальных (неинтегрированных) выражениях перекрестных коэффициентов нет, так как наша система изотропна и принцип Кюри справедлив. Иными словами,

$$\left. \begin{aligned} J_i &= \sum_k l_{ik} \nabla(-\mu_k), \\ v &= l_{\text{хим}} \mathcal{A}, \end{aligned} \right\} \quad (2.81)$$

где l_{ik} — локальные феноменологические коэффициенты.

То же относится к обратным выражениям

$$\left. \begin{aligned} \nabla(-\mu_i) &= \sum_k r_{ik} J_k, \\ \mathcal{A} &= r_{\text{хим}} v = \frac{1}{l_{\text{хим}}} v. \end{aligned} \right\} \quad (2.82)$$

Установим связь между локальными и макроскопическими коэффициентами. Применяя к первому уравнению (2.82) оператор ∇ , получим

$$\nabla^2(-\mu_i) = \sum_k r_{ik} \nabla J_k.$$

Подставляя условие стационарности (2.74), находим

$$\nabla^2(-\mu_i) = \left(\sum_k v_k r_{ik} \right) v = \left(l_{\text{хим}} \sum_k v_k r_{ik} \right) \mathcal{A}. \quad (2.83)$$

Умножим обе части этого уравнения на v_i и просуммируем по i . Так как $\mathcal{A} = - \sum_i v_i \mu_i$, получаем

$$\sum_i v_i \nabla^2(-\mu_i) = \nabla^2 \mathcal{A} = \left(l_{\text{хим}} \sum_{i,k} v_i v_k r_{ik} \right) \mathcal{A}. \quad (2.84)$$

Мы получили дифференциальное уравнение для \mathcal{A} . Коэффициент, стоящий при \mathcal{A} , имеет размерность см^{-2} . Обозначим его через λ^{-2} (λ — длина релаксации). Тогда

$$\lambda^2 \nabla^2 \mathcal{A} = \mathcal{A}. \quad (2.84a)$$

Решение этого уравнения имеет вид

$$\mathcal{A}(x) = \frac{\mathcal{A}^{\Delta x} \text{sh}(x/\lambda) + \mathcal{A}^0 \text{sh}[(\Delta x - x)/\lambda]}{\text{sh}(\Delta x/\lambda)}. \quad (2.85)$$

Для перехода к макроскопическим выражениям нужно проинтегрировать локальные соотношения. Интегрирование (2.74) от

0 до произвольной точки x дает

$$\int_0^x \frac{dJ_i}{dx} dx = J_i(x) - J_i(0) = v_i l_{\text{хим}} \int_0^x \mathcal{A} dx.$$

Подставляя сюда (2.85) и проводя интегрирование, получаем

$$J_i(x) = J_i(0) + \frac{v_i \lambda l_{\text{хим}}}{\text{sh}(\Delta x/\lambda)} \left\{ \mathcal{A}^{\Delta x} \left(\text{ch} \frac{x}{\lambda} - 1 \right) - \mathcal{A}^0 \left(\text{ch} \frac{\Delta x - x}{\lambda} - \text{ch} \frac{\Delta x}{\lambda} \right) \right\}. \quad (2.86)$$

С другой стороны, согласно (2.81), левая часть этого выражения равна

$$J_i(x) = \sum_k l_{ik} (-\nabla \mu_k).$$

Подставим это выражение в (2.86) и проинтегрируем от 0 до Δx . Так как

$$-\int_0^{\Delta x} \frac{d\mu_i}{dx} dx = \mu_i(0) - \mu_i(\Delta x) = \Delta \mu_i$$

и

$$\mathcal{A}^{\Delta x} - \mathcal{A}^0 = -\sum v_i \mu_i(\Delta x) + \sum v_i \mu_i(0) = \sum v_i \Delta \mu_i,$$

то в результате интегрирования имеем

$$J_i^0 \Delta x = \sum_k \{ l_{ik} + v_i v_k \lambda l_{\text{хим}} (\Delta x \text{cth}(\Delta x/\lambda) - \lambda) \} \Delta \mu_k - (v_i \lambda l_{\text{хим}} \Delta x \text{th}(\Delta x/2\lambda)) \mathcal{A}^{\Delta x}. \quad (2.87)$$

Разделим (2.87) на Δx и получим макроскопические феноменологические выражения. Введем обозначения

$$\lambda l_{\text{хим}} (\text{cth}(\Delta x/\lambda) - \lambda/\Delta x) = \alpha, \quad \lambda l_{\text{хим}} \text{th}(\Delta x/2\lambda) = \beta.$$

Тогда окончательно находим

$$J_i(0) = \sum_k \left(\frac{l_{ik}}{\Delta x} + v_i v_k \alpha \right) \Delta \mu_k - v_i \beta \mathcal{A}^{\Delta x}, \quad (2.88)$$

что совпадает с (2.79), причем

$$L_{ik}^0 = \frac{l_{ik}}{\Delta x} + v_i v_k \alpha, \quad L_{i, \text{хим}}^0 = -v_i \beta. \quad (2.89)$$

Вычисление $J_{\text{хим}}^{\text{tot}}$ дает

$$\begin{aligned} J_{\text{хим}}^{\text{tot}} &= \int_0^{\Delta x} J_{\text{хим}} dx = l_{\text{хим}} \int_0^{\Delta x} \mathcal{A} dx = \\ &= \lambda l_{\text{хим}} (\mathcal{A}^{\Delta x} + \mathcal{A}^0) \text{th}(\Delta x/2\lambda) = -\sum_i v_i \beta \Delta \mu_i + 2\beta \mathcal{A}^{\Delta x}. \end{aligned} \quad (2.90)$$

Сравнивая (2.90) со вторым уравнением (2.79), находим

$$L_{\text{хим}}^0 = L_{i, \text{хим}}^0 = \nu_i \beta, \quad L_{\text{хим}}^0 = 2\beta. \quad (2.91)$$

Таким образом, макроскопические коэффициенты, характеризующие косвенное сопряжение диффузионных потоков и химической реакции, выражены через микроскопические коэффициенты. Соотношения симметрии Онзагера сохраняются. Отличие от нуля макроскопических коэффициентов определяется в случае изотропной системы условиями стационарности. Как мы увидим, косвенное сопряжение играет существенную роль в теории активного мембранного транспорта (см. гл. 3 и 6). В гл. 3 изложено также применение описанной теории косвенного сопряжения при рассмотрении так называемого облегченного транспорта, происходящего с участием молекул-переносчиков.

Косвенное сопряжение химических реакций и теплового потока рассмотрено Де Гроотом [4, 5].

§ 2.5. ПРОЦЕССЫ, УДАЛЕННЫЕ ОТ РАВНОВЕСИЯ

Изложенная феноменологическая теория неравновесных процессов справедлива, как это не раз подчеркивалось, в линейном приближении, т. е. вблизи равновесия. Для химических реакций условие близости к равновесию есть малость \mathcal{A} ($\mathcal{A} \ll RT$). Вблизи равновесия реализуются линейные соотношения между потоками и силами

$$J_i = \sum_k L_{ik} X_k. \quad (2.12)$$

Такие уравнения верны лишь для не зависящих от времени или медленно меняющихся обобщенных сил X_k . В общем случае линейные соотношения между потоками и силами можно записать в виде [13]

$$J_i(x, t) = \sum_k \int dt' \int dx' L_{ik}(x - x', t - t') X_k(x', t'). \quad (2.92)$$

Эти соотношения применимы лишь для быстро изменяющихся во времени и пространстве сил X_k . Их справедливость была показана для ряда физических задач [13].

Соотношения (2.12) справедливы не только для термодинамических сил и потоков. В общем виде они характеризуют линейную реакцию физической системы на внешние возмущения. Так, например, речь может идти о реакции системы на внешнее электромагнитное поле. Простой частный случай такой реакции выражается законом Ома — линейной зависимостью плотности тока от напряженности поля. Построение теории линейных реак-

ций является важной проблемой теоретической физики (см. [13—16]).

Линейная неравновесная термодинамика оказывается весьма полезной при рассмотрении ряда важных кинетических процессов в биологии. В первую очередь сюда относятся явления транспорта в биологических мембранах. Об этих явлениях уже говорилось выше, их подробное рассмотрение дано в гл. 3 и 6. Линейная термодинамика дает ценные результаты также при изучении биологических механохимических процессов (мышечное сокращение, см. § 5.5).

Важнейшее физическое предположение неравновесной термодинамики состоит в том, что энтропия неравновесной системы зависит от тех же независимых переменных, что и в равновесии или в близком к нему состоянии. Это положение может соблюдаться и вдали от равновесия, в нелинейной области.

Основные положения линейной неравновесной термодинамики выражаются соотношениями (2.12) и (2.53). Первые описывают сопряжение различных кинетических процессов вследствие отличия перекрестных коэффициентов L_{ik} ($i \neq k$) от нуля, второе есть математическое выражение теоремы Пригожина о минимуме производства энтропии в стационарном состоянии. Несомненно, что в биологической открытой системе реализуются сопряженные процессы. Поэтому общая феноменология Онзагера — Пригожина позволяет объяснить, хотя бы качественно, важные биологические явления. Вопрос о применимости теоремы Пригожина к биологическим системам более сложен. Как уже сказано, продукция энтропии σ минимальна лишь в тех стационарных состояниях открытых систем, которые близки к равновесию. Теорема Пригожина окажется актуальной для описания поведения биологической системы, лишь если последняя может существовать вблизи равновесия, так как соотношения Онзагера справедливы в линейной области.

Пригожин, Глансдорф и их сотрудники провели рассмотрение удаленных от равновесия систем [17, 18, 64]. Встречаются ситуации трех типов. Во-первых, предположение о локальном равновесии может быть недействительным, т. е. соотношения Онзагера не выполняются. Во-вторых, может реализоваться ситуация, в которой локальное равновесие сохраняется, но свойства системы непрерывно изменяются по мере отклонения от равновесия. В этом случае система сохраняет ряд свойств линейных систем, в частности, остается справедливой теорема о минимуме продукции энтропии в стационарном состоянии. И, наконец, в третьем случае возникают новые типы организации вещества в пространстве и времени, присущие только диссипативным, но не равновесным системам. Возникновение таких новых структур и свойств определяется существенными нестабильностями

термодинамических состояний. Именно последний случай представляет наибольший интерес для биологии уже потому, что биологическая система развивается необратимо и ее развитие как раз и означает возникновение новой организации. Это относится как к онтогенетическому, так и к филогенетическому развитию (см. гл. 9).

Рассмотрим прежде всего критерии стабильности равновесных и стационарных систем.

Если в системе нет продукции энтропии, то $d_i S = 0$ и в частном случае выделения тепла dQ

$$dS = d_e S = dQ/T,$$

где $d_e S$ — поток энтропии. Если $d_i S \geq 0$, то

$$d_i S = dS - dQ/T \geq 0.$$

Подставляя в это выражение закон сохранения энергии в форме

$$dQ = dE + p dV,$$

где E — энергия системы, получим выражение второго начала

$$T d_i S = T dS - dE - p dV \geq 0. \quad (2.93)$$

Условие стабильности равновесного состояния определяет знаки соответствующих флуктуаций. Оно имеет вид (p, T — константы)

$$\delta E + p \delta V - T \delta S \geq 0. \quad (2.94)$$

Отметим, что знаки при вариациях противоположны знакам при дифференциалах в (2.93). При постоянных S и V имеем

$$\delta E \geq 0, \quad (2.95a)$$

т. е. энергия минимальна для устойчивого равновесия. Допустим, что происходит конечная вариация (флуктуация) энергии. Тогда в равновесии

$$(\delta E)_{\text{eq}} = 0, \quad (\delta^2 E)_{\text{eq}} > 0. \quad (2.95b)$$

Напротив, для систем с постоянными E и V

$$\delta S \leq 0, \quad (\delta S)_{\text{eq}} = 0, \quad (\delta^2 S)_{\text{eq}} < 0. \quad (2.96)$$

Можно показать, что из (2.96) следуют положительные значения теплоемкости C_V и изотермической сжимаемости χ

$$C_V > 0, \quad \chi > 0.$$

Соотношения (2.96) означают, что энтропия максимальна в состоянии равновесия. Применительно к химическим реакциям

(ср. (2.14))

$$\left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi}\right)_{\text{eq}} (\delta \xi)^2 < 0.$$

Условие $(\partial \mathcal{A} / \partial \xi)_{\text{eq}} < 0$ следует из (2.96). Общий критерий химической стабильности для совокупности химических реакций (ср. (2.15)) можно представить как

$$\sum_{i, k} \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi_k}\right)_{\text{eq}} \delta \xi_i \delta \xi_k < 0. \quad (2.97)$$

Это термодинамическое условие эквивалентно кинетическому. При $t \rightarrow \infty$ $\delta \xi_i \rightarrow 0$. Вблизи равновесия переменные $\delta \xi_i$ удовлетворяют линейным уравнениям

$$\frac{d(\delta \xi_i)}{dt} = \sum_k a_{ik} \delta \xi_k \quad (2.98)$$

с решениями

$$\delta \xi_i = (\delta \xi_i)_{t=0} \exp(\lambda t),$$

причем все собственные значения λ , являющиеся корнями уравнения

$$|\lambda \delta_{ik} - a_{ik}| = 0,$$

вещественны и отрицательны, $\lambda < 0$, т. е. флуктуации ξ затухают без осцилляций. Вблизи равновесия

$$\mathcal{A}_i \approx \sum_k \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_k}\right)_{\text{eq}} \delta \xi_k.$$

Функция диссипации равна

$$\sigma = \sum_i v_i \frac{\mathcal{A}_i}{T} \equiv \sum_i \frac{d \xi_i}{dt} \frac{\mathcal{A}_i}{T} = \sum_i \frac{d(\delta \xi_i)}{dt} \frac{\mathcal{A}_i}{T} \geq 0.$$

Подставляя в нее значения \mathcal{A}_i и $\delta \xi_i$, получаем для каждого собственного значения λ_r

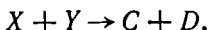
$$\lambda_r \sum_{i, k} \left(\frac{\partial \mathcal{A}_i}{\partial \xi_k}\right)_{\text{eq}} \delta \xi_i \delta \xi_k > 0,$$

что совпадает с (2.97).

Условие стабильности для неравновесного, но стационарного состояния, близкого к равновесию, уже рассмотрено выше. Для химических реакций оно имеет вид

$$\sum_i \delta v_i \delta \mathcal{A}_i \geq 0. \quad (2.66)$$

Рассмотрим химическую реакцию *)



Имеем

$$\mathcal{A} \sim \ln \frac{XY}{CD}$$

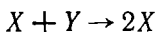
и

$$v \sim XY.$$

Флуктуация концентрации X вблизи стационарного состояния приводит к избыточной продукции энтропии, пропорциональной

$$\delta v \delta \mathcal{A} \sim \frac{Y}{X} (\delta X)^2 > 0.$$

Условие устойчивости соблюдается. Напротив, в автокаталитической реакции



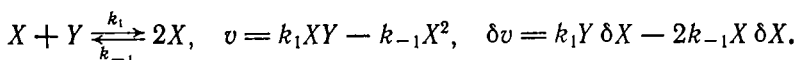
по-прежнему $v \sim XY$, но

$$\mathcal{A} \sim \ln (XY/X^2) \equiv \ln (Y/X)$$

и

$$\delta v \delta \mathcal{A} \sim -\frac{Y}{X} (\delta X)^2 < 0.$$

В этом случае система может оказаться нестабильной. Стабильность сохраняется вблизи равновесия. Тогда



В равновесии $k_1 Y = k_{-1} X$, и мы получаем

$$\delta v = -k_{-1} X \delta X$$

и

$$\delta v \delta \mathcal{A} \sim (\delta X)^2 > 0.$$

Таким образом, вдали от состояния равновесия могут возникать неустойчивые стационарные состояния диссипативной системы.

Появление неустойчивости в некотором исходном состоянии системы означает переход системы в новый режим, которому может соответствовать иной тип поведения. Допустим, что имеется нелинейная система химических реакций, в ходе которых исходные вещества $\{A\}$ превращаются в конечные продукты $\{F\}$. На рис. 2.2 $\{X\}$ обозначает промежуточные вещества. Си-

*) В тех случаях, когда это не может привести к недоразумениям, сами реагенты и их концентрации обозначаются одинаково.

система может характеризоваться некоторым параметром R , зависящим от общего сродства, т. е. от отношений концентраций $\{A\}$ и $\{F\}$ и от константы равновесия [18]. На рис. 2.3 стационарная концентрация промежуточного вещества X представлена как функция R . В равновесии $R = R_{eq}$. При малых отклонениях от равновесия $|R - R_{eq}|$ система перемещается плавно вдоль термодинамической ветви AB на рис. 2.3. Все стационарные состояния на этой ветви устойчивы и согласуются с теоремой о минимальной продукции энтропии. Однако на достаточно большом удалении от равновесия, при некотором значении R_c избыточная продукция энтропии, равная

$$\delta_x \sigma = \frac{1}{T} \sum_i \delta v_i \delta \mathcal{A}_i,$$

может стать отрицательной. При этом пороговом значении R_c возни-

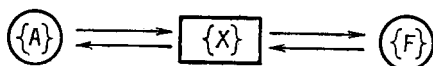


Рис 2.2. Нелинейная система химических реакций.

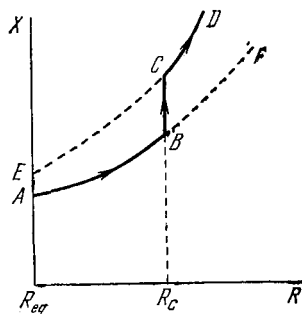


Рис. 2.3. Зависимость стационарной концентрации промежуточного вещества от параметра R .

кает неустойчивость и система переходит с термодинамической ветви на новую ветвь CD , состояния на которой вновь устойчивы. Области неустойчивых состояний на рис. 2.3 — это EC и BF . На новой ветви могут возникнуть организация системы во времени, организация в пространстве и новые множественные стационарные состояния [18] (см. также § 8.1).

За термодинамическим порогом R_c происходит усиление флуктуаций, достигающих макроскопического уровня и делающих устойчивым новый режим, представляемый структурой, возникающей вслед за неустойчивостью. Этот эффект, будучи совместим с граничными условиями, наложенными на систему, достоверен. Пригожин и соавторы рассматривают в качестве примера [17, 18] гидродинамическую проблему Бенара. Горизонтальный слой жидкости, подогреваемой снизу, переходит при критическом значении градиента температуры в состояние внутреннего конвективного движения, образуя упорядоченные кооперативные структуры. Эффект непосредственно связан с нелинейностью уравнений гидродинамики. Сходным образом нелинейные, автокаталитические химические процессы приводят в области, расположенной за термодинамическим порогом, к

возникновению специфических структур в пространстве и их упорядоченного поведения во времени (см. гл. 8).

В отличие от равновесных упорядоченных структур например, от кристалла, структуры, отвечающие нетермодинамическим ветвям, являются *диссипативными*. Иными словами, они возможны только в открытых системах вследствие обмена веществом и энергией с окружающей средой и поддерживаются вдали от равновесия граничными условиями. Порядок в равновесной системе возникает в соответствии с условием минимума свободной энергии. Напротив, диссипативная система упорядочивается вследствие возрастания флуктуаций до макроскопического уровня.

В работах Пригожина и его школы выполняется программа обобщения неравновесной термодинамики на нелинейную область. Как уже сказано выше, такое обобщение сводится к формулировке критериев устойчивости, к рассмотрению флуктуационных эффектов. Основной результат состоит в объяснении возникновения диссипативных структур. Конкретный их анализ, однако, выходит за рамки термодинамического формализма. Поведение открытой системы вдали от равновесия может быть описано либо на основе детерминистических кинетических уравнений (химических, гидродинамических и т. д.), либо путем решения соответствующих стохастических задач. Примеры таких описаний, приведенные в монографии Гландорфа и Пригожина [17], действительно не являются термодинамическими. Наибольший интерес здесь представляют различные типы фазового движения, «фазовые портреты» систем, выражающие их кинетические свойства. Эти проблемы рассматриваются ниже (см. гл. 8 и 9).

Основное положение, формулируемое Пригожиным и его школой, состоит в том, что биологическая система есть диссипативная система, далекая от равновесия. Развитие клеток и организма, а также филогенетическое развитие означает возникновение новых и новых типов «порядка через флуктуации». Так образуются биологические иерархические структуры. В основе биологического развития лежат нелинейные взаимосвязанные химические и диффузионные процессы. Соответственно, они моделируются нелинейными кинетическими уравнениями. Вблизи равновесия физическая система не хранит «памяти» о флуктуациях, вызвавших отклонение от равновесия. Напротив, диссипативная система «помнит» о прошлых неустойчивостях.

Пригожин и Николис [18] пишут, что согласно мнению ряда биологов подходящим языком для описания пространственно-временной биологической организации «является язык теории систем, в частности, идеи, основанные на теории автоматов. Эта концепция, в частности, развивается Розеном (см. [19]). По-видимому, противоположную позицию занимают специалисты по

молекулярной биологии, считая, что знание соответствующего низшего уровня биологической активности (в частности, информации, закодированной в ДНК) позволяет определить свойства на высших уровнях».

В действительности между теорией автоматов и молекулярной биологией нет противоречия. Биологическое значение информации, содержащейся в ДНК, рассмотрено в гл. 9.

Кинетическое моделирование нелинейных систем, анализ условий их устойчивости, получение фазовых портретов встречаются со значительными трудностями, определяемыми необходимостью макроскопического описания. Новый перспективный метод получения кинетических уравнений и их анализа был развит А. Качальским и его сотрудниками [20—22]. Это так называемая «термодинамика сетей» (network thermodynamics). Она представляет собой феноменологическую теорию, построенную на основе глубокой аналогии между электрическими сетями и произвольной динамической системой — механической или термодинамической, в том числе системой химических реакций. Эта теория, исходящая из общих идей, выдвинутых Мейкснером [23], применяет графические представления, графы, выражающие топологию динамического поведения системы. Метод состоит, таким образом, в нахождении изоморфизма между термодинамической системой и топологической, графической структурой. На топологическую структуру накладывается структура аналитическая или алгебраическая, эквивалентная уравнениям термодинамики. Конечным результатом является нахождение расчетного алгоритма, позволяющего получить непосредственно из графа динамические уравнения. Так как граф выражает топологию системы, он дает больше информации, чем эти уравнения сами по себе. Термодинамика сетей позволяет исследовать нелинейные системы с прямыми и обратными связями, состоящие из дискретных элементов. Тем самым реализуется возможность обобщенного рассмотрения «машинной» динамики, динамики автоматического регулирования. Метод явным образом выделяет обратимые и необратимые процессы, протекающие в системе.

Изложение термодинамики сетей выходит за рамки этой книги. Оно приведено в цитированных работах (см. также [24]).

§ 2.6. ЭНТРОПИЯ

Основная физическая проблема термодинамики состоит в ее статистико-механическом обосновании. Глубокое и математически строгое рассмотрение этой проблемы дано в классическом труде Хинчина [25]. Задача статистической механики состоит в получении общих физических (в частности, термодинамических) законов, управляющих материей, «из возможно более общих

свойств механических систем». Вещество трактуется как механическая система, состоящая из очень большого числа частиц, характеризующаяся в первом приближении аддитивностью полной энергии. Особые свойства такой системы определяются с помощью теории вероятностей. Система рассматривается в многомерном фазовом пространстве координат и импульсов всех ее компонент (частиц), и результаты теории вероятностей используются для отыскания асимптотических формул, приближенно выражающих фазовые средние тех или иных функций. Физические величины (в частности, термодинамические функции состояния), характеризующие систему, интерпретируются именно как средние значения, взятые по фазовому пространству или части его, выбранной надлежащим образом.

Логическое обоснование такой интерпретации есть так называемая *эргодическая теорема* ([25], гл. 3). Эргодическая теорема состоит в возможности замены временных средних фазовыми средними. Эта замена необходима, ибо вычисление временных средних требует полного интегрирования уравнений движения всех частиц, что невозможно для статистической многочастичной системы.

Таким образом, эргодическая теорема утверждает равенство временной и фазовой средних физической величины B :

$$\bar{B}^t = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \int_0^t B(t) dt = \bar{B},$$

причем (ср. [26])

$$\bar{B} = \int_{\mathcal{H}=E} \frac{B(q, p) d\gamma}{|\text{grad } \mathcal{H}|} \bigg/ \int_{\mathcal{H}=E} \frac{d\gamma}{|\text{grad } \mathcal{H}|}, \quad (2.99)$$

где \mathcal{H} — гамильтониан. Интегрирование в (2.99) проводится по поверхности постоянной энергии $\mathcal{H} = E$, $d\gamma$ — элемент этой поверхности, q, p — координаты и импульсы. Весовой множитель $|\text{grad } \mathcal{H}|$ есть

$$|\text{grad } \mathcal{H}| = \left[\sum_j \left\{ \left(\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial p_j} \right)^2 + \left(\frac{\partial \mathcal{H}}{\partial q_j} \right)^2 \right\} \right]^{1/2}.$$

Очевидно, что $|\text{grad } \mathcal{H}|$ выражает скорость фазовой точки и $ds/|\text{grad } \mathcal{H}| = dt$ равно времени, в течение которого фазовая точка проходит путь ds . Соответственно $d\gamma = ds dl$, где dl перпендикулярно к ds [26].

Не останавливаясь на доказательстве эргодической теоремы, сошлемся на глубокий анализ проблемы, проведенный Хинчиным. В монографии [25] показано, что истинная причина постоянства во времени термодинамических величин при статистическом равновесии определяется особыми свойствами порождаю-

щих эти величины фазовых функций. Эти функции являются сумматорными, т. е. они представляют собой суммы по всем частицам, причем число слагаемых очень велико. Выясняется, что фазовые функции сами являются почти постоянными, что и создает указанные свойства физических величин, вычисляемых с их помощью (см. также [26, 27]).

Основное положение статистической механики состоит в том, что фазовая средняя физической величины и есть ее наблюдаемое значение. Не вдаваясь в аргументацию этого ответственного утверждения, будем считать, что его истинность доказывается всей совокупностью успехов статистической термодинамики в истолковании свойств реальных многочастичных систем.

Термодинамическая функция, характеризующая систему, не является случайной величиной, но однозначно определяется температурой и внешними параметрами. Сказанное, конечно, относится и к энтропии.

Многочастичная система описывается статистической суммой

$$Z = \sum_i \exp(-E_i/k_B T), \quad (2.100)$$

где E_i — энергия i -го квантового состояния системы частиц. Знание энергетического спектра реальных частиц, образующих систему, позволяет вычислить Z . В свою очередь, термодинамические функции непосредственно выражаются через Z :

$$\text{свободная энергия } F = -k_B T \ln Z, \quad (2.101)$$

$$\text{энергия } E = k_B T^2 \frac{d \ln Z}{dT}, \quad (2.102)$$

$$\text{энтропия } S = k_B \ln Z + k_B T \frac{d \ln Z}{dT}. \quad (2.103)$$

Функция распределения по значениям энергии имеет вид

$$\omega_i = \frac{\exp(-E_i/k_B T)}{\sum_i \exp(-E_i/k_B T)} = \frac{1}{Z} \exp(-E_i/k_B T). \quad (2.104)$$

Очевидно, что эти величины нормированы, а именно

$$\sum_i \omega_i = 1.$$

В соответствии с тем, что термодинамическая величина есть фазовое среднее, мы дадим следующее определение энтропии (см. [28]):

$$S = -k_B \overline{\ln \omega(E_i)} \equiv -k_B \overline{\ln \omega_i}, \quad (2.105)$$

или

$$S = -k_B \sum_i \omega_i \ln \omega_i. \quad (2.106)$$

Подставляя в (2.106) значение $\ln \omega_i$, вычисленное с помощью (2.104), находим

$$S = \frac{1}{T} \sum \omega_i E_i + k_B \ln Z \sum \omega_i \equiv \frac{\bar{E}}{T} + k_B \ln Z,$$

т. е. выражение (2.103).

В основе всех приведенных рассуждений лежит предположение о том, что замкнутую многочастичную систему можно разбить на слабо взаимодействующие и, тем самым, статистически независимые подсистемы, т. е. предположение об аддитивности энергий ([7], § 2). Макроскопическая подсистема с вероятностью $W(E)dE$ имеет энергию, лежащую в интервале от E до $E + dE$. Для нахождения этой вероятности надо умножить $\omega(E)$ на число квантовых состояний с энергиями, лежащими в интервале dE . Если число состояний с энергиями, меньшими и равными E , равно $\Gamma(E)$, то

$$W(E) dE = \frac{d\Gamma(E)}{dE} \omega(E) dE. \quad (2.107)$$

Вероятности $W(E)$ нормированы, т. е.

$$\int W(E) dE = 1. \quad (2.108)$$

Функция $W(E)$ имеет очень резкий максимум при $E = \bar{E}$ (см. [7]). Напишем вместо (2.108)

$$W(\bar{E}) \Delta E = 1 \quad (2.109)$$

или, пользуясь (2.107),

$$\omega(\bar{E}) \Delta \Gamma = 1, \quad (2.110)$$

где $\Delta \Gamma = \frac{d\Gamma(\bar{E})}{dE} \Delta E$ есть число микросостояний, отвечающих интервалу значений энергии ΔE . Так как логарифм $\omega(E)$ линейно зависит от E

$$\ln \omega(\bar{E}) = \overline{\ln \omega(E)},$$

то вместо (2.105) можно написать

$$S = -k_B \ln \omega(\bar{E}). \quad (2.111)$$

Подставляя сюда значение $\omega(\bar{E})$ из (2.110), находим

$$S = k_B \ln \Delta \Gamma, \quad (2.112)$$

т. е. энтропия пропорциональна логарифму статистического веса макроскопического состояния подсистемы или, что то же самое, логарифму числа микросостояний.

Определенная таким образом энтропия действительно возрастает при переходе изолированной многочастичной системы из

неравновесного состояния в равновесное при условии аддитивности полной энергии.

Статистическое толкование второго начала показывает, что возрастание энтропии означает возрастание статистического веса состояний. Энтропия характеризует только усредненное поведение многочастичной системы со слабым взаимодействием. Увеличение энтропии выражает возрастание неупорядоченности системы, так как с ростом беспорядка растет ΔG .

Как известно, увеличение энтропии означает уменьшение количества информации о системе и наоборот. Энтропия есть мера недостатка информации о действительной структуре системы [28]. Эквивалентность количества информации и энтропии, взятой со знаком минус, рассмотрена в гл. 1 книги [1] (см. также [53]).

Приведенные соображения относятся к статистическому обоснованию термодинамики, но не к обоснованию самой статистической механики. Эту проблему решал Больцман в своей H -теореме (см. [6, 29]). Задача состояла в выводе термодинамических соотношений и величин из законов механики. Нужно было показать, что из них следует необратимая эволюция изолированной системы к состоянию с максимумом энтропии. Примечательно, что Больцман связывал термодинамическую эволюцию с эволюцией биологической: «если бы меня спросили, какое имя можно дать этому столетию, я ответил бы, не сомневаясь, что это дарвиново столетие» [30]. Идея эволюции была едва ли не основной для Больцмана, и задача, им поставленная, сводилась к механической интерпретации эволюции. Греческое слово *εντροπία* означает превращение.

Больцман предложил решение этой задачи для разреженных газов, между частицами которых происходят соударения, но нет взаимодействия. Кинетическое уравнение Больцмана, описывающее изменение распределения скоростей, вызываемое попарными соударениями, имеет вид [31]

$$\frac{\partial f_1}{\partial t} = \int d^3v_2 \int d\Omega \sigma(\Omega) |\mathbf{v}_1 - \mathbf{v}_2| (f'_1 f'_2 - f_1 f_2). \quad (2.113)$$

Здесь $\sigma(\Omega)$ — дифференциальное сечение рассеяния для столкновения, в результате которого первоначальные скорости $\mathbf{v}_1, \mathbf{v}_2$ превращаются в $\mathbf{v}'_1, \mathbf{v}'_2, f_1, f_2, f'_1, f'_2$ — функции распределения скоростей, $f_1 = f_1(\mathbf{r}, \mathbf{v}_1, t)$ и т. д. При выводе уравнения (2.113) сделано предположение о том, что скорость молекулы \mathbf{v} не связана с ее положением \mathbf{r} (предположение о молекулярном хаосе). Далее вводится функционал

$$H_B(t) = \int d^3v f(\mathbf{v}, t) \ln f(\mathbf{v}, t) \quad (2.114)$$

и доказывается, что, если функция f удовлетворяет кинетическому уравнению (2.113), то величина H_B может только убывать со временем

$$\dot{H}_B \leq 0. \quad (2.115)$$

Следующий шаг состоит в определении энтропии:

$$S = -k_B H_B. \quad (2.116)$$

Действительно, заменив в выражении (2.106)

$$S = -k_B \sum_i w_i \ln w_i \quad (2.117)$$

вероятность w_i функцией распределения $f(v, t)$ и переходя от суммирования по i к интегрированию по пространству скоростей, получаем

$$S = -k_B \int f \ln f d^3v.$$

Условие равновесия для системы имеет вид

$$f_1' f_2' = f_1 f_2.$$

При этом $S = \text{const}$, $\dot{S} = 0$, и из кинетического уравнения непосредственно получается распределение по скоростям Максвелла — Больцмана. При малых отклонениях от равновесия интегро-дифференциальное уравнение (2.113) линеаризуется и приобретает весьма простую форму

$$\frac{\partial f}{\partial t} = \frac{1}{\tau} (f - f_{\text{eq}}), \quad (2.118)$$

где f_{eq} — равновесное распределение, τ — время релаксации.

Обобщение вывода кинетического уравнения, учитывающее, наряду с попарными, и множественные столкновения частиц, дано Боголюбовым ([32], см. также [6]).

Теория Больцмана подтверждена модельными опытами — величина H_B убывает, флуктуируя во времени, и система достигает равновесия за время, соответствующее сравнительно малому числу соударений молекул [33, 34]. H -теорема приводит к двум парадоксам — к парадоксу обратимости Лошмидта и к парадоксу возвратов Пуанкаре и Цермело.

Парадокс обратимости состоит в том, что все уравнения механики обратимы по отношению ко времени — при изменении знака времени $t \rightarrow -t$ они не изменяются, так как эти уравнения содержат лишь вторые производные по времени. Между тем механическая величина H_B при замене t на $-t$ будет не убывать, а возрастать. В действительности величина H_B не является «механической», H -теорема содержит не сводящееся к механике

предположение о молекулярном хаосе. Оно состоит в том, что если $f(\mathbf{v}, t)$ есть вероятность обнаружения молекулы со скоростью \mathbf{v} в момент t , то вероятность одновременного обнаружения молекулы со скоростью \mathbf{v} и молекулы со скоростью \mathbf{v}' есть $f(\mathbf{v}, t)f(\mathbf{v}', t)$. Столкновения молекул, изменяющие функцию H_B , могут создавать молекулярный хаос, если он не существовал, и разрушать его, если он существовал перед соударением. Тем самым, производная \dot{H}_B может меняться скачком при соударении и она не является непрерывной функцией времени. Если в данный момент хаос существовал, то в следующий момент $\dot{H}_B \leq 0$. Напротив, если хаос возникает в последующий момент, то в данный момент $\dot{H}_B \geq 0$. В состоянии хаоса H_B имеет локальный максимум. Минимальное значение H_B в равновесии, когда функция распределения f является функцией Максвелла — Больцмана, следует из определения (2.114) и не зависит от гипотезы о хаосе [31]. Парадокс обратимости снимается, так как инвариантность относительно обращения времени совместима с H -теоремой, поскольку \dot{H}_B не есть непрерывная функция времени.

Парадокс возвратов основан на теореме Пуанкаре, согласно которой замкнутая и консервативная динамическая система через достаточно большой промежуток времени возвращается в сколь угодно малую окрестность любого заданного начального состояния. Доказательство этой теоремы приведено в работах [31, 35]. Согласно теореме Пуанкаре функция H_B должна периодически зависеть от времени. Между тем $\dot{H}_B \leq 0$. Однако парадокса нет, так как H -теорема не утверждает, что убывание H_B происходит во все моменты времени. Большую часть времени функция H_B замкнутой и консервативной системы флуктуирует около минимального равновесного значения. Большие флуктуации, выходящие за пределы «шума», редки. Согласно теореме Пуанкаре они должны повторяться. Цикл Пуанкаре — интервал времени между двумя большими флуктуациями — по порядку величин равен e^N , где N — число молекул в системе. Если N порядка 10^{23} (моль газа), то $e^N \sim 10^{10^{23}}$. Такой промежуток времени лишен физического смысла [31, 35].

Итак, H -теорема в действительности не приводит к парадоксам. Но проблема механического обоснования статистики ею не разрешается.

Идея решения была предложена лишь в 1948 г. Крыловым [36]. Сжатое, но очень ясное изложение современного состояния проблемы содержится в монографии [37]. Следующему изложению.

Проблема оказывается связанной с вопросом о соответствии между вычисляемыми и измеряемыми механическими величинами. Это соответствие практически нарушается для неустойчивых

решений динамических задач. Решения в любой динамической теории имеют реальный смысл, лишь если они устойчивы. Отсюда следует, что механический процесс может стать необратимым во времени, если этот процесс или обратный ему неустойчив. Сильно неустойчивая система характеризуется значительным откликом на малое воздействие. Тем самым, строгое понятие изолированной системы теряет смысл, и нужно ввести понятие относительно изолированной системы, в которой амплитуда внешних воздействий много меньше амплитуды соответствующих величин внутри системы. Полная энергия системы — величина всегда устойчивая, но понятие траектории отдельной частицы в случае сильной неустойчивости теряет смысл — ее расчетные значения никогда не совпадут с измеряемыми. Причиной нарушения обратимости является неустойчивость системы.

Сильно неустойчивые механические системы оказываются статистическими — они могут описываться лишь в терминах теории вероятности. Так, сосуд с газом, молекулы которого испытывают упругие соударения, есть сильно неустойчивая система. Траектория любой частицы изменяется при каждом соударении. Легко показать, что ее отклонение от первоначальной траектории экспоненциально растет с числом соударений и, следовательно, со временем. Так как это относится к траектории любой частицы, то неустойчиво состояние системы в любой точке фазового пространства. Для этого вовсе не обязательно наличие большого числа независимых степеней свободы. Та же ситуация реализуется, например, для одной частицы в сосуде с одной выпуклой стенкой [55, 56].

Можно показать, что в такой неустойчивой системе со скоростью, определяемой числом соударений в единицу времени, возникает состояние молекулярного хаоса — состояние, в котором система со временем равномерно «перебирает все возможные решения». Само это состояние устойчиво, устойчивы и такие средние характеристики системы, как средний импульс, передаваемый элементу поверхности (т. е. давление), средняя кинетическая энергия (т. е. температура) и т. д.

Таким образом, неустойчивость механических состояний означает устойчивость статистических состояний. И наоборот, устойчивость механических состояний, которые могут рассматриваться как большие флуктуации — отклонения от статистического равновесия, означает неустойчивость статистической системы.

Различие между механической и статистической системами исчезает в макроскопической физике в случае однородного кристалла при температуре абсолютного нуля. Статистический вес в этом случае равен единице ($\Delta\Gamma = 1$) и, согласно (2.112), энтропия равна нулю. Это — третье начало термодинамики, или

теорема Нернста. Кристалл при абсолютном нуле есть абсолютно устойчивая система.

В других случаях механические системы обладают, конечно, ненулевой энтропией. Можно, например, вычислить энтропию цилиндра и поршня в двигателе внутреннего сгорания. Это означает наличие неустойчивости для множества колебательных степеней свободы металла, из которого построен двигатель. Тем не менее, механический процесс — макроскопическое движение поршня в цилиндре — устойчив, так как это движение не связано с внутренними степенями свободы. Соответственно механический процесс не сопровождается изменением энтропии. Это адиабатический процесс. В механике рассматриваются именно устойчивые степени свободы, для которых понятие энтропии лишено содержания (дальнейшие подробности см. в [54—58]).

Пригожин рассмотрел проблемы механического обоснования энтропии на иной основе, вводя кинетическое уравнение, отличающееся от больцманова тем, что оператор соударений в нем имеет нелокальный характер, изменение во времени зависит от предыдущей истории системы. Кроме того, кинетическое уравнение Пригожина содержит член памяти, зависящий от начальных корреляций [15, 59, 60]. Теория Пригожина не встречается с парадоксом обратимости (который, как мы видели, в действительности отсутствует). Обсуждение теории Пригожина выходит за рамки этой книги. Отметим лишь, что связь между теорией Пригожина и изложенными здесь идеями о неустойчивости механических систем пока не исследована.

§ 2.7. ЭНТРОПИЯ И ИНФОРМАЦИЯ В БИОЛОГИИ

Обращаясь к биологии, мы должны оценить смысл и эффективность понятия энтропии для открытой системы. Соответствующий анализ был проведен Шлэглем [38]. Необходимо рассмотреть систему, взаимодействующую со своим окружением, и определить понятие термического контакта. Допустим, что имеется система A , взаимодействующая с системой (окружением) A' . A плюс A' образуют замкнутую систему. Будем пользоваться количеством информации $I = -S/k_B$. Для системы A имеем (ср. (2.106))

$$I = \sum_i w_i \ln w_i, \quad (2.119)$$

Для полной системы имеем

$$\tilde{I} = \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln w_{i\alpha}, \quad (2.120)$$

где $w_{i\alpha}$ — вероятность того, что A находится в состоянии i , а A' — в состоянии α . Если энергия всей системы фиксирована, то возможны лишь некоторые пары индексов i, α .

Информация \tilde{I} минимальна и энтропия S максимальна, если реализуется равномерное распределение по допустимым состояниям, т. е. $w_{i\alpha}^0 = a = \text{const.}$ При этом осуществляется термическое равновесие систем A и A' . Имеем

$$\tilde{I} - \tilde{I}^0 = \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln w_{i\alpha} - \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha}^0 \ln w_{i\alpha}^0. \quad (2.121)$$

Совместную вероятность $w_{i\alpha}$ можно представить в виде

$$w_{i\alpha} = w_i w(i|\alpha), \quad (2.122)$$

где $w(i|\alpha)$ — вероятность того, что A' находится в состоянии α , если A находится в состоянии i . Очевидно, что условные вероятности $w(i|\alpha)$ нормированы, т. е.

$$\sum_{\alpha} w(i|\alpha) = 1.$$

Преобразуя выражение (2.121), имеем

$$w_{i\alpha} \ln w_{i\alpha} - a \ln a \equiv w_{i\alpha} \ln \frac{w_{i\alpha}}{a} + (w_{i\alpha} - a) \ln a,$$

$$\sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} = \sum_i w_i \sum_{\alpha} w(i|\alpha) = \sum_{i=1}^N w_i = Na,$$

$$\begin{aligned} \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln w_{i\alpha} - Na \ln a &= \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln \frac{w_{i\alpha}}{a} + \\ &+ \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln a - Na \ln a = \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln \frac{w_{i\alpha}}{a}, \end{aligned}$$

т. е.

$$\tilde{I} - \tilde{I}^0 = \sum_{i, \alpha} w_{i\alpha} \ln \frac{w_{i\alpha}}{w_{i\alpha}^0}$$

или согласно (2.122)

$$\begin{aligned} \tilde{I} - \tilde{I}^0 &= \sum_{i, \alpha} w_i w(i|\alpha) \ln \frac{w_i w(i|\alpha)}{w_i^0 w^0(i|\alpha)} = \\ &= \sum_i w_i \ln \frac{w_i}{w_i^0} \sum_{\alpha} w(i|\alpha) + \sum_{i, \alpha} w_i w(i|\alpha) \ln \frac{w(i|\alpha)}{w^0(i|\alpha)} \end{aligned}$$

и в силу нормировки $w(i|\alpha)$

$$\tilde{I} - \tilde{I}^0 = \sum_i w_i \ln \frac{w_i}{w_i^0} + \sum_{i, \alpha} w_i w(i|\alpha) \ln \frac{w(i|\alpha)}{w^0(i|\alpha)}. \quad (2.123)$$

Первый член в правой части относится только к системе A и характеризует энтропию, продуцируемую внутри A . Второй член

описывает обмен информацией между A и A' . Очевидно, что благодаря взаимодействию энтропия полной системы не аддитивна. Величина

$$K = \sum_i w_i \ln \frac{w_i}{w_i^0} \geq 0,$$

так как $\ln x > 1 - 1/x$ при любых $x \neq 1$. K дает меру отклонений w_i от w_i^0 . K убывает или остается без изменений, если w_i претерпевает динамическое преобразование, оставляющее инвариантным распределение w_i^0 . Такое преобразование устремляет систему к равновесию.

Условные вероятности $w(i|\alpha)$, вообще говоря, зависят не только от индексов i, α , но и от начальных условий. Если эти условия не фиксированы, то по ним можно провести усреднение и получить однозначные величины $w(i|\alpha)$. Получается приближение, которое может описать термический контакт систем A и A' , характеризуемое однозначной зависимостью $w(i|\alpha)$ от i, α . При этом поведение системы A описывается однородным марковским процессом. Стационарное равновесие в этом процессе инвариантно

$$w_i^0 = \frac{w_{i\alpha}^0}{w(i|\alpha)}.$$

Здесь $w(i|\alpha)$ зависит лишь от i , и $w^0(i|\alpha) = w(i|\alpha)$. Следовательно,

$$\tilde{I} - \tilde{I}^0 = K.$$

Вследствие однозначности $w(i|\alpha)$ при выравнивании w и w^0 информация в A' не меняется, но лишь обменивается с системой A . Внутри A информация убывает, т. е. возрастает энтропия.

Полученные результаты не зависят от предположения о близости к равновесию.

В работе [39] проведено обобщение теории на неравновесные состояния, для которых интенсивные термодинамические величины зависят от времени. Была получена обобщенная форма второго начала

$$\dot{S}(t) - \frac{1}{T(t)} \dot{U}(t) + \frac{1}{T(t)} \sum_j y_j(t) \dot{x}^j(t) \geq 0, \quad (2.124)$$

где U — внутренняя энергия системы

$$U = \sum_i w_i E_i,$$

y_j и x^j — сопряженные термодинамические величины, скажем, давление и объем,

$$x^j = \sum_i w_i x_i^j.$$

В случае $y_i = p$ из (2.124) следует, что

$$\dot{S} \geq \frac{1}{T} (\dot{U} + p\dot{V}). \quad (2.125)$$

Если изменение состояния системы A происходит путем прохождения лишь состояний равновесия, то (2.125) обращается в классическую формулу Клаузиуса

$$dS \geq dQ/T.$$

Величины, стоящие в правой части (2.125), определены и для неравновесных состояний. Определена, тем самым, и энтропия.

Основной постулат термодинамики необратимых процессов состоит в том, что энтропия может быть определена как функция измеримых параметров состояния.

Мейкснер утверждает, однако, что однозначное определение энтропии для неравновесных процессов на основе макроскопического рассмотрения невозможно [40].

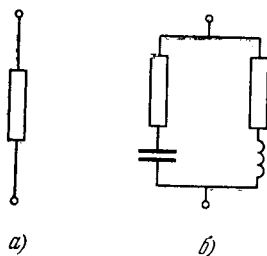
Термодинамическая система определяется как система, действие которой на окружение сводится только к производству или получению работы и тепла [41]. Такое определение применимо и к неравновесию. Термодинамика сетей (см. стр. 79) трактует электрические сети как термодинамические системы. Действи-

тельно, электрическая сеть обменивается с окружением электрической работой и теплом. Будем характеризовать сеть взаимосвязью приложенного напряжения u и вызванного им тока i . Измерения производятся лишь на входных и выходных клеммах, т.е. сеть трактуется как «черный ящик». Допустим, что для данной сети мы наблюдаем выполнение закона Ома

$$u(t) = Ri(t)$$

Рис. 2.4. Контур, эквивалентные, если $L = R^2C$.

для любых изменений напряжения, причем $u(t) = 0$ для $t \leq t_0$. Отсюда мы можем заключить, что электрический контур, сеть, содержит лишь омическое сопротивление R . В действительности, однако, имеется бесконечное множество сетей различной структуры, которые ведут себя на выходных клеммах одинаково, как простое сопротивление. Это относится, в частности, к контуру, изображенному на рис. 2.4, б, при условии, что $L = R^2C$. Ясно, что продукция энтропии в этом контуре иная, чем в контуре на рис. 2.4, а. В простом сопротивлении полученная энергия непрерывно диссипирует, тогда как в модели рис. 2.4, б часть энергии запасается в конденсаторе и в индукционной катушке. Следова-



тельно, продукция энтропии $d_i S$ не определяется однозначно приложенным напряжением, даже если известна связь между током и напряжением. Тем самым не определена и энтропия, так как

$$dS = dQ/T + d_i S.$$

Мейкснер приходит к указанному выше выводу о неоднозначности энтропии. Его содержание сводится к следующему: продукция энтропии, которую мы можем определить разумным образом, зависит от допустимых операций над системой (введение добавочных клемм на конденсаторе и т. д.). «В понятие энтропии входит нечто субъективное... она зависит от информации, которую мы получаем о рассматриваемой системе» [40].

Рассуждения эти, конечно, правильны, но не означают невозможности определения энтропии в необратимом процессе. Они означают необходимость полного знания атомно-молекулярного механизма процесса — раскрытия устройства «черного ящика».

Соображения Мейкснера актуальны для биологической термодинамики. «Черные ящики» в биологии чрезвычайно сложны, и получение полной информации об их структуре и свойствах практически невозможно. Тем самым возникает вопрос о познавательной ценности термодинамических и эквивалентных им теоретико-информационных представлений при рассмотрении основных биологических проблем. Соблюдение элементарных законов термодинамики в изолированной макросистеме, в состав которой входят живые организмы, не подлежит сомнению. Вопрос, однако, состоит в содержательности понятий энтропии и соответственно количества информации применительно к биологическим процессам.

Принято толковать возрастание макроскопической упорядоченности в онтогенезе и филогенезе как возрастание количества информации или убывание энтропии. Когда Шредингер говорил, что организм есть аperiодический кристалл [42], то он имел в виду, что развитие организма подобно росту кристалла в открытой системе и оплачивается возрастанием энтропии в окружающей среде. Это общее положение безусловно правильно. Тем самым, мерой изменения энтропии организма в процессе развития может служить увеличение энтропии внешней среды. Это — единственная мера, так как мы не располагаем точными способами оценки количества информации в клетке или в многоклеточном организме. В ряде работ делались такие оценки. Так, Данков и Каствлер считали, что в организме имеется примерно 500 различных структурно важных молекул. В среднем на одну молекулу приходится 4 бит информации и она может иметь около 12 способов ориентации, что дает еще 3 бит. Организм содержит примерно 10^{28} атомов, каждая молекула состоит из

100 атомов. 90% молекул (подобно воде) информации не несут. Отсюда следует, что человеческий организм содержит примерно $7 \cdot 10^{25}$ бит информации (т. е. $7 \cdot 10^9$ эрг/К или 120 кал/К). Если рассматривать построение организма из атомов, то получим $2 \cdot 10^{28}$ бит или 48 ккал/К. Для зиготы получается величина, в 10^{14} раз меньшая [43]. Равен дает другую оценку, исходя из числа нуклеотидов в ДНК [44].

По оценке Блюменфельда [52] основное количество информации в человеческом организме определяется упорядоченным расположением аминокислотных остатков в 7 кг белков, чему соответствует $3 \cdot 10^{25}$ остатков. Это количество информации равно примерно $1,3 \cdot 10^{26}$ бит. Другие вклады значительно меньше: 150 г ДНК, содержащимся в человеческом организме, отвечает $6 \cdot 10^{23}$ бит, упорядоченному расположению 10^{13} клеток — $4 \cdot 10^{14}$ бит и упорядоченному расположению 10^8 молекул биополимеров в клетке — всего лишь $2,6 \cdot 10^9$ бит.

Важнейшая особенность обсуждаемой ситуации состоит в том, что биологическая система не является статистической. Это — динамическая система, своего рода химическая машина, поведение которой определяется положением и функциональностью взаимозависимых составных частей. Части эти макроскопичны (макромолекулы, надмолекулярные системы, клетки, ткани), соответственно функциональные изменения их относительного расположения не сопровождаются сколько-нибудь заметными изменениями энтропии. Биологическая система есть система именно в том смысле, что ее части взаимосвязаны и их энергия не аддитивна. Тем самым, в системе не выполняются исходные предпосылки статистической механики, и работа биологической машины не может быть описана в терминах энтропии или количества информации.

Конечно, биологические макромолекулы, вода, ионы и т. д. характеризуются определенной энтропией, определенным количеством информации. Биологическая динамическая система содержит статистические части. Статистичность исчезает на уровне организованных макроструктур, начиная с белковых глобул. Паровая машина или двигатель внутреннего сгорания также содержат динамическую и статистическую части. Поведение водяного пара или горячей смеси закономерно рассматривается на основе термодинамики, но как уже говорилось, статистическая механика бесполезна для описания работы цилиндра и поршня, хотя металл, из которого эти детали построены, есть статистическая система.

Как справедливо указывает Блюменфельд, в организме также имеются обе части (первой является прежде всего внутренняя водная среда), но в отличие от теплового двигателя они пространственно и функционально совмещены (см. также [37]).

Эффективность рассмотрения открытой системы, исходящего из функции диссипации, т. е. из скорости продукции энтропии, по-видимому, недостаточна для биологии. Энтропия — принципиально усредненная статистическая величина — дает лишь весьма ограниченную характеристику биологической системы. Это, конечно, никак не противоречит описанным выше возможностям применения неравновесной термодинамики в биологии. Ее применения ограничиваются, однако, некоторыми общими феноменологическими положениями и трактовкой «немашинных» процессов. Применительно к регуляторным явлениям и к процессам развития термодинамика может лишь констатировать наличие неустойчивостей, наличие множественных стационарных состояний в нелинейной области. Функция диссипации утрачивает прямое эвристическое значение вдали от равновесия. Тем более это относится к машинной системе. Встречающиеся в литературе попытки модифицировать линейную термодинамику с целью описания процессов роста и дифференцировки (см., например, [45]) основаны на недоразумении и научного значения не имеют.

Понятие количества информации эквивалентно энтропии и, следовательно, является усредненной характеристикой статистической, а не динамической, системы. Соответственно теоретико-информационные подходы к трактовке биологических процессов, оперирующие лишь количеством информации, измеряемым в битах или в энтропийных единицах, недостаточно эффективны.

Моно утверждает, что основное отличие организма от кристалла состоит лишь в гораздо большем количестве информации в организме [46]. В свете сказанного очевидно, что это утверждение ошибочно. Кристалл — равновесная система, которая может быть и замкнутой, организм — неравновесная, открытая динамическая система, характеристика которой посредством энтропии или количества информации недостаточна.

Процессы создания, накопления, передачи, утраты, перекодировки и рецепции информации имеют фундаментальное значение в биологии, в онтогенезе и филогенезе. Обычная теория информации, оперирующая лишь понятием о ее количестве, не рассматривает природу возникновения информации. Тем более она не рассматривает содержание и ценность информации. Именно эти характеристики, в отличие от количества информации, могут оказаться существенными для трактовки биологического развития. Как бы мы ни определяли эти понятия, ясно, что они уже не имеют прямого отношения к термодинамике.

Аптер подчеркивает важность программирующего, инструктивного значения информации в биологических процессах. «В случае такой динамической системы, как работающая вычислительная машина, язык инструкций или команд является

более подходящим, чем язык теории информации». И далее: «Вместо того, чтобы пытаться применить к описанию развития понятие количества информации в организме в данный момент времени, ... надо искать соответствующий причинный ряд событий. Чтобы понять динамику этих событий, надо искать подходящие термины и модели» [47].

Поставим в связи со сказанным вопрос о том, как можно определить содержание информации и является ли этот термин подходящим для биологии.

Вводя понятие содержания или ценности информации, мы делаем попытку сохранить связь проводимого рассмотрения с теорией информации, с термодинамикой, поскольку применяется термин «информация». А priori неясно, может ли такая попытка увенчаться успехом. Молекула ДНК содержит определенное количество информации, исчисляемое в битах, как и любой текст, но смысл слова «информация» во фразе «ДНК несет информацию о белках» не имеет прямого отношения к количеству информации в битах [47]. Ценность (содержание, смысл) информации может быть определена лишь применительно к воспринимающей информации системе. Тем самым, ценность информации зависит от свойств этой системы, в частности, от уровня рецепции. Теория информации, учитывающая ее ценность, не построена и пока не ясно, может ли она быть построена. Однако целый ряд содержательных идей можно сформулировать (см. §§ 9.7, 9.8, а также [48, 63]). Вместе с тем удается провести строгое рассмотрение ценности информации в специальных условиях. Такой анализ выполнен Бонгардом [49]. Бонгард вводит понятие полезной информации и определяет ее меру, т. е. меру полезности сообщения для рецептора. Рассматривается модельная система, «которая при решении задачи ведет экспериментальную работу (метод проб и ошибок) и таким образом извлекает некоторые сведения, которых она вначале не имела». Вводится мера трудности решения задачи, выражаемая логарифмом среднего числа проб.

Полезная информация по Бонгарду характеризует ценность информации в ситуациях, определяемых наличием проб и ошибок. Эти ситуации свойственны биологическим системам на молекулярном уровне — процессы узнавания и отбора молекулярных структур осуществляются именно посредством проб и ошибок, возникающих вследствие теплового движения. Динамическая узнающая система биосинтеза белка функционирует в статистическом окружении, перерабатывая его в динамически детерминированные структуры. Это позволило Либерману сформулировать гипотезу, трактующую клетку как «молекулярную вычислительную машину» [50]. Другие определения ценности информации, близкие к приведенному, даны в [61, 62].

В общем случае работа динамической биологической системы означает реализацию инструктивного, программирующего значения информации, содержащейся в конечном счете в биологических макромолекулах нуклеиновых кислот и белков. Модельное описание такой системы действительно требует понятия ценности информации как инструктирующего фактора. Такое понятие, вообще говоря, не может быть универсальным. Оно должно выражаться в строгих физико-математических терминах применительно к конкретным биологическим процессам. Первая попытка описать процесс развития (пребиологическую эволюцию макромолекул) с помощью понятия ценности информации принадлежит Эйгену [51]. Эйген вводит понятие «селективной ценности», характеризующей кинетику матричного синтеза биологических макромолекул. Изложение этой теории и некоторых других вопросов, связанных с понятием ценности информации в биологии, дано в гл. 9 (см. также [63]).

Итак, мы приходим к следующим общим выводам.

Живые организмы являются открытыми системами, соответственно они феноменологически описываются неравновесной термодинамикой.

Линейная термодинамика объясняет реализуемое в организмах сопряжение кинетических процессов и существование неравновесных стационарных состояний.

Процессы развития организмов, а также периодические биологические процессы имеют нелинейный характер. Соответственно они не могут рассматриваться на основе линейной термодинамики. Содержание нелинейной термодинамики сводится к нахождению общих условий устойчивости и неустойчивости состояний, далеких от равновесия.

Функция диссипации утрачивает прямое эвристическое значение в нелинейной области. Трактовка нелинейных процессов выходит за рамки термодинамики.

Количество информации эквивалентно энтропии. Соответственно теория информации, оперирующая только понятием об ее количестве, имеет ограниченное эвристическое значение в биологии.

Биологические процессы и, прежде всего, процессы развития имеют динамический, а не статистический характер. Биологические системы являются химическими машинами и должны описываться соответствующим образом. Наряду с количеством информации необходимо учитывать ее ценность.

§ 3.1. МЕМБРАНЫ КЛЕТКИ

Неклеточные формы жизни не существуют на Земле. Вирусы и бактериофаги не могут рассматриваться как самостоятельные функционирующие открытые живые системы — из всех свойств живой клетки в них наличествует лишь способность передавать генетическую программу. Напротив, основные характеристики жизни присущи как одноклеточным организмам, так и подавляющему большинству типов специализированных клеток многоклеточных. Строение и функциональное поведение отдельных клеток, раскрытые цитологией, биохимией и биофизикой, настолько сложны и многообразны, что оказывается возможным сформулировать проблему поведения на клеточном уровне и указать некоторые пути развития новой области биологии — цитоэтологии [1]. Эта область посвящена изучению, прежде всего, направленных движений внутриклеточных компонентов и самих клеток. Сущность множества явлений, сюда относящихся, еще совершенно не познана.

Построение биологии начинается с изучения живой клетки. Переход от клеточного уровня биологической функциональности к организменному должен, по-видимому, потребовать меньшего объема новых идей и представлений, чем переход от молекулярного уровня к клеточному.

Современная биофизика еще никак не решает цитоэтологические проблемы. Напротив, она стремится максимально упростить рассмотрение клетки, пользуясь теоретическими и экспериментальными моделями, к которым применимы физические подходы.

Прежде всего нужно определить, в чем состоят и чем определяются важнейшие физические и физико-химические функции живой клетки. К ним следует отнести химический метаболизм и биосинтез, а также биоэнергетические явления — запасаение энергии и ее преобразования при реализации электро- и механохимических процессов и регулируемого транспорта молекул и ионов.

В клетке синтезируется множество низко- и высокомолекулярных соединений, начиная с малых молекул различных орга-

нических веществ и кончая белками и нуклеиновыми кислотами. Все эти соединения закономерно возникают во времени и пространстве в результате сложной сети биохимических реакций, катализируемых ферментами, которые также синтезируются в клетке. Химические процессы, протекающие в открытой системе клетки, с одной стороны, потребляют свободную энергию, с другой — осуществляют ее запасание и воспроизводство. Клетка запасает химическую энергию (главным образом, в аденозинтрифосфорной кислоте, АТФ) и трансформирует ее в химическую, электрическую, осмотическую и механическую работу. Биосинтетическая и биоэнергетическая функции неразрывно связаны друг с другом; они могут реализоваться и реализуются только в открытой неравновесной системе. Соответственно эти функции сопряжены с транспортом вещества из окружающей среды в клетку и из клетки в окружающую среду.

Ясно, что для выполнения этих функций клетка как целое должна быть отделена от внешней среды полупроницаемой перегородкой. Каждая клетка окружена плазматической мембраной. Возникновение клеточной мембраны, по-видимому, явилось важным этапом в возникновении жизни — *компарментализация*, отделение внутриклеточного пространства от внешнего мира, определяла решительное ускорение добиологической и биологической эволюции (см. гл. 9).

С другой стороны, тонкая регуляция биосинтетических и биоэнергетических процессов в живой клетке осуществляется на основе пространственного разделения функциональных частей клетки, ее органоидов. Внутриклеточные мембраны служат для компарментализации внутреннего содержимого клетки.

Клеточные и внутриклеточные мембраны представляют собой динамические надмолекулярные системы, протяженность которых в двух измерениях значительно превосходит их толщину. В топологическом смысле можно условно трактовать мембрану как двумерную систему. Именно двумерные структуры, т. е. поверхности, разделяют трехмерную конденсированную систему на отдельные отсеки. Двумерная замкнутая, или везикулярная, система (например, полый шар) или трубчатая система топологически эквивалентны таким же системам, произвольным образом деформированным без нарушения сплошности. Трехмерные системы не обладают нужными свойствами, они лишены динамической гибкости.

Хотя толщина мембраны много меньше ее размеров в двух других измерениях, все механизмы, ответственные за биологическую функциональность мембраны, локализованы именно в ее толще. Протяженность биологической мембраны может быть макроскопической, ее толщина равна по порядку величины 100 Å.

Основным источником информации о строении клеток и клеточных мембран (внешних и внутренних) является электронная микроскопия. Мембраны окружают клетку в целом, ядро, митохондрии, лизосомы. В результате инвагинации клеточной мембраны образуется эндоплазматическая сеть, инвагинация мембраны митохондрии создает внутренние кристы (см. гл. 6) [2]. Как указывает Робертсон, клетку можно считать трехфазной системой, состоящей из нуклео-цитоплазматического матрикса, мембранной фазы и внешней фазы [3]. Матрикс ядра сообщается с «неструктурированной» цитоплазмой через ядерную мембрану. Мембранная фаза непрерывно проходит от ядерной мембраны к внешней через эндоплазматическую сеть, внешняя фаза вносится внутрь клетки в результате инвагинации мембраны.

Мембраны не являются пассивными полупроницаемыми оболочками, но принимают прямое и очень важное участие во всех функциях клетки. Наряду с пассивным транспортом существует активный транспорт вещества, идущий в направлении, противоположном градиенту химического или электрохимического потенциала. В мембранах локализованы основные биоэнергетические процессы, протекающие в тесной связи с мембранным транспортом. АТФ, необходимая для биосинтетических и биоэнергетических процессов, синтезируется в специализированных мембранах митохондрий, в тилакоидных мембранах фотосинтетических клеток. Ряд важнейших ферментных систем клеток непосредственно связан с мембранами. Есть основания думать о цитологической связи между рибосомами, на которых синтезируется белок, и эндоплазматическим ретикулумом. Репликация ДНК и хромосом, по-видимому, происходит с участием мембран (см. стр. 43).

К важнейшим энергетическим процессам относятся биоэлектрические процессы, генерация биопотенциалов. Распространение нервного импульса есть мембранный процесс. С этим тесно связана рецепция любых внешних сигналов — механических (слух и осязание), молекулярных (обоняние и вкусовая рецепция), фоторецепция (зрение). Биорецепторы — мембранные системы.

Образование мембран и их взаимодействие являются важнейшими процессами в дифференциации клеток и в морфогенезе.

Из сказанного следует, что биофизика клетки есть прежде всего физика мембран. Изучение мембран — одна из центральных проблем биофизики. Раскрытие структуры и функциональности мембран позволит решить комплекс основных задач биофизики, относящихся к поведению клеток и организма как открытых систем (транспорт вещества), к биоэнергетике, регу-

ляции биосинтетических и структурообразующих процессов, к действию ферментных систем, к механохимии. Мембранная физика и биология имеют фундаментальное значение и для теоретической науки, и для ее приложений в медицине и фармакологии.

Основные вещества, из которых строятся мембраны, — липиды и белки. Структура мембраны сложна, мембрана подвижна, между молекулами, ее образующими, имеется тесная связь и взаимопроникновение. Мембрана существенно отличается от окружающего ее водного раствора, в частности, ее внутренние гидрофобные слои характеризуются малым значением диэлектрической проницаемости. На пути молекул и ионов, поступающих в мембрану из водной среды, находится сложный энергетический профиль, движение ионов в мембране требует преодоления высоких активационных барьеров, ибо эти ионы не растворяются в липидной фазе. Так как коэффициенты распределения катионов и анионов различны, на границах мембраны и раствора электролита возникает электрический двойной слой. Строение мембран рассмотрено в § 3.7.

Сформулируем основные проблемы физики мембран на современной стадии ее развития.

Первая проблема — молекулярное строение мембран. Необходимо установить, каким образом расположены в двух измерениях и в толще мембраны образующие ее вещества. Важнейшие методы, применяемые для этой цели, — электронная микроскопия и рентгенография, однако и другие физические методы, имеющие более косвенный характер, дают здесь ценную информацию. Несмотря на огромное число работ, эту проблему нельзя считать решенной.

Вторая проблема — роль мембраны как системы, обеспечивающей транспорт вещества в клетку и из клетки. Необходимо построить феноменологическую теорию этих явлений, которая, очевидно, должна основываться на физической кинетике, на термодинамике неравновесных процессов. В этой области достигнуты крупные успехи в результате работ Качальского и его сотрудников [4]. Но физическое понимание работы мембран в рамках феноменологической теории совершенно недостаточно. Основная задача состоит в раскрытии молекулярной природы пассивного и активного транспорта и функциональности строения мембраны, определяющей транспорт. Иными словами, проблема сводится к установлению связи структуры и функции. Специфичность этой стандартной постановки вопроса применительно к мембранам состоит в том, что речь идет о весьма сложной динамической структуре и не менее своеобразных и сложных функциях. Подходы к этим задачам, еще далеким от своего решения, основаны на физических и химических методах,

на теоретическом и экспериментальном моделировании. Разработаны способы получения искусственных липидных мембран, имеющих гораздо более простое строение, чем мембраны биологические, и вместе с тем моделирующих их важные свойства. Изучение искусственных мембран в этом смысле очень перспективно.

Третья проблема — физическая сущность возбудимости мембран. Перемещение ионов сквозь мембрану определяет биоэлектрические явления — возникновение биопотенциалов, генерацию и распространение нервного импульса. Экспериментальные и теоретические исследования возбудимых мембран — одна из важнейших областей современной биофизики. Возбудимость мембраны также удастся моделировать на искусственных липидных мембранах.

Четвертая проблема — биоэнергетика мембран. С одной стороны, сюда относится конверсия энергии АТФ в работу, производимую при активном транспорте и генерации биопотенциалов, с другой, — образование АТФ в процессах окислительного фосфорилирования, происходящего, в частности, в биоэнергетических мембранах митохондрий. Биоэнергетические процессы катализируются ферментной системой, локализованной в мембране. Как детальный механизм действия этой системы, так и характер и физический смысл ее локализации представляют первостепенный интерес.

С мембранными биоэнергетическими процессами связана механохимия, в частности, мышечное сокращение. Инициация мышечного сокращения происходит посредством мембранных процессов, мембраны играют важную роль в механической структуре мышцы и других сократительных систем.

Основные фотобиологические процессы — фотосинтез и фоторецепция — разыгрываются в мембранах. Тилакоидные мембраны хлоропластов, мембраны фоторецепторных клеток имеют специфическое строение и функции, еще далеко не познанные.

В последующих главах книги рассматриваются все упомянутые явления.

В заключение этого параграфа приведем таблицу, в которой представлены важнейшие события в биологических мембранах разного типа [5]. В табл. 3.1 указаны явления, связанные со световыми квантами ($h\nu$), изменения электрического потенциала ($\Delta\phi$), возникновение электрического (ионного) тока (i), транспорт электронов (e), синтез АТФ (+) и ее гидролиз (—).

Перечисление функций мембран и соответствующих проблем биофизики никак не исчерпывают содержания физики мембран. Оно будет раскрываться только в ходе дальнейших исследований. Научная значимость физики мембран будет ра-

Таблица 3.1

Различные события в мембранах различного типа

| | | | | | |
|------------|--------|--------------|-----|-----|-------------|
| Фотосинтез | $h\nu$ | $\Delta\psi$ | i | e | АТФ (+ и -) |
| Дыхание | — | $\Delta\psi$ | i | e | АТФ (+ и -) |
| Зрение | $h\nu$ | $\Delta\psi$ | i | — | АТФ (-) |
| Нервы | — | $\Delta\psi$ | i | — | АТФ (-) |
| Мышцы | — | $\Delta\psi$ | i | — | АТФ (-) |

сти по мере проникновения в сущность биологических явлений. Мембранная физика должна сыграть важнейшую роль в понимании дифференциации клеток и морфогенеза.

В качестве введения в цитологию и физиологию мембран укажем книгу Поликара [6].

§ 3.2. ТЕРМОДИНАМИКА ПАССИВНОГО МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА

Феноменологическое рассмотрение мембранного транспорта, основанное на термодинамике необратимых процессов, не касается молекулярной структуры мембраны и молекулярных механизмов транспорта. Термодинамика не столько объясняет физические явления, сколько организует наши знания, устанавливая связь между реальными физическими явлениями и их зависимость от параметров рассматриваемой системы. В данном случае термодинамика выявляет зависимость транспортных потоков от усредненных характеристик растворов и мембраны [4, 7, 8].

Пассивный мембранный транспорт вещества определяется селективной проницаемостью мембраны. Рассмотрим простейшую модель — гомогенную мембрану, соприкасающуюся с двумя растворами (рис. 3.1). Потоки пересекают границы мембраны. Функцию диссипации внутри элемента dx мембраны можно записать в виде

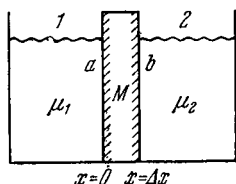


Рис. 3.1. К термодинамическому рассмотрению мембраны.

$$T\sigma = \sum_i J_i \text{grad}(-\mu_i), \quad (3.1)$$

где J_i — векторный поток i -го вещества, μ_i — его химический потенциал. Проинтегрировав это выражение по толщине мембраны, имеем

$$\Psi = \int_0^{\Delta x} \sigma T dx = \sum_i J_i [\mu_i(0) - \mu_i(\Delta x)] \equiv \sum_i J_i \Delta\mu_i, \quad (3.2)$$

где $\Delta\mu_i$ — разность химических потенциалов на левой и правой границах, разделяющих мембрану и растворы. Естественно предположить, что значения μ на поверхности мембраны те же, что и в примыкающих растворах; напротив, $d\mu/dx$ испытывает разрыв непрерывности. Поток вещества через границу пропорционален этой производной

$$J = -L_I \left(\frac{d\mu}{dx} \right)_I = -L_{II} \left(\frac{d\mu}{dx} \right)_{II},$$

где индексы I и II относятся к раствору и к мембране.

Через мембрану идут потоки растворенных веществ и растворителя. Задача неравновесной термодинамики состоит в исследовании сопряжения этих потоков, для которых мембрана обладает различной проницаемостью.

В простейшем случае одного растворенного вещества

$$\Psi = J_s \Delta\mu_s + J_w \Delta\mu_w. \quad (3.3)$$

Индекс s относится к растворенному веществу, w — к растворителю (вода). Если скорости движения растворенного вещества и растворителя в точке x равны v_s и v_w , а их концентрации равны c_s и c_w , то

$$J_s = c_s v_s = \dot{n}_s, \quad J_w = c_w v_w = \dot{n}_w. \quad (3.4)$$

Химический потенциал растворителя можно представить в виде

$$\mu_w = \mu_w^0 + pV_w + \mu_w^c,$$

где p — давление, V_w — парциальный молярный объем растворителя, μ_w^c и μ_w^0 — зависящий и не зависящий от концентрации вклады в μ . Следовательно,

$$\begin{aligned} \Delta\mu_w &= \mu_w^0(0) - \mu_w^0(\Delta x) = \\ &= V_w [p(0) - p(\Delta x)] + \mu_w^c(0) - \mu_w^c(\Delta x) = V_w \Delta p + \Delta\mu_w^c. \end{aligned}$$

Как показывает теория осмотических явлений,

$$\Delta\mu_w^c = -\Delta\pi/c_w = -V_w \Delta\pi,$$

где $\Delta\pi$ — разность осмотических давлений. Следовательно,

$$\Delta\mu_w = V_w (\Delta p - \Delta\pi) \quad (3.5)$$

и аналогично

$$\Delta\mu_s = V_s \Delta p + \Delta\mu_s^c. \quad (3.6)$$

Введем среднюю концентрацию растворенного вещества

$$\bar{c}_s \approx 1/2 (c_s(0) - c_s(\Delta x));$$

тогда

$$\Delta\mu_s^c = \frac{\Delta\pi}{\bar{c}_s}. \quad (3.7)$$

Из уравнений (3.3), (3.5) — (3.7) получаем

$$\Psi = (J_w V_w + J_s V_s) \Delta p + \left(\frac{J_s}{\bar{c}_s} - J_w V_w \right) \Delta\pi, \quad (3.8)$$

или

$$\Psi = J_V \Delta p + J_D \Delta\pi, \quad (3.9)$$

где J_V — полный объемный поток

$$\begin{aligned} J_V &= J_w V_w + J_s V_s \approx \bar{c}_w V_w v_w + \bar{c}_s V_s v_s = \\ &= \varphi_w v_w + \varphi_s v_s \approx \frac{J_w}{\bar{c}_w} + J_s V_s. \end{aligned} \quad (3.10)$$

мы заменили здесь c_w и c_s их средними значениями \bar{c}_w и \bar{c}_s , а

$$\varphi_w = \bar{c}_w V_w \approx 1 \gg \varphi_s = \bar{c}_s V_s.$$

Поток J_D есть обменный поток, т. е. поток растворенного вещества относительно воды:

$$J_D = \frac{J_s}{\bar{c}_s} - J_w V_w \approx \frac{J_s}{\bar{c}_s} - \frac{J_w}{\bar{c}_w} = v_s - v_w, \quad (3.11)$$

где v_s и v_w — скорости переноса растворенного вещества и растворителя через мембрану. При большом избытке растворителя, т. е. при $\bar{c}_w V_w \gg \bar{c}_s V_s$, имеем

$$J_V \approx v_w. \quad (3.12)$$

Таким образом, мы перешли к новым переменным, введя в качестве обобщенных сил не разности химических потенциалов, а разности давлений и осмотических давлений.

В линейной неравновесной термодинамике потоки J_V и J_D сопряжены

$$\left. \begin{aligned} J_V &= L_p \Delta p + L_{pD} \Delta\pi, \\ J_D &= L_{pD} \Delta p + L_D \Delta\pi. \end{aligned} \right\} \quad (3.13)$$

Коэффициент L_p характеризует механическую фильтрационную емкость мембраны, т. е. скорость жидкости, приходящуюся на единицу разности давлений. L_D выражает скорость жидкости на единицу разности осмотических давлений. Наконец,

$$L_{pD} = \frac{(J_V)_{\Delta p=0}}{\Delta\pi}$$

является коэффициентом осмотического потока. Для идеальной полупроницаемой мембраны, не пропускающей растворенное вещество ни при каких значениях Δp и $\Delta \pi$, поток $J_s = 0$. Следовательно,

$$J_V = -J_D,$$

и из (3.13) получаем при любых Δp и $\Delta \pi$

$$(L_p + L_{pD}) \Delta p + (L_{pD} + L_D) \Delta \pi = 0,$$

откуда

$$-L_{pD} = L_p = L_D;$$

при этом $\Delta \pi = \Delta p$. В самом деле, из (3.13) следует, что

$$(\Delta p)_{J_V=0} = -\frac{L_{pD}}{L_p} \Delta \pi.$$

Если мембрана не идеальна и пропускает растворенное вещество, то

$$\kappa \equiv -\frac{L_{pD}}{L_p} < 1.$$

Величина κ является мерой селективности мембраны и варьирует от 0 при полном отсутствии селективности до 1 для идеальной полупроницаемой мембраны. Величину κ можно назвать коэффициентом отражения [9]. Имеем

$$\left(\frac{J_D}{J_V}\right)_{\Delta \pi=0} = \left(\frac{v_s - v_w}{v_w}\right)_{\Delta \pi=0} = \frac{L_{pD}}{L_p} = -\kappa; \quad (3.14)$$

при $\kappa = 0$ $v_s = v_w$, при $\kappa = 1$ $v_s = 0$, при $0 < \kappa < 1$ $v_s < v_w$ и, наконец, при $\kappa < 0$ $v_s > v_w$, т. е. речь идет об отрицательном аномальном осмосе. Перепишем выражение для J_V (см. (3.13)) в виде

$$J_V = L_p (\Delta p - \kappa \Delta \pi). \quad (3.15)$$

Из (3.10), (3.11), (3.13) и (3.14) при $\bar{c}_s V_s \ll 1$ следует, что

$$J_s = (1 - \kappa) J_V + \omega \Delta \pi, \quad (3.16)$$

где

$$\omega = \bar{c}_s \frac{L_p L_D - L_{pD}^2}{L_p} \quad (3.17)$$

есть коэффициент проницаемости для растворенного вещества при нулевом объемном потоке. Очевидно, что

$$\omega = \left(\frac{J_s}{\Delta \pi}\right)_{J_V=0}. \quad (3.18)$$

Для идеальной полупроницаемой мембраны $\omega = 0$, для неселективной мембраны $L_{pD} = 0$, $\omega = \bar{c}_s L_D$. Коэффициенты κ и ω легче определить экспериментально, чем L_D . В стационарном состоянии (см. § 2.3) поток $J_V = 0$. Согласно (3.14)

$$\kappa = \left(\frac{\Delta p}{\Delta \pi} \right)_{J_V=0} \quad (3.19)$$

и ω определяется из (3.18).

В табл. 3.2 приведены значения ω и κ для мембраны эритроцита человека [4]. L_p в этом случае равно $0,92 \cdot 10^{-11} \text{ см}^3/(\text{дин} \cdot \text{с})$.

Физический смысл феноменологических коэффициентов раскрывается с помощью представлений о трении [4, 9].

Сила, движущая воду в точке x мембраны

$$X_w = - \frac{d\mu_w}{dx}, \quad (3.20)$$

в стационарном состоянии уравнивается силой трения воды о мембрану

$$X_{wm} = \beta_{wm} v_w, \quad (3.21)$$

где β_{wm} — коэффициент трения. Следовательно,

$$- \frac{d\mu_w}{dx} = \beta_{wm} v_w. \quad (3.22)$$

Поток воды в точке x

$$J_w = c_w^m v_w, \quad (3.23)$$

где c_w^m — концентрация воды в мембране.

Коэффициент распределения воды между средой и мембраной равен

$$K_w \approx c_w^m V_w \equiv \Phi_w^m. \quad (3.24)$$

Имеем

$$- \frac{d\mu_w}{dx} = \frac{\beta_{wm} c_w^m v_w}{c_w^m} = \frac{J_w \beta_{wm}}{c_w^m} = \frac{J_w V_w \beta_{wm}}{\Phi_w^m}. \quad (3.25)$$

Таблица 3.2

Коэффициенты ω и κ для мембраны эритроцита человека

| Растворенное вещество | $\omega, 10^{-15} \text{ моль} \cdot \text{дин}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ | κ |
|-----------------------|---|----------|
| Мочевина | 17 | 0,62 |
| Этиленгликоль | 8 | 0,63 |
| Малонамид | 0,04 | 0,83 |
| Метанол | 122 | — |

После интегрирования от 0 до Δx получаем при $\Delta \pi = 0$ в левой части

$$\Delta \mu_w = V_w \Delta p;$$

в правой, считая β_{wm} и Φ_w^m постоянными и учитывая (3.10), имеем

$$\int_0^{\Delta x} \frac{J_w V_w \beta_{wm}}{\Phi_w^m} dx = \frac{J_w \beta_{wm}}{\Phi_w^m} \Delta x.$$

Следовательно,

$$J_w = \frac{\Phi_w^m V_w}{\beta_{wm} \Delta x} \Delta p. \quad (3.26)$$

Сравнивая это уравнение с первым уравнением (3.13) при $\Delta \pi = 0$, находим

$$L_p = \frac{\Phi_w^m V_w}{\beta_{wm} \Delta x}. \quad (3.27)$$

Аналогичным образом рассматривается движение растворенного вещества. Движущая сила X_s уравновешивается силой трения, т. е. силой взаимодействия вещества с матриксом мембраны и силой трения о воду

$$X_s = X_{sm} + X_{sw} = v_s (\beta_{sw} + \beta_{sm}) - v_m \beta_{sw}. \quad (3.28)$$

В этом случае для растворителя

$$X_w = X_{wm} + X_{ws} = v_w (\beta_{wm} + \beta_{ws}) - v_s \beta_{ws}. \quad (3.29)$$

Коэффициент трения β_{sw} близок к коэффициенту трения в выражении для коэффициента диффузии

$$\beta_{sw}^0 = RT/D.$$

Согласно (3.3)

$$\left. \begin{aligned} X_w &= -\frac{d\mu_w}{dx} = -\frac{\beta_{ws} J_s}{c_s^m} + \frac{(\beta_{wm} + \beta_{ws}) J_w}{c_w^m}, \\ X_s &= -\frac{d\mu_s}{dx} = \frac{(\beta_{sw} + \beta_{sm}) J_s}{c_s^m} - \frac{\beta_{sw} J_w}{c_w^m}. \end{aligned} \right\} \quad (3.30)$$

Эти выражения для движущих сил эквивалентны обратным линейным соотношениям между силами и потоками

$$\left. \begin{aligned} X_w &= R_{11} J_w + R_{12} J_s, \\ X_s &= R_{21} J_w + R_{22} J_s, \end{aligned} \right\} \quad (3.31)$$

где

$$\left. \begin{aligned} R_{11} &= \frac{\beta_{ws} + \beta_{wm}}{c_w^m}, & R_{21} &= -\frac{\beta_{sw}}{c_w^m} = R_{12} = -\frac{\beta_{ws}}{c_s^m}, \\ R_{22} &= \frac{\beta_{sw} + \beta_{sm}}{c_s^m}. \end{aligned} \right\} (3.32)$$

Расчет показывает, что коэффициенты κ и ω следующим образом выражаются через коэффициенты трения [4]:

$$\omega \approx \frac{K_s}{\Delta x (\beta_{sw} + \beta_{sm})}, \quad \kappa \approx 1 - \frac{\omega V_s}{L_p} = \frac{\omega \beta_{sw} \Delta x}{\varphi_w^m}. \quad (3.33)$$

В табл. 3.3 приведены коэффициенты трения для двух целлюлозных мембран [4].

Таблица 3.3

Коэффициенты трения для целлюлозных мембран

| Мембрана | Растворенное вещество | β_{sw}' | β_{sm}' | β_{wm}' |
|---------------------|-----------------------|---|---|---|
| | | $10^{18} \frac{\text{дин} \cdot \text{с}}{\text{моль} \cdot \text{см}}$ | $10^{16} \frac{\text{дин} \cdot \text{с}}{\text{моль} \cdot \text{см}}$ | $10^{13} \frac{\text{дин} \cdot \text{с}}{\text{моль} \cdot \text{см}}$ |
| Visking для диализа | Мочевина | 0,66 | 0,065 | 8,30 |
| | Глюкоза | 1,89 | 0,23 | 8,52 |
| | Сахароза | 3,25 | 0,65 | 8,55 |
| Dupont «wet gel» | Мочевина | 0,28 | 0,0046 | 1,68 |
| | Глюкоза | 0,78 | 0,030 | 1,71 |
| | Сахароза | 1,12 | 0,066 | 1,72 |

В дальнейшем была показана необходимость дополнения выражений, учитывающих трение, членами, характеризующими вязкое течение, зависящее от давления [10]. Дополненная теория дает лучшее согласие с опытом.

До сих пор мы рассматривали растворы неэлектролитов. Для биологии особенно существен транспорт ионов через мембраны, в частности, ионов Na^+ , K^+ , Ca^{++} и Mg^{++} .

Если имеются заряженные частицы, то в выражение для внутренней энергии входит электрическая энергия

$$dU_{el} = \psi de,$$

где ψ — электрический потенциал мембраны, e — заряд. Соответственно, вместо химического потенциала μ_i нужно рассматривать электрохимический потенциал

$$\bar{\mu}_i = \mu_i + z_i \mathcal{F} \psi, \quad (3.34)$$

где \mathcal{F} — число Фарадея, z_i — валентность заряженной частицы.

Условие равновесия двух растворов, 1 и 2, разделенных мембраной, имеет вид

$$\bar{\mu}_i^{(1)} = \bar{\mu}_i^{(2)}, \quad (3.35)$$

или

$$\Delta\mu_i + z_i \mathcal{F} \Delta\psi = 0, \quad (3.36)$$

где $\Delta\psi$ — разность потенциалов между двумя сторонами мембраны. Имеем

$$\Delta\mu_i = RT \ln \frac{a_i^{(1)}}{a_i^{(2)}} \approx -z_i \mathcal{F} \Delta\psi, \quad (3.37)$$

здесь $a_i^{(1)}$, $a_i^{(2)}$ — активности, заменяемые в случае идеальных растворов концентрациями $c_i^{(1)}$, $c_i^{(2)}$.

В изотермической и изобарической системе в отсутствие химических реакций функция диссипации равна (ср. (3.1))

$$T\sigma = \sum_i J_i \text{grad}(-\bar{\mu}_i); \quad (3.38)$$

вместе с тем из уравнения Гиббса — Дюгема

$$S dT - V dp + \sum_i n_i d\bar{\mu}_i = 0$$

следует

$$\sum_i c_i \text{grad} \bar{\mu}_i = 0. \quad (3.39)$$

Из уравнений (3.38) и (3.39) получаем

$$T\sigma = \sum_{i=1}^{n-1} \left(J_i - \frac{c_i}{c_w} J_w \right) \text{grad}(-\bar{\mu}_i) = \sum_{i=1}^{n-1} J_i^d \text{grad}(-\bar{\mu}_i), \quad (3.40)$$

где J_i^d — диффузионный поток i -х ионов. В простейшем случае одного электролита, дающего ионы двух сортов 1 и 2,

$$J_1^d = J_1 - \frac{c_1}{c_w} J_w, \quad J_2^d = J_2 - \frac{c_2}{c_w} J_w$$

и линейные соотношения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} J_1^d &= -L_{11} \text{grad} \bar{\mu}_1 - L_{12} \text{grad} \bar{\mu}_2, \\ J_2^d &= -L_{12} \text{grad} \bar{\mu}_1 - L_{22} \text{grad} \bar{\mu}_2. \end{aligned} \right\} \quad (3.41)$$

Коэффициент L_{11} характеризует подвижность катиона, L_{22} — аниона, L_{12} — взаимодействие разноименных ионов.

При наличии электрического поля $\mathbf{E} = -\text{grad } \psi$ и при однородной концентрации ($\text{grad } \mu_i = 0$) имеем

$$\left. \begin{aligned} \text{grad } \bar{\mu}_1 &= z_1 \mathcal{F} \text{ grad } \psi = -z_1 \mathcal{F} \mathbf{E}, \\ \text{grad } \bar{\mu}_2 &= z_2 \mathcal{F} \text{ grad } \psi = -z_2 \mathcal{F} \mathbf{E}, \end{aligned} \right\} \quad (3.42)$$

и уравнения (3.41) принимают форму

$$\left. \begin{aligned} J_1^d &= (z_1 L_{11} + z_2 L_{12}) \mathcal{F} \mathbf{E}, \\ J_2^d &= (z_1 L_{12} + z_2 L_{22}) \mathcal{F} \mathbf{E}. \end{aligned} \right\} \quad (3.43)$$

Электрический ток в системе описывается уравнением

$$I = \sum_{i=1}^{n-1} z_i \mathcal{F} J_i^d, \quad (3.44)$$

и в нашем простейшем случае получаем

$$I = (z_1^2 L_{11} + 2z_1 z_2 L_{12} + z_2^2 L_{22}) \mathcal{F}^2 E. \quad (3.45)$$

Следовательно, коэффициент электропроводности системы равен

$$g = (z_1^2 L_{11} + 2z_1 z_2 L_{12} + z_2^2 L_{22}) \mathcal{F}^2. \quad (3.46)$$

С другой стороны,

$$J_1^d = c_1 (v_1 - v_w), \quad J_2^d = c_2 (v_2 - v_w)$$

и, так как

$$c_1 = \nu_1 c_s, \quad c_2 = \nu_2 c_s,$$

где ν_1, ν_2 — стехиометрические коэффициенты, то имеем

$$\begin{aligned} I &= z_1 \mathcal{F} \nu_1 c_s (v_1 - v_w) + z_2 \mathcal{F} \nu_2 c_s (v_2 - v_w) = \\ &= z_1 \mathcal{F} \nu_1 c_s v_1 + z_2 \mathcal{F} \nu_2 c_s v_2 - v_w \mathcal{F} c_s (\nu_1 z_1 + \nu_2 z_2). \end{aligned} \quad (3.47)$$

Последний член в этой формуле равен нулю в силу электронейтральности раствора. Окончательно получаем

$$I = z_1 \mathcal{F} J_1 + z_2 \mathcal{F} J_2, \quad (3.48)$$

где

$$J_1 = \nu_1 c_s v_1, \quad J_2 = \nu_2 c_s v_2.$$

Для нахождения феноменологических коэффициентов мы предполагаем пока одним выражением (3.46). Второе выражение дает число переноса, определяемое соотношением

$$t_i = \left(\frac{z_i \mathcal{F} J_i^d}{I} \right)_{\text{grad } \mu_i = 0}. \quad (3.49)$$

В нашем случае, пользуясь (3.43) и (3.45), находим

$$t_1 = 1 - t_2 = \frac{z_1 \mathcal{F} J_1^d}{I} = \frac{z_1 (z_1 L_{11} + z_2 L_{12})}{z_1^2 L_{11} + 2z_1 z_2 L_{12} + z_2^2 L_{22}}. \quad (3.50)$$

Наконец, третье выражение получается из рассмотрения диффузии электролита в отсутствие тока

$$z_1 J_1^d + z_2 J_2^d = I/\mathcal{F} = 0.$$

Поток нейтральной соли находим с помощью (3.41):

$$J_s^d = \frac{J_1^d}{\nu_1} = \frac{J_2^d}{\nu_2} = \frac{z_1 z_2}{\nu_1 \nu_2} \frac{L_{11} L_{22} - L_{12}^2}{z_1^2 L_{11} + 2z_1 z_2 L_{12} + z_2^2 L_{22}} \text{grad } \mu_s = -D \text{grad } c_s. \quad (3.51)$$

Написав

$$\text{grad } \mu_s = \mu_{ss} \text{grad } c_s,$$

где $\mu_{ss} = d\mu_s/dc_s$, получим из (3.46), (3.50) и выражения (3.51)

$$\left. \begin{aligned} L_{11} &= \frac{\nu_1^2 D}{\mu_{ss}} + g \left(\frac{t_1}{z_1 \mathcal{F}} \right)^2, \\ L_{22} &= \frac{\nu_2^2 D}{\mu_{ss}} + g \left(\frac{t_2}{z_2 \mathcal{F}} \right)^2, \\ L_{12} &= \frac{\nu_1 \nu_2 D}{\mu_{ss}} + \frac{g t_1 t_2}{z_1 z_2 \mathcal{F}^2}. \end{aligned} \right\} \quad (3.52)$$

В случае ионных растворов также можно представить феноменологические коэффициенты через коэффициенты трения [4, 7]. Ситуация здесь усложнена, так как число этих коэффициентов велико — уже для раствора NaCl в воде их шесть. Расчеты упрощаются, если мембрана сильно заряжена, и поэтому концентрация фиксированных противоионов в матриксе мембраны много выше концентрации нейтральной соли. Подробное рассмотрение проблемы применительно к простым и сложным мембранам (последние представляют собой систему параллельных слоев с различными характеристиками) проведено в работах [4, 7]. Здесь мы не будем на нем останавливаться.

Таким образом, неравновесная термодинамика дает физически осмысленное описание пассивного транспорта. Теория определяет кинетические характеристики мембраны (например, κ и ω), которые можно измерить на опыте. Основная идея теории состоит в том, что трактовка проницаемости мембран требует изучения неравновесных потоков вещества. Исходя из

этого, удастся связать динамику транспорта со свойствами мембраны. На опыте установлена линейная зависимость потоков от обобщенных сил (градиентов химических и электрохимических потенциалов) для ряда пассивных искусственных и биологических мембран. Это означает близость к равновесию рассматриваемых сопряженных процессов.

§ 3.3. ТЕРМОДИНАМИКА АКТИВНОГО МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА

Пассивный транспорт свойствен любым мембранам — как биологическим, так и искусственным. Биологические мембраны в этом смысле отличаются лишь гораздо большей селективностью.

Напротив, активный транспорт, происходящий в направлении, противоположном направлению падения химического или электрохимического потенциала, является одной из важнейших особенностей жизненных процессов. Поддержание присущей клетке и организму пространственной гетерогенности в сущности и означает наличие активного транспорта.

Активный транспорт разрешает одно из основных противоречий живой материи — противоречие между сохранением пространственной гетерогенности и метаболизмом — обменом веществом и энергией с окружающей средой.

Активный транспорт реализуется в результате сопряжения диффузионных потоков с химическими реакциями. Иными словами, перенос вещества через мембрану происходит за счет свободной энергии, получаемой в ходе химических реакций. Указанное сопряжение не тривиально. Как уже говорилось (см. стр. 57), коэффициенты сопряжения векторных и скалярных потоков в изотропной системе должны равняться нулю, иначе нарушался бы принцип Кюри (см. стр. 57). Сопряжение диффузии и химических реакций может быть косвенным, возникая в результате поддержания стационарного состояния, что было показано в § 2.4. С другой стороны, реализуется и прямое сопряжение вследствие анизотропии мембраны, в частности, вследствие хиральности образующих мембрану молекул (см. стр. 67).

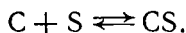
Тем самым, первая задача, возникающая при рассмотрении активного транспорта, состоит в исследовании сопряжения диффузионных потоков и химических реакций.

В § 2.4 уже рассмотрено косвенное сопряжение транспорта вещества и химических процессов, реализуемое в стационарных условиях. В случае изотропной мембраны локальные перекрестные коэффициенты сопряжения равны нулю, но интегрирование с наложением стационарности приводит к отличным от нуля макроскопическим перекрестным коэффициентам.

Рассмотрим прежде всего так называемый транспорт, облегченный химической реакцией (facilitated transport).

В этом случае транспорт ускоряется благодаря тому, что в биологической мембранной системе присутствует переносчик — вещество, взаимодействующее с переносимыми ионами или молекулами. Транспорт этих ионов или молекул происходит в результате образования комплекса с переносчиком и последующего расщепления комплекса [11]. Ни переносчик, ни его комплекс не покидают мембраны.

Обозначим переносчик через C (carrier), переносимое вещество — через S . Внутри мембраны протекает реакция



Проведем анализ транспорта вещества S сквозь мембрану на основе неравновесной термодинамики [12, 13]. В этом случае

$$J_{\text{хим}}^{\text{tot}} = 0, \quad J_C(0) = J_C(\Delta x) = 0, \quad J_{CS}(0) = J_{CS}(\Delta x) = 0. \quad (3.53)$$

Макроскопический поток реакции не проявляется во внешнем растворе, переносчик и его комплекс не покидают мембрану. Имеется лишь поток реагента S сквозь мембрану

$$J_S = J_S(0) = J_S(\Delta x).$$

Условие стационарности принимает вид

$$\nabla J_i = v_i J_{\text{хим}}, \quad (3.54)$$

$$\frac{dJ_C}{dx} = -J_{\text{хим}}, \quad \frac{dJ_{CS}}{dx} = J_{\text{хим}}, \quad \frac{dJ_S}{dx} = -J_{\text{хим}}, \quad (3.55)$$

откуда

$$\frac{d(J_C + J_{CS})}{dx} = 0$$

и, в силу (3.53),

$$J_C = -J_{CS}. \quad (3.56)$$

Это условие соблюдается в любой точке мембраны. Его можно интерпретировать как наличие циркуляции вследствие противоположных потоков C и CS . Еще Дирак доказал наличие циркуляции, сопровождающей направленный поток, в частично замкнутой системе, в которой протекает химическая реакция (см. [14]). Интегрирование (3.54) дает (ср. (2.77))

$$\int_0^{\Delta x} \frac{dJ_i}{dx} dx = J_i(\Delta x) - J_i(0) = v_i \int_0^{\Delta x} v dx = v_i J_{\text{хим}}^{\text{tot}}. \quad (3.57)$$

Пользуясь условиями (3.53), находим с помощью (2.87)

$$J_S = (l'_S + \alpha) \Delta\mu_S + (l'_{S,C} + \alpha) \Delta\mu_C + (l'_{S,CS} - \alpha) \Delta\mu_{CS} + \beta \mathcal{A}^{\Delta x}, \quad (3.58)$$

$$J_C = (l'_{C,S} + \alpha) \Delta\mu_S + (l'_C + \alpha) \Delta\mu_C + (l'_{C,CS} - \alpha) \Delta\mu_{CS} + \beta \mathcal{A}^{\Delta x} = 0, \quad (3.59)$$

$$J_{CS} = (l'_{S,CS} - \alpha) \Delta\mu_S + (l'_{C,CS} - \alpha) \Delta\mu_C + (l'_{CS} + \alpha) \Delta\mu_{CS} - \beta \mathcal{A}^{\Delta x} = 0, \quad (3.60)$$

$$J_{\text{хим}}^{\text{tot}} = \beta (\Delta\mu_S + \Delta\mu_C - \Delta\mu_{CS} + 2\mathcal{A}^{\Delta x}) = 0. \quad (3.61)$$

Предположим для простоты, что все недиагональные коэффициенты диффузии равны нулю:

$$l'_{S,C} = l'_{S,CS} = l'_{C,CS} = 0.$$

Тогда из уравнений (3.58) — (3.61) получается система

$$\left. \begin{aligned} J_S &= (l'_S + \alpha) \Delta\mu_S + \alpha \Delta\mu_C - \alpha \Delta\mu_{CS} + \beta \mathcal{A}^{\Delta x}, \\ 0 &= \alpha \Delta\mu_S + (l'_C + \alpha) \Delta\mu_C - \alpha \Delta\mu_{CS} + \beta \mathcal{A}^{\Delta x}, \\ 0 &= -\alpha \Delta\mu_S - \alpha \Delta\mu_C + (l'_{CS} + \alpha) \Delta\mu_{CS} - \beta \mathcal{A}^{\Delta x}, \\ 0 &= \Delta\mu_S + \Delta\mu_C - \Delta\mu_{CS} + 2\mathcal{A}^{\Delta x} \end{aligned} \right\} \quad (3.62)$$

с решением

$$J_S = \left\{ l'_S + \frac{2\alpha - \beta}{2 + (2\alpha - \beta)(1/l'_C + 1/l'_{CS})} \right\} \Delta\mu_S. \quad (3.63)$$

Величина $2\alpha - \beta \geq 0$, как легко показать. Таким образом, J_S складывается из двух потоков — из потока «просачивания»

$$J_S^{\text{прос}} = l'_S \Delta\mu_S$$

и из «облегченного» потока, определяемого наличием переносчика. Имеем

$$l_S = \frac{D_S}{RT} [S],$$

где $[S]$ — концентрация S в растворе, D_S — коэффициент диффузии S в мембране. Далее, $D_S/\Delta x = P_S$ — коэффициент проницаемости. Следовательно,

$$l'_S = \frac{l_S}{\Delta x} = \frac{P_S}{RT} [S].$$

Вблизи равновесия

$$\Delta\mu_S = \frac{RT}{[S]} \Delta[S]$$

и, значит,

$$J_S^{\text{прое}} = l'_S \Delta \mu_S = P_S \Delta [S]. \quad (3.64)$$

Расчет облегченного потока дает

$$J_S^{\text{обл}} = \frac{((\Delta x/2\lambda) \operatorname{cth}(\Delta x/2\lambda) - 1) \Delta \mu_S}{1/l'_S + (\Delta x/2\lambda) \operatorname{cth}(\Delta x/2\lambda) (1/l'_C + 1/l'_{CS})}. \quad (3.65)$$

Если $\Delta x \gg 2\lambda$ (см. стр. 70), то

$$J_S^{\text{обл}} \approx \frac{\Delta \mu_S}{1/l'_C + 1/l'_{CS}} = \left(\frac{1}{P_C [C]} + \frac{1}{P_{CS} [CS]} \right)^{-1} \frac{\Delta \mu_S}{[S]}. \quad (3.66)$$

Если $P_C = P_{CS} = P$ и $[C] + [CS] = [C^*] = \text{const}$, то [15]

$$J_S^{\text{обл}} \approx \frac{PK_S [C^*]}{(K_S + [S])^2} \Delta [S], \quad (3.67)$$

где $K_S = [C][S]/[CS]$ — константа равновесия.

В обратном случае сравнительно медленной реакции или очень тонкой мембраны $\Delta x/2\lambda \ll 1$. Этот случай более реалистичен для биологических систем. Имеем

$$\frac{\Delta x}{2\lambda} \operatorname{cth} \frac{\Delta x}{2\lambda} - 1 \approx \frac{1}{3} \left(\frac{\Delta x}{2\lambda} \right)^2$$

и

$$2\alpha - \beta \approx \frac{2}{3} (\Delta x/2\lambda)^2 (1/l'_S + 1/l'_C + 1/l'_{CS})^{-1}.$$

Подстановка в (3.63) дает

$$J_S^{\text{обл}} = \frac{(\Delta x/2\lambda)^2 \Delta \mu_S}{3(1/l'_C + 1/l'_S + 1/l'_{CS})},$$

или

$$J_S^{\text{обл}} = \frac{PK_S [C^*]}{(K_S + [S])^2 + (P_C/P_S) K_S [C^*]} \frac{1}{3} \left(\frac{\Delta x}{2\lambda} \right)^2 \Delta [S], \quad (3.68)$$

т. е. найденная величина $J_S^{\text{обл}}$ оказывается значительно меньше величины, определяемой (3.67).

Транспорт, облегченный переносчиком, может моделировать активный транспорт в целом. Однако в приведенном анализе не учитывается анизотропия мембраны. Дадим общее феноменологическое описание активного транспорта ионов с прямым сопряжением [4]. Напишем для этого случая линейные уравнения типа (3.31)

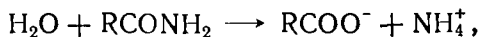
$$\left. \begin{aligned} \Delta \bar{\mu}_i &= \sum_k R_{ik} J_k + R_{i, \text{хим}} J_{\text{хим}}, \\ \mathcal{A}_{\text{хим}} &= \sum_k R_{\text{хим}, k} J_k + R_{\text{хим}} J_{\text{хим}}. \end{aligned} \right\} \quad (3.69)$$

Перекрестные коэффициенты R_{ik} , $R_{хим, k}$ — векторные величины. Получаем из первого уравнения (3.69)

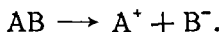
$$J_i = \frac{\Delta \tilde{\mu}_i}{R_{ii}} - \sum_{k \neq i} \frac{R_{ik}}{R_{ii}} J_k - \frac{R_{i, хим}}{R_{ii}} J_{хим}, \quad (3.70)$$

где активный транспорт описывается последним членом.

Воспользуемся для анализа ситуации упрощенной моделью (см. рис. 3.1). Мембрана разделяет области 1 и 2. Левая граница мембраны a проницаема для катионов, правая b — для анионов. Вводя в 1 и 2 подходящие электроды, можно наблюдать электрический ток, величина которого определяется скоростью реакции, протекающей внутри мембраны. Такой реакцией может быть, например, гидролитическая ионизация амида



схематически записываемая как



В стационарном состоянии (i — индекс внутреннего пространства мембраны)

$$\left. \begin{aligned} \dot{n}_{\text{AB}}^i &= -\dot{\xi} + J_{\text{AB}}^a - J_{\text{AB}}^b = 0, \\ \dot{n}_{\text{A}}^i &= \dot{\xi} + J_{\text{A}}^a - J_{\text{A}}^b = 0, \\ \dot{n}_{\text{B}}^i &= \dot{\xi} + J_{\text{B}}^a - J_{\text{B}}^b = 0. \end{aligned} \right\} \quad (3.71)$$

Макроскопическую функцию диссипации можно представить в виде [4]

$$\Psi = J_{\text{хим}} \mathcal{A}^e + (J_{\text{A}}^b - J_{\text{B}}^b)(-\Delta \tilde{\mu}_{\text{B}}) = J_{\text{хим}} \mathcal{A}^e + IE, \quad (3.72)$$

где I — сила тока, E — напряжение, $J_{\text{хим}} = \dot{\xi}$ и

$$\mathcal{A}^e = \mathcal{A}^{(1)} = \mathcal{A}^{(2)},$$

поскольку состав растворов в областях 1 и 2 одинаков и

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{B}} = -\Delta \tilde{\mu}_{\text{A}} = -\mathcal{F}E.$$

Феноменологические соотношения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \mathcal{A}^e &= R_{11} J_{\text{хим}} + R_{12} I, \\ E &= R_{21} J_{\text{хим}} + R_{22} I. \end{aligned} \right\} \quad (3.73)$$

Сила тока равна (ср. стр. 109)

$$I = g_a E_a + \frac{g_a t_1^a}{\mathcal{F}} \frac{\Delta \pi_a}{\bar{c}_S^a} = g_b E_b + \frac{g_b t_1^b}{\mathcal{F}} \frac{\Delta \pi_b}{\bar{c}_S^b}, \quad (3.74)$$

где $S = A^+$ или B^- , $\Delta\pi_a = -\Delta\pi_b = \Delta\pi$, средние концентрации ионов S одинаковы ($\bar{c}_S^a = \bar{c}_S^b = \bar{c}_S$), g_a, g_b — электропроводности, t_1^a, t_1^b — числа переноса. Находим

$$I \left(\frac{1}{g_a} + \frac{1}{g_b} \right) = E + \frac{t_1^a - t_1^b}{\mathcal{F}} \frac{\Delta\pi}{\bar{c}_S}, \quad (3.74a)$$

где $E = E_a + E_b$. С другой стороны, имеем

$$\left. \begin{aligned} J_S^a &= \omega_S^a \Delta\pi + \frac{t_1^a}{\mathcal{F}} I, \\ J_S^b &= -\omega_S^b \Delta\pi + \frac{t_1^b}{\mathcal{F}} I, \end{aligned} \right\} \quad (3.75)$$

где ω_S — подвижности.

Из (3.71) и (3.75) следует

$$J_{\text{хим}} + (\omega_S^a + \omega_S^b) \Delta\pi + \frac{t_1^a - t_1^b}{\mathcal{F}} I = 0.$$

Исключая $\Delta\pi$ из этого выражения и (3.74a), получаем

$$E = \frac{t_1^a - t_1^b}{\bar{c}_S (\omega_S^a + \omega_S^b)} J_{\text{хим}} + \left\{ \frac{1}{g_a} + \frac{1}{g_b} + \frac{(t_1^a - t_1^b)^2}{\bar{c}_S (\omega_S^a + \omega_S^b) \mathcal{F}^2} \right\} I, \quad (3.76)$$

эквивалентное второму уравнению (3.73), в котором сопротивление мембраны есть R_{22} , коэффициент сопряжения R_{21} . С помощью сходных соображений получаем выражения для R_{11} (химическое сопротивление) и $R_{12} = R_{21}$. R_{11} равно

$$R_{11} = \frac{1}{L_{\text{хим}}} + \frac{1}{\bar{c}_{AB} (\omega_{AB}^a + \omega_{AB}^b)} + \frac{1}{\bar{c}_S (\omega_S^a + \omega_S^b)}. \quad (3.77)$$

Выражение (3.76) показывает, что для мембраны, у которой числа переноса на обеих границах одинаковы, нет сопряжения потока вещества с электрохимической реакцией.

§ 3.4. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ НАТРИЕВОГО НАСОСА

Важной особенностью плазматических и возбудимых мембран, в частности, мембран аксонов нервных клеток, является активный транспорт ионов K^+ и Na^+ . В нервных клетках, в эритроцитах и т. д. во внутриклеточном пространстве поддержи-

вадается значительно большая концентрация ионов K^+ и значительно меньшая концентрация ионов Na^+ , чем в окружающей среде. Принято говорить о «натриевом насосе», наличествующем в мембране, о химических процессах, которые, будучи прямо или косвенно сопряжены с диффузией, обеспечивают транспорт ионов щелочных металлов в направлении возрастающей концентрации. Именно термодинамическое сопряжение ионных потоков с макроэргическими химическими реакциями объясняет эту неравновесную ситуацию.

Рассмотрим транспорт вещества S через два мембранных элемента 1 и 2 (рис. 3.2), облегченный неким переносчиком C .

Всего имеется пять диффузионных потоков (J_{S1} , J_{S2} , J_S^i , J_C , J_{CS}) и два химических потока ($J_{ХИМ}^{(1)}$ и $J_{ХИМ}^{(2)}$) [16]. Функция диссипации имеет вид

$$T\sigma = J_{S1} \Delta\mu_{S1} + J_S^i \Delta\mu_S + J_{S2} \Delta\mu_{S2} + J_C \Delta\mu_C + J_{CS} \Delta\mu_{CS} + J_{ХИМ}^{(1)} \mathcal{A}_1 + J_{ХИМ}^{(2)} \mathcal{A}_2. \quad (3.78)$$

Имеем в стационарном состоянии

$$\left. \begin{aligned} J_C + J_{CS} = 0, \quad J_{ХИМ}^{(1)} + J_{ХИМ}^{(2)} = 0, \quad J_C = J_{ХИМ}^{(2)} = -J_{CS} = -J_{ХИМ}^{(1)} \\ J_{S1} = J_S^i + J_{CS} = J_{S2} \equiv J_S^e. \end{aligned} \right\} \quad (3.79)$$

Следовательно,

$$T\sigma = J_S^e (\Delta\mu_{S1} + \Delta\mu_S + \Delta\mu_{S2}) + J_{CS} (\Delta\mu_{CS} - \Delta\mu_C - \Delta\mu_S + \mathcal{A}_1 - \mathcal{A}_2). \quad (3.80)$$

Первый член (3.80) описывает внешний поток, второй член — циркуляцию. Однако, поскольку

$$\mathcal{A}_1 - \mathcal{A}_2 = \mu_{C1} - \mu_{C2} + \mu_{S1} - \mu_{S2} + \mu_{CS2} - \mu_{CS1} = \Delta\mu_C + \Delta\mu_S - \Delta\mu_{CS},$$

второй член обращается в нуль и (3.80) можно переписать в виде

$$T\sigma = J_S^e \Delta\mu_S^e = L (\Delta\mu_S^e)^2. \quad (3.81)$$

Наличие циркуляции непосредственно влияет на коэффициент L . Покажем это. Рассмотрим внутренние потоки.

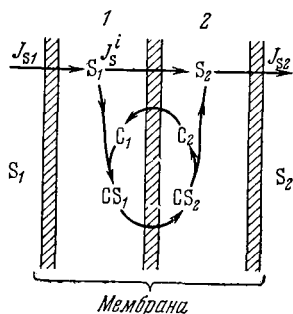
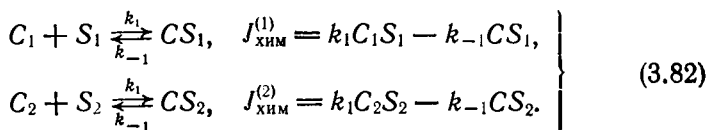


Рис. 3.2. Облегченный транспорт через два мембранных элемента.

Реакции и химические потоки описываются уравнениями



Для транспорта переносчика через внутреннюю мембрану имеем

$$J_C = P_C (C_1 - C_2), \quad J_{CS} = P_{CS} (C S_1 - C S_2), \quad (3.83)$$

где P_C и P_{CS} — коэффициенты проницаемости, измеряемые в с^{-1} . C и CS — концентрации C и CS . Положим $P_C = P_{CS} = P$; тогда из (3.83) и (3.79) следует

$$\left. \begin{aligned} C_1 (k_1 S_1 + k_{-1} + P) - C_2 P &= k_{-1} C^*, \\ -C_1 P + C_2 (k_1 S_2 + k_{-1} + P) &= k_{-1} C^*, \end{aligned} \right\} \quad (3.84)$$

где

$$C^* = C_1 + C S_1 = C_2 + C S_2.$$

Решая эти уравнения, находим C_1 , C_2 , J_C , J_{CS} .

$$J_{CS} = \frac{P K_S C^* (S_1 - S_2)}{(K_S + S_1)(K_S + S_2) + (2P/k_1)[K_S + 1/2(S_1 + S_2)]}, \quad (3.85)$$

где $K_S = k_{-1}/k_1$. При $S_1 \gg K_S$, S_2 имеет место насыщение. Внешний поток равен

$$J_S^e = P_S (S_1 - S_2) + \frac{P K_S C^* (S_1 - S_2)}{(K_S + S_1)(K_S + S_2) + (P/k_1)(2K_S + S_1 + S_2)}. \quad (3.86)$$

Если S_1 и S_2 близки, то

$$\Delta \mu_S \approx RT (S_1 - S_2) / \bar{S}, \quad \bar{S} = 1/2 (S_1 + S_2)$$

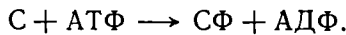
и

$$J_S^e \approx \left\{ P_S + \frac{P K_S C^*}{(K_S + \bar{S})(K_S + \bar{S} + 2P/k_1)} \right\} \frac{\bar{S}}{RT} \frac{RT (S_1 - S_2)}{\bar{S}} = L \Delta \mu_S. \quad (3.87)$$

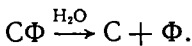
Таким образом, коэффициент L в (3.81) состоит из двух членов, определяемых пассивным транспортом и циркуляцией. Поток течет от большего потенциала к меньшему, и наличие циркуляции влияет лишь на численную величину L , но не на ее знак, $L > 0$.

Рассмотрим «натриевый насос» как проблему облегченного транспорта. Можно считать установленным, что источником свободной энергии, необходимой для создания потока в направлении, противоположном направлению падения концентрации, яв-

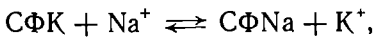
ляется АТФ. Опишем натриевый насос в терминах переносчиков, которые могут фосфорилироваться и дефосфорилироваться в различных областях мембраны



Предположим, что АТФ и АДФ реагируют лишь в том случае, когда они находятся на внутренней стороне мембраны. Фосфорилированный переносчик СФ дефосфорилируется в результате некоего конформационного превращения



Предположим, что переносчик С — белок, имеющий большее химическое сродство к K^+ , а СФ — белок, преимущественно связывающий Na^+ . Натриевый насос работает как система двух циклов, в которой один цикл движет другой (рис. 3.3). Первый цикл имеет ионообменный характер:



второй — химический, т. е. происходят химические реакции фосфорилирования и дефосфорилирования.

В стационарном состоянии

$$\frac{d\text{СK}^i}{dt} = -J_{\text{хим}}^i + J_{\text{СК}} = 0, \quad \frac{d\text{СK}^e}{dt} = J_{\text{хим}}^e - J_{\text{СК}} = 0,$$

т. е.

$$J_{\text{хим}}^e = J_{\text{хим}}^i = J_{\text{СК}} \quad (3.88)$$

Для химического цикла получаем

$$\frac{d\text{СФNa}^i}{dt} = J_{\text{обм}}^i - J_{\text{СФNa}} = 0, \quad \frac{d\text{СФNa}^e}{dt} = J_{\text{СФNa}} - J_{\text{обм}}^e,$$

т. е.

$$J_{\text{обм}}^i = J_{\text{обм}}^e = J_{\text{СФNa}} \quad (3.89)$$

и

$$\begin{aligned} \frac{d\text{СФK}^i}{dt} &= J_{\text{хим}}^i - J_{\text{обм}}^i - J_{\text{СФК}} = 0, \\ \frac{d\text{СФK}^e}{dt} &= J_{\text{СФК}} + J_{\text{обм}}^e - J_{\text{хим}}^e = 0, \end{aligned} \quad (3.90)$$

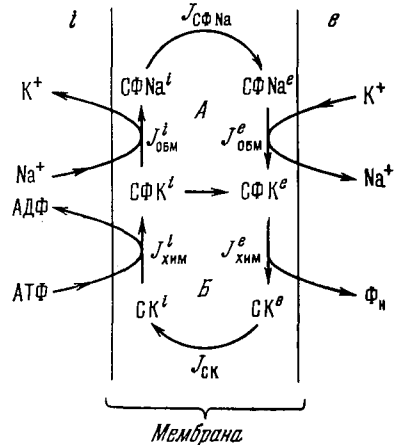


Рис. 3.3. Термодинамическая схема натриевого насоса.

Индексы i и e относятся к внутренней и внешней сторонам мембраны. А — ионообменный цикл, Б — химический цикл.

т. е.

$$J_{\text{СФК}} = J_{\text{хим}}^i - J_{\text{обм}}^i = J_{\text{хим}}^e - J_{\text{обм}}^e. \quad (3.91)$$

Функция диссипации

$$T\sigma = J_{\text{СК}} \Delta\mu_{\text{СК}} + J_{\text{хим}}^i \mathcal{A}_{\text{хим}}^i + J_{\text{хим}}^e \mathcal{A}_{\text{хим}}^e + J_{\text{СФК}} \Delta\mu_{\text{СФК}} + \\ + J_{\text{СФNa}} \Delta\mu_{\text{СФNa}} + J_{\text{обм}}^i \mathcal{A}_{\text{обм}}^i + J_{\text{обм}}^e \mathcal{A}_{\text{обм}}^e, \quad (3.92)$$

где

$$\Delta\mu_{\text{СК}} = \mu_{\text{СК}}^e - \mu_{\text{СК}}^i, \quad \Delta\mu_{\text{СФК}} = \mu_{\text{СФК}}^e - \mu_{\text{СФК}}^i, \\ \Delta\mu_{\text{СФNa}} = \mu_{\text{СФNa}}^i - \mu_{\text{СФNa}}^e, \\ \mathcal{A}_{\text{хим}}^i = \mu_{\text{АТФ}} + \mu_{\text{СК}}^i - \mu_{\text{АДФ}} - \mu_{\text{СФК}}^i, \\ \mathcal{A}_{\text{хим}}^e = \mu_{\text{СФК}}^e + \mu_{\text{H}_2\text{O}} - \mu_{\text{СК}}^e - \mu_{\text{Ф}}, \\ \mathcal{A}_{\text{обм}}^i = \mu_{\text{СФК}}^i + \mu_{\text{Na}}^i - \mu_{\text{СФNa}}^i - \mu_{\text{К}}^i, \\ \mathcal{A}_{\text{обм}}^e = \mu_{\text{СФNa}}^e + \mu_{\text{К}}^e - \mu_{\text{Na}}^e - \mu_{\text{СФК}}^e.$$

Следовательно,

$$T\sigma = J_{\text{хим}} (\mu_{\text{АТФ}} + \mu_{\text{H}_2\text{O}} - \mu_{\text{АДФ}} - \mu_{\text{Ф}}) + \\ + J_{\text{обм}} [(\mu_{\text{Na}}^i - \mu_{\text{Na}}^e) - (\mu_{\text{К}}^i - \mu_{\text{К}}^e)] = J_{\text{хим}} \mathcal{A}_{\text{хим}} + J_{\text{обм}} \mathcal{A}_{\text{обм}}. \quad (3.93)$$

Коэффициент ионного обмена равен

$$\Delta = \frac{K^i [\text{Na}^e]}{K^e [\text{Na}^i]}. \quad (3.94)$$

Феноменологические соотношения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} J_{\text{обм}} &= L_{11} X_{\text{обм}} + L_{12} \mathcal{A}_{\text{хим}}, \\ J_{\text{хим}} &= L_{12} X_{\text{обм}} + L_{22} \mathcal{A}_{\text{хим}}. \end{aligned} \right\} \quad (3.95)$$

Если $L_{12} \neq 0$ и $\mathcal{A}_{\text{хим}} \neq 0$, то, так как при $J_{\text{обм}} = 0$

$$X_{\text{обм}} = -RT \ln \Gamma = -\frac{L_{12}}{L_{11}} \mathcal{A}_{\text{хим}}$$

 Γ отлично от единицы и $L_{11}, L_{22} > 0$. В случае эритроцитов

$$\Gamma = \exp\left(\frac{L_{12}}{L_{11}} \frac{\mathcal{A}_{\text{хим}}}{RT}\right) \approx 220.$$

Таким образом, неравновесие поддерживается сопряжением двух циклов — ионообменного и химического.

Конечно, это всего лишь феноменологическая модель, показывающая, что работа натриевого насоса в принципе возможна

при близости к равновесию, т. е. в условиях линейности. В действительности мы не располагаем надежными критериями близости к равновесию активной мембраны и, тем более, доказательствами именно такого сопряжения ионообменного и химического циклов.

Теория, изложенная в этом и предыдущих параграфах, справедлива для стационарных процессов, протекающих вблизи равновесия. Она позволяет закономерно связать ряд фактов и существенно прояснить картину. В этом смысле линейная термодинамика действительно применима к рассмотрению ряда мембранных процессов. Однако необходимы и более общие подходы.

Дальнейшие подробности, относящиеся к неравновесной термодинамике мембран, содержатся в литературе (см. [4, 7, 8, 10, 13, 16—18]). Применение термодинамики сетей (см. стр. 79) к проблемам мембранного транспорта [17, 19] дает содержательное феноменологическое описание соответствующих процессов.

Для выяснения сущности мембранного транспорта необходимо перейти от термодинамики к молекулярным кинетическим моделям. Такие модели могут строиться на различных уровнях, начиная с моделей, основанных на феноменологических допущениях, и кончая моделями, имеющими надежное молекулярное обоснование. В настоящее время разрабатываются главным образом модели первого типа, так как наши знания о сложной надмолекулярной структуре мембран недостаточны.

§ 3.5. МОДЕЛЬНАЯ ТЕОРИЯ ПАССИВНОГО ИОННОГО ТРАНСПОРТА

Как говорилось выше, внутри клетки концентрация ионов K^+ может быть в 10—20 раз выше, чем во внешней среде. Для ионов Na^+ наблюдаются градиенты того же порядка, но противоположного направления. опыты с мечеными атомами показывают, что ионы цитоплазмы обмениваются с ионами внешней среды, т. е. мембрана проницаема для K^+ и Na^+ . С наличием градиентов концентраций ионов связана наблюдаемая на опыте разность потенциалов между цитоплазмой и окружающей средой порядка 50—70 мВ. На рис. 3.4, заимствованном из книги Катца [20], показаны эти соотношения для мышцы лягушки и аксона кальмара (подробные данные и библиография приведены в [21, 22]).

Опыты по измерению подвижности и активности Na^+ и K^+ в цитоплазме аксона нервной клетки, в аксоплазме, показывают, что почти весь калий движется свободно, а доля связанного натрия составляет лишь 20—30% [23—25]. Отсюда следует, что градиенты концентраций ионов определяются не спецификой цитоплазмы, но особыми свойствами мембраны. Потенциал

покоя, т. е. разность потенциалов для невозбужденной мембраны, характеризует некоторый неравновесный стационарный процесс, что подтверждается прямыми опытами, в которых цитоплазма заменялась искусственной средой. И в этих условиях внутри клетки поддерживалась высокая концентрация калия и низкая — натрия (см. [26, 27]).

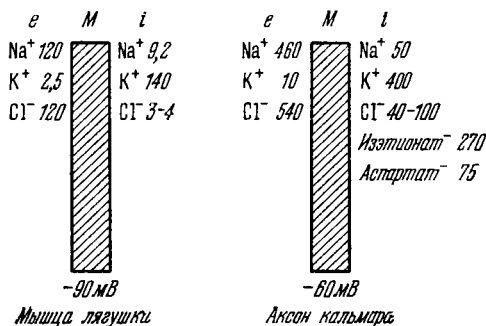


Рис. 3.4. Концентрация ионов (ммоль/л) и разности потенциалов между двумя сторонами клеточной мембраны.

Рассмотрим сначала ионное равновесие между растворами, разделенными мембраной. Равновесие отвечает условию равенства химических потенциалов на внутренней и внешней сторонах мембраны. Для соли АВ (скажем, NaCl) имеем условие

$$\mu_{\text{Na}}^i + \mu_{\text{Cl}}^i = \mu_{\text{Na}}^e + \mu_{\text{Cl}}^e$$

или

$$\Delta\mu_{\text{Na}} \equiv \mu_{\text{Na}}^e - \mu_{\text{Na}}^i = -(\mu_{\text{Cl}}^e - \mu_{\text{Cl}}^i) \equiv -\Delta\mu_{\text{Cl}}$$

Верхний индекс i относится к внутренней стороне мембраны, e — к внешней ее стороне.

Так как $\Delta\mu$ логарифмически зависит от отношения активностей (ср. (3.37)), то

$$\frac{a_{\text{Na}}^i}{a_{\text{Na}}^e} = \frac{a_{\text{Cl}}^e}{a_{\text{Cl}}^i}. \quad (3.96)$$

Это доннановское равновесие. Отношение активностей может быть приближенно заменено отношением концентраций.

Если мембрана одинаково проницаема для обоих ионов и представляет собой пористый фильтр, то при разности концентраций по обе ее стороны возникнет диффузионный потенциал, определяемый большей подвижностью ионов Cl⁻ по сравнению с ионами Na⁺. Поэтому более разведенный раствор станет

электроотрицательным по отношению к более концентрированному. Разность потенциалов равна (ср. (3.37))

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \frac{u_{\text{Na}} - u_{\text{Cl}}}{u_{\text{Na}} + u_{\text{Cl}}} \ln \frac{c_1}{c_2}, \quad (3.97)$$

где u — подвижности ионов, c_1, c_2 — концентрации соли по обе стороны фильтра. Если $c_1/c_2 = 10$, то, подставив $u_{\text{Na}} = 5,2 \frac{\text{МКМ}}{\text{с}} \frac{\text{СМ}}{\text{В}}$, $u_{\text{Cl}} = 7,9 \frac{\text{МКМ}}{\text{с}} \cdot \frac{\text{СМ}}{\text{В}}$, получаем $\Delta\psi = -12$ мВ. Если мембрана проницаема только для одного вида ионов, скажем для Na^+ , то $u_{\text{Cl}} = 0$ и мы получаем уравнение Нернста, совпадающее с (3.37),

$$\Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{c_1}{c_2}, \quad (3.98)$$

при $c_1/c_2 = 10$ находим $\Delta\psi = 60$ мВ.

В случае биологической мембраны мы имеем дело с более сложной системой — необходимо учесть наличие по крайней мере трех сортов ионов: K^+ , Na^+ и Cl^- .

Считая электрическое поле постоянным и однородным по всей толщине мембраны [28], Ходжкин и Катц вывели формулу для потенциала покоя, рассматривая его как диффузионный потенциал [29]. Токи одновалентных ионов через мембрану равны

$$\left. \begin{aligned} I_{\text{K}} &= -RTu_{\text{K}} \frac{dc_{\text{K}}}{dx} - c_{\text{K}}u_{\text{K}}\mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}, \\ I_{\text{Na}} &= -RTu_{\text{Na}} \frac{dc_{\text{Na}}}{dx} - c_{\text{Na}}u_{\text{Na}}\mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}, \\ I_{\text{Cl}} &= RTu_{\text{Cl}} \frac{dc_{\text{Cl}}}{dx} + c_{\text{Cl}}u_{\text{Cl}}\mathcal{F} \frac{d\psi}{dx}. \end{aligned} \right\} \quad (3.99)$$

Для однородного поля и однородной мембраны

$$\frac{d\psi}{dx} = -\frac{\Delta\psi}{\Delta x}, \quad (3.100)$$

где Δx — толщина мембраны. Подстановка (3.100) в (3.99) и интегрирование от c_{K}^e до c_{K}^i дает

$$I_{\text{K}} = \frac{u_{\text{K}}\mathcal{F} \Delta\psi}{\Delta x} \frac{c_{\text{K}}^e - c_{\text{K}}^i \exp(-\mathcal{F} \Delta\psi/RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta\psi/RT)}. \quad (3.101)$$

Коэффициент проницаемости мембраны для ионов K^+ равен

$$P_{\text{K}} = \frac{u_{\text{K}}RT}{\Delta x \mathcal{F}}. \quad (3.102)$$

Из (3.101) и (3.102) следует

$$I_K = \frac{P_K \Delta \psi \mathcal{F}^2}{RT} \frac{c_K^e - c_K^i \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}. \quad (3.103)$$

Общий ток равен сумме трех токов I_K , I_{Na} , I_{Cl} :

$$I = \frac{P_K \Delta \psi \mathcal{F}^2}{RT} \frac{w - y \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}, \quad (3.104)$$

где

$$w = c_K^e + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^e + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^i,$$

$$y = c_K^i + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^i + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^e.$$

При очень малом ионном токе I , т. е. при очень большом сопротивлении мембраны

$$w = y \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT),$$

откуда

$$\Delta \psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{y}{w},$$

или

$$\Delta \psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i + P_{Cl} c_{Cl}^e}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e + P_{Cl} c_{Cl}^i}. \quad (3.105)$$

Мы получили формулу Ходжкина — Катца. Если два коэффициента проницаемости малы по сравнению с третьим, то из (3.105) получается формула Нернста (3.98). Если ионы хлора находятся в равновесии, то

$$\Delta \psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e}. \quad (3.106)$$

Как показали Эйзенман и Конти [30], можно моделировать мембрану клетки ионообменником. При этом диффузионные уравнения приводят к формуле (3.106) без использования приближения постоянного поля. Постоянное поле получается лишь в том случае, когда неподвижные ионообменные центры равномерно распределены вдоль направления движения ионов. Микроскопическая кинетическая теория диффузии ионов через мембрану, основанная на теории абсолютных скоростей реакций [31], также приводит к формуле (3.106).

Следует отметить, что в опытах с варьированием концентрации внешнего раствора после установления стационарного состояния должна была бы изменяться и концентрация внутреннего раствора. Но потоки настолько малы, что концентрации в процессе измерений практически не меняются.

Формула (3.106) хорошо согласуется с опытом лишь при больших c_K^e или малых c_K^i . При уменьшении c_K^e или увеличении c_K^i величина $\Delta\psi$ стремится к некоторому пределу. Произведение $P_K c_K^i$ ведет себя как постоянная величина, и увеличение потенциала покоя приводит к уменьшению коэффициента проницаемости [26].

Проведем теоретическое исследование возможного механизма изменения коэффициентов проницаемости [32]. Будем трактовать мембрану как энергетический барьер для ионов, причем высота барьера различна для разных ионов. Предположим, что по мере насыщения мембраны ионами барьеры возрастают, т. е. имеется своего рода отрицательная кооперативность. Действительно, ионы должны плохо растворяться в липидной мембране и могут локализоваться не в любых ее точках, а лишь вблизи заряженных ионообменных центров. Модели переносчика соответствует перемещение этих центров вместе с ионами. С другой стороны, возможен эстафетный механизм — т. е. наличие неподвижных ионообменных центров и перескоки ионов от одних центров к другим. Вольт-амперные характеристики мембраны при этих механизмах различны [30]. Опыт свидетельствует скорее в пользу эстафетного механизма.

Таким образом, предположим, что определяющим при движении иона является не диффузия ионов в мембране, а переход через барьер на границе мембраны — раствор. При этом возможны два варианта: модель А — имеются ионообменные центры двух сортов, одни связывают преимущественно K^+ , другие Na^+ ; модель Б — все центры одного сорта, но их сродство к ионам K^+ и Na^+ различно.

Рассмотрим сначала модель А. Пусть n_j^0 — число центров в единице объема мембраны, способных связывать ионы сорта j , n_j — число центров, связавших эти ионы, k_j^i — константа скорости перехода иона сорта j из внутриклеточной среды в мембрану, k_{-j}^i — константа скорости обратного процесса, k_j^e и k_{-j}^e — аналогичные константы для внешней поверхности мембраны. В стационарном состоянии потоки ионов, проходящие за единицу времени через внутреннюю и внешнюю поверхности мембраны, равны

$$I_j = k_j^i c_j^i (n_j^0 - n_j) - k_{-j}^i n_j = k_j^e n_j - k_{-j}^e c_j^e (n_j^0 - n_j). \quad (3.107)$$

Исключая из этих уравнений n_j , находим

$$I_j = n_j^0 \frac{k_j^i k_j^e c_j^i - k_{-j}^i k_{-j}^e c_j^e}{k_{-j}^i + k_j^e + k_j^i c_j^i + k_{-j}^e c_j^e}. \quad (3.108)$$

Сравнение этой формулы с (3.103) показывает, что коэффициент проницаемости заменяется в выражении (3.108) некоторой эффективной величиной $P_j^{\text{эфф}}$, зависящей от концентраций

$$P_j^{\text{эфф}} \sim \frac{k_{-j}^i k_{-j}^e n_j^0}{k_{-j}^i + k_j^e + k_j^i c_j^i + k_{-j}^e c_j^e}. \quad (3.109)$$

При малых c_j^i величина $P_j^{\text{эфф}}$ от них не зависит, а при больших убывает как $(c_j^i)^{-1}$, что согласуется с опытом.

Для установления связи $\Delta\psi$ с концентрациями нужно задать формой кривой потенциальной энергии иона в мембране $U(x)$.

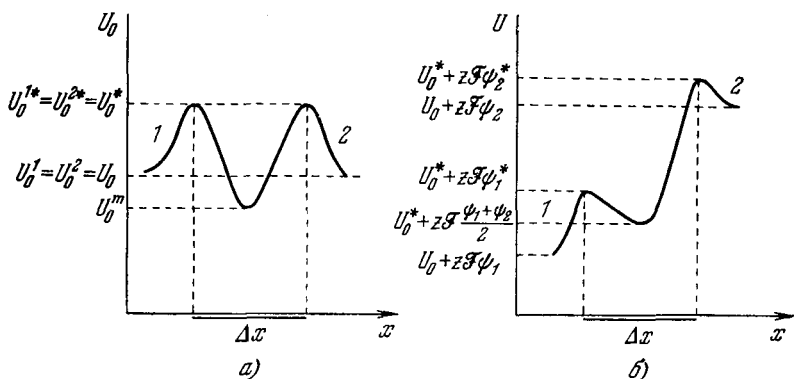


Рис. 3.5. Кривые потенциальной энергии вдоль координаты перемещения ионов.

a — симметричные барьеры $U_0(x)$, соответствующие неэлектростатической части потенциала;

b — полная потенциальная энергия $U(x)$.

Δx — толщина мембраны, 1 — внутренняя, 2 — внешняя среда.

Представим эту кривую в виде двойного барьера, асимметрия которого задается электростатической частью потенциала $\mathcal{F}\psi(x)$, т. е. $U(x) = U_0(x) + \mathcal{F}\psi(x)$. Кривые $U_0(x)$ и $U(x)$ показаны на рис. 3.5. Считаем $\psi(x)$ линейно зависящим от x — в центре мембраны ψ равно полусумме его значений на границах, а значения на границах такие же, как и в примыкающих растворах (приближение постоянного поля [28]).

Выражая константы скорости в соответствии с теорией абсолютных скоростей реакций как

$$k = \Delta x \frac{k_B T}{h} \exp(-G^*/RT) \equiv b \exp(-G^*/RT),$$

где G^* — свободная энергия активации, получаем для ионов K^+ :

$$\begin{aligned} k_K^i &= b \exp \left\{ - \frac{U_K^{i*} - U_K^i + \mathcal{F}(\psi^{i*} - \psi^i)}{RT} \right\}, \\ k_K^{i'} &= b \exp \left\{ - \frac{U_K^{i*} - U_K^m + \mathcal{F}(\psi^{i*} - \psi^m)}{RT} \right\}, \\ k_K^e &= b \exp \left\{ - \frac{U_K^{e*} - U_K^m + \mathcal{F}(\psi^{e*} - \psi^m)}{RT} \right\}, \\ k_K^{e'} &= b \exp \left\{ - \frac{U_K^{e*} - U_K^e + \mathcal{F}(\psi^{e*} - \psi^e)}{RT} \right\}. \end{aligned} \quad (3.110)$$

Индекс m относится к раствору внутри мембраны, звездочка — к вершине барьера. Для ионов в растворах считаем $U_j^i = U_j^e = U_j$. Принимаем в соответствии с заданным ходом $U(x)$, что

$$U_j^{i*} = U_j^{e*} = U_j^* \quad \text{и} \quad \psi^{i*} = \psi^i, \quad \psi^{e*} = \psi^e, \quad \psi^i + \psi^e = 2\psi^m.$$

Обозначив

$$\begin{aligned} b \exp \left(- \frac{U_K^* - U_K}{RT} \right) &\equiv g_K, \quad \exp \left(- \frac{U_K^m - U_K}{RT} \right) \equiv f_K, \\ \exp \left[- \frac{\mathcal{F}(\psi^i - \psi^e)}{2RT} \right] &\equiv r, \end{aligned}$$

получаем из (3.110)

$$k_K^i = k_K^{e'} = g_K, \quad k_K^{i'} = \frac{g_K}{f_K} r, \quad k_K^e = \frac{g_K}{f_K} \frac{1}{r} \quad (3.111)$$

и, подставляя (3.111) в (3.108), находим

$$I_K = \frac{n_K^0 g_K r (c_K^i r^{-2} - c_K^e)}{r + r^{-1} + f_K (c_K^i + c_K^e)}. \quad (3.112)$$

Концентрации здесь безразмерны. Размерность $n_K^0 g_K$ совпадает с размерностью P_K в (3.102). Это — кинетический параметр. Напротив, f_K — термодинамическая величина, выражающая константу равновесия между раствором и обменными центрами мембраны.

Для I_{Na} получаем выражение, аналогичное (3.112). Суммарный поток электронейтрален, т. е. $I_{Na} = -I_K$ (это условие использовано при выводе формулы (3.106)). С помощью приведенных выражений получаем условие электронейтральности в виде

$$\frac{r^{-2} c_K^i - c_K^e}{r + r^{-1} + f_K (c_K^i + c_K^e)} = - \frac{n_{Na}^0 g_{Na}}{n_K^0 g_K} \frac{r^{-2} c_{Na}^i - c_{Na}^e}{r + r^{-1} + f_{Na} (c_{Na}^i + c_{Na}^e)}. \quad (3.113)$$

Так как $c_K^i + c_K^e \approx c_{Na}^i + c_{Na}^e$, то при $f_{Na} = f_K$ из (3.113) получается (3.106), если считать, что $n_{Na}^0 g_{Na} / n_K^0 g_K = P_{Na} / P_K$. Предположив, что $f_{Na} = f_K$ мы, тем самым, считаем, что равновесные свойства мембраны безразличны к замене K^+ на Na^+ и мембрана различает эти ионы только в кинетическом смысле. В этом и состоит основная посылка диффузионных теорий [29, 31].

Формула (3.106) предсказывает логарифмический рост $\Delta\psi$ при $c_K^i \rightarrow \infty$ или $c_K^e \rightarrow 0$. Но из (3.113) следует стремление $\Delta\psi$ к некоторому пределу, наблюдаемое на опыте. Соответствующий анализ формулы (3.113) проведен в работе [32]. Теория позволяет получить уравнение для предельной величины потенциала покоя, т. е. для r , равного r_1 при $c_K^i \rightarrow \infty$ или $c_K^e \rightarrow 0$. Это уравнение имеет вид

$$\frac{n_{Na}^0 g_{Na}}{n_K^0 g_K} f_K r_1 (r_1^2 c_{Na}^e - c_{Na}^i) - r_1^2 - 1 = f_{Na} (c_{Na}^i + c_{Na}^e). \quad (3.114)$$

Величина, стоящая в правой части (3.114), положительна. Следовательно, неизвестный параметр f_K должен удовлетворять условию

$$f_K > \frac{n_K^0 g_K}{n_{Na}^0 g_{Na}} \frac{r_1^2 + 1}{r_1 (r_1^2 c_{Na}^e - c_{Na}^i)}.$$

Для оценки $n_K^0 g_K / n_{Na}^0 g_{Na}$ примем P_K / P_{Na} порядка 10—100. Предельному значению $\Delta\psi \approx 60$ мВ отвечает $r_1 \approx 3,3$. Концентрация Na^+ в морской воде, близкая к физиологической, равна 460 ммоль/л, что соответствует безразмерной концентрации $c_{Na}^e \approx 8 \cdot 10^{-3}$. Приняв $c_{Na}^e / c_{Na}^i \sim 10$, получаем

$$f_K > 4 \cdot 10^2 - 4 \cdot 10^3.$$

По имеющимся оценкам концентрация калия в мембране меньше, чем в окружающем растворе [33]. Приведенная выше оценка f_K этому не противоречит, так как предположительно ионы локализованы не равномерно во всей толще мембраны, а лишь вблизи ионообменных центров, число которых ограничено. Для осуществления эстафетного механизма переноса центры должны находиться достаточно близко друг от друга и вблизи них концентрация ионов может быть существенно большей, чем в растворе.

Таким образом, кинетическая модель объясняет наблюдаемую на опыте зависимость потенциала покоя от концентрации.

Анализ модели Б, также проведенный в [32], показывает, что эта модель приводит к формуле (3.106), если эффективные про-

ницаемости для K^+ и Na^+ однотипно зависят от концентраций. В модели Б эффективная проницаемость определяется не только концентрациями ионов данного сорта, но и концентрациями конкурирующих ионов. Таким образом, модель Б не объясняет наблюдаемого на опыте эффекта насыщения для потенциала покоя.

Необходимо строго рассмотреть эстафетную диффузию ионов в мембранах. В литературе по этому поводу имеется ряд неточностей.

Если концентрация центров n , между которыми перескакивают ионы, велика по сравнению с концентрацией ионов c , то мембранный ток выражается как

$$I = uc \frac{d\bar{\mu}}{dx}. \quad (3.115)$$

Если указанное условие не соблюдается, соотношение более сложно. Эйджин [34, 35] заменяет в этом случае формулу для идеального газа

$$\bar{\mu} = \mu^0 + RT \ln c + \mathcal{F} \psi$$

выражением для решеточного газа

$$\bar{\mu} = \mu^0 + RT \ln \frac{c}{n-c} + \mathcal{F} \psi. \quad (3.116)$$

Подстановка (3.116) в (3.115) дает измененное уравнение Нернста и приводит к вольт-амперной характеристике с отрицательным наклоном. В действительности область с таким наклоном далека от равновесной. Подстановка (3.116) в (3.115) вообще незаконна, так как уравнение (3.115) справедливо лишь при условии $n \gg c$. То же противоречие содержится в работе [36].

Более строгий анализ проведен в работе [37]. Если диффузионные перескоки происходят между ограниченным числом центров, то вместо (3.115) нужно пользоваться уравнением

$$I = u \frac{c(n-c)}{n} \frac{d\bar{\mu}}{dx}. \quad (3.117)$$

Докажем это. Пусть концентрации ионов в соседних точках c_1 и c_2 , концентрации центров n_1 и n_2 , константы скорости для перескоков через энергетический барьер k_1 и k_2 , толщина барьера λ . Тогда поток через барьер будет равен

$$-j = \lambda k_1 c_1 (n_2 - c_2) - \lambda k_2 c_2 (n_1 - c_1). \quad (3.118)$$

В однородной мембране $n_1 = n_2 \equiv n = \text{const}$. При малом λ

$$c_2 \approx c_1 + \lambda dc_1/dx$$

и

$$k_2 = k_1 \exp[(\psi_2 - \psi_1) \mathcal{F}/RT] \approx k_1 \left(1 + \frac{\lambda \mathcal{F}}{RT} \frac{d\psi_1}{dx} \right).$$

Подставляя эти значения в (3.118), получаем с точностью до λ^2

$$j \approx \lambda^2 k c (n - c) \left[\frac{\mathcal{F}}{RT} \frac{d\psi}{dx} + \frac{n}{c(n-c)} \frac{dc}{dx} \right],$$

где $c = c_1$, $k = k_1$, $\psi = \psi_1$.

Так как $\lambda^2 k n = D$ (D — коэффициент диффузии, см. [30]), имеем окончательно

$$j = \frac{D}{nRT} c (n - c) \frac{d}{dx} \left[\mathcal{F} \psi + RT \ln \frac{c}{n-c} \right]. \quad (3.119)$$

Выражение в квадратных скобках есть электрохимический потенциал решеточного газа (ср. (3.116)). Электрический ток в точке x равен

$$I = \mathcal{F} j = \frac{\mathcal{F} D}{RT} \frac{c(n-c)}{n} \frac{d\bar{\mu}}{dx} \quad (3.120)$$

и, так как подвижность иона $u = \mathcal{F} D / RT$, мы получим (3.117). Если $n \gg c$, это выражение сводится к (3.115). В условиях постоянного поля (3.120) переписется в виде

$$I = uRT \frac{dc}{dx} + u\mathcal{F} c \frac{n-c}{n} \frac{\Delta\psi}{\Delta x}. \quad (3.121)$$

Для получения отрицательного сопротивления и линейной вольт-амперной характеристики необходимы добавочные предположения о параметрах u и n .

Расчеты, проведенные в этом разделе, основаны на весьма общих соображениях. Они показывают, что простые молекулярно-кинетические модели позволяют объяснить наблюдаемые явления. Сравнение с опытом дает возможность выбора модели.

Как будет показано в следующем параграфе, в биологических мембранах имеются реальные специфические каналы для ионов, в частности для ионов Na^+ и K^+ .

§ 3.6. МОДЕЛЬНАЯ ТЕОРИЯ АКТИВНОГО ИОННОГО ТРАНСПОРТА

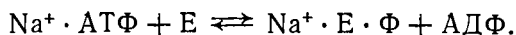
Поддержание постоянной разности электрохимических потенциалов между цитоплазмой и внешней средой требует активного транспорта ионов в направлении, противоположном направлению падения потенциала. Неравновесная термодинамика такого процесса изложена ранее.

Активный поток Na^+ из клетки зависит от внутриклеточной концентрации натрия c_{Na}^i [38, 39] и внеклеточной концентрации калия c_{K}^e [39, 40]. Кривые $J_{\text{Na}}(c_{\text{Na}}^i)$ и $J_{\text{K}}(c_{\text{K}}^e)$ имеют S-образную форму. Эти факты, а также ряд других требуют объяснения.

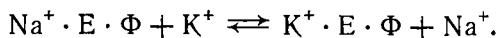
Как уже сказано, источником свободной энергии для поддержания активного транспорта является АТФ (см. стр. 119). АТФ усиливает активный транспорт, будучи введена внутрь клетки,

но не влияет на него, находясь во внешней среде [41]. Из клеточных мембран удалось выделить K, Na-активируемую АТФ-азу [42]. Этот фермент расщепляет АТФ только в присутствии K^+ и Na^+ . Действие АТФ в мембране непосредственно связано с активным транспортом — глюкозид оубаин ингибирует АТФ-азу при той же концентрации, при которой он прекращает работу натриевого насоса. Гидролиз АТФ *in vitro* с помощью этой АТФ-азы происходит в две стадии [43]. Вначале выделяется АДФ, а неорганический фосфат остается связанным с ферментом. Эта стадия активируется ионами Na^+ . Второй этап требует присутствия K^+ и состоит в отщеплении фосфата от фермента. Сходная, но уже пространственная асимметрия свойственна насосу — на внутренней поверхности мембраны его активность зависит от c_{Na}^i , на внешней — от c_K^e [44]. При расщеплении АТФ на мембранах наблюдается переход меченого фосфора из АТФ в фосфопротенды мембраны [45, 46]. Кинетика действия АТФ-азы *in vitro* характеризуется S-образной зависимостью скорости реакции от концентраций Na^+ , K^+ и АТФ [47]. Гидролиз одной молекулы АТФ в мембране сопровождается выходом из клетки двух — трех ионов Na^+ [48].

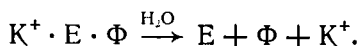
Для согласования всех этих фактов и их объяснения предлагались различные модели натриевого насоса. В модели Опита и Чарнока [49], основанной на структурной модели мембраны, предложенной Даниэлли и Давсоном (см. далее, стр. 137), белок мембраны, расположенный на ее внутренней поверхности, приобретает АТФ-азную активность под действием Na^+ и фосфорилируется при расщеплении АТФ:



В результате фосфорилирования происходит резкое конформационное превращение белка, поворот макромолекулы, выносящий занятые Na^+ ионообменные центры к внешней поверхности мембраны, причем Na^+ заменяется на K^+ :



Комплекс фосфопротенида с K^+ гидролизуется, отщепляется фосфат и молекула белка возвращается в исходное состояние:

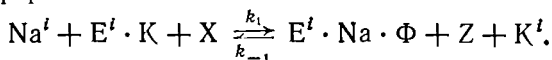


Обратный конформационный переход, обратный поворот молекулы вносит ионы внутрь мембраны. Оубаин ингибирует именно последнюю стадию. Таким образом, в этой модели АТФ-аза рассматривается как конформационный переносчик. Модель является качественной и не подкреплена расчетами. Ее достоинство состоит в том, что она учитывает сочетание ферментативной

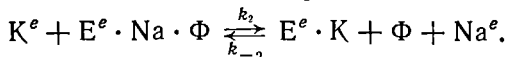
реакции с ионообменной и кооперативный характер процесса. Но предложенный механизм представляется искусственным, так как он требует перемещения больших участков макромолекулы от одной поверхности мембраны к другой. Экспериментальные подтверждения такого перемещения отсутствуют. В работе [50] количественно проанализирована модель с участием переносчика, который может находиться в нескольких формах. Теория эта исходит из частных предположений и вводит в расчет 19 независимых параметров. Поэтому ее нельзя проверить экспериментально. В работе [51] рассмотрена модель с двумя переносчиками, в работе [52] — модель функционирования активного центра K , Na -активируемой АТФ-азы. Были получены некоторые сведения об этом ферменте. По-видимому, он представляет собой тетрамерный белок с молекулярным весом около 250 000 и содержит два типа субъединиц α и β (молекулярные веса 84 000 и 57 000) по две каждого сорта. Лишь субъединицы α присоединяют фосфорную метку из меченой АТФ [53, 54]. Исходя из этого, Штейн и соавторы предложили конкретную модель активного транспорта, определяемого конформационными превращениями АТФ-азы [55]. Переход из одной конформации в другую вызывает изменения сродства к катионам соответствующих активных центров. В одной конформации α -субъединица связывает Na^+ и β -субъединица связывает K^+ , в другой — наоборот. Конформационное превращение сопровождается гидролизом АТФ, отщепленный фосфат первоначально присоединяется к α -субъединице. В работе [52] аргументируется участие трех аминокислотных остатков в этом процессе: Глу, Гис и Сер.

Рассмотрим подробнее кинетическую модель, предложенную в работе [56]. Предполагается, что имеются два типа активных центров, способных присоединять и обменивать Na^+ и K^+ . Первый тип центров неспецифичен, эти центры участвуют в пассивном транспорте (см. § 3.5). Центры второго типа принадлежат АТФ-азе и обеспечивают активный транспорт. Перемещение ионов происходит по эстафетному механизму.

Фермент катализирует гидролиз АТФ. Обозначим АТФ буквой X , АДФ (или АМФ) — Z и фосфат — Φ . Связь ионообменной реакции с ферментативной запишем в виде

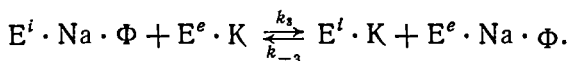


Индекс i по-прежнему относится к внутренней стороне мембраны, e — к внешней. На внешней стороне



Комплекс $Na \cdot \Phi$, распадающийся на внешней стороне мембраны, перемещается к ней от места своего образования по градиенту

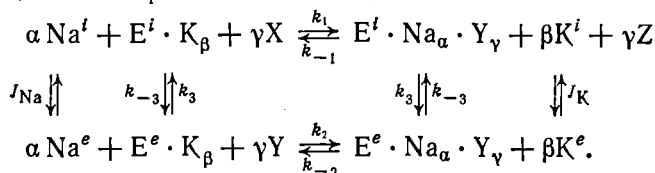
концентрации. Если сродство обменных центров к ионам велико и свободные центры отсутствуют, то перемещение комплекса $\text{Na} \cdot \Phi$ и обмен на K можно представить в виде обменной реакции



Таким образом, обобщенная сила, перемещающая ионы, — разность химических потенциалов продукта Z , которая поддерживается ферментативной реакцией.

Предположим далее, что обмен на ферментных центрах и ферментативная реакция происходят кооперативно. Иными словами, центры взаимодействуют друг с другом таким образом, что обмен лиганда происходит практически одновременно на нескольких центрах. Такой кооперативный обмен наблюдается, например, в цеолитах [57], где он определяется изменением структуры решетки вследствие обмена ионов. Соответственно введем в уравнения реакций стехиометрические коэффициенты, не равные 1.

Общая схема реакций имеет вид



Здесь J_{Na^i} и J_{K^i} — пассивные потоки, α , β , γ — стехиометрические коэффициенты. Сопряжение направленных потоков изображено на рис. 3.6. Кинетические уравнения написанных реакций имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \frac{1}{S} \dot{c}_X &= -k_1 (c_{\text{Na}^i}^i)^\alpha (c_X)^{\gamma} n_{\text{K}^i}^i + k_{-1} (c_{\text{K}^i}^i)^\beta (c_Z)^{\gamma} n_{\text{Na}^i}^i, \\ \frac{1}{S} \dot{c}_{\text{Na}^i}^i &= -k_1 (c_{\text{Na}^i}^i)^\alpha (c_X)^{\gamma} n_{\text{K}^i}^i + k_{-1} (c_{\text{K}^i}^i)^\beta (c_Z)^{\gamma} n_{\text{Na}^i}^i + J_{\text{Na}^i}, \\ \frac{1}{S} \dot{c}_{\text{Na}^e}^e &= k_2 (c_{\text{K}^e}^e)^\beta n_{\text{Na}^e}^e - k_{-2} (c_{\text{Na}^e}^e)^\alpha (c_Y)^{\gamma} n_{\text{K}^e}^e - J_{\text{Na}^e}, \\ \frac{1}{S} \dot{c}_{\text{K}^i}^i &= k_1 (c_{\text{Na}^i}^i)^\alpha (c_X)^{\gamma} n_{\text{K}^i}^i - k_{-1} (c_{\text{K}^i}^i)^\beta (c_Z)^{\gamma} n_{\text{Na}^i}^i + J_{\text{K}^i}, \\ \dot{n}_{\text{K}^i}^i &= -k_1 (c_{\text{Na}^i}^i)^\alpha (c_X)^{\gamma} n_{\text{K}^i}^i + k_{-1} (c_{\text{K}^i}^i)^\beta (c_Z)^{\gamma} n_{\text{Na}^i}^i + \\ &\quad + S k_3 n_{\text{Na}^i}^i n_{\text{Na}^e}^e + S k_{-3} n_{\text{K}^i}^i n_{\text{Na}^e}^e, \end{aligned} \right\} \quad (3.122)$$

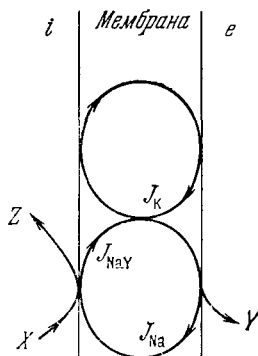


Рис. 3.6. Сопряжение ионных потоков в мембране с химической реакцией (Y — фосфат).

где c_j^i , c_j^e — безразмерные концентрации, т. е. молярные концентрации иона сорта j внутри и вне клетки, отнесенные к молярным концентрациям воды в соответствующих объемах $c_{\text{H}_2\text{O}}^i$, $c_{\text{H}_2\text{O}}^e$; n_j^i , n_j^e — числа занятых ионами обменных мест фермента на единицу площади внутренней и внешней поверхности мембраны, S — площадь мембраны. Одновременно

$$n_K^i + n_{\text{Na}}^i = n^i, \quad n_K^e + n_{\text{Na}}^e = n^e \quad (3.123)$$

и

$$\left. \begin{aligned} Sn_K^i + Sn_K^e + c_{\text{H}_2\text{O}}^i c_K^i + c_{\text{H}_2\text{O}}^e c_K^e &= n_K, \\ Sn_{\text{Na}}^i + Sn_{\text{Na}}^e + c_{\text{H}_2\text{O}}^i c_{\text{Na}}^i + c_{\text{H}_2\text{O}}^e c_{\text{Na}}^e &= n_{\text{Na}}. \end{aligned} \right\} \quad (3.124)$$

Соотношения (3.123) и (3.124) выражают сохранение числа обменных центров на поверхностях мембраны и полного числа ионов каждого сорта.

В стационарном состоянии правые части (3.122) равны нулю. В клетке расходуется только вещество X (АТФ).

Из двух первых уравнений (3.122) следует, что активный выход Na^+ из клетки определяется скоростью реакции \dot{c}_X и в стационарном состоянии компенсируется пассивным потоком J_{Na} .

Считая ферментативные реакции необратимыми, положим $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = 0$. В этом приближении активный поток Na^+ из клетки равен

$$J = k_1 (c_{\text{Na}}^i)^\alpha (c_X)^\gamma n_K^i = k_2 (c_K^e)^\beta n_{\text{Na}}^e = S k_3 n_{\text{Na}}^i n_K^e. \quad (3.125)$$

Считая концентрации ионов Na^+ и K^+ в растворах независимыми друг от друга, получаем отсюда

$$c_{\text{Na}}^i = \left[\frac{k_3 S}{k_1 (c_X)^\gamma (k_3 n^i + k_2 (c_K^e)^\beta)} \frac{J (J_0 - J)}{J_\infty - J} \right]^{1/\alpha}, \quad (3.126)$$

т. е. c_{Na}^i выражена как функция потока J при заданных c_K^e , c_X . Здесь

$$J_0 = k_2 n^e (c_K^e)^\beta, \quad J_\infty = S k_3 k_2 n^i n^e (c_K^e)^\beta / (S k_3 n^i + k_2 (c_K^e)^\beta).$$

Анализ (3.126) показывает, что кривая $c_{\text{Na}}^i(J)$ имеет один перегиб в интервале $0 < J < J_\infty$, что согласуется с опытом [56]. То же относится и к $c_K^e(J)$. Если $\alpha = \beta = 1$, т. е. отсутствует кооперативное взаимодействие между активными центрами фермента, то перегиба нет. В этом смысле АТФ-азная реакция подобна другим ферментативным процессам.

Описанная кинетическая модель согласуется с опытом и показывает, что специфическая роль белка-фермента в мембран-

ном транспорте состоит в сопряжении транспорта с метаболизмом.

Мы не обсуждали пока конкретные пути переноса ионов через мембраны. Законно поставить вопрос о реализации переноса через поры, каналы в мембране или посредством специальных переносчиков [58]. Ходжкин впервые выдвинул предположение о «натриевых» и «калиевых каналах» [59]. Очевидно, что последовательность соответствующих ионообменных центров также может трактоваться как канал. Однако существование каналов доказывается и непосредственно (см. [58, 183, 184]).

Оказалось, что клеточные мембраны проницаемы не только для воды и ионов, но и для ряда нейтральных молекул, растворимых в воде, но не растворимых в липидах (см., например, [60]). В возбудимых мембранах (см. гл. 4) существуют специализированные ионные поры, проницаемость которых зависит от природы ионов [61]. Селективность каналов велика, но не абсолютна. Так, отношения проницаемостей $P_{\text{ион}}/P_{\text{Na}}$ для натриевых каналов перехвата Ранвье (см. стр. 161) для гидроксилamina 0,94, для Li^+ 0,93, для NH_4^+ 0,16, для K^+ 0,09. Для калиевых каналов $P_{\text{ион}}/P_{\text{K}}$ для Tl^+ 2,3, Rb^+ 0,91, NH_4^+ 0,13, Cs^+ 0,08, Na^+ 0,01 [62] (дальнейшие подробности см. в [58]). Блокирование каналов другими ионами позволяет получить информацию о функциональной «архитектуре» каналов.

В работе [63] предложена теоретическая модель канала в двойном слое липидов (см. стр. 137). Предполагается, что на стенках канала имеются кооперативно действующие активные центры. Переносимый ион подвергается действию силового поля и свободно движется вдоль канала. Движущиеся ионы могут трактоваться как ионный газ.

Прямое доказательство наличия каналов состоит в том, что в отсутствие проникающих ионов Na^+ и K^+ высокочастотная проводимость мембраны равна нулю. Если бы в ней функционировали подвижные заряженные группы, то должен был бы наблюдаться электрический ток. Удастся оценить количественные характеристики каналов, число которых, приходящееся на 1 мкм^2 мембраны, составляет несколько сот. Так, проводимость одиночного натриевого канала $4 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$, калиевого — $12 \cdot 10^{-12} \text{ Ом}^{-1}$ [185]. Сечение Na^+ -канала — примерно $3 \times 5 \text{ \AA}^2$, пропускная способность — 10^7 ион/с. Ионный канал можно трактовать как своего рода «векторный фермент», катализирующий перенос иона. Активность этого «фермента», несомненно способного к конформационным перестройкам, регулируется электрическим полем [184].

В серии работ [186] проведено сопоставление перескокового и электродиффузионного механизмов движения частиц в тонких мембранах.

Проблемы активного транспорта, описанные здесь, имеют непосредственное отношение к возбудимым мембранам. Рассмотрение свойств этих мембран в связи с генерацией нервного импульса приведено в гл. 4.

§ 3.7. СТРУКТУРА МЕМБРАН

Феноменологическое рассмотрение мембранного транспорта на основе неравновесной термодинамики или кинетических моделей не дает сведений о молекулярных механизмах явления. Развитие физики мембран связано с детальным изучением их молекулярного строения и молекулярной функциональности. Биологическая мембрана есть динамическая организованная система; необходимо исследовать как ее устройство, так и динамику ее поведения. Соответствующие задачи очень сложны и, несмотря на громадное число работ, им посвященных, мы не располагаем еще сколько-нибудь полной картиной динамической мембраны. Тем не менее сейчас установлен ряд важных фактов и предложены убедительные модели мембран.

Мембраны состоят в основном из липидов и белков. В клетках млекопитающих содержатся и небольшие количества углеводов, связанных с белками (гликопротеиды) или с липидами (гликолипиды). Во внутренних мембранах присутствуют в основном фосфолипиды, в плазматических содержатся и нейтральные липиды. Так, в мембранах эритроцитов 30% липидов образует холестерин.

В табл. 3.4 [64] приведено относительное содержание белков и липидов, в также холестерина и фосфолипидов в различных биологических мембранах.

Таблица 3.4

Состав биологических мембран

| Мембрана | Белок/липид (весовое отношение) | Холестерин/фосфо- липид (молярное отношение) |
|---------------------------------|------------------------------------|--|
| Миелиновая оболочка | 0,25 | 0,7—1,2 |
| Плазматические мембраны | | |
| клетки печени | 1,0—1,4 | 0,3—0,5 |
| клетки асцита Эрлиха | 2,2 | |
| тени эритроцитов | 1,5—4,0 | 0,9—1,0 |
| Внутренняя мембрана | | |
| эндоплазматический ретикулум | 0,7—1,2 | 0,03—0,08 |
| Внешняя мембрана митохондрий | 1,2 | 0,03—0,09 |
| Внутренняя мембрана митохондрий | 3,6 | 0,02—0,04 |
| Палочки сетчатки | 1,5 | 0,13 |
| Ламеллы хлоропласта | 0,8 | 0 |

Для изучения состава мембран необходимы методы выделения из мембран индивидуальных компонентов. Сейчас такие методы хорошо разработаны. Они основаны на применении детергентов (например, додецилсульфата натрия), солюбилизирующих нерастворимые вещества, и разделении полученных белков путем электрофореза в полиакриламидном геле [64, 65].

В большинстве случаев мембраны чрезвычайно гетерогенны. Фосфолипиды и липиды представлены в них целыми семействами. Так, в мембранах эритроцитов человека содержится не менее 20 видов лецитина [66]. На рис. 3.7 представлена схема, показывающая строение и состав липидов в этих мембранах [67]. Липиды построены из полярной «головой» и двух длинных неполярных углеводородных «хвостов», обладающих гидрофобными свойствами. Как мы увидим, этим определяется структура мембран.

Белки мембран также разнообразны. Около трети белков мембраны эритроцита образует спектрин, состоящий из двух компонентов с молекулярными весами 255 000 и 220 000. Вторая треть — ряд белков с молекулярными весами около 90 000 и третья треть — белки с молекулярными весами 9000 — 15 000 [65, 68]. Существуют мембраны и более простого состава — внутренние мембраны палочек сетчатки содержат лишь один белок — родопсин (см. гл. 7). Состав мембран каждого типа клеток специфичен, что, по-видимому, имеет прямое функциональное значение. Было высказано предположение о присутствии на внешней стороне цитоплазматической мембраны характеристических белков, ответственных за узнавание [69].

Липиды играют не только структурную роль в мембранах. Можно было бы представить себе и чисто белковую мембрану, молекулы которой связаны с другом слабыми взаимодействиями, прежде всего гидрофобными. Таких мембран, однако, нет, хотя известны стабильные белковые надмолекулярные структуры (например, коллаген) и белково-углеводные мембраноподобные системы. Можно думать, что белковая мембрана была бы слишком стабильна и, тем самым, лишена структурной лабильности, необходимой для многообразной функциональности мембраны [70].

Основываясь на косвенных данных о свойствах клеток и проницаемости мембран, Даниэллы и Давсон еще в 1935 г. предложили модель универсальной биологической мембраны, так называемой *унитарной мембраны* [71]. Эта модель симметрична. Матрикс мембраны, ее внутренность формируют неполярные «хвосты» липидов, образующие два слоя. На поверхность выходят полярные «головы» липидов, взаимодействующие с внешними мономолекулярными белковыми слоями. В дальнейшем эту модель неоднократно модифицировали и усовершенствовали

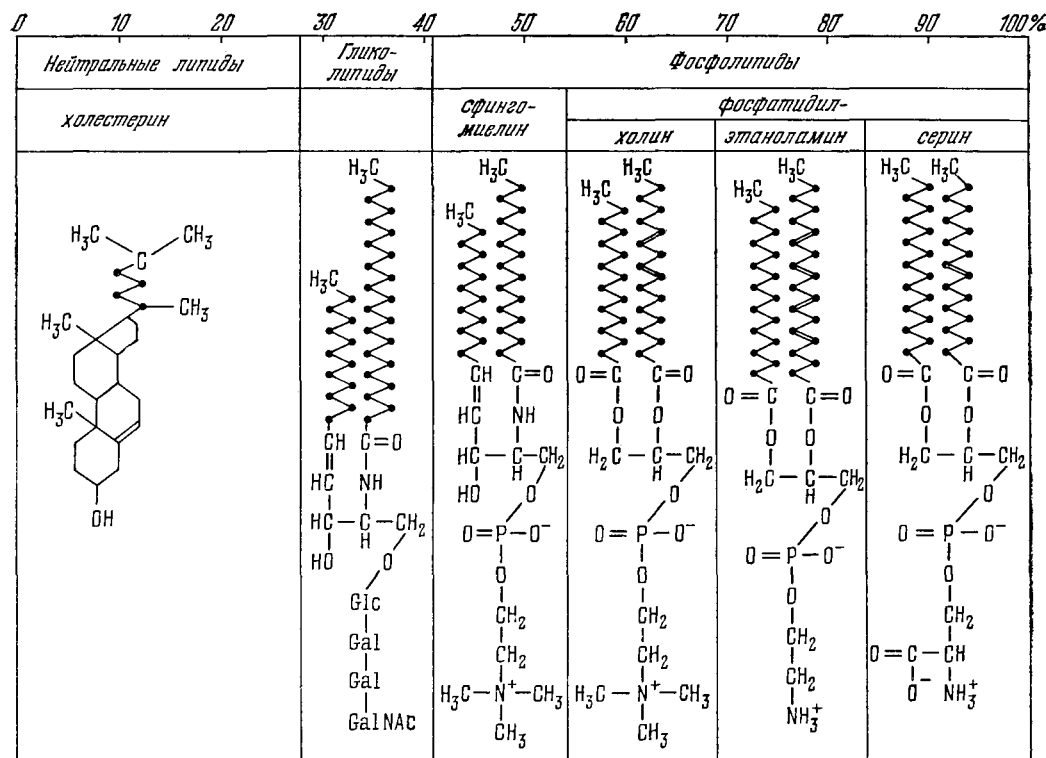


Рис. 3.7. Структура и состав липидов и фосфолипидов в мембране эритроцита человека.

на основании данных, полученных с помощью электронной микроскопии и рентгенографии. Модель Робертсона [72] состоит из двух липидных слоев с гидрофобными «хвостами», обращенными внутрь, и полярными «головами», смотрящими наружу. Мономолекулярные слои белка различны на двух сторонах мембраны. Толщина внутреннего гидрофобного билипидного слоя около 35 Å, толщина каждого из внешних слоев, состоящих из полярных «голов» и белка, — около 20 Å, толщина унитарной мембраны в целом — около 75 Å. Другие модели приведены в [2].

Данные, полученные методом электронной микроскопии, возможно, требуют уточнений. Оттенивание препаратов производится OsO_4 , KMnO_4 и т. п. Химия происходящих при этом процессов еще недостаточно изучена, неясно также, что происходит при выделении мембран и подготовке препаратов. Здесь не исключены артефакты. Тем не менее основной принцип построения унитарной мембраны — двуслойное расположение липидов — по-видимому, правилен. Это доказывается, в частности, рентгенографическими данными. Установлено, что чистые фосфолипиды, диспергированные в воде и образующие бимолекулярные слои вследствие гидрофобных взаимодействий, дают дифракционную картину, весьма сходную с картинами, получаемыми с диспергированными биологическими мембранами. Оказалось, что столь различные объекты, как мембраны эритроцитов, бактерий *Mycoplasma laidlawii* и плазматические мембраны нервных окончаний крысы, имеют в основном сходное строение, согласующееся с унитарной моделью.

Сказанное, однако, не относится к расположению белков в мембране. Предложенные модели исходят из того, что мембранные белки имеют гидрофильные, полярные, поверхности, взаимодействующие с полярной липидной поверхностью мембраны. В действительности это не так. Были проведены исследования выделенных мембранных белков и мембран косвенными методами — воздействием на них протеолитических ферментов и включением в белки мембран различных меток [2, 5]. Оказалось, что белки мембран можно разделить на два класса. Одни из них связываются только поверхностями мембраны; подобно глобулярным белкам, функционирующим в водном окружении, они имеют гидрофильную поверхность. Белки второго класса способны проникать в мембрану, взаимодействуя с гидрофобными «хвостами» липидов. Такие белки нерастворимы в воде и имеют преимущественно гидрофобный характер [68]. Исследования мембран методами инфракрасной спектроскопии, спектрополяриметрии, спектроскопии ЯМР и т. д. указывают на разнообразие белковых структур и, вероятно, значительную роль взаимодействия белков друг с другом, не учитываемого в унитарной модели [73]. В модели Бенсона [74] глобулярные белки «утоп-

лены» в мембране. Липиды не образуют сплошного бимолекулярного слоя, но рассредоточены между белковыми глобулами так, что их углеводородные «хвосты» контактируют с гидрофобными участками белков (см. также [65, 75]).

В настоящее время наиболее правдоподобной представляется мозаичная модель мембраны, отличная и от модели Даниэлли и Давсона, и от модели Бенсона.

Ряд данных непосредственно доказывает, что в отличие от унитарной модели белки в мембране распределены асимметрично. Для исследования применялись методы изменения наружной поверхности мембраны под действием непроникающих агентов, идентификация наружных компонентов с помощью специфических антител, введение селективных меток, сравнение ферментативной и транспортной активностей нативных и «вывернутых» везикул и т. д. [75]. Особенно детально изучены мембраны эритроцитов. Прямой метод локализации компонентов мембраны — ЯМР-спектроскопия с применением гидрофильных парамагнитных меток — дал особенно убедительные доказательства этой асимметрии [75—78].

Важные результаты получены при помощи методики скалывания в замороженном состоянии (freeze etching). Мембраны быстро замораживают при температуре жидкого азота и дробят в вакууме. Лед сублимируется, образец оттеняют, реплицируют платиной и углеродом и исследуют под электронным микроскопом. Выяснилось, что излом проходит вдоль внутренней гидрофобной области мембраны эритроцита. При этом обнаружили большие глобулярные частицы диаметром до 75 Å. Эти частицы — белки [65, 79, 80].

Многие свойства биологических мембран, не связанные с ферментативной активностью, удастся моделировать экспериментально. Оказалось возможным получать и исследовать искусственные липидные мембраны, имеющие двухслойное строение.

Стабильные двухслойные системы такого рода были впервые получены в 1962 г. [81]. Искусственные мембраны получают при контакте смеси фосфолипидов и нейтральных липидов, растворенных в органических соединениях, с водой. При этом можно получить «черные» мембраны, т. е. тонкие слои, лишенные интерференционных цветов. Толщина таких мембран менее 100 Å. Разработаны весьма надежные способы их изготовления (см., например, [82]). Используются как природные, так и синтетические липиды [83].

Искусственные двухслойные липидные мембраны весьма разнообразны, но в целом сходны с моделью унитарной мембраны. Внутри расположены неполярные группы липидов, снаружи — их полярные участки. Искусственные двухслойные мембраны имеют физические свойства, очень близкие к свойствам биоло-

гических мембран, как о том свидетельствует табл. 3.5 [84]. Электронно-микроскопические картины также оказываются сходными.

Таблица 3.5

**Сравнение свойств двухслойных липидных
и биологических мембран**

| Свойства | Биологическая мембрана при 25 °С | Двухслойная мембрана при 36 °С |
|---|----------------------------------|----------------------------------|
| Толщина, Å | 60—100 | 67—75 |
| Емкость, нФ/мм ² | 0,5—1,3 | 0,38—1,0 |
| Сопротивление, Ом · см ² | 10 ² —10 ⁵ | 10 ⁶ —10 ⁹ |
| Напряжение пробоя, мВ | 100 | 150—200 |
| Поверхностное натяжение, дин/см ² | 0,03—1,0 | 0,5—2,0 |
| Проницаемость для воды, мкм/с | 0,37—400 | 31,7 |
| Энергия активации для транспорта воды, ккал/моль | 9,6 | 12,7 |
| Проницаемость для мочевины, 10 ² мкм/с | 0,015—280 | 4,2 |
| То же, для глицерина | 0,003—27 | 4,6 |
| То же, для пентаэритрита | 0,007—5 | 0,75 |

Искусственные двухслойные мембраны, естественно, лишены метаболической активности и не обладают столь высокой селективностью, как биологические мембраны. Вместе с тем, они моделируют важные свойства биомембран, что позволяет изучать переносчики ионов и возбудимость. Все это показывает, что двухслойная липидная структура в той или иной мере свойственна биологическим мембранам.

Обладают ли липиды специальной функциональностью помимо их способности образовывать слоистые структуры, гидрофобные внутри и гидрофильные снаружи? Роль липидов далеко не изучена, но в работах Лузатти с сотрудниками [85—88] установлено, что в системах липид—вода наблюдается ряд различных фаз в зависимости от состава системы и температуры и изучены эти фазы. Они могут быть лишены ближнего порядка или обладать частично упорядоченными парафиновыми цепями. Напротив, наблюдаются фазы с дальним порядком, подобные кристаллам или, скорее, жидким кристаллам (исключением служат мицеллярные изотропные растворы, получаемые при малой концентрации липидов, — мыла). Обнаружены также сложные ламеллярные и стержнеобразные структуры липидов — ламеллярные фазы могут представлять собой двумерные слои липидов, чередующиеся со слоями воды и уложенные в одномерную решетку с вращательным беспорядком. Наблюдаются и плоские липидные слои, упакованные в двумерную гексаго-

нальную решетку с вращательным беспорядком, лентообразные структуры с конечными ширинами ламеллярных элементов, диски, организованные в объемно центрированную орторомбическую решетку. Наблюдаются стержнеобразные фазы, образованные бесконечными или конечными стержнями — двумерная гексагональная совокупность бесконечных стержней, плоские двумерные квадратные и гексагональные сетки и сложные трехмерные сетки.

Эти системы представляют самостоятельный научный интерес, сочетая высокий дальний порядок с отсутствием ближнего порядка и обладая большой гетерогенностью и углеводородных цепей, и полярных групп. Есть основания думать, что многофазность липидных систем имеет прямое отношение к функциям биологических мембран (см. ниже).

3.8. КОНФОРМАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН

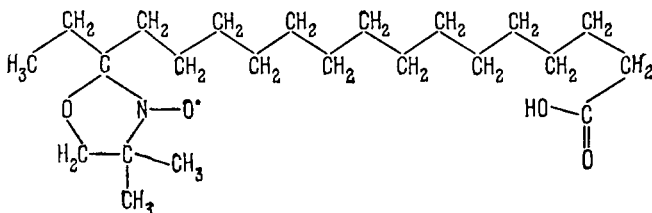
До сих пор мы говорили о статическом строении мембран и не рассматривали их динамические свойства, их фазовое состояние.

Ряд фактов свидетельствует о большой лабильности мембранной структуры [75, 89—92]. Липиды мембраны обладают высокой подвижностью и должны рассматриваться как жидкие кристаллы. Еще в 1933 г. Бернал писал, что свойства жидких кристаллов «как раз те свойства, которые требуются на уровне организации, промежуточном между непрерывным веществом, жидким или твердым, кристаллическим веществом и простейшей живой клеткой» [93]. В жидком кристалле реализуется сочетание текучести и лабильности при наличии преимущественной ориентации.

Жидко-кристаллические (жидкостные) свойства мембран определяются тем, что липиды в них находятся при физиологической температуре в расплавленном состоянии. Как мы увидим, расплавлены углеводородные цепи. Температура плавления углеводорода тем ниже, чем больше двойных связей он содержит при прочих равных условиях (вспомним различие между животным и растительным маслом). Липиды, содержащие в углеводородных цепях ненасыщенные двойные связи, плавятся при температурах ниже физиологических. В плазматических мембранах млекопитающих доля таких липидов велика.

Жидкостные свойства мембран доказываются многими фактами. Установлено, что в некоторых клетках поверхностные антигены свободно диффундируют в мембране. Подвижность мембранной структуры обнаруживается с помощью парамагнитных [94] и флуоресцентных меток [95, 96], а также методом ЯМР-спектроскопии [97]. На рис. 3.8 показаны результаты исследова-

ния подвижности мембран методом электронной спин-резонансной спектроскопии. Нитроксильная спиновая метка присоединяется к хвосту липидной молекулы, которая вводится в двойной липидный слой мембраны.



Спектр ЭПР при низкой температуре показывает, что липид заморожен, при высокой он оказывается расплавленным и спектр становится острее (см. [68]).

Как писал Брантон (см. [80]): «Мы начинаем представлять себе море липидов, в котором плавают другие молекулы. Мы узнаем большую подвижность компонентов мембраны, испытывающих непрерывную реорганизацию». Наибольшей подвижностью как конформационной, так и трансляционной обладают углеводородные «хвосты» липидных молекул в матриксе мембраны [89, 98].

В 1973 г. на страницах журнала «Science» была опубликована дискуссия по вопросу о жидкостных свойствах мембран. Олдфилд в статье под заглавием «Жидки ли клеточные мембраны?» [99] привел доказательства того, что значительная часть липидов в мембранах ряда микроорганизмов (возможно, тех, в которых нет холестерина) находится в твердом гелеобразном состоянии. Синджер начал свой ответ на эту статью словами: «Да, мембраны жидкие» [100]. Он подчеркнул, что в тех случаях, о которых пишет Олдфилд, не все липиды находятся в мембране в твердом состоянии.

Особенно детально изучены жидкостные свойства фоторецепторных мембран (см. § 7.10). Фоторецепторные мембраны палочек содержат практически лишь один белок — родопсин. Одна

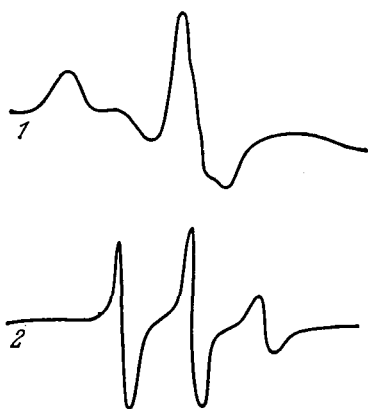


Рис. 3.8. Спектры ЭПР спин-меченой молекулы липида, помещенной в мембрану.

1—низкая температура, 2—высокая температура.

молекула родопсина в мембране приходится на 60—90 молекул липидов, из которых 80% содержат ненасыщенную жирную кислоту [101]. Методом вспышечной фотометрии установлено, что молекула белка испытывает быстрое вращение вокруг оси, перпендикулярной к плоскости мембраны. Время такой вращательной диффузии 20 мкс при 20 °С [102]. Изучение взаимодействия родопсина со светом (выцветание, см. § 7.9) методом микро-спектрофотометрии показало, что в мембране происходит и трансляционная латеральная диффузия родопсина. Коэффициент диффузии оценивается в $(3,5 \pm 1,5) \cdot 10^{-9} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$, что соответствует

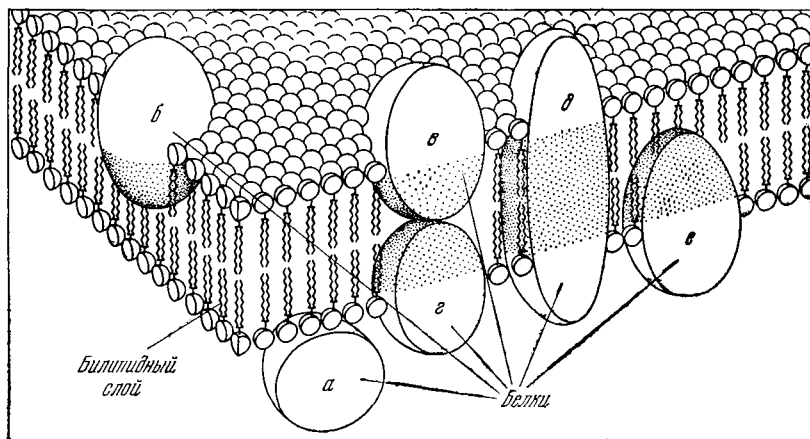


Рис. 3.9. Современная схема строения клеточной мембраны [68].
а, б, в, г, д, е — различные белковые молекулы.

вязкости мембраны от 1 до 4 П [103]. Это согласуется по порядку величины с вязкостью, определенной по трансляционной диффузии, в мембранах клеток млекопитающих [104] и в мембранах митохондрий и нервных аксонов [105, 106]. Таким образом, вязкость мембран на два или три порядка выше вязкости воды и соответствует вязкости растительного масла.

Текущность мембран непосредственно наблюдалась при микроскопическом изучении простейшего *Cryptotermes* [107].

Изложенные факты позволили построить динамическую мозаичную модель мембраны [65, 75, 91, 108—111]. Ее схематическое изображение дано на рис. 3.9 [68]. Белки «плавают в липидном море». Их молекулы погружены с двух сторон мембраны на разную глубину в двойной слой подвижных углеводородных «хвостов» липидов; имеются белки, проходящие через всю мембрану. Строение мембраны асимметрично. Значительная часть поверхности мембраны свободна от белков — так, белки

занимают 70% поверхности мембраны эритроцита и 80% поверхности мембраны микросомы [112]. В фоторецепторных мембранах родопсин расположен еще реже (см. выше).

Каналы (поры) в мембранах, вероятно образуются вблизи молекул белков и выстланы полярными группами [113]. Природа и строение каналов — одна из актуальных проблем физики мембран.

В мембранах, по-видимому, существуют и более жесткие кристаллические участки. В них может реализоваться дислокационная подвижность [114].

Ряд фактов свидетельствует о конформационных переходах в мембранах. Им посвящено множество работ; в частности, изучались структурные изменения, связанные с электрической активностью возбудимых мембран. Как уже указывалось на стр. 142, структурные изменения обнаруживаются при помощи флуоресцентных и парамагнитных меток [115, 116], а также при измерении двойного лучепреломления [117—119] и рассеяния света [117, 120, 121]. В работах [122—124] изменения параметров люминесценции присоединенных к мембране красителей, сопровождающие возбуждение, также рассматривались как результаты конформационных переходов (см. [96]).

Существенную информацию дают измерения кругового дихроизма (КД), свойства, особенно чувствительного к структурным перестройкам оптически активных молекул. Измерения КД и оптической активности позволяют охарактеризовать конформации белков в мембранах и их изменения (см., в частности, работу, проведенную на суспензиях мембран [125]).

Уверенная интерпретация всех этих интересных и важных данных, однако, затруднительна. Надо иметь в виду, что изменения оптических и спектральных свойств могут вызываться и просто перезарядкой мембраны — эффектами электрострикции, перемещением самих меток под действием электрического поля и т. д. [89].

Прямую информацию о конформационных свойствах мембран дает изучение наблюдаемых в них фазовых переходов, которые можно трактовать как плавление липидов. Такой переход происходит вблизи 0°C при нагревании мембран митохондрий и микросом от —40°C [126]. Переходы наблюдаются методами флуоресценции, светорассеяния, дилатометрии. Они зависят от ряда факторов — от ионной силы окружающего раствора, от pH, от природы ионов [127, 128]. С помощью спин-метки в суспензии плазматических мембран, выделенных из фибробластов мыши, найдены характеристические температуры латерального разделения фаз в липидах. Для внешнего монослоя липидов такие переходы наблюдаются при 15 и 31°C, для внутреннего — при 21 и 37°C ([129], см. также [89, 92]).

Подвижность мембранных липидов и фазовые переходы в них определяются их конформационными свойствами. Плавление липидов происходит путем поворотной изомеризации углеводородных цепей — это конформационное плавление [130]. В этом смысле поведение мембранных липидов соответствует общим принципам молекулярной биофизики, согласно которым важнейшие свойства биополимеров связаны с их конформационной подвижностью [131].

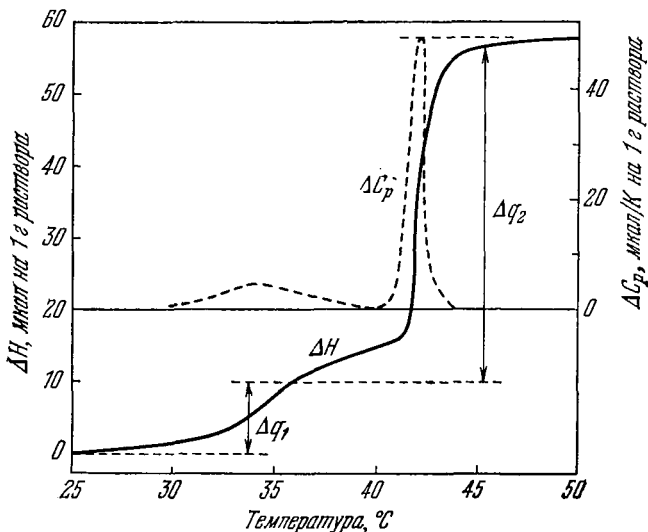


Рис. 3.10. Температурный ход изменений энтальпии и теплоемкости раствора дипальмитоил- α -лецитина.

Δq_1 , Δq_2 — теплоты фазовых переходов.

Насыщенные углеводороды, парафины, кристаллизуются в форме сплошных *транс*-ротамеров. При плавлении наряду с *транс*-ротамерами появляются свернутые, или *гош*-ротамеры [130]. В жидких парафинах их концентрация порядка 10%. Это должно относиться и к углеводородным «хвостам» в липидах.

Фазовые переходы в липидах изучались детально. На рис. 3.10 показаны изменения с температурой теплоемкости и энтальпии раствора дипальмитоил- α -лецитина [132]. Наблюдаются два фазовых перехода — при 34 °C и особенно резкий при 41 °C. Рентгенограмма при температуре ниже перехода содержит резкие дифракционные кольца, отвечающие расстоянию между цепями 4,8 Å, при температуре выше перехода — диффузное кольцо, отвечающее расстоянию между цепями 5,3 Å. В жидко-кристаллическом липиде времена корреляции для CH_2 -групп

порядка 10^{-6} — 10^{-8} с, о чем свидетельствуют данные, полученные методами ЯМР и ЭПР [133, 134].

В работе Нагле предложена модельная статистическая теория фазовых переходов в мембранных липидах [135]. В своей модели он исходит из того, что энергия системы определяется суммой энергии ротамеризации в цепи, энергии ван-дер-ваальсова притяжения и энергии стерического отталкивания цепей. Переходы трактуются как переходы порядок — беспорядок. При расчетах предполагается, что модельные цепи располагаются на двумерной трехугольной или квадратной решетке. Воспользовавшись значениями разности энергий *гош*- и *транс*-ротамера, равной $\Delta E = 0,5$ ккал на 1 моль связей, и параметра ван-дер-ваальсова притяжения, равного $a = 5,2$ ккал на 1 моль CH_2 -групп, Нагле получил для трехугольной модели резкий фазовый переход второго рода при 353 К (опыт — 315 К). При уменьшении a до 1 ккал/моль переход оказывается переходом первого рода. «Квадратная» модель дает худшие результаты. Слабый переход при 34°C согласно [135] определяется изменением упорядоченности фосфатных «голов» липидов.

В работе Трейбле предложена теория транспорта молекул через липидную мембрану, основанная на тех же представлениях о ротамеризации углеводородных цепей [136]. Свернутые (*гош*) ротамеры трактуются как подвижные структурные дефекты — «кинки», определяющие наличие малых свободных объемов в углеводородной фазе мембраны. Коэффициент диффузии этих «кинков» оценивается в 10^{-5} см²/с; следовательно, такая диффузия — быстрый процесс. Транспорт малых молекул происходит в результате их попадания в указанные свободные объемы и миграции вместе с ними. Эта красивая идея дает модель «кинетических каналов» в мембране и позволяет вычислить ее проницаемость для воды в согласии с опытом.

В работе Марша развита статистическая механика фосфолипидных двуслойных мембран, учитывающая в явной форме ротамеризацию и межцепные стерические ограничения [137]. Величина ΔE принимается равной 0,75 ккал/моль (в работе [136] $\Delta E = 0,8$ ккал/моль). В разумном согласии с опытом вычислены изменения энтальпии и энтропии при плавлении двуслойного липида, являющегося фазовым переходом первого рода. Концентрация дефектов согласуется с оценкой, данной в работе [136].

В работе [182] предложена модель фазовых переходов в фосфолипидах, учитывающая наряду с ротамеризацией и крутильные колебания (ср. также [130]).

Можно считать установленной конформационную природу жидко-кристаллических свойств мембран. Тем не менее теоретическое и экспериментальное исследование этих свойств пока лишь начато, и мы еще далеки от их полного понимания.

С указанными свойствами тесно связаны явления взаимодействия мембран с различными лигандами, имеющие большое значение для физиологии и фармакологии.

Во многих случаях реакции клеточных мембран на присоединение специфических лигандов имеют кооперативный характер. Зачастую кривые ответов мембраны и клетки на возрастающую концентрацию лиганда отклоняются от изотермы Ленгмюра и имеют небольшой изгиб [138], а в некоторых случаях перегиб оказывается и очень резким.

Так называемые колициногенные штаммы бактерий *Escherichia coli* продуцируют макромолекулярные антибиотики — колицины, способные убивать бактерии других, «чувствительных» штаммов *E. coli*. При этом число молекул колицинов, нужное для того, чтобы убить одну бактерию, может быть очень малым, оно может даже равняться единице [139]. Гибель клетки определяется изменением ряда ее биохимических функций. Тем самым, мембрану «чувствительной» клетки можно считать обладающей усилительными свойствами — рецепция одной молекулы служит триггером, вызывая макроскопические события в масштабе клетки.

По-видимому, триггерные процессы сходного типа реализуются в мембранах рецепторных клеток — при рецепции запаха и вкуса, а также при зрительной рецепции световых квантов (см. гл. 7). Предпринята успешная попытка моделировать мембранную рецепцию запаха.

Получены искусственные липидные мембраны, реагирующие на некоторые пахучие вещества (камфору, мускус, линалол, н. октиловый и н. амиловый спирты). В основу метода получения таких мембран положено изменение искусственных липидных мембран под действием компонентов соскоба обонятельной выстилки лягушки, подвергнутого ультразвуковой обработке. В присутствии ионов Na^+ или Ca^{++} мембраны реагируют на пахучие вещества увеличением проницаемости. Этот эффект блокируется двуххлористой ртутью, реагирующей с SH-группами белков. Показано, что в условиях, когда ответ мембраны на одно из пахучих веществ доведен до максимального уровня, мембрана сохраняет способность реагировать на другие пахучие вещества. Молекулярный вес компонента обонятельной выстилки, способного сенсibilизировать искусственные липидные мембраны к действию пахучих веществ, превышает 100 000 [140].

Установлено, что некоторые лекарственные вещества влияют на температуру конформационного плавления лецитина [141]. Взаимодействие мембраны эритроцита с лекарственными веществами исследовалось в работе [142]. Показано, что анионы внедряются во внешнюю сторону мембраны, растягивая внеш-

ний монослой липидов, и деформируют таким образом клетку. Напротив, катионы (в частности, вещества, содержащие четвертичные аммониевые основания), внедряются во внутренний монослой липидов, причем деформация клетки имеет в этом случае противоположный характер.

Еще до построения динамической мозаичной модели Шанжэ и его соавторы предприняли попытку объяснить кооперативное взаимодействие мембраны с лигандами. Они рассматривали мембрану как упорядоченную кооперативную систему, построенную из различных или идентичных протомеров, т. е. повторяющихся субъединиц [143, 144]. В работах Шанжэ и его соавторов триггерные свойства мембраны трактуются на основе теории, аналогичной теории кооперативного поведения ферментов, предложенной Моно, Уайманом и Шанжэ ([145], см. также [131], гл. 7). Каждый протомер имеет рецепторный центр для данного специфического лиганда, сродство к которому меняется при изменении конформации протомера. В упорядоченной «решетке» мембраны протомеры взаимодействуют со своими соседями, чем и определяются кооперативные свойства.

Качественные результаты естественно получаются уже в простейшем случае двух конформационных состояний идентичных протомеров. Поведение системы описывается функцией состояния и функцией связывания, отвечающих соответственно доле протомеров в одной из двух конформаций и доле центров, связанных лиганд. Энергии связывания в двух конформациях различны. Задача решается в приближении молекулярного поля (см. [131], § 1.5). Параметр кооперативности определяется взаимодействием между протомерами — предполагается, что энергия перехода между двумя конформациями линейно зависит от указанной функции состояния. Если кооперативности нет, то функция состояния и функция связывания гиперболически зависят от активности лиганда, и получаются изотермы Ленгмюра. Напротив, при наличии кооперативности эти зависимости S-образны и в пределе, при некотором критическом значении активности лиганда, обе функции имеют разрыв, подобный фазовому переходу всей системы от одного конформационного состояния к другому.

В зависимости от активности лиганда и энергии взаимодействия протомеров ответ мембраны на присоединение лиганда может быть постепенным или S-образным, становясь в пределе переходом типа «все или ничего».

Эти результаты, конечно, полностью соответствуют сделанным предположениям. Шанжэ трактует с помощью описанной модели действие колицинов [147], механизм которого пока еще недостаточно изучен экспериментально. По-видимому, их дей-

стве связано с изменением катионной проницаемости мембран [146]. Та же модель применена к проблемам фармакологии [147]. Гипотеза Шанжэ дает качественное объяснение ряду фактов, в частности, тому, что различные родственные лекарственные вещества вызывают различные максимальные ответы мембран. Можно считать установленным, что первичное действие лекарств локализовано в мембране и имеет кооперативный характер. Лекарства действуют в очень малых концентрациях (вплоть до концентраций 10^{-11} М) и обладают высокой химической специфичностью. По-видимому, воздействие лекарств на рецептор определяется молекулярным узнаванием (см. гл. 1), но о природе таких рецепторов известно еще очень мало (см., в частности, [148]).

Модель Шанжэ является формальной и феноменологической. Она не учитывает реального строения мембран. Дальнейшее развитие этой термодинамической теории связано с рассмотрением нестабильностей, с применением формализма неравновесной термодинамики [149]. В ряде теоретических работ развита и кинетика кооперативных процессов применительно к мембранам [150, 151]. Предложены кинетические модели кооперативного мембранного транспорта. Теория нелинейной кинетики строится с помощью модели Изинга. Осцилляционное поведение мембран рассматривается далее в § 8.9.

Теория мембранного транспорта и взаимодействия мембран с различными лигандами в дальнейшем будет основываться на рассмотрении реальных молекулярных моделей. Такого рода модели, как уже сказано, с успехом применялись к рассмотрению фазовых переходов в двойном слое липидов. Главная трудность будущей теории состоит в анализе динамики взаимодействия белков и липидов. Мембранные рецепторы, — по-видимому, белки (в случае фоторецепции это родопсин), — связавшись с лигандами, меняют свою конформацию, что приводит к изменению глубины погружения и подвижности белков в «липидном море». Причина кооперативности может лежать во взаимодействии «плавающих» белков при их столкновениях. Динамическая мозаичная модель должна послужить основой реалистической молекулярной физики мембран.

Можно считать, что конформационные свойства мембран определяются электронно-конформационными взаимодействиями (ЭКВ, см. [131, 152]). Локальный сдвиг электронной плотности, возникающий при взаимодействии рецептора мембраны с лигандом, влечет за собой конформационные перестройки биологических молекул. Тем более это относится к прохождению через мембрану заряженных ионов, которое можно трактовать как распространение *конформонов* [153] — условных квазичастиц, состоящих из носителя электрического заряда, или сдвига элек-

тронной плотности и конформационных смещений окружающей среды. Такие представления особенно важны в применении к мембранам митохондрий и хлоропластов, в которых осуществляется электронный транспорт (см. гл. 6, 7).

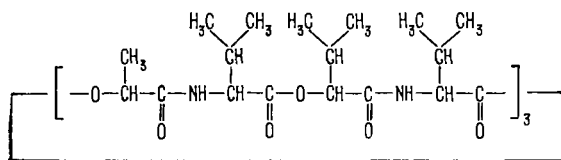
§ 3.9. ИНДУЦИРОВАННЫЙ ИОННЫЙ ТРАНСПОРТ

Очень важную информацию об ионном транспорте и устройстве проницаемых мембран дают исследования явлений, происходящих при перемещении ионов внешними переносчиками. В § 3.3 рассмотрена общая феноменологическая теория облегченного транспорта, о роли переносчиков говорилось не раз.

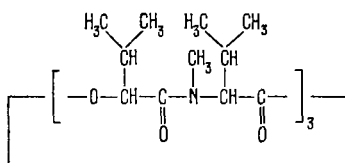
Весьма эффективными переносчиками щелочных катионов служат депсипептиды, изучавшиеся в работах Шемякина, Овчинникова и их сотрудников [154—157], Льва и Бужинского [158], а также Прессмана с сотрудниками [159, 160]. Депсипептиды представляют собой циклические антибиотики, построенные из чередующихся α -аминокислот и α -оксикислот. Сюда относятся валиномицин, энниатины и др. Другая группа переносчиков — монактин, нонактин и т. д. — макротетролиды, циклические соединения, содержащие четыре эфирные и четыре сложноэфирные связи. Строение некоторых циклических переносчиков показано на рис. 3.11. Подробное описание строения и свойств переносчиков и мембранного транспорта ионов, происходящего с их участием, содержится в фундаментальной монографии [157] (см. также обзор [161]). Теория явлений ионного транспорта, индуцированного переносчиками, изложена в монографии [162].

Внутренняя гидрофобная часть мембраны, обладающая малой диэлектрической проницаемостью, представляет существенное препятствие для диффузии ионов K^+ и Na^+ , поступающих из водной среды. Активационный барьер, однако, резко снижается, и проницаемость мембраны для таких ионов возрастает на несколько порядков в присутствии циклических переносчиков (ЦП). Молекулярная природа этих явлений состоит в том, что ЦП образуют специфические клатратные комплексы с щелочными катионами, причем одна сторона ЦП гидрофильна, а другая — гидрофобна. На рис. 3.12 показана структура комплекса валиномицин — K^+ [156].

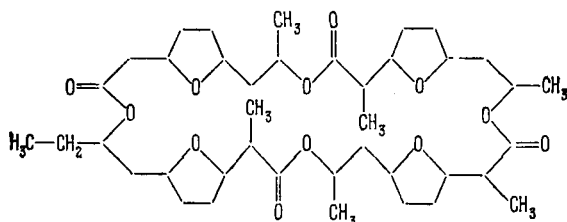
Действие ЦП с успехом изучается на искусственных двуслойных липидных мембранах (см. стр. 140). В растворе KCl электрическое сопротивление такой мембраны равно по порядку величины 10^8 Ом/см². Проводимость мембраны линейно возрастает с концентрацией ЦП в растворе. При малом содержании K^+ в растворе (менее 10^{-1} М) проводимость пропорциональна концентрации K^+ . Эти результаты показывают, что активным является комплекс ЦП с одним ионом K^+ .



Валиномицин

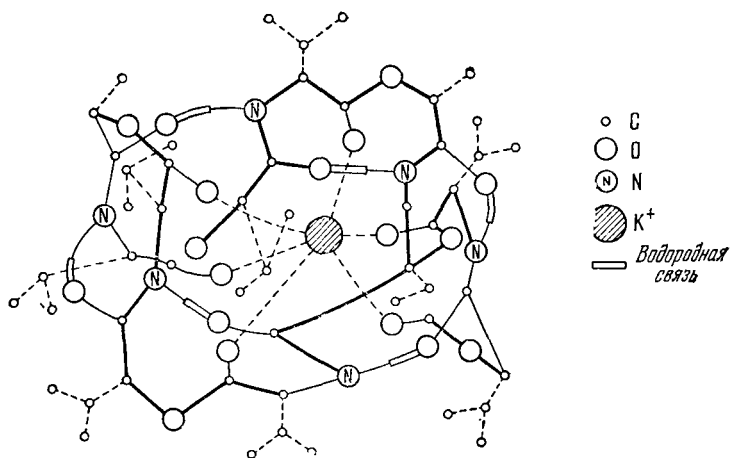


Зниитин В



Монактин

Рис. 3.11. Химическое строение некоторых циклических переносчиков.

Рис. 3.12. Структура комплекса валиномицина с K⁺

Способность образовывать такого рода комплексы зависит от конформационных свойств молекул ЦП. В цитированных выше работах были детально изучены различные аналоги ЦП, обладающие разной способностью к комплексообразованию. Сама эта способность есть необходимое, но недостаточное условие для увеличения проницаемости мембраны. Существенно конкретное строение циклического соединения.

Кинетическая теория транспорта ионов, облегченного переносчиками, развивалась в двух группах работ — Лейгера и сотрудников [161, 163, 164] и Маркина, Либермана и др. [162, 165—170, 184]. Обе теории приводят к сходным результатам. Рассмотрим сначала результаты, полученные в работах второй группы.

В растворе имеются ионы А (щелочные металлы) и жирорастворимые переносчики С, дающие комплекс АС ($\equiv X$). Вблизи билипидной мембраны находятся неперемешиваемые слои толщиной h , в пределах которых ионы диффундируют с коэффициентами D_C и D_X . Частицы С и X могут переходить через границу мембраны, на которой возможно и образование X. Общая схема модели представлена на рис. 3.13. Предполагается, что ионы в мембране располагаются в двух потенциальных ямах ширины λ вблизи поверхностей мембраны, между которыми они совершают переходы с константами скоростей k_C и k_X . Проводимость мембраны вычисляется на основе рассмотрения кинетики перемещения ионов. Если на мембрану наложен внешний потенциал ψ , то он делится между емкостями, указанными на рис. 3.13, на доли

$$\psi_1 = \frac{q_1}{C_1}, \quad \psi_2 = \frac{q + q_1}{C_2}, \quad \psi_3 = \frac{q + q_1 + q_2}{C_1}, \quad (3.127)$$

где q_1, q_2 — изменения зарядов у потенциальных ям в мембране, q — заряд раствора электролита у левой границы мембраны. Заряды q_1, q_2 связаны со сдвигом концентраций С и X от равновесных значений. Вычисляются потоки ионов и переносчика. Наложение потенциала ψ_i меняет константы скорости в $\exp(\pm 1/2 z \psi_i / k_B T)$ раз, где z — заряд иона. Определяются потоки через границы мембраны и внутри нее, используются уравнения диффузии для веществ С и X и условия непрерывности на

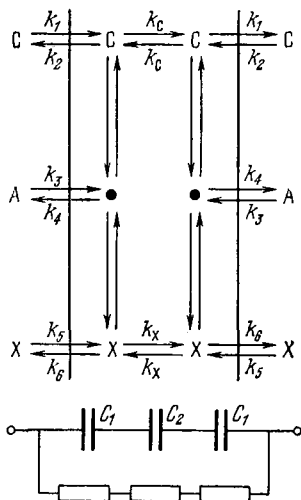


Рис. 3.13. Схема модели переносчиков. Внизу эквивалентная схема мембраны.

границах мембраны. Проводимость g , т. е. отношение ионного тока к ψ в предельном случае малых токов, выражается весьма сложной функцией A , C , X . Это выражение упрощается в некоторых предельных случаях. Если A и X очень малы, то

$$g_0 = \frac{z^2 k_B T \mathcal{F} C}{2h/D + 2/k_1 + k_2/k_1 k_C}, \quad (3.128)$$

где C — концентрация переносчика, D — его коэффициент диффузии, k_i — константы скорости. Вольт-амперная характеристика процесса зависит от лимитирующей стадии. Если эта стадия — диффузия в примембранных слоях, то сила тока равна

$$I = \frac{z \mathcal{F} DC}{h} \operatorname{th} \frac{z\psi}{2k_B T}. \quad (3.129)$$

Рассмотрим противоположный случай. Пусть $q_1, q_2 < q$, так что распределение ионов в мембране не сказывается на распределении потенциала. Тогда

$$I = \frac{2z \mathcal{F} C k_1 k_C \operatorname{sh} (1/2 z\psi)}{k_2 + 2k_C \operatorname{ch} [1/2 z\psi (C_1 + C_2)/(C_1 + 2C_2)]}, \quad (3.130)$$

где C_1, C_2 — емкости.

Напротив, если заряды q_1 и q_2 дают заметный вклад в распределение потенциала, возможны различные случаи. Если $k_C C_1 \gg k_2 C_2$, то благодаря высокой подвижности ионов поле внутри мембраны может экранироваться. Это произойдет, если $C_1 \ll z^2 k_B T \mathcal{F} \lambda \frac{k_1}{k_2} C$. Тогда все напряжение падает на границах мембраны и делится между ними поровну. Получаем

$$I = 2z \mathcal{F} k_1 C \operatorname{sh} (1/4 z\psi). \quad (3.131)$$

Если же $k_2 C_2 \gg k_C C_1$, то напряжение сосредоточено в мембране и

$$I = \frac{2z \mathcal{F} k_1 k_C \operatorname{sh} (1/2 z\psi) C}{k_2 + 2k_C \operatorname{ch} (1/2 z\psi)}. \quad (3.132)$$

Вообще говоря, вольт-амперная характеристика может зависеть от самых разных факторов — от неоднородности мембраны, от типа движения ионов (эстафетного или диффузионного) и т. д. Установление механизма транспорта по вольт-амперной характеристике пока невозможно.

На тех же основаниях удастся рассмотреть переходный ток при фиксации напряжения на мембране [171], прохождение через мембрану переменного тока [172] и т. д.

Рассмотрим теперь зависимость проводимости от концентраций A и C [165]. Допустим, что на границе мембраны обмен

ионами С и Х идет медленнее, чем другие стадии. Проводимость принимает вид

$$g_0 = \frac{z_A^2 k_B T \mathcal{F} k_C k_X (k_5/k_6) k_4 X}{k_3 A k_X + k_4 k_C + 2k_C k_X}. \quad (3.133)$$

Ионы С и Х сквозь мембрану практически не проходят. Переносчик захватывает А на одной стороне мембраны и освобождает его на другой стороне. Маркин говорит о «малой карусели», заключенной внутри мембраны. «Большая карусель» возникает, если поверхностные ограничения реализуются не только на границах мембраны, но и в прилегающих слоях раствора. Если коэффициенты диффузии малы и обмен ионами А на границе мембран идет медленно, т. е. малы k_3 и k_4 , то

$$g_0 = \frac{z_A^2 k_B T \mathcal{F} k_1 k_5 k_C k_X K X}{k_1 k_C (k_6 + 2k_X) K + k_3 k_X (k_2 + 2k_C) A}, \quad (3.134)$$

где K — константа ассоциации ионов А и С в комплекс Х. «Большая карусель» захватывает и неподвижные слои раствора.

Зависимость g_0 от концентрации А имеет в обеих «каруселях» сходный характер. Так как $X = BA/(A + K)$, где $B = C + X$ есть суммарная концентрация переносчика, то

$$g_0 = \frac{\alpha}{\beta A^2 + \gamma A + \delta}$$

(α , β , γ , δ — константы), т. е. зависимость $g_0(A)$ является колоколообразной. Максимум для «малой карусели» отвечает

$$A_{\max} = \left[\frac{K k_C}{k_3} \left(\frac{k_4}{k_X} + 2 \right) \right]^{1/2}. \quad (3.135)$$

Для «большой карусели»

$$A_{\max} = K \left(\frac{k_1 k_C}{k_2 + 2k_C} \frac{k_6 + 2k_X}{k_5 k_X} \right)^{1/2}. \quad (3.136)$$

Действительно, для многих разобшителей окислительного фосфорилирования, играющих роль переносчиков (см. гл. 6), наблюдается колоколообразная зависимость $g_0(A)$ в хорошем согласии с теорией [173, 174].

Теория объясняет наблюдаемую линейную зависимость проводимости от концентрации переносчика.

Дальнейшие подробности, относящиеся к вольт-амперным характеристикам системы и т. д., можно найти в цитированных выше работах.

Изложенная теория дает выражения для проводимости и вольт-амперные характеристики, существенным образом

зависящие от конкретных модельных предположений и содержащие большое число параметров. Общие закономерности воспроизводятся теорией правильно и получают, тем самым, надлежащее объяснение. Однако, в силу сказанного, теория не позволяет установить конкретные механизмы облегченного транспорта [161, 163, 164].

Модель Лейгера более проста, но имеет преимущества, так как содержит меньше параметров и свободна от предположения о равновесном образовании комплекса в растворе. Модель представлена на рис. 3.14. k_A — константа скорости образования

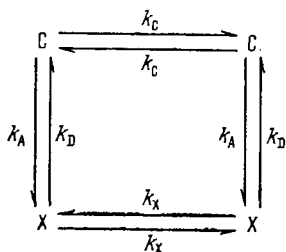


Рис. 3.14. Упрощенная модель процессов облегченного транспорта.

комплекса $A \cdot C$, k_D — константа скорости его распада. В более простой теории удастся получить выражение для проводимости и без ограничения слабыми полями. Это выражение имеет вид

$$g = g_0 \frac{2}{u} (1 + b) \frac{\text{sh}(u/2)}{1 + b \text{ch}(u/2)}, \quad (3.137)$$

где g_0 — проводимость при малом напряжении, $u = \mathcal{F}V/RT$ (катионы одновалентны) и

$$b = \frac{2k_X}{k_D} + A \frac{k_A k_X}{k_D k_C}. \quad (3.138)$$

Параметр b находится из экспериментальных значений g/g_0 ; если g/g_0 измеряется как функция концентрации ионов A , два члена в b определяются независимо. Значение g_0 равно

$$g_0 = \frac{\mathcal{F}^2}{RT} N_C k_X \frac{A k_A / k_D}{1 + b}, \quad (3.139)$$

где N_C — поверхностная концентрация молекул переносчика в равновесии. Таким образом, измерения проводимости дают три независимых комбинации пяти неизвестных параметров k_A , k_D , k_X , k_C и N_C .

Определение отдельных кинетических констант может быть осуществлено релаксационными методами ([131], гл. 7). Применение релаксационных методов не ограничено гомогенными химическими системами, но они могут использоваться и для кинетического анализа мембранного транспорта [161, 164, 165]. Электрический релаксационный метод состоит в следующем: ячейка с двуслойной липидной мембраной соединена с источником напряжения и электронным выключателем, позволяющим повысить силу тока менее чем за 1 мс. Ток сквозь мембрану измеряется на осциллографе как падение напряжения на внешнем сопротивлении R_e . Немедленно после скачка напряжения наблю-

дается спайк тока, определяемый мембранной емкостью. Затем ток релаксирует к стационарному значению I_∞ , которому отвечает неравенство X на двух сторонах мембраны (рис. 3.15 [161]).

Теория показывает, что ход $I(t)$ определяется двумя временами релаксации τ_1 и τ_2 :

$$I(t) = I_\infty (1 + \alpha_1 \exp(-t/\tau_1) + \alpha_2 \exp(-t/\tau_2)),$$

причем α_1 , α_2 , τ_1 , τ_2 зависят от кинетических констант [161, 164]. В сочетании со стационарными параметрами проводимости эти величины позволяют определить необходимые константы. Такие определения были проведены для системы валиномицин— K^+ и мембраны, полученной из фосфатидилинозитола [162].

Установлено, что транслокация свободного ЦП и комплекса через мембрану и диссипация комплекса на границе характеризуются константами скорости

$$k_A \approx 5 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1},$$

$$k_C \approx 2 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1},$$

$$k_D \approx 5 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1},$$

$$k_X \approx 2 \cdot 10^4 \text{ c}^{-1},$$

а концентрация N_C составляет $1,2 \cdot 10^{12}$ молекул валиномицина на 1 cm^2 , т. е. среднее расстояние между молекулами ЦП около 100 \AA . Транспорт происходит не путем обычной диффузии, так как заряженный комплекс должен преодолеть высокий электростатический барьер внутри мембраны. Поэтому близость кинетических констант для свободного переносчика и заряженного комплекса требует специального объяснения.

Константа скорости комплексообразования $K^+ + \text{ЦП} \rightarrow X$ на поверхности мембраны оценивается по порядку величины в $3 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{c}^{-1}$. Это на четыре порядка меньше, чем та же константа в метанольном растворе, что свидетельствует о существенно иных условиях на поверхности раздела мембраны и

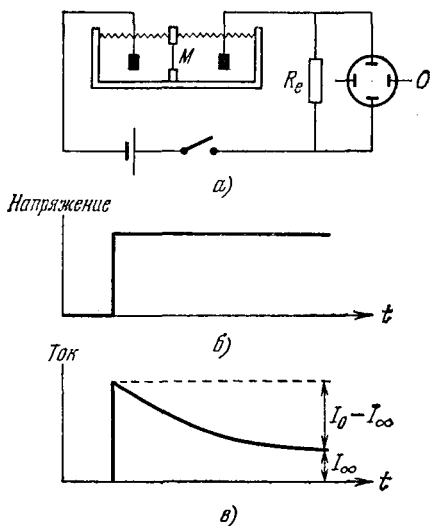


Рис. 3.15. Схема установки для электрического релаксационного метода (а), зависимость напряжения (б) и тока (в) от времени.

M — мембрана, R_e — внешнее сопротивление, O — осциллограф.

водной фазы. Причины такого различия пока не ясны, возможно, что валиномицин приобретает измененную конформацию на мембране.

Можно сравнить действие молекулы переносчика с функцией фермента [164]. Фермент снижает активационный барьер реакции. Переносчик снижает барьер для переноса щелочного иона внутри липидной мембраны. Активность фермента характеризуется концентрацией полунасыщения и числом оборотов. Для переносчиков концентрация полунасыщения отвечает концентрации ионов в водной фазе, при которой половина молекул переносчика, связанных в мембране, образовала комплексы. В случае валиномицин — K^+ эта концентрация 20 М (в метаноле 25 мМ). Таким образом, в условиях опыта концентрация связанного мембраной валиномицина еще далека от насыщения. Число оборотов есть максимальное число ионов K^+ , переносимых в 1 с одной молекулой валиномицина. Это число оказалось равным 10^4 с⁻¹, что много больше, чем для большинства ферментов. Валиномицин, обладающий на поверхности мембраны малым средством к K^+ , является эффективным переносчиком именно вследствие большого числа оборотов.

Изложенная теория не обязательно означает, что переносчики являются таковыми в истинном смысле слова. Как указывает Маркин [170], здесь имеются две другие возможности. Во-первых, оказываясь в среде с малой диэлектрической проницаемостью, жирорастворимые переносчики (ионофоры) образуют агрегаты [176, 177]. В этом случае возможно более сложное комплексобразование и возрастание проницаемости мембран. Реализуется коллективный транспорт [162, 170].

Вторая возможность — изменение конформационной структуры мембраны ионофорами и возникновение эстафетного механизма передачи иона от одного ионофора к другому. Цепочка ионофоров может возникать и распадаться, но эстафетный механизм, конечно, отличается от прямого переноса ионов от одной границы мембраны к другой.

Если нет прямого переноса, то изложенная теория является эффективной, а кинетические константы, найденные из опыта, — эффективными константами.

Теория коллективного транспорта ионов димерными ионофорами была развита Маркиным [162, 170, 178]. Есть основания считать, что по этому механизму работают многие разобщители окислительного фосфорилирования (см. гл. 6).

Эстафетный механизм исследован в теоретических работах [179—181] (см. также [162, 170]). Он, очевидно, родственен механизму пассивного транспорта, рассмотренному в § 3.6. Сходна и теория. Как мы видели, есть основания считать, что ионный транспорт без участия переносчиков действительно происходит

по эстафетному механизму. Справедливо ли это для облегченного транспорта — пока не ясно.

При коллективном и эстафетном механизмах зависимость проводимости от концентрации ионофоров не линейна (кривая $g(B)$ выгнута), зависимость $g_0(A)$ колоколообразна, как и для «каруселей». Существенные различия для разных механизмов должны проявляться в зависимости мембранного потенциала $\psi(A)$, а также в зависимости высокочастотной проводимости $g_\infty(A)$. До сих пор, однако, соответствующие экспериментальные исследования не проведены и механизмы ионного транспорта, облегченного переносчиками, не установлены.

Прежде чем перейти к рассмотрению генерации и распространения нервного импульса, подведем некоторые итоги.

Структуре и функциям мембран посвящена колоссальная литература. Многое можно считать уже установленным и объясненным, но сложность строения и поведения мембран столь велика, что трудно ожидать скорого решения всех относящихся сюда проблем. Мы располагаем феноменологической термодинамикой мембранных процессов, рядом разумных кинетических моделей пассивного, активного и облегченного переносчиками транспорта. Развиты содержательные теоретические представления о кооперативных конформационных свойствах мембран. Накоплена очень богатая и разнообразная экспериментальная информация. Тем не менее физика мембранного транспорта находится на ранней стадии своего развития. Модельная теория имеет пока фрагментарный характер, не установлены внутренние связи между рядом направлений исследования. Физика мембран — чрезвычайно быстро развивающаяся и весьма актуальная область науки. Дальнейшее ее изложение приведено в последующих главах.

§ 4.1. АКСОН И НЕРВНЫЙ ИМПУЛЬС

Генерация и распространение нервного импульса в организмах животных, возбуждение нервных и мышечных клеток — важнейшие мембранные явления. Мембранная теория возбуждения была сформулирована Бернштейном еще в 1902 г. [1]. Согласно его теории, возбуждение определяется электрохимическими процессами, локализованными в мембранах нервных и мышечных клеток. Эти процессы сводятся к перемещению малых ионов. Позднее Лазарев опубликовал монографию об ионной природе нервного возбуждения [2]. Исследования, проведенные Ходжкином, Катцем, Хаксли, Тасаки и другими учеными [3—6], раскрыли принципиальные механизмы генерации нервного импульса и его распространения (см. также [7—9]).

Нервное возбуждение распространяется по нервным волокнам — *аксонам*. Принято разделять нервную систему высших организмов на центральную и периферическую. Периферическая система содержит аксоны, служащие для передачи сигналов, а также ганглии вегетативной нервной системы. Аксоны являются коммуникациями для *афферентных* сообщений от органов чувств, направляемых в центральную систему, и для *эфферентных* сигналов, направляющихся от центральной системы к мышцам. Аксоны представляют собой отростки центральной расположенных клеток. Нервная система беспозвоночных имеет иное строение, но она также содержит коммуникационные аксоны.

Исследование генерации нервного импульса и его распространения в аксоне — старая и традиционная проблема биофизики. Уже Гельмгольц измерял скорость распространения нервного возбуждения. В настоящее время решены важные физические задачи, относящиеся к функции аксона. Напротив, современное состояние науки позволяет лишь формально моделировать работу центральной нервной системы и мы еще далеки от понимания физической природы высших ее функций — памяти и мышления.

На рис. 4.1, заимствованном из [5], представлена схема строения нервной клетки, именуемой иначе *нейроном*. Нейрон полу-

чает сообщения от многих других нейронов через их тонкие ответвления, образующие контакты — *синапсы* — с телом клетки и его короткими отростками — *дендритами*. Аксон имеет макроскопические протяженность и сечение. Длины аксонов в теле крупных животных достигают нескольких метров.

Контакты с другими клетками образуются не только в синапсах. Большая часть поверхности нейрона покрыта прилегающими к нему *глиальными*, или *шванновскими*, клетками, роль которых пока не выяснена. С другой стороны, из мембран шванновских клеток образуется миелиновая оболочка миелинизированных аксонов, показанная схематически на рис. 4.1. Оболочка прерывается через каждые 1—2 мм длины аксона *перехватами Ранвье*, имеющими протяженность около 1 мкм. В области перехватов мембрана аксона непосредственно контактирует с окружающей средой.

Немиелинизированные волокна могут быть объединены одной шванновской клеткой, что показано в сечении на рис. 4.2. Погруженный в шванновскую клетку аксон создает глубокую инвагинацию мембраны шванновской клетки, причем образуется мезаксон — две шванновские мембраны, расположенные рядом. В правом нижнем углу схематически показана двойная мембрана, разделяющая цитоплазму шванновской клетки и цитоплазму аксона, аксоплазму [9].

Герен [10] установила, что миелиновая оболочка аксона образована многократным спиральным закручиванием мембраны шванновской клетки вокруг аксона. Миелин представляет собой, таким образом, многослойную (до 250 слоев) мембрану, строение которой наблюдается с помощью электронного микроскопа. Миелин защищает мембрану аксона от окружающей среды.

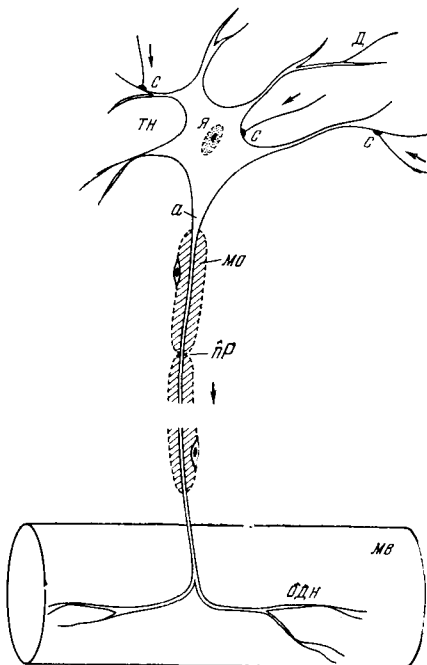


Рис. 4.1. Схема строения нервной клетки (двигательный нейрон).

ТН — тело нейрона, а — аксон, МО — миелиновая оболочка, ПР — перехват Ранвье, Д — дендрит, Я — ядро, С — синапсы, ОДН — окончание двигательного нерва, МВ — мышечное волокно.

Структура миеллина была детально изучена методом рентгенографии с разрешением 10 \AA [11]. Определены профили электронной плотности миелина седального нерва кролика и лягушки и миелина зрительного нерва кролика. На рис. 4.3 показаны эти кривые для нервных волокон кролика и схема структуры миелина, соответствующая данным кривым. Миелин построен асимметрично, холестерин сосредоточен преимущественно на стороне

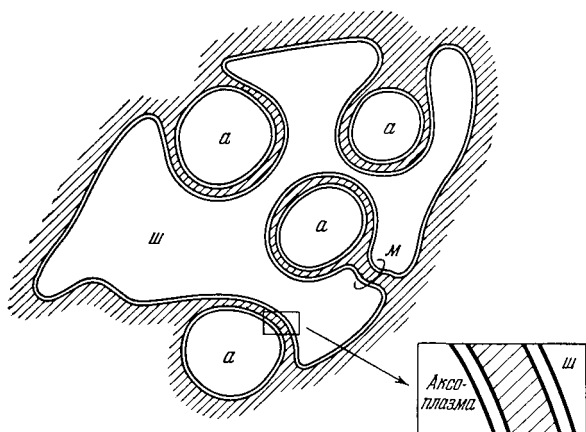


Рис. 4.2. Схема строения немиелинизированного нервного волокна позвоночного.

a — аксон, *м* — мезаксон, *ш* — шванновская клетка.

миелина, соприкасающейся с мембраной аксона. Схема согласуется с липидным составом миелина млекопитающих, установленным ранее [12]. Белковые слои граничных областей миелина содержат воду. Внутренняя область построена из гибких углеводородных «хвостов» липидов.

Уже давно установлено, что нервы и мышцы способны генерировать электродвижущие силы, биопотенциалы. Электрическая активность клеток проявляется в форме коротких разрядов, каждый из которых длится около 1 мс. Современная экспериментальная техника позволяет усилить эти сигналы и регистрировать их с помощью осциллографа или другим путем. Установлено, что активность нерва всегда сопровождается электрическими явлениями — и при внешнем возбуждении и при посылке сигнала мозгом в соответствующем аксоне наблюдаются электрические импульсы. На рис. 4.4 показаны импульсы в зрительном нервном волокне краба *Limulus*, вызванные вспышкой света длительностью 1 с [13]. Частота и характер последовательности импульсов, имеющие несомненное информационное значение

ние, зависят от интенсивности и спектрального состава света [14, 15] (см. гл. 7). Величина и длительность отдельного импульса не зависят от природы и силы раздражения.

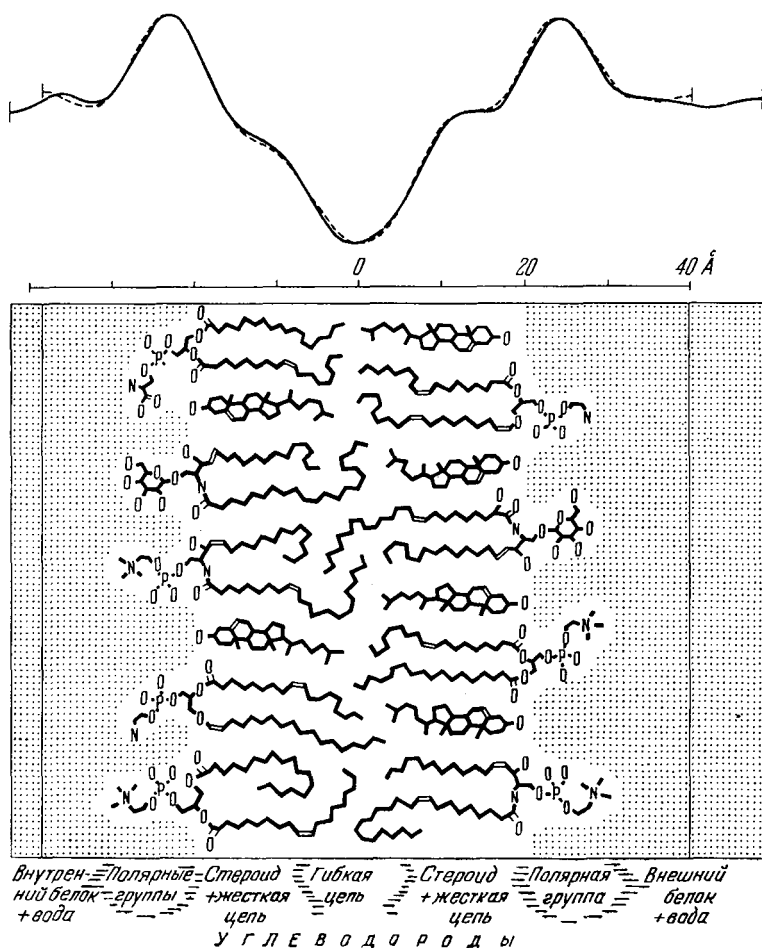


Рис. 4.3. Схема миелиновой мембранной структуры.

Вверху — профили электронной плотности для глазного (пунктир) и седалищного (сплошная линия) нервов кролика.

Электрический сигнал, отвечающий отдельному импульсу, распространяющемуся вдоль аксона, называется *потенциалом действия* или *спайком*. Это — основная единица информации, передаваемой по нервному волокну.

Скорость распространения импульса по аксону равна по порядку величины 1—100 м/с, она меньше для немиелинизированных и больше для миелинизированных аксонов.

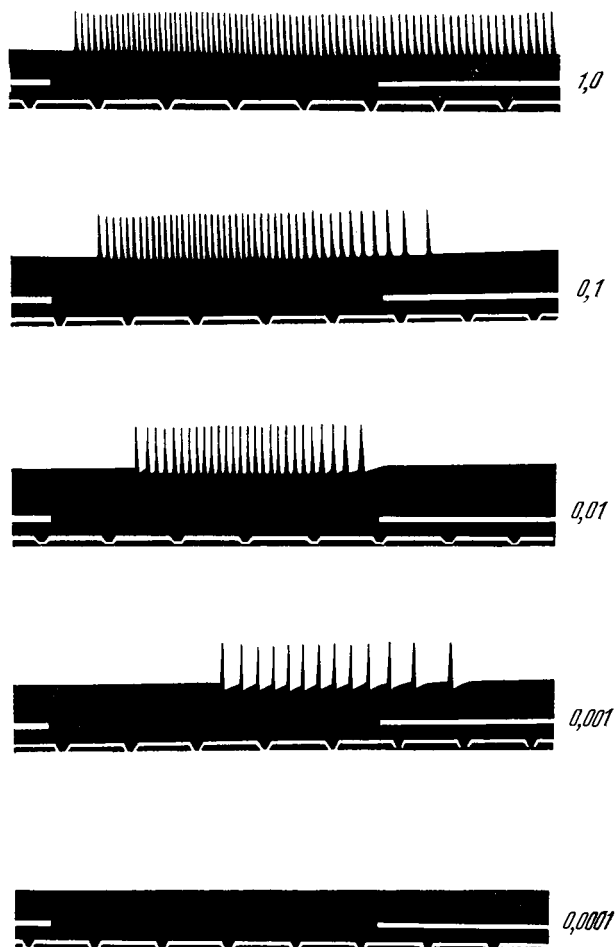


Рис. 4.4. Импульсы в зрительном нервном волокне *Limulus*, вызванные вспышкой света длительностью 1 с.

Цифры справа указывают относительную интенсивность вспышки. Период освещения указан разрывом верхней белой линии, отметка времени на нижней белой линии 0,2 с.

В табл. 4.1 [3] приведены некоторые данные.

Проведение нервного возбуждения есть проведение электрического импульса. Несмотря на то, что аксоплазма представляет

Таблица 4.1

**Скорость проведения возбуждения в нервном
и мышечном волокнах**

| Волокно | Температура, °С | Диаметр волокна ¹⁾ , мкм | Скорость проведения, м/с |
|---|--------------------|---|--------------------------------|
| Миелинизированные нервные волокна кошки | 38 | 2—20 | 10—100 |
| Немиелинизированные нервные волокна кошки | 38 | 0,3—1,3 | 0,7—2,3 |
| Миелинизированные нервные волокна лягушки | 20 | 3—16 | 6—32 |
| Миелинизированные нервные волокна креветки | 20 | 35 | 20 |
| Немиелинизированные нервные волокна краба | 20 | 30 | 5 |
| Гигантский аксон кальмара (немиелинизированное волокно) | 20 | 500 | около 25 |
| Мышечное волокно лягушки | 20 | 60 | 1,6 |

¹⁾ Для миелинизированных волокон указаны значения наружного диаметра миелиновой оболочки.

собой раствор электролитов, никоим образом нельзя считать, что ионный ток в ней определяет распространение импульса. Удельное сопротивление аксоплазмы равно по порядку величины 10—100 Ом·см. Следовательно, сопротивление на единицу длины волокна диаметром 1 мкм составляет 10^9 — 10^{10} Ом·см, т. е. превышает сопротивление медного провода того же диаметра в 10^8 раз. В таком проводнике очень велики потери и утечки. Между тем аксон передает первичный импульс на расстояния свыше метра без затухания и без искажения.

В нейрофизиологии и в биофизике нервного возбуждения сыграло большую роль развитие методов работы на изолированных аксонах, техники введения микроэлектродов в аксон и метода перфузии, т. е. выдавливания аксоплазмы из волокна и ее замены искусственными растворами. Особенно удобна работа на гигантских аксонах кальмара, имеющих диаметр до 0,5 мм (см. табл. 4.1). Элементарный опыт состоит во введении в аксон двух микроэлектродов: первый служит для электрической стимуляции возбуждения, второй — для измерения генерируемого потенциала (рис. 4.5) [4]. Опыт показывает, что величина и временной ход токов действия совершенно не зависят от величины стимулирующего тока и что потенциал действия не возникает, если электрический стимул не достигает некоторого порогового потенциала. Тем самым, нервное волокно

подчиняется закону «все или ничего». Иными словами, потенциал действия постоянной величины либо возникает, либо не возникает вовсе.

Для возбуждения аксона необходимо некоторое минимальное количество электричества. Соответственно по мере уменьшения

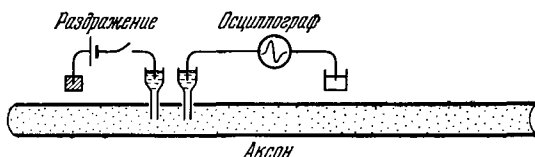


Рис. 4.5. Схема исследования нервного импульса при помощи двух микроэлектродов.

длительности Δt подаваемого импульса необходимо увеличивать силу тока I — эти две величины обратно пропорциональны. Для длительных прямоугольных импульсов существует минимальная

сила тока, достаточная для возбуждения; более слабый ток неэффективен при любой длительности.

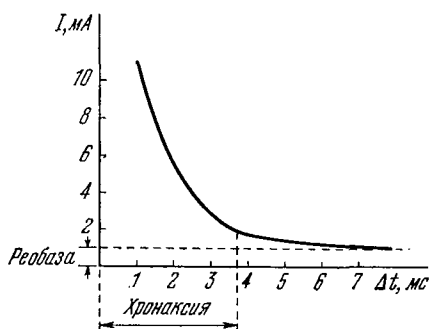


Рис. 4.6. Зависимость силы порогового тока от длительности импульса.

На рис. 4.6 показана кривая зависимости силы порогового тока от длительности импульса. Кривая имеет гиперболическую форму. Было предложено описывать ее эмпирической формулой

$$I_{\text{п}} = a/\Delta t + b,$$

где $I_{\text{п}}$ — пороговый ток, Δt — длительность импульса, b —

так называемая *реобаза* — минимальное значение возбуждающего тока при $\Delta t \rightarrow \infty$. При очень коротких импульсах, т. е. при $\Delta t \rightarrow 0$ $I_{\text{п}} = a/\Delta t$, т. е. произведение $I_{\text{п}} \Delta t$ есть константа, характеризующая пороговое значение количества электричества при коротких импульсах. Из приведенной формулы следует, что при $I_{\text{п}} = 2b$ получим $\Delta t_{\text{хр}} = a/b$. В действительности, однако, оказалось, что при $\Delta t = a/b$ $I_{\text{п}} \approx 1,4b$ и простая эмпирическая формула несправедлива во всем интервале значений Δt .

Если сообщить волокну два последовательных стимула, разделенных некоторым интервалом времени, то возникающая ситуация зависит от этого интервала. Немедленно после генерации импульса данное место волокна находится в *абсолютном*

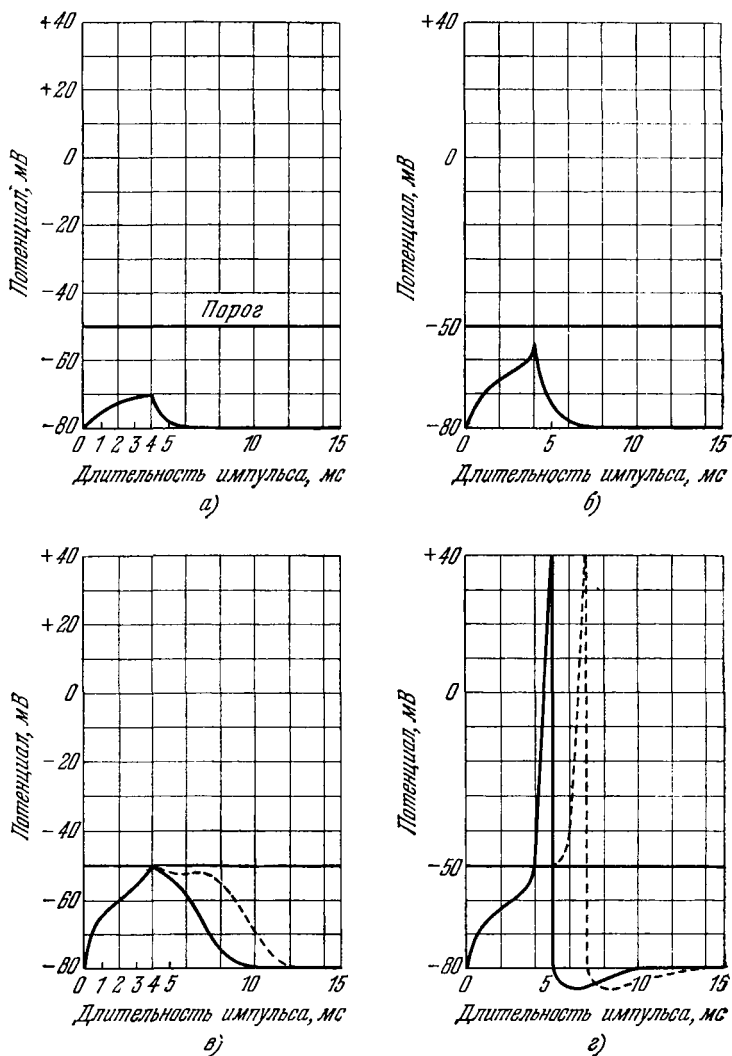


Рис. 4.7. Возбуждение мембраны аксона.

а и б — подпороговые импульсы в — пороговый затухающий импульс, г — появление потенциала действия при надпороговом импульсе, пунктиром показан перемещающийся импульс.

рефрактерном состоянии, т. е. не может быть возбуждено вновь. Затем следует относительное рефрактерное состояние. В таком состоянии заметно увеличено значение порогового потенциала и может возникнуть лишь медленно распространяющийся импульс. Продолжительность всего рефрактерного состояния варьирует от одной до нескольких миллисекунд.

В состоянии покоя аксоплазма имеет отрицательный заряд по отношению к внешней среде, характеризующийся потенциалом покоя около 80 мВ. Пороговое возбуждение при этом имеет потенциал, примерно равный —50 мВ, а потенциал действия при надпороговом возбуждении равен потенциалу противоположного знака, составляющему около 40 мВ. Это изображено схематически на рис. 4.7 [4].

Прохождение импульса определяется изменением состояния мембраны аксона при ее стимуляции. Как уже говорилось, в состоянии покоя клеточной мембраны в результате активного транспорта ионов концентрация ионов K^+ в цитоплазме (аксоплазме) значительно превосходит их концентрацию во внешней среде, а для ионов Na^+ ситуация противоположна. В табл. 4.2 [3] приведен состав аксоплазмы аксонов *Loligo* и состав плазмы крови, характерный для внешней среды, и близкий к нему состав морской воды.

Таблица 4.2

Концентрация ионов и других веществ в аксонах *Loligo*

| Вещество | Концентрация, ммоль на 1 кг H_2O | | |
|------------------------------|------------------------------------|----------|--------------|
| | аксоплазма | кровь | морская вода |
| K^+ | 400 | 20 | 10 |
| Na^+ | 50 | 440 | 460 |
| Cl^- | 40—150 | 560 | 540 |
| Ca^{++} | 0,4 | 10 | 10 |
| Mg^{++} | 10 | 54 | 53 |
| Изетионовая кислота | 250 | — | — |
| Аспарагиновая кислота | 75 | — | — |
| Глутаминовая кислота | 12 | — | — |
| Янтарная и фумаровая кислоты | 17 | — | — |
| Ортофосфат | 2,5—9 | — | — |
| АТФ | 0,7—1,7 | — | — |
| Аргининфосфат | 1,8—5,7 | — | — |
| Вода | 865 г/кг | 870 г/кг | 966 г/кг |

При наложении на мембрану стимулирующего потенциала вначале увеличивается ее проницаемость для ионов Na^+ , в состоянии покоя значительно меньшая проницаемости для ионов K^+ . Ионы Na^+ входят в аксон, в результате чего внутренняя по-

верхность мембраны изменяет знак своего заряда с отрицательного на положительный. Иными словами, происходит деполяризация мембраны. Если воспользоваться для выражения разности потенциалов на двух сторонах мембраны аксона формулой (3.105)

$$\varphi \equiv \Delta\psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \left\{ \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i + P_{Cl} c_{Cl}^e}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e + P_{Cl} c_{Cl}^i} \right\}, \quad (4.1)$$

то состояние покоя мембраны характеризуется следующим отношением ионных проницаемостей:

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

В состоянии возбуждения, отвечающем генерации потенциала действия, имеем

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

Подчеркнем, что истолкование возбуждения как результата изменения ионных проницаемостей является феноменологическим и не раскрывает молекулярный механизм процесса.

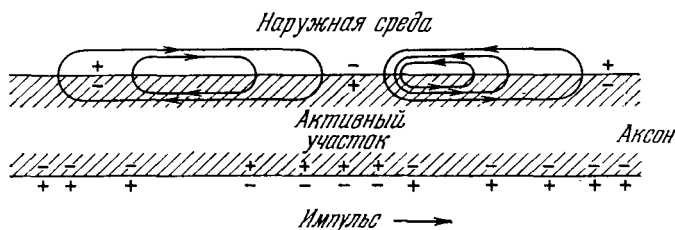


Рис. 4.8. Электрические токи, возникающие при деполяризации мембраны аксона.

При деполяризации мембраны возникают токи, замыкающиеся через наружную проводящую среду (рис. 4.8) [5]. Они возбуждают следующий участок аксона.

Таким образом, согласно мембранной теории при генерации импульса в мембране аксона открывается некий «канал», сквозь который ионы Na^+ проникают внутрь аксона, вызывая деполяризацию мембраны. Во время генерации импульса натриевый канал закрывается и открывается калиевый канал. Ионы K^+ выходят наружу, что приводит к восстановлению нормального отрицательного заряда на внутренней стороне мембраны. Происходит реполяризация мембраны. После прохождения рефрактерного периода мембрана приобретает способность передавать новый импульс (рис. 4.9) [4].

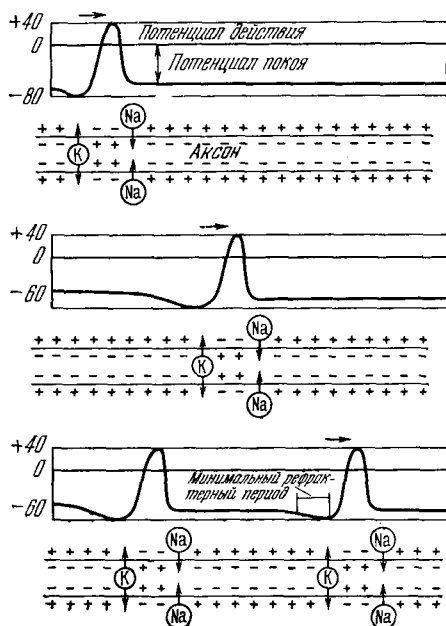


Рис. 4.9. Распространение нервного импульса сопровождается изменениями ионной проницаемости мембранного аксона.

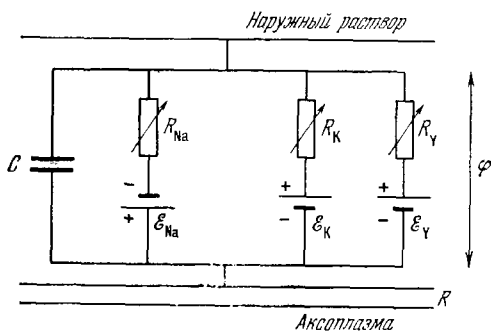


Рис. 4.10. Эквивалентная схема элемента возбудимой мембраны аксона.

Как видно из рис. 4.8, суммарный продольный ток через сечение аксона и окружающую среду равен нулю — в любом месте внутренние токи равны по силе и противоположны по направлению. Но плотность продольного тока и продольная разность потенциалов между двумя точками внутри аксона иные, чем снаружи.

Мембрана аксона имеет сопротивление $1000 \text{ Ом}\cdot\text{см}^2$, ее емкость равна $1 \text{ мкФ}/\text{см}^2$, что соответствует бимолекулярному липидному слою толщиной 50 \AA с диэлектрической проницаемостью $\epsilon = 5$ и удельным сопротивлением $2 \cdot 10^9 \text{ Ом}\cdot\text{см}$. Во время генерации импульса проводимость мембраны увеличивается примерно в 1000 раз. Можно моделировать электрические свойства мембраны эквивалентной схемой, показанной на рис. 4.10 [3]. Рисунок изображает лишь один элемент мембраны, и следует представить себе длинную линейную последовательность таких элементов, моделирующих непрерывный кабель. Сопротивление R характеризует аксоплазму, наружный раствор имеется в большом избытке и изображается проводником без сопротивления. Натриевая и калиевая «батарея» \mathcal{E}_{Na} и \mathcal{E}_{K} определяют генерацию импульса, добавочная «батарея» \mathcal{E}_{Y} ответственна за движение других ионов, не изменяющееся при возбуждении.

Таким образом, распространение импульса представляет собой самоподдерживающийся процесс, подобный горению бикфордова шнура. Очевидно, что процесс этот сводится к превращению химической энергии в электрическую.

Как уже сказано, распространение импульса в миелинизированном волокне происходит быстрее, чем в немиелинизированном. Доказано, что в миелинизированном аксоне проведение импульса является

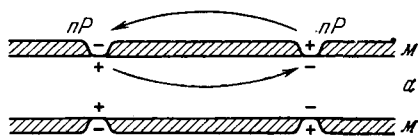


Рис. 4.11. Схема сальтаторного проведения импульса.

nP — перехват Ранвье, m — миелин, a — аксоплазма.

проводением импульса является сальтаторным, т. е. происходит путем перескока импульса от одного перехвата Ранвье к другому. Калиевые и натриевые каналы открываются и закрываются только в перехватах Ранвье — миелинизированные участки хорошо изолированы. Миелин имеет малую емкость, чем и объясняется большая скорость проведения импульса. Схема сальтаторного проведения импульса показана на рис. 4.11.

Прямые доказательства сальтаторной теории, впервые предложенной Лилли [16], были получены в работах Кубо, Оно и Юге (см. [17]). В одиночном нервно-мышечном препарате, погруженном в раствор Рингера, пороговая величина стиму-

лирующего тока зависит от расстояния между стимулирующим микроэлектродом и перехватом Ранвье. Она имеет наименьшее значение, если микроэлектрод помещен непосредственно в перехвате. Количественная теория этого эффекта была развита Тасаки (см. [6]).

Обозначим потенциалы трех последовательных перехватов -1 , 0 и 1 буквами ψ_{-1} , ψ_0 и ψ_1 . Если миелин представляет собой идеальный изолятор, то ток, протекающий внутри аксона от 1 к 0 , пропорционален $\psi_1 - \psi_0$, от 0 к -1 — пропорционален $\psi_{-1} - \psi_0$. Через перехват 0 идет ток i , пропорциональный $(\psi_1 - \psi_0) + (\psi_{-1} - \psi_0)$. Имеем

$$i = \frac{1}{R} \{(\psi_{-1} - \psi_0) + (\psi_1 - \psi_0)\}, \quad (4.2)$$

где R — сопротивление между двумя соседними перехватами (оно равно примерно 20 МОм).

Расстояния между микроэлектродом и перехватами 0 , 1 и -1 равны x_0 , x_1 , x_{-1} . Разность потенциалов, создаваемая микроэлектродом, дающим ток I , равна

$$\varphi = -I \frac{\rho}{4\pi x}, \quad (4.3)$$

где ρ — удельное сопротивление среды (для раствора Рингера оно равно 100 Ом·см). Из (4.2) и (4.3) получаем

$$i = I \frac{\rho}{4\pi R} \left(\frac{2}{x_0} - \frac{1}{x_1} - \frac{1}{x_{-1}} \right) \quad (4.4)$$

и если микроэлектрод очень близок к перехвату 0 , т. е. $x_1, x_{-1} \gg x_0$, то

$$i = I \frac{\rho}{2\pi R} \frac{1}{x_0}. \quad (4.5)$$

В опытах варьировалось расстояние x_0 и при каждом значении x_0 определялась величина I , отвечающая критическому значению $i = i_c$. Опытные данные действительно согласуются с линейной зависимостью I от x_0

$$I = \frac{2\pi R}{\rho} i_c x_0. \quad (4.6)$$

Установлено, что факторы, блокирующие распространение импульса (кокаин, уретан, ультрафиолетовое облучение), действуют именно на перехваты Ранвье, но не на участки между ними.

Прямые и строгие доказательства сальтаторной теории получены в работах Тасаки и его сотрудников [6, 18, 19]. Основной опыт ставился на одиночном волокне, лежащем в трех каплях

раствора Рингера, разделенных двумя воздушными промежутками, расстояние между которыми равнялось приблизительно 1 мм (рис. 4.12) [3]. В первом опыте (рис. 4.12, а) в средней капле находилась только миелинизированная часть аксона, во втором (рис. 4.12, б) — в средней капле находился перехват Ранвье. Измерялся радиальный ток. Через сопротивление R проходит ток, равный $i_{12} - i_{23}$, где i_{12} — ток, текущий в наружной цепи от капли 1 к капле 2, i_{23} — от капли 2 к капле 3. Эта разность равна току, входящему в волокно из капли 2.

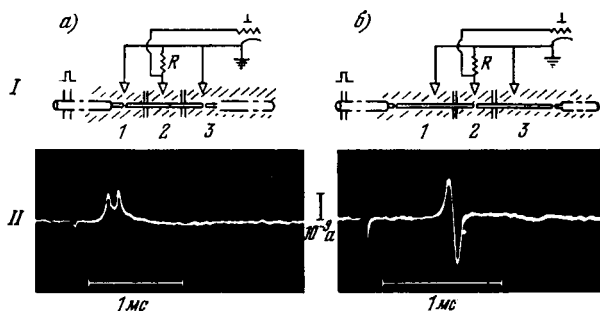


Рис. 4.12. Мембранный ток:

а — через участок аксона, расположенный между перехватами Ранвье, б — через перехват Ранвье. Отклонение осциллограммы вверх соответствует выходящему току.

В первом опыте радиальный ток направлен наружу, что объясняется пассивным разрядом миелинизированного участка через перехват. Правый перехват разряжается позже левого, соответственно на осциллограмме видны два пика. Во втором опыте первая фаза тока направлена наружу, что означает пассивную деполяризацию перехвата. Во второй фазе ток направлен внутрь — перехват Ранвье находится в активном состоянии. Эти опыты однозначно подтверждают теорию (дальнейшие подробности см. в [3, 6, 18, 19]).

Мембранная теория в целом непосредственно подтверждается опытами с перфузией аксонов. Оказалось возможным выдавить аксоплазму из гигантского аксона *Loligo* без повреждения мембраны и заменить аксоплазму искусственными растворами (см. [3, 6, 20—22]). Перфузированные аксоны способны проводить до 10^5 — 10^6 импульсов в течение нескольких часов.

Потенциал покоя исчезает при равенстве наружной и внутренней концентраций калия. При замене в аксоплазме KCl на NaCl потенциал покоя падает до нуля. В то же время потенциал покоя малочувствителен к концентрациям K^+ , меньшим 20 мМ (см. также § 3.6). Перфузионные опыты показывают, что потенциал покоя действительно регулируется ионами калия.

При указанной замене KCl на NaCl и значительном увеличении концентрации K (до 600 мМ) создается положение, обратное нормальному, и внутренняя часть волокна заряжается положительно, а не отрицательно по отношению к наружной среде. И в самом деле, при заполнении волокна, погруженного в изотонический раствор KCl, таким же раствором NaCl внутренний раствор заряжен положительно по отношению к наружному и ф составляет 50—60 мВ.

Прямые опыты с мечеными атомами показывают, что проведение импульса связано с возрастанием скорости движения калия и натрия по градиентам концентрации. В гигантском аксоне каракатицы *Sepia* при каждом импульсе наблюдается входящий поток Na^+ , равный $10,3 \cdot 10^{-12}$ моль/см², и выходящий поток $6,6 \cdot 10^{-12}$ моль/см². Чистый вход Na^+ $3,7 \cdot 10^{-12}$ моль/см² за импульс примерно равен выходу K^+ . Действительно, для изменения напряжения конденсатора емкостью 1 мкФ на 120 мВ нужен заряд $0,12 \cdot 10^{-6}$ Кл, что эквивалентно $1,3 \cdot 10^{-12}$ моль/см² одновалентного катиона. Таким образом, измеренный вход Na^+ более чем достаточен для возникновения потенциала действия.

За один импульс в немиелинизированном аксоне через 1 мкм² поверхности проходит около 20 000 ионов Na^+ . В миелинизированном аксоне за один импульс через каждый перехват Ранвье входит $6 \cdot 10^6$ ионов Na^+ . Площадь мембраны в перехвате примерно равна 20 мкм², следовательно, через 1 мкм² проходит 300 000 ионов Na^+ . Плотность ионного тока в перехвате примерно в 10 раз больше, чем в немиелинизированных гигантских аксонах.

Мембранная теория встречается, однако, с трудностями при попытках объяснить тепловые явления в нерве. Согласно мембранной теории генерация импульса происходит за счет свободной энергии, определяемой градиентом концентрации ионов Na^+ . Если перенос ионов адиабатичен, то система, совершая электрическую работу, должна охлаждаться. Однако оказалось, что во время генерации импульса сначала происходит нагревание нерва, за которым следует охлаждение [23]. Аналогичное явление наблюдается при разряде электрического органа угря на внешнее сопротивление [24]. Эти тепловые явления до сих пор не объяснены. Несомненно, что мембрана аксона представляет собой диссипативную систему, и можно думать, что к рассмотрению генерации нервного импульса применима неравновесная термодинамика. Соответствующая теория еще не построена, она должна описать и теплопродукцию нерва. Подлинное объяснение этих явлений требует, однако, раскрытия их молекулярных механизмов.

В заключение приведем электрические характеристики миелинизированного нервного волокна лягушки (табл. 4.3) [3].

Т а б л и ц а 4.3

Электрические характеристики аксона

| | |
|--|----------------------------------|
| Диаметр волокна | 14 мкм |
| Толщина миелиновой оболочки | 2 мкм |
| Расстояние между перехватами Ранвье | 2 мм |
| Площадь мембраны в перехвате Ранвье | 22 мкм ² |
| Сопротивление на единицу длины осевого цилиндра | 140 МОм/см |
| Удельное сопротивление аксоплазмы | 110 Ом·см |
| Емкость на единицу длины миелиновой оболочки | 10—16 пФ/см |
| Емкость на единицу площади миелиновой оболочки | 0,0025—0,005 мкФ/см ² |
| Диэлектрическая проницаемость миелиновой оболочки | 5—10 |
| Удельное сопротивление миелиновой оболочки | 500—800 МОм/см |
| Емкость перехвата Ранвье | 0,6—1,5 пФ |
| Емкость на единицу площади перехвата Ранвье | 3—7 мкФ/см ² |
| Сопротивление перехвата Ранвье в покое | 40—80 МОм |
| Сопротивление, умноженное на единицу площади мембраны в перехвате Ранвье | 10—20 Ом·см ² |
| Потенциал действия | 116 мВ |
| Потенциал покоя | 71 мВ |
| Максимальная плотность входящего тока | 20 мА/см ² |
| Скорость проведения | 23 м/с |

§ 4.2. РАСПРОСТРАНЕНИЕ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Прежде чем исследовать процессы, определяющие генерацию нервного импульса, рассмотрим его распространение. Известны более простые электрохимические процессы, весьма сходные с движением нервного импульса. Их изучение весьма поучительно. В частности, такой процесс происходит при погружении железной проволоки в концентрированную азотную кислоту. Железо при этом не растворяется, так как на его поверхности образуется пассивирующая пленка окисла. Если разрушить пленку в каком-нибудь месте, то идет бурная реакция растворения. Этот процесс распространяется вдоль проволоки, движется фронт активации, за которым следует фронт репассивации. Оствальд первым обратил внимание на сходство этого процесса с распространением возбуждения по аксону [25]. Далее явление было подробно изучено Лилли [26], именем которого была названа эта модель. Действительно, процесс характеризуется пороговым значением тока, наличием рефрактерности и т. д. Электрохимия явления была изучена Бонхеффером и Феттером (см. [27]), Бонхеффер начал соответствующие теоретические исследования [28, 29] (см. также работы Ямагивы,

посвященные этим явлениям в сложных геометрических структурах из неоднородных проволок [30], работу Смолянинова [31] и др.).

Модель Лилли была исследована теоретически на основе рассмотрения физико-химических процессов [32—35].

Процесс активации начинается при пороговом значении потенциала, ниже которого окисная пленка устойчива. Разрушение пленки происходит неравномерно, площадь пассивных участков сокращается, так как растворение железа способствует дальнейшей активации поверхности. Далее возникает репассивация, так как накапливающаяся азотистая кислота усиливает окислительную активность азотной кислоты. Потенциал снижается и наконец становится ниже порогового. Распространение импульса активации объясняется действием локальных токов, текущих из зоны активного растворения железа и запускающих механизм активации. Теория раскрыла аналогию модели Лилли и распространения нервного импульса. Получено количественное согласие с опытом (см. [36]).

Другая электрохимическая модель, проявляющая свойство возбуждмости — мембранный осциллятор Теорелла [37]. Система состоит из двух ячеек, заполненных электролитом разной концентрации и разделенных мембраной из пористого стекла, содержащей связанные отрицательные заряды. С помощью внешних электродов пропускается постоянный ток, создающий мембранную разность потенциалов. При больших токах в системе возникают периодические колебания мембранного потенциала и сдвинутые по фазе колебания уровня жидкости. Это — нелинейные электрокинетические явления, которые рассматриваются в гл. 8. Здесь мы укажем, что на основе модели Теорелла была построена протяженная система, в которой волна возбуждения распространялась вдоль мембраны [38]. Теория распространения возбуждения в системе Теорелла развита в работах [39] (см. также [35]).

Электрохимические модели не адекватны мембранной системе аксона. Однако решение соответствующих задач математической физики имеет единую основу. Поэтому теория распространения нервного возбуждения действительно оказывается во многом подобной теории распространения возбуждения в указанных моделях (см. [40]).

Нервное возбуждение можно разбить на ряд стадий. Процесс начинается с локальной генерации потенциала действия. Далее импульс распространяется по нервным волокнам — аксонам — и по синцитиям, т. е. по системам, состоящим из многих волокон, причем импульс может переходить с одного волокна на другое. Синцитиальное строение свойственно гладким мышцам, выстилающим полые органы животных. Нервное возбуждение

переходит от одного нейрона к другому посредством синаптической передачи, природа которой представляет особую проблему.

Прежде чем рассмотреть генерацию импульса, определяемую физико-химическими процессами в активной мембране, обратимся к физической трактовке распространения импульса. Эта задача в некоторых отношениях имеет более простой и определенный характер. Она исследовалась в ряде теоретических работ, основанных на различных моделях возбуждения. Укажем, в частности, на модель Рашевского [41], в которой вводились два параметра. Эта модель позволяла описать распространение возбуждения, исходя из того, что каждая область нервного волокна после достижения порога генерирует постоянный продольный ток. Сходная модель принадлежит Раштону [42], рассмотревшему эквивалентную электрическую схему мембраны. Вайнберг показал, что для определения скорости распространения импульса нет надобности детально рассматривать его генерацию [43].

В работах Насонова развита так называемая градуальная теория нервного импульса, согласно которой по мере увеличения интенсивности раздражения постепенно нарастает электрическая реакция [44] (см. также [45]). Существенным результатом этих работ было предсказание возможности существования двух бегущих импульсов — устойчивого и неустойчивого. Необходимо также указать на модельную теорию, предложенную в работах [46—49], в которых движущийся импульс представлялся генератором э. д. с., включаемым при достижении порогового потенциала, причем вводилось входное сопротивление невозбужденной области и внутреннее сопротивление генератора. Были получены важные качественные результаты. Скорость распространения импульса удалось вычислить путем введения еще одного параметра [41].

Важное значение имели работы Ходжкина и Хаксли [3, 50]. Они решали всю проблему теоретического расчета как формы потенциала действия, так и скорости распространения импульса в аксоне.

Исходное уравнение для мембранного тока, возникающего в однородном участке в ответ на изменение потенциала, можно написать в виде

$$I_m = C \frac{d\varphi}{dt} + I_i, \quad (4.7)$$

где φ — разность потенциалов между обеими сторонами мембраны аксона, $C \frac{d\varphi}{dt}$ — емкостный ток, связанный с изменением плотности ионов на наружной и внутренней поверхностях

мембраны, I_i — ионный ток, определяемый движением через мембрану заряженных частиц. В аксоне кальмара I_i состоит из токов ионов Na^+ и K^+ (I_{Na} и I_{K}) и тока утечки I .

Ходжкин и Хаксли показали экспериментально, что эти ионные токи линейно зависят от соответствующих разностей потенциалов

$$I_{\text{Na}} = g_{\text{Na}} (\varphi - \varphi_{\text{Na}})$$

и т. д. Теория Ходжкина и Хаксли основывается на раздельном рассмотрении калиевого и натриевого компонентов ионного тока [51]. Для их измерения применялся метод фиксации напряжения (voltage clamp). Воспользуемся моделью, показанной на рис. 4.10. Замыкая мембрану металлической проволокой, можно резко уменьшить мембранный потенциал до нуля. Конденсатор C разряжается и после этого ток создается лишь ионами, проходящими через R_{Na} и R_{K} . При резкой деполяризации мембраны до некоторого значения потенциала, лежащего между 20 и 110 мВ, общий ионный ток сначала представляет собой входной ток Na^+ по градиенту концентрации, спустя примерно 1 мс этот ток уменьшается и возникает выходной ток K^+ . Если общая разность потенциалов равна φ_{Na} , наблюдается только калиевый ток. При $\varphi > \varphi_{\text{Na}}$ натриевый ток направлен наружу. Разделение тока на компоненты можно провести, изменяя концентрации ионов Na^+ и K^+ . На рис. 4.13 показаны наблюдаемые кривые $I(t)$ [3]. Если аксон погружен в морскую воду, полный ток $I = I_{\text{Na}} + I_{\text{K}}$ изображается кривой 1. При замене Na^+ холином наблюдается чистый калиевый ток (кривая 2). Разность этих двух кривых $3 = I - 2$ дает I_{Na} . При быстром изменении потенциала внутри волокна на +56 мВ («короткое замыкание» мембраны) натриевая проводимость g_{Na} сначала быстро растет от нуля до $25 \cdot 10^{-3} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$, а затем убывает (рис. 4.14) [3]. Калиевая проводимость медленно возрастает, следуя S-образной кривой, и через 5—6 мс достигает постоянного уровня. При реполяризации мембраны g_{Na} убывает значительно быстрее, чем g_{K} . При различных смещениях мембранного потенциала наблюдается закономерное изменение кривых $g_{\text{Na}}(t)$ и $g_{\text{K}}(t)$. Калиевая и натриевая проводимости мембраны аксона существенным образом зависят от присутствия ионов Ca^{++} (см. § 4.3).

Удовлетворительное описание наблюдаемых изменений удалось получить при несколько искусственных предположениях [48, 50, 51]. Ходжкин и Хаксли исходили из того, что K^+ может проходить через мембрану лишь в том случае, если к определенному ее участку под влиянием электрического поля подойдут четыре однозарядные частицы. Проводимость для K^+ равна

$$g_{\text{K}} = \bar{g}_{\text{K}} n^4, \quad (4.8)$$

где \bar{g}_K — максимальная проводимость, $n < 1$ — вероятность под-
хода предполагаемой частицы. Кинетическое уравнение для n
имеет вид

$$\dot{n} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n, \quad (4.9)$$

где константы скорости α_n и β_n при постоянной концентрации
ионов Ca^{++} зависят только от мембранного потенциала. При
возрастании положительного потенциала внутри волокна α_n
увеличивается, β_n — уменьшается.

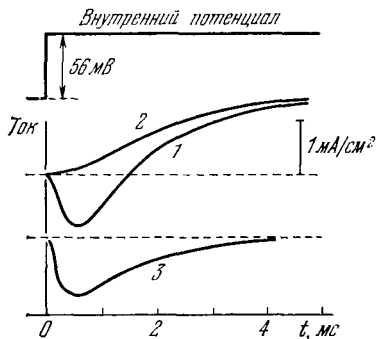


Рис. 4.13. Разделение мембранного тока I на калиевый и натриевой компоненты [3].

$1 - I = I_{Na} + I_K$, 2 — натрий заменен хлоридом, $3 = I - 2$, $1 = I_{Na}$. Отклонение вверх — выходящий ток.

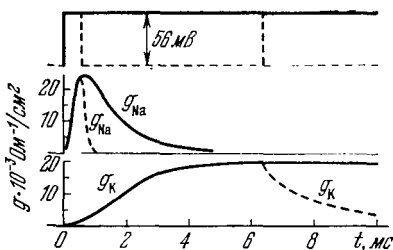


Рис. 4.14. Изменение g_{Na} и g_K при деполяризации мембраны на 56 мВ.

Сплошные линии — проводимость при длительной деполяризации, пунктир — проводимость при реполяризации мембраны через 0,6 и 6,3 мс.

Следующее предположение состоит в том, что натриевый канал открывается, если одновременно в данный участок попадают три активирующих частицы и удаляется одна блокирующая. Обозначив вероятность прихода активирующей частицы через m и вероятность удаления блокирующей частицы через h , получаем

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} m^3 h. \quad (4.10)$$

Для m и h записываются уравнения, аналогичные (4.9):

$$\dot{m} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m, \quad (4.11)$$

$$\dot{h} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h. \quad (4.12)$$

Когда внутренняя часть аксона становится положительной, α_m и β_h возрастают, β_m и α_h убывают.

При фиксированном напряжении все α и β постоянны; следовательно, n , m и h экспоненциально зависят от времени.

Расчет кривых зависимости g_K и g_{Na} от t и φ по формулам (4.8) — (4.12) дает прекрасное согласие с опытом.

Полный мембранный ток дается выражением (ср. (4.7))

$$I = C \frac{\partial \varphi}{\partial t} + (\varphi - \varphi_K) \bar{g}_K n^4 + (\varphi - \varphi_{Na}) \bar{g}_{Na} m^3 h + (\varphi - \varphi_y) \bar{g}_y, \quad (4.13)$$

где C — емкость мембраны на единицу площади.

Первый член (4.13) — емкостный ток, \bar{g}_y — проводимость для ионов Cl^- и других ионов, отвечающая утечке. Вызовем потенциал действия коротким импульсом. После окончания раздражения и радиальный и продольный токи в данном участке аксона равны нулю. Следовательно, $I = 0$ для $t > 0$. Зависимость $\varphi(t)$ находится из (4.13), если взять в качестве граничного условия начальное значение φ . Теория дает хорошее согласие с опытом (рис. 4.15) [3].

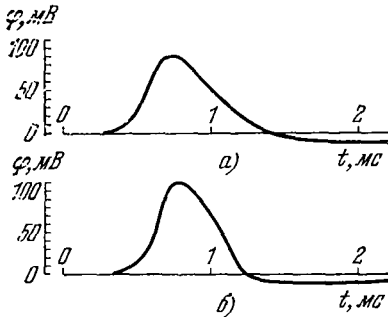


Рис. 4.15. Распространяющиеся потенциалы действия. а — теория, б — опыт (аксон кальмара при 18,5 °С).

ном состоянии ток, втекающий в рассматриваемый участок, равен нулю. Имеем

$$\frac{\pi a^2}{R_a} \left\{ -\frac{\partial \varphi}{\partial x} + \left(\frac{\partial \varphi}{\partial x} + \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} l \right) \right\} = 2\pi a l I, \quad (4.14)$$

где I дается уравнением (4.13). В левой части (4.14) фигурирует дивергенция продольного тока, справа — мембранный ток. Если импульс распространяется со скоростью v , то справедливо волновое уравнение

$$\frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} = \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial t^2} \quad (4.15)$$

и из (4.13) — (4.15) следует уравнение Ходжкина — Хаксли

$$\frac{a}{2R_a v^2} \frac{d^2 \varphi}{dt^2} = C \frac{d\varphi}{dt} + (\varphi - \varphi_K) \bar{g}_K n^4 + (\varphi - \varphi_{Na}) \bar{g}_{Na} m^3 h + (\varphi - \varphi_y) \bar{g}_y. \quad (4.16)$$

Численное решение (4.16), отвечающее конечным значениям φ , дает скорость v , хорошо совпадающую с опытной. Так, для аксона кальмара скорость, вычисленная с помощью опытных

значений a , R_a , C , φ_K , φ_{Na} , g_K , g_{Na} , g_y равна 18,8 м/с. Эксперимент дает 21,2 м/с. При этом значении v потенциал после окончания спайка возвращается к уровню покоя.

Теория Ходжкина — Хаксли привела к несомненному успеху. Однако она чрезмерно сложна. В теории фигурируют четыре параметра: φ , n , m , h из которых лишь φ имеет прямой физический смысл и может быть измерен. Приведенное толкование величин n , m , h имеет лишь условный характер.

В ходе дальнейших исследований удалось разделить и упростить задачу. Оказывается, что при расчете скорости распространения импульса можно отвлечься от его точной формы и рассмотреть движение импульса по электрическому кабелю, образуемому мембраной аксона и характеризуемому определенными значениями сопротивления и емкости. Индуктивность волокна существенной роли не играет [52]. Соответствующие подходы реализованы, в частности, в работах Компанейца [53, 54]. Предполагается, что при распространении импульса можно различать четыре фазы. Во-первых, разность потенциалов возрастает от своего значения в покое φ_0 до порогового значения φ' . Во-вторых, она возрастает с φ' до φ^* — до потенциала действия. Затем система возвращается к исходному потенциалу φ_0 , и, наконец, переходит в рефрактерное состояние. Скорость распространения одиночного импульса определяется лишь первыми двумя фазами, в которых потенциал нарастает. Задавшись прямоугольным начальным импульсом тока и учитывая значения емкости и сопротивления на единицу длины аксона и его радиус, удастся вычислить скорость распространения как в немиелинизированном, так и в миелинизированном аксоне в разумном согласии с опытом. Полученные зависимости скорости от названных параметров следуют и непосредственно из соображений размерности.

Дальнейшее развитие теории распространения импульса проведено в работах Маркина, Чизмаджева и др. [35, 39, 55—57, 98, 99].

Распространение возбуждения по немиелинизированному однородному волокну описывается общим уравнением

$$\frac{\partial \varphi(x, t)}{\partial t} = \frac{1}{RC} \frac{\partial^2 \varphi(x, t)}{\partial x^2} - \frac{I}{C}, \quad (4.17)$$

где φ — потенциал мембраны, отсчитываемый от потенциала покоя, R — сумма внешнего и внутреннего сопротивлений на единицу длины волокна, C — емкость, отнесенная к единице длины волокна, I — ионный ток, текущий через мембрану (также отнесенный к единице длины волокна). $I > 0$, если ток течет наружу.

Ионный ток — знакопеременная величина. Сразу по достижении порога он течет внутрь волокна, а спустя некоторое время меняет направление и течет наружу. Действительно, потенциал мембраны после прохождения импульса возвращается к исходному значению. Соответственно делается наиболее простое предположение о токе, текущем через мембрану при ее возбуждении. Ионный ток аппроксимируется двумя прямоугольными «столиками» (рис. 4.16). Импульс тока, направленный внутрь, имеет модуль j_1 и продолжительность τ_1 , следующий за

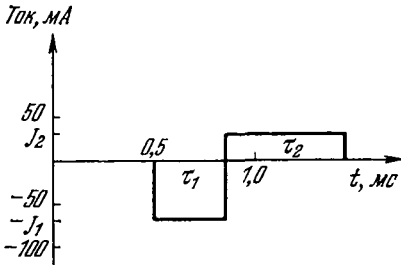


Рис. 4.16. Аппроксимация ионного тока при возбуждении мембраны.

ним импульс j_2 направлен наружу и имеет продолжительность τ_2 . В работах [53, 54] в сущности рассматривается лишь импульс j_1 . Кроме того, учитывается утечка тока через пассивную проводимость мембраны, дающая вклад φ/r_m , где r_m — сопротивление мембраны единицы длины аксона в состоянии покоя.

Таким образом, проблема четко сформулирована как задача математической физики. Ищем волновое решение уравнения (ср. стр. 180). Вводим координату $\xi = x - vt$, где v — скорость распространения импульса. Уравнение (4.17) переписывается в виде

$$\frac{d^2\varphi(\xi)}{d\xi^2} + vRC \frac{d\varphi(\xi)}{d\xi} - Rl(\xi) = 0. \quad (4.18)$$

При условии $\varphi(\infty) = 0$ и условии конечности φ при $\xi \rightarrow -\infty$ решения уравнения (4.18) записывают следующим образом:

В области $\xi > 0$

$$\varphi(\xi) = \frac{R}{2B(A+B)} \{j_1 + j_2 \exp[-v(\tau_1 + \tau_2)(A+B)] - (j_1 + j_2) \exp[-v\tau_1(A+B)]\} \exp[-(A+B)\xi] \quad (4.19)$$

(здесь и далее $A = \frac{1}{2}vRC$, $B = (\frac{1}{4}v^2R^2C^2 + R/r_m)^{1/2}$).

В области $-v\tau_1 \leq \xi \leq 0$

$$\varphi(\xi) = \frac{R}{2B(A+B)} \{j_2 \exp[-v(\tau_1 + \tau_2)(A+B)] - (j_1 + j_2) \exp[-v\tau_1(A+B)]\} \exp[-(A+B)\xi] - \frac{Rj_1}{2B(B-A)} \exp[(B-A)\xi] + r_m j_1. \quad (4.20)$$

В области $-v(\tau_1 + \tau_2) \leq \xi \leq v\tau_1$

$$\varphi(\xi) = \frac{R}{2B(B-A)} \{(j_1 + j_2) \exp[v\tau_1(B-A)] - j_1\} \exp[(B-A)\xi] + \\ + \frac{Rj_2}{2B(A+B)} \exp[-v(\tau_1 + \tau_2)(A+B) - (A+B)\xi] - r_m j_2. \quad (4.21)$$

В области $\xi \leq -v(\tau_1 + \tau_2)$

$$\varphi(\xi) = \frac{R}{2B(B-A)} \{(j_1 + j_2) \exp[v\tau_1(B-A)] - \\ - j_2 \exp[v(\tau_1 + \tau_2)(B-A)] - j_1\} \exp[(B-A)\xi]. \quad (4.22)$$

Приравнявая напряжение $\varphi(0)$ в точке, где включен ток, порогу возбуждения φ' , получаем уравнение для скорости v

$$\frac{R}{2B(A+B)} \{j_1 + j_2 \exp[-v(\tau_1 + \tau_2)(A+B)] - \\ - (j_1 + j_2) \exp[-v\tau_1(A+B)]\} = \varphi'. \quad (4.23)$$

Надо еще учесть, что при возбуждении заряд, протекающий в одном направлении, равен заряду, протекающему в другом направлении

$$j_1\tau_1 = j_2\tau_2. \quad (4.24)$$

Уравнение (4.23) относительно v имеет два решения. На рис. 4.17 показаны кривые $\varphi'(v)$ для трех значений проводимости утечки g_y . Принятые параметры (аксон кальмара): $j_1 = 63$ мкА, $j_2 = 40$ мкА, $\tau_1 = 0,35$ мс, $\tau_2 = 0,55$ мс, $C = 0,157$ мкФ/см, удельное сопротивление аксоплазмы $\rho = 50$ Ом·см, диаметр аксона $d = 0,05$ см, $\varphi' = 18,5$ мВ. Прямая $\varphi' = 18,5$ мВ пересекает кривую $\varphi'(v)$ в двух точках при достаточно малых значениях g_y .

Считая экспоненты близкими к единице, находим большую (v_1) и меньшую (v_2) скорости

$$v_1 = \frac{j_1/(\varphi'RC^2) - 2/(r_mRC)}{(j_1/(\varphi'RC^2) - 1/(r_mRC))^{1/2}}, \quad (4.25)$$

$$v_2 = \left(\frac{2\varphi'}{Rj_1\tau_1(\tau_1 + \tau_2)} \right)^{1/2}. \quad (4.26)$$

Пренебрегая проводимостью мембраны в состоянии покоя, т. е. положив $r_m \rightarrow \infty$, находим

$$v_1^0 = \left(\frac{j_1}{\varphi'RC^2} \right)^{1/2}, \quad (4.27)$$

что совпадает с формулой Компанейца. Зависимость $v_1(d)$ следует из того, что $j_1 \sim d$, $R \sim d^{-2}$, $C \sim d$. Получаем $v \sim d^{1/2}$, что согласуется с опытом.

Решение v_1 устойчиво, v_2 — неустойчиво. Пусть скорость v_1 возросла на некоторую малую величину. Тогда, как видно из рис. 4.17, потенциал в средней точке импульса уменьшится и окажется ниже порогового значения φ' . В результате импульс замедлится. Если же v_1 уменьшится, то потенциал в передней точке будет превосходить порог и возбуждение начнет распространяться быстрее. Для v_2 справедливы обратные соотношения.

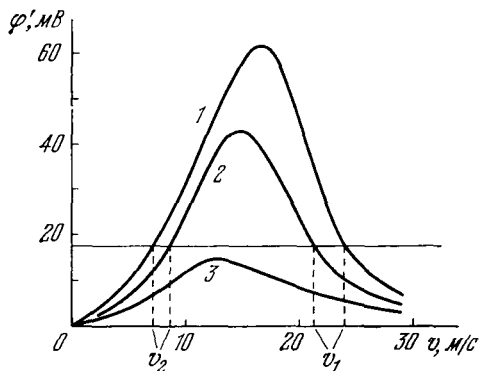


Рис. 4.17. Скорость распространения импульса при различных проводимостях уточки g_y :

$$1 - g_y = 0; \quad 2 - g_y = 1 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}; \quad 3 - g_y = 5,74 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}.$$

При расчете по формуле (4.27) при указанных значениях параметров получаем $v_1^0 = 23$ м/с; при расчете по формуле (4.25) с учетом опытного значения $r_m = 6,37 \cdot 10^3 \text{ Ом} \cdot \text{см}$ —

$v_1 = 21,5$ м/с. Опыт дает $v_1 = 21,2$ м/с. Совпадение превосходное (дальнейшие подробности см. в цитированных работах).

Таким образом, теория показывает, что скорость распространения импульса определяется

электрическими и геометрическими параметрами аксона и правильный результат получается практически независимо от формы исходного импульса. Для решения задачи о скорости распространения нет надобности пользоваться какими-либо специальными предположениями.

На тех же основаниях решается ряд других задач, относящихся к распространению возбуждения. Решение для волокна переменного сечения показывает, что по мере приближения к расширению волокна скорость импульса падает, а затем, после прохождения границы, асимптотически возрастает до постоянной величины. При обратном движении скорость возрастает по мере приближения к сужению, а затем падает до предельного значения. При определенном соотношении радиусов узкой и широкой части волокна происходит блокировка импульса в расширяющемся участке [35, 48].

Распространение одиночного возбуждения в ветвящемся волокне [35, 59] своеобразно в том смысле, что в случае разновременного подхода двух импульсов к точке ветвления происходит их синхронизация. При определенных условиях импульсы блокируются.

Развита теория взаимодействия нервных волокон в пучках и стволах [35, 60]. При возбуждении одного из волокон в соседних распространяются волны наведенного потенциала, изменяющие их возбудимость. Вероятность передачи возбуждения от одного волокна к другим оказывается малой, но при возбуждении сразу большого числа волокон возбуждение может перейти на соседние невозбужденные волокна тем легче, чем больше его радиус и чем меньше объем межклеточной жидкости. Вероятность такой передачи наиболее высока в неоднородных участках нервных стволов [35, 61]. Дана теория коллективного возбуждения одновременно раздражаемых параллельных волокон.

На тех же основаниях рассмотрено распространение возбуждения в синцитиях — в предельных случаях редкой и густой сети. Второй случай рассматривается в терминах сплошной возбудимой среды [35, 62]. Показано, что в таких средах возможны сложные режимы возбуждения типа ревербераторов (см. § 8.10).

Кратко перечисленные здесь результаты теоретического рассмотрения находятся в качественном согласии с опытными данными.

Таким образом, физико-математическая теория распространения нервного возбуждения не только объясняет обширную совокупность фактов, но позволяет выйти на подступы к исследованию нервной системы в целом. Биофизика встречается здесь с рядом задач, еще далеких от решения. Эти направления исследования ведут физику к познанию еще совершенно загадочных явлений, относящихся к высшей нервной деятельности.

§ 4.3. ГЕНЕРАЦИЯ ИМПУЛЬСА

Проблема генерации нервного импульса в ответ на раздражение аксона исследовалась экспериментально и теоретически во множестве работ. Ей посвящены фундаментальные монографии, среди которых назовем труды Ходжкина [3], Тасаки [6] и Ходорова [8, 94]. Эта проблема уже затрагивалась в §§ 4.1 и 4.2. Трудности ее изучения в значительной мере связаны с отсутствием прямой информации о соответствующих молекулярных процессах. Приходится строить теоретические и полуэмпирические модели, основанные на косвенных данных, полученных в опытах, в которых мембраны подвергаются различным физическим и химическим воздействиям.

Из формальных математических исследований, описанных выше, можно заключить, что распространение и генерация импульса определяются формой трансмембранного тока — спецификой его зависимости от потенциала и времени. В свою

очередь особенность вольт-амперной характеристики мембраны — наличие участка с отрицательным наклоном — является следствием зависимости Na- и K-проводимостей от потенциала на мембране. Следовательно, поиски физической сущности возбуждения сводятся к исследованию механизмов, определяющих зависимость проводимостей и потенциала от времени.

Проведем прежде всего полуэмпирическое рассмотрение основных характеристик генерации [63].

Рассмотрим возникновение потенциала действия в однородном участке нервного волокна. Так как на первом этапе деполя-

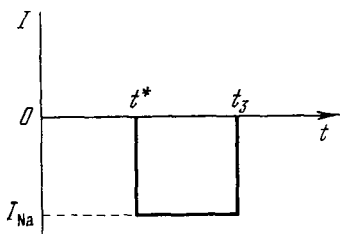


Рис. 4.18. Зависимость I_{Na} от времени.

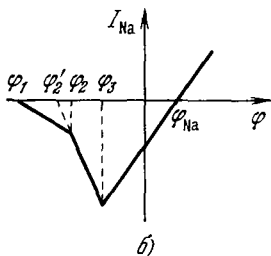
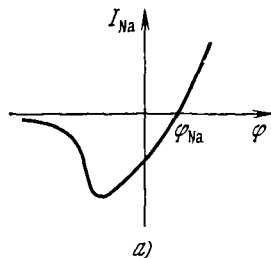


Рис. 4.19. Экспериментальная вольт-амперная характеристика (а) и ее аппроксимация логарифмической линией (б).

ризации K-проводимость очень мала, считаем ионный ток суммой тока утечки I_y и Na-тока I_{Na} . Ток утечки выражается по закону Ома как отношение изменения потенциала $\varphi \equiv \psi - \psi_0$ (ψ_0 — потенциал покоя) к сопротивлению мембраны R :

$$I_y = \varphi/R.$$

Зависимость I_{Na} от времени аппроксимируем прямоугольной «ямой», показанной на рис. 4.18, где t^* — момент достижения тока его пикового значения, t_3 — момент спада Na-тока.

Опыты при фиксированном потенциале показывают, что зависимость $I_{Na}(\varphi)$ нелинейна. Это обусловлено зависимостью $g_{Na}(\varphi)$. При мгновенном скачке потенциала проводимость g_{Na} не успевает измениться и, как показывают опыты Ходжкина и Хаксли [3], I_{Na} линейно зависит от разности потенциалов

$$I_{Na} = g_{Na}(\varphi - \varphi_{Na}). \quad (4.28)$$

Как мы видели, зависимость $g_{Na}(\varphi)$ S-образна. Причины этого

рассмотрены ранее в § 3.6. В результате наблюдается вольт-амперная характеристика с падающим участком (рис. 4.19, а). Заменим эту кривую ломаной линией (рис. 4.19, б) и введем g_1 , g_2 — абсолютные величины Na-проводимости

$$\left. \begin{aligned} g_1 &= \left| \frac{dI_{Na}}{d\varphi} \right| \quad \text{при } \varphi_1 < \varphi < \varphi_2, \\ g_2 &= \left| \frac{dI_{Na}}{d\varphi} \right| \quad \text{при } \varphi > \varphi_2. \end{aligned} \right\} \quad (4.29)$$

Вольт-амперная характеристика для пикового Na-тока описывается формулами

$$I_{Na} = \begin{cases} 0, & \varphi < \varphi_1, \\ -g_1(\varphi - \varphi_1), & \varphi_1 < \varphi < \varphi_2, \\ -g_2(\varphi - \varphi_2'), & \varphi_2' < \varphi < \varphi_3, \\ g_2(\varphi - \varphi_{Na}), & \varphi > \varphi_3, \end{cases} \quad (4.30)$$

причем $g_1 < g < g_2$, где $g = R^{-1}$. При возбуждении мембраны постоянным током от источника с напряжением $\tilde{\varphi}$ имеем $I = g\tilde{\varphi}$. Рассмотрим ответы мембраны на такое раздражение.

Если $\tilde{\varphi} < \varphi_1$, то $I_{Na} = 0$, $I_i = I_y$. Уравнение для мембранного тока $I_m = C \frac{\partial \varphi}{\partial t} + I_i$ принимает вид

$$C \frac{d\varphi}{dt} = g(\tilde{\varphi} + \varphi_0 - \varphi). \quad (4.31)$$

Его решение

$$\varphi - \varphi_0 = \tilde{\varphi} \left[1 - \exp\left(-\frac{g}{C} t\right) \right]. \quad (4.32)$$

Это уравнение описывает пассивное поведение мембраны при подпороговых стимулах. Величина стимула $\tilde{\varphi} = RI$ определяет предел, до которого растет φ . Если в момент $t = t_0$ стимулирующий ток выключается, то

$$C \frac{d\varphi}{dt} = g(\varphi_0 - \varphi)$$

с начальным условием

$$\varphi(t_0) = \varphi_0 + \tilde{\varphi} \left[1 - \exp\left(-\frac{g}{C} t_0\right) \right].$$

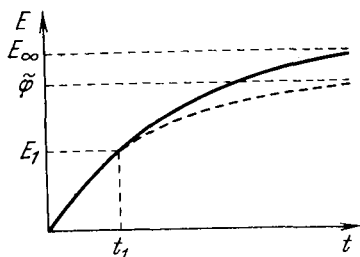
Решение дает быстро спадающее напряжение

$$\varphi - \varphi_0 = \tilde{\varphi} \left[\exp\left(\frac{g}{C} t_0\right) - 1 \right] \exp\left(-\frac{g}{C} t\right). \quad (4.33)$$

Если стимулирующий ток достаточно велик, то наступает момент $t = t_1$, в который растущий потенциал φ достигает величины φ_1 . Рассмотрим ответ на действие длительного стимула. Имеем

$$C \frac{d\varphi}{dt} = g\tilde{\varphi} - g(\varphi - \varphi_0) + g_1(\varphi - \varphi_1), \quad t \geq t_1. \quad (4.34)$$

Введем следующие обозначения: $E \equiv \varphi - \varphi_0$, $E_1 \equiv \varphi_1 - \varphi_0$. Решение (4.34) имеет вид



$$E = \tilde{\varphi} + \frac{\tilde{\varphi} - E_1}{g - g_1} \left[g_1 - g \exp \left[-\frac{g - g_1}{C} (t - t_1) \right] \right]. \quad (4.35)$$

Так как $g > g_1$, то величина $E(t)$ растет, если $\tilde{\varphi} > E_1$, до значения

$$E_\infty \equiv \lim_{t \rightarrow \infty} E = \tilde{\varphi} + \frac{g_1}{g - g_1} (\tilde{\varphi} - E_1) > \tilde{\varphi}. \quad (4.36)$$

Рис. 4.20. Изменение мембранного потенциала со временем при раздражении постоянным током.

Пунктирная кривая — пассивный ответ

Картина роста потенциала имеет вид, показанный на рис. 4.20.

Локальный ответ определяется как разность наблюдаемого сдвига потенциала и соответствующего пассивного ответа. Вычитая (4.32) из (4.35), находим

$$E_{\text{лок}} = \frac{\tilde{\varphi} - E_1}{g - g_1} \left[g_1 - g \exp \left[-\frac{g - g_1}{C} (t - t_1) \right] \right] + \tilde{\varphi} \exp \left(-\frac{g}{C} t \right). \quad (4.37)$$

Мы видим, что (ср. (4.32))

$$\lim_{t \rightarrow t_1} E_{\text{лок}} = 0, \quad \lim_{t \rightarrow \infty} E_{\text{лок}} = \frac{g_1}{g - g_1} (\tilde{\varphi} - E_1). \quad (4.38)$$

Вычисление производной дает

$$\left. \begin{aligned} \frac{dE_{\text{лок}}}{dt} &= \frac{g}{C} (\tilde{\varphi} - E_1) \exp \left(-\frac{g - g_1}{C} (t - t_1) \right) - \frac{g}{C} \tilde{\varphi} \exp \left(-\frac{g}{C} t \right), \\ \lim_{t \rightarrow t_1} \frac{dE_{\text{лок}}}{dt} &= 0; \quad \lim_{t \rightarrow t_1} \frac{d^2 E_{\text{лок}}}{dt^2} > 0. \end{aligned} \right\} \quad (4.39)$$

Из уравнений (4.37) — (4.39) следует, что локальный ответ имеет S-образную форму (рис. 4.21), как и наблюдается экспериментально [64].

Согласно уравнению (4.32)

$$\varphi_1 - \varphi_0 = E_1 = \bar{\varphi} \left(1 - \exp \left(-\frac{g}{C} t_1 \right) \right).$$

Исключив с помощью этого соотношения $\exp \left(-\frac{g}{C} t_1 \right)$ из уравнения (4.35), находим

$$E = \bar{\varphi} + \frac{\bar{\varphi} - E_1}{g - g_1} \left[g_1 - g \exp \left(-\frac{g - g_1}{C} t \right) \left(\frac{\bar{\varphi}}{\bar{\varphi} - E_1} \right)^{(g - g_1)/g} \right]. \quad (4.40)$$

Зависимость E от стимула $\bar{\varphi}$ нелинейна.

Расчет дает кривую $E(\bar{\varphi})$, показанную на рис. 4.22. Экспериментальная кривая имеет ту же форму [65].

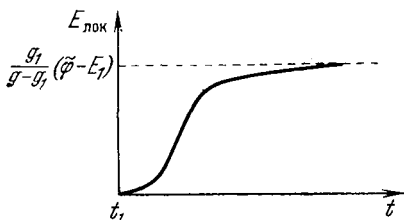


Рис. 4.21. Зависимость локального ответа от времени.

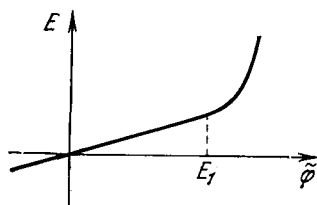


Рис. 4.22. Зависимость сдвига мембранного потенциала от приложенного стимула.

Мы видим, что рассматриваемая полуэмпирическая модель выявляет основные черты локального ответа: его S-образную зависимость от времени, градуальность, т.е. зависимость от величины стимула, и нелинейный характер этой зависимости. Все эти черты обусловлены появлением тока через мембрану, определяемого отрицательной дифференциальной проводимостью, абсолютная величина которой g_1 меньше мембранной проводимости g .

В отличие от того, что наблюдается в эксперименте, наша модель приводит к появлению «порога» для локального ответа. Причиной этого является упрощение, согласно которому в точке «порога» происходит излом проводимости. На самом деле выключение Na-тока происходит плавно, что должно повлечь за собой превращение точки перехода в некоторую область неперехода.

Допустим теперь, что предел E_∞ , к которому стремится сдвиг потенциала, превышает величину φ_2 . Система оказывается в области, где Na-ток определяется отрицательной дифференциальной проводимостью, абсолютная величина которой $g_2 > g$. Так как $g > g_1$, можно считать $g_2 \gg g_1$. Пиковый Na-ток на

этом участке записывается в виде $I_{\text{Na}} = -g_2(\varphi - \varphi_2)$. Изменение мембранного потенциала описывается уравнением

$$C \frac{d\varphi}{dt} = g\bar{\varphi} - g(\varphi - \varphi_0) + g_2(\varphi - \varphi_2), \quad (4.41)$$

Рассмотрим действие длительного стимула. В этом случае момент t_2 , с которого начинается «действие» уравнения (4.41), приходится на участок подъема потенциала, описываемый уравнением (4.35). Решение уравнения (4.41) имеет вид

$$\varphi = -\frac{g}{g_2 - g}(\bar{\varphi} + \varphi_0) + \frac{g_2}{g_2 - g}\varphi_2 + \left[\varphi(t_2) + \frac{g}{g_2 - g}(\bar{\varphi} + \varphi_0) - \frac{g_2}{g_2 - g}\varphi_2 \right] \exp\left[\frac{g_2 - g}{C}(t - t_2) \right]. \quad (4.42)$$

Показатель экспоненты здесь положителен. Функция φ растет неограниченно или падает в зависимости от знака предэкспоненциального множителя. Если к моменту t_2 потенциал равен φ_2 , то предэкспоненциальный множитель положителен при условии $\varphi > \varphi_2 - \varphi_0$. Таким образом, начинается рост потенциала, не ограниченный величиной стимула. Потенциал растет вплоть до момента времени $t = t_3$, когда вследствие инактивации мембраны Na-ток падает. Если к этому времени прекратилось действие стимула, то поведение системы описывается уравнением

$$C \frac{d\varphi}{dt} = -g(\varphi - \varphi_0),$$

решение которого имеет вид

$$E = E(t_3) \exp\left[-\frac{g}{C}(t - t_3) \right].$$

Потенциал падает экспоненциально до уровня потенциала покоя. Весь ход $\varphi(t)$ представляется кривой, изображенной на рис. 4.23.

Перейдем к рассмотрению поведения мембранного потенциала при малой длительности стимула t_0 . Для простоты пренебрежем вкладом локального ответа в пороговый сдвиг мембранного потенциала, так как этот ответ просто суммируется с изотоническим ответом на раздражение постоянным током. Пусть действие стимула прекращается еще на изотоническом этапе развития мембранного потенциала. К моменту $t = t_2$ потенциал достигает величины φ_2 , но Na-ток не включается, пока не пройдет отрезок времени, равный некоторому лаг-периоду Δt . Но за это время действие стимула прекращается и начинается падение потенциала. Если к моменту времени $t = t_2 + \Delta t$

он не станет меньше φ_2 , т. е.

$$\varphi(t_2 + \Delta t) = \varphi_0 + \bar{\varphi} \left[\exp\left(\frac{g}{C} t_0\right) - 1 \right] \exp\left[-\frac{g}{C} (t_2 + \Delta t)\right] \geq \varphi_2, \quad (4.43)$$

то включается Na-ток, дающий импульс (спайк), и наблюдается картина развития потенциала, показанная на рис. 4.24.

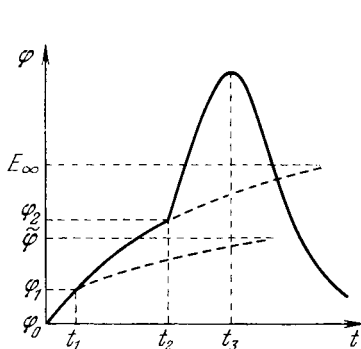


Рис. 4.23. Развитие мембранного потенциала во времени при длительном возбуждении током надпороговой величины.

t_1 —момент начала локального ответа, t_2 —момент включения Na-тока, соответствующего большой отрицательной дифференциальной проводимости, t_3 —момент отключения Na-тока.

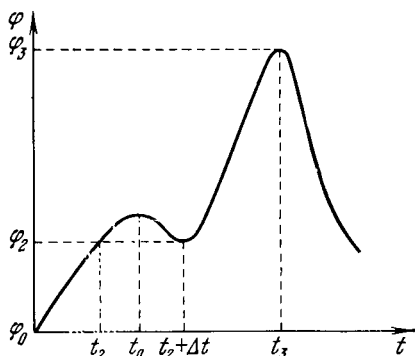


Рис. 4.24. Развитие мембранного потенциала во времени при раздражении импульсом постоянного тока длительностью t_0 .

Из уравнения (4.43) можно получить соотношение между пороговой силой тока I и длительностью его действия

$$I = \frac{E_2 g \exp\left[\frac{g}{C} (t_2 + \Delta t)\right]}{\exp\left(\frac{g}{C} t_0\right) - 1}. \quad (4.44)$$

Так как t_2 —время достижения φ_2 при пассивном росте потенциала, то из уравнения (4.32) следует

$$\frac{\bar{\varphi} - E_2}{\bar{\varphi}} = \frac{I - gE_2}{I} = \exp\left(-\frac{g}{C} t_2\right)$$

и подстановка этого соотношения в (4.44) дает зависимость между силой тока и длительностью импульса

$$I = E_2 g \left(1 + \frac{\exp\left(\frac{g}{C} \Delta t\right)}{\exp\left(\frac{g}{C} t_0\right) - 1} \right). \quad (4.45)$$

При очень малых t_0 получаем приближенно

$$I \approx \frac{E_2 C \exp\left(\frac{g}{C} \Delta t\right)}{t_0} \equiv Q/t_0, \quad (4.46)$$

где Q — количество электричества, проходящее через мембрану при очень коротких пороговых толчках тока. При очень большой длительности импульса пороговая сила тока равна $I_{II} = E_2 g$. Эта величина является реобазой (см. стр. 166). Характеристическое время τ_s определяется соотношением

$$\tau_s \equiv Q/I_{II}. \quad (4.47)$$

С учетом уравнения (4.46) получаем

$$\tau_s = \frac{C}{g} \exp\left(\frac{g}{C} \Delta t\right). \quad (4.48)$$

Значение величины I/I_{II} в точке $t_0 = \tau_s$ равно

$$\frac{I}{I_{II}} \Big|_{t_0 = \tau_s} = 1 + \frac{\exp[(g/C) \Delta t]}{\exp[(g/C) \Delta t] - 1}. \quad (4.49)$$

Для аксона кальмара $RC = 0,7$ мс. Время $\Delta t \approx 0,3-0,4$ мс. Подстановка этих величин в (4.49) дает 1,36—1,42; экспериментально найденное значение равно 1,38 [66].

Соотношение «сила — длительность» в единицах реобазы имеет вид

$$\frac{I}{I_{II}} = 1 + \frac{\exp[(g/C) \Delta t]}{\exp[(g/C) t_0] - 1}. \quad (4.50)$$

Форма кривой определяется теми же двумя независимыми параметрами g/C и Δt . Теоретическая кривая (4.50) представлена на рис. 4.25. На ней нанесены экспериментальные точки из работы [66].

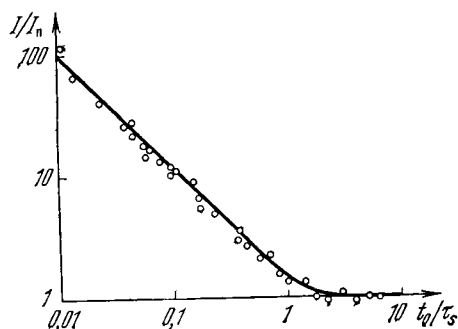


Рис. 4.25. Теоретическая кривая зависимости «сила — длительность» в двойном логарифмическом масштабе и экспериментальные точки.

На основе принятой модели показано, что развитие спайка на мембране аксона начинается с того момента, когда мембранный потенциал достигает величины, при которой дифференциальная проводимость отрицательна и превышает по абсолютной величине проводимость мембраны. Теория дает правильное соотношение между силой тока и длительностью импульса.

§ 4.4. АКТИВАЦИЯ И ИНАКТИВАЦИЯ НАТРИЕВОЙ ПРОВОДИМОСТИ

Обратимся теперь к модельной теории активации и инактивации Na-проводимости. Такая теория предложена в работах [67—70].

В опытах на аксоне кальмара, проведенных методом фиксации напряжения на мембране, Ходжкин и Хаксли установили экспоненциальную зависимость между величиной начального изменения мембранного потенциала φ и пиковым значением натриевой проводимости g_{Na} [51]. Изменению φ на 4—6 мВ в сторону деполяризации отвечает e -кратное повышение g_{Na} . Можно предположить, что изменения ионной проводимости являются результатом влияния электрического поля на положение каких-то ионов в мембране. Считая, что проводимость g_{Na} пропорциональна доле этих ионов, смещенных мембранным потенциалом из исходного положения, получаем

$$g_{Na} = \frac{g_{Na, \max}}{1 + b \exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT)}, \quad (4.51)$$

где z — валентность гипотетического иона, α — число, выражающее долю напряжения φ , действующего на ион при его перемещении, b — множитель, не зависящий от φ . В области $\varphi < 0$ получаем асимптотически

$$\ln g_{Na} \approx \text{const} + z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT. \quad (4.52)$$

Из начального угла наклона экспериментальной прямой $\ln g_{Na}(\varphi)$ получается $z\alpha \approx 6$ [51]. Параметр $z\alpha$ можно определить также из центральной части кривой (4.51) по ее наклону в точке $g_{Na} = 0,5g_{Na, \max}$ [67]. Формула (4.51) хорошо согласуется с многочисленными экспериментальными данными, полученными на различных аксонах [71—73]. Параметр $z\alpha$, найденный по (4.52), имеет, согласно этим работам, значения от 3,6 до 6, по (4.51) — от 2 до 4,4. Среднее значение $z\alpha$ равно 3,5.

Как уже сказано (см. стр. 178), Ходжкин и Хаксли предполагали, что эти гипотетические ионы определяют активацию и инактивацию каналов для натрия и калия. Была высказана гипотеза о том, что эти ионы — ионы Ca^{++} . Действительно, известно, что изменения концентрации Ca^{++} сильно влияют на возбудимость нервных и мышечных клеток [74] (см. гл. 5). Было показано, что при пятикратном изменении концентрации ионов Ca^{++} кривые зависимости g_{Na} , g_K и инактивации от φ смещаются вдоль оси напряжения на 10—15 мВ. Понижение c_{Ca} смещает кривые в сторону меньших φ . Концентрация Ca^{++} в растворе сильно влияет на скорость уменьшения g_{Na} при снятии деполяризации. В цитируемой выше работе было выдвинуто предположение о блокировании каналов в мембране ио-

нами Ca^{++} . Отношение доли p каналов, закрытых кальцием, к доле открытых каналов $1 - p$

$$p/(1 - p) \propto c_{\text{Ca}} \exp(-2\alpha\varphi\mathcal{F}/RT), \quad (4.53)$$

где $\alpha\varphi$ — напряжение, под влиянием которого ионы Ca^{++} перемещаются от внешнего раствора к месту закрытия канала. Если это место расположено в середине мембраны, то $\alpha = 0,5$, если у внутреннего края, то $\alpha = 1,0$. Согласно (4.53) e -кратное изменение c_{Ca} эквивалентно изменению φ не менее, чем на 12,5 мВ (если $\alpha = 1,0$). Между тем опыт дает от 4,5 до 9 мВ [71—73, 75].

Вторая трудность «кальциевой гипотезы» связана со значением $z\alpha$ в формуле (4.51). α всегда меньше 1, z для Ca^{++} равно 2. Между тем из экспериментального значения $z\alpha \approx 3,5$ следует, что $z \geq 4$. Предположение о том, что в блокировке каналов участвуют пары ионов Ca^{++} наталкивается на существенное противоречие — получается смещение кривой $g_{\text{Na}}(\varphi)$, значительно превышающее наблюдаемое на опыте [67].

В работах [6, 19] исследовалось возбуждение мембраны аксона с помощью метода перфузии. Было установлено, что разбавление внешнего раствора изотоническим неэлектролитом повышает потенциал покоя. Аналогичное разбавление внутреннего раствора не оказывает влияния. Напротив, замена Cl^- во внешнем растворе на Br^- , SO_4^- и т. д. не влияет на потенциал покоя, а во внутреннем растворе она влияет на него. Следовательно, на внешней стороне мембраны имеется много фиксированных отрицательных зарядов, а на внутренней их мало. Возрастание внешней концентрации двухвалентных катионов стабилизирует состояние покоя, а ее уменьшение приводит к заметным флуктуациям мембранного потенциала. Ионы Ca^{++} оказываются необходимыми для сохранения мембраны в состоянии покоя. На этих основаниях предполагается, что мембрана обладает свойствами катионообменника — в состоянии покоя доступные для обмена отрицательно заряженные центры на внешней стороне мембраны заняты двухвалентными ионами Ca^{++} . При стимуляции возникает ионный обмен. Процесс возбуждения можно считать подобным фазовому переходу макромолекул мембраны из одной устойчивой конформации в другую. Обмен ионов Ca^{++} на Na^+ развивается кооперативно. Возбуждение тригерно стимулируется переносом внутрь ионов Na^+ , замещающих внешние ионы Ca^{++} , причем изменяется физико-химическая структура мембраны.

Проведем, пользуясь методом молекулярного поля, анализ статистической модели возбудимой мембраны [67]. Представим мембрану как совокупность периодически расположенных ячеек, каждая из которых может находиться в проводящем или

непроводящем состоянии. Проводимость мембраны пропорциональна доле ячеек, находящихся в проводящем состоянии. Предположим, что энергия взаимодействия двух соседних ячеек равна ϵ_{11} , если их состояния одинаковы, и ϵ_{10} , если они различны. Разность $\epsilon \equiv \epsilon_{11} - \epsilon_{10}$ является параметром кооперативности. Каждая ячейка может присоединить ион валентности z , который при перемещении из раствора в мембрану пересекает поле с разностью потенциалов $\alpha\varphi$. Присоединение иона изменяет энергию ячейки на $U + z\alpha\varphi\mathcal{F}$ (в расчете на моль) и делает ячейку непроводящей. В приближении молекулярного поля получаем

$$\frac{p}{1-p} \exp[\nu\epsilon(2p-1)/RT] \approx c_{Ca} \exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT), \quad (4.54)$$

где ν — координационное число. Это выражение совпадает с (4.53) в отсутствие кооперативности (при $\epsilon = 0$). Из (4.54) следует, что

$$\left. \frac{dp}{d(\varphi\mathcal{F}/RT)} \right|_{p=0.5} = -\frac{z\alpha}{2(2-\beta)}, \quad \beta \equiv \frac{\nu\epsilon}{RT}, \quad (4.55)$$

а так как $g_{Na} \propto 1-p$, то

$$\left. \frac{d(g_{Na}/g_{Na, \max})}{d(\varphi\mathcal{F}/RT)} \right|_{g_{Na}=0.5g_{Na, \max}} = \frac{z\alpha}{2(2-\beta)}. \quad (4.56)$$

В отсутствие кооперативности, т. е. при $\beta = 0$, эта производная равняется $z\alpha/4$. Как уже сказано, опыт дает $z\alpha \approx 3,5$. Такой же наклон кривой $g_{Na}(\varphi)$ можно получить из формулы (4.56) при любых $z\alpha < 4$, если задать соответствующее значение $\beta > 0$. Таким образом, наклон кривой $g_{Na}(\varphi)$ можно объяснить при $z = 2$. Однако смещение кривой при изменении c_{Ca} с этим не согласуется. Из (4.54) следует условие смещения кривой

$$\ln c_{Ca} - z\alpha\varphi\mathcal{F}/RT = \text{const}$$

и величина изменения φ при e -кратном изменении c_{Ca} равна $\Delta\varphi = 25/z\alpha$ (в мВ) независимо от значения β . Совпадение этого значения $\Delta\varphi$ с опытом получается лишь при $z\alpha \approx 3,5$.

Отсюда следует, что одновременное объяснение двух, несомненно связанных друг с другом эффектов, — формы кривой $g_{Na}(\varphi)$ и смещения этой кривой при изменении c_{Ca} , нужно искать на основе другой модели. Резкое возрастание проводимости обусловлено перемещением внутри мембраны заряда величины $z \geq 4$, которое должно быть связано с десорбцией одного иона Ca^{++} . Если заряд совершает в поле работу $z\alpha\varphi\mathcal{F}$, где $z\alpha = 3,5$, то для получения согласия с опытом надо принять близкое к нулю значение β , т. е. малую кооперативность или ее отсутствие.

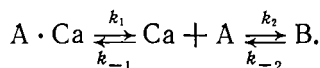
Модель, объясняющая основные экспериментальные факты, предложена в работе [68].

Допустим, что в мембране имеется N ячеек, каждая из которых содержит молекулу или группу молекул (активирующую частицу, способную находиться в состоянии*) А или В. Предположим, что переходы $A \rightleftharpoons B$ связаны с совершением работы в электрическом поле. Такие переходы могут состоять в перемещении заряженной молекулы, в поворотах диполей или в конформационном превращении макромолекулы, приводящем к одновременному перемещению нескольких зарядов. Последний вариант подтверждается опытами, свидетельствующими о наличии структурных изменений мембраны во время увеличения проницаемости [76, 77]. Если z — суммарный заряд, перемещаемый при переходе $A \rightarrow B$, то работа моля частиц равна $z\alpha\phi\mathcal{F}$. Предположим, что в состоянии А частица образует комплексы $A \cdot Ca$ с ионами Ca^{++} . В состоянии В активирующая частица обладает такой структурой или положением, что способствует прохождению иона Na^+ через мембрану. Перенос Na^+ лимитируется числом частиц в состоянии В. Обозначим числа активирующих молекул в состояниях А и В через x и y , а число комплексов $A \cdot Ca$ через s . Имеем

$$g_{Na} = ky.$$

Таким образом, исследование временных изменений проводимости при сдвиге ϕ сводится к изучению зависимости $y(t)$.

Модели отвечает схема реакций



Имеем

$$K_2 = k_{-2}/k_2 = q \exp(-z\alpha\phi\mathcal{F}/RT), \quad (4.57)$$

где q — фактор, не зависящий от поля.

Кинетические уравнения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{y} &= k_2x - k_{-2}y, \\ \dot{s} &= k_{-1}c_{Ca}x - k_1s, \\ x + y + s &= N. \end{aligned} \right\} \quad (4.58)$$

Из изложенного выше следует, что пиковой Na -проводимости соответствует значение y , близкое к равновесному значению y_{eq} . В стационарных условиях, т. е. при $\dot{y} = \dot{s} = 0$, из (4.58) получаем

$$y = y_{eq} = N/(1 + K_2 + K_1K_2c_{Ca}), \quad (4.59)$$

*) Здесь и далее сами частицы мы также будем обозначать через А, В и т. д.

где $K_1 = k_{-1}/k_1$. Учитывая значение K_2 , получаем

$$g_{\text{Na}} = ky_{\text{eq}} = g_{\text{Na}, \text{max}} / \left[1 + (1 + K_1 c_{\text{Ca}}) q \exp\left(-\frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT}\right) \right], \quad (4.60)$$

где $g_{\text{Na}, \text{max}} = kN$ (k — коэффициент пропорциональности). Как мы видели, экспериментальная форма кривой $g_{\text{Na}}(\varphi)$ хорошо описывается формулой такого вида, если $z\alpha \approx 3,5$. Смещение кривой (4.60) вдоль оси φ при изменении c_{Ca} дается условием

$$(1 + K_1 c_{\text{Ca}}) q \exp\left(-\frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT}\right) = \text{const}. \quad (4.61)$$

Если $K_1 \gg c_{\text{Ca}}^{-1}$, что согласуется с представлением о комплексах $A \cdot Ca$ как о резервуаре активных частиц [68], то из (4.61) следует

$$\ln c_{\text{Ca}} - \frac{z\alpha\mathcal{F}}{RT} = \text{const} \quad (4.62)$$

и величина $\Delta\varphi$ при e -кратном изменении c_{Ca} равна $RT/z\alpha\mathcal{F}$, что дает 7 мВ при $z\alpha = 3,5$. Это хорошо согласуется с опытом [71, 73, 75]. Такие же смещения кривой $g_{\text{Na}}(\varphi)$ вызывают другие двухвалентные ионы: Mg^{++} , Co^{++} , Cd^{++} , Ba^{++} , Zn^{++} и Ni^{++} . Очевидно, что они могут замещать Ca^{++} в рассматриваемой модели.

Кривая $g_{\text{Na}}(\varphi)$ смещается также при изменении рН [63]. При рН $< 5,5$ $\Delta\varphi = 13,5$ мВ, при рН $> 5,5$ $\Delta\varphi = 1,3$ мВ при e -кратном изменении концентрации H^+ . Если ионы H^+ могут попарно связываться активирующими частицами в состоянии А, то их требуется в два раза больше, чем ионов Ca^{++} . Условие смещения (4.62) приобретает вид

$$\ln(1 + K_1 [H^+]^2) - z\alpha\mathcal{F}/RT = \text{const} \quad (4.63)$$

и, если $K_1 [H^+]^2 \gg 1$, то

$$2 \ln [H^+] - z\alpha\mathcal{F}/RT = \text{const}. \quad (4.64)$$

Увеличение $[H^+]$ в e раз равносильно уменьшению φ на величину

$$\Delta\varphi = 2RT/z\alpha\mathcal{F} = 2RT/3,5\mathcal{F} = 14 \text{ мВ},$$

что совпадает с опытными данными в области рН $< 5,5$.

При малых $[H^+]$, если $K_1 [H^+]^2 \ll 1$, формула (4.63) также приводит к совпадению с опытом [68].

В нестационарных условиях решение уравнений (4.58) имеет вид

$$y(t) = y_0 + y_1 \exp(r_1 t) + y_2 \exp(r_2 t). \quad (4.55)$$

Кривая, описываемая (4.65), имеет S-образную форму (рис. 4.26), что согласуется с видом экспериментальной кривой $g_{Na}(t)$. Константы y_i и r_i зависят от параметров системы k_i , k_{-i} , N , c_{Ca} . Подобрав численные значения констант, можно добиться полного согласия теоретической кривой (4.60) с экспериментальной. Аналитическое исследование $y(t)$ позволяет установить зависимость начальной скорости изменения $g_{Na}(0)$ от c_{Ca} . Расчет дает эту начальную скорость [68]

$$\dot{g}_{Na}(0) = -k_{-1} N c_{Ca} K_2 / (1 + K_2). \quad (4.66)$$

Опыт подтверждает линейную зависимость скорости падения g_{Na} от c_{Ca} при снятии деполяризации. Действительно, понижение c_{Ca} в пять раз от 112 до 22 мм уменьшает скорость изменения g_{Na} также в пять раз, а от 112 до 4,4 мм — в 25 раз. Из формулы (4.66) следует также, что, компенсируя уменьшение c_{Ca} изменением φ так, чтобы произведение $K_2 c_{Ca}$ оставалось постоянным, мы должны наблюдать уменьшение скорости падения g_{Na} , потому что K_2 входит еще и в знаменатель.

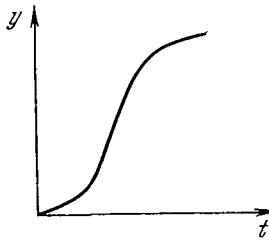


Рис. 4.26. График функции $y(t)$.

Та же модель позволяет рассчитать влияние c_{Ca} на кинетику подъема g_{Na} при возникновении деполяризации [68]. В согласии с опытом теория дает замедление скорости роста g_{Na} при увеличении c_{Ca} .

Таким образом, модель объясняет большую совокупность фактов, относящихся к Na-проводимости клеточной мембраны. Можно думать, что сходный физико-химический механизм определяет и изменения K-проводимости.

Рассмотрим теперь инактивацию Na-проводимости возбудимой мембраны.

Ходжкин и Хаксли высказали две альтернативных гипотезы о природе повышения g_{Na} [50]. Первая из них предполагает химическое превращение активирующих частиц после их перемещения из положения, которое они занимали при потенциале покоя. Вторая предполагает, что уменьшение g_{Na} обусловлено перемещением особых инактивирующих частиц, постепенно блокирующих каналы проводимости. Вторая гипотеза принята в теории Ходжкина — Хаксли (см. стр. 179). Модель, предложенная в работе [67], исходит из первой альтернативы.

При потенциале покоя активирующие частицы находятся преимущественно в состоянии S, когда они связаны с Ca^{++} и A. Эти состояния отвечают отсутствию Na-проводимости. При де-

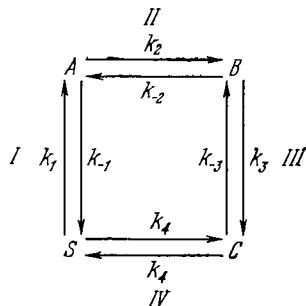
поляризации мембраны происходит переход $A \rightarrow B$ в проводящее состояние, связанный с перемещением заряда z в поле $\alpha\phi$. Из состояния B активирующая частица может переходить в неактивное состояние C . Этот переход не связан с перемещением заряда. После снятия деполяризации происходит переход $C \rightarrow S$ ($\equiv A \cdot Ca$) с работой заряда $z\alpha\phi\mathcal{F}$. Схема этих процессов показана на рис. 4.27. Соответствующая система кинетических уравнений имеет вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= k_1s - k_{-1}xc_{Ca} + k_{-2}y - k_2x, \\ \dot{y} &= k_{-3}u - k_3y - k_{-2}y + k_2x, \\ \dot{u} &= -k_{-3}u + k_3y + k_{-4}s - k_4uc_{Ca}, \\ x + y + u + s &= 1. \end{aligned} \right\} \quad (4.67)$$

Здесь x, y, u, s — доли молекул в состояниях A, B, C, S ($\equiv A \cdot Ca$) соответственно. c_{Ca} — концентрация Ca^{++} в омывающем растворе. Как уже сказано, $g_{Na} = ky$ (см. стр. 196). Исследование изменений g_{Na} во времени сводится к определению $y(t)$.

Считая, что в реакции II быстро устанавливается равновесие (это согласуется с наблюдаемым влиянием c_{Ca} на кинетику активации), заменим первое уравнение (4.67) на

$$x = K_2y, \quad (4.68)$$



где константа равновесия $K_i = k_{-i}/k_i$. Константы K_1 и K_3 , очевидно, не связаны с перемещением зарядов в поле и не зависят от ϕ . K_2 и K_4 должны зависеть от ϕ согласно формулам

Рис. 4.27. Схема процесса активации и инактивации Na-проводимости [59].

$$K_2 = q_2 \exp(-z\alpha\phi\mathcal{F}/RT); \quad K_4 = q_4 \exp(z\alpha\phi\mathcal{F}/RT). \quad (4.69)$$

Система уравнений (4.67) приводится к виду

$$\left. \begin{aligned} \dot{y} &= \frac{k_1}{1+K_2} \left[1 - \left(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2 + \frac{k_3}{k_1} \right) y - \left(1 - \frac{k_{-3}}{k_1} \right) u \right], \\ \dot{u} &= k_{-4} \left[1 - \left(1 + K_2 - \frac{k_3}{k_{-4}} \right) y - \left(1 + c_{Ca}K_1K_2K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) u \right]. \end{aligned} \right\} \quad (4.70)$$

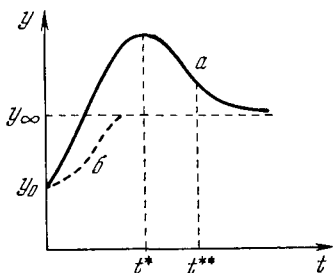
Нужно найти корни r_1, r_2 характеристического уравнения системы

$$r^2 + \left[\frac{k_1}{1+K_2} (1+K_2 + c_{Ca} K_1 K_2) + k_{-4} \left(1 + c_{Ca} K_1 K_2 K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) \right] r + \frac{k_1 k_{-4}}{1+K_2} \left[(1+K_2 + c_{Ca} K_1 K_2) \left(1 + c_{Ca} K_1 K_2 K_3 + \frac{k_{-3}}{k_{-4}} \right) - \left(1+K_2 - \frac{k_3}{k_{-4}} \right) \left(1 - \frac{k_{-3}}{k_1} \right) \right] = 0. \quad (4.71)$$

Комплексным корням соответствует переход системы в стационарное состояние в результате затухания колебаний около этого состояния. При фиксированном потенциале ионные токи не испытывают затухающих колебаний. Ищем решение (4.70) с вещественными корнями r_1 и r_2 . Они отрицательны и решение записывается следующим образом:

$$\begin{aligned} y(t) &= a_1 + b_1 \exp(-|r_1|t) + c_1 \exp(-|r_2|t), \\ u(t) &= a_2 + b_2 \exp(-|r_1|t) + c_2 \exp(-|r_2|t). \end{aligned} \quad (4.72)$$

Введя начальные значения $y_0, u_0, \dot{y}_0, \dot{u}_0$ и равновесные значения y_∞, u_∞ , отвечающие $t \rightarrow \infty$, получим



$$a_1 = y_\infty, \quad b_1 = \frac{\dot{y}_0 + r_2(y_\infty - y_0)}{r_1 - r_2},$$

$$c_1 = \frac{\dot{y}_0 + r_1(y_\infty - y_0)}{r_2 - r_1}$$

и аналогичные выражения для a_2, b_2, c_2 . Функция $y(t)$ может иметь максимум в момент времени

$$t^* = \frac{1}{r_1 - r_2} \ln \frac{r_2 [\dot{y}_0 + r_1 (y_\infty - y_0)]}{r_1 [\dot{y}_0 + r_2 (y_\infty - y_0)]}.$$

Рис. 4.28. Вычисленная зависимость $y(t)$, т. е. $g_{Na}(t)$.

a — кривая при наличии максимума, b — кривая без максимума.

Необходимые и достаточные условия существования максимума суть

$$\dot{y}_0 + r_1 (y_\infty - y_0) > 0,$$

$$\dot{y}_0 + r_2 (y_\infty - y_0) > 0.$$

Точка перегиба соответствует

$$t^{**} = \frac{1}{r_1 - r_2} \ln \frac{r_2^2 [\dot{y}_0 + r_1 (y_\infty - y_0)]}{r_1^2 [\dot{y}_0 + r_2 (y_\infty - y_0)]}.$$

$t^{**} > t^*$, т. е. точка перегиба лежит вправо от максимума (рис. 4.28). Если условия появления максимума не выполнены, то кривая имеет лишь перегиб (кривая b на рис. 4.28). Сказанное относится и к $u(t)$. В системе уравнений (4.70) при начальных условиях $y_0 \approx u_0 \approx 0$ получается $\dot{y}_0 \approx k_1/(1+K_2)$, $\dot{u}_0 \approx k_{-4}$.

Из опыта известно, что инактивация развивается существенно медленней, чем активация. Поэтому следует предположить, что скорости реакций III и IV (см. рис. 4.27) малы по сравнению со скоростями реакций I и II, т. е.

$$k_1, k_{-1}, k_2, k_{-2} \gg k_3, k_{-3}, k_4, k_{-4}. \quad (4.73)$$

Поэтому $\dot{y}_0 \gg \dot{u}_0$ и $y(t)$ имеет вид кривой *a* (см. рис. 4.28). Если бы мы отказались от принятого адиабатического приближения, то кривая $y(t)$ имела бы второй перегиб при $t < t^*$ (кривая *b* на рис. 4.28, ср. рис. 4.26).

Максимальное значение y равно

$$y_{\max} = y_{\infty} - \frac{\dot{y}_0 + r_2(y_{\infty} - y_0)}{r_2} \left[\frac{\dot{y}_0 + r_1(y_{\infty} - y_0)}{\dot{y}_0 + r_2(y_{\infty} - y_0)} \frac{r_2}{r_1} \right]^{r_1/(r_1 - r_2)}. \quad (4.74)$$

При выполнении условий (4.73) находим из (4.71)

$$\begin{aligned} r_1 &\approx - \frac{k_1(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)}{1 + K_2}, \\ r_2 &\approx - \frac{k_{-4}c_{Ca}K_1K_2 + k_3}{1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2} - c_{Ca}k_4 - k_{-3}. \end{aligned} \quad (4.75)$$

Следовательно, $|r_1| \gg |r_2|$, $r_1/(r_1 - r_2) \approx 1$ и формула (4.74) сильно упрощается:

$$y_{\max} \approx y_0 - \frac{1}{r_1} \dot{y}_0. \quad (4.76)$$

Подставляя в (4.76) значение \dot{y}_0 из (4.70), получаем в конечном счете

$$y_{\max} = \frac{1 - u_0}{1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2} \quad (4.77)$$

и в пределе $u_0 \rightarrow 0$

$$y_{\max}^* = \frac{1}{1 + (1 + c_{Ca}K_1)q_2 \exp(-\alpha\phi\mathcal{F}/RT)}. \quad (4.78)$$

Последняя формула совпадает с (4.60). Начальное значение u_0 может отличаться от 0, оно зависит от исходного состояния мембраны. Стационарное значение u_0 , получаемое из (4.70) при $\dot{y} = \dot{u} = 0$, равно

$$u_0 = u_p = \frac{1}{1 + K_3 + (1 + c_{Ca}K_1)K_{2p}K_3}. \quad (4.79)$$

K_{2p} соответствует мембране, на которой достаточно долго сохранялся предварительный потенциал ϕ_p . Введем отношение

$$\omega = y_{\max} / y_{\max}^* = 1 - u_0.$$

Его значение для стационарного u_0

$$\omega_\infty = \frac{1}{1 + \exp(z\alpha\varphi_p \mathcal{F}/RT)/q_2(1 + c_{Ca}K_1)K_3}. \quad (4.80)$$

Эмпирическая зависимость, найденная Ходжкином и Хаксли, имеет вид

$$\omega_\infty = \frac{1}{1 + \exp(\varphi_p/7)/\exp(\varphi'_p/7)}, \quad (4.81)$$

где φ'_p — эмпирическое значение φ_p , отвечающее $\omega = 0,5$ (величины φ_p и φ'_p в мВ).

Как мы видели $z\alpha \approx 3,5$, $RT/\mathcal{F} \approx 25$ мВ. Коэффициент при φ_p в теоретической формуле (4.80), определяющий форму кривой $\omega_\infty(\varphi_p)$, действительно равен $z\alpha\mathcal{F}/RT = 3,5/25 \approx 1/7$ мВ. Фактор $\exp(-\varphi'_p/7)$ в эмпирической формуле задает положение кривой $\omega_\infty(\varphi_p)$ относительно оси φ_p . Сравнивая (4.80) и (4.81), находим

$$\exp(\varphi'_p/7) = q_2(1 + c_{Ca}K_1)K_3.$$

Положение кривой стационарной инактивации зависит от c_{Ca} . Если $c_{Ca}K_1 \gg 1$, то должно быть

$$c_{Ca}^{-1} \exp(z\alpha\varphi_p \mathcal{F}/RT) = \text{const.}$$

Это значит, что e -кратное увеличение c_{Ca} может быть скомпенсировано уменьшением φ_p на величину $\Delta\varphi_p = RT/z\alpha\mathcal{F} \approx 7$ мВ. Опыт дает $\Delta\varphi_p = 6,3 - 7,8$ мВ [75].

Рассмотрим теперь развитие процесса инактивации во времени. Если мембрана выдерживалась при потенциале φ_p недостаточно долго, то u_0 в выражении $\omega = 1 - u_0$ зависит от длительности предварительного импульса, $u_0 = u(t_p)$. При $t_p = 0$ мембрана находится в состоянии покоя (соответствующие величины снабжаются верхним индексом нуль). Из (4.72) и значений a_2 , b_2 , c_2 следует с учетом малости начальной скорости изменения

$$u(t_p) = u_p + \frac{r_1}{r_2 - r_1} (u_p - u^0) \left[\exp(-|r_2|t_p) - \frac{r_2}{r_1} \exp(-|r_1|t_p) \right] \quad (4.82)$$

и, так как $|r_2| \ll |r_1|$, то

$$u(t_p) \approx u_p + (u^0 - u_p) \exp(-|r_2|t_p),$$

т. е.

$$\omega \approx 1 - u_p - (u^0 - u_p) \exp(-|r_2|t_p).$$

Мы видим, что если мембрана до подачи тестового потенциала была гиперполяризована, т. е. $u_p < u^0$, то пиковый Na-ток ра-

стет экспоненциально с ростом t_p ; если же $u_p > u^0$ (деполяризация), то он экспоненциально убывает (рис. 4.29). Именно такой ход экспериментальных инактивационных кривых наблюдался в работе [79]. В этой работе вводится величина τ_h , равная в излагаемой теории $|r_2|^{-1}$. Расчет дает

$$\tau_h = |r_2|^{-1} = \frac{1}{k_{-3} + c_{Ca}k_4} \frac{K_3(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)}{1 + K_3(1 + K_2 + c_{Ca}K_1K_2)} \quad (4.83)$$

или, согласно (4.79),

$$\tau_h = \frac{\omega_\infty}{k_{-3} + c_{Ca}k_4}. \quad (4.84)$$

Теория Ходжкина — Хаксли (см. стр. 177) дает

$$\tau_h = \omega_\infty/\kappa,$$

где κ — константа скорости выхода из инактивированного состояния. Знаменатель теоретической формулы (4.84) имеет тот же смысл. В теории Ходжкина — Хаксли зависимость параметров от φ подбирается искусственно с целью получения согласия с опытом; в излагаемой теории эта зависимость имеет непосредственное физическое содержание. Напишем (ср. (4.69))

$$k_4 = v_4 \exp(-z\alpha\varphi\mathcal{F}/2RT),$$

$$k_{-4} = v_{-4} \exp(z\alpha\varphi\mathcal{F}/2RT).$$

Как уже сказано, предполагается, что реакция смещена в сторону С, т. е. $k_{-3}/k_3 \ll 1$. При малых k_{-3} знаменатель в (4.84) приблизительно равен (φ измеряется в милливольтях)

$$c_{Ca}k_4 = c_{Ca}v_4 \exp(-\varphi/14).$$

Опыт дает $\kappa = 0,07 \exp(-\varphi/20)$.

Согласно теоретической формуле (4.83) $\tau_h(\varphi)$ представляется произведением двух противоположно направленных S-образных кривых, т. е. $\tau_h(\varphi)$ имеет колоколообразную форму. При $\varphi \rightarrow -\infty$ $\tau_h \rightarrow 0$, при $\varphi \rightarrow \infty$ $\tau_h \rightarrow k_3^{-1}$. Такую же форму имеет экспериментальная кривая.

Согласно (4.83), максимум кривой $\tau_h(\varphi)$ смещается в сторону больших φ с увеличением c_{Ca} . Именно такое влияние Ca^{++} на величину τ_h наблюдалось в работе [75].

Таким образом, описанные кинетические модели действительно дают количественное описание большой совокупности

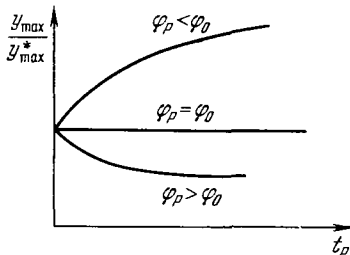


Рис. 4.29. Зависимость пикового Na-тока от длительности предварительного импульса — потенциала φ_p . φ_0 — потенциал покоя.

явлений, наблюдаемых при генерации потенциала действия — при активации и инактивации мембраны. Вскрывается взаимосвязь различных явлений. Изложенная теория согласуется с экспериментальными фактами. Основная ее идея состоит в том, что переходы $A \rightleftharpoons B$ и $S \rightleftharpoons C$ связаны со структурными превращениями мембраны. Основным параметр теории — величина $\alpha\alpha$. Опыт показывает, что при изменении проводимости мембраны аксона, при ее возбуждении, происходят структурные изменения. В работах [76, 80] наблюдались изменения рассеяния света. Тасаки и сотрудники наблюдали изменения флуоресценции [77], Берестовский и др. — изменение двулучепреломления мембраны аксона, вызванное появлением потенциала действия [81].

Прямые доказательства перемещения заряженных частиц, входящих в структуру мембраны, под действием поля были получены впервые Армстронгом и Безанилья, а затем изучены ими и другими исследователями более подробно [82, 83, 97].

При смещении мембранного потенциала в положительную сторону наблюдается изменение проводимости, при смещении в отрицательную сторону изменения нет. Следовательно, имеются «активационные ворота» — это свойство мембран нелинейно. Для нахождения реального тока заряженных частиц необходимо, во-первых, выделить нелинейные компоненты мембранного тока, и, во-вторых, связать их с процессом активации.

Чтобы обнаружить малый компонент трансмембранного тока, необходимо исключить мощные ионные токи, основную часть которых составляют токи Na^+ и K^+ . В цитированных работах эти ионные токи подавлялись путем замены проникающих ионов непроникающими. Ионы Na^+ в наружном растворе заменялись ионами трис (оксиметил) метиламмония, а ионы K^+ — ионами Cs^+ . Использовался также эффект Коля и Мура [97], позволяющий существенно замедлить развитие K -тока с помощью большой предварительной гиперполяризации мембраны.

Для устранения линейных токов утечки и емкостных токов применен метод алгебраического сложения сигналов, полученных от двух скачков потенциалов, равных по величине, но противоположных по знаку. Получающиеся суммарные токи очень малы. Поэтому для улучшения соотношения «сигнал — шум» применялась техника суммирования сигналов. Суммировались и усреднялись ответы от сотен и даже тысяч пар сигналов.

Каков источник зарегистрированных таким методом токов? Армстронг и Безанилья подробно доказывают, что это не токи ионов, приходящих из раствора. Следовательно, это токи смещения зарядов, являющихся структурной частью мембраны. Кейнес и Рохас [83] приводят следующие аргументы в пользу того, что наблюдаемые токи являются токами смещения: 1) суммарный заряд, смещенный при включении деполяризующего по-

тенциала, с большой точностью равен суммарному заряду, смещенному при снятии деполяризации; 2) смещенный заряд, воз­растая с увеличением приложенного потенциала, достигает предельной величины при достаточно больших импульсах; 3) понижение температуры не меняет полного заряда, перенесенного при прохождении импульса данной величины, хотя константа времени имеет большой температурный коэффициент.

Идентификация несимметричных токов смещения с процессами, управляющими развитием Na-тока, требует детального и разностороннего изучения свойств этих токов. В пользу связи между обоими процессами говорит близость их временных констант (200—400 мкс). В аксонах, не дающих Na-тока («dead axon pattern»), не наблюдаются и асимметричные токи смещения. Внутренняя перфузия 10 М раствором $ZnCl_2$ обратимо подавляет Na-ток и несимметричный ток смещения. Ряд других свойств, по которым можно идентифицировать эти процессы, является в настоящее время предметом дискуссии. Требуются дальнейшие исследования, чтобы установить, каков механизм участия зарядов, дающих несимметричные токи смещения, в изменениях Na-проводимости.

Процессы, определяющие изменения Na-проводимости, изучаются также на основе исследования влияния на нее различных ионов. Выше рассмотрено влияние Ca^{++} и H^+ (см. стр. 196). Ионообменные процессы, как уже не раз указывалось, весьма существенны для поведения мембран. Эдельман и Палти изучали влияние ионов K^+ в окружающем растворе на инактивацию Na^+ -проводимости [84]. Параметр инактивации ω_∞ убывает с ростом концентрации K^+ , временная постоянная τ_h возрастает. Эти и другие явления также удается объяснить на основе кинетической модели, учитывающей ионный обмен [70]. Модель предполагает, что центры, определяющие мембранную проводимость, могут существовать в двух состояниях. При переходе из одного состояния в другое производится работа заряда в электрическом поле. Одно из этих состояний (S) стабилизируется ионами Ca^{++} . При их замене ионами Na^+ или K^+ центр приобретает способность к быстрому переходу в другое состояние, что приводит к высокой Na-проводимости, если ионы Na^+ связаны с этим центром. Связывание K^+ переводит центр в состояние инактивированной Na-проводимости.

Сходная схема может объяснить действие других ионов на g_{Na} , в частности, ингибирующее действие яда — тетродотоксина.

Кинетические модели не дают, конечно, полного молекулярного истолкования обсуждаемых явлений. Здесь необходима дальнейшая экспериментальная работа, раскрытие тонких количественных закономерностей. Но можно считать установленным

что в соответствии с развиваемыми представлениями о конформационных свойствах мембран (см. § 3.8), их функциональные участки переходят из одних состояний в другие и эти переходы зависят от внешнего поля и ионного окружения.

Физика нервного импульса изложена также в обзоре [98].

§ 4.5. СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА

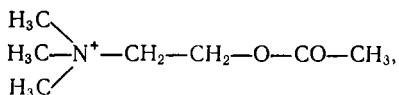
Когда импульс достигает окончания нервного волокна, он должен либо произвести свое действие, скажем, в нервно-мышечном (мионевральном) соединении, индуцируя мышечное сокращение, либо перейти на другое нервное волокно. И в том и в другом случае реализуется синаптическая передача импульса с одной клетки на другую. Синапс представляет собой функциональный контакт двух возбудимых клеток, каждая из которых заключена в отдельную мембрану.

Современная биология располагает богатой цитологической, биохимической и физиологической информацией о синаптической передаче. Эти данные изложены, в частности, в монографии Катца [5] и в обзоре [85]. Они пока недостаточны для построения молекулярной физической теории соответствующих явлений, но позволяют наметить пути ее развития.

Расстояние между пресинаптической и постсинаптической мембранами, *синаптическая щель*, может достигать 150—200 Å. В мионевральном соединении разрыв еще больше — до 500—1000 Å. Вместе с тем существуют синапсы с сильно сближенными и даже сливающимися пресинаптической и постсинаптической мембранами. Соответственно реализуются два типа передачи импульса — при больших щелях передача имеет химический характер, при тесном контакте возможно прямое электрическое взаимодействие. Здесь мы рассмотрим химическую передачу.

При химической передаче электрический импульс, дошедший до окончания волокна, включает специфический химический механизм, усиливающий электрический сигнал. Такой механизм состоит в освобождении некоторого химического вещества, *медиатора*, синтезируемого и запасаемого в нервных окончаниях, в его рецепции специфическими центрами постсинаптической мембраны и, как результат этой рецепции, изменении ее проницаемости, вследствие чего появляется новый импульс.

Установлено, что медиатором служит прежде всего ацетилхолин (АХ)



а также другие родственные соединения (карбахол, сукцинил-

холин, допамин, γ -аминомасляная и глутаминовая кислоты, глицин и т. д.). Роль ацетилхолина была открыта еще в 1921 г. Лёви [86]. Далее было показано, что АХ концентрируется в пузырьках пресинаптических окончаний [87].

Пресинаптический механизм представляет собой нейросекрецию, т. е. освобождение АХ из пузырьков под действием нервного импульса. Оценка числа молекул АХ, выделяемых на один импульс, дает несколько миллионов [88].

В постсинаптической мембране мионеврального соединения установлена высокая концентрация ацетилхолинэстеразы (АХЭ) — фермента, катализирующего гидролиз АХ. Было высказано предположение, что АХЭ и представляет собой вещество-рецептор [89]. АХЭ, выделенная из *Electrophorus electricus*, имеет молекулярный вес 260 000 и состоит из четырех одинаковых субъединиц [90]. Шанжэ и соавторы рассматривают АХЭ как аллостерический фермент, содержащий каталитические и регуляторные центры. Предполагается, что в рецепторной мембране присутствует система, состоящая из макромолекулярного рецептора АХ, способного узнавать ацетилхолин и влиять на селективный транспорт катионов, стимулированный связыванием АХ. Эти две сопряженные функции могут переноситься одной и той же макромолекулой АХЭ, но выполняются разными липопротеидными системами [91].

Де Робертису удалось строго показать, что рецепторным веществом является не АХЭ, но специальный протеолипид, в котором имеется гидрофобный белок [85]. Этот белок был выделен из мембран нервных окончаний. Он имеет большое сходство к АХ и к другим холинэргическим веществам. Де Робертис предложил модель постсинаптической мембраны, основанную на изученных свойствах рецепторного вещества (рис. 4.30). В мембрану включены дискретные рецепторные области. Белок-рецептор, имеющий гидрофобную поверхность, проходит сквозь липидные слои мембраны и создает в ней каналы. Стенки канала образованы четырьмя параллельными молекулами белка. АХЭ присутствует как отдельная молекула. АХ присоединяется к активному центру рецепторного белка, расположенному на его внешней поверхности. В результате присоединения — сильного ионного взаимодействия — происходят конформационные и трансляционные превращения в мембране, приводящие к изменениям ее ионной проницаемости.

В работах Де Робертиса получены предварительные результаты по созданию работающей модели постсинаптической мембраны путем включения выделенного белка-рецептора в искусственную двуслойную липидную мембрану.

Роль АХЭ состоит в основном в гидролизе АХ. Если бы АХ не гидролизовался, он блокировал бы АХЭ и синаптическая

передача прекратилась бы. Так действуют конкурентные ингибиторы АХЭ, в частности растительный яд кураре и другие алкалоиды. Соответственно блокируется иннервация мышц.

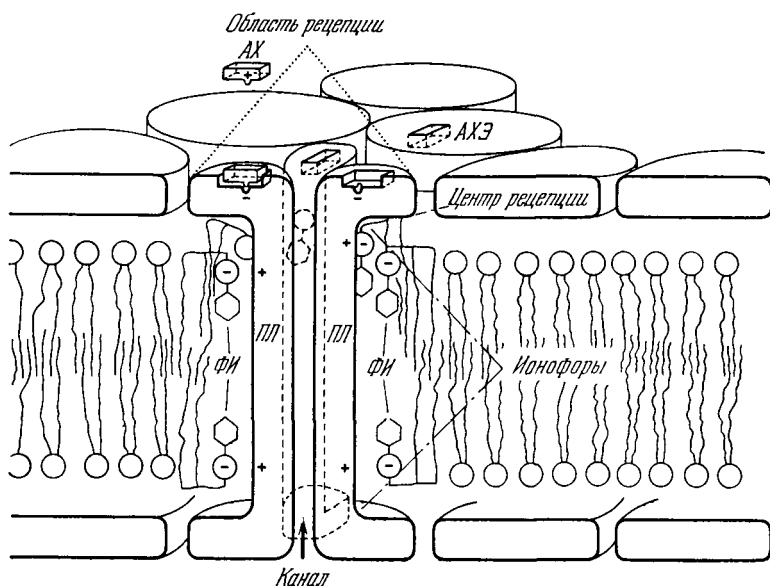


Рис. 4.30. Схема возможной макромолекулярной организации постсинаптической мембраны по Де Робертису.

ПЛ — молекулы протеолипида, ФИ — молекулы фосфатидилинозитола.

Общая картина процессов, происходящих при мионевральной передаче, может быть, согласно Катцу, представлена схемой, показанной на рис. 4.31 [5].

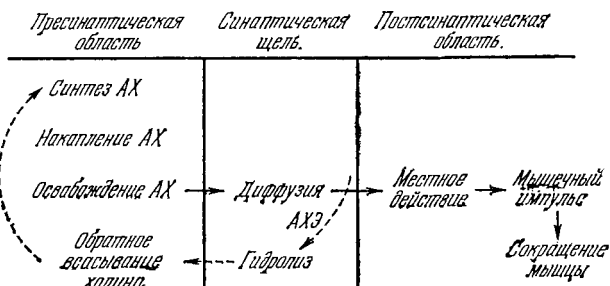


Рис. 4.31. Схема мионевральной передачи.

Экспериментально показано, что медиатор — АХ — действительно повышает проницаемость концевой пластины мионевраль-

ного соединения для ионов Na^+ и K^+ одновременно и в одинаковой степени. На проницаемость к ионам Cl^- АХ не влияет [92]. Другие количественные характеристики мионеврального соединения приведены в монографии Катца [5], который указывает, что «по своему электрическому эффекту воздействие передатчика поистине эквивалентно кратковременному «проколу» мембраны».

Вернемся в пресинаптическую область. Имеются данные, показывающие, что выделение небольших порций АХ происходит и в покое, независимо от нервного импульса. Импульс очень сильно повышает эту активность за время порядка 1 мс. Установлено, что спонтанная нейросекреция не обусловлена утечкой АХ из нервных окончаний путем случайной диффузии. Спонтанная нейросекреция есть спонтанное квантованное освобождение АХ, «при котором сконцентрированные порции АХ выделяются в случайные моменты времени по типу «все или ничего» из дискретных точек концевой мембраны аксона» [5]. Величина «кванта АХ» не зависит от изменений мембраны, связанных с нервным импульсом. Импульс изменяет в сотни тысяч раз вероятность выделения кванта. Потенциал постсинаптической мембраны, возникающий под влиянием нервного импульса, складывается из большого числа «миниатюрных потенциалов», создаваемых отдельными порциями, квантами, АХ. Число квантов, участвующих в реакции в одном мионевральном соединении, зависит от присутствия ионов Ca^{++} и Mg^{++} . Ca^{++} стимулирует секрецию АХ, Mg^{++} — ее ингибирует.

Бойд и Мартин [93] (ср. [5]) провели статистический анализ реакции концевой пластинки — постсинаптического участка мионеврального соединения. Это оказалось возможным благодаря сильному понижению количества АХ, выделяемого при одном импульсе, вызванному уменьшением концентрации Ca^{++} в среде. Удалось доказать, что каждая реакция на импульс складывается из целого числа «квантов АХ», и освобождение одного «кванта» есть событие с очень малой вероятностью $p \ll 1$. Всего наблюдалось 198 импульсов. Число случаев, в которых освобождается x порций АХ, должно выражаться законом Пуассона

$$p_x = \frac{m^x}{x!} \exp(-m),$$

где $x = 0, 1, 2 \dots$ — число порций АХ, m — среднее число порций, освобождаемых одним импульсом. В изученной системе

$$m = \frac{\text{Средняя амплитуда реакции}}{\text{Средняя амплитуда спонтанных потенциалов}} = \frac{0,933 \text{ мВ}}{0,4 \text{ мВ}} = 2,33.$$

Совпадение вычисленных и наблюдавшихся значений p_x оказалось превосходным. В частности, согласно закону Пуассона

$$p_0 = n_0/N = \exp(-m),$$

где n_0 — число реакций, в которых освобождается 0 порций, равное в рассматриваемой серии 18, N — полное число импульсов. Имеем

$$m = \ln(N/n_0) = \ln(198/18) = 2,4$$

вместо опытного значения 2,33.

Мы не касаемся здесь множества важных физиологических, фармакологических и медицинских проблем, связанных с синаптической передачей (см. [5, 85, 94]).

Очевидно, что нейросекреция и химическая рецепция в постсинаптической мембране ставят ряд вопросов перед биофизикой. «Квантование» выделяемого АХ заставляет думать, что нейросекреция представляет собой кооперативный молекулярный процесс, к рассмотрению которого можно подойти на основе электронно-конформационных взаимодействий. Те же идеи могут оказаться полезными для понимания сущности возникновения нового импульса в ответ на воздействие медиатора. Построение соответствующих кинетических моделей — задача вполне реальная, но мы располагаем пока слишком скудной экспериментальной информацией о молекулярной структуре систем, участвующих в синапсах.

Проблемы синаптической передачи непосредственно связаны с исследованиями нейронных сетей, посредством которых моделируется высшая нервная деятельность. Рассмотрение этих вопросов выходит за рамки книги. Существующие модели имеют математический, но не физический характер, так как мы не располагаем еще достаточными знаниями о явлениях высшей нервной деятельности (см. монографию [95]).

§ 5.1. ТЕРМОДИНАМИКА МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Как показано в гл. 3 и 4, химическая энергия, запасенная прежде всего в АТФ, трансформируется в осмотическую и электрическую работу в процессах мембранного транспорта. Это — биоэнергетические процессы. К биоэнергетическим относятся и механохимические процессы, в которых химическая энергия трансформируется в механическую работу.

Жизнь невозможна без механического движения. Будучи «химическими машинами», клетки и организмы выполняют механическую работу, перемещаясь как целое или совершая перемещение своих функциональных частей в поле силы тяжести, преодолевая сопротивление воздушной или водной среды и т. д. Механическая работа производится в изотермических и изобарических условиях. Ее источником поэтому не может быть тепловая энергия. Естественно думать, что механическая работа живой системы совершается за счет химической или (и) электрической энергии.

Конформационные превращения белков — изменения высших уровней их структуры — означают пространственное перемещение атомов и групп атомов, входящих в состав макромолекул. Если такое перемещение происходит в поле внешних сил, то совершается механическая работа. Ее источником может быть свободная энергия, выделяемая в ходе ферментативной реакции. Можно, следовательно, трактовать конформационное превращение белка как механохимический процесс, т. е. процесс прямого превращения химической энергии в механическую работу. Частным случаем такого процесса, реализуемого на микроскопическом уровне, является создание напряженного состояния субстрата в фермент-субстратном комплексе (см. [1]). В свою очередь, механическая энергия, запасенная в деформированной молекуле субстрата, используется для его химического превращения.

Пока дело ограничивается ферментативной реакцией в растворе, такое толкование дает мало нового. В любой химической реакции происходит перемещение атомов, но это не дает оснований называть реакцию механохимическим процессом.

Фермент — очень большая молекула, но говорить о механохимических ее свойствах не имеет смысла. Это всего лишь замена термина «конформационный» на термин «механический».

Говоря о механической работе, мы имеем в виду движение в поле внешних сил макроскопической, надмолекулярной системы. Очевидно, что если молекулы фермента входят в состав такой системы, то при надлежащей ее организации она может в целом осуществлять механическое движение и производить работу за счет свободной энергии химической ферментативной реакции. Следовательно, рабочие вещества механохимических систем в живых организмах или часть таких веществ могут быть белками — ферментами. Более того, они должны ими быть. Источник механической работы — химическая энергия. Но любые биохимические реакции протекают с непременным участием ферментов. Механохимия живых систем есть ферментативная механохимия. Как мы увидим, трудно представить себе какую-либо иную причину механохимического процесса в клетке и в организме, кроме конформационных превращений белков в надмолекулярных системах, в результате которых развиваются тянущие или толкающие усилия.

Прежде чем обратиться к непосредственному рассмотрению биологических механохимических процессов, необходимо ознакомиться с их термодинамическими основами.

Превращение химической энергии в механическую работу и обратно может выполняться циклически работающей «машинной», возвращающейся после каждого цикла в исходное состояние. Изменения, состоящие в переходе рабочих веществ от одного химического потенциала к другому с одновременным производством работы, происходят во внешней по отношению к «машине» среде. Такой «машинной» может быть, например, полимерное полиэлектролитное волокно, длина которого изменяется при изменении рН среды. Термодинамическое исследование механохимических циклов было проведено в работах [2—4].

Общее изменение внутренней энергии системы («машины») равно

$$dE = T dS - dW + \sum_i \mu_i dn_i + \psi de + \dots, \quad (5.1)$$

где dW — механическая работа, производимая системой, dn_i — количество i -го вещества, введенного из резервуара в систему при химическом потенциале μ_i , ψde — электрическая работа и т. д. Ограничимся термическими, механическими и химическими процессами и отвлечемся от ψde и последующих членов уравнения.

Механическую работу можно в соответствии с теорией упругости выразить через тензоры напряжений p_{jk} и деформации σ_{jh} [5]

$$dW = V \sum_{j, k=1}^3 p_{jk} d\sigma_{jk}, \quad (5.2)$$

где V — объем твердого тела. Для однородных твердых тел удобнее выразить работу через силы и смещения

$$dW = \sum_{j=1}^3 f_j dl_j. \quad (5.3)$$

Будем рассматривать однородные волокна длины l , растягиваемые силой f . Имеем

$$dE = T dS - p dV + f dl + \sum_i \mu_i dn_i. \quad (5.4)$$

Интегральная форма этого уравнения записывается в виде

$$E = TS - pV + fl + \sum_{i=1}^{s'} \mu_i n_i + \mu_q n_q, \quad (5.5)$$

где n_q — число молекул, образующих волокно. Число независимых переменных равно $s + 4$. Можно переписать (5.5) в форме

$$E = \sum_{j=1}^{s+4} P_j K_j, \quad (5.6)$$

где P_j — интенсивные величины T , p , f , μ_i , μ_q , а K_j — экстенсивные переменные S , V , l , n_i и n_q . Термодинамические потенциалы имеют вид

$$\Psi^{(r)} = E - \sum_{j=1}^r P_j K_j; \quad (5.7)$$

P_j и K_j выражаются через частные производные $\Psi^{(r)}$:

$$\frac{\partial \Psi^{(r)}}{\partial P_j} = -K_j, \quad 1 \leq j \leq r, \quad (5.8)$$

$$\frac{\partial \Psi^{(r)}}{\partial K_k} = P_k, \quad r + 1 \leq k \leq s + 4, \quad (5.9)$$

причем все переменные, кроме той, по которой производится дифференцирование, принимаются постоянными. С помощью таких выражений находят обычные перекрестные соотношения

между производными, например

$$\left. \begin{aligned} \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{l, n_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{\mu_i, n_j}; & \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{l, \mu_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{\mu_i, \mu_j}; \\ \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{n_i, n_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{f, n_j}; & \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{n_i, \mu_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{f, \mu_j}. \end{aligned} \right\} (5.10)$$

Допустим, что имеется лишь один реагирующий химический компонент. Тем самым, при постоянных p и T система имеет две степени свободы, скажем f и μ . Можно изобразить рабочий цикл «механохимической машины» на плоскости f, l . Каждому значению μ будет отвечать кривая $l(f)$, которую можно назвать *изопотенциалом* (подобно изотерме на плоскости p, V для теплового двигателя). Все точки такой кривой можно получить из механического опыта, проводимого при постоянном значении μ .

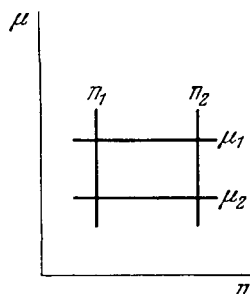


Рис. 5.1. Механохимический цикл на плоскости μ, n .

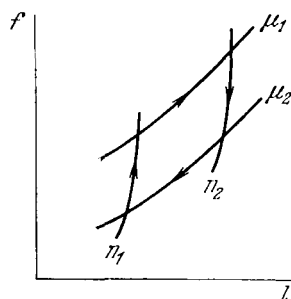


Рис. 5.2. Механохимический цикл на плоскости f, l .

Наоборот, кривая $l(f)$ при постоянном значении n подобна адиабате. Такая кривая именуется *изофорой*. На плоскости μ, n изопотенциалы и изофоры представляются прямыми линиями, параллельными осям координат (рис. 5.1). Кривые $\mu(n)$ на этой плоскости называются *изотоническими* при постоянной силе и *изометрическими* при постоянной длине образца.

Цикл на плоскости f, l изображен на рис. 5.2. Работа представится выражением

$$W = -\oint f dl = \int_1^2 \mu dn + \int_2^1 \mu dn = (\mu_1 - \mu_2) \Delta n, \quad (5.11)$$

сходным с выражением для работы в цикле Карно

$$W = \oint p dV = (T_1 - T_2) \Delta S.$$

Существенное различие этих двух случаев состоит в том, что

механохимическую машину нельзя охарактеризовать коэффициентом полезного действия, подобным

$$\eta_{\text{терм}} = \frac{T_1 - T_2}{T_1},$$

так как химический потенциал не имеет абсолютного нуля. К. п. д. механохимического процесса удобно представить в виде отношения работы, полученной в реальном цикле, к работе идеального обратимого цикла

$$\eta' = - \oint f dl / \oint \mu dn. \quad (5.12)$$

Перейдем теперь к неравновесной термодинамике. При растяжении полимерного механохимического волокна в изобарическом и изотермическом процессе происходит изменение свободной энергии [6]

$$(dG)_{T, p} = f dl - \mathcal{A} d\xi, \quad (5.13)$$

где \mathcal{A} — сродство, ξ — химическая координата. Уравнение (5.13) определяет внутреннюю механическую силу и сродство

$$f = \left(\frac{\partial G}{\partial l} \right)_{\xi, p, T}, \quad (5.14)$$

$$\mathcal{A} = - \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{l, p, T}. \quad (5.15)$$

В равновесном состоянии эти первые производные от G равны нулю. Имеем

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial G}{\partial l} \right)_{\xi} = f &= \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l^2} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta \xi = \left(\frac{\partial f}{\partial l} \right)_{\xi} \delta l + \left(\frac{\partial f}{\partial \xi} \right)_{l} \delta \xi, \\ \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{l} = -\mathcal{A} &= \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial \xi^2} \right)_{l}^{\text{eq}} \delta \xi = - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l} \right)_{\xi} \delta l - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi} \right)_{l} \delta \xi. \end{aligned}$$

Здесь индекс eq относится к равновесному состоянию, δl , $\delta \xi$ — отклонения l и ξ от равновесных значений. Из написанных соотношений следует

$$\left(\frac{\partial f}{\partial \xi} \right)_{l} = \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} = - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l} \right)_{\xi}. \quad (5.16)$$

Значит, если $(\partial f / \partial \xi)_l$ отлично от нуля, то сродство \mathcal{A} зависит от длины l .

Сейчас реализованы модельные полиэлектролитные механохимические системы ([1], стр. 171). Поликислотное волокно сильно сокращается при понижении рН, скажем, при добавлении HCl. При увеличении n_{HCl} уменьшается l при постоянной

силе f . Следовательно,

$$\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f < 0.$$

Напротив, в изометрических условиях добавление HCl увеличивает силу

$$\left(\frac{\partial f}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_l > 0.$$

Из дифференциальных термодинамических соотношений следует, что

$$\left(\frac{\partial f}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_l = -\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f \left(\frac{\partial f}{\partial l}\right)_{n_{\text{HCl}}}.$$

Для механической устойчивости необходимо, чтобы $\partial f/\partial l$ было положительным. Значит, действительно, если $(\partial l/\partial n_{\text{HCl}})_f < 0$, то $(\partial f/\partial n_{\text{HCl}})_l > 0$. Обратный эффект состоит в уменьшении рН среды, окружающей поликислотное волокно при его растяжении [7]. Таким образом,

$$-\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f = \left(\frac{\partial \mu_{\text{HCl}}}{\partial f}\right)_{n_{\text{HCl}}}$$

и, так как

$$-\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f > 0,$$

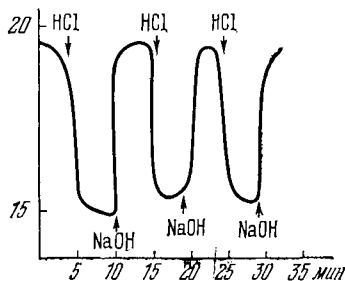
то

$$\left(\frac{\partial \mu_{\text{HCl}}}{\partial f}\right)_{n_{\text{HCl}}} > 0.$$

Рис. 5.3. Циклическая деформация нуклеогистонового волокна при периодическом изменении рН.

По оси ординат отложена длина волокна в условных единицах.

Механохимическая природа биологической сократительной системы была впервые открыта в классических работах Энгельгардта и Любимовой, изучавших миозин — белок, выделенный из мышечного волокна [8]. При добавлении АТФ наступает сокращение миозиновых волокон, имеющее обратимый характер. Естественно, что происходит и обратный процесс превращения механической работы в химическую энергию сократительного белка. Наблюдалось смещение изоэлектрической точки белка — кератина — при его деформации [9]. В работе [10] было исследовано изменение рН среды при механическом растяжении находящегося в ней нуклеогистонового волокна. На рис. 5.3 показана циклическая деформация нити нуклеогистона при периодическом изменении рН среды.



Механохимия полиэлектролитных волокон, очевидно, определяется конформационными превращениями макромолекул. Превращения эти кооперативны. Константы диссоциации ионизуемых групп в полимере иные, чем для мономера вследствие электростатического отталкивания соседних заряженных групп. Степень отталкивания зависит от конформаций цепи [11, 12]. Эти явления находят свое выражение в кривых потенциометрического титрования полиэлектролитов.

При не очень малых силах f , достаточных для ориентации полиэлектролитной цепи как целого, длина цепи выражается уравнением (см. [1], § 3.3)

$$h = \frac{f}{3k_B T} \bar{h}_0^2. \quad (5.17)$$

Средний квадрат расстояния между концами цепи \bar{h}_0^2 зависит от степени ионизации α , т. е. от рН среды. Если $d\bar{h}_0^2/d\alpha > 0$, то под действием постоянной силы полиэлектролитные цепи растягиваются при ионизации и сокращаются при уменьшении степени ионизации. Если знак производной отрицателен, то эффект рН противоположен. Второй случай реализуется у синтетических полипептидов — размеры клубка уменьшаются с ростом α , так как увеличение степени ионизации разрушает спиральную структуру. Напротив, у синтетических атактических полианионитов длина растет с ростом α . В общем случае [13]

$$\bar{h}_0^2 \approx (\bar{h}_0^2)_{\alpha=0} \exp\left(-\frac{\alpha^2 \Delta E}{k_B T}\right), \quad (5.18)$$

где ΔE — разность энергий взаимодействия свободных зарядов в свернутой и вытянутой конформациях цепи. ΔE есть мера кооперативности системы; если $\Delta E = 0$, то цепь некооперативна, \bar{h}_0^2 не зависит от α . Знак производной $d\bar{h}_0^2/d\alpha$ определяется знаком ΔE . Та же теория, основанная на учете кооперативного взаимодействия зарядов, позволяет определить, как должно измениться рН среды при растяжении цепи.

Описанный кооперативный механизм не единственный — возможны также полиэлектролитные механохимические процессы, определяемые изменениями степени связывания ионов.

Таким образом, изменения конформаций цепи, вызванные изменением химического окружения, при воздействии постоянной силы производят механическую работу. Напротив, действующая сила должна менять конформации цепи. В работах Флори [12] и Бирштейн [14] теоретически рассмотрено влияние внешней силы на переходы спираль — клубок в полипептидных цепях. Показано, что если приложенная сила не очень велика, то она стабилизирует спиральную конформацию цепи. Напротив, большая

сила стабилизирует конформацию сильно вытянутого клубка. Смещение температуры перехода может достичь 20—30 °С, резкость перехода от силы практически не зависит. В заряженных цепях не очень большая внешняя сила приводит к увеличению степени диссоциации, вызывающей переход при фиксированной температуре. При большой силе степень диссоциации, вызывающая переход, может быть меньше, чем в отсутствие силы. В зависимости от величины приложенной силы при переходе спираль — вытянутый клубок может наблюдаться как увеличение, так и уменьшение размеров цепи в направлении силы.

Ряд положений, следующий из статистического рассмотрения механохимии полиэлектролитных цепей, подлежит дальнейшему экспериментальному исследованию.

Биологические сократительные системы, выполняющие механохимические процессы, далеки от простых полиэлектролитных моделей. Эти процессы непосредственно связаны с ферментативной активностью. Тем не менее, описанные свойства полиэлектролитов весьма существенны для биофизики механохимических явлений.

Очевидно, однако, что рассмотрение равновесных явлений — равновесная термодинамика и статистическая механика — недостаточно для понимания биологической механохимии. Мы имеем здесь дело с кинетическими явлениями в открытых системах. Необходимо теоретическое и экспериментальное исследования кинетики сократительных процессов.

В биологии мы встречаемся с разнообразными механохимическими процессами. Перечислим важнейшие из них:

- 1) Движения животных и их органов — работа мышц;
- 2) движения растений; 3) движения клеток — работа жгутиков и ресничек; 4) вся совокупность движений в процессах митоза и мейоза; 5) движение протоплазмы внутри неделящейся клетки; 6) сократительные процессы в хвостах фаговых частиц; 7) механохимические процессы в мембранах; 8) движение мРНК относительно рибосом в полисомах; 9) механорецепция.

Этот перечень нельзя считать исчерпывающим. Все названные явления происходят в надмолекулярных системах. Соответственно их изучение относится к биофизике клетки. Имеются веские основания считать, что во всех механохимических биологических процессах источником необходимой химической энергии являются макроэргические вещества, прежде всего АТФ. Гидролитическое расщепление АТФ происходит с участием АТФ-азы — фермента или группы ферментов. Рабочими веществами механохимических процессов служат сократительные белки. Открытие АТФ-азной активности одного из них — миозина мышцы, сделанное Энгельгардтом и Любимовой [8], является ключевым. Сократительный белок есть одновременно АТФ-аза.

Энгельгардт сформулировал общий принцип биологической механохимии: «Фермент, катализирующий завершающую биохимическую реакцию функционального обмена, должен являться интегральной частью самого механизма, осуществляющего данную функцию» [15].

Из всех перечисленных явлений лучше всего изучено мышечное сокращение — процесс, представляющий первостепенный интерес для физиологии и биофизики.

§ 5.2. СТРУКТУРА МЫШЦЫ И МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ

Позвоночные животные имеют три вида мышц — гладкие мышцы в стенках полых органов, поперечно-полосатые мышцы сердца и поперечно-полосатые скелетные мышцы. Последующее изложение относится преимущественно к последнему виду мышц.

Мышцы имеют волокнистое строение. Под обычным микроскопом без труда наблюдается поперечно-полосатая структура мышечных волокон. Отдельное мышечное волокно имеет диаметр 0,02—0,08 мм. Оно окружено мембраной, толщина которой около 100 Å. Волокно состоит из 1000—2000 более тонких волокон — *миофибрилл* диаметром 1—2 мкм. Фибриллы имеют оболочку, образованную трубочками и пузырьками саркоплазматического ретикулума, о роли которых сказано дальше. Мышца содержит также митохондрии, расположенные между фибриллами. Микроскопическое строение миофибриллы показано на рис. 5.4. Миофибрилла в свою очередь состоит из ряда белковых нитей — толстых и тонких. Симметрия их расположения в поперечном сечении гексагональна (рис. 5.5). На рис. 5.6 показано продольное сечение миофибриллы, а на рис. 5.7 — ее схематическое строение. Черные линии на рис. 5.6 (они отчетливо видны и на рис. 5.4) — это так называемые Z-линии (Z-диски, имеющие вид линий в продольном сечении). Участок миофибриллы между двумя Z-линиями называется *саркомером*. Он разделяется на несколько зон, хорошо наблюдаемых с помощью фазово-контрастной микроскопии. Центральная A-полоса анизотропна и обладает двойным лучепреломлением. К ней примыкают с двух сторон изотропные I-полосы. При растяжении покоящейся мышцы в середине A-полосы появляется зона H меньшей плотности. Эти детали структуры изображены схематически на рис. 5.6 и 5.7.

Электронно-микроскопические исследования, проведенные Хаксли и Хансон [16, 17], позволили установить расположение толстых и тонких белковых нитей в саркомере (см. рис. 5.5 и 5.7). Толстые нити образованы белком *миозином*, тонкие — в основном белком *актином*. Каждая толстая нить состоит из

180—360 продольно ориентированных молекул миозина, ответственных за анизотропию плотной А-полосы. Менее плотная

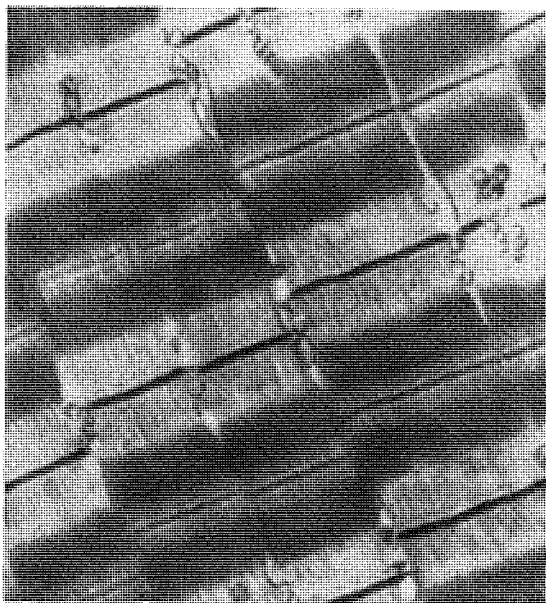


Рис. 5.4. Электронная микрофотография миофибриллы мышцы лягушки.

I-полоса образована тонкими нитями актина, молекулы которого представляют собой двойные спирали (F-форма актина), возникшие в результате полимеризации глобулярного G-актина. В саркомере число G-глобул равно примерно 800 на одну тонкую нить. Тонкие нити F-актина проходят через Z-диски.

У высших позвоночных молярное отношение актина к миозину примерно равно 4:1, весовое отношение — 1:2.

Актиновая нить представляет собой двойную спираль с G-субъединицами, повторяющимися через 54,6 Å вдоль каждой из двух цепей с расстоянием между точками их пересечения 340—420 Å [18, 19]. Диаметр двойной спирали актина составляет 60—80 Å. Толстые нити миозина

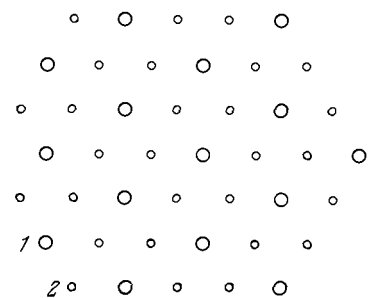


Рис. 5.5. Схема участка поперечного сечения миофибриллы.

1—толстые нити, 2—тонкие.

ками их пересечения 340—420 Å [18, 19]. Диаметр двойной спирали актина составляет 60—80 Å. Толстые нити миозина

имеют диаметр 140 Å. Из миозиновой нити выступают «головки», расположенные на нити в виде спирали 6/2. На данном уровне два выступа находятся напротив друг друга. Следующие два выступа находятся на расстоянии 143 Å и повернуты относительно первой пары на 122°. Структура как целое повторяется с периодом $3 \times 143 = 429 \text{ Å}$ [18, 19].

Миозин представляет собой фибриллярный белок — он состоит из молекул длиной

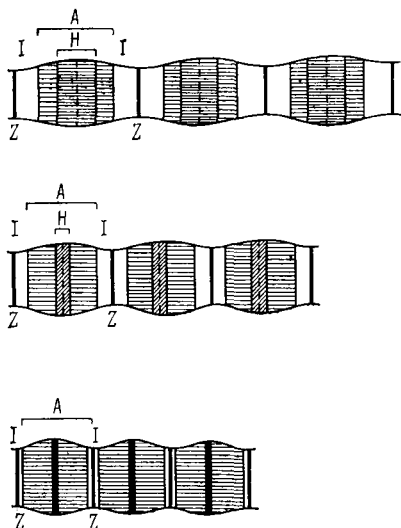


Рис. 5.6. Схема продольного сечения миофибриллы при трех разных ее длинах.

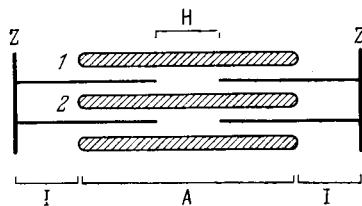


Рис. 5.7. Схема строения саркомера.

1500 Å и диаметром около 20 Å. Утолщенный конец молекулы («головка») имеет длину около 200 Å и ширину около 40 Å. На

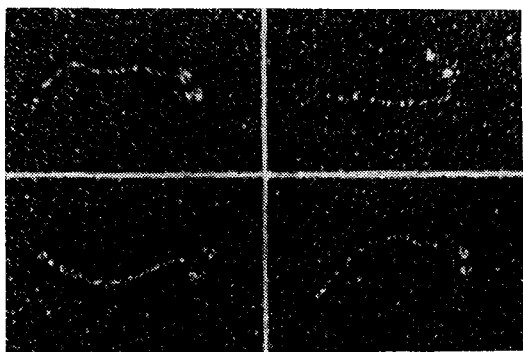


Рис. 5.8. Электронные микрофотографии молекул миозина при увеличении 175 000, полученные Такахаши.

рис. 5.8 показаны электронные микрофотографии миозина [20]. Подробное электронно-микроскопическое исследование миозина

привело к результатам, показанным на рис. 5.9 [21]. Молекула построена из фрагментов, отвечающих фракциям, получаемым при гидролизе трипсином, а именно, из легкого меромиозина (ЛММ) и тяжелого меромиозина (ТММ), имеющего два фрагмента S-1 и S-2. Молекулярные веса и продольные размеры этих фрагментов указаны на рис. 5.9. Длинная прямая часть молекулы является двойной суперспиралью. Общий молекулярный вес миозина составляет около $5 \cdot 10^5$,

Рис. 5.9. Схема строения молекулы миозина.
Указаны продольные размеры фрагментов и их молекулярные веса.

степень α -спиральности велика (примерно 58%). Миозин содержит большое число кислотных и основных аминокислотных остатков.

При образовании толстой нити молекулы миозина агрегируют, по-видимому, в результате электростатических взаимодействий между их ЛММ-«хвостами». Схема агрегации показана на рис. 5.10. «Головки», выступающие из толстой нити, образованы фрагментами S-1 тяжелого меромиозина. Детальная модель структуры миозиновой нити предложена в работах [22, 23].

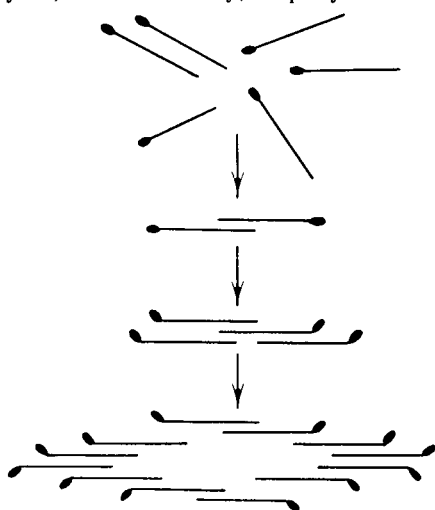
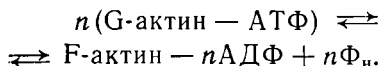


Рис. 5.10. Схема агрегации молекул миозина.

Сфероидальные мономеры G-актина имеют диаметр около 55 Å и молекулярный вес 46 000—47 000. Степень α -спиральности около 30%. Полимеризация G-актина в F-актин происходит с участием АТФ



Полимеризация в растворе идет в присутствии солей, в частности, для этого требуются ионы Mg^{++} . Скорость дефосфорилирования АТФ зависит от начальной концентрации G-актина и растет пропорционально ее третьей или четвертой степени [24]. Количественная теория кооперативной спиральной агрегации актина предложена в работе [25].

В тонких нитях наряду с актином содержатся в меньших количествах другие белки — *тропомиозин* и *тропонин*. Тропомиозин имеет молекулярный вес около 70 000 и состоит из длинных молекул — длина их около 450 Å, а отношение длинной и короткой осей эффективного эллипсоида превышает 20. Степень α -спиральности тропомиозина около 90%. Тропонин — глобулярный белок, состоящий из трех компонентов с молекулярными весами 37 000, 23 000 и 19 000.

Тонкая нить представляет собой комплекс актина с тропомиозином и тропонином. Как уже сказано, сферы G-актина объединены в двойную спираль. Согласно схеме, предложенной Эбаша [26], длинные молекулы тропомиозина располагаются вдоль каждой борозды двойной спирали, глобула тропонина помещается вблизи молекулы тропомиозина (рис. 5.11) [26].

Пока что мы располагаем скудными сведениями о других белках миофибрилл — об α - и β -актинине и *M-белке*. Их молекулярные веса равны соответственно 100 000, 70 000 и 155 000. Наряду с тропомиозином и тропонином эти белки играют, по-видимому, регуляторную роль [27]. Дальнейшие подробности, относящиеся к химическим и физико-химическим свойствам мышечных белков, приведены в монографиях [20, 28, 29].

В работах Вазиной и соавторов [106—109] установлено, что сократительные белки мышцы, а также актин из плазмодия миксомицета и флагеллин из жгутиков бактерий образуют в растворе жидкие кристаллы. Такие системы дают при рентгенографическом исследовании прекрасные дифракционные картины с двумя типами рефлексов, обусловленных соответственно структурой фибрилл и их упаковкой. Жидко-кристаллические структуры анизотропны, они способны к полиморфным превращениям, т. е. в них возможны фазовые переходы. Выше были рассмотрены жидко-кристаллические свойства биологических мембран (§ 3.9). Эти свойства в значительной степени определяют биологическую функциональность мембран. Есть основания думать, что жидко-кристаллические свойства сократительных белков существенны для сокращения мышцы.

Световая и электронная микроскопия позволила установить основные структурные особенности мышечного сокращения.

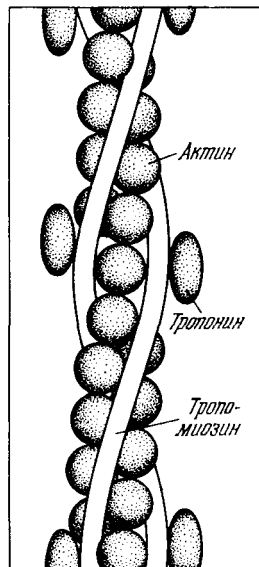


Рис. 5.11. Схема строения тонкой нити.

При сокращении (укорочении) мышцы происходит сужение I-полос без изменения протяженности A-полосы. Z-диски движутся навстречу друг другу. В конечном счете I-полосы исчезают вовсе, а в центре саркомера появляется уплотнение. Объем саркомера при укорочении меняется мало, следовательно, он становится толще.

Очевидно, вещество A-полосы более жестко, чем вещество I-полос. Наблюдаемые изменения оптической плотности можно

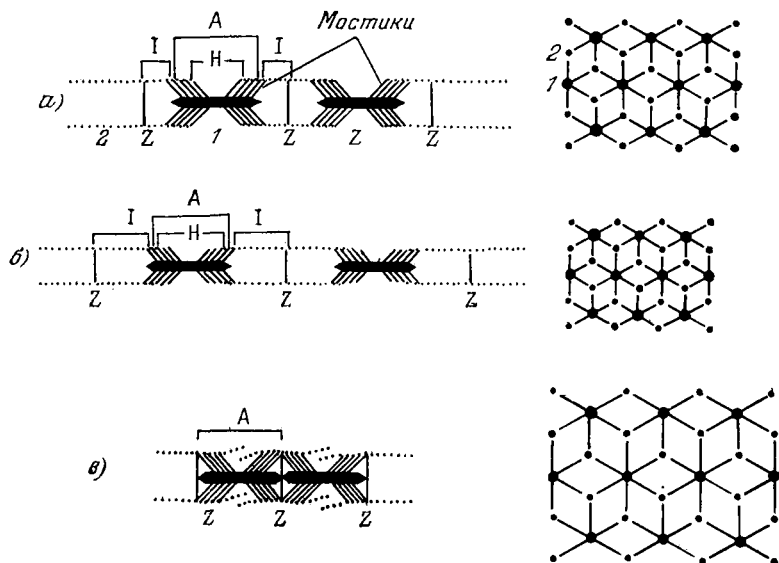


Рис. 5.12. Скользящая модель.

a — нормальное строение волокна, *б* — растянутое волокно, *в* — сильно укороченное волокно. Справа — поперечное сечение.

объяснить только, предположив, что в укорачивающемся саркомере происходит перемещение вещества. Электронная микроскопия действительно показывает, что при укорочении толстые нити вдвигаются между тонкими и саркомер укорачивается подобно подзорной трубе. Это — *скользящая модель мышцы*, развитая Х. Хаксли (см. [28]).

Взаимодействие толстых и тонких нитей происходит посредством «головок» миозина, образующих мостики, соединяющие нити. Мостики, таким образом, состоят из ТММ. В нормальном физиологическом состоянии мышцы перекрытие между толстыми и тонкими нитями таково, что могут образоваться все возможные мостики (рис. 5.12, *a*); при сильном растяжении этого уже нет (рис. 5.12, *б*). При больших укорочениях, по-видимому, происходит деформация тонких нитей (рис. 5.12, *в*).

Миозин ответствен за анизотропию А-полосы: в I-полосах миозина нет и, следовательно, тонкие нити сами по себе анизотропии не создают.

В скользящей модели каждый мостик работает циклически. Мостик толкает или тянет актин к центру А-полосы на расстояние порядка 50—100 Å, затем он отщепляется от актина и присоединяется к актину вновь в другой его точке, находившейся вначале на большем удалении от центра А-полосы. Далее цикл повторяется. Непрерывное движение актиновых нитей происходит в результате асинхронного действия мостиков [30]. Этот механизм требует структурной полярности в расположении сократительных белков в толстых и тонких нитях. Действительно, все молекулы миозина ориентированы в одну сторону в одной половине толстой нити и в другую — во второй половине [31]. Найдено также, что все мономеры актлина, лежащие вдоль двойной спирали, имеют одинаковую полярность, а полярности тонких нитей, выходящих из Z-мембраны в разные стороны, противоположны [31].

Изучение мышечных волокон методом рассеяния рентгеновых лучей под малыми углами полностью подтверждает результаты электронно-микроскопических исследований и существенно их дополняет [18, 32, 33]. Поскольку объем саркомера при укорочении не меняется, можно было ожидать, что расстояния между нитями будут обратно пропорциональны корню квадратному из длины саркомера. Измерения экваториальных рентгеновских рефлексов дают линейную зависимость между этими величинами, что свидетельствует об эффективном «удлинении» мостиков при укорочении мышцы, т. е. о гибкости «головок» ТММ. С другой стороны, дифракция рентгеновых лучей под малыми углами подтверждает неизменность длины самих толстых и тонких нитей.

В работе [34] методом рентгенографии показано, что при сокращении мышцы происходит радиальное перемещение мостиков.

Толкающее или тянущее усилие, развиваемое мостиком, может быть лишь результатом конформационного превращения. Такое превращение может выражаться либо в активном изменении угла, под которым «головка» ТММ присоединена к тонкой нити, либо в изменении ее формы. Опыт показывает, что связь мостиков с толстыми нитями гибкая, а их связь с тонкими нитями весьма жесткая [18, 31]. На рис. 5.13 показана схема изменения угла, под которым мостик присоединен к тонкой нити в последовательные моменты времени [30].

При окоченении мышцы (rigor) возникают жесткие и неподвижные связи между мостиками и тонкими нитями. Спиральная

периодичность нарушается, период 429 Å исчезает и заменяется слоевыми линиями, отвечающими 360—380 Å. Вместе с тем период 143 Å сохраняется. Эти явления также можно

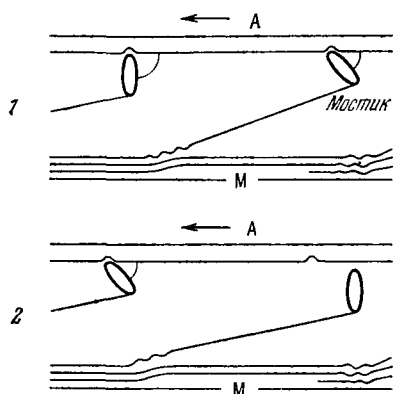


Рис. 5.13. Изменение угла между мостиком и тонкой нитью.

1 и 2 — последовательные моменты движения; А — актин, М — миозин.

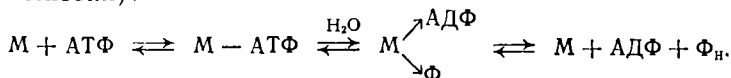
объяснить изменениями в расположении мостиков при сохранении структуры толстой нити.

Описанная структурная картина, находящаяся в полном согласии со скользящей моделью, может считаться надежно установленной. Физическая теория мышечного сокращения должна основываться на скользящей модели как на опытном факте. Одновременно теория, задачей которой является молекулярное истолкование особенностей мышечного сокращения, должна наряду со структурными данными учитывать и объяснять результаты

биохимических и биофизических (физиологических) экспериментальных исследований. Структурные, биохимические и биофизические исследования — три источника информации о строении и функции мышц.

§ 5.3. БИОХИМИЯ И МЕХАНИКА МЫШЦЫ

Многолетние работы биохимиков позволяют сегодня определить важнейшие химические процессы в мышце. Основой биохимии мышцы является уже упомянутая выше (см. стр. 218) ферментативная активность миозина (его способность катализировать гидролитическое расщепление АТФ), открытая Энгельгардтом и Любимовой. Схема этой важнейшей реакции следующая (М — миозин):

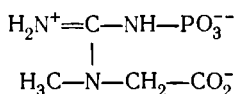


Эта реакция сильно зависит от состава ионной среды и от присутствия двухвалентных катионов. В мышце она реализуется при физиологическом значении рН 7,4. Для реакции *in vitro* необходимо присутствие ионов Ca^{++} , она реализуется оптимальным образом при концентрации Ca^{++} , равной или несколько превышающей концентрацию АТФ. Ионы Mg^{++} ингибируют АТФ-азную активность миозина *in vitro*.

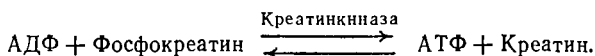
В мышце миозин функционирует при взаимодействии с актином (как уже сказано, через мостики ТММ) в актомиозиновом комплексе. В этих условиях ионы Mg^{++} оказывают активирующее действие. Для АТФ-азной активности *in vivo* необходимы и кальций, и магний (см. работу [35]).

Возбуждение (активация) скелетной поперечно-полосатой мышцы происходит в результате передачи на нее нервного импульса. Сокращение может быть инициировано и искусственным электрическим импульсом. По-видимому, действие импульса приводит к увеличению концентрации ионов Ca^{++} , взаимодействующих с белками фибриллы. Каждая фибрилла окружена сложной системой продольных и поперечных тонких сосудов — саркоплазматическим ретикулумом. С помощью меченых атомов Ca^{45} доказано, что подача нервного или электрического импульса вызывает выход ионов Ca^{++} из ретикулума в жидкость, омывающую белковые нити, — в саркоплазму. Это — конечный результат деполяризации определенных участков мышечной мембраны ацетилхолином, выделяемым в синапсах (см. стр. 206) [28, 36]. Молекулярный механизм выделения кальция пока неизвестен. Концентрация свободных ионов Ca^{++} в релаксированной мышце очень мала, вероятно меньше 10^{-7} — 10^{-8} М. При активации она повышается на 2—3 порядка.

В течение длительного времени не удавалось доказать прямыми опытами пропорциональность между производимой мышцей работой и расходом АТФ вследствие АТФ-азной активности актомиозина. Дело в том, что АТФ немедленно образуется вновь из АДФ в результате отщепления фосфатной группы от фосфокреатина



Наряду с приведенной выше реакцией идет реакция Ломанна



Еще недавно в ряде работ АТФ в мышце рассматривалась всего лишь как пластификатор или как вещество, расходуемое не при сокращении мышцы, а при ее релаксации, т. е. при возвращении в состояние покоя (см. [36]). Однако в экспериментах последних лет непосредственно доказано, что АТФ расщепляется именно при сокращении мышцы. Был найден реагент — фтординитробензол — ингибирующий креатинкиназу и, следовательно, прекращающий реакцию Ломанна. Вместе с тем фтординитробензол не влияет на сокращение мышцы и на первую реакцию. С помощью этого реагента удалось установить, что АТФ рас-

щепляется как при *одиночном сокращении* мышцы (twitch), так и при *тетаническом* (столбнячном) *сокращении*. С другой стороны, можно заблокировать йодацетатом обратную реакцию образования фосфокреатина из креатина. Тогда расход фосфокреатина характеризует количество АДФ, образующееся при сокращении. Доказано, что количества расщепляемой при сокращении мышцы АТФ соответствуют убыли фосфокреатина в реакции Ломанна (см. [20, 28, 29]).

Релаксация мышцы ранее связывалась с действием некоего фактора, названного *фактором Марша — Бендолла*. В дальнейшем выяснилось, что этот фактор, действие которого наблюдалось и *in vitro*, состоит из фрагментов саркоплазматического ретикулума и релаксация определяется уходом ионов Ca^{++} в ретикулум из саркоплазмы.

Таким образом, ионы Ca^{++} регулируют сократительные процессы в мышце. По-видимому, это происходит при непосредственном участии тропонина и тропомиозина (см. стр. 223). В отсутствие Ca^{++} тропонин в комплексе с тропомиозином ингибирует взаимодействия актина с миозиновыми мостиками. Кальций, поступивший в саркоплазму, связывается с тропонином и прекращает его ингибирующее действие. Следовательно, кальций играет роль дерепрессора и переводит тонкую нить из неактивного в активное состояние [26, 37, 38, 205].

В работе [39] предложена теоретическая модель, объясняющая кинетику развития натяжения в мышечном волокне при наложении на его мембрану деполяризующего напряжения. Деполяризация вызывает переход ионов Ca^{++} из ретикулума в саркоплазму. Эта работа изложена в § 5.8.

Биохимия мышцы — обширная и сложная область. Здесь мы ограничиваемся лишь самыми краткими сведениями, необходимыми для понимания физики мышечного сокращения. Мы еще вернемся к этим процессам при рассмотрении биоэнергетики мышцы (подробное изложение биохимии мышцы см. в [20, 40]).

Обратимся теперь к другой группе фактов — к механическим свойствам мышцы, изученным в серии многолетних биофизических работ Хилла (см. [41]), а также ряда других авторов.

Термин «сокращение» употребляется применительно к мышце в двух смыслах. *Изометрическое сокращение* происходит в мышце при ее фиксированной длине, причем развивается напряжение без укорочения. Это напряжение можно измерить. Наоборот, *изотоническое сокращение* означает *укорочение* мышцы при постоянной нагрузке. В этом случае мышца производит работу, подымая груз.

Экспериментальная методика точных измерений зависимости скорости изотонического сокращения от нагрузки, измерений напряжения, развиваемого при изометрическом сокращении, а так-

же методика калориметрических измерений теплообмена мышцы при ее сокращении была развита в классических работах Хилла [42—45] и в дальнейшем не раз усовершенствовалась. На рис. 5.14 изображена схема установки, применяемой в исследованиях мышцы [46]. Основным устройством служит рычаг, к одному концу которого легкой цепью прикреплена мышца *М*. Другой конец мышцы закреплен. Сокращение стимулируется электродами *Э*. При изучении одиночных изотонических сокращений мышца нагружается в положении *Р*. Напряжение определяется

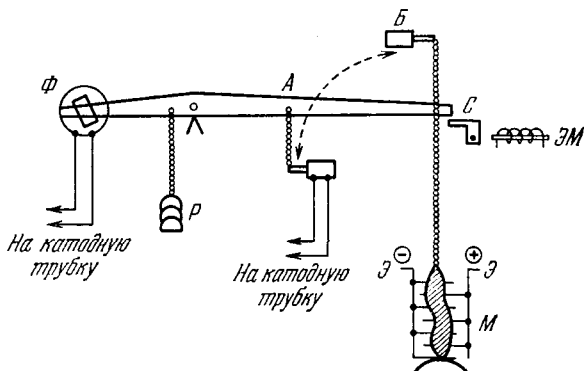


Рис. 5.14. Схема установки для изучения сокращения мышцы.
Объяснение в тексте.

с помощью датчика, находящегося в положении *А*. При измерении изометрического напряжения датчик переводится в положение *Б*. Изотоническое сокращение определяется по движению другого конца рычага, фиксируемому с помощью фотоэлемента *Ф*. Стопор *С*, контролируемый электромагнитом *ЭМ*, применяется для того, чтобы поддерживать желаемую длину мышцы или освобождать изометрически сокращаемую мышцу до желаемой степени. Опыты с портняжной мышцей лягушки показывают, что в первые 15 мс после возбуждения одиночного изометрического сокращения происходит ряд изменений, определяемых процессом выделения ионов Ca^{++} из саркоплазматического ретикулума. Затем напряжение начинает расти, достигая своего максимума через 170 мс (при 0°C). Далее оно падает, исчезая полностью более чем через 1 с. При изотоническом сокращении укорочение убывает с ростом груза *Р*; его максимум достигается тем раньше, чем больше этот груз. Затем происходит релаксация к исходному состоянию, тем более длительная, чем меньше груз. Развитие изотонического напряжения в мышце следует практически той же временной кривой, что и развитие изометрического напряжения.

Хилл установил эмпирически основное характеристическое уравнение механики мышечного сокращения [42]. Оно связывает стационарную скорость изотонического сокращения, укорочения, V с нагрузкой P и имеет гиперболическую форму

$$V = b \frac{P_0 - P}{P + a} \quad \text{или} \quad P = \frac{bP_0 - aV}{V + b}; \quad (5.19)$$

здесь P_0 — максимальная сила, развиваемая мышцей, или максимальный груз, удерживаемый мышцей без ее удлинения, b и a — константы. При $P=0$ скорость укорочения максимальна

$$V_{\max} = b \frac{P_0}{a}. \quad (5.20)$$

Напротив, при $P = P_0$ находим $V = 0$. При $P > P_0$ мышца уже не укорачивается, но удлиняется. Это удлинение не следует уравнению (5.19).

Обер предложил другое эмпирическое уравнение [47]

$$V = B \ln \frac{P_0 + P_1}{P + P_1}, \quad (5.21)$$

где B и P_1 — константы. P_1 имеет смысл малой «внутренней силы трения», препятствующей укорочению.

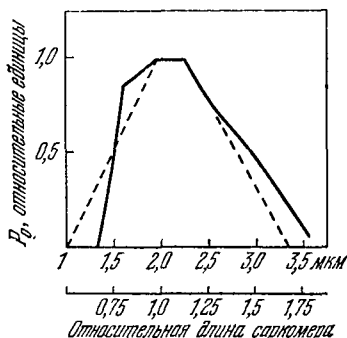
Рис. 5.15. Зависимость максимальной силы от длины саркомера.

Сплошная линия — данные [48, 49], пунктир — данные [50]. P_0 измерено в относительных единицах.

Мы будем исходить из уравнения Хилла, сама простота которого заставляет думать, что оно отражает сравнительно простые физические закономерности, лежащие в основе сокращения.

Опыт показывает, что константа b , имеющая размерность скорости, быстро возрастает при увеличении температуры. Так, при нагревании на 10° вблизи 0°C b увеличивается вдвое. Константа a составляет от $0,25P_0$ до $0,4P_0$. Следовательно, V_{\max} больше b в 2,5—4 раза.

Уравнение Хилла (а также уравнение Обера) справедливо лишь в условиях стационарного укорочения, идущего с постоянной скоростью. Вместе с тем область его применения ограничивается длинами мышцы, близкими к физиологическим. Дело в том, что максимальная сила P_0 зависит от длины саркомера — от степени его укорочения или удлинения. На рис. 5.15 приведены результаты измерений зависимости P_0 от относительной длины саркомера в отдельном мышечном волокне по данным работ [48, 49] и по более новым данным [50]. Эта зависимость легко объясняется на основе скользящей модели. P_0 имеет наи-



большее значение и отвечает некоторому плато на рис. 5.15 при длинах, близких к физиологической. Этому соответствует полное перекрывание нитей актина и ТММ-«головок» миозиновых нитей и, следовательно, возможность образования максимального числа мостиков (см. рис. 5.12, а). При больших длинах саркомеров степень перекрывания и число возможных мостиков убывают (см. рис. 5.12, б). Соответственно убывает и P_0 . Наконец, при больших укорочениях нити деформируются (рис. 5.12, в) и P_0 снова падает. Уравнение Хилла справедливо в области плато, в области наибольших P_0 , т. е. при длинах саркомера примерно от 1,7 до 2,5 мкм или при относительных длинах от 0,9 до 1,25. Величина P_0 мало зависит от температуры, по-видимому, слегка увеличиваясь с ее ростом. Это относится и к константе a , пропорциональной P_0 .

Механические свойства мышцы изучаются как при одиночных сокращениях, так и при тетаническом сокращении. Единичный нервный или электрический импульс вызывает одиночное сокращение. При достаточно частых импульсах, подаваемых подряд (скажем, при 15 импульсах в 1 с), одиночные сокращения объединяются в тетаническое сокращение, так как каждый следующий импульс попадает в рефрактерный период предыдущего (см. стр. 168). Иными словами, предшествующее возбуждение еще не успевает отрелаксировать.

Пользуясь уравнением Хилла, легко вычислить работу, производимую мышцей при одиночном или тетаническом сокращении. Работа равна

$$W = PVt = bPt(P_0 - P)/(P + a). \quad (5.22)$$

Зависимость W от P имеет колоколообразную форму; W обращается в нуль при $P = P_0$ и при $P = 0$ и достигает максимума при $P = [a(P_0 + a)]^{1/2} - a$ и (так как $a = 0,25P_0 - 0,40P_0$) при $P = 0,31P_0 - 0,35P_0$.

Согласно скользящей модели за напряжение, развиваемое мышцей, целиком ответственны нити актина и миозина и Z-диски. Все эти элементы не вполне жестки, они обладают некоторой податливостью. Конечные саркомеры мышечного волокна связаны с соединительной тканью сухожилий и здесь также имеется податливость, пластичность. Одновременно эти элементы вносят упругость. Однако общий вклад их упругих и пластических деформаций не превышает 3% от деформации мышцы. Все же следует рассматривать мышцу как вязкоупругое тело. Как мы увидим, уравнение Хилла описывает только вязкое течение в мышце, но не учитывает ее упругости. Феноменологическое модельное описание вязкоупругих свойств мышцы было также предложено Хиллом [41—45, 51]. Он пришел к выводу, что актив-

ная мышца содержит недемпфированный упругий элемент и последовательно соединенный с ним демпфированный упругий элемент. Покоящаяся мышца характеризуется только упругостью. В дальнейшем анализ вязкоупругих свойств мышцы привел к выводу о существовании второго упругого элемента, параллельного первым двум [52]. Формальные модели, описывающие такую систему, — это комбинации модели Фойгта и модели Максвелла (рис. 5.16) [52, 53]. Модель Фойгта представляет собой упругий элемент, соединенный параллельно с демпфирующим элементом, модель Максвелла — те же элементы, соединенные последовательно. Модели такого рода были применены для интерпретации экспериментальных результатов Бухталем и Кайзером [54]. Для этих целей можно воспользоваться и эквивалентными электрическими моделями [53].

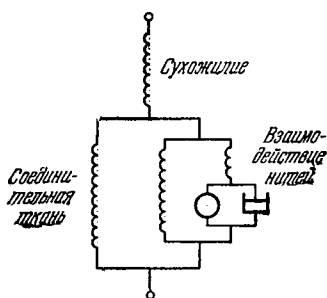


Рис. 5.16. Возможная механическая модель мышцы.

Исследование вязкоупругих свойств мышцы особенно существенно при выяснении ее кинетики в нестационарном режиме. Эти вопросы рассматриваются в § 5.6.

Максимальное напряжение P_0 поперечно-полосатой икроножной мышцы лягушки имеет порядок величины $3 \cdot 10^6$ дин/см², что соответствует $3 \cdot 10^{-7}$ дин на тонкую нить. Предполагая, что каждый единичный элемент содержит одну молекулу миозина и каждый цикл замыкания и размыкания мостика сопровождается расщеплением одной молекулы АТФ, энергия которой используется на 50%, получаем следующие характеристики единичного элемента [55]:

| | |
|----------------------|--|
| Развиваемая сила | $3 \cdot 10^{-7}$ дин |
| Перемещение | 10^{-6} см |
| Потребляемая энергия | $2 \cdot 3 \cdot 10^{-13}$ эрг ($15k_B T$) |
| Время цикла | 1 мс |

§ 5.4. ТЕРМОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЦЫ

Одновременно с производимой работой укорачивающаяся мышца выделяет тепло. Тепло выделяется и при изометрическом сокращении. При релаксации изотонического напряжения падающий груз производит над мышцей работу. Эта работа также превращается в тепло.

Точные эксперименты, проведенные с помощью чувствительных термпар [43, 44], позволяют разделить выделяемое тепло

на несколько вкладов. На ранней стадии сокращения, до развития напряжения или укорочения, выделяется теплота активации Q_a — величина порядка 1 мкал на 1 г веса мышцы. Эта теплота, по-видимому, связана с процессом активации, т. е. с выделением ионов Ca^{++} в саркоплазму и их взаимодействием с активными центрами актомиозиновой системы. Далее, по мере сокращения мышцы и производства работы выделяется теплота сокращения Q_c . Если мышца укорачивается, теплота выделяется быстрее, чем при изометрическом сокращении за то же время в тетанусе при той же длине мышцы. Общее изменение энергии в процессе сокращения можно представить в виде

$$\Delta E = Q_a + Q_c + W. \quad (5.23)$$

При расслаблении мышцы и опускающемся грузе работа W также превращается в тепло.

Тепло, выделяемое при изометрическом сокращении, зависит от длины мышцы и от времени. Скорость выделения тепла при изометрическом сокращении портняжной мышцы лягушки быстро уменьшается от 19 мкал/(с·г) до 1 мкал/(с·г) — значения, достигаемого к тому времени, когда напряжение развивается до своей максимальной величины, т. е. через 1 с после раздражения [43].

Скорость выделения тепла связана с длиной саркомера примерно так же, как и P_0 , — она максимальна в области физиологических размеров мышцы. Отсюда можно заключить, что выделяемое тепло связано с поддержанием напряжения и возникает в результате «мостикового» взаимодействия толстых и тонких нитей.

В опытах Хилла мышца тетанизовалась, т. е. непрерывно возбуждалась в изометрических условиях, а затем сразу отпускалась и укорачивалась, поднимая груз, до некоторой заданной длины. При этом выделяется «экстратеплота» сверх изометрической — *теплота укорочения*. Результаты такого опыта показаны на рис. 5.17. Момент отпуска и моменты окончания укорочения отмечены стрелками. Когда укорочение прекращается, выделение тепла вновь идет параллельно изометрической кривой, иными словами, прекращается продукция теплоты укорочения. Экстратеплота при постоянной нагрузке пропорциональна укорочению, а при постоянном укорочении — нагрузке [41—44].

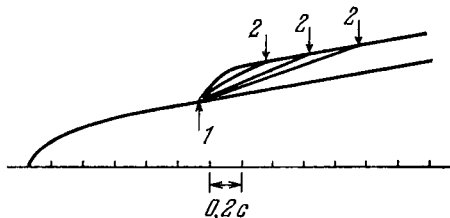


Рис. 5.17. Выделение тепла мышцей, укорачивающейся при различных нагрузках.

1 — момент отпуска, 2 — моменты окончания укорочения.

В стационарных изотонических условиях мощность мышцы, т. е. скорость выделения энергии в виде тепла и работы, равна

$$\dot{E} = \dot{W} + \alpha V + m, \quad (5.24)$$

где m — скорость выделения тепла при изометрическом тетаническом сокращении, αV — скорость выделения теплоты укорочения (экстратеплоты), приближенно независимая от времени, протекшего с момента возбуждения, и от длины мышцы. Так как $\dot{W} = PV$, можно представить выделение экстратеплоты и работы в единицу времени выражением

$$\dot{E}' = (\alpha + P)V. \quad (5.25)$$

Если α совпадает с a в характеристическом уравнении Хилла, то

$$\dot{E}' = b(P_0 - P). \quad (5.26)$$

В ранних опытах Хилла получалось это совпадение α с a . Однако через четверть века, усовершенствовав методику, Хилл установил, что тепловая мощность при стационарном укорочении, приходящаяся на единицу длины, не постоянна, но зависит от P . Величина α представляется выражением [44]

$$\alpha = 0,16P_0 + 0,18P. \quad (5.27)$$

Уравнение (5.26) можно представить в виде

$$\dot{E}' = b'(P_0 - P) - \gamma P_0 V. \quad (5.28)$$

Подставляя (5.27) в (5.25), получаем

$$\dot{E}' = (0,16P_0 + 1,18P)V. \quad (5.29)$$

Приравнивая друг другу правые части (5.28) и (5.29), получаем уравнение Хилла

$$(P + a)V = b(P_0 - P),$$

где

$$a = \frac{0,16 + \gamma}{1,18} P_0, \quad b = \frac{b'}{1,18},$$

и если $a = 0,25P_0$, то $\gamma = 0,135$.

В выражении (5.24) опущен член Q_a , существенный лишь на ранней стадии укорочения.

Эти результаты были получены при изучении одиночных и тетанических сокращений. Однако картина существенно меняется, если рассмотреть весь цикл сокращение — расслабление при опускающемся грузе. На рис. 5.18 показаны кривые, получаемые в одиночном цикле [56]. Кривые для работы и суммарной энер-

гии имеют закономерно колоколообразную форму. Их разность дает величину Q , которая оказывается почти независимой от P и равной примерно 2,9 мкал/г. Таким образом, укорочение мышцы (оно достигало 35% при нулевом грузе и менее 5% при $P = P_0$) не сопровождается выделением тепла. В этих условиях $E = (2,9 + W)$ мкал/г на одиночное сокращение.

Такие различия между выделением тепла в полном цикле и в одной лишь фазе сокращения, возможно, объясняются тем, что при релаксации происходит поглощающее выделение экстратеplotы при сокращении. Так ли это — пока неизвестно. Во всяком случае можно считать установленным, что полная энергия, выделяемая в виде тепла и механической работы во время одиночного сокращения, больше, если мышца может укорачиваться, чем в случае изометрического сокращения. Это — эффект Фенна [57].

Механическая эффективность мышцы может быть определена как отношение получаемой работы к израсходованной энергии

$$\eta' = \frac{W}{E} = \frac{W}{W + Q}, \quad (5.30)$$

где Q — выделяемая теплота. Опыт дает значения η' в фазе сокращения порядка 45% (для мышц лягушки и жабы). Для мышцы черепахи была найдена величина η' порядка 75% [28].

В идеальном циклическом механохимическом процессе, производящем работу, свободная энергия остается постоянной

$$\oint \Delta G = 0 \quad (5.31)$$

или согласно (5.5)

$$\oint \int dl = - \oint \sum_i \mu_i dn_i. \quad (5.32)$$

Коэффициент полезного действия характеризует отклонение от (5.32), т. е. деградацию химической энергии в тепло.

Химические исследования показывают, что в полном цикле укорочение — релаксация общее количество расщепленной АТФ (или креатинфосфата) пропорционально полной выделившейся

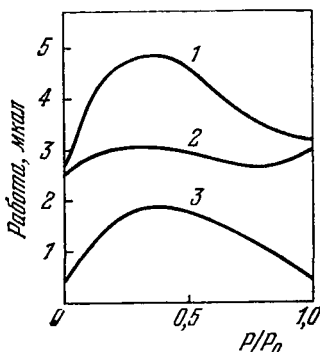


Рис. 5.18. Зависимость энергии от нагрузки при полном цикле одиночного сокращения [56].

1 — суммарная выделенная энергия, 2 — выделенное тепло, 3 — работа, произведенная мышцей.

энергии и константа пропорциональности согласуется со значением энтальпии гидролиза АТФ [55, 56, 58]. При фиксированной длине мышцы скорость расщепления АТФ пропорциональна P_0 . В начальной стадии изотонического укорочения общее количество расщепленной АТФ пропорционально совершенной работе [59—62]. Однако не удалось наблюдать расщепления АТФ, отвечающего теплу, выделяемому при укорочении ненагруженной мышцы [60—63]. Позднее все перечисленные выше данные подтвердились одновременными измерениями работы, теплоты и химических изменений за время короткого единичного сокращения [64].

При изометрическом сокращении наблюдаемое расщепление фосфокреатина объясняет лишь 35% выхода энергии. При изотоническом сокращении баланс также не соблюдается [206—208]. Это ставит серьезную проблему. Откуда берется теплота? Одна возможность состоит в том, что в покоящемся состоянии актомиозиновая система уже содержит АДФ и Φ_n . Тогда при свободном укорочении может происходить освобождение энергии без расщепления большего количества АТФ [55]. С другой стороны, возможно, что при свободном укорочении происходит выделение структурной (конформационной) внутренней энергии, линейно убывающей с укорочением. Тогда при релаксации свободно укоротившейся мышцы тепло должно поглощаться. Этого пока не удалось наблюдать [55].

Можно считать установленным, что расщепление АТФ необходимо для производства работы в изотоническом процессе и развития напряжения при изометрическом сокращении. Свободная энергия актомиозиновой системы как функция длины мышцы, может зависеть от состояния и количества АТФ, АДФ и Φ_n , но не может зависеть непосредственно от скорости гидролиза АТФ [55].

В работе [65] было показано, что изометрическое напряжение в глицеринизированных мышечных волокнах в отсутствие ионов Ca^{++} и Mg^{++} сильно возрастает с концентрацией АТФ. АТФ-азная активность соответствующих гомогенатов, напротив, сначала возрастает, а затем падает вновь. Таким образом, эти два процесса не параллельны. Авторы работы [65] приходят к выводу, что выделение свободной энергии при расщеплении АТФ не необходимо для укорочения или развития напряжения. Предполагается, что в процессе мышечного сокращения происходят изменения упорядоченности белков (см. ниже стр. 241) и источником напряжения является преимущественное взаимодействие АТФ с неупорядоченным миозином. При укорочении происходит изменение конформации миозина и возникает АТФ-азная активность. При дальнейшем увеличении концентрации АТФ

упорядоченная структура разрушается полностью. АТФ-азная активность утрачивается, но напряжение продолжает возрастать.

Надо отметить, что эти опыты, проведенные в условиях, далеких от физиологических, в частности сопоставление свойств волокон с гомогенатом, не дают оснований для столь далеко идущих выводов. Работа [65] не опровергает сказанное выше о роли АТФ в мышечном сокращении.

При расщеплении АТФ свободная энергия меняется на 7—10,5 ккал/моль и в реакции Ломанна — на 2 ккал/моль. Измеряемое на опыте изменение энтальпии равно 10,5 ккал/моль. Следовательно, $T\Delta S$ составляет от —1,5 до 2,0 ккал/моль и ΔS от —5 до +7 э. е. при 0°C. Эта оценка не учитывает, однако, неизвестных изменений свободной энергии, определяемых конформационными превращениями белков. Численные термодинамические характеристики мышечного сокращения остаются пока неопределенными.

В работе [66] подведены итоги экспериментальных исследований биоэнергетики мышцы и предложена модельная теория, объясняющая термомеханические свойства мышцы. Эта теория излагается в § 5.8. Приводим здесь суммарные результаты экспериментов, интерпретируемые согласно [66].

1. В повторных циклах сокращения и релаксации общий выход энергии, включая теплоту укорочения, соответствует суммарному химическому изменению.

2. Однако на ранних стадиях единичных сокращений химические изменения пропорциональны производимой работе, но выделившееся тепло пропорционально укорочению и не согласуется с химическим изменением.

3. Из результата 1 следует, что некоторое количество энергии запасено в активных центрах мышцы до начала сокращения в форме, которая не легко превращается в теплоту. Запасенная энергия создается химическим изменением, происходящим во время релаксации и (или) во время поздней стадии сокращения [64].

4. Вся запасенная энергия не освобождается сразу при выполнении активным центром элементарной реакции, необходимой для сокращения.

5. Когда мышца сокращается под нагрузкой или изометрически, АТФ гидролизует в активных центрах, отличных от тех, в которых запасена энергия.

Количественная теория, основанная на этих положениях, излагается далее.

Дальнейшие подробности, относящиеся к термомеханическим свойствам мышцы, приведены в монографии Бендолла [28] и в обзоре Моммертса [67].

§ 5.5. ТЕОРИИ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Оплатак развил феноменологическую теорию стационарного мышечного сокращения, основанную на неравновесной термодинамике [68]. Теория исходит из рассмотрения сокращения как пластического течения — движения скользящей модели с трением. Уравнение Хилла (5.19) не выводится из теоретических положений, но используется как опытный факт. Рассматривается скорость химической реакции, скорость расщепления АТФ, $\dot{\xi}$ и скорость укорочения V . С помощью уравнения Хилла $\dot{\xi}$ связывается с нагрузкой P . Получаемое уравнение имеет вид

$$\dot{\xi} = \frac{\dot{\xi}_0}{P_0} P + \frac{\dot{\xi}_m}{V_{\max}} V = \frac{\dot{\xi}_0}{P_0} P + b \frac{\dot{\xi}_m}{V_{\max}} \frac{P_0 - P}{a + P}. \quad (5.33)$$

У разных животных V_{\max} варьирует в 240 раз, P_0 меняется от 0,5 до 4 кг/см² (см. [69, 70]). Анализ экспериментальных данных показывает, однако, что сократительная сила f_0 , развиваемая одним мостиком, примерно постоянна и, следовательно, молекулярный процесс, генерирующий эту силу, один и тот же для разных мышц. В теории вычисляется сопряжение химического и механического потоков [71]. Влияние груза на сродство объясняется тем, что связывание ионов Ca^{++} зависит от изменения длины цепей тропомиозина при изменении нагрузки. В области $0,17P_0 < P < P_0$ сродство растет с грузом — поведение мышечных белков противоположно поведению коллагена, у которого связывание ионов уменьшается с увеличением нагрузки [72]. Связывание ионов Ca^{++} пассивными цепями тропомиозина способствует более вытянутому их состоянию. Нагрузка контролирует химические процессы в мышце посредством регуляторных белков [73]. (Дальнейшие подробности, относящиеся к этой феноменологической теории, см. в оригинальных работах [68, 74].)

История модельных теорий мышечного сокращения весьма поучительна. В ней отразились различные идеи молекулярной биофизики.

Первоначально, до установления скользящей модели, в ряде теоретических работ исследовалась полиэлектролитная модель (см. стр. 215). Райзман и Кирквуд [75] предположили, что сократительным элементом мышцы служит белковая нить, причем некоторые из аминокислотных остатков фосфорилируются за счет АТФ. При этом нить заряжается отрицательно и удлиняется. Таким образом, АТФ ответственна за релаксацию. При расщеплении АТФ нить теряет свои заряды и сокращается. Наоборот, Моралес и Боттс [76, 77] предположили, что сократительная белковая цепь заряжена положительно (ионы Ca^{++}). Благодаря сорбции АТФ эти заряды компенсируются и нить укорачивается.

В мышце действует «энтропийная» упругая сила, подобная силе, определяющей упругость каучука. Предлагались и другие гипотезы, основанные на свойствах полиэлектролитов — на свертывании и разворачивании белковых цепей, вызываемых изменениями заряда.

Помимо того, что эти теории противоречат ряду описанных выше фактов, учитываемых в скользящей модели, весьма трудно совместить возможные электростатические эффекты в среде, представляющей собой децинормальный солевой раствор, с большими мышечными силами. P_0 составляет, как мы видим, несколько кГ/см^2 — достаточно вспомнить достижения тяжелоатлетов. Термомеханические свойства мышцы также нельзя объяснить в рамках полиэлектролитной модели.

Астбери рассматривал сокращение мышцы как результат конформационного превращения в миозине, возникающего при его взаимодействии с актином [78]. В этой работе не делались какие-либо попытки объединить биохимию и биофизику мышцы, но общая идея, высказанная Астбери, сохранила свое значение.

Френкель предложил трактовать мышечное волокно как резину [79]. Сокращение волокна возникает потому, что увеличивается его модуль упругости. Модуль упругости резины тем больше, чем выше степень вулканизации каучука, т. е. чем больше сшивок введено между цепями. Френкель считал, что сшивки в мышце создаются молекулами АТФ.

В работах [80—82] исследовались вязкоупругие свойства полимерных материалов. Вязкое течение в таких веществах возникает в результате разрыва и образования сшивок под действием теплового движения. Бухталь и Кайзер [54] применили представления о вязком течении, требующем энергии активации, к мышечному сокращению. Работы [54] и [79] сегодня представляют главным образом исторический интерес, но рассмотрение скользящей модели, основанное на теории внутреннего трения Эйринга, оказывается весьма перспективным (см. § 5.6).

Эйдус считал, что мышечное сокращение вызывается силами поверхностного натяжения в капиллярной системе соприкасающихся миозиновых и актиновых нитей, погруженных в саркоплазму [83]. АТФ лишь изменяет поверхностное натяжение. В этой работе уже фигурирует скользящая модель, однако исходное предположение о непрерывных контактах между актином и миозином опровергается опытом. Позднее Гамов, видимо, не знакомый с работой Эйдуса, высказал ту же идею, но, в отличие от Эйдуса, в чисто качественной форме [84].

Другая группа работ опирается на скользящую модель, но предполагает непрерывные электростатические взаимодействия между толстыми и тонкими нитями. В этих работах по существу отвергается мостиковое взаимодействие миозина с актином. Так,

в модели Спенсера и Уортингтона [85] возбуждение мышцы означает сообщение нитям актина зарядов, противоположных зарядам на миозине. Эти заряды перемещаются вдоль нитей актина и функция АТФ сводится к пластификации. Работа [85] не имеет серьезного физического обоснования.

Наличие электростатического дальнего действия между нитями предполагается и в ряде других, более новых работ. Драгомир [86] вводит эти силы для объяснения сохранения объема мышцы при укорочении. В работе [87] рассматривается электрический двойной слой в саркомере. В статье [88] указывается, что электростатические и дисперсионные силы должны быть существенны для поддержания «миофибрилльной решетки», но авторы сами приходят к выводу о недостаточности такого объяснения.

Ни в одной из работ этого направления не дано количественное истолкование поведения мышцы.

Следующая группа исследований связана с представлениями о миграции энергии в мышечном сокращении. Сцент-Дьёрдьи, сделавший очень много для биохимии мышцы [89], выдвинул своеобразную гипотезу о природе сокращения [90]. Особо важная роль приписывается воде. Миозин поддерживается в растянутом состоянии специфически растянутой водной структурой. Ее разрушение вызывает укорочение, а восстановление структуры — релаксацию. Энергия, необходимая для разрушения водной структуры, подается АТФ. Сцент-Дьёрдьи считал, что быстрое превращение объясняется миграцией энергии по квазикристаллической сетке воды, резонансом энергетических переходов. Его гипотеза спекулятивна — нет никаких доказательств существования специальной водной структуры в мышце и миграции энергии по этой структуре. Гипотеза Сцент-Дьёрдьи не согласована с результатами электронно-микроскопических и термомеханических исследований.

Много позже Мак-Клэйр вновь обратился к рассмотрению резонансного переноса «молекулярной энергии» в мышце [91]. Давыдов предположил, что перенос энергии происходит путем распространения *солитона* — одиночной, не диссипирующей волны колебательного возбуждения С=О-связей в α -спиралях миозина. В результате толстая нить изгибается, обеспечивая периодическое замыкание мостиков [92]. Экспериментальных подтверждений эти теории пока не имеют.

Можно думать, что электронно-конформационные взаимодействия (см. [1], стр. 146) имеют существенное значение в мышечном сокращении. Толкающее или тянущее усилие в мышце, где бы оно ни было локализовано, возникает в результате конформационного превращения, которое инициируется ионами Ca^{++} , т. е. вызывается электронными, зарядовыми, взаимодействиями [93].

Более существенные работы исходят из представлений о фазовых переходах в мышце. В 1948 г. Энгельгардт высказал интересную идею о природе сокращения [94]. Предполагается, что в покоящейся мышце белок находится в упорядоченном кристаллическом состоянии. Сокращение мышцы происходит в результате плавления белковых кристаллов. Активной фазой является релаксация, а не сокращение. Роль сократительного белка состоит в сопротивлении сжатию, роль АТФ — в воздействии на предполагаемый фазовый переход. Более подробно эта идея была развита Энгельгардтом в работе [95].

Сходная идея была сформулирована Прайором [96]. Выдвигал ее в своих теоретических работах и Т. Хилл [97]. В модифицированной форме эти представления сохранили свое значение и в настоящее время. Флори также исследовал мышечное сокращение, исходя из идеи о фазовых переходах [98]. В статьях [99, 100] излагается косвенное экспериментальное подтверждение этих представлений. Авторы цитируемых работ установили, что резкое укорочение под действием АТФ глицеринизированных мышечных волокон, погруженных в смеси этиленгликоля и воды, начинается лишь с определенного состава смеси.

Нужно упомянуть, наконец, о попытках скомбинировать на модели относительное скольжение нитей актина и миозина с их свертыванием [101]. Такого рода попытки не привели к убедительным результатам.

После разработки скользящей модели и установления факта мостикового взаимодействия миозина с актином развитие теории мышечного сокращения стало связано, главным образом, с наглядным моделированием этого взаимодействия. Дэвис предложил молекулярное истолкование сокращения [102]. ТММ-выступ может существовать в двух конформациях. В отсутствие ионов Ca^{++} белок находится в неупорядоченной, но вытянутой форме вследствие отталкивания между $\text{Mg}\cdot\text{АТФ}^{-}$, присоединенным к активному центру, и отрицательными зарядами, расположенными по соседству. При активации поступивший в саркоплазму ион Ca^{++} присоединяется к связанной АТФ и образует химическую или хелатную связь с молекулой АДФ, находящейся на активном центре актина. Ионы кальция нейтрализуют заряд АТФ и уничтожают отталкивание. ТММ-выступ испытывает конформационное превращение, сокращается и освобождает энергию, запасенную в вытянутой конформации. Такое сокращение вызывает подтягивание нити актина на один шаг и одновременно переносит присоединенную АТФ в область гипотетического активного центра миозиновой АТФ-азы. АТФ расщепляется, и мостик, созданный ионом, разрывается. Далее процесс повторяется вновь. Количественные оценки параметров сокращения, следующие из этой модели, не противоречат опыту.

Однако модель встречается с серьезными трудностями. Она не объясняет, каким образом используется энергия АТФ. Непонятно, как Ca^{++} образует мостик, если Mg^{++} уже присоединен к АТФ (см. также [28, 103]).

Тономура и сотрудники предложили мостиковую модель, более обоснованную биохимически [20, 104]. Схематическое изображение модели приведено на рис. 5.19 и 5.20. Сформулируем основные исходные положения. 1. Сокращение связано с фосфорилированием и дефосфорилированием миозина. В частности, прямой гидролиз фосфорилмиозина активирует миозин. 2. Форма «головки» молекулы миозина изменяется при добавлении АТФ. 3. Связь F-актин — миозин легко расщепляется с образованием комплекса миозин — АТФ при высоких концентрациях АТФ или комплекса миозин — фосфат — АДФ при низких концентрациях АТФ. Прочность связи зависит от конформаций миозина и комплекса F-актина с регуляторным белком, конформация которого контролируется следами Ca^{++} . 4. Полный цикл происходит вследствие расщепления связи миозин — F-актин после конформационного превращения «головки» миозина, вызванного выделением энергии. Связь восстанавливается, когда молекула миозина возвращается в свою исходную форму. Как показано на рис. 5.20, Тономура предполагает различную функциональность S-1A и S-1B частей ТММ.

Наглядные модели Дэвиса и Тономуры требуют детального молекулярного обоснования. Конформационные явления в мышце и в мышечных белках изучены пока недостаточно. Установлено, что АТФ и АДФ изменяют поглощение света ТММ в области 280 нм. Конформационное превращение в миозине, индуцируемое АТФ, следует из опытов по химической модификации миозина, а также из опытов по рассеянию рентгеновых лучей под малыми углами и опытов с флуоресцентными и спиновыми метками (см. [209, 210]). Установлены также конформационные изменения актина [24, 105—109, 211]. Ясно, что конформационные превращения могут быть связаны с фазовыми переходами (см. [110, 111]).

Можно думать, что изложенные выше идеи Энгельгардта, Флори и др. имеют прямое отношение к делу. Выше уже говорилось о жидко-кристаллических свойствах сократительных белков (см. стр. 223). Жидко-кристаллическое состояние сократительных фибрилл устойчиво в широком диапазоне условий. В этом диапазоне реализуется полиморфный фазовый переход типа порядок — порядок. Показано, что структура фибриллярного актина значительно устойчивее, чем структура ансамбля из этих фибрилл. То же относится к тропомиозину. Результаты, полученные на модельных жидко-кристаллических системах, согласуются с результатами структурных исследований мышц.

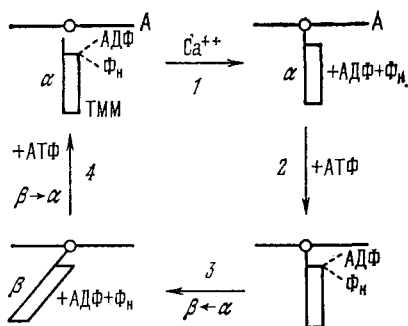


Рис. 5.19. Схема, иллюстрирующая работу мостика.

A — F-актин, ТММ — выступ тяжелого меромиозина, α и β — конформации ТММ. 1 — поступление Ca^{++} и образование мостика, 2 — фосфорилирование, 3 — дефосфорилирование и конформационный переход; 4 — разрыв мостика в результате присоединения АДФ и Φ_H (спонтанный конформационный переход).

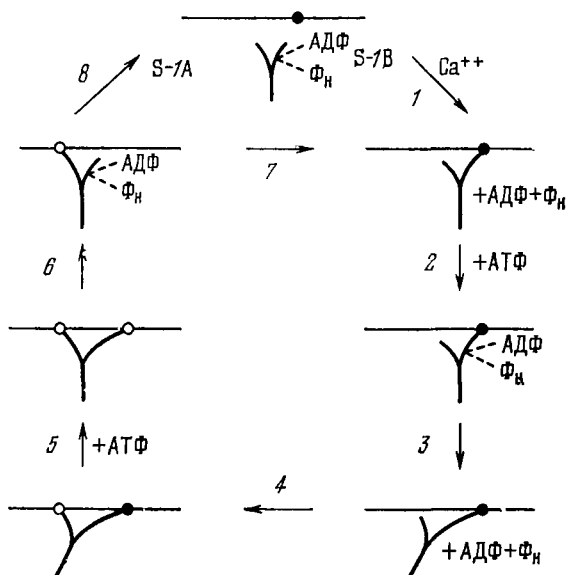


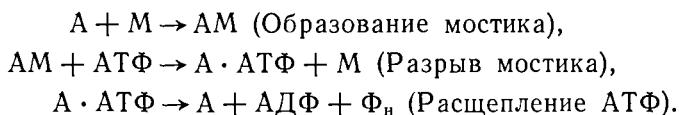
Рис. 5.20. Детализированная схема, иллюстрирующая работу мостика.

S-1B — часть «головки» миозина, содержащая активный центр АТФ-азы и центр связывания с F-актином, S-1A содержит только центр связывания с F-актином. 1 — поступление Ca^{++} , связывание S-1B, 2 — фосфорилирование, 3 — дефосфорилирование, конформационный переход, скольжение, 4 — связывание S-1A, 5 — образование комплекса миозина с АДФ и Φ_H , 6 — диссоциация связи S-1B, спонтанный конформационный переход. 7 — обмен связи S-1A \rightarrow S-1B, 8 — разрыв мостика.

В процессе укорочения мышцы меняется период решетки, построенной из протофибрилл. При вдвигении решетки тонких нитей в решетку толстых нитей тетрагональная симметрия заменяется гексагональной, т. е. решетка тонких нитей претерпевает полиморфный переход [106—109].

Дальнейшее изучение этих явлений весьма актуально. Мы еще не располагаем убедительной молекулярной картиной мышечного сокращения. Другие конкретные модели поведения мостика миозин — актин предложены в работах [112—114].

Первая попытка построить количественную физическую теорию, основанную на мостиковой — скользящей модели, принадлежит А. Хаксли [115]. Предполагается, что активный выступ ТММ (обозначаемый далее M) осциллирует на некотором протяжении вдоль тонкой нити, а активный центр актина A фиксирован неподвижно. Реакции имеют вид



Константам скоростей двух первых реакций приписываются определенные зависимости от расстояния между A и M вдоль миофибриллы. Решение учитывает относительное перемещение A и M при укорочении саркомера.

При надлежащем подборе нескольких параметров Хаксли получил численное согласие механических характеристик мышц с результатами их вычисления по уравнению Хилла (см. также [116]).

Теория А. Хаксли была упрощена и усовершенствована Дещеревским [117]. В его работе рассматриваются три состояния мостиков: замкнутые мостики, развивающие тянущую силу, замкнутые мостики, тормозящие скольжение нитей, и разомкнутые мостики. Мостики замыкаются независимо друг от друга и тянут нити, вызывая активное сокращение; далее те же мостики тормозят движение, так как нити переместились, и, наконец, мостики разрываются. Обозначив через n_0 полное число активных ТММ-выступов в половине толстой нити, через n — число тянущих и через m — число тормозящих мостиков, можно написать следующие кинетические уравнения:

$$\dot{n} = k_1 (n_0 - n - m) - \frac{v}{L} n, \quad (5.34)$$

$$\dot{m} = \frac{v}{L} n - k_2 m. \quad (5.35)$$

Здесь v/L — константа скорости превращения тянущих мостиков в тормозящие, равная скорости относительного перемещения ни-

тей v , деленной на расстояние L между двумя соседними активными центрами актина, на которых может быть замкнут мостик. К этим уравнениям добавляется выражение второго закона Ньютона

$$M\dot{v} = f_0(n - m) - \dot{f}n_0, \quad (5.36)$$

где M — перемещаемая масса, f_0 — сила, развиваемая одним тянущим мостиком, f — внешняя сила (нагрузка), приходящаяся на один мостик. В сущности, уравнение (5.36) описывает движение с трением (ср. стр. 247), выраженным как $f_0 m$. В стационарных условиях $\dot{n} = \dot{m} = 0$ и $\dot{v} = 0$. Исключая из (5.34) — (5.36) n , m и n_0 , находим для стационарного состояния

$$(f + a)v = b(f_0 - f). \quad (5.37)$$

Это уравнение совпадает с характеристическим уравнением Хилла (5.19). Все величины в (5.37) отнесены к одному мостику, v — скорость укорочения в половине саркомера. Константы a и b выражаются через k_1 , k_2 , f_0 и L следующим образом:

$$a = \frac{k_1}{k_1 + k_2} f_0, \quad (5.38)$$

$$b = \frac{k_1 k_2 L}{k_1 + k_2} = a k_2 \frac{L}{f_0}. \quad (5.39)$$

Итак, эмпирическое уравнение Хилла выведено теоретически на основе модельных представлений. Этот вывод показывает, что уравнение Хилла отвечает стационарному скольжению нитей с силой трения, пропорциональной скорости. В самом деле, если $\dot{m} = 0$, то из (5.35) следует

$$m = \frac{v}{k_2 L} n,$$

и второй закон Ньютона переписывается в виде

$$M\dot{v} = f_0 n - \frac{f_0 n}{k_2 L} v - \dot{f}n_0. \quad (5.40)$$

Дещеревский впервые вывел теоретически уравнение Хилла. Мы видим, что цикл Дещеревского не включает обратных процессов. При их учете получаем (см. стр. 61)

$$k_1 k_2 \frac{v}{L} = k_{-1} k_{-2} k_{-3},$$

и если k_{-1} , $k_{-2} \ll k_1, k_2$, то $k_{-3} \gg v/L$.

Должен быть, следовательно, второй цикл, приводящий в движение цикл Дещеревского. Этот второй цикл — замкнутая цепь химических превращений, в ходе которых расщепляется АТФ. Теория Дещеревского дает правильное стационарное

решение для изотонического сокращения. Однако она не объясняет развитие напряжения при изометрическом сокращении.

Подробный анализ теории А. Хаксли содержится в работе [118].

Т. Хилл, исходя из ранее развитой им теории фазовых переходов в линейных регуляторных системах [119], предложил рассматривать сокращение саркомера как фазовый переход первого рода между двумя состояниями белковых нитей — без мостиков и с мостиками [97]. Первому состоянию соответствует растянутый саркомер, в котором нити миозина и актина не перекрываются, второму — укороченный с перекрытием нитей. Приложенная нагрузка препятствует фазовому переходу, условие которого можно записать в виде

$$f_0 L = \Delta G. \quad (5.41)$$

Химизм процесса не учитывается, роль АТФ сводится к небольшому изменению ΔG . Позднее Т. Хилл отказался от этой теории, главным образом потому, что сила P_0 не постоянна, но зависит от длины саркомера (см. стр. 230) [120]. Очевидно, что теория мышечного сокращения не может быть построена в рамках равновесной термодинамики. Речь идет о кинетических процессах. Дальнейшие работы Т. Хилла и сотрудников посвящены усовершенствованию теории Хаксли [121, 122]. Однако рассмотрение в них не удалось провести в такой простой и ясной форме, как в работе Дещеревского.

В работе [210] дан обзор ряда альтернативных скользящих моделей.

Теория нестационарного кинетического поведения мышцы развита также в работах [114, 117, 123, 134, 139, 211, 212]. К этим вопросам мы вернемся в § 5.10.

§ 5.6. ТЕОРИЯ СТАЦИОНАРНОГО МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Из всего изложенного выше очевидно, что теоретический вывод уравнения Хилла должен основываться на рассмотрении внутреннего трения в мышце. Сама форма уравнения Хилла свидетельствует о том, что оно описывает вязкое течение и не содержит упругости. Представление о внутреннем трении естественно фигурирует в феноменологической теории Оплатки (см. стр. 238).

Соответствующая теория развита в работах [124] (см. также [103]). В этих работах содержались ошибки, не сказывающиеся на конечных результатах, здесь эти ошибки исправлены.

Уравнение Хилла описывает стационарное укорочение мышцы. Получим это уравнение, исходя из скользящей модели с трением. Тянущее или толкающее усилие возникает в результате

замыкания мостика и следующих за этим событий, состоящих в превращении химической энергии АТФ в энергию конформационной перестройки белковой сократительной системы. Каждый мостик при замыкании развивает напряжение f_0 . Именно процесс замыкания и размыкания мостика и создает трение между перемещающимися нитями. Второй закон Ньютона для такой системы запишется в виде

$$M\dot{V} = P' - P - BV, \quad (5.42)$$

где M — перемещаемая масса, P — приложенное напряжение, P' — развиваемое напряжение, BV — сила трения. В стационарных условиях $\dot{V} = 0$. Представим P в виде $n_0 f$, где n_0 — максимальное возможное число работающих мостиков. Мостики работают асинхронно и при данной нагрузке в данный момент в укорочении мышцы участвует лишь некоторое эффективное число мостиков $n = \omega n_0$, где $\omega \leq 1$. Именно эти мостики, замыкаясь, развивают напряжение $P' = n f_0 = \omega n_0 f_0$. Тем самым они уже ответственны за внутреннее трение, следовательно, $B = \beta n = \beta \omega n_0$. Величина ω зависит от P , т. е. от f . Получаем для стационарного режима

$$\omega f_0 - f - \beta \omega v = 0, \quad (5.43)$$

откуда

$$v = \frac{1}{\beta} \left(f_0 - \frac{f}{\omega(f)} \right). \quad (5.44)$$

Физическое предположение состоит в том, что $\omega = n/n_0$ непосредственно зависит от силы f . Зависимость ω от v возникает лишь вследствие зависимости силы от скорости. Очевидно, что это предположение независимо от закона сил (5.42), (5.43) и с ним согласуется. Определим вид функции $\omega(f)$. При максимальной нагрузке P_0 груз поддерживают все мостики, т. е. $n(f_0) = n_0 \omega(f_0) = n_0$ и $\omega(f_0) = 1$. Соответственно согласно уравнению (5.44), при $f = f_0$ находим $v = 0$.

Напротив, при нулевой нагрузке работает минимальное число мостиков $n(0) = n_0 \omega(0) = n_{\min}$ и $\omega(0) = n_{\min}/n_0 \equiv r < 1$. Максимальная скорость укорочения при $f = 0$ равна

$$v_{\max} = f_0/\beta. \quad (5.45)$$

Сделаем естественное предположение о том, что напряжение, развиваемое мышцей при изометрическом сокращении, или груз, поддерживаемый мышцей при изотоническом сокращении, линейно зависит от числа работающих мостиков, поскольку каждый из них развивает постоянное напряжение f_0 . Следовательно,

$$P \equiv n_0 f = (C + Dn) f_0,$$

При $f = f_0$ имеем $n = n_0$ и $n_0 = C + Dn_0$, при $f = 0$ получаем $n = n_{\min} \equiv rn_0$ и $C = -Drn_0$. Находим

$$\omega = n/n_0 = r + (1 - r)f/f_0. \quad (5.46)$$

Подставляя это выражение в (5.44), получаем уравнение Хилла в форме

$$v \left(\frac{r}{1-r} f_0 + f \right) = \frac{f_0}{\beta} \frac{r}{1-r} (f_0 - f). \quad (5.47)$$

Следовательно, константы a и b имеют вид

$$a = \frac{r}{1-r} f_0, \quad (5.48)$$

$$b = \frac{r}{1-r} \frac{f_0}{\beta}. \quad (5.49)$$

Опыт дает $a \approx 0,25f_0$. Следовательно, $r/(1-r) \approx 0,25$ и $r \approx 0,2$. Из уравнения (5.47) следует, что при $f = 0$

$$v_{\max} = \frac{f_0}{\beta} = \frac{1-r}{r} b \approx 4b. \quad (5.50)$$

Таким образом, уравнение Хилла описывает пластическое течение вещества с внутренним трением, характеризуемым коэффициентом β . Следующая задача состоит в истолковании этого коэффициента, т. е. в переходе от феноменологического уравнения (5.47) к молекулярному.

Трение определяется всей совокупностью событий, происходящих при замыкании мостиков. Будем рассматривать как элементарный акт замыкание мостика, гидролиз одной молекулы АТФ, конформационное превращение мостика, производство им работы f_0L , где L — укорочение, производимое мостиком, и замыкание мостика. Обратный микроскопический акт приведет к синтезу одной молекулы АТФ из АДФ и Φ_n и к производству элементарной работы f_0L над системой.

Воспользуемся теорией внутреннего трения жидкостей, развитой Эйрингом [125]. Изменение состояния системы можно представить кривой свободной энергии, показанной на рис. 5.21. Здесь 1 — состояние системы до замыкания мостика, 2 — после замыкания и всех последующих событий. Вся совокупность событий, объединенных в рассматриваемый элементарный акт, требует энергии активации. Это очевидно и непосредственно из сильной зависимости b от температуры (см. стр. 230). Приходящаяся на мостик внешняя сила, равная $P/n = n_0f/n = f/\omega$, препятствует переходу $1 \rightarrow 2$ и способствует обратному переходу $2 \rightarrow 1$. Эта сила направлена вдоль мышечного волокна и, следо-

вательно, под некоторым углом θ к мостику (рис. 5.22). Тем самым на мостик действует сила $f \cos \theta / \omega$, которой отвечает энергия $fl \cos \theta / \omega$, где l — длина химической или хелатной связи, соединяющей выступ ТММ с активным центром актина.

Скорость укорочения представится выражением

$$v = (v_+ - v_-) L \equiv vL, \quad (5.51)$$

где v_+ и v_- — числа элементарных актов перехода через активационный барьер в единицу времени соответственно в направлениях $1 \rightarrow 2$ и $2 \rightarrow 1$ (см. рис. 5.21). Расчет проводится применительно к одному мостику на основе микроскопической обратимости. Переходы $1 \rightarrow 2$ означают укорочение, переходы $2 \rightarrow 1$

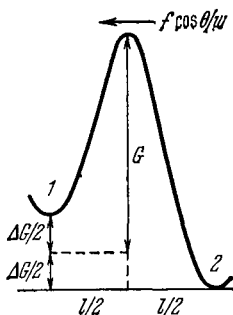


Рис. 5.21. Кривая свободной энергии.

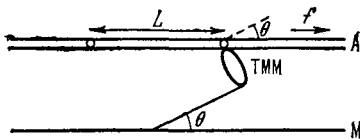


Рис. 5.22. Схема работающего мостика.

— удлинение системы. Согласно теории Эйринга имеем (см. рис. 5.21)

$$v_+ = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{G_+}{k_B T}\right), \quad v_- = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{G_-}{k_B T}\right), \quad (5.52)$$

где h — постоянная Планка,

$$\begin{aligned} G_+ &= G + fl \cos \theta / 2\omega - 1/2 \Delta G, \\ G_- &= G - fl \cos \theta / 2\omega + 1/2 \Delta G, \end{aligned} \quad (5.53)$$

т. е.

$$v = v_+ - v_- = \frac{k_B T}{h} 2 \operatorname{sh} \left(\frac{\Delta G}{2k_B T} - \frac{fl \cos \theta}{2\omega k_B T} \right) \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right). \quad (5.54)$$

Определим ΔG . Мы знаем, что при $f = f_0$ скорость $v = 0$, т. е. $v_+ = v_-$. При этом $\omega = 1$. Получаем $\Delta G = f_0 l \cos \theta$, и (5.54) приобретает вид

$$v = \frac{k_B T}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) 2 \operatorname{sh} \left[\frac{l \cos \theta}{2k_B T} \left(f_0 - \frac{f}{\omega}\right) \right]. \quad (5.55)$$

Если

$$(f_0 - f/w) l \cos \theta \ll 2k_B T, \quad (5.56)$$

то

$$v \approx \frac{l \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \left(f_0 - \frac{f}{w}\right) \quad (5.57)$$

и

$$v \approx \frac{lL \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \left(f_0 - \frac{f}{w}\right). \quad (5.58)$$

Мы получили уравнение, аналогичное (5.44). Сравнивая уравнения (5.44) и (5.58), находим

$$\beta = \frac{h}{lL \cos \theta} \exp\left(\frac{G}{k_B T}\right), \quad (5.59)$$

$$b = \frac{r}{1-r} \frac{lL \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right), \quad (5.60)$$

$$v_{\max} = \frac{f_0 lL \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right). \quad (5.61)$$

Таким образом, β , b , v_{\max} выражены через молекулярные параметры f_0 , L , l , $\cos \theta$, G .

Проведем численные оценки. Прежде всего необходимо убедиться в справедливости условия (5.56). Напряжение поддерживается в каждой половине саркомера. Для портняжной мышцы лягушки число мостиков N в объеме, равном произведению 1 см^2 на длину половины саркомера $1,1 \text{ мкм}$, составляет $6,5 \cdot 10^{12}$ [126]. Опыт дает P_0 порядка $3 \text{ кГ/см}^2 = 3 \cdot 10^6 \text{ дин/см}^2$. Один мостик создает силу $f_0 = P_0/N = 4,6 \cdot 10^{-7} \text{ дин}$. Примем длину связи $l = 2 \text{ \AA}$ и $\cos \theta$ (он меньше единицы) положим равным $0,5$. Получаем $f_0 l \cos \theta = 4,6 \cdot 10^{-15} \text{ эрг} = 0,055 \cdot 2k_B T$. Условие (5.56) выполнено.

Максимальная скорость укорочения портняжной мышцы лягушки при 0°C V_{\max} равна $1,33 \Lambda_0/\text{с}$, где Λ_0 — начальная длина мышцы. В наших расчетах следует взять $\Lambda_0 = 1,1 \text{ мкм}$ — половину длины саркомера. Следовательно, $v_{\max} = 1,5 \text{ мкм/с}$ и $b = 0,4 \cdot 10^{-5} \text{ см/с}$. Элементарный шаг L имеет значение порядка 100 \AA . Подставляя в (5.61) значения $f_0 L$, $\cos \theta$, l , из экспериментально найденной величины v_{\max} (или b) находим $G = 14 \text{ ккал/моль}$. При повышении температуры на 10° (с 300 до 310 K) b должно возрастать в $2,14$ раза. Опыт дает увеличение в $2,05$ раза. Излагаемая теория хорошо объясняет температурную зависимость константы b .

Из написанных уравнений следует

$$\omega = \frac{b}{b+v}, \quad (5.62)$$

т. е. число одновременно работающих мостиков убывает с увеличением скорости v . Если $v = 0$, то $\omega = 1$; если $v = v_{\max} = = b(1-r)/r$, то $\omega = \omega_{\min} = r$:

$$\omega_{\min} = r = \frac{b}{b + v_{\max}}. \quad (5.63)$$

Естественно, что изложенная теория дает результаты, эквивалентные теории Хаксли — Дещеревского (см. стр. 244). Сопоставим формулы. Из уравнений (5.38) и (5.48) следует

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{1-2r}{r}. \quad (5.64)$$

Подставляя в уравнение (5.34) стационарное значение $m = = nv/Lk_2$ из (5.35), находим

$$\dot{n} = k_1 n_0 - \left(k_1 + \frac{k_1 + k_2}{k_2 L} v \right) n \quad (5.65)$$

и при $\dot{n} = 0$ получаем стационарное отношение $n/n_0 = \omega$. Приравняв его выражению (5.62), получаем

$$k_1 \left(k_1 + \frac{k_1 + k_2}{k_2 L} v \right)^{-1} = b/(b + v). \quad (5.66)$$

Из (5.60), (5.61), (5.64) и (5.66) находим

$$k_1 = \frac{L \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \frac{f_0}{1-2r} = \frac{b}{L} \frac{1-r}{1-2r} = \frac{v_{\max}}{L} \frac{b}{v_{\max} - b}, \quad (5.67)$$

$$k_2 = \frac{L \cos \theta}{h} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \frac{f_0}{r} = \frac{b}{L} \frac{1-r}{r} = \frac{v_{\max}}{L}. \quad (5.68)$$

Таким образом, можно выразить k_1 и k_2 через молекулярные постоянные.

В изложенной теории трение возникает в результате замыкания и размыкания мостиков, так как эти процессы требуют энергии активации. Коэффициент трения, естественно, оказывается экспоненциально зависящим от температуры. В макроскопической теории молекулярная модель заменяется формальной моделью Хаксли — Дещеревского — мостик либо тянет, либо тормозит, хотя в действительности эти явления должны происходить одновременно. Преимущество излагаемой теории состоит в том, что она согласуется с принципом микроскопической обратимости и непосредственно выражает кинетические константы через молекулярные параметры L , $\cos \theta$, G , f_0 . Тем самым объясняется температурная зависимость b и, как мы увидим, f_0 .

В изложенной теории предполагается, что мостики замыкаются независимо друг от друга. Насколько основательно это предположение? Нет ли здесь кооперативности в том смысле, что замыкание одного мостика влияет на замыкание других?

Идея о кооперативных, аллостерических свойствах актина и миозина высказывалась не раз.

Введем кооперативность в кинетику действия мостиков, предположив, что свободная энергия активации G сама является функцией числа работающих мостиков

$$G = G_0 - \omega G' = G_0 - [r + (1-r)f/f_0] G'. \quad (5.69)$$

Характеристическое уравнение получается в виде (b имеет прежнее значение с G , замененным на G_0)

$$(a + f)v = b \exp\left(\frac{rG'}{k_B T}\right) \exp\left[\frac{(1-r)fG'}{f_0 k_B T}\right] (f_0 - f). \quad (5.70)$$

При заметных значениях $G'/k_B T$ кривая $v(f)$ оказывается выпуклой, а не вогнутой. Для согласования с опытом следует предположить, что $G' \ll k_B T$. В этом случае

$$(a + f)v \approx b \left[1 + \frac{1-r}{f_0} (a + f) \frac{G'}{k_B T}\right] (f_0 - f), \quad (5.71)$$

т. е. кооперативность рассматриваемого типа вносит лишь незначительную поправку в уравнение Хилла, что не представляет особого интереса.

Исходная идея изложенной теории состоит во влиянии внешней силы f на активационный процесс замыкания мостика и конформационного превращения белка. В свое время Полиссар предполагал экспоненциальную зависимость скорости некоей неизвестной реакции, определяющей сокращение, от внешней силы [127] (см. также [53]). Т. Хилл также вводил сходную экспоненциальную зависимость в своей теории фазового перехода в мышце [119]. Эти работы, однако, не давали возможности получить характеристическое уравнение и истолковать его константы. Нельзя считать изложенную теорию молекулярной в истинном смысле слова, так как она не дает реальной молекулярной модели работы мышцы. Построение молекулярной теории невозможно на современном уровне знаний о строении и взаимодействии мышечных сократительных и регуляторных белков и об их конформационных превращениях. Соответственно задачи исследования структуры и свойств этих белков, исследования их поведения в надмолекулярной мышечной системе особенно актуальны.

§ 5.7. ТЕОРИЯ ТЕРМОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЫШЦЫ

В мышце, рассматриваемой как изолированная система, работа и тепло, выделяемые в элементарном акте, выражаются через уменьшение химической энергии

$$\dot{f}_0 L + q_0 = - \sum_i \mu_i \Delta n_i, \quad (5.72)$$

или, согласно закону сохранения энергии,

$$\Delta E = T \Delta S + f_0 L + \sum_i \mu_i \Delta n_i = 0, \quad (5.73)$$

причем $T \Delta S = q_0$. Изменение свободной энергии в рассмотренном элементарном акте составляет, как мы видели, $f_0 l \cos \theta$ (см. стр. 249). Имеем

$$\Delta G = \Delta E - T \Delta S = f_0 L + \sum_i \mu_i \Delta n_i = f_0 l \cos \theta,$$

откуда

$$f_0 = - \frac{\sum_i \mu_i \Delta n_i}{L - l \cos \theta}. \quad (5.74)$$

Максимальная сила f_0 (и, следовательно, P_0) должна слабо расти с температурой как химический потенциал, т. е. пропорционально абсолютной температуре. Это согласуется с опытом.

Коэффициент полезного действия мышцы, согласно изложенной теории, равен

$$\eta' = \frac{f_0 L}{f_0 L + q_0} = - \frac{f_0 L}{\sum_i \mu_i \Delta n_i}. \quad (5.75)$$

Если бы выполнялся закон сохранения энергии (5.73), то

$$q_0 = T \Delta S = - f_0 l \cos \theta, \quad \eta' = \frac{1}{1 - (l/L) \cos \theta}.$$

При $\cos \theta > 0$ получаем $\eta' > 1$, т. е. мы приходим к противоречию.

Как мы видели, проблема теплопродукции мышцы не проста (см. § 5.4). Она не может быть решена на основе столь простых соображений. Необходимо учесть запасание энергии и различные способы ее выделения. Соответствующая модельная теория предложена в работе [66]. Авторы этой работы считают, что энергия, освобождаемая при сокращении мышцы, должна слагаться из запасенной энергии, диссипируемой в центрах одного типа, и энергии, получаемой за счет распада АТФ в центрах другого типа. Теплота укорочения получается из диссипированной энергии. Предполагается, тем самым, что в двух типах центров действуют две различные актомиозиновые АТФ-азы. Факты, свидетельствующие в пользу такого предположения, состоят в следующем.

1. Центры Р и S, связывающие две молекулы АТФ (или АДФ), находятся в головках миозина [128]; в Р-центре лимитирующая стадия для Mg-зависимой АТФ-азы есть отделение

продукта, т. е. АДФ и Φ_n от миозина [129], в S-центре лимитирующая стадия есть гидролиз АТФ [55].

2. Актин активирует гидролиз АТФ в S-центре миозина.

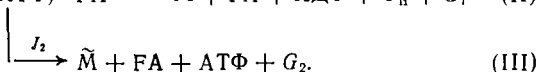
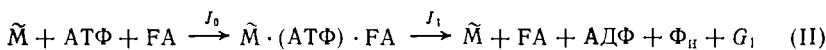
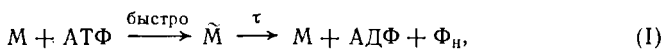
3. Реакция Р-центра с АТФ необходима для сокращения.

4. Актин ускоряет освобождение продукта Р-центрами [129].

5. Энергия запасается в комплексе миозин — продукт. Факты, свидетельствующие об этом, приведены в работе [66]. И, наконец,

6. При контакте с актином в присутствии АТФ миозин не образует «комплекса окоченения» (rigor complex) с актином, т. е. миозин всегда нагружен продуктом и(или) субстратом.

Из этих шести положений и из предположений, приведенных на стр. 237, следует модель работы актомиозиновой АТФ-азы [66]:



Здесь M — миозин, \tilde{M} — комплекс миозин — продукт, т. е. комплекс $M \cdot \text{АДФ} \cdot \Phi_n$, запасаящий энергию, ФА — F-актин, G_1 — свободная энергия, выделяющаяся при гидролизе одной молекулы АТФ, G_2 — энергия, выделяемая \tilde{M} , τ — время жизни запасенной энергии, J_0, J_1, J_2 — реакционные потоки (скорости реакций).

Процесс (I) представляет реакции в Р-центре. Энергия, запасенная в комплексе \tilde{M} , выделяется в процессах (II) или (III). При исчерпании запасенной энергии комплекс \tilde{M} освобождает АДФ и Φ_n и затем вновь реагирует с АТФ и запасает энергию. Процессы (II) и (III) происходят при сокращении мышцы, в Р-центре. АТФ-аза катализирует гидролиз АТФ в S-центре, используя часть запасенной энергии, генерируемой в Р-центре. Это — своеобразная аллостерическая система.

Изменение свободной энергии в единицу времени в процессах (II) и (III) равно

$$-\dot{G} = J_1 G_1 + J_2 G_2. \quad (5.76)$$

В стационарном режиме

$$J_0 = J_1 + J_2. \quad (5.77)$$

Поток J_1 выражает скорость гидролиза АТФ в S-центре. Он равен произведению числа комбинаций актин — миозин, создающих напряжение (числа работающих мостиков), на число оборотов реакции (II). Первый сомножитель пропорционален нагрузке

P , второй линейно зависит от скорости укорочения V . Поэтому

$$J_1 = P(K_1V + K_2) \equiv K_1PV + K_2P, \quad (5.78)$$

где K_1 и K_2 — константы. Перепишем (5.76) в виде

$$-\dot{G} = J_0G_1 - J_2(G_1 - G_2) \quad (5.79)$$

и предположим, что поток J_2 линейно зависит от «средства» $\tilde{A} = G_1 - G_2$ и нагрузки

$$-J_2 = c_1\tilde{A} + c_2P. \quad (5.80)$$

Наконец, пусть скорость укорочения линейно зависит от тех же величин

$$-V = c_3\tilde{A} + c_4P. \quad (5.81)$$

Из соотношений (5.77), (5.78), (5.80) и (5.81) следует уравнение Хилла в форме

$$\left(P + \frac{c_1}{K_1c_3}\right)V = \frac{J_0}{K_1} - \left(\frac{K_2}{K_1} + \frac{c_1c_4 - c_2c_3}{c_3K_1}\right)P. \quad (5.82)$$

Определим коэффициенты c_i . При $P = 0$ имеем $V = V_{\max}$, $\tilde{A} = \tilde{A}_m$, $J_2 = J_0$ и

$$c_3 = -\frac{V_{\max}}{\tilde{A}_m}, \quad c_1 = -\frac{J_0}{\tilde{A}_m}. \quad (5.83)$$

При $P = P_0$ имеем $V = 0$, $\tilde{A} = \tilde{A}_0$ и

$$c_4 = -c_3 \frac{\tilde{A}_0}{P_0} = \frac{\tilde{A}_0}{\tilde{A}_m} \frac{V_{\max}}{P_0}, \quad (5.84)$$

$$c_2 = K_2 + \frac{\tilde{A}_0 - \tilde{A}_m}{\tilde{A}_m} \frac{J_0}{P_0}. \quad (5.85)$$

Подставляя эти значения c_i в (5.82), находим

$$\left(P + \frac{J_0}{V_{\max}K_1}\right)V = \frac{J_0}{K_1P_0}(P_0 - P), \quad (5.86)$$

т. е. снова получаем уравнение Хилла, в котором

$$a = J_0/K_1V_{\max}, \quad b = J_0/K_1P_0. \quad (5.87)$$

Одновременно имеем

$$\tilde{A} = \frac{P}{P_0}\tilde{A}_0 + \frac{V}{V_{\max}}\tilde{A}_m. \quad (5.88)$$

При выводе уравнения Хилла сократились все члены, содержавшие K_2 и значения «средства» \tilde{A}_0 и \tilde{A}_m при нулевой и максимальной

ной скорости укорочения. Сопоставление с теорией, изложенной в § 5.6, показывает, что в расчете на один мостик

$$J_0 = \frac{b}{L} = \frac{f_0 l \cos \theta}{h} \frac{r}{1-r} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \quad (5.89)$$

и

$$K_1 = (f_0 L)^{-1}, \quad (5.90)$$

т. е. уравнение (5.78) имеет вид

$$J_1 = \frac{fv}{f_0 L} + K_2 f. \quad (5.91)$$

Считая, что энтальпия гидролиза АТФ примерно равна соответствующей свободной энергии [58], находим количество тепла, выделяемое в единицу времени

$$\dot{Q} = -\dot{G} - PV = J_1 G_1 + J_2 G_2 - PV. \quad (5.92)$$

При $P = P_0$ и $V = 0$ имеем

$$\dot{Q}_0 = K_1 b P_0 [G_1 - \tilde{A}_0 (1 - K_2 / K_1 b)]. \quad (5.93)$$

По определению скорость выделения тепла укорочения равна

$$\dot{Q} - \dot{Q}_0 = \alpha V. \quad (5.94)$$

Из приведенных формул и уравнения Хилла получим

$$\begin{aligned} \frac{\alpha}{P_0} = & -\frac{K_1 \tilde{A}_m b}{V_{\max}} \left(\frac{x^2 + a/P_0}{x + a/P_0} \right) + x^2 K_1 \tilde{A}_0 \left(1 - \frac{K_2}{K_1 b} \right) + \\ & + x K_1 \left\{ \tilde{A}_0 \left[1 - \frac{K_2}{K_1 b} (1 + a/P_0) \right] + \frac{\tilde{A}_m K_2}{K_1 V_{\max}} - \frac{1}{K_1} \right\} + \\ & + \frac{\alpha K_1 \tilde{A}_0}{P_0} \left(1 - \frac{K_2}{K_1 b} \right), \quad (5.95) \end{aligned}$$

где $x = P/P_0$.

Для нахождения \tilde{A}_m и \tilde{A}_0 это сложное уравнение приравняется выражению (5.27) $\alpha/P_0 = 0,16 + 0,18x$ при $x = 0$ и $x = 0,5$. В области $0 < x < 0,5$ получается хорошее согласие с результатами Хилла. То же относится к полной скорости выделения энергии. Эффективность мышцы (как функции x)

$$\eta'(x) = \frac{PV}{\dot{E}} = \frac{b}{\dot{E}/P_0} \frac{x(1-x)}{x + a/P_0}, \quad (5.96)$$

вычисленная на основании излагаемой теории, хорошо согласуется с найденной Хиллом (рис. 5.23).

Из экспериментальных данных следует, что G_1 , т. е. изменение свободной энергии при гидролизе одной молекулы АТФ есть величина порядка 10 ккал/моль.

Скорость выделения энергии

$$\dot{E} = -\dot{G} = J_0 G_1 + J_2 G_2. \quad (5.79)$$

За время Δt выделяется энергия

$$\begin{aligned} \Delta E &= \int_0^{\Delta t} G_1 (K_1 P V + K_2 P) dt + \int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt = \\ &= G_1 K_1 \int_0^{\Delta t} P V dt + G_1 K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + \int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt \approx \\ &\approx \Delta \text{ работы} + \Delta \text{ тепла}. \quad (5.97) \end{aligned}$$

Процессу (III) отвечает последний интеграл в правой части. Тепло выделяется как в процессе (II), так и в (III). При $P = 0$ остается лишь последний член — диссипирует запасенная энергия. При изометрическом сокращении $V = 0$, т. е. за выделенное тепло ответственны два интеграла. Чем больше скорость укорочения, тем больше энергии превращается в тепло и тем меньше вклад процесса (II). Не имеет смысла разделять теплоту на теплоту укорочения и теплоту поддержания.

Химические изменения за то же время выражаются формулой

$$\begin{aligned} -\Delta[\text{АТФ}] &= K_1 \Delta \text{ работы} + \\ &+ K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + \int_0^{\Delta t} j dt, \quad (5.98) \end{aligned}$$

где $j \approx 0$ при $\Delta t < \tau$, так как предполагается, что энергия запасена в комплексе \tilde{M} до начала сокращения. Этим изменениям соответствует энергия

$$G_1 (-\Delta \text{АТФ}) = G_1 K_1 \Delta \text{ работы} + G_1 K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + G_1 \int_0^{\Delta t} j dt. \quad (5.99)$$

Кажущееся нарушение баланса между выделившимся теплом и химическим превращением определяется тем, что

$$\int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt > G_1 \int_0^{\Delta t} j dt.$$

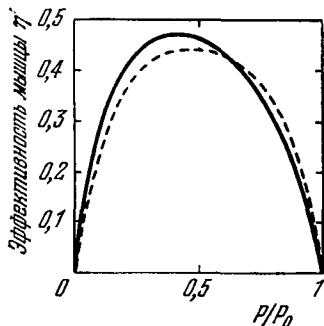


Рис. 5.23. Зависимость эффективности мышцы от нагрузки. Сплошная линия получена теоретически [66], пунктирная найдена на опыте [45].

Разность этих двух интегралов равна заранее запасенной энергии. Время жизни запасенной энергии

$$\tau = \frac{\text{запасенная энергия}}{J_2 G_2},$$

так как $J_2 G_2$ есть скорость освобождения запасенной энергии. Численные оценки дают $0,2 \text{ с} \leq \tau \leq 0,9 \text{ с}$ в интервале $V_{\max} \geq V \geq 0$, т. е. $0 \leq P \leq P_0$.

В опытах, проводимых за время, меньшее $0,2 \text{ с}$, $j \approx 0$ и не наблюдается соответствия между химическим превращением и выделившимся теплом.

Теория, предложенная в работе [66], хорошо объясняет основные факты, относящиеся к теплопродукции мышцы. Однако эта теория основана на модели, хотя и хорошо аргументированной, но все же содержащей ряд постулативных положений. Подлинный молекулярный механизм процесса остается неизвестным. Путь к его познанию идет через детальное изучение строения и свойств мышечных белков.

§ 5.8. ИНИЦИАЦИЯ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Предшествующее изложение ограничивалось стационарным сокращением мышцы. Не меньший, если не больший интерес представляют нестационарные кинетические процессы в мышечном волокне.

Первая стадия сокращения — его инициация ионами Ca^{++} , выходящими из саркоплазматического ретикулаума под влиянием электрического импульса. Импульс передается либо по аксонам нервных клеток, либо путем прямого электрического стимулирования мембраны мышечного волокна. При стимуляции мышечного волокна коротким электрическим импульсом возникает напряжение, развитие которого во времени выражается кривой с максимумом и перегибом [130]. При стимуляции серией коротких импульсов напряжение выражается совокупностью пикообразных кривых, причем каждый последующий максимум лежит выше предыдущего, пока не достигается стационарный режим. При больших частотах пики сливаются, образуя экспоненциальную кривую гладкого тетануса [131]. В этих условиях потенциал на мембране волокна меняется в течение опыта. В работе [132] были проведены измерения изометрического напряжения при фиксированном потенциале. Развитие напряжения во времени описывалось суммой двух экспонент. Из температурной зависимости скорости процесса получаются барьеры $G_1 \approx 19\text{—}20$ и $G_2 \approx 15\text{—}16$ ккал/моль. Вместе с тем высота барьера для диффузии Ca^{++} из ретикулаума, определяемая по скорости насыщения ретикулаума ионами Ca^{++} [133], составляет $18\text{—}20$ ккал/моль.

В работе [30] рассмотрена соответствующая двухбарьерная модель — первый барьер G_1 соответствует диффузии Ca^{++} , второй G_2 — замыканию мостика, расщеплению АТФ и конформационному переходу. Этот барьер соответствует рассмотренному в предыдущем разделе. Профиль свободной энергии изображен на рис. 5.24. Минимум I на рис. 5.24 соответствует состоянию системы, в котором большая часть Ca^{++} сосредоточена в мембране ретикулума, II — состоянию, в котором Ca^{++} находится в саркоплазме или на мостике до его замыкания, III — на сработавшем мостике.

На основании опытов по локальной деполяризации мышечного волокна предполагается, что напряжение $\tilde{\varphi}$, приложенное к его мембране, передается на мембраны саркоплазматического ретикулума. Ранее уже были проанализированы различные модели участия ионов Ca^{++} в механизме изменения ионной проницаемости мембран нервных волокон под действием электрического поля (см. § 4.4).

Пусть x_1, x_2, x_3 — числа ионов Ca^{++} в состояниях I, II, III ; N — их суммарное количество. Предполагается, что $x_3 \ll x_1 + x_2$ и, следовательно, $N \approx x_1 + x_2$. Кинетические уравнения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_1 &= k_{-1}N - (k_1 + k_{-1})x_1, \\ \dot{x}_3 &= k_2N - k_2x_1 - k_{-2}x_3. \end{aligned} \right\} \quad (5.100)$$

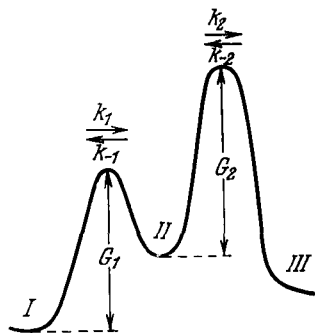


Рис. 5.24. Профиль свободной энергии.

Константы скорости указаны на рис. 5.24. Решение уравнений (5.100) записывается следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} x_1(t) &= x_{1\infty} + (x_1(0) - x_{1\infty}) \exp \gamma_1 t, \\ x_3(t) &= x_{3\infty} + \alpha \exp \gamma_1 t + \beta \exp \gamma_2 t, \end{aligned} \right\} \quad (5.101)$$

где $\gamma_1 = -(k_1 + k_{-1})$, $\gamma_2 = k_{-2}$, $x_{1\infty}$ и $x_{3\infty}$ — стационарные значения x_1 и x_3 . Константы α и β находятся из начальных условий. Имеем

$$x_{1\infty} = K_1 K_2 x_{3\infty} = N \frac{K_1}{1 + K_1}, \quad (5.102)$$

где $K_{1,2} = k_{-1, -2} / k_{1,2}$. В принятой модели

$$K_1 = \exp(-\tilde{\varphi} z \mathcal{F} / RT); \quad (5.103)$$

здесь z — валентность частицы, \mathcal{F} — число Фарадея. Таким образом, k_1, k_{-1} зависят от $\tilde{\varphi}$.

Можно считать, что при изометрическом сокращении напряжение, стимулированное импульсом, пропорционально числу

замкнутых мостиков, линейно зависящему от x_3 . Таким образом,

$$P(t) = g [x_3(t) - \bar{x}_3], \quad (5.104)$$

где g — константа, \bar{x}_3 — значение x_3 при потенциале покоя. Из (5.102) и (5.104) легко найти стационарное напряжение P_∞ . Вводя безразмерные переменные $\pi \equiv P_\infty K_2 / gN$, $\varphi \equiv \tilde{\varphi} \mathcal{F} / RT$, получаем

$$\pi = \frac{1}{1 + \exp(-z\varphi)} - \frac{1}{1 + \exp(-z\varphi_0)}, \quad (5.105)$$

где φ_0 — потенциал покоя в единицах RT/\mathcal{F} . Находим

$$\frac{d\pi}{d\varphi} = z \frac{\exp(-z\varphi)}{[1 + \exp(-z\varphi)]^2}. \quad (5.106)$$

В точке перегиба кривой $\pi(\varphi)$ имеем $\exp(-z\varphi) = 1$, т. е.

$$\left. \frac{d\pi}{d\varphi} \right|_{\text{перегиб}} = \frac{z}{4}. \quad (5.107)$$

Опыт дает значение этой величины, близкое к 1 [132]. Следовательно, $z \approx 4$, что может означать перемещение двухвалентных ионов Ca^{++} парами. При длительной фиксации потенциала параметры системы меняются один раз — в начале деполяризации. Начальные условия имеют вид

$$x_1(0) = \bar{x}_1, \quad x_3(0) = \bar{x}_3. \quad (5.108)$$

Константы α и β во втором уравнении (5.101) равны

$$\alpha = -\frac{\gamma_2}{\gamma_2 - \gamma_1} (x_{3\infty} - \bar{x}_3); \quad \beta = \frac{\gamma_1}{\gamma_2 - \gamma_1} (x_{3\infty} - \bar{x}_3). \quad (5.109)$$

Из (5.102), (5.104) и (5.109) следует

$$P(t) = P_\infty \left(1 + \frac{\gamma_2}{\gamma_1 - \gamma_2} \exp \gamma_1 t - \frac{\gamma_1}{\gamma_1 - \gamma_2} \exp \gamma_2 t \right). \quad (5.110)$$

Такой характер зависимости $P(t)$ при фиксированном потенциале согласуется с опытом.

При кратковременной деполяризации внешние параметры меняются дважды: в момент наложения потенциала $t = 0$ и в момент его снятия $t = \tau$. Допустим для простоты, что $|\gamma_{1,2}| \tau \ll 1$. На отрезке времени $0 - \tau$ переменные ведут себя согласно системе уравнений (5.100) при начальных условиях (5.108). Ограничиваясь линейными членами по $\gamma_{1,2}\tau$, находим

$$\left. \begin{aligned} x_1(\tau) &\approx \bar{x}_1 + (\bar{x}_1 - x_{1\varphi}) \gamma_1 \tau, \\ x_3(\tau) &\approx \bar{x}_3, \\ \dot{x}_3(\tau) &\approx (x_{3\varphi} - \bar{x}_3) \gamma_1 \gamma_2 \tau, \end{aligned} \right\} \quad (5.111)$$

где $x_{1\varphi}$ и $x_{3\varphi}$ — равновесные значения x_1 и x_3 при потенциале φ . Из (5.104) следует

$$P(\tau) \approx 0, \quad \dot{P}(\tau) \approx \gamma_1 \gamma_2 \tau P_\infty. \quad (5.112)$$

Это — начальные условия для развития напряжения при $t > \tau$. Равновесное напряжение в этих условиях равно нулю. Имеем при $t > \tau$

$$P(t) = \frac{\dot{P}(\tau)}{\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1} [-\exp \tilde{\gamma}_1(t - \tau) + \exp \gamma_2(t - \tau)]; \quad (5.113)$$

$\tilde{\gamma}_1$ есть значение $\gamma_1 = -(k_1 + k_{-1})$ при потенциале покоя $\varphi = \varphi_0$. Кривая, описываемая (5.113), имеет максимум при

$$t_m - \tau \approx t_m = -\frac{1}{\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1} \ln \frac{\gamma_2}{\tilde{\gamma}_1}$$

и точку перегиба при $t = 2t_m$. Это подтверждается опытом [130]. Максимальное напряжение при одиночном изометрическом сокращении равно

$$P_{\max} = -\tilde{\gamma}_1 \tau P_\infty \left(\frac{\tilde{\gamma}_1}{\gamma_2} \right)^{\tilde{\gamma}_1 / (\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}. \quad (5.114)$$

В работе [33] получено также более общее выражение для $P_{\max}(\tau)$, выведенное без ограничения $|\gamma_{1,2}| \tau \ll 1$. Оно имеет вид

$$P_{\max} = (1 - \exp \gamma_1 \tau) P_\infty \left(\frac{\gamma_2}{\tilde{\gamma}_1} \right)^{-\tilde{\gamma}_1 / (\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)} \times \\ \times \left[1 + \frac{\tilde{\gamma}_1 - \gamma_2}{\gamma_2 (1 - \exp \gamma_1 \tau)} \left(1 + \frac{\gamma_2}{\gamma_1 - \gamma_2} \exp \gamma_1 \tau - \right. \right. \\ \left. \left. - \frac{\gamma_1}{\gamma_1 - \gamma_2} \exp \gamma_2 \tau \right) \right]^{-\tilde{\gamma}_1 / (\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}. \quad (5.115)$$

Экспериментальное значение $P_{\max}(\tau)$ линейно растет с τ при малых τ и достигает насыщения при $\tau \approx 270$ мс [132]. Формула (5.115) прекрасно согласуется с опытом.

Та же модель объясняет развитие тетануса при стимулировании мышцы серией коротких импульсов. Для напряжения, вызванного i -м импульсом, можно написать аналогично (5.113)

$$P_i(t) = -\frac{\dot{P}_i(\tau) - \gamma_2 P_i(\tau)}{\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1} \exp \tilde{\gamma}_1(t - \tau) + \\ + \frac{\dot{P}_i(\tau) - \tilde{\gamma}_1 P_i(\tau)}{\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1} \exp \gamma_2(t - \tau). \quad (5.116)$$

Начало отсчета времени в каждом периоде свое. Положение на общей шкале времени определяется номером периода i . Начальное напряжение $P_i(\tau)$ и скорость его изменения $\dot{P}_i(\tau)$ меняются от периода к периоду. Связь между ними можно установить с

помощью системы уравнений (5.100)

$$\dot{P}_i(\tau) = k_{-2} \left[g \left(\frac{N - x_{1,i}(\tau)}{K_2} - \bar{x}_3 \right) - P_i(\tau) \right]. \quad (5.117)$$

Величина $x_{1,i}(\tau)$ находится путем последовательного решения первого уравнения системы (5.100) с двумя скачками параметров в каждом периоде. Для i -го импульса в области $\tau \leq t \leq T$ (T — длительность периода) получаем

$$\bar{x}_{1,i}(t) = \bar{x}_1 + [(x_{1\phi} - \bar{x}_1) - (x_{1\phi} - x_{1,i}(0)) \exp \gamma_1 \tau] \exp \tilde{\gamma}_1 (t - \tau). \quad (5.118)$$

Начальные условия, имеющие смысл условий непрерывности, запишутся как

$$x_{1,i}(0) = x_{1,i-1}(T); \quad x_{1,1}(0) = \bar{x}_1. \quad (5.119)$$

Решение цепочки уравнений (5.118) и (5.119) дает

$$x_{1,i}(\tau) = x_{1\phi} + (\bar{x}_1 - x_{1\phi}) \exp \gamma_1 \tau \left[1 + (1 - \exp(-\gamma_1 \tau)) \frac{1 - \exp[(i-1)\kappa]}{\exp(-\kappa) - 1} \right], \quad (5.120)$$

где

$$\kappa = \tilde{\gamma}_1 T + (\gamma_1 - \tilde{\gamma}_1) \tau. \quad (5.121)$$

В частном случае, когда частоты $\nu = 1/(T - \tau)$ малы, из (5.120) получается $x_{1,i}(\tau) = x_{1,1}(\tau)$, т. е. в течение периода T система успевает прийти к исходному состоянию. Когда после начала наблюдения прошло достаточное время, т. е. $\exp[(i-1)\kappa] \ll 1$, из (5.120) следует

$$x_{1,i}(\tau) = \bar{x}_1 - (\bar{x}_1 - x_{1\phi}) \frac{1 - \exp(-\gamma_1 \tau)}{\exp \gamma_1 (T - \tau) - \exp(-\gamma_1 \tau)}. \quad (5.122)$$

В предельном случае очень больших частот $T \rightarrow \tau$ имеем $x_{1,i}(\tau) \rightarrow x_{1\phi}$. Подставив (5.122) в (5.117) при условии $|\gamma_{1,2}| \tau \ll 1$ получаем

$$\dot{P}_i(\tau) = k_{-2} \left[\frac{\gamma_1 \tau}{\exp \tilde{\gamma}_1 (T - \tau) - 1 + \gamma_1 \tau} P_\infty - P_i(\tau) \right]. \quad (5.123)$$

Максимальная величина функции $P_i(t)$ равна

$$P_{i \max}(\tau) = \left[P_i(\tau) - \frac{1}{\gamma_2} \dot{P}_i(\tau) \right] \left[\frac{\gamma_2}{\tilde{\gamma}_1} \frac{\dot{P}_i(\tau) - \tilde{\gamma}_1 P_i(\tau)}{\dot{P}_i(\tau) - \gamma_2 P_i(\tau)} \right]^{-\tilde{\gamma}_1 / (\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}. \quad (5.124)$$

Условие стационарности режима состоит в равенстве напряжений в начале и в конце каждого периода. Пользуясь этим условием, получаем из (5.116)

$$(\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1) P_i(\tau) = [\gamma_2 P_i(\tau) - \dot{P}_i(\tau)] \exp \tilde{\gamma}_1 (T - \tau) - [\tilde{\gamma}_1 P_i(\tau) - \dot{P}_i(\tau)] \exp \gamma_2 (T - \tau). \quad (5.125)$$

Решая уравнения (5.123) и (5.125) относительно $P_i(\tau)$ и $P_i(\tau)$ и подставляя решения в формулу (5.124), получаем зависимость $P_{i \max}$ от частоты в стационарном режиме:

$$P_{i \max}(\nu) = P_{\infty} \frac{\gamma_1 \tau}{\exp(\tilde{\gamma}_1/\nu) - 1 + \tilde{\gamma}_1} \left[\frac{\tilde{\gamma}_1}{\gamma_2} \frac{1 - \exp(\gamma_2/\nu)}{1 - \exp(\tilde{\gamma}_1/\nu)} \right]^{\tilde{\gamma}_1/(\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}. \quad (5.126)$$

В двух предельных случаях очень больших и очень малых частот (напомним, что $\gamma_1, \tilde{\gamma}_1, \gamma_2 < 0$)

$$\lim_{\nu \rightarrow \infty} P_{i \max} = P_{\infty}, \quad \lim_{\nu \rightarrow 0} P_{i \max} = -\tilde{\gamma}_1 \tau P_{\infty} (\tilde{\gamma}_1/\gamma_2)^{\tilde{\gamma}_1/(\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}.$$

Первый случай соответствует фиксированному потенциалу, второй совпадает с формулой (5.114) для одиночного импульса.

Экспериментальный график зависимости $P_{i \max}(\nu)$ выражается кривой с перегибом [131]. Дифференцируя уравнение (5.126), можно показать, что $dP_{i \max}/d\nu > 0$ и стремится к нулю при $\nu \rightarrow 0$ и $\nu \rightarrow \infty$. Теоретическая кривая также имеет перегиб.

Сравним максимальную величину напряжения при одиночном сокращении (5.114) с $P_{i \max}$ при больших частотах в стационарном режиме

$$\frac{P_{i \max}}{P_{i \max}} = -\frac{1}{\gamma_1 \tau} \left(\frac{\gamma_2}{\tilde{\gamma}_1} \right)^{-\tilde{\gamma}_1/(\gamma_2 - \tilde{\gamma}_1)}. \quad (5.127)$$

Опыт дает для этого отношения величину, равную нескольким единицам [131]. Если бы на том же объекте были проведены опыты, из которых находят параметры $\gamma_1, \tilde{\gamma}_1, \gamma_2$, можно было бы с помощью выражения (5.127) дать теоретическую оценку этой величины. $\tilde{\gamma}_1$ и γ_2 можно найти из кривой для единичного ответа. Для оценки γ_1 нужно иметь серию кривых одиночного ответа для разных τ .

По параметрам напряжения при одиночном сокращении можно теоретически предсказать также форму кривой для случая тетануса. При больших частотах можно в выражении (5.116) разложить экспоненты в ряд и заменить кривые в каждом периоде отрезками прямых, а затем получившуюся ломаную линию заменить гладкой кривой. Ее уравнение имеет вид

$$P(t) = P_{\infty} (1 - \exp \gamma_2 t). \quad (5.128)$$

Параметр γ_2 , найденный из одиночного ответа, равен 27 с^{-1} [131]. Согласно (5.128), он определяет и форму кривой для гладкого тетануса. И действительно, опытное значение γ_2 , полученное из экспериментального графика для гладкого тетануса [131], равно $25-28 \text{ с}^{-1}$.

Таким образом, теория, предложенная в работе [39], объясняет количественно большую совокупность опытных фактов. Модель, лежащая в основе этой работы, согласованна с моделью, принятой при рассмотрении стационарного сокращения мышцы и описанной в § 5.7.

§ 5.9. КИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЦЫ

Кинетическое поведение мышцы в целом представляет особый интерес. Стационарное сокращение, для которого справедливы уравнение Хилла и теория, изложенная в § 5.7, есть лишь частный случай.

Простейшее кинетическое уравнение, описывающее приближение к стационарному состоянию, можно представить в виде

$$\dot{n} = \tau^{-1} (n_0 \omega - n), \quad (5.129)$$

где n — число работающих мостиков, τ — некоторое время релаксации. Подставляя в (5.129) значение ω — доли работающих мостиков (см. (5.62)), имеем

$$\dot{n} = \frac{1}{\tau} \left(n_0 \frac{b}{b+v} - n \right). \quad (5.130)$$

Решение (5.129) записывается следующим образом:

$$n(t) = n(0) \exp(-t/\tau) + n_0 \omega (1 - \exp(-t/\tau)), \quad (5.131)$$

где $n(0)$ — значение n при $t = 0$. Уравнение (5.130) справедливо лишь в области физиологических длин мышцы. В общем случае уравнение (5.130) не линейно, так как n_0 , τ и v зависят от длины саркомера и, значит, от времени. Время установления стационарного состояния τ можно найти с помощью уравнений Дещеревского (5.34) и (5.35), положив в них $\dot{m} = 0$. Получаем при этом уравнение (5.65), т. е. уравнение (5.130) со значением

$$\tau = \{k_1 + [v(k_1 + k_2)/Lk_2]\}^{-1}; \quad (5.132)$$

воспользовавшись затем (5.67) и (5.68), находим

$$\tau = \left(1 - \frac{b}{v_{\max}} \right) \frac{L}{b+v}. \quad (5.133)$$

Эти упрощенные представления совершенно недостаточны. Уравнение (5.129) написано на основе общих соображений, а не изучения нестационарной кинетики мышечного сокращения. В нестационарном переходном режиме могут наблюдаться колебания, как правило, затухающие. Это реализуется, в частности, в опытах по *быстрому отпуску* (quick release) — изометрически сокращенная мышца освобождается и испытывает быстрое изото-

ническое сокращение. Такого рода колебания — быстро и медленно затухающие — наблюдались в ряде работ [54, 134—136]. На рис. 5.25 показана зависимость $P(t)$ для портняжной мышцы лягушки после быстрого отпуска [136].

Каково происхождение этих колебаний? В цитируемой выше работе мышца рассматривается как однородный стержень с равномерно распределенными массой M и жесткостью S . Укорочение вызывает появление продольной волны, которая распространяется вдоль мышцы и отражается на ее концах. Наименьшая резонансная частота такой системы $\nu_r = (1/2\pi) \sqrt{S/M}$. Измеренные частоты затухающих колебаний оказываются несколько

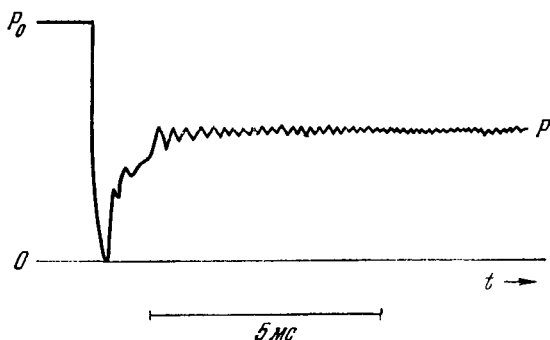


Рис. 5.25. График $P(t)$ при быстром отпускании [136].

меньше вычисленных и имеют порядок величины килогерц для мышц длиной в несколько сантиметров.

Возникновение колебаний может определяться нелинейностью нестационарных кинетических уравнений, не содержащих упругости в явном виде. В этом случае возможность колебаний обусловлена кинетикой замыкания и размыкания мостиков. Такой точки зрения придерживался Дешеревский [117, 134]. Сходные представления развиваются в работах Подольского и Нолана [137—139]. Предполагается, что скорость замыкания мостика настолько велика, что нелинейные явления при быстром отпускании определяются лишь числом замкнутых мостиков, но не событиями внутри отдельного мостика. В этой модели почти все мостики замыкаются каждый раз, когда они возвращаются к началу своего цикла. Напряжение в мышце и расщепление АТФ изменяются надлежащим образом при изменении скорости укорочения, так что при больших скоростях много мостиков оказываются тормозящими (см. также [212]).

Альтернативная модель предложена А. Хаксли и Симмонсом [135, 211]. Предполагается, что сам мостик является вязкоупругой системой. Напряжение, геперируемое замкнутым мостиком,

может изменяться шаг за шагом, в зависимости от угла, под которым «головка» ТММ S1 располагается относительно актина, а также от степени растяжения S2. Переходы между этими шагами, происходящими с большой, но конечной скоростью, влияют на быстрый нестационарный ответ мышцы, и таким образом можно детально объяснить природу быстрого отпуска. Замыкание и размыкание мостика в этой модели происходят сравнительно медленно и лимитируют скорость укорочения при умеренных нагрузках. В каждый данный момент число работающих мостиков убывает с ростом скорости v (ср. стр. 250). Таким образом, причина колебаний при быстром отпуске состоит в упругой деформации самого мостика.

Несмотря на то, что пока нет возможности непосредственно измерить число одновременно работающих мостиков и скорости их замыкания и размыкания, следует отдать предпочтение второй модели как более естественной (см. [212]).

Включение упругих элементов в модельное описание мышцы проводилось и в других работах, в частности, в работах, посвященных исследованию поведения мышцы, подвергнутой действию периодической нагрузки (см., например, [140, 141]).

Все предшествующее изложение относилось к поперечно-полосатым скелетным мышцам позвоночных. Большой интерес для физики и биологии представляют *летательные мышцы насекомых* (ЛМН) и близкие к этим мышцам по функции и строению тимпанальные мышцы цикад. Они были предметом пристального внимания ряда исследователей, прежде всего Прингла [142, 143]. Эти мышцы способны к быстрым периодическим сокращениям с частотой порядка 100 Гц. В структурном отношении ЛМН весьма сходны с поперечно-полосатыми мышцами позвоночных. Они также обладают поперечной полосатостью и образуют в сечении гексагональную сетку из тонких и толстых нитей — из актина и миозина. Экспериментальные данные, полученные в биохимических, электронно-микроскопических и механических исследованиях, свидетельствуют о применимости к ЛМН скользящей модели с мостиками актин — миозин.

Для понимания природы быстрых колебаний ЛМН нужно учесть два обстоятельства.

Во-первых, такие быстрые колебания требуют наличия непосредственно функционирующего упругого элемента. Микроскопия показывает, что в отличие от мышцы позвоночных в ЛМН наблюдается прямая вязкоупругая связь между миозиновыми нитями и Z-мембранами, осуществляемая элементом С. На рис. 5.26 показано установленное на опыте расположение актиновых (А) и миозиновых (М) нитей, элемента С и Z-мембраны [143, 144]. По-видимому, элемент С способен испытывать большие упругие деформации (см. также [213]).

Во-вторых, установлена несинхронность колебаний ЛМН и колебаний потенциала, который на них подается. Так, у мухи частота потенциала, подаваемого на ЛМН, равна 3 Гц, а частота колебаний крыльев достигает 120 Гц. Следовательно, не происходит активации мышцы в каждом периоде колебаний. Характерно, что ЛМН содержат мало саркоплазматического ретикулула. Соответственно трудно предположить, что быстрое возрастание и падение напряжения при колебаниях связано с приходом и уходом ионов Ca^{++} .

Таким образом, колебания ЛМН имеют характер автоколебаний. На рис. 5.27 показан типичный

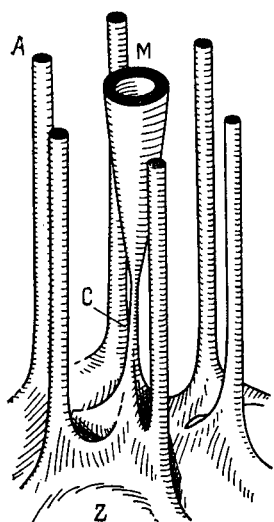


Рис. 5.26. Схема микроскопического строения летательной мышцы насекомого.

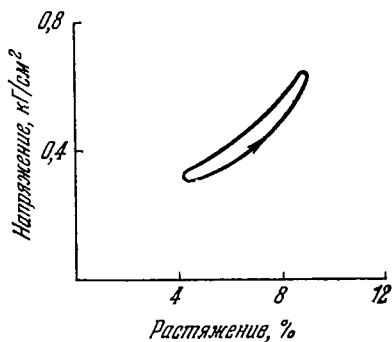


Рис. 5.27. Цикл автоколебаний летательной мышцы жука-носорога [143].

цикл автоколебаний летательной мышцы жука-носорога — зависимость напряжения от деформации [143]. Изменения напряжения и деформации происходят не в фазе, причем первое отстает от второго — цикл обходится против часовой стрелки.

Как известно, автоколебания возникают в нелинейных системах с трением за счет сил, зависящих от состояния движения самой системы, причем размах этих колебаний определяется свойствами системы, а не начальными условиями. В простейшем случае уравнение движения автоколебательной системы с одной степенью свободы имеет вид

$$\ddot{x} + \omega^2 x + \chi(x) \dot{x} = 0,$$

где $\chi(x)$ — нелинейная функция от смещения x [145]. Подробное рассмотрение автоколебаний в биологических системах дано в гл. 8. Очевидно, что автоколебания ЛМН возбуждаются при наличии обратной связи между деформацией и напряжением. Взаи-

моотношение напряжения и деформации изменяется в зависимости от состояния активности системы. По-видимому, в ЛМН имеется элемент-преобразователь, реагирующий на механические события и контролирующий состояние сократительной системы. Этот элемент локализован именно в миофибриллах, что доказывается наличием автоколебаний и у препаратов ЛМН, отмытых глицерином. Прингл считает, что наличие элемента-преобразователя проявляется в увеличении числа возможных мостиков при возрастании напряжения в толстых нитях [142]. Развивая эти идеи, Чаплен и его сотрудники предложили кибернетическое описание ЛМН, основанное на теории регулирования [146—148]. Подробный анализ автоколебаний ЛМН, исходящий из модели А. Хаксли, проведен Абботом [214].

Мы не располагаем пока количественной теорией автоколебаний ЛМН, тем более, молекулярной теорией. Необходимо обоснованное получение кинетических уравнений и нахождение их нестационарных решений. По-видимому, в этих уравнениях будут фигурировать в явном виде упругие элементы, имеющие молекулярное столкновение. Ясно, что автоколебания ЛМН представляют собой четкую и весьма интересную физическую проблему.

§ 5.10. ЗАДАЧИ ФИЗИКИ МЫШЦЫ

Все изложенное показывает, что перед физикой мышцы стоит множество нерешенных проблем. Несмотря на громадное число работ, посвященных всем трем аспектам мышечного сокращения — структурному, биохимическому и физико-механическому, — мы еще далеки от полного понимания и моделирования процессов, происходящих в мышце.

Молекулярная структура толстых и тонких нитей продолжает оставаться предметом интенсивных исследований. Толстые миозиновые нити имеют, по-видимому, высоко упорядоченное строение [149]. Еще не ясно, какова его функциональность и как оно связано со строением макромолекул миозина.

Не меньшего внимания требует актин, который является более универсальным компонентом тонких нитей в мышцах различного происхождения, чем миозин в толстых нитях. Актин фигурирует и в других сократительных системах (см. § 5.11).

Еще не исследована детальная структура мышечных белков — как сократительных, так и регуляторных. Ее изучение является необходимым условием построения подлинной молекулярной теории мышечного сокращения. Очевидно, что необходимо знание как равновесной структуры, так и динамики ее конформационных превращений, ответственных в конечном счете за механохимические процессы в мышце. Как уже указывалось, не-

возможно пока уверенно локализовать важнейшие конформационные превращения, создающие толкающее или тянущее усилие. Мы не знаем, где именно они происходят — в тяжелом или легком меромиозине, в актине или во всех участниках процесса одновременно.

Обычные структурные методы — рентгенография и электронная микроскопия — здесь недостаточны. Нужны скоростные методы исследования, позволяющие следить за динамикой. Франк и его сотрудники развили оригинальный метод, основанный на оптической дифракции, который позволяет регистрировать изменение структуры мышцы при ее одиночном сокращении каждую миллисекунду. С помощью этого метода удалось обнаружить периодичность, «зубчатость» процесса [150]. Пока не ясно, как следует интерпретировать эти интересные результаты.

Для изучения молекулярной динамики мышцы было бы очень важно создать метод скоростной рентгенографии. Это оказывается возможным с помощью *синхротронного излучения*. Первые результаты исследования мышцы таким методом, полученные Вазинной и сотрудниками, являются многообещающими (см. [218]). Удалось провести рентгенографическую «киносъемку» мышцы с разрешением до 0,003 с.

Со структурными, конформационными событиями в мышце тесно связаны биохимические процессы. Мы имеем здесь дело с электронно-конформационными взаимодействиями в АТФ-азе, активируемой ионами Ca^{++} и Mg^{++} [93]. Активация происходит, по-видимому, при непосредственном участии регуляторных белков. Полная биохимическая картина процесса пока не получена.

Мы располагаем сведениями о физико-механических свойствах мышцы, относящимися, главным образом, к ее стационарному сокращению. Твердо установлено уравнение Хилла и дан его теоретический вывод. Однако и в этих условиях нет ясной картины теплопродукции мышцы и здесь необходимы дальнейшие исследования. Еще меньше известно о релаксации мышцы и об ее удлинении под нагрузкой, превосходящей P_0 . Релаксация несомненно определяется уходом ионов Ca^{++} из саркоплазмы в ретикулум, сопровождаемым изменением химической энергии $\sum_i \mu_i \Delta n_i$. Количественная модель и теория этого процесса, как и процесса вынужденного удлинения, отсутствуют.

Чрезвычайный интерес представляет экспериментальное и теоретическое изучение кинетики нестационарных процессов в мышце — появления колебаний при быстром отпуске и, в особенности, автоколебаний мышц насекомых. Как уже указывалось, мы встречаемся здесь с нелинейными процессами, имеющими весьма общий характер в биологических системах (см. гл. 8).

И, тем не менее, ряд важнейших положений физики мышцы можно уже считать установленным. Наиболее общее положение состоит в неразрывной связи механохимии с ферментативной активностью рабочих веществ механохимической системы — сократительных и регуляторных белков. Отсюда следует, что принудительное конформационное изменение белка, вызванное механическим воздействием, должно изменять его ферментативную активность. Это положение, высказанное в работе [151] (см. также [152]), было подтверждено прямыми опытами. Воробьев и Кухарева помещали раствор миозина в динамооптиметр. Молекулы миозина подвергались деформации в гидродинамическом поле, и при этом действительно изменялась АТФ-азная активность миозина [153]. В работах [154—156] показано сильное влияние ультразвука на активность ферментов, исследовано регулирование механическим воздействием скоростей ферментативных реакций в полиакриламидном геле, а также регулирование ферментативных свойств химотрипсина посредством растяжения капроновой нити, к которой этот белок был ковалентно присоединен.

Мы не касаемся здесь свойств гладких и сердечной мышц позвоночных, изученных значительно менее подробно, чем поперечно-полосатые мышцы. Известно, что функции гладких мышц также определяются специфическим взаимодействием актина и миозина, реализуемым в системе, имеющей черты сходства со скользящей моделью. Миозин гладких мышц весьма сходен с миозином поперечно-полосатых, но имеет значительно меньшую АТФ-азную активность. Он образует нити с регулярными выступами. В сечении нити расположены примерно гексагонально (см., например, [157, 158], а также [30, 215, 216]).

Функциональность сердечной мышцы, представляющая первостепенный интерес для физиологии и медицины, весьма сложна. В гл. 8, посвященной нелинейным процессам, рассмотрено явление фибрилляции сердца.

§ 5.11. ДВИЖЕНИЕ ЖГУТИКОВ И РЕСНИЧЕК

Обратимся к другим биологическим механохимическим системам, ответственным за движения клеток и внутриклеточных органоидов. Краткий перечень таких систем приведен на стр. 218.

Множество одноклеточных организмов — бактерий и простейших — перемещается в жидкой среде, совершая, тем самым, работу в результате движения специальных сократительных систем — *жгутиков* и *ресничек*. Реснички функционируют и в ряде органов многоклеточных. Так, гребневики регулируют ориентацию своих тел согласованными движениями ресничек; реснички

создают ток жидкости в жабрах двустворчатых моллюсков, в трахеях человека и т. д.

Жгутики выполняют волнообразное движение, распространяющееся вдоль жгутика от его основания к концу. Типы таких движений показаны схематически на рис. 5.28 ([159], см. также [160]).

Клетка может двигаться вперед или назад, вбок или по кругу. Движение ресничек сводится к колебаниям в одной плоскости, вызывающим перемещение клетки или ток жидкости, если реснички принадлежат некоторой эпителиальной ткани. Схема движения ресничек показана на рис. 5.29.

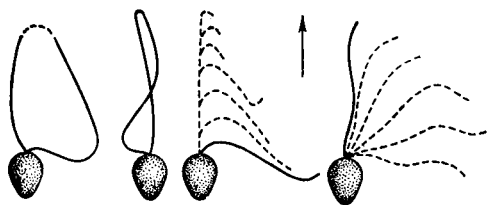


Рис. 5.28. Различные типы движения жгутика *Monas*. Стрелки указывают направление движения клетки.

Устройство жгутиков и ресничек весьма сходно. Они представляют

устройство жгутиков и ресничек весьма сходно. Они представляют

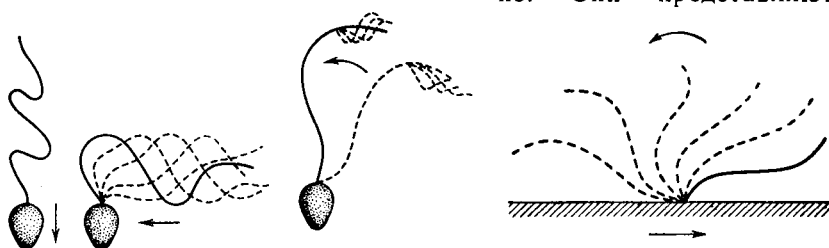


Рис. 5.29. Схема движения реснички.

собой вытянутые образования, длина которых варьирует от нескольких микрон до нескольких миллиметров, а диаметр меняется мало — в пределах от 0,1 до 0,5 мкм. Электронная микроскопия показала, что жгутик построен из девяти периферических и двух центральных фибрилл. На рис. 5.30 показана схема поперечных срезов жгутиков, основанная на электронной микрофотографии, а на рис. 5.31 — схема их строения [161]. Структуры типа «9 + 2» характерны для ряда биологических систем, имеющих вытянутое, фибриллярное строение.

Диаметр центральных фибрилл жгутика примерно равен 240 Å, расстояние между их центрами 300 Å. Поперечные размеры каждого из девяти дублетов — периферических фибрилл — 370×250 Å. Дублет состоит из двух субфибрилл А и В, от субфибриллы А отходят два отростка — «ручки» длиной 150

и толщиной 50 Å [161, 162]. Установлено, что фибриллы представляют собой полые цилиндры, стенки которых состоят из десяти протофибрилл с диаметром 35 Å и продольной периодичностью 80 Å [163]. Вторичные фибриллы соединяют периферические фибриллы с центральной.

Физические проблемы, относящиеся к движению жгутика, можно четко сформулировать. Необходимо установить тонкую структуру фибриллярной системы, ее молекулярное строение и природу механохимической функциональности. Необходимо экспериментально и теоретически

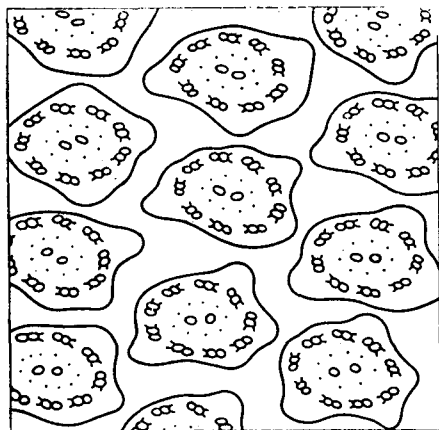


Рис. 5.30. Схема поперечных срезов жгутиков на основании электронной микроскопии.

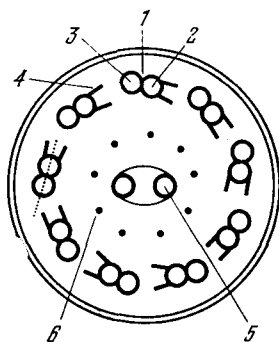


Рис. 5.31. Схема строения поперечного среза жгутика.

1 — периферическая фибрилла, 2 — субфибрилла А, 3 — субфибрилла Б, 4 — «ручки», 5 — центральная фибрилла, 6 — вторичная фибрилла.

исследовать механику и гидродинамику специфического волнообразного движения жгутика (или реснички).

Белки жгутиков и ресничек пока недостаточно охарактеризованы. Установлена их АТФ-азная активность, показано, что и форма и частота волн зависят от концентрации АТФ. Белки являются сократительными, но их строение отличается от строения миозина или актина. Из жгутиков бактерий выделен белок флагеллин, имеющий специфический аминокислотный состав.

Качественная молекулярная модель движения жгутиков предложена в работе Сильвестра и Холвилла [164]. Ранее способ распространения локальных сокращений вдоль фибриллы был рассмотрен Мэйчином [165]. Сократительная единица периферической фибриллы активируется пассивно распространяющейся волной, приходящей из соседней области жгутика. Надо понять, как химические события, вызывающие локальное сокращение, синхронизируются с механическим изгибанием. Мэйчин предпола-

гал, что такая синхронизация возникает вследствие нелинейной связи между напряжением и деформацией сократительного элемента. Брокау также считает, что химические события инициируются механической волной [166].

В работе [164] предполагается, что сократительная единица находится в метастабильном состоянии до того, как ее достиг пик сократительной волны. Приходящая волна меняет стерическое и электростатическое окружение единицы, которая переходит в другое конформационное состояние и сокращается. В каждой единице происходит расщепление АТФ. Количественная оценка, основанная на биохимических данных, показывает, что в жгутике активируются 10^5 — 10^6 сократительных единиц в 1 с. Если они упакованы во внешних фибриллах, то расстояние между ними порядка 100 А. Скорость распространения волны

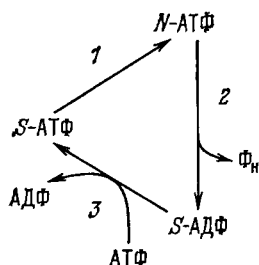


Рис. 5.32. Схема циклического процесса в жгутике.

N—нормальное состояние, *S*—сокращенное состояние; 1—механическая стимуляция, 2—сокращение, 3—релаксация.

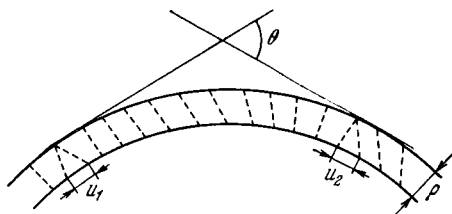


Рис. 5.33. Сдвиг и изгиб двухнитевой модели жгутика.

вдоль жгутика около 250 мкм/с, соответственно скорость стимуляции последовательных единиц есть $2,5 \cdot 10^4$ единиц в 1 с. После сокращения единица поддерживает напряжение вплоть до релаксации. На этой стадии происходит рефосфорилирование АДФ. Когда единица вновь имеет связанную АТФ, она готова опять принять участие в цикле. Следовательно, частота колебаний управляется скоростью замещения АТФ. Общая схема процесса показана на рис. 5.32 [164].

Другая точка зрения аргументируется в работе Рикменспоэла [167]. Расчет изгибающих моментов в жгутиках показывает, что активное сократительное событие сводится не к бегущей, а к стоячей волне. Изгибающий момент развивается по всей длине жгутика. Поэтому нет нужды в механизме, синхронизирующем волну смещения и сократительные события.

Результаты расчетов согласуются со скользящей моделью сократительного движения жгутика. «Ручки», выступающие из

субфибрилл А (см. рис. 5.31) и содержащие белок *динеин*, функционируют подобно мостикам в актомиозиновой системе мышцы. Были получены прямые электронно-микроскопические доказательства скольжения субфибрилл в жгутиках и ресничках [160, 168—170].

Изгибание жгутика можно объяснить механизмом скольжения, создающим сдвиг. На рис. 5.33 изображена простая двухнитевая модель жгутика [160, 171]. Если длины нитей, отстоящих друг от друга на ρ , не меняются, соотношение между сдвигом и изгибом есть

$$\frac{du}{ds} = \rho \frac{d\theta}{ds} = \rho \kappa, \quad (5.134)$$

где u — сдвиг, s — координата вдоль жгутика, θ — угол изгиба, κ — кривизна жгутика. Вводя безразмерный параметр сдвига, находим

$$\theta = \frac{u_2 - u_1}{\rho} = \Delta\sigma, \quad (5.135)$$

$$\kappa = \frac{d\theta}{ds} = \frac{d\sigma}{ds}. \quad (5.136)$$

Расчет дает линейное напряжение, равное $7 \cdot 10^{-2}$ дин/см.

Если пары молекул динеина отстоят друг от друга на 170 А [172], то сила на одну его молекулу, т. е. на один мостик, равна $0,6 \cdot 10^{-7}$ дин [167]. Это на порядок меньше величины f_0 для мышцы (см. стр. 250). За один период изгибания скольжение происходит на пути 800 А [173]. Работа, совершаемая одной молекулой динеина, равна $5 \cdot 10^{-13}$ эрг (ср. с $4,6 \cdot 10^{-15}$ эрг для мышцы, стр. 250). Эта величина согласуется со значением свободной энергии расщепления АТФ [174].

Таким образом, скользящая модель жгутика представляется более привлекательной, чем модель локального сокращения [160]. Ясно, что модель должна содержать некие контрольные механизмы, генерирующие ритмический цикл изгибания. Как уже сказано, такой механизм может определяться нелинейностью системы, наличием обратной связи (см. [165]). Иными словами, скорость изгибания контролируется кривизной.

Общее выражение для распространения волны изгиба вдоль s есть периодическая функция $s - Vt$, где V скорость распространения волны. Следовательно,

$$\frac{d\kappa}{dt} = -V \frac{d\kappa}{ds}.$$

Механизм скольжения автоматически создает разность фаз между сдвигом и кривизной, независимо от частоты колебаний [160].

Однако этот механизм контроля не полон, так как он не учитывает вязкого сопротивления изгибу. В соответствии с идеями Мэйчина можно предположить, что кривизной контролируется не скорость изгибания, но момент силы [160]

$$\frac{dM_{\text{акт}}}{ds} = -m = m_0 \kappa', \quad (5.137)$$

где m — момент, генерируемый на единицу длины жгутика, m_0 — константа. Если κ' — синусоидальная функция длины, то из (5.137) следует, что $M_{\text{акт}}(s)$ — также синусоидальная функция, но смещенная на четверть периода относительно κ' .

В работе [175] (см. также [160]) с помощью компьютера было исследовано движение моделей, содержащих от 25 до 35 прямых сегментов, шарнирно соединенных друг с другом. Математическая модель основывалась на модели скольжения. Оказалось, что достаточно включить в модель два основных предположения, а именно, существование изгибающего момента, генерируемого активным процессом скольжения вдоль жгутика, и пропорциональность масштаба этого активного процесса локальной кривизне жгутика. Тогда действительно объясняются и инициация и распространение изгиба. Варьируя параметры модели, можно получить различные волновые картины, в том числе все картины, наблюдаемые на опыте.

Имеется ряд данных, показывающих, что и внешние факторы могут влиять на движение жгутика (см. [160]). Здесь требуются дальнейшие теоретические и экспериментальные исследования.

В работе [176] рассчитана скорость распространения волны и расход мощности на преодоление вязкого сопротивления неоднородно колеблющихся жгутиков. В работе [177] проведен анализ гипотетических форм волнового движения жгутиков — синусоидальных, меандровых и круговых дуг, соединенных прямыми линиями. Наконец, в работе [178] теоретически рассмотрено движение микроорганизмов, создаваемое трехмерным волновым движением жгутиков.

Ясно, что движение жгутиков и ресничек ставит перед физической ряд еще не решенных проблем. Очень мало известно о деталях молекулярных механизмах, ответственных за активное скольжение и его контроль.

Как и в случае мышцы, ничего неизвестно о локализации и характере конформационных превращений в белках жгутика, более того, сами эти белки не охарактеризованы. Установлена лишь АТФ-азная их активность. В связи с этим необходимо указать на работу Энгельгардта и Бурнашевой, выделивших из сперматозоидов сократительный АТФ-азный белок, названный ими *спермазином* [179]. Дальнейшие подробности, относящиеся

к сократительным белкам жгутиков и ресничек, приведены в монографии Поглазова [180].

Очень важно, конечно, что установлены определенные черты сходства между движением жгутиков и мышечным сокращением. Различные типы внутренней и внешней регуляции движения еще не изучены, и изложенные в этом параграфе теоретические модели и представления имеют феноменологический характер.

§ 5.12. ДРУГИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

В заключение настоящей главы кратко рассмотрим некоторые другие биологические механохимические системы.

Двигательный аппарат «хвостатых» бактериофагов локализован в хвостовом чехле, который представляет собой сократительную структуру. При адсорбции фага Т2 на бактериальной клетке хвостовой чехол укорачивается в два раза и расширяется на 30% [181]. Установлены АТФ-азные свойства хвостовых структур этого фага, а также ряда других фагов [182]. Несомненные конформационные превращения в таких структурах, ответственные за сокращение. Дальнейшие подробности содержатся в монографии Поглазова [180].

Движение листьев растений (в частности мимозы, *Mimosa pudica*) также связано с АТФ-азной активностью содержащихся в них сократительных белков (см. [183], а также [180]).

Значительный интерес для физики представляет движение протоплазмы — универсальный процесс, фигурирующий в самых разнообразных клетках. Подробное его рассмотрение было дано в свое время в монографии Камия [184]. Ограничимся здесь лишь немногими фактами (ср. [30, 55]).

В случае движения протоплазмы в клетке водоросли *Nitella* сдвиговая сила генерируется на границе геля и золя. Наблюдается скольжение волокнистых структур относительно окружающего золя. В амебах были обнаружены пучки тонких нитей, выделены актиноподобный [185, 186] и миозиноподобный [187] белки. Почти наверное можно считать, что за движение протоплазмы ответственна система актомиозин — АТФ [30, 55].

Плазмодий миксомицетов выполняет активные колебательные движения протоплазмы [184]. Его белки хорошо охарактеризованы. Плазмодий содержит актин и миозин, весьма сходные с мышечными. Миозин плазмодия, однако, не образует толстых нитей, но лишь малые олигомеры. Тем не менее, этот миозин взаимодействует с актином плазмодия. В плазмодии обнаружены тонкие пучки нитей, построенные из актина и миозина. Эти пучки появляются и исчезают, следуя за фазами колебаний [188]. Ток протоплазмы регулируется ионами Ca^{++} , по-видимому, с участием еще не известных регуляторных белков [189]. Можно

думать о сходстве движения протоплазмы с мышечным, однако отсутствие толстых нитей означает отсутствие тождества. Эти явления во всех их аспектах изучены еще недостаточно. Движения описанного типа, а также многие другие (например, движения пластинок в крови, испытывающих своего рода сокращения при образовании сгустков) определяются взаимодействием актиноподобного и миозиноподобного белков, в общем сходным с наблюдаемым в мышце. Результатом их взаимодействия является гидролиз АТФ, энергия которой используется для движения. Можно думать, что взаимодействие актина с головками миозина возникло в качестве механизма движения на очень ранней стадии эволюции и клетки использовали этот механизм постоянно, сохраняя его важнейшие особенности [30] (см. также [217]).

При делении клеток, при митозе и мейозе происходят механические движения — перемещения протоплазмы и хромосом. Детальные цитологические исследования митоза проведены Мэзия ([191, 192], см. также [193]). Митотический аппарат клетки состоит из видимых под микроскопом тяжей, соединяющих друг с другом центриоли и хромосомы с центриолями. Отметим попутно, что центриоли имеют структуру «9 + 2», подобную структуре жгутиков и ресничек. Показано, что жгутики сперматозоидов вырастают именно из центриолей и кинетохоров хромосом.

Белок митотического аппарата сходен с актином. Такой белок выделен из митотического [194] и мейотического [195] веретен некоторых насекомых. Добавление АТФ вызывает медленное удлинение митотического аппарата. Пока не ясна непосредственная связь митотических движений с АТФ-азной активностью, и механизм работы митотического аппарата загадочен. Естественно искать объяснение механических явлений при митозе, исходя из общих принципов, установленных для других биологических механохимических систем.

В мембранах митохондрий — органоидов клеток, в которых локализован основной биоэнергетический процесс окислительного фосфорилирования, — сократительные процессы сопряжены с активным транспортом и с цепями химических реакций (см. гл. 6).

Есть все основания думать, что *механорецепция*, а также *акустическая рецепция* связаны с механохимическими процессами.

Одиночный механорецептор — *тельце Пачини* — изображен схематически на рис. 5.34. В состав рецептора входит нервное окончание, окруженное капсулой, состоящей из периферической и центральной зон. Периферическая зона состоит примерно из 30 замкнутых упругих оболочек. Центральная зона (внутренняя колба) содержит около 60 плотно уложенных цитоплазматических слоев, разделенных «щелью», ориентированной вдоль длин-

ной оси эллиптического сечения нервного окончания [196—198]. Модуль упругости оболочек периферической зоны составляет около 10^6 Г/см², оболочки способны реагировать на механическую силу в диапазоне 150—200 дин [199].

Тельца Пачини преобразуют механическое воздействие в нервные импульсы. В этом смысле их функция противоположна функции мышцы. В работе [200] изучались характеристики этих преобразователей путем бесконтактной стимуляции гармоническими звуковыми колебаниями в диапазоне частот 60—600 Гц.

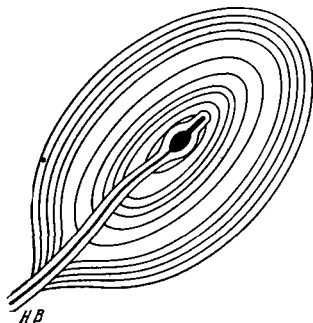


Рис. 5.34. Схема тельца Пачини.

нв — нервное волокно.

Максимальная чувствительность регистрируется для частоты 100—200 Гц, оптимальная частота следования потенциала действия совпадает с этим значением. Реализуется своего рода биомеханический резонанс [201]. Собственный период возбуждения рецептора составляет 9,6 мс, что соответствует той же периодичности раздражений порядка 100 Гц [202].

В работе [200] высказано предположение о том, что регулирование проницаемости плазматической мембраны нервного окончания связано с участием сократительных

белков. В результате электронно-микроскопических и гистохимических исследований установлено, что активный участок нервного окончания в области «щели» играет доминирующую роль в возникновении возбуждения. Показано, что в этой области происходит расщепление АТФ. Можно думать, что мембрана содержит ориентированные молекулы белка, обладающие АТФ-азной активностью. Механический стимул вызывает конформационные изменения в этих молекулах и в соответствии с положением, сформулированным в [151] (см. стр. 270), изменения их АТФ-азной активности. Энергия, выделяемая при расщеплении АТФ, расходуется на работу натриевого насоса (см. стр. 116).

Эта интересная работа выдвигает ряд проблем, требующих дальнейших исследований. Белки, действующие в тельцах Пачини, пока не охарактеризованы. Было бы очень важно установить черты их сходства с актином и миозином. Те же идеи, по-видимому, могут оказаться существенными для понимания акустической рецепции (см. также [219]).

Сократительные белки, прежде всего актин, фигурируют и в ряде других клеток и тканей. Показано, что актин составляет около 20% всего белка в нейронах цыпленка [203]. В этой же работе указывается на присутствие актина или актиноподобного

белка в эмбриональной линзе, легких, коже, сердце, поджелудочной железе, почках и в мозговой ткани цыпленка. Актиноподобные и миозиноподобные белки выделены из тромбостеина, из комплекса сократительных белков в тромбоцитах человека [204].

Приведенные выше факты подтверждают общее положение о необходимости механического движения в жизненных процессах и о сходстве механизмов этого движения в самых разнообразных биологических системах.

Можно считать установленными общие принципы биологической механохимии. Конкретные модели детально разработаны для поперечно-полосатой мышцы, для жгутиков и ресничек. Как уже сказано, это еще далеко не означает решения соответствующих проблем. В большинстве других случаев такие модели пока отсутствуют. Задачи дальнейшего исследования механических движений внутриклеточных органоидов, клеток, тканей и организмов, раскрытие молекулярных, электронно-конформационных процессов, ответственных за эти движения, очень актуальны.

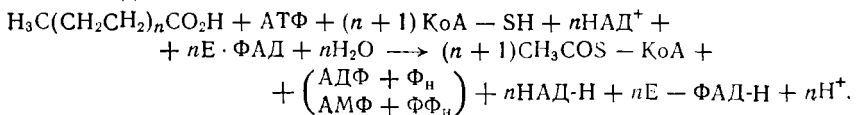
СОПРЯЖЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ В МИТОХОНДРИЯХ

§ 6.1. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Биоэнергетические процессы, приводящие к синтезу АТФ, к зарядке «биологических аккумуляторов», протекают в специализированных мембранах митохондрий. Именно здесь локализованы и пространственно организованы молекулярные системы, ответственные за энергетику живых организмов. Синтез АТФ в митохондриях сопряжен с электронным и ионным транспортом и с механохимическими явлениями. Функции митохондриальных мембран весьма сложны и многообразны. Другой тип биоэнергетических сопрягающих мембран — мембраны хлоропластов растений, ответственные за фотосинтез, — рассматривается в гл. 7.

Источником энергии, расходуемой клеткой на биосинтез, активный транспорт, механическую и электрическую работу, является дыхание, т. е. окисление органических соединений кислородом воздуха. В 1780 г. Лавуазье показал, что дыхание и горение имеют единую природу. За последующие почти два столетия исследования химиков, биологов и физиков привели к раскрытию основных особенностей биологического окисления — одного из важнейших процессов (или, скорее, системы процессов), происходящих в живой природе.

Топливо, т. е. окисляемые вещества, поступает в организм животного с пищей в виде жиров, углеводов и белков. Жиры представляют собой триглицериды жирных кислот, главным образом многоатомных. Они расщепляются, т. е. гидролизуются в реакциях, катализируемых специальными ферментами. Жирные кислоты активируются с участием специфических ферментов и АТФ, превращаясь в ацилпроизводные так называемого кофермента А, $\text{CoA} - \text{SH}$, структура которого показана на рис. 6.1. Окисление ацилпроизводного $\text{CoA} - \text{SH}$ происходит в ряде стадий, на каждой из которых образуется остаток жирной кислоты, содержащий на два атома углерода меньше, чем предыдущий [1, 2]. Полное уравнение реакции окисления жирной кислоты с четным числом атомов углерода до ацетил-S — CoA имеет вид



Здесь НАД — кофермент никотинамидениндинуклеотид (рис. 6.2), Е — фермент, ФАД — кофермент флавинадениндинуклеотид

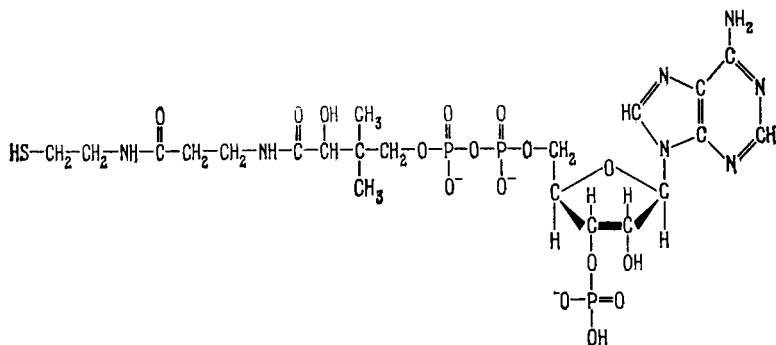


Рис. 6.1. Кофермент А.

(рис. 6.3), АДФ и АМФ — аденозиндифосфат и аденозинмонофосфат, F_n , F_nH — неорганические моно- и дифосфаты. Обратим внимание попутно на общность строения АТФ, КоА—SH, НАД и ФАД (см. [3], гл. 2). При разрушении жиров в конечном счете образуется ацетил-Ко А, а также пропионил-Ко А и глицерин.

Расщепление и окисление углеводов (в частности, крахмала) приводит к образованию триозофосфатов и пировиноградной кислоты (пирувата).

При разрушении белков, наряду с индивидуальными аминокислотами, используемыми в синтезе белков *de novo*, образуются ацетил-Ко А, оксалацетат, α -кетоглутарат, фумарат и сукцинат. Эти процессы метаболизма детально изучены в современной биохимии (см. [1, 2]).

Основные продукты расщепления и окисления жиров, углеводов и белков претерпевают дальнейшие превращения в циклической системе реакций, именуемой *циклом лимонной кислоты* или *циклом Кребса*. Эта система локализована в митохондриях. Цикл Кребса, «образно говоря, та главная ось, вокруг которой вертится метаболизм почти всех существующих клеток... Цикл

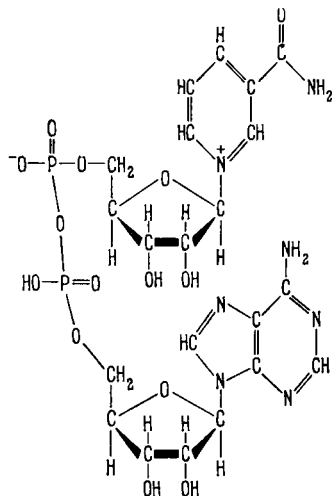


Рис. 6.2. Никотинамидениндинуклеотид (НАД).

Кребса является «фокусом», в котором сходятся все метаболические пути» [1].

Цикл Кребса изображен на рис. 6.4. За один оборот цикла, состоящего из восьми реакций, отмеченных на рисунке цифрами в кружках, происходит деградация одной молекулы ацетил-КоА

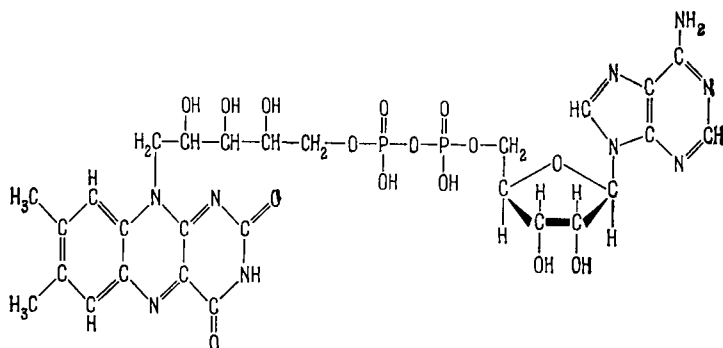
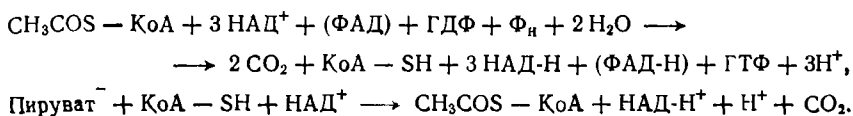


Рис. 6.3. Флавинаденидинуклеотид (ФАД).

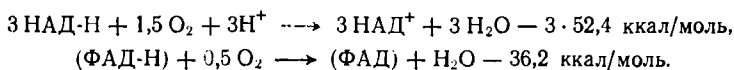
или одной молекулы пирувата до CO₂ и H₂O, т. е. «сгорание» этих молекул. Соответствующие суммарные реакции имеют вид



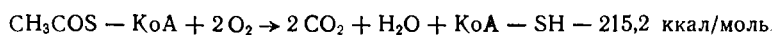
(Скобки обозначают, что ФАД тесно связан с белком.)

От цикла Кребса идут пути многих биосинтетических реакций — пути синтеза углеводов, липидов, пуринов, пиримидинов и порфиринов. Синтез белков также связан с циклом, в котором создаются предшественники ряда аминокислот. Вместе с тем, как мы увидим, биологическое окисление является источником энергии, запасаемой в АТФ и необходимой для биосинтетических процессов.

В реакциях цикла возникают CO₂ и ионы Н⁺. Одновременно происходит восстановление коферментов НАД и ФАД. Для непрерывного и полного биологического окисления эти коферменты должны окисляться вновь. Окисление осуществляется совокупностью переносчиков электронов, образующих цепь переноса электронов (ЦПЭ), фиксированную в митохондриях. ЦПЭ обеспечивает следующие реакции:



Реакция ацетил-КоА имеет вид



ЦПЭ, иначе именуемая дыхательной цепью, представляет собой

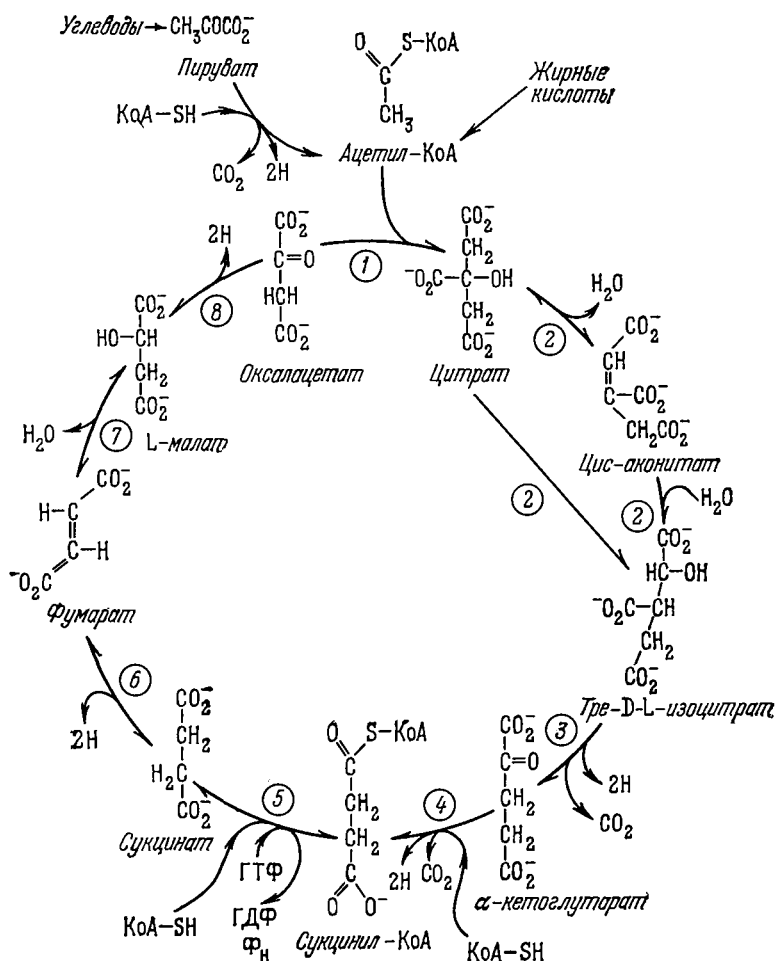
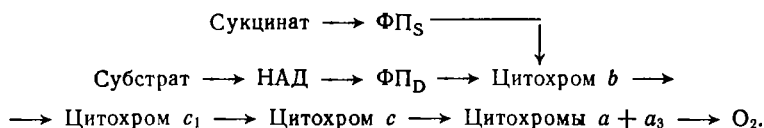


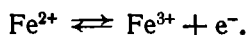
Рис. 6.4. Цикл Кребса.

полиферментную систему, акцептирующую электроны из цикла Кребса и цикла окисления жирных кислот.

Электрон переносится по следующей цепи [1, 2, 4]:



Флавопротеиды — специфические ферменты, содержащие флавиновые коферменты — ФАД (см. рис. 6.3) и флавинмононуклеотид ФМН, рибофлавин-5'-фосфат. Цитохромы содержат группу гема, атом железа которого при работе цепи подвергается окислению и восстановлению:



Перенос электронов в приведенной цепи происходит слева направо, завершаясь восстановлением кислорода, который соединяется с водородом и образует воду. Освобождаемый при окислении электрон соединяется со следующим звеном цепи. Перенос электронов сопровождается изменением свободной энергии, так как электроны перемещаются по каскаду возрастающих окислительно-восстановительных потенциалов. Их значения приведены в табл. 6.1 [1].

Таблица 6.1

Окислительно-восстановительные потенциалы некоторых систем

| Система | ψ , В | Система | ψ , В |
|---|------------|----------------------------------|------------|
| $\text{H}_2\text{O}/\frac{1}{2}\text{O}_2$ | 0,82 | Восстановленный флавин/фла- | -0,185 |
| Цит <i>a</i> $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ | 0,29 | вин | |
| Цит <i>c</i> $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ | 0,23 | Лактат/пируват | -0,19 |
| Цит <i>c</i> ₁ $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ | 0,21 | НАД-Н/НАД | -0,32 |
| Цит <i>b</i> $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ | 0,05 | Малат/пируват | -0,33 |
| Сукцинат/фумарат | -0,03 | $\frac{1}{2}\text{H}_2/\text{H}$ | -0,42 |
| Глутамат/ α -кетоглутарат | -0,14 | Ацетальдегид/ацетат | -0,60 |

Перенос электронов по дыхательной цепи сопряжен с запасанием энергии в макроэргических молекулах АТФ. Иными словами, освобождаемая свободная энергия конвертируется в химическую энергию АТФ. Происходит окислительное фосфорилирование.

Это важнейшее явление было впервые открыто Энгельгардом в 1930 г. [5]. Белицер и Цыбакова [6] подробно изучили стехиометрические соотношения между окислением и фосфорилированием, провели первые определения коэффициента Φ_n : О, т. е. отношения числа молекул этерифицированного неорганиче-

ского фосфата к числу атомов поглощенного кислорода, и показали, что значение этого коэффициента не менее 2. В работе [6] были даны термодинамические оценки, показавшие, что энергия переноса электронов на кислород достаточна для образования двух или большего числа молекул АТФ на один атом поглощенного кислорода. Калькар установил, что аэробное фосфорилирование сопряжено с дыханием и не зависит от гликолитического фосфорилирования [7]. Количественные соотношения были уточнены Очоа [8]. Коэффициент $\Phi_{\text{H}} : \text{O}$ для окислительных реакций цикла Кребса и реакций с участием НАД равен 3. Ленинджер впервые установил, что процессы окислительного фосфорилирования локализованы именно в митохондриях [4, 9,

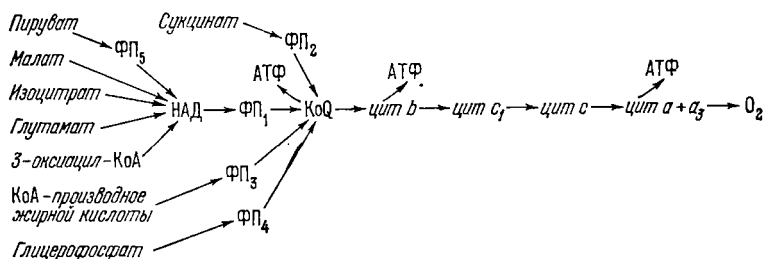
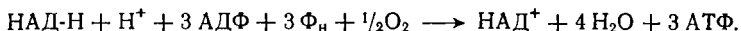


Рис. 6.5. Дыхательная цепь [1, 2].

Прямые стрелки показывают места вхождения электронов. ФП₁, ФП₂, ... — флавопротеиды. КоQ — кофермент Q.

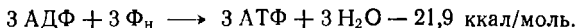
10], и в работах его лаборатории были найдены узловые пункты дыхательной цепи, в которых происходит фосфорилирование. Указанное значение $\Phi_{\text{H}} : \text{O}$ следует из уравнения



В этом уравнении суммируются экзергоническая реакция



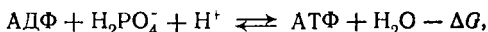
и эндергоническая реакция



Фосфорилирование $\text{АДФ} \rightarrow \text{АТФ}$ происходит в трех узловых пунктах — в участке цепи $\text{НАД}\cdot\text{H} \rightarrow$ флавопротеид, в участке цитохром $b \rightarrow$ цитохром c_1 и в участке цитохром $c \rightarrow$ цитохромы $a + a_3$.

Общая схема сопряжения окисления с фосфорилированием приведена на рис. 6.5.

Напишем вновь брутто-уравнение фосфорилирования



где ΔG — изменение свободной энергии. Имеем

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{АДФ}] [\text{H}_2\text{PO}_4^-] [\text{H}^+]}{[\text{АТФ}] [\text{H}_2\text{O}]}, \quad (6.1)$$

ΔG^0 — стандартное изменение свободной энергии в калориях, т. е. значение ΔG при рН 7,0, 25 °С и концентрациях всех компонентов, равных 1,0 М. Как известно,

$$\Delta G^0 = -RT \ln K, \quad (6.2)$$

где K — константа равновесия реакции. Для фосфорилирования $\Delta G^0 = 7,3$ ккал/моль. Наблюдаемое значение ΔG *in vivo* зависит от концентрации протонов по обе стороны мембраны и, следовательно, от мембранной разности потенциалов. ΔG зависит также от концентрации ионов Mg^{++} . При изменении рН от 6,0 до 9,0 при $[\text{Mg}^{++}] = 10$ мМ ΔG меняется от 6,17 до 9,29 ккал/моль (см. [79, 113]).

Изменение свободной энергии при переносе двух электронных эквивалентов по ЦПЭ от НАД-Н к O_2 определяется разностью окислительно-восстановительных потенциалов $0,82 - (-0,32) = = 1,14$ В, т. е.

$$\Delta G^0 = z \Delta \psi = -2 \cdot 23,06 \cdot 1,14 \text{ ккал/моль} = -52,7 \text{ ккал/моль}.$$

Это обеспечивает с избытком синтез 3 молей АТФ из АДФ и F_n . Эффективность процесса выражается величиной $21,9/52,7$, т. е. примерно равна 40%.

Энергетический смысл дыхания состоит в синтезе АТФ. Энергия, аккумулированная в АТФ, используется клеткой для выполнения всех видов ее работы.

Раскрытие химизма биологического окисления — крупнейшее достижение биохимии. Здесь изложены лишь некоторые важнейшие сведения, подробное рассмотрение сложной биохимической системы окисления содержится в специальной литературе (см. [1—3, 11—13]).

Особенность системы окислительного фосфорилирования, отличающая ее от ряда ферментативных реакций, протекающих в растворе, состоит в строгой пространственной локализации звеньев многоступенчатого процесса. Окислительное фосфорилирование локализовано в митохондриях и непосредственно связано с транспортной и механохимической функциональностью их мембран. По-видимому, столь сложная система биохимических реакций принципиально требует пространственной неоднородности и не могла бы реализоваться в гомогенной среде.

Расшифровка кратко описанных здесь окислительно-восстановительных реакций была получена в результате применения тонких химических и физических методов. Здесь, в частности,

сыграли большую роль работы Чанса, посвященные спектроскопии переносчиков электронов (НАД, ФП, цитохромов) в интактных митохондриях. Эти переносчики обладают характерными полосами поглощения в видимой и близкой ультрафиолетовой областях спектра, и разностные спектры позволяют изучать кинетику их окисления и восстановления [14]. Были применены различные способы удаления из митохондрий специфических ферментов и, тем самым, сохранения лишь определенных звеньев

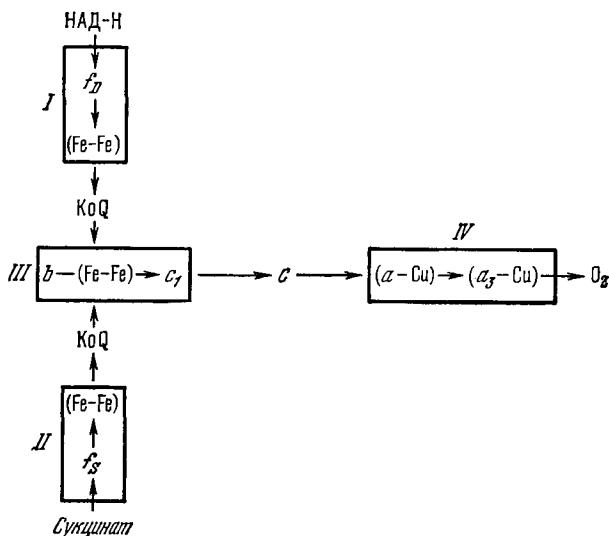


Рис. 6.6. Распределение белков по комплексам ЦПЭ I, II, III, IV.

a , b , c , c_1 , α_3 — цитохромы, Cu — медьсодержащие белки, $(Fe-Fe)$ — негеминное железо, f_S — сукцинатдегидрогеназа, f_D — НАД Н-дегидрогеназа.

процесса. Митохондрии подвергались расчленению, из субмитохондриальных частиц выделялись комплексы дыхательных ферментов, свободные от структурных белков. Такие комплексы оказалось возможным очищать и детально исследовать. Были проведены успешные опыты по восстановлению ЦПЭ из выделенных препаратов и растворимых ферментов. Наконец, очень ценная информация была получена в опытах по ингибированию отдельных стадий процесса и по разобщению окислительного фосфорилирования и переноса электронов (см. § 6.5).

Можно считать установленным, что переносчики ЦПЭ сгруппированы в четыре комплекса, именуемые *комплексами Грина* (см. [15]). Соответствующая схема приведена на рис. 6.6. Молекулярный вес каждого комплекса равен примерно $3 \cdot 10^5$. Он содержит около 64% белка и 36% липидов. Электрон-переносящий

комплекс определяется как минимальная единица ЦПЭ, сохраняющая способность переносить электрон со скоростью, сравнимой с этой скоростью в интактных митохондриях.

Изучение биологического окисления встречается с необходимостью решения ряда физических проблем, относящихся к различным уровням организации и функционирования системы.

Структура и функции молекулярных переносчиков электронов изучены еще недостаточно. В § 6.7 рассмотрены современные данные, относящиеся к строению и свойствам цитохрома *c*. Цитохром *c* исследовался очень детально, но его динамические свойства нельзя считать полностью установленными и объясненными.

Строение и функциональная организация митохондрий явились предметом интенсивного изучения. Тем не менее, многие важнейшие вопросы, сюда относящиеся, пока не имеют ответа. Специфическая мембранная структура митохондрий, присутствие в них автономной программы синтеза белков (ДНК), механохимическая активность митохондрий непосредственно связаны с их ролью «силовых станций» клетки. Дальнейшее развитие физики митохондрий требует целостного подхода.

Общая теория электронного транспорта в локализованной системе биологического окисления интенсивно развивается. Предложены содержательные кинетические модели, начаты теоретические исследования, основанные на рассмотрении электронно-конформационных взаимодействий. Эти проблемы представляют первостепенный интерес для биофизики.

Необходимо установить молекулярную природу биологического окисления, осуществляемого в результате сопряжения ферментативных, транспортных и механохимических процессов. Митохондрия есть место интегрирования широкой совокупности молекулярно-биологических явлений, целостная система, требующая всестороннего изучения — теоретической и экспериментальной разборки и сборки «черного ящика».

§ 6.2. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА МИТОХОНДРИЙ

Митохондрии фигурируют во всех аэробных клетках животных и растений, за исключением некоторых примитивных бактерий, где функции митохондрий выполняет плазматическая мембрана.

Число этих органоидов в клетке различно — от 20—24 в сперматозоидах до 500 000 в клетке гигантской амебы *Chaos chaos*. В клетке *Escherichia coli* имеется лишь одна митохондрия. Число митохондрий характерно для клеток данного типа данного вида: по-видимому, при митозе происходит деление митохондрий и их правильное расхождение в дочерние клетки. Форма, структура

и размеры митохондрий также варьируют, но митохондрии всегда обладают развитой системой внутренних мембран, именуемых *кристами*. На рис. 6.7 [16] схематически изображена структура митохондрии из печени крысы. Длина такой митохондрии примерно 3 мкм, ширина 0,5—1 мкм, и поэтому она хорошо видна в оптическом микроскопе. Средний сухой вес митохондрии 10^{-13} г. Общая площадь поверхности всех крист составляет 16 мкм^2 , внешней мембраны — 13 мкм^2 . В клетке печени содержится примерно 1000 митохондрий и, значит, полная поверхность митохондриальных мембран составляет около 29 000 мкм²,

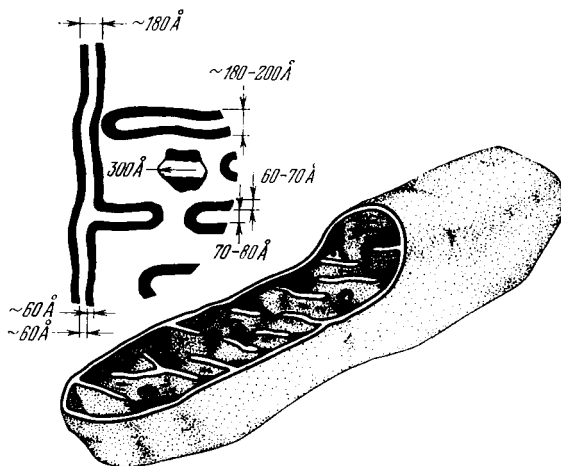


Рис. 6.7. Схематическое изображение митохондрии.

что в десятки раз превышает площадь мембраны самой клетки [16]. Внутренность митохондрии, не занятая кристами, заполнена матриксом. Митохондрии содержат так называемые *плотные гранулы*, по-видимому, возникшие в результате аккумуляции различных ионов, в частности Ca^{++} .

В митохондриях обнаружено наличие ДНК и в них происходит ДНК-зависимый синтез РНК. Более того, в митохондриях представлена вся система биосинтеза белка — в них содержатся тРНК, аминоксил — РНК-синтазы и рибосомы (см. [17—19]).

Мембраны митохондрий тоньше большинства клеточных мембран — их толщина порядка 50 Å. Методом электронной микроскопии было установлено, что внутренние мембраны и кристы покрыты сферическими или полиэдрическими частицами диаметром 80—100 Å, прикрепленными к мембранам ножками, имеющими размеры $20\text{—}40 \times 40\text{—}50 \text{ Å}$. Эти структурные элементы весьма многочисленны: их число в одной митохондрии достигает

10^4 — 10^5 , и они занимают 10—15% ее объема. В некоторых случаях удалось наблюдать еще один элемент — *подставку*, к которой прикреплена ножка размером 40 — $50 \times 115 \times 115 \text{ \AA}^3$. Головка, ножка и подставка образуют так называемую элементарную частицу митохондрии [20—22]. На рис. 6.8 показано электронно-микроскопическое изображение крист в митохондрии из сердца быка, на котором видны эти элементарные частицы [21]. Не исключено, однако, что элементарные частицы являются артефактом, возникающим при негативном контрастировании.



Рис. 6.8. Контрастированное изображение крист.

Верхняя стрелка указывает головку, нижняя — подставку элементарной частицы.

Возможно, что их нет в необработанных митохондриях. Все же трудно считать случайностью, что они появляются при подготовке препарата именно лишь на внутренних мембранах и кристах.

Митохондрия содержит 50—60 ферментов, катализирующих реакции электронного транспорта, окислительного фосфорилирования, окисления жирных кислот, цикла Кребса и другие. Кроме того, примерно 40% всего митохондриального белка — это структурный белок, предположительно индивидуальный, сходный с белком миелина и бактериальных мембран [23].

Липиды составляют от 15 до 50% сухого веса митохондрий. 90% липидов — фосфолипиды.

О локализации окислительных ферментов в митохондриях можно до некоторой степени судить по результатам обработки митохондрий детергентами или ультразвуком. Цитохромы и флавопротеиды дыхательной цепи обнаруживаются в нерастворимых частицах, по-видимому, принадлежавших мембранам. Напротив, ферменты цикла Кребса (дегидрогеназы и др.) содержатся в растворимой части. Отсюда можно заключить, что они локализованы вблизи крист или на них, но легко отделяются. Эти факты свидетельствуют об определенной пространственной организации окислительно-восстановительной системы. В работе Чанса и Уильямса [14] установлено наличие простых стехиометрических соотношений в содержании флавопротеидов и цитохромов в митохондриях. Также постоянны молярные соотношения различных цитохромов [24], НАД и цитохромов [25] и т. д.

Кристы образованы впячиванием внутренних мембран. Число и поверхность крист непосредственно связаны с интенсивностью

клеточного дыхания. Их формы широко варьируют для разных клеток. Митохондрии летательных мышц насекомых содержат развитую поверхность плотно упакованных крист; интенсивность дыхания этих клеток раз в 20 выше, чем клеток печени, митохондрии которых содержат относительно мало крист. У митохондрии клетки печени площадь поверхности внешней мембраны составляет около 13 мкм^2 , площадь внутренней — в три раза больше. В такой митохондрии имеется примерно 17 000 дыхательных ансамблей, как это следует из содержания цитохромов. На каждый квадратный микрон поверхности внутренней мембраны приходится 650 ансамблей, каждый ансамбль занимает площадь $400 \times 400 \text{ \AA}^2$ [16].

В работах Грина (см. [15, 26]) элементарные митохондриальные частицы рассматриваются как реальные структуры, в которых локализованы основные процессы электронного транспорта и окислительного фосфорилирования. Предполагается раздельная пространственная локализация этих процессов — электроны и протоны разделены в комплексах переноса электронов и разделены белки, участвующие в переносе электронов и протонов. Представление о разделении электронов и протонов является одним из основных в электромеханохимической модели митохондриальной структуры и функции, развиваемой Грином и Джи [26, 27] (см. стр. 315).

Фазово-контрастная микроскопия показывает, что митохондрии живых клеток испытывают изменения размеров и формы, связанные с дыханием [4, 16, 28]. Осуществляются циклы набухания и сокращения двух типов. Обратимый цикл малой амплитуды, в котором объем меняется не более чем на 1—2%, наблюдается у всех типов митохондрий *in vitro*. Набухание, сопровождаемое понижением оптической плотности, наступает в отсутствие АДФ в состоянии покоя митохондрий. При добавлении АДФ происходит сокращение и окислительное фосфорилирование АДФ. Цикл блокируется разобщителями окислительного фосфорилирования [29].

В цикле большой амплитуды объем митохондрии может меняться в несколько раз. Это наблюдается как *in vitro*, так и *in vivo*. Такие циклы различаются у митохондрий из разных клеток. Сокращение митохондрий вызывается добавлением АТФ. Процесс непосредственно связан с дыханием — с окислительным фосфорилированием. Имеется прямой параллелизм в ингибировании сокращения и окислительного фосфорилирования олигомицином. Изменения оптической плотности в циклах набухания — сокращения митохондрий показаны на рис. 6.9 [16].

Высокоамплитудные механохимические процессы в митохондриях определяются свойствами мембран. Мембраны, освобож-

денные от белка матрикса, «митохондриальные духи», способны сокращаться в присутствии АТФ.

Эти механохимические процессы сводятся к превращению химической энергии в механическую работу. Ленинджер подчеркивает далеко идущее сходство АТФ-азной активности митохондриальных мембран и актомиозиновой сократительной системы скелетных мышц [16]. Сходны их механохимические свойства, прежде всего сокращение под действием АТФ. В обоих случаях для сокращения необходимы двухвалентные катионы, обе системы являются мультикомпонентными. Можно указать еще ряд

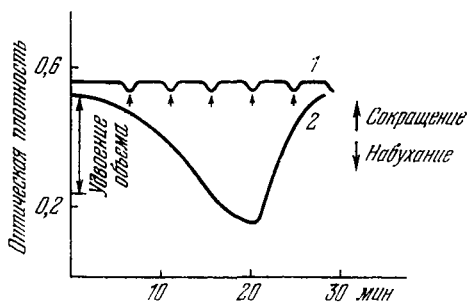


Рис. 6.9. Изменения оптической плотности при $\lambda 5200 \text{ \AA}$ в циклах набухания — сокращения митохондрий.

1 — цикл малой амплитуды, 2 — цикл большой амплитуды.

черт сходства. Исходя из этого, Ленинджер постулировал присутствие сократительных белков, подобных актомиозину, в мембранах митохондрий [30]. Гипотеза Ленинджера была подтверждена выделившим из митохондрий белок такого типа [31]. Показано, что сократительный белок участвует в митохондриальной механохимии, но оказалось, что здесь играет существенную роль и липид мембран — фосфатидил-

инозитол [32]. Имеются и другие факторы, участвующие в сокращении, в частности, ферментативные.

В работах школы Ленинджера было показано непосредственное участие транспорта катионов в функционировании мембран митохондрий [16]. Накопление больших количеств Ca^{++} , поступающего из окружающей среды, происходит при дыхании и блокируется его ингибиторами и разобщителями окислительного фосфорилирования. Количество поступающего Ca^{++} связано с количеством поглощаемого кислорода, фосфат также аккумулируется параллельно накоплению Ca^{++} в отношении $\text{Ca} : \text{P}_n = 5 : 3$ (соответствующем оксипатиту). Электронная микроскопия показывает, что в митондриях могут накапливаться гранулы фосфата кальция.

Установлено, что имеется прямое и точное соотношение между аккумулированными количествами фосфата и кальция и числом электронов, проходящих по дыхательной цепи [33]. При перемещении каждой пары электронов через каждый из трех центров накопления энергии в цепи аккумулируется 1,67 моле-

кулы Ca^{++} и 1,0 молекула фосфата. Этот процесс альтернативен окислительному фосфорилированию, что показано схематически на рис. 6.10 [16]. Тем самым Ca^{++} препятствует окислительному фосфорилированию, действует как его разобщитель.

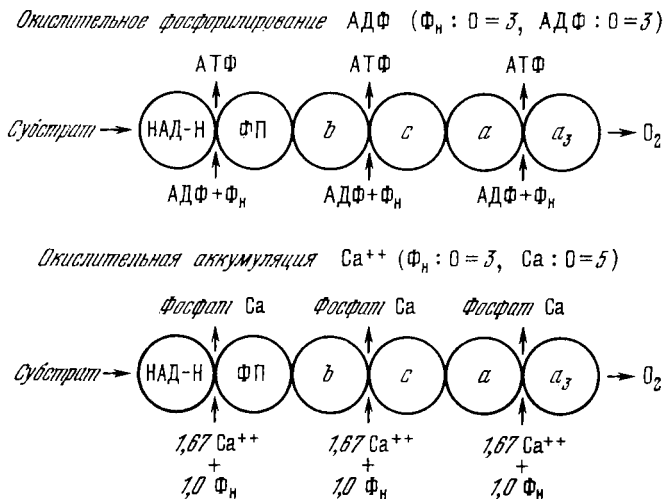


Рис. 6.10. Схемы альтернативных окислительных процессов — фосфорилирования и аккумуляции Ca^{++} .

Малые количества Ca^{++} , напротив, стимулируют дыхательный процесс. Транспорт Ca^{++} связан с транспортом катионов H^+ , K^+ и Na^+ .

§ 6.3. ТЕРМОДИНАМИКА ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Как уже сказано, окислительное фосфорилирование сопряжено с ионным транспортом в митохондриальных мембранах. И субстраты, и продукты окисления и фосфорилирования являются ионами, и, очевидно, их транспорт должен влиять на скорость соответствующих процессов. Вместе с тем окислительное фосфорилирование, как таковое, есть система сопряженных процессов, а не отдельная химическая реакция. Максимально упрощенная схема сопряжения фосфорилирования с окислением показана на рис. 6.11 [34].

Предложен ряд гипотез о механизме сопряжения в окислительном фосфорилировании. Согласно Слэйтеру в результате окисления возникают обладающие избытком энергии промежуточные вещества, участвующие в фосфорилировании [35]. Это —

химическая гипотеза. Она включает сопряжение с ионным транспортом, если принять, что промежуточное вещество определяет работу ионного насоса [36, 37]. С другой стороны, высказано предположение, что катионный насос неспецифичен и специфичность возникает благодаря различным барьерам проницаемости [38]. Химической гипотезе противостоит *хемиосмотическая теория* Митчелла, подробно рассматриваемая в следующем параграфе. Согласно основной

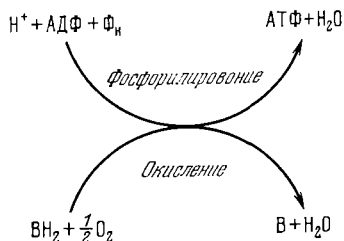


Рис. 6.11. Общая схема сопряжения окисления и фосфорилирования.

ВН_2 — окисляемый субстрат.

идее Митчелла, система окислительно-восстановительных ферментов расположена во внутренней мембране митохондрий таким образом, что перенос электронов от водорода к кислороду сопровождается переносом заряда сквозь мембрану. В результате на мембране возникает разность потенциалов и (или) градиент рН.

Разобщение окисления и фосфорилирования катионами, вводимыми извне, объясняется в химической теории конкуренцией за высокоэнергетические промежуточные соединения. Исследования разобщения посредством различных веществ дают некоторые возможности для выбора модели (см. § 6.5).

Общее термодинамическое описание процессов сопряжения не зависит от конкретной модели. При сопряжении двух линейных процессов (см. стр. 53)

$$\left. \begin{array}{l} J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2, \\ J_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2 \end{array} \right\} \quad (6.3)$$

степень сопряжения дается выражением

$$q = \frac{L_{12}}{\sqrt{L_{11}L_{22}}}, \quad (6.4)$$

причем в линейной области справедливо условие Онзагера $L_{12} = L_{21}$. В отсутствие сопряжения $q = 0$, при полном сопряжении $q = 1$. При полном сопряжении окисления и фосфорилирования между изменениями свободной энергии должно реализоваться соотношение

$$-\Delta G_o = \nu \Delta G_\phi,$$

где ν — стехиометрическое соотношение. При неполном сопряжении вместо равенства имеет место неравенство и

$$|\nu \Delta G_\phi / \Delta G_o| < 1.$$

При промежуточных значениях q отношение скоростей двух процессов является функцией отношения действующих сил. Для окислительного фосфорилирования (\mathcal{A} — средство)

$$\left. \begin{aligned} J_o &= L_{11} \frac{\mathcal{A}_o}{T} + L_{12} \frac{\mathcal{A}_\phi}{T}, \\ J_\phi &= L_{12} \frac{\mathcal{A}_o}{T} + L_{22} \frac{\mathcal{A}_\phi}{T}, \end{aligned} \right\} \quad (6.5)$$

и отношение J_ϕ/J_o есть отношение Φ_H/O . Имеем

$$\frac{\Phi_H}{O} = \frac{J_\phi}{J_o} = \frac{q + lx}{l^{-1} + qx},$$

где $x = \mathcal{A}_\phi/\mathcal{A}_o$, q определяется соотношением (6.4), а $l = \sqrt{L_{22}/L_{11}}$. При $q = 1$ имеем $\Phi_H/O = l = 3$, независимо от отношения $\mathcal{A}_\phi/\mathcal{A}_o$, при $q = 0$ имеем $\Phi_H/O = l^2 x = 9\mathcal{A}_\phi/\mathcal{A}_o$, при $0 < q < 1$, т. е. при неполном сопряжении, отношение Φ_H/O нелинейно зависит от x .

Учитывая перенос протонов, напомним функцию диссипации (умноженную на T) в виде

$$\sigma T = J_\phi \mathcal{A}_\phi + J_H \Delta \tilde{\mu}_H + J_o \mathcal{A}_o, \quad (6.6)$$

где $\Delta \tilde{\mu}_H$ есть разность электрохимических потенциалов ионов водорода на входе и выходе из мембраны, т. е.

$$\begin{aligned} \Delta \tilde{\mu}_H &= \tilde{\mu}_H^{\text{вход}} - \tilde{\mu}_H^{\text{вых}} = RT \ln [H^+]^{\text{вход}} / [H^+]^{\text{вых}} + \mathcal{F} \Delta \psi = \\ &= -2,3RT \Delta pH + \mathcal{F} \Delta \psi, \end{aligned} \quad (6.7)$$

где \mathcal{F} — число Фарадея, $\Delta \psi$ — разность потенциалов (см. стр. 107).

Рассмотрим стационарное состояние с нефиксированными градиентами электрохимических потенциалов для ионов Ca^{++} , Mg^{++} и т. д. Соответственно потоки этих ионов равны нулю.

Функция диссипации (см. (6.6)) не определена в том смысле, что не указано, о каких значениях средства \mathcal{A} идет речь — о внешних или внутримембранных. Согласно [34], можно провести соответствующее уточнение. Рассмотрим митохондриальное окисление. Функцию диссипации для мембраны, находящейся в стационарном состоянии, можно написать в виде

$$\sigma T = - \sum_j (\dot{n}_j \tilde{\mu}_j^i + \dot{n}_j^e \tilde{\mu}_j^e). \quad (6.8)$$

Здесь $\tilde{\mu}_j$ и n_j — электрохимические потенциалы и числа молей для субстрата, продукта, O_2 , CO_2 , H_2O , АТФ, АДФ, Φ_H , H^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} . Индексы i и e — внутри и вне мембраны. Для

совокупности метаболических реакций имеем

$$\sum_r v_{jr} J_r = \sum_r (\dot{n}_{jr}^i + \dot{n}_{jr}^e) = \dot{n}_j^i + \dot{n}_j^e, \quad (6.9)$$

где J_r — поток для r -й реакции, v_{jr} — стехиометрические коэффициенты. Подставляя (6.9) в (6.8) и исключая \dot{n}_j^e , получаем

$$\sigma T = - \sum_j (\dot{n}_j^i \Delta \tilde{\mu}_j + \sum_r v_{jr} J_r \tilde{\mu}_j). \quad (6.10)$$

И во внешней, и во внутренней областях для сродства \mathcal{A} имеем

$$\mathcal{A}_r = - \sum_j v_{jr} \tilde{\mu}_j.$$

Следовательно,

$$\sigma T = - \sum_j \dot{n}_j^i \Delta \tilde{\mu}_j + \sum_r J_r \mathcal{A}_r^e. \quad (6.11)$$

Если внутри мембраны реализовано стационарное состояние для всех компонентов, то $\dot{n}_j^i = 0$ и

$$\sigma T = \sum_r J_r \mathcal{A}_r^e = J_\phi \mathcal{A}_\phi^e + J_o \mathcal{A}_o^e. \quad (6.12)$$

Таким образом, в стационарном состоянии достаточны измерения, проводимые только во внешнем растворе. Величины \mathcal{A}_ϕ^e и \mathcal{A}_o^e фиксированы, соответственно J_ϕ и J_o отличны от нуля. Напротив, $J_H = 0$. Если в стационарном состоянии отличны от нуля $\Delta \tilde{\mu}_H$ и J_H , то

$$\sigma T = J_\phi \mathcal{A}_\phi^e + J_H \Delta \tilde{\mu}_H + J_o \mathcal{A}_o^e. \quad (6.13)$$

Соответствующие феноменологические уравнения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} J_\phi &= L_\phi \mathcal{A}_\phi^e + L_{\phi H} \Delta \tilde{\mu}_H + L_{\phi o} \mathcal{A}_o^e, \\ J_H &= L_{\phi H} \mathcal{A}_\phi^e + L_H \Delta \tilde{\mu}_H + L_{oH} \mathcal{A}_o^e, \\ J_o &= L_{\phi o} \mathcal{A}_\phi^e + L_{oH} \Delta \tilde{\mu}_H + L_o \mathcal{A}_o^e. \end{aligned} \right\} \quad (6.14)$$

Здесь предполагается сопряжение химических реакций окисления и фосфорилирования с векторным потоком протонов — отличие от нуля коэффициентов $L_{\phi H}$ и L_{oH} . Прямое сопряжение может осуществляться лишь вследствие анизотропии мембраны. Косвенное сопряжение реализуется в условиях стационарности (см. стр. 68 и 72). Расчет коэффициентов L требует конкретной модели.

Обратные феноменологические уравнения имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \mathcal{A}_\phi^e &= R_\phi J_\phi + R_{\phi H} J_H + R_{\phi O} J_O \\ \Delta \tilde{\mu}_H &= R_{\phi H} J_\phi + R_H J_H + R_{OH} J_O \\ \mathcal{A}_O^e &= R_{\phi O} J_\phi + R_{OH} J_H + R_O J_O \end{aligned} \right\} \quad (6.15)$$

Если $J_H = 0$, то степень сопряжения равна

$$q = -R_{\phi O} / \sqrt{R_\phi R_O} = q_{\phi O}.$$

Если $\Delta \tilde{\mu}_H = 0$, получаем

$$\begin{aligned} \mathcal{A}_\phi^e &= R_\phi (1 - q_{\phi H}^2) J_\phi - \sqrt{R_\phi R_O} (q_{\phi O} + q_{\phi H} q_{OH}) J_O, \\ \mathcal{A}_O^e &= -\sqrt{R_\phi R_O} (q_{\phi O} + q_{\phi H} q_{OH}) J_\phi + R_O (1 - q_{OH}^2) J_O \end{aligned}$$

и

$$q = \frac{q_{\phi O} + q_{\phi H} q_{OH}}{\sqrt{(1 - q_{\phi H}^2)(1 - q_{OH}^2)}},$$

где

$$q_{ij} = -R_{ij} / \sqrt{R_{ii} R_{jj}}.$$

Степень сопряжения можно оценить экспериментально. При ограниченном поступлении АДФ происходит окисление без фосфорилирования [14], следовательно, $\Phi_H/O = 0$. При добавлении АДФ возникает стационарное фосфорилирование. Количественное исследование дыхания состоит в том, что в митохондриальную систему *in vitro* добавляют известное количество АДФ и измеряют количество поглощаемого кислорода [34]. Определяется отношение Φ_H/O , а также потенциал фосфата и окислительный потенциал субстрата. Соответствующие опыты были проведены Истабруком [39] (см. также [34]). Из полученных значений \mathcal{A}_ϕ^e и \mathcal{A}_O^e следует высокая степень сопряжения окисления и фосфорилирования ($q = 0,96$). Максимальная эффективность потребления энергии, т. е. отношение выходной мощности к входной зависит только от значения q и выражается формулой [40]

$$\eta_{\max} = \frac{q^2}{(1 + \sqrt{1 - q^2})^2}.$$

При $q = 0,96$ находим $\eta_{\max} = 0,56$.

Эти феноменологические оценки не дают информации о механизме процесса, они могут иметь лишь ограниченную применимость при рассмотрении событий, реализуемых *in vivo*, так как вовсе не очевидно, что условие близости к равновесию здесь действительно соблюдается. Вместе с тем, высокую степень сопряжения окисления и фосфорилирования, следующую из термоди-

намической трактовки экспериментальных данных, можно, по-видимому, считать установленной. Точность определения q имеет решающее значение для оценки эффективности η — при $q = 1,00$ $\eta_{\max} = 1,00$, при $q = 0,96$ $\eta_{\max} = 0,56$.

§ 6.4. ХЕМИОСМОТИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ

Механизм фосфорилирования в окислительно-восстановительной цепи до сих пор нельзя считать точно установленным. Важное значение для его исследования имеет теория хемиосмотического сопряжения, развитая Митчеллом. Эта теория была предложена впервые в 1961 г. [41]. Ее подробное изложение содержится в обзорных работах Митчелла [42—45] и в монографии Скулачева [46].

Не пользуясь непосредственно представлениями неравновесной термодинамики, Митчелл оперирует понятием сопряжения, необходимым при рассмотрении открытых систем. Очевидно, что сопряженные процессы универсальны в живой природе. В любой биохимической реакции, катализируемой ферментом, имеется

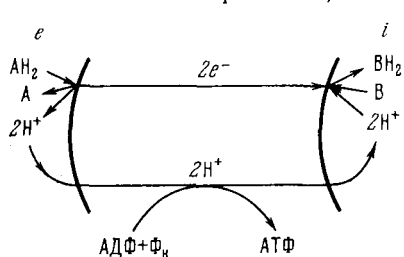


Рис. 6.12. Принцип хемиосмотического сопряжения окисления и фосфорилирования по Митчеллу.

i — внутренняя, e — внешняя стороны мембраны.

сопряжение между электронными и конформационными перестройками. В системе, содержащей жидкие фазы, разделенные мембраной, возникает сопряжение между химическими реакциями и мембранным транспортом, именуемое Митчеллом *хемиосмотическим сопряжением*. Мембрана играет роль сопрягающей системы.

В столь общей формулировке идея хемиосмотического сопряжения не содержит чего-либо нового по сравнению с

представлениями об активном мембранном транспорте, изложенными в гл. 2 и 3. Особенности подхода Митчелла состоят в следующем.

1. Предлагается конкретная модель сопряжения дыхания с фосфорилированием, исходящая из феноменологических соображений.

2. Рассматриваются главным образом равновесные соотношения между факторами, определяющими сопряжение.

Конкретная модель представляется схемой, показанной на рис. 6.12 [46]. Донор водорода AH₂ (например, аскорбат) окисляется переносчиком электронов (например, цитохромом c) у внешней стороны мембраны. Два электрона переносятся через

мембрану по дыхательной цепи и посредством цитохромоксидазы передаются акцептору водорода В, т. е. кислороду. Акцептор присоединяет два протона из внутренней фазы митохондриального матрикса. Создается градиент концентрации протонов — их избыток во внешней и недостаток во внутренней жидкой фазе. Вследствие этого происходит перенос протонов через мембрану в противоположном направлении, в результате чего и реализуется фосфорилирование — синтез одной молекулы АТФ приводит к поглощению двух протонов из внешней фазы и выделению двух протонов в матрикс. Митохондриальная мембрана работает как топливный элемент, в котором разность электрохимических потенциалов создается за счет окислительно-восстановительного процесса.

Равновесные термодинамические соотношения определяются тем, что разность свободных энергий в системе складывается из химической и осмотической (транспортной) работы:

$$\Delta G = \Delta G_{\text{хим}} + \Delta G_{\text{осм}}, \quad (6.16)$$

где

$$\Delta G_{\text{осм}} = \sum_j \nu_j (\tilde{\mu}_j - \mu_j^0) + \sum_i \nu_i (\tilde{\mu}_i - \mu_i^0). \quad (6.17)$$

Сумма по j есть сумма по всем продуктам, сумма по i — по всем реагентам. μ_j^0 , μ_i^0 — стандартные химические потенциалы, ν_j , ν_i — соответствующие числа молей. Если переносится лишь один компонент, то обобщенная сила, действующая на него, есть

$$\Delta \tilde{\mu} = -\Delta G_{\text{осм}}/\nu. \quad (6.18)$$

Схему, показанную на рис. 6.13, можно считать состоящей из двух «петель» (рис. 6.13, а) — окислительно-восстановительной (дыхание, о/в-петля) и гидрогенизационно-дегидрогенизационной (дефосфорилирование, г/д-петля). Сопряжение обоих процессов посредством протонного транспорта показано на рис. 6.13, б. Согласно (6.17) имеем в равновесии

$$\Delta \tilde{\mu}_{\text{H}^+} = -\Delta G_{\text{осм}}/2 = \mathcal{F} \Delta \psi, \quad (6.19)$$

где \mathcal{F} — число Фарадея, $\Delta \psi$ — разность потенциалов (в вольтах). В процессах о/в и г/д

$$-(\Delta G_{\text{осм}})_{\text{о/в}} = -(\Delta G_{\text{осм}})_{\text{г/д}} = 2 \Delta \tilde{\mu}_{\text{H}} \quad (6.20)$$

и в сопряженной системе

$$\Delta G_{\text{осм}} = -(\Delta G_{\text{осм}})_{\text{о/в}} + (\Delta G_{\text{осм}})_{\text{г/д}}. \quad (6.21)$$

Полный электрохимический потенциал каждого компонента в системе выражается формулой

$$\bar{\mu}_i = pV_i + z_i \mathcal{F} \psi + \mu_i^0 + RT \ln c_i, \quad (6.22)$$

где p — давление, V_i — молярный объем, z_i — заряд компонента, ψ — электрический потенциал, c_i — концентрация (активность).

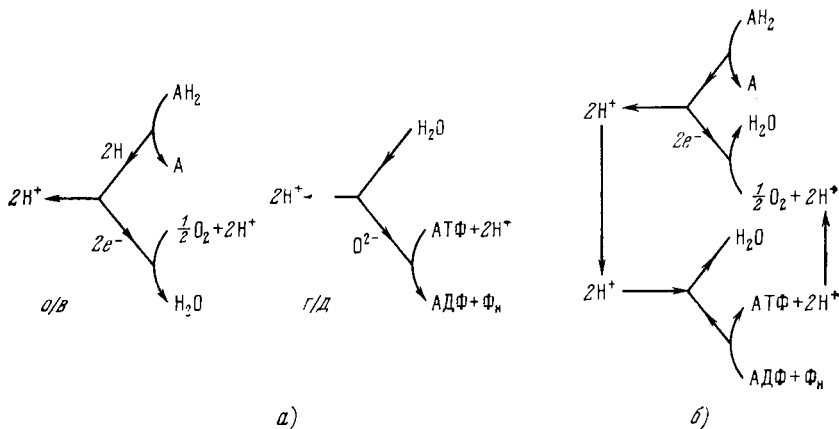


Рис. 6.13. Детализация схемы Митчелла.
а — петли о/в и г/д; б — сопряженне обоих процессов.

Полная обобщенная сила, приводящая к равновесию i -го компонента во внешней фазе и в матриксе, равна

$$\Delta \bar{\mu}_i = V_i \Delta p + z_i \mathcal{F} \Delta \psi + RT \Delta \ln c_i, \quad (6.23)$$

причем можно показать, что член $V_i \Delta p$ относительно мал. Для протонов

$$\Delta \bar{\mu}_H = \mathcal{F} \Delta \psi + RT \Delta \ln c_{H^+}, \quad (6.24)$$

или, переходя к рН,

$$\Delta \bar{\mu}_H = \mathcal{F} \Delta \psi - 2,3RT \Delta \text{pH}. \quad (6.25)$$

Протонодвижущая сила

$$\Delta f = \Delta \psi - Z \Delta \text{pH} \quad (6.26)$$

состоит, таким образом, из двух вкладов ($Z = 2,3 RT/\mathcal{F}$). При равновесии между внешней (e) и внутренней (i) фазами $\Delta \bar{\mu}_i = 0$ и из (6.23) следует

$$\Delta \psi = \frac{RT}{z_i \mathcal{F}} \ln \frac{c_i^e}{c_i^i}, \quad (6.27)$$

т. е. уже известная формула для равновесия Доннана — Нернста (см. стр. 123).

С перемещением протонов через мембрану связано определенное значение ее энергетической емкости, т. е. буферного действия. Емкости фаз e и i равны

$$B_e = -\frac{dN_e^+}{d(\text{pH}_e)}, \quad B_i = -\frac{dN_i^+}{d(\text{pH}_i)}, \quad (6.28)$$

где dN^+ означает число протонов, добавляющихся в соответствующую фазу. Буферная емкость мембраны B определяется числом протонов ΔN^+ , переходящих из фазы e в фазу i на единицу понижения pH_e по отношению к pH_i , или

$$B = -\frac{d(\Delta N^+)}{d(\Delta \text{pH})}, \quad (6.29)$$

причем

$$1/B = 1/B_e + 1/B_i.$$

Если $B = \text{const}$, то

$$\Delta N^+ = -B \Delta \text{pH}. \quad (6.30)$$

Аналогичным образом, электрическая емкость сопрягающей мембраны равна

$$C = \frac{d(\Delta e^+)}{d(\Delta \psi)}, \quad (6.31)$$

где Δe^+ есть число положительных зарядов, переносимых из фазы e в фазу i . При $C = \text{const}$

$$\Delta e^+ = C \Delta \psi. \quad (6.32)$$

Работа, совершаемая при генерировании разности pH обратимым переносом протонов, равна

$$W_{\Delta \text{pH}} = \int_{-\Delta \text{pH}^0}^{-\Delta \text{pH}} Z \Delta \text{pH} d(\Delta \text{H}), \quad (6.33)$$

где ΔpH^0 — равновесное значение ΔpH и $\Delta \text{pH}' = \Delta \text{pH} - \Delta \text{pH}^0$. При постоянной буферной емкости B

$$W_{\Delta \text{pH}} = 1/2 Z B \{(\Delta \text{pH})^2 - (\Delta \text{pH}^0)^2\}. \quad (6.34)$$

Аналогичным образом получаем выражение для работы, совершаемой при генерировании $\Delta \psi$ обратимым переносом протонов

$$W_{\Delta \psi} = 1/2 C \{(\Delta \psi)^2 - (\Delta \psi^0)^2\}. \quad (6.35)$$

Если установлено равновесие для протонов, то протонодвижущая сила $\Delta f = 0$ (ср. (6.26)), $\Delta \psi^0 = Z \Delta \text{pH}^0$ и полная энергия

$W_{\Delta f}$ хемиосмотической системы, связанная с электрическим и химическим компонентами этой силы, равна

$$W_{\Delta f} = W_{\Delta pH'} + W_{\Delta \psi'} = 1/2 C (\Delta \psi)^2 + 1/2 ZB (\Delta pH')^2 - 1/2 Z (ZC + B) (\Delta pH')^0. \quad (6.36)$$

Интегрируя от 0 до $-\Delta pH'$, находим выражение $W_{\Delta f}$ через $\Delta pH'$ и $\Delta \psi' = \Delta \psi - \Delta \psi^0$:

$$W_{\Delta f} = 1/2 C (\Delta \psi')^2 + 1/2 ZB (\Delta pH')^2. \quad (6.37)$$

Соответственно, уравнение (6.26) можно переписать в виде

$$\Delta f = \Delta \psi' - Z \Delta pH'. \quad (6.38)$$

В митохондриях (из печени крысы) площадь сопрягающей мембраны оценивается в 40 м^2 на 1 г белка [47]. Электрическая емкость при частотах порядка мегациклов составляет около 1 мкФ/см^2 [48]. Отсюда находим $C \approx 0,4 \text{ Ф}$ на 1 г белка или $4 \text{ мкэкв} \cdot \text{В/г}$ белка. Значение $B \approx 12 \text{ мкэкв} \cdot \text{В/единица рН}$ на 1 г белка. Принимая величину $\Delta f = 270 \text{ мВ}$, получаем $W_{\Delta f} = 0,15 \text{ мкэкв} \cdot \text{В}$ на 1 г белка при $\Delta pH' = 0$ и $W_{\Delta f} = 7,2 \text{ мкэкв} \cdot \text{В}$ на 1 г белка при $\Delta \psi' = 0$. Свободная энергия гидролиза АТФ составляет около 10 ккал/моль или около $0,44 \text{ экв} \cdot \text{В}$. Следовательно, $W_{\Delta f}$ соответствует $0,35 \text{ мкмоль АТФ}$ на 1 г белка при $\Delta pH' = 0$ и 17 мкмоль АТФ на 1 г белка при $\Delta \psi' = 0$. Более точные оценки дают соответственно $0,24$ и 12 мкмоль АТФ на 1 г белка. Если синтез АТФ сопряжен с переносом двух зарядов электрона, что следует из экспериментально найденного отношения $\Phi_{II}/2e^- = 1$ для каждого места фосфорилирования, то необходимое значение $\Delta \psi'$ действительно оказывается не менее 200 мВ , т. е. при толщине мембраны порядка 100 \AA напряженность электрического поля в ней не менее $2 \cdot 10^5 \text{ В/см}$. Значение $\Delta \psi' = 200 \text{ мВ}$ эквивалентно вкладу $\Delta pH' = 3,5$ в общую протондвижущую силу Δf .

Разность потенциалов $\Delta \psi$ в митохондриальной мембране может возникать не только за счет транспорта протонов, но и за счет транспорта других ионов, происходящего одновременно. Так, для ионов K^+ в равновесии справедливо соотношение Нернста

$$\Delta \psi = Z \Delta pK, \quad (6.39)$$

или

$$\frac{d(\Delta K^+)}{d(\Delta \psi)} = -\frac{D}{Z}, \quad (6.40)$$

где D — эффективный буферный дифференциал для K^+ , определяемый как

$$D = -\frac{d(\Delta K^+)}{d(\Delta pK)}.$$

Соотношение между $\Delta\psi$ и полным смещением зарядов, вызванным перемещением всех ионов через мембрану, есть

$$\sum d(\Delta e^+) = Cd(\Delta\psi), \quad (6.41)$$

и связь между $\Delta\psi$ и полным перемещением зарядов (за исключением перемещения, вызванного ионами K^+) дается выражением

$$\sum_{\text{кроме } K^+} d(\Delta e^+) = Cd(\Delta\psi) - d(\Delta K^+) = Cd(\Delta\psi) + \frac{D}{Z} d(\Delta\psi). \quad (6.42)$$

Ионы K^+ считаются здесь находящимися в равновесии. Величина $C + DZ^{-1}$ есть полная эффективная емкость. Ее значение может сильно возрасти, если мембрана проницаема для данного иона.

Если мембрана непроницаема для ионов H^+ и i порознь, но возможен их совместный транспорт в одном направлении, т. е. *симпорт* (symport) по Митчеллу, то условие равновесия запишется в виде (v — стехиометрические коэффициенты)

$$v_i \Delta p_i + v_{H^+} \Delta p_H = 0. \quad (6.43)$$

Если реализуется *антипорт* (antiport), т. е. движение ионов i в направлении, противоположном транспорту H^+ , то

$$v_i \Delta p_i - v_{H^+} \Delta p_H = 0. \quad (6.44)$$

Симпорт с H^+ установлен, в частности, для некоторых анионов:

$$\Delta p \text{ (дикарбоксилат}^{2-}) + 2 \Delta p_H = 0,$$

$$\Delta p \text{ (трикарбоксилат}^{3-}) + 3 \Delta p_H = 0.$$

Возможны и более сложные ситуации, например,

$$\Delta p \text{ (фосфат}^{3-}) + 2 \Delta p_H + \Delta p_K = 0.$$

Антипорт должен осуществляться для H^+ и катионов.

Соотношения между Δp_H и $\Delta\psi$ можно представить в виде (см. стр. 301)

$$\sum \frac{d(\Delta H^+)}{dt} = -B \frac{d(\Delta p_H)}{dt}, \quad (6.45)$$

$$\sum \frac{d(\Delta e^+)}{dt} = C \frac{d(\Delta\psi)}{dt}. \quad (6.46)$$

Суммирование проводится по различным типам реакций, в ходе которых происходит транслокация протонов и других заряженных частиц. При постоянных B и C получаем выражения, аналогичные (6.30) и (6.32):

$$\sum \Delta H^+ = -B \Delta p_H, \quad \sum \Delta e^+ = C \Delta\psi. \quad (6.47)$$

Второе уравнение можно переписать в виде

$$\sum \Delta H^+ + \sum \Delta I^+ = C \Delta \psi, \quad (6.48)$$

где ΔI^+ — члены суммы Δe^+ , отличные от ΔH^+ . Из выражений (6.26), (6.47) и (6.48) следует

$$-Z \frac{\Delta pH}{\Delta f} = \frac{C - \sum \Delta I^+ / \Delta f}{C + B/Z}. \quad (6.49)$$

При равновесном распределении протонов $\Delta f = 0$ и

$$Z \Delta pH^0 = \frac{\sum (\Delta I^+)^0}{C + B/Z}. \quad (6.50)$$

Выражение, содержащее лишь отклонения от равновесия, имеет вид

$$- \frac{Z \Delta pH'}{\Delta f} = \frac{C - \sum (\Delta I^+)' / \Delta f}{C + B/Z}. \quad (6.51)$$

Таким образом, относительные вклады $-Z \Delta pH$ и $\Delta \psi$ в Δf зависят лишь от C , B и от числа смещаемых непротонных зарядов. Вообще говоря, сумма $\sum (\Delta I^+)'$ отрицательна вследствие движения ионов через мембрану по электрическому градиенту, т. е. в направлении, противоположном движению протонов. Эта сумма минимизируется при симпорте протонов и анионов или при антипорте протонов и катионов. Напротив, увеличение переноса ионов в присутствии, скажем, валиномицина (см. стр. 151) должно увеличивать отрицательное значение $\sum \Delta I^+$ и, таким образом, увеличить вклад $-Z \Delta pH'$ по сравнению с $\Delta \psi'$.

Не ограничиваясь приведенными соотношениями, Митчелл рассматривает кинетику генерации и затухания $\Delta pH'$ и $\Delta \psi'$ в некоторых простейших случаях. Цель этого исследования состоит, в частности, в интерпретации изменений pH , возникающих после достижения равновесия под влиянием импульса окисления — восстановления или гидролиза АТФ. Такой импульс может быть создан добавлением соответствующих веществ.

Полная протондвижущая сила Δf состоит из специфического потенциала $\Delta \psi'$, определяемого электрическими свойствами протонов, и разности $-Z \Delta pH'$, определяемой их кислотными свойствами. Сила Δf стремится восстановить электрическое и кислотно-основное равновесие. Митчелл предполагает существование линейной связи между силой и потоком, т. е. рассматривает близкую к равновесию ситуацию. Полную ионную проводимость, включающую протонную, можно описать уравнением

$$\frac{d(\Delta e^+)}{dt} = -g(n \Delta \psi' - Z \Delta pH'), \quad (6.52)$$

где n — число зарядов иона, эффективная протонная проводимость представлена как доля $1/n$ от полной проводимости, т. е. $g = (1/n)\bar{g}$, и члены, отвечающие $Zg\Delta pH$ для других ионов, считаются пренебрежимо малыми. Опыт дает на 1 г митохондриального белка $g = 1,7$ мкэкв/(В·с). Для протонной проводимости имеем

$$\frac{d(\Delta H^+)}{dt} = -g \Delta f. \quad (6.53)$$

Из уравнений (6.26), (6.29) и (6.53) следует, что

$$B \frac{d(\Delta p H')}{dt} = g(\Delta \psi' - Z \Delta p H'), \quad (6.54)$$

и из уравнений (6.31) и (6.52) находим

$$C \frac{d(\Delta \psi')}{dt} = g(Z \Delta p H' - n \Delta \psi'). \quad (6.55)$$

Допустим, что $\Delta p H'$ и $\Delta \psi'$ генерируются импульсом окисления — восстановления, причем скорость переноса H^+ постоянна и равна

$$\left(\frac{d(\Delta H^+)}{dt}\right)_{o/b} = -B \left(\frac{d(\Delta p H')}{dt}\right)_{o/b} = k$$

и

$$C \left(\frac{d(\Delta \psi')}{dt}\right)_{o/b} = k.$$

Полные скорости генерации $\Delta p H'$ и $\Delta \psi'$ даются выражениями

$$B \frac{d(\Delta p H')}{dt} = g(\Delta \psi' - Z \Delta p H') - k, \quad (6.56)$$

$$C \frac{d(\Delta \psi')}{dt} = g(Z \Delta p H' - n \Delta \psi') + k. \quad (6.57)$$

Решения этих уравнений при начальных условиях $\Delta p H' = \Delta \psi' = 0$ при $t = 0$ имеют вид

$$-Z \Delta p H' = \frac{k}{g} \left[1 + \frac{q - \omega}{2\omega} \exp\left(-\frac{q + \omega}{2} gt\right) - \frac{q + \omega}{2\omega} \exp\left(-\frac{q - \omega}{2} gt\right) \right], \quad (6.58)$$

$$\Delta \psi' = \frac{k}{C\omega g} \left[\exp\left(-\frac{q - \omega}{2} gt\right) - \exp\left(-\frac{q + \omega}{2} gt\right) \right], \quad (6.59)$$

где $q = Z/B + n/C$, $\omega = \sqrt{s^2 + r}$, $s = Z/B - n/C$, $r = 4Z/CB$. При стремлении $-Z \Delta p H'$ к стационарному значению $\Delta \psi'$ возрастает до максимума, а затем падает до нуля. Если мембрана проницаема практически лишь для ионов H^+ или OH^- и $\bar{g} = g$ или

$n = 1$, то решения (6.56) и (6.57) не могут быть получены в виде (6.58) и (6.59). В этом специальном случае уравнения (6.56) и (6.57) не независимы и их можно переписать в виде

$$\frac{d(\Delta pH')}{dt} = -g \left(\frac{1}{C} + \frac{Z}{B} \right) \Delta pH' - \frac{k}{B}, \quad (6.60)$$

$$\frac{d(\Delta pH')}{dt} = -\frac{C}{B} \frac{d(\Delta \Psi')}{dt}. \quad (6.61)$$

Интегрирование (6.60) и (6.61) дает

$$-Z \Delta pH' = \frac{Zk}{Bg(1/C + Z/B)} [1 - \exp(-g(1/C + Z/B)t)] \quad (6.62)$$

и

$$\Delta \Psi' = \frac{B}{Z} C (-Z \Delta pH'). \quad (6.63)$$

В этом случае генерация $\Delta \Psi'$ и $-Z \Delta pH'$ происходит синхронно. Время затухания обеих величин до половины исходного значения определяется в основном величиной C . Для митохондрий оно составляет около 1,5 с. Вообще говоря, временной ход $-Z \Delta pH'$ зависит от значения n , при больших n это время составляет около 80 с.

Дальнейшие подробности, относящиеся к теории Митчелла, изложены в работах [42, 44]. На языке линейной неравновесной термодинамики (см. § 6.3) соответствующие соотношения можно записать на основе упрощенной схемы, приведенной на рис. 6.14 [34]. В области I имеем (ср. стр. 294)

$$\left. \begin{aligned} J_{\text{H}}^I &= L_{\text{H}}^I \Delta \bar{\mu}_{\text{H}} + L_{\text{oH}}^I \mathcal{A}_{\text{o}}^e, \\ J_{\text{o}} &= L_{\text{oH}}^I \Delta \bar{\mu}_{\text{H}} + L_{\text{o}}^I \mathcal{A}_{\text{o}}^e \end{aligned} \right\} \quad (6.64)$$

и в области II

$$\left. \begin{aligned} J_{\text{Ф}} &= L_{\text{Ф}}^{II} \mathcal{A}_{\text{Ф}}^e + L_{\text{ФH}}^{II} \Delta \bar{\mu}_{\text{H}}, \\ J_{\text{H}}^{II} &= L_{\text{ФH}}^{II} \mathcal{A}_{\text{Ф}}^e + L_{\text{H}}^{II} \Delta \bar{\mu}_{\text{H}} \end{aligned} \right\} \quad (6.65)$$

Рис. 6.14. Схема потоков в химосмотической модели.

В области I окисление вызывает транспорт протонов в направлении, противоположном $\Delta \bar{\mu}_{\text{H}}$, в области II спонтанный поток создает фосфорилирование. Общий поток протонов

$$J_{\text{H}} = J_{\text{H}}^I + J_{\text{H}}^{II},$$

или

$$J_{\text{H}} = L_{\text{ФH}}^{II} \mathcal{A}_{\text{Ф}}^e + (L_{\text{H}}^I + L_{\text{H}}^{II}) \Delta \bar{\mu}_{\text{H}} + L_{\text{oH}}^I \mathcal{A}_{\text{o}}^e. \quad (6.66)$$

Основное предположение теории Митчелла состоит в том, что коэффициент прямого сопряжения окисления и фосфорилирования равен нулю ($L_{\phi_0} = 0$). Иными словами, если $\Delta\tilde{\mu}_H$ поддерживается постоянным, то фосфорилирование должно быть независимым от окисления, и наоборот. В частности, при $\Delta\tilde{\mu}_H = 0$ разобщение полное и $J_{\phi} = 0$, если $\mathcal{A}_{\phi}^e = 0$ при любом значении J_o , а также $J_o = 0$, если $\mathcal{A}_o^e = 0$ при любом значении J_{ϕ} .

Теория Митчелла — феноменологическая теория, не рассматривающая механизм процесса и не учитывающая электронно-конформационные свойства митохондриальной системы. Тем не менее, эта теория позволяет прийти к ряду конкретных выводов, подлежащих прямой экспериментальной проверке. Вместе с тем подлезит проверке и предполагаемая в теории Митчелла близость процесса к равновесию.

§ 6.5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХЕМИОСМОТИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ

Подробное описание экспериментальных исследований хемиосмотического сопряжения дано в монографии Скулачева [46]. Здесь мы приводим лишь краткое изложение основных результатов.

Прежде всего необходимо было проверить основное положение теории Митчелла, согласно которому дыхательная цепь генерирует трансмембранный потенциал ионов H^+ . Прямые микроэлектродные измерения не подтвердили предполагаемое в теории Митчелла высокое сопротивление мембраны (10^7 — 10^8 Ом·см²) и дали значение мембранного потенциала 10—15 мВ со знаком, противоположным предполагававшемуся [49]. Однако эти результаты нельзя считать вполне достоверными (см. [46]). Более надежную информацию дает исследование транспорта специфических ионов через мембрану, вызываемого трансмембранным потенциалом.

Валиномицин вызывает поглощение ионов K^+ энергизованными митохондриями, т. е. митохондриями, способными к реализации сопряжения окисления и фосфорилирования [50]. При нарушении сопряжения митохондрии теряют накопленные ионы K^+ . Эти результаты согласуются с представлениями Митчелла, но не доказывают их однозначно [46]. Для обнаружения электрического поля, направленного поперек мембраны энергизованных митохондрий, было необходимо найти ионы, способные проникать через эти мембраны, перенос которых мог бы осуществляться ферментами — транслоказами без участия электрического поля. Либерман и его сотрудники изучили транспорт ряда специально синтезированных ионов (синтетические ионы) через искусственные фосфолипидные мембраны (см. стр. 140) [51, 52].

Наиболее подходящими оказались ионы с зарядом, экранированным гидрофобными заместителями (рис. 6.15). В присутствии этих ионов существенно повышается электропроводность системы, так как они быстро диффундируют сквозь мембраны. Далее исследовался транспорт этих ионов через митохондриальные мембраны и субмитохондриальные частицы (СМЧ), полученные

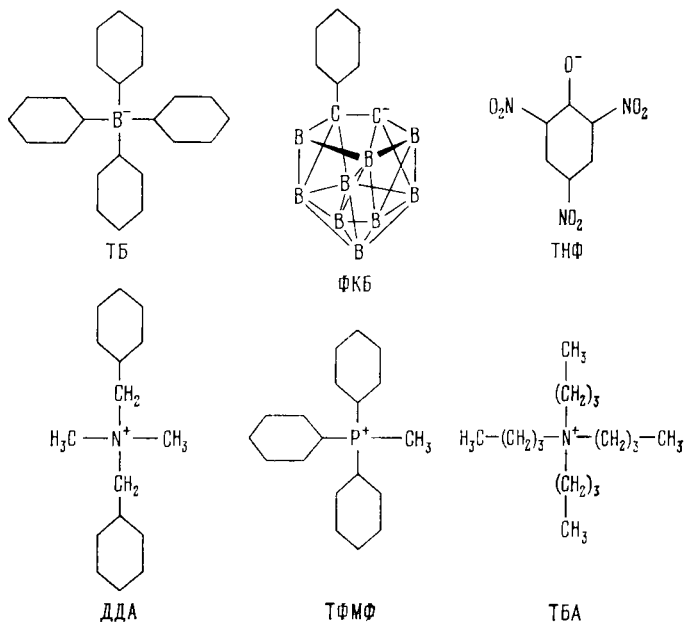


Рис. 6.15. Синтетические анионы и катионы.

ТБ—тетрафенилборат, ФКБ—фенилдикарбоундекаборан, ТНФ—тринитрофенол (пикрат), ДДА—дибензилдиметиламмоний, ТФМФ—трифенилметилфосфоний, ТБА—тетрабутил-аммоний.

путем обработки митохондрий ультразвуком. Мембраны митохондрий и СМЧ оказываются ориентированными противоположным образом. Наружная поверхность мембраны СМЧ покрыта структурными элементами, состоящими из шляпки, ножки и подставки (см. стр. 290), наружная поверхность мембраны митохондрии этих элементов не содержит. Цитохром *c* локализован на внешней стороне мембраны митохондрий и на внутренней стороне мембраны СМЧ. СМЧ «вывернуты» по сравнению с митохондриями. Можно думать, что внутримитохондриальное пространство заряжено отрицательно, а внутреннее пространство СМЧ имеет положительный заряд. Оказалось, что энергизация СМЧ добавкой АТФ вызывает поглощение анионов ФКБ (см.

рис. 6.15), а деэнергизация ингибитором дыхания (антимитохондриальным) или разобщителем окислительного фосфорилирования ОКФ (*n*-трифторметоксикарбонилцианидфенилгидразон) вызывает выход анионов. В опытах с митохондриями наблюдается иная картина [46, 53—56]. Удалось показать, что транспорт электронов в мембранах СМЧ сопровождается поглощением анионов ФКБ [55, 57]. Транспорт ФКБ нарушается ингибиторами электронного транспорта, а также разобщителями окислительного фосфорилирования.

Аналогичные результаты получены и с другими синтетическими анионами [55, 58, 59].

В целом указанные опыты с синтетическими ионами, а также ряд других, доказывают, что в сопрягающих мембранах реализуется энергозависимый транспорт ионов, причем анионы и катионы движутся в противоположных направлениях. Механизм транспорта не зависит от структуры ионов, существенна лишь их способность проникать через фосфолипидные мембраны. Изменение ориентации мембраны относительно окружающей среды приводит к переориентации ионных потоков, направленных против градиентов концентрации ионов [46].

Эти электрофоретические свойства мембран нельзя объяснить высказанными ранее представлениями об ответственности специфического фермента — энергозависимой транслоказы — за транспорт ионов (см., например, [60]). Напротив, эти свойства согласуются с теорией Митчелла, исходящей из того, что химическая энергия реакции окисления и фосфорилирования может превращаться в электрическую энергию мембранного потенциала.

Согласно теории Митчелла (см. § 6.4), перенос протонов и электронов сквозь мембрану не приводит к большим изменениям рН. Транспорт электронов, т. е. окислительный процесс, прекращается под действием электрического поля, создаваемого избытком отрицательных зарядов на другой стороне мембраны. Перенос электронов активируется вновь при уменьшении поля, т. е. при уменьшении мембранного потенциала. Этого можно достичь перемещением катионов через мембрану. В результате должен возникнуть градиент рН, так как перенос каждого одновалентного катиона должен сопровождаться освобождением одного протона во внешней среде. В работах [3, 53—55] действительно показано, что добавление проникающих синтетических катионов ДДА, ТФМФ, ТБА (см. рис. 6.15) к митохондриям вызывает увеличение концентрации H^+ в среде. Изменения рН исчезают при добавке разобщителей. Сам Митчелл показал, что при работе дыхательной цепи среда подкисляется [42, 43].

Таким образом, установлено, что энергизация сопрягающей мембраны создает трансмембранный потенциал $\Delta\psi$ и ΔpH .

Из теории Митчелла следует, что энергия дыхания, трансформированная из химической формы в электрическую и осмотическую, может вновь перейти в химическую форму при синтезе АТФ или обратном переносе электронов. Митчелл постулирует, тем самым, обратимость биоэнергетического процесса. Это положение также подтверждено (см. [44]). Реализуется так называемое ионное фосфорилирование — синтез АТФ из АДФ и Φ_{ii} за счет электрической или осмотической энергии, выделяемой при движении ионов через мембрану по концентрационному градиенту.

Хорошими тестами на трансмембранный потенциал являются изменения спектров поглощения цитохромов, вызываемые их окислением и восстановлением [61, 62]. При исследованиях поведения цитохромов в СМЧ может оказаться весьма полезным магнитооптическое вращение, аномальная дисперсия которого очень чувствительна к изменению состояния группы гема, содержащейся в цитохромах (см. [2], гл. 7). Удастся наблюдать такую аномальную дисперсию для цитохрома *c* во взвеси СМЧ.

Снижение $\Delta\psi$ должно приводить к нарушению сопряжения окисления и фосфорилирования. К этому сводится действие разобщителей сопряжения. Таковыми являются динитрофенол ДНФ, ФКФ и ряд других веществ. ДНФ, по-видимому, действует как переносчик протонов, согласно схеме Митчелла, показанной на рис. 6.16. Очевидно, что если эта схема верна, то любые слабые кислоты и основания должны оказывать разобщающее действие.

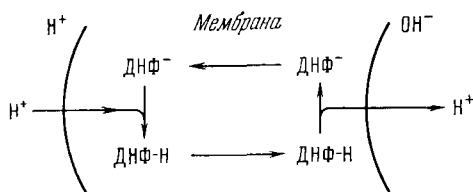


Рис. 6.16. Транспорт протонов разобщителем ДНФ.

Установлено, что разобщители действительно повышают протонную проводимость мембран митохондрий [63]. Сходные результаты были получены и на искусственных фосфолипидных мембранах [53, 64—66]. Выявлено далеко идущее сходство этих мембран с внутренними мембранами митохондрий. Найден новый класс сильных разобщителей — производных барена [52] (дальнейшие подробности см. в [46]).

По схеме Митчелла [42, 43] протоны и электроны шесть раз пересекают мембрану на пути от НАД-Н к O_2 . Стадии переноса H^+ и e^- чередуются. Для детального рассмотрения и аргументации этой схемы нужно иметь представление о локализации компонентов реакции. Установлено, что цитохром *c* локализован у внешней стороны мембраны митохондрий, а ферменты трансгидрогеназа, НАД-Н-дегидрогеназа и сукцинатдегидроге-

наза — у внутренней ее стороны. В «вывернутых» СМЧ локализация обратная.

В работах лабораторий Либермана и Скулачева расположение дыхательной цепи определялось по ее способности образовывать мембранный потенциал, регистрируемый с помощью

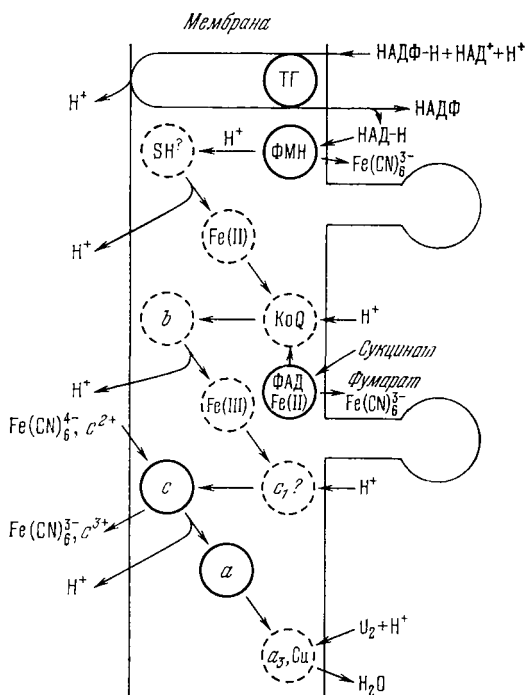


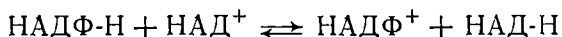
Рис. 6.17. Вероятная локализация дыхательной цепи в митохондриальной мембране [46].

TG — трансдегидрогеназа, *a*, *a*₃, *c*, *c*₁, *b* — цитохромы, ФМН — флавиномононуклеотид, Fe — комплексы негеминного железа, катализирующие перенос электрона, Cu — медьсодержащий белок.

ФКБ [55, 57, 59]. В среду вводились различные доноры и акцепторы электронов, не проникающие через мембрану. Оказалось, что эти вещества взаимодействуют лишь с цитохромом *c* в митохондриях. Компоненты, взаимодействующие с трансгидрогеназными звеньями цепи, не эффективные в митохондриях, поддерживают транспорт ФКБ в СМЧ. Проникающие доноры и акцепторы эффективны в обоих случаях. Эти опыты показывают, что происходит транспорт протонов и (или) электронов по дыхательной цепи. В других экспериментах как прямых, так и косвенных, установлена локализация ряда компонентов в мембране митохондрий [46]. На рис. 6.17 показано вероятное

расположение дыхательной цепи [46]. Схема эта в целом пока во многом гипотетична, но отдельные ее элементы можно считать установленными.

Методы тестирования мембранной разности потенциалов посредством синтетических ионов были с успехом применены также к изучению возникновения $\Delta\psi$ в ходе трансгидрогеназной реакции переноса водорода между двумя нуклеотидами. Эта реакция



также локализована в митохондриях. Опыт подтверждает представление Митчелла о том, что в указанной реакции происходит обратный перенос электронов, идущий с затратой энергии (см. [46]).

Согласно хемиосмотической гипотезе любая сопрягающая система должна создавать разность электрохимических потенциалов ионов H^+ . Действительно, опыты с проникающими синтетическими ионами показали возникновение $\Delta\psi$ в митохондриях, СМЧ, хлоропластах (см. гл. 7), мембранах бактерий независимо от степени сложности системы сопряжения и от используемого источника энергии [46].

Таким образом, ряд основных положений теории Митчелла подтвержден экспериментально. Однако, как указывает Скулачев [46], это еще нельзя считать однозначным доказательством справедливости теории. Теория постулирует существование пяти различных механизмов генерации $\Delta\psi$: АТФ-азу и четыре механизма энергетического сопряжения в дыхательной цепи. Нужно еще доказать, что альтернативные теории возникновения мембранного потенциала, в отличие от теории Митчелла, не согласуются с фактами. Соответствующий анализ проведен в монографии Скулачева, приходящего к выводу о непригодности других моделей и справедливости хемиосмотической теории [46]. В частности, отпадают, по-видимому, представления о том, что митохондрии содержат помимо АТФ еще какой-то нефосфорилированный высокоэнергетический предшественник АТФ (см. [67]). Основная форма энергии в клетке есть электрическая энергия, определяемая трансмембранным потенциалом протонов. Именно электрическая энергия ответственна за совершение различных типов химической и осмотической работы, а также за теплопродукцию митохондрий. Существенно то обстоятельство, что энергия, вырабатываемая в каком-либо участке митохондрии, доступна митохондрии в целом и может быть использована для совершения любого вида работы в любом другом участке. Общая схема путей превращения энергии в сопрягающих мембранах показана на рис. 6.18 [46].

Детальные исследования суспензий изолированных митохондрий (из сердца голубя) показали, что окислительно-восстановительные реакции, сопряженные с фосфорилированием, протекают в условиях, близких к равновесию [68]. Дыхательная цепь митохондрий состоит из трех изопотенциальных групп: НАД⁺/НАД-Н с потенциалом около $-0,34$ В (если окисляемый субстрат — сукцинат), цитохром *b* и кофермент *Q* с $\psi \approx 0$, цитохромы *c* и *a* и другие звенья с $\psi \approx 0,275$ В. Перенос восстанавливающих эквивалентов между двумя соседними группами

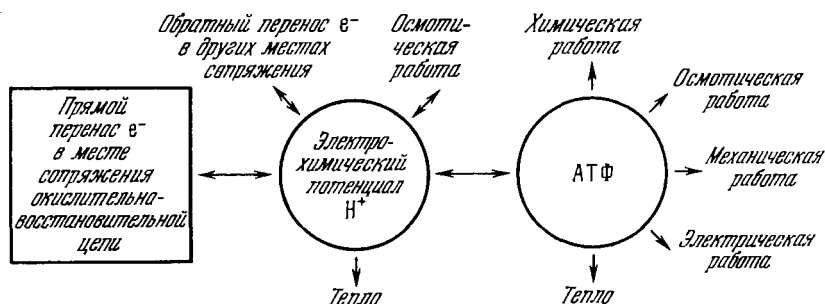


Рис. 6.18. Пути превращения энергии, освобождающейся при переносе электронов в сопрягающих мембранах [46].

сопряжен с синтезом АТФ. Изменение свободной энергии такого переноса от НАД-Н к цитохрому *c* равно расходу свободной энергии на синтез двух молей АТФ. Измеренные значения констант равновесия были близки к теоретическим. В ряде работ было показано, что на путях метаболизма имеется множество ферментативных стадий, близких к равновесию [69—71]. Как указывается в работе [68], суммарный метаболический процесс далек от равновесия вследствие наличия нескольких реакций, сильно смещенных от равновесия. Именно эти реакции осуществляют кинетический контроль над общим потоком метаболитов. Равновесные реакции образуют основную систему, на которую наложены необратимые процессы.

Несмотря на описанные факты, было бы преждевременным считать теорию Митчелла доказанной и полностью аргументированной (см. [11]).

Согласно исходным представлениям Митчелла, запасание энергии в АТФ происходит за счет накопления разноименных зарядов на стенках мембраны, создания мембранного потенциала и разности концентраций протонов. Это означает, что синтез АТФ может быть не эндергоническим, т. е. может протекать самопроизвольно — первичным макроэргом является сама

мембрана. Однако, как указано выше (см. стр. 286), величина свободной энергии фосфорилирования не равна нулю — необходим специальный механизм сопряжения, покрывающий дефицит свободной энергии. Соответственно, Митчелл далее вводит представление о синтезе в мембране предшественника АТФ — неизвестного пока вещества X с меньшим энергосодержанием (около 4,5 ккал/моль). Энергия нескольких молекул X передается одной молекуле АДФ при ее фосфорилировании. Это положение теории остается недоказанным. В целом пока нет полного ответа на основной вопрос — достаточно ли энергия протонов для фосфорилирования АДФ. Предположение об одновременном участии в синтезе АТФ других ионов в принципе может улучшить ситуацию, но проверка его связана с большими трудностями. Теория Митчелла в целом согласуется с представлением о квазиравновесии в сопряженных митохондриальных процессах. Однако из всего изложенного следует, что эта теория является феноменологической и не рассматривает молекулярные механизмы окислительного фосфорилирования. Она не учитывает, несомненно, находящихся в системе электронно-конформационных взаимодействий (ЭКВ), ответственных в конечном счете за все ферментативные процессы в митохондриях. Мы еще мало знаем о сущности ЭКВ в цитохромах и других ферментах, участвующих в окислительном фосфорилировании. Между тем, именно при исследовании этого процесса концепция ЭКВ (см. [3], гл. 6) должна быть особенно эффективной, так как митохондриальная система реализует транспорт электронов.

§ 6.6. ЭЛЕКТРОННО-КОНФОРМАЦИОННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

Самые общие соображения показывают, что перенос электрона, сдвиг электронной плотности в конденсированной среде должны сопровождаться изменениями положений атомов, атомных ядер среды. Все степени свободы молекулярной системы, т. е. системы, состоящей из ядер и электронов, взаимосвязаны. В биополимерной системе наименьших затрат энергии требуют повороты атомных групп, т. е. конформационные движения. Следовательно, в такой системе электронный транспорт сопряжен с конформационными движениями, и должны реализоваться *электронно-конформационные взаимодействия* (ЭКВ) (см. [3], § 6.7, [72]). Конформационные перестройки должны сопровождать и перемещение ионов. Движение электрона (и зарядовой плотности) в биополимерной системе, в частности, в мембране, сопряженное с конформационными движениями, может трактоваться как перемещение квазичастицы — *конформона* [73]. В надмолекулярной системе конформационные перестройки могут

приводить к механическому движению на макроскопическом уровне.

Эти общие представления, в той или иной форме фигурирующие в научной литературе, применяются рядом авторов к рассмотрению процессов, протекающих в митохондриальных мембранах. В работах Грина и Джи [26, 27] предложена так называемая электромеханохимическая модель структуры и функции митохондрий, исходящая из рассмотрения конформационных свойств элементарных частиц митохондрий (ЭЧМ, см. стр. 308). Предполагается, что ЭЧМ может существовать в различных конформационных состояниях — в основном неэнергизованном состоянии и в возбужденном, метастабильном энергизованном состоянии. Свободную энергию данного состояния можно представить в виде суммы химической, электрической и механической энергий

$$G = G_{\text{хим}} + G_{\text{эл}} + G_{\text{мех}}. \quad (6.67)$$

При переходе из основного состояния в энергизованное, не сопровождаемом суммарным изменением свободной энергии, $\Delta G = 0$ и, следовательно,

$$\Delta G_{\text{хим}} + \Delta G_{\text{эл}} + \Delta G_{\text{мех}} = 0. \quad (6.68)$$

Отдельные вклады в этой сумме могут изменяться, т. е. имеется электромеханохимическое сопряжение — один вид энергии превращается в другой. Элементарную модель системы с взаимопревращением трех видов энергии можно представить двумя противоположно заряженными телами, соединенными пружиной. При колебаниях такой системы происходят взаимные превращения электростатической, потенциальной и кинетической энергий.

Грин и Джи считают, что ЭЧМ характеризуется направленным разделением зарядов при энергизации. Энергизация является результатом каталитической конверсии химической энергии субстрата в энергию супермолекулы, т. е. ЭЧМ. Возникающее вследствие энергизации электрическое поле индуцирует дополнительное поле в других структурных компонентах ЭЧМ. Энергизованное состояние стабилизируется электростатическими взаимодействиями. В этом метастабильном состоянии оказывается возможной эндергоническая химическая реакция (фосфорилирование), происходит дезэнергизация, и система релаксирует в конечное состояние, конформационно сходное с начальным. Триггером деполаризации системы являются локальные конформационные перестройки в активных центрах. Окисление происходит в нижней части супермолекулы (в подставке ЭЧМ), фосфорилирование — в ее верхней части (в головке ЭЧМ).

Имеются поучительные черты сходства и различия этой модели и топливного элемента. В топливном элементе химические реакции, протекающие как при поляризации, так и при деполяризации, имеют характер окисления и восстановления, в модели ЭЧМ такова лишь реакция в нижней, но не в верхней части. В топливном элементе обе реакции относятся к экзергоническим, в модели ЭЧМ поляризация является экзергонической, а деполяризация — эндергонической реакцией. В топливном элементе происходит реальный перенос электронов, в модели ЭЧМ нет переноса электронов между участком окисления и участком фосфорилирования, и дело сводится к возникновению и действию электрического поля.

В процессе энергизации при гидролизе АТФ происходит конформационная поляризация головки ЭЧМ, что индуцирует поляризацию основания.

Согласно изложенным выше идеям, изменение свободной энергии в ходе фосфорилирования складывается из изменений химической и электромеханической энергий, причем два таких вклада дополняют друг друга.

В работе [26] предлагается далеко идущая детализация структуры ЭЧМ и локализация в них различных стадий окислительного фосфорилирования. Такая детализация (октетная структура головки и т. д.) реальных оснований не имеет. Равным образом нельзя считать аргументированными конкретные представления о конформационных состояниях ЭЧМ, различающихся выдвиганием головки на 50 Å. Укажем в связи с этим на еще не вполне опровергнутые сомнения в самом существовании таких структур (см. стр. 290).

Грин и Джи считают электромеханохимическую модель альтернативной хемиосмотической модели Митчелла. В последней модели мембранный потенциал генерируется вследствие перемещения протонов в пространстве между кристами и ионов OH^- в матриксе, вызванного перемещением электронов и переносчиков водорода во внутренней мембране. В электромеханохимической модели мембранный потенциал возникает непосредственно в результате окислительно-восстановительного процесса в ЦПЭ. Разделение зарядов в электроно-транспортной системе объясняется локализацией переносчиков электронов в одной части внутренней мембраны и переносчиков протонов — в другой ее части. Другое различие состоит в том, что в модели Грина и Джи протоны, отделенные от окисляемого субстрата, не покидают мембранную фазу. Изменение рН во внешней среде считается результатом конформационных перестроек белков вблизи разделенных зарядов и воздействия этих перестроек на состояние внешней среды и матрикса.

В действительности между двумя моделями нет принципиальных противоречий. В сущности, их трудно сравнивать. Хемисмотическая теория является феноменологической, ее основные постулаты и выводы не зависят от локализации стадий окислительного фосфорилирования. Модель Грина и Джи существенна в том отношении, что в ней в явной форме фигурируют конформационные перестройки мембранной структуры, несомненно происходящие в действительности. Недостаток модели — чрезмерная ее детализация, лишенная достаточного строгих оснований. Поэтому конкретный механизм электромеханохимического сопряжения, предлагаемый Грином и Джи, имеет умозрительный характер. Согласно модели с рядом опытных фактов (см. [26, 27]) нельзя считать ее доказательством.

Конформационная концепция Грина, из которой исходит электромеханохимическая модель, формулируется им как универсальная [74]. Грин подчеркивает четыре основных принципа биоэнергетики: 1) конверсия тепловой энергии в электромеханохимическую, осуществляемая белком, 2) способность энергизованного фермента поляризовать чувствительные связи в молекуле субстрата, выполняющей цикл поляризации и деполяризации, 3) сопряжение переноса групп, 4) энергетическое сопряжение посредством комплементарных, векторных потоков зарядов в центрах экзергонических и эндергонических реакций. Фермент считается упругой трехмерной средой, совершающей колебания как целостная система. Молекулы белка периодически переходят из растянутого состояния в сжатое и обратно с частотами порядка 10^3 — 10^6 с⁻¹, отвечающими частотам ферментативных реакций. В ходе этих колебаний происходит переход одной формы энергии в другую, возникает конформация, соответствующая выполнению специфической работы, и понижается активационный барьер реакции превращения субстрата в продукт. Фермент есть машина, превращающая тепловую энергию в электромеханохимическую в фазе энергизации и выполняющая обратное превращение в фазе дезэнергизации. Грин возлагает надежды на исследования медленных колебаний ферментов методом комбинационного рассеяния с использованием лазерной техники.

Каталитическое действие фермента определяется поляризацией субстрата: фермент служит поляризующим агентом, а субстрат — поляризуемым веществом. В окислительных реакциях взаимодействие фермент — субстрат включает перенос электронов.

Эти качественные представления согласуются с неоднократно высказывавшимися идеями (см. [3], § 6.7, а также [75—77]). В общем виде они не могут вызвать возражений, однако истинная физика электронно-конформационных взаимодействий

требует количественных теоретических и экспериментальных исследований. При этом вряд ли можно рассчитывать на прямое изучение медленных колебаний ферментов методом комбинационного рассеяния, так как медленные колебания несомненно существуют и в окружающей среде и их наблюдение весьма затруднительно.

Говоря о митохондриальных мембранах, необходимо прежде всего экспериментально установить наличие в них конформационных превращений. В § 3.8 уже были приведены некоторые данные такого характера, относящиеся к возбуждимым мембранам. Здесь мы остановимся на результатах, полученных с помощью молекулярных меток, или зондов, — люминесцентных [78] и главным образом спиновых. Исследования биомембран митохондрий, меченных иминоксильными радикалами, методом электронного парамагнитного резонанса были проведены в работах Блюменфельда, Кольтовера и др. [79—84]. С помощью спиновых меток была изучена сорбция воды мембранами лиофилизированных СМЧ (а также хлоропластов, см. гл. 7). Время корреляции τ , определенное из спектра ЭПР и характеризующее подвижность метки, оказалось немонотонно зависящим от содержания сорбированной воды — с его увеличением τ проходит вначале через минимум, затем достигает максимума, после чего монотонно убывает. Эти результаты можно считать указанием на структурные переходы у молекул в мембране, имеющие кооперативный характер. При переходе увеличивается число гидрофильных групп, контактирующих с водой и, следовательно, сорбирующая поверхность мембраны. Переходы происходят при концентрациях воды в препарате, равных 8—12 и 18—23%. Авторы связывают первый переход с гидратацией, второй — с изменением фазового состояния липидов в мембране. Такое толкование нельзя считать однозначным, но наличие переходов установлено.

Установлено также, что восстановление дыхательной цепи СМЧ сукцинатом или НАД-Н изменяет анизотропию спектра ЭПР спиновой метки. Более четкие результаты дали работы с гидрофобными метками. Оказалось, что добавление АТФ к суспензии неэнергизированных СМЧ вызывает значительные изменения спектра ЭПР — АТФ улучшает растворимость гидрофобной метки в мембранах СМЧ. По-видимому, такое изменение определяется конформационными изменениями структуры мембраны. Сходное влияние АТФ наблюдается и в интактных митохондриях. ДНФ и олигомицин в концентрациях более 1 мкг на 1 мг белка ингибируют этот процесс. При малых концентрациях (0,1—0,2 мкг на 1 мг белка) олигомицин подобно аллостерическим активаторам усиливает индуцированные АТФ конформационные переходы в СМЧ. Изучение мицелл фосфолипидов, по-

лученных из митохондриальных мембран, показало, что разобшители вызывают конформационные изменения липидов.

Зависимость параметра солюбилизации гидрофобной метки в мембране от концентрации АТФ имеет S-образную форму. Это свидетельствует о кооперативности перехода (см. [3], § 7.5).

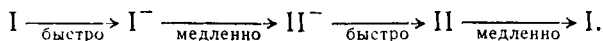
Параметр Хилла для такой кривой равен 6, в присутствии олигомицина он убывает до 5 и даже до 4. Разность свободных энергий оценена в 1,8 ккал/моль. Примерно такие же величины получаются при обработке данных по действию ингибитора антимицина на скорость дыхания [85]. Кривая зависимости ингибирования восстановления цитохрома *b* в СМЧ [86] характеризуется параметром Хилла, равным 4,5, и $\Delta G = 2,3$ ккал/моль независимо от природы донора электронов. Высокая кооперативность этих процессов указывает на олигомерное строение мембран.

Анализ температурной зависимости параметров спектров ЭПР спиновых и флуоресцентных меток в СМЧ (а также в хлоропластах и в микросомах) показал существование термических структурных переходов в мембранах вблизи 20 и 40 °С. При таких температурах происходят скачкообразные изменения энергии и энтропии активации ферментативных процессов.

Ограничимся этими немногими фактам. Все они (а также ряд других результатов) указывают на наличие конформационных превращений в митохондриальных мембранах, в частности, возникающих при их энергизации. Таким образом, исходное положение электромеханохимической гипотезы можно считать вполне приемлемым. Однако физика соответствующей модели действия сопрягающих мембран не может еще считаться разработанной.

Блюменфельд [79, 83] выдвинул гипотезу релаксационных конформационных переходов в митохондриальных мембранах. Допустим, что элементарный акт состоит в присоединении электрона к активному центру макромолекулы (скажем, к группе гема цитохрома при его восстановлении). Нейтральной форме макромолекулы соответствует определенная равновесная конформация I, заряженной (восстановленной) — другая равновесная конформация II, заметно отличающаяся от исходной. Электронный перенос, т.е. восстановление, происходит значительно быстрее конформационного изменения. Следовательно, при протекании элементарного химического акта образуется неравновесное конформационное состояние — электрон перешел, но конформация не успела подстроиться к новой ситуации. В этом состоянии структура макромолекулы напряжена, она обладает повышенной конформационной энергией. Затем происходит медленная релаксация конформации макромолекулы к равновесному состоянию II. Переход можно представить схемой

(минус обозначает электрон)



Энергия, выделяемая в элементарном акте, запасается в форме конформационной энергии в течение времени релаксации. Согласно [79, 83] в этом и состоит сущность первичного макроэрга. За время релаксации конформационная энергия трансформируется в химическую. Можно думать, что в пункте сопряжения существует лабильный комплекс между переносчиком и какой-либо группой в активном центре фермента сопряжения, роль которой скорее всего играет аденин связанного АДФ [87]. При релаксации $I^- \rightarrow II^-$ в какой-то момент энергетический уровень, на котором находится электрон, понижается до акцепторного уровня аденина. Уровни переносчика и аденина оказываются разделенными барьером, но в такой системе возможен туннельный переход электрона на аденин [88]. В работе [89] (см. также [79]) показано, что увеличение электронной плотности на аденине сопровождается резким повышением основности аминогруппы. Если в состав активного центра фермента сопряжения АТФ-синтетазы входит электрофильная группа, например, карбоксил, то аденин реагирует с ней, образуя амидную связь. В следующий момент релаксации уровень переносчика оказывается ниже уровня аденина. Электронная плотность переходит с аденина обратно на редокс-группу того же или следующего переносчика электрона ЦПЭ, и связь аденина с карбоксилом лабильзуется. На основе той же модели рассмотрено действие радиозащителей.

В работах Блюменфельда и Чернавского [90—92] (см. также [79, 111]) дано обобщение этой концепции применительно к трактовке элементарного акта любой ферментативной реакции. Формулируется «постулат, согласно которому конформационное изменение субстрат-ферментного комплекса, следующее за присоединением субстрата к активному центру фермента, включает в себя кроме разрыва старых и образования новых вторичных связей в макромолекуле белка также химические изменения субстрата, превращающие молекулу субстрата в молекулу или молекулы продукта. Таким образом, элементарный акт ферментативной реакции заключается в конформационном изменении макромолекулы (фермент-субстратного комплекса), и скорость превращения субстрат—продукт определяется скоростью этого конформационного изменения». На рис. 6.19 приведена схема энергетических изменений на разных стадиях каталитического разрыва некоторой связи А—В субстрата. В быстрой стадии I присоединения субстрата к ферменту происходит выделение свободной энергии ΔG_1 . Конформация белка не

успевает перестроиться и остается напряженной. На стадии 2 происходит медленная релаксация комплекса к новому равновесию и превращение субстрата в продукт (\tilde{E} — новая конформация фермента). Свободная энергия понижается на величину ΔG_2 . Далее, в стадии 3 комплекс распадается на фермент и продукт, но фермент остается в напряженной конформации E,

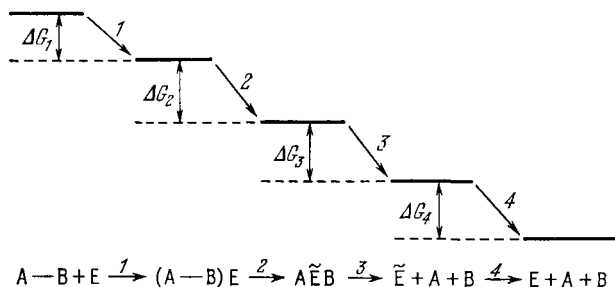


Рис. 6.19. Энергетические изменения в последовательных стадиях каталитического процесса.

медленно релаксирующей к равновесию в стадии 4. Общее понижение свободной энергии равно

$$\Delta G = \Delta G_1 + \Delta G_2 + \Delta G_3 + \Delta G_4. \quad (6.68a)$$

Это — термодинамическая модель. Кинетика процесса в цитированных выше работах фактически не рассматривается. Блюменфельд считает уравнение Аррениуса или Эйринга неприменимым к ферментативным реакциям [79, 91]. Утверждается, что система не характеризуется свободной энергией активации в обычном смысле слова — все молекулы субстрата, образовавшие надлежащий комплекс с ферментом, релаксирующим к новому конформационному состоянию, претерпевают химическое превращение. Влияние температуры на скорость реакции определяется не изменением числа молекул, способных преодолеть некоторый активационный барьер, но изменением исходной конформации и, следовательно, пути и скорости последующей релаксации [92] (см. также [79, 111]).

Для построения кинетической теории необходимо исследовать относительную роль двух механизмов переноса электрона — надбарьерный переход по Эйрингу (см. [3], § 6.1) и туннельный эффект (см. [79, 92, 111]). Туннельный эффект при переносе электрона в биологической системе был впервые рассмотрен Чансом применительно к бактериальному хлорофиллу [114—116].

Константа скорости активационного перехода равна

$$k_1 = \frac{k_B T}{\hbar} \exp\left(-\frac{F^\ddagger}{k_B T}\right), \quad (6.69)$$

где F^\ddagger — свободная энергия активации. Число актов туннельного перехода в единицу времени равно

$$k_2 = \nu_0 \exp\left[-\frac{2L}{\hbar} \sqrt{2m(U-E)}\right], \quad (6.70)$$

где ν_0 — частота «колебаний электрона» в молекуле, участвующей в цепи переноса, скажем, в цитохроме *c* — величина порядка

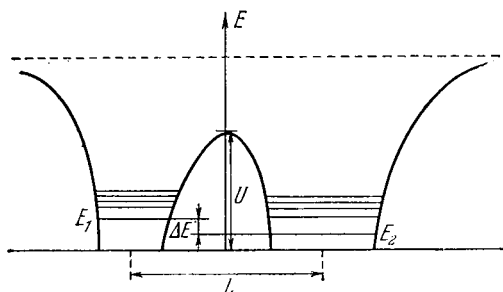


Рис. 6.20. Две несимметричные потенциальные ямы, разделенные барьером.

10^{17} с^{-1} , L — ширина барьера, U — его высота, E — уровень энергии электрона, m — его масса. На рис. 6.20 показана схема потенциальных ям двух соседних переносчиков.

Полная скорость переноса определяется суммой k_1 и k_2 . При высоких температурах преобладает первый член, при низких — второй. Можно предположить, что F^\ddagger и U совпадают. Согласно имеющимся оценкам $L \approx 10\text{--}20 \text{ \AA}$, $U \approx 1\text{--}2 \text{ эВ}$ [111]. При этих значениях $k_2 \gg k_1$. Отсюда следует, что реальные переходы должны быть практически независимы от температуры, что противоречит опыту. Однако туннельный переход электрона должен сопровождаться излучением фононов, возбуждением колебаний молекул, конформационными переходами [92, 93, 112], что приводит к сильной температурной зависимости.

Молекулярная система ЦПЭ содержит «проводящие группы», в которых π -электроны делокализованы. Это ароматические группы белков, простетические группы и коферменты. К проводящим группам следует отнести и атомы переходных металлов. Размеры таких групп порядка нескольких ангстрем. Проводящие группы отделены друг от друга диэлектрическими молекулами

белков и липидов; соответственно, ширины барьеров L порядка размеров этих молекул, т. е. $10\text{--}20 \text{ \AA}$.

Поведение электрона при его туннелировании зависит от соотношения между разностью электронных уровней ΔE (см. рис. 6.20) и величиной резонансного расщепления

$$\Delta E_r = E \exp\left[-\frac{L}{\hbar} \sqrt{2m(U-E)}\right]. \quad (6.71)$$

Если $\Delta E \gg \Delta E_r$, то туннельного перехода не будет. При $\Delta E \leq \Delta E_r$ переход произойдет за время $\tau = \hbar/\Delta E_r$. При $L \approx 20 \text{ \AA}$, $U-E \approx 2 \text{ эВ}$, $\Delta E_r \sim 10^{-6} \text{ эВ}$. Реальные значения ΔE в ЦПЭ должны быть много больше, и такой идеальный переход невозможен. Туннелирование становится, однако, возможным вследствие диссипации энергии, обеспечивающей сближение электронных уровней. Именно ЭКВ создают возможность такой диссипации. Чернавская и Чернавский [111] рассматривают случай потенциальных ям, защищенных от ионной среды неполярной оболочкой. Вблизи места локализации электрона можно выделить лишь несколько заряженных групп, сильно связанных с электроном. Рассматривается в качестве предельного случая лишь одна колебательная степень свободы. В этой ситуации возможно возбуждение колебательного кванта E_k , причем

$$\Delta E = \hbar\omega_k = E_k, \quad (6.72)$$

или увеличении энергии уже присутствующего кванта

$$\Delta E = \Delta E_k = \hbar \Delta\omega_k. \quad (6.73)$$

Значения E_k и ΔE_k порядка $0,1 \text{ эВ}$. Вероятность туннельного перехода при условии (6.72) выражается формулой

$$\omega = \frac{E^2}{\pi\hbar} \rho(\Delta E) g^2 \exp\left[-\frac{2L}{\hbar} \sqrt{2m(U-E)}\right]. \quad (6.74)$$

Здесь $\rho(\Delta E)$ —плотность уровней конечного состояния, $g^2 = 10^{-2}\text{--}10^{-4}$ —константа, характеризующая «силу связи». Если имеет место случай (6.73), то

$$\omega = \frac{E^2}{\pi\hbar} \rho(\Delta E - \Delta E_k) \exp\left(-\frac{\hbar\omega_k}{k_B T}\right) \exp\left[-\frac{2L}{\hbar} \sqrt{2m(U-E)}\right]. \quad (6.75)$$

Функцию ρ можно представить либо в лорентцовой, либо в гауссовой форме. Последняя имеет вид

$$\rho(\Delta E) = \frac{1}{\sqrt{2\pi} \Gamma_k} \exp\left[-\left(\frac{\Delta E - \Delta E_k}{2\Gamma_k}\right)^2\right]. \quad (6.76)$$

Она имеет резкий максимум при $\Delta E = \Delta E_k$ и быстро убывает при $\Delta E - \Delta E_k \gg \Gamma_k$. Ширина резонансной области Γ_k порядка 10^{-2} эВ .

Электронно-конформационные взаимодействия (по терминологии Чернавского электронно-конформационные переходы, ЭКП) могут трактоваться именно таким способом. Как указано в цитированных выше работах (см. [3], § 6.5, а также [72, 73, 111]), ЭКВ происходят при попадании электрона в поляризуемую среду, образованную группами макромолекулы. Среда поляризуется, и образуется самосогласованное поле, эквивалентное потенциальной яме для электрона. Такое образование в физике твердого тела называется *поляроном*. Если поляризационная деформация приводит к состоянию, отделенному от исходного энергетическим барьером, то мы имеем дело с нелинейным поляроном. В биополимерах поляризация приводит к движению по конформационным степеням свободы — нелинейный полярон является *конформоном*.

Чернавская и Чернавский дают грубую оценку энергии и размеров конформона [111]. В среде, содержащей равномерно распределенные ионы массы M , взаимодействующие по закону Кулона, имеем согласно теореме вириала

$$\frac{1}{2} M v^2 \approx e^2/r. \quad (6.77)$$

Скорости v и расстоянию r соответствует частота колебаний

$$\omega_k = \frac{v}{r} = \sqrt{\frac{8\pi}{3} \frac{e^2}{M}} n, \quad (6.78)$$

где $n = (4/3\pi r^3)^{-1}$ — число ионов в единице объема. Взаимодействуя с колебаниями ионов, электрон приобретает энергию $\hbar\omega_k$ и импульс $q = \sqrt{2m\hbar\omega_k} \equiv \sqrt{4m^2\hbar^2\omega_k^2}$, где m — масса электрона. Согласно соотношению неопределенностей соответствующий размер электронного облака равен

$$\lambda = \frac{\hbar}{q} = \sqrt{\frac{\hbar}{2m\omega_k}} = \sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}} \sqrt[4]{\frac{\hbar^2 M}{m^2 e^2 n}}.$$

Вводя боровский радиус $a_0 = \hbar^2/me^2 \approx 0,5 \text{ \AA}$, получаем

$$\lambda = \sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}} \sqrt[4]{\frac{M a_0}{m n}} = a_0 \sqrt[4]{\frac{3}{32\pi}} \sqrt[4]{\frac{M}{m} \frac{1}{n a_0^3}}. \quad (6.79)$$

Размеры полярона (конформона) должны быть того же порядка. Энергия поляризации по порядку величины равна

$$E_p = e^2/\epsilon\lambda, \quad (6.80)$$

где ϵ — микроскопическая диэлектрическая проницаемость. Наконец, отношение E_p к энергии колебаний дает число квантов, участвующих в образовании полярона,

$$N = E_p/\hbar\omega_k. \quad (6.81)$$

Для белков среднее значение плотности зарядов $n \sim 10^{21} \text{ см}^{-3}$, т. е. расстояние между зарядами порядка 10 \AA . Если заряды расположены на протонах, то $M = (6,2 \cdot 10^{23})^{-1} \text{ г}$. Величину ϵ можно считать равной 3. Получаем $\omega_k \approx 3,5 \cdot 10^{13} \text{ с}^{-1}$, размеры полярона $\lambda \approx 15 \text{ \AA}$, т. е. поляризацией охвачена практически вся макромолекула. Энергия поляризации $E_p \approx 0,35 \text{ эВ}$, сдвиг уровней электрона того же порядка. Наконец, N примерно равно 15.

В кинетике электронно-конформационных переходов можно выделить четыре процесса [111].

1) Колебания электрона внутри одной ямы, размером в несколько ангстрем, с частотами порядка 10^{17} с^{-1} .

2) Колебания атомов с частотами порядка $k_B T/h \sim 10^{13} \text{ с}^{-1}$ и с амплитудами порядка $10^{-1} - 10^{-2} \text{ \AA}$; частоты упругих колебаний белковой глобулы как целого порядка $10^{-12} - 10^{-11} \text{ с}^{-1}$.

3) Туннелирование электрона; как уже сказано, ему отвечают времена порядка $10^{-7} - 10^{-6} \text{ с}$ и расстояния порядка $10 - 20 \text{ \AA}$.

4) Конформационные переходы в макромолекуле с временами $10^{-3} - 10^{-1} \text{ с}$; возможны и значительно более медленные переходы (см. § 8.6).

Соответственно можно не рассматривать быстрые процессы 1), 2), 3) и пользоваться усредненными по времени значениями электронной плотности в ямах и усредненными положениями колеблющихся атомов. Именно такая процедура применена в описанной выше модели релаксационных ЭКП. Молекула — акцептор электрона, получив электрон, оказывается в неравновесной конформации, медленно превращающейся в равновесную. Поэтому для туннельного эффекта требуется не совпадение электронных уровней восстановленного донора и акцептора в их равновесных конформациях, но наличие надлежащим образом расположенного виртуального электронного уровня акцептора в окисленной конформации. Энергия, выделившаяся при туннелировании, диссипирует, но энергия, медленно выделяемая при конформационной релаксации к новому равновесному состоянию, может быть конвертирована в энергию макроэрга (ср. также [93]). Так как туннельный эффект связан с условиями резонанса электронных уровней энергии, он подвержен влиянию мембранного потенциала. Следовательно, возможен регуляторный процесс, состоящий в том, что мембранный потенциал, создаваемый активным транспортом ионов, зависит от скорости переноса электронов, которая, в свою очередь, регулируется мембранным потенциалом. Реализуется обратная связь, обеспечивающая автоматическое поддержание системы в условиях, близких к резонансным [79].

Изложенная концепция дает гипотетическое качественное описание электронно-конформационных взаимодействий в фер-

мент-субстратном комплексе. Однако мы не располагаем пока теорией, количественно объясняющей скорость ферментативной реакции, в частности, кинетику переноса электронов в митохондриальной системе. Задача такой теории состоит в нахождении поверхности свободной энергии фермент-субстратного комплекса как целостной системы, обладающей электронными и конформационными степенями свободы, и в нахождении пути процесса. Сама эта поверхность действительно должна меняться с температурой.

При рассмотрении пути процесса следует учитывать «конформационную» природу явления. Иными словами, положения электронных уровней энергии зависят от динамического состояния среды — белка, обладающего конформационными степенями свободы. Вследствие медленности конформационных движений система является адиабатической. Основные положения упрощенной модельной теории, развитой в работах [94—96], изложены в § 6.7 книги [3]. В последующих работах Кришталлика [97] проведено более детальное рассмотрение фермента, учитывающее наличие в его молекуле большого числа полярных групп, обладающих ограниченной подвижностью. В этих условиях в ходе процесса должен осуществляться перенос заряда в положения, оптимальные для заданной конфигурации диполей. Тем самым реализуется определенная предорганизация среды, способствующая повышению скорости ферментативных реакций и благоприятствующая эстафетному переносу зарядов на дальние расстояния. Рассмотрено также одновременное прохождение двух реакций переноса заряда. При благоприятных геометрических условиях возможно сильное сопряжение двух процессов, в частности, протекание эндергонической реакции за счет экзергонической.

Теория Блюменфельда и Чернавского, основанная на рассмотрении ЭКВ, существенно отлична от модельных представлений, используемых в феноменологической теории Митчелла. Представления об ЭКВ (или ЭКП) имеют более реальные и глубокие физические основания. Переход от этих представлений к феноменологическому, общему описанию и его согласование с положениями теории Митчелла, подтвержденными опытом, по-видимому, окажутся возможными в дальнейшем. Для этого необходимы не грубые оценки и качественные гипотезы типа предложенных в работах [26, 73, 74, 90], но подлинная количественная теория конформона (или нелинейного полярона). Такая теория пока не создана. Ее построение связано с исследованиями конкретных процессов, учитывающими детали поведения электронно-конформационной системы. Эти детали не могут быть получены из умозрительной картины (см. [26]), но лишь из экс-

периментальных данных, которых пока недостаточно. Тем самым сейчас нет еще возможности строить атомно-молекулярную теорию ЦПЭ в целом. Следует начать с рассмотрения отдельных звеньев процесса, с изучения поведения отдельных ферментов — переносчиков электронов.

§ 6.7. ЦИТОХРОМ *c*

Были проведены рентгеноструктурные исследования окисленной и восстановленной формы цитохрома *c* [98—100].

Среди участников ЦПЭ в митохондриях именно цит *c* наиболее доступен для изучения переносчиков электронов. Этот белок можно выделить в чистой форме и закристаллизовать. Остальные компоненты удается пока выделить лишь в виде мультиферментных комплексов: цитохромы *b* и *c*₁ как комплекс цитохромредуктазы и цитохромы *a* и *a*₃ как цитохромоксидазу. Редуктаза снабжает цит *c* электронами, оксидаза отбирает их у цит *c*.

Задолго до рентгенографических исследований было проведено изучение первичной структуры цит *c* из более чем 40 различных организмов, начиная с низших растений и кончая обезьянами и человеком (см. [3], § 2.5, [10]). Результаты этих работ очень существенны и в биологическом, и в биофизическом аспектах.

Молекулы цит *c* позвоночных содержат 104 аминокислотных остатка, насекомых — 107, низших растений — 107—109, высших растений — 111 (в одном случае 110). Последовательности остатков хорошо отражают биологическую эволюцию. Так, первичные структуры цит *c* человека и шимпанзе тождественны, отличаясь от структуры цит *c* обезьяны резуса только одной заменой из 104 остатков — у резуса на 102-м месте фигурирует Ала, вместо Тре. Цит *c* гремучей змеи отличается от цит *c* пекарских дрожжей добавлением 5 остатков с N-конца, удалением последнего остатка с C-конца и 40 заменами, а от цит *c* человека — 12 остатками. Примечательно, что большинство замещений во всех исследованных цит *c* консервативно в том смысле, что мутационная замена сохраняет характер остатка. Можно разбить аминокислотные остатки на 6 классов: гидрофобные ароматические (Фен, Трп, Тир), гидрофобные алифатические (Иле, Лей, Мет, Вал), гидрофильные основные (Гис, Лиз, Арг, Лиз — СН₃), гидрофильные кислотные (Асп, Глу), амбивалентные, т. е. малые гидрофобные или незаряженные полярные (Ала, Аси, Цис, Про, Гли, Сер, Тре) и, наконец, остаток глицина Гли, не имеющий боковой цепи. Оказывается, что эволюционные изменения цит *c* во всей живой природе от низших растений до человека сводятся, как правило, к замещениям внутри одного класса, и лишь в

малом числе случаев к изменению класса остатка. Это указывает на далеко идущее сходство пространственной структуры всех цит *c*.

В ходе эволюции клетки перешли от анаэробных процессов к дыханию как источнику энергии. Именно на этой стадии, реализовавшейся примерно 1,2 миллиарда лет назад, возникли цитохромы. Это весьма древние белки, функциональная структура которых очень точно стабилизирована естественным отбором, о чем свидетельствует то обстоятельство, что цитохромы *c*, выделенные из любого эукариота — растения, животного или микроорганизма, реагируют *in vitro* с цитохромоксидазой любого другого вида [101].

Сходство структуры всех цитохромов *c* выражается не только в постоянстве расположения 6 классов остатков. Некоторые участки цепи вообще не варьируют. 35 из 104 положений заняты одними и теми же остатками в цит *c* всех изученных видов, включая длинную последовательность от 70-го до 80-го остатка:

— Асн — Про — Лиз — Лиз — Тир — Иле — Про — Гли —
— Тре — Лиз — Мет —

35 инвариантных мест заняты 15 различными остатками. Другие 23 места заняты только одним или двумя различными, но весьма сходными остатками. В 17 местах возможны лишь замены в пределах трех остатков на каждом месте. С другой стороны, имеются немногие места, для которых оказываются допустимыми самые различные замены; сюда относится, например, остаток № 89 [101].

Эти свойства первичной структуры всех цитохромов *c* показывают, что пространственное строение фермента, ответственное в конечном счете за его биологическую функциональность, фиксировано достаточно строго. Мутационные нарушения первичной структуры, приводящие к сколько-нибудь существенным изменениям строения глобулы, элиминируются естественным отбором, будучи летальными. В этом смысле цит *c* фиксирован точнее, чем гемоглобин, не говоря уже о фибриллярных белках, но менее строго, чем гистоны (см. стр. 46).

Таковы важные выводы, которые следуют из изучения первичных структур 40 различных цитохромов *c*. Ответ на вопрос о смысле наблюдаемого консерватизма последовательности остатков дает рентгеноструктурный анализ.

На рис. 6.21 изображена структура окисленного цитохрома *c* лошади, установленная Дикерсоном и его сотрудниками [101]. Ее рассмотрение показывает, что группа гема соединена пятой и шестой валентностями атома железа с имидазольным кольцом Гис 18 и атомом серы Мет 80. Гем связан ковалентно также

с Цис 14 и Цис 17. Гем расположен в глубокой выемке, причем его окружение весьма консервативно в эволюции. Инвариантная последовательность 70—80 также является частью ближайшего окружения гема.

Структура цит *c* характеризуется, как обычно, расположением гидрофобных остатков внутри молекулы (см. [3], § 4.6, 4.7),

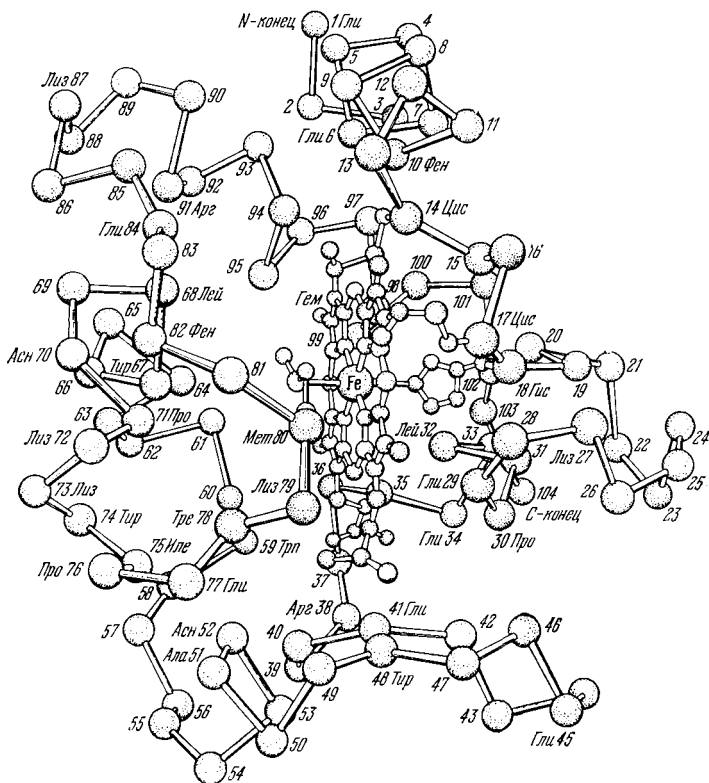


Рис. 6.21. Структура окисленного цитохрома *c* лошади.

тогда как заряженные группы, кислотные или основные, находятся на ее поверхности. Среди последних групп существенны остатки Лиз, число которых велико — оно равно 19. Очевидно, что определенное расположение зарядов на поверхности молекулы важно как для фиксированной структуры глобулы, так и для электростатических взаимодействий с оксидазой и редуктазой. Химические исследования показали, что взаимодействие цит *c* с оксидазой действительно имеет электростатический характер, причем положительные заряды расположены на цит *c*, а

отрицательные — на комплексе. Блокировка заряда Лиз 13, находящегося на правой части молекулы, сильно уменьшает это взаимодействие. Положительные заряды на другой стороне молекулы, по-видимому, взаимодействуют с редуктазой. В этой области находятся и три ароматических остатка: Фен 62, Тир 74 и Тир 67.

Таким образом, молекула цит *c* представляет собой упорядоченную систему, молекулярную машину, предназначенную для переноса электрона в результате определенного взаимодействия с оксидазой и редуктазой.

Пока нет прямой информации о том, как эта машина работает, что происходит при транспорте электронов с составляющими ее элементами. Из общих представлений об электронно-конформационных взаимодействиях (см. § 6.6) следует, что функциональность цит *c* определяется конформационными перестройками молекулы при переходе из окисленного в восстановленное состояние и обратно. Это подтверждается химическими исследованиями [102, 103], дающими, однако, ограниченную информацию.

В работе [100] проведено рентгенографическое исследование восстановленного цит *c* из сердца тунца с разрешением до 2,45 Å. Результаты этого исследования сопоставлены с данными для окисленного цит *c*. Таким образом, установлены структуры для двух конечных состояний окисления и восстановления цитохрома *c*.

Структура глобулы окисленного цит *c* тождественна для лошади и рыб — бонито и тунца. Кристаллы для всех цит *c* изоморфны, они относятся к пространственной группе $P4_3$.

Напротив, восстановленные цит *c* рыб бонито и тунца не изоморфны, их пространственные группы соответственно $P2_12_12_1 [101]$ и $P2_12_12 [100]$.

Сравнение полученных структур восстановленного и окисленного цитохромов *c* показывает, что в целом они похожи. В обоих случаях гем погружен в полость молекулы, его ковалентные связи с белком одни и те же. Сходно и расположение водородных связей.

Полость, в которой расположен гем, образована слева остатками 80—84, задняя стенка полости состоит из боковых цепей Иле 9 и Иле 85 и Лей 68 и 94. Иле 81 находится на краю полости. Вблизи гема расположено 7 «критических» ароматических остатков, сохраняющихся в эволюции. На дне полости находится пара Тир 48 — Фен/Тир 46, справа пара Фен 10 — Тир/Фен 94 и между гемом и поверхностью молекулы триплет Тир/Фен 74 — Трп 59 — Тир/Фен 67. Инвариантен также остаток Фен 82.

Майер и Пал изучали влияние последовательной модификации метионинов, тирозилов и триптофанилов N-бромсукцинимидом

дом (БСИ) при рН 4,1 [105, 106]. При отношении БСИ : белок до 3,3 : 1 Мет 65 и Трп 59 окисляются. При отношении 5 : 1 разрушается и Тир 74. При этих химических изменениях резко падает редуказная активность НАД-Н-цитохрома *c*, и ее падение пропорционально доле окисленного Трп 59. Одновременно происходит более медленное падение оксидазной активности цитохрома *c*. Если отношение БСИ : белок более 5 : 1, происходит модификация второго (не идентифицированного) Тир и окисление Мет 80, что приводит к потере оксидазной активности.

Эти результаты показывают, что Трп 59, по-видимому, участвует в восстановлении цит *c*. Исходя из этого и из предварительных данных рентгеноструктурного анализа, Дикерсон и Уинфилд предложили модельный механизм восстановления цит *c*, состоящий в следующем [101].

1. Один электрон каким-то способом переносится от редуказу на Тир 74 и вследствие перекрывания π -электронных облаков с Тир 74 на Трп 59. Если избыточный электрон попал на Тир 74, он спонтанно мигрирует на Трп, так как более протяженная кольцевая система делокализации Трп обладает более низкой антисвязывающей орбиталью, которую может занять электрон.

2. Другой электрон переносится с Тир 67 на гем, оставляя Тир 67 с нехваткой электрона. Здесь также электрон переходит с меньшей системы делокализации на большую, обладающую более низкими уровнями энергии. Этому переходу способствует электростатическое отталкивание, создаваемое избыточным отрицательным зарядом на Трп 59, хотя прямой переход электрона с Трп 59 на Тир 67 невозможен вследствие отсутствия перекрывания π -электронных облаков.

3. Происходит конформационное изменение, в результате которого кольца Трп 59 и Тир 67 устанавливаются параллельно и их π -облака перекрываются. Этому превращению способствует электростатическое притяжение обогащенного электроном Трп 59 и имеющего нехватку электрона Тир 67.

4. Электрон затем переносится с Трп 59 на Тир 67, обе группы становятся электрически нейтральными, и молекула остается в наблюдаемой конформации восстановленного цитохрома *c*. Последний электронный перенос облегчается малой диэлектрической проницаемостью внутренней гидрофобной молекулы.

Редфилд и Гупта [107] установили методом ЯМР, что в окисленном цитохроме с неспаренный спин гема проводит большую часть времени на пиррольном кольце, связанном с Цис 17, и на противоположном кольце по диагонали, погребенном в глубине кармана. Это последнее пиррольное кольцо находится в тесном контакте с Тир 67. Спаривание электронов в этой части порфиринового кольца должно способствовать переносу электрона с Тир 67 на гем.

Данные об участии ароматических соединений в восстановлении гема (окисленного гема) были получены путем изучения дисперсии магнитного вращения (ДМВ) (см. [3], § 7.3, 7.4) в модельных системах [108]. ДМВ гема в безводном пиридине практически совпадает с ДМВ феррокомплекса гема с пиридином. При добавлении воды ДМВ резко изменяется и становится сходной с ДМВ гема. По-видимому, в отсутствие воды возникают π -комплексы гема с пиридином. Такие комплексы гема с сопряженными молекулами в неполярных растворах хорошо изучены, причем показано, что это комплексы с переносом заряда [109]. Сходство ДМВ комплекса гемин — пиридин и комплекса гем — пиридин показывает, что пиридин служит донором электрона, переходящего на гемин. Из этих результатов следует, что в π -комплексе порфиринового кольца и ароматической молекулы (пиридина) происходит перенос электрона и для данного процесса существенна неполярность растворителя, стабилизирующего π -комплекс. Переход электрона должен, очевидно, происходить с понижением энергии, т. е. от менее протяженной π -электронной системы пиридина к более протяженной системе гема.

Укажем попутно, что исследование дисперсии магнитного вращения и магнитного кругового дихроизма (МКД) цитохромов очень перспективно для изучения процессов, происходящих в ЦПЭ. Соответствующие работы начаты лишь недавно. Кривые ДМВ и МКД, полученные для взвеси субмитохондриальных частиц, содержат ярко выраженные пики, отвечающие отдельным цитохромам [110]. Обычные спектры поглощения не дают такой ясной картины.

Модель Дикерсона — Уинфилда очень привлекательна — она непосредственно изображает электронно-конформационные взаимодействия. К сожалению, пришлось от этой модели отказаться (см. [117]). Последующие результаты рентгеноструктурного анализа не выявляют заметных различий между структурами окисленного и восстановленного цит *c*. Найден цит *c*, в котором Тир 74 заменен на Лей при полном сохранении активности фермента. Поэтому Дикерсон приходит к выводу о туннельном механизме переноса электрона в цитохроме.

В работах [94—97] предложена модельная квантовомеханическая теория ферментативного катализа и изложено ее применение к процессу восстановления — окисление цит *c*. Показано, в частности, значительное ускорение процесса при наличии промежуточных электронных состояний системы, взаимодействующих как с начальными, так и с конечными состояниями. Реакции переноса заряда, такие как $\text{Fe}^{3+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$, сильно ускоряются в присутствии третьей частицы, играющей роль «мостика» для

переноса электрона. Функция виртуального мостика рассмотрена в случае цит *c*, причем получены грубые оценки скорости процесса и зависимости ее от температуры, согласные с опытом.

Таким образом, имеются различные предположения о механизме переноса электрона в цитохроме *c*. Решение этой проблемы требует, с одной стороны, экспериментального исследования динамики окисления — восстановления, с другой — построения полной квантовомеханической теории процесса, учитывающей и электронные и конформационные степени свободы. Мы встречаемся здесь с очень большими трудностями.

§ 7.1. ФОТОСИНТЕЗ

В главах 3—5 рассмотрены биоэнергетические явления — трансформация химической энергии, запасенной в АТФ, в осмотическую и механическую работу. В гл. 6 описан обратный процесс — образование АТФ в результате работы дыхательной цепи, локализованной в митохондриях. Все эти процессы относятся к «темновой биологии», они протекают без участия света.

Вместе с тем существуют биоэнергетические явления, непосредственно связанные с действием солнечного света на организмы. В конечном счете именно излучение Солнца является источником жизни на Земле. В этой главе рассматриваются лишь два важнейших фотобиологических процесса — фотосинтез (в основном, в зеленых растениях) и зрительная рецепция.

Возникновение и существование живых систем, обладающих сложной структурой, упорядоченной в пространстве и времени, возможно лишь потому, что это открытые системы, находящиеся в состояниях, далеких от термодинамического равновесия. Возникновение жизни требовало источника свободной энергии. Такой источник — Солнце. Солнечная система далека от термодинамического равновесия, световая энергия, излучаемая Солнцем, используется для биохимических процессов, лежащих в основе жизни фотоаутотрофных растительных организмов. Фотосинтез в растениях есть использование световой энергии для образования сложных органических соединений, прежде всего углеводов, и синтеза АТФ. Глобальным результатом фотосинтеза является образование свободного молекулярного кислорода, создание окислительной атмосферы Земли, необходимой для дыхания как аутотрофов, так и гетеротрофов (см., впрочем, стр. 480).

Суммарное уравнение фотосинтеза имеет вид



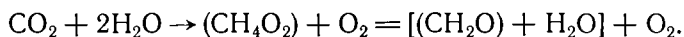
Здесь $h\nu$ — квант света, (CH_2O) — фрагмент молекулы углевода. При фотореакции выделяется энергия 112 ккал/моль. Изменение свободной энергии составляет 120 ккал/моль, следовательно, изменение энтропии в этом процессе равно — 27 кал/моль·К (при $T = 300 \text{ K}$). На образование одной молекулы O_2 расходуется

8 квантов света (см. далее стр. 336) с суммарной энергией около 350 ккал/моль. Коэффициент использования солнечной энергии тем самым равен $120/350 = 0,34$. Выделяемая энергия около 110 ккал/моль следует из баланса:

| | |
|---|-------------|
| Энергия двух связей C=O в CO ₂ | 190×2 = 380 |
| Энергия двух связей O—H в H ₂ O | 110×2 = 220 |
| Итого | 600 |
| Энергия связи O=O в O ₂ | 116 |
| Энергия двух связей C—H в формальдегиде CH ₂ O | 92×2 = 184 |
| Энергия связи C=O в CH ₂ O | 190 |
| Итого | 490 |
| 600 — 490 = 110 ккал/моль. | |

Суммарная реакция фотосинтеза обратна реакции, реализуемой в дыхании, — образованию CO₂ и H₂O из органических соединений.

Разность энергий 112 ккал/моль следует из окислительно-восстановительного потенциала пары $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, равного +0,81 эВ, и пары CO₂/(CH₂O) + H₂O, равного —0,40 эВ. Их разность составляет 1,21 эВ. В фотосинтезе для восстановления CO₂ до углевода нужно перенести 4 атома водорода с H₂O на CO₂:



Вещество (CH₄O₂) нестабильно, оно распадается на (CH₂O) и H₂O, причем выделение воды не меняет уровня восстановления. Соответственно баланс энергии сводится к $1,21 \times 4 = 4,84$ эВ = 112 ккал/моль.

Таким образом, фотосинтез в зеленых растениях означает окислительно-восстановительную реакцию между окислителем CO₂ и восстановителем H₂O, в которой четыре электрона (или четыре атома H) переносятся «вверх», преодолевая разность потенциалов около 1,2 В. Схематически этот процесс представлен на рис. 7.1 [1]. Он разделен на три стадии — две «горизонтальные» последовательности ферментативных реакций и «подъем» электронов с участием света. При бактериальном фотосинтезе вместо воды может фигурировать H₂S; в этом случае разность потенциалов H₂S/S меньше, она составляет —0,2 В.

Фотохимическая стадия, сводящаяся к запасанию световой энергии, трансформируемой в химическую, начинается с поглощения света пигментами растений, среди которых важнейшую роль играет хлорофилл. Тимирязев показал, что спектр действия солнечного света при фотосинтезе находится в грубом соответствии со спектром поглощения хлорофилла. Это положение имеет фундаментальное значение [2]. Скорость фотосинтеза *P*, измеряемая количеством выделенного в единицу времени кислорода

(или поглощенного CO_2), зависит от интенсивности света I , $P = f(I)$. Эта зависимость характеризуется насыщением (рис. 7.2). Тангенс угла начального наклона кривой выражает максимальный квантовый выход процесса, наблюдаемый при слабой освещенности. При понижении температуры кривая снижается.

Грубая теория, объясняющая насыщение, состоит в следующем: скорость фотохимического образования некоего субстрата пропорциональна числу поглощенных квантов. Субстрат неустойчив, так как после прекращения освещения продукция O_2 прекращается, независимо от интенсивности света. Образовав-

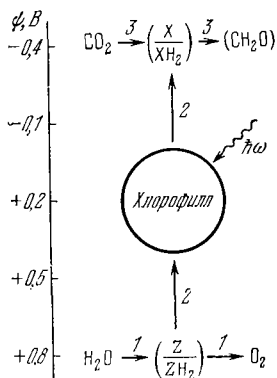


Рис. 7.1. Схема фотосинтеза. 1— ферментативное превращение H_2O в O_2 , 2— перенос водорода от промежуточного вещества $Z/Z\text{H}_2$ к $X/X\text{H}_2$ в последовательности ферментативных стадий с помощью активированного светом хлорофилла, 3— ферментативное превращение CO_2 в (CH_2O) .

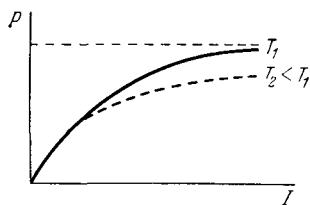


Рис. 7.2. Зависимость скорости выделения O_2 от интенсивности света при двух температурах.

шийся при освещении субстрат трансформируется далее в ферментативных процессах, и если его количество слишком велико, то трансформация не успевает осуществиться до распада субстрата. Считая, что стационарная кинетика ферментативной реакции следует уравнению Михаэлиса — Ментен и концентрация субстрата S пропорциональна I , имеем

$$v = \frac{kEI}{K + I}, \quad (7.1)$$

где E — концентрация фермента, k, K — константы. При $I \ll K$ $v \sim I$, при $I \gg K$ $v = v_{\max} = kE$, т. е. имеется насыщение. Константа k равна k_e/n , где k_e — константа скорости ферментативной реакции, а n — число молекул субстрата, необходимых для продукции одной молекулы O_2 . Из опыта следует, что наиболее вероятное значение n равно 8.

Таким образом, фотосинтез состоит из практически мгновенной первичной фотохимической реакции и ферментативной темновой

реакции (точнее — совокупности таких реакций). Эти два процесса можно разделить в опытах с импульсным освещением (см. далее). Такие опыты были впервые проведены Эмерсоном и Арнольдом [3], изучавшими фотосинтез в клетках зеленой водоросли хлореллы. Было установлено, что при вспышках длительностью 10^{-5} с выход кислорода P_f , приходящийся на одну вспышку, вначале пропорционален интенсивности вспышки (числу квантов), а затем стремится к насыщению. Кривая зависимости P_f от энергии вспышки подобна кривым, изображенным на рис. 7.2.

Из данных химического анализа следует, что на один ферментный комплекс или на одну молекулу обобщенного фермента приходится около 300 молекул хлорофилла. Такой комплекс именуется фотосинтетической единицей (см. [4]). В фотосинтезирующих бактериях число молекул хлорофилла в фотосинтетической единице снижено до 50. Большое число молекул хлорофилла, объединенных в комплексе с одной молекулой обобщенного фермента, легко объясняется соотношением размеров этих молекул. Молекулярный вес фермента порядка 10^5 — 10^6 , хлорофилла — 10^3 .

Константа скорости k_e находится путем измерения зависимости выхода O_2 от продолжительности интервалов времени между вспышками t_d . По мере возрастания t_d выход O_2 на вспышку увеличивается, пока t_d не достигнет 0,1 с. При этом значении происходит насыщение. Следовательно, лимитирующий скорость процесса фермент может переработать практически все количество субстрата, полученного при вспышке, за время порядка 0,1 с. Среднее время, необходимое для превращения одной молекулы субстрата, примерно в пять раз меньше; оно составляет около 0,02 с при комнатной температуре. Иными словами, $k_e = 1/0,02 = 50 \text{ с}^{-1}$.

Вместе с тем опыты с импульсным освещением дают количество фермента в фотосинтетической единице, равное

$$E = \text{Chl}/300,$$

где Chl — количество хлорофилла. Отсюда следует, что если один и тот же фермент лимитирует как стационарную скорость фотосинтеза при постоянном освещении, так и выход на вспышку, то $v_{\max} = k_e E/n = 50 \text{ Chl}/n \cdot 300 \approx 0,02 \text{ Chl}$ в с^{-1} . Иными словами, максимальная скорость фотосинтеза при постоянном освещении равна одной молекуле O_2 на молекулу хлорофилла за 50 с. Эта оценка хорошо согласуется с опытом.

Изложенная элементарная теория имеет ясное содержание, ее простота является крупным достоинством. В действительности, однако, фотосинтез включает целую совокупность фермен-

тативных реакций, и максимальная скорость может определяться не одной, а несколькими реакциями. При вспышках длительностью 10^{-3} с максимальный выход процесса становится выше и оказывается зависящим от температуры (см. [1]).

Фотосинтетические единицы локализованы в *хлоропластах* — в специализированных органоидах растительных клеток. Строение и функциональность хлоропластов рассматриваются в § 7.5. Здесь мы остановимся на некоторых свойствах хлоропластов, имеющих общее значение для понимания фотосинтеза.

В водной суспензии хлоропластов с солями трехвалентного железа выделение кислорода пролонгируется. Происходит *реакция Хилла* [5], сводящаяся к фотосинтезу, к выделению O_2 *in vitro* при участии добавленного окислителя. Таким окислителем служат ферри-соли, хиноны, красители. При изготовлении суспензии хлоропластов уничтожается или повреждается система 3 на рис. 7.1. Добавленный окислитель, т. е. акцептор водорода, замещает систему $CO_2/(CH_2O)$. Установлено, что реакция Хилла действительно является фотохимическим окислением воды. Продукция O_2 в этом случае почти такая же, как и при фотосинтезе *in vivo*.

Реакция Хилла показывает, что фотосинтез есть окислительно-восстановительная реакция между H_2O и CO_2 , в ходе которой четыре атома H переносятся от H_2O к CO_2 и оба реагента одинаково существенны для процесса в целом. Однако первичная фотохимическая реакция более непосредственно связана с дегидрогенизацией воды, чем с гидрогенизацией CO_2 . Источником O_2 является H_2O , а не CO_2 , что доказано опытами с водой, обогащенной O^{18} [6, 7].

Химия фотосинтеза рассматривается в § 7.4. Фотохимическая стадия завершается восстановлением НАДФ до НАДФ-Н, причем идет фосфорилирование, т. е. образование АТФ.

Одновременно с фотосинтезом происходит дыхание, т. е. поглощение O_2 . На свету измеряется разность этих двух процессов. Доказано, что скорость дыхания одинакова в темноте и на свету. Тем самым два процесса могут быть разделены. Дыхательная цепь локализована в митохондриях, хлоропласты «не дышат». У ряда растений наблюдается *фотореспирация*, специфический процесс поглощения кислорода на свету, реализующийся под действием света определенного спектрального состава.

В этом и последующих параграфах приводится лишь краткое рассмотрение фотосинтеза, поневоле огульное. Фотосинтезу посвящена громадная литература, исследования в этой области интенсивно развиваются, и наши знания обогащаются непрерывно. Фотосинтезирующая система чрезвычайно сложна.

Сошлемся, наконец, на некоторые монографии, посвященные фотосинтезу [1, 8—11, 74].

§ 7.2. ХЛОРОФИЛЛ И ДРУГИЕ ПИГМЕНТЫ

Во всех фотосинтезирующих клетках, за исключением фотосинтезирующих бактерий, фигурирует хлорофилл *a* (Chl *a*). В бактериях вместо Chl *a* наличествует бактериохлорофилл

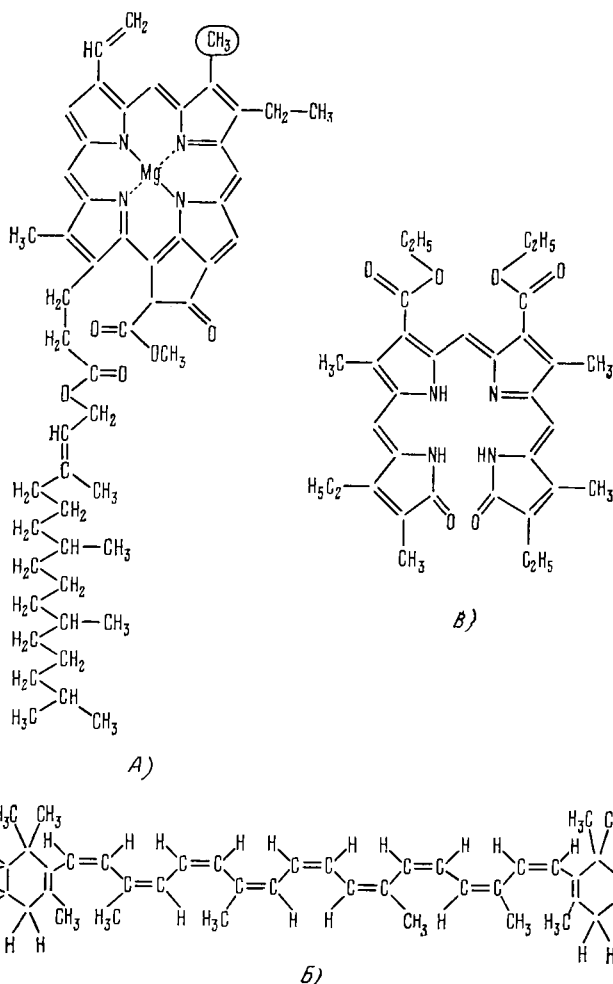


Рис. 7.3. Структурные формулы некоторых пигментов.
 А—хлорофилл *a*. В хлорофилле *b* обведенная кружком группа CH_3 , заменена на $-\text{HC}=\text{O}$;
 Б— β каротин; В—фикоэритробилин.

В Chl. Chl *a* имеет сине-зеленую окраску. Менее универсально, хотя и обычно, присутствие хлорофилла *b* (Chl *b*). В литературе

описаны и другие хлорофиллы, содержащиеся в разных типах водорослей. Строение $\text{Chl } a$ и $\text{Chl } b$ показано на рис. 7.3, А. В основе структуры находится порфириновое кольцо, ответственное за поглощение света в видимой области спектра. В центре кольца расположен атом Mg . Заметим попутно, что порфириновые циклы в комплексах с другими атомами фигурируют в ряде важнейших для биологии веществ — в геме (атом Fe), в гемоцианинах (атом Cu) и др. [12].

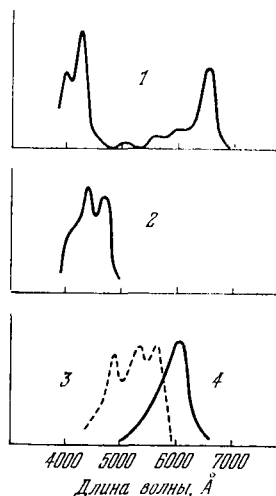


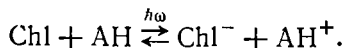
Рис. 7.4. Полосы поглощения хлорофилла a (1), каротиноида (2), фикоэритрина (3) и фикоцианина (4). По оси ординат — оптическая плотность.

Наряду с хлорофиллами в фотосинтетических системах растений присутствуют другие окрашенные вещества, пигменты, играющие вспомогательную роль. Общим правилом является наличие *каротиноидов* (рис. 7.3, Б). В красных водорослях (*Rhodophyceae*), в сине-зеленых водорослях (*Cyanophyceae*) присутствуют *фикобилины* (вещества, родственные желчным пигментам), содержащие разомкнутое порфириновое кольцо (рис. 7.3, В). В табл. 7.1 [1] приведены спектральные характеристики хлорофиллов и других пигментов, участвующих в фотосинтезе.

На рис. 7.4 показаны полосы поглощения $\text{Chl } a$, каротиноида, фикоэритрина и фикоцианина [1].

Основная проблема химии и физики фотосинтеза состоит в раскрытии механизма преобразования энергии света в химическую энергию, запаасаемую в синтезируемых органических соединениях. Хлорофилл — вещество, определяющее фотосинтез; энергия света, им поглощенная, используется для фотосинтеза. Очевидно, что исследования указанной проблемы целесообразно начинать с простых фотохимических реакций с участием хлорофилла. Именно это направление начали с 1948 г. развивать Красновский и его сотрудники (см. [10, 11]).

Реакция Красновского, открытая в 1948 г. [13], состоит в обратимом фотовосстановлении хлорофилла



Тем самым, световая энергия трансформируется *in vitro* в химическую при участии хлорофилла. Восстановителем, т. е. донором электрона в этих опытах служил аскорбат. Восстановленный

Таблица 7.1

Спектральные характеристики растительных пигментов

| Тип пигмента | Максимумы поглощения, Å | | Растения, содержащие пигмент |
|--------------------------------------|--|----------------------------------|---|
| | в органических растворителях | в клетках | |
| I. Хлорофиллы | | | |
| Chl <i>a</i> | 4200, 6600 | 4350, 6700—6800 (несколько форм) | Все фотосинтезирующие растения кроме бактерий |
| Chl <i>b</i> | 4530, 6430 | 4800, 6500 | Высшие растения и зеленые водоросли |
| Chl <i>c</i> | 4450, 6250 | Полоса 6450 | Диатомеи и бурые водоросли |
| Chl <i>d</i> | 4500, 6900 | Полоса 7400 | Некоторые красные водоросли |
| Бактериовиридин | Две формы: 1) 4250, 6500 2) 4320, 6600 | Полосы 7500 или 7600 | Зеленые бактерии |
| V Chl <i>a</i> | 3650, 6050, 7700 | Полосы 8000, 8500, 8900 | Пурпурные и зеленые бактерии |
| V Chl <i>b</i> | 3680, 5820, 7950 | Полоса 10 170 | Штамм пурпурных бактерий <i>Rhodospseudomonas</i> |
| II. Каротиноиды | | | |
| IIa. Каротины | | | |
| α-каротин | В гексане 4200, 4400, 4700 | | Многие листья и водоросли. Главный каротин в красных водорослях и в группе зеленых водорослей |
| β-каротин | В гексане 4250, 4500, 4800 | | Главный каротин во всех других растениях |
| γ-каротин | В гексане 4400, 4600, 4950 | | Главный каротин в зеленых серных бактериях |
| IIб. Каротинолы (ксантофиллы) | | | |
| Лютеол | В этаноле 4250, 4450, 4750 | | Главный в зеленых и красных водорослях |
| Виолуксантол | В этаноле 4250, 4500, 4750 | | Второй важнейший каротинол листьев |
| Фукоксантол | В гексане 4250, 4500, 4750 | | Главный в диатомеях и бурых водорослях |
| Спириллоксантол | В гексане 4640, 4900, 5240 | | Пурпурные бактерии |

Таблица 7.1 (продолжение)

| Тип пигмента | Максимумы поглощения, Å | | Растения, содержащие пигмент |
|-----------------|--|-----------|-----------------------------------|
| | в органических растворителях | в клетках | |
| III. Фикобилины | | | |
| Фикоэритрин | В H ₂ O и <i>in vivo</i> 4900, 5460, 5760 | | Главные в красных водорослях |
| Фикоцианины | В H ₂ O и <i>in vivo</i> 6180 | | Главные в сине-зеленых водорослях |
| Аллофикоцианины | В фосфатном буфере, рН 6,5 6540 | | Красные и сине-зеленые водоросли |

хлорофилл может быть окислен вновь. По-видимому, возбужденные светом молекулы хлорофилла восстанавливаются *in vivo* за счет воды. Таким образом, главный пигмент растительных клеток — хлорофилл — непосредственно участвует в окислительно-восстановительных реакциях при освещении. К этим реакциям относится и обратимое фотоокисление хлорофилла ферри-ионом [14]:

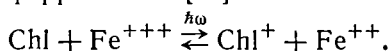
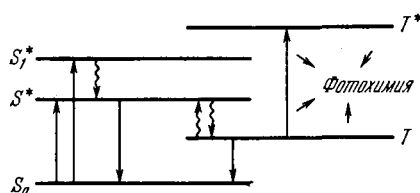


Рис. 7.5. Схема электронных уровней хлорофилла по Красновскому [11].

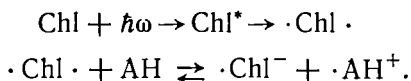


Каков же механизм реакции Красновского?

На основании исследований спектров поглощения и флуоресценции хлорофилла и его аналогов можно считать, что электронные уровни хлорофилла расположены так, как показано на рис. 7.5. В темноте молекула находится на нижнем синглетном электронном уровне S_0 . Полосы поглощения Chl соответствуют переходам $S_0 \rightarrow S^*$ (в красной области) и $S_0 \rightarrow S_1^*$ (в синей области спектра). Обратный переход $S_1^* \rightarrow S^*$ — безызлучательный (показан волнистой стрелкой); флуоресценция соответствует переходу $S^* \rightarrow S_0$. С уровня S^* возможен безызлучательный переход в триплетное состояние T , являющееся метастабильным. При поглощении света в этом состоянии Chl переходит в возбужденное триплетное состояние T^* . Об образовании метастабильного триплетного состояния хлорофилла свидетельствует фосфоресценция его замороженных растворов [15]. Схема рис. 7.5 дана в упрощенном виде, на ней не указаны колебательные уровни.

Теренин рассмотрел роль триплетных состояний в фотохимии красителей (пигментов) [16]. В этих состояниях молекула находится в неустойчивой активной конфигурации, несущей большую часть поглощенной энергии светового кванта. Такие молекулы способны эффективно участвовать в химических превращениях и в процессах миграции энергии. Роль триплетных состояний определяется большой длительностью их жизни и химической насыщенностью вследствие наличия неспаренных электронов.

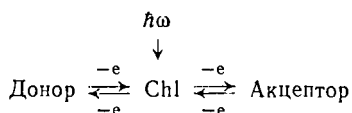
Соответственно, обратимое фотовосстановление хлорофилла можно представить схемой



Точка изображает неспаренный электрон, по-видимому, делокализованный в системе сопряженных связей порфиринового цикла. Красновский и его сотрудники доказали методом ЭПР, что при фотовосстановлении хлорофилла возникают свободные радикалы [11, 17—20].

Как уже сказано, хлорофилл подвергается и фотоокислению, в частности, кислородом при интенсивном освещении растворов Chl на воздухе. Эти явления также были детально изучены в работах Красновского и его школы [11, 21—25].

Таким образом, хлорофилл, будучи возбужден светом, может играть роль и донора, и акцептора электрона.



Сказанное относится и к ряду других порфириновых соединений — аналогов хлорофилла.

Спектр поглощения Chl *a in vivo* характеризуется сложным характером его красной полосы поглощения [26]. Это заставляет думать о наличии нескольких форм хлорофилла. Жизнь растения несомненно связана с химическими превращениями хлорофилла, биосинтез которого является важной особенностью фотосинтезирующих клеток (см. [27]). Красная полоса поглощения смещается, когда листья живого растения, выросшие в темноте, постепенно зеленеют на свету. Наличие нескольких форм хлорофилла доказывается тем, что во время постепенной его экстракции из листьев спектр поглощения меняется [28]. Различные формы, возможно, связаны с разными типами специфической агрегации молекул хлорофилла.

Энергия света, поглощенного хлорофиллом и другими пигментами, как уже сказано, может запасаться, переноситься от молекулы одного пигмента к молекуле другого, мигрировать между тождественными молекулами, излучаться в актах флуоресценции и фосфоресценции и рассеиваться, превращаясь в тепло. Проблемы, связанные с этими явлениями, рассматриваются далее. Во всех случаях первичный акт фотохимического процесса состоит в поглощении света. Эффективность использования энергии световых квантов, поглощенных вспомогательными пигментами, варьирует от 20 до 100% эффективности использования энергии, поглощенной *Chl a*. По-видимому, одна из функций вспомогательных пигментов состоит в снабжении хлорофилла *a* поглощенной энергией.

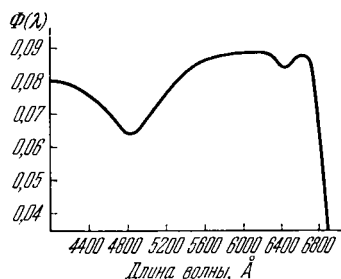


Рис. 7.6. Спектр действия (квантовый выход) фотосинтеза для хлореллы.

Количественное исследование фотохимического процесса требует прежде всего изучения спектра действия света, т. е. зависимости скорости продукции кислорода P от числа поглощенных квантов I_a и длины волны λ . Спектром действия называется функция

$$P/I_a = f(\lambda). \quad (7.2)$$

Если P — число молекул O_2 , продуцируемых в 1 с, I_a — число квантов, поглощаемых в 1 с, то $f(\lambda)$ означает квантовый выход фотосинтеза, обозначаемый $\Phi(\lambda)$. На рис. 7.6 показан график функции $\Phi(\lambda)$ для хлореллы [29]. Снижение квантового выхода в области 4500—5000 Å, соответствующей поглощению света каротиноидами, заставляет думать, что эти вещества являются относительно слабыми сенсibilizаторами фотосинтеза. Напротив, в области поглощения света фикобилинами такого падения $\Phi(\lambda)$ нет и, следовательно, фикобилины имеют такую же эффективность, как и *Chl a*. Из анализа спектров действия следует, что эффективность каротиноидов меняется от 20 до 50% эффективности *Chl a*, эффективность фикоэритрина — от 60 до 100%.

Абсолютное значение максимального квантового выхода характеризует число квантов, необходимых для выделения одной молекулы O_2 . Пользуясь методом дифференциальной манометрии, Эмерсон и Чалмерс [30] определяли порознь выделение O_2 и поглощение CO_2 при фотосинтезе. Это было осуществлено также другими методами. Количественные данные показывают, что число квантов, поглощаемых при выделении одной молекулы кислорода, равно 8 (см. [1]). Отсюда следует, что для переноса каждого атома водорода от H_2O к CO_2 нужно два кванта.

По другим данным число квантов, приходящихся на молекулу O_2 варьирует от 8 до 12.

Характерной особенностью кривых $\Phi(\lambda)$ является резкое падение квантового выхода в длинноволновой, красной, области спектра («красное падение»). Оно наблюдается вблизи 6800 Å в зеленых водорослях и вблизи 6500 Å — в красных. Сходный эффект обнаруживается в спектре действия реакции Хилла [1]. Как мы увидим, объяснение красного падения не тривиально. Chl *a* поглощает свет в этой области. Соответственно возникает вопрос, отвечает ли красная полоса поглощения Chl *a* одному или нескольким электронным переходам. Если справедливо второе, то одни переходы могут быть эффективными, другие — неэффективными при фотосинтезе.

В работах лабораторий Красновского (см. [11, 31]) и Ливингстона [32] было показано, что хлорофилл частично агрегирует в неполярных растворителях, вероятно, образуя димеры. Применение современных методов исследования — электронографии [33], инфракрасной спектроскопии и спектроскопии ЯМР к изучению агрегации пигментов позволило обосновать представление о том, что в димере образуется координационная связь карбонильной группы одной молекулы Chl с центральным атомом Mg другой молекулы [34]. Агрегированные формы Chl *a* и других пигментов получены в модельных системах — в концентрированных растворах, монослоях и пленках [35]. В модельных системах наблюдаются спектры поглощения и люминесценции, сходные с таковыми *in vivo*. Установлено, что обратимые окислительно-восстановительные фотореакции свойственны как мономерным, так и агрегированным формам (см. [11]).

Как уже указывалось, в растениях наблюдается ряд «спектральных форм» хлорофилла, в частности, Chl *a*. Среди них имеются и агрегированные. В работах Литвина и сотрудников [35, 36] установлено, что в различных фотосинтезирующих организмах фигурирует один и тот же набор форм хлорофилла. Число таких форм велико, для Chl *a* оно более 10.

Допустим, что длинноволновая часть полосы поглощения принадлежит димерам, Chl₂, в которых происходит более быстрая конверсия энергии электронного возбуждения в колебательную энергию. В этом случае димер Chl₂ малоэффективен в фотосинтезе, и красное падение объясняется. Другое объяснение состоит в том, что Chl *a in vivo* фигурирует в нескольких формах, различающихся положением полос поглощения, а также фотохимической эффективностью и выходом флуоресценции. Действительно, как показано на рис. 7.6, красная полоса Chl *a* состоит из двух компонентов примерно равной интенсивности, 6700 и 6800 Å. Имеются указания на наличие третьего слабого компонента у 6950 Å.

Ряд дополнительных фактов показывает, однако, что красное падение требует более сложного объяснения. Здесь очень важен эффект Эмерсона, состоящий в том, что свет, неэффективный в далекой красной области, становится полностью эффективным при одновременном освещении более коротковолновым излучением, например при комбинированном воздействии светом с λ 7000 и 6500 Å [37]. Эффект Эмерсона показан на рис. 7.7. Действие двойного облучения неаддитивно, выделение O_2 существенно больше суммарного эффекта при освещении двумя типами излучения, примененными порознь. Количественно эффект Эмерсона характеризуется величиной

$$\epsilon = \frac{\Delta O_2 \text{ (комбинированное — } \Delta O_2 \text{ (коротковолновое освещении))}}{\Delta O_2 \text{ (длинноволновое освещении)}}, \quad (7.3)$$

где ΔO_2 — скорость выделения кислорода. Спектр действия эффекта, т. е. зависимость ϵ от длины волны добавочного коротковолнового света, показывает, что в особенно велико, когда большая часть этого света поглощается одним из вспомогательных пигментов — Chl *b* в зеленых водорослях, Chl *c* или фикоксантолом в диатомеях и фикобилином в красных и сине-зеленых водорослях. Отсюда следует, что для полной эффективности фотосинтеза нужно поглощение одного кванта хлорофиллом *a* и другого — одним из вспомогательных пигментов. Красное падение происходит в области, в которой свет поглощается только Chl *a*.

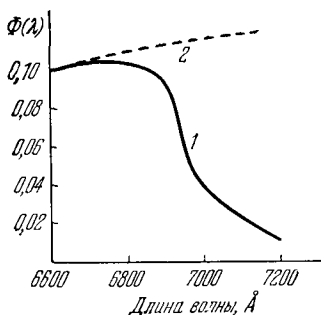


Рис. 7.7. Эффект Эмерсона в хлорелле.

1 — график $\Phi(\lambda)$ при длинноволновом освещении, 2 — график $\Phi(\lambda)$ при добавочном коротковолновом освещении.

сравнительно малой длине волны 6500 Å. Это наглядно объясняется предполагаемым поглощением двух квантов. Красные водоросли не содержат Chl *b* и область поглощения Chl *a* простирается в них примерно до 6500 Å, при более длинных волнах становится заметным поглощение света фикоцианином.

Однако предложенная интерпретация не свободна от неясностей. Фикобилин сенсibilизирует флуоресценцию Chl *a* в красных водорослях. Иными словами, кванты, поглощаемые вспомогательными пигментами, переносятся на Chl *a*. Перенос является количественным. Остается непонятым, каким образом те же кванты могут нести иную фотохимическую функцию.

Более детальное исследование эффекта Эмерсона показало, что наряду с максимумами $\epsilon(\lambda)$, соответствующими вспомогательным пигментам, в полосе поглощения $\text{Chl } a$ имеется максимум при 6800 Å (рис. 7.8) [38]. Этот результат показал, что эффект Эмерсона определяется поглощением одного кванта одной формой хлорофилла a и второго кванта — другой его формой. Максимумы на кривой спектра действия связаны не с поглощением вспомогательных пигментов, но с резонансным переносом энергии возбуждения с этих пигментов на активную форму $\text{Chl } a$.

Из изложенных фактов следует гипотеза о двух фотохимических системах, действующих в фотосинтезе — ФС I и ФС II [1, 39]. Система II флуоресцирует сильно, система I — слабо. В зеленых растениях ФС II содержит хлорофилл a с максимумами поглощения 6700 и 6800 Å, но не 6950 Å. ФС I содержит все эти три формы $\text{Chl } a$. Кванты, поглощенные в ФС I на $\text{Chl } a$ 6950 и энергия их диссипирует, чем и объясняется низкий выход флуоресценции. Появление пика при 6700 Å на кривой $\epsilon(\lambda)$ объясняется тем, что ФС II содержит большую долю $\text{Chl } a$ 6700, чем ФС I .

Если две фотохимические системы сенсibiliзируют две последовательные фотохимические реакции, то они должны действовать с одинаковой скоростью. Свет поглощается одновременно в обеих системах, но в неодинаковой степени. При $\lambda > 6500$ Å в красных водорослях и при $\lambda > 6800$ Å в зеленых водорослях система I получает избыточную, а система II недостаточную энергию, чем и объясняется красное падение. Нарушается баланс, необходимый для совместной работы двух систем. Баланс этот улучшается при одновременном освещении более коротковолновым светом [1].

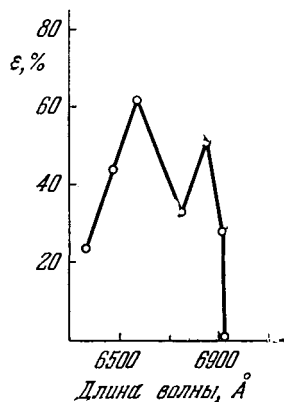


Рис. 7.8. Спектр действия эффекта Эмерсона для хлореллы.

§ 7.3. ДВЕ ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

Если световые реакции, сенсibiliзированные двумя фотохимическими системами, происходят последовательно, то можно определить спектр поглощения каждой системы, измерив спектры действия фотосинтеза при сильном, но не насыщающем воздействии светом, поглощаемым другой системой. Скорость общей реакции в этом случае определяется лимитирующим

процессом. Если избыточный свет поглощается системой *I*, то скорость реакции, а значит, и спектр действия, лимитируется системой *II* и наоборот. Соответствующие измерения привели к установлению спектров поглощения обеих систем (рис. 7.9) [40]. ФС *II* несколько богаче Chl *b* и Chl *a* 6700, ФС *I* содержит больше Chl *a* 6800 и Chl *a* 6950. Нельзя, следовательно, считать, что Chl *a* 6700 служит сенсibilизатором одной фотохимической реакции, Chl *a* 6800 — другой. Обе реакции связаны друг с другом относительно медленным темновым процессом. Это доказывается тем, что эффект Эмерсона наблюдается и при вхождении в реакционный сосуд под прямым углом друг к другу двух лучей

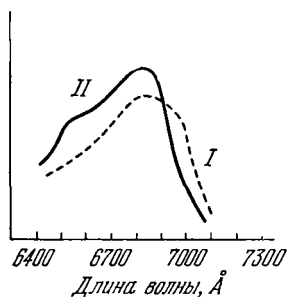


Рис. 7.9. Спектры поглощения ФС *I* и ФС *II* в хлорелле.

По оси ординат — оптическая плотность.

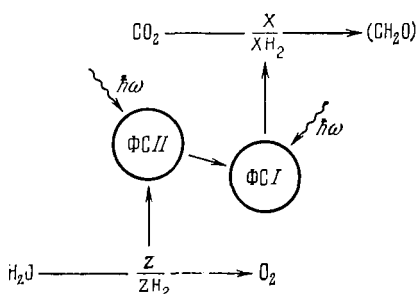


Рис. 7.10. Схема фотосинтеза с двумя фотохимическими стадиями, сенсibilизированными ФС *I* и ФС *II*.

света разной длины волны. При таких условиях коротко- и длинноволновый свет поглощается клетками водорослей в разное время. Эффект Эмерсона обнаруживается при прерывистом воздействии света с разной длиной волны с интервалом между вспышками, достигающим нескольких секунд [41]. В красных водорослях *Porphyridium* выделение O_2 при вспышке зеленого света усиливается, если ей предшествует вспышка красного света, поглощаемого Chl *a* в ФС *I*. Отсюда следует, что при этом получается долгоживущее промежуточное соединение. Время его полураспада оценивается в 18 с. Напротив, выделение O_2 при вспышке красного света не усиливается, если ей предшествует вспышка зеленого; таким образом, зеленый свет, поглощаемый ФС *II*, не создает долгоживущих промежуточных соединений.

Из сказанного следует, что общую схему фотосинтеза можно представить рис. 7.10. Мы пришли к уточнению схемы, показанной на рис. 7.1 [1].

Каким образом поглощенные кванты распределяются между двумя системами так, что они работают с одинаковой скоростью? Здесь предложены две гипотезы. Согласно первой из

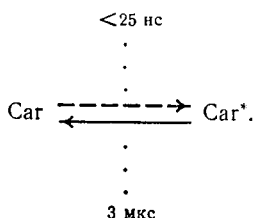
них, избыточная световая энергия, поглощенная ФС II , «переливается» в ФС I , но не наоборот, так как переход энергии возбуждения с $\text{Chl } a$ 6950 на хлорофиллы a 6800 и 6700 затруднен высоким барьером. «Переливание» приводит к сбалансированному возбуждению обеих систем в области спектра, в которой больше света поглощается ФС II , чем ФС I . Оно объясняет красное падение при $\lambda > 6800 \text{ \AA}$, где свет поглощается главным образом $\text{Chl } a$ 6950 в ФС I . В водорослях, содержащих фикобилин, $\text{Chl } a$ в основном содержится в ФС I , и красное падение начинается при 6500 \AA .

Вторая гипотеза исходит из пространственного разделения ФС I и ФС II , находящихся в «отдельных пакетах» (см. [42]). Эта гипотеза более правдоподобна, так как пространственное разделение систем подтверждается опытами по фракционированию вещества хлоропластов. Сбалансированное возбуждение определяется в этом случае не переносом энергии от ФС II к ФС I , но наличием в обеих системах одинаковых пигментов, хотя и в разных пропорциях. Квантовый выход фотосинтеза должен при этом иметь минимумы в областях, в которых одна из систем поглощает свет сильнее, чем другая. Соответствующая тонкая структура спектра действия была действительно обнаружена.

Изучение дифференциальных спектров поглощения дало богатую информацию о двух фотохимических системах. Дифференциальные спектры исследуются при одновременном поглощении света, возбуждающего фотосинтез. Возбуждающий пучок направлен перпендикулярно к аналитическому. Исследуются изменения в дифференциальном поглощении слабого света при наличии сильного монохроматического освещения (в частности вспышечного) по сравнению с темнотой. Дифференциальный спектр дает сведения о пигментах, испытывающих обратимые изменения при фотосинтезе. Варьируя длину волны возбуждения, удается получить спектр действия и определить пигменты, сенсibiliзирующие изменения в поглощении. Этот метод был развит Дейзенсом [42], вспышечная техника — в работах Кока [43] и Витта [44]. Именно при помощи вспышечной техники, подробно описанной в [44], была получена наиболее детализированная информация о молекулярных событиях при фотосинтезе. Эта техника дает возможность измерять времена жизни τ возникающих промежуточных соединений и времена их появления и исчезновения в интервале от 10^{-1} до 10^{-8} с. Времена эти широко варьируют для разных процессов.

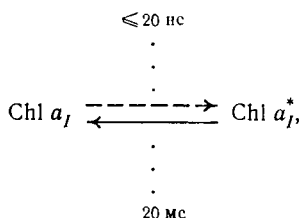
В клетках хлореллы и в хлоропластах зеленых растений при освещении обнаружены изменения поглощения с временем жизни $\tau = 3$ мкс и временем появления промежуточных соединений, меньшим 25 нс [45, 46]. Дифференциальный спектр этих изменений имеет три отрицательных пика при 4300, 4600 и 4900 \AA и

положительный при 5200 Å. Таким образом, в синей области происходит выцветание. Оно интерпретируется как переход некоего каротиноида в метастабильную форму



Это доказывается рядом фактов. Спектр исследуется при температурах, меньших — 160 °С, при которых заблокированы все химические реакции. Он наблюдается при блокировке фотосинтеза добавленным ядом 3-(3,4-дихлорфенил)-1,1-диметилмочевинной (ДХММ) и исчезает полностью в присутствии парамагнитных тушителей (O_2). В гексане метастабильные состояния каротиноидов характеризуются полосой 5140 Å, близкой к 5200 Å. Возникновение Car^* имеет очевидный биологический смысл. При избыточном освещении энергия должна диссипировать, что и осуществляется через посредство Car^* . Каротиноиды защищают хлорофилл от фотоокисления при избытке света.

Изучение ФС I показало, что содержащийся в ней $\text{Chl } a$, обозначаемый $\text{Chl } a_I$, окисляется на свету. Этот процесс, представляемый схемой



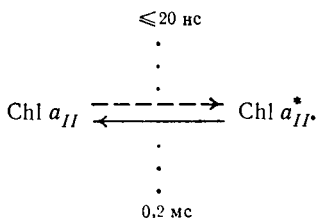
обнаруживается по появлению в дифференциальном спектре отрицательных полос при 4380, 6600, 6820 и 7000 Å [47]. Первая и последняя полосы сильные. При добавлении феррицианида к суспензиям хлоропластов амплитуды этих изменений сильно убывают. $\text{Chl } a_I$ окисляется феррицианидом в темноте и восстанавливается в темноте N-метилфеназониумсульфатом (МФС). В бутаноле фотоокисление чистого $\text{Chl } a$ сопровождается появлением отрицательных полос при 4320 и 6660 Å [48], что согласуется с результатами, полученными Красновским [11, 49].

Очень быстрое окисление хлорофилла $\text{Chl } a_I$ показывает, что это первичный продукт. Электрон переходит с $\text{Chl } a_I$ на НАДФ⁺.

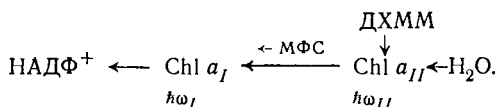
Установлена стехиометрия 1:1 окисления $\text{Chl } a_I$ и восстановления НАДФ⁺ [43]. Восстановление $\text{Chl } a_I$ полностью блокируется ядом ДХММ. Так как этот яд специфически блокирует окисление воды, то конечным донором электрона для $\text{Chl } a_I^+$ служит вода.

Свет с $\lambda < 7000 \text{ \AA}$ вызывает обратимые изменения поглощения $\text{Chl } a_I$. За окислением следует восстановление в течение 20 мс. Однако в далекой красной области 7000—7300 \AA происходит лишь окисление хлорофилла a_I . Как уже сказано, свет с энергией кванта $\hbar\omega_I$ вызывает окисление $\text{Chl } a_I$, свет с энергией кванта $\hbar\omega_{II}$ поглощается в ФС II, в результате чего электроны H_2O могут быть использованы для восстановления $\text{Chl } a_I$. Пигмент в ФС II может возбуждаться лишь при $\lambda < 7000 \text{ \AA}$. Это, по-видимому, также $\text{Chl } a$, обозначаемый $\text{Chl } a_{II}$. Различие $\text{Chl } a_I$ и $\text{Chl } a_{II}$, возможно, сводится к различию в их окружении. Первый — «длинноволновый», второй — «коротковолновый» хлорофилл.

Время жизни $\text{Chl } a_{II}$ в 100 раз меньше, чем $\text{Chl } a_I$. Тем не менее, удалось выделить реакцию $\text{Chl } a_{II}$ на свету, характеризующую отрицательными пиками при 4350 и 6820 \AA [50]. Схема реакции имеет вид



Как связаны ФС I и ФС II, т. е. $\text{Chl } a_I$ и $\text{Chl } a_{II}$? Окисление H_2O блокируется ДХММ. Следовательно, этот яд должен вызывать исчезновение обратимых изменений $\text{Chl } a_I$ и $\text{Chl } a_{II}$, если они связаны последовательно. В присутствии ДХММ искусственный донор электронов МФС может снабдить $\text{Chl } a_I$ электронами вместо H_2O . Если оба хлорофилла связаны, то МФС может реактивировать $\text{Chl } a_I$, но не $\text{Chl } a_{II}$. Это и наблюдается в соответствии со схемой [44]:



Приведенная схема следует из результатов, полученных с помощью импульсной методики. Не следует, однако, думать, что эта методика дает исчерпывающие данные. Если какой-либо из доноров и акцепторов электрона, участвующий в фотосин-

тетической системе, не имеет соответствующей полосы поглощения, то он может быть не замечен. Так, перенос электрона с $\text{Chl } a_I$ на НАДФ идет в действительности через ферредоксин (см. далее стр. 353).

Приводимые здесь схемы (они заимствованы у Витта [44]) нельзя считать окончательными. По мере улучшения методики и увеличения точности результатов экспериментов картина все более усложняется. Ясно, что в исследованиях сложных проблем фотосинтеза должны применяться (и применяются) различные методы, дополняющие друг друга.

Свойства $\text{Chl } a_I$ и $\text{Chl } a_{II}$ представлены в табл. 7.2 [44].

Таблица 7.2

Свойства хлорофиллов I и II

| Свойства | $\text{Chl } a_I$ | $\text{Chl } a_{II}$ |
|---|-------------------------|--|
| Тип реакции | Донор электрона | Сенсибилизатор ? |
| Характеристические изменения поглощения | 4380, 6600, 6820—7030 Å | 4350, 6400, 6820 Å |
| Время появления | Расщепление полос | Нет расщепления |
| Время жизни (20 °С) | ≤ 20 нс | ≤ 20 нс |
| Потенциал | 20 мс | 0,2 мс |
| Область возбуждения | + 0,45 В | — |
| Область рН | < 7300 Å | < 7000 Å |
| Температура инактивации | 3—11 | ? |
| Время старения (0 °С) | 65 °С | 55 °С |
| Действующая концентрация ДХММ | Нет | τ ≈ 95 час с ≈ 10 ⁻⁷ М/л |

Связь ФС I и ФС II осуществляется посредством пластохинонов (ПХ). При экстрагировании петролейным эфиром хлоропласты утрачивают способность окислять воду, но эта способность восстанавливается при добавлении ПХ [51]. ПХ участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. Возбужденный $\text{Chl } a'_{II}$ восстанавливает ПХ до гидрохинона, $\text{Chl } a'_I$ окисляет его вновь. ПХ расположены в виде «пула», содержащего около пяти молекул, между ФС I и ФС II . (Подробности, относящиеся к кинетическому поведению ПХ, см. в [44], а также далее, см. стр. 372).

Этим дело, однако, не ограничивается. В окислительно-восстановительной цепи две молекулы $\text{Chl } a_{II}$ находятся в контакте с двумя молекулами неидентифицированного пока что вещества X — возможно также пластохинона, но находящегося в другом окружении. Вещество X восстанавливается $\text{Chl } a_{II}$ и служит переносчиком электрона. Максимальные изменения в

дифференциальном спектре X — положительная полоса при 3350 Å. Таким образом, получаем схему

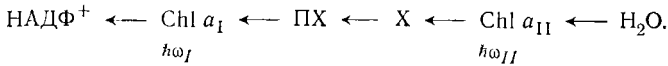


Схема эта не полна — между ПХ и Chl a_I имеются промежуточные переносчики электронов, равно как между Chl a_I и НАДФ⁺ (ферредоксин).

Ранее было известно, что в хлоропластах содержатся по крайней мере два цитохрома — цитохром b_6 с окислительно-восстановительным потенциалом, близким к 0,0 В, и цитохром f с потенциалом, близким к +0,42 В. Позднее был найден еще и цитохром b_3 с потенциалом около -0,15 В. Дифференциальные спектры показывают, что цитохромы (прежде всего цитохром f) испытывают обратимое окисление в освещенных фотосинтезирующих клетках. Дифференциальный спектр цитохромов, полученный Дейзенсом и сотрудниками [52], показан на рис. 7.11.

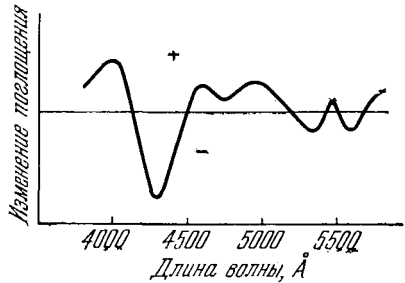
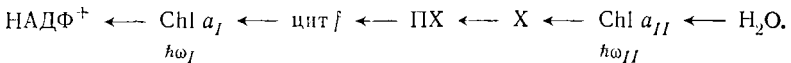


Рис. 7.11. Дифференциальный спектр цитохромов в фотосинтезирующих системах.

Потенциалы цитохромов промежуточны между потенциалами ФС I и ФС II, соответственно цитохромы занимают промежуточное положение между ФС I и ФС II. Фотоокисление цитохрома f происходит только на свету, поглощаемом ФС I, т. е. Chl a_I в красных водорослях. Свет, поглощаемый ФС II, т. е. фикоэритрином в красных водорослях, вызывает усиленное восстановление окисленного цитохрома f . Другие факты, характеризующие роль цитохромов, приведены в [44]. Получается схема



По-видимому, один из цитохромов — цитохром b_3 — функционирует в окисленной форме как первичный окислитель в ФС II [53]. Он служит акцептором электронов, происходящих из H₂O. Цитохром f может служить в восстановленной форме донором электронов в ФС I, передающим электрон на пиридин-нуклеотид. После этого цитохромы b_3 и f взаимодействуют, причем снова возникает окисленное состояние первого и восстановленное второго. При этом освобождается свободная энергия,

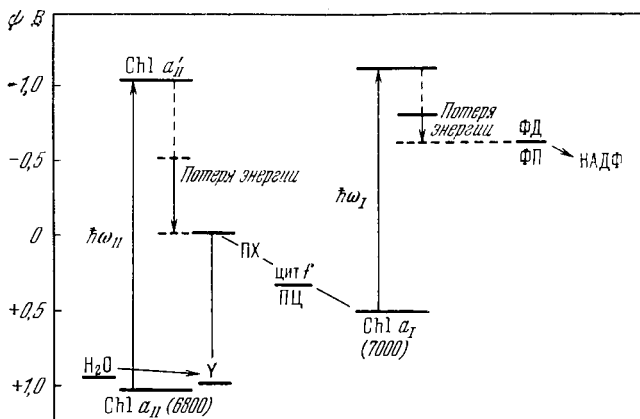


Рис. 7.12. Энергетическая схема событий, происходящих в ФС I и ФС II. ПЦ—пластоцианин, ПХ—пластохинон, ФД—ферредоксин, ФП—флавопротеид.

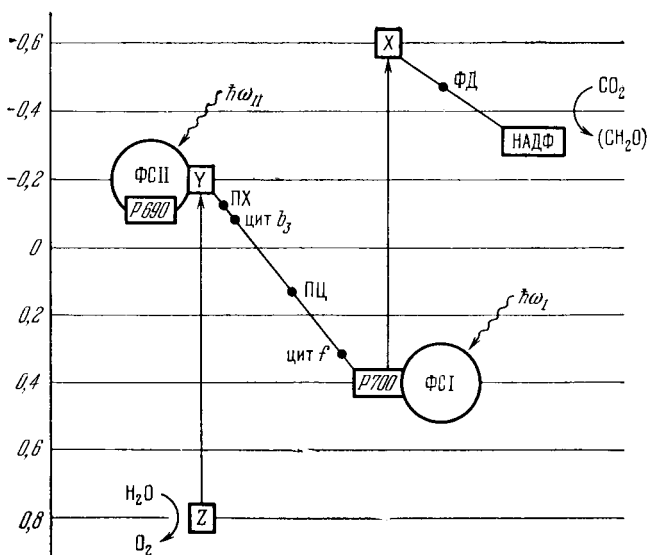


Рис. 7.13. Схема фотосинтеза.

Z и Y—первичные доноры и акцепторы электронов световой реакции II, P 700 и X—первичные доноры и акцепторы электронов реакции I, P 690—реакционный центр ФС II, P 700—реакционный центр ФС I, ПХ—пластохинон, ПЦ—пластоцианин, ФД—ферредоксин. По оси ординат отложены окислительно-восстановительные потенциалы в вольтах.

равная 0,4 эВ, которая может быть использована для синтеза АТФ. На рис. 7.12 показана энергетическая диаграмма событий в ФС I и ФС II [44], а на рис. 7.13 — общая схема фотосинтеза (ср. рис. 7.10 и 7.1). Наконец, на рис. 7.14 приведена весьма детализированная схема переноса электронов от H_2O к НАДФ^+ в хлоропластах [44]. На схеме указаны временные и спектроскопические характеристики соответствующих процессов. Время окисления ПХ 20 мс является лимитирующим. Одновременно функционируют две цепи переноса электронов. Это доказывает следующие соображения: образование пластохинона за одну вспышку, в которой переносится только один

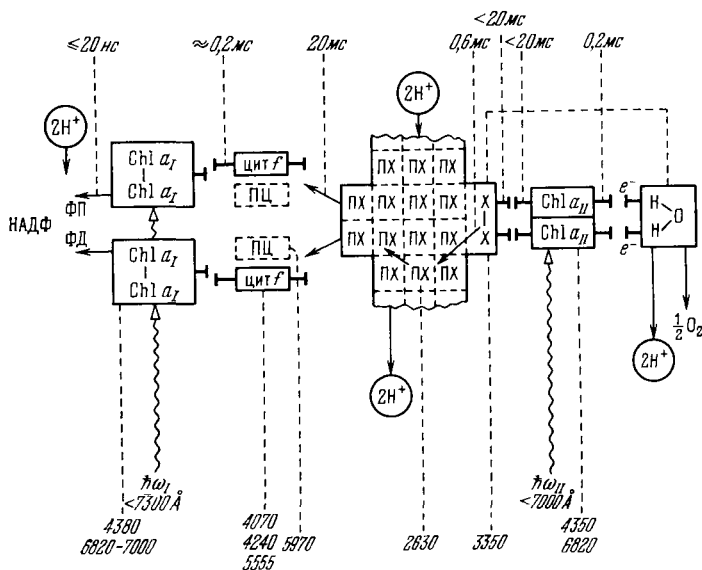


Рис. 7.14. Схема переноса электронов от H_2O к НАДФ^+ в хлоропластах [44].

электрон, можно понять, лишь если две цепи действуют параллельно; первый порядок реакции исчезновения X^- 3350 (донор электрона для ПХ) можно объяснить лишь наличием двух цепей; кооперация двух $\text{Chl } a_{II}$ доказывается блокированием двух центров $\text{Chl } a_{II}$ одной молекулой ДХММ.

§ 7.4. ИССЛЕДОВАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Изучение спектров флуоресценции фотосинтезирующей системы дает ценную информацию о ФС I и ФС II, несмотря на трудности интерпретации получаемых данных. Флуоресцирующая фотосинтезирующая система состоит из различных форм

пигментов, между молекулами которых возможна миграция энергии (см. далее, стр.370), что очень усложняет картину.

Квантовый выход флуоресценции *Chl a* составляет 30% *in vitro* и лишь 3—6% *in vivo*. В последнем случае флуоресцируют несколько форм хлорофилла *a*, различающиеся спектрами испускания и квантовыми выходами. Эти формы характеризуются различной зависимостью флуоресценции от интенсивности освещения и различным образом изменяются во время индукционного периода. Квантовый выход флуоресценции фикобилинов не зависит от интенсивности освещения. Энергия, запасаемая

в *Chl a*, может расходоваться в фотосинтезе или излучаться. Малый выход флуоресценции определяется именно тем, что энергия идет на фотосинтез.

Спектр флуоресценции *Chl a* показан на рис. 7.15 [1]. Главная полоса 6850 Å и колебательный спутник 7400 Å отличаются колебательной энергией, отвечающей частоте 1460 см⁻¹, характерной для деформационного колебания CN₂-группы. При сильном освещении, превышающем насыщенное для фотосинтеза, квантовый выход флуоресценции примерно удваивается. Он возрастает также при низких

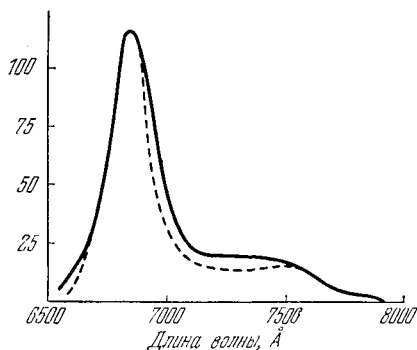


Рис. 7.15. Спектр флуоресценции хлореллы при возбуждении светом с λ 4200 Å (сплошная кривая) и 4800 Å (пунктир).

По оси ординат — квантовый выход флуоресценции в произвольных единицах.

температурах. Квантовый выход сильно меняется при быстром переносе клеток из темноты на свет во время периода индукции фотосинтеза. Изменение флуоресценции в этом периоде отражает работу цепи переноса электронов.

Главная полоса испускания *Chl a in vivo*, обозначаемая F 685, в действительности содержит вторую более слабую компоненту в области 7000 Å. При возбуждении клеток хлореллы светом с λ 4400 Å, поглощаемым *Chl a*, длинноволновая компонента сильнее, чем при возбуждении светом с λ 4800 Å, поглощаемым *Chl b*. Следовательно, полоса флуоресценции при λ 7200 Å (F 720) определяется ФС I. Главная полоса, напротив, относится к ФС II. В красных и сине-зеленых водорослях зеленый свет, поглощаемый фикобилинами, более эффективен для возбуждения флуоресценции *Chl a*, чем свет, поглощаемый самим *Chl a*. Фикобилины содержатся преимущественно в ФС II. Из этих фактов вновь следует, что имеются две формы хлоро-

филла a — флуоресцентная $\text{Chl } a_{II}$ и нефлуоресцентная (слабо флуоресцентная) $\text{Chl } a_I$.

Допустим, что возбуждение молекулы завершается либо излучением с вероятностью f , либо внутренней конверсией, безызлучательным переходом, с вероятностью g . Число возбужденных молекул n удовлетворяет дифференциальному уравнению

$$\dot{n} = -(f + g)n \quad (7.4)$$

с решением

$$n(t) = n(0) \exp[-(f + g)t]. \quad (7.5)$$

Квантовый выход излучения равен

$$\Phi = \frac{1}{n(0)} \int_0^{\infty} f n(t) dt = \frac{f}{f + g}; \quad (7.6)$$

для среднего времени жизни имеем

$$\tau = \int_0^{\infty} t dn / \int_0^{\infty} dn = \frac{1}{f + g}. \quad (7.7)$$

Следовательно, $\tau = \Phi \tau_0$, где $\tau_0 = 1/f$ — «естественное» время жизни в отсутствие тушения при $g = 0$. Для $\text{Chl } a$ $\tau_0 = 15$ нс и квантовый выход *in vitro* $\Phi = \tau/\tau_0 = 4,5/15 = 0,3$. *In vivo* при слабом освещении $\Phi = 0,05$, при сильном — $\Phi = 0,09$, тогда как прямые измерения дают соответственно значения 0,03 и 0,06. Расхождение объясняется наличием значительной доли нефлуоресцирующего $\text{Chl } a$ *in vivo*. Расхождение устранилось, если не светится около половины всего хлорофилла a .

Спектр действия флуоресценции $\text{Chl } a$ *in vivo*, т.е. зависимость Φ от длины волны возбуждающего света, характеризуется, как и следовало ожидать, красным падением. Оно начинается в области 6750 Å. Красное падение, по-видимому, связано не с $\text{Chl } a$ 6800, а с минорной компонентой $\text{Chl } a_I$ 6950, находящейся лишь в ФС I, тогда как компоненты 6700 и 6800 присутствуют в обеих фотосинтетических системах и дают примерно равные вклады в флуоресценцию. Действительно, при деструкции $\text{Chl } a$ 6950 при помощи ультразвука красное падение исчезает.

Сложность флуоресценции $\text{Chl } a$ *in vivo* подтверждается ее изменением во время индукционного периода фотосинтеза. Если клетки хлореллы подвергаются сильному освещению после длительного пребывания в темноте, выход Φ практически мгновенно достигает некоторого уровня. Через несколько миллисе-

кунд Φ повышается примерно втрое, потом слегка убывает, затем достигает максимального уровня, пятикратного по сравнению с начальным. После этого Φ убывает до стационарного значения, достигаемого через несколько минут. Анализ такого поведения показывает, что за него ответственна полоса флуоресценции 6850 Å, относящаяся к ФС II. Слабая флуоресценция ФС I остается практически постоянной во времени.

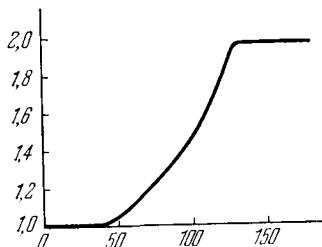


Рис. 7.16. Зависимость выхода флуоресценции (в условных единицах) *Porphyridium* от интенсивности освещения (в условных единицах).

При низких температурах полосы флуоресценции сужаются и уменьшается их перекрывание. Так, при 4 К были обнаружены три длинноволновые полосы испускания при 6890, 6980 и 7250 Å. Охлаждение способствует излучению из ловушек, энергетическая глубина которых оценивается в 1—2 $k_B T$ при комнатной температуре, 5—8 $k_B T$ при 77 К и 100—150 $k_B T$ при 4 К. Полоса 6950 Å, наблюдаемая

лишь при температурах ниже 140 К, возможно, обусловлена эмиссией из ловушек в ФС II. Полосы 6850 и 6980 Å возбуждаются главным образом при поглощении в ФС II, а полоса 7250 Å — при поглощении в ФС I [1].

В растворах хлорофилла, равно как и других красителей, интенсивность флуоресценции F пропорциональна интенсивности освещения I , т. е. квантовый выход флуоресценции не зависит от I . *In vivo*, однако, выход F/I идет к насыщению с ростом I (рис. 7.16) [1]. При насыщении фотосинтеза выход при-

Таблица 7.3

Некоторые характеристики двух фракций вещества хлоропластов [1]

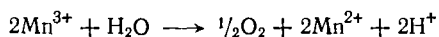
| Свойства | Легкая фракция | Тяжелая фракция |
|---|---------------------------|---------------------------|
| Отношение Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i> | 5,3 | 2,3 |
| Относительное содержание цитохрома | 1 | 3 |
| Отношение каротинол/каротин | 1,9 | 3,3 |
| Относительное содержание Fe | 1—5 | 1 |
| Относительное содержание Mn | 1 | 5 |
| Способность восстанавливать НАДФ ⁺ | Высокая | Низкая |
| Доля поляризации флуоресценции, возбужденной поляризованным светом, % | 5,4 | 2,7 |
| Квантовый выход флуоресценции | Низкий | Высокий |
| Спектр испускания при 77 К | Больше с λ 7200 Å | Больше с λ 6960 Å |

мерно удваивается. Причина этого пока не ясна [1]. Изучение спектральных свойств хлоропластов позволило локализовать фотосинтетические системы — фракционирование вещества хлоропластов и исследование спектров поглощения и флуоресценции двух фракций — легкой и тяжелой — показывает, что легкая фракция содержит преимущественно ФС I, а тяжелая — ФС II (табл. 7.3).

Существенные аргументы в пользу функционирования двух пигментных систем следуют из изучения флуоресценции. Однако мы не располагаем пока сколько-нибудь полной интерпретацией флуоресценции растительных клеток *in vivo*.

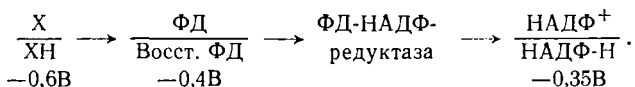
§ 7.5. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ФОТОСИНТЕЗА

Основными продуктами двух первичных фотохимических реакций являются восстановленное промежуточное соединение ХН и окисленное Z (см. рис. 7.1). Окислитель Z окисляет H_2O до O_2 , ХН восстанавливает CO_2 до углевода. Процессы эти протекают с участием ферментов. Ферментативная система, участвующая в выделении O_2 , содержит марганец. Установлено, что ион марганца участвует в реакции, фотокатализируемой ФС II (см. табл. 7.3). Пара Mn^{3+}/Mn^{2+} характеризуется высоким окислительно-восстановительным потенциалом (около 1,5 В). Можно предположить, что Mn^{2+} испытывает фотоокисление до Mn^{3+} во второй световой реакции, а затем Mn^{3+} окисляет воду в темновой реакции:



для чего нужно более чем +0,75 эВ. Конечно, речь здесь идет о Мп как кофакторе фермента.

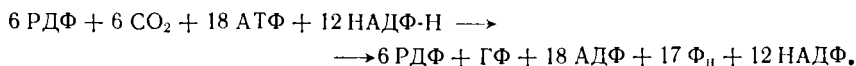
Таким образом, предположительно Z есть фермент, содержащий трехвалентный марганец. Предполагалось, что X это НАДФ⁺ (пара НАДФ⁺/НАДФ-Н имеет потенциал —0,35 В). В действительности имеется не менее чем два предшественика — железосодержащий белок ферредоксин ФД и фермент ферредоксин-НАДФ-редуктаза. Установлено, что освещенные хлоропласты восстанавливают пигмент вплоть до —0,6 В [44]. Предположительно потенциал X близок к этой величине. Схема возможных реакций [1] записывается в виде



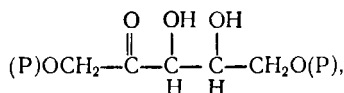
Гораздо лучше известен химический путь, ведущий от CO_2 (восстанавливаемого такими веществами, как НАДФ-Н) к углеводу.

Этот путь был установлен Кальвином и его сотрудниками, широко использовавшими радиоактивную метку — углерод C^{14} [54—56].

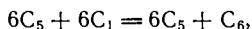
Стехиометрическое уравнение, описывающее брутто-реакцию фиксации двуокиси углерода, имеет вид



Здесь РДФ — рибозо-1,5-дифосфат



ГФ — гексозофосфат. РДФ является первичным акцептором CO_2 . Путь углерода в фотосинтезе — последовательности темновых реакций — описывается так называемым циклом Кальвина — Бассама. Этот цикл состоит из 13 стадий, катализируемых соответствующими ферментами (см. [55]). Суммарная реакция написана выше. В сокращенных обозначениях



где индексы обозначают число атомов углерода в соединении.

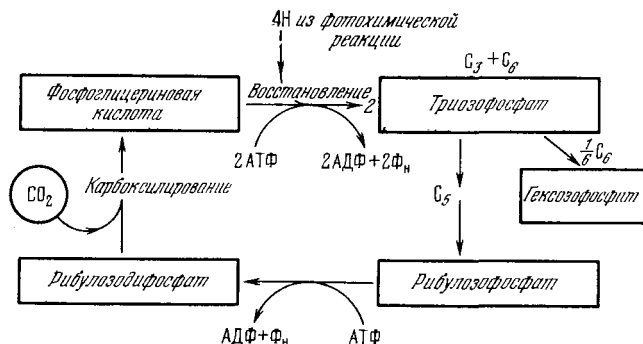


Рис. 7.17. Упрощенная схема цикла превращений углерода по Кальвину.

Упрощенная схема цикла Кальвина показана на рис. 7.17, более детализированная его схема — на рис. 7.18. Результирующий гексозофосфат гидролизуется с отщеплением фосфата. На образование одной молекулы гексозы из 6 молекул CO_2 расходуется энергия 18 молекул АТФ. Именно эти молекулы образуются при переносе электронов в процессе фотосинтеза —

происходит фотофосфорилирование АДФ. Суммарная реакция имеет вид



Эта реакция реализуется в полной системе с участием пигментных систем и цепи переноса электронов. Главные физические

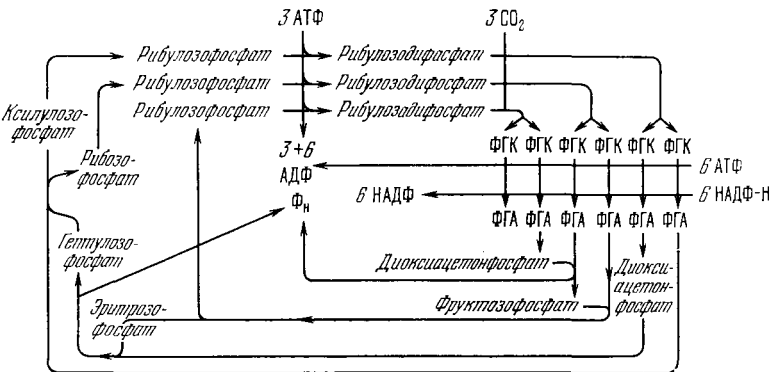


Рис. 7.18. Путь углерода в фотосинтезе.

ФГК — 3-фосфоглицерат, ФГА — глицеральдегид-3-фосфат.

проблемы фотосинтеза относятся к механизму фотофосфорилирования, т.е. превращения световой энергии в химическую энергию макроэрга. Эти проблемы рассматриваются в следующих двух параграфах.

§ 7.6. ХЛОРОПЛАСТЫ

Как уже сказано, фотосинтез происходит в органоидах растительных клеток, именуемых *хлоропластами*. На рис. 7.19 приведена электронная микрофотография среза хлоропласта из листа кукурузы [57]. Хлоропласты имеют диаметры, варьирующие от 3 до 10 мкм, и толщину от 1,5 до 3 мкм. Таким образом, хлоропласт заполняет почти всю клетку зеленой водоросли. На рис. 7.19 в хлоропласте видны примерно параллельные *ламеллы*, погруженные в более светлую стromу. У высших растений ламеллы плотно упакованы параллельно друг другу и образуют стопки, называемые *гранами*. Ламеллы представляют собой сечения уплощенных замкнутых мешочков — *тилакоидов*, имеющих диаметр около 5000 Å. Число тилакоидов в хлоропласте порядка 1000. Модель структуры хлоропласта, предложенная Вейером [58], показана на рис. 7.20 [57]. Мембрана тилакоида имеет толщину около 100 Å.

Ряд фактов показывает, что все процессы фотосинтеза локализованы в тилакоидных мембранах. Именно в них содержатся активные пигменты, прежде всего хлорофилл. Фрагменты тилакоидов реализуют реакцию Хилла и фотофосфорилирование.

Из фактов, изложенных выше, следует, что молекулы хлорофилла в хлоропластах действуют независимо друг от друга, но

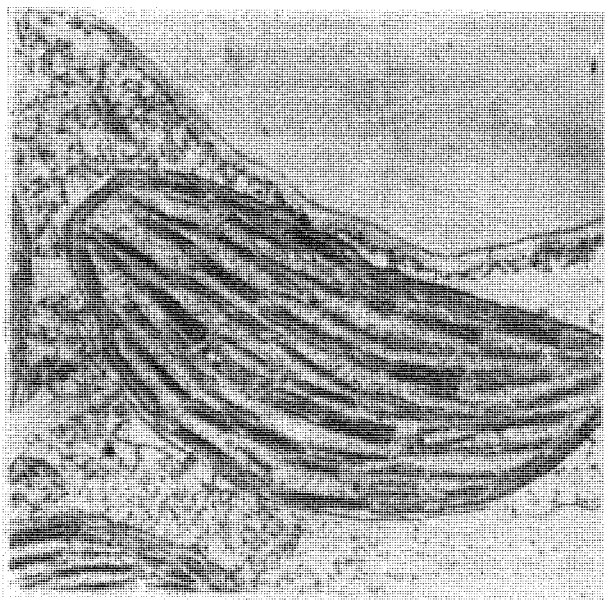


Рис. 7.19. Электронная микрофотография среза хлоропласта

согласованно, что обуславливается, по-видимому, наличием определенных функциональных единиц, локализованных в тилакоидах. Установлено, что некоторая доля молекул $\text{Chl } a$, поглощающих свет вблизи 7000 \AA , ориентирована в хлоропласте определенным образом. Об этом свидетельствуют измерения дихроизма [59, 60]. Цитохром f , по-видимому, расположен близко к этим ориентированным молекулам хлорофилла. При освещении зеленых листьев поглощение в цитохроме f при 5530 \AA уменьшается, т. е. он окисляется. Это происходит и при низких температурах. Одновременно наблюдаются и изменения в спектре $\text{Chl } a$. Отметим, что при низких температурах затруднен транспорт электрона на большие расстояния. Отсюда можно заключить, что цитохром f каким-то образом ассоциирован с $\text{Chl } a$ или с $\text{P } 700$ [57, 61] (см. также § 7.7).

Как указывалось выше, фотосинтез происходит в двух фотохимических системах. Проблема пространственной локализации этих систем в хлоропластах очень актуальна.

При деструкции хлоропластов ультразвуком было установлено, что частицы с константой седиментации 38S, имеющие диаметр порядка 300 Å, сохраняют способность к реакции Хилла [62]. Частицы объемом менее $15 \cdot 10^5 \text{ Å}^3$ уже не активны [63]. Отсюда следует, что наименьшее число молекул хлорофилла, активных в фотосинтезе, равно 40—120 [57].

При освещении хлоропластов или целостных фотосинтезирующих организмов (водорослей) наблюдаются два сигнала ЭПР. Первый сигнал (*R*) представляет собой резкий пик, быстро возникающий и быстро исчезающий. Второй сигнал (*S*) — широкий, медленно возрастающий и еще медленнее исчезающий. *R*-сигнал приписывается Chl *a* и, возможно, P700, т. е. ФС I, *S*-сигнал — ФС II [64]. *R*-сигнал генерируется наименьшими частицами, получающимися при разрушении хлоропластов, напротив, *S*-сигнал исчезает уже у гораздо больших фрагментов [65].

Опыты по сегментации хлоропластов показывают, что фотосинтетическая активность действительно присуща отдельным тилакоидам (см. [57, 66]). Более точная локализация пигментных систем пока не установлена. Для этого нужно было бы провести опыты по реконструкции фотосинтетической системы из неактивных фрагментов.

Структурные исследования тилакоидов методом электронной микроскопии показывают, что тилакоиды содержат регулярные, кристаллоподобные системы плотно упакованных гранул [66, 67]. На рис. 7.21 показана электронная микрофотография среза тилакоида из листа шпината. На ней хорошо видны гранулы, размером $185 \times 155 \times 100 \text{ Å}^3$. На некоторых микрофотографиях удается увидеть, что эти частицы в свою очередь построены из четырех или большего числа субъединиц. Молекулярный вес

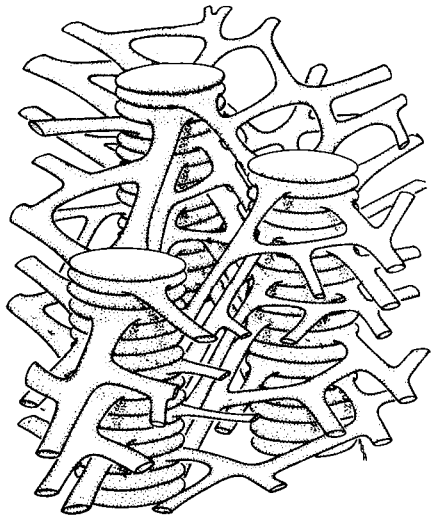


Рис. 7.20. Модель структуры хлоропласта.

гранулы оценивается в $2 \cdot 10^6$. Зная состав ламелл, можно, исходя из этой оценки, определить число молекул различных веществ в грануле. Соответствующие данные приведены в табл. 7.4 [67].

Число молекул хлорофилла, равное 230, находится в разумном согласии с независимой оценкой для фотосинтетической единицы (см. стр. 337).

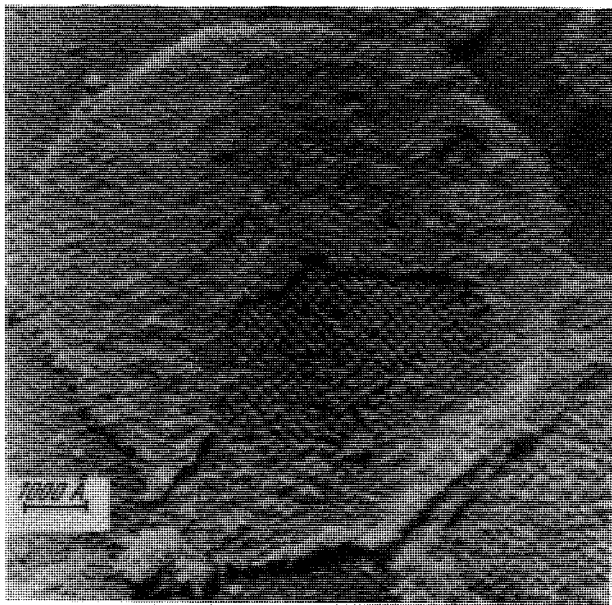


Рис. 7.21. Электронная микрофотография среза тилакоида.

Значение этих гранул снижается тем обстоятельством, что их упаковка варьирует в зависимости от условий роста растения. Частицы, обладающие размерами, близкими к указанным, способны реализовать реакцию Хилла, но не полный фотосинтез, даже если к ним добавлены растворимые компоненты хлоропластов [57].

Рассеяние рентгеновых лучей под малыми углами дает информацию о размерах ламелл [69]. Каждый тилакоид состоит из корпускулярного слоя, построенного из частиц диаметром 31—36 Å. Внутри слоя находится непрерывный элемент толщиной в 42 Å. Общая толщина тилакоида, состоящего из замкнутого корпускулярного слоя, окружающего замкнутый же двойной непрерывный слой, равна 178 Å. Корпускулы диаметром

Т а б л и ц а 7.4

Состав гранулы из тилакоида шпината

| Липидная фракция (числа молекул) | Молекулярный вес | Белковая фракция | Молекулярный вес |
|-------------------------------------|---------------------|---|---------------------|
| 230 хлорофиллов | 206 400 | Белок | 928 000 |
| 48 каротиноидов | 27 400 | 2 атома марганца | 110 |
| 48 хинонов | 31 800 | 12 атомов железа, в том числе содер- жащиеся в двух ци- тохромах | 672 |
| 116 фосфолипидов | 90 800 | 6 атомов меди | 218 |
| 144 дигалактозилди- глицеридов | 134 000 | | |
| 366 моногалактозил- диглицеридов | 268 000 | | |
| 48 сульфолипидов | 41 000 | | |
| Стероиды | 15 000 | | |
| Неидентифицирован- ные липиды | 175 000 | | |
| Итого | 988 400 | Итого | 929 000 |

31 Å соответствуют $\frac{1}{4}$ гранулы. Таким образом, результаты исследования рассеяния рентгеновых лучей в какой-то мере согласуются с построением гранул из субъединиц. Однако нет полного соответствия между данными электронной микроскопии и результатами изучения рассеяния рентгеновых лучей.

Два факта заслуживают особого внимания — кристаллоподобная структура, показанная на рис. 7.20, и отсутствие полной фотосинтетической активности у частиц, имеющих размеры гранул. Возможно, что для такой активности необходим именно упорядоченный коллектив гранул, достаточно большой «кристалл». Высокая упорядоченность и периодичность структуры, не наблюдаемая в других мембранах, заставляет думать о возможности применения представлений физики твердого тела к механизму фотосинтеза (см. § 7.7). Это пока лишь гипотетические соображения. Вместе с тем, нельзя считать исключенными артефакты, создаваемые оттенением посредством OsO_4 или KMnO_4 , применяемым в электронной микроскопии [69] (ср. стр. 290).

Обработка детергентами (дигитонином) с последующим центрифугированием и электрофорезом позволяет определить содержание и состав белков в хлоропластах [171, 172]. Более детальная информация о расположении и ориентации белковых молекул в мембранах получена иммунологическими и

другими методами. Установлено, что в хлоропластах имеются частицы двух сортов: легкие диаметром 70—110 Å и тяжелые диаметром 150—180 Å. Легкие частицы содержат больше $\text{Chl } a$, они способны к циклическому фосфорилированию и к восстановлению НАДФ⁺ в присутствии аскорбата [173]. Тяжелые частицы содержат больше $\text{Chl } b$, они способны восстанавливать на свету феррицианид (реакция Хилла) и проводить нециклическое фосфорилирование. На этих основаниях легкие частицы отождествляются с ФС I, тяжелые — с ФС II. На квадратном микрометре поверхности тилакоида содержится около 4000 легких частиц и около 2000 тяжелых [174]. Из изложенного следует, что число ФС I и ФС II должно быть примерно одинаково. Отсюда можно заключить, что в каждой тяжелой частице содержится две ФС II.

В работающих хлоропластах наблюдаются медленные изменения поглощения при 4750 и 5150 Å, происходящие за секунды [70]. В этих же спектральных областях наблюдаются быстрые изменения поглощения со временем появления полос, меньшим 10^{-5} с, и временем исчезновения 20 мс [71]. Быстрые изменения являются индикаторами окислительно-восстановительных реакций. Установлено, что они происходят параллельно с фосфорилированием. Они отражают изменения электрического поля поперек мембраны, их исчезновение связано с транспортом протонов и других ионов. Действительно, при увеличении проницаемости мембраны для ионов в результате осмотического шока изменения исчезают быстрее. Это происходит и при действии разбавителей фосфорилирования, увеличивающих проницаемость для протонов. Наконец, ионофоры, такие как грамицидин D, увеличивающие проницаемость к щелочным ионам, также ускоряют исчезновение спектральных изменений [44], причем имеется четкая зависимость от концентрации грамицидина. Были проведены опыты со слоями $\text{Chl } a$, $\text{Chl } b$ и каротиноидов на стеклянных пластинках. Слои подвергались действию электрических полей с напряженностью до 10^6 В/см и измерялись изменения поглощения. Они оказались совпадающими с изменениями в хлоропластах, индуцированными светом [44]. Изменение поглощения $\Delta I/I = \Delta A$ линейно зависит от изменения потенциала $\Delta\psi$

$$\Delta\psi = q/C = a \Delta A. \quad (7.8)$$

Здесь q — заряд, перенесенный через мембрану, C — емкость мембраны, примерно равная 1 мкФ, $a \approx 50$ мВ/ΔA. Кроме того, работает «молекулярный амперметр», и ток через него равен

$$i = C \frac{d \Delta\psi}{dt} = Ca \frac{d \Delta A}{dt}. \quad (7.9)$$

При вспышке, вызывающей один оборот, через мембрану переносится два элементарных заряда e на одну электронную цепь. Из экспериментальных данных следует, что при этом $\Delta\psi \approx 50$ мВ, при длительных вспышках $\Delta\psi_{\max} \approx 200$ мВ, а при стационарном освещении $\Delta\psi \approx 100$ мВ. Исследование световых реакций показывает, что поле создается наполовину реакцией в ФС I и наполовину — реакцией в ФС II [44].

С помощью стеклянного электрода и индикаторов обнаружены и изменения рН, сопровождающие фотосинтез. При убывании электрического поля одновременно нарастает рН [72]. Согласно оценке отношение числа поглощенных протонов к числу перенесенных электронов равно 2 (дальнейшие подробности см. в [44]).

Эти результаты качественно согласуются с хемиосмотической теорией Митчелла (см. § 6.4), согласно которой перенос электронов дает свободную энергию для фосфорилирования в форме градиентов ψ и рН (см. также [73]).

При вспышке, вызывающей один оборот, $\Delta\psi \approx 50$ мВ, но ΔpH очень мало, значительно меньше единицы. Значит, в этих условиях фотосинтез протекает независимо от ΔpH . Показано, что при единичной вспышке фосфорилирование действительно происходит за счет $\Delta\psi$ с выходом АТФ 0,30 на вспышку и независимо от интервала между вспышками. Фосфорилирование блокируется грамицидином D . При значениях $\Delta\psi$, больших 50 мВ, количество возникающего АТФ пропорционально $\Delta\psi$. Отсюда следует, что электрическая энергия используется для продукции АТФ [74].

На рис. 7.22 показана общая схема сопряжения различных процессов в фотосинтезе, предложенная Виттом [44]. На рисунке показан участок тилакоидной мембраны. При фотосинтезе происходят следующие события, перенумерованные на рисунке:

1. Миграция и диссипация энергии. Энергия запасается и затем диссипирует в Ca^{2+} , а также в результате флуоресценции.

2. Световые реакции, описанные выше (см. стр. 366).

3. Образование электрического поля вследствие направленного переноса электронов перпендикулярно к мембране, определяемого анизотропной ориентацией молекул.

4. Перенос электрона и втекание в мембрану протонов в соответствии с теорией Митчелла (см. §§ 6.4, 6.5): два электрона на внешней стороне мембраны замещаются двумя ионами OH^- , а две дырки (+) на внутренней стороне мембраны — двумя протонами. Возможный механизм — протеолитические реакции, сопряженные с переносом электрона от H_2O к НАДФ $^+$.

5. Образование ΔpH . Связанные OH^- и H^+ могут замещаться Cl^- и K^+ . OH^- и H^+ диффундируют соответственно во внешнюю и внутреннюю фазы, что создает разность ΔpH .

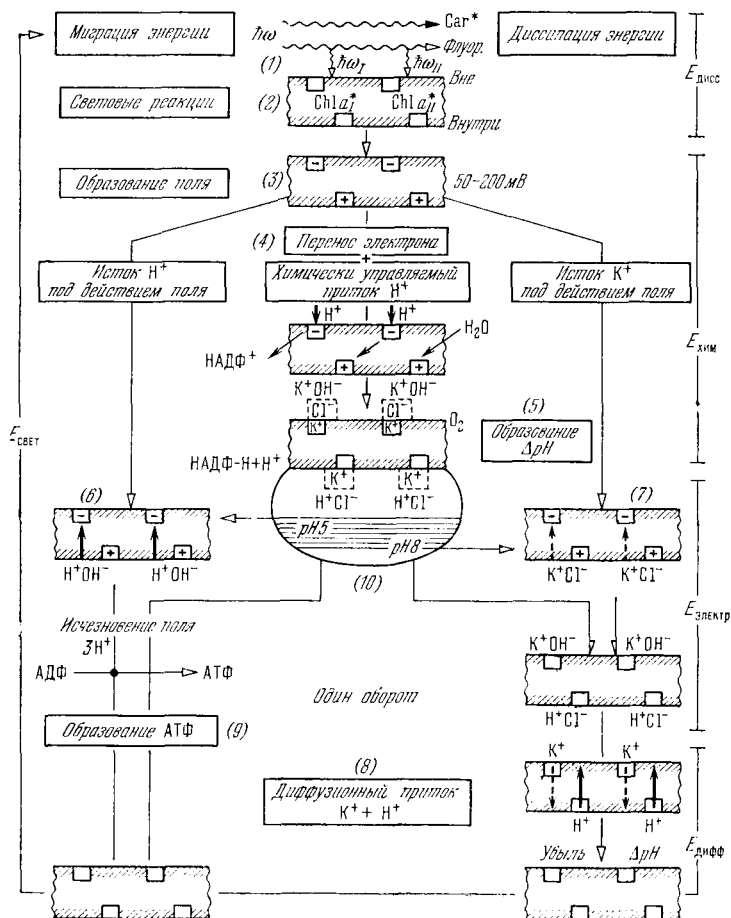


Рис. 7.22. Схема сопряжения молекулярных процессов в фотосинтезе по Витру.

6. Управляемое полем истечение протонов и убывание ΔpH .

7. Управляемое полем истечение K^+ .

8. Диффузионная убыль ΔpH .

9. Фосфорилирование, сопряженное с разрядкой электрически энергизованной мембраны в соответствии с теорией Митчелла.

10. Регуляция внутреннего значения pH^i . При $pH^i \approx 8$ K^+ -проводимость мембраны больше, чем H^+ -проводимость. При генерации H^+ (п. 4) возрастание $[H^+]^i$ замедляет поток электронов, что, в свою очередь, замедляет генерацию H^+ . Возрастающее $[H^+]^i$ увеличивает вытекание H^+ , что происходит за счет вытекания K^+ . $[H^+]^i$ поддерживается на определенном уровне. Она возрастает с увеличением частоты вспышек или интенсивности света. В свою очередь, ускоряется процесс б и фосфорилирование (процесс 9).

Таким образом, энергия световых квантов заряжает мембрану. В правой части рис. 7.22 показано, как используется эта энергия.

Положения, суммированные в приведенной схеме, подтверждаются многочисленными и разнообразными опытными фактами. Однако механизмы соответствующих процессов еще не установлены, и эту схему следует пока считать гипотетической.

Вместе с тем, как подчеркивается в монографии [170], применение теории Митчелла к фотосинтезу встречается с трудностями при количественных оценках. В этой теории свободная энергия протонов должна превышать энергию фосфорилирования

$$n_H G_H \geq G_{\Phi}. \quad (7.10)$$

Здесь $G_{\Phi} \approx 0,5 \text{ эВ} \approx 11,5 \text{ ккал/моль}$, n_H — число протонов, перемещение которых приводит к фосфорилированию. В естественных условиях при $\Delta\psi = 50 \text{ мВ}$ и $\Delta pH \approx 2-2,5$ имеем

$$G_H = e \Delta\psi + k_B T \cdot 2,3 \Delta pH \approx 0,18 \text{ эВ}. \quad (7.11)$$

Следовательно, n_H должно быть не менее трех [175, 176]. В работе [177] дается близкая оценка — утверждается, что для синтеза 1 моля АТФ нужны 4 протона. С другой стороны, из соотношения $АТФ/e^- = 2$ и $H^+/e^- = 2$ следует, что на 1 моль АТФ расходуются 2 протона. В условиях импульсного освещения по-прежнему $\Delta\psi = 50 \text{ мВ}$, а $\Delta pH = 0$. Число протонов составляет $0,5/0,005 = 10$. Но отношения $АТФ/e^-$ и H^+/e^- те же и, значит, не хватает энергии восьми протонов.

Таким образом, для применения теории Митчелла к фосфорилированию при фотосинтезе необходим дальнейший анализ, прежде всего уточнение количественных характеристик процесса.

Вместе с тем феноменологическая картина, следующая из всех имеющихся данных, хорошо согласуется с теорией Митчелла.

§ 7.7. ПЕРВИЧНЫЕ ФИЗИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ФОТОСИНТЕЗА

Рассмотрим в заключение физику элементарных процессов, определяющих фотосинтез. Классификация этих процессов — первичных процессов фотосинтеза — дана Борисовым [75]. Рассмотрению подлежат следующие четыре типа явлений.

а. Поглощение света хлорофиллом и вспомогательными пигментами.

б. Перенос (миграция) энергии от поглотивших свет молекул на реакционные центры.

в. Первичное разделение зарядов разного знака.

г. Стабилизация новых носителей энергии во времени для сопряжения с последующими химическими стадиями.

Первая группа явлений хорошо изучена и описана выше. Обратимся теперь к миграции энергии в фотосинтетической системе. В работах Дейзенса [76] и других авторов было показано, что миграция энергии в этой системе действительно существует и происходит по резонансному механизму. В принципе возможны четыре различных механизма миграции [75]. При полупроводниковом механизме возбуждение молекулы светом переводит электрон в зону проводимости, после чего образовавшаяся пара разноименных зарядов (электрон и дырка) перемещается в упорядоченной молекулярной системе, в молекулярном кристалле. Однако в хлоропластах молекулярных кристаллов нет, строгий порядок присущ лишь относительно малым ансамблям молекул хлорофилла. Поэтому полупроводниковый механизм маловероятен [75]. Вместе с тем измерения фотопроводимости слоев $\text{Chl } a$ и $\text{Chl } b$ показали, что в максимуме фоточувствительности 7050 Å свободные носители тока появляются через короткое время после освещения (не более чем через 10^{-8} с) [77]. Хлорофилл образует в этих слоях кристаллоподобные упорядоченные структуры.

Упорядоченность молекул пигментов в хлоропластах достаточна для миграции энергии по другим механизмам [78, 79]. Возможна миграция энергии триплетных возбужденных состояний [16] или резонансная миграция энергии экситонного или индуктивного типа. В двух последних случаях диполь-дипольное взаимодействие приводит к переносу энергии синглетного возбужденного состояния на невозбужденную молекулу [16, 75, 80]. При экситонной миграции она происходит за времена, сравнимые с периодами колебаний (т. е. за 10^{-12} — 10^{-15} с), на расстояния до 15—18 Å. Это наиболее быстрый механизм. При миграции индуктивного типа ей предшествует установление термического равновесия возбужденной молекулы со средой, и скорость миграции сильно зависит от температуры. Ряд экспе-

риментальных фактов свидетельствует в пользу быстрого экситонного механизма (см. [75]).

В работе Борисова обсуждаются экспериментальные основания для экситонного механизма [178]. Показано, что первичные физические стадии фотосинтеза, начиная с поглощения кванта и кончая его захватом в реакционном центре, протекают за время, не превышающее некоторый предел. Это критическое время (~ 100 нс) на полтора-два порядка меньше характерных времен флуоресценции молекул красителей и является предельным для протекания реакций, лимитируемых диффузией. Такая быстрая миграция энергии обеспечивает высокий (более 90%) квантовый выход первичного процесса фотосинтеза и защиту хлорофилла *in vivo* от необратимой фотодеструкции. Экспериментальные данные подтверждают эти выводы для высших растений, зеленых и пурпурных бактерий [179].

Для понимания механизма миграции возбуждения в фотосинтетической системе нужно установить природу участников цепи переноса электронов (ЦПЭ) в хлоропластах и их локализацию. Как мы видели, несмотря на ряд надежно установленных фактов, эта проблема еще не решена. Схемы ЦПЭ, предлагаемые в современных работах, разнятся (см., например, [44, 81], а также [82]). Здесь мы остановимся лишь на некоторых существенных фактах. Еще в 1960 г. было установлено, что у фотосинтезирующих серных бактерий окисление цитохрома *c* происходит при поглощении света и при температуре жидкого азота [83]. В дальнейшем было показано, что этот процесс реализуется вплоть до гелиевых температур, причем ниже 100 К скорость электронного переноса перестает зависеть от температуры [82, 84]. Сходные результаты получены для хлоропластов растений [82].

Независимость скорости переноса электронов от температуры при низких температурах привела к предположению о туннельном механизме переноса электрона между соседними носителями [84, 86]. Эта концепция была развита в работах [82, 87, 88], и о ней уже говорилось в § 6.6.

Все данные указывают на то, что перенос электронов происходит между центрами, фиксированными в мембране тилакоида. Эти центры могут рассматриваться как достаточно глубокие электронные ловушки, находящиеся на заметном расстоянии друг от друга. Приблизительно можно представить центр потенциальной ямой и рассматривать уровни, которые занимает в ней перемещаемый электрон. Решается задача о переносе электрона между двумя соседними компонентами цепи, т. е. между основными уровнями двух потенциальных ям, разделенных барьером.

Эта задача уже рассмотрена в § 6.6. В действующей фотосинтетической системе равновесные конформации молекул в присутствии и в отсутствие электрона могут сильно различаться вследствие электронно-конформационных взаимодействий. После переноса электрона молекула акцептора оказывается в неравновесной конформации, медленно релаксирующей к равновесной. Это создает «динамическую» возможность сбалансированного резонанса и туннельного эффекта.

Приведенные выше соображения имеют пока качественный характер. Для их надежного обоснования необходима детальная информация о геометрии и энергетике ЦПЭ, пока отсутствующая.

Чернавский и сотрудники ([180], см. также монографию [170]) предложили модель ЦПЭ при фотосинтезе. В этой модели важную роль играют пластохиноны. Модель основывается на представлении об ЭКВ [89] — электрон присоединяется к фермент-субстратному комплексу и отделяется от него в результате туннельного эффекта. Модель согласована с перепадом потенциала и позволяет объяснить зависимость процесса от рН. Согласно этой теории процесс в целом весьма далек от равновесия.

Из всего изложенного следует, что сегодня мы многое знаем о фотосинтезе. Вместе с тем фотосинтез представляет собой настолько сложную систему явлений, что для сколько-нибудь полного понимания его молекулярных механизмов необходима еще очень большая работа.

7.8. ЗРЕНИЕ

Воздействие света на живые организмы не ограничивается фотосинтезом. Гетеротрофные организмы для своего существования должны получать информацию о пище, а на более высоких уровнях развития и о других факторах жизни, связанных прежде всего со спариванием и с теми или иными опасностями. Соответствующая информация может сообщаться посредством химических, т. е. молекулярных сигналов, воспринимаемых органами обоняния и вкуса, а также посредством механических сигналов (слух, осязание). Некоторые организмы способны воспринимать электрические сигналы и служить их источником. Однако в ходе эволюции гетеротрофных организмов был выработан наиболее совершенный вид рецепции — *фоторецепция* (начиная с фототаксиса у простейших и кончая совершенным зрением позвоночных или членистоногих). Световое излучение характеризуется спектральными свойствами — распределением линий и полос в спектре, их интенсивностями и поляризацией. Тем самым световое излучение особенно информативно. Жизнь

непосредственно связана с солнечным светом, возникновение и эволюция фоторецепции естественны.

В этом и следующих параграфах рассматривается зрение высших организмов: устройство зрительного рецептора — глаза, цитологические и молекулярные механизмы зрительной рецепции.

Глаз представляет собой оптическую систему, предназначенную для формирования изображения на сетчатке. Информация об окружающей среде извлекается из этого изображения. Устройство глаза и прохождение в нем световых лучей описаны во множестве курсов физики, биологии, физиологии и биофизики (см., например, [90—92]). Здесь мы остановимся на регуляции работы глаза и на строении сетчатки.

Глаз — саморегулируемая система. Ее оптические недостатки в значительной мере компенсируются регуляторными механизмами, оптимизирующими работу глаза. Механизмы эти сложны и взаимосвязаны, важнейшими из них являются механизм фокусировки изображения на сетчатке и механизм регуляции количества попадающего на нее света.

В данной книге мы, по возможности, пытаемся избежать изложения физиологических вопросов. Уместно, однако, рассказать здесь об основных регуляторных устройствах глаза, так как они являются яркими примерами систем управления на организменном уровне.

Упрощенная схема строения глаза позвоночного показана на рис. 7.23.

Фокусировка изображения на сетчатке производится посредством автоматического изменения радиуса кривизны хрусталика, посредством процесса аккомодации. Управляющим устройством служит охватывающая хрусталик цилиарная мышца. Ее сокращение или расслабление возникает в ответ на дефокусировку изображения. Система аккомодации представляет собой следящую систему, так как она удерживает в фокусе изображение удаляющегося или приближающегося объекта. Для оптимизации работы глаза необходимо регулировать поступающее в него через зрачок количество света. Основным механизмом состоит в регуляции величины оптического отверстия — величины зрачка. При высокой интенсивности света зрачок суждается, при низкой — расширяется. Это производится двумя мышцами-антагонистами, образующими радужную

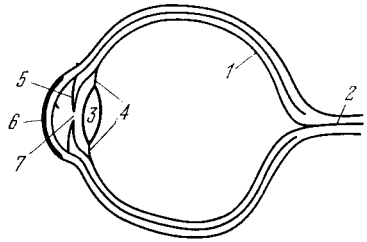


Рис. 7.23. Упрощенная схема устройства глаза млекопитающего. 1 — сетчатка, 2 — зрительный нерв, 3 — хрусталик; 4 — цилиарная мышца, 5 — радужная оболочка, 6 — роговица, 7 — зрачок.

оболочку. Кольцевая мышца (сфинктер) сужает зрачок, радиальная мышца (дилататор) расширяет его. Регуляция осуществляется одновременно в обоих глазах и при изменении интенсивности света, попадающего в один глаз. Регуляторные механизмы локализованы в нервной системе.

Формальная феноменологическая трактовка этой системы основывается на общих положениях теории управления (см. [93]). Имеется система, в которую попадает входной сигнал, отличный от требуемого, от «уставки». Разность входного сигнала и уставки — сигнал ошибки. Назначение регулятора состоит в получении требуемого выходного сигнала. Система регуляции состоит из регулятора и объекта управления, она содержит контур обратной связи [94, 95].

Рассмотрение глаза как системы управления позволяет количественно изучать различные его патологические состояния.

Обратимся теперь к строению фоторецепторной системы — *сетчатки*. Это многослойная клеточная структура, схематически изображенная на рис. 7.24 [96]. Последовательные слои указаны в подписи к рисунку. На пигментном эпителии возникает изображение. В слое 3 осуществляется синаптическая связь фоторецепторных клеток с нервными горизонтальными клетками. Следующие слои содержат другие типы нервных клеток — биполярные и амакриновые. Наконец, в слое 8 расположены ганглиозные нервные клетки, являющиеся непосредственными источниками импульсов, поступающих в аксоны зрительного нерва. Входным сигналом является оптическое изображение на пигментном эпителии, выходным — нейральное изображение, закодированное импульсами в зрительном нерве. Внешней стороной сетчатки считается сторона, обращенная к поверхности глазного яблока, внутренней — обращенная к внутренней части глаза. Свет распространяется в направлении от ганглиозных клеток к пигментному эпителию, т. е. для того, чтобы дойти до фоторецепторов, он должен пройти через слои нервных клеток. Это представляется на первый взгляд парадоксальным — казалось бы естественным, чтобы свет непосредственно попадал на фоторецепторные клетки, за которыми располагались бы нервные окончания. Однако именно такая система, выработанная в ходе эволюции, обеспечивает защиту важнейших для зрения фоторецепторных клеток от вредных воздействий и их оптимальное функционирование.

Фоторецепторные клетки организованы у всех позвоночных сходным образом. Как палочки, так и колбочки представляют собой вытянутые структуры, построенные из многих специализированных компартментов, образующих последовательность параллельных дисков. Схема структуры палочки и колбочки лягушки показана на рис. 7.25 [97]. В дисках расположены фо-

торецепторные молекулярные устройства, посредством жгутиков необходимые вещества поступают к дискам из основного тела клетки. Свет поглощается в дисках молекулярной системой, описанной в следующем параграфе. Показано, что белки дисков непрерывно обновляются [98].

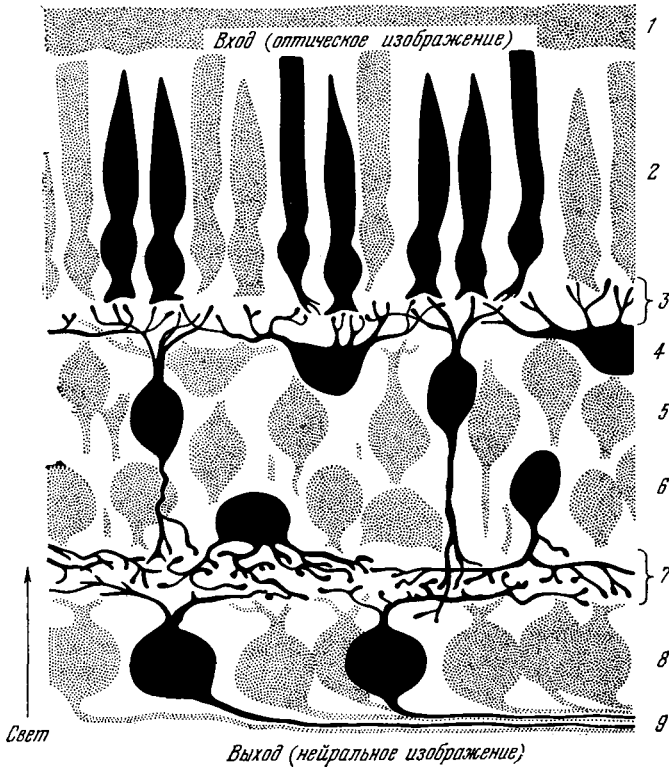


Рис. 7.24. Схема строения сетчатки.

1 — пигментный эпителий, 2 — рецепторные клетки (палочки и колбочки), 3 — внешний синаптический слой, 4 — горизонтальные клетки, 5 — биполярные клетки, 6 — амакриновые клетки, 7 — внутренний синаптический слой; 8 — ганглиозные клетки, 9 — волокна зрительного нерва.

Установлено, что за цветное зрение ответственны колбочки, палочки воспринимают слабое освещение. Еще Ломоносов говорил о зрительном восприятии трех цветов — трех сортов частиц эфира — красных, желтых и голубых («Слово о происхождении света», 1756 г.). В 1802 г. Юнг предложил теорию цветного зрения, основанную на предположении о том, что в сетчатке содержатся три вида светочувствительных веществ. В дальнейшем теорию трехцветного зрения развивали Максвелл

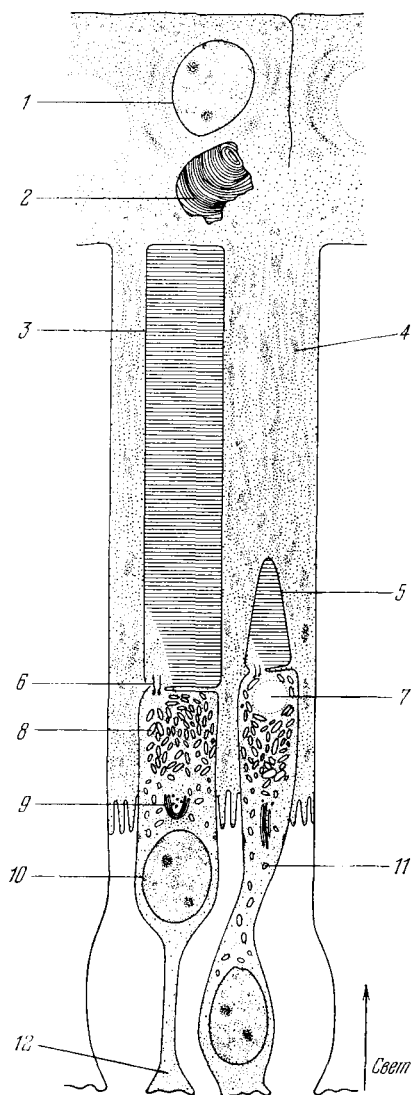


Рис. 7.25. Схема строения палочки (слева) и колбочки лягушки (справа).

1 — ядро клетки пигментного эпителия, 2 — фрагмент, отделившийся от внешнего сегмента палочки, 3 — внешний сегмент палочки, 4 — гранулы пигментов, 5 — внешний сегмент колбочки, 6 — соединительные жгутики, 7 — капля жира, 8 — митохондрии, 9 — комплекс Гольджи, 10 — ядро, 11 — рибосома, 12 — синаптическое тело.

и Гельмгольца. В наше время эта теория получила прямое и полное подтверждение путем прямых измерений поглощения света индивидуальными колбочками [97]. По-видимому, имеются три сорта колбочек, характеризующихся различными кривыми поглощения зрительных пигментов. На рис. 7.26 показаны кривые спектральной чувствительности для этих трех сортов колбочек у приматов. Кривые для человека очень с ними сходны.

Сказанное относится к зрению высших позвоночных. Рецепторы беспозвоночных, в частности, членистоногих, устроены иначе, они во многих случаях чувствительны в широкой спектральной области [99].

Механизмы трансформации входного сигнала, оптического изображения на сетчатке, в выходной сигнал, в нейральное изображение, сообщаемое мозгу, весьма сложны. Здесь осуществляется регуляция, гораздо более тонкая, чем регуляция радиуса кривизны хрусталика или диаметра зрачка. В сетчатке происходит адаптация к различиям интенсивности и спектрального состава света, а также восприятие объемного изображения и движения видимого объекта (см. [96]). Хартлайн и сотрудники провели исследования импульсов, возникающих в зрительных нервах краба и позвоночных [100]. Глаз королевского краба содержит множество рецепторов, именуемых

омматидиями, похожих на палочки. Удалось изучить импульсы, создаваемые отдельными омматидиями в отдельных аксонах. В темноте распространяются редкие периодические импульсы. При освещении с пороговой интенсивностью возникают дополнительные импульсы. Если интенсивность сильно превышает пороговую, то в момент освещения возникает короткая последовательность частых импульсов. Затем их частота уменьшается, но остается существенно большей, чем темновая. При выключении света появляется новая пачка частых импульсов, их частота постепенно уменьшается до темновой. У позвоночных

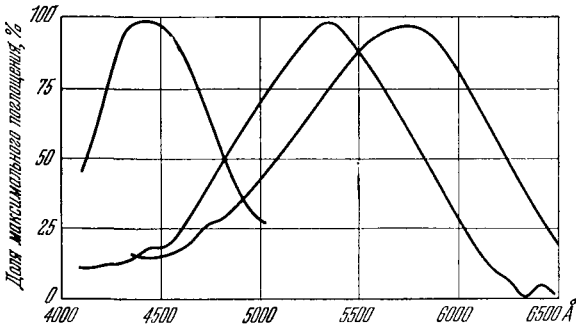


Рис. 7.26. Кривые спектральной чувствительности колбочек приматов с максимумами при λ 4470 Å (синие-фиолетовый), 5400 Å (зеленый) и 5770 Å (желтый) [97].

аксоны сильнее реагируют на изменения освещенности, чем при непрерывном освещении. При сильном освещении наблюдается подавление импульсов. Функцией сетчатки является сложное, интегрирующее взаимодействие, имеющее характер вычислительной работы. В этом смысле сетчатка подобна электронной вычислительной машине.

С помощью электронной микроскопии установлены синаптические контакты между клетками сетчатки. Они показаны схематически на рис. 7.27 [96]. Горизонтальные и амакриновые клетки соединяют соседние фоторецепторы, обеспечивая передачу информации в латеральном направлении, биполярные клетки передают информацию внутреннему синаптическому слою. Исследование электрической активности отдельных клеток показало, что рецепторные и горизонтальные клетки (а также в некоторых случаях биполярные клетки) испытывают плавную гиперполяризацию при освещении, не создавая нервного импульса. Иными словами, их мембранный потенциал становится более отрицательным. Такое поведение для нейрона необычно. Как правило, нейроны деполяризуются, приобретая

положительный мембранный потенциал при возбуждении (см. гл. 4). Импульсы обычно распространяются в нервных клетках по их длине. В указанных видах нервных клеток сетчатки эти события не происходят. Напротив, положительные нервные импульсы возникают в амакриновых и ганглиозных клетках.

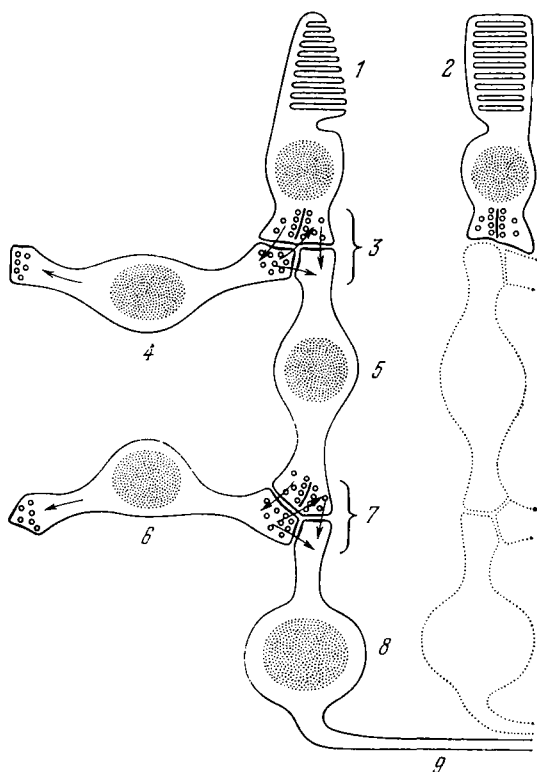


Рис. 7.27. Схема синаптических контактов между клетками сетчатки.

1—колбочка, 2—палочка, 3—внешний синаптический слой, 4—горизонтальная клетка
5—биполярная клетка, 6—амакриновая клетка, 7—внутренний синаптический слой
8—ганглиозная клетка, 9—аксон зрительного нерва.

Именно последние служат источниками импульсов, поступающих в головной мозг.

Любая ганглиозная клетка получает информацию от ограниченного числа фоторецепторных клеток. Рецепторное поле данной ганглиозной клетки есть площадь, занимаемая этими фоторецепторами. Рецепторные поля были изучены Хартлайном, Каффлером, Летвином и др. (см. [101]). Установлены тонкие механизмы чувствительности клеток. Так, сетчатка ряда

позвоночных содержит нейроны, обладающие избирательной чувствительностью к направлению движения объекта. Основой этой избирательной чувствительности является тормозной механизм.

У беспозвоночных (кальмар) поведение палочек иное — они деполяризуются при освещении, т. е. ведут себя подобно обычным возбуждаемым нейронам [102].

Пороговая чувствительность глаза очень велика. После длительной адаптации человеческого глаза к темноте он способен воспринимать отдельные кванты и в этом отношении превосходит любой фотоэлемент. Вследствие независимости актов излучения отдельных атомов и молекул при достаточно слабом источнике света глаз оказывается в состоянии наблюдать квантовые флуктуации излучения. Это было впервые показано Барнесом и Черни в 1932 г. [103]. В 1933 г. Вавилов с сотрудниками провели весьма подробные визуальные исследования квантовых флуктуаций с помощью чрезвычайно надежной методики [104, 105]. В результате были получены точные характеристики палочковой чувствительности глаза и важные данные о природе света. Позднее появились работы Гехта и сотрудников, посвященные той же проблеме [106].

В этом параграфе кратко описаны лишь некоторые основные особенности зрения. Очевидно, что с ними связан целый комплекс физических проблем, начиная с геометрической оптики глаза и кончая молекулярными механизмами фоторецепции. Большинство этих проблем исследуется пока в рамках физиологии, а не физики. Мы не располагаем еще физической теорией или хотя бы моделью интегрирующей работы нейронов сетчатки, и не знаем, каким образом события, происходящие в фоторецепторных клетках, порождают импульсы в зрительном нерве.

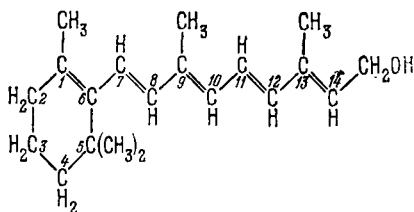
Вместе с тем в области молекулярной физики фоторецепции получены весьма важные результаты, описанные в следующем параграфе.

§ 7.9. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ ФОТОРЕЦЕПЦИИ

Исходя из общих принципов физики, биофизики и биологии, легко прийти к заключению, что первичный акт фоторецепции должен состоять в поглощении света молекулами некоего пигмента. Человек и высшие животные воспринимают свет обычной интенсивности в области примерно от 4000 до 7000 Å. Ультрафиолетовый свет поглощается прозрачными тканями глаза. Инфракрасные лучи не воспринимаются сетчаткой. Если бы они воспринимались, то теплокровные животные ощущали бы сильную фоновую инфракрасную радиацию, препятствующую рецеп-

ции информативных сигналов. Следовательно, пигмент или пигменты фоторецепторных клеток должны поглощать свет в видимой области спектра, т. е. быть окрашенными. Поскольку речь идет о молекулах органических соединений, отсюда следует, что это должны быть молекулы с достаточно протяженной системой π -связей — при малом числе сопряженных связей поглощается лишь ультрафиолетовое излучение.

Действительно, еще в 1933 г. Уолд открыл присутствие витамина **A** в зрительном пурпуре в сетчатке [107]. Структура витамина **A** была установлена несколько раньше [108]. Витамин **A** (точнее, витамин **A**₁), или ретинол₁, имеет следующую структуру:



Брутто-формула ретинола₁ $C_{19}H_{27}CH_2OH$. Эта молекула представляет собой почти не измененную половину молекулы каротина (см. стр. 339). Каротиноиды являются источником витамина **A**, отсутствие которого приводит к слепоте.

В сетчатке позвоночных фигурирует и вторая форма витамина **A** — витамин **A**₂, или ретинол₂, структура которого отличается от приведенной наличием двойной связи между углеродами 2 и 3. Соответственно, брутто-формула ретинола₂ есть $C_{19}H_{25}CH_2OH$. Ретинолы — это спирты. В фоторецепторах ретинолы трансформированы посредством алкогольдегидрогеназы в альдегиды — в ретиналь₁ и ретиналь₂ — и связаны с фосфолипидами и белками. В ретиналях конечная группа молекулы есть не $=CH-CH_2OH$, а $=CH-CH=O$, и брутто-формулы ретиналя₁ и ретиналя₂ суть $C_{19}H_{27}CHO$ и $C_{19}H_{25}CHO$. Число сопряженных π -связей в ретиналях на одну больше, чем в ретинолах.

Таким образом, ретинали служат хромофорными группами зрительных пигментов, содержащих липопротейны, именуемые *опсинами*. Опсины колбочек и палочек различны. Соответственно возникают четыре основных вида зрительного пигмента, охарактеризованные в табл. 7.5 [109].

Хромофорные свойства ретиналей определяются протяженной системой сопряженных π -связей. Обращает на себя внимание химическая общность пигментов фотосинтеза — каротиноидов (см. стр. 340) и зрительных хромофоров. Можно думать об

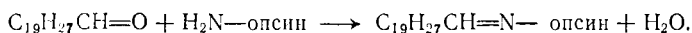
общности их эволюционного происхождения. Имеются бактерии, лишенные, конечно, зрения, но содержащие бактериородопсин, весьма сходный со зрительным пигментом.

Таблица 7.5

Зрительные пигменты

| | | Максимум поглощения λ , Å |
|---|--|-----------------------------------|
| Ретинол ₁ $\xrightleftharpoons[\text{ДФН-Н}]{\text{ДФН}^+}$ Ретиналь ₁ (Алкогольдегидрогеназа) | +Опсин палочек $\xrightleftharpoons{\text{Свет}}$ Родопсин | 5000 |
| | +Опсин колбочек $\xrightleftharpoons{\text{Свет}}$ Йодопсин | 5620 |
| Ретинол ₂ $\xrightleftharpoons[\text{ДФН-Н}]{\text{ДФН}^+}$ Ретиналь ₂ (Алкогольдегидрогеназа) | +Опсин палочек $\xrightleftharpoons{\text{Свет}}$ Порфиросин | 5220 |
| | +Опсин колбочек $\xrightleftharpoons{\text{Свет}}$ Цианопсин | 6200 |

Исходя из общих принципов, можно снова заключить, что вслед за поглощением света в фоторецепторе должна возникать некая фотохимическая реакция. В родопсине ретиналь образует Schiff-ово основание в результате взаимодействия альдегидной группы ретиналя с амино-группой опсина [110, 111], а именно с ϵ -NH₂-группой лизила [109, 112]:

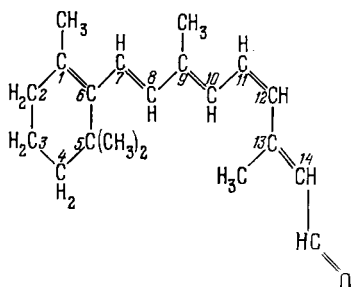


Бычий родопсин имеет молекулярный вес около 40 000. Если считать молекулу сферической, то ее диаметр составляет 40 Å.

Под действием света ретиналь отщепляется от родопсина, аналогичные процессы протекают и в трех других случаях (см. табл. 7.5). Однако этим фотохимическое превращение не исчерпывается. Одновременно происходит фотонизомеризация ретиналя.

Комплекс опсина с ретином возникает за счет $CH=N$ -связи и ряда слабых взаимодействий хромофора с белком. Эти взаимодействия оптимизируются в результате структурного соответствия ретиналя и опсина. Ретиналь может существовать в виде ряда изомеров, так как двойная связь $C=C$ образует *транс*- или *цис*-конфигурацию. Наиболее устойчива сплошная *транс*-конфигурация, которая и показана для ретинола₁ на стр. 380. Установлено, что в комплексе с опсином в темноте

ретиаль фигурирует в форме 11-*цис* [113]:



В 11-*цис*-форме CH_3 -группа у C_{13} и водород у C_{10} очень сближены, и между ними возникает сильное отталкивание. Благодаря этому молекула несколько скручена, в ней нарушено плоское расположение π -связей. Тем самым уменьшена энергия сопряжения, и 11-*цис*-форма должна быть менее стабильной, чем полная *транс*-форма. Однако в комплексе с опсином проигрыш в энергии сопряжения перекрывается выигрышем в энергии взаимодействия с белком, наибольшей для 11-*цис*-формы.

При выцветании пигмента на свету ретиаль отщепляется от опсина и изомеризуется в наиболее устойчивую сплошную



Рис. 7.28. Цикл изомеризации родопсина.

транс-форму. Цикл *цис*—*транс*-изомеризации является обязательной частью любой известной фоторецепторной системы [109]. Этот цикл показан на рис. 7.28 [109].

В растворе ретиаль образует под действием света смесь изомеров, состав которой зависит от длины волны света и полярности растворителя [114, 115]. Полярный растворитель — этанол — стабилизирует 11-*цис*-конфигурацию. Ее содержание в таком растворе ретиналя составляет 25—30% [116].

Установлено, что единственное действие света на ретиаль состоит именно в изомеризации 11-*цис* → сплошной *транс*. Отщепление ретиналя от опсина должно рассматриваться как следствие этого процесса [117].

В этой книге и в «Молекулярной биофизике» [12] постоянно подчеркивается определяющее значение конформационных превращений молекулы в биологических явлениях.

В фоторецепции мы встречаемся не с ротамеризацией, не с конформационной перестройкой ретиналя, а с *цис*—*транс*-изомеризацией — повороты происходят вокруг двойных, а не единичных связей. Различие между ротамеризацией и *цис*—*транс*-изомеризацией имеет количественный характер. В первом случае для конформационного превращения нужно преодолеть барьер порядка нескольких ккал/моль (в этане 3 ккал/моль), во втором, при переходе 11-*цис*-ретиналя в полностью *транс*-форму — около 25 ккал/моль, причем значение частотного предэкспоненциального множителя составляет от 10^7 до 10^{11} с⁻¹ в зависимости от растворителя [118]. Соответственно изомеры ретиналя устойчивы в растворе. Разности их энергий не велики — порядка 1—3 ккал/моль.

При возбуждении молекулы поглощенным светом происходит перестройка π -электронной оболочки, и барьер внутреннего вращения снижается до величины, соизмеримой с $k_B T$. Время жизни молекулы в синглетном возбужденном состоянии 10^{-9} с, время, нужное для поворота, 10^{-11} — 10^{-12} с. Квантовый выход для реакции изомеризации 11-*цис* → полностью *транс* составляет 0,5—0,7 [119]. Энергия кванта света более чем достаточна для изомеризации — кванту с λ 5000 Å отвечает энергия 58 ккал/моль.

Значительный интерес представляет детальный механизм изомеризации. Нужно установить, через какое возбужденное состояние — синглетное или триплетное — проходит изомеризация под действием света. В теоретических работах показано, что энергетический барьер для переходов в триплетном состоянии существенно ниже, чем в синглетном [120—122]. Окончательный ответ на вопрос о роли возбужденных триплетных состояний при изомеризации хромофора в родопсине был получен в работах Розенфельда и сотрудников [123]. В этих работах был применен метод лазерного фотолиза и использована система веществ-доноров, позволявшая в результате светового возбуждения создавать высокую концентрацию триплетных состояний шиффоа основания ретиналя. Действительно, оказалось, что эффективность изомеризации в триплетном состоянии очень высока. Однако время жизни триплетных состояний шиффоа основания ретиналя практически такое же, как для триплетных состояний ретиналя. Это означает, что отсутствие триплетного поглощения, установленное для шиффовых оснований ретиналя [124], объясняется не малым временем жизни триплетов, а малой эффективностью интеркомбинационной конверсии. При непосредственном фотолизе этих соединений триплеты не обнаруживаются [123].

По-видимому, триплетное состояние не играет роли при изомеризации хромофора в зрительном пигменте.

Действуя светом разных длин волн на раствор родопсина в эквимольярной смеси глицерина с водой при температуре -190°C , можно обратимо смещать равновесие изомеров, что находит свое выражение в сдвигах полосы поглощения [109]. На основе такого рода исследований Уолд построил схему последовательных превращений родопсина, показанную на рис. 7.29. Под действием

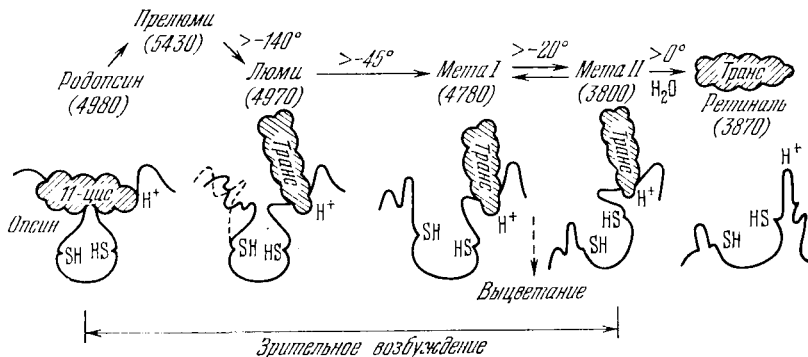


Рис. 7.29. Стадии выцветания родопсина.

Ретиналь заштрихован. В скобках указаны величины λ_{max} в Å; температуры измеряются в градусах Цельсия.

света ретиналь, находящийся в комплексе с опсином, изомеризуется, образуется прелюмиродопсин. При этом нарушается структурное соответствие ретиналя и опсина, и последний вместе со связанным ретиналем испытывает конформационное превращение. Глобула опсина постепенно раскрывается, возникают стадии, обозначаемые как люмиродопсин и метародопсины. На заключительной стадии шиффово основание гидролизует, и ретиналь отщепляется от опсина. При раскрытии опсина экспонируются новые химические группы, в частности, две SH-группы и группа, связывающая протон, с рК около 6,6 (вероятно, имидазольная). Эти факты установлены с помощью биохимических и физико-химических методов [125—127].

Поглощая второй квант света, ретиналь может вновь перейти в 11-цис-форму. Пигмент не только выцветает на свету, но может и регенерироваться. Соответствующая схема представлена на рис. 7.30 [109].

Таким образом, фоторецепция сводится к изомеризации хромофора, за которой следует изменение структуры липопротеида — опсина. Конформационное превращение опсина приводит в конечном счете к возникновению нервного импульса.

В сетчатке головоногих моллюсков наряду с родопсином содержится второй фоторецепторный комплекс — *ретинохром*. В отличие от родопсина, ретиналь в ретинохроме находится в сплошной *транс*-форме, изомеризующейся в *11-цис*-форму при воздействии оранжевым светом. Белковая часть ретинохрома может давать комплексы и с другими изомерами ретиналя. При освещении все они дают *11-цис*-форму, отщепляющуюся от белка. В этом смысле поведение ретинохрома противоположно поведению родопсина. Можно думать, что ретинохром катализирует

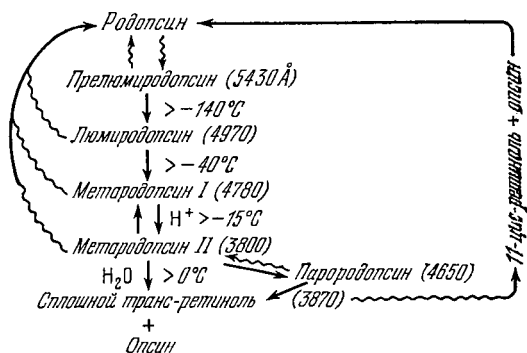


Рис. 7.30. Промежуточные стадии при выцветании и регенерации родопсина
Волнистые линии — действие света, прямые — темновое превращение.

изомеризацию ретиналя и, тем самым, способствует реконструкции выцветшего родопсина [128].

В работе [129] было показано, что выцветание и регенерация родопсина *in vitro* зависят от частоты коротких вспышек лазерного освещения. Поглощается лишь свет, поляризация которого отвечает определенной ориентации молекул родопсина. Тем самым существенно соотношении между частотой вспышек и временем поворота молекул родопсина в растворе.

Ценная информация об электронных переходах в ретинале получена в исследованиях флуоресценции (см., например, [130]). Изучение флуоресценции родопсина, внешних сегментов палочек как целостных систем и модельного соединения — N-ретирил — опсина позволило выявить особенности переноса энергии между соседними молекулами пигмента [131]. С этими явлениями связан ряд интересных и важных проблем биомолекулярной оптики.

Различные формы зрительных пигментов характеризуются различными спектрами поглощения. Эти различия не сводятся к указанным в табл. 7.5. Полоса поглощения хромофора существенно зависит от его взаимодействия с опсином и, следова-

тельно, от состояния липопротеина и его видовых особенностей. Так, сетчатка лягушки содержит два типа палочек («красные» и «зеленые») и два типа колбочек. Красные палочки содержат «классический» родопсин, зеленые — родопсин с полосой поглощения, сдвинутой в коротковолновую сторону. Спектральная чувствительность зрительных пигментов, как правило, коррелирует со спектральным составом света в среде, в которой существует данный организм. При переходе от голубоватой морской воды к желтоватой пресной воде родопсин в палочках рыб постепенно замещается порфироспином. Сетчатка морских рыб имеет максимум чувствительности вблизи 5050 Å, пресноводных — вблизи 5400 Å (см. [132]).

Пигментная система фоторецепторов сходна с пигментной системой фотосинтеза в том отношении, что в обоих случаях у ограниченного числа пигментов встречаются самые разные спектральные чувствительности, что объясняется разнообразием их взаимодействий с белками.

В данной главе рассматриваются лишь взаимодействие каротиноидов со светом, их роль в фотосинтезе и фоторецепции. Однако этим не исчерпывается участие каротиноидов в биологических процессах. Способность каротиноидов к *цис-транс*-изомеризации существенна для метаболизма. Наличие большого числа ненасыщенных двойных связей определяет легкую окисляемость этих соединений и, следовательно, участие в окислительно-восстановительных реакциях. Соответственно каротиноиды функционируют в темновой биологии. Они фигурируют в ряде тканей животных, в частности, в нейронах моллюсков, в тканях воспроизводящих органов как беспозвоночных, так и позвоночных (в том числе и у человека). Каротиноиды функциональны в окислительном метаболизме [133, 134]. Если биохимическая эволюция приводит к синтезу той или иной группы органических соединений, то они используются в живой природе многообразно — везде, где это оптимизирует существование организма.

Факты и гипотезы, кратко изложенные в настоящем параграфе, ставят ряд физических задач, еще далеких от своего решения. Структура опсина, а значит, и родопсина изучена недостаточно. Поэтому пока невозможно построение детализированной модели родопсина и его превращений на свету. Значительный интерес представляла бы квантовая химия этих явлений, еще не построенная.

Наибольший интерес представляет установление связи между событиями, происходящими в родопсине, и возникновением электрических потенциалов в последовательных нейронах сетчатки, завершающееся посылкой нервного импульса в мозг. Об этом почти ничего не известно. Далее необходимо изучить строение и свойства мембран фоторецепторных клеток. Очевидно, что

без такого рассмотрения нельзя даже подойти к решению указанных вопросов. Дальнейшие подробности, относящиеся к фоторецепции на молекулярном уровне, см. в [109, 135].

Для понимания молекулярного механизма фоторецепции существенны исследования кинетики темновых реакций зрительного пигмента, протекающих вслед за световым воздействием. Согласно Абрахамсону [136], целесообразно разделять эти реакции на ранние и поздние стадии. К первым относятся переходы прелюмиродопсин \rightarrow люмиродопсин \rightarrow метародопсин I \rightarrow метародопсин II. Они происходят быстро, как установлено с помощью импульсного фотолиза (см. [137—139]). Предполагается, что последний переход, сопровождаемый конформационными изменениями, и приводит к изменению проницаемости фоторецепторной мембраны и к генерации импульса. Это удалось подтвердить экспериментально [140]. Процессы второй стадии, следующие за указанными, по-видимому, не имеют отношения к формированию первичного электрического ответа фоторецептора и, возможно, играют роль в регенерации родопсина [141]. Они происходят очень медленно (секунды и даже минуты) и характеризуются простой кинетикой. Напротив, кинетика перехода метародопсин I \rightarrow метародопсин II, изученная методом импульсного фотолиза, сложна, она аппроксимируется суммой не менее, чем трех экспонент [142]. То же относится к реакциям прелюмиродопсин \rightarrow люмиродопсин [143] и люмиродопсин \rightarrow метародопсин I [142]. Были опубликованы и другие данные. В наиболее подробном исследовании перехода прелюмиродопсин \rightarrow люмиродопсин, проведенном методом импульсного фотолиза в средах с различной вязкостью, установлено, что кинетика перехода аппроксимируется суммой трех экспонент, т. е. процесс является суммой параллельных реакций первого порядка. Константы скоростей перехода не зависят от вязкости [143, 144]. Есть основания думать, что сложная кинетика является универсальным свойством ранних темновых реакций как *in vitro*, так и *in vivo* [145]. Причины сложной кинетики и ее биологическая значимость остаются пока неясными.

§ 7.10. МЕМБРАНЫ ФОТОРЕЦЕПТОРОВ

Как уже сказано, фоторецепторные клетки содержат стопки ламелл или дисков — мембран, в которых и локализованы зрительные пигменты. Число таких дисков в одной клетке велико, оно достигает 500—1000. Мембраны содержат обычный билипидный слой, что доказывается методами рентгеноструктурного анализа, электронной микроскопии и др. [146]. Установлено, что

молекулы родопсина лежат на внутренней гидрофильной поверхности мембраны [147].

Фоторецепторные мембраны внешних сегментов палочек быка и лягушки содержат около 60% белка и 40% липидов. Родопсин является главной фракцией белка, составляя до 80% от его общего содержания. Липиды представлены главным образом фосфолипидами — фосфотидилэтаноламином, фосфотидилхолином и фосфотидилсеринем, присутствует и 5—10% гликолипида.

Предложены различные модели устройства фоторецепторной мембраны, на которых мы не будем останавливаться (см. [146, 148—150]). Эти модели не всегда согласуются друг с другом.

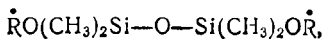
Диски внешних сегментов палочек представляют собой свободно плавающие внутриклеточные органеллы, подобные митохондриям. Мембрана диска охватывает определенное пространство, отделяемое полупроницаемой мембраной от внутриклеточного пространства фоторецептора, в котором «взвешены» диски. Мембрана непроницаема для Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- и PO_4^{--} . *In vitro* в ответ на изменения осмотического давления окружающей среды изолированные диски набухают и сжимаются [151].

Наиболее интересна проблема влияния освещения на мембрану в целом. В результате освещения мембрана становится более проницаемой — она не удерживает все растворенное вещество столь же эффективно, как мембрана, адаптированная к темноте [151]. Конформационное изменение родопсина приводит к изменению состояния мембраны, к увеличению пассивной проницаемости ионов Na и K^+ .

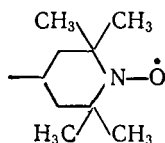
Методами рентгенографии и электронной микроскопии установлено, что в мембране диска при освещении происходят определенные структурные изменения, масштаб которых пропорционален времени экспозиции. Суть этих изменений состоит в транслокации родопсина. В результате освещения родопсин переходит с мембранной гидрофильной поверхности во внутреннюю гидрофобную фазу мембраны [152]. Такого рода транслокации имеют характер фазовых переходов. Фазовые переходы в мембранах фоторецепторных клеток лягушки и кальмара были обнаружены и изучены методом дифференциальной калориметрии [153].

Общий обзор строения и свойств фоторецепторных мембран дан Деменом [154].

С помощью электронного парамагнитного резонанса было проведено исследование фоторецепторной мембраны с введенным в нее спиновым зондом — бирадикалом



где \dot{R} есть иминоксильный радикал



При освещении суспензии мембран наблюдаются значительные изменения спектров ЭПР, указывающие на увеличение времени вращательной диффузии бирадикала в мембране τ . Форма кривой зависимости τ от длительности освещения свидетельствует о том, что фотолиз пигмента сопряжен с изменением конформационного состояния мембраны, с увеличением микровязкости ее гидрофобных областей. Эти результаты можно считать прямым доказательством конформационных превращений мембраны при освещении [155].

К сходным выводам приводит изучение фоторецепторных мембран методом γ -резонансной спектроскопии (эффект Мёсбауэра). В качестве метки применялся аскорбат железа, обогащенный изотопом Fe^{57} , источником γ -излучения служил Co^{57} [156].

Особый интерес представляет АТФ-азная ферментативная активность, присущая фоторецепторной мембране. Еще в 30-х годах Энгельгардт высказал предположение об использовании энергии АТФ в первичном процессе зрения. Это предположение было косвенно подтверждено Венкстерн в исследовании АТФ-азной активности сетчатки [157, 158]. В дальнейшем была установлена локализация АТФ-азной активности в мембранах наружного сегмента фоторецепторов. АТФ-аза является Mg-активируемой, она связана с родопсином [159]. Фотолиз зрительного пигмента *in vitro* приводит к заметному ингибированию АТФ-азы, что, надо думать, обусловлено внутримолекулярной перестройкой пигмента, подвергающегося фотоденатурации на последних стадиях фотолиза. Не исключено, что на более ранних стадиях ферментативная активность увеличивается, как предполагал Уолд [160].

Можно думать, что АТФ-азная активность необходима при фоторецепции для усиления полученного фоторецепторной клеткой сигнала за счет энергии АТФ. Человеческий глаз, как уже сказано, обладает высокой чувствительностью к свету — он способен регистрировать несколько фотонов. Палочка может быть стимулирована одним фотоном с энергией порядка $4 \cdot 10^{-12}$ эрг (при λ 5000 Å). Согласно основному закону фотохимии Эйнштейна, один фотон может вызвать перестройку одной лишь

молекулы родопсина из 10^9 молекул, содержащихся в палочке. Светочувствительность палочки максимальна.

Однако энергия одного кванта недостаточна для физиологической стимуляции рецепторной клетки. Расчеты показывают, что для этого нужно усиление в несколько тысяч раз. Предположительно усиление имеет биохимический характер и происходит в результате ферментативного гидролиза АТФ. Механизм этого гипотетического процесса пока совершенно загадочен.

Именно на фоторецепторных мембранах лучше всего изучены жидкостные (жидко-кристаллические) свойства мембран (ср. § 3.8). Это оказалось возможным потому, что в фоторецепторных мембранах функционирует практически один лишь белок — родопсин, — за которым легко следить.

Уже давно было установлено, что палочки, адаптированные к темноте, обладают дихроизмом. Свет, поляризованный перпендикулярно к длинной оси палочки, поглощается в несколько раз сильнее, чем свет, поляризованный параллельно этой оси. Следовательно, хромофор родопсина ориентирован параллельно плоскости мембраны диска. Однако на этой плоскости хромофоры ориентированы беспорядочно и соответствующего дихроизма нет [161, 162]. Можно фотоиндуцировать дихроизм, проводя частичное выцветание родопсина с помощью плоскополяризованного света. В обычных условиях дихроизм не возникает, что объясняется броуновским вращательным движением молекул родопсина в сетчатке [163]. Однако при обработке сетчатки глутаровым альдегидом наблюдается очень сильный фотоиндуцированный дихроизм [164]. Глутаровый альдегид образует сшивки, препятствующие вращению молекул родопсина. Другие возможные объяснения отсутствия фотодихроизма в нормальной сетчатке исключены экспериментально. Перенос энергии между молекулами родопсина, среднее расстояние между которыми составляет около 70 \AA [165], невозможен. Работа [164] доказывает вращательную подвижность родопсина в сетчатке. О том же свидетельствует изучение фотодихроизма при импульсном фотолизе [166]. При импульсном освещении происходит скачкообразное возрастание поглощения, определяемое превращением родопсина в прелюмиродопсин. Это возрастание значительно больше, если векторы поляризации действующего света и света, поглощение которого измеряется, параллельны, чем в том случае, когда оба вектора перпендикулярны друг к другу. Вспышка индуцирует дихроизм, который быстро исчезает. Половинное время исчезновения дихроизма при 20°C составляет $3,0 \pm 1,5$ мкс. С увеличением температуры этот процесс ускоряется. Увеличение вязкости среды замедляет исчезновение фотодихроизма,

Если зависимость дихроизма от времени действительно определяется вращательной диффузией, то справедливо уравнение

$$\frac{\partial^2 n}{\partial \theta^2} = \tau \frac{\partial n}{\partial t}, \quad (7.12)$$

где n — доля хромофоров, ориентированных в интервале углов от θ до $\theta + d\theta$, τ — время релаксации. Для линейного хромоформа и вращательной диффузии вокруг оси, перпендикулярной к мембране диска, решение (7.12) имеет вид

$$n = 1 + f \exp(-4t/\tau) \cos 2\theta. \quad (7.13)$$

Время t измеряется от начала вспышки, θ — угол, образуемый хромофором с электрическим вектором вспышечного света, $f \leq 1$ — эмпирический множитель. Дихроичное отношение равно

$$\frac{\int_0^{n/2} n(\theta) \cos^2 \theta d\theta}{\int_0^{n/2} n(\theta) \sin^2 \theta d\theta} = \frac{2 + f \exp(-4t/\tau)}{2 - f \exp(-4t/\tau)}. \quad (7.14)$$

В идеальных условиях, когда $f = 1$, максимальное начальное отношение равно 3, что отвечает значению, найденному для сетчатки, фиксированной глутаровым альдегидом [164]. В импульсных опытах это отношение получалось равным 2, что отвечает $f = 0,7$. Значение времени вращательной диффузии τ зависит от вязкости среды η , ее температуры, а также от размеров хромофорной молекулы. Согласно Эйнштейну, для сферы радиуса r , испытывающей броуновское вращение вокруг некоторой оси,

$$\tau = \frac{8\pi r^3}{k_B T} \eta. \quad (7.15)$$

При 20 °С τ для родопсина имеет значение около 20 мкс, $r = 22$ —28 Å, родопсин приближенно сферичен и погружен в мембрану. Отсюда следует, что вязкость мембраны η около 2 пуаз (интервал от 0,7 до 6 пуаз), т. е. она близка к вязкости легкого масла (такого, как оливковое). Мембрана оказывается весьма жидкой. Это согласуется с другими данными о подвижности мембран, например, с результатами изучения поступательной диффузии флуоресцирующих антител, присоединенных к антигенам на поверхностях некоторых клеток [167]. В этих случаях также получились значения η порядка 1—10 пуаз (ср. § 3.8).

В той же работе Кона [166] обсуждается вопрос о функционировании родопсина в качестве диффузионного переносчика. По-видимому, при поворотах молекулы родопсина, возникающих

вследствие его конформационных превращений, меняется степень погружения родопсина в жидкую билипидную мембрану, что существенно для изменения ее ионной проницаемости (см. [168]).

Позднее удалось наблюдать и латеральную диффузию родопсина в мембране [169]. Измерения проводились в выделенных палочках методом импульсного фотолиза и микроспектрофотометрии. Изучалось перераспределение выцветшего и невыцветшего родопсина. Найденная константа диффузии D для палочек из сетчатки лягушки равна $3,5 \pm 1,5 \cdot 10^{-9}$ см²·с⁻¹. Вязкость мембраны, вычисляемая по формуле

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi D r}, \quad (7.16)$$

оказалась лежащей в том же интервале значений 1—4 пуаз. Время между столкновениями соседних молекул родопсина в сетчатке находится по формуле

$$s^2 = 4 D \tau_e, \quad (7.17)$$

где s — расстояние между молекулами родопсина. Если эффективный диаметр молекулы родопсина 45 Å, а расстояние между центрами молекул 70 Å, то $s = 25$ Å и $\tau_e = 4$ мкс, что в 5 раз меньше времени релаксации вращательной диффузии. Частота соударений составляет $10^5 - 10^6$ с⁻¹.

Эти результаты представляют большой интерес. Они дают основу для построения теории функционирования мембран, исходящей из их жидкостных свойств (ср. стр. 142). Мы еще очень мало знаем о событиях, приводящих к возникновению нервного импульса в фоторецепторной системе. Можно думать, что эти события тесно связаны с поведением жидкой мембраны.

НЕЛИНЕЙНЫЕ ДИНАМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

§ 8.1. ВВЕДЕНИЕ

Поведение динамической системы описывается физикой на языке детерминистической теории, пользующейся дифференциальными уравнениями.

Динамические системы линейны, если их кинетическое поведение может быть представлено линейными дифференциальными уравнениями, т.е. уравнениями, коэффициенты которых не зависят от координат и скоростей. Иными словами, предполагается, что параметры системы не зависят от ее состояния. Почти всегда такое предположение есть идеализация, однако для множества задач физики применение линейных уравнений и законно, и целесообразно. Как показано в гл. 2, в неравновесной термодинамике линейность означает прямую пропорциональность между реакцией системы (потоками) и действующей силой (обобщенные силы).

При невыполнении условия независимости параметров от состояния системы (в частности, постоянства феноменологических коэффициентов в неравновесной термодинамике) система оказывается нелинейной. Это — общий случай неидеализированной системы. Однако поведение нелинейной системы может трактоваться на основе линейных законов при малых отклонениях от состояния равновесия или стационарного состояния. Линеаризация уравнений есть обоснованный прием исследования соответствующих задач. Основные биологические явления вообще не могут быть поняты на основе «линейной теории». Мы уже встречались с существенно нелинейными процессами — с генерацией и распространением нервного импульса, с мышечным сокращением и т.д. В этой и следующей главе рассматриваются процессы, связанные с упорядоченным поведением биологической системы в пространстве и времени.

Остановимся прежде всего на термодинамическом аспекте проблемы. Как показано в работах Пригожина и его школы [1—3, 123], линейная термодинамика, ограничивающаяся рассмотрением состояний, близких к равновесию, не может объяснить возникновение упорядоченной системы при обычных (т.е. не очень низких) температурах. Имеются две возможности

возникновения порядка. Первая возможность чисто термодинамическая. Система не адиабатична, она находится в контакте с тепловым резервуаром. Ее состояние характеризуется значением свободной энергии, которая минимальна в равновесии. Термодинамическое упорядочение связано с понижением энергии системы. Ему препятствует энтропийный вклад в свободную энергию. Однако при достаточно низкой температуре этот вклад становится настолько малым, что более не мешает упорядочению, и образуется равновесная упорядоченная система, скажем, кристалл.

Очевидно, что эта возможность не реализуется в сложных биологических системах. Вероятность возникновения термодинамической упорядоченности при физиологических температурах (в области 300 К) для системы, состоящей из макроскопического числа разнообразных молекул, исчезающе мала. При этих температурах должен превалировать термодинамический беспорядок.

Имеется, однако, вторая возможность упорядочения — создание порядка вдали от равновесия, кинетическое упорядочение, возникновение *диссипативной системы*. Когерентное поведение такого рода возможно вне области стабильности состояний, характеризующихся обычным термодинамическим поведением. Критерием возможности возникновения упорядоченной диссипативной структуры является невыполнение условия устойчивости. Приведем вновь основные соотношения неравновесной термодинамики (см. гл. 2). Функция диссипации равна

$$\sigma = \frac{d_t S}{dt} = \sum_j J_j X_j \geq 0. \quad (8.1)$$

Ее изменение во времени записывается в виде

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{d_j \sigma}{dt} + \frac{d_x \sigma}{dt} = \sum_j X_j \frac{dJ_j}{dt} + \sum_j J_j \frac{dX_j}{dt}. \quad (8.2)$$

При независимых от времени граничных условиях имеем

$$\frac{d_x \sigma}{dt} \leq 0. \quad (8.3)$$

Отсюда следует условие устойчивости рассматриваемого стационарного состояния

$$\sum_j \delta J_j \delta X_j \geq 0, \quad (8.4)$$

где δJ_j , δX_j — отклонения величин обобщенных потоков и сил от их стационарных значений. Вблизи равновесия условие

(8.4) всегда выполняется. Применительно к химическим процессам оно имеет вид

$$\sum_j \delta v_j \delta \mathcal{A}_j \geq 0. \quad (8.5)$$

Если условие (8.4) не выполняется, то стационарное состояние не устойчиво и возможно усиление флуктуаций, приводящих к возникновению нетермодинамического порядка. «Порядок через флуктуации» возможен, очевидно, лишь в такой открытой системе, поведение которой существенно нелинейно.

О каком порядке идет речь, к чему может приводить нелинейность поведения системы? Прежде всего это возникновение пространственного порядка, структуры, в пространственно однородной системе. Но нелинейности основных соотношений ответственны и за упорядоченное поведение во времени, в частности, за незатухающие колебания системы.

В биологии мы встречаемся с тремя группами явлений, непосредственно свидетельствующих о нелинейности соответствующих процессов.

Во-первых, это периодические, колебательные, явления. На всех уровнях организации (от макромолекулярного до популяционного) в биологических системах происходят незатухающие колебания характеристических физических параметров — ферментативной активности, концентрации метаболитов, численности популяции и т. д.

Во-вторых, поведение клеток и организмов на всех уровнях организации подлежит регуляции и контролю, определяемым кооперативными взаимодействиями, отсутствующими в линейных системах.

В-третьих, биологическая система, начиная с клетки и кончая биосферой в целом, необратимо развивается, эволюционирует. Развитие означает возникновение новых структур, т. е. процесс существенно нелинейный.

Остановимся, прежде всего, на колебательных процессах. Можно привести весьма общие аргументы в пользу того, что биологическая система должна быть колебательной [4]. Биологические системы являются результатом длительной эволюции. Устойчивые системы за время эволюции должны были уравновеситься, стать частью среды. Напротив, неустойчивые системы за это время распались. Следовательно, лишь системы, внутреннее движение которых имеет колебательную природу, могли сохраниться.

Конечно, это лишь качественное рассуждение, и научная аргументация требует анализа временного поведения системы. Но, так или иначе, колебательные процессы чрезвычайно важны в биологии. Гудвин предпринял попытку построить универ-

сальную теорию внутриклеточных регуляторных процессов, исходя из рассмотрения клетки как системы химических осцилляторов [5]. Считая эти осцилляторы почти независимыми, Гудвин строит формальную статистическую механику такой системы, вводя по аналогии с обычными физическими величинами условные параметры — «таландическую температуру» и т. д. Обычные понятия термодинамики заменяются условными вследствие того, что в фазовом пространстве системы роль координат играют концентрации метаболитов, а роль скоростей — скорости реакций. Колебания возникают благодаря наличию обратных связей. Эта концепция не может быть принята. Как уже неоднократно отмечалось выше, биологическая система не является статистической, но представляет собой «химическую машину». Введение статистики по Гудвину не меняет дела, так как статистическое рассмотрение возможно лишь для большого числа независимых химических осцилляторов, для «газа», состоящего из таких осцилляторов. Но в действительности клетка есть не «газ», но «машина», и колебательные химические процессы в клетке взаимосвязаны и пространственно организованы. С другой стороны, гораздо более строгий и общий подход к рассмотрению биологических систем основывается на неравновесной термодинамике, пользующейся обычными физическими понятиями. Убедительная критика теории Гудвина дана Молчановым [6].

Из термодинамического рассмотрения открытых систем, находящихся вдали от равновесия, следует необходимость изучения их стационарных состояний, которые могут быть множественными [7]. Необходимо исследовать устойчивость этих состояний и условия переходов между ними.

В сущности, термодинамика здесь кончается, и научная трактовка нелинейных процессов состоит в их рассмотрении, основанном не на общих термодинамических свойствах систем, но на конкретных кинетических моделях, изучаемых посредством аппарата дифференциальных уравнений. Вопрос о его применимости для биологических систем не тривиален.

«Химическая машина», вообще говоря, характеризуется не непрерывным, но дискретным набором состояний. Применение аппарата дифференциальных уравнений к такой системе означает включение дискретных состояний в некоторое непрерывное множество. Такая процедура не препятствует трактовке поведения дискретной системы, напротив, она позволяет при надлежащем выборе модели его проанализировать (см. [4]). Вместе с тем аппарат дифференциальных уравнений может оказаться недостаточным для исследования стохастических процессов, требующих применения теории вероятностей, теории цепей Маркова. Вопрос о математическом методе должен решаться от-

с трением. Его уравнение движения есть уравнение второго порядка

$$m\ddot{x} + b\dot{x} + kx = 0, \quad (8.7)$$

которое можно представить в форме двух уравнений первого порядка, если ввести вторую переменную — скорость $y = \dot{x}$. Тогда получим линейные уравнения типа (8.6)

$$\dot{x} = y, \quad \dot{y} = -\frac{b}{m}y - \frac{k}{m}x. \quad (8.8)$$

Общее решение уравнения (8.7) есть

$$x = A_1 \exp \lambda_1 t + A_2 \exp \lambda_2 t, \quad (8.9)$$

где λ_1 и λ_2 — корни квадратного уравнения

$$\lambda^2 + \frac{b}{m}\lambda + \frac{k}{m} = 0. \quad (8.10)$$

При $b^2 > 4km$ эти корни вещественны, при $b^2 < 4km$ — комплексны. В первом случае процесс имеет характер аperiodического затухания, во втором — затухающих колебаний. Значения A_1 и A_2 определяются начальными условиями.

Рациональный метод исследования кинетической системы состоит в получении ее «фазового портрета». Движение системы представляется движением изображающей точки на фазовой плоскости x, y , где $y = \dot{x}$. Точка движется по фазовой траектории с фазовой скоростью. Получим уравнение фазовой траектории для осциллятора с трением, исключив время из уравнений (8.8). Для этого разделим второе уравнение на первое:

$$\frac{dy}{dx} = -\frac{2hy + \omega_0^2 x}{y}, \quad (8.11)$$

где $2h = b/m$, $\omega_0^2 = k/m$. Уравнение (8.11) описывает интегральные кривые, в каждой точке которых касательная имеет наклон, равный dy/dx . Вместе с уравнением (8.8) уравнение (8.11) определяет на фазовой плоскости некоторое векторное поле с единственной особой точкой $x = 0, y = 0$. Удобно исследовать это поле с помощью *изоклин*, т. е. кривых (в данном случае прямых), являющихся геометрическим местом точек, в которых касательные ко всем интегральным кривым имеют одинаковый наклон. В нашем случае уравнение изоклины с наклоном κ имеет вид

$$\frac{dy}{dx} = \kappa,$$

или

$$y = ax = -\frac{\omega_0^2}{\kappa + 2h} x; \quad (8.12)$$

Иными словами, изоклины представляют собой прямые, проходящие через начало координат — через особую точку $x = 0$, $y = 0$.

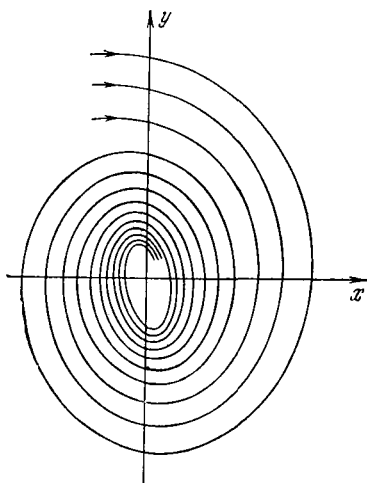


Рис. 8.1. Интегральные кривые на фазовой плоскости для затухающих колебаний осциллятора с трением.

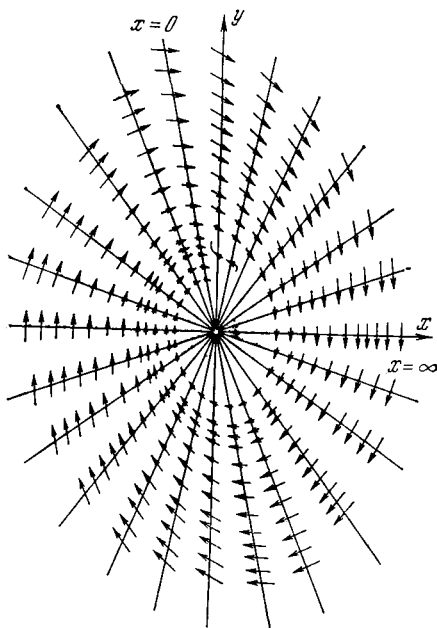


Рис. 8.2. Векторное поле для осциллятора с трением.

Решение уравнения (8.11) для случая затухающего колебательного процесса, $b^2 < 4km$ или $h^2 < \omega_0^2$, имеет вид координатного уравнения (см. [8])

$$y^2 + 2hxy + \omega_0^2 x^2 = C \exp\left[2 \frac{h}{\omega_0} \operatorname{arctg} \frac{y + hx}{\omega_0 x}\right], \quad (8.13)$$

где C — произвольная постоянная, определяемая начальными условиями. Этому уравнению соответствует семейство логарифмических спиралей, показанное на рис. 8.1. Векторное поле, построенное с помощью изоклин, изображено на рис. 8.2.

Фазовая скорость находится из уравнения

$$v = i\dot{x} + j\dot{y}, \quad (8.14)$$

где i и j — единичные векторы.

В нашем случае, согласно уравнениям (8.8),

$$\mathbf{v} = iy + j(-2hy - \omega_0^2 x)$$

и

$$|\mathbf{v}|^2 = \omega_0^4 x^2 + 4h\omega_0^2 xy + (1 + 4h^2)y^2.$$

Фазовая скорость убывает по мере приближения к началу координат и обращается в нуль в этой точке.

При $h = 0$ (т. е. $b = 0$) трения нет, и система становится незатухающим гармоническим осциллятором. Интегральные кривые представляют семейство эллипсов

$$y^2 + \omega_0^2 x^2 = \text{const} \quad (8.15)$$

(см. [8], а также [9], § 1.2). Уравнение изоклин имеет вид $y = -\omega_0^2 x/h$, фазовая скорость задается соотношениями $\mathbf{v} = iy - j\omega_0^2 x$, $|\mathbf{v}|^2 = y^2 + \omega_0^4 x^2$.

Для затухающего апериодического процесса $b^2 > > 4km$, т. е. $h^2 > \omega_0^2$. Корни характеристического уравнения вещественны и отрицательны:

$$\lambda_1 = -h + \sqrt{h^2 - \omega_0^2},$$

$$\lambda_2 = -h - \sqrt{h^2 - \omega_0^2}.$$

Фазовый портрет системы показан на рис. 8.3.

Рис. 8.3. Интегральные кривые для апериодического затухания осциллятора с трением.

В описанных примерах мы имеем дело с различными типами особых точек, во всех трех случаях расположенных в начале координат x, y . Для гармонического осциллятора без трения все фазовые кривые замкнуты (имеют форму эллипса) и охватывают особую точку, называемую *центром*. Для затухающих колебаний особая точка является асимптотической точкой всех кривых, имеющих вид вложенных друг в друга спиралей. Такая точка называется *фокусом*. Наконец, при апериодическом затухании все кривые проходят через особую точку, именуемую *узлом*. Проведем общее исследование особых точек.

Рассмотрим систему двух нелинейных дифференциальных уравнений типа

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= a_1 x + a_2 y + X_2(x, y), \\ \dot{y} &= b_1 x + b_2 y + Y_2(x, y), \end{aligned} \right\} \quad (8.16)$$

где X_2 и Y_2 — полиномы, содержащие члены порядка выше первого относительно x и y . Правые части уравнений обращаются в нуль в начале координат $x = 0, y = 0$. Следовательно это особая точка, отвечающая стационарному состоянию $\dot{x} = \dot{y} = 0$. Ограничиваясь линейным приближением, т. е. рассматривая лишь окрестность этой точки, имеем

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= a_1x + a_2y, \\ \dot{y} &= b_1x + b_2y. \end{aligned} \right\} \quad (8.17)$$

Интегральная кривая есть

$$\frac{dy}{dx} = \frac{b_1x + b_2y}{a_1x + a_2y}, \quad (8.18)$$

и решение уравнения (8.17) имеет вид

$$\begin{aligned} x &= A_1 \exp \lambda_1 t + A_2 \exp \lambda_2 t, \\ y &= B_1 \exp \lambda_1 t + B_2 \exp \lambda_2 t, \end{aligned}$$

где λ_1 и λ_2 — корни характеристического уравнения

$$\lambda^2 - (a_1 + b_2)\lambda + a_1b_2 - a_2b_1 = 0.$$

Это полностью соответствует изложенному выше (в случае осциллятора с трением было $a_1 = 0, a_2 = 1, b_1 = -\omega_0^2, b_2 = -2h$). Общая классификация особых точек, данная Пуанкаре [10], основывается на поведении интегральных кривых в ближайшей окрестности этих точек.

Если дискриминант характеристического уравнения $D = = -4a_2b_1 - (a_1 - b_2)^2 \leq 0$, то оба корня λ_1, λ_2 вещественны. Если одновременно $a_1b_2 - a_2b_1 > 0$, то их знаки одинаковы. Рассмотрим следующие случаи:

1. $\lambda_1, \lambda_2 < 0$. Решение имеет вид убывающих экспонент, т. е. система, введенная из особой точки, в нее возвращается. Особая точка есть *устойчивый узел*.

2. $\lambda_1, \lambda_2 > 0$. Система удаляется от особой точки, представляющей собой *неустойчивый узел*.

3. $D \leq 0$, но $a_1b_2 - a_2b_1 < 0$. Корни λ_1, λ_2 имеют разные знаки. Особая точка является неустойчивой и именуется *седлом*. Через нее проходят только две интегральные кривые, называемые *сепаратрисами*. Остальные фазовые траектории уходят в бесконечность, минуя особую точку.

4. $D < 0$, но $a_1b_2 - a_2b_1 = 0$, т. е. $D = -(a_1 + b_2)^2, \lambda_1 = 0, \lambda_2 = a_1 + b_2$. Один из корней равен нулю. Для линейной системы (8.17) получается не особая точка, но прямая, соответствующая равновесным состояниям, в которую упираются остальные интегральные прямые, направления движения по которым зависят от знака λ_2 .

Если дискриминант $D > 0$, то корни λ_1 и λ_2 комплексно сопряжены.

5. Вещественные части λ_1, λ_2 отрицательны, т. е. $a_1 + b_2 < 0$. В системе происходят затухающие колебания, особая точка, на которую накручиваются спиральные фазовые траектории, есть *устойчивый фокус*.

6. Вещественные части λ_1, λ_2 положительны, т. е. $a_1 + b_2 > 0$. Особая точка есть *неустойчивый фокус*, соответствующий нарастающим по амплитуде колебаниям.

7. Корни $\lambda_1 = -\lambda_2$ мнимые, т. е. $a_1 + b_2 = 0$. В системе происходят незатухающие колебания, особая точка есть *центр*. Фазовые траектории представляют собой концентрические эллипсы.

Виды особых точек, соответствующих случаям 1, 3, 6, 7, показаны на рис. 8.4 [8, 11]. В рассмотренном случае особая точка

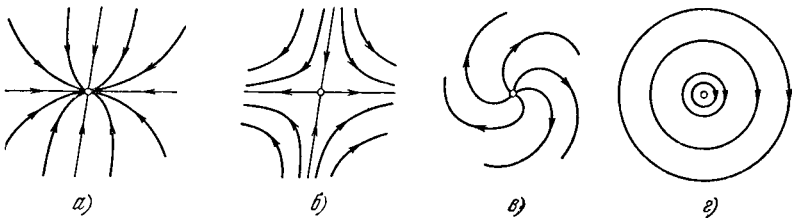


Рис. 8.4. Типы узловых точек на плоскости состояний.
а—устойчивый узел, б—седло, в—неустойчивый фокус, г—центр.

типа седла невозможна. В самом деле, условия ее появления для осциллятора имеют вид $4h^2 - 4\omega_0^2 > 0$ и $\omega_0^2 < 0$, что лишено физического смысла при положительных значениях k и m . Особая точка типа седла имеется, например, в случае линейной системы, в которой действует сила отталкивания от положения равновесия, причем величина этой силы возрастает со смещением. Так ведет себя, в частности, математический маятник вблизи верхнего положения равновесия. Уравнение его движения имеет вид

$$\ddot{\varphi} - \frac{g}{l} \varphi = 0$$

где φ — угол, отсчитываемый от верхнего положения равновесия, g — ускорение свободного падения, l — длина маятника. Перепишем это уравнение в виде

$$\dot{x} - nx = 0, \quad (8.19)$$

или

$$\dot{x} = y, \quad \dot{y} = nx. \quad (8.20)$$

Здесь $a_1 = 0$, $a_2 = 1$, $b_1 = n$, $b_2 = 0$ и условие 3 (см. стр. 401) соблюдается: $4n > 0$, $-n < 0$. Уравнение

$$\frac{dy}{dx} = n \frac{x}{y} \quad (8.21)$$

легко решается. Интегральные кривые отвечают уравнению семейства равносторонних гипербол

$$y^2 - nx^2 = C \quad (8.22)$$

с асимптотами $y = -\sqrt{n}x$ и $y = \sqrt{n}x$. Эти кривые показаны на рис. 8.5. Особая точка $x = 0$, $y = 0$, находящаяся на пересечении асимптот, является седлом.

Таким образом, особая точка изображает состояние равновесия или стационарное состояние системы. Мы уже говорили об устойчивых и неустойчивых особых точках. Определение устойчивости состояния равновесия по Ляпунову [12] гласит (см. [8], [9], § 1.2):

«состояние равновесия устойчиво, если для любой заданной области ϵ допустимых отклонений от состояния равновесия имеется область $\delta(\epsilon)$, окружающая это состояние и обладающая тем свойством, что ни одно движение, начинающееся внутри δ , никогда не достигает границы области ϵ .» И наоборот, состояние равновесия неустойчиво, если имеется область ϵ , для которой область $\delta(\epsilon)$ не существует. Пусть на фазовой плоскости область ϵ есть квадрат; тогда состояние равновесия $x = x_0$, $y = y_0$ устойчиво, если, задав наперед сколь угодно малое положительное значение ϵ , можно найти такое $\delta(\epsilon)$, что если при $t = 0$

$$|x(0) - x_0| < \delta \quad \text{и} \quad |y(0) - y_0| < \delta,$$

то для $0 < t < \infty$

$$|x(t) - x_0| < \epsilon \quad \text{и} \quad |y(t) - y_0| < \epsilon.$$

Легко показать, что в рассмотренных случаях фокус и узел устойчивы. Гармонический осциллятор без трения совершает незатухающие колебания вокруг состояния равновесия, чему со-

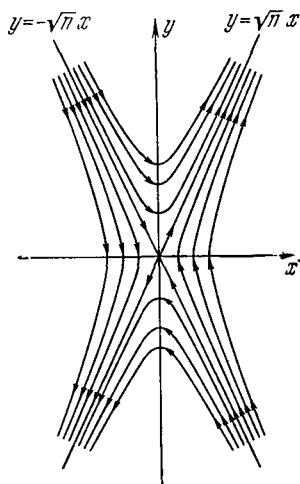


Рис. 8.5. Фазовый портрет для осциллятора с отрицательным трением.

ответствуют движения изображающей точки по концентрическим эллипсам. Согласно данному определению устойчивости особая точка типа центра всегда отвечает устойчивому состоянию равновесия [8].

Фокус отвечает неустойчивому состоянию, если трение отрицательно, т. е. $h < 0$. Такая ситуация реализуется, например, в ламповом генераторе (см. [8]). При этом спирали не свертываются в фокус, но разворачиваются из него. Аналогичным образом, при большом отрицательном трении, когда $h < 0$, $h^2 > > \omega_0^2$, возникает неустойчивый узел. Седло отвечает неустойчивому состоянию.

Теория нелинейных динамических систем различает «грубые» и «негрубые» системы [8]. В первом случае малые изменения параметров системы не изменяют ее общего поведения — математическая модель устойчива по отношению к малым изменениям вида дифференциальных уравнений. Ситуации, отвечающие пунктам 1, 2, 3, 5, 6 приведенной выше классификации, характеризуют грубые системы. Напротив, в случаях 4 и 7 системы негрубые. В самом деле, в случае 4 значение параметра $a_1 b_2 - a_2 b_1 = 0$ является критическим, при переходе от его положительной к отрицательной величине вместо устойчивого узла возникает седло. В случае 7 критическим является значение параметра $a_1 + b_2 = 0$ — при переходе $a_1 + b_2 > 0 \rightarrow a_1 + b_2 = 0 \rightarrow a_1 + b_2 < 0$ особые точки изменяют свой характер:

неустойчивый фокус \rightarrow центр \rightarrow устойчивый фокус.

Такие критические значения параметра являются *бифуркационными*.

Проблемы теории устойчивости и методы исследования устойчивости динамических систем подробно рассмотрены в ряде монографий [8, 11—18]. Краткое введение в рассматриваемую здесь область дано в [17—19].

Из приведенного рассмотрения линейных систем следует важный общий вывод. Среди них только гармонический осциллятор без трения характеризуется замкнутыми фазовыми траекториями, отвечающими периодическому движению. Периодические процессы невозможны для линейных неконсервативных систем.

Обратимся теперь к нелинейным системам. Колебательное поведение нелинейных систем весьма разнообразно и сложно. Его изучение имеет фундаментальное значение для очень широкого круга физических проблем. Физика нелинейных колебаний развита в трудах школ Мандельштама (см. [8, 20—22]), Ван-дер-Поля [23] и др.

Очевидно, что общие уравнения (8.6) нелинейны; то же относится к уравнениям (8.16), которые мы линеаризовали с целью

исследования окрестностей особых точек. Но такое исследование не дает ответа на вопросы о поведении нелинейной системы на всей фазовой плоскости.

Нелинейная система может характеризоваться наличием ряда особых точек, отвечающих устойчивым и неустойчивым состояниям. Если система консервативна, то ее уравнения движения имеют интеграл энергии

$$^{1}/_2 y^2 + U(x) = \mathcal{E}, \quad (8.23)$$

где константа интегрирования \mathcal{E} зависит от начальных условий, $y^2/2 = m\dot{x}^2/2$ есть кинетическая, а $U(x)$ — потенциальная энергии. Движение изображающей точки зависит от соотношения между $U(x)$ и \mathcal{E} . Рассмотрим на плоскости x, z кривую $z = U(x)$ и прямую $z = \mathcal{E}$. Возможны следующие случаи [8]:

1. Прямая $z = \mathcal{E}$ не пересекает кривую $U(x)$. Если точки кривой лежат выше точек прямой, то на фазовой плоскости нет движения с полной энергией \mathcal{E} . Если прямая $z = \mathcal{E}$ лежит выше кривой $z = U(x)$, то на фазовой плоскости x, y имеются две симметричные ветви фазовой траектории, по которым изображающие точки уходят в бесконечность (убегающие траектории).

2. Прямая $z = \mathcal{E}$ пересекает кривую $z = U(x)$. Для значений x , для которых $U(x) > \mathcal{E}$, фазовых траекторий нет, для остальных значений x существуют как убегающие, так и замкнутые ветви, отвечающие периодическим движениям.

3. Прямая $z = \mathcal{E}$ касается кривой $z = U(x)$. Фазовые кривые на плоскости x, y разбиваются на несколько классов. Возможны изолированные точки, вблизи которых нет ветвей фазовых кривых, отвечающие устойчивым состояниям равновесия. Возможны изолированные конечные участки фазовых кривых — замкнутые кривые или кривые с самопересечением. Последние являются так называемыми *сепаратрисами*, т. е. кривыми, проходящими через особые точки типа седла (рис. 8.6). Сепаратрисы разделяют области, заполненные кривыми различных типов. Поэтому нахождение сепаратрис очень важно для определения поведения системы. Наконец, возможны бесконечные участки фазовых кривых. Пример нелинейной консервативной системы — маятник, выполняющий большие колебания без трения и описываемый уравнением движения

$$I\ddot{\varphi} + mgl \sin \varphi = 0, \quad (8.24)$$

где I — момент инерции маятника. При наличии трения

$$I\ddot{\varphi} + b\dot{\varphi} + mgl \sin \varphi = 0, \quad (8.25)$$

система уже неконсервативна и интеграла энергии не имеет. Уравнение баланса энергии имеет вид

$$\dot{\mathcal{E}} = -b\dot{\varphi}^2 \leq 0. \quad (8.26)$$

Энергия убывает при движении системы, стремясь к некоторому равновесному значению — $\dot{\varphi}$ стремится к нулю.

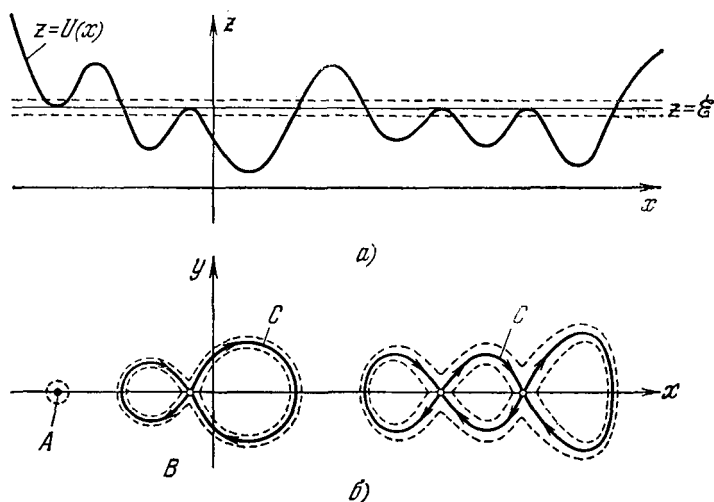


Рис. 8.6. Различные типы фазовых кривых для консервативной нелинейной системы.

a —кривая $z=U(x)$ и прямая $z=\varepsilon$ на плоскости x, z ; b —фазовые траектории на плоскости x, y , A —изолированная точка, B —изолированные участки фазовых кривых, C —сепаратрисы.

Уравнение (8.24) можно переписать в виде

$$\dot{\varphi} = \omega, \quad \dot{\omega} = -mgl \sin \varphi / l. \quad (8.27)$$

Фазовые траектории удобно изобразить на развертке цилиндра на плоскости ω, φ в виде полосы шириной 2π . На рис. 8.7 показаны кривая $z = U(\varphi) = -mgl \cos \varphi$ на плоскости φ, z и фазовый портрет системы. Имеются особые точки двух типов — центр $\omega = 0, \varphi = 0$ и седла $\omega = 0, \varphi = \pm \pi$, через которые проходят сепаратрисы. При $-mgl < \mathcal{E} < mgl$ маятник колеблется около нижнего положения равновесия, около центра. При $\mathcal{E} = mgl$ получается интегральная кривая, проходящая через седло, т.е. состоящая из седла и сепаратрис. Седлу соответствует верхнее неустойчивое положение равновесия. При $\mathcal{E} > mgl$ кривые соответствуют вращательным движениям маятника.

Для неконсервативной системы (8.25) картина на развертке фазового цилиндра описывается уравнением

$$\frac{d\omega}{d\varphi} = - \frac{b\omega + mgl \sin \varphi}{I\omega}. \quad (8.28)$$

Особые точки $\varphi = 0$, $\omega = 0$ и $\varphi = \pm \pi$, $\omega = 0$. Точка $(0, 0)$ есть устойчивый фокус (если $b^2 < 4I mgl$) или устойчивый узел (если $b^2 > 4I mgl$). Точки $(\pm\pi, 0)$ — седла. Периодических движений нет, система стремится к устойчивому равновесию.

Особый интерес для биологии представляют автоколебательные системы, в которых устанавливаются и поддерживаются неза-

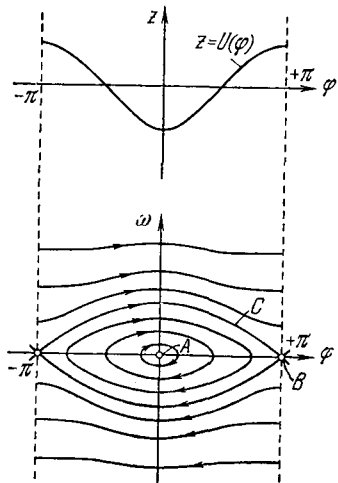


Рис. 8.7. Фазовый портрет нелинейных колебаний маятника. А — центр, В — седло, С — сепаратрисы.

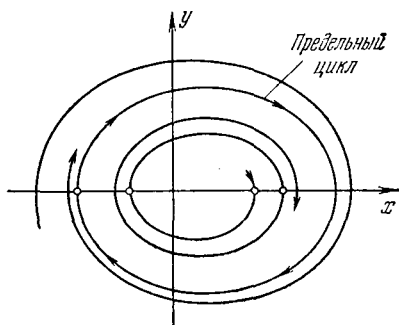


Рис. 8.8. Предельный цикл.

тухающие колебания несмотря на наличие трения. Это происходит за счет сил, зависящих от состояния движения самой системы. Размах автоколебаний определяется свойствами самой системы, а не начальными условиями. Из неустойчивых особых точек фазовые траектории уходят в бесконечность или к устойчивым особым точкам. Кроме того, именно в случае автоколебаний эти траектории могут «накручиваться» на замкнутую кривую, охватывающую особую точку, — на *предельный цикл* (рис. 8.8). В свою очередь, предельные циклы могут быть устойчивыми или неустойчивыми. Эти ситуации присущи грубым системам, к которым относятся, по-видимому, системы биологические [18]. Устойчивый предельный цикл соответствует незатухающим автоколебаниям. С таким явлением мы уже встречались при обсуждении свойств летательных мышц насекомых (см. § 5.10). Нахождение предельных циклов на фазовых портретах есть важный момент исследования нелинейных систем,

Классический пример автоколебаний — явления, происходящие в ламповом генераторе (см. [8, 20]). В дальнейшем изложении рассмотрены соответствующие химические и биологические явления.

Подробное рассмотрение нелинейных колебательных процессов и применения теории к ряду конкретных систем — преимущественно механических и электрических — приведены в [8, 11, 15—18]. Рассмотрим теперь некоторые химические системы, исследование которых оказывается связанным с биологией. Мы видели, что принципиальные подходы к химическим системам те же, что и в механике, и в учении об электричестве. Это с особенной ясностью демонстрируется в термодинамике сетей (см. стр. 79). Особенности химических и биологических систем состоят в следующем.

1. Динамическими переменными в химии и в ряде биологических проблем являются концентрации реагентов. На той же основе в качестве переменных рассматриваются числа организмов (в популяционной генетике и в экологии).

2. В химико-биологической системе химические процессы зачастую связаны с диффузионными, с транспортом вещества. Иными словами, здесь мы встречаемся не с точечными, а с *распределенными системами*. Особое значение для биологии имеет компартментализация — подразделение системы на «отсеки», разделенные мембранами. Система пространственно гетерогенна.

3. В химических системах живой природы нелинейные химические реакции сопряжены как с транспортом вещества, так и с механическими и электрическими процессами.

4. Во многих химико-биологических процессах приходится иметь дело с малым числом молекул или макромолекул. Как отмечено в [18], само понятие концентрации имеет здесь ограниченную применимость, и в качестве динамических переменных вводятся вероятности тех или иных состояний молекул и макромолекул.

В целом в химии и биологии возникает самое разнообразное нелинейное и, в частности, колебательное поведение. Прямые экспериментальные и теоретические исследования при помощи простых моделей проведены пока лишь для немногих случаев. Однако полученные результаты очень поучительны и обещают многое.

§ 8.3. АВТОКАТАЛИТИЧЕСКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

В биологии особое значение имеют *автокаталитические* химические системы. Достаточно указать, что авторепродукция клеток и организмов эквивалентна автокатализу.

Вернемся сначала к феноменологическому термодинамическому рассмотрению. Как мы видели, для химических процессов критерий эволюции выражается условием (ср. (8.3))

$$d_X\sigma = \frac{1}{T} \sum_i v_i d\mathcal{A}_i \leq 0 \quad (8.29)$$

и условие устойчивости стационарного состояния имеет вид

$$\sum_i \delta v_i \delta \mathcal{A}_i \geq 0. \quad (8.5)$$

Из (8.29) следует, что вблизи стационарного состояния

$$T\delta_X\sigma = \sum_i \delta v_i d(\delta \mathcal{A}_i) \leq 0. \quad (8.30)$$

Разлагая δv_i в ряд по $\delta \mathcal{A}_j$, получаем

$$\delta v_i = \sum_j L'_{ij} \delta \mathcal{A}_j, \quad (8.31)$$

где

$$L'_{ij} = \frac{\partial v_i}{\partial \mathcal{A}_j},$$

причем производные взяты для стационарного состояния. Вообще говоря, L'_{ij} может содержать как симметричную, так и антисимметричную часть. В условиях линейности, т. е. вблизи равновесия, коэффициенты L'_{ij} совпадают с коэффициентами Онзагера L_{ij} и антисимметричные их части равны нулю. Вдали от равновесия это также возможно. Тогда

$$Td_X\sigma = d\Psi \leq 0, \quad (8.32)$$

где

$$\Psi = \frac{1}{2} \sum_{i,j} L'_{ij} \delta \mathcal{A}_i \delta \mathcal{A}_j \quad (8.33)$$

есть кинетический потенциал. Однако если антисимметричные части L'_{ij} отличны от нуля, то в общем случае кинетический потенциал не существует. Допустим, что два химических процесса описываются чисто антисимметричной матрицей L'_{ij} , т. е.

$$L'_{11} = L'_{22} = 0, \quad L'_{12} = -L'_{21} = -L'.$$

Тогда

$$Td_X\sigma = L'(\delta \mathcal{A}_2 d\sigma \mathcal{A}_1 - \delta \mathcal{A}_1 d\sigma \mathcal{A}_2) \leq 0. \quad (8.34)$$

Такая система вращается вокруг стационарного состояния, не попадая в него. Фазовая диаграмма имеет вид, показанный на

рис. 8.9; точка, отвечающая стационарному состоянию, есть центр. Вводя полярные координаты r и φ на плоскости \mathcal{A}_1 , \mathcal{A}_2 , имеем

$$Td_X\sigma = -L'r^2 d\varphi \leq 0. \quad (8.35)$$

Но функция $\Psi = L'r^2\varphi$ не является кинетическим потенциалом вследствие своей многозначности — она возрастает на $2\pi L'r^2$ при каждом обороте [1].

Антисимметричность феноменологических соотношений выражает нелинейность.

Рассмотрим нелинейную систему химических реакций — модель колебательной химической системы, впервые исследованную Лотка [24]

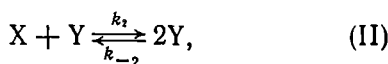
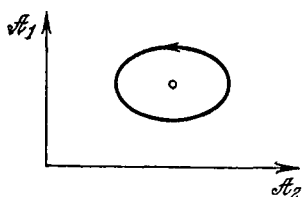


Рис. 8.9. Обращение вокруг стационарного состояния антисимметричной химической системы [1].

Глобальная реакция есть $A \rightleftharpoons E$. Процесс автокаталитический на стадии (II). Считаем, что вещество А присутствует в избытке, и поэтому реакция (I) нулевого порядка.

Общее сродство, отвечающее глобальной реакции,

$$\mathcal{A} = \mathcal{A}_1 + \mathcal{A}_2 + \mathcal{A}_3 = RT \ln \frac{k_1 k_2 k_3 A}{k_{-1} k_{-2} k_{-3} E}. \quad (8.36)$$

Вблизи равновесия система линейна:

$$v_{01} = k_1 \frac{\mathcal{A}_1}{RT}, \quad v_{02} = k_2 X_{\text{eq}} Y_{\text{eq}} \frac{\mathcal{A}_2}{RT}, \quad v_{03} = k_3 Y_{\text{eq}} \frac{\mathcal{A}_3}{RT}. \quad (8.37)$$

Условие устойчивости имеет вид

$$k_1 (\delta\mathcal{A}_1)^2 + k_2 X_{\text{eq}} Y_{\text{eq}} (\delta\mathcal{A}_2)^2 + k_3 Y_{\text{eq}} (\delta\mathcal{A}_3)^2 \geq 0. \quad (8.38)$$

Вдали от равновесия можно пренебречь обратными реакциями, т. е. положить $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = 0$. Следовательно, $\mathcal{A} \rightarrow \infty$. Кинетические уравнения антисимметричны

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= k_1 - k_2 XY, \\ \frac{dY}{dt} &= k_2 XY - k_3 Y, \\ \frac{dE}{dt} &= k_3 Y. \end{aligned} \right\} \quad (8.39)$$

Единственное стационарное решение отвечает условию $\dot{X} = \dot{Y} = 0$. Имеем

$$X^0 = k_3/k_2, \quad Y^0 = k_1/k_3.$$

Модель Лотка сходна с моделью «хищник — жертва», исследованной Вольтерра [25] (подробный анализ см. также в [26]). В некотором замкнутом районе живут хищники и их жертвы, скажем, рыси и зайцы. Рыси питаются только зайцами, зайцы питаются растительной пищей, имеющейся всегда в избытке. Число жертв X_1 , число хищников X_2 . Изменения численности популяций со временем описываются уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX_1}{dt} &= k_1 X_1 - k X_1 X_2, \\ \frac{dX_2}{dt} &= k' X_1 X_2 - k_2 X_2. \end{aligned} \right\} \quad (8.40)$$

Константа k_1 характеризует размножение жертв, k — их убыль вследствие встреч с хищниками, k' — размножение хищников, для которого необходимо питание, т. е. встречи с жертвами, k_2 — вымирание хищников. Все коэффициенты k_1 , k , k' , k_2 положительны.

Проведем рассмотрение системы Вольтерра — Лотка в этом простом случае (см. [1, 19, 26], а также [8], стр. 164). Найдем стационарные значения X_1^0 и X_2^0 . Из уравнений (8.40) при $\dot{X}_1 = \dot{X}_2 = 0$ получаем

$$X_1^0 = k_2/k', \quad X_2^0 = k_1/k.$$

Представим значения X_1 , X_2 в виде

$$X_1 = X_1^0 \exp \alpha_1, \quad X_2 = X_2^0 \exp \alpha_2. \quad (8.41)$$

Очевидно, что $\alpha_i = \ln(X_i/X_i^0)$ являются мерой отклонения X_i от стационарного состояния, в котором $\alpha_i = 0$. Уравнения (8.40) перепишутся в виде

$$\left. \begin{aligned} \frac{1}{k} \dot{\alpha}_1 &= X_2^0 (1 - \exp \alpha_2), \\ \frac{1}{k'} \dot{\alpha}_2 &= -X_1^0 (1 - \exp \alpha_1). \end{aligned} \right\} \quad (8.42)$$

Умножим первое уравнение на $X_1^0(1 - \exp \alpha_1)$, второе — на $X_2^0(1 - \exp \alpha_2)$ и сложим:

$$\frac{1}{k} X_1^0 \dot{\alpha}_1 (1 - \exp \alpha_1) + \frac{1}{k'} X_2^0 \dot{\alpha}_2 (1 - \exp \alpha_2) = 0, \quad (8.43)$$

или

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{1}{k} X_1^0 (\exp \alpha_1 - \alpha_1) + \frac{1}{k'} X_2^0 (\exp \alpha_2 - \alpha_2) \right] = 0,$$

т. е.

$$\frac{1}{k} X_1^0 (\exp \alpha_1 - \alpha_1) + \frac{1}{k'} X_2^0 (\exp \alpha_2 - \alpha_2) = K = \text{const.} \quad (8.44)$$

Величина K есть постоянная движения. Оба члена в K положительны, так как если $\alpha_i > 0$, то $\exp \alpha_i > \alpha_i$, а если $\alpha_i < 0$, то

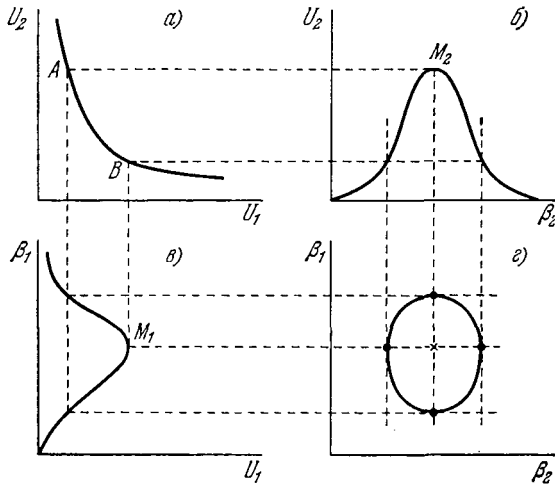


Рис. 8.10. Построение интегральных кривых для модели Вольтерра — Лотка [26].

Объяснение в тексте.

$\exp \alpha_i > 0$. Следовательно, $K > 0$. Введем обозначение $\exp \alpha_i = \beta_i$. Умножив обе части (8.44) на kk' , имеем, так как $k'X_1^0 = k_2$, $kX_2^0 = k_1$,

$$k_2 (\beta_1 - \ln \beta_1) + k_1 (\beta_2 - \ln \beta_2) = Kkk';$$

откуда, поделив на k_1k_2 , находим

$$\frac{1}{k_1} (\beta_1 - \ln \beta_1) + \frac{1}{k_2} (\beta_2 - \ln \beta_2) = K \frac{kk'}{k_1k_2} = \text{const.}$$

Потенцирование дает

$$(\beta_1 \exp(-\beta_1))^{1/k_1} (\beta_2 \exp(-\beta_2))^{1/k_2} = U_1 U_2 = \text{const.} \quad (8.45)$$

Уравнение $U_1 U_2 = \text{const}$ есть уравнение гиперболы. Ее график показан на рис. 8.10, а. На рис. 8.10, б и в показано поведение U_2 и U_1 как функций β_2 и β_1 соответственно. Кривые $U_1(\beta_1)$ и $U_2(\beta_2)$ имеют максимумы. Зависимость β_1 от β_2 , следующая из (8.45), показана на рис. 8.10, г. Максимумам U_1 и U_2 отвечают точки B и A на гиперболе. При движении между этими двумя

пределными точками на плоскости β_1, β_2 описывается цикл. Характер цикла зависит от начальных условий. Стационарному состоянию соответствуют точки A и B на гиперболе, точки максимумов M_1 и M_2 на кривых $U_1(\beta_1)$ и $U_2(\beta_2)$ и особая точка типа центра на плоскости β_1, β_2 . Определим поведение системы вблизи

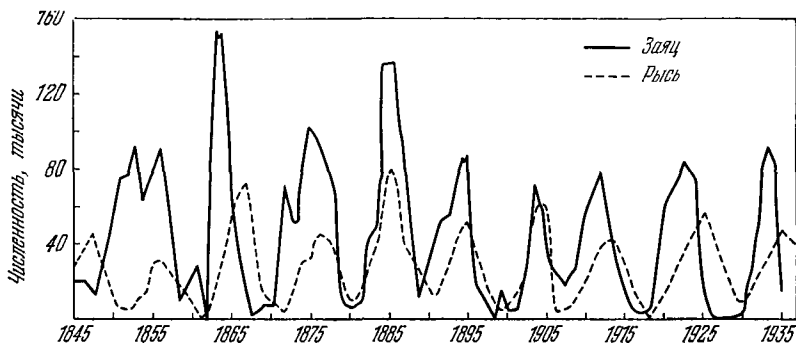


Рис. 8.11. Динамика популяций зайцев и рысей в Канаде за 1845—1935 гг.

особой точки. Линеаризуем систему (8.40), т. е. будем искать ее решение в виде

$$X_1(t) = X_1^0 + \delta X_1 \exp(\lambda t), \quad X_2(t) = X_2^0 + \delta X_2 \exp(\lambda t), \quad (8.46)$$

причем $|\delta X_1| \ll X_1^0$, $|\delta X_2| \ll X_2^0$. Пренебрегая членами, нелинейными относительно $\delta X_1, \delta X_2$, получаем

$$\left. \begin{aligned} \lambda \delta X_1 + \frac{k k_2}{k'} \delta X_2 &= 0, \\ -\frac{k_1 k}{k'} \delta X_1 + \lambda \delta X_2 &= 0. \end{aligned} \right\} \quad (8.47)$$

Характеристическое уравнение есть

$$\lambda^2 + \frac{k_1 k^2 k_2}{k'^2} = 0,$$

и $\lambda = i\omega$ — мнимая величина. Частота колебаний равна

$$\omega = \frac{k}{k'} \sqrt{k_1 k_2}. \quad (8.48)$$

Таким образом, величины X_1 и X_2 испытывают периодические колебания, амплитуды и фазы которых зависят от начальных условий. Фазы X_1 и X_2 разнятся. Для сравнения приведем рис. 8.11, на котором показана динамика популяций зайцев и рысей в Канаде за 1845—1935 гг. [27].

Посмотрим, выполняется ли термодинамическое условие стабильности в системе (8.40). Трактруя X_1 и X_2 как концентрации химических соединений, а k_1 , k_2 , k , k' как константы скоростей, имеем, варьируя для первой реакции X_1 ,

$$\delta v_1 = k_1 \delta X_1 - k X_2^0 \delta X_1,$$

$$\delta \mathcal{A}_1 = -RT \frac{X_1^0}{X_2^0} \delta X_1,$$

для второй реакции X_2

$$\delta v_2 = k' X_1^0 \delta X_2 - k_2 \delta X_2,$$

$$\delta \mathcal{A}_2 = -RT \frac{X_2^0}{X_1^0} \delta X_2,$$

причем $X_1^0 = k_2/k'$, $X_2^0 = k_1/k$. Находим

$$\left(k \frac{X_2^0}{X_1^0} - k_1 \frac{1}{X_1^0} \right) (\delta X_1) + \left(k_2 \frac{1}{X_2^0} - k' \frac{X_1^0}{X_2^0} \right) (\delta X_2)^2 = 0, \quad (8.49)$$

т. е. условие устойчивости выполнено.

Мы исследовали поведение консервативной системы. В действительности популяции видов могут расти лишь до некоторого предела, до значений $X_1^{(m)}$ и $X_2^{(m)}$, отвечающих насыщению. Это обстоятельство можно выразить уравнением Ферхульста [107] (см. также [26, 108])

$$\dot{X} = k \frac{X(X^{(m)} - X)}{X^{(m)}}. \quad (8.50)$$

Вводя предел размножения жертв в уравнения Вольтерра, получаем

$$\left. \begin{aligned} \dot{X}_1 &= k_1 \frac{X_1}{X_1^{(m)}} (X_1^{(m)} - X_1) - k X_1 X_2, \\ \dot{X}_2 &= k' X_1 X_2 - k_2 X_2. \end{aligned} \right\} \quad (8.51)$$

Такая система более не является консервативной и не имеет постоянной движения.

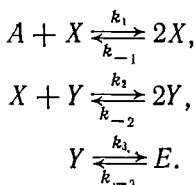
Уравнения типа (8.40) можно обобщить на любое число взаимодействующих видов. Исследование соответствующих систем очень важно для экологии (см. [26]).

То обстоятельство, что постоянная движения консервативной системы K выражается суммой индивидуальных членов, относящихся к отдельным видам, позволяет трактовать систему как статистическую. Такая трактовка для ансамбля большого числа

видов, взаимодействие которых описывается уравнениями Вольтерра, была предложена Кернером [109].

Вернемся к химическим реакциям.

Рассмотрим теперь поведение системы в промежуточной области конечных, но больших значений полного средства $1 \ll \ll \mathcal{A}/RT < \infty$. Представим систему реакций Лотка в несколько измененном виде [1]



Положим $A = 1$ и для простоты примем $k_1 = k_2 = k_3 = 1$ и $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = k$. Здесь мы уже не можем пренебречь обратными реакциями. Имеем

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= X + kX^2 - XY + kY^2, \\ \dot{Y} &= XY + kY^2 - Y + kE, \end{aligned} \right\} \quad (8.52)$$

и стационарные решения удовлетворяют уравнениям

$$X_0 = 1 + kY_0 - kE/Y_0,$$

$$k^3 Y_0^4 + (1 - k + 2k^2) Y_0^3 + (k - 1 - kE - 2k^3 E) Y_0^2 + (kE - 2k^2 E) Y_0 + k^3 E^2 = 0. \quad (8.53)$$

На рис. 8.12 показаны эти решения как функции полного средства \mathcal{A} для $k = 10^{-2}$ [1]. Характеристическое уравнение имеет вид

$$\lambda^2 + (Y_0 - X_0 + 2kX_0 + 2kY_0)\lambda + X_0 + 2kX_0 - 1 - 2kX_0^2 - 2kY_0 + Y_0 + 4k^2 X_0 Y_0 = 0. \quad (8.54)$$

При всех значениях общего средства вещественная часть λ отрицательна. Следовательно, термодинамическая ветвь устойчива и флуктуации затухают. При $\mathcal{A} > 9,2 RT$ величина λ становится комплексной и возникают колебания. При $k = 0$, $X_0 = Y_0 = 1$, имеем $\lambda = i$ (см. также [28]).

Обратимся к исследованию химических нестабильностей. Ясно, что они возникают при наличии автокаталитических стадий (см. стр. 76). Рассмотрим систему химических реакций

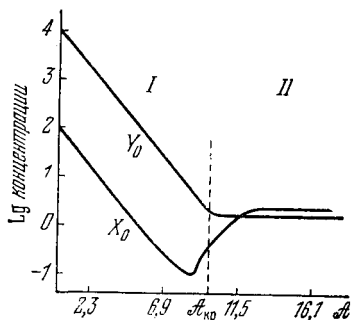


Рис. 8.12. Кривые зависимостей стационарных концентраций X_0 и Y_0 от полного средства в логарифмическом масштабе.

I — область монотонного поведения
II — область колебаний.

несколько более сложную, чем система Лотка — Вольтерра:



Суммарная реакция есть $A + B \rightleftharpoons D + E$. Условия равновесия имеют вид

$$\begin{aligned} X_{\text{eq}} &= \frac{k_1}{k_{-1}} A, & Y_{\text{eq}} &= \frac{k_{-2}k_1}{k_2k_{-1}} A, \\ \frac{E}{A} &= \frac{k_1k_4}{k_{-1}k_{-4}}, & \frac{D}{B} &= \frac{k_2k_3}{k_{-2}k_{-3}}. \end{aligned}$$

Положим для простоты $k_1 = k_2 = k_3 = k_4 = 1$ и $k_{-1} = k_{-2} = k_{-3} = k_{-4} = 0$. Кинетические уравнения записываются следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= A + X^2Y - BX - X + k(DY + E - X - X^3), \\ \dot{Y} &= BX - X^2Y + k(X^3 - DY). \end{aligned} \right\} \quad (8.55)$$

Стационарные решения имеют вид

$$X_0 = \frac{A + kE}{1 + k}, \quad Y_0 = \frac{kX_0^2 + B}{X_0^2 + B} X_0. \quad (8.56)$$

Реакции (I) и (IV) на устойчивость системы не влияют. Поэтому можно упростить выражения (8.56), считая, что A и E находятся в равновесии, т. е. $A = k^2E$. Получаем

$$X_0 = \frac{A}{k}, \quad Y_0 = \frac{A(A^2 + kB)}{A^2 + k^3B}. \quad (8.57)$$

Ищем решения линеаризованных уравнений вблизи стационарного состояния и находим характеристическое уравнение (ср. стр. 415)

$$\begin{aligned} \lambda^2 + [X_0^2 + B + 1 - 2X_0Y_0 + k(3X_0^2 + D + 1)]\lambda + \\ + X_0^2 + k(X_0^2 + D) = 0. \end{aligned} \quad (8.58)$$

Значение B/D , при котором коэффициент при λ обращается в нуль, отвечает точке перехода. В ней вещественные части корней λ_1 и λ_2 меняют знак, и система становится неустойчивой.

Имеем $\lambda_1 + \lambda_2 = 0$, и условие перехода на основании (8.57) и (8.58) имеет вид

$$R_{кр} = \left(\frac{B}{D}\right)_{кр} = \frac{k}{A^2 - k^3 D} \left\{ k^3 D + k^2 A + (1+k) \left[2A^2 + k^2 + \frac{A^2(A^2 + k^2)}{k^3 D} \right] \right\}. \quad (8.59)$$

Соответствующее критическое сродство равно

$$\mathcal{A}_{кр} = -RT \ln R_{кр} k^2. \quad (8.60)$$

Зависимость критического сродства $\mathcal{A}_{кр}$ от D (при $A = 1$) показана на рис. 8.13. Из (8.59) следует, что $R_{кр} > 0$, если $0 < D < A^2/k^3$. При $D = 0$ или бесконечности $\mathcal{A}_{кр}$ стремится к ∞ , для значения $D_{мин}$ сродство $\mathcal{A}_{кр}$ имеет минимум. Стационарные состояния устойчивы и лежат на термодинамической ветви для значений $\mathcal{A} < \mathcal{A}_{кр}$.

Упростим задачу. Положим $k = 0$; тогда кинетические уравнения (8.55) примут форму

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= A + X^2 Y - BX - X, \\ \dot{Y} &= BX - X^2 Y. \end{aligned} \right\} \quad (8.61)$$

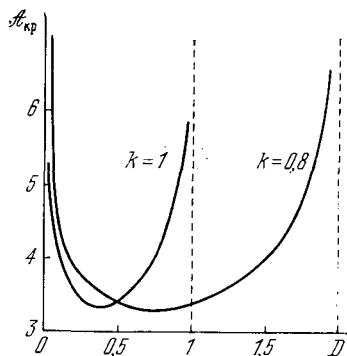


Рис. 8.13. Зависимость критического сродства от D .

Уравнение (8.58) превратится в уравнение

$$\lambda^2 + (X_0^2 + B + 1 - 2X_0 Y_0) \lambda + X_0^2 = 0, \quad (8.62)$$

причем

$$X_0 = A, \quad Y_0 = B/A. \quad (8.63)$$

Система становится неустойчивой при переходе через значение B , удовлетворяющее условию

$$X_0^2 + B + 1 - 2X_0 Y_0 = A^2 + B + 1 - 2B = 0,$$

т. е. при

$$B > B_{кр} = 1 + A^2. \quad (8.64)$$

Исключая Y и \dot{Y} из (8.61) и положив $X(t) = A + x(t)$, получаем нелинейное уравнение для x :

$$\ddot{x} + \frac{1}{x+A} [x^3 + 3Ax^2 + (3A^2 - B - 1)x + A(A^2 - B + 1) - 2\dot{x}] \dot{x} + x(x+A)^2 = 0. \quad (8.65)$$

Теория показывает, что при

$$A^2 - B + 1 < 0$$

последнее уравнение имеет периодическое решение. Но это и есть условие неустойчивости (8.64). За точкой перехода периодические решения всегда находятся на конечном расстоянии от стационарного состояния.

Точка перехода есть точка бифуркации (см. стр. 404), описываемая схемой

Устойчивый фокус \rightarrow Центр (в линейном приближении); негрубое образование $\left\{ \begin{array}{l} \text{Устойчивый предельный цикл} \\ \text{Неустойчивый фокус.} \end{array} \right.$

Для области за точкой бифуркации численные расчеты фазовых траекторий, отвечающих системе (8.61) при различных начальных значениях X, Y , проведены в работе [29]. Результаты расчетов показаны на рис. 8.14. Неустойчивый фокус (он показан крестиком) находится при $X = 1, Y = 3$. Предельный цикл, представляющий незатухающие колебания, возникает независимо от начальных условий и является устойчивым и единственным.

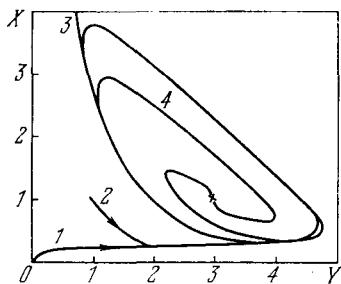


Рис. 8.14. Фазовые траектории на плоскости X, Y .

Результаты численного интегрирования уравнений (8.61) с $A=1, B=3$ при начальных значениях: $X=Y=0$ (1), $X=Y=1$ (2), $X=10, Y=0$ (3), $X=1, Y=3$ (4).

В отличие от системы Лотка—Вольтерра, имеющей бесконечное число возможных периодических движений, система (8.55) или (8.61) характеризуется когерентным поведением и не является консервативной. Это автоколебательная система, которую можно называть «химическими часами» (см. § 8.5). Дальнейшие подробности см. в работах [1, 2].

Рассмотренные нелинейные химические системы обнаруживают поведение, упорядоченное во времени, — периодические колебания.

Рассмотренные нелинейные химические системы обнаруживают поведение, упорядоченное во времени, — периодические колебания.

§ 8.4. НЕЛИНЕЙНЫЕ ХИМИКО-ДИФФУЗИОННЫЕ СИСТЕМЫ

Системы, рассмотренные в предыдущем параграфе, были точечными, или сосредоточенными. Происходящие в них события не зависели от положения в пространстве. Рассмотрим теперь распределенные системы. Пространственная нетермодинамическая упорядоченность, т. е. пространственная диссипативная структура, может возникать в гомогенной системе.

Впервые проблема устойчивости по отношению к диффузии была исследована в классической работе Тьюринга, имеющей примечательное название «О химической основе морфогенеза» [30]. Эта работа и исходящие из нее исследования школы Пригожина ставят своей конечной целью дать модельное толкование важнейших биологических явлений, определяющих онтогенетическое развитие (см. гл. 9).

Дополним уравнения (8.61) членами, описывающими одномерную диффузию вдоль координаты r . Имеем (см. [1, 3, 115, 116, 123])

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial X}{\partial t} &= A + X^2 Y - BX - X + D_X \frac{\partial^2 X}{\partial r^2}, \\ \frac{\partial Y}{\partial t} &= BX - X^2 Y + D_Y \frac{\partial^2 Y}{\partial r^2}. \end{aligned} \right\} \quad (8.66)$$

Вещества X и Y характеризуются разными константами одномерной диффузии D_X и D_Y . Ищем решение системы (8.66) в виде концентрационных волн

$$\left. \begin{aligned} X &= X_0 + \delta X \exp(\omega t + ir/\Lambda), \\ Y &= Y_0 + \delta Y \exp(\omega t + ir/\Lambda). \end{aligned} \right\} \quad (8.67)$$

Здесь Λ есть длина волны, характеризующая пространственную неоднородность, $\delta X \ll X_0$, $\delta Y \ll Y_0$. Получаем характеристическое уравнение

$$\lambda^2 + (A^2 + 1 - B + a + b)\lambda + A^2(1 + a) + (1 - B)b + ab = 0, \quad (8.68)$$

где

$$a = D_X/\Lambda^2, \quad b = D_Y/\Lambda^2.$$

При $\Lambda \rightarrow \infty$ система становится однородной и уравнение (8.68) совпадает с (8.62).

Уравнение (8.68) характеризуется двумя типами неустойчивости. Первая возможность соответствует равенству нулю множителя при λ и положительному значению суммы свободных членов. Имеем условие

$$B'_{кр} < B < B''_{кр},$$

где

$$\begin{aligned} B'_{кр} &= 1 + A^2 + a + b, \\ B''_{кр} &= (A^2 + b)(1 + a)/b. \end{aligned}$$

Вторая возможность соответствует равенству нулю суммы свободных членов. При этом один из корней (8.68) обращается в нуль.

Условие неустойчивости имеет вид

$$B > B''_{кр.}$$

Длина волны, при которой $B'_{кр.}$ минимально, есть $\Lambda \rightarrow \infty$ и $\min B'_{кр.} = 1 + A^2$. Минимум $B''_{кр.}(\Lambda)$ имеется при $\Lambda^2 = (D_X D_Y)^{1/2}/A$, он равен

$$\min B''_{кр.} = [1 + A(D_X/D_Y)^{1/2}]^2.$$

Неустойчивость возникает, когда B возрастает до меньшего из этих двух значений. При равенстве коэффициентов диффузии

$$\min B'_{кр.} = 1 + A^2 < \min B''_{кр.} = 1 + A^2 + 2A$$

и реализуется предельный цикл. Напротив, при достаточно малых D_X/D_Y происходит нарушение симметрии и возникает пространственная неоднородность. Для B , немного большего $B_{кр.}$,

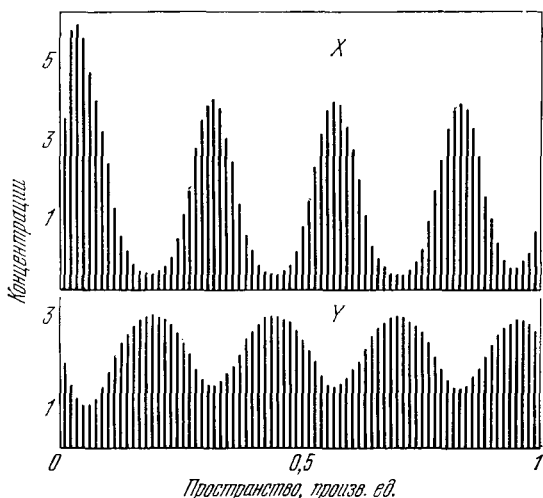


Рис. 8.15. Стационарное распределение вещества в результате нарушающей симметрию неустойчивости [2].

Концентрации X, Y на границах области поддерживаются равными гомогенным стационарным значениям $X=2, Y=2,62$. Численные значения параметров: $A=2,00, B=5,24, D_X=1,6 \cdot 10^{-3}, D_Y=8 \cdot 10^{-3}$, т. е. $\min B'_{кр.} \approx 5, \min B''_{кр.} \approx 7,7$ [2].

флуктуации с Λ , близкой к $\Lambda_{кр.}$, усиливаются, и система покидает стационарное состояние. Затем она стабилизируется в новом стационарном состоянии, уже пространственно неоднородном. На рис. 8.15 показано вычисленное стационарное неоднородное распределение X и Y в пространстве для системы (8.66), воз-

никающее за пределами неустойчивости, нарушающей симметрию.

Переходя от уравнений (8.55) к уравнениям (8.61) и (8.66), мы пренебрегли обратными реакциями и положили $k = 0$. Тем самым система далека от равновесия. Диссипативная структура, изображенная на рис. 8.15, стабилизирована потоком энергии и вещества из внешнего мира. Она характеризуется меньшей энтропией, чем исходная стационарная гомогенная система, — осуществлен порядок через флуктуации.

В приведенных соотношениях константы скоростей прямых реакций приняты равными единице. Если отказаться от этого упрощающего предположения, то $\Lambda_{кр}$ и $B_{кр}$ окажутся зависящими от D_x , D_y и от химических констант. Неустойчивость есть кооперативный эффект, в котором участвуют и химические реакции и диффузия.

Подробный математический анализ ситуаций, возникающих в случае двух реагирующих компонентов, способных к взаимной диффузии, проведен в работе [31].

Реальная модельная или биологическая система не является однородной системой с постоянными граничными условиями. Сами концентрации веществ А и В, фигурирующие в качестве параметров, зависят от r и t . Рассмотрим ту же систему (8.66), считая для простоты B постоянным, но учитывая изменения концентрации А [2]

$$\frac{\partial A(r, t)}{\partial t} = -A(r, t) + D_A \frac{\partial^2 A(r, t)}{\partial r^2}. \quad (8.69)$$

Ищем совместное решение уравнений (8.66) и (8.69), удовлетворяющее граничным условиям

$$A(0) = A(l) = \bar{A}, \quad X(0) = X(l) = \bar{X}, \quad Y(0) = Y(l) = \bar{Y} \\ (0 \leq r \leq l).$$

Перечислим свойства этого решения [3]:

1. Вблизи термодинамического равновесия имеется единственное устойчивое стационарное состояние.
2. Вдали от равновесия возможны различные ситуации, представленные на диаграмме (рис. 8.16).

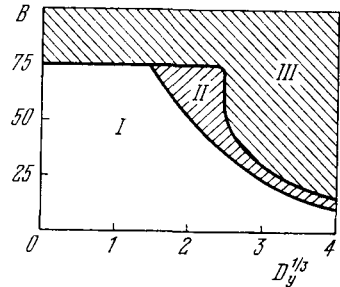


Рис. 8.16. Свойства рассматриваемой автокаталитической системы при заданных A , D_A , D_X и при $D_B \rightarrow \infty$ как функции B и D_Y (в произвольных единицах).

I—область устойчивого стационарного состояния, *II*—область монотонного возрастания флуктуаций, *III*—область усиливаемых колебаний.

3. В области *II* диаграммы термодинамическая ветвь становится неустойчивой по отношению к флуктуациям химического состава. За порогом *B* начальные отклонения от стационарного состояния усиливаются и в конце концов приводят систему в новое стационарное состояние, соответствующее регулярному распределению *X* и *Y* (рис. 8.17).

4. Для $D_B \gg D_A \gg D_Y \approx D_X$ термодинамическая ветвь неустойчива, но система переходит в пространственно неоднородное состояние, периодически зависящее от времени. Возникают концентрационные волны, распространяющиеся в реакционном объеме и отражающиеся от границ системы. В каждой точке происходят колебания концентрации.

Пригожин и Николис отмечают, что пространственная локализация вещества является вероятным механизмом стабилизации диссипативной структуры по отношению к изменениям химического окружения. Локализованные структуры характеризуются производством больших количеств отдельного вещества в течение короткого времени в ограниченной области пространства. Таким образом, система обладает регуляторными свойствами. Концентрационные волны являются вероятным механизмом распространения и передачи информации в форме химических сигналов, а стационарные локализованные структуры могут хранить информацию [2].

5. При конечных значениях D_A описанные структуры локализованы внутри реакционного объема. Их границы, а также периоды определяются значениями величин *A*, *B*, D_X и т. д. независимо от начальных условий. При $D_A, D_B \rightarrow \infty$ структуры захватывают весь объем. Если D_X, D_Y очень велики по сравнению с химическими скоростями в области *III* (см. рис. 8.16), то пространственные зависимости исчезают и система осциллирует везде с одной и той же фазой. Амплитуда и частота колебаний определяются свойствами самой системы. Реализуется предельный цикл, периодическое движение устойчиво.

Подробное рассмотрение систем такого типа проведено в [1, 2, 123].

Есть все основания думать, что можно подойти к пониманию упорядоченности живых систем на основе кинетического анализа нелинейных химико-диффузионных процессов, приводящих к упорядоченному поведению на макроскопическом уровне. Во

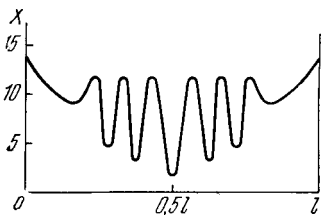


Рис. 8.17. Локализованная стационарная диссипативная структура, возникающая в области *II* предыдущей диаграммы.

всяком случае, мы не располагаем пока другими подходами при изучении этих явлений. «Биологические часы» сводятся к «химическим часам», что отчетливо демонстрируется периодическими ферментативными системами, в частности системой гликолиза (см. § 8.7), а также периодичностью других биологических явлений (см. § 8.8).

Весьма обещающими для биологии являются исследования множественных стационарных состояний, возникающих в кооперативных химических и физико-химических системах (см. [7]). На основе таких исследований построены модели биосинтетических процессов в клетке и нелинейных мембранных систем (см. § 8.9). Кинетические кооперативные явления, в частности деполаризация возбудимой мембраны аксона, всегда имеют нелинейный характер.

Другой аспект изучения нелинейных процессов применительно к биологическим явлениям связан с проблемами эволюции, биологического развития. Эти проблемы рассматриваются в гл. 9.

§ 8.5. ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Для понимания периодических биологических процессов важно исследовать периодические процессы в относительно простых гомогенных химических системах, реализуемые *in vitro*. Такие процессы действительно существуют. Белоусов впервые наблюдал периодические колебания окраски раствора в ходе окисления лимонной кислоты броматом, катализируемого ионами церия [32]. Частоты колебаний были порядка 10^{-2} Гц.

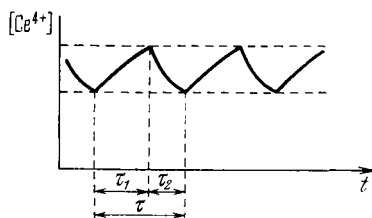


Рис. 8.18. Периодические колебания концентрации ионов Ce^{4+} .

В дальнейшем подробное экспериментальное и теоретическое изучение реакций такого типа, в которых осуществляются автоколебания, было проведено Жаботинским и его сотрудниками [19, 33—41]. Была, в частности, доказана гомогенность исходных систем.

В реакции малоновой кислоты (МК) с броматом, катализируемой ионами Се, колебания окраски раствора вызываются

колебаниями концентрации Ce^{4+} . Эти колебания, показанные на рис. 8.18 [19], имеют характер релаксационных, их период τ четко делится на время τ_1 фазы нарастания и τ_2 фазы падения концентрации. Грубо говоря, этим фазам соответствуют две химические стадии — окисление и восстановление:



Продукты восстановления бромата, образующиеся в стадии (I), бродируют МК. Получаемые бромпроизводные разрушаются в стадии (II) с выделением Br^- , сильно ингибирующей реакцию (I). Если концентрация Br^- достаточно велика, то реакция (I) полностью прекращается. Уменьшается концентрация Ce^{4+} и падает концентрация Br^- , образующегося в реакции (II). Вновь начинается реакция (I) и возрастает концентрация Ce^{4+} , а затем и Br^- в результате реакции (II). Реакция (I) тормозится и цикл повторяется. Эта схема подтверждается рядом опытов. Малые количества Br^- , введенные в систему в фазе нарастания $[\text{Ce}^{4+}]$, вызывают переключение. Br^- , добавленный в фазе τ_2 , вызывает ее удлинение, а добавка Ag^+ , связывающего Br^- , — противоположные эффекты, и т. д. Общая схема реакции показана на рис. 8.19. В автоколебательных реакциях такого типа восстановитель должен легко окисляться окисленной формой катализатора и не должен реагировать непосредственно

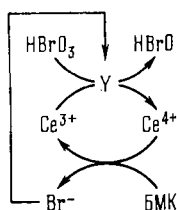


Рис. 8.19. Общая схема автоколебательной реакции.

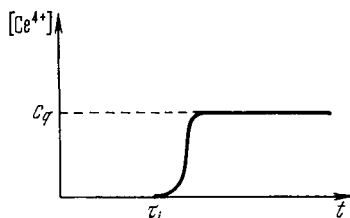


Рис. 8.20. Зависимость концентрации Ce^{4+} от времени.

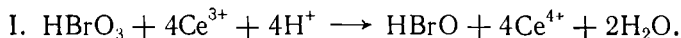
с броматом. Нужно также, чтобы восстановитель легко бродировался и получаемые бромпроизводные разлагались, выделяя Br^- . Жаботинским изучен целый ряд таких реакций с различными восстановителями.

Прямыми опытами показано, что реакции вполне гомогенны; поверхность реакционного сосуда и другие фазовые границы не влияют ни на ход данной периодической реакции, ни на зависимость от концентрации реагентов.

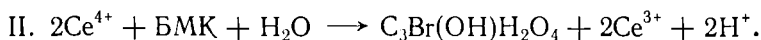
Наиболее удобна для изучения механизма автоколебаний система с броммалоновой кислотой (БМК).

Стехиометрические уравнения реакций можно представить в следующем виде:

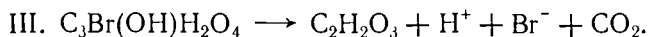
Окисление Ce^{3+} броматом (избыток Ce^{3+} , сильно кислая среда)



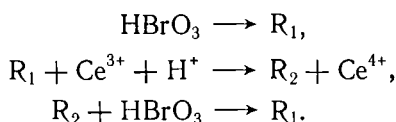
Восстановление Ce^{4+} БМК (при $[\text{БМК}] \gg [\text{Ce}^{4+}]$)



Выделение бромида



Реакция I — автокаталитическая. Типичный ход зависимости $[\text{Ce}^{4+}]$ от времени показан на рис. 8.20. Кривая характеризуется периодом индукции τ_i и квазистационарной концентрацией c_q . c_q стремится к единице с ростом кислотности и слабо зависит от остальных параметров системы. τ_i не зависит от начальной концентрации Ce^{3+} и уменьшается с ростом концентрации H^+ и BrO_3^- . Максимальная скорость реакции v_m пропорциональна $[\text{BrO}_3^-]$, $[\text{H}^+]$ и $[\text{Ce}^{3+}]$. Индукция, характеризуемая τ_i , вызывается присутствием ионов Br^- . Автокатализ возникает в результате разветвленной цепной реакции с размножением промежуточного продукта восстановления HBrO_3 , например, по схеме

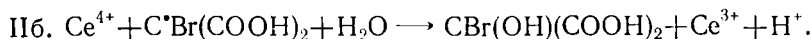
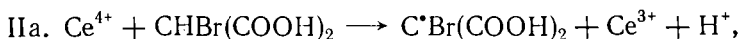


Однако детальный механизм реакции I не установлен.

Кинетика реакции II приближенно описывается уравнением

$$\frac{d[\text{Ce}^{4+}]}{dt} = -k[\text{Ce}^{4+}][\text{БМК}].$$

$[\text{БМК}] \gg [\text{Ce}^{4+}]$. По-видимому, идут две реакции



Дальнейшие подробности см. в [19, 33—35].

Система (8.71) правильно описывает форму колебаний лишь при малых отношениях $A/(C - X)$. Она не дает порогового поведения. Систему можно усовершенствовать, дополнив уравнение для Z членом, зависящим от Y , и вводя в уравнение для Y малый постоянный член, описывающий самопроизвольный распад бромата

$$\left. \begin{aligned} \dot{Y} &= a_0(C - X)Y - a_2YZ + a_5, \\ \dot{X} &= a_1(C - X)Y - a_3X, \\ \dot{Z} &= a_3X + a_6(a_7Y - a_8)^2X - a_4Z. \end{aligned} \right\} \quad (8.72)$$

Здесь член $a_1(C - X)Y$ характеризует автокаталитическую по Y реакцию окисления Ce^{3+} броматом. Так как скорость этой реакции пропорциональна A , то

$$a_1 = a'_1 A.$$

Член $-a_2YZ$ описывает реакцию уничтожения активных частиц бромидом с его регенерацией, $a_2 = k_2$; член $-a_3X$ описывает реакцию Ce^{4+} с БМК, в результате которой выделяется Br^- . Кинетика этой реакции хорошо описывается выражением

$$\dot{X} = -0,7BX,$$

где $B = [\text{БМК}]$. Имеем $a_3 = 0,7B$; член $-a_4Z$ выражает реакцию исчезновения Br^- ; a_5 — малый постоянный член, описывающий самопроизвольный распад бромата в кислой среде. Можно положить

$$a_5 = k_6 A.$$

Член $a_6(a_7Y - a_8)^2X$ подобран эмпирически так, чтобы пороговые значения X соответствовали экспериментальным. Этот член можно рассматривать как одно из описаний выделения Br^- в результате бромирования БМК и дальнейшего индуцированного разложения бромпроизводных.

Соответственно

$$a_6 = A, \quad a_7 = k_7, \quad a_8 = k_8 f(A, B).$$

Указанные макростадии сильно различаются по скоростям. Имеем

$$a'_1 \sim k_4 \sim k_7 \sim \varepsilon_1^{-1}, \quad k_2 \sim \varepsilon_1^{-2}, \quad k_5 \sim \varepsilon_1, \quad \varepsilon_1 \ll 1.$$

Произведя замену переменных

$$y_1 = a_7 Y, \quad z_1 = a_4 Z, \quad x_1 = X/C,$$

получаем

$$\left. \begin{aligned} \dot{y}_1 &= a_1 C (1 - x_1) y_1 - \frac{a_2}{a_4} y_1 z_1 + a_5 a_7, \\ \dot{x}_1 &= \frac{a_1}{a_7} (1 - x_1) y_1 - a_3 x_1, \\ \frac{1}{a_4} \dot{z}_1 &= a_3 C x_1 + a_6 C (y_1 - a_8)^2 x_1 - z_1. \end{aligned} \right\} \quad (8.73)$$

Эта система асимптотически эквивалентна системе

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= \frac{a_1}{a_7} (1 - x) y - \bar{a}_3 x, \\ \frac{1}{a_7 C} \dot{y} &= \frac{a_1}{a_7} y \left\{ 1 - x \left[1 + \frac{a_2 a_6}{a_1 a_4} \left\{ \frac{a_3}{a_6} + (y - a_8)^2 \right\} \right] \right\} + \frac{a_5}{C}, \end{aligned} \right\} \quad (8.74)$$

где x, y, z — приведенные концентрации. Имеем

$$a_1/a_7 \sim A, \quad a_3/a_8 \sim B/A, \quad a_5 a_7^2/a_1 \sim a_2 a_6/a_1 a_4 \approx 1.$$

Предположим для простоты, что

$$a_2 a_7^2/a_1 = a_2 a_6/a_1 a_4 = 1, \quad a_3/a_6 = a_8 = \alpha = B/A,$$

и введем обозначения

$$1/a_7 C = \varepsilon, \quad a_1/a_7 = \beta, \quad a_3 = \gamma.$$

Система приобретает вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= \beta y (1 - x) - \gamma x, \\ \varepsilon \dot{y} &= \beta y \{ 1 - x [1 + \alpha + (y - \alpha)^2] \} + \beta \varepsilon. \end{aligned} \right\} \quad (8.75)$$

Такая модель хорошо описывает поведение системы в центре области колебаний. Эмпирический подбор коэффициентов дает

$$\beta = A, \quad \gamma = 0,5B,$$

$$\alpha = 1,25 \frac{\sqrt{B}}{A} (A + 0,1),$$

$$\varepsilon = 5 \cdot 10^{-3} \quad \text{при} \quad C = 10^{-3} \text{ М.}$$

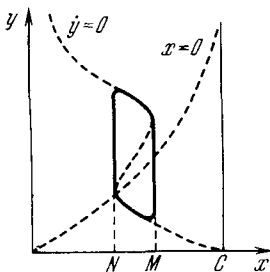


Рис. 8.21. Фазовый портрет химической автоколебательной системы.

Фазовый портрет системы показан на рис. 8.21. Заменяя время t на $\tau = \beta t$, получаем

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= y (1 - x) - \delta x, \\ \varepsilon \dot{y} &= y \{ 1 - x [1 + \alpha + (y - \alpha)^2] \} + \varepsilon. \end{aligned} \right\} \quad (8.76)$$

Система (8.76) содержит лишь три параметра $\varepsilon, \alpha, \delta$. Она дает хорошее описание экспериментально наблюдаемых колебаний (дальнейшие подробности см. в [19, 36, 38]).

Можно управлять режимом колебаний посредством внешних воздействий. Таковыми являются постоянный приток Br^- или воздействие на раствор ультрафиолетовым излучением, приводящее к тем же результатам, так как ультрафиолетовый свет разлагает бромсодержащие карбоновые кислоты с выделением Br^- . Уравнения (8.73)—(8.76) соответственно модифицируются добавкой члена, описывающего приток Br^- . Автоколебания синхронизируются при воздействии периодической внешней силы — прямоугольных световых импульсов с частотой повторения, близкой к частоте генерации системы. Жаботинским и сотрудниками построена математическая модель такой синхронизации [19, 39].

Описанная система является сосредоточенной, или точечной, в ней усреднение переменных по геометрическому пространству происходит за время, существенно меньшее характерного времени системы. Такие системы описываются обыкновенными дифференциальными уравнениями

$$\dot{x}_i = f_i(x).$$

Выше уже были рассмотрены нелинейные распределенные химико-диффузионные системы (см. § 8.4). Распределенные системы с диффузионным типом связи описываются, как мы видели, уравнениями типа

$$\frac{\partial x_i}{\partial t} = f_i(x) + a_i \nabla^2 x_i \quad (8.77)$$

(ср. уравнение (8.69)).

В активной распределенной системе каждый элемент пространства является автоколебательной системой. В такой распределенной системе могут возникать волновые процессы, пространственные и временные характеристики которых не зависят от начальных условий — *автоволновые* процессы. Автоволновые процессы, по-видимому, играют важнейшую роль во многих биологических явлениях — в морфогенезе (см. гл. 9), в возникновении сердечных аритмий (см. § 8.10), в ряде явлений, связанных с распространением возбуждения в нервных волокнах и сетях (см. гл. 4).

Жаботинский и Заикин наблюдали и изучали автоволновые процессы в описанной выше химической системе [19, 40, 41]. Для того чтобы система была распределенной, необходимы отсутствие конвекции и связь посредством диффузии. Это осуществляется либо в тонких трубках (одномерная система), либо в тонких слоях раствора (двумерная система). В качестве катализатора применялся не Ce^{3+} , а ферроинный комплекс железа. Точечная система может быть автогенератором или ждущим генератором. Точечная система описывается

дифференциальными уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \dot{u} &= f(u, w), \\ \dot{w} &= g(u, w). \end{aligned} \right\} \quad (8.78)$$

На рис. 8.22 показано взаимное расположение нуль-изоклин.

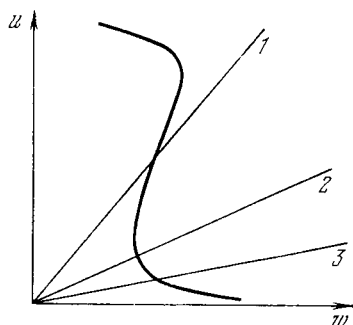


Рис. 8.22. Взаимное расположение нуль-изоклин на фазовой плоскости модели (8.78).

1 — режим автогенерации; 2 — в точечной системе — ждущий режим, в распределенной — автоколебания с жестким возбуждением; 3 — ждущий режим.

Распределенная система описывается уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial u}{\partial t} &= f(u, w) + D_u \nabla^2 u, \\ \frac{\partial w}{\partial t} &= g(u, w) + D_w \nabla^2 w. \end{aligned} \right\} \quad (8.79)$$

Одиночная бегущая волна возбуждается в режиме 3 при $[\text{NaBrO}_3] = 0,23 \text{ M}$, $[\text{БМК}] = 0,16 \text{ M}$, $[\text{Fe}(\text{phen})_3] = 0,003 \text{ M}$, $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 0,36 \text{ M}$, $T = 14^\circ\text{C}$. Возбуждение производится прикосновением к поверхности раствора иглой, смоченной раствором AgNO_3 , или нагретой проволокой. Скорость волны около $0,01 \text{ см/с}$. Периодические бегущие волны, исходящие из неоднородности, могут наблюдаться во всех трех режимах. В режимах 2 и 3 область неоднородности может находиться в автоколебательном режиме и быть источником периодического возбуждения для остального пространства. Скорость волн постоянна. В режиме 1, в котором точечная система — автоколебательная с периодом τ_0 , на неоднородности могут происходить автоколебания с периодом $\tau < \tau_0$. При этом возможна синхронизация по пространству водителем ритма, расположенным на неоднородности (локальное повышение концентрации H_2SO_4 или NaBrO_3 или гетерогенная примесь).

Экспериментально были обнаружены точечные источники автогенерации, отличные от водителей ритма, — *ведущие центры*

(ВЦ), возникающие в однородной среде в результате локальных флуктуаций концентрации, т. е. особых начальных условий. Периоды колебаний ВЦ $\tau_{\text{вц}}$ меньше τ_0 . Концентрационные волны распространяются из ВЦ с постоянной скоростью. На рис. 8.23 показаны ВЦ, сфотографированные в указанной системе через

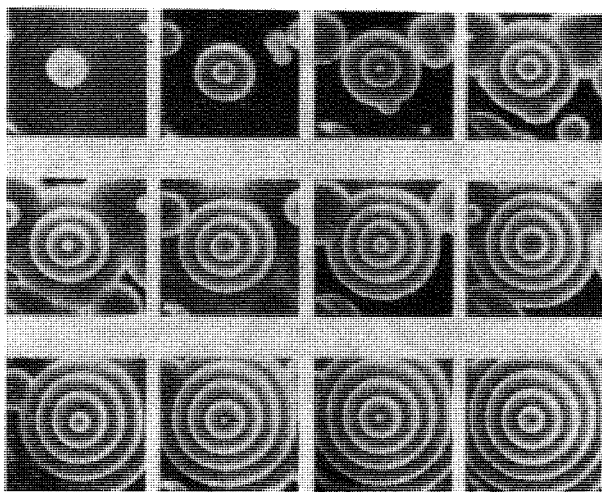


Рис. 8.23. Ведущие центры.

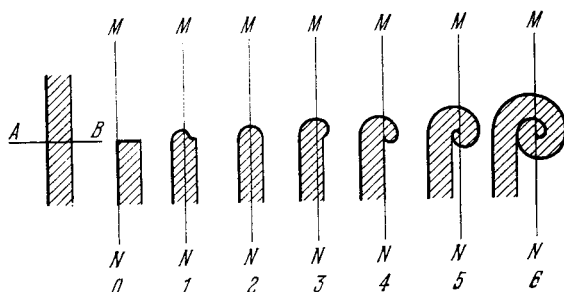


Рис. 8.24. Схема образования ревербератора из разрыва фронта волны. Жирная линия — зона возбуждения, AB — линия разрыва фронта, $0-6$ — последовательные моменты времени, MN — линия фронта в момент 0 .

каждые 30 с [41]. Теория явления описана в работах [19, 36—41].

При разрыве волнового фронта может возникать *ревербератор* — спиральная волна. Ревербератор образуется, в частности, при движении волны в двумерной среде вокруг отверстия — спи-

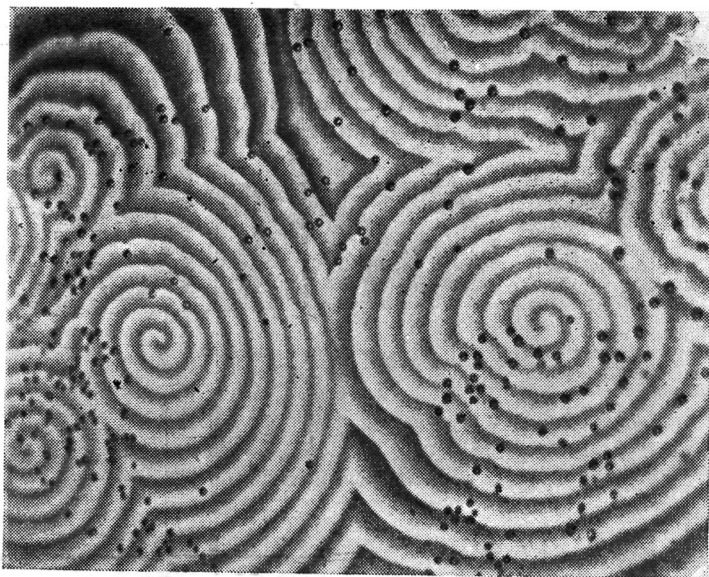


Рис. 8.25. Химические ревербераторы.
Черные кружки — пузырьки воздуха.



Рис. 8.26. Фотография лишайника *Parmelia centrifuga*.

раль является разверткой (эвольвентой) отверстия [42]. Механизм спирального закручивания волны возбуждения рассмотрен Балаховским [43].

Схема образования ревербератора показана на рис. 8.24 [44]. Жаботинский и Заикин наблюдали спиральные волны, вызванные нарушением однородности системы — локальным понижением кислотности (см. также § 8.10).

Наряду с ВЦ и ревербераторами при $D_u \neq D_w \neq 0$ возможно возникновение стационарных периодических структур, о чем уже говорилось в § 8.4. Образование таких структур было впервые рассмотрено Тьюрингом [30] и изучено Пригожиным и сотрудниками [1—3, 28, 29]. Эти стационарные структуры являются диссипативными. Такого рода химические структуры наблюдались в ряде работ [19, 45—47].

Приведем в заключение фотографию химических ревербераторов, полученную Жаботинским (рис. 8.25), и фотографию лишайника (рис. 8.26). Внешнее сходство бросается в глаза. Конечно, периодический рост лишайника не является аналогией поведения рассмотренных химических систем, но есть веские основания считать, что химические автоколебательные и автоволновые процессы моделируют важные биологические явления — в частности, «биологические часы» (автоколебания) и некоторые явления морфогенеза (стационарные автоволновые процессы).

Вслед за работами Жаботинского появились дальнейшие исследования концентрационных автоколебаний или «вращающихся» химических реакций, в частности, реакций, протекающих в трехмерном пространстве [48, 49].

§ 8.6. НЕЛИНЕЙНЫЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ

В ферментативных процессах могут проявляться различные типы нелинейных зависимостей от концентраций реагентов; в частности, удается наблюдать и периодические ферментативные реакции (см. § 8.7).

Стационарная кинетика ферментативных процессов может быть нелинейной в смысле нелинейной зависимости скорости превращения субстрата от его концентрации, а также от концентрации других эффикторов. С такими ситуациями мы встречаемся при рассмотрении белков-ферментов, обладающих четвертичной структурой и имеющих несколько активных центров, поведение которых взаимозависимо. Указанная нелинейность служит выражением кооперативности системы и проявляется в наличии особенностей (перегибов и максимумов) на кривых

зависимости стационарной скорости от концентраций лигандов. Эти явления, весьма существенные для понимания свойств аллостерических ферментов, рассмотрены в §§ 7.5, 7.6 книги [9]. Однако нелинейность стационарной кинетики в этих случаях никак не означает удаленности системы от состояния равновесия — она возникает и при равновесных соотношениях фермента с лигандами. В модели Моно, Уаймана и Шанжэ (модель МУШ) [9, 50, 51] присоединение лигандов приводит лишь к сдвигу равновесия.

Рассмотрим неравновесный ферментативный процесс. Неравновесность возникает в результате значительных различий в скоростях конформационных изменений ферментов, которые могут быть большими и малыми по сравнению со скоростями связывания субстратов и образования продуктов. Как уже сказано, классические модели аллостерических ферментов основаны на допущении быстрого наступления равновесия между всеми формами фермента, отличающимися друг от друга конформациями и степенью насыщения лигандами. Однако во многих случаях изменение конформации оказывается наиболее медленной, определяющей кинетику стадией. При этом стационарная реакция протекает вдали от равновесия, что и приводит к специфическим особенностям на кривых зависимости скорости реакции от концентраций лигандов. Эти особенности нельзя интерпретировать на основе равновесных моделей.

Кинетические проявления конформационных изменений были проанализированы для одноцентрового мономерного фермента в ряде работ [52—56]. Однако во многих случаях за своеобразное кинетическое поведение ответственны скорее медленные изменения четвертичной структуры олигомерных ферментов. В работе [57] рассмотрены их нелинейные свойства.

Модифицируем модель МУШ. Рассмотрим фермент, молекула которого содержит n субъединиц — протомеров. Молекула фермента может находиться в двух различных конформационных состояниях R и T , в которых она имеет различное химическое сродство к лиганду S .

Будем считать, что переходы между этими состояниями происходят значительно медленнее, чем связывание и освобождение субстрата и образование продукта. Схема реакции представлена на рис. 8.27.

В неравновесном стационарном процессе фермент испытывает циклические конформационные изменения. Он лучше связывает субстрат в одной конформации, чем в другой, в которой он легче освобождает продукт, после чего возвращается в исходное конформационное состояние (ср. стр. 320). При равновесии конформеров, которое описывается условием (смысл

констант ясен из рис. 8.27)

$$k'_R/k'_T = \kappa_R/\kappa_T,$$

циклические конформационные превращения отсутствуют.

В модели МУШ предполагается, что лимитирующими являются стадии образования продуктов с константами скорости

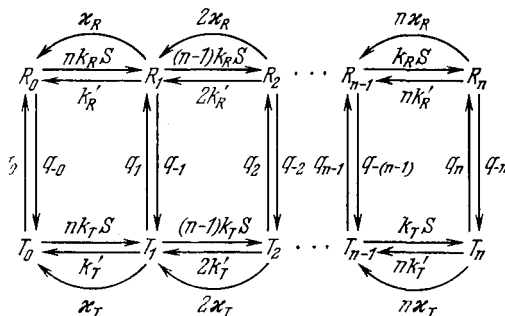


Рис. 8.27. Схема реакции, катализируемой n -мерным ферментом, имеющим два конформационных состояния.

κ_R и κ_T . При этом стационарный процесс соответствует равновесию всех конформационных состояний фермента R_i, T_i . Предположим, что равновесия нет, скорости переходов $R_i \rightleftharpoons T_i$ являются наименьшими (S — концентрация субстрата)

$$q_i, q_{-i} \ll k_T S, k_R S; \quad k'_T, k'_R; \quad \kappa_T, \kappa_R.$$

При этих условиях в стационарном процессе соотношения концентраций фермента в состояниях $R_i/R_j, T_i/T_j$ определяются только концентрацией субстрата и константами $K'_R = k_R/(k'_R + \kappa_R)$ и $K'_T = k'_T/(k'_T + \kappa_T)$, но не константами q_i, q_{-i} . Предположим далее, что концентрация продукта мала, следовательно, можно пренебречь стадией его связывания. Это упрощение не принципиально. Скорости конформационных переходов определяют только отношение общих концентраций фермента в двух конформациях R_i/T_i , где

$$R_t = \sum_{i=0}^n R_i, \quad T_t = \sum_{i=0}^n T_i. \tag{8.80}$$

В самом деле,

$$\frac{R_i}{R_0} = \frac{n(n-1)\dots(n-i)}{1 \cdot 2 \dots i} (K'_R S)^i, \tag{8.81}$$

$$\frac{T_i}{T_0} = \frac{n(n-1)\dots(n-i)}{1 \cdot 2 \dots i} (K'_T S)^i.$$

Условие стационарности процесса можно записать в виде

$$\sum_{i=0}^n R_i q_i = \sum_{i=0}^n T_i q_{-i}. \quad (8.82)$$

Из равенств (8.80) — (8.82) следует

$$\frac{R_t}{T_t} = \frac{(1 + K'_R S)^n \sum_{i=0}^n q_i (K'_T S)^i \frac{n(n-1)\dots(n-i)}{1 \cdot 2 \dots i}}{(1 + K'_T S)^n \sum_{i=0}^n q_{-i} (K'_R S)^i \frac{n(n-1)\dots(n-i)}{1 \cdot 2 \dots i}}. \quad (8.83)$$

Условие детального баланса при равновесии приводит к закономерному изменению констант равновесия q_i/q_{-i} в зависимости от индекса i :

$$\frac{q_i}{q_{-i}} = \frac{q_0}{q_{-0}} \left(\frac{K_R}{K_T} \right)^i, \quad (8.84)$$

где $K_R = k_R/k'_R$, $K_T = k_T/k'_T$.

Допустим, что константы q_i и q_{-i} изменяются монотонно по мере связывания субстрата активными центрами. Тогда в силу (8.84) получим

$$\frac{q_{i+1}}{q_i} = \frac{\alpha}{K_T} = \frac{1}{s} \quad (8.85)$$

и

$$\frac{q_{-(i+1)}}{q_{-i}} = \frac{\alpha}{K_R} = \frac{1}{r},$$

где α , s , r — константы.

Для системы глицеральдегидфосфатдегидрогеназа + НАД обнаружено именно монотонное изменение констант q_i , q_{-i} , причем $s = 25$, $r = 1$ [58].

С помощью (8.85) получаем из (8.83)

$$y = \frac{R_t}{T_t} \frac{q_0}{q_0} = \left[\frac{(x+l)(rx+1)}{(x+1)(sx+l)} \right]^n, \quad (8.86)$$

где $x = K'_R S/r$ — безразмерная концентрация субстрата и $l = (1 + \kappa_T/k'_T)/(1 + \kappa_R/k'_R)$. Величина R_t/T_t изменяется от q_0/q_{-0} при $S = 0$ до q_n/q_{-n} при $S \rightarrow \infty$. Для равновесной модели МУШ R_t/T_t монотонно зависит от S [59]. При равновесиях происходит монотонный переход фермента из одной конформации в другую, обладающую большим сродством к субстрату.

Вдали от равновесия при определенных значениях параметров r , s , l функция $y(x)$ может быть немонотонной. Допустим, что две конформации отличаются каталитической активностью, но не сродством к субстрату, т. е. $r = s$. В этом случае функция $y(x)$ проходит через максимум, а ее предельные значения при $x = 0$ и $x \rightarrow \infty$ совпадают. Если $r \neq s$, то $y(x)$ проходит через максимум, а предельные значения разнятся. При $r = 100$, $s = 150$, $l = 2$ и $n = 4$ максимум $y(x)$ отвечает $x = 0,1$. Это означает, что при увеличении x сначала происходит переход $T \rightarrow R$, а затем переход $R \rightarrow T$. Такое переключение конформационного перехода может проявиться в виде промежуточного плато на кривой зависимости стационарной скорости реакции от концентрации субстрата S . Формула (8.86) показывает, что немонотонность $y(x)$ возможна при отличии параметров r , s , l от единицы.

Начальная стационарная скорость реакции, отнесенная к полной концентрации фермента $R_t + T_t$, равна

$$v_0 = \frac{\kappa_R \sum_{i=1}^n iR_i + \kappa_T \sum_{i=1}^n iT_i}{R_t + T_t}. \quad (8.87)$$

Для рассматриваемой модели это выражение приобретает вид

$$v_0(x) = \frac{\kappa_R L r x (r x + 1)^{n-1} (x + l)^n + \kappa_T s x (s x + l)^{n-1} (x + 1)}{L (r x + 1)^n (x + l)^n + (s x + l)^n (x + 1)^n}, \quad (8.88)$$

где $L = q_0/q_{-0}$ — аллостерическая константа равновесия. Кривизна получаемых кривых $v_0(x)$ больше, чем в случае равновесной модели МУШ, так как концентрация субстрата x входит в уравнение (8.88) в степени $2n$, а в соответствующую равновесную функцию только в степени n . Равновесная функция получается из (8.88) при $l = 1$, она совпадает с формулой для модели МУШ [50]. Рассматриваемая модель учитывает два типа нелинейности — нелинейность, определяемую равновесными кооперативными свойствами, и нелинейность, вызванную медленностью конформационных превращений, т. е. удаленностью от равновесия.

Вследствие неравновесности на кривой $v_0(x)$ может появиться промежуточное плато. Соответствующая кривая $v(x)$, полученная при параметрах $\kappa_R/\kappa_T = 0,1$, $L = 10$, $l = 4$, $r = 100$, $s = 150$, $n = 4$, показана на рис. 8.28. Плато получается в области $x = 1$. Такая кривая может вырождаться в S-образную кривую или в кривую, лишенную особенностей. Равновесная модель МУШ объясняет только S-образные кривые $v(x)$ при

любом числе состояний фермента и любом числе субъединиц n [60].

Для $n = 4$ кривые с промежуточным плато могут быть получены на основе равновесной модели последовательных конформационных изменений Кошланда [61]. Однако при этом приходится вводить искусственное предположение о резком изменении характера кооперативности — замене отрицательной кооперативности на положительную при увеличении концентрации субстрата. Впрочем, для любой равновесной модели концентрация субстрата входит в выражение скорости реакции в степени, не старше n . Поэтому и модель Кошланда не всегда согласуется с опытом [62].

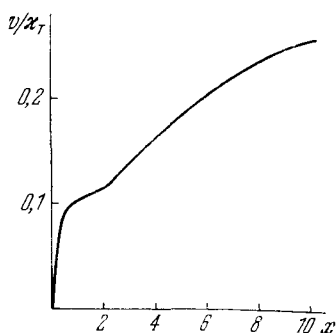


Рис. 8.28. График стационарной скорости с промежуточным плато.

Неравновесная модель очень чувствительна к значениям параметров и дает большое разнообразие кинетических кривых. Можно думать, что сходные ферменты, полученные из различных источников (например, глицеральдегидфосфатдегидрогеназа из дрожжей, из мышц животных и насекомых), проявляют различный характер кооперативности именно вследствие неравновесности своего поведения.

Медленные изменения конформации могут приводить к предстационарному нарастанию или спаду активности фермента [56]. Приближение к стационарному состоянию может быть немонотонным, в частности иметь характер затухающих колебаний вследствие неравновесности (см. также [63]).

Следует подчеркнуть, что однонаправленность циклического ферментативного процесса возможна только в кинетическом режиме, вдали от равновесия. Ни одна из элементарных стадий цикла не может быть истинно необратимой. Поэтому применение термина «релаксация» (см. § 6.6) условно. На первый взгляд может показаться, что прямая и обратная реакции $S \rightarrow P$ и $P \rightarrow S$ способны идти разными путями и равновесие должно лишь уравнивать суммарные прямой и обратные потоки. Однако легко видеть, что в таком случае молекула фермента окажется вечным двигателем. В равновесии при неизменных концентрациях всех веществ в замкнутой системе молекулы фермента совершали бы циклические конформационные превращения и нагревали бы среду вследствие обычных потерь на трение. В действительности термодинамическое равновесие обязательно означает и детальное равновесие, т. е. равновесие на каждой эле-

ментарной стадии. В любой кинетической схеме, содержащей замкнутые циклы, условие детального равновесия накладывает связи на константы скорости (см., например, стр. 61).

Для регулирования активности фермента существенно то, что по крайней мере в одной из конформаций образование продукта происходит быстрее, чем переход между конформационными состояниями фермента. Возникающие нелинейные эффекты очень чувствительны к регулирующим факторам.

Изложенная теория с успехом применима, в частности, для интерпретации своеобразного кинетического поведения лактатдегидрогеназы [64].

Неравновесные свойства ферментов весьма существенны. В работе Марковича и Крапивинского [110] были обнаружены медленные конформационные изменения фермента, продолжающиеся до 20—30 мин. Таковы конформационные изменения окружения SH-групп активного центра D-глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГАФД) в присутствии ингибитора — АТФ. Эти изменения проявляются в дифференциальных спектрах поглощения π в спектрах кругового дихроизма, в полосе поглощения специфических флуоресцентных меток. Предполагается, что малая скорость перестроек активного центра, индуцированных АТФ, объясняется их сопряжением с перестройками контактных площадок между субъединицами (ГАФД — тетрамер) и с последующими изменениями расположения субъединиц. В компактной тетрамерной структуре последние изменения невозможны из-за стерических ограничений. Конформационный переход реализуется на промежуточной стадии димера или «рыхлого» тетрамера с подвижными контактами субъединиц. Медленность перехода обусловлена низкой константой скорости диссоциации тетрамера. После перехода, вызванного АТФ, происходит ассоциация промежуточных форм, причем образуется тетрамер с иным расположением субъединиц. Эти представления подтверждаются исследованиями миграции энергии электронного возбуждения между хромофорами, расположенными на различных субъединицах. В последующих работах [111, 112] было проведено детальное изучение кинетики ферментативных реакций ГАФД, кинетики связывания ферментом АТФ и кофермента (НАД), подтвердившее изложенные представления и раскрывшее природу кооперативных свойств фермента, определяемых его четвертичной структурой и неравновесным состоянием.

Возможность весьма медленных конформационных перестроек фермента непосредственно свидетельствует о необходимости учета неравновесности и нелинейности ферментативных процессов в такого рода случаях.

Рассмотренное в данном параграфе нелинейное поведение ферментов не является организованным во времени — система

не может выполнять незатухающие колебания, если в ней нет автокаталитических стадий, обратных связей.

Мы видим, однако, что отдаленность от равновесия приводит к разнообразным видам регулируемого поведения биохимических систем. Можно думать, что эти возможности реализуются, в частности, в сопрягающих мембранах (см. гл. 6 и 7).

§ 8.7. АВТОКОЛЕБАНИЯ В ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ

Нелинейности в кинетике биохимических, ферментативных, процессов проявляются в ряде случаев в наблюдаемой их периодичности. Происхождение колебаний в биохимических системах в целом понятно — они определяются автокаталитической системой реакций и в этом общем смысле моделируются периодическими реакциями в неживой природе. Таковы процессы, изученные Жаботинским и описанные в § 8.5, периодические окислительные реакции, теория которых развита Франк-Каменецким [65], и т. д. Общие обзоры, посвященные биохимическим колебаниям, содержатся в сборнике [66] (см. также статью Селькова [67] и монографию Жаботинского [19]).

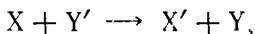
Особенно четко периодичность биохимических процессов проявляется в реакциях гликолиза (анаэробного превращения шестичленных сахаров в трикарбоновые кислоты), сопровождающегося синтезом АТФ [68, 69]. Упрощенная схема процесса показана на рис. 8.29 [68]. В опытах Чанса, Гесса и сотрудников были обнаружены сначала затухающие концентрационные колебания в гликолизе [70—72], затем были найдены условия возникновения незатухающих автоколебаний [73—75]. На рис. 8.30 показаны колебания концентрации одного из продуктов реакции гликолиза — НАД-Н [73], примечательные своим почти синусоидальным характером.

Реакция гликолиза реализуется в сложной полиферментной системе. Возможности возникновения автоколебаний в таких системах были исследованы Сельковым ([67, 76—82], см. также [19]).

Проведем рассмотрение этой проблемы, следуя работе [79]. Химические процессы, подчиняющиеся закону действия масс, как правило, нелинейны. Нелинейны взаимодействия элементов полиферментной системы и взаимодействия таких систем друг с другом. В результате возникают регуляторные системы, так как их устойчивость непосредственно связана с нелинейностью. Сельков выделяет ключевые этапы в полиферментной системе, характеризующиеся наиболее сильной нелинейностью и ответственные за регуляцию процесса. Эта основная нелинейность проявляется в гистерезисной зависимости квазистационарной скорости

ключевой реакции от концентрации субстрата. Основная нелинейность возникает в результате совокупности механизмов, действующих независимо друг от друга.

Примером типичного биохимического нелинейного процесса служат ферментативные реакции, ингибируемые избытком субстрата или кофермента, например, реакции с участием биосинтетических дегидрогеназ, ингибируемые НАДФ·Н⁺. Такую реакцию можно представить схемой, показанной на рис. 8.31. Реакция



катализируемая ферментом E, ингибируется активной формой кофермента Y'. Скорость v конверсии X → X' в стационарных условиях можно выразить приближенной формулой

$$v = \frac{VXY'}{K_1 [K_2 + Y' \{1 + (Y'/K_i)^\gamma\}]}, \quad (8.89)$$

где V — величина, имеющая размерность скорости, пропорциональная концентрации фермента. Скорость поступления субстрата v₁, скорость регенерации кофермента из неактивной формы v₂ и скорость использования кофермента v₃ представим формулами

$$\begin{aligned} v_1 &= v_m - k_1 X, \\ v_2 &= k_2 Y, \\ v_3 &= k_3 Y'; \end{aligned} \quad (8.90)$$

здесь X, Y, Y' — концентрации, v_m — максимальная скорость реакции X → X', K₁, K₂, K_i — константы, γ — порядок ингибирования фермента коферментом Y'. Y + Y' = Y₀ — постоянная величина и имеется большой избыток X и Y', т. е. X/E, Y'/E ≫ 1.

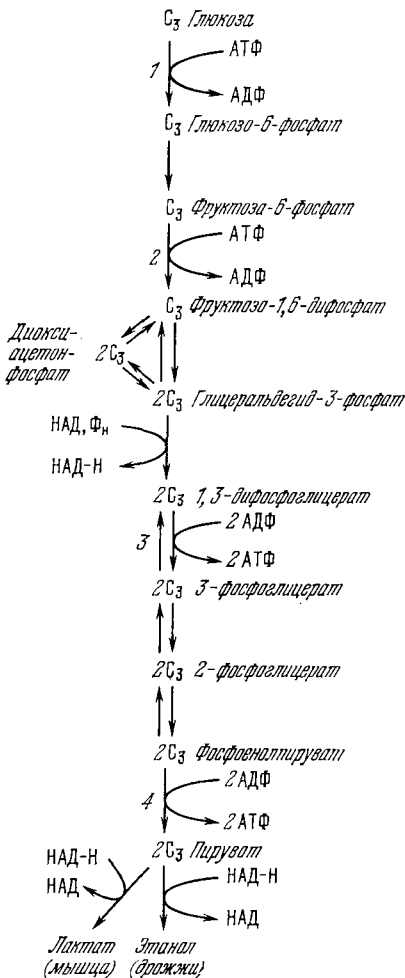


Рис. 8.29. Упрощенная схема гликолиза.

C₆, C₃ — шести- и трехуглеродные соединения, 1—4 — реакции, определяющие кинетику процесса в целом.

Введем безразмерные переменные

$$\left. \begin{aligned} x &= \frac{VX}{V_0 K_1}, & y' &= \frac{Y'}{Y_0}, & \tau &= \frac{Vt}{K_1}, & \alpha &= \left(\frac{K_i}{Y_0} \right)^{\nu}, \\ \beta &= \frac{k_1 K_1}{V}, & \delta &= \frac{k_2}{k_2 + k_3}, & \zeta &= \frac{K_2}{Y_0}, & \nu &= \frac{\nu}{V_0}, \\ v_1 &= \frac{v_1}{V_0}, & v_m &= \frac{V_m}{V_0}, & V_0 &= (k_2 + k_3)Y, & \mu &= \frac{VY_0}{V_0 K_1}. \end{aligned} \right\} \quad (8.91)$$

Кинетические уравнения имеют вид

$$\frac{dx}{d\tau} = v_1 - \nu, \quad \mu \frac{dy'}{d\tau} = \delta - y' - \nu, \quad (8.92)$$

где

$$\nu = \frac{xy'}{\zeta + y'(1 + \alpha y'^{\nu})}, \quad v_1 = v_m - \beta x.$$

Квазистационарная скорость реакции $\tilde{\nu}$ определяется из уравнения

$$\tilde{\nu} = \frac{x\tilde{y}'}{\zeta + \tilde{y}'(1 + \alpha\tilde{y}'^{\nu})}, \quad (8.93)$$

где $\tilde{y}' = \delta - \tilde{\nu}$ — квазистационарная концентрация кофермента.

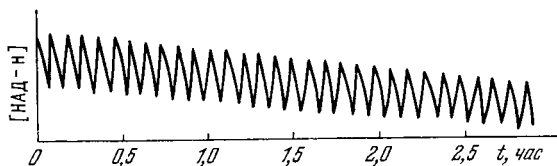


Рис. 8.30. Колебания концентрации НАД-Н в экстракте дрожжей.

Из этих значений $\tilde{\nu}$ и \tilde{y}' находим концентрацию субстрата

$$x = \tilde{\nu} \left(\frac{\zeta}{\delta - \tilde{\nu}} + 1 + \alpha(\delta - \tilde{\nu})^{\nu} \right). \quad (8.94)$$

Выходные характеристики системы, т. е. значения x , находятся из уравнения (8.94) путем подстановки значений $\tilde{\nu}$, удовлетворяющих условию $0 < x < \delta$. Область существования S-образной нелинейности ограничена значениями параметров, при которых два экстремума x сливаются, образуя точку перегиба, для которой $dx/d\tilde{\nu} = 0$. Если такая нелинейность имеет место, то возникает ряд специфических явлений, в частности, множественные стационарные состояния, их неустойчивость, гистерезисный характер зависимости $\tilde{\nu}$ от параметров системы и

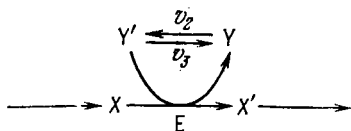


Рис. 8.31. Реакция с субстратным ингибированием.

скачкообразные переходы между стационарными состояниями (ср. [7]). Возникает также возможность генерации импульса реакции в ответ на надпороговое возмущение параметров. Наконец, возможны автоколебательные состояния. На рис. 8.32 показаны три стационарных состояния, отвечающих пересечению S-образной входной характеристики $\tilde{v}(x)$ с прямой $v_1 = v_m - \beta x$. На рис. 8.33 показаны устойчивый и неустойчивый предельные циклы, окружающие неустойчивые стационарные состояния.

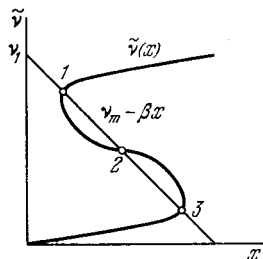


Рис. 8.32. Несколько стационарных состояний, возникающих вследствие нелинейности входной характеристики.

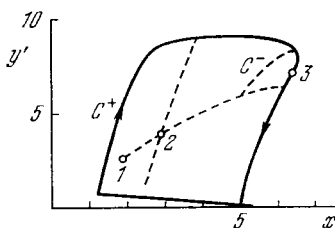


Рис. 8.33. Устойчивый (C^+) и неустойчивый (C^-) предельные циклы.

1, 2, 3—стационарные состояния.
 $\alpha=100$, $\beta=0,08$, $\gamma=3,6$, $\delta=0,9$, $\zeta=0,01$,
 $v_m=0,825$.

Сельков отмечает, что распространенное мнение о малых временных постоянных автоколебательных биохимических процессов ошибочно. Периоды колебаний порядка суток и больше возможны, например, если субстрат X может обратимо переходить в неактивную форму [81]. Соответствующий расчет приведен в [79].

Можно показать, что существует неограниченное разнообразие биохимических механизмов, подобных рассмотренной реакции и, тем самым, обладающих такой же нелинейностью. Такие модели рассмотрены в [79] (см. также [19]). Различные механизмы могут взаимодействовать друг с другом. Нелинейные системы являются регуляторными. Факторы, прямо или косвенно влияющие на стационарные состояния или воздействующие на основные нелинейности биохимических реакций, определяют их динамическое поведение. Даже малое изменение поступления субстрата может, например, привести к исчезновению автоколебательного режима и к исчезновению альтернативных стационарных состояний. Таким образом, основная нелинейность подлжит строгому контролю.

Реакция гликолиза является ярким примером нелинейного биохимического процесса. Рассмотрим ее подробно, следуя за

изложением в [18], основанным на работах Селькова (в частности, [82]) и Хиггинса [63]. Обратимся к схеме, показанной на рис. 8.29. Кинетика процесса в целом определяется несколькими «узкими местами», обозначенными на схеме цифрами. Обозначим через v_0 скорость реакции 1, катализируемой ферментом гексокиназой (ГК). Реакция $C'_6 \rightleftharpoons C''_6$ быстрая и обратимая, поэтому будем считать, что концентрации этих веществ пропорциональны друг другу — устанавливается квазиравновесие. Концентрация X одного из веществ C'_6, C''_6 возрастает со скоростью v_0 и убывает за счет реакции 2, катализируемой фосфофруктокиназой (ФФК). Далее, вплоть до реакции 3, протекает несколько быстрых обратимых реакций и, следовательно, концентрации промежуточных веществ пропорциональны друг другу. Обозначим одну из этих концентраций через Y . ФФК активируется продуктами своей реакции, т. е. веществом Y . Поэтому увеличение Y за счет реакции 2 зависит как от X , так и от Y . Скорость возрастания Y равна скорости убыли X . В реакции 3, катализируемой пируваткиназой (ПК), Y убывает. Получаем кинетические уравнения [63]

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= v_0 - k_1 \frac{X}{K_X + X} \frac{Y}{K_Y + Y}, \\ \dot{Y} &= k_1 \frac{X}{K_X + X} \frac{Y}{K_Y + Y} - k_2 \frac{Y}{K + Y}. \end{aligned} \right\} \quad (8.95)$$

В работе Селькова [82] вместо множителя $Y/(K_Y + Y)$ фигурирует $Y^2/(K_Y + Y^2)$, т. е. вводится более высокий порядок активации ФФК, что обосновывается биохимически. Однако уже простая система (8.95) характеризуется интересующей нас нелинейностью, и результаты расчетов в работах [63] и [82] сходны друг с другом. Более того, автоколебательный режим получается и при дальнейшем упрощении, если принять, что $K_X \gg X$, $K_Y \gg Y$. Получаем систему

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= v_0 - k'_1 XY, \\ \dot{Y} &= k'_1 XY - k'_2 \frac{Y}{1 + Y/K}, \end{aligned} \right\} \quad (8.96)$$

подобную системе Лотка (см. стр. 440). Здесь $k'_1 = k_1/K_X K_Y$, $k'_2 = k_2/K$. Очевидно, что v_0 пропорционально содержанию ГК, k'_1 — содержанию ФФК и k'_2 — содержанию ПК.

Стационарные концентрации X и Y равны

$$Y_0 = \frac{v_0}{k'_2 - v_0/K}, \quad X_0 = \frac{k'_2 - v_0/K}{k'_1}.$$

Введем безразмерные переменные

$$x = \frac{X}{X_0}, \quad y = \frac{Y}{Y_0}, \quad \tau = \frac{t}{t_0} = k_1' Y_0 t = \frac{k_1' v_0}{k_2' - v_0/K} t.$$

Тогда (8.96) примет вид

$$\left. \begin{aligned} \frac{dx}{d\tau} &= 1 - xy, \\ \frac{dy}{d\tau} &= \alpha y \left(x - \frac{1+r}{1+ry} \right), \end{aligned} \right\} \quad (8.97)$$

где

$$\alpha = \frac{(k_2' - v_0/K)^2}{v_0 k_1'}, \quad r = \frac{Y_0}{K} = \frac{v_0/K}{k_2' - v_0/K}.$$

Фазовый портрет системы на плоскости x, y и главные изоклины показаны на рис. 8.34. Изоклина вертикальных касательных (I) — гипербола $y = x^{-1}$, горизонтальных касательных (II) — гипербола $x = (1+r)/(1+ry)$ и прямая $y = 0$. Линеаризуя уравнения (8.97), определяем характер особой точки O . Корни характеристического уравнения равны

$$\lambda_{1,2} = -\frac{1}{2} \left(1 - \frac{\alpha r}{1+r} \right) \pm \frac{1}{2} \left[\left(1 - \frac{\alpha r}{1+r} \right)^2 - \frac{4\alpha}{1+r} \right]^{1/2}.$$

При $4\alpha/(1+r) > (1 - \alpha r/(1+r))^2$ точка O есть фокус. Если $\alpha r/(1+r) < 0$, фокус устойчив, если $\alpha r/(1+r) > 0$, фокус неустойчив и вокруг него возникает предельный цикл. При $\alpha r/(1+r) = 1$ происходит бифуркация. Вблизи этой точки, если $|\alpha r/(1+r) - 1| \ll 1$, частота колебаний равна мнимой части корня характеристического уравнения, т. е.

$$\omega \approx \sqrt{\frac{\alpha}{1+r}}. \quad (8.98)$$

Таким образом, при определенных условиях система (8.96) действительно дает автоколебания. Увеличение параметра α способствует их нарастанию, уменьшение α — затуханию. Из выражения для α следует, что уменьшение k_1' и скорости притока v_0 должно вызывать самовозбуждение колебаний. К тому же результату должно приводить увеличение k_2' , т. е. добавка ПК. Это согласуется с опытом.

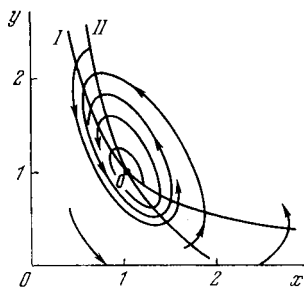


Рис. 8.34. Фазовый портрет колебаний при гликолизе. I, II — изоклины.

§ 8.8. АВТОКОЛЕБАНИЯ ПРИ ФОТОСИНТЕЗЕ

Периодические процессы непосредственно проявляются в физиологии как животных, так и растительных организмов. Речь идет прежде всего о процессах, связанных с вращением Земли вокруг ее оси, со сменой дня и ночи, таких, например, как чередование сна и бодрствования. В связи с этим было введено понятие *биологических часов* [66]. Хальберг назвал *циркадными ритмами* биологические колебания с периодом, близким к суточному [83]. Питтендрай перечисляет характерные особенности циркадных ритмов в статье [84]. Циркадные ритмы повсеместны в живой природе и имеют эндогенный и врожденный характер. Физическая причина циркадных ритмов лежит в автоколебательных процессах, периоды их практически независимы от температуры и от химических возмущений. Они автономны на клеточном и организменном уровне.

Наряду с циркадными, суточными, ритмами периодических изменений состояния всего организма в живой природе наблюдается ряд колебательных явлений с другой периодичностью, которые также следует отнести к категории биологических часов. Рассмотрим в качестве примера колебания интенсивности фотосинтеза. Ясно, что фотосинтез непосредственно связан с освещенностью. Скорости поглощения CO_2 и выделения O_2 зелеными растениями также периодичны. По-видимому, периодичность, определяемая эндогенным ритмом, свойственна темновому циклу Кальвина (см. стр. 360), так как реакции светового цикла протекают очень быстро — за доли секунд. По-видимому, ритм, связанный с темновым циклом, характеризуется периодом, существенно меньшим суток. Однако этот ритм хорошо синхронизуется с периодической освещенностью.

Очевидно, что непосредственно наблюдаемый ритм фотосинтеза должен определяться периодическими биохимическими процессами темнового цикла. Мы видели, что периоды колебаний ферментативной активности могут быть и весьма длительными. Теоретическая модель колебаний в темновых реакциях фотосинтеза разработана Чернавским и его сотрудниками [18, 85—87].

В цикле Кальвина участвуют трехуглеродные, пятиуглеродные и шестиуглеродные соединения (см. рис. 7.18). Написание всех кинетических уравнений для цикла приводит к системе, слишком сложной для исследования. Как справедливо указывается в [18], целесообразно максимальное упрощение системы, сохраняющее, однако, ее основные качественные особенности. Кинетика процесса лимитируется медленными стадиями, быстрые обратимые стадии могут рассматриваться как равновесные. Поэтому следует ограничиться рассмотрением лимитирующих стадий. В сущности, такая процедура уже применялась при ана-

лизе ферментативных реакций в §§ 8.6, 8.7. Упрощение систем кинетических уравнений проводится на строгих математических основаниях. Рассмотрим их вкратце (ср. [18]).

Имеем исходную систему типа

$$\dot{x}_i = F_i(x_1, x_2, \dots, x_N), \quad i = 1, 2, \dots, N. \quad (8.6)$$

Допустим, что после ряда преобразований и выбора соответствующих масштабов удается расположить эту систему по степеням малого параметра ϵ при производной

$$\left. \begin{aligned} \epsilon^2 \dot{x}_i &= F_i(x_1, \dots, x_N), & i &= 1, 2, \dots, l, \\ \epsilon \dot{x}_j &= F_j(x_1, \dots, x_N), & j &= l+1, \dots, l+m, \\ \dot{x}_k &= F_k(x_1, \dots, x_N), & k &= l+m+1, \dots, N. \end{aligned} \right\} \quad (8.99)$$

Коэффициенты ϵ^2 и ϵ определяют скорости изменений переменных x . В самом деле, систему (8.99) можно переписать в виде

$$\dot{x}_i = \frac{1}{\tau_1} F_i, \quad \dot{x}_j = \frac{1}{\tau_2} F_j, \quad \dot{x}_k = \frac{1}{\tau_3} F_k,$$

где $\tau_1 = \epsilon^2$, $\tau_2 = \epsilon$, $\tau_3 = 1$, т. е. $\tau_1 \ll \tau_2 \ll \tau_3$. Если существенно поведение системы как на малых отрезках времени порядка τ_1 , так и на больших порядка τ_3 , то приходится изучать систему в целом. В других случаях ситуация иная. Так, если важны явления, происходящие за средние времена порядка τ_2 , то система упрощается. В самом деле, за эти времена «медленные» переменные x_h не успевают измениться, и можно заменить их начальными, постоянными значениями. Напротив, «быстрые» переменные x_i успевают достичь своих стационарных значений, если таковые существуют. Значит, переменные x_i можно заменить их стационарными значениями. Таким образом, из N уравнений остаются лишь m уравнений.

Математическое обоснование процедуры связано с так называемой теоремой Тихонова (см. [18, 113, 114]).

Вернемся к фотосинтезу. Чернавский и сотрудники ограничились здесь исследованием всего лишь двух кинетических уравнений, в которых в качестве независимых переменных фигурируют концентрации трехуглеродных и шестиуглеродных соединений C_3 , C_6 . Остальные переменные выражаются алгебраически через C_3 , C_6 . Так как в цикле Кальвина протекают в основном бимолекулярные реакции, кинетика выражается уравнениями второго порядка

$$\left. \begin{aligned} \dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 + \alpha_2 C_3 C_6 + \alpha_3 C_6^2, \\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 + \beta_2 C_3 C_6 + \beta_3 C_6^2. \end{aligned} \right\} \quad (8.100)$$

В первом уравнении $\alpha_3 = 0$ — концентрация триоз C_3 не изменяется в результате взаимодействия двух гексоз. Увеличение C_6 может осуществляться лишь за счет соединения двух молекул C_3 . Следовательно, $\beta_1 > 0$, $\beta_2, \beta_3 < 0$. Увеличение содержания триоз происходит в более сложном процессе, в котором участвуют как сами триозы, так и гексозы C_6 . Можно положить $\alpha_1 > 0$, $\alpha_2 < 0$. Мы получаем уравнения

$$\left. \begin{aligned} \dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 - \alpha_2 C_3 C_6, \\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 - \beta_2 C_3 C_6 - \beta_3 C_6^2, \end{aligned} \right\} \quad (8.101)$$

где все коэффициенты $\alpha_i, \beta_i > 0$.

Находим изоклины и стационарные состояния, отвечающие $\dot{C}_3 = \dot{C}_6 = 0$. Обе изоклины представляют собой прямые линии, проходящие через начало координат, их уравнения $C_6 = a_1 C_3$ и $C_6 = a_2 C_3$, где a_1 и a_2 удовлетворяют условиям $\alpha_1 - \alpha_2 a_1 = 0$ и $\beta_1 - \beta_2 a_2 - \beta_3 a_2^2 = 0$. Имеется лишь одно стационарное состояние $C_3^0 = C_6^0 = 0$ при $a_1 \neq a_2$ или бесконечное множество таких состояний при $a_1 = a_2$. Первый случай соответствует отсутствию фотосинтеза, второй — безразлично неустойчивым состояниям равновесия. Предельных циклов нет, нет и колебаний. Следовательно, система (8.101) недостаточна, модель требует дoстройкi. Чернавский вводит в первое уравнение добавочный постоянный член $\alpha_0 > 0$, описывающий скорость притока C_3 , возникающего в других процессах, отличных от цикла Кальвина (гликолиз, дыхание). Такой приток служит инициатором цикла. Необходимость пускового механизма характерна для автокатализа. Итак,

$$\left. \begin{aligned} \dot{C}_3 &= \alpha_1 C_3^2 - \alpha_2 C_3 C_6 + \alpha_0, \\ \dot{C}_6 &= \beta_1 C_3^2 - \beta_2 C_3 C_6 - \beta_3 C_6^2. \end{aligned} \right\} \quad (8.102)$$

Исследуем эту систему уравнений. Перейдем к переменным $X = C_3/C_3^0$, $Y = C_6/C_6^0$, где C_3^0, C_6^0 — стационарные значения C_3, C_6 , получаемые из условий $\dot{C}_3 = \dot{C}_6 = 0$. Имеем

$$\left. \begin{aligned} \dot{X} &= \bar{\alpha}_1 X^2 - \bar{\alpha}_2 XY + \bar{\alpha}_0, \\ \dot{Y} &= \bar{\beta}_1 X^2 - \bar{\beta}_2 XY - \bar{\beta}_3 Y^2, \end{aligned} \right\} \quad (8.103)$$

где $\bar{\alpha}_1 = \alpha_1 C_3^0$, $\bar{\alpha}_2 = \alpha_2 C_6^0$, $\bar{\alpha}_0 = \alpha_0/C_3^0$, $\bar{\beta}_1 = \beta_1 C_3^{02}/C_6^0$, $\bar{\beta}_2 = \beta_2 C_3^0$, $\bar{\beta}_3 = \beta_3 C_6^0$. В стационарном состоянии $X = Y = 1$, $\dot{X} = \dot{Y} = 0$. Следовательно,

$$\left. \begin{aligned} \bar{\alpha}_1 - \bar{\alpha}_2 + \bar{\alpha}_0 &= 0, \\ \bar{\beta}_1 - \bar{\beta}_2 - \bar{\beta}_3 &= 0. \end{aligned} \right\} \quad (8.104)$$

Далее опустим черту над буквами α_i и β_i . В стационарном режиме коэффициент β_1 представляет количество гексозы, образующейся в единицу времени из триозы, β_2 — количество гексозы, уходящее из цикла Кальвина и образующее крахмал, β_3 — количество гексозы, возвращающееся в цикл. Для ухода одной молекулы гексозы нужно шесть оборотов цикла, так как в цикле усваивается одна молекула CO_2 . Поэтому $\beta_2 = \beta_3/6$. Следовательно, $\beta_3 = 6\beta_1/7$, $\beta_2 = \beta_1/7$. С другой стороны, $\alpha_0 \ll \ll \alpha_1, \alpha$. Имеем, вводя безразмерное время $\tau = t/\tau' = \alpha_1 t$,

$$\left. \begin{aligned} \frac{dX}{d\tau} &= X^2 - \frac{\alpha_2}{\alpha_1} XY + \frac{\alpha_0}{\alpha_1}, \\ \frac{dY}{d\tau} &= \frac{\beta_1}{\alpha_1} \left(X^2 - \frac{1}{7} Y^2 - \frac{6}{7} XY \right). \end{aligned} \right\} \quad (8.105)$$

Линеаризуем систему, рассматривая ее вблизи стационарного состояния, т. е. считая

$$X = 1 + x, \quad Y = 1 + y, \quad x, y \ll 1.$$

Получаем из системы (8.105), исключив α_2 с помощью первого соотношения (8.104),

$$\left. \begin{aligned} \frac{dx}{d\tau} &= (1 - \gamma)x - (1 + \gamma)y, \\ \frac{dy}{d\tau} &= \frac{8}{7}\varepsilon(x - y), \end{aligned} \right\} \quad (8.106)$$

где $\gamma = \alpha_0/\alpha_1$, $\varepsilon = \beta_1/\alpha_1$. Ищем решения в виде

$$x = x_0 \exp \lambda \tau, \quad y = y_0 \exp \lambda \tau.$$

Находим корни характеристического уравнения

$$\lambda_{1,2} = \frac{1}{2}(1 - \gamma - \frac{8}{7}\varepsilon) \pm \left[\frac{1}{4}(1 - \gamma - \frac{8}{7}\varepsilon)^2 - \frac{16}{7}\varepsilon\gamma \right]^{1/2}. \quad (8.107)$$

Стационарное состояние $x = y = 0$ устойчиво, если действительная часть λ отрицательна, т. е. если

$$1 - \gamma - \frac{8}{7}\varepsilon < 0,$$

и неустойчиво в противоположном случае.

Переход к неустойчивому режиму происходит при $\varepsilon = = \frac{7}{8}(1 - \gamma) \approx 0,87$ (так как $\gamma \ll 1$). При увеличении α_1 такой переход оказывается возможным.

Мнимая часть (8.107) определяет колебания. Их период (безразмерный) равен

$$T = \frac{2\pi}{\text{Im } \lambda},$$

где

$$\operatorname{Im} \lambda = \pm [{}^{16}/{}_{7}\varepsilon\gamma - (\operatorname{Re} \lambda)^2]^{1/2}.$$

При переходе к неустойчивому режиму, когда $\operatorname{Re} \lambda = 0$, имеем

$$T = \frac{2\pi}{\sqrt{{}^{16}/{}_{7}\varepsilon\gamma}}.$$

Поведение системы исследуется обычным методом фазовых диаграмм. Положим для конкретности $\gamma \approx 1/20$ и $\varepsilon \approx 2/3$. Тогда условие неустойчивости соблюдается, так как

$$\frac{19}{20} > \frac{16}{21}.$$

Интегральные кривые представляются уравнением

$$\frac{dy}{dx} = \frac{2}{3} \frac{x^2 - {}^1/{}_{7}y^2 - {}^6/{}_{7}xy}{x^2 - {}^{21}/{}_{20}xy + {}^1/{}_{20}}. \quad (8.108)$$

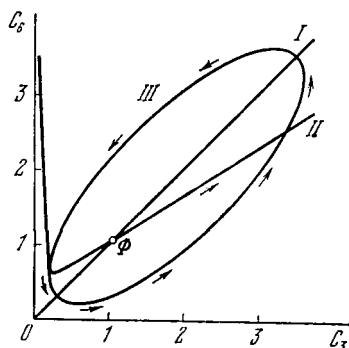


Рис. 8.35. Фазовый портрет для модели фотосинтеза [84].

I и *II* — линии параллельных и перпендикулярных изоклин, *III* — предельный цикл. Φ ($X=Y=1$) — устойчивый фокус.

На рис. 8.35 показан фазовый портрет системы уравнений (8.106) при указанных значениях γ и ε . Система является автоколебательной, C_3 и C_6 периодически изменяются с одинаковой фазой. Численное или графическое определение периода

колебаний C_3 и C_6 показывает, что он примерно на два порядка больше характеристического времени $\tau' \sim \alpha^{-1}$. Это время оценивается в 5—10 мин, период T порядка нескольких часов или суток. Колебания ангармоничны: система проводит большую часть времени в области малых значений концентраций C_3 и C_6 .

Машинные расчеты показывают, что система синхронизируется внешним периодическим воздействием (освещенность). При переходе от одного режима к другому фаза устанавливается медленно.

Более подробное исследование системы уравнений (8.106) выполнено в работе [87] (см. также [18]).

Очевидно, что приведенное рассмотрение максимально упрощенно и не позволяет еще сделать какие-либо количественные выводы. Однако упрощенный подход раскрывает физический смысл автоколебаний при фотосинтезе и показывает, как они могут синхронизоваться суточным ритмом.

§ 8.9. ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В МЕМБРАНАХ

Мембраны клеток и внутриклеточных органоидов в значительной степени определяют их свойства. Естественно думать, что и периодические процессы, присущие живым организмам, связаны с периодическими явлениями в мембранах.

Нелинейное поведение возбудимых мембран отчетливо проявляется в генерации и распространении электрического импульса (см. гл. 5). Здесь мы рассмотрим периодические изменения состояния мембран, наблюдавшиеся в ряде опытов (см. [88]).

Теорелл показал, что в условиях взаимодействия ионного и объемного потоков через мембрану возможно ее нестационарное поведение вследствие периодического изменения ионной проводимости [89]. Теория этих явлений рассмотрена далее. Шашуа наблюдал колебания электрического потенциала в очень тонких двойных полиэлектролитных мембранах [90]. Двойной слой состоял из поликислоты (α) и полиоснования (β). Таким образом, в нем имелись три зоны — отрицательно заряженная α , нейтральная и положительно заряженная β (рис. 8.36).

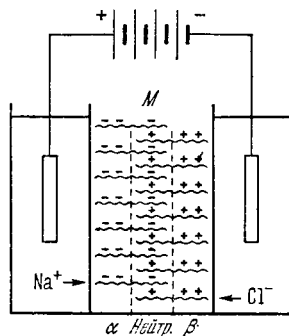


Рис. 8.36. Схема трехслойной полиэлектролитной мембраны.

со стороны полиоснования (+) наблюдались периодические спайки и при некотором критическом значении тока — незатухающие колебания, сохранявшиеся часами. Ток через мембрану состоит из перемещения катионов сквозь зону α и анионов сквозь зону β . В результате в центральной нейтральной зоне накапливается NaCl. Возрастание осмотического давления приводит к появлению потока растворителя в мембрану и возрастанию в ней гидростатического давления. С другой стороны, увеличение концентрации соли вызывает сокращение молекул полиэлектролита, что также увеличивает гидростатическое давление. Когда это увеличение превзойдет увеличение осмотического давления, поток растворителя изменит знак, и концентрация соли в мембране увеличится еще больше. Возникает концентрационный градиент, соль покидает мембрану и продолжает вытекать после того, как мембрана достигнет максимального сокращения. Затем наступает релаксация, возвращение мембраны в исходное состояние, и процесс начинается сначала. Теоретическое рассмотрение этого автоколебательного процесса, поддерживаемого

постоянной внешней силой, проведено Качальским и Спанглером [88].

Мембранный осциллятор Теорелла [89] состоит из двух ячеек, заполненных электролитом разной концентрации и разделенных мембраной из пористого стекла, содержащей связанные отрицательные заряды. При пропускании постоянного тока создается разность потенциалов на двух сторонах мембраны, и в ячейках возникает сдвиг уровней жидкостей. При сильных постоянных токах в системе происходят периодические колебания уровней жидкостей и мембранного потенциала, разнящиеся по фазе. Это — электрокинетическое явление. Вследствие того, что мембрана содержит фиксированные отрицательные заряды, электролит в ее порах несет преимущественно катионы. Внешние поля заставляют перемещаться катионы и растворитель. Распределение концентраций в порах мембраны зависит от количества протекающей жидкости и скорости ее течения, от чего зависит и сопротивление мембраны.

Допустим, что концентрация электролита в левой ячейке выше, чем в правой. Пропустим через мембрану ток, направленный справа налево. Возникнет следующая качественная картина [91]: поток воды, направленный справа налево, заставит разбавленный раствор NaCl войти в мембрану, где возникнет вогнутый профиль концентрации (рис. 8.37). Сопротивление мембраны становится

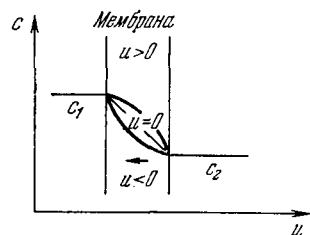


Рис. 8.37. Распределение концентраций электролита в мембране в зависимости от направления потока.

больше сопротивления покоя, соответствующего прямолинейному профилю концентрации. Падение потенциала на мембране начнет расти, что в свою очередь приведет к увеличению сопротивления и к росту мембранного потенциала. При достаточно высоком гидростатическом давлении скорость потока уменьшится и вогнутый профиль концентрации вернется к первоначальной прямолинейной форме. При этом возникнет избыток гидростатического давления над осмотическим, и водный поток начнет двигаться в обратном направлении. Поток действует на концентрационные профили как искажающий фактор, а диффузия — как фактор восстановления.

Скорость течения жидкости через мембрану выражается формулой

$$u = \alpha \Delta p - \beta \Delta \phi, \quad (8.109)$$

где Δp — разность гидростатических давлений, α, β — коэффициенты. При не слишком малых значениях $|u| \gg D/d$, где d —

толщина мембраны, D — коэффициент диффузии, большая часть ее заполнена электролитом одной и той же концентрации c_1 или c_2 в зависимости от направления скорости. Соответственно вольт-амперная характеристика состоит из двух линейных участков с резким переходом между ними (рис. 8.38). Наклоны прямых определяются сопротивлением, а переход между ними происходит при разности потенциалов φ_0 , соответствующей $u = 0$. Возникновение колебаний связано с наличием падающего участка зависимости $i(\varphi)$. В некоторых пределах каждому значению тока соответствуют три значения разности потенциалов φ_1 , φ^* , φ_2 . Значение φ^* отвечает неустойчивому состоянию, φ_1 , φ_2 — устойчивым. В процессе колебаний между ними происходят переходы [92].

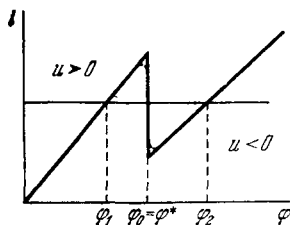


Рис. 8.38. Вольт-амперная характеристика системы Теорелла.

Теория колебаний мембранного осциллятора развита Теореллом [89, 91], японскими авторами [92] и Франком [93]. В работах Маркина и сотрудников [94] построена теория распространения возбуждения в системе Теорелла. Волна возбуждения возникает в связи с переходом мембраны из одного устойчивого состояния в другое. Показано, что переход возможен только в одном направлении, зависящем от величины поляризующего тока. Рассчитана скорость распространения волны как функция поляризующего тока в согласии с опытом.

Таким образом, в мембранных системах вследствие нелинейности могут возникать явления гистерезиса и связанные с ними периодические процессы. В биологических мембранах, содержащих белки — ферменты, обладающие кооперативными свойствами, периодические изменения состояния мембраны могут определяться нелинейной связью между диффузией и химическими реакциями. Рассмотрим, следуя работе [88], некоторые простые примеры.

Допустим, что фермент катализирует необратимый распад субстрата S

$$J_{\text{хим}} = - \frac{d_{\text{хим}} S}{dt} = KES, \quad (8.110)$$

где S — концентрация субстрата, K — константа скорости, E — концентрация фермента. Пусть имеется критическая концентрация субстрата S_0 , при которой фермент испытывает кооперативное конформационное изменение, приводящее к повышению его активности. Константа скорости K изменяется от K_1 до K_2 . Зависимость $J_{\text{хим}}(S)$ показана на рис. 8.39. Субстрат поступает

в систему посредством диффузии через мембрану, идущей со скоростью

$$J_{\text{диф}} = \frac{d_{\text{диф}} S}{dt} = a(S_e - S), \quad (8.111)$$

где S_e — концентрация S в источнике, которая считается практически постоянной ($S_e = \text{const}$). При $J_{\text{хим}} = J_{\text{диф}}$, $S = -\dot{S}_{\text{хим}} + \dot{S}_{\text{диф}} = 0$ и система находится в стационарном состоянии. Рис. 8.39 показывает различие между двумя стационарными состояниями, отвечающими $S_e = S'_e$ (a) и $S_e = S''_e$ (b). Точка пересечения a кривой $J_{\text{хим}}$ и прямой $J'_{\text{диф}}$ устойчива, так как при малом положительном изменении S $J_{\text{хим}} > J'_{\text{диф}}$ и концентрация субстрата убывает, пока система не вернется в точку a . С другой стороны, при отрицательной флуктуации $J'_{\text{диф}} > J_{\text{хим}}$ и концентрация субстрата возрастает, пока система вновь не вернется в точку a . Напротив, если точка пересечения b графи-

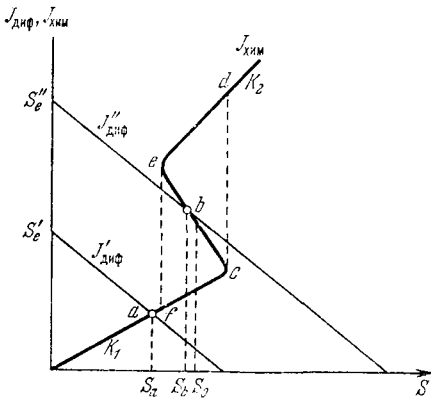


Рис. 8.39. Колебания концентрации в сопряженной хемиосмотической системе.

ков $J_{\text{хим}}$ и $J''_{\text{диф}}$ лежит в области неустойчивости, положительной флуктуации δS отвечает $J''_{\text{диф}} > J_{\text{хим}}$ и концентрация возрастает вплоть до точки c . В этой точке фермент испытывает конформационное превращение, и система переходит в точку d , в которой $J_{\text{хим}} > J''_{\text{диф}}$. Концентрация S убывает до точки e , в которой фермент испытывает обратный переход в исходную форму, система переходит в точку f . Здесь концентрация возрастает вновь, так как $J''_{\text{диф}} > J_{\text{хим}}$, и система вновь достигает точки c . Таким образом, система выходит на цикл гистерезиса $cdef$, которому отвечает предельный цикл на фазовом портрете.

Второй пример — продукция некоторого вещества Q с постоянной скоростью $J_{\text{хим}}^{(1)}$. Когда Q достигает критического значения Q_0 , фермент испытывает конформационное превращение и скорость продукции Q падает до $J_{\text{хим}}^{(2)}$. Реакционное пространство соединено с внешним резервуаром через мембрану, и Q подается со скоростью

$$J_{\text{диф}} = k(Q - Q_0), \quad (8.112)$$

так что

$$\dot{Q} = J_{\text{хим}} - J_{\text{диф}} \quad (8.113)$$

В этом случае также возникают гистерезисная петля и колебания.

Третий пример, рассмотренный Качальским и Спанглером [88], — постоянный ферментативный процесс, сопряженный с кооперативным изменением проницаемости мембраны от a_1 до a_2 при некотором значении концентрации продукта Q (рис. 8.40). Если мембрана разделяет два раствора соли одинаковой концентрации и реакция в мембране сама продуцирует ионы, то концентрация соли внутри мембраны отличается от ее концентрации во внешней среде. Возникает разность потенциалов, которая испытывает колебания, если внутримембранный процесс кооперативен.

Как показывают эти примеры, кооперативные свойства мембран могут быть причиной незатухающих колебаний, что естественно, так как кооперативность всегда означает нелинейность. Эти явления изучены, главным образом, на экспериментальных и теоретических моделях. Пока отсутствуют детальные исследования, раскрывающие молекулярные механизмы мембранных процессов, ответственных за биологические ритмы. Однако общие подходы к таким проблемам развиты, и периодические процессы в клетках нельзя более считать загадочными.

Обсуждаемые явления можно феноменологически описать на языке нелинейной термодинамики [88]. Задачи дальнейших исследований достаточно трудны, так как их решение требует детального изучения молекулярной структуры и динамики биологических мембран.

§ 8.10. ФИБРИЛЛЯЦИЯ ВОЗБУДИМОЙ СРЕДЫ

Из изложенного в гл. 5 очевидно, что любая мышечная ткань представляет собой возбудимую среду, — возбуждение, сообщаемое сетью нервных волокон, вызывает механохимические процессы. Тем самым процессы в возбудимых средах имеют важнейшее значение для физиологии, в частности, для физиологии сердечной мышцы. Рассмотрим, следуя работам Кринского ([79, 95—99], см. также [19]), *фибрилляцию сердца*. При некоторых патологических состояниях ритмически сокращающаяся сердеч-

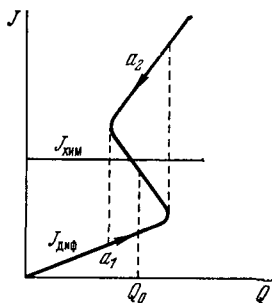


Рис. 8.40. Кооперативное изменение проницаемости мембраны при $Q = Q_0$.

ная мышца десинхронизуется, отдельные мышечные волокна сокращаются хаотически, асинхронно, наступает фибрилляция, приводящая организм к гибели. Спасение может быть достигнуто лишь быстрой дефибрилляцией, возвращением сердца к его нормальному ритму. Физическая задача состоит в анализе природы фибрилляции и условий ее возникновения, в нахождении таких параметров системы, при воздействии на которые сердце можно перевести в нормальный режим.

В § 8.5 рассмотрены возбудимые среды, в которых протекают химические реакции. Визуально наблюдаемые в таких средах автоволновые процессы свойственны возбудимым средам в целом. В частности, циркуляция возбуждения в двумерной системе приводит к общему для возбуждаемых сред явлению — к возникновению ревербераторов.

Само понятие возбудимой среды как среды, в которой распространение импульса происходит без затухания, было введено Винером и Розенблютом [42]. Импульс генерируется каждой точкой среды. Примером одномерной возбудимой среды может служить бикфордов шнур или нервное волокно. Каждая точка возбудимой среды может находиться в одном из трех состояний: покоя, возбуждения и рефрактерности. Если на точку, находящуюся в состоянии покоя, подать возбуждающий сигнал, то она перейдет в возбужденное состояние, в котором пробудет время τ , затем перейдет в рефрактерное состояние, продолжающееся в течение времени τ_R . В период рефрактерности τ_R точка не реагирует более на возбуждающий сигнал, следовательно, никакая точка не может возбуждаться с частотой, большей τ_R^{-1} .

Общие математические модели возбудимых сред, объясняющие возникновение ревербераторов, рассмотрены в работах [19, 42—45, 100]. Показано, что синхронное распространение волн может нарушаться в результате появления источников волн, вызванного попаданием в среду внеочередного (экстрасистолического) импульса возбуждения. В неоднородных средах эти источники могут размножаться и порождать фибрилляцию.

Ревербератор в однородной двумерной системе возникает, например, при наличии отверстия, периметр которого превышает длину волны $\lambda = v\tau_R$ (v — скорость распространения волны). Циркуляция волны возбуждения возможна и в непрерывной среде, неоднородной по рефрактерности. Если в некоторую область среды, имеющую форму кольца, послать импульс, то он не будет циркулировать, так как волны возбуждения, распространяющиеся по часовой стрелке и против нее, встретятся и погасят друг друга. Однако если рефрактерность не всюду одинакова, то циркуляция возникнет вследствие трансформации ритма.

На рис. 8.41 показана неоднородная среда, состоящая из двух областей с периодами рефрактерности τ_{R1} и τ_{R2} . Интервал Δt между двумя последовательными волнами a_1 и a_2 таков, что

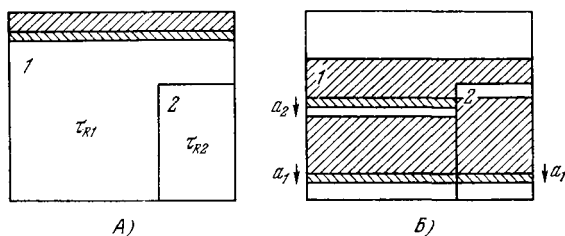


Рис. 8.41. Трансформация ритма в двумерной неоднородной среде. А — распределение рефрактерности ($\tau_{R2} > \tau_{R1}$), Б — разрыв фронта волны a_2 .

волна a_2 не может возбудить область с периодом рефрактерности $\tau_{R2} > \tau_{R1}$. Возникает разрыв фронта волны a_2 . Рефрактерный «хвост» имеет большую длину в области 2, чем в 1. Трансформация ритма состоит в выпадении второго импульса.

Ревербератор возникает при контакте фронта волны с покоящейся тканью. Такая ситуация создается, например, встречной

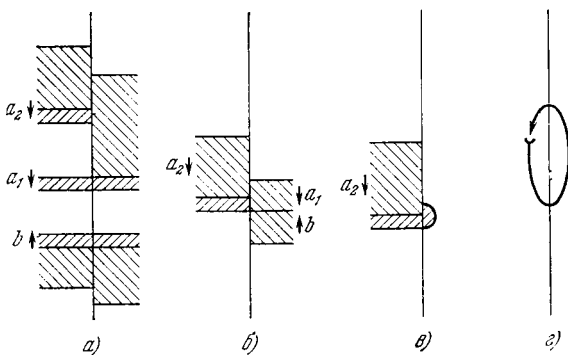


Рис. 8.42. Возникновение ревербератора в неоднородной среде. Последовательные стадии а, б, в, г

волной b (рис. 8.42). Волны b и a_1 гасят друг друга, и волна a_2 переходит в правую полуплоскость в виде полукруга (рис. 8.42, в), а затем, миновав свой «рефрактерный хвост», — в левую. Путь замыкается, и образуется ревербератор (рис. 8.42, г).

В однородной среде период волн, посылаемых ревербератором, равен τ_R , и ревербератор существует неограниченно долго.

Если он возник на границе двух однородных областей, то его время жизни конечно и тем меньше, чем больше неоднородность. Число оборотов волны возбуждения вокруг линии разрыва фаз равно

$$n = 1 + \frac{\tau}{\tau_{R_2} - \tau_{R_1}}. \quad (8.114)$$

Размер ревербератора может быть меньше длины волны.

Ревербераторы могут сами служить источником волн высокой частоты, вызывающих появление новых ревербераторов. Иными словами, возможен процесс размножения ревербераторов. В неоднородной среде ревербераторы посылают волны с различными частотами и не синхронизируются. Если новые источники волн рождаются чаще, чем исчезают старые, то наблюдается сложная картина, напоминающая фибрилляцию.

Другой источник волн, не связанный с циркуляцией возбуждения, представляет собой так называемое эхо. Если подать несколько импульсов на неоднородное по периодам рефрактерности волокно, то на неоднородности появляются новые импульсы, бегущие по волокну, и лишь позднее наступает состояние покоя. Возникшие импульсы подобны отраженным от неоднородности, которая рассматривается как источник эха. Кринский исследовал условия возникновения эха, характеристики соответствующего источника и их зависимости от параметров среды. Показано, что эхо может появляться в средах, удовлетворяющих условию $\tau/\tau_R > 1/2$. Начальные условия состоят в наличии достаточно большого разрыва в распределении фаз элементов по возбудимой среде. В неоднородной среде разрыв может возникать при трансформации ритма. Свойства источников эха близки к свойствам ревербератора, за исключением того, что размер источников эха может быть как угодно мал.

Ревербератор есть источник импульсов, который может существовать в среде и при $\tau/\tau_R < 1/2$. Пути, по которым возбуждение переходит из области с меньшей рефрактерностью в область с большей рефрактерностью и обратно, пространственно разделены, но сближаются при увеличении τ/τ_R и при $\tau/\tau_R \geq 1/2$ соединяются. Тем самым эхо представляет собой предельный случай ревербератора с нулевой длиной. Эхо и ревербератор обладают одинаковыми свойствами как источники импульсов и могут быть причинами фибрилляции в неоднородных возбудимых средах.

В электрофизиологии состояние сердечной ткани характеризуется так называемой «зоной уязвимости». Уязвимость означает возникновение более чем двух ответов при подаче на полосу миокарда двух импульсов. Шириной зоны называется диапазон интервалов между импульсами Δt , при которых возник-

кает уязвимость. Кринский показал, что уязвимость определяется величиной $\tau' = \tau/\tau_R$, ширина зоны тем меньше, чем меньше τ' .

В неоднородной возбудимой среде возникший источник волн, будь то эхо или ревербератор, может служить стимулятором для запуска новых источников волн. Если параметры среды таковы, что скорость «размножения» источников не меньше, чем скорость их «умирания», то возможна фибрилляция. При взаимодействии нескольких источников длительность фибрилляции быстро растет с увеличением τ' . Минимальное число источников, способное вызвать фибрилляцию заданной длительности, уменьшается с увеличением τ' . Опыт показывает, что на полоске ткани миокарда фибрилляция может быть длительной, если размеры самой полоски достаточно велики, т. е. имеется некоторая «критическая масса» для фибрилляции. Очевидно, что число источников, обеспечивающее фибрилляцию, является аналогом критической массы.

Основной вывод, полученный Кринским, состоит в том, что безразмерный параметр τ' является важной характеристикой возбудимой среды, определяющей режим фибрилляции и время его существования.

Применительно к сердечной мышце в целом необходимо найти аналог величины τ , выражающей длительность возбужденного состояния, который можно измерить электрофизиологическими методами. В качестве такой величины вводится время возникновения ответа на подаваемый импульс, т. е. латентный период θ . Известно, что чем меньше амплитуда импульса, подаваемого на одиночную клетку, тем позже появляется ответ. При возбуждении двумя фиксированными стимулами θ зависит от времени T , прошедшего после последнего возбуждения клетки к моменту прихода стимула (фаза клетки). Зависимость θ от амплитуды раздражения показана на рис. 8.43, а, зависимость от фазы клетки T — на рис. 8.43, б. Существует максимальная задержка θ_{\max} , т. е. ответ не появляется при подпороговых стимулах $A < A_{\min}$ и при $T < T_{\min}$. Если клетка возбуждается не стимулятором, а соседней клеткой, то при известном расстоянии между клетками график на рис. 8.43, б позволяет определить скорость распространения возбуждения. Функция $\theta(T)$ описывает распространение возбуждения в системе. Теоретический анализ показывает, что каждому значению θ отвечают два значения скорости распространения возбуждения. Большая скорость характеризует устойчивый процесс «горения», меньшая — неустойчивое «тление», не наблюдаемое при периодическом следовании импульсов в стационарном режиме. При увеличении частоты следования импульсов меньшая скорость возрастает, а большая уменьшается. При дальнейшем повышении частоты

обе скорости совпадают, режим становится нестационарным и происходит периодическое выпадение импульсов.

Возникновение ревербераторов облегчается при увеличении параметра θ_{\max}/τ_R . Если этот параметр больше $1/2$, возможно возникновение источников эха.

Таким образом, величина θ/τ_R (τ_R — период рефрактерности) определяет уязвимость сердечной мышцы (см. стр. 456). Применяемые в медицине антиаритмические вещества, дефибрилляторы, влияют именно на этот параметр. Важный для практики

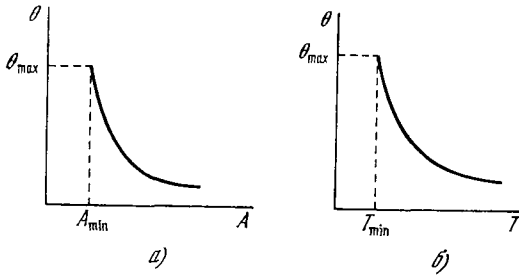


Рис. 8.43. Зависимость латентного периода от амплитуды раздражения (а) и его зависимость от времени, прошедшего после возбуждения (б).

результат теоретического исследования состоит в том, что найдены физические критерии антиаритмогенных воздействий, которые могут изучаться на тканевых моделях путем определения изменений θ/τ_R . На тех же основаниях исследуются факторы, вызывающие фибрилляцию. Действительно, удалось показать экспериментально, что вещества, уменьшающие θ/τ_R , обладают антиаритмическими действиями, а вещества, увеличивающие это отношение, напротив, способствуют возникновению сердечных аритмий, в соответствии с тем, что в моделях возбудимых сред уменьшение θ/τ_R затрудняет возникновение источников волн — эха и ревербераторов.

Более детальное количественное рассмотрение исходит из математической модели передачи возбуждения по системе электрически связанных клеток. Прежде всего нужно установить, какими свойствами клеточных мембран определяется величина θ_{\max} .

Поведение одиночной возбудимой клетки можно описать системой уравнений

$$\left. \begin{aligned} \varepsilon \dot{\varphi} &= f(\varphi, I) + I_{\text{вн}}(t), \\ \dot{I} &= g(\varphi, I). \end{aligned} \right\} \quad (8.115)$$

Здесь ε — малый параметр, φ — мембранный потенциал, I — ионный ток, $I_{\text{вн}}$ — внешний импульс тока. Функции f и g таковы,

что фазовый портрет системы при $I_{вн} = 0$ характерен для возбудимой мембраны. Изоклина $I_{вн} = 0$ имеет N -образную форму, с единственной особой точкой O , под действием деполяризующего тока изоклина, отвечающая $\varphi = 0$, смещается вверх.

Поведение двух связанных клеток описывается уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \epsilon \dot{\varphi}_1 &= f(\varphi_1, I_1) + a(\varphi_1 - \varphi_2), \\ \dot{I}_1 &= g(\varphi_1, I_1), \\ \epsilon \dot{\varphi}_2 &= f(\varphi_2, I_2) + a(\varphi_2 - \varphi_1), \\ \dot{I}_2 &= g(\varphi_2, I_2). \end{aligned} \right\} \quad (8.116)$$

Член $a(\varphi_1 - \varphi_2)$ представляет ток $I_{вн}$, текущий через клетку 2 от клетки 1.

Если в момент $t = 0$ клетка 1 находится в состоянии, соответствующем появлению потенциала действия (ПД), то ток, текущий из клетки 1 в клетку 2, может вызвать в ней ПД. Начальное состояние клетки 2 определяется следующим: возникает ли в ней ПД и через какое время после $t = 0$. Задержка θ есть время от $t = 0$ до возникновения ПД в клетке 2. В норме $\theta \ll \tau$ (τ — длительность ПД), так как в момент $t = 0$ клетка 2 находится в покое. Если режим аномален, т. е. импульсы подаются с высокой частотой, то в момент возбуждения клетки 1 клетка 2 может оказаться в рефрактерном состоянии. В результате либо блокируется передача импульса от клетки 1 к клетке 2, либо ответ возникает с большой задержкой $\theta_{\max} \sim \tau$. Второй случай особенно опасен для миокарда, так как при этом возможно возникновение экстрасистол. Большие задержки ответа могут происходить в клетках, в которых постоянный ток может вызвать автоколебания.

Таким образом, задача о задержках сводится к изучению параметров клеточной мембраны, определяющих ее поведение под действием деполяризующего тока.

Систему уравнений (8.116) можно переписать в виде

$$\left. \begin{aligned} \epsilon \dot{\varphi}_1 &= \tilde{f}(\varphi_1, I_1) - a\varphi_2, \\ \dot{I}_1 &= g(\varphi_1, I_1), \\ \epsilon \dot{\varphi}_2 &= \tilde{f}(\varphi_2, I_2) - a\varphi_1, \\ \dot{I}_2 &= g(\varphi_2, I_2), \end{aligned} \right\} \quad (8.117)$$

где

$$\tilde{f}(\varphi_i, I_i) = f(\varphi_i, I_i) + a\varphi_i, \quad i = 1, 2.$$

Внешний ток, поступающий в клетку 2, задается теперь следующим образом:

$$I_{вн}(t) = -a\varphi_1(t). \quad (8.118)$$

Пусть $\varphi_1(t)$ есть прямоугольный импульс; тогда

$$I_{\text{вн}}(t) = \begin{cases} I_A, & t \leq \tau, \\ 0, & t > \tau, \end{cases} \quad (8.119)$$

где $I_A = a\varphi_A$, φ_A — амплитуда ПД, τ — его длительность. Имеем систему

$$\left. \begin{aligned} \varepsilon \dot{\varphi} &= \tilde{f}(\varphi, I) + I_{\text{вн}}(t), \\ \dot{I} &= g(\varphi, I), \end{aligned} \right\} \quad (8.120)$$

и $I_{\text{вн}}(t)$ определяется выражением (8.119).

Фазовые траектории для клетки 2 показаны на рис. 8.44.

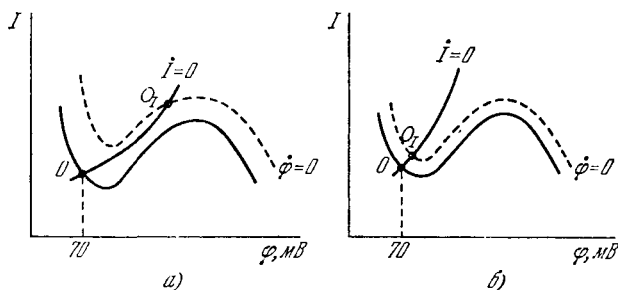


Рис. 8.44. Нуль-изоклины для клеток с большими (а) и малыми (б) задержками.

Пунктир — изоклина при $\varphi = 0$ при пропускании деполяризующего тока. а — особая точка O_I неустойчива, б — устойчива.

Если точка O_I устойчива и находится на левой ветви изоклины при $\dot{\varphi} = 0$, задержки отсутствуют. Для возникновения больших задержек существенно, чтобы под действием тока не оставалось особой точки на левой ветви изоклины при $\dot{\varphi} = 0$. Большие задержки будут наблюдаться и в тех случаях, когда под действием тока особая точка O_I смещается на правую ветвь и возникает устойчивая деполяризация. Для уменьшения задержки надо менять параметры мембраны так, чтобы особая точка O_I под действием тока оставалась на левой ветви. Можно, скажем, увеличить наклон изоклины при $\dot{\varphi} = 0$. Таким образом, теоретический анализ позволяет сформулировать требования к веществам — антиаритмикам.

Кринский проанализировал также режим эха в теоретической модели мембраны. Эхо возникает, если в мембране под действием внешнего тока небольшой величины возникают повторные ответы, причем длительность импульса составляет не менее половины периода автоколебаний. Теория Кринского осно-

вана на широком применении метода фазовых портретов, отвечающих модельным уравнениям, описывающим мембранные системы.

Теория фибрилляции сердечной мышцы, исходящая из общих положений физики нелинейных колебательных систем, является прекрасным примером биофизического исследования, доведенного до важных практических приложений. Задачи физиологии четко сформулированы здесь как физические проблемы. Это краткое изложение показывает, что именно физический подход к физиологии обеспечивает строгость и общность анализа и подлинное обоснование получаемых выводов.

§ 8.11. НЕЛИНЕЙНОСТЬ И РЕГУЛЯЦИЯ

Биологические макромолекулы, надмолекулярные структуры, органоиды клетки, клетки, организмы представляют собой сложные системы, т. е. совокупности элементов, взаимодействующих друг с другом. Изучение явлений жизни исходит из исследования этих взаимодействий. Вместе с тем физическое рассмотрение сложной системы не может не основываться на изучении составляющих ее элементов, взятых порознь, вплоть до молекулярного уровня структурно-функциональной организации. Сами взаимодействия определяются природой этих элементов. Соответственно мы имеем дело с ферментом и геном, с аксоном и миофибриллой, с митохондрией и хлоропластом. Эти элементы более сложных систем в свою очередь представляют собой сложные системы. Анализ явлений жизни на всех уровнях организации требует подходов, коррелирующих с представлениями общей теории систем [101].

Специфические взаимодействия в биологической системе приводят к регуляции ее поведения, к поддержанию постоянных значений жизненно важных параметров у системы, достигшей взрослого состояния, и к направленной самоорганизации развивающегося организма. В биологии давно фигурирует понятие *гомеостаза*, означающего стационарное состояние внутренней среды. Холдсви писал: «Активное поддержание нормальной и притом специфической структуры и есть то, что мы называем жизнью; понять сущность этого процесса — значит понять, что такое жизнь» [102]. Однако, как указал Уоддингтон [103], понятие гомеостаза недостаточно. Жизненные явления имеют динамический характер, и существенна не стабилизация состояния, а стабилизация потоков. Соответственно, Уоддингтон вводит понятие *гомеореза*, означающего наличие стационарного состояния или стационарной замкнутой траектории на фазовом портрете открытой системы. Гомеорез поддерживается регуляционными процессами, восстанавливающими фазовые траектории при от-

клонениях от них, вызванных изменениями условий. Гомеоретическая система — открытая система, взаимодействующая со своим окружением.

Пользуясь языком теории регулирования [104, 105], скажем, что открытая система характеризуется наличием входного и выходного сигналов. Эти понятия означают воздействие на систему и ее ответную реакцию. Закон поведения системы определяет зависимость выходной величины от входного воздействия, или сигнала. Задачи теории систем в их общей формулировке состоят в комбинировании двух известных факторов с целью нахождения третьего [104]. Эти три фактора — входная величина, закон поведения, выходная величина. Основные проблемы биофизики сводятся к нахождению структуры и законов поведения «черного ящика», т. е. биологической системы. «Черными ящиками» являются и фермент, и клетка, и организм. Инженер конструирует и строит «белый ящик» — машину, преобразующую входные сигналы в выходные в соответствии с поставленной целью. В биологии «ящики» созданы природой, а не инженером, и задача физика состоит в исследовании их внутреннего устройства и функциональности.

Регуляция, обеспечивающая поддержание гомеореза или оптимальной для жизни реакции на внешние воздействия [106], осуществляется в результате взаимодействия между входным и выходным сигналами, т. е. вследствие обратной связи. В простейшем случае регуляция поддерживает выходную величину на постоянном уровне — скажем, температуру лабораторного термостата. Простейшая регулируемая система содержит управляющее устройство, подвергающееся воздействию выходного сигнала, и объект управления, выдающий этот сигнал (см. стр. 374).

Взаимодействия в биологической системе осуществляются сильными — химическими и слабыми — межмолекулярными и другими силами (см. стр. 9). Как правило, химические реакции нелинейны. Нелинейны и слабые взаимодействия, имеющие кооперативный характер. Кооперативность всегда означает нелинейность ответа системы на входной сигнал.

Как показано выше, нелинейные системы ведут себя весьма специфически и разнообразно. Наличие множественных стационарных состояний — устойчивых и неустойчивых — определяет возможность переключения системы из одного режима в другой даже при слабых воздействиях. Таким образом, нелинейные системы обладают особыми регуляторными возможностями.

Математический аппарат теории управляющих систем есть аппарат дифференциальных уравнений. Связь между выходными $y(t)$ и входными $f(t)$ сигналами задается дифференциальным уравнением. Метод передаточных функций, основанный на применении преобразования Лапласа (см. [106]), позволяет полу-

чить простое феноменологическое описание систем управления. Однако линейное приближение в ряде случаев оказывается слишком грубым и не передает основные особенности системы. При исследовании нелинейных (в частности, кооперативных) систем особенно эффективен неоднократно примененный в этой главе метод фазовых портретов, позволяющий непосредственно анализировать проблемы устойчивости.

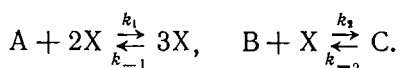
Рассмотрение организма как регулируемой системы, проводимое физико-математическими методами, представляет собой основу теоретической физиологии. В § 8.10 изложены представления, относящиеся к проблемам физиологии сердечной мышцы. Реверберационная теория фибрилляции рассматривает нарушение регуляторного режима, приводящее к десинхронизации автоколебаний в распределенной нелинейной системе. Теория позволяет установить параметры, от которых зависит поведение системы, и указать способы воздействия на эти параметры. В сущности, такой же характер имеет целый ряд фундаментальных физиологических проблем. Необходимо раскрыть физическую сущность регуляционных явлений, установить, от чего зависит регуляция, и, тем самым, найти причины патологических отклонений. Физика есть основа физиологии.

§ 8.12. НЕЛИНЕЙНЫЕ ДИНАМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ФАЗОВЫЕ ПЕРЕХОДЫ

Нелинейные системы характеризуются фазовыми портретами с различными особенностями, в частности, с устойчивыми и неустойчивыми особыми точками. Нелинейные системы способны переходить из одних состояний в другие под действием малых флуктуаций, нарастающих до макроскопического уровня.

Шлэгль впервые показал, что в ряде случаев поведение нелинейной системы оказывается подобным *фазовому переходу* первого или второго рода [117]. Возникновение новой структуры в распределенной нелинейной системе имеет такой характер. Неравновесные переходы, определяемые неустойчивостями, давно известны в гидродинамике (например, переход от ламинарного к турбулентному течению и эффект Бенара, см. [1, 115, 116]).

Рассмотрим вслед за Шлэглем [117, 118] автокаталитические реакции (ср. стр. 415)



Скорости реакций равны

$$\left. \begin{aligned} v_1 &= k_1 A X^2 - k_{-1} X^3, \\ v_2 &= k_2 B X - k_{-2} C. \end{aligned} \right\} \quad (8.121)$$

Положим для простоты $k_{-1} = 1$, $k_1 A = 3$ и обозначим $k_2 B = \beta$, $k_{-2} C = \gamma$. Скорость изменения концентрации X равна

$$\dot{X} = v_1 - v_2 = -X^3 + 3X^2 - \beta X + \gamma. \quad (8.122)$$

Стационарные состояния отвечают условию $\dot{X} = 0$ или

$$\gamma = X^3 - 3X^2 + \beta X. \quad (8.123)$$

Кривые $\gamma(X)$, представляющие эту зависимость, показаны на рис. 8.45. Уравнение $\dot{X} = 0$ имеет три корня. Эти корни совпадают при критическом значении $\beta = \beta_{кр}$:

$$\gamma = 1, \quad \beta_{кр} = 3, \quad X_{кр} = 1.$$

Три различных вещественных и положительных значения корней $X_2 > X_3 > X_1$ возможны лишь при $\beta < 3$. Решения X_1, X_2 устойчивы, неустойчивый корень X_3 находится на убывающей ветви $\gamma(X)$. Получилась картина, весьма сходная с диаграммой состояния газ — жидкость. При этом концентрация X играет роль

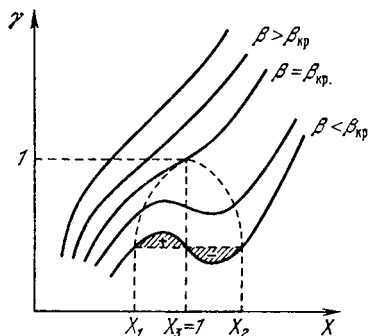


Рис. 8.45. Фазовый переход первого рода в автокаталитической химической реакции.

плотности V^{-1} , величина γ соответствует давлению p , а величина β — температуре RT . Имеем

$$\gamma = \frac{\beta}{V} - \frac{3}{V^2} + \frac{1}{V^3}. \quad (8.124)$$

Уравнение Ван-дер-Ваальса имеет вид

$$p = \frac{RT}{V-b} - \frac{a}{V^2}, \quad (8.125)$$

или в вириальной форме

$$p = \frac{RT}{V} + \frac{bRT - a}{V^2} + \frac{b^2RT}{V^3} + \dots \quad (8.126)$$

Полная аналогия получается для вириального уравнения состояния

$$p = RT/V - a_1/V^2 + a_2/V^3 \quad (8.127)$$

с вириальными коэффициентами a_1 и a_2 , независимыми от температуры.

Таким образом, в рассматриваемой автокаталитической системе при $\beta < \beta_{кр}$ происходит переход между двумя устойчи-

выми стационарными состояниями X_1 и X_2 , подобный фазовому переходу первого рода. Внешним условиям, задаваемым β и γ , отвечают два конкурирующих состояния X_1 и X_2 . Этот переход не связан с нарушением симметрии. Можно показать, что условие Максвелла — равенство площадей $+$ и $-$ на рис. 8.45 — соблюдается.

Если одновременно с химической реакцией происходит диффузия компонента X (система является распределенной), то при постоянных значениях A, B, C получаем

$$\dot{X} = \gamma(X) + D\nabla^2 X, \quad (8.128)$$

причем $\gamma(X)$ можно представить в виде

$$\gamma(X) = \frac{\partial}{\partial X} \Phi(X), \quad \Phi(X) = 1/4 X^4 - X^3 + 1/2 \beta X^2. \quad (8.129)$$

$\Phi(X)$ играет роль некоторого потенциала. Считая диффузию одномерной, перепишем уравнение (8.128) в виде

$$\dot{X} = \frac{\partial}{\partial X} \Phi(X) + D \frac{\partial^2 X}{\partial z^2}. \quad (8.130)$$

Стационарные состояния удовлетворяют уравнению

$$D \frac{\partial^2 X}{\partial z^2} = - \frac{\partial \Phi(X)}{\partial X}. \quad (8.131)$$

Это уравнение сходно с уравнением, описывающим движение массы в потенциальном поле, если z играет роль времени, а X — координаты. Имеется стационарное состояние, в котором сосуществуют две фазы X_1, X_2 , причем $X \rightarrow X_1$ при $z \rightarrow \infty$ и $X \rightarrow X_2$ при $z \rightarrow -\infty$. X_1 и X_2 соответствуют относительные максимумы $\Phi(X)$. В стационарном состоянии происходит перемещение «массы» D от одного максимума $\Phi(X)$, при котором эта масса покоилась, к другому максимуму, в котором она также достигает состояния покоя. Это возможно лишь в том случае, когда значения Φ в обеих точках одинаковы (рис. 8.46):

$$\Phi(X_1) = \Phi(X_2). \quad (8.132)$$

Мы получили условие сосуществования двух фаз, которое фиксирует значение γ . Как показывает Шлэгль, из условия (8.132) следует

$$\gamma = \beta - 2, \quad X_{1,2} = 1 \mp (3 - \beta)^{1/2}, \quad X_3 = 1. \quad (8.133)$$

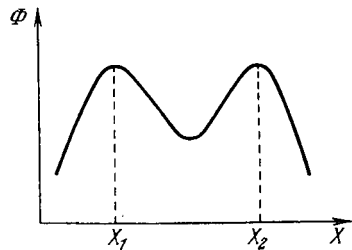
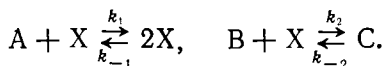


Рис. 8.46. Сосуществование фаз X_1 и X_2 .

Наряду с фазовыми переходами первого рода нелинейные автокаталитические процессы могут приводить к неравновесным переходам, подобным фазовым переходам второго рода. Рассмотрим реакции



Их скорости равны

$$v_1 = k_1 AX - k_{-1} X^2, \quad v_2 = k_2 BX - k_{-2} C. \quad (8.134)$$

Положим $k_1 A = 1$, $k_{-1} = 1$, $k_2 B = \beta$, $k_{-2} C = \gamma$. Находим

$$\dot{X} = v_1 - v_2 = -X^2 + (1 - \beta)X + \gamma \equiv f(X) + \gamma. \quad (8.135)$$

$\dot{X} > 0$ при малых X и $\dot{X} < 0$ при больших X . Следовательно, стационарное состояние, отвечающее $\dot{X} = 0$, устойчиво. В этом состоянии

$$\gamma = X^2 - (1 - \beta)X = -f(X). \quad (8.136)$$

Если $\gamma = 0$, то

$$X = \begin{cases} 1 - \beta & \text{при } \beta < 1, \\ 0 & \text{при } \beta \geq 1. \end{cases} \quad (8.137)$$

Такое поведение величины X характерно для фазового перехода второго рода, скажем, перехода из ферромагнитного в парамагнитное состояние. В этой аналогии X играет роль параметра упорядоченности (намагниченности), γ — напряженности магнитного поля, β — температуры. Значение $\beta = \beta_{\text{кр}} = 1$ отвечает точке Кюри. При $\beta < \beta_{\text{кр}}$ происходит нарушение симметрии. В критической точке малые флуктуации возрастают до макроскопических значений. Имеем, согласно (8.135),

$$\dot{X} = \gamma + f(X);$$

отсюда

$$\delta \dot{X} = \frac{\partial f}{\partial X} \delta X, \quad (8.138)$$

или

$$\delta \dot{X} = -(1/\tau) \delta X, \quad (8.139)$$

где $\tau^{-1} = 2X - (1 - \beta)$. При $\gamma \rightarrow 0$ $X \rightarrow 0$ и $\tau^{-1} \rightarrow |1 - \beta|$. Но отсюда следует, что в критической точке $\beta = \beta_{\text{кр}} = 1$, $\tau \rightarrow \infty$.

На рис. 8.47 показаны кривые зависимости X от β при различных значениях γ .

Эти аналогии, найденные Шлэглем, весьма поучительны. Поведение модельной химической системы, подобное фазовому пе-

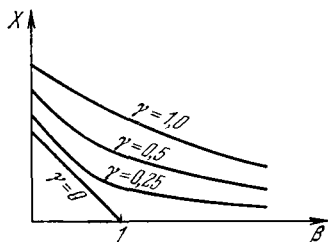


Рис. 8.47. Фазовый переход второго рода в автокаталитической химической реакции.

реходу, свидетельствует о ее кооперативных свойствах в истинном смысле этого слова, о переходах типа «все или ничего». Как мы видим, модели биологических систем, описывающие самоорганизацию, имеют именно такой характер. Это — *триггерные* системы, совершающие переходы в результате малых флуктуаций. Соответственно можно думать, что идея о неравновесных фазовых переходах как механизме биологических явлений является многообещающей. Уже получены некоторые интересные результаты. В работе [119] исследованы неравновесные фазовые переходы в системах ферментативных реакций при наличии субстратного ингибирования и диффузии. Показана возможность пространственного разделения фаз, соответствующих комплексам фермента с несколькими молекулами субстрата. Есть основания думать, что эти же представления окажутся весьма важными для понимания функционирования биологических регуляторных систем, в частности мембранных.

Как мы уже не раз подчеркивали, имеется далеко идущее сходство между химическими открытыми системами и системами экологическими — соответствие между моделями Лотка и Вольтерра (см. стр. 411). Посмотрим, каким образом аналогия с фазовыми переходами проявляется в моделях эволюционирующих популяций [120].

Рассмотрим менделевскую диаллельную популяцию диплоидных организмов с полным скрещиванием.

Аллель a отвечает дикому типу, b — мутантному. Можно определить коэффициенты приспособленности генотипов aa , ab , bb , равные соответственно ω_1 , ω_2 , ω_3 , как удельные скорости роста численности соответствующей популяции

$$\omega_i = \frac{1}{N_i} \frac{dN_i}{dt}. \quad (8.140)$$

Пусть частота прямых мутаций $a \rightarrow b$ на поколение равна μ , частота обратных мутаций $b \rightarrow a$ равна ν . Как показывает динамическая теория популяций (ср. [121, 122]), динамика частоты ρ появления гена a описывается уравнением

$$\frac{d\rho}{dt} = \rho(1-\rho) \frac{(\omega_1 - \omega_2)\rho + (\omega_2 - \omega_3)\rho}{\omega_1\rho^2 + 2\omega_2\rho(1-\rho) + \omega_3(1-\rho)^2} - \mu\rho + \nu(1-\rho). \quad (8.141)$$

Здесь время измеряется в числе поколений. При выводе уравнения (8.141) предполагалось, что $\mu, \nu \ll 1$; $\omega_1 - \omega_2, \omega_2 - \omega_3 \ll \omega_2$. В этом случае вид формулы не зависит от того, что чему предшествует, — мутация отбору или наоборот. Перепишем уравнение (8.141) в виде

$$\frac{d\rho}{dt} = R^{-1}(\rho)(\alpha_0 - \alpha_1\rho - \alpha_2\rho^2 - \alpha_3\rho^3), \quad (8.142)$$

где

$$R(\rho) = \omega_1 \rho^2 + 2\omega_2 \rho(1 - \rho) + \omega_3(1 - \rho)^2 > 0, \quad (8.143)$$

$$\begin{aligned} \alpha_0 &= \nu\omega_1, & \alpha_1 &= \mu\omega_1 - \kappa, & \alpha_2 &= \kappa(3q - 1)/q, \\ \alpha_3 &= \kappa(1 - 2q)/q, & \kappa &= \omega_2 - \omega_3. \end{aligned} \quad (8.144)$$

Величина q выражает степень доминирования аллели a в гетерозиготе ab , т. е. $0 < q = (\omega_2 - \omega_3)/(\omega_1 - \omega_3) < 1$. Выражения коэффициентов α_i (см. (8.144)) получаются при условиях $\beta \ll \omega_2$, $\mu, \nu \ll 1$, $\nu \ll \mu$.

В стационарном состоянии популяции $\rho = \text{const}$, и из (8.142) находим для стационарных значений ρ

$$\alpha_0 = f(\rho) = \alpha_1 \rho + \alpha_2 \rho^2 + \alpha_3 \rho^3. \quad (8.144a)$$

Изменению условий существования популяции отвечает изменение параметров β , μ , ν , определяющих, согласно (8.142), темп эволюции и, согласно (8.144a), ее конечный результат. Диаграмма стационарных состояний — зависимость f от ρ (8.144a) — совершенно подобна зависимости (8.123), представленной рис. 8.45. Эти «ван-дер-ваальсовы» кривые получаются при различных значениях κ при условиях $\kappa < \mu\omega_1$ ($\alpha_1 > 0$) и $q < 1/3$ ($\alpha_2 < 0$, $\alpha_3 > 0$). При этом кубическое уравнение (8.144a) имеет три вещественных положительных корня, совпадающих в критической точке, в которой

$$\rho_{\text{кр}} = \frac{1 - 3q}{3(1 - 2q)} \quad (8.145)$$

и одновременно

$$\left(\frac{\nu}{\mu}\right)_{\text{кр}} = \frac{(1 - 3q)^3}{9(1 - 2q)(1 - 3q + 3q^2)}; \quad \left(\frac{\mu}{\kappa}\right)_{\text{кр}} = \frac{1 - 3q + 3q^2}{3\omega_1 q(1 - 2q)}. \quad (8.146)$$

При $\kappa > \kappa_{\text{кр}}$ существуют три стационарных значения $\rho_1 < \rho_3 < \rho_2$, причем ρ_3 — неустойчиво, а ρ_1, ρ_2 — устойчивы. Подобно реальному газу популяция способна пребывать в двух устойчивых стационарных состояниях, переход из одного состояния в другое аналогичен фазовому переходу первого рода. Переход вызывается достаточно большими флуктуациями численности и состава популяции.

Допустим, что популяция непрерывно расселена в своем ареале. Динамика популяции описывается уравнением, включающим миграцию особей (диффузию)

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = \psi(\rho) + D\nabla^2 \rho, \quad (8.147)$$

где $\psi(\rho)$ — правая часть уравнения (8.142), а коэффициент диффузии D выражается через среднее расстояние \bar{r} , на которое мигрируют особи за время жизни τ , $D = \bar{r}^2/\tau$. Диффузия не на-

рушает устойчивости пространственно однородных стационарных состояний, представляемых решениями для нераспределенной системы (8.144). Однако при этом возможно появление устойчивого пространственно неоднородного распределения $\rho(r)$. Могут возникать две пространственно разделенные фазы, каждая из которых отвечает устойчивому состоянию. Согласно (8.147) условие их устойчивого сосуществования находится путем минимизации функционала

$$\Psi = \int \mathcal{L} dr, \quad (8.148)$$

где лагранжиан $\mathcal{L}(\rho, \nabla\rho)$ равен

$$\mathcal{L} = 1/2 D(\nabla\rho)^2 - \int \psi(\rho) d\rho. \quad (8.149)$$

Минимизация (8.148) при постоянстве полного объема системы дает

$$\psi(\rho_1) = \psi(\rho_2) = 0, \quad \int_{\rho_1}^{\rho_2} \psi(\rho) d\rho = 0. \quad (8.150)$$

Первое равенство (8.150) есть условие стационарности решений ρ_1 и ρ_2 , второе аналогично условию Максвелла для газа Ван-дер-Ваальса.

Аналогичные соотношения получены ранее Шлэглем для автотокаталитической реакции (см. стр. 466), дополненной диффузией [117].

Пространственное разделение популяции есть первый этап на аллопатрическом пути видообразования. Дальнейшее существование аллопатрической формы приводит к накоплению в ней новых признаков и к биологической изоляции. Географическое разделение популяции оказывается подобным пространственному разделению при равновесном фазовом переходе первого ряда.

Структура популяции, эволюционирующей согласно уравнению (8.141), может претерпевать и переходы, подобные фазовым переходам второго рода, если при некоторых бифуркационных значениях параметров нарушается устойчивость стационарных состояний по отношению к малым флуктуациям. Такой переход происходит при обращении α_1 в нуль, т.е. при $\kappa = \mu\omega_1$. Стационарная зависимость $\rho(\alpha_1)$ имеет излом в точке $\alpha_0 = 0$, характерный для фазового перехода второго рода — кривые $\rho(\alpha_1)$, т.е. $\rho(-\kappa)$, совершенно подобны изображенным на рис. 8.47. Величины ρ , α_0 и $\alpha_1 = \mu\omega_1 - \kappa$ аналогичны, соответственно, намагниченности, напряженности магнитного поля и отклонению от точки Кюри $(T - T_K)/T_K$ для перехода ферромагнетик — парамагнетик. Можно показать, что вблизи точки перехода резко

возрастает время релаксации флуктуаций в устойчивом стационарном состоянии и восприимчивость системы к изменению параметров. В распределенной системе, описываемой (8.147), при дополнительном включении в нее случайных внешних воздействий объемные флуктуации и радиус корреляции флуктуаций возрастают с приближением к точке перехода. Переход к новой организации через точку потери устойчивости происходит флуктуационно — все большие объемы захватываются коррелированными флуктуациями, являющимися результатом малых внешних воздействий. Популяция приобретает при этом лабильность, которая может привести к быстрой эволюции, например, к выходу в новую адаптационную зону (ароморфоз). Такое «вскрытие эволюционных резервов» происходит при низкой интенсивности избирательной элиминации. В эволюции этапы непрерывного развития в устойчивом режиме чередуются с переходными этапами, подобными фазовым переходам.

Таким образом, биологическое развитие оказывается связанным с нелинейными явлениями типа фазовых переходов. Дальнейшее построение соответствующей теории представляется многообещающим. Проблемы развития рассматриваются в следующей, заключительной главе книги.

§ 9.1. ЖИВАЯ ПРИРОДА

Прежде чем попытаться дать физическую трактовку наиболее общих проблем биологии — проблем развития — полезно отойти в сторону и задуматься о живой природе в целом.

Войдем в лес. Мы окружены растительными и животными организмами, существующими в чисто биологической сфере, конечно, если человеческая деятельность не оказала еще уничтожающего влияния на биогеоценоз, — в этот лес не вторглись асфальтированные дороги, вырубок нет и заводской дым не отравил атмосферу.

Сначала перед нами встает целостная статическая картина. Наше сознание фиксирует разнообразие оттенков зеленого цвета листвы, заполняющего отдельные участки поля зрения. Белые стволы берез, серо-зеленоватые осин, черные дубов. Мы слышим пение птиц, звон кузнечников, кваканье лягушек. Мы осознаем общий ландшафт, географ относит его к зоне смешанных лесов, а живописец воплощает на полотне, смотря на которое, мы испытываем эстетические эмоции и ассоциативно связываем произведение искусства с виденным куском живой природы. Далее, мы перестаем «видеть лес за деревьями». Мы регистрируем не слишком большое число видов деревьев (если лес подмосковный, а не дальневосточный), но отмечаем разнообразие их индивидуальных форм — эта береза изогнута, а та раздвоена. Под ногами пластинчатые грибы-сыроежки. Они разноцветные и, хотя мы называем их одинаково, принадлежат к разным видам, коих несколько десятков. Вот бордово-красная *Russula vesca*, а вот желтая *Russula flava* (см. [1]). Мы считаем, сколько раз прокуковала кукушка (*Cuculus canorus*), следим за полетом красивой бабочки-траурницы (*Nymphalis antiopa*), если, повезет, любимемся белкой (*Sciurus vulgaris*) или зайцем-русаком (*Lepus europaeus*). Вооружившись лупой, а затем микроскопом, мы находим в лужицах инфузории и другие микроорганизмы. Лес предстает перед нами как совокупность различных живых существ во всем их видовом и индивидуальном многообразии.

Научное понимание увиденного требует знания биологии. Прежде всего нужно классифицировать виды. Мы узнаем, что

упомянутый заяц-русак принадлежит к типу позвоночных (*Vertebrata*), к классу млекопитающих (*Mammalia*), к подклассу настоящих зверей (*Theria*), инфраклассу высших зверей (*Eutheria*), отряду зайцеобразных (*Lagomorpha*), а не грызунов, к семейству зайцы (*Leporidae*), к группе настоящих зайцев, к роду *Lepus* (см. [2]). Далее изучается поведение и физиология живых организмов, определяются условия и способы их существования. В результате громадной работы таких натуралистов, как, например, Брэм или Фабр, жизнь животных перестала быть закрытой книгой. Но и классификация, и жизнеописание животных и растений далеко не закончены, многих из них мы не знаем и еще меньше знаем о том, как они живут.

Наука ведет нас дальше. Мы узнаем, почему эти виды животных и растений сосуществуют, взаимодействуя друг с другом, именно в таком лесу, представляющем собой биогеоценоз. Учение о биогеоценозах, как целостных системах, развито Сукачевым (см. [3]). Мы вступаем в область экологии и снова видим лес как целое, но уже вооруженные знаниями.

Наблюдения над возникновением и развитием организма и специально поставленные опыты позволяют зафиксировать на фотоснимках и описать онтогенез — индивидуальное развитие от оплодотворенной яйцеклетки — зиготы до многоклеточного животного и растения. Именно здесь возникают важнейшие вопросы естествознания — почему и как происходит развитие? Каким образом план развития установлен генетически, чем и как контролируется реализация этого плана?

На основе классификации видов (Линней), на основе изучения живой природы в целом как существующей ныне, так и в ее прошлом, сохранившемся в окаменелых останках, биология приходит к пониманию происхождения видов, филогенеза, биологической эволюции. Общее представление об эволюционном развитии возникло задолго до Дарвина — оно фигурировало уже у Бэкона, а затем у Бюффона, Сент-Илера, Ламарка. Но даже Ламарк в своей «Философии зоологии» (см. [4]), постулировав эволюцию как результат направленной, адекватной изменчивости организмов, не искал ее причин и не дал объяснения неизбежности эволюционного процесса. Такое объяснение предложил Дарвин, впервые построивший научную теорию эволюции, движущей силой которой является борьба за существование, естественный отбор.

Верна ли эта материалистическая теория, сыгравшая определяющую роль во всем развитии современной биологии? Не означает ли она сплошного перебора практически безграничного числа вариантов живых существ, проводимого методом проб и ошибок? И, если так, то хватило ли времени с момента возник-

новения планеты Земля до современного геологического периода, чтобы создать существующее многообразие видов?

Телеологические представления об эволюции, представления о высшем разуме, план которого реализован в живой природе, не могут быть просто отброшены, они требуют научного опровержения. Но что означает здесь слово «научного»? Независимо от ответов на только что поставленные вопросы, теория Дарвина — научная теория, ибо существование естественного отбора как двигателя эволюции аргументируется несомненными научными фактами. В свою очередь, теория Дарвина дает полное объяснение множеству фактов — таких, например, как влияние географической изоляции на видообразование, как зависимость темпов эволюции от географических и исторических условий и т. д. (см. [5, 6]). Отличие теории Дарвина от физических и химических теорий состоит в том, что ее предсказания обращены пока не в будущее, а в современный мир в его настоящем и прошлом. Экспериментальную реализацию естественного отбора и создания таким путем новых видов пока провести не удастся. С другой стороны, громадные достижения, селекции, искусственного отбора, полностью согласуются с теорией Дарвина.

Причем же здесь физика? И непосредственное восприятие живой природы, возникающее при посещении леса, и ее понимание, основанное на научной биологии, повелительно ведут нас прочь от неживой природы с ее сравнительно (только сравнительно) простыми закономерностями. И многообразие видов и особей, и их экологические взаимосвязи, и филогенез и онтогенез далеки от явлений, которыми ранее занималось точное естествознание — физика и химия.

Вместе с тем наука преодолевает преграду между физикой и биологией. Путь преодоления этой преграды глубинный — чтобы вступить на него, пришлось дойти до молекулярного уровня организации и функциональности живого организма. Возникла неразрывно связанная с физикой и химией молекулярная биология, давшая ясное и четкое научное объяснение наследственности и изменчивости. Расшифровка генетического кода имеет фундаментальное значение для биологии в целом.

Но решение этих задач не дает еще ответов на поставленные здесь вопросы об истории жизни, о ее развитии. А ответить на них необходимо. Во всей книге, равно как и в первом томе этой работы [7], аргументируется тезис о возможности физического, физико-химического объяснения основных явлений живой природы. В настоящей главе мы обращаемся к такому объяснению эволюционного и индивидуального развития. Эта область биофизики находится еще во младенчестве. Ее прогресс должен стать определяющим как для решения конкретных научных за-

дач, так и в общефилософском плане. Либо будет найдено научное истолкование онтогенеза и филогенеза на основе общих свойств вещества и поля, либо мы должны вернуться к витализму, к представлениям о «жизненной силе», о «высшем разуме», непознаваемом средствами точного и единого естествознания.

§ 9.2. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЖИЗНИ

Неотъемлемой особенностью биологических объектов — клеток и организмов — является их историчность, т. е. возникновение и развитие изучаемой системы в конечном интервале времени. Развитие биологической системы всегда необратимо, и в этом смысле она отличается от систем, обычно изучаемых физикой и химией. Мысль об историчности живых объектов высказана Эйнштейном, она цитируется Берналом: «Явления, изучаемые биологией, образуют непрерывную цепь событий, и каждое последующее звено нельзя объяснить, не принимая в расчет предыдущие. Единство жизни вытекает из всей ее истории и, следовательно, является отражением ее происхождения» ([8], стр. 15).

Сказанное не означает отсутствия исторических проблем в физике неживой природы. С такими проблемами встречаются прежде всего астрономия и геология. При изучении Солнечной системы естественно возникает вопрос о ее происхождении и эволюции к современному состоянию, характеризующемуся стационарными движениями планет по орбитам. Астрофизика изучает эволюцию звезд и эволюцию Вселенной в целом. Встречаясь с куском базальта, мы задаемся вопросом о его геологическом происхождении. Геология, а теперь и селенология, — исторические науки. Масштабы времени, в которых развивались Земля как физическое тело, и жизнь на Земле — совпадают. По современным оценкам Земля существует примерно $4,5 \cdot 10^9$ лет [9], возраст древнейших микроископаемых порядка $(3 - 4) \cdot 10^9$ лет [10, 11]. Однако в масштабе времени, отвечающем творческой деятельности ученого, мы наблюдаем историческую эволюцию в индивидуальном развитии организмов, но не эволюцию видов или геологическую эволюцию. Физика неживой природы имеет дело с практически вечными явлениями и объектами — с атомами и молекулами, с электромагнитным полем и полем тяготения. Напротив, живой организм находится в состоянии непрерывного исторического развития в доступном масштабе времени — сейчас личинка морского ежа уже не такая, как полчаса назад, — и жизнь вне истории ее развития непостижима.

Идеи теории эволюции Дарвина имеют всеобъемлющее значение, они «применимы к любым эволюционирующим системам

от элементарных частиц до галактик». Молчанов приводит пример «вымирания» тройных звезд со сходными тремя компонентами и «выживания» систем с двумя близкими и одной удаленной звездой [12].

Исследование жизни в ее развитии начинается с проблемы происхождения жизни. Согласно античным и средневековым представлениям жизнь возникает из неживой природы путем самозарождения. У Шекспира Лепид говорит Антонию [13]:

«Твоя египетская змея рождается из ила под действием солнца; таков же и твой крокодил».

И далее:

«Лепид. Что за штука твой крокодил?

Антоний. Он похож, сэр, на самого себя и широк в свою ширину; роста он такого, как ему положено, и он движется посредством собственных членов; он живет тем, чем питается; и если его составные части распадаются, то он превращается в нечто другое.

Лепид. Какого он цвета?

Антоний. Также своего собственного.

Лепид. Это странная змея.

Антоний. Это так; и слезы у него мокрые».

Антоний издевается над Лепидом, а Шекспир — над той самой биологией, которая исповедовала идею о самозарождении, чуждую какого-либо историзма. Представления о самозарождении жизни были окончательно опровергнуты лишь в XIX веке прямыми опытами Пастера.

Дарвин отчетливо понимал, что должно искать эволюционное толкование происхождения жизни. Однако он считал решение этой задачи преждевременным. Дарвин писал Гукеру (цит. по [8], стр. 45):

«Пройдет еще немало времени, прежде чем мы сможем сами увидеть, как слизь или протоплазма, или что-либо в этом роде породит живое существо. Я, однако, всегда сожалел, что пошел на поводу у общества и использовал заимствованный из Пятикнижия термин «сотворение», в результате которого путем каких-то нам совершенно неизвестных процессов «все и появилось». Рассуждать в настоящее время о возникновении жизни просто нелепо. С таким же успехом можно говорить о возникновении материи» (1863).

«Часто говорят, что условия для возникновения живых организмов существуют и теперь так же, как и всегда. Но даже если (о, какое оно большое, это «если»!) мы смогли бы себе представить, что в некоем маленьком пруду со всяческими аммонийными и фосфорными солями, с достатком света, тепла, электричества и т. п. возникло белковое соединение, готовое к дальней-

шим более сложным химическим превращениям, то сегодня это вещество было бы немедленно съедено или адсорбировано, чего не случилось бы, если бы живых существ еще не было» (1871).

Эти слова полностью сохраняют свое значение и сегодня.

Гипотезе самозарождения противостояла идея о вечном существовании жизни, концепция панспермии, также лишенная познавательной силы и исторического содержания.

Современные представления о происхождении жизни тесно связаны с результатами изучения геологической эволюции. Опарин впервые развил теорию абиогенного происхождения жизни в результате эволюции первичной атмосферы Земли, которая привела к образованию органических соединений. Опарин предположил, что возникновению жизни предшествовала химическая эволюция [14, 15]. Позднее сходные взгляды были высказаны Холдейном [16].

Примитивная атмосфера Земли была восстановительной. Водород является главным компонентом Солнца. Состав Солнца: Н 87%, Не 12,9%, О 0,025%, N 0,02%, С 0,01% [17].

Приведем для сравнения состав атмосферы Юпитера: Н₂ 60%, Не 36%, СН₄ ≈ 1%, NH₃ 0,05%. Древнейшие метеориты содержат металлы в восстановленной форме. По оценке Миллера и Юри [18] парциальное давление водорода в примитивной атмосфере Земли составляло $1,5 \cdot 10^{-3}$ атм. Соответствующее давление метана СН₄, возникающего вследствие восстановления углерода согласно реакции $C + 2H_2 \rightarrow CH_4$, составляло 4×10^{-3} атм. Другими компонентами атмосферы были аммиак и вода. Эти вещества, а также формальдегид обнаружены в межзвездном пространстве [17, 19, 20].

Современная атмосфера Земли содержит большое количество кислорода. Этого нет ни на какой другой планете. Кислород мог возникнуть двумя путями: в результате фотодиссоциации воды под действием коротковолнового ультрафиолетового излучения Солнца и в результате фотосинтеза. Принято считать, что реализовался второй путь (см., впрочем, стр. 480). Следовательно, фотосинтезирующие растения, автотрофы, должны были возникнуть на Земле в тот период, когда атмосфера была восстановительной. Более того, если бы клетки не достигли высоко организованного и защищенного состояния, свободный кислород атмосферы не дал бы возможности развития жизни, окисляя ее химических предшественников. И сейчас существуют анаэробные бактерии и анаэробный гликолиз, что свидетельствует о возникновении жизни в восстановительной атмосфере. Таким образом, само существование жизни указывает на биогенное возникновение современной окислительной атмосферы. Геология и биология неразделимы.

Предположительно в первичной атмосфере могли возникать органические соединения при наличии источников энергии. Такими источниками были ультрафиолетовое излучение Солнца, радиоактивное излучение Земли — прежде всего электронное излучение K^{40} , а также электрические разряды в атмосфере и тепло вулканов и горячих источников [20]. Оценки количества энергии, сообщаемого Земле всеми этими источниками, приведены в табл. 9.1 [10].

Таблица 9.1

Возможные источники энергии для первичной химической эволюции

| Источник | Среднее количество энергии на всю поверхность Земли, 10^{30} кал/год |
|---|--|
| Распад K^{40} (в настоящее время) | 0,3 |
| Распад K^{40} ($2,6 \cdot 10^9$ лет назад) | 1,2 |
| Ультрафиолетовое излучение с $\lambda < 150$ нм | 0,08 |
| Ультрафиолетовое излучение с $\lambda < 200$ нм | 4,5 |
| Вулканизм (лава при 1000°C) | 0,04 |
| Удары метеоритов | 0,05 (вероятно) |
| Молнии | 0,05 |

Возможность синтеза органических соединений в условиях, сходных с условиями на Земле, обладавшей восстановительной атмосферой, доказана многочисленными и разнообразными опытами. Эти опыты описаны в [8, 10, 15, 17], а также в [21] и [22]. Остановимся на некоторых из них.

Кальвин и его сотрудники моделировали действие радиоактивности земной коры излучением C^{14} и получили муравьиную кислоту и формальдегид в не вполне восстановительных условиях (система содержала CO_2) ([23], см. также [10]). Миллер пропускал тихие электрические разряды через смесь метана, аммиака, водорода и паров воды. При этом образовывалась смесь ряда рацемических аминокислот и карбоксильных кислот, альдегидов и синильной кислоты HCN ([24], см. также [21]). Теренин получил ряд органических веществ при облучении смеси CH_4 , NH_3 , H_2 , H_2O коротковолновым ультрафиолетовым светом [25]. Аминокислоты образуются также в термическом синтезе — при пропускании такой смеси через горячую трубку при температуре порядка 1000°C ([26], см. также [10]). Оро провел успешные опыты по синтезу аминокислот при бомбардировке смеси меченого C^{14} метана, NH_3 и H_2O в твердом состоянии электронами с энергией 5 МэВ, а также провел термический синтез аминокислот из смеси газов [27]. Поннамперума и его сотрудники показали, что при бомбардировке электронами возникает и аденин [17, 28]. Аденин и гуанин образуются также из HCN, появляющегося в результате разряда в восстановительной смеси, при

ультрафиолетовом облучении ([17, 29], см. также [27]). Из формальдегида образуются сахара, в том числе рибоза и дезоксирибоза. Нуклеозиддифосфаты синтезируются под действием ультрафиолетового облучения разбавленного раствора аденина, рибозы и фосфорной кислоты [30]. В целом можно считать доказанным, что простые органические соединения, являющиеся мономерами информационных макромолекул белков и нуклеиновых кислот, могли синтезироваться в первичной атмосфере Земли. Источником пуринов и пиримидинов, а также порфиринов является синильная кислота HCN . Механизмы соответствующих превращений хорошо изучены (см. [10]).

Вместе с тем установлено присутствие аминокислот и других органических веществ в древнейших скальных и осадочных породах, в метеоритах. Исследование лунных пород, доставленных экспедициями Аполло XI и Аполло XII, не обнаружило, однако, присутствия в этих породах органических соединений. Углерод на Луне существует в форме карбидов [17].

Мухин высказал предположение, что источник энергии, необходимой для синтеза мономерных органических соединений, — подводные вулканы. Согласно данным, приведенным в табл. 9.1, вулканизм дает лишь около 1% возможной суммарной энергии, используемой для первичной химической эволюции, если рассчитывать ее на всю поверхность Земли. Однако, если предположить, что возникновение первичной органики определяется локальными событиями, то роль вулканизма может оказаться весьма значительной. Мухин поставил опыты, моделирующие действие вулкана, и продемонстрировал образование мономерных веществ в соответствующей ситуации [80].

Имеются серьезные работы, доказывающие абиогенное происхождение значительной части кислорода земной атмосферы [81, 82]. Кислород, согласно расчетам, проведенным в этих работах, возникал в результате фотодиссоциации воды. Если это так, то ряд приведенных положений требует пересмотра и гипотеза Мухина становится более весомой.

Так или иначе, законно принять, что первая стадия добиологической химической эволюции состояла в синтезе мономерных органических соединений в условиях, далеких от равновесия. Следующая стадия должна была состоять в полимеризации и поликонденсации мономеров, в образовании полипептидных и полинуклеотидных цепей. Здесь возникает несколько серьезных проблем.

Во-первых, устойчивая полимеризация или поликонденсация также не осуществимы вблизи равновесия. Как указывает Кальвин [10], в системе должен работать некий неравновесный механизм молекулярного отбора, обеспечивающий «выживание» как сложных мономеров, так и полимеров. Таким механизмом может

быть автокатализ (см. гл. 8). Иными словами, химическая система должна обладать свойством самовоспроизведения.

Во-вторых, не любые макромолекулы могут быть предшественниками живых систем, но лишь те из них, которые обладают надлежащими информационными свойствами. Следовательно, уже на этом этапе добиологического развития должны существовать селекционные механизмы. Наличие таких механизмов естественного отбора противоречит, на первый взгляд, статистическим свойствам системы — случайному образованию громадного многообразия самовоспроизводящихся цепей со случайными последовательностями мономерных звеньев (см. [31, 32]). В § 9.3 рассказано, как это противоречие преодолевается. Так или иначе, очевидно, что дарвиновская эволюция должна возникать уже на добиологической стадии развития. Одна из важных проблем этой эволюции — отбор стереоизомеров (см. [7], § 2.6). Можно построить модели такого отбора на химической стадии (см. [10, 33—37]), однако пока нельзя с уверенностью утверждать, что он происходил до возникновения живых систем (см. стр. 511).

В работах Фокса экспериментально исследовалась самоорганизация в полипептидных цепях, образуемых при термической поликонденсации эквимольярных смесей 18 канонических α -аминокислот, — кроме аспарагина и глутамина [38, 39]. Вследствие различия в химических свойствах аминокислот образуются цепи неравномерного состава — относительное содержание разных остатков в цепи отлично от их содержания (эквимольярного) в реакционной смеси. Эти синтетические полипептиды, названные Фоксом *протеиноидами*, распадаются на небольшое число семейств разного состава. Различия во взаимодействиях аминокислот приводят, таким образом, к некоторой внутренней упорядоченности цепи. Протеиноиды оказываются обладающими каталитической активностью, сходной с ферментативной; с их помощью удалось проводить реакции гидролиза, декарбоксилирования, аминирования и дезаминирования. Фокс считает, что протеиноиды были первыми ферментами. В других случаях обнаруживается гормоноподобное действие протеиноидов (стимуляция меланоцитов [40]), а также фотосенсибилизированное ускорение реакций. В последнем случае речь идет об образовании окрашенных веществ неизвестной структуры. Пигментированный протеиноид при освещении видимым светом сильно ускоряет реакцию декарбоксилирования. Фокс усматривает в этих явлениях примитивные фотохимические механизмы использования видимого света.

Протеиноиды способны образовывать микросферы при надлежащем подборе среды. Возникает *компартаментализация* протеиноидной системы, отделенной от раствора мембраноподобной

оболочкой. Фокс считает такие микросферы добиологическими моделями клетки.

Модельная теория происхождения жизни, предложенная Опариным [14], предполагает, что первичные полимеры, подобные биологическим, компарментализуются, образуя *коацерваты*. Возникновение коацерватных капель — явление, известное в физической химии коллоидных систем. Сущность его состоит в расслоении раствора и растворенного вещества. По мысли Опарина, коацерваты являются предшественниками клеток. Очевидно, что наблюдавшиеся Фоксом протеиноидные микросферы подобны коацерватам Опарина. Так или иначе, представление о некоей стадии надмолекулярного структурирования, о компарментализации, фигурирует во всех современных теориях происхождения жизни (см. § 9.4).

Жизнь в ее современной форме определяется взаимодействием белков и нуклеиновых кислот, без участия которых биосинтез белка невозможен. Основой жизни, основой эволюционного и индивидуального развития является генетический код. Фокс считает исходными веществами «пробелки» — протеиноиды. Возникновение кодового механизма связывается с появлением у протеиноидов способности катализировать поликонденсацию нуклеотидов с появлением полимеразной функции.

Суммируем изложенное. В современных представлениях о происхождении жизни фигурируют следующие стадии добиологической эволюции:

1. Образование в условиях первичной атмосферы Земли мономеров белков и нуклеиновых кислот. Такой органический синтез происходит в открытой системе, далекой от равновесия, и поддерживается притоком энергии. Наличие этой первой стадии можно считать хорошо аргументированным.

2. Полимеризация (поликонденсация) мономеров в протеиноидные (Фокс) или полинуклеотидные цепи, также происходящая в условиях, далеких от равновесия, с участием катализаторов, которыми служат либо минеральные системы (скажем, частицы глины, монтмориллонита), либо сами пробиополимеры (автокатализ).

Наличие стадии полимеризации следует из простых логических соображений — живые системы построены из макромолекул и когда-то они должны были образоваться. Однако реальные знания о характере этой стадии пока отсутствуют. Интересные экспериментальные данные, полученные Фоксом, еще не доказывают, что химическая эволюция шла путем синтеза протеиноидов.

3. Компарментализация — образование замкнутых надмолекулярных систем в растворе, будь то коацерваты (Опарин) или протеиноидные микросферы (Фокс).

Эволюционные преимущества компартиментализации очевидны, они обсуждаются в последующих параграфах. Однако пока нет никаких доказательств реализации этих процессов в добиологической эволюции.

4. Каталитическое взаимодействие полинуклеотидных и полипептидных систем. Возникновение генетического кода и переход к биологической эволюции.

Представления об этой стадии имеют пока спекулятивный характер.

Очевидно, что стадии 2 и 3 могли бы в принципе протекать одновременно или чередоваться.

Эти качественные представления выдвигают ряд важных физических проблем. Основная из них сводится к соотношению между случайным характером исходных химических процессов и необходимостью последующей химической, а затем и биологической эволюции. Содержательные труды, посвященные происхождению жизни ([10, 15] и др.), не дают ответа на вопросы о причинах возникновения информационных макромолекул, о механизмах их автокаталитического синтеза, о происхождении генетического кода.

Мы не располагаем пока возможностью экспериментальной проверки той или иной гипотезы происхождения жизни. Создание живой системы *in vitro* все еще не реализовано, и в этом смысле современное состояние науки мало отличается от прошлого. Гете осмеивал древнюю мечту алхимиков — создание гомункулуса, искусственного человечка. Гомункулус обращается к Вагнеру [41]:

«А, папенька! Так не на шутку я
Тобою создан? Обними ж меня!
Но только тише: колба разобьется.»

Но сегодня наука в состоянии ответить на поставленные выше вопросы теоретически и найти принципиальное физическое обоснование возможных моделей происхождения жизни. Ситуация здесь сходна с теорией происхождения Солнечной системы. В астрофизике также нельзя поставить соответствующий эксперимент, но есть возможность создать убедительную и хорошо обоснованную теорию. Конечно, в биологии дело обстоит много сложнее.

§ 9.3. ТЕОРИЯ ДОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Основные проблемы, с которыми имеет дело теория добиологической эволюции, это проблема возникновения самоорганизующихся полимерных систем из первоначальной хаотической смеси различных мономеров и проблема последующей эволюции

таких систем. Сходные проблемы фигурируют и в теории биологической эволюции — самоорганизация клеток и многоклеточных организмов и необходимое их эволюционное развитие в результате естественного отбора. Решение этих проблем требует преодоления принципиальных трудностей, столь значительных, что и сегодня оно многим представляется невозможным. Очевидно, что либо эволюция должна начинаться со случайных событий, либо должны были существовать акты творения — один или несколько. Случайную самоорганизацию хаоса и возникновение необходимой эволюции трудно себе представить. Эта трудность воспринимается как аргумент в пользу креационизма, в конечном счете, как научное доказательство бытия божьего (см. например [42]). В самом деле, число различных полинуклеотидных цепей длиной в 100 звеньев, построенных из четырех нуклеотидов, равно $4^{100} \approx 10^{60}$. Случайный выбор нескольких определенных полинуклеотидов из такой смеси (которая должна даже при плотной упаковке занимать объем, на много порядков больший Мирового океана) имеет ничтожную вероятность и, следовательно, не реализуем.

Однако физика открыла пути для преодоления этих трудностей. Изложенная в гл. 8 термодинамика нелинейных неравновесных процессов доказывает принципиальную возможность возникновения систем, упорядоченных в пространстве и времени, в гомогенной, т. е. хаотической среде. Условием возникновения порядка в открытой системе является наличие автокаталитических процессов и обратных связей.

Исходя из этих идей, Эйген предложил модельную теорию самоорганизации и эволюции биологических макромолекул [43, 44]. В настоящем параграфе и в последующих мы приводим краткое изложение теории Эйгена (см. также [83—87, 170]).

Эйген рассматривает «ящик» конечного объема V , имеющий стенки, проницаемые для высоко- и низкоэнергетических мономеров, но не для полимеров. Внутри ящика происходит полимеризация и деполимеризация. Образуются и распадаются информационные макромолекулярные цепи, обладающие различной первичной структурой. Количество цепей в 1 см^3 , содержащих ν звеньев, число сортов которых равно λ (для нуклеиновых кислот $\lambda = 4$, для белков $\lambda = 20$), с последовательностью звеньев за номером k равно $x_{\nu k}$. Общее число цепей длины ν в единице объема равно

$$n_{\nu} = \sum_{k=1}^{\nu} x_{\nu k}, \quad (9.1)$$

где $N_{\nu} = \lambda^{\nu}$. Для большинства из N_{ν} возможных информационных цепей их концентрации $x_{\nu k}$ равны нулю. Концентрации сво-

бодных высокоэнергетических мономеров в ящике равны $m_1, m_2, \dots, m_\lambda$, а их потоки в ящик $\Phi_1, \Phi_2, \dots, \Phi_\lambda$. Число всех единиц — свободных и полимеризованных — равно

$$M_0 = \sum_{i=1}^{\lambda} m_i + \sum_{\nu} n_{\nu} \quad (9.2)$$

Очевидно, что полная численность цепей данной длины ν в объеме V очень мала по сравнению с возможным числом N_{ν} таких цепей, обладающих различной первичной структурой:

$$n_{\nu} V \ll N_{\nu} \quad (9.3)$$

Для $\nu = 100$, $\lambda = 20$ имеем $N_{\nu} \sim 10^{130}$. При любых разумных значениях V неравенство (9.3) соблюдается. В отсутствие самоинструктирования, т. е. фактора отбора, ожидаемое значение числа цепей с любой данной последовательностью практически равно нулю.

Ящик Эйгена открыт и далек от равновесия. Он снабжается свободной энергией, например, в виде богатых энергией мономеров. Самоорганизация возможна, если полимеры обладают автокаталитическими свойствами, т. е. способны к репликационному матричному синтезу. Необходимое условие самоорганизации состоит в том, что скорость полимеризации должна превышать скорость распада и иметь по меньшей мере тот же порядок по x_{vh} .

Напишем простейшее кинетическое уравнение для каждого носителя информации, учитывая мутабельность, т. е. возможность неточного копирования. Имеем

$$\dot{x}_i = F_i x_i - R_i x_i + \sum_{l \neq i} \Phi_{il} x_l, \quad (9.4)$$

где первый член описывает скорость самоинструктированной сборки цепи, второй — скорость убывания числа цепей посредством их распада и разбавления. Третий член описывает возникновение i -х цепей вследствие неточного копирования других, близких l -х последовательностей. Параметр F_i зависит от концентраций мономеров m_1, \dots, m_λ . Уравнения (9.4) нелинейны, так как F_i и R_i могут зависеть от x_i и от x_h ($h \neq i$). Введя константу скорости k_0 , измеряемую в s^{-1} , напомним

$$F_i = k_0 A_i Q_i, \quad R_i = k_0 D_i + \Phi_{0i}. \quad (9.5)$$

Произведение $A_i Q_i$ описывает скорость образования i -й цепи; A_i — фактор усиления, Q_i — «фактор качества» — число, показывающее, какая доля процессов матричного синтеза дает точные копии носителя информации i_i . Доля $1 - Q_i$ отвечает образованию мутантов i_j . Произведение $A_i Q_i$ зависит от концентраций

мономеров и, если они поддерживаются постоянными, то можно написать

$$A_i Q_i = f(m_1, \dots, m_\lambda) A'_i Q'_i. \quad (9.6)$$

Член D_i описывает распад цепей, а φ_{0i} — уменьшение их концентрации вследствие разбавления. В простейшем случае φ_{0i} связано с общим потоком разбавления Φ_0 соотношением

$$\varphi_0 = \Phi_0 / \sum_{k=1}^N x_k. \quad (9.7)$$

Индекс i в этом случае можно опустить. Тогда уравнения (9.4) принимают вид

$$\dot{x}_i = k_0 (A_i Q_i - D_i) x_i + \sum_{l \neq i} \varphi_{il} x_l - \varphi_{0i} x_i. \quad (9.8)$$

Уравнения (9.8) описывают метаболизм, характеризуемый суммами $k_0 \sum D_i x_i$ и $k_0 \sum A_i x_i$, самовоспроизведение и мутабельность, выражаемую фактором качества $Q_i < 1$. Носители информации, для которых $A_i Q_i > D_i$, увеличиваются в числе, а те из них, для которых $A_i Q_i < D_i$, вымирают. Тем самым, происходит сегрегация, разделение системы на две части, но еще не отбор. Для отбора должны существовать селекционные ограничения.

Ограничения, обеспечивающие селекцию, могут налагаться условием стационарности. Допустим, что общая организация системы постоянна. На языке термодинамики это означает постоянство обобщенных сил, т. е. концентраций мономеров и полимеров. Ограничения имеют вид

$$m_1, m_2, \dots, m_\lambda = \text{const}, \quad f(m_1, m_2, \dots, m_\lambda) = \text{const}, \\ \sum_{k=1}^N x_k = n = \text{const}. \quad (9.9)$$

Одновременно поток разбавления Φ_0 таков, что он компенсирует суммарную избыточную продукцию информационных цепей

$$\Phi_0 = k_0 \sum_{k=1}^N (A_k - D_k) x_k. \quad (9.10)$$

Альтернативное селекционное ограничение может состоять в постоянстве не сил, а потоков.

Введем теперь определения

$$E_i = A_i - D_i - \text{продуктивность}, \quad (9.11)$$

$$\bar{E} = \sum_{k=1}^N E_k x_k / \sum_{k=1}^N x_k - \text{средняя продуктивность}, \quad (9.12)$$

$$W_i = A_i Q_i - D_i - \text{селективная ценность}. \quad (9.13)$$

Учитывая (9.7) и (9.10), перепишем уравнения (9.8) в виде

$$\dot{x}_i = k_0 (W_i - \bar{E}) x_i + \sum_{l \neq i} \Phi_{il} x_l. \quad (9.14)$$

Уравнения (9.14) существенно нелинейны, так как \bar{E} содержит все x_k . Этот член дает скользящий и саморегулируемый порог самоорганизации. Увеличивается число лишь тех носителей информации, селективные ценности которых W_i выше порога \bar{E} . Увеличение их числа сдвигает порог \bar{E} в сторону все больших значений, пока не будет достигнут оптимум \bar{E} , равный максимальной селективной ценности W_m всех имеющихся видов

$$\bar{E} \rightarrow W_m.$$

Следовательно, система будет стремиться к состоянию «селекционного равновесия», являющемуся, однако, неустойчивым. Оно нарушится при появлении вследствие мутаций новой копии i_{m+1} , обладающей более высокой селективной ценностью, т. е. отвечающей условию $W_{m+1} > W_m$. При этом система перейдет в новое состояние равновесия и т. д. Оптимизация такого рода может быть немонотонной, так как максимум селективной ценности W_m зависит от данного распределения концентраций x_i , характеризующего условия среды.

Введение селективной ценности (9.13) должно означать введение ценности информации, выражаемой через реальные физические величины и характеризующей скорость размножения цепей (ср. стр. 514).

В термодинамическом смысле каждая мутация, ведущая к дальнейшему росту селективной ценности, соответствует отрицательной флуктуации производства энтропии и указывает на неустойчивость существующего стационарного состояния.

Среднюю продуктивность (9.12) можно представить в виде

$$\bar{E} = \frac{E_m x_m + \sum_{k \neq m} E_k x_k}{\sum x_k} = \bar{E}_{k \neq m} + \frac{x_m}{n} (E_m - \bar{E}_{k \neq m}), \quad (9.15)$$

где

$$\bar{E}_{k \neq m} = \sum_{k \neq m} E_k x_m / \sum_{k \neq m} x_k \quad (9.16)$$

выражает среднюю остаточную продуктивность, причем $\sum_{k=1}^N x_k = n$,

$\sum_{k \neq m} x_k = n - x_m$. Условие равновесия $\bar{E} = W_n$ дает «равновесную долю» отобранного вида, т. е. его относительное выживание

$$\frac{\bar{x}_m}{n} = \frac{W_m - \bar{E}_{k \neq m}}{E_m - \bar{E}_{k \neq m}}. \quad (9.17)$$

Эта величина не пропорциональна Q_m , но стационарная ошибочная доля $1 - \bar{x}_m/n$ пропорциональна $1 - Q_m$:

$$1 - \frac{\bar{x}_m}{n} = \frac{A_m}{E_m - \bar{E}_{k \neq m}} (1 - Q_m). \quad (9.18)$$

При $Q_m = 1$ $\bar{x}_m = n$, т. е. произошел бы полный отбор «главных копий» i_m , но дальнейшая эволюция прекратилась бы. Для эволюции необходимо значение Q_m , меньшее 1, но большее некоторого минимального значения Q_{\min} , при котором выживание еще возможно. Значение Q_{\min} находится из условия $\bar{x}_m = 0$, т. е. $W_m = \bar{E}_{k \neq m}$. Имеем

$$1 > Q_m > Q_{\min} = \frac{\bar{A}_{k \neq m} + D_m - \bar{D}_{k \neq m}}{A_m}. \quad (9.19)$$

Влияние фактора Q_m на процесс отбора состоит в том, что он приводит к большему разнообразию мутантов и, значит, позволяет прийти к большему конечному оптимальному значению W_m , а также увеличивает скорость эволюции. Общий критерий отбора, согласно (9.17), есть

$$W_m > \bar{E}_{k \neq m}, \quad (9.20)$$

что может быть осуществлено через посредство каждого из параметров в зависимости от наложенных условий.

Фактор качества Q определяется точностью узнавания звена данного сорта при матричной редупликации (см. § 1.2). Простейший случай соответствует некооперативному узнаванию, т. е. мономер, включаемый в новую цепь, узнается лишь одним звеном старой цепи, причем имеются лишь две возможности — мономер комплементарен или не комплементарен звену. Если вероятность точного воспроизведения отдельной единицы есть q , то вероятность образования безошибочной копии, содержащей ν звеньев, есть

$$Q = Q_{\nu} = q^{\nu}. \quad (9.21)$$

Математическое ожидание ошибки в цепи из ν звеньев равно

$$\varepsilon = \nu(1 - q).$$

Распределение вероятностей для возникновения цепи с k ошибками биномиально:

$$Q_{\nu k} = q^{\nu-k} (1 - q)^k \binom{\nu}{k}.$$

При $k(1 - q) \ll 1$ оно аппроксимируется распределением Пуассона

$$Q_{\nu k} = \frac{e^{\varepsilon} \exp(-\varepsilon)}{k!} \approx \frac{\nu^k (1 - q)^k \exp[-\nu(1 - q)]}{k!}.$$

Следовательно, вероятность возникновения безошибочной копии

$$Q_{v_0} = \exp[-v(1-q)]$$

убывает с ростом длины цепи v . Минимальное значение Q_{v_0} при данном значении фактора узнавания q дается условием

$$v < |\ln Q_{\min}| / (1 - q),$$

т. е. максимальное количество информации, пропорциональное v_{\max} и сохраняемое в процессе воспроизведения при данном q , есть

$$v_{\max} = \frac{|\ln Q_{\min}|}{1 - q}. \quad (9.22)$$

Очевидно, что в ходе эволюции должен улучшаться элементарный механизм узнавания, т. е. должна возрастать величина q .

Обратимся теперь к кинетике отбора. Рассмотрим простой случай — A_i , D_i и Q_i постоянны и Q_i очень близко к единице. Общая организация системы постоянна.

Более сложные случаи также исследованы Эйгеном [43]. Близость Q к 1 позволяет пренебречь членами $\varphi_{il}x_l$ в уравнениях (9.14), и последние принимают простую форму

$$\dot{x}_i = k_0(W_i - \bar{E})x_i. \quad (9.23)$$

Интегрирование дает

$$x_i(t) = x_i(0) \frac{\exp(k_0 W_i t)}{\exp\left\{k_0 \int_0^t \bar{E}(\tau) d\tau\right\}}. \quad (9.24)$$

Производя подстановку

$$\bar{E} = \frac{x_i}{n} \sum_{k=1}^N \frac{x_k}{x_i} E_k,$$

мы увидим, что интегральные члены сокращаются и уравнения (9.23) принимают вид

$$\dot{x}_i = k_0 W_i x_i - k_0 \frac{\sum_{k=1}^N x_k(0) \exp[k_0(W_k - W_i)t]}{n x_i(0)} x_i^2. \quad (9.25)$$

Это нелинейные уравнения Бернулли типа

$$\dot{x} + g(t)x + f(t)x^2 = 0.$$

Решение (9.25) записывается следующим образом:

$$x_i(t) = \frac{x_i(0) n \exp(k_0 W_i t)}{\sum_{k=1}^N \frac{x_k(0) E_k}{W_k} \exp(k_0 W_k t)}. \quad (9.26)$$

При $t \rightarrow \infty$ сумму экспонент можно заменить наибольшим членом, отвечающим виду с наибольшей селективной ценностью W_m . Этот вид отбирается. Его концентрация стремится к стационарному значению

$$\bar{x}_m = \frac{W_m}{E_m} n, \quad (9.27)$$

равному n при $Q_m = 1$. Остальные виды исчезают в соответствии с уравнением

$$x_i(t) = n \frac{x_i(0)}{x_m(0)} \frac{W_m}{E_m} \exp[(W_i - W_m) k_0 t], \quad (9.28)$$

причем некоторые $x_i(t)$ могут проходить через максимум. Поведение четырех конкурирующих видов показано на рис. 9.1.

Дарвиновская эволюция трактуется иногда как тавтология — выживание выживающих. Рассмотренная модель показывает, однако, что уже в простейшем случае мы имеем дело с выживанием наиболее приспособленных к наложенным ограничениям — в данном случае к условию постоянной организации. Отбор реализуется как процесс оптимизации, наибольшая приспособленность означает максимум селективной ценности, т. е. ценности информации при дополнительных ограничениях. Экспоненциальный характер решений обеспечивает высокую скорость отбора.

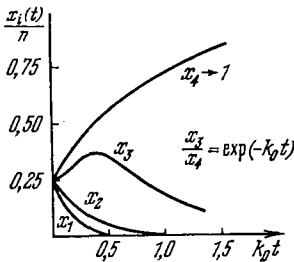


Рис. 9.1. Отбор в системе четырех конкурирующих видов по уравнению (9.26).

$$W_1 = 1, W_2 = 4, W_3 = 9, W_4 = 10.$$

Приведенный расчет является приближенным, так как мы пренебрегли членами $\phi_{ii} x_i$, описывающими мутации. Как уже сказано, мутации необходимы для эволюции, так как при $Q_m = 1$ система не могла бы развиваться далее. Главная копия «тащит за собой кометный хвост мутантов» [43].

Изложенная теория относится к детерминистическим и, соответственно, пользуется дифференциальными уравнениями. В действительности, элементарный процесс, приводящий к появлению специфического мутанта, не детерминирован, автока-

талитическое усиление приводит к макроскопическому проявлению случайных микроскопических событий. Сам процесс роста численности подвержен статистическим флуктуациям, которые должны учитываться. Эйген провел вероятностное рассмотрение проблемы [43], основываясь на стохастической теории процессов рождения и гибели (см. [45]). Стохастические модели представляют собой в данном случае цепи Маркова [43—46]. Детерминистическая теория соответственно модифицируется. Рассмотрим вслед за Эйгеном три примера.

Допустим, что имеется n различных носителей информации, причем каждый из них представлен одной цепью. Редупликация точная, все $Q_i = 1$. Все F_i и R_i одинаковы, т. е. $W_i = E_i$. Согласно детерминистической теории в системе не будет никаких изменений. Стохастическая теория показывает, однако, что система будет утрачивать информацию при распаде каждого неизбежного носителя, происходящем до его редупликации. Содержание информации сузится до немногих или даже одной сильно избыточной последовательности, а затем вся популяция вымрет вследствие «флуктуационной катастрофы». Это неизбежно, так как флуктуации образования и распада цепей независимы. Полное вымирание произойдет достаточно быстро — стационарная популяция, состоявшая при $t = 0$ из n видов, в среднем просуществует в течение времени $n/F < t < n^2/F$. Нет критерия выживания, кроме самого выживания, нет оптимизации.

Если система та же, все W_i одинаковы, но $Q_i < 1$, то судьба всей популяции будет такой же. Однако поведение отдельных носителей информации будет иным. Если $A_i = D_i$ и $Q_i < 1$, то $W_i = A_i Q_i - D_i < 0$. Это вымирание компенсируется продукцией новой информации вследствие ошибок копирования. Система «беспорядочно дрейфует в информационном пространстве», но в конце концов уничтожается «флуктуационной катастрофой».

Лишь при $W_i \neq W_k$ и $Q_i < 1$ реализуется устойчивое воспроизведение и отбор цепей с максимальным значением W_m . Пока эти цепи образовались в малом числе, они подвергаются опасности вымирания вследствие флуктуаций. С ростом их числа система становится более устойчивой и, в конце концов, главные копии доминируют в соответствии с детерминистической теорией. В этом случае система ведет себя сходно с системой, находящейся в устойчивом равновесии, в котором флуктуации, пропорциональные \sqrt{n} , незначительны для больших значений n . Однако при образовании системы каждое макросостояние вырастает из микросостояния, представленного вначале единичной копией. Следовательно, для таких метастабильных систем детерминистическое поведение ограничено гораздо сильнее, чем для систем, близких к истинному равновесию.

Следует остановиться на информационных аспектах описанной модели самоорганизации и эволюции информационных макромолекул. Работе Эйгена предшествовала работа Кастлера, имеющая близкое название — «Возникновение биологической организации» [88]. Приведем пространную цитату из этой работы: «В добиологической полинуклеотидной системе почти все последовательности оснований равноправны. Отсюда следует, что такая последовательность сама по себе не имеет никакого «смысла», т. е. не несет никакой информации, являясь лишь «шумом»... Вместе с тем исходная «бессмысленная» последовательность становится весьма осмысленной, как только возникает необходимость точно следовать ей. Информация возникла благодаря тому, что какая-то одна определенная нить стала прародительницей системы, т. е. она возникла благодаря стабильности системы, порожденной этой особой нитью. Следует подчеркнуть, что возникновение информации из шума — это совсем не то, что обнаружение информации, замаскированной шумом, например при выявлении ранее не известной закономерности... Запоминание случайного выбора служит механизмом создания информации, и по своей природе этот механизм совершенно отличен от механизма обнаружения информации».

В свете этих представлений теория Эйгена оперирует не созданием новой информации, но обнаружением ранее существовавшей, поскольку главная копия закономерно обладает наибольшей селективной ценностью. Отбор идет не по количеству, но по ценности информации.

В моделях, основанных на рассмотрении неустойчивых состояний (см. далее, стр. 501, 512), фигурирует уже не выявление ранее существовавшей информации, но ее возникновение в результате случайной флуктуации в начальных условиях.

Вопрос о ценности информации рассмотрен далее (см. стр. 514).

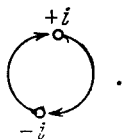
§ 9.4. ПОЛИНУКЛЕОТИДНЫЕ И ПОЛИПЕПТИДНЫЕ СИСТЕМЫ

Экспериментально установлено матричное автокопирование полирибодениловой кислоты при низких рН, а также автокопирование полирибозитидиловой кислоты. Представим себе автокопирование нуклеиновой кислоты с λ разных нуклеотидов. Считая узнавание равновесным, имеем

$$q_i = \frac{\text{Вероятность пары } ii}{\text{Сумма вероятностей для всех пар}} = \frac{m_i K_{ii}}{\sum_{i=1}^{\lambda} m_i K_{ii}},$$

где $K_{ik} = \exp(-\Delta G_{ik}/RT)$ — константы равновесия, ΔG_{ik} — свободные энергии

В природе, однако, происходит не автокопирование, но комплементарное копирование нуклеиновых кислот. В этом случае система описывается чередованием плюс- и минус-копий $+i$ и $-i$. Отбор происходит среди коллективов $\pm i$, представляемых циклами



Теория в принципе не изменяется. В этом случае существенно, что даже при большом избытке одного мономера система должна накопить по меньшей мере два разных мономера, которые затем встречаются у отобранного вида в почти равных количествах. Вследствие копирования ошибок система всегда образует смешанные последовательности. Это служит предпосылкой для возникновения любого кода, который может приобрести «смысл», если каждая из смешанных последовательностей дает селективное преимущество для самовоспроизведения.

Однако неферментативное узнавание не является вполне точным, значения ΔG_{ih} порядка 3 ккал/моль и факторы q не превышают 0,99 (ср. стр. 488). Соответственно, воспроизводимое образование нуклеотидных цепей возможно лишь для относительно коротких последовательностей, содержащих не более 30—100 звеньев — для $q = 0,99$ и $v = 100$, $Q = 1/e$. Отсюда Эйген делает вывод о невозможности достижения уровня самоорганизации, необходимого для согласованного функционирования, путем неферментативного матричного синтеза полинуклеотидов.

Эта аргументация, однако, недостаточна [47]. И. М. Лифшиц обратил внимание на то, что теория Эйгена не учитывает одного важного обстоятельства. Селективная ценность, выражаемая кинетическим параметром W_i , не однозначно коррелирует с первичной структурой цепи. В цепи могут возникать мутации и матричный синтез может происходить с ошибками без того, чтобы параметр W_i изменился. Матричная редупликация основана на узнавании отдельных единиц и их ближайших соседей. Таким образом, например, двойная мутационная замена

... CABBD ... SACBD ... \rightarrow ... SACBD ... CABBD ...

не должна сказываться на значении W_i , т. е. на скорости синтеза цепи как целого.

Двойная мутация, конечно, маловероятна. Единичная замена звена меняет W_i , но при большом числе звеньев v это изменение очень мало. Относительное изменение скорости матричного

синтеза при замене одного звена имеет порядок величины ν^{-1} . Допустим, что в результате замены W_i увеличилась на соответствующую малую величину. Селекция требует времени. Если за время преимущественного выживания главных копий появится вторая мутация, возвращающая W_i к прежнему значению, то новая главная копия не возникает. Следовательно, селективная ценность W_i не выражает ценности информации в случае простой или комплементарной репродукции.

Как бы ни были малы вероятности мутаций и ошибок репликации, через достаточное время в системе будут накапливаться цепи, вырожденные по значению W_m , но различающиеся первичной структурой. Если цепи достаточно длинные, то число таких вырожденных макромолекул станет очень большим. В конечном счете наиболее вероятному состоянию системы будет соответствовать максимальное разнообразие первичных структур цепей с одинаковыми значениями W_m . Селекционное равновесие не только неустойчиво, но неизбежно должно вырождаться. Вслед за стадией селекции, строго рассмотренной Эйгеном, наступит стадия релаксации к вырожденному состоянию. Тем самым система будет не эволюционировать, но деградировать. Селекция на первой стадии еще не означает эволюции.

Для эволюционного добиологического развития необходима автокаталитическая система, использующая информацию цепи, т. е. репродуцируемая путем узнавания не отдельных единиц, но всей первичной структуры. Такая система также рассмотрена Эйгеном.

Полипептидные цепи, белки, также могут, в принципе, образовывать самоинструктируемые системы. Белки характеризуются значительно большей точностью узнавания определенных субстратов благодаря наличию пространственной структуры и значительно большим объемом информации. Показано, что полный синтез полипептида, например грамицидина S, представляющего собой циклический декапептид, возможен с помощью одного фермента, без участия нуклеиновых кислот [48]. Фермент функционирует как белковая матрица, соединяя активированные АТФ аминокислоты в точную последовательность

D-Фен-L-Про-L-Вал-L-Орн-L-Лей

(Орн — орнитил), которая остается прикрепленной к ферменту, пока два законченных пентапептида не соединятся с образованием циклической молекулы грамицидина S. Однако для самовоспроизведения белка требуется ряд других белков-ферментов. Например, если фермент узнает последовательность из 5 аминокислот, то для синтеза цепи с 80 пептидными связями требуется не менее 5 ферментов

$$\xrightarrow{E_1} 5 \xrightarrow{E_2} 10 \xrightarrow{E_3} 20 \xrightarrow{E_4} 40 \xrightarrow{E_5} 80.$$

Чем больше ферментов в такой цепи, тем больше вероятность образования замкнутого автокаталитического цикла. Независимые циклы ведут себя как самоинструктируемые или комплементарные коллективы. Они могут быть взаимозависимы вследствие полифункциональности ферментов — в этом случае отобранный вид с максимальной W_m несет за собой все связанные с ним ветви и циклы. Разветвление циклов означает бесполезный для саморепродукции балласт, понижающий W_i . Наиболее существенное препятствие саморепродукции ферментных циклов состоит в том, что способность узнавания является свойством не любых, а лишь уникальных цепей, и обусловлена редким совпадением специальных функциональных свойств различных белков. Поэтому белки, катализирующие свою репродукцию в специфических циклах, неспособны репродуцировать мутантные цепи, даже дающие преимущества. На рис. 9.2 изображен цикл, оставшийся в результате отбора. Пусть E'_1 — мутант. Для эволюции недостаточно того, что E'_1 — лучший катализатор, чем E_1 , так как он по-прежнему будет репродуцировать E_2, \dots, E_n и приведет снова к E_1 , а не к E'_1 . Для повышения селективной ценности цикл должен испытать ряд специфических мутаций $E_1 \rightarrow E'_1, E_2 \rightarrow E'_2, \dots, E_n \rightarrow E'_n$, т. е. образовать новый цикл. Вероятность такого события ничтожно мала. Система не может использовать селективные преимущества, будучи нагружена слишком большим количеством информации, имеющей малую селективную ценность.

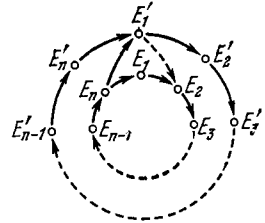


Рис. 9.2. Репродукция мутантов в автокаталитическом цикле.

Пусть E'_1 — мутант. Для эволюции недостаточно того, что E'_1 — лучший катализатор, чем E_1 , так как он по-прежнему будет репродуцировать E_2, \dots, E_n и приведет снова к E_1 , а не к E'_1 . Для повышения селективной ценности цикл должен испытать ряд специфических мутаций $E_1 \rightarrow E'_1, E_2 \rightarrow E'_2, \dots, E_n \rightarrow E'_n$, т. е. образовать новый цикл. Вероятность такого события ничтожно мала. Система не может использовать селективные преимущества, будучи нагружена слишком большим количеством информации, имеющей малую селективную ценность.

Из приведенных рассуждений следует, что ни нуклеиновые кислоты, ни белки сами по себе не могут обеспечить самоорганизацию. Эйген считает необходимым для этого комбинацию свойства инструктируемой комплементарной репродукции нуклеиновых кислот с большой информационной емкостью белков, т. е. гиперцикл, содержащий оба типа информационных макромолекул.

Рассмотрим самоинструктируемый каталитический гиперцикл (рис. 9.3) и перечислим его свойства:

1. Каждый гиперцикл способен к автокаталитическому росту.
2. Независимые циклы конкурируют и подвергаются отбору.
3. Вследствие нелинейности отбор очень жесткий.
4. Система способна использовать малые селективные преимущества и быстро эволюционировать.

5. Реплицируемая длина отдельной кодирующей единицы должна быть достаточно мала, чтобы обеспечить воспроизводимость.

6. Генотипические мутации, т.е. изменения в I_i , могут немедленно использоваться ферментом E_{i-1} .

При конкуренции нуклеиново-белковых гиперциклов не должна возникать деградация, описанная на стр. 494. В гиперцикле используется ценность информации цепи РНК или ее участка, так как она определяется способностью программировать синтез белковой цепи E_i .

Модельные количественные расчеты проведенные с помощью ЭВМ (см. [44]), подтверждают эти положения.

Очевидно, что гиперцикл возможен лишь при наличии нуклеотидно-аминокислотного кода. Вопрос о том, как этот код возник, требует специального рассмотрения. Современный код обладает высокой помехоустойчивостью по отношению к мутациям, сильно искажающим биологически функциональную пространственную структуру (см. [7], § 9.7). Код универсален. Маловероятно, что он развился из предшествующего синглетного или дублетного кода. Изменение величины

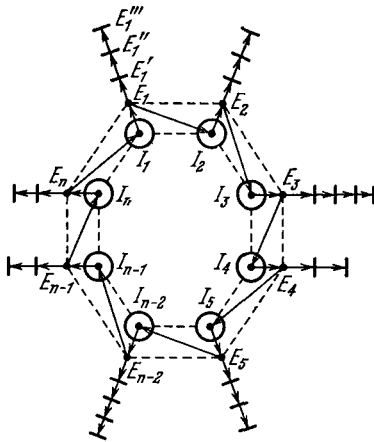


Рис. 9.3. Самоинструктируемый каталитический гиперцикл.

I_j — носители информации, т.е. $\pm j$ -циклы РНК; E_j — ферменты, кодируемые I_j и катализирующие образование носителя I_{j+1} ; E_j, E_j и т. д. — ферменты, катализирующие паразитные процессы.

кодона повлекло бы за собой полную потерю ранее накопленной информации [49]. Наиболее существен центральным нуклеотид кодона. Восемь кодонов, содержащих А и У, отвечают гораздо большему разнообразию аминокислот, чем восемь кодонов, содержащих Г и Ц.

Смысл узнавания аминокислоты тРНК, несущей антикодон, до сих пор не ясен. Несомненно, что в этом узнавании существенную роль играет фермент аминоацил — тРНК-синтетаза. Эйген ставит законный вопрос: «если специфические взаимодействия отсутствуют, то не могло ли однозначное кодовое соответствие появиться из случайных комбинаций аминокислот с антикодонами?» [44].

Допустим, что имеется λ единиц аминокислоты a, b, c, \dots , которым соответствуют кодоны A, B, C, \dots , соединяющиеся с a, b, c, \dots при посредстве комплементарных адапторов

$A', B', C' \dots$ Имеется λ^2 таких соответствий, например, при $\lambda=2$ aA, aB, bA, bB (если все соответствия равновероятны). Рассмотрим элемент объема, в котором имеется λ таких соответствий. Вероятность найти данный набор соответствий обратно пропорциональна числу всех возможных наборов, равному числу всех сочетаний с повторениями из λ^2 элементов по λ

$$\omega = \binom{\lambda^2 + \lambda - 1}{\lambda}.$$

Среди всех соответствий имеется $\lambda!$ уникальных, т. е. таких, в которых данная аминокислота соответствует только одному кодону и наоборот. Вероятность p существования элемента объема, в котором имеется какое-либо уникальное соответствие, равна

$$p \approx \frac{\lambda!}{\omega} = \frac{(\lambda!)^2 (\lambda^2 - 1)!}{(\lambda^2 + \lambda - 1)!}.$$

В таком элементе объема может начаться трансляция нуклеотидных последовательностей в аминокислотные. Чтобы этот процесс стабилизировался, среди нуклеотидных последовательностей должны иметься такие, которые усиливают использование того же кода после трансляции. Должен возникнуть самоусиливающийся гиперцикл. При близости концентраций случайных нуклеотидных последовательностей и концентраций случайных полипептидов вероятность p' нахождения определенного набора нуклеотидов также обратно пропорциональна ω . Совместная вероятность равна приближенно

$$p' \approx \frac{(\lambda!)^3 [(\lambda^2 - 1)!]^2}{[(\lambda^2 + \lambda - 1)!]^2}.$$

При $\lambda = 4$ имеем $p' = 1,6 \cdot 10^{-6}$, при $\lambda = 8$ получим $p' = 4 \cdot 10^{-16}$. Конечно, эта формула дает лишь грубую оценку.

Как показывают опыты Фокса [38, 39], данная функция белка может реализоваться большим числом разных полипептидных последовательностей. Вероятность совпадения функций, а не последовательностей, оказывается более высокой.

Система восьмибуквенного кода, построенного из А и У, обеспечивает отбор восьми аминокислот, что достаточно для широкой функциональности белков. Возможно, что современный код начался со случайной флуктуации — код является следствием нелинейной конкуренции, обеспечивающей его универсальность.

Эйген сравнил свою теорию с результатами опытов Шпигельмана по эволюции в пробирке [50—52]. Q β -фаг использует для своего размножения специфический фермент Q β -репликазу, узнающий только РНК этого фага. Q β -репликаза и активированные

мономеры, нуклеозидтрифосфаты помещались в пробирку, в которую в качестве затравки, матрицы, вводилось малое количество Q β -РНК. Происходил матричный репликационный синтез РНК. Малая доля синтезированной РНК переносилась в качестве матрицы в следующую пробирку, содержащую репликазу и мономеры, и т. д. При этом постепенно уменьшалось время инкубации реакционной смеси. Тем самым отбирались лишь те цепи РНК, которые быстрее всего реплицируются. Утрата способности воспроизвести Q β -фаг, т. е. утрата инфекционности, происходила уже после четвертого переноса. Матричный синтез РНК, однако, продолжался, и после 80 переносов получались молекулы РНК, утратившие до 85% своих исходных звеньев, но по-прежнему взаимодействующие с репликазой. Ферментативный матричный синтез РНК использует ценность информации, содержащейся не менее чем в 15% исходной цепи. Теория Эйдена дает прекрасное количественное описание этих эволюционных опытов [43, 44].

Какова дальнейшая судьба случайно возникших и далее подвергающихся естественному отбору нуклеиново-полипептидных гиперциклов? В такой системе отбор происходит против паразитных цепей, если селективные ценности последних меньше, чем у членов цикла. Паразитные цепи с высокими селективными ценностями не дадут возможности циклу пройти стадию нуклеации, если они имеются с самого начала. Напротив, если эти ветви возникли после нуклеации, то они не имеют шансов расти вследствие нелинейности селекционного поведения. С гиперциклом могут сосуществовать лишь ветви, селективные ценности которых такие же, как для гиперцикла. Точное совпадение возможно лишь, если ветвь и кодирующий участок I_i внутри цикла используют один и тот же промотор, локализованный в E_{i-1} . Отсюда следует генная и регуляторная структура кодовой системы.

После нуклеации гиперцикл должен пространственно обособиться от среды. Компарментализация необходима для использования функциональных ветвей, возникших вследствие мутаций. Компарментализованная система может «индивидуализироваться» путем соединения своих кодирующих единиц в единую цепь и воспроизводить всю эту цепь. В такой цепи, которая при участии лигаз будет циклической, гены, происходящие от данной единицы I_i , локализуются в соседних положениях.

Эти свойства гиперциклов означают, в сущности, переход к клетке — к следующей стадии эволюции (см. далее).

Ряд поучительных модельных расчетов, основанных на теории Эйдена, проведен Эбелингом [89] (см. также [170]).

§ 9.5. ТЕРМОДИНАМИКА И ЭВОЛЮЦИЯ

Теория Эйгена согласуется с термодинамикой нелинейных необратимых процессов (см. гл. 2 и 8). При постоянных потоках стационарное состояние характеризуется относительным минимумом производства энтропии. Такому состоянию соответствует доминирование отобранных гиперциклов. Если произошла стохастически значимая мутация, состоящая в возникновении мутанта с большей селективной ценностью, то это означает появление отрицательной флуктуации производства энтропии, и система переходит в неустойчивое состояние. Далее, система переходит в новое стационарное состояние с большей упорядоченностью, т. е. с меньшей энтропией. Изменение энтропии в эволюционирующей системе показано на рис. 9.4 [44] (ср. стр. 421).

Ясно, однако, что изменение энтропии или количества информации, вообще говоря, не может быть критерием эволюции, для которой существенно не количество, но ценность информации.

Смысл теории Эйгена состоит не в объяснении реального хода эволюции на Земле, но в демонстрации принципиальной возможности и, более того, необходимости селекции и эволюции гиперциклов. Демонстрация эта основывается на четко формулируемых физических соображениях и показывает значение ценности информации, выражаемой через измеримые величины.

Пригожин, Николис и Баблянец провели более общее рассмотрение эволюции в терминах теории устойчивости [53] (см. также [132, 169]).

Допустим, что имеется n взаимодействующих веществ X_i ($i = 1, 2, \dots, n$) с достаточно высокими концентрациями x_i . Имеем для открытой системы

$$\dot{x}_i = F_i^e(x_1, \dots, x_n) + \langle F_i \rangle(x_1, \dots, x_n). \quad (9.29)$$

Первый член описывает поток вещества (скажем, в форме мономеров) из окружающей среды, второй — реакции внутри системы. Считаем F_i^e постоянным и систему однородной. Предположим, что уравнение (9.29) имеет по крайней мере одно асимптотически устойчивое решение; это значит, что все n

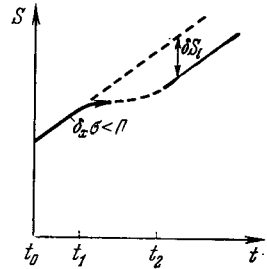


Рис. 9.4. Зависимость энтропии от времени для процесса отбора при постоянных общих потоках мономерных единиц.

В интервале $t_0 t_1$ осуществляется стационарное состояние ($\sigma = \text{const}$), интервал $t_1 t_2$ — область неустойчивости, при $t > t_2$ возникает новое стационарное состояние.

корней характеристического уравнения имеют отрицательные действительные части.

Допустим теперь, что случайно возникают мутанты веществ X_i , т. е. их ошибочные копии Y_j ($j = 1, \dots, s$) с концентрациями y_j . Порядок уравнений (9.29) возрастает на s . Если $s=1$ (один мутант), то характеристическое уравнение увеличенной системы будет содержать дополнительный член порядка ε . При малом ε характеристическое уравнение будет иметь $n+1$ корней, причем n корней будут близки к корням системы (9.29). На устойчивость стационарного состояния увеличенной системы будет влиять лишь новый корень ω_{n+1} , который может зависеть от ε либо как

$$\omega_{n+1} \sim \varepsilon^{-1}, \quad (9.30)$$

если поправочный член является множителем в члене, содержащем $(n+1)$ -ю степень ω , либо как

$$\omega_{n+1} \sim \varepsilon, \quad (9.31)$$

если появление Y_j добавляет постоянный член в характеристическом уравнении. В результате в обоих случаях могут возникнуть корни с положительной действительной частью. Малое возмущение системы (9.29) может привести к существенному изменению ее стабильности. В случае (9.30) это изменение будет очень быстрым, в случае (9.31) — очень медленным. В случае (9.30) эволюция Y описывается уравнением

$$\varepsilon \dot{y} = G(\{x\}, y, \varepsilon), \quad (9.32)$$

и уравнения (9.29) принимают вид $(\{x\})$ — совокупность всех переменных x_i)

$$\dot{x}_i = F_i^e(\{x\}) + F_i(\{x\}, y, \varepsilon). \quad (9.33)$$

При $\varepsilon = 0$ последние уравнения превращаются в (9.29). В случае (9.31) уравнения (9.32) и (9.33) переписываются в виде

$$\dot{y} = G_1(\{x\}) + \varepsilon G_2(\{x\}, y, \varepsilon), \quad (9.34)$$

$$\dot{x}_i = F_i^e(\{x\}) + \langle F_{1i} \rangle(\{x\}) + \varepsilon \langle F_{2i} \rangle(\{x\}, y, \varepsilon). \quad (9.35)$$

Эти уравнения описывают эволюцию системы посредством изменений устойчивости системы при добавлении новых веществ. В частности, может возникнуть состояние, в котором вид Y будет доминирующим.

Рассмотрим случай (9.30). Введем новую временную переменную $\tau = t/\varepsilon \gg t$ и перепишем уравнение (9.32) в виде

$$\frac{dy}{d\tau} = G(\{x\}, y, \varepsilon). \quad (9.36)$$

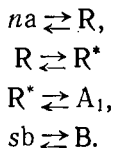
Мы видим, что уравнения (9.32) и (9.33) описывают эволюцию системы в разных шкалах времени. Уравнения (9.32) и (9.36) представляют быструю продукцию нового вещества Y при практически постоянных значениях $\{x\}$, уравнения (9.33) — медленное изменение $\{x\}$ после того, как y достигло своего стабильного значения, отвечающего $G(\{x\}, y, 0) = 0$. Тем самым селекция должна происходить весьма быстро. С термодинамической точки зрения ситуация эквивалентна представленной на рис. 9.4 — избыточная продукция энтропии, созданная флуктуациями, т. е. добавочная диссипация, становится отрицательной. Энтропия и ее продукция являются стохастическими функциями флуктуирующих переменных, и термодинамические величины получаются путем усреднения этих функций. При появлении нового вещества Y можно построить функцию состояния, связанную с вводимой таким образом диссипацией. Для устойчивой системы эта функция имеет минимум. Эволюция возникает, если функция имеет более чем один экстремум или седловую точку. Это — вариационный принцип, характеризующий эволюцию. После точки перехода продукция энтропии возрастает, так как система переключается на путь быстрого синтеза вещества Y .

В случае, характеризуемом $\omega_{n+1} \sim \varepsilon$ (см. (9.31)), уравнения (9.34) и (9.35) описывают (при неустойчивости) медленную эволюцию вещества Y к новому режиму. Сравнение с уравнением Эйгена (9.14) показывает, что фактор ε можно интерпретировать как среднюю скорость мутаций, причем неустойчивость непосредственно определяется ошибками копирования. В случае $\omega_{n+1} \sim \varepsilon^{-1}$ (см. (9.30)) роль мутаций состояла во введении связей между старыми и новыми переменными. Эволюция через неустойчивость определялась появлением новых элементов, как, например, новых ферментов.

Положим в уравнении (9.34) $G_1 = 0$, т. е. допустим, что новое вещество производится только мутациями. Исходная система (9.29) может стать неустойчивой, если G_2 — возрастающая функция y вблизи $(\{x_0\}, y, 0)$, где x_0 — решения исходной системы. В точке перехода добавочная диссипация, вводимая Y и соответствующими изменениями x_i , становится отрицательной. Наиболее интересно положение, относящееся к случаю (9.30), — когда система, эволюционируя к новому устойчивому режиму, увеличивает свою диссипацию. Такое поведение противоположно поведению вблизи стационарного состояния, не сильно удаленного от равновесия и устойчивого по отношению к флуктуациям. После достижения нового режима система вновь стремится уменьшить свою диссипацию.

Эти представления можно иллюстрировать простой кинетической моделью [53, 54]. Рассмотрим открытую систему, в которой имеется поток мономеров двух видов (скажем, нуклеотидов)

а и б. Внутри системы, в «ящике», происходит полимеризация, образуются цепи A_1 и В. Реакция образования A_1 протекает через промежуточную форму R, соответствующую объединению мономеров а в линейный ансамбль, образованный нехимическими взаимодействиями. Такой ансамбль может переходить в другое состояние R^* . Имеем реакции



Как только образовались A_1 , R^* и В, включается автокаталитический цикл, в котором A_1 действует как матрица для синтеза В из б и В действует как матрица, превращающая R^* в A_1 . Далее A_1 и В диффундируют из «ящика» или дезактивируются. Имеем

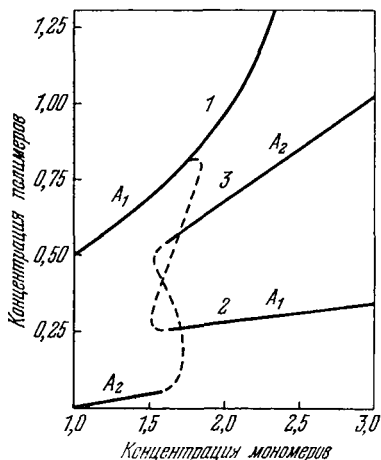
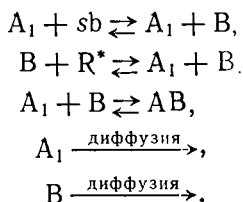


Рис. 9.5. Влияние флуктуаций на продукцию полимеров.

Объяснения в тексте. Концентрации — в произвольных единицах.

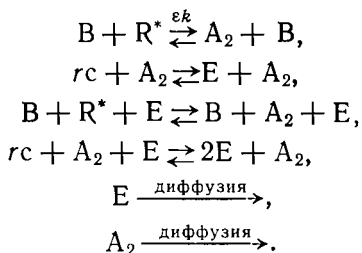


Численные решения, основанные на данных, полученных при изучении образования полинуклеотидов, показывают, что при определенных значениях констант скоростей возникают множественные стационарные состояния полимеризации, отвечающие

большому или малому содержанию полимеров в системе. На рис. 9.5 кривая 1 представляет изменение A_1 с концентрацией мономера. Изменение R^* представляется сходной кривой.

Представим себе теперь, что случайные флуктуации непрерывно создают ошибки при образовании A_1 , катализируемом В. Возникает новый вид A_2 . Полимер A_2 может катализировать синтез нового вещества Е, например, примитивного фермента из r мономеров сорта с. Будучи созданным, Е катализирует далее как собственную продукцию, так и продукцию A_2 . В конце

концов E и A_2 уходят из «ящика». Имеем



Эта система реакций описывает нелинейное сопряжение между A_2 и E , которое тем сильнее, чем больше R^* . A_1 и R^* зависят от стационарного состояния, достигнутого при полимеризации. Результаты численных расчетов показаны на рис. 9.5. При малой концентрации мономеров доминируют полимеры A_1 . Это стационарное состояние могло бы продолжаться (кривая 1), но флуктуации создают новый полимер A_2 и катализатор, усиливающий продукцию A_2 . При критическом значении концентрации мономеров возникают неустойчивости (пунктирные кривые), и система резко переключается в новое стационарное состояние, в котором доминируют полимеры A_2 (кривые 2 и 3). Переход вызван как мутациями, так и появлением катализатора E . Первые служат триггером неустойчивости, второй определяет остроту перехода. В этом смысле модель объединяет случаи (9.30) и (9.31). Описанное эволюционное поведение системы связано с ее автокаталитическими, нелинейными свойствами.

Термодинамика дает общее понимание эволюции. В частности, возрастание диссипации может привести к эволюционной обратной связи, создающей путь к новой неустойчивости, к дальнейшей эволюции системы. Наибольшая приспособленность при этом не обязательно означает наибольшее размножение.

Конечно, такой детерминистический анализ должен быть дополнен и уточнен стохастическим (см. стр. 491).

Очевидно, что приведенное рассмотрение не дает еще теории эволюции в истинном значении этого слова. Однако оно раскрывает физический смысл эволюции и имеет безусловное иллюстративное значение.

Следует отметить, что качественные соображения сходного характера были высказаны ранее Молчановым [12], указавшим, что статистическая термодинамика, как таковая, применима лишь к ранним стадиям эволюции. Смысл этого утверждения состоит в том, что «применимость статистических представлений уменьшается в процессе эволюции, так как уменьшается число частиц» — скажем, из мономеров образуются полимеры. Теории Эйгена и Пригожина имеют уже не термодинамический, но

кинетический характер. Роль термодинамики сводится, в конечном счете, к анализу неустойчивостей.

Изложенная в §§ 9.3—9.5 область теоретической физики находится на начальной стадии своего развития. Однако пути этого развития намечены, и понимание добиологической эволюции вышло за пределы качественных спекуляций.

§ 9.6. ТЕОРИЯ ПЕРЕХОДА К БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

В теории Эйгена селекция и эволюция реализуются в системе нуклеиново-белковых гиперциклов. Ответ на вопрос о том, что было ранее — «законодательная» нуклеиновая кислота или «исполнительный» белок — гласит: и то, и другое. Та же схема фигурирует в только что приведенной кинетической модели.

Кун предложил качественную модель происхождения жизни, исходящую из того, что вторая стадия добиологической эволюции началась со сравнительно коротких цепей РНК [55]. Опишем эту модель.

В «первичном бульоне» происходит синтез и распад нуклеотидов. Процессы эти грубо периодичны — за фазой образования следует фаза разложения. Чередование фаз определяется сменой высыхания и увлажнения прибрежного раствора. Однако образовавшиеся нуклеотиды полимеризуются, причем в цепи с равной вероятностью входят правая и левая рибоза. Случайное возникновение цепи, содержащей 20 D-рибозных звеньев, имеет вероятность $(1/2)^{20} = 10^{-6}$.

Упорядоченные, т. е. содержащие лишь один стереоизомер, короткие цепи могут служить матрицами для саморепродукции и они более устойчивы к гидролизу. Тем самым они оказываются способными пережить «фазу вымирания» и реплицироваться дальше. Маловероятные события становятся необходимыми в большой популяции.

Образовавшиеся короткие цепи РНК свертываются в третичные структуры. Мы знаем, что молекулы тРНК обладают компактной третичной структурой [56]. Возникает дивергентная фаза эволюции — набор различных третичных структур пра-РНК, различных мутантов. Среди мутантов имеются более устойчивые к гидролизу. Через некоторое число n периодов синтеза и распада сохраняются и размножатся преимущественно эти мутанты пра-РНК. Условие селекции состоит в том, что следующая ошибка репродукции возникает в среднем не ранее чем через n периодов.

Если Z есть число нормальных молекул, приходящихся на один мутант, то вероятность его появления есть $1/Z$. В n поколениях нет ошибок репродукции. Вероятность появления новой ошибки равна P , т. е. после $1/P$ поколений каждый потомок му-

танта содержит ошибки. Будем считать для простоты, что в $1/P$ поколениях после первого появления выгодного мутанта ошибок нет, а затем они появляются. n есть число поколений, обеспечивающее превращение мутанта в исходную форму. Если $1/P < n$, мутант вымирает. При $1/P > n$ вся популяция становится мутантной. Оптимальная вероятность ошибок репродукции дается условием $1/P = n$, т. е. $Pn = 1$. Пусть число звеньев в цепи РНК $N \approx 50$, что примерно соответствует цепи тРНК. При меньших N молекула подвергается гидролизу, при больших N синтез слишком долг. Положим $Z = 10^6$ и примем, что вероятность выживания выгодного мутанта r вдвое больше вероятности выживания исходной цепи, т. е. $r^n = Z$ или $2^n = 10^6$. Находим $n = 20$. Условие отбора дает $P \leq 1/20$. С другой стороны, $P = N\omega$, где ω — вероятность ошибки в одном основании. При $N = 50$ ω должно быть меньше или равно 10^{-3} . Опыт дает, однако, на порядок большую величину, а именно $\omega \sim 10^{-2}$. Следовательно, должен существовать добавочный механизм отбора. Кун предполагает, что этот механизм обеспечивается образованием и распадом агрегатов молекул пра-РНК. Возникает почти безошибочная репродукция агрегатов, несмотря на частые ошибки в репродукции отдельных молекул РНК. Молекулы с ошибками агрегатов не образуют. Для агрегатов условие селекции достижимо, хотя для отдельных молекул $P = N\omega = 50 \cdot 10^{-2} = 0,5$. С ростом числа репликаций s в фазе синтеза уменьшается доля экземпляров без ошибок и r — фактор преимущества — убывает. Возрастание $P = N\omega s$ и уменьшение r ведут к обострению условий отбора. Они соблюдаются, если n не слишком велико, т. е. r превышает некоторую критическую величину.

Молекулы РНК в агрегатах лучше защищены от гидролиза. Для того чтобы агрегаты образовывались достаточно быстро, подходящие молекулы РНК должны встретиться за время τ , существенно меньшее, чем продолжительность фазы вымирания, которую можно считать равной одному дню. Это может быть достигнуто путем компартиментализации. Если она реализуется в результате попадания молекул пра-РНК в водную среду между частицами глины, занимающую объем порядка размеров клетки $V \sim 10^{-13}$ см³, то время, необходимое для образования агрегата, можно оценить из коэффициента диффузии. По оценке Куна образование линейного агрегата из 20 молекул пра-РНК требует 1 час. Это время может оказаться значительно меньше, если агрегат представляет собой компактную молекулу РНК, служащую для нуклеации агрегата, и присоединенную к ней цепь (пра-мРНК), служащую направляющей для сборки линейного агрегата (рис. 9.6), т. е. для объединения пра-тРНК. В этом случае трехмерная диффузия заменяется одномерной.

Таким образом, в принципе возможен устойчивый отбор агрегатов РНК без участия белков, т. е. без гиперциклов по Эйгену. В модели Куна реализуется ценность информации всей цепи пра-РНК как при возникновении третичной ее структуры, так и при образовании агрегатов.

Предположим далее, что поверхности отобранных линейных агрегатов способны катализировать поликонденсацию активированных аминокислот в пептидные цепи. Это дает селекционные преимущества — агрегаты стабилизируются пептидными молекулами. Ошибки репликации могут оставаться неизменными контактными, каталитическими, участками поверхности. Частицы глины (монтмориллонита) также катализируют образование полипептидов [57].

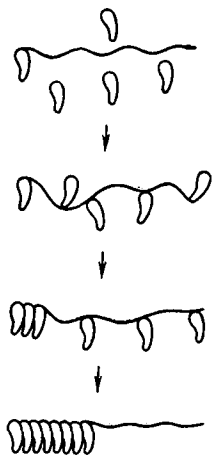


Рис. 9.6. Модель сборки агрегата из молекул пра-РНК по Куну.

Здесь возникает поворотный пункт — системы образуют полипептидные оболочки и становятся поэтому независимыми от внешнего компартмента (см. опыты Фокса по образованию протенноидных микросфер [38]). Линейный агрегат, состоящий из пра-мРНК и пра-тРНК, играет роль пра-рибосомы. Наступает новая конвергентная фаза — система, которая быстрее строит свою оболочку, имеет селекционные преимущества. Без образования оболочки были бы невозможны переходы на следующие ступени эволюции.

Описанная ситуация должна возникать в достаточно больших популяциях пра-РНК.

Пра-рибосомы эволюционируют далее — скорость продукции полипептидов оболочки растет вследствие более точного узнавания аминокислот контактными участками пра-тРНК.

Возникновение кода начинается предположительно с узнавания цепью пра-мРНК частиц пра-тРНК. В начале узнается лишь средний нуклеотид триплета, т. е. имеются четыре сорта пра-тРНК. Узнавание означает лучший контакт между молекулами и способствует сборке агрегата. Тем самым создается код для четырех аминокислот, но он еще не фиксирован. Форма, случайно синтезирующая особенно полезный полипептид, не может еще отбираться из-за частых ошибок репликации. Но если полипептид случайно оказывается РНК-репликазой, то вероятность ошибки может понизиться по оценке Куна с 10^{-2} до 10^{-3} . Такая система имеет автокаталитические свойства и получает селекционные преимущества — увеличенный фактор преимущества при размножении r . Информация, заложенная в специфической последовательности аминокислот, консервируется, и фикс-

сируется код для четырех аминокислот или, что более существенно, для четырех групп аминокислот. Дивергентная фаза эволюции переходит при этом в конвергентную. Происходит селекция систем, синтезирующих полипептиды с избранной последовательностью аминокислотных остатков.

Далее постепенно образуются ферменты — аминоацил-синтетазы для четырех пра-тРНК, что повышает специфичность связывания аминокислот. Как только вероятность ошибки становится меньше критического значения, дальнейшая эволюция происходит с необходимостью. Очевидно, что опасны ошибки в среднем нуклеотиде антикодона. Но после того, как возникла форма, способная к ферментативной репликации с малым числом ошибок, ошибка в антикодоне перестает быть существенной. Каждый индивидуум с такой ошибкой синтезирует неправильный полипептид и в дальнейшей эволюции не участвует.

Таким образом, должен реализоваться переход к системе, служащей новым целям. Аппарат синтеза неспецифических полипептидов, образующих оболочку, улучшается и приводит к системам с полипептидами, обладающими определенными последовательностями остатков. Это означает новые возможности химического поведения. На той же стадии фиксируется хиральность аминокислот. В сущности, создается примитивный организм — пра-клетка.

Последующий отбор означает выживание систем с наилучшими ферментами. Уменьшается вероятность синтеза «бесмысленных» белков. На этом этапе начинает играть роль первый нуклеотид антикодона. Однако эволюции мешает образование комплементарных нитей РНК, не участвующих в синтезе белков. Рано или поздно случайно возникает белок, катализирующий образование ДНК на матрице РНК, что ускоряет размножение. Таким образом, предполагается возникновение РНК-зависимой ДНК-полимеразы. В дальнейшем, после включения ДНК в генетический аппарат, этот фермент более не нужен, но должна функционировать транскриптаза. Цепи ДНК объединяются посредством лигаз, создается геном. Сосредоточение всего информационного плана в ДНК дает селекционные преимущества, так как уменьшаются нарушения синтеза из-за потери тех или иных мРНК и облегчается решение проблем взаимосвязи в структуре системы. Репликация ДНК обеспечивает умножение матрицы и, следовательно, добавочное селекционное преимущество.

В результате перечисленных событий возникает «машина», в которой инструктированные белки «подогнаны друг к другу», как колесики в часовом механизме. Практически каждая ошибка останавливает работу всей системы.

Кун предлагает грубую оценку времени, необходимого для инструктирования 10^3 белков, что соответствует содержанию белков в одной бактериальной клетке.

Заметные селекционные преимущества возникают лишь в тех случаях, когда у вновь инструктируемых белков по крайней мере v мест занято надлежащими остатками. Соответственно $3v$ кодонов должны располагаться правильно (вырождение кода уменьшает это число). Вероятность найти определенное основание в $3v$ местах есть $(1/4)^{3v}$. Следовательно, предельное допустимое число мутаций — одна мутация на $Z = 4^{3v}$ особей. Фактор преимущества r находится из условия $n = \ln Z / \ln r$. Если уже имеется репликационная система, работающая с оптимальной частотой ошибок, то

$$n = 1/P = 1/\omega N$$

и

$$\omega = 1/Nn = (1/N) \ln r / \ln Z.$$

Примем, что каждый добавочный белок дает селекционные преимущества, в частности, повышает шансы на выживание примерно на 20% ($r = 1, 2$). Величина r должна сильно возрастать с v . Допустим, что это возрастание экспоненциально, т. е. $r = \exp(v/a)$. Если при $v = 300$ $r = 1, 2$, то $a = 500$; тогда при $v = 5$ $r = 1,01$. Примем $v = 5$, $N = 10^3$, что соответствует белку из 300 аминокислотных остатков. Следовательно,

$$Z = 4^{15} \approx 10^9, \quad n = \ln 10^9 / \ln 1,01 \approx 10^3, \quad \omega \approx 10^{-6}.$$

Инструктирование всего белка есть процесс оптимизации. Он требует, чтобы сменилось

$$q = N/(3v\omega)$$

поколений (принято, что за $N/(3v)$ последовательных шагов инструктируется v аминокислот, $1/\omega$ — число поколений, соответствующее одной ошибке в каждом кодоне). Находим $q \sim 10^8$ поколений. За это число поколений ДНК удлинняется на 10^3 нуклеотидов. Число поколений, нужных для инструктирования 10^3 белков, равно

$$Q = 10^3 q \sim 10^{11}.$$

Если новое поколение возникает каждые 20 мин, то время, требуемое для эволюции до уровня сложности бактериальной клетки, равно по порядку величины 10^6 — 10^7 лет, если на одно поколение нужны сутки, то оно составляет 10^8 — 10^9 лет. Величина Q слабо зависит от r . Эволюция идет тем быстрее, чем больше популяция, т. е. число Z .

Таким образом, согласно оценкам Куна, эволюция вполне могла осуществиться за время, протекшее с эпохи возникновения жизни на Земле.

Дальнейшая эволюция — возникновение многоклеточных организмов из одноклеточных и возникновение всего многообразия видов — связана с возможностью слияния систем с различными белками. Можно привести соображения в пользу того, что это требовало меньшего времени, чем создание первых клеток (см. ниже). Дальнейшее обсуждение проблем, рассмотренных в изложенной работе Куна, приведено в следующем параграфе. В работе [58] выполнены расчеты, иллюстрирующие описанную модель эволюции.

Чернавский и Чернавская предложили несколько отличную модель [59] (подробное изложение см. в [90]). В этой работе проведен строгий анализ основных положений теории и развита математическая теория самоорганизации макромолекул, химической и биологической эволюции, основанная на анализе устойчивости возникающих состояний системы. В расчетах используется метод фазовых портретов. Важным моментом этой теории является предположение об антагонистических взаимодействиях между равноправными объектами, описываемых уравнением

$$\dot{x}_i = ax_i - b \sum_{j \neq i} x_i x_j, \quad (9.37)$$

где $a, b > 0$. Наличие антагонистических взаимодействий означает нелинейность, которая может вести к эволюции. Анализ уравнений типа (9.37) приводится ниже.

§ 9.7. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ И ЦЕННОСТЬ ИНФОРМАЦИИ

Модельная теория Куна, изложенная в предыдущем параграфе, естественно, не претендует на то, чтобы реконструировать истинный путь эволюции на Земле. Как пишет Кун, задача теории состоит в том, чтобы «описать модель, экспериментальная проверка которой позволяет лучше познать принципы, важные для эволюции» [55]. Эта модель основана на действительно важных принципах. Первый принцип — необходимая реализация маловероятных событий в больших популяциях, размножающихся в открытой системе, далекой от равновесия. Второй принцип — определяющее значение ценности информации при возникновении вторичной и третичной структуры, агрегации и т. д. Третий принцип — организующее значение периодичности, наличие чередующихся стадий синтеза и распада, определяемых сменой дня и ночи. Последний принцип впервые введен в рассмотрение в работе Куна.

Остановимся на втором принципе. Ценность информации, содержащейся в макромолекуле в соответствии с теорией Эйгена, можно представить селективной ценностью, выражаемой через кинетические параметры. Для осуществления эволюции кинетические процессы должны быть автокаталитическими и, тем самым, нелинейными. Здесь важно положение, отмеченное на стр. 494: автокатализ должен определяться узнаванием достаточно протяженной системы мономерных звеньев, а не отдельных звеньев. Только при этом условии селективная ценность обретает смысл ценности информации, заложенной в макромолекулярной цепи.

Ценность информации впервые появляется в модели Куна при рассмотрении селекции D- или L-рибозы, необходимой для образования стереоспецифической цепи пра-тРНК, обладающей определенной вторичной структурой. Тем самым, возникновение хиральности считается очень ранним событием. В принципе появление хиральности можно отнести и к более поздней стадии. Преимущество хиральности для структурирования РНК очевидно, однако необходимо объяснить, каким образом хиральность может быть зафиксирована. Вообще говоря, возможно одновременное образование двух энантиомерных популяций, одна из которых состоит из D-звеньев, а другая — из L-звеньев. В целом система рацемична, подобно, например, месторождению кристаллического кварца, в котором встречаются с равной вероятностью правые и левые кристаллы. Однако при случайном, флуктуационном превышении численности одной развивающейся популяции над другой возможно эволюционное предпочтение первой популяции и ее преимущественное развитие (ср. [33]). Приведем иллюстративные расчеты.

Пусть x_1 и x_2 — числа молекул пра-РНК в системе, построенных соответственно из D- и L-мономеров, обозначаемых m_1 и m_2 . Скорости образования x_1 из m_1 и x_2 из m_2 одинаковы, одинаковы и скорости их распада. Кинетические уравнения, описывающие развитие системы, имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_1 &= \kappa x_1 \omega_1 - \lambda x_1, \\ \dot{x}_2 &= \kappa x_2 \omega_2 - \lambda x_2, \end{aligned} \right\} \quad (9.38)$$

где κ и λ — константы скоростей полимеризации и распада соответственно, а

$$\omega_1 = \frac{m_1}{m_1 + m_2}, \quad \omega_2 = \frac{m_2}{m_1 + m_2}$$

— вероятности встречи матриц 1 и 2 соответственно с мономерами m_1 и m_2 . При любых значениях m_1 и m_2

$$x_1 x_2 = x_1(0) x_2(0) \exp [(\kappa - 2\lambda) t]. \quad (9.39)$$

Система стационарна лишь при $\kappa = 2\lambda$. Условию стационарности отвечает рацемат, $\omega_1 = \omega_2 = 0,5$, т. е. $m_1 = m_2$.

Если концентрация мономеров поддерживается постоянной и свободные мономеры содержатся в большом избытке, то нетривиальное развитие системы возможно при $\kappa > 2\lambda$ и неравенстве $m_1 \neq m_2$ в результате флуктуации. Допустим, без ограничения общности, что

$$\omega_1 = 0,5 + \alpha, \quad \omega_2 = 0,5 - \alpha,$$

где $\alpha = \text{const}$. Тогда из (9.38) получаем

$$\left. \begin{aligned} x_1 &= x_1(0) \exp [(\kappa/2 - \lambda) t] \exp \kappa \alpha t, \\ x_2 &= x_2(0) \exp [(\kappa/2 - \lambda) t] \exp (-\kappa \alpha t) \end{aligned} \right\} \quad (9.40)$$

С течением времени популяция x_1 станет доминирующей:

$$\frac{x_1}{x_2} = \frac{x_1(0)}{x_2(0)} \exp 2\kappa \alpha t.$$

Если мономеры поступают в открытую систему в количествах, пропорциональных их расходованию при полимеризации, т. е. m_1 и m_2 пропорциональны соответственно x_1 и x_2 , то уравнения (9.38) приобретают нелинейную форму

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_1 &= \kappa \frac{x_1^2}{x_1 + x_2} - \lambda x_1, \\ \dot{x}_2 &= \kappa \frac{x_2^2}{x_1 + x_2} - \lambda x_2. \end{aligned} \right\} \quad (9.41)$$

Аналогичные уравнения написаны Аджено [60] для модели, в которой хиральность фиксируется уже на биологической стадии в результате полового размножения и генетического обмена. Решение системы (9.41) имеет вид [60]

$$\left. \begin{aligned} x_1 &= 1/2 \{ [A^2 \exp [2(\kappa - \lambda) t] + 4B \exp [(\kappa - 2\lambda) t]]^{1/2} + A \exp [(\kappa - \lambda) t] \}, \\ x_2 &= 1/2 \{ [A^2 \exp [2(\kappa - \lambda) t] + 4B \exp [(\kappa - 2\lambda) t]]^{1/2} - A \exp [(\kappa - \lambda) t] \}, \end{aligned} \right\} \quad (9.42)$$

где $A = x_1(0) - x_2(0)$, $B = x_1(0)x_2(0)$. Условие (9.39), конечно, соблюдается. Если $x_1(0) > x_2(0)$, т. е. $A > 0$, то при $\lambda < \kappa < 2\lambda$ с течением времени $x_1 \rightarrow \infty$, $x_2 \rightarrow 0$, при $2\lambda < \kappa$ $x_1 \rightarrow \infty$, $x_2 \rightarrow \infty$, но $x_1/x_2 \rightarrow \infty$. При $\kappa < \lambda$ $x_1 \rightarrow 0$, $x_2 \rightarrow 0$.

Мы видим, что вопреки утверждениям работы [60] отбор энантиомеров в принципе возможен и на добиологической стадии.

Другая модель, предложенная Франком [61] и Зеелигом [62], исходит из антагонистичности взаимодействий — встреча D- и L-цепей означает их гибель, неспособность к дальнейшему размножению. Нелинейные уравнения в этом случае имеют вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_1 &= \kappa x_1 - \lambda x_1 x_2, \\ \dot{x}_2 &= \kappa x_2 - \lambda x_1 x_2. \end{aligned} \right\} \quad (9.43)$$

Условия $\dot{x}_1 = \dot{x}_2 = 0$ дают стационарные значения $x_1^0 = x_2^0 = \kappa/\lambda$. Это неустойчивое решение типа седловой точки на плоскости x_1, x_2 (см. стр. 401). В зависимости от начальных условий будет нарастать содержание x_1 или x_2 и, соответственно, падать содержание x_2 или x_1 .

Как уже указывалось на стр. 509, уравнения типа (9.43) используются в теории происхождения жизни, предложенной в работах [59] для объяснения селекции первичного кода, и при рассмотрении последующих этапов эволюции.

Проведенное здесь рассмотрение проблемы хиральности полезно для понимания информационных аспектов эволюции. Хиральность дает количество информации, равное одному биту на звено, т. е. N бит в цепи из N звеньев. Однако суть дела заключается не в количестве информации, а в ее ценности для развития, находящей свое выражение в иллюстративных уравнениях (9.40) или (9.42). Во всех этих моделях ценность хиральности предполагалась абсолютной в том смысле, что размножаются лишь цепи, построенные из звеньев одинаковой хиральности. Можно представить себе иную ситуацию, в которой размножаются цепи с разным содержанием D- и L-звеньев, но полностью хиральные цепи обладают максимальной селективной ценностью. В этом случае применима теория Эйгена, модифицированная таким образом, чтобы учесть ценность информации, необходимой для формирования третичной структуры цепи.

Значение ценности информации при образовании вторичной и третичной структуры РНК проявляется не только в молекулах тРНК. В работе Шпигельмана по эволюции Q β -РНК *in vitro* (см. стр. 497) были изолированы реплицирующиеся молекулы РНК, содержащие 218 нуклеотидов [63]. Удалось определить полную последовательность звеньев как в основной цепи этой РНК, так и в ее реплике (комплементарной цепи), и прийти к определенным представлениям о вторичной структуре [64].

Надо отметить, что качественные представления, близкие к идеям Эйгена и Куна, были выдвинуты независимо в работе Шноля [65]. Шноль определяет кинетическое совершенство биологической эволюционирующей системы как меру эффективности использования свободной энергии для синтеза объектов эволюции, как меру скорости синтеза, степени изменчивости и

устойчивости и совершенства воспроизведения вариантов структуры, возникающих в результате флуктуаций. Эти слова не содержат физических определений, но Шноль справедливо исходит из доминирующей роли кинетических, а не термодинамических закономерностей в эволюции. Правда, в дальнейшем изложении Шноль отходит от этого принципа и пытается трактовать матричный синтез биополимеров на термодинамической, а не на кинетической основе: «процесс соединения мономеров в цепь должен быть эндергоническим, поскольку, будь этот процесс экзергоническим, способность к самопроизвольному соединению мономеров приводила бы к чрезмерно частым ошибкам в порядке чередования мономерных звеньев в полимерной цепи». Это утверждение более чем спорно, оно не учитывает ни кинетики процесса, ни особенностей его протекания в открытой системе.

Шноль вводит в рассмотрение понятие предельно совершенной системы. На добиологическом этапе предельное совершенство означает максимальную возможную скорость преобразования веществ окружающей среды в синтезируемые цепи. Матрица действует как предельно совершенный катализатор, направляющий процесс по уникальному маршруту реакции и обеспечивающий его максимальную скорость.

По существу, количественное выражение сходных представлений дано в изложенных выше теориях, надо думать, не единственно возможных.

Проведем общее рассмотрение информационных аспектов эволюции. Следуя за Шмальгаузенем [66—68], определим основные понятия, которыми оперирует теория биологической эволюции.

Материальной основой биологической эволюции являются наследственность и мутационная изменчивость. Регулирующий механизм эволюции — естественный отбор, определяемый, согласно Дарвину, взаимодействием организма с внешней средой. Действие этого механизма состоит в борьбе за существование, приводящей к отбору наиболее приспособленных особей. Внешней средой, регулятором, является биогеоценоз [3]. Наименьшей эволюционирующей системой является популяция особей, принадлежащих к данному виду. Популяция есть объект, управляемый регулятором — биогеоценозом.

Шмальгаузен предложил кибернетическую трактовку этих регуляторных взаимоотношений [66, 67]. Биогеоценоз получает «информацию» о состоянии популяции посредством неких «обратных связей» и, тем самым, «включает в себя специфический механизм преобразования этой информации в управляющие сигналы и средства передачи последних на популяцию» [67]. Соответствующая схема показана на рис. 9.7.

Наследственная информация передается от предыдущего поколения к последующему только после ее преобразования в биогеноценозе. Сама популяция является неотъемлемой частью биогеноценоза. Механизм наследственной передачи содержится в отдельных особях, а изменения биогеноценоза относятся к популяции в целом. Информация об этих изменениях передается через размножение отбираемых особей, потомство которых влияет в ту же популяцию. Популяция меняется, эволюционирует, но информация об этом изменении передается через размножение особей.

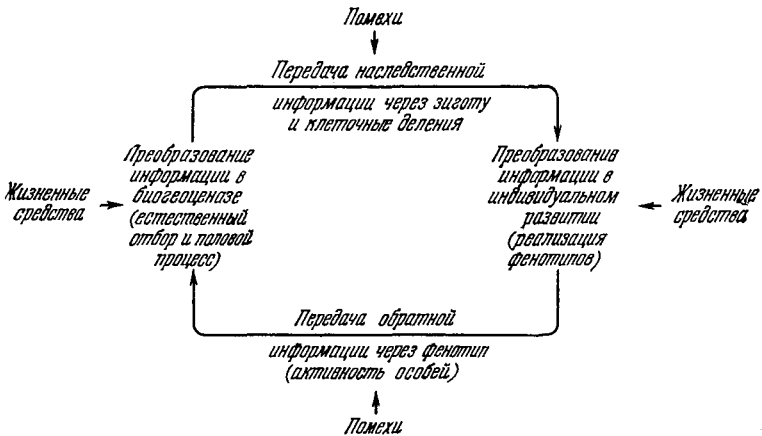


Рис. 9.7. Общая схема регулирующего механизма эволюции по Шмальгаузену.

Термин «информация» употребляется здесь не в количественном смысле, и концепция Шмальгаузена имеет чисто биологический, но не физический характер. Шмальгаузен подчеркивал, что для эволюции существенно не количество информации, содержащееся в хромосоме, клетке, особи, популяции, но качество, или ценность, информации. «Во всех случаях, когда проводится сравнение и отбор информации, это происходит на основе их оценки по качеству... В биологии основное значение приобретает качественная оценка информации» [66].

Эти положения согласуются с физической теорией эволюции, исходящей из понятия ценности информации (селективная ценность по Эйгену). Попытаемся дать характеристику ценности (качества, содержания) информации (см. стр. 94, 510) [91].

Ценность информации, содержащейся в каком-либо сообщении, определяется результатами рецепции этого сообщения некоторой системой [91, 92]. Тем самым, ценность должна определяться применительно к рецепторной системе, к процессу, в ней

программируемому. Соответственно информация имеет ценность лишь в неравновесных условиях — в равновесии рецепции информации нет. Рецепторная система является открытой по отношению к поступающей информации. Рецепция информации означает переход рецепторной системы из неустойчивого в одно из устойчивых состояний (которое может быть и равновесным). Таким образом, ценность информации определяется неравновесностью и неустойчивостью рецепторной системы.

В результате внесения в цитоплазму информационной молекулы мРНК синтезируется белковая цепь. Система неустойчива и обладает громадным числом устойчивых состояний — в зависимости от внесенной мРНК в системе будет транслироваться тот или иной «текст». Если цепь мРНК содержит N нуклеотидов, то количество информации в ней на уровне «текста» равно $\log_2 4^N = 2N$ бит. На том же уровне синтезируемая белковая цепь содержит информацию, равную $\log_2 20^{N/3} = 1,44 N$ бит. Уменьшение количества информации при рецепции определяется вырождением кода. На данном уровне рецепции совместно вырожденные кодоны считаются тождественными. Как мы увидим, на другом уровне рассмотрения, учитывающем последствия мутаций, это уже не так (см. § 9.8).

Далее «текст» первичной структуры белка транслируется в пространственную функциональную структуру. При этом аминокислотные остатки, близкие по гидрофобности (см. [7], § 4.6), оказываются взаимозаменяемыми. На этом уровне рецепции происходит дальнейшее уменьшение количества информации. Вследствие взаимозаменяемости близких по функции белков (например, протеаз) ее количество уменьшается еще сильнее на уровне рассмотрения функциональности белка.

Ценность на одном уровне отличается от ценности на другом уровне. Яркий пример такой же свертки информации дает язык. При переходе от информации, записанной буквами (безотносительно к природе и смыслу текста), к информации, учитывающей корреляции между буквами и словами, и, наконец, к осмысленному тексту все большая часть информации оказывается избыточной (см. [93], гл. IV).

Таким образом, уровень рецепции является важнейшей характеристикой ценности информации. Именно избыточная информация имеет ценность на данном уровне рецепции, и, следовательно, мерой ценности может служить количество избыточной информации. Закон сохранения, связывающий энтропию и информацию

$$I + S = \text{const} = I_{\max} = S_{\max},$$

справедлив лишь при условии, что I и S определяются на одном и том же уровне. Смысл этого закона состоит в том, что энтро-

пия означает информацию, которой не хватает для полного описания системы. При возрастании I убывает S и наоборот (см., например, [69, 94]). Величины I и S имеют здесь макроскопический смысл. Так, при испарении жидкости исчезает макроскопическая информация о местонахождении молекул в определенной части фазового пространства. Соответственно возрастает S . Макроскопическая информация превращается в микроскопическую информацию, например, в информацию о корреляциях между скоростями молекул в газе, возникающих при их соударениях. Но это уже не информация — ее нельзя ни зарегистрировать, ни «запомнить» вследствие неустойчивостей, определяемых соударениями, которые и рожают энтропию (см. стр. 86).

Фазовое пространство системы содержит устойчивые и неустойчивые области. Через последние проходят сепаратрисы. Устойчивым областям отвечает информация, неустойчивым — энтропия. Для макроскопических систем при достаточно высокой температуре фазовый объем неустойчивых областей значительно больше, чем устойчивых.

Возникновение информации (в отличие от трансляции полученной информации) определяется возможностью выбора пути перехода из неустойчивого состояния в одно из нескольких устойчивых. Система, творящая информацию, должна обладать множественными стационарными состояниями (см. стр. 492). Это — диссипативная система, в которой малые флуктуации возрастают до макроскопического уровня. Такими системами являются и Вселенная в целом, и Солнечная система, и Земля, и биосфера, и человек в своей творческой деятельности.

Рецепция информации может происходить двумя путями. Во-первых, как в приведенном примере с мРНК, рецепторная система может приобретать и перекодировать, транслировать, информацию. Во-вторых, малое количество информации, воздействующей на триггерную систему, может индуцировать создание новой информации. Оба процесса необратимы, в обоих случаях рецепторная система неравновесна и неустойчива. Но аналитическое рассмотрение ценности информации возможно лишь в первом случае [95].

Финализм в биологии (см. [7], § 1.2) исходит из рассмотрения цели — готовности системы к восприятию информации, т. е. к переходу в устойчивое состояние путем трансляции поступившей информации. Наличие цели означает неустойчивость. Свобода воли, свойственная высшим животным и человеку, означает возможность выбора пути к одному из многих устойчивых состояний. Любой вид творчества есть результат выбора [91, 92, 96].

Утверждение Шредингера о том, что организм есть аperiodический кристалл, — не только констатация конденсированного

состояния и аperiodичности. Аperiodическая система содержит значительно большее количество ценной неизбыточной информации, чем эквивалентная периодическая система. Весь аperiodический кристалл является одной «элементарной ячейкой».

Итак, ценность информации определяется неравновесностью и неустойчивостью рецепторной системы и уровнем рецепции, причем ценна лишь неизбыточная информация. Рецепция информации есть необратимый процесс. Можно определить количественно ценность информации как повышение вероятности достижения некоторой цели в результате получения сообщения ([96], см. также [97, 98]).

Восприятие художественного произведения, т. е. текста, одномерного во времени (литература, музыка), двумерного или трехмерного в пространстве (соответственно живопись и скульптура), означает рецепцию ценной информации, программирующей эмоции и мысли рецептора [92]. Неустойчивость здесь выражается в готовности к восприятию текста, уровень рецепции связан с «тезаурусом», т. е. с запасом предварительной информации у рецептора. Сложность проблемы состоит в том, что восприятие художественного произведения содержит оба элемента — и трансляцию получаемой информации, и создание новой информации в ходе ассоциативных процессов (эмоциональных и интеллектуальных). Последнее именуется *сотворчеством*.

Опираясь на понятие свертки информации путем отсева избыточной информации, можно считать, что ценность информации, содержащейся в элементе какого-либо сообщения, тем больше, чем больше последствия замены данного элемента для рецепторной системы. В этом смысле ценность слова в научном тексте значительно ниже, чем в тексте художественном. Одно и то же научное положение можно выразить многими способами без изменения его содержания. Напротив, замена слова в стихотворении даже синонимом резко изменяет структуру стиха [92]. На этой основе в следующем параграфе рассмотрена ценность информации в кодонах.

Согласно теориям Эйгена и Куна, химическое и биологическое развитие, т. е. эволюция, идут в направлении возрастания ценности информации, определяемой как селективная ценность. Однако констатация этого положения в модельных теориях еще не означает решения проблемы, т. е. построения количественной физической теории.

Очевидно, что эволюция не могла бы проходить в обозримые сроки, если бы она состояла в непрерывном переборе любых мутантных форм. Все известное нам сейчас о функционировании геномов эукариотов свидетельствует о том, что на данном этапе эволюционного развития возможен большой, но ограниченный набор мутаций, который сужается в ходе дальнейшей эволюции,

но не беспредельно. В этом смысле эволюция есть стохастический процесс. Реализуются цепи Маркова, описываемые стохастическими матрицами, содержащими множество нулей (см. [46]). Иными словами, если какое-либо событие уже осуществилось, то вероятности многих последующих событий, которые до того были принципиально возможны, становятся исчезающе малыми. Сама стохастическая матрица эволюционирует в направлении сужения набора реализуемых мутаций.

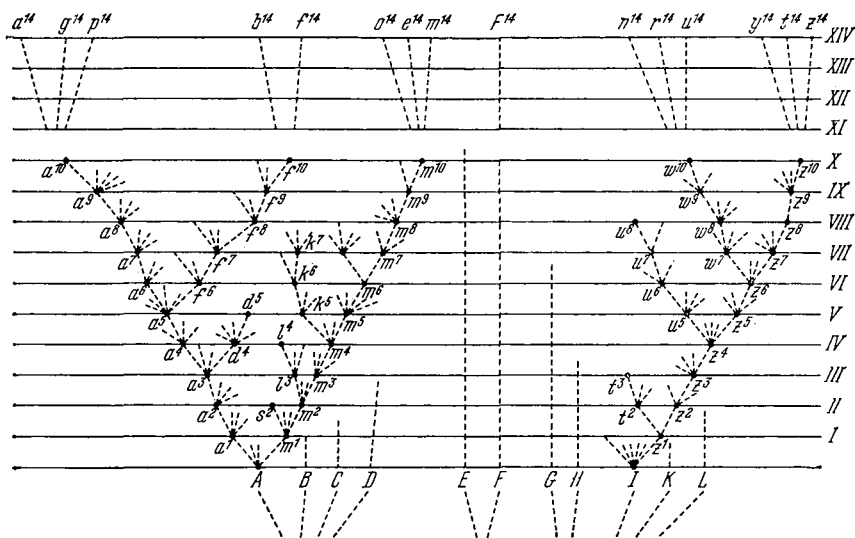


Рис. 9.8. Схема происхождения видов по Дарвину.

A, B, ..., L—виды обширного рода. Пунктирные линии, выходящие из *A* и *I*,—меняющиеся потомки этих видов. Промежутки между горизонтальными линиями отвечают 1000 или большему числу поколений. *a*¹, *m*¹ и т. д.—ясно обозначившиеся разновидности. *a*¹⁰, *f*¹⁰, *m*¹⁰—новые виды и т. д., *F*¹⁴—вид, сохранившийся без изменений.

Вследствие полового размножения мы имеем дело с сетью цепей Маркова. Каждая особь наследует мутировавшие признаки от двух родителей, четырех прауродителей и т. д. и оставляет при спаривании с другой особью ряд потомков. Тем самым, родство особей имеет сетчатый характер в пределах вида. Повышение ценности информации, выражающееся в элиминации большого числа вариантов, приводит к физиологической изоляции особей, к возникновению видов. Общая схема происхождения видов, данная Дарвином [5], показана на рис. 9.8. В ней уже отражены описываемые здесь взаимоотношения. «Сетевой» характер взаимоотношений между эволюционирующими организмами показан на схемах Шмальгаузена [68] (рис. 9.9). Обособление видов означает элиминацию промежуточных форм и определяет темп

эволюции, значительно более быстрый, чем на ранних стадиях химической и биологической эволюции, предшествовавших биологическому видообразованию. Можно предположить, что разветвление эволюционного дерева при видообразовании имеет смысл повышения ценности генетической информации вследствие все большей ее незаменимости. Сравнение ценности и количества информации в конечных ветвях эволюционного дерева затруднительно — в этом отношении млекопитающее столь же совершенно и развито, как насекомое.

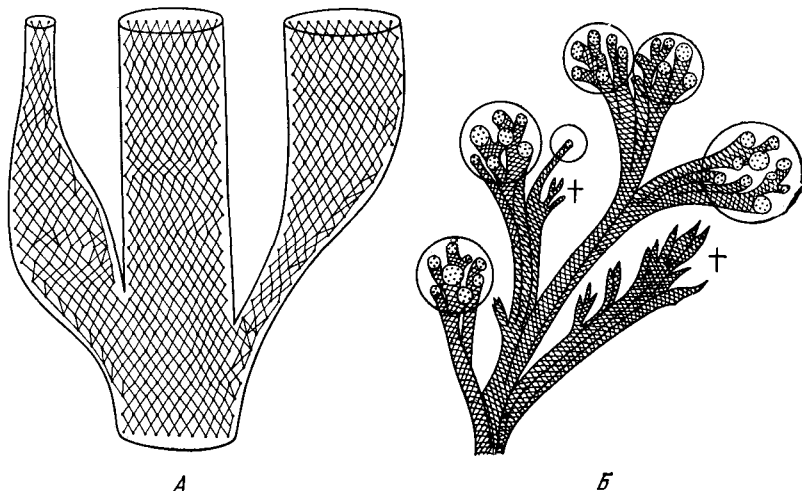
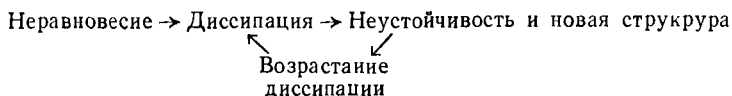


Рис. 9.9. Схемы, показывающие формы реального родства близких организмов по Шмальгаузену.

А. Обособление трех видов, из которых один (в центре) биологически стабилен, второй (справа) биологически прогрессивен, третий (слева) находится на пути к вымиранию. Особи обозначены точками, поколения — последовательными рядами точек. Б. Родство шести родов с различным числом видов. Имеются вымершие виды и роды, обозначаемые крестом.

Иллюстрируем важнейший для эволюции процесс элиминации большинства вариантов внешней аналогией. Шахматист в поисках наилучшего хода в данном положении не перебирает все возможные ходы, удовлетворяющие правилам игры, но отбрасывает подавляющее большинство ходов сразу. Выбор идет всегда между небольшим числом ходов, согласующихся с «условиями среды», т. е. со сложившейся на доске позицией.

Развитие партии, подобно биологическому развитию, основывается на наличии обратных связей между результатами развития и граничными условиями. Согласно [132] реализуется схема



По мере развития партии число возможных вариантов убывает. Начать партию можно многими способами, но в эндшпиле выбор хода почти однозначен.

Аналогия эта, конечно, очень условна. Эволюционирующая популяция обязательно содержит много вариантов, находящихся в согласии с условиями существования. Изменчивость всегда представлена в достаточно широких пределах (см. [99]). Именно этим обеспечивается возможность естественного отбора в результате изменений условий среды. Соответственно, достаточно широкое разнообразие вариантов в пределах вида поддерживается на всех этапах эволюции.

В действительности, поскольку нет «высшего разума», играющего эту партию, более перспективны аналогии с играми, основанными на случайных процессах [83].

Эволюция определяется поведением не только популяции, но биоценоза как целого. «Канализация» эволюции возникает в результате взаимодействия всех популяций растений и животных в данном биоценозе. Мутабельности взаимодействующих видов взаимно связаны. Переходя от стохастического рассмотрения к детерминистическому, основанному на решении дифференциальных уравнений, мы встречаемся с изменениями во времени не только переменных, описывающих популяции, но и соответствующих граничных условий, в свою очередь зависящих от этих переменных. При этом кинетические уравнения должны решаться с учетом запаздывания — состояние данной популяции зависит от числа актов размножения. В § 9.11 рассмотрены некоторые системы такого типа.

Генетические механизмы определяют оптимальную мутационную устойчивость эволюционирующей популяции. Рассмотрение генетических механизмов, проблем популяционной генетики выходит за рамки данной книги. Этим вопросам посвящена фундаментальная монографическая литература (см. [70—73]).

Здесь высказаны лишь некоторые качественные соображения. Количественная теория эволюции, основанная на информационных подходах, еще не построена.

Представления, изложенные в этом и предыдущих параграфах, раскрывают смысл «антиэнтропийности» живых организмов. Суть дела состоит не в том, что живые системы имеют высокую упорядоченность, как это считал Моно [74]. Упорядочены и кристаллы, и упорядоченность организма, выраженная в энтропийных единицах, невелика (см. стр. 92). Организм отличается от кристалла тем, что, будучи сложной открытой системой, находящейся вдали от равновесия, он обладает информационной структурой, развивающейся в пространстве и времени. Живой организм характеризует на всех уровнях строения «память», он «помнит» о своем филогенезе и онтогенезе. Соответ-

ственно, понятие энтропии и эквивалентное ему понятие количества информации недостаточны для описания живых систем. Именно в этом смысле организм можно считать «антиэнтропийным». Термодинамика оказывается недостаточной с того момента, когда для процесса становится существенным не количество, но ценность информации. Согласно теориям Эйгена и Куна этот момент наступает на стадии образования информационных макромолекул в добиологической эволюции. Конечно, в то же время нет никакого противоречия между существованием и развитием жизни и вторым началом термодинамики.

§ 9.8. ЦЕННОСТЬ ИНФОРМАЦИИ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

Рассмотрим в связи с изложенным количество и ценность информации в кодонах [75]. Информация (количество информации) любого из 61 функциональных кодонов, определяемая безотносительно к кодированию аминокислотного остатка, равна $\log_2 61 = 5,93$ бита. Информация канонического аминокислотного остатка, вычисленная без учета кодирования, равна $\log_2 20 = 4,32$ бита. Информация кодона применительно к процессу кодирования или, что то же, информация остатка, вычисляемая с учетом вырождения, различна для разных кодонов или остатков. Она равна $\log_2(61/a)$, где a — степень вырождения кодона, принимающая значения 1, 2, 3, 4, 6. Соответственно получаем 5,93, 4,93, 4,35, 3,93, 3,35 бита. Кодоны АУГ (Met) и УГГ (Trp), будучи невырожденными, имеют наибольшую информацию 5,93 бита, наименьшая информация 3,35 бита отвечает шестикратно вырожденным триплетам, кодирующим Arg, Ser и Leu. Средняя информация, приходящаяся на кодон или на аминокислотный остаток, вычисляется по формуле Шеннона и составляет

$$-\sum_{i=1}^{20} \frac{a_i}{61} \log_2 \frac{a_i}{61} = 4,14 \text{ бита.}$$

Естественно, что эта величина меньше $\log_2 20$, так как кодовый словарь определяет неодинаковые вероятности появления различных остатков вследствие различного их вырождения. Отметим попутно, что средняя информация, приходящаяся на букву русского текста, равна 4,35 бита, на букву английского текста — 4,03 бита, т. е. весьма близка к найденным для «аминокислотного текста».

Ценность информации, содержащейся в нуклеотидном триплете, должна определяться применительно к кодированию аминокислотного остатка, к программированию синтеза белка. Информация, приходящаяся на один нуклеотид, равна $\log_2 4 =$

= 2 бита. Определим ее ценность как биологическую значимость замены данного нуклеотида другим. «Ценность» нуклеотида тем выше, чем сильнее меняет свойства синтезируемого белка замена аминокислотного остатка, отвечающая мутационной замене нуклеотида. Очевидно, что определяемая таким образом ценность информации нуклеотида зависит от его положения в кодоне *хуз*. При замещениях *z* в 61 функциональном кодоне лишь 28% приводят к изменению аминокислотного остатка. При замещениях *x* остаток меняется в 95% и при замещениях *y* в 100% случаев. Следовательно, информационная ценность нуклеотида меньше всего для *z* и больше всего для *y*. Здесь, однако, нет количественной оценки.

Мутационные замены аминокислотных остатков неравнозначны в отношении влияния на пространственную структуру белка и на его биологическую функцию. Изменения структуры и нарушения функции, вообще говоря, наиболее значительны, если мутация изменяет класс остатка — гидрофобный остаток заменяется на гидрофильный и наоборот. Показано, что кодовый словарь обеспечивает уменьшенную вероятность таких опасных мутаций по сравнению с мутациями, не сопровождающимися изменением класса остатков ([7], § 9.7, [76—78]). Конечно, разделение остатков на гидрофобные и гидрофильные условно, необходимо характеризовать остаток количественной мерой гидрофобности. В качестве этой меры Тенфорд предложил величину изменения свободной энергии, приходящуюся на боковую группу свободной аминокислоты при переносе из этанола в воду [79]. Эти значения указаны в табл. 9.2.

Будем считать, что опасность мутации для биологической функции белка тем больше, чем больше разность гидрофобностей исходного остатка с остатка, получаемого в результате мутационного замещения. Средние разности гидрофобностей при однократных замещениях нуклеотидов в кодоне *хуз* равны для *x* 1,00, для *y* 1,28 и для *z* 0,34 ккал/моль. В среднем по всем трем нуклеотидам получаем 0,87, что существенно меньше 1,22 ккал/моль — средней разности гидрофобностей при произвольном замещении любого остатка на любой, вычисляемой без учета кодирования. Величина 0,87 согласуется с опытом: для 70 мутантов гемоглобина человека имеем 0,83, для 6 цитохромов с разных видов 0,90 и т. д. Код уменьшает разность гидрофобностей, отвечающую мутациям.

Определим относительную ценность информации кодона как сумму средних разностей гидрофобностей, возникающих при всех однократных замещениях *хуз*. Считаем наиболее ценным кодон, мутации которого сильнее всего меняют гидрофобности аминокислотных остатков. Таковым оказывается УГГ, кодирующий Трп. В табл. 9.2 приведены количества информации в

Таблица 9.2

Таблица генетического кода

| $\frac{H}{x}$ | A | Ц | Г | У | z |
|---------------|--|--|--|--|------------------|
| A | Лиз 1,50 4,9 3,5 Асп 0,01 4,9 3,9 Лиз 1,50 4,9 2,9 Асп 0,01 4,9 3,9 | Тре 0,44 3,9 { 2,6 2,1 1,7 2,1 | Арг 0,73 3,4 1,9 Сер 0,04 3,4 2,0 Арг 0,73 3,4 2,0 Сер 0,04 3,4 2,0 | Иле 2,97 4,4 3,4 Иле 2,97 4,4 4,1 Мет 1,30 5,9 3,1 Иле 2,97 4,4 4,1 | A Ц Г У |
| Ц | Глн 0,10 4,9 4,2 Гис 1,40 4,9 3,2 Глн 0,10 4,9 4,2 Гис 1,40 4,9 3,2 | Про 2,60 3,9 { 3,8 3,3 3,8 3,3 | Арг 0,73 3,4 { 1,8 1,9 2,5 1,9 | Лей 2,42 3,4 { 1,8 1,5 2,1 1,5 | A Ц Г У |
| Г | Глу 0,55 4,9 1,4 Асп 0,54 4,9 1,6 Глу 0,55 4,9 1,4 Асп 0,54 4,9 1,6 | Ала 0,63 3,9 { 1,6 1,6 1,6 1,6 | Гли 0,00 3,9 { 1,7 1,4 2,5 1,4 | Вал 1,69 3,9 { 2,2 2,3 1,9 2,3 | A Ц Г У |
| У | Тир 2,87 4,9 4,0 Тир 2,87 4,9 4,0 | Сер 0,04 3,4 { 3,6 3,2 3,9 3,2 | Цис 0,65 4,9 3,2 Три 3,00 5,9 6,6 Цис 0,65 4,9 3,2 | Лей 2,42 3,4 3,0 Фен 2,65 4,9 2,3 Лей 2,42 3,4 2,3 Фен 2,65 4,9 2,3 | A Ц Г У |

Первое число — гидрофобность в ккал/моль, второе — количество информации в битах, третье — ценность информации в ккал/мол.

битах (второе число) и определенные указанным способом ценности информации в ккал/моль (третье число).

Ясно, что приведенные значения ценности информации не должны коррелировать со значениями ее количества. Триплеты, кодирующие одну и ту же аминокислоту, могут иметь различную ценность.

Если справедливо предположение Куна о том, что первоначальное кодирование в добиологической эволюции определялось только нуклеотидом y и, соответственно, различались только четыре группы аминокислот (см. стр. 504), то ценность информации кодона должна была возрастать в ходе эволюции.

Ясно, что приведенное определение ценности информации кодона условно и оценки в табл. 9.2 имеют главным образом иллюстративный характер. Они не учитывают роли ряда факторов, участвующих в синтезе белка. Во многих случаях любая замена некоторых аминокислотных остатков в белке полностью нарушает его функцию. Бачинский провел анализ аминокислотных замен в изофункциональных белках и оценил на этой основе функциональную близость аминокислот, т. е. их способность замещать друг друга в белках с сохранением последними их активности [100].

Если воспользоваться его оценками, то условные ценности кодонов естественно окажутся отличными от приведенных в табл. 9.2. В табл. 9.3 приведены эти значения в условных единицах. Очевидно, что они имеют смысл эмпирических. Ценность кодона тем выше, чем реже встречается замена соответствующего аминокислотного остатка. По-прежнему наибольшей ценностью обладает кодон УГГ (Трп), второй по ценности — кодон АУГ (Мет).

Рассмотрим теперь относительные ценности кодонов, которые могут превращаться в терминальные кодоны УАА, УАГ и УГА в результате точечных мутаций [101]. Эти наиболее опасные мутации, приводящие к обрыву белковой цепи, летальны, если они не супрессированы. Имеется 23 таких мутационных замещений. Точечные мутации в кодонах разделяются на *транзиции* (замены нуклеотидов с сохранением их класса $A \rightleftharpoons G$, $U \rightleftharpoons C$) и *трансверсии* (замены пурина на пиримидин и наоборот: $U, C \rightleftharpoons A, G$). Среди 23 терминальных мутаций (nonsense mutations) 18 трансверсий и лишь 5 транзиций. В работе Джукса [102] приведены данные, относящиеся к 250 спонтанным мутациям глобинов и других белков. Из них — 32 неидентифицированные трансверсии. Общее число трансверсий 138, транзиций 112, отношение этих чисел $q = 1,23$. Это не означает, что их средние вероятности близки друг другу. Если бы вероятности транзиций и трансверсий были одинаковы, то число последних должно было бы превышать число первых не менее чем вдвое,

Таблица 9.3

Эмпирические ценности кодонов в условных единицах

| $x \backslash y$ | А | Ц | Г | У | z |
|------------------|--|---|---|---|------------------|
| А | Лиз 1,35 Асн 1,31 Лиз 1,35 Асн 1,31 | Тре $\left\{ \begin{array}{l} 0,76 \\ 0,75 \\ 0,79 \\ 0,75 \end{array} \right.$ | Арг 1,07 Сер 1,32 Арг 1,09 Сер 1,32 | Иле 0,95 Иле 0,98 Мет 3,33 Иле 0,96 | А Ц Г У |
| Ц | Гли 1,52 Гис 1,79 Гли 1,52 Гис 1,79 | Про $\left\{ \begin{array}{l} 0,85 \\ 0,87 \\ 0,85 \\ 0,87 \end{array} \right.$ | Арг $\left\{ \begin{array}{l} 0,69 \\ 0,88 \\ 0,69 \\ 0,88 \end{array} \right.$ | Лей $\left\{ \begin{array}{l} 0,64 \\ 0,79 \\ 0,66 \\ 0,79 \end{array} \right.$ | А Ц Г У |
| Г | Глу 1,23 Асп 1,25 Глу 1,23 Асп 1,25 | Ала $\left\{ \begin{array}{l} 0,69 \\ 0,69 \\ 0,69 \\ 0,69 \end{array} \right.$ | Гли $\left\{ \begin{array}{l} 0,80 \\ 0,76 \\ 0,80 \\ 0,76 \end{array} \right.$ | Вал $\left\{ \begin{array}{l} 0,71 \\ 0,75 \\ 0,76 \\ 0,75 \end{array} \right.$ | А Ц Г У |
| У | — Тир 1,92 — Тир 1,92 | Сер $\left\{ \begin{array}{l} 0,78 \\ 0,77 \\ 0,73 \\ 0,78 \end{array} \right.$ | — Цис 2,56 Трп 20,00 Цис 2,56 | Лей 1,04 Фен 1,52 Лей 1,06 Фен 1,52 | А Ц Г У |

так как каждый пурин может быть замещен двумя пиримидинами и лишь одним пурином и наоборот. Для нахождения относительных вероятностей трансверсий и транзиций необходимо найти их возможные числа согласно кодовой таблице. Всего возможно $64 \times 9 = 576$ однократных замещений в кодонах. Из них в 50 замещениях фигурируют терминальные кодоны и 134 замены не меняют кодируемый аминокислотный остаток. Остаются 392 мутации (missense mutations), которые в принципе могут быть наблюдаемы. Из них 176 трансверсий и 116 транзиций. Их отношение равно $p = 176/116 = 2,37$. Находим средние относительные вероятности трансверсий ω и транзиций $1 - \omega$ из формулы

$$\frac{\omega}{1 - \omega} p = q.$$

Получаем $\omega = 0,34$, $1 - \omega = 0,66$. Транзиции в среднем вдвое более вероятны, чем трансверсии.

При рассмотрении эволюционных изменений в глубинах было найдено 293 транзиции и 548 трансверсий [103]. В этом случае $q = 1,87$ и $\omega = 0,44$. Факторы, связанные с естественным отбором, повышают значение ω .

Таблица 9.4

Числа наблюдаемых мутаций n_m , числа мутаций n_k , следующие из кодового словаря, и относительные вероятности замещений w_i

| Замещающий нуклеотид | Замещающий нуклеотид | | | | | | | | | | | |
|----------------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | А | | | Г | | | Ц | | | У | | |
| | n_m | n_k | w_i | n_m | n_k | w_i | n_m | n_k | w_i | n_m | n_k | w_i |
| А | — | — | — | 36 | 31 | 0,17 | 17 | 33 | 0,08 | 9 | 32 | 0,04 |
| Г | 39 | 31 | 0,18 | — | — | — | 15 | 38 | 0,06 | 16 | 35 | 0,07 |
| Ц | 17 | 33 | 0,08 | 13 | 38 | 0,05 | — | — | — | 17 | 27 | 0,09 |
| У | 8 | 32 | 0,04 | 11 | 35 | 0,05 | 20 | 27 | 0,11 | — | — | — |

Оценим теперь относительные вероятности отдельных замещений в кодонах мРНК. Данные о мутациях n_m из работы [102] приведены в табл. 9.4. Неидентифицируемые трансверсии здесь

Таблица 9.5

Вероятности замещений нуклеотидов в 5S РНК

| | →А | →Г | →Ц | →У |
|-----|------|------|------|------|
| А → | — | 0,10 | 0,06 | 0,05 |
| Г → | 0,12 | — | 0,06 | 0,09 |
| Ц → | 0,06 | 0,06 | — | 0,20 |
| У → | 0,03 | 0,04 | 0,12 | — |

не учитываются. Всего имеется 218 мутаций. В табл. 9.4 приведены также данные кодовой таблицы (n_k). Сравнивая значения n_m и n_k , находим относительные вероятности отдельных замещений w_i :

$$w_i \frac{n_k}{392} = \frac{n_m}{218}.$$

w_i характеризуют белки, а не кодирующие их молекулы ДНК и мРНК. Летальные мутации, приводящие к значительным изменениям структуры и функции белка, не наблюдаются.

В работе [104] были систематизированы данные о точечных мутациях непосредственно в нуклеиновой кислоте — в 5S рибосомальной РНК ряда организмов.

В табл. 9.5 приведены нормированные значения соответствующих вероятностей замещений.

Согласно табл. 9.5, средние относительные вероятности трансверсий и транзиций находятся из соотношения

$$\frac{w}{1-w} 2 = q \equiv \frac{0,06 \cdot 4 + 0,05 + 0,09 + 0,03 + 0,04}{0,10 + 0,12 + 0,20 + 0,12} \equiv 0,83,$$

т. е. $\omega = 0,29$, что меньше значения, найденного из данных о мутациях в белках. Сравним табл. 9.5 и 9.4. Главное различие состоит в том, что вероятности транзиций $A \rightarrow G$ и $G \rightarrow A$, оцененные по замещениям в белках, существенно больше найденных для РНК, а вероятности транзиций $C \rightarrow U$ и $U \rightarrow C$ — значительно меньше. Это объясняется относительно большей летальностью результатов транзиций $C \rightleftharpoons U$ в белках. В самом деле, средние изменения гидрофобности аминокислот для отдельных переходов равны (в ккал/моль):

$$\begin{aligned} A \rightleftharpoons G & 0,75, & A \rightleftharpoons C & 1,21, & A \rightleftharpoons U & 1,15, \\ G \rightleftharpoons C & 1,06, & G \rightleftharpoons U & 1,42, & C \rightleftharpoons U & 1,45. \end{aligned}$$

Транзиции $A \rightleftharpoons G$ связаны с наименьшими, транзиции $C \rightleftharpoons U$ — с наибольшими изменениями гидрофобности. При умножении величин вероятностей ω_i , указанных в табл. 9.4, на приведенные значения изменений гидрофобности после нормировки получаем значения вероятностей, сходные с приведенными в табл. 9.5. Это вновь доказывает, что значительное изменение гидрофобности остатка может означать летальность мутации.

Теоретические расчеты вероятностей образования нуклеотидных пар при трансверсиях и транзициях, проведенные методами квантовой химии, согласуются с приведенными значениями [105].

Пользуясь значениями вероятностей ω_i , указанными в табл. 9.5, определим ценности кодонов по отношению к терминальным мутациям как относительные вероятности последних. Терминальными являются мутации (мутирующий нуклеотид показан точкой):

1. $U \dot{U} G$ (Лей), $U G \dot{U}$ (Цис) $U \rightarrow A$, ценность 0,03;
2. $\dot{A} A A$, $\dot{A} A G$ (Лиз), $\dot{A} G A$ (Арг) $A \rightarrow U$, ценность 0,05;
3. $U \dot{C} G$ (Сер), $U G \dot{C}$ (Цис) $C \rightarrow A$, ценность 0,06;
4. $U \dot{U} A$ (Лей), $U A \dot{U}$ (Тир) $U \rightarrow G + U \rightarrow A$, ценность 0,07;
5. $\dot{G} A A$, $\dot{G} A G$ (Глу). $\dot{G} G A$ (Гли) $G \rightarrow U$, ценность 0,09;
6. $U \dot{C} A$ (Сер), $U A \dot{C}$ (Тир) $C \rightarrow A + C \rightarrow G$, ценность 0,12;
7. $\dot{C} A A$, $\dot{C} A G$ (Гли), $\dot{C} G A$ (Арг) $C \rightarrow U$, ценность 0,20;
8. $U G \dot{G}$ (Трп) $2G \rightarrow A$, ценность 0,24.

Ценность кодона УГГ в 8 раз больше, чем кодона УУГ, так как терминальная мутация кодона УГГ в 8 раз более вероятна. Кодон УГГ и в этом отношении остается наиболее ценным.

Рассмотренные здесь примерные определения функциональной ценности кодонов поучительны. На такой основе возможно дальнейшее развитие теории. При этом придется учесть влияние

соседних пар нуклеотидов на мутации в данной паре (см. [106]). Теория явлений развития, основанная на информационных подходах, еще не разработана. Есть основания думать, что эти подходы окажутся весьма полезными.

§ 9.9. ОНТОГЕНЕЗ

Индивидуальное, онтогенетическое развитие многоклеточного организма, начинающееся в яйцеклетке еще до ее оплодотворения, представляет собой сложнейшую совокупность процессов, упорядоченных во времени и в пространстве. Приведем в этом разделе некоторые основные факты, установленные в результате биологических исследований (см. [107—113]).

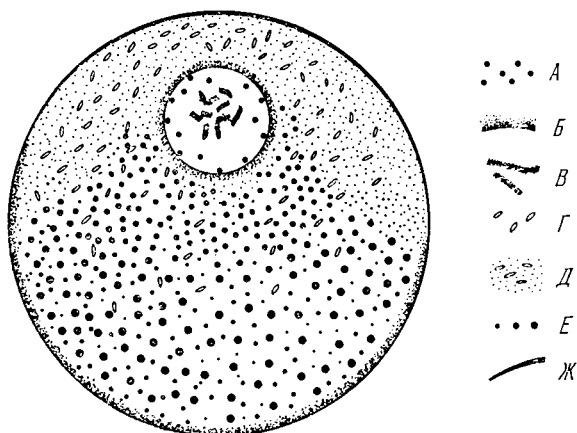


Рис. 9.10. Схема яйцеклетки лягушки перед оплодотворением.

А—рибосомы, *Б*—молекулы РНК, *В*—хромосомы типа «ламповых щеток», *Г*—митохондрии, *Д*—желточное ядро, *Е*—желточные пластины, *Ж*—черный пигмент.

Онтогенез включает три основных процесса — дифференцировку клеток, рост, т. е. увеличение массы развивающейся системы, и морфогенез, т. е. возникновение определенных органов и организма в целом. Дифференцировке клеток, сопутствующей митозам, предшествует регионализация, т. е. пространственная и функциональная дифференцировка материала исходной яйцеклетки. На рис. 9.10 схематически изображена яйцеклетка лягушки на заключительной стадии ее роста перед оплодотворением [114]. Зрелое яйцо обладает полярностью, его содержимое распределено неравномерно, упорядоченным образом. В распределении веществ в цитоплазме наблюдаются отчетливые градиенты, параллельные оси яйца. Цитоплазма обладает радиальной симметрией в плоскостях, перпендикулярных оси яйца. Не-

задолго до оплодотворения или сразу после него радиальная симметрия яйца лягушки сменяется двусторонней с образованием так называемого *серого серпа*. Эта симметрия сохраняется и у головастиков, развивающихся из оплодотворенного яйца. При изменении симметрии происходит изменение распределения компонентов цитоплазмы. Будущий зародыш оказывается полностью детерминированным расположением и спецификой компонентов яйца — определенные его участки ответственны за будущие органы и ткани.

Дифференцировка в пределах одной клетки свойственна и сперматозоиду, формируемому из сперматиды. Созревший сперматозоид состоит, грубо говоря, из трех частей, различающихся структурой и функцией. Головка ответственна за генетическую и активирующую функцию, средняя часть — за метаболическую и хвост — за двигательную функцию. Роль сперматозоида двоякая — он вносит в яйцеклетку отцовский геном и служит триггером для последующего развития, идущего через митозы. Одноклеточные животные — *Protozoa* — характеризуются далеко идущей дифференцировкой, это сложные организмы, достигающие практически макроскопических размеров. Более того, уже вирусы и фаги имеют сложную функциональную структуру.

Схема последующего развития зиготы показана на рис. 9.11. Первый период эмбрионального развития называется *дроблением*, клетки, образующиеся на ранних стадиях дробления, — *бластомерами*. Дробление представляет собой разделение оплодотворенного яйца на клетки, меньшие по размеру. Материал зиготы подвергается при этом некоторому перераспределению. В результате дробления возникает *бластула* — компактная система клеток, содержащая между бластомерами анимального (верхнего) полушария пространство, заполненное жидкостью, — *бластоцель*.

Следующая стадия развития, наступающая после того, как бластула содержит уже десятки тысяч клеток — *гаструляция*. На этой стадии в результате активного перемещения клеток

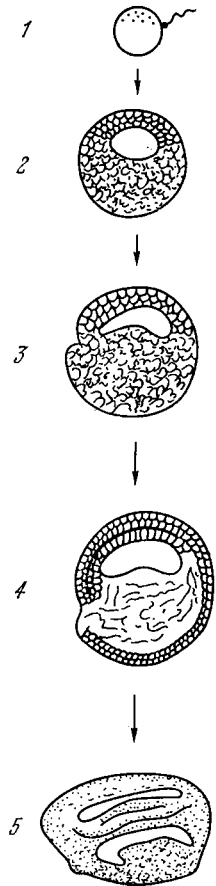


Рис. 9.11. Схема стадий онтогенеза.

- 1 — оплодотворение яйца,
2 — средняя бластула,
3 — поздняя бластула,
4 — гастроула, 5 — нейрула.

образуется *гастрюла* — зародыш, имеющий сложное строение. Гастрюляция начинается с появлением углубления — *губы бластопора* — около вегетативного края серого серпа. Губа бластопора является участком, через который клетки, ранее находившиеся на поверхности, мигрируют внутрь зародыша. Происходит инвагинация вегетативной области бластулы, бластоцель исчезает и внутри зародыша создается полость, именуемая *первичной кишкой*. На стадии гастрюлы возникают три различающиеся группы клеток. Клетки, находящиеся на поверхности зародыша, образуют *эктодерму*, клетки, образующие дно и боковые стенки первичной кишки, — *энтодерму*, а клетки крыши, закрывающей первичную кишку, — *мезодерму*.

Вслед за гастрюляцией происходит дальнейшее перемещение клеток и морфогенез. На дорзальной стороне зародыша из эктодермы образуется пласт клеток, из которого в дальнейшем возникает нервная трубка — предшественник головного и спинного мозга. Это — стадия *нейруляции*. Одновременно энтодерма превращается в трубку — будущую кишку, выросты которой затем преобразуются в печень и легкие. Из мезодермы формируется хорда, большая часть скелета, почки и т. д. Таким образом на стадии нейруляции происходит *органогенез* — возникновение специализированных органов животного.

Для понимания сущности этих сложнейших процессов, описанных здесь предельно кратко, весьма важны эксперименты по пересадке клеток, проводимые на различных стадиях развития зародыша. Если на стадии бластулы поменять местами участок, отвечающий презумптивному брюшному эпидермису, и участок, находящийся в области презумптивного головного мозга, то зародыш развивается нормально. Отсюда следует, что на стадии бластулы клетки обоих участков эквивалентны в смысле дальнейшего развития. Такой же опыт, проведенный после завершения гастрюляции, дает совершенно иной результат. Презумптивный эпидермис, помещенный на место презумптивного мозга, развивается только в эпидермис, презумптивный мозг развивается в мозг и на месте эпидермиса. Если трансплантация презумптивного глаза проведена на стадии поздней бластулы или ранней гастрюлы, то презумптивный глаз образует тот или иной орган, в зависимости от места, в которое он пересажен. Напротив, на стадии нейрулы презумптивный глаз развивается в глаз в любом месте [108, 109]. Потенции клеток и тканей сужаются и специализируются, незаменимость, ценность информации возрастает в ходе онтогенеза.

При развитии насекомых — плодовой мушки дрозофилы — клетки одного типа дифференцируются сразу, из них образуется тело личинки насекомого со всеми ее органами. Клетки другого типа остаются в эмбриональном состоянии, входя в состав има-

гинальных дисков. На стадии куколки большая часть органов рассасывается, их клетки разрушаются. На этой стадии клетки дисков дифференцируются, превращаясь в специализированные клетки имаго — взрослой мухи. Опыты по трансплантации клеток диска в личинку и во взрослое насекомое показали, что отдельные клетки дисков запрограммированы для специфической дифференцировки. Напротив, клетки личинки, пересаженные в брюшко взрослой дрозофилы, не дифференцируются, но делются неограниченно. С другой стороны, трансплантаты мужского генитального диска ведут себя своеобразно. В течение нескольких генераций они развиваются в соответствии с исходной детерминацией, а затем испытывают «трансдетерминацию», превращаясь в органы, в норме возникающие лишь из клеток имагинального зачатка головы или ноги соответственно. Хадорн, проводивший эти интересные опыты, считает, что в процессе трансдетерминации происходит изменение активности генов — вместо одних генов начинают действовать другие [114].

Из всей системы представлений современной биологии следует, что индивидуальная особь, фенотип, возникает в результате рецепции содержания, ценности генетической информации. Соответственно можно говорить об эпигенетике, как о ветви биологии, изучающей причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип [107, 115].

Представим очень грубую схему эпигенетики. Гены продуцируют белки. Белки-ферменты катализируют метаболические процессы в цитоплазме. Уже в пределах одной клетки реализуется множество обратных связей между компонентами цитоплазмы, возникшими в результате действия генов, и генами. Действие генов оказывается регулируемым, уже на стадии дробления реализованы межклеточные взаимодействия, также оказывающие мощное регулирующее влияние на действие генов. Значение внутриклеточной регуляции в эпигенетике ярко демонстрируется опытами, проведенными над клетками морского ежа (см. [108]). Если разделить первые два бластомера и культивировать их независимо друг от друга, то получаются две нормальные личинки половинного размера. Если на более поздней стадии дробления рассечь пополам клеточную массу в плоскости, проходящей через анимальный и вегетативный полюса, то вновь получаются две нормальные личинки. Однако, если разделить яйцо морского ежа в плоскости, перпендикулярной анимально-вегетативной оси, и оплодотворить половину, не содержащую ядро, то из обеих половин получатся две различные аномальные личинки. Для нормального развития необходимы все компоненты цитоплазмы.

Гурвич предложил формальный метод трактовки межклеточных взаимодействий в морфогенезе, связав с каждой клеткой

некоторое «биологическое поле», выходящее за пределы клетки и влияющее на ее соседей. Поля нескольких клеток векторно суммируются и вызывают перемещение клеток, необходимое для формообразования [116]. Уоддингтон ввел понятие «эпигенетического ландшафта» [117]. Развитие организма уподобляется движению по пересеченной местности. Маршрут движения либо жестко диктуется характером местности, либо может быть изменен сравнительно малыми воздействиями.

Основной факт состоит в том, что все соматические клетки данного многоклеточного организма содержат один и тот же набор генов, тождественный (если отвлечься от очень редких соматических мутаций) геному исходной зиготы. Это положение доказано прямыми опытами. Гердон установил, что если пересадить ядро клетки эпителия кишечника головастика в икринку лягушки, ядро которой предварительно разрушено ультрафиолетовым облучением, то из такой икринки развивается нормальная особь [118]. В клетке кишечного эпителия действие генов специализировано, по-видимому, вследствие репрессии большей их части. При переносе специализированного генома в зиготу гены оказываются в условиях иных взаимодействий с цитоплазмой и происходит нормальное развитие. В сущности о том же свидетельствует вегетативное размножение растений. Согласно Уоддингтону в онтогенезе происходит канализация развития — морфогенетические потенции клеточных популяций постепенно ограничиваются. Уоддингтон называет *креодом* эпигенетическую канализованную траекторию развития, притягивающую к себе близлежащие [115].

Из всего изложенного в данной книге и в книге [7] следует, что подлинное понимание онтогенеза должно сновываться не на чисто биологических понятиях типа «биологического поля» или «эпигенетического ландшафта», но на рассмотрении реальных физико-химических внутри- и межклеточных взаимодействий и движения клеток. Химические исследования клеточной дифференцировки уже привели к важным результатам. В частности, Уэсселс и Раттер выращивали культуру эмбриональной ткани — клетки поджелудочной железы крысы. Этот орган производит белки, участвующие в переваривании пищи, и гормоны, регулирующие метаболизм углеводов. Так называемые экзокринные клетки секретируют зимогены — предшественники пищеварительных ферментов, эндокринные клетки выделяют гормоны глюкагон и инсулин. Исследовалась продукция всех этих белков на разных стадиях эмбрионального развития, и была установлена корреляция содержания белка с появлением определенных внутриклеточных структур. Продукция специализированных белков возрастает во времени не монотонно, но проходит через три регуляторные фазы (рис. 9.12) [119]. Установлено,

что мезодермальные клетки из других тканей промотируют дифференцировку клеток поджелудочной железы. Это, по-видимому, объясняется действием некоего фактора, возможно, белковой природы (см. также [171]).

Синтез секреторных белков в культуре эпителиальных клеток поджелудочной железы специфично подавляется актиномицином D (веществом, блокирующим синтез РНК) как на ранних, так и на более поздних стадиях развития. Это объясняется необходимостью синтеза новых РНК на ДНК для ускоренной продукции секреторных белков. Если актиномицин добавлять к культурам в начале второго перехода (рис. 9.12), то синтез различных специфических белков подавляется в разной степени. Последовательное подавление синтеза различных белков актиномицином показывает, что соответствующие мРНК синтезируются в разное время (см. стр. 41 и [171]).

По-видимому, фазы развития определяются кооперативным действием множества генов. Происходит одновременная активация одних групп генов и инактивация других, но не последовательная активация каждого из сотен отдельных генов. Возможно, что согласованные кооперативные переходы определяются изменениями хромосомной структуры.

Можно считать, что в онтогенезе представлены два типа основных процессов. Первый тип — регуляторные внутри- и межклеточные взаимодействия, обусловленные явлениями молекулярной сигнализации, молекулярного узнавания (см. гл. 1). Эти явления ответственны за упорядоченное действие генов, за синтез белков, локализованный в пространстве и времени, и, тем самым, за дифференцировку. Как указывает Майр [120], уже Гельмгольд утверждал, что «поведение живых клеток должно быть объяснимо в терминах движения молекул, подчиняющегося определенным законам взаимодействия сил». Второй тип — активные перемещения клеток в результате механохимических процессов, также стимулированных молекулярной сигнализацией. Именно эти перемещения определяют морфогенез (см. [111]).

Само митотическое деление, начиная с появления двух первых бластомеров, является результатом внутриклеточных взаи-

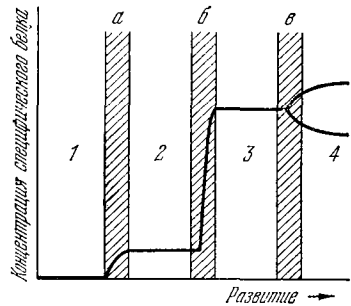


Рис. 9.12. Изменение продукции специализированных белков в ходе эмбрионального развития.

1 — преддифференцированное состояние, 2 — протодифференцированное состояние (стадия I), 3 — дифференцированное состояние (стадия II), 4 — дефинитвное состояние (стадия III); а, б, в — первый, второй, третий переходы.

модействий, регуляции действия генов веществами цитоплазмы и клеточной мембраны. Дифференцировка на стадии бластулы определяется двумя причинами, имеющими самый общий характер. Первая из них — неоднородное распределение вещества в цитоплазме исходной зиготы, вторая — неоднородность среды внутри клеточного шара, получающегося в результате дробления [108]. Наряду с этими общими причинами дифференцировка и морфогенез определяются контактной и гуморальной регуляцией. На заключительных стадиях развития включается действие гормонов. Сложный тип развития — метаморфоз у насекомых — находится под контролем экдизона, гормона роста.

Установлено, что существуют молекулы РНК, специфичные для данного органа. РНК, выделенная из сердца цыпленка, индуцирует образование сердца в недифференцированной ткани зародыша [121]. В контроле морфологической дифференцировки и биохимических изменений непосредственное участие принимает цАМФ [122] (ср. стр. 41). Показано, что цАМФ может индуцировать дифференцировку и морфогенез в недифференцированных клетках *in vitro* [123].

Онтогенетическое развитие подобно филогенетическому, эволюционному развитию в том смысле, что развивающийся зародыш представляет собой своего рода «зародышевый биоценоз», в котором сосуществуют популяции специализированных клеток. Сам «зародышевый биоценоз» этими популяциями и формируется. В отличие от биоценоза в точном смысле этого слова «зародышевый биоценоз» не статистическая, но динамическая система с точно определенным поведением. Делящиеся клетки не участвуют в борьбе за существование и не подвержены случайной изменчивости. Развитие определяется всецело качеством, т. е. ценностью генетической информации. По мере развития ценность информации возрастает, так как повышается специализация клеток. Это ярко демонстрируется описанными опытами по трансплантации презумптивных органов — заменой мультипотентности зачатков на ранних стадиях эмбриогенеза их полной детерминированностью на более поздних стадиях. Фенотипическая молекулярная специализация находит свое прямое выражение в иммунологических взаимоотношениях (см. § 9.11).

Сходство индивидуального и эволюционного развития было сформулировано в биогенетическом законе Геккеля: «Онтогенез повторяет филогенез». В действительности, если и можно говорить о повторении, *рекапитуляции*, стадий филогенетического ряда в онтогенезе, то дело сводится лишь к тому, что зародыши разных видов тем более сходны друг с другом, чем теснее их родство и чем более ранние стадии развития сравниваются. Теория рекапитуляции Геккеля встречается с непреодолимыми трудностями (см. [124]). Сходство ранних зародышей рыбы,

птицы и мелкопитающего можно трактовать как результат эволюционного отбора единого типа развития. Такой единый тип образуется вследствие сохранения общей информационной структуры, возникшей путем эволюции. Ранее накопленная информация не исчезает и эволюционное развитие не начинается заново на каждом этапе. Эволюция фиксирует определенные биологические архетипы, что, в конечном счете, должно сводиться к фиксации химических архетипов.

§ 9.10. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОНТОГЕНЕЗА

Краткие сведения об онтогенезе, приведенные выше, показывают, что он представляет собой необычайно сложную совокупность процессов. В сущности, это самые сложные процессы из всех, с которыми до сих пор встречалась наука. Мы располагаем пока знанием ряда поразительных биологических фактов, но лишь в немногих случаях имеем сведения о тех или иных молекулярных событиях в онтогенезе. Построение молекулярной теории онтогенеза, сколько-нибудь полное раскрытие его механизмов — дело будущего. Однако имеющиеся данные позволяют уже сегодня провести теоретическое моделирование основных черт онтогенеза и, тем самым, продвинуться на пути познания его сущности. Грубо говоря, следует различать три типа моделей — биологические (модель биологического поля Гурвича [116], эпигенетические модели Уоддингтона [107, 115, 117]), логико-математические и физико-химические модели. Общая тенденция состоит во все большем приближении теоретической модели к реальным физико-химическим процессам, протекающим в онтогенетическом развитии.

Начнем с краткого рассмотрения логико-математических моделей. О биологических моделях уже упоминалось в § 9.9.

Д'Арси Томпсон предложил общий аналитический подход к изучению формы у близких видов [125] (ср. [124]). Согласно предложенной гипотезе, если принять форму некоторого организма за эталон и представить ее в некоторой прямоугольной системе координат, то форму другого организма, близкого к эталонному, можно рассматривать как результат непрерывной деформации исходной координатной системы. Однако эта теория трансформации является сугубо феноменологической, не имеет никаких физических оснований и не раскрывает механизмы морфогенеза. Розен предпринял попытку математически обосновать гипотезу Д'Арси Томпсона, исходя из принципа оптимальности [124]. Полученные результаты имеют формальный характер. Не исключено, что они приобретут в дальнейшем серьезное значение при объединении с физико-химическими теориями, но пока теория трансформации остается вне пределов биофизики.

Том предложил абстрактную математическую теорию морфогенеза, основанную на весьма общих феноменологических представлениях [126, 127]. Исходная идея Тома — «структурная устойчивость». Некоторый процесс P структурно устойчив, если небольшое изменение начальных условий переводит его в процесс P' , изоморфный процессу P . Допустим, что в ограниченном пространстве имеется N химических веществ, изменения концентраций x которых, происходящие вследствие химических реакций, описываются кинетическими уравнениями

$$\dot{x}_i = f_i(x_1, x_2, \dots, x_N), \quad i = 1, \dots, N. \quad (9.44)$$

Эти уравнения определяют в N -мерном пространстве векторное поле f с составляющими f_i . Изменение системы во времени описывается перемещением представляющей точки $x_i(t)$ по некоторой траектории, определяемой уравнениями (9.44). Так как уравнения нелинейны, в фазовом пространстве возникают сингулярности, устойчивые или неустойчивые. Том называет центром притяжения системы уравнений (9.44) связное множество точек, образующих предельные траектории. В гиперпространстве система обладает сложной топологией, характеризующей путь ее развития.

Если ξ — координаты в некоторой области, где определен процесс, то концентрации x_i являются функциями ξ и времени t . Имеем

$$\frac{\partial x_i}{\partial t} = f_i(x_i, \xi, t) + b\nabla^2 x_i, \quad (9.45)$$

где последний член описывает диффузию, рассматриваемую Томом как малое возмущение. Векторное поле f_i структурно устойчиво и определяет динамическое поведение системы. Том рассматривает лишь топологию развития в гиперпространстве, исходя из того, что общие черты морфогенеза могут быть поняты без детализированной теории. Это положение, по-видимому, правильно. Феноменология Тома согласуется с представлениями Уоддингтона об эпигенетическом ландшафте и кредах. Истинный физический смысл теории Тома сводится к наличию у нелинейной химической системы множественных сингулярностей, устойчивых и неустойчивых, и к переходам между ними. Для построения теории, доступной экспериментальной проверке, необходимы достаточно конкретизированные модели, учитывающие реальные черты исследуемого процесса. Модели дифференцировки и морфогенеза сходны в методологическом отношении с моделями периодических процессов, рассмотренными в предыдущей главе.

Эти подходы к рассмотрению систем, обладающих сингулярностями, обобщены Томом [128]. Применения предложенной им «теории катастроф» в биофизике еще не реализованы.

Вольперт предлагает различать процессы, протекающие во времени, и процессы, протекающие в пространстве, — пространственную регионализацию, образование структуры, морфогенез. Отметим, что, вообще говоря, такое разделение не имеет оснований, так как пространственное структурирование требует времени, является кинетическим процессом. Можно, однако, рассматривать чисто геометрические, топологические проблемы отдельно от кинетики.

Вольперт справедливо подчеркивает, что в биологической системе программируется путь развития, а не устройство возникающего организма. Путь возникновения пространственной структуры — в простом случае осевой, т. е. линейный, — можно формализовать. Проблема состоит в объяснении регуляционного сохранения и восстановления структуры при ее частичном разрушении. Так, гидроиды, характеризуемые осевой организацией, обнаруживают способность к регуляции, восстанавливая свою структуру после удаления какой-либо части. Вольперт предложил соответствующую топологическую модель, «модель трехцветного флага», дающую феноменологическое, качественное объяснение регуляции развития, основанное на рассмотрении линейного ряда взаимодействующих элементов, каждой из которых может находиться в нескольких альтернативных состояниях [129, 130].

Мартинец построил теоретическую модель организма, состоящего из линейного ряда клеток. Клетка в этом ряду способна делиться лишь в том случае, если концентрация некоторого вещества в клетке достигает порогового уровня. Скорость изменения этой концентрации зависит от разности концентраций двух других веществ, «морфогенов», причем одно из них может диффундировать из клетки в клетку. Такая модель, являющаяся модификацией модели Тьюринга (см. стр. 418), приводит к неравномерному распределению материала по клеткам и к специфическому их делению. Модель описывает морфогенез в условных терминах ([131], см. также [132]).

Общие феноменологические физические подходы к проблемам онтогенеза должны, очевидно, основываться на наличии в системе множественных стационарных состояний и переходах между ними. Теория таких переходов применительно к биосинтетическим процессам развита Лавендой [133]. Основное физическое положение, из которого может исходить теория, состоит в том, что регуляция белкового синтеза, ответственная в конечном счете за онтогенетические процессы, обеспечивается комбинацией действия структурных генетических факторов и динамических биохимических процессов. Разрывный и необратимый характер биосинтеза может реализоваться, если на его пути имеется множество различных стационарных режимов.

Будем исходить из модели оперона Жакоба и Моно (см. § 1.6). Соответствующая схема приведена на рис. 9.13. Ген-регулятор gp ответствен за синтез белка-репрессора Y , подавляющего работу гена-оператора go и, тем самым, структурного гена $g\Gamma$. $G\Gamma$ производит мРНК R , кодирующую синтез фермента E , превращающего субстрат S в метаболит X , способный обратимо связываться с репрессором Y . Репрессор Y — аллостерический белок, который может существовать в различных конформациях, различающихся по активности связывания с оператором. Ветви a и b на рис. 9.13 представляют активную и неактивную форму

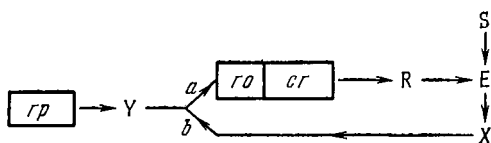


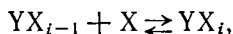
Рис. 9.13. Схема биосинтетических процессов.
Объяснения в тексте.

Y . Переходы между ними зависят от концентрации метаболита X . Скорость синтеза мРНК лимитируется связыванием метаболита репрессором. Процессы транскрипции, трансляции и метаболической реакции разделены во времени. Эти положения достаточно обоснованы экспериментально.

Если репрессор Y имеет n активных центров по отношению к X , то степень насыщения репрессора метаболитом, т. е. среднее число молекул метаболита, связанное молекулой Y , равно

$$\bar{\nu} = \frac{\sum_{i=0}^n i L_i X^i}{\sum_{i=0}^n L_i X^i} \equiv \frac{\partial \ln \left(\sum_{i=0}^n L_i X^i \right)}{\partial \ln X}, \quad (9.46)$$

где $L_i = K_0, K_1, \dots, K_i$, K_i — константа равновесия реакции



$L_0 = K_0 = 1$ (ср. [7], гл. 7).

Так как лимитирующей стадией является именно взаимодействие Y с X , кинетическое уравнение для синтеза мРНК имеет вид

$$\dot{R} = r_1 \bar{\nu} - r_2 R. \quad (9.47)$$

Кроме того,

$$\dot{E} = r_3 R - r_4 E, \quad (9.48)$$

$$\dot{X} = r_5 SE - r_6 X, \quad (9.49)$$

r_i — константы скоростей. Для простоты предполагается, что убыль R , E и X определяется мономолекулярным распадом. Уравнение (9.47) зависит от нелинейной связи Y с X , т. е., от кооперативных свойств Y . Стационарные решения уравнений (9.48) и (9.49) дают

$$R = \frac{r_4 r_6}{r_3 r_5} \frac{X}{S}.$$

Получаем из уравнений (9.46) и (9.47)

$$\dot{R} = r_1 \left\{ \frac{\sum_{i=0}^n i L_i X^i}{\sum_{i=0}^n L_i X^i} - \frac{X}{\lambda} \right\}, \quad (9.50)$$

где

$$\lambda \equiv \frac{r_1 r_3 r_5}{r_2 r_6} S.$$

Простейшая схема, дающая динамическое кооперативное поведение, получается для репрессора с тремя центрами связывания ($n = 3$). В этом случае стационарные значения концентрации метаболита X_0 удовлетворяют уравнению

$$X_0^3 - (3\lambda - L_2/L_3) X_0^2 + (L_1 - 2L_2\lambda) L_3^{-1} X_0 - (\lambda L_1 - 1) L_3^{-1} = 0. \quad (9.51)$$

Согласно теореме Декарта число положительных корней (9.51) не может превышать числа перемен знака в этом полиноме. Поэтому в рассматриваемом случае возможно не более трех стационарных режимов. Зависимость скорости синтеза и распада мРНК от концентрации X представлена на рис. 9.14 [133]. Необходимое условие существования трех стационарных состояний есть $3K_3 > K_1 > 2K_2$. Различие констант K_1, K_2, K_3 означает кооперативность. Разделив (9.46) на X , получаем эффективную скорость синтеза и скорость распада мРНК (рис. 9.15). Значения X_1 и X_2 определяются условием [133]

$$X_{1,2} = \left(\lambda - \frac{L_2}{3L_3} \right) \mp \left\{ \left(\lambda - \frac{L_2}{3L_3} \right)^2 - \frac{1}{3L_3} (L_1 - 2L_2\lambda) \right\}^{1/2}. \quad (9.52)$$

В этих точках сливаются стационарные режимы, соответствующие ветвям I и II, II и III. Это — точки ветвления, точки

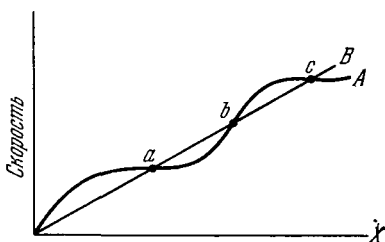


Рис. 9.14. Зависимость скорости синтеза (A) и скорости распада (B) мРНК от X .

a, b, c — стационарные состояния.

бифуркации. В точках бифуркации возможны неустойчивые режимы. Лавенда характеризует устойчивость стационарного режима посредством так называемого потенциала скоростей [133]. Анализ показывает, что ветви *I* и *III* — устойчивы, ветвь *II* — неустойчива. Изменения концентрации *X* приводят в точках бифуркации к переходам между стабильными ветвями (рис. 9.16).

Анализ показывает, что ветвь *III* является термодинамической, ветвь *I* — кинетической.

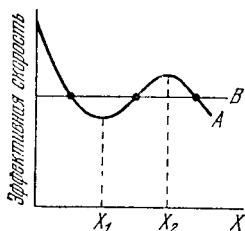


Рис. 9.15. Зависимость эффективной скорости синтеза (*A*) и распада (*B*) мРНК от *X*.

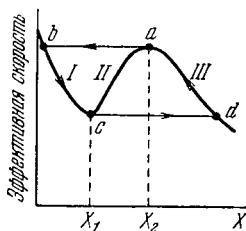


Рис. 9.16. Зависимость эффективной скорости синтеза от *X*.

a и *c* — точки бифуркации, *b*, *d* — точки, соответствующие стабильным состояниям.

В точках бифуркации реализуются пороговые значения концентрации, которые наряду с критическими градиентами концентраций определяют механизмы, ведущие к контролю и регуляции. Пороговые концентрации являются функциональными средствами контроля, зависящими от скоростей химических реакций. Критические градиенты концентраций зависят еще от диффузии и могут рассматриваться как структурный контрольный механизм, в котором контроль достигается изменением геометрии системы.

Таким образом, кооперативность биосинтеза определяет нелинейность, а нелинейность приводит к наличию множественных стационарных состояний и переходов между ними (см. также [132, 134, 135]). Выше рассмотрены аналогии с фазовыми переходами (см. § 8.12).

Регуляторные, триггерные, свойства системы, обладающей множественными стационарными состояниями, можно продемонстрировать непосредственно с помощью той же модели оперона. Жакоб и Моно предложили в качестве триггерной схемы симметричную модель двух оперонов, показанную на рис. 9.17 [136]. Два оперона связаны тем, что метаболит X_1 , продуцируемый первым опероном, связывается репрессором Y_2 второго оперона и наоборот. Кинетические уравнения в отсутствие ко-

оперативности у репрессоров Y_1 и Y_2 имеют вид (A, B, r_i — константы):

$$\left. \begin{aligned} \dot{R}_1 &= \frac{A}{B + E_2} - r_2 R_1, \\ \dot{R}_2 &= \frac{A}{B + E_1} - r_2 R_2, \\ \dot{E}_1 &= r_3 R_1 - r_4 E_1, \\ \dot{E}_2 &= r_3 R_2 - r_4 E_2. \end{aligned} \right\} \quad (9.53)$$

В стационарных условиях $\dot{R}_1, \dot{R}_2, \dot{E}_1, \dot{E}_2 = 0$ и

$$E_1 = \frac{Ar_3}{r_2 r_4} \frac{1}{B + E_2}, \quad E_2 = \frac{Ar_3}{r_2 r_4} \frac{1}{B + E_1}.$$

Кривые $E_1(E_2)$ и $E_2(E_1)$ пересекаются лишь в одной точке, и такая система не является триггерной. Однако, если вместо (9.53) рассмотреть нелинейную, кооперативную систему уравнений, имеющую в простейшем случае вид

$$\left. \begin{aligned} \dot{R}_1 &= \frac{A}{B + E_2^2} - r_2 R_1, \\ \dot{R}_2 &= \frac{A}{B + E_1^2} - r_2 R_2, \\ \dot{E}_1 &= r_3 R_1 - r_4 E_1, \\ \dot{E}_2 &= r_3 R_2 - r_4 E_2, \end{aligned} \right\} \quad (9.54)$$

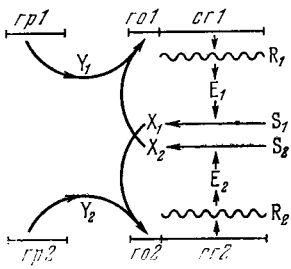


Рис. 9.17. Триггерная схема Жакоба и Моно. Обозначения те же, что и на рис. 9.13.

то возникают триггерные свойства, подробно исследованные в работе [137] (см. также [90, 138]). Стационарные кривые выражаются формулами

$$E_1 = \frac{Ar_3}{r_2 r_4} \frac{1}{B + E_2^2}, \quad E_2 = \frac{Ar_3}{r_2 r_4} \frac{1}{B + E_1^2}.$$

Они показаны на рис. 9.18. Имеются три точки пересечения a, b, c , из которых a и c устойчивы, а b неустойчива. Следовательно, такая система может при малом изменении параметров переключаться из состояния c , в котором преимущественно синтезируется белок E_1 , в состояние a , в котором преимущественно синтезируется белок E_2 .

Описанные модели имеют принципиальное, а не конкретное значение. Они раскрывают возможный физический смысл процесса дифференцировки, определяемого триггерным характером химико-диффузионных явлений. Моделирование конкретных

механизмов дифференцировки требует значительно большей информации о соответствующих химических событиях, чем та, которой мы располагаем сегодня. Детальное исследование онтогенеза на молекулярном уровне является актуальной задачей науки.

Сходные триггерные модели были эффективно применены к рассмотрению дифференцировки и морфогенеза в работе [139]. При трактовке морфогенеза автор исходит из предположения

о том, что каждый тип клеток секретрует специфические химические вещества, взаимодействующие друг с другом.

В работе [140] рассматривается динамическая неустойчивость реакций и транспортных процессов в группах клеток, между которыми имеются коммуникации. Показано, что в таких системах возможно возникновение определенной структуры и периодических колебаний.

Предложен метод анализа установления неустойчивостей в сетях компартментов и в модельных клетках. Сеточная структура влияет на внутриклеточные химические реакции и межклеточный перенос

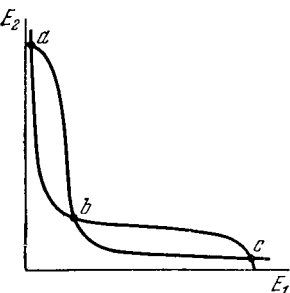


Рис. 9.18. Стационарные кривые для триггерной системы.

вещества и, тем самым, на устойчивость стационарных состояний сети. Проведено рассмотрение изменений топологии сети и влияний на ее состояние граничных условий и межклеточных проницаемостей. Эта работа, содержащая новый и ценный формальный аппарат анализа неустойчивостей, находится в общем русле исследований нелинейных развивающихся систем, начатых еще Тьюрингом [141] и излагаемых в этой и предыдущей главах.

В работе [142] эпигенетические представления применены не только к развитию, но и к процессу старения.

В работе Симона [143] была предложена конкретная модель жизненного цикла бактериальной клетки, исходящая из конкуренции различных ферментов за общий предшественник, а также из лимитирующей роли РНК-полимеразы для скорости транскрипции.

По-видимому, перспективно теоретическое моделирование дифференцировки не на основе модели оперона, описывающей недифференцирующиеся клетки прокариотов, а на основе модели *транскриптона* (см. § 1.7). Эта модель отвечает гораздо более тонкой и разнообразной регуляции действия генов.

Триггерные механизмы показывают определяющую роль информационной программы, ценности, а не количества информации в онтогенезе. В точке бифуркации (точка b на рис. 9.18)

происходит выбор пути развития. Такому выбору отвечает всего лишь 1 бит информации, но избранный путь определяет развитие возникающего организма.

Роль триггерных систем в развитии рассмотрена в работе [144]. Информационные аспекты онтогенеза обсуждаются в работе [145].

§ 9.11. ИММУНИТЕТ

Специфические процессы клеточной дифференцировки ответственны за *иммунитет*, в частности, за продукцию *антител* в организмах позвоночных. Имеющаяся сейчас информация об этих процессах позволяет сформулировать физические проблемы, относящиеся к иммунитету, и подойти к их решению.

Строение и функции антител (АТ) описаны в § 1.3. Природа взаимодействия антител с антигенами (АГ) в основном установлена. Вторая главная проблема иммунологии — проблема возникновения иммунитета — гораздо сложнее.

Хорошо известно, что иммунная система животного служит для борьбы с болезнетворными микроорганизмами. Можно было бы думать, что эволюционное происхождение системы специфического иммунитета связано с этой жизненно важной задачей. Современные представления об иммунитете приписывают ему более широкую функцию контроля за генетическим постоянством клеток организма. Главной задачей иммунной системы, возможно, является устранение мутантных (в частности, раковых) клеток из организма многоклеточного животного. Работа специфической иммунной системы выражается в том, что в ответ на появление генетически чужеродного материала (антигена) организм вырабатывает специфические реактивные клетки (*клеточный иммунный ответ*) и специфические антитела (*гуморальный иммунный ответ*). Как специфические реактивные клетки, так и антитела могут циркулировать в организме и специфически взаимодействовать с АГ. В результате этого взаимодействия чужеродный материал может быть инактивирован, разрушен или фагоцитирован клетками ретикуло-эндотелиальной системы. Современные представления об иммунитете основываются на *клонально-селекционной теории* Бернета [146—149]. Этой теории предшествовали качественные идеи, высказанные Эрне [150]. В организме производятся *лимфоциты*, каждый из которых чувствителен к одному АГ или к нескольким родственным АГ. Возникают лимфоциты, чувствительные практически к любым АГ, в том числе и к таким, с которыми организм никогда не встречается в условиях своего биологического существования. Это определяется наличием на мембранах лимфоцитов специфических рецепторов, имеющих высокое сродство к определенному анти-

гену. Антиген действует как фактор селекции, стимулирующий развитие клонов иммунологически активных клеток из лимфоцитов, имеющих рецепторы к данному антигену. Таким образом, лимфоцит унипотентен в смысле взаимодействия с АГ. Мы не останавливаемся здесь на генетических факторах, определяющих синтез АТ-подобных белков рецепторов (см. [151—153]).

Наряду с клонально-селекционной теорией следует упомянуть о гипотезе матричного действия АГ, предложенной Гауровицем [154, 155]. Согласно этой гипотезе, роль АГ состоит в стимуляции определенных генов внутри лимфоцита, который мультипотентен. АГ есть внутриклеточный фактор селекции. АТ надолго сохраняются в клетке. Сциллард считал, что синтез АТ подобен индуцированному синтезу ферментов (см. § 1.6), и построил соответствующую модельную теорию [156]. АГ трактуется в ней как индуктор, снимающий репрессию синтеза специфического γ -глобулина. Однако клонально-селекционная теория лучше обоснована и подтверждена многочисленными фактами.

Установлено, что основными продуцентами антител являются зрелые *плазматические клетки* [149, 151, 152, 157]. Специфичность продуцируемых АТ совпадает со специфичностью рецепторов, находящихся на поверхности клеток-предшественников [157]. Предшественниками плазматических клеток, клетками, воспринимающими антигенный стимул, являются так называемые *В-клетки*, относящиеся к малым лимфоцитам и образующиеся в результате дифференцировки стволовых кроветворных клеток. Роль рецепторов в *В-клетках* играют иммуноглобулины (10^4 — 10^5 молекул на клетку). *В-клетки* сами по себе не делятся, они приобретают способность к пролиферации только после *бласт-трансформации*, т. е. после превращения в так называемые *бласты (у-клетки)* под действием АГ [149, 151]. Бласт-трансформация происходит по истечении латентного периода, длящегося 24—48 часов. *у-клетки* интенсивно пролиферируют. Часть *у-клеток* дает начало клонам плазматических клеток (*z-клетки*). Данный клон *z-клеток* вырабатывает антитела, специфичность которых совпадает со специфичностью рецепторов на поверхности клеток-предшественников [149, 152, 157, 158]. Зрелые *z-клетки* к дальнейшему делению не способны, они существуют в течение нескольких десятков часов.

Стимулированные антигеном *В-лимфоциты* могут, наряду с образованием клона плазматических клеток, привести к образованию так называемых *клеток иммунной памяти* [146, 147, 151, 152]. Если организм отвечает на АГ, воздействию которого он подвергался ранее, то обычно его иммунный ответ оказывается более быстрым и сильным. Это явление называется *иммунной памятью*. Оно связано с увеличением числа клеток, спо-

способных отвечать на повторный антигенный стимул аналогично первоначальным *B*-лимфоцитам [157].

Второй популяцией лимфоцитов, способных к специфическому распознаванию генетически чужеродного материала, являются так называемые *T*-клетки. Они, так же как и *B*-клетки, возникают из стволовых клеток, но в своем развитии обязательно проходят через тимус. Часть *T*-клеток ответственна за клеточные иммунные реакции. В ответ на антигенный стимул

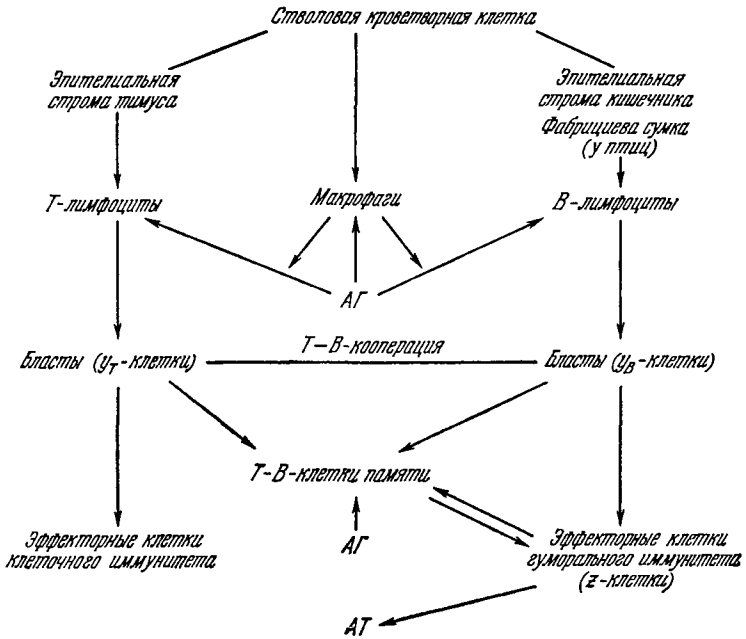


Рис. 9.19. Схема событий, вызываемых введением антигена.

они дифференцируются в специфические реактивные клетки (так называемые киллеры). Две другие подпопуляции *T*-клеток (хелперы и супрессоры) играют регуляторную роль в развитии гуморального (а, возможно, и клеточного) иммунного ответа. Степень участия регуляторных *T*-клеток в гуморальной иммунной реакции зависит от природы антигена. Существуют так называемые тимус-независимые антигены, способные вызывать нормальный ответ без помощи *T*-клеток ([152], см. также [159]).

На рис. 9.19 показана схема описанных событий [152].

Одна из важных задач биофизики состоит в построении физико-математической модели явлений, происходящих при развитии

иммунного ответа. Естественно, что такая модель не должна описывать все детали процесса, еще недостаточно изученные. Модель предназначена для качественного и полуколичественного рассмотрения его важнейших особенностей. Соответствующие попытки имеются в литературе. Модель, предложенная в [160], описывает развитие клона АТ-продуцирующих клеток, т. е. ограничивается лишь частью процесса, не рассматривая иммунную реакцию в целом. Более сложная модель представлена в работе [161]. Другая модель предложена в работах [162, 163]. Однако она сформулирована в абстрактных терминах, затрудняющих биологическую интерпретацию. Наиболее разработаны модели Белла [164, 165]. Модели, предложенные в [164], дают детальное описание иммунной реакции, используя весьма конкретные предположения о механизмах, которые, к сожалению, в некоторых случаях не установлены достоверно. Расчеты, выполняемые на ЭВМ, приведены в согласии с экспериментальными данными по иммунным реакциям у кроликов. В более поздней работе [165] ставится задача построения достаточно простой модели, допускающей качественное исследование. Эта модель получила дальнейшее развитие в работах Пимбля [166]. В перечисленных работах (за исключением [160]) не учитывались

прямо *эффекты запаздывания*, связанные с латентными фазами в процессах дифференцировки клеток.

Изложим здесь основные результаты исследования, проведенного в работах [167]. Задача состояла в построении модели, описывающей работу иммунной системы в целом и позволяющей с помощью качественного исследования

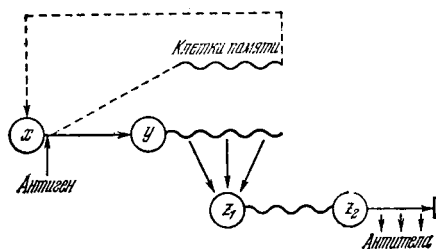


Рис. 9.20. Схема развития АТ-продуцирующих клеток.

Волнистые линии означают пролиферацию.

предсказать характер течения иммунной реакции в различных условиях с тем, чтобы выработать тактику целенаправленного вмешательства в ход иммунной реакции. Модель пока ограничивается рассмотрением гуморальной иммунной реакции.

На рис. 9.20 показана используемая схема развития клона АТ-продуцирующих клеток. Как уже отмечалось, плазматические клетки (z) являются основными продуцентами антител. Развитие плазматических клеток из В-лимфоцитов требует приблизительно 3—4 дня (см., например, [151]). Поэтому иммунный ответ, состоящий в выработке АТ, запаздывает по отношению к моменту стимуляции. Формирование клеток иммунной памяти

требует, по-видимому, еще большего времени. Запаздывание в производстве АТ и в формировании иммунной памяти является существенной чертой иммунной реакции.

Во-первых, продолжительность запаздывания не мала по сравнению с характерными временами процесса. Во-вторых, математическое исследование, проведенное в работах [167], показывает, что продолжительность запаздывания может быть решающей для характера течения иммунной реакции. В указанных работах запаздывание учитывается в упрощенной форме сосредоточенного запаздывания.

Скорость выработки антител пропорциональна наличному количеству плазматических клеток, которое определяется числом B -лимфоцитов, стимулированных ранее, в момент времени, отстоящий от текущего на время запаздывания t_r . Аналогично, выработка клеток памяти определяется числом актов стимуляции B -лимфоцитов в момент, отстоящий от текущего на определенное время запаздывания t_m . Процесс описывается следующей системой дифференциальных уравнений с запаздывающим аргументом:

$$\begin{aligned} \dot{x} &= J - \tau^{-1}x(t) - Px(t)g(t) + A_mx(t - t_m)g(t - t_m)\theta(t - t_m), \\ \dot{g} &= Kg(t) - Qh(t)g(t), \\ \dot{h} &= A_r x(t - t_r)g(t - t_r)\theta(t - t_r) - Rh(t)g(t) - Sh(t). \end{aligned} \quad (9.55)$$

Здесь x , g , h — соответственно количества B -лимфоцитов, антигена и антител;

$$\theta(t) = \begin{cases} 0, & \text{если } t < 0, \\ 1, & \text{если } t \geq 0, \end{cases} \quad (9.56)$$

J — скорость пополнения популяции B -лимфоцитов в результате дифференцировки стволовых клеток, τ — среднее время жизни B -лимфоцитов. Члены $-Px(t)g(t)$ и $A_mx(t - t_m)g(t - t_m)\theta(t - t_m)$ описывают соответственно уменьшение популяции B -лимфоцитов в результате контакта с АГ и ее пополнение вследствие формирования клеток иммунной памяти. Клетки памяти считаются идентичными первоначальным B -лимфоцитам, K характеризует скорость репродукции АГ в условиях организма ($K < 0$ в случае неразмножающегося АГ). Члены $-Qh(t)g(t)$ и $-Rh(t)g(t)$ описывают соответственно уменьшение количеств АГ и АТ в результате их взаимодействия. Член $A_r x(t - t_r)g(t - t_r)\theta(t - t_r)$ описывает производство АТ, S характеризует скорость распада АТ.

Параметры P , A_m , A_r , t_r , t_m , которые в дальнейшем считаются постоянными, в действительности могут зависеть от динамики численности регуляторных T -клеток. Такое упрощение корректно при описании иммунного ответа на тимус-независимый АГ или

при быстром достижении стационарного уровня количества регуляторных клеток. Рассмотрение системы (9.55) с постоянными параметрами необходимо также как первый шаг в изучении поведения полной системы, учитывающей динамику регуляторных клеток.

Уравнения (9.55) описывают систему специфического гуморального иммунитета. Здесь не учитывается спонтанный синтез антител и не рассматривается в явном виде действие неспецифических факторов защиты организма. Отметим только, что указанные механизмы, по-видимому, создают первый барьер для инфекции.

Уравнения (9.55) позволяют при разумных значениях параметров правильно описать динамику иммунного ответа на введение неразмножающегося ($K < 0$) АГ. Однако наиболее интересным представляется изучение иммунной реакции в случае размножающегося АГ. Далее, не приводя математических выкладок, мы опишем характерные особенности решений системы (9.55) при $K > 0$. Если

$$(J\tau A_r Q/KR)^{1/2} - 1 < (S\tau(P - A_m)/R)^{1/2}, \quad (9.57)$$

что соответствует большой скорости расходования В-лимфоцитов, система (9.55) имеет единственное стационарное решение

$$x_0 = J\tau, \quad g_0 = 0, \quad h_0 = 0. \quad (9.58)$$

Такое стационарное состояние без антигена и специфических антител неустойчиво. Если выполнено условие (9.57), то при попадании размножающегося АГ в организм, его количество нарастает неограниченно.

Если неравенство (9.57) нарушено и

$$P > A_m, \quad (9.59)$$

то, помимо неустойчивого стационарного состояния (9.58), система (9.55) имеет следующие стационарные решения:

$$\left. \begin{aligned} x_1 &= [J\tau A_r Q/KR + 1 - (P - A_m) S\tau/R + D^{1/2}] \frac{KR}{2A_r Q}, \\ g_1 &= [J\tau A_r Q/KR - 1 - (P - A_m) S\tau/R - D^{1/2}] \frac{1}{2(P - A_m)\tau}, \\ h_1 &= K/Q \end{aligned} \right\} \quad (9.60)$$

и

$$\left. \begin{aligned} x_2 &= [J\tau A_r Q/KR + 1 - (P - A_m) S\tau/R - D^{1/2}] \frac{KR}{2A_r Q}, \\ g_2 &= [J\tau A_r Q/KR - 1 - (P - A_m) S\tau/R + D^{1/2}] \frac{1}{2(P - A_m)\tau}, \\ h_2 &= K/Q. \end{aligned} \right\} \quad (9.61)$$

Здесь

$$D = [J\tau A_r Q / KR + 1 - (P - A_m) S\tau / R]^2 - 4J\tau A_r Q / KR.$$

Стационарные точки (9.60), (9.61) слиты в одну, если $(J\tau A_r Q / KR)^{1/2} - 1 = [(P - A_m) S\tau / R]^{1/2}$ и различны ($x_1 > x_2$, $g_1 < g_2$), если выполняется неравенство, обратное (9.57). Если $(P - A_m)$ стремится к нулю, то $x_1 \rightarrow J\tau$, $g_1 \rightarrow S/[R(J\tau A_r Q / KR - 1)]$ и $x_2 \rightarrow KR/AQ$, $g_2 \rightarrow \infty$. Как показало исследование стандартными методами, стационарная точка (9.61), соответствующая большому количеству АГ, неустойчива. Характер стационарной

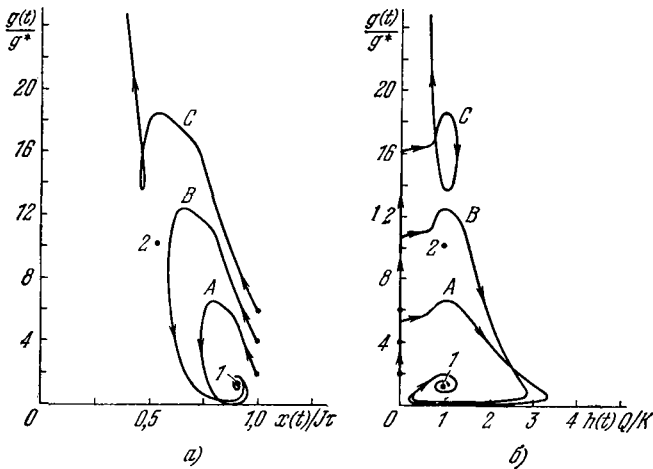


Рис. 9.21. Проекция фазовых траекторий системы (9.55) на плоскость (x, g) (а) и (h, g) (б).

Траектории построены для $t_r K = 1$; $x(0) = J\tau$; $h(0) = 0$; $J\tau A_r Q / KR = 2$; $\tau K = 2$; $PS/RK = 0,04$; $A_m = 0$; $S/K = 3$ и различных начальных количества антигена $g(0)/g^*$, равных 2 (А), 4 (В) и 6 (С). $g^* = S/[R(J\tau A_r Q / KR - 1)]$ 1 и 2 — стационарные точки.

точки (9.60) зависит от продолжительности запаздываний. Она устойчива при малых запаздываниях. В этом случае в зависимости от начального количества АГ возможно: а) стремление решений системы к стационарному состоянию (9.60); такое решение указывает на возможность длительного сосуществования инфекции со специфическими антителами (состояние носительства); б) неограниченный рост количества АГ (рис. 9.21). По мере увеличения запаздываний уменьшается минимальное начальное количество АГ $g(0)$, приводящее к неограниченному размножению АГ. Кроме того, стационарная точка (9.60) становится неустойчивой. Поэтому при малых начальных количествах АГ возможно возникновение предельного цикла — перио-

дическое течение болезни (рис. 9.22). При достаточно большом запаздывании в формировании иммунного ответа (t_r) количество АГ растет неограниченно, независимо от начальных

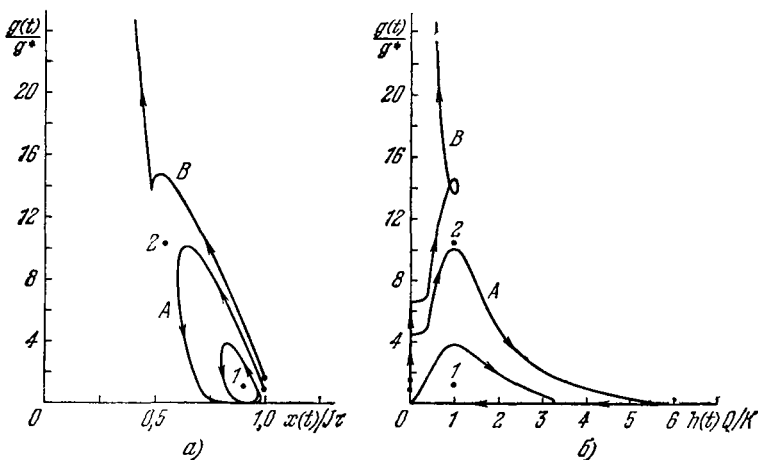


Рис. 9.22. Проекция фазовых траекторий системы (9.55) на плоскость (x, g) (а) и (h, g) (б).

Траектории построены для $t_r K = 1,5$ и $g(0)/g^* = 1$ (кривые А), $g(0)/g^* = 1,5$ (кривые В). Значения остальных параметров и начальные данные те же, что и для рис. 9.21.

условий. При $P > A_m$ условие, обеспечивающее неограниченный рост количества АГ, имеет вид

$$J\tau \frac{A_r Q}{KR} K t_r \exp(-K t_r) < \exp(-1), \quad K t_r > 1. \quad (9.62)$$

Рассмотрим теперь ситуацию, когда интенсивность формирования клеток памяти больше интенсивности расходования В-лимфоцитов в результате контакта с АГ, т. е.

$$A_m > P. \quad (9.63)$$

В этом случае система (9.55) обладает единственной положительной стационарной точкой (9.60). Необходимое и достаточное условие устойчивости этой стационарной точки при $t_r = t_m = 0$ имеет вид

$$\left(\frac{J\tau}{x_1}\right)^2 + S\tau \frac{J\tau A_r Q / KR}{A_r Q x_1 / KR - 1} + K\tau \left(S\tau - 1 + \frac{J\tau}{x_1}\right) > 0. \quad (9.64)$$

В силу (9.64) при $t_r = t_m = 0$ стационарная точка (9.60) ($A_m > P$) устойчива, в частности при $S\tau > 1$ (так как $x_1 > KR/AQ$).

Если стационарная точка (9.60) ($A_m > P$) устойчива при нулевых запаздываниях, она устойчива и при достаточно малых запаздываниях. Увеличение запаздываний неизбежно приводит к неустойчивости стационарного состояния. Для малого запаздывания в формировании иммунной памяти, такого, что

$$A_m \exp(-Kt_m) > P, \quad (9.65)$$

решения системы (9.55) ограничены. Следовательно, если (9.65) выполнено, то возможны два типа решений.

а) Стремление к стационарному состоянию — стационарная точка (9.60) ($A_m > P$) устойчива; б) циклические решения — стационарная точка (9.60) ($A_m > P$) неустойчива. Если t_m столь велико, что условие (9.65) нарушено, то можно показать, что для любых t_r достаточно большие начальные количества АГ ведут к неограниченному росту его количества. Более того, для достаточно больших значений t_r количество АГ растет неограниченно при любых исходных количествах АГ.

Для более детального изучения зависимости течения иммунной реакции от значений параметров удобно вместо (9.55) рассмотреть более простые уравнения. Вырабатываемые системой АТ имеют высокое сродство к АГ. Поэтому до тех пор, пока количество АГ не слишком мало, появляющиеся АТ быстро реагируют с АГ. Действительно, заметные количества АТ наблюдаются лишь после удаления АГ [168]. Это обстоятельство позволяет аппроксимировать систему (9.55) уравнениями

$$\left. \begin{aligned} \dot{x} &= J - \tau^{-1}x(t) - Px(t)g(t) + A_mx(t - t_m)g(t - t_m)\theta(t - t_m), \\ \dot{g} &= Kg(t) - A_r \frac{Q}{R}x(t - t_r)g(t - t_r)\theta(t - t_r). \end{aligned} \right\} \quad (9.66)$$

Уравнения (9.66) описывают «борьбу» между B -лимфоцитами и антигеном, причем быстро действующий медиатор — антитела — не представлен в них явно. Уравнения (9.66) сходны с уравнениями Вольтерра для системы «хищник — жертва» (см. § 8.3), если $A_m > P$. Отличие от уравнений Вольтерра состоит в наличии запаздывания в нелинейных членах. В нашем случае АГ играет роль «жертвы». Замена уравнений (9.55) уравнениями (9.66) формально соответствует бесконечной скорости взаимодействия АТ с АГ. Это значит, что уравнения (9.66) не выполняются при $g(t)$, близких к нулю.

Однако расчеты показывают, что уравнения (9.66) правильно описывают характерные черты иммунной реакции. Обращение $g(t)$ в нуль, согласно уравнениям (9.66), соответствует большой вероятности уничтожения АГ в реальном процессе. Особенности течения иммунной реакции, связанные с конечной скоростью взаимодействия АГ с АТ, рассмотрены подробно в [167].

В рамках системы (9.66) найдены условия уничтожения АГ или неограниченного роста его количества.

Эти условия, в частности, показывают роль запаздываний в развитии иммунной реакции. Так, для эффективной супрессии быстро размножающегося АГ запаздывание в развитии иммунного ответа t_r должно быть не слишком малым и не слишком большим.

Уравнения (9.66) имеют ненулевую стационарную точку

$$x_0 = K/A_r, \quad g_0 = (1 - A_r J \tau / K) / [A_m \tau (1 - P/A_m)]. \quad (9.67)$$

Физический смысл имеют лишь значения $g_0 > 0$. Устойчивость этой точки исследуется обычным методом линеаризации уравнений (см. стр. 397). Переходя к безразмерным переменным $\xi = x/x_0$, $\eta = g/g_0$, получаем вместо (9.66) уравнения

$$\left. \begin{aligned} K^{-1} \dot{\eta} &= \eta(t) - \xi(t - t_r) \eta(t - t_r) \theta(t - t_r), \\ \tau \dot{\xi} &= a - \xi(t) - b \xi(t) \eta(t) + c \xi(t - t_m) \eta(t - t_m) \theta(t - t_m), \end{aligned} \right\} \quad (9.68)$$

где $a = J \tau A_r / K$, $b = (1 - a)P / (A_m - P)$, $c = b A_m / (A_m - P)$, a, b, c — положительны и связаны условием $a - b + c = 1$. Стационарная точка имеет координаты $\xi, \eta = 1, 1$. Характеристические числа λ являются корнями квазиполинома

$$(1 - \lambda/K)(1 + b + \lambda\tau) - (1 + \lambda\tau) \exp(-\lambda t_r) - c(1 - \lambda/K) \exp(-\lambda t_m) = 0. \quad (9.69)$$

При нулевом запаздывании ($t_r = t_m = 0$) и $a > 0$ оба корня имеют отрицательные вещественные части и точка асимптотически устойчива. Если $Q = 0$, то оба корня чисто мнимые. Если $a > 0$, то стабильность сохраняется для достаточно малых ненулевых t_r, t_m . Их возрастание нарушает устойчивость. При $a = 0$ любые отличные от нуля значения t_r и t_m приводят к неустойчивости. Если $a = b = 0$, то уравнения (9.68) принимают вид

$$\left. \begin{aligned} K^{-1} \dot{\eta} &= \eta(t) - \xi(t - t_r) \eta(t - t_r) \theta(t - t_r), \\ \tau \dot{\xi} &= -\xi(t) + \xi(t - t_m) \eta(t - t_m) \theta(t - t_m). \end{aligned} \right\} \quad (9.70)$$

Эти уравнения отличаются от уравнений Вольтерра — Лотка только наличием запаздываний в нелинейных членах. Колебательный характер системы, сохраняющийся и при ненулевых значениях t_r и t_m , проявляется в циклической кинетике иммунной реакции.

На рис. 9.23 показаны примеры решений уравнений (9.70). Можно было бы ожидать, что увеличение запаздывания в формировании иммунной памяти t_m должно всегда приводить к уве-

личению времени, требуемого для элиминации АГ. В действительности, однако, нарастание неустойчивости с ростом запаздывания может привести к сокращению времени реакции благодаря уменьшению числа обходов стационарной точки (см. рис. 9.23).

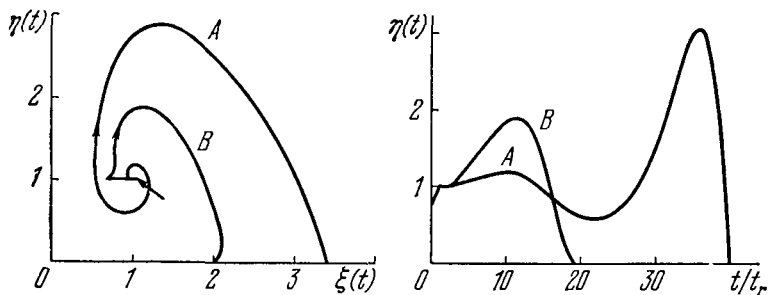


Рис. 9.23. Решения уравнений (9.70) в безразмерных единицах при $t_r K = t_r \tau^{-1} = 0,3$; $\xi(0) = 1,4$; $\eta(0) = 0,75$ и для t_m , равных $1,5t_r$ (A) или $2,5t_r$ (B).

Учтем теперь конечную скорость реакции АТ и АГ, считая, что количество В-лимфоцитов мало меняется в ходе иммунной реакции, т. е. $x(t) \approx x(0)$. Уравнения (9.55) принимают форму

$$\left. \begin{aligned} \dot{g} &= Kg(t) - Qh(t)g(t), \\ \dot{h} &= Ag(t - t_r)\theta(t - t_r) - Rg(t)h(t) - Sh(t), \end{aligned} \right\} \quad (9.71)$$

где $A = A_r x(0)$. Если

$$KR/AQ < 1, \quad (9.72)$$

система (9.71) имеет две стационарные точки $(0, 0)$ и

$$h_0 = K/Q, \quad g_0 = \frac{S}{R} \frac{KR}{AQ} / \left(1 - \frac{KR}{AQ}\right). \quad (9.73)$$

Стационарная точка $(0, 0)$ неустойчива, характер стационарной точки (9.73) зависит от параметров и, в частности, от запаздывания t_r . Кривая, разделяющая области устойчивости и неустойчивости стационарной точки в плоскости $(t_r K, t_r S)$, задается параметрически следующим образом:

$$\left. \begin{aligned} t_r K &= \frac{y}{\sin y}, & t_r S &= \frac{(1 - KR/AQ) y \sin y}{\cos y - KR/AQ}, \\ 0 &\leq y \leq \text{Arccos}(KR/AQ). \end{aligned} \right\} \quad (9.74)$$

В частности, стационарная точка (9.73) устойчива при $t_r K < 1$ и неустойчива при $t_r K > \pi/2$ (для любого $KR/AQ < 1$).

Система (9.71) не допускает неограниченного роста количества антител ($h(t)$). Количество АГ растет неограниченно при выполнении одного из следующих условий:

$$\frac{KR}{AQ} > 1 \quad (9.75)$$

или

$$\frac{AQ}{KR} t_r K \exp(-Kt_r) < 1 \quad \text{и} \quad Kt_r > 1. \quad (9.76)$$

Если (9.75) и одно из неравенств (9.76) нарушено, то количество АГ ограничено.

Итак, при выполнении условия (9.75), когда система (9.71) обладает только нулевой стационарной точкой, количество АГ неограниченно нарастает. В условиях (9.72), когда система обладает двумя стационарными точками, пространство параметров

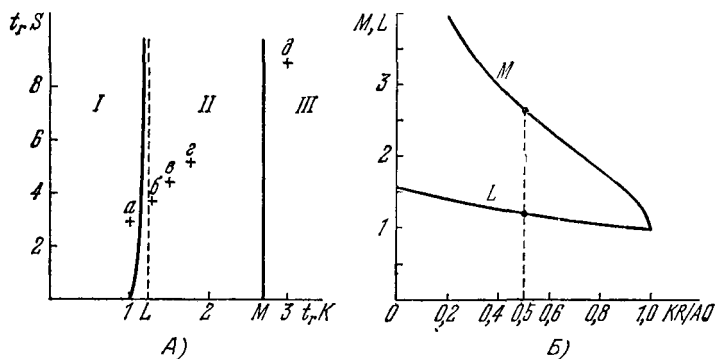


Рис. 9.24. Разбиение плоскости параметров (t_r, K, t_r, S) на области, соответствующие различным режимам системы (9.71) (А), и значения характерных точек L и M разбиения в зависимости от KR/AQ (Б).

Точки $a, б, в, г, д$ соответствуют фазовым траекториям, приведенным на рис. 9.25.

$(t_r, K, t_r, S, KR/AQ)$ распадается на области, соответствующие различным режимам реакции. На рис. 9.24, А показано разбиение плоскости параметров (t_r, K, t_r, S) при $KR/AQ = 0,5$. В области I стационарная точка (9.73) устойчива, количество АГ ограничено; в области II стационарная точка (9.73) неустойчива, количество АГ неограниченно нарастает.

Разбиение выполнено на основе условий (9.74) и (9.76). Видно, что с увеличением запаздывания t_r система переходит из области I в II и далее в III . На рис. 9.24, Б приведены значения L и M (см. рис. 9.24, А) в зависимости от KR/AQ :

$$L = \text{Arc cos}(KR/AQ)/[1 - (KR/AQ)^2]^{1/2}, \quad Me^{-M} = e^{-1} \frac{KR}{AQ}, \quad M > 1.$$

На рис. 9.25 приведены примеры фазовых траекторий системы (9.71), полученные с помощью ЭВМ. Соответствующие значения параметров обозначены на рис. 9.24, А крестиками. Рис. 9.24, А (область I, устойчивая стационарная точка) соответствует такому течению болезни, когда, начиная с некоторого

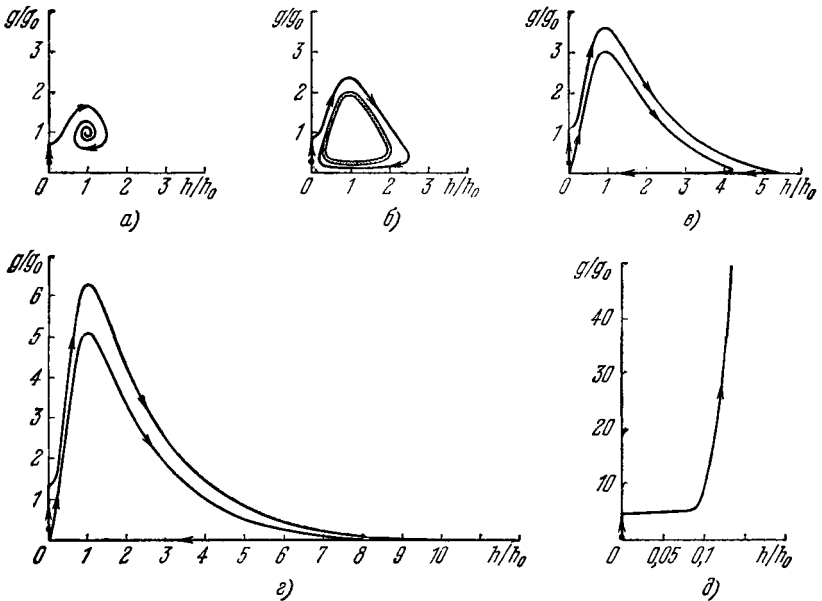


Рис. 9.25. Фазовые траектории системы (9.71) в безразмерных переменных g/g_0 , h/h_0 (см. (9.73)) для $KR/AQ = 0,5$; $S/K = 3$ и значений запаздывания $t_r K$, равных 1 (а), 1,25 (б), 1,5 (в), 1,75 (г) и 3 (д).

момента, болезнь не прогрессирует, а количество АГ в организме практически постоянно (организм становится носителем инфекции). Если

$$g_0 = \frac{S}{R} \frac{KR}{AQ} / \left(1 - \frac{KR}{AQ}\right)$$

достаточно мало, то стремление решений системы к стационарному состоянию соответствует, по-видимому, выздоровлению. В области II (см. рис. 9.24, А) система имеет предельный цикл (см. рис. 9.25, б — г), что соответствует периодическому течению болезни. С увеличением запаздывания амплитуда колебаний увеличивается, а минимальное количество АГ уменьшается. При этом доля времени, в течение которого количество АГ близко к нулю, растет (0,5 от продолжительности цикла в случае в и

0,7 — в случае z). Минимальные количества АГ для случаев v , z равны соответственно $8 \cdot 10^{-4}$ и $8 \cdot 10^{-10}$ от стационарного.

При учете конечной скорости реакции АГ с АТ в рамках детерминистических уравнений (9.55), (9.71) полная элиминация размножающегося АГ невозможна. В действительности, если согласно детерминистическим уравнениям достигаются малые количества АГ, то должен проявиться дискретный стохастический характер процесса размножения и гибели микроорганизмов, что делает возможным полное уничтожение АГ. Циклический характер решений согласно детерминистическим уравнениям указывает на возможность рецидивов в ходе заболевания. В [167] предложен метод для оценки вероятности уничтожения АГ. На основе этого метода был исследован вопрос об оптимальной тактике лечения с точки зрения предотвращения рецидивов. Показано, что наиболее целесообразно вводить специфические АТ (сыворотку) в момент максимального количества собственных АТ. При использовании антибиотиков наибольший эффект достигается, если начинать их применение в тот момент, когда количество АГ максимально. Слишком раннее применение как антибиотиков, так и антител ослабляет собственный иммунный ответ организма, что приводит к увеличению вероятности рецидива. Модель также показывает, что в случае слабых хронических инфекций одним из приемов лечения может быть преднамеренный перевод заболеваний в острую форму, что позволяет активизировать иммунный ответ организма и тем самым увеличить вероятность полной элиминации АГ.

Проблемы возникновения иммунитета — проблемы развития. Можно думать, что принципы трактовки иммунитета, такие, как учет запаздывания, а также рассмотрение фазовых переходов в неравновесных мультистационарных системах (см. § 8.12) помогут математическому моделированию процессов развития — онтогенеза, канцерогенеза, биологической эволюции.

К главе 1

1. М. В. Волькенштейн, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
2. М. В. Волькенштейн, Конфигурационная статистика полимерных цепей, Изд. АН СССР, 1959.
3. Т. М. Бирштейн, О. Б. Птицын, Конформации макромолекул, «Наука», 1964.
4. П. Флори, Статистическая механика цепных молекул, «Мир», 1971.
5. М. М. Бонгард, Проблема узнавания, «Наука», 1967.
6. Ф. Розенблатт, Принципы нейродинамики (перцептроны и теория механизмов мозга), «Мир», 1965.
7. R. Cecil, J. McPhee, *Adv. Protein Chem.* **14**, 255 (1959).
8. D. Watts, B. Rabin, *Biochem. J.* **85**, 507 (1962).
9. О. Л. Поляновский, в сб. «Основы молекулярной биологии. Ферменты», «Наука», 1964, стр. 101.
10. Ю. М. Торчинский, Сульфгидрильные и дисульфидные группы белков, «Наука», 1971.
11. Г. Кастлер, Возникновение биологической организации, «Мир», 1967.
12. М. Эйген, Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул, «Мир», 1973.
13. J. Lewis, P. Doty, *Nature* **225**, 510 (1970).
14. O. Uhlenbeck, J. Baller, P. Doty, *Nature* **225**, 508 (1970).
15. P. C. Незлин, Строение и биосинтез антител, «Наука», 1972.
16. R. Porter, *Science*, **180**, 713 (1973).
17. Р. Портер, в сб. «Молекулы и клетки», вып. 4, «Мир», 1969, стр. 41.
18. I. O'Donnell, B. Frangione, R. Porter, *Biochem. J.* **116**, 261 (1970).
19. G. Edelman, *Biochemistry* **9**, 3197 (1970); *Science* **180**, 830 (1973).
20. S. Singer, R. Doolittle, *Science* **153**, 13 (1966).
21. S. Landsteiner, *The specificity of serological reactions*, revised ed., Dover, 1962.
22. O. Westphal, *Naturwissenschaften* **46**, 2, 50 (1959).
23. D. Pressman, L., Sternberger, *J. Immunol.* **66**, 609 (1951).
24. R. Valentine, N. Green, *J. Mol. Biol.* **27**, 615 (1967).
25. L. Pauling et al., *J. Amer. Chem. Soc.* **66**, 330, 784 (1944).
26. D. Pressman et al., *J. Amer. Chem. Soc.* **67**, 1219, 1602 (1945); **70**, 1352 (1948); **75**, 686, 1376, 3436 (1953); **76**, 6336 (1954).
27. D. Pressman, in «Molecular structure and biological specificity», ed. L. Pauling, H. Itano, *Amer. Inst. Biol. Sci.*, 1957, p. 1.
28. H. Sage et al., *Immunochemistry* **1**, 133 (1964).
29. M. Noellen et al., *J. Biol. Chem.* **240**, 218 (1965).
30. P. Wahl, G. Weber, *J. Mol. Biol.* **30**, 371 (1967).
31. J. Wellman, G. Edelman, *Biochemistry* **6**, 1437 (1967).
32. Ю. А. Загянский, Л. А. Тумерман, А. М. Егоров, *Immunochemistry*, **9**, 91 (1972).
33. Ю. А. Загянский, Р. С. Незлин, Л. А. Тумерман, *Immunochemistry* **6**, 787 (1969).

34. Р. С. Незлин, Ю. А. Загянский, Л. А. Тумерман, *J. Mol. Biol.* 50, 569 (1970).
35. Л. А. Тумерман, Ю. А. Загянский, Р. С. Незлин, *Мол. биол.* 6, 134 (1972).
36. Л. А. Тумерман, Р. С. Незлин, Ю. А. Загянский, *FEBS Letters* 19, 290 (1972).
37. А. Conway-Jacobs, В. Schechter, М. Sela, *Biochemistry* 9, 4870 (1970).
38. А. И. Кяйвярайнен, Р. С. Незлин, М. В. Волькенштейн, *Мол. биол.* 7, 760 (1973); 8, 816 (1974).
39. В. Бойд, Введение в иммунохимическую специфичность, ИЛ, 1963.
40. Л. Pauling, *J. Amer. Chem. Soc.* 62, 2543 (1940).
41. Е. Wilson, *Sci. Amer.* 208, 100 (1963).
42. Ж. Фабр, Жизнь насекомых, Учпедгиз, 1963.
43. Р. Райт, Наука о запахах, «Мир», 1966.
44. А. С. Пресман, Электромагнитные поля и живая природа, «Наука», 1968.
45. А. Butenandt, *Naturwissenschaften* 46, 461 (1959).
46. А. Butenandt et al., *Z. Naturforsch.* 14b, 283 (1959).
47. А. Butenandt, R. Beckmann, E. Hecker, *Z. physiol. Chem.* 324, 71 (1961).
48. А. Butenandt, R. Beckmann, D. Stamm, *Z. physiol. Chem.* 324, 84 (1961).
49. Р. Weiss, А. Wenner, *Nature* 241, 171 (1973).
50. Р. М. Мазитова, В. Н. Охотская, Б. И. Пучкин, Обоняние и его моделирование, «Наука», Новосибирск, 1965.
51. G. Dyson, *Chem. a. Ind.* 16, 647 (1938).
52. R. Wright, *Nature* 173, 831 (1954); 190, 1101 (1961); 198, 455 (1963).
53. R. Wright, G. Reid, H. Evans, *Chem. a. Ind.* 973 (1956).
54. А. Dravnieks, in «Gustation and olfaction», Acad. Press, 1971, p. 102.
55. R. Moncriff, *The chemical senses*, J. Wiley, 1951.
56. J. Amoore, *Nature* 198, 271 (1963).
57. J. Amoore, J. Johnston, M. Rubin, *Sci. Amer.* 210, № 2, 42 (1964).
58. P. Lafort, А. Dravnieks, *J. Theor. Biol.* 38, 335 (1973).
59. R. Cagan, *Science* 181, 32 (1973).
60. К. Kurihara, L. Beidler, *Nature* 222, 1176 (1969).
61. А. Москона, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 111.
62. Дж. Тринкауз, От клеток к органам, «Мир», 1972.
63. К. Уоддингтон, Морфогенез и генетика, «Мир», 1964, гл. 5.
64. W. Loewenstein, *Sci. Amer.* 222, № 5, 78 (1970).
65. P. Henkart, S. Humphreys, T. Humphreys, *Biochemistry* 12, 16, 3045, 3051 (1973).
66. V. Müller, R. Zahn, *Exp. Cell. Res.* 80, 95 (1973).
67. N. Goel et al., *J. Theor. Biol.* 28, 423 (1970).
68. N. Goel, A. Leith, *J. Theor. Biol.* 28, 469 (1970).
69. R. Good, *J. Theor. Biol.*, 37, 413 (1972).
70. V. Nanjundiah, *J. Theor. Biol.* 42, 63 (1973).
71. Э. Дэвидсон, в сб. «Молекулы и клетки», вып. 2, «Мир», 1967, стр. 37.
72. Ф. Жакоб, Ж. Моно, Труды 5-го Международного биохим. конгресса, Симпозиум I, Изд-во АН СССР, 1962, стр. 157.
73. F. Jacob, J. Monod, *J. Mol. Biol.* 3, 318 (1961).
74. W. Gilbert, В. Müller-Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 56, 1891 (1966).
75. М. Ptashne, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 57, 306 (1967).
76. М. В. Волькенштейн, Молекулы и жизнь, «Наука», 1965.
77. R. Martin, В. Ames, *Ann. Rev. Biochem.* 33, 235 (1964).
78. Сборник «Молекулярные основы биосинтеза белков», «Наука», 1971.
79. E. Reich, I. Goldberg, *Progr. Nucleic Acid. Res. a. Mol. Biol.* 3, 183 (1964).
80. W. Wehrli et al., *Biochim. Biophys. Acta* 157, 215 (1968).
81. С. З. Миндлин и др., в сб. «Структура и генетические функции биополимеров», Труды Второй конференции радиобиологического отдела Ин-та атомн. энергии, 1969, т. 1, стр. 181.
82. Р. Б. Хесин и др., *Биохимия* 27, 1092 (1962).

83. Р. Б. Хесин и др., Биохимия 28, 1070 (1963).
84. Ю. Н. Зограф, В. Г. Никифоров, М. Ф. Шемякин, Мол. биол. 1, 94 (1967).
85. Л. Горини, в сб.: «Молекулы и клетки», вып. 2, «Мир», 1967, стр. 22.
86. G. Robinson, R. Butcher, E. Sutherland, Cyclic AMP, Acad. Press, 1971.
87. I. Pastan, Sci. Amer. 227, № 2, 97 (1972).
88. F. Jacob, J. Monod, in «Biological organization at the cellular and super-cellular levels», ed. R. Harris, Acad. Press, 1963.
89. O. Maaløe, J. Cell. Comp. Physiol. 62, Suppl. 1, 31 (1963).
90. F. Jacob, S. Brenner, F. Cuzin, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28, 329 (1963).
91. Г. П. Георгиев, J. Theor. Biol. 25, 473 (1969).
92. Г. П. Георгиев и др., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 38, 869 (1974).
93. R. DeLange, E. Smith, Ann. Rev. Biochem. 40, 279 (1971).
94. R. DeLange et al., J. Biol. Chem. 244, 319, 5669 (1969).
95. D. Olins, E. Wright, J. Cell Biol. 59, 304 (1973).
96. Ю. В. Ильин и др. Mol. Biol. Reports 1, 343 (1974).
97. R. Kornberg, J. Thomas, Science 184, 865 (1974).
98. M. Dayhoff, Atlas of protein sequence and structure, Nat. Biomed. Res. Found. v. 4, 1969, v. 5, 1972.
99. D. Phillips, in «Histones and nucleohistones», ed. D. Phillips, Plenum Press, 1971, p. 47.
100. E. Bradbury, C. Crane-Robinson, in «Histones and nucleohistones» ed. D. Phillips, Plenum Press, 1971, p. 85.
101. E. Fredericq, in «Histones and nucleohistones», ed. D. Phillips, Plenum Press, 1971, p. 135.
102. V. Allfrey, in «Histones and nucleohistones», ed. D. Phillips, Plenum Press, 1971, p. 241.
103. G. Stein, T. Spelsberg, L. Kleinsmith, Science 183, 817 (1974).
104. Д. Мэзия, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 67.
105. М. Фишберг, А. Блэклер, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 93.
106. V. Allfrey, A. Mirsky, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28, 247 (1963).
107. Г. П. Георгиев, Ann. Rev. Genetics 3, 155 (1969).
108. H. Cedar, G. Felsenfeld, J. Mol. Biol. 77, 237 (1973).
109. В. А. Поспелов, А. Б. Путьшев, Мол. биол. 7, 67 (1973).
110. С. А. Лимборска, Г. П. Георгиев, Cell Differentiation 1, 245 (1972).
111. R. Simpson, Adv. Enzymol. 38, 41 (1973).
112. Г. В. Гурский и др., Мол. биол. 8, 18 (1974).
113. А. Ф. Мельникова и др. Mol. Biol. Reports 2, 135 (1975).
114. R. Tsanev, V. Sendov, J. Theor. Biol. 12, 327 (1966); 30, 337 (1971).
115. H. Weintraub, Nature 240, 449 (1972).
116. И. И. Кикнадзе, Функциональная организация хромосом, «Наука», 1972.
117. F. Richards et al., Science 187, 30 (1975).
118. S. Farkas, H. Shorey, Science 178, 67 (1972).
119. G. Kasang, Naturwissenschaften 60, 95 (1973).
120. S. Schiffman, Science 185, 112 (1974).
121. J. Balsamo, J. Lilien, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 727 (1974).
122. P. Jordan, Phys. Zs. 39, 711 (1938); Z. Phys. 113, 431 (1939); Naturwissenschaften 29, 89 (1941).
123. P. Jordan, Eiweissmoleküle, Stuttgart, 1947.
124. H. Jehle, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 36, 238 (1950); J. Chem. Phys. 18, 1150 (1950); Ann. N. Y. Acad. Sci. 158, 240 (1969).
125. J. Yos, W. Bade, H. Jehle, in «Molecular Structure and Biological Specificity», ed. L. Pauling, H. Itano, Amer. Inst. Biol. Sci., 1957, p. 28.
126. П. С. Зырянов, Цитология 2, 62 (1960); Биофизика 6, 495 (1961).
127. S. Ntr, J. Theor. Biol. 53, 83 (1975).

128. В. Ю. Васильев, Н. Н. Гуляев, Е. С. Северин, ЖВХО им. Менделеева 20, 306 (1975).
129. G. Robinson, R. Butcher, E. Sutherland, Ann. Rev. Biochem. 37, 149 (1968).
130. D. McMahon, Science 185, 1012 (1974).
131. R. Clark, G. Felsenfeld, Nature New Biology 229, 101 (1971).
132. G. Stein, J. Stein, L. Kleinsmith, Sci. Amer. 232, № 2, 46 (1975).
133. Chromosomal proteins and their role in the regulation of gene expression, ed. G. Stein, J. Stein, L. Kleinsmith, Acad. Press, 1975.
134. G. Stein, T. Spelsberg, L. Kleinsmith, Science 183, 817 (1974).
135. J. Paul, Nature 238, 444 (1972).
136. F. Crick, A. Klug, Nature 255, 530 (1975).
137. Г. В. Гурский и др., Мол. биол. 9, 635 (1975); Mol Biol. Reports 2, 413, 427 (1976).
138. K. Beyreuther et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 3576 (1973).
139. W. Gilbert, A. Maxam, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 3581 (1973).
140. R. Dickson et al., Science 187, 27 (1975).
141. Я. Д. Киршенблат, Телергоны — химические средства воздействия животных, «Наука», 1968.
142. М. А. Лившиц и др., Studia Biophys. 60, 97 (1976).
143. G. Edelman, Science 192, 218 (1976).
144. В. Я. Александров, Клетки, макромолекулы и температура, «Наука», 1975.
145. Я. А. Винников, Цитологические и молекулярные основы редепции, «Наука», 1971.
146. R. Wright, J. Theor. Biol. 64, 473 (1977).

К главе 2

1. М. В. Волькенштейн, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
2. И. Пригожин, Введение в термодинамику необратимых процессов, ИЛ, 1960.
3. С. Де Гроот, Термодинамика необратимых процессов, Гостехиздат, 1956.
4. С. Де Гроот, в сб. «Термодинамика необратимых процессов», ИЛ, 1962, стр. 146.
5. С. Де Гроот, П. Мазур, Неравновесная термодинамика, «Мир», 1964.
6. Ю. Б. Румер, М. Ш. Рывкин, Термодинамика, статистическая физика и кинетика, «Наука», 1972.
7. Л. Д. Ландау, Е. М. Лифшиц, Статистическая физика, «Наука», 1976.
8. A. Katchalsky, P. Curran, Nonequilibrium Thermodynamics in biophysics, Harvard Univ. Press, 1965.
9. J. Hearon, Bull. Math. Biophys. 15, 121 (1953).
10. I. Prigogine, Bull. Acad. Roy. Belg. Classe Sci. 31, 600 (1945).
11. A. Katchalsky, G. Oster, in «The Molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall Inc., 1969, p. 1.
12. S. Friedländer, K. Keller, Chem. Eng. Sci. 20, 121 (1965).
13. Дж. Честер, Теория необратимых процессов, «Наука», 1966.
14. Сборник «Вопросы квантовой теории необратимых процессов», ИЛ, 1961.
15. И. Пригожин, Неравновесная статистическая механика, «Мир», 1964.
16. Д. Н. Зубарев, Неравновесная статистическая термодинамика, «Наука», 1971.
17. П. Глансдорф, И. Пригожин, Термодинамическая теория структуры, стабильности и флуктуаций, «Мир», 1973.
18. И. Пригожин, Ж. Николис, УФН 109, 517 (1973).
19. Hierarchical Structures, ed. L. White a. A. Wilson, Amer. Elsevier Publ. Co., 1969.

20. G. Oster, A. Perelson, A. Katchalsky, Nature 234, 393 (1971).
21. G. Oster, A. Perelson, A. Katchalsky, Network thermodynamics: dynamic modeling of biophysical systems, Quart. Rev. Biophys. 6, 1 (1973).
22. O. Kedem, J. Membrane Biol. 10, 213 (1972).
23. J. Meixner, J. Math. Phys. 4, 154 (1963).
24. B. Tellegen, Phillips Res. Rep. 7, 259 (1952).
25. А. Я. Хинчин, Математические основания статистической механики, Гостехиздат, 1943.
26. Р. Кубо, Статистическая механика, «Мир», 1967.
27. Д. Тер Хаар, УФН 59, 601; 60, 3 (1956).
28. Л. Бриллюэн, Наука и теория информации, Физматгиз, 1960.
29. Л. Больцман, Лекции по теории газов, Гостехиздат, 1953.
30. L. Boltzmann, Populäre Schriften, J. Ambrosius Barth, 1919.
31. Керзон Хуанг, Статистическая механика, «Мир», 1966.
32. Н. Н. Боголюбов, Проблемы динамической теории в статистической форме, Гостехиздат, 1946.
33. B. Alder, T. Wainwright, J. Chem. Phys. 33, 1434 (1960).
34. A. Bellemans, J. Orban, Phys. Lett. 24A, 620 (1967).
35. М. Кац, Несколько вероятностных задач физики и математики, «Наука», 1967.
36. Н. С. Крылов, Работы по обоснованию статистической физики, Изд. АН СССР, 1950.
37. Ю. М. Романовский, Н. В. Степанова, Д. С. Чернавский, Математическое моделирование в биофизике, «Наука», 1975.
38. F. Schlögl, Z. Phys. 191, 81 (1966).
39. A. Stahl, F. Schlögl, Z. Phys. 195, 98 (1966).
40. J. Meixner, Rheologica Acta 7, 8 (1968).
41. W. Schottky, Thermodynamik, Berlin, 1929.
42. Э. Шредингер, Что такое жизнь с точки зрения физики, Атомиздат, 1973.
43. Г. Кастлер, Возникновение биологической организации, «Мир», 1967.
44. Х. Равен, Оогенез, «Мир», 1964.
45. А. И. Зотин, Термодинамический подход к проблемам развития, роста и старения, «Наука», 1974.
46. J. Monod, Le hasard et la nécessité, Seuil, 1971.
47. М. Аптер, Кибернетика и развитие, «Мир», 1970.
48. М. В. Волькенштейн, Наука и жизнь № 1, 73 (1970).
49. М. М. Бонгард, Проблема узнавания, «Наука», 1967.
50. Е. А. Либерман, Биофизика 17, 932 (1972).
51. М. Эйген, Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул, «Мир», 1973; УФН 109, 545 (1973).
52. Л. А. Блюменфельд, Проблемы биологической физики, «Наука», 1974.
53. Р. П. Поплавский, УФН 115, 465 (1975).
54. А. Н. Колмогоров, ДАН СССР 119, 861 (1958).
55. Я. Г. Синай, ДАН СССР 158, 1261 (1963).
56. Д. В. Аносов, Я. Г. Синай, УМН 22, № 5 (1967).
57. Г. М. Заславский, Б. В. Чириков, УФН 105, 3 (1971).
58. Г. М. Заславский, Статистическая необратимость в нелинейных системах, «Наука», 1970.
59. I. Prigogine, La naissance du temps, Bull. Acad. Roy. Belg. Cl. Sci., 58, 1189 (1972).
60. I. Prigogine, The statistical interpretation of non-equilibrium entropy, Acta Phys. Austriaca Suppl. X, 401 (1973).
61. Р. Л. Стратанович, Теория информации, «Сов. радио», 1975.
62. М. В. Волькенштейн, Ж. общей биол. 37, 483 (1976).
63. М. В. Волькенштейн, Д. С. Чернавский, J. Social Biol. Struct. 2 (1978).
64. G. Nicolis, I. Prigogine, Self-organization in nonequilibrium systems, J. Wiley, 1977.

К главе 3

1. В. Я. Александров, Усп. совр. биол. **69**, 220 (1970); J. Theor. Biol. **35**, 1 (1972).
2. Ж. Браше, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 11.
3. J. Robertson, in «Molecular organization and biological function», ed. J. Allen, Harper & Row, 1967, p. 65.
4. A. Katchalsky, P. Curran, Non-equilibrium thermodynamics in biophysics, Harvard Univ. Press, 1965.
5. H. Witt, Quart. Rev. Biophys. **4**, 365 (1971).
6. А. Поликар, Молекулярная цитология мембранных систем животной клетки, «Мир», 1972.
7. O. Kedem, A. Katchalsky, Biochim. Biophys. Acta **27**, 229 (1958); J. Gen. Physiol. **45**, 143 (1961).
8. A. Katchalsky, O. Kedem, Biophys. J. **2**, 53 (1962).
9. A. Staverman, Trans. Faraday Soc. **48**, 176 (1952).
10. M. Danespaiooh et al., Biophys. J. **15**, 591 (1975).
11. P. Scholander, Science **131**, 585 (1960); **132**, 1379 (1960).
12. R. Blumenthal, A. Katchalsky, Biochim. Biophys. Acta **173**, 51 (1969).
13. A. Katchalsky, in «Biology and Physical Sciences», Columbia Univ. Press, 1969, p. 1.
14. P. Dirac, Proc. Cambr. Phil. Soc. **22**, 132 (1924).
15. W. Wilbrandt, T. Rosenberg, Pharm. Rev. **13**, 109 (1961).
16. A. Katchalsky, R. Spangler, Quart. Rev. Biophys. **1**, 127 (1968).
17. G. Oster, A. Perelson, A. Katchalsky, Quart. Rev. Biophys. **6**, 1 (1973).
18. A. Katchalsky, G. Oster, in «The molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall, 1969, p. 1.
19. R. Bearman, K. Kirkwood, J. Chem. Phys. **28**, 136 (1958).
20. Б. Катц, Нерв, мышца и синапс, «Мир», 1968.
21. П. Н. Никольский, в сб. «Руководство по цитологии», т. 1, «Наука», 1965, стр. 491.
22. А. А. Веренинов, А. А. Лев, в сб. «Руководство по цитологии», т. 2. «Наука», 1966, стр. 5.
23. A. Hinkel, J. Physiol. **156**, 314 (1961).
24. A. Hodgkin, R. Keynes, J. Physiol. **119**, 513 (1953).
25. А. А. Лев, Nature **201**, 1132 (1964).
26. P. Baker, A. Hodgkin, T. Shaw, J. Physiol. **164**, 330, 355 (1962).
27. И. Тасаки, Нервное возбуждение, «Мир», 1971.
28. P. Goldman, J. Gen. Physiol. **27**, 37 (1943).
29. A. Hodgkin, B. Katz, J. Physiol. **108**, 37 (1949).
30. G. Eisenman, F. Conti, J. Gen. Physiol. **48**, 65 (1965).
31. R. Parlin, H. Eyring, in «Ion transport across membranes», ed. H. Clarke, Acad. Press, 1954, p. 153.
32. М. В. Волькенштейн, С. Н. Фишман, Биофизика **14**, 1008 (1969); Biochim. Biophys. Acta **203**, 1 (1970).
33. Е. А. Либерман, Л. М. Чайлахян, Цитология **5**, 311 (1963).
34. D. Agin, Biophys. J. **9**, 209 (1969).
35. D. Agin, C. Schauf, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **59**, 1201 (1968).
36. G. Roy, J. Membrane Biol. **6**, 329 (1971).
37. С. Н. Фишман, М. В. Волькенштейн, J. Membrane Biol. **12**, 189 (1973).
38. Г. И. Романенко, С. В. Айрапетьянц, Я. М. Авраменко, Цитология **2**, 1354 (1967).
39. E. Harris, J. Physiol. **177**, 355 (1965).
40. P. Horowitz, C. Gerber, J. Gen. Physiol. **48**, 489 (1965).
41. P. Caldwell et al., J. Physiol. **152**, 561 (1960).
42. J. Skou, Physiol. Rev. **45**, 596 (1965); Quart. Rev. Biophys. **7**, 435 (1974).
43. J. Charnock, R. Post, Nature **109**, 910 (1963).

44. R. Post, C. Mezzitt, C. Kinsolving, C. Albright, J. Biol. Chem. 235, 1796 (1960).
45. K. Ahmed, J. Judah, Biochim. Biophys. Acta 104, 112 (1965).
46. Б. А. Ташмухамедов, Н. П. Лисовская, Биофизика 10, 699 (1965).
47. R. Squires, Biochim. Biophys. Res. Comm. 19, 27 (1965).
48. Н. П. Лисовская, в сб. «Успехи биологической химии», т. 8, «Наука», 1967, стр. 93.
49. L. Opit, J. Charnock, Nature 208, 471 (1965).
50. A. Stone, Biochim. Biophys. Acta 150, 578 (1968).
51. T. Rosenberg, W. Wilbrandt, J. Theor. Biol. 5, 288 (1963).
52. J. Robinson, Nature 233, 419 (1971).
53. J. Kyte, J. Biol. Chem. 246, 4157 (1971).
54. G. Kepner, R. Masey, Biochim. Biophys. Acta 163, 188 (1968).
55. W. Stein et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 275 (1973).
56. М. В. Волькенштейн, С. Н. Фишман, Биофизика 15, 31 (1970); Biochim. Biophys. Acta 203, 10 (1970).
57. Ф. Гельферих, Иониты, ИЛ, 1962.
58. Б. И. Ходоров, Общая физиология возбудимых мембран, «Наука», 1975.
59. А. Ходжкин, Нервный импульс, «Мир», 1965.
60. A. Solomon, J. Gen. Physiol. 51, 335 (1968).
61. B. Hille, J. Gen. Physiol. 58, 599 (1971); 59, 637 (1972).
62. B. Hille, J. Gen. Physiol. 61, 669 (1973).
63. L. Gordon, J. Membrane Biol. 12, 207 (1973).
64. E. Korn, Ann. Rev. Biochim. 38, 263 (1963).
65. M. Bretscher, Science 181, 622 (1973).
66. L. van Golde, V. Tomasi, L. van Deenen, in «Chemical physics of lipids», 1967, vol. 1, p. 282.
67. L. van Deenen, in «The molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall, 1969, p. 47.
68. R. Capaldi, Sci. Amer. 230, № 3, 26 (1974).
69. D. Neville, Biochim. Biophys. Acta 154, 540 (1968).
70. A. Maddy, in «The molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall, 1969, p. 95.
71. J. Danielli, H. Davson, J. Cell. Comp. Physiol. 5, 495 (1935).
72. J. Robertson, in «Molecular organization and biological function», ed. J. Allen, Harper & Row, 1967, p. 65.
73. E. Korn, Science 153, 1491 (1966); J. Gen. Physiol. 52, 2575 (1968).
74. A. Benson, J. Amer. Oil Chem. Soc. 43, 265 (1966).
75. Л. Д. Бергельсон, ЖВХО им. Менделеева 20, 322 (1975).
76. Л. Д. Бергельсон и др., ДАН СССР 194, 708 (1970).
77. В. Ф. Быстров и др., Chem. Phys. Lipids 6, 343 (1971).
78. Л. И. Барсуков и др., ДАН СССР 208, 717 (1973); Biochem. Biophys. Res. Comm. 60, 196 (1974).
79. S. Watson, O. Remsen, Science 163, 685 (1969).
80. B. Culliton, Science 175, 1348 (1972).
81. P. Mueller et al., Nature 194, 979 (1962).
82. Л. Цофина, Е. А. Либерман, А. Бабаков, Nature 212, 681 (1966).
83. H. Tien, S. Carbone, E. Dawidowicz, Nature 212, 718 (1966).
84. F. Henn, T. Thompson, Ann. Rev. Biochem. 28, 241 (1969).
85. V. Luzzatti, in «Biological membranes», ed. D. Chapman, Acad. Press, 1968.
86. T. Gulik-Krzywidcki, E. Rivas, V. Luzzatti, J. Mol. Biol. 27, 303 (1967).
87. V. Luzzatti, A. Tardieu, T. Gulik-Krzywidcki, Nature 217, 1028 (1968).
88. V. Luzzatti et al., in «The molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall, 1969, p. 79.
89. R. Keynes, Nature 239, 29 (1971).

90. S. Singer, «Structure and function of biological membranes», ed. L. Rotfield, Acad. Press, 1971, p. 318.
91. S. Singer, G. Nicolson, Science **175**, 720 (1972).
92. D. Chapman, Symposia Faraday Soc. **5**, 163 (1971), Quart. Rev. Biophys. **8**, 185 (1975).
93. J. Bernal, Trans. Faraday Soc. Gen. Disc. **29**, 1082 (1933).
94. H. Mc Connell, B. Mc Farland, Quart. Rev. Biophys. **3**, 91 (1970).
95. G. Radda, in «Current topics in bioenergetics», vol. **9**, Acad. Press 1971, p. 81.
96. A. Azzi, Quart. Rev. Biophys. **8**, 237 (1975).
97. E. Finer, A. Flock, H. Hansen, Biochim. Biophys. Acta **260**, 49 (1972).
98. C. Giller, Ann. Rev. Biophys. Bioengineer. **1**, 203 (1972).
99. E. Oldfield, Science **180**, 982 (1973).
100. S. Singer, Science **180**, 983 (1973).
101. T. Ebrey, B. Honig, Quart. Rev. Biophys. **8**, 129 (1975).
102. R. Cone, Nature New Biol. **236**, 39 (1972).
103. M. Poo, R. Cone, Nature **247**, 438 (1970).
104. L. Freye, M. Edidin, J. Cell. Sci. **7**, 319 (1970).
105. A. Keith, G. Bulfield, W. Snipes, Biophys. J. **10**, 618 (1970).
106. M. Calvin et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA **63**, 1 (1969).
107. S. Tamm, S. Tamm, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 4589 (1974).
108. J. Lenard, S. Singer, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **56**, 1828 (1966).
109. D. Wallach, P. Zähler, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **56**, 1552 (1966).
110. M. Glaser et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA **65**, 721 (1970).
111. S. Singer, Adv. Immunol. **19**, 1 (1974); Ann. Rev. Biochem. **43**, 805 (1974).
112. J. Faneau, T. Bramley, R. Coleman, Nature **229**, 114 (1971).
113. A. Goldop, S. Ohki, J. Danielli, Rec. Progr. Surface Sci. **3**, 193 (1970).
114. W. Harris, L. Scriven, Nature **228**, 827 (1970).
115. A. Lehninger, Physiol. Rev. **42**, 467 (1962).
116. Del Castillo et al., Science **153**, 185 (1962).
117. L. Cohen, R. Keynes, B. Hille, Nature **218**, 438 (1968).
118. L. Cohen, B. Hille, R. Keynes, J. Physiol. **203**, 489 (1969).
119. L. Cohen et al., J. Physiol. **218**, 205 (1971).
120. L. Cohen, R. Keynes, J. Physiol. **212**, 259 (1971).
121. L. Cohen, R. Keynes, D. Landowne, J. Physiol. **224**, 701 (1972).
122. I. Tasaki et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA **61**, 883 (1968).
123. F. Conti, I. Tasaki, Science **169**, 1322 (1970).
124. J. Patrick et al., J. Membrane Biol. **5**, 102 (1971).
125. D. Urry, Biochim. Biophys. Acta **265**, 115 (1972).
126. J. Blazyk, J. Steim, Biochim. Biophys. Acta **266**, 737 (1972).
127. P. Overath, H. Träuble, Biochemistry **12**, 2625 (1973).
128. H. Träuble, H. Eibl, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 214 (1974).
129. B. Wisnieski et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 4381 (1974).
130. М. В. Волькенштейн, Конфигурационная статистика полимерных цепей, Изд. АН СССР, 1958.
131. М. В. Волькенштейн, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
132. H. Hinz, J. Sturtevant, J. Biol. Chem. **247**, 6071 (1972).
133. B. McFarland, H. McConnell, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **68**, 1274 (1971).
134. S. Chan, G. Feigenson, C. Seiter, Nature **231**, 110 (1971).
135. J. Nagle, J. Chem. Phys. **58**, 252 (1973).
136. H. Träuble, J. Membrane Biol. **4**, 193 (1971).
137. D. Marsh, J. Membrane Biol. **18**, 145 (1974).
138. H. Higman, T. Podleski, E. Bartels, Biochim. Biophys. Acta **75**, 187 (1963).
139. M. Nomura, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **52**, 1514 (1964).
140. Е. Е. Фесенко, Г. Я. Первухин, Мол. биол. **10**, 1078, 1249 (1976).
141. B. Cater et al., Biochim. Biophys. Acta **363**, 54 (1974).
142. M. Sheetz, S. Singer, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 4457 (1974).

143. *J. P. Changeux et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 57, 334 (1967).
144. *J. P. Changeux, J. Thiéry*, J. Theor. Biol. 17, 315 (1967).
145. *J. Monod, J. Wyman, J.-P. Changeux*, J. Mol. Biol. 12, 88 (1965).
146. *D. Feingold*, J. Membrane Biol. 3, 2372 (1970).
147. *J. P. Changeux*, J. Mol. Pharmacol. 2, 369 (1966).
148. *H. Rang*, Nature 231, 91 (1971).
149. *R. Blumenthal, J. P. Changeux, R. Lefever*, J. Membrane Biol. 2, 351 (1970).
150. *G. Adam*, Z. Naturforsch. 23b, 181 (1968); Ber. Bunsengesell. 71, 829 (1967).
151. *T. Hill, Yi-der-Chen*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 65, 1069 (1970); 66, 189 (1970); 68, 1711, 2488 (1971); 70, 62 (1973).
152. *М. В. Волькенштейн*, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 805 (1971).
153. *М. В. Волькенштейн*, J. Theor. Biol. 34, 193 (1972).
154. *М. М. Шемякин, Ю. А. Овчинников*, in «Recent developments on the chemistry of natural compounds», vol. 2, Publ. House Hung. Acad. Sci., 1967, p. 5.
155. *М. М. Шемякин и др.*, in «The molecular basis of membrane function», ed. D. Tosteson, Prentice-Hall, 1969, p. 173.
156. *М. М. Шемякин и др.*, J. Membrane Biol. 1, 402 (1969).
157. *Ю. А. Овчинников, А. М. Шкроб, В. Т. Иванов*, Мембраноактивные комплексоны, «Наука», 1974.
158. *А. А. Лев, Е. П. Бужинский*, Цитология 9, 102 (1967).
159. *C. Moore, B. Pressman*, Biochem. Biophys. Res. Comm. 15, 562 (1964).
160. *B. Pressman*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 53, 1076 (1965).
161. *P. Läuger*, Science 178, 24 (1972).
162. *В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев*, Индуцированный ионный транспорт, «Наука», 1974.
163. *P. Läuger, G. Stark*, Biochim. Biophys. Acta 211, 458 (1970).
164. *G. Stark et al.*, Biophys. J. 11, 981 (1971).
165. *В. С. Маркин и др.*, Биофизика 14, 256 (1969).
166. *В. С. Маркин и др.*, Биофизика 14, 462 (1969).
167. *В. С. Маркин, Е. А. Либерман*, ДАН СССР 201, 975 (1971).
168. *В. С. Маркин*, ДАН СССР 202, 703 (1972).
169. *С. Х. Айтъян, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев*, Биофизика 18, 75 (1973).
170. *В. С. Маркин*, Докторская диссертация, Институт электрохимии АН СССР, 1973.
171. *O. Le Blanc*, Biochim. Biophys. Acta 193, 350 (1969).
172. *П. А. Григорьев, Л. Н. Ермишкин, В. С. Маркин*, Биофизика 17, 788 (1972).
173. *O. Le Blanc*, J. Membrane Biol. 4, 227 (1971).
174. *Е. А. Либерман, В. П. Топалы*, Биофизика 13, 1025 (1968); 14, 452 (1969); Biochim. Biophys. Acta 163, 125 (1968).
175. *V. Ketterer, B. Neumcke, P. Läuger*, J. Membrane Biol. 5, 225 (1971).
176. *R. Fuoss*, J. Amer. Chem. Soc. 57, 488 (1935); Trans. Faraday Soc. 32, 594 (1936).
177. *G. Janz, S. Danyluk*, Chem. Rev. 60, 209 (1960).
178. *В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко*, Биофизика 15, 941 (1970).
179. *В. Г. Левич, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев*, Вестн. АН СССР, № 6, 60 (1969).
180. *Ю. А. Чизмаджев, В. С. Маркин, Р. Н. Куклин*, Биофизика 16, 230, 437 (1971).
181. *L. Bruner*, Biophysik 6, 241 (1970).
182. *J. Rothman*, J. Theor. Biol. 38, 1 (1973).
183. *C. Armstrong*, Quart. Rev. Biophys. 7, 179 (1975).

184. В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко, Ю. А. Чизмаджев, УФН 123, 289 (1977).
185. F. Conti, J. De Felice, J. Physiol. 248, 45 (1975).
186. С. Х. Айтыян, В. С. Маркин, В. В. Малев, Биофизика 21, 253, 257, 261 (1976).

К главе 4

1. J. Bernstein, Pflügers Arch. Ges. Physiol. 92, 521 (1902); Elektrobiologie, Vieweg, 1912.
2. П. П. Лазарев, Ионная теория возбуждения, ГНТИ, 1923.
3. А. Ходжкин, Нервный импульс, «Мир», 1965.
4. Б. Катц, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 164.
5. Б. Катц, Нерв, мышца и синапс, «Мир», 1968.
6. И. Тасаки, Нервное возбуждение, «Мир», 1971.
7. Е. А. Либерман, «Генераторы» и «насосы» клетки, «Знание», 1965.
8. Б. И. Ходоров, Проблема возбудимости, «Медицина», 1969.
9. J. Robertson, in «Molecular organization and biological function», ed. J. Allen, Harper a. Row, 1967, p. 65.
10. B. Geren, Exp. Cell Res. 7, 558 (1954).
11. D. Caspar, D. Kirschner, Nature New Biol. 231, 46 (1971).
12. J. O'Brien, E. Sampson, M. Stern, J. Neurochem. 14, 357 (1967)
13. H. Hartline, J. Cell. Comp. Physiol. 5, 229 (1934).
14. М. М. Бонгард, А. С. Смирнов, Биофизика 2, 336 (1957).
15. Е. А. Либерман, Биофизика 2, 427 (1957).
16. R. Lillie, J. Gen. Physiol. 7, 473 (1924—1925).
17. G. Kato, The microphysiology of nerve, Maruzen, Tokyo, 1934.
18. I. Tasaki, in «Handbook of physiology», Sec. 1, Neurophysiology, vol. 1, Williams a. Wilkins, 1959, p. 75.
19. I. Tasaki, I. Singer, Ann. N. Y. Acad. Sci. 137, 792 (1966).
20. T. Oikawa et al., Acta Physiol. Scand. 52, 195 (1961).
21. I. Singer, I. Tasaki, Fed. Proc. 24, 585 (1965).
22. I. Tasaki, I. Singer, A. Watanabe, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 54, 763 (1965).
23. B. Abbott, A. Hill, J. Howarth, Proc. Roy. Soc. B148, 149 (1958).
24. B. Abbott, J. Gen. Physiol. 43, Suppl. 119 (1960).
25. W. Ostwald, Z. Phys. Chem. 35, 33, 204 (1900).
26. R. Lillie, Science 48, 51 (1918); 67, 593 (1928); 69, 305 (1929); J. Gen. Physiol. 3, 107 (1920); 7, 473 (1925); 14, 349 (1931); 19, 109 (1935); Biol. Rev. Cambr. Phil. Soc. 11, 181 (1936).
27. K. Bonhoeffer, G. Vollheim Z. Naturforsch. 8b, 406 (1953).
28. K. Bonhoeffer, J. Gen. Physiol. 32, 69 (1948).
29. K. Bonhoeffer, W. Renneberg, Z. Phys. 118, 389 (1941).
30. K. Jamagiwa, Japan Med. J. 1, 439, 452, 557 (1948); 2, 39, 93, 217 (1949); Japan J. Physiol. 1, 40, 48, 195 (1950); 10, 5 (1960).
31. В. В. Смолянинов, Биофизика 14, 336 (1969).
32. В. С. Маркин, Н. Г. Мазур, Электрохимия 7, 961 (1971); 8, 1555 (1972).
33. Н. Г. Мазур, В. С. Маркин, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 309.
34. В. Г. Левич, Н. Г. Мазур, В. С. Маркин, ДАН СССР 195, 209 (1970); 198, 947, 1214 (1971).
35. В. С. Маркин, Диссертация, Институт электрохимии АН СССР, 1973
36. K. Vetter, Z. Electrochem. 56, 106 (1952).
37. T. Teorell, Exp. Cell Research Suppl. 5, 83 (1958); J. Gen. Physiol. 42, 831, 847 (1959); Acta Soc. Med. Uppsala 64, 341 (1959); 65, 4, 231 (1960); Arhiv für Kemi 18, 401 (1960); Acta Physiol. Scand. 53, 1 (1961).
38. U. Frank, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 71, 789 (1967).

39. В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко, Ю. А. Чизмаджев, *Электрохимия* 7 337 (1971); в сб. «Итоги науки. Электрохимия», т. 6, ВИНТИ, 1971, стр. 165.
40. В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, *Индукцированный ионный транспорт*, «Наука», 1974.
41. N. Rashevsky, *Mathematical Biophysics*, vol. 2, Dover; 1960.
42. W. Rushton, *J. Physiol.* 32, 82 (1934).
43. A. Weinberg, *Bull. Math. Biophys.* 2, 127 (1940).
44. Д. Н. Насонов, *Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение*, Изд. АН СССР, 1959.
45. Ю. И. Аршавский и др., *Цитология* 11, 273 (1969).
46. Сборник «Модели структурно-функциональной организации некоторых биологических систем», ред. И. М. Гельфанд, «Наука», 1966.
47. Ю. Б. Котов, М. Л. Цеглин, *Биофизика* 11, 547 (1966).
48. М. Б. Беркинблит, С. В. Фокин, А. В. Хололов, *Биофизика* 11, 329 (1966).
49. Ю. И. Аршавский и др., *Биофизика* 9, 365 (1964).
50. A. Hodgkin, A. Huxley, *J. Physiol.* 117, 500 (1952).
51. A. Hodgkin, A. Huxley, *J. Physiol.* 116, 449 (1952).
52. A. Scott, *Math. Biosci.* 11, 277 (1971).
53. А. С. Компанеев, В. Ц. Гурович, *Биофизика* 11, 913 (1966).
54. А. С. Компанеев, *Биофизика* 16, 672, 890 (1971).
55. В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, *Биофизика* 12, 900 (1967); *Природа*, № 6, 18 (1970).
56. В. Г. Левич, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, *Вестн. АН СССР*, № 9, 60 (1969).
57. А. И. Ундровинас, В. Ф. Пастушенко, В. С. Маркин, *ДАН СССР* 204, 229 (1972).
58. В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко, *Биофизика* 14, 316, 517 (1969).
59. В. Ф. Пастушенко, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, *Биофизика* 14, 883, 1072 (1969); 19, 127, 319 (1974).
60. В. С. Маркин, *Биофизика* 15, 120, 681 (1970).
61. В. С. Маркин, *Биофизика* 18, 314 (1973).
62. В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, *Биофизика* 16, 119 (1971); *J. Theor. Biol.* 36, 61 (1972).
63. С. Н. Фишман, *J. Theor. Biol.* 41, 409 (1973).
64. A. Hodgkin, *Proc. Roy. Soc.* B126, 87 (1938).
65. J. Del Castillo, L. Stark, *J. Physiol.* 118, 207 (1952).
66. R. Guttman, R. Bornhill, *J. Gen. Physiol.* 49, 1007 (1966).
67. С. Н. Фишман, Б. И. Ходоров, М. В. Волькенштейн, *Биофизика* 17, 421 (1972); *Biochim. Biophys. Acta* 225, 1 (1971).
68. С. Н. Фишман, Б. И. Ходоров, М. В. Волькенштейн, *Биофизика* 17, 611 (1972).
69. С. Н. Фишман, М. В. Волькенштейн, *Биофизика* 17, 794 (1972); *Biochim. Biophys. Acta* 241, 697 (1971).
70. С. Н. Фишман, В. А. Чернейкин, М. В. Волькенштейн, *Biochim. Biophys. Acta* 298, 710 (1973).
71. M. Blaustein, D. Goldman, *J. Gen. Physiol.* 51, 279 (1968).
72. M. Takata, *J. Gen. Physiol.* 50, 461 (1967).
73. B. Hille, *J. Gen. Physiol.* 51, 221 (1968).
74. F. Brink, *Pharmacol. Rev.* 6, 243 (1954).
75. B. Frankenhaeuser, A. Hodgkin, *J. Physiol.* 137, 128 (1957).
76. L. Cohen, B. Hille, R. Keynes, *J. Physiol.* 203, 489 (1969).
77. I. Tasaki, L. Carnay, A. Watanabe, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 64, 1362 (1969).
78. A. Hodgkin, A. Huxley, B. Katz, *Arch. Sci. Physiol.* 3, 129 (1949).
79. A. Hodgkin, A. Huxley, *J. Physiol.* 116, 497 (1952).
80. L. Cohen, R. Keynes, B. Hille, *Nature* 218, 438 (1968).
81. Г. Н. Берестовский и др., *Биофизика* 15, 62 (1970).

82. *C. Armstrong, F. Bezanilla*, Nature **242**, 459 (1973); J. Gen. Physiol **63**, 533 (1974).
83. *R. Keynes, E. Rojas*, J. Physiol. **233**, 28 (1973); **239**, 393 (1974).
84. *W. Adelman, Y. Palti*, J. Gen. Physiol. **53**, 685 (1969).
85. *E. De Robertis*, Science **171**, 963 (1971).
86. *O. Loewi*, Pflügers Arch. Ges. Physiol. **189**, 239 (1921).
87. *E. De Robertis, H. Bennett*, Fed. Proc. **13**, 35 (1954); J. Biophys. Biochim. Cytol. **1**, 47 (1955).
88. *K. Krajevic, J. Mitchell*, J. Physiol. **155**, 246 (1961).
89. *D. Nachmansohn*, Chemical and molecular bases of nerve activity Acad. Press, 1959.
90. *W. Leuzinger, M. Goldberg, E. Cauvin*, J. Mol. Biol. **40**, 217 (1969).
91. *J. P. Changeux, T. Podleski, J. Mennier*, J. Gen. Physiol. **54**, 225 (1969).
92. *A. Takeuchi, N. Takeuchi*, J. Physiol. **154**, 52 (1960); J. Neurophysiol. **23**, 397 (1960).
93. *I. Boyd, A. Martin*, J. Physiol. **132**, 74 (1956).
94. *Б. И. Ходоров*, Общая физиология возбудимых мембран, «Наука», 1975.
95. *J. Griffith*, Mathematica! Neurobiology. Acad. Press, 1971.
96. *H. Meves*, J. Physiol. **243**, 847 (1974).
97. *K. Cole, J. Moore*, J. Gen. Physiol. **44**, 123 (1960).
98. *В. Ф. Пастушенко, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев*, Биофизика **20**, 675, 880, 1078 (1975).
99. *В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко, Ю. А. Чизмаджев*, УФН **123**, 289 (1977).

К главе 5

1. *М. В. Волькенштейн*, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
2. *A. Katchalsky*, J. Polymer Sci. **7**, 393 (1951).
3. *A. Katchalsky et al.*, in «Contractile polymers», Pergamon Press, 1960.
4. *W. Kuhn, V. Hargitay*, Experientia **7**, 1 (1951).
5. *J. Hermans*, Flow properties of disperse systems, North Holland Publ. Co., 1953.
6. *A. Katchalsky, P. Curran*, Nonequilibrium thermodynamics in biophysics, Harvard Univ. Press, 1965.
7. *W. Kuhn, A. Ramel, D. Walters*, Труды биохимического конгресса, Вена, 1958.
8. *В. А. Энгельгардт, М. Н. Любимова*, Биохимия **4**, 716 (1939); Nature **144**, 668 (1939); Биохимия **7**, 205 (1942).
9. *А. Г. Пасынский, В. Блохина*, ДАН СССР **86**, 1171 (1952).
10. *В. И. Воробьев* ДАН СССР **137**, 972 (1961).
11. *S. Lifson*, J. Chem. Phys. **26**, 727 (1957); **29**, 89 (1958).
12. *P. Flory*, Science **124**, 53 (1956).
13. *О. Б. Птицын*, Высокомоле. соед. **1**, 715 (1959); **2**, 463 (1960).
14. *Т. М. Бириштейн*, Высокомоле. соед. **4**, 605 (1962).
15. *В. А. Энгельгардт*, Изв. АН СССР, сер. биол., № 2, 182 (1970).
16. *H. Huxley*, Biochim. Biophys. Acta **12**, 387 (1953); J. Mol. Biol. **7**, 281 (1963); в сб. «Молекулы и клетки», вып. 2, «Мир», 1967, стр. 107.
17. *J. Hanson, H. Huxley*, in «Structure and function of muscle», vol. 1, Acad. Press, 1960.
18. *H. Huxley, W. Brown*, J. Mol. Biol. **30**, 383 (1967).
19. *H. Huxley*, Science **164**, 1356 (1969).
20. *Y. Tonomura*, Muscle proteins, muscle contraction and cation transport, Tokyo Univ. Press, 1972.
21. *H. Slayter, S. Lowey*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **58**, 1611 (1967).
22. *J. Squire*, Nature **233**, 457 (1971); J. Mol. Biol. **72**, 125 (1972); **77**, 291 (1973).
23. *R. Tregear, J. Squire*, J. Mol. Biol. **77**, 279 (1973).

24. *F. Oosawa, S. Asabura, T. Ooi*, Physical chemistry of muscle protein actin. *Progr. Theor. Phys. Suppl.* № 17 (1961).
25. *F. Oosawa, M. Kasai*, *J. Mol. Biol.* 4, 10 (1962).
26. *S. Ebashi*, *Nature* 240, 217 (1972).
27. *K. Maruyama, S. Ebashi*, in «The physiology and biochemistry of muscle as a food», ed. E. Briskey, R. Casseus, B. Marsh, Wisconsin Univ. Press, 1970, vol. 2, p. 373.
28. Дж. Бендолл, Мышцы, молекулы и движение, «Мир», 1970.
29. М. М. Заалишвили, Физико-химические основы мышечной деятельности, «Мецниереба», Тбилиси, 1970.
30. *H. Huxley*, *Nature* 243, 445 (1973).
31. *H. Huxley*, *J. Mol. Biol.* 37, 507 (1968).
32. *J. Hanson*, *Quart. Rev. Biophys.* 1, 177 (1968).
33. *G. Elliott, J. Lowy, B. Millman*, *J. Mol. Biol.* 25, 31 (1967).
34. *J. Hasselgrove, H. Huxley*, *J. Mol. Biol.* 77, 549 (1973).
35. *M. Burke, E. Reisler, W. Harrington*, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70, 3793 (1973).
36. Б. Катц, Нерв, мышца и синапс, «Мир», 1968.
37. *S. Ebashi, M. Endo, I. Ohtsuki*, *Quart. Rev. Biophys.* 2, 466 (1969).
38. *J. Murray, A. Weber*, *Sci. Amer.* 230, № 2, 58 (1974).
39. С. Н. Фишман, В. А. Чернейкин, М. В. Волькенштейн, Биофизика 17, 1061 (1972).
40. И. И. Иванов, В. А. Юрьев, Биохимия и патобиохимия мышц, Медгиз, 1961.
41. *A. Hill*, First and last experiments in muscle mechanics. Cambridge Univ. Press, 1970; *A. Хилл*, Механика мышечного сокращения, «Мир», 1972.
42. *A. Hill*, *Proc. Roy. Soc.* B126, 136 (1938).
43. *A. Hill*, *Proc. Roy. Soc.* B136, 195, 399, 420 (1949); B137, 268, 320 (1950); B139, 464 (1952); B141, 161 (1953); B148, 397 (1958).
44. *A. Hill*, *Proc. Roy. Soc.* B159, 297 (1964).
45. *A. Hill*, *Proc. Roy. Soc.* B159, 319, 589, 596 (1964).
46. *B. Jewell, D. Wilkie*, *J. Physiol.* 152, 30 (1960).
47. *X. Aubert*, *J. de Physiol.* 48, 105 (1956).
48. *K. Edman*, *J. Physiol.* 183, 407 (1966).
49. *A. Gordon, A. Huxley, F. Julian*, *J. Physiol.* 184, 170 (1966).
50. *M. Schoenberg, R. Podolsky*, *Science* 176, 52 (1972).
51. *A. Hill*, *J. Physiol.* 56, 19 (1922).
52. Дж. Прингл, в сб. «Моделирование в биологии», ИЛ, 1963, стр. 85.
53. Т. Алфрей, Механические свойства высокополимеров, ИЛ, 1952.
54. *F. Buechthal, E. Kaiser*, *Dan. Biol. Medd. Koh.* 21, № 7 (1951).
55. *Y. Tonomura, F. Oosawa*, *Ann. Rev. Biophys. a. Bioengineering* 1, 159 (1972).
56. *F. Carlson, D. Hardy, D. Wilkie*, *J. Gen. Physiol.* 46, 851 (1963).
57. *W. Fenn*, *J. Physiol.* 58, 373 (1924).
58. *R. Wolledge*, *Progr. Biophys. a. Mol. Biol.* 22, 39 (1971).
59. *M. Kushmerick, R. Larson, R. Davies*, *Proc. Roy. Soc.* B174, 293, 315 (1969).
60. *D. Cain, A. Infante, R. Davies*, *Nature* 196, 214 (1962).
61. *A. Infante, D. Klaupiks, R. Davies*, *Biochim. Biophys. Acta* 88, 215 (1964); 94, 504 (1965); *Nature* 201, 620 (1964).
62. *M. Kushmerick, R. Davies*, *Proc. Roy. Soc.* B174, 315 (1969).
63. *C. Gilbert*, *J. Physiol.* 207, 15P (1970).
64. *C. Gilbert et al.*, *J. Physiol.* 218, 163 (1971).
65. *W. Bowen, L. Mandelkern*, *Science* 173, 239 (1971).
66. *K. Tawada, S. Kounosu, F. Oosawa*, *J. Theor. Biol.* 45, 219 (1974).
67. *W. Mommaerts*, *Physiol. Rev.* 49, № 3 (1969).
68. *A. Oplatka*, *J. Theor. Biol.* 34, 379 (1972).
69. *M. Bazany*, *J. Gen. Physiol.* 50, 197 (1967).
70. *W. Bornhorst, J. Minardi*, *Biophys. J.* 9, 654 (1969).

71. O. Kedem, R. Caplan, Trans. Faraday Soc. **61**, 1897 (1965).
72. A. Oplatka, J. Ionath, Biopolymers **6**, 1147 (1968).
73. R. Caplan, Biophys. J. **8**, 1146, 1167 (1968).
74. R. Caplan, J. Theor. Biol. **11**, 63 (1968).
75. J. Risemann, J. Kirkwood, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 2820 (1948).
76. J. Botts, M. Morales, J. Cell. Comp. Physiol. **37**, 27 (1951); Arch. Biochem. Biophys. **37**, 283 (1952).
77. М. Моралес, в сб. «Современные проблемы биофизики», т. 2, ИЛ, 1962, стр. 152.
78. W. Astbury, Proc. Roy. Soc. **B137**, 58 (1950).
79. Я. И. Френкель, Собрание избранных трудов, т. 3, Изд. АН СССР, 1959, стр. 456.
80. А. Тобольский, Р. Пауэлл, Г. Эйринг, в сб. «Химия больших молекул», т. 2, ИЛ, 1948, стр. 206.
81. H. Holland, G. Halsey, H. Eyring, Text. Res. J. **16**, 201 (1946).
82. C. Reihardt, H. Eyring, Text. Res. J. **16**, 635 (1946).
83. Л. Х. Эйдус, Биофизика **7**, 683 (1962).
84. G. Gamow, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **57**, 696 (1967).
85. M. Spencer, C. Wortington, Nature **187**, 388 (1960).
86. C. Dragomir, J. Theor. Biol. **27**, 343 (1970).
87. D. Shear, J. Theor. Biol. **28**, 531 (1970).
88. A. Miller, J. Woodhead-Galloway, Nature **229**, 470 (1971).
89. А. Сцент-Двёрды, О мышечной деятельности, Медгиз, 1947.
90. А. Сцент-Двёрды, Биоэнергетика, Физматгиз, 1960.
91. С. McClare, J. Theor. Biol. **35**, 569 (1972).
92. А. С. Давыдов, J. Theor. Biol. **38**, 559 (1973); Studia Biophys. **47**, 221 (1975).
93. М. В. Волькенштейн, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 805 (1971); J. Theor. Biol. **34**, 193 (1972).
94. В. А. Энгельгардт, Adv. Enzymol. **6**, 147 (1946).
95. В. А. Энгельгардт, in Nobel Symposium 11, «Symmetry and function of biological systems at the macromolecular level», ed. A. Engström a. B. Strandberg, Wiley Intersci. 1964.
96. M. Pryor, Progr. Biophys. **1**, 216 (1950).
97. T. Hill, Proc. Nat. Acad. Sci. US **58**, 1194 (1968).
98. P. Flory, Science **124**, 53 (1956); J. Cell. Compar. Physiol. **49**, Suppl. 1, 175 (1957).
99. С. Hoeve, P. Flory, in «Conference on contractility», Pittsburgh, 1960, p. 31.
100. С. Hoeve, Y. Willis, D. Martin, Biochemistry **2**, 282 (1963).
101. R. Podolsky, in «Conference on contractility», Pittsburgh, 1960, p. 73.
102. R. Davies, Nature **199**, 1068 (1963).
103. М. В. Волькенштейн, УФН **100**, 681 (1970).
104. Ю. Тономура, Т. Каназава, К. Секия, в сб. «Молекулярная биология», «Наука», 1964, стр. 213.
105. S. Asabura, M. Taniguchi, F. Oosawa, J. Mol. Biol. **7**, 55 (1963).
106. А. А. Вазина, Г. Л. Лемажухин, Г. М. Франк, Биофизика **9**, 273 (1964); ДАН СССР **159**, 4 (1964).
107. А. А. Вазина и др., J. Mol. Biol. **14**, 373 (1965).
108. А. А. Вазина и др., Биофизика **10**, 567 (1965).
109. Л. А. Железная и др., Biochim. Biophys. Acta **251**, 70 (1971).
110. M. Iyengar, S. Clauser, R. Davies, Biochem. Biophys. Res. Comm. **16**, 397 (1964).
111. Т. М. Бирштейн, О. Б. Птицын, Конформации макромолекул, «Наука», 1964.
112. W. Harrington, Proc. Nat. Acad. Sci. US **68**, 685 (1971).
113. T. Hill, J. Theor. Biol. **29**, 395 (1970).
114. A. Huxley, R. Simmons, Nature **233**, 533 (1971).

115. A. Huxley, *Progr. Biophys. a. Biophys. Chem.* **7**, 257 (1957).
116. P. Селлоу, Е. Поллард, Молекулярная биофизика, «Мир», 1964.
117. В. И. Дещеревский, *Биофизика* **13**, 928 (1968); Математические модели мышечного сокращения, «Наука», 1977.
118. R. Stein, E. Wong, *J. Theor. Biol.* **46**, 307 (1974).
119. T. Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **57**, 227; **58**, 454 (1967).
120. T. Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **61**, 98 (1968).
121. T. Hill, G. White, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **61**, 514, 889 (1968).
122. T. Hill, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70**, 2732 (1973).
123. R. Chaplain, B. Frommelt, *J. Mechanochem. Cell Motility* **1**, 41 (1971).
124. М. В. Волькенштейн, *Biochim. Biophys. Acta* **180**, 562 (1969); *Мол. биол.* **3**, 856 (1969).
125. С. Глестон, К. Лейдлер, Г. Эйринг, Теория абсолютных скоростей реакций, ИЛ, 1948.
126. H. Huxley, in «The cell», vol. 4, Acad. Press, 1960, ch. 7.
127. M. Polissar, *Amer. J. Physiol.*, **168**, 766 (1952).
128. E. Eisenberg, C. Moos, *Biochemistry* **9**, 4106 (1970).
129. E. Taylor, *Ann. Rev. Biochem.* **41**, 577 (1972).
130. C. Edwards, S. Chichibu, S. Hagiwara, *J. Gen. Physiol.* **48**, 225 (1964).
131. S. Cooper, I. Eccles, *J. Physiol.* **69**, 377 (1930).
132. S. Hagiwara, K. Takahashi, D. Junge, *J. Gen. Physiol.* **51**, 157 (1968).
133. K. Lee, H. Ladinsky, S. Choi, J. Kasuja, *J. Gen. Physiol.* **49**, 689 (1966).
134. В. И. Дещеревский, *Биофизика* **15**, 53 (1970).
135. A. Huxley, R. Simmons, *J. Physiol.* **208**, 52P (1970); **218**, 59P (1971); *Nature* **233**, 533 (1971); **237**, 282 (1972).
136. T. Blangé, J. Karemaker, A. Kramer, *Nature* **237**, 281 (1972).
137. R. Podolsky, A. Nolan, S. Zaveler, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **64**, 504 (1969).
138. R. Podolsky, A. Nolan, in «Contractility of muscle cells and related processes» ed. R. Podolsky, Prentice-Hall, Inc. 1971, p. 247.
139. R. Podolsky, A. Nolan, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **37**, 661 (1973).
140. В. Н. Буравцев и др., в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», Пушино, 1971, стр. 16.
141. В. И. Пасечник, Диссертация, Институт биофизики АН СССР, Пушино-на-Оке, 1969.
142. Дж. Прингл, Полет насекомых, ИЛ, 1963.
143. J. Pringle, *Progr. Biophys. a. Mol. Biol.* **17**, 1 (1967).
144. J. Auber, F. Courteaux, *J. Microscop.* **2**, 309 (1963).
145. А. А. Андронов, А. А. Витт, С. Э. Хайкин, Теория колебаний, Физматгиз, 1959.
146. R. Chaplain, B. Frommelt, *Kibernetik* **5**(1), 2 (1968).
147. R. Chaplain, B. Frommelt, E. Pfister, *Kibernetik* **5**(2), 61 (1968).
148. R. Chaplain, B. Frommelt, M. Brandt, *Kibernetik* **5** (5), 177 (1969).
149. S. Perry, *Progr. Biophys. a. Mol. Biol.* **17**, 327 (1967).
150. Г. М. Франк, *Proc. Roy. Soc.* **B160**, 472 (1964).
151. М. В. Волькенштейн, *ДАН СССР* **146**, 1426 (1962).
152. М. В. Волькенштейн, *Физика ферментов*, «Наука», 1967.
153. В. И. Воробьев, Л. В. Кухарева, *ДАН СССР* **165**, 435 (1965).
154. И. В. Березин и др., *FEBS Letters* **39**, 329 (1974).
155. А. М. КLIBанов, К. Мартинек, И. В. Березин, *Биохимия* **39**, 878 (1974).
156. И. В. Березин и др., *ДАН СССР* **218**, 367 (1974).
157. A. Sobieszek, *J. Mol. Biol.* **70**, 741 (1972).
158. A. Sobieszek, J. Small, *Phil. Trans. Roy. Soc.* in press.
159. Ш. Инуэ, в сб. «Современные проблемы биофизики», т. 2, ИЛ, 1961, стр. 134.
160. C. Brokaw, *Science* **178**, 455 (1972).

161. *I. Gibbons, A. Grimstone*, J. Biophys. a Biochem. Cytol. **7**, 697 (1960).
162. *J. André*, J. Ultrastruct. Res. **5**, 86 (1961).
163. *D. Pease*, J. Cell. Biol. **18**, 313 (1963).
164. *N. Silvester, M. Holwill*, Nature **205**, 665 (1965).
165. *K. Machin*, Proc. Roy. Soc. **B158**, 88 (1963).
166. *C. Brokaw*, Nature **209**, 161 (1966).
167. *R. Rikmenspoel*, Biophys. J. **11**, 446 (1971).
168. *P. Satir*, J. Cell. Biol. **39**, 77 (1968).
169. *G. Horridge*, Proc. Roy. Soc. **B162**, 351 (1965).
170. *C. Brokaw*, J. Exp. Biol. **43**, 155 (1965).
171. *C. Brokaw*, J. Exp. Biol. **55**, 289 (1971).
172. *I. Gibbons, A. Rowe*, Science **149**, 424 (1965).
173. *M. Sleight*, in «Aspects of cell motility», ed. P. Miller, Cambr. Univ. Press, 1968.
174. *C. Brokaw, B. Benedict*, J. Gen. Physiol. **52**, 283 (1968).
175. *C. Brokaw*, Biophys. J. **12**, 564 (1972).
176. *M. Holwill, C. Miles*, J. Theor. Biol. **31**, 25 (1971).
177. *N. Silvester, M. Holwill*, J. Theor. Biol. **35**, 505 (1972).
178. *C. Coakley, N. Silvester*, J. Theor. Biol. **35**, 525 (1972).
179. *В. А. Энгельгардт, С. А. Бурнашева*, Биохимия **22**, 554 (1957).
180. *Б. Ф. Поглазов*, Структура и функции сократительных белков, «Наука», 1965.
181. *E. Kellenberger, W. Arber*, Z. Naturforsch. **10b**, 545 (1964).
182. *P. Dukes, L. Kozloff*, J. Biol. Chem. **234**, 534 (1959).
183. *М. Н. Любимова*, в сб. «Молекулярная биология. Проблемы и перспективы», «Наука», 1964, стр. 250.
184. *Н. Камия*, Движение протоплазмы, ИЛ, 1962.
185. *T. Pollard et al.*, J. Mol. Biol. **50**, 91 (1970).
186. *R. Wehing, E. Korn*, Biochemistry **10**, 590 (1971); **11**, 1538 (1972).
187. *T. Pollard, E. Korn*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 573 (1973).
188. *R. Nagai, N. Kamiya*, Proc. Jap. Acad. Sci. **42**, 934 (1966).
189. *S. Haitano*, Exp. Cell. Res. **61**, 199 (1970).
190. *Р. Аллен*, в сб. «Структура и функции клеток», «Мир», 1964, стр. 145.
191. *Д. Мэзия*, Митоз и физиология деления клеток, ИЛ, 1963.
192. *Д. Мэзия*, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1963, стр. 67.
193. *М. В. Волькенштейн*, Молекулы и жизнь, «Наука», 1965, гл. 9.
194. *N. Gawadi*, Nature **234**, 410 (1971).
195. *O. Behnke, A. Forer, J. Emmersen*, Nature **234**, 409 (1971).
196. *T. Quilliam, M. Sato*, J. Physiol. **129**, 167 (1955).
197. *D. Pease, T. Quilliam*, J. Biophys. Biochem. Cytol. **3**, 331 (1957).
198. *А. С. Миркин, Б. Т. Тучков, В. Ф. Машанский*, Цитология **9**, 633 (1967).
199. *А. С. Миркин*, Биофизика **14**, 762 (1969).
200. *В. Н. Черниговский, В. Ф. Машанский, А. С. Миркин*, Изв. АН СССР, сер. биол., 1970, стр. 214.
201. *А. С. Миркин*, Биофизика **11**, 638 (1966).
202. *N. Ishico, W. Loewenstein*, J. Gen. Physiol. **45**, 105 (1961).
203. *R. Fine, D. Bray*, Nature New Biol. **234**, 115 (1971).
204. *R. Adelstein, T. Pollard, W. Kuehl*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **68**, 2703 (1971).
205. *S. Ebashi, I. Ohtsuki, K. Mihashi*, Cold Spring Harbor Sump. Quant. Biol. **37**, 215 (1973).
206. *C. Gilbert, K. Kretzshmar, D. Wilkie*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 613 (1973).
207. *N. Curtin, R. Davies*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 619 (1973).
208. *R. Weledge*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 629 (1973)

209. *J. Seidel, J. Gergely*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 187 (1973).
210. *T. Hill et al.*, Biophys. J. **15**, 335 (1975).
211. *A. Huxley, R. Simmons*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 669 (1973).
212. *H. Huxley*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 689 (1973).
213. *P. Armitage et al.*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 379 (1973).
214. *R. Abbott*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 647 (1973).
215. *J. Lowy, P. Vibert*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 353 (1973).
216. *R. Rice, A. Brady*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 429 (1973).
217. *D. Bray*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **37**, 567 (1973).
218. *A. А. Вазина*, в сб. «Итоги науки и техники. Молекулярная биология», т. 8, Изд. ВИНТИ, 1976, стр. 242.

К главе 6

1. *Г. Малер, Ю. Кордес*, Основы биологической химии, «Мир», 1970.
2. *А. Ленинджер*, Биохимия, «Мир», 1974.
3. *М. В. Волькенштейн*, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
4. *А. Ленинджер*, Митохондрия, «Мир», 1966.
5. *В. А. Энгельгардт*, Biochem. Z. **227**, 16 (1930); **251**, 343 (1932).
6. *В. А. Белицер, Е. Т. Цыбакова*, Биохимия **4**, 516 (1939).
7. *Н. Kalkar*, Enzymologia **2**, 47 (1937).
8. *S. Ochoa*, J. Biol. Chem. **138**, 751 (1941); **151**, 493 (1943).
9. *A. Lehninger*, J. Biol. Chem. **178**, 625 (1949).
10. *M. Friedkin, A. Lehninger*, J. Biol. Chem. **178**, 611 (1949).
11. *Э. Рэкер*, Биоэнергетические механизмы, «Мир», 1967.
12. Biological Oxidation, ed. T. Singer, Wiley, 1966.
13. *В. П. Скулачев*, Аккумуляция энергии в клетке, «Наука», 1969.
14. *B. Chance, G. Williams*, Adv. Enzymol. **17**, 65 (1956).
15. *Д. Грин, Д. Гольдбергер*, Молекулярные аспекты жизни, «Мир», 1968.
16. *A. Lehninger*, in «Molecular organization and biological functions», ed. J. Allen, Harper a. Row, 1967.
17. *С. А. Нейфах*, Вступительная статья к книге [4].
18. *D. Halder, K. Freeman, T. Work*, Nature **211**, 9 (1966).
19. *D. Beattie, R. Basford, S. Koritz*, Biochemistry **6**, 3099 (1967).
20. *E. Korn*, in «Theoretical and experimental biophysics», vol. 2, ed. A. Cole, Marcel Dekker, 1969.
21. *H. Fernandez-Moran et al.*, J. Cell. Biol. **22**, 63 (1964).
22. *H. Fernandez-Moran*, Science **140**, 381 (1963).
23. *J. Stein, S. Fleischer*, Proc. Nat. Acad. Sci. US **58**, 1292 (1967).
24. *P. Schollmeyer, M. Klingenberg*, Biochem. Z. **335**, 426 (1962).
25. *D. Pette, T. Bücher*, Z. Physiol. Chem. **331**, 180 (1963).
26. *D. Green, S. Ji*, Bioenergetics **3**, 159 (1972).
27. *D. Green, S. Ji*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **69**, 726 (1972).
28. *A. Novikoff*, in «The cell», vol. 2, ed. J. Brachet a. A. Mirsky, Acad. Press, 1961, p. 299.
29. *L. Packer*, J. Biol. Chem. **235**, 242 (1960); **236**, 214 (1961).
30. *A. Lehninger*, J. Biol. Chem. **234**, 2187 (1959).
31. *T. Ohnishi, T. Ohnishi*, J. Biochem. Tokyo **51**, 380 (1962).
32. *P. Vignais, P. Vignais, A. Lehninger*, J. Biol. Chem. **239**, 2002, 2011 (1964).
33. *C. Rossi, A. Lehninger*, Biochem. Z. **338**, 698 (1963); J. Biol. Chem. **239**, 3971 (1964).
34. *H. Rottenberg, S. Caplan, A. Essig*, Membranes and ion transport, ed. E. Bittar, vol. 1; Wiley Intersci., 1970, ch. 6.

35. *E. Slater*, in «Comprehensive biochemistry» vol. 14, ed. M. Florkin a. E. Stotz, Elsevier, 1966, p. 127; Quart. Rev. Biophys. 4, 35 (1971).
36. *R. Cockrell, E. Harris, B. Pressman*, Biochemistry 5, 2326 (1966).
37. *H. Rasmussen, B. Chance, E. Ogata*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 53, 1069 (1965).
38. *B. Chance, L. Mela*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55, 1243 (1966).
39. *R. Estabrook*, in «Methods in enzymology», ed. R. Estabrook, M. Pullman vol. 10, Acad. Press, 1967.
40. *O. Kedem, S. Caplan*, Trans. Faraday Soc. 61, 1897 (1965).
41. *P. Mitchell*, Nature 191, 144 (1961).
42. *P. Mitchell*, Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation, Bodmin Glynn Research, 1966.
43. *P. Mitchell*, Biol. Rev. 41, 445 (1966).
44. *P. Mitchell*, in «Theoretical and experimental biophysics», ed. A. Cole, Marcel Dekker, 1969, p. 159.
45. *P. Mitchell*, in «Membranes and ion transport», ed. E. Bittar, vol. 1, 7, Wiley Intersci., 1970, ch. 7.
46. *В. П. Скулачев*, Трансформация энергии в биомембранах, «Наука», 1972.
47. *P. Mitchell*, in «The molecular basis of membrane function», D. Tosteson ed. Prentice Hall 1969, p. 483.
48. *H. Pauly, L. Packer, H. Schwan*, J. Biochem. Biophys. Cytol. 7, 589 (1960).
49. *J. Tipper, H. Tedeschi*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 63, 370, 713 (1969); Science 166, 1539 (1969).
50. *C. Moore, B. Pressman*, Biochem. Biophys. Res. Comm. 15, 562 (1964).
51. *Е. А. Либерман, В. П. Топалы*, Биофизика 13, 1025 (1968); 14, 256 (1969); Biochim. Biophys. Acta. 163, 125 (1968).
52. *Е. А. Либерман, В. П. Топалы, А. Ю. Зильберштейн*, Biochim. Biophys. Acta 196, 221 (1970).
53. *Е. А. Либерман и др.*, Nature 222, 1076 (1969).
54. *Л. Е. Бакеева и др.*, Biochim. Biophys. Acta 216, 13 (1970).
55. *Л. Л. Гринюс и др.*, Biochim. Biophys. Acta 216, 1 (1970).
56. *Е. А. Либерман, В. П. Скулачев*, Biochim. Biophys. Acta 216, 30 (1970).
57. *Л. Л. Гринюс, Т. И. Гудзь, В. П. Скулачев*, J. Bioenerg. 2, 101 (1971).
58. *Е. А. Либерман, Л. М. Цофина*, Биофизика 14, 1017 (1969).
59. *В. П. Скулачев*, Current topics in bioenergetics 4, 127 (1971).
60. *B. Pressman*, in «Mitochondria structure and function» 5-th FEBS Meeting, Prague, 1968, p. 105.
61. *J. Hinkle, P. Mitchell*, J. Bioengen. 1, 45 (1970).
62. *R. Cockrell*, Feder. Proc. 27, 528 (1968).
63. *P. Mitchell, J. Moyle*, Biochem. J. 104, 588 (1967).
64. *В. П. Скулачев, А. А. Шараф, Е. А. Либерман*, Nature 216, 718 (1967).
65. *А. В. Бабаков и др.*, в сб. «Митохондрии. Ферментативные процессы и их регуляция», «Наука», 1968, стр. 137.
66. *Е. А. Либерман, В. П. Топалы, Л. М. Цофина, А. А. Ясайтис, В. П. Скулачев*, Биохимия 34, 1083 (1969).
67. *J. Chappell, A. Crofts*, in «Regulation of metabolic processes in mitochondria», BVA Library, vol. 7 1966, p. 293.
68. *M. Erecinska, R. Veech, D. Wilson*, Arch. Biochem. Biophys. 160, 412 (1974).
69. *H. Krebs, R. Veech*, in «Pyridine nucleotide dependent dehydrogenase», ed. H. Sund, Springer, 1970, p. 87.
70. *M. Stubbs, R. Veech, H. Krebs*, Biochem. J. 126, 59 (1972).
71. *T. Bücher et al.*, Eur. J. Biochem. 27, 301 (1972).
72. *М. В. Волькенштейн*, Изв. АН СССР, сер. биол., № 6, 805 (1971).
73. *М. В. Волькенштейн*, J. Theor. Biol. 34, 193 (1972).
74. *D. Green*, A framework of principles for the unification of bioenergetics, Препринт 1973.

75. М. В. Волькенштейн, в сб. «Молекулярная биология, проблемы и перспективы», «Наука», 1964.
76. М. В. Волькенштейн, Физика ферментов, «Наука», 1967.
77. Д. С. Чернавский, Ю. И. Хургин, С. Э. Шноль, Мол. биол. 1, 419 (1967).
78. A. Azzi, V. Chance, G. Radda, C. Lee, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 62, 612 (1969).
79. Л. А. Блюменфельд, Проблемы биологической физики, «Наука», 1974.
80. В. К. Кольтовер, Ю. А. Кутлахмедов, Ю. А. Сухоруков, ДАН СССР 181, 730 (1968).
81. Б. Аннаев и др., ДАН СССР 196, 969 (1971).
82. В. К. Кольтовер и др., ДАН СССР 197, 219 (1971).
83. Л. А. Блюменфельд, В. К. Кольтовер, Мол. биол. 6, 161 (1972).
84. В. К. Кольтовер, Биофизика 18, 661 (1973).
85. V. Chance, Nature 169, 215 (1952).
86. A. Rutherford J. Biol. Chem. 237, 2384 (1962).
87. Г. И. Лихтенштейн и др., Мол. биол. 4, 682 (1970).
88. Л. А. Блюменфельд и др., Ж. структ. химии 8, 854 (1967).
89. Л. А. Блюменфельд, М. И. Темкин, Биофизика 7, 731 (1962).
90. Л. А. Блюменфельд, Биофизика 17, 954 (1972).
91. Л. А. Блюменфельд, Биофизика 16, 724 (1971).
92. Л. А. Блюменфельд, Д. С. Чернавский, J. Theor. Biol. 39, 1 (1973).
93. Н. М. Чернавская, Д. С. Чернавский, Л. Н. Григоров, Препринт № 168 ФИАН СССР им. Лебедева (1970).
94. М. В. Волькенштейн и др., ДАН СССР 199, 124 (1971).
95. М. В. Волькенштейн и др., Мол. биол. 6, 431 (1972).
96. В. Г. Левич, А. К. Мадумаров, Ю. И. Харкац, ДАН СССР 203, 1351 (1972).
97. Л. И. Кришталик, Мол. биол. 7, 884 (1973); 8, 91 (1974).
98. R. Dickerson et al., J. Biol. Chem. 246, 1511 (1971).
99. T. Takano et al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 36, 397 (1971).
100. T. Takano et al., The Structure of ferricytochrome c at 2,45 Å resolution, Preprint, 1972.
101. R. Dickerson, Sci. Amer. 226, № 4, 58 (1972).
102. M. Nozaki et al., J. Biochem (Tokyo) 44, 453 (1957); 45, 815, 845 (1958); 46, 121 (1959).
103. W. Butt, D. Keilin, Proc. Roy. Soc. B156, 429 (1962).
104. A. North, D. Phillips, F. Matthews, Acta Cryst. A 24, 351 (1968).
105. Y. Myer, Biochemistry 11, 4195, 4203 (1972).
106. Y. Myer, P. Pal, Biochemistry 11, 4209 (1972).
107. A. Redfield, R. Gupta, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 36, 405 (1971).
108. Б. П. Атанасов, М. В. Волькенштейн, Ю. А. Шаронов, Мол. биол. 3, 804 (1969).
109. H. Hill et al., Chem. Comm. 1968, 123.
110. А. М. Арутюнян, А. А. Константинов, Ю. А. Шаронов, FEBS Letters 46, 317 (1974).
111. Н. М. Чернавская, Д. С. Чернавский, Туннельный эффект электронов в фотосинтезе, Изд. МГУ, 1977.
112. Л. Н. Григоров, Д. С. Чернавский, Биофизика 17, 195 (1972).
113. J. Rosang, E. Slater, Biochim. Biophys. Acta 267, 275 (1972).
114. V. Chance et al., in «Structure and function of cytochromes», eds. K. Okunuki, M. Kama, I. Sekuzu, Tokyo Univ. Press, 1968, p. 475.
115. V. Chance et al., Progr. Photosynt. Res. 3, 1321 (1969).
116. M. Seibert, D. De Vault, Biochim. Biophys. Acta 253, 396 (1971).
117. R. Dickerson, R. Timkovich, in «The Enzymes», ed. P. Boyer, 3rd edition, vol. 11 1975, p. 397.

К главе 7

1. *E. Rabinowitch, Govindjee*, Photosynthesis, J. Wiley a. Sons, 1969.
2. *К. А. Тимирязев*, Солнце, жизнь и хлорофилл. Избранные сочинения, т. 1, ОГИЗ — Сельхозгиз 1948.
3. *R. Emerson, W. Arnold*, J. Gen. Physiol. **16**, 191 (1932).
4. *H. Gaffron, K. Wohl*, Naturwissenschaften **24**, 81 (1936).
5. *R. Hill*, Proc. Roy. Soc. **B127**, 92 (1939).
6. *S. Ruben et al.*, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 877 (1941).
7. *А. П. Виноградов*, Изотопы кислорода и фотосинтез. 22-е Тимирязевское чтение. Изд. АН СССР, 1961.
8. *Е. Рабинович*, Фотосинтез, ИЛ, т. 1, 1951; т. 2, 1954; т. 3, 1959.
9. *О. Хит*, Фотосинтез, Физиологические аспекты, «Мир», 1972.
10. Сборник «Современные проблемы фотосинтеза», Изд. МГУ, 1973.
11. *А. А. Красновский*, Преобразование энергии света при фотосинтезе. Молекулярные механизмы, «Наука», 1974.
12. *М. В. Волькенштейн*, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
13. *А. А. Красновский*, ДАН СССР **60**, 421 (1948).
14. *E. Rabinowitch, E. Poret, J. Weiss*, Nature **138**, 1098 (1936); **140**, 321 (1937); Proc. Roy. Soc. **A162**, 251 (1936).
15. *А. Н. Теренин*, Фотоника молекул красителей, «Наука», 1967.
16. *А. Н. Теренин*, в сб. «Проблемы фотосинтеза», Изд. АН СССР, 1959, стр. 9.
17. *А. А. Красновский, А. В. Умрихина*, Биофизика **3**, 547 (1958).
18. *Н. Н. Бубнов и др.*, Биофизика **5**, 191 (1960).
19. *Г. Т. Рихирева и др.*, ДАН СССР **156**, 1451 (1964).
20. *Г. Т. Рихирева и др.*, ДАН СССР **163**, 491 (1965).
21. *А. А. Красновский*, ДАН СССР **58**, 835 (1947).
22. *А. А. Красновский, К. К. Войновская*, ДАН СССР **81**, 879 (1951).
23. *А. А. Красновский, Н. Н. Дроздова*, ДАН СССР **150**, 1378 (1963).
24. *М. Г. Шапошникова, Н. Н. Дроздова, А. А. Красновский*, Биохимия **36**, 704 (1971).
25. *А. А. Красновский мл., Ф. Ф. Литвин*, Мол. биол. **1**, 699 (1967), **3**, 282 (1969).
26. *E. Rabinowitch, C. Cedestrand, Govindjee*, Biochim. Biophys. Acta **120**, 247 (1966).
27. *А. А. Шлык*, в сб. «Современные проблемы фотосинтеза», Изд. МГУ, 1973, стр. 85.
28. *J. Smith*, Arch. Biochem. **19**, 3, 449 (1948).
29. *R. Emerson, C. Lewis*, Amer. J. Botany **30**, 165 (1943).
30. *R. Emerson, R. Chalmers*, in «Research in photosynthesis», Intersci. 1957, p. 69.
31. *В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, А. А. Красновский*, ДАН СССР **66**, 1133 (1949); **70**, 261 (1950).
32. *R. Livingston, W. Watson, J. McArdle*, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 1542 (1949).
33. *Е. В. Белавцева, Л. М. Воробьева, А. А. Красновский*, Биофизика **4**, 521 (1959).
34. *J. Katz et al.*, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 3801 (1963).
35. *Ф. Ф. Литвин*, в сб. «Биохимия и биофизика фотосинтеза», «Наука», 1965, стр. 96.
36. *Ф. Ф. Литвин*, в сб. «Современные проблемы фотосинтеза», Изд. МГУ, 1973, стр. 175.
37. *R. Emerson*, Ann. Rev. Plant Physiol. **9**, 1 (1958); Science **127**, 1059 (1958).
38. *Govindjee, E. Rabinowitch*, Science **132**, 355 (1960); Biophys. J. **1**, 73 (1961).
39. *L. Duysens*, Nature **168**, 548 (1951).

40. C. French, in «Encyclopedia of plant physiology», ed. W. Ruhland, Springer, vol. 5, 1960, p. 211.
41. J. Myers, C. French, Plant Physiol. **35**, 963 (1960).
42. L. Duysens, Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 25 (1956).
43. B. Kok, Plants, Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council Publ., № 1145, 35 (1963).
44. H. Witt, Quart. Rev. Biophys. **4**, 365 (1971).
45. C. Wolff, H. Witt, Z. Naturforsch. **24b**, 1031 (1969).
46. H. Witt, C. Wolff, Z. Naturforsch. **25b**, 387 (1970).
47. G. Döring et al., Naturwissenschaften **55**, 219 (1968).
48. K. Stifert, H. Witt, Naturwissenschaften **55**, 222 (1968).
49. A. A. Красновский, Photochem. a. Photobiol. **4**, 641 (1965).
50. G. Döring et al., Z. Naturforsch. **24b**, 1139 (1969).
51. N. Bishop, Biochemistry **45**, 1696 (1959).
52. L. Duysens, J. Amesz, B. Kamp, Nature **190**, 510 (1961).
53. K. Hill, F. Bendall, Nature **186**, 136 (1960).
54. M. Calvin, J. Bassham, The photosynthesis of carbon compounds, Benjamin, 1962.
55. М. Кальвин, в сб. «Современные проблемы биофизики», т. 1 ИЛ, 1961, стр. 191.
56. J. Bassham, Sci. Amer. **206**, 88 (1962).
57. L. Bogorad, in «Molecular organization and biological function», ed. J. Allen, Harper a. Row, 1967, p. 134.
58. T. Weier et al., J. Ultrastruct. Res. **8**, 122 (1963).
59. K. Sauer, M. Calvin, J. Mol. Biol. **4**, 451 (1962).
60. R. Olson, in «Mechanism of photosynthesis in green plants», Nat. Acad. Sci. Nat. Res. Council USA 1963.
61. B. Chance, W. Bonner, in «Photosynthetic mechanisms of green plants», eds. B. Kok, A. Jagendorf, Nat. Res. Council Nat. Acad. Sci. USA, 1963, p. 66.
62. J. Gross, M. Becker, A. Shefner, Nature **203**, 1263 (1964).
63. J. Thomas, O. Blaauw, L. Duysens, Biochim. Biophys. Acta **10**, 230 (1953).
64. E. Weaver, H. Weaver, in «Photophysiology», vol. 7, ed. A. Giese, Acad. Press, 1972, p. 1.
65. G. Androes, M. Singleton, M. Calvin, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **48**, 1022 (1962).
66. R. Park, N. Pon, J. Mol. Biol. **3**, 1 (1961).
67. R. Park, J. Biggings, Science **144**, 1009 (1964).
68. W. Menke, Z. Naturforsch. **18b**, 821 (1963).
69. E. Korn, in «Theoretical and experimental biophysics», vol. 2, ed. A. Cole, Marcel Dekker, 1969, p. 2.
70. L. Duysens, Nature **173**, 692 (1954).
71. H. Witt, R. Moraw, Z. phys. Chem. **20**, 253, 283 (1959).
72. H. Grünhagen, H. Witt, Z. Naturforsch. **25b**, 373 (1970).
73. P. Mitchell, Biol. Rev. **41**, 445 (1966).
74. Биофизика фотосинтеза, ред. А. Б. Рубин, Изд. МГУ, 1975.
75. А. Ю. Борисов, в сб. «Современные проблемы фотосинтеза», Изд. МГУ, 1973, стр. 161.
76. L. Duysens, Transfer of excitation in photosynthesis, Thesis, Utrecht, 1952.
77. И. С. Мейланов, В. А. Бендерский, Л. А. Блюменфельд, Биофизика **15**, 822, 959 (1970).
78. N. Geacintov, et al., Biochim. Biophys. Acta **267**, 65 (1972).
79. F. Van Nostrand, N. Geacintov, in «Book of abstracts VI international congress on photobiology», Bochum, 1972, № 230.
80. A. Bearden, R. Malkin, Quart. Rev. Biophys. **7**, 131 (1974).

81. *D. Knaff, D. Arnon*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **64**, 715 (1969).
82. *Л. А. Блюменфельд*, Проблемы биологической физики, «Наука», 1974.
83. *B. Chance, M. Nishimura*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **46**, 19 (1960).
84. *D. De Vault, J. Parks, B. Chance*, Nature **215**, 642 (1967).
85. *Л. Н. Григоров, А. А. Кононенко, А. Б. Рубин*, Мол. биол. **4**, 483 (1970).
86. *D. De Vault, B. Chance*, Biophys. J. **6**, 825 (1966).
87. *Л. Н. Григоров, Д. С. Чернавский*, Биофизика **17**, 195 (1972).
88. *Л. А. Блюменфельд, Д. С. Чернавский*, J. Theor. Biol. **39**, 1 (1973).
89. *М. В. Волькенштейн*, J. Theor. Biol. **34**, 193 (1972).
90. *Е. А. Бабский и др.*, Физиология человека, «Медицина», 1966.
91. *К. Вилли, В. Детье*, Биология, «Мир», 1974.
92. *Ю. Аккерман*, Биофизика, «Мир», 1964.
93. *Р. Розен*, Принцип оптимальности в биологии, «Мир», 1969.
94. *L. Stark, H. Herman*, Kybernetik **1**, 124 (1961).
95. *L. Stark, T. Cornsweet*, Science **127**, 588 (1958).
96. *F. Werblin*, Sci. Amer. **228**, № 1, 70, 1973.
97. *R. Young*, Sci. Amer. **213**, № 4, 80, 1970.
98. *E. MacNihol*, Sci. Amer. **211**, № 6, 48 (1964).
99. *G. Wasserman*, Science **180**, 268 (1973).
100. *H. Hartline, F. Karliff*, J. Gen. Physiol. **40**, 357 (1957).
101. *Ч. Майка*, в сб. «Молекулы и клетки», вып. 5, «Мир», 1970, стр. 191.
102. *W. Hagins*, Ann. Rev. Biophys. Eng. **1**, 131 (1972).
103. *R. Barnes, M. Czerny*, Z. Phys. **79**, 436 (1932).
104. *Е. М. Брумберг, С. И. Вавилов*, Изв. АН СССР (ОМЭН) 1933, 919.
105. *С. И. Вавилов*, Микроструктура света, Изд. АН СССР, 1950.
106. *S. Hecht, S. Shlaer, M. Pirenne*, Science **20**, 585 (1941); J. Gen. Physiol. **25**, 819 (1942); J. Opt. Soc. Amer. **32**, 42 (1942).
107. *G. Wald*, Nature **132**, 316 (1933); J. Gen. Physiol. **18**, 905 (1934—35).
108. *P. Karrer, R. Morf, K. Schöpp*, Helv. Chim. Acta **14**, 1431 (1931).
109. *G. Wald*, Nature **219**, 800 (1968).
110. *F. Collins*, Nature **171**, 469 (1953).
111. *R. Morton, G. Pitt*, Biochem. J. **59**, 128 (1955).
112. *D. Bownds*, Nature **216**, 1178 (1967).
113. *G. Wald*, Fed. Proc. **12**, 606 (1953).
114. *R. Hubbard, G. Wald*, J. Gen. Physiol. **36**, 269 (1952—53).
115. *P. Brown, G. Wald*, J. Biol. Chem. **222**, 865 (1956).
116. *R. Hubbard*, J. Gen. Physiol. **39**, 935 (1955—56).
117. *R. Hubbard, A. Kropf*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **44**, 130 (1958).
118. *R. Hubbard, D. Bownds, T. Yoshitwara*, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **30**, 301 (1965).
119. *A. Kropf, R. Hubbard*, Photochem. Photobiol. **12**, 249 (1970).
120. *K. Inuzuka, R. Becker*, Nature **219**, 383 (1968).
121. *I. Wiesenfeld, E. Abrahamson*, Photochem. Photobiol. **8**, 487 (1968).
122. *O'Leary et al.*, Nature **246**, 166 (1973).
123. *T. Rosenfeld, A. Alhalel, M. Ottoloughi*, Chem. Phys. Lett. **20**, 291 (1973); J. Chem. Phys. **78**, 336 (1974); Photochem. Photobiol. **20**, 121 (1974).
124. *E. Abrahamson, R. Adams, V. Wulff*, J. Phys. Chem. **69**, 441 (1959).
125. *R. Matthews et al.*, J. Gen. Physiol. **47**, 215 (1963—64).
126. *G. Wald, P. Brown*, J. Gen. Physiol. **35**, 797 (1951—52); **37**, 189 (1953—54).
127. *C. Radding, G. Wald*, J. Gen. Physiol. **39**, 909 (1955—56).
128. *T. Hara, R. Hara*, Nature New Biol. **242**, 39 (1972).
129. *В. А. Кронгауз и др.*, Биофизика **20**, 219, 419, 426 (1975).
130. *T. Moore, Pill-Soon Song*, Nature New Biol. **243**, 30 (1973).
131. *T. Ebray*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **68**, 713 (1971).

132. М. А. Островский, *Soviet Science Rev.*, May 1971, p. 159.
133. Т. Гудвин, Сравнительная биохимия каротиноидов, ИЛ, 1954.
134. В. Н. Карнаухов, Функции каротиноидов в клетках животных, «Наука», 1973.
135. Е. Е. Фесенко и др., в сб. «Биофизика живой клетки», вып. 2 стр. 32, Пушино, 1971.
136. E. Abrahamson, R. Fager, in «Current topics in bioenergetics», ed. R. Sarnadi, Acad. Press, 1973, p. 138.
137. T. Rosenfeld, A. Alhalel, M. Ottolenghi, *Nature* **240**, 482 (1972).
138. G. Von Sengbusch, H. Stieve, *Z. Naturforsch.* **26b**, 488 (1971).
139. G. Busch et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **69**, 2802 (1972).
140. Н. Я. Орлов, Е. Е. Фесенко, М. В. Волькенштейн, *ДАН СССР* **225**, 436 (1975).
141. E. Abrahamson, in «Biochemistry and physiology of visual pigments», ed. H. Langer, Springer, 1973, p. 17.
142. S. Ostroy, E. Erhardt, E. Abrahamson, *Biochim. Biophys. Acta* **112**, 256, 265 (1966).
143. Е. Е. Фесенко и др., *ДАН СССР* **207**, 472 (1972).
144. Е. Е. Фесенко, Н. Я. Орлов, Н. К. Фесенко, в сб. «Конформационные изменения биополимеров в растворах», «Наука», 1973, стр. 131.
145. Н. Я. Орлов, Исследование фотохимических и конформационных превращений родопсина, Диссертация, Институт биологической физики АН СССР, Пушино, 1975.
146. В. Л. Боровягин, М. А. Островский, И. Б. Федорович, *Биофизика* **16**, 350 (1971).
147. E. Abrahamson, R. Fager, W. Mason, *Exp. Eye Res.* **18**, 51 (1974).
148. G. Vanderkooi, D. Green, *Bioscience* **21**, 409 (1971).
149. G. Vanderkooi, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **195**, 6 (1972); *Nature New Biol.* **242**, 212 (1973).
150. E. Dratz et al., *Nature New Biol.* **237**, 99 (1972).
151. J. Heller, T. Ostwald, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **195**, 439 (1972).
152. W. Mason, R. Fager, E. Abrahamson, *Nature* **247**, 188 (1974).
153. W. Mason, E. Abrahamson, *J. Membrane Biol.* **15**, 383 (1974).
154. F. Daemen, *Biochim. Biophys. Acta* **300**, 255 (1973).
155. Л. Я. Гендель и др. *ДАН СССР* **197**, 219 (1972).
156. Р. Н. Этингер, И. А. Остапенко, *Усп. совр. биол.* **72**, 108 (1971).
157. Т. В. Венкстерн, *Биохимия* **14**, 238 (1949).
158. В. А. Энгельгардт, *Вестн. АН СССР* **5**, 25 (1949).
159. И. Б. Федорович, М. А. Островский, *Биофизика* **13**, 449 (1968).
160. G. Wald, P. Brown, I. Gibbons, *J. Opt. Soc. Amer.* **53**, 20 (1963).
161. W. Schmidt, *Kolloid Z.* **85**, 137 (1938).
162. E. Denton, *J. Physiol.* **124**, 17 (1954); *Proc. Roy. Soc.* **B150**, 78 (1959).
163. W. Hagins, W. Jennings, *Trans. Faraday Soc.* **27**, 180 (1960).
164. P. Brown, *Nature New Biol.* **236**, 35 (1972).
165. J. Blasie, C. Worthington, *J. Mol. Biol.* **39**, 417 (1969).
166. R. Cone, *Nature New Biol.* **236**, 39 (1972).
167. L. Frye, M. Edidin, *J. Cell. Sci.* **7**, 319 (1970).
168. R. Capaldi, *Sci. Amer.* **230**, № 3, 26 (1974).
169. М. Роо, R. Cone, *Nature* **247**, 429 (1974).
170. Н. М. Чернавская, Д. С. Чернавский, Туннельный транспорт электронов в фотосинтезе, Изд. МГУ, 1977.
171. N. Boardman, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **21**, 115 (1970).
172. L. Cramme, N. Boardman, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **354**, 1499 (1973).
173. J. Anderson, N. Boardman, *Biochim. Biophys. Acta* **112**, 403 (1966).
174. J. Kirk, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **20**, 11 (1970); **22**, 213 (1971).
175. W. Junge, *Eur. J. Biochem.* **14**, 582 (1970).

176. *W. Junge, B. Rumberg, H. Schröder*, Eur. J. Biochem. **14**, 575 (1970).
177. *H. Witt, A. Zickler*, FEBS Letters **39**, 205 (1974).
178. *А. Ю. Борисов*, Мол. биол. **10**, 460 (1976).
179. *А. Ю. Борисов, В. И. Годик*, Biochim. Biophys. Acta **223**, 441 (1970); J. Bioenerg. **3**, 211, 515 (1972).
180. *Д. С. Чернавский и др.*, Studia Biophys. **49**, 3 (1975).

К главе 8

1. *П. Глансдорф, И. Пригожин*, Термодинамическая теория структуры, стабильности и флуктуаций, «Мир», 1973.
2. *И. Пригожин, Г. Николис*, УФН **109**, 517 (1973).
3. *I. Prigogine, G. Nicolis, A. Babloyantz*, Phys. Today **25**, № 11, 23 (1972).
4. *А. М. Молчанов*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 274.
5. *Б. Гудвин*, Временная организация клетки, «Мир», 1966.
6. *А. М. Молчанов*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 292.
7. *В. Lavenda*, Quart. Rev. Biophys. **5**, 429 (1972).
8. *А. А. Андронов, А. А. Витт, С. Э. Хайкин*, Теория колебаний, Физматгиз, 1959.
9. *М. В. Волькенштейн*, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
10. *H. Poinscaré*, Oeuvres, vol. 1, Paris, 1928.
11. *Т. Хаяси*, Нелинейные колебания в физических системах, «Мир», 1968.
12. *А. М. Ляпунов*, Общая задача об устойчивости движения, Гостехиздат, 1950.
13. *Р. Беллман*, Теория устойчивости решений дифференциальных уравнений, ИЛ, 1954.
14. *А. А. Андронов, Е. А. Леонтович, И. И. Гордон*, Качественная теория динамических систем второго порядка, «Наука», 1966; Теория бифуркаций динамических систем на плоскости, «Наука», 1967.
15. *М. Розо*, Нелинейные колебания и теория устойчивости, «Наука», 1971.
16. *Н. Н. Боголюбов, Ю. А. Митропольский*, Асимптотические методы в теории нелинейных колебаний, Физматгиз, 1963.
17. *Ю. М. Романовский, Н. В. Степанова, Д. С. Чернавский*, Что такое математическая биофизика?, «Просвещение», 1971.
18. *Ю. М. Романовский, Н. В. Степанова, Д. С. Чернавский*, Математическое моделирование в биофизике, «Наука», 1975.
19. *А. М. Жаботинский*, Концентрационные автоколебания, «Наука», 1974.
20. *Л. И. Мандельштам*, Полное собрание трудов, Изд. АН СССР, 1948—1952.
21. *А. А. Андронов*, Собрание трудов, Изд. АН СССР, 1956.
22. *Н. Д. Папалекси*, Собрание трудов, Изд. АН СССР, 1948.
23. *Б. Ван-дер-Поль*, Нелинейная теория электрических колебаний, Связьиздат, 1935.
24. *A. Lotka*, J. Amer. Chem. Soc. **42**, 1595 (1920); Elements of physical biology. Baltimore, 1925.
25. *В. Вольтерра*, Математическая теория борьбы за существование, «Наука», 1976.
26. *N. Goel, S. Maitra, E. Montroll*, Nonlinear models of interacting populations. Acad. Press, 1971.
27. *К. Вилли*, Биология, «Мир», 1964.
28. *R. Lefever, G. Nicolis, I. Prigogine*, J. Chem. Phys. **47**, 1045 (1967).
29. *R. Lefever, G. Nicolis*, J. Theor. Biol. **30**, 267 (1971).
30. *A. Turing*, Phil. Trans. Roy. Soc. **B 237**, 37 (1952).

31. *H. Othmer, L. Scriven*, Ind. Eng. Chem. 8, 302 (1969).
32. *Б. П. Белоусов*, Сборник рефератов по радиационной медицине за 1958, Медгиз, 1959, стр. 145.
33. *А. М. Жаботинский*, ДАН СССР 157, 392 (1964); Биофизика 9, 306 (1964); в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 149.
34. *В. А. Вавилин, А. М. Жаботинский, Л. С. Ягужинский*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 181.
35. *В. А. Вавилин, А. М. Жаботинский, В. И. Крупянко*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 199.
36. *А. М. Жаботинский, М. Д. Корзухин*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 223.
37. *М. Д. Корзухин*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 231, 242.
38. *А. М. Жаботинский и др.*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 269.
39. *А. М. Жаботинский, А. Н. Заикин*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1976, стр. 273.
40. *А. М. Жаботинский, А. Н. Заикин*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 279, 284.
41. *А. М. Жаботинский, А. Н. Заикин*, J. Theor. Biol. 40, 45 (1973).
42. *N. Wiener, A. Rosenblueth*, Arch. Inst. Cardiol. Mexico 16, 205 (1946).
43. *И. С. Балаховский*, Биофизика 10, 1063 (1965).
44. *С. В. Фомин, М. Б. Беркинблит*, Математические проблемы в биологии, «Наука», 1973.
45. *H. Busse*, J. Phys. Chem. 73, 750 (1969).
46. *M. Herschkoowitz-Kaufman*, C. R. Acad. Sci. 270C, 1049 (1970).
47. *T. Beck, Z. Varadi*, Magyar. Kem. Foly 77, 167 (1971).
48. *R. Field, R. Noyes*, Nature 237, 390 (1972).
49. *A. Winfree*, Science 181, 937 (1973); Sci. Amer. 230, № 6, 82 (1974).
50. *J. Monod, J. Wyman, J. P. Changeux*, J. Mol. Biol. 12, 88 (1965).
51. *М. В. Волькенштейн*, Физика ферментов, «Наука», 1967.
52. *B. Rabin*, Biochem. J. 102, 22c (1967).
53. *C. Cennamo*, J. Theor. Biol. 21, 260 (1968); 23, 53 (1969).
54. *T. Keleti*, Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. 3, 247 (1968).
55. *E. Whitehead*, Progr. Biophys. a. Mol. Biol. 21, 321 (1970).
56. *G. Ainslie, J. Shill, K. Neet*, J. Biol. Chem. 247, 7088 (1972).
57. *Б. Н. Гольдштейн, М. А. Лившиц, М. В. Волькенштейн*, Мол. биол. 8, 785 (1974).
58. *K. Kirschner et al.*, J. Mol. Biol. 58, 29 (1971).
59. *H. Will, G. Damaschun*, J. Theor. Biol. 38, 579 (1973).
60. *Б. Н. Гольдштейн, М. В. Волькенштейн*, Мол. биол. 5, 555 (1971).
61. *J. Teipel, D. Koshland*, Biochemistry 8, 4656 (1969).
62. *W. Gelb et al.*, Biochemistry 9, 3228 (1970).
63. *J. Higgins*, Ind. Eng. Chem. 59, 19 (1967).
64. *Е. И. Щорс и др.*, Мол. биол. 8, 794 (1974).
65. *Д. А. Франк-Каменецкий*, Усп. хим. 10, 373 (1941); в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 171.
66. Сборник «Биологические часы», «Мир», 1964.
67. *Е. Е. Сельков*, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 7.
68. *Г. Малер, Ю. Кордес*, Основы биологической химии, «Мир», 1970.

69. А. Ленинджер, Биохимия, «Мир», 1974.
70. В. Chance, В. Hess, А. Betz, Biochem. Biophys. Res. Comm. 16, 182 (1964).
71. А. Betz, В. Chance, Naturwissenschaften 52, 346 (1965); Arch. Biochem. Biophys. 109, 579, 585 (1965).
72. В. Chance, В. Schoener, S. Elsaesser, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 52, 337 (1964); J. Biol. Chem. 240, 3170 (1965).
73. В. Hess, В. Chance, А. Betz, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 68, 766 (1964).
74. В. Hess, К. Brand, К. Pye, Biochem. Biophys. Res. Comm. 23, 102 (1966).
75. К. Pye, В. Chance, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 55, 888 (1966).
76. Е. Е. Сельков, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 81, 93.
77. В. А. Самойленко, Е. Е. Сельков, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 50.
78. В. А. Самойленко, Е. Е. Сельков, В. С. Савчук, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 54.
79. Г. Р. Иваницкий, В. И. Кринский, Е. Е. Сельков, Математическая биофизика клетки, «Наука», 1978.
80. Е. Е. Сельков, Studia Biophys. 33, 167 (1972).
81. Е. Е. Сельков, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 5.
82. Е. Е. Сельков, Мол. биол. 2, 252 (1968).
83. F. Halberg, Photoperiodism and related phenomena in plants and animals, ed. Withrow, Washington, 1959.
84. К. Питтендрай, в сб. «Биологические часы», «Мир», 1964, стр. 263.
85. Д. С. Чернавский, Н. М. Чернавская, Биофизика 3, 521 (1958); УФН 72, 627 (1960).
86. Д. С. Чернавский, Н. М. Чернавская, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 51.
87. Л. Н. Белюстина, Г. А. Кокина, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 67.
88. А. Katchalsky, R. Spangler, Quart. Rev. Biophys. 1, 127 (1968).
89. Т. Теорелл, Exp. Cell Res. (Suppl.) 3, 339 (1955); J. Gen. Physiol. 42, 831, 847 (1959); Acta Physiol. Scand. 62, 293 (1964).
90. Цит. по 88.
91. Т. Теорелл, в сб. «Вопросы биофизики», «Наука», 1964, стр. 76
92. Y. Kobatake, H. Fujita, J. Chem. Phys. 40, 2212 (1964).
93. U. Franck, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 71, 789 (1967).
94. В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко, Ю. А. Чизмаджев, Электрохимия 7, 337, 1661 (1971); в сб. «Итоги науки. Электрохимия». т. 6, ВИНТИ, 1971, стр. 165.
95. В. И. Кринский, Проблемы кибернетики, вып. 20, «Наука», 1968, стр. 59.
96. В. И. Кринский, С. В. Фомин, А. В. Холопов, Биофизика 12; 908 (1967).
97. В. И. Кринский, Биофизика 11, 676 (1966).
98. В. И. Кринский, А. В. Холопов, Биофизика 12, 669 (1967).
99. В. И. Кринский и др., в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», т. 2, Пушино-на-Оке, 1971, стр. 284.
100. И. М. Гельфанд, М. Л. Цейтлин, ДАН СССР 131, 1242 (1960).
101. Сборник «Исследования по общей теории систем», «Прогресс», 1969.
102. J. Haldane, The philosophy of a biologist, Clarendon Press, 1935.
103. К. Уоддингтон, в сб. «На пути к теоретической биологии», 1. «Прологомены», «Мир», 1970, стр. 21, 39.
104. Ф. Гродинз, Теория регулирования и биологические системы, «Мир», 1966.

105. Д. Милсум, Анализ биологических систем управления «Мир», 1968.
106. Р. Розен, Принцип оптимальности в биологии, «Мир», 1969.
107. P. Verhulst, Nouv. Mém. Acad. Roy. Bruxelles 18, 1 (1845); 20, 1 (1847).
108. R. Pearl, L. Reed, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 6, 275 (1920).
109. E. Kerner, Bull. Math. Biophys. 19, 121 (1957); 21, 217 (1959); 23, 141 (1961); Gibbs ensemble: biological ensemble, Gordon a. Breach, 1971.
110. Д. С. Маркович, Г. Б. Крапивинский, Мол. биол. 8, 857 (1974).
111. Г. Б. Крапивинский, Д. С. Маркович, Биоорг. хим. 1, 833 (1975).
112. Б. Н. Гольдштейн, Г. Б. Крапивинский, Д. С. Маркович, Мол. биол. 10, 182 (1976).
113. А. Н. Тихонов, Мат. сборник 31, 575 (1952).
114. А. Б. Васильева, В. Ф. Бугузов, Асимптотические разложения решений сингулярно возмущенных уравнений, «Наука», 1973.
115. W. Ebeling, Strukturbildung bei irreversiblen Prozessen. B. Teubner Verlagsgesellschaft, 1976.
116. W. Ebeling, Wissenschaft u. Fortschritt 26, 309 (1976).
117. F. Schlögl, Z. Phys. 253, 147 (1972).
118. F. Schlögl, Z. Phys. 248, 446 (1971).
119. G. Czajkowski, W. Ebeling, J. Noneq. Thermodyn. 2, № 1 (1977).
120. Б. Н. Белинцев, М. В. Волькенштейн, ДАН СССР 235, 205 (1977).
121. П. Моран, Статистические процессы эволюционной теории, «Наука», 1973.
122. А. А. Гиммельфарб и др., Динамическая теория биологических популяций, «Наука», 1974.
123. G. Nicolis, I. Prigogine, Self-organization in nonequilibrium systems, J. Wiley, 1977.

К главе 9

1. Б. П. Васильков, Съедобные и ядовитые грибы средней полосы европейской части СССР, Изд. АН СССР, 1948.
2. Жизнь животных, 6, «Просвещение», 1971.
3. В. Н. Сукачев, ДАН СССР 47, № 6 (1945); Почвоведение 6, 1 (1960); Ж. общей биол. 28, 501 (1967).
4. Ж. Ламарк, Избранные произведения, Изд. АН СССР, 1955.
5. Ч. Дарвин, Происхождение видов, Собрание сочинений, т. 3, Изд. АН СССР, 1939.
6. Н. В. Тимофеев-Ресовский, Н. Н. Воронцов, А. В. Яблоков, Краткий очерк теории эволюции, «Наука», 1969.
7. М. В. Волькенштейн, Молекулярная биофизика, «Наука», 1975.
8. Д. Бернал, Возникновение жизни, «Мир», 1969.
9. Д. Койпер, в сб. «Планета Земля», гл. 1, ИЛ, 1961.
10. М. Кальвин, Химическая эволюция, «Мир», 1971.
11. E. Barghoorn, J. Schopf, Science 152, 758 (1966).
12. А. М. Молчанов, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 292.
13. У. Шекспир, Антоний и Клеопатра, Акт II, Сцена VIII.
14. А. И. Опарин, Происхождение жизни, «Московский рабочий», 1924 (перепечатано в [8]).
15. А. И. Опарин, Происхождение жизни на Земле, Изд. АН СССР, 1957.
16. J. Haldane, Rationalist Annual 148, 3 (1928).
17. G. Ponnampertuna, Quart Rev. Biophys. 4, 77 (1971).
18. S. Miller, H. Urey, Science 130, 245 (1959).
19. D. Snyder, D. Buhl, Astrophys. J. 155, L 65 (1969).
20. D. Snyder, et al., Phys. Rev. Lett. 22, 679 (1969).

21. Труды Симпозиума «Возникновение жизни на Земле», Изд. АН СССР, 1959.
22. Сборник «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966.
23. *W. Garrison et al.*, Science **114**, 416 (1951).
24. *S. Miller*, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 2351 (1955); *Biochim. Biophys. Acta* **23**, 488 (1957); сб. «Возникновение жизни на Земле», Изд. АН СССР, 1959, стр. 131.
25. *А. Н. Теренин*, в сб. «Возникновение жизни на Земле», Изд. АН СССР, 1959, стр. 144.
26. *К. Харада, С. Фокс*, в сб. «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966, стр. 193.
27. *Дж. Оро*, в сб. «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966, стр. 144.
28. *C. Ponnamperuma et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **49**, 737 (1963).
29. *C. Ponnamperuma, C. Sagan, R. Mariuer*, Nature **199**, 222 (1963).
30. *К. Сэган*, в сб. «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966, стр. 211.
31. *П. Мора*, в сб. «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966, стр. 47.
32. *Е. Вигнер*, Этюды о симметрии, «Мир», 1971, стр. 160.
33. *G. Wald*, Ann. N. Y. Acad. Sci. **69**, 353 (1967).
34. *A. Garay*, Nature **219**, 338 (1968).
35. *E. HAVINGA*, *Biochim. Biophys. Acta* **13**, 171 (1954).
36. *D. Allen, R. Gillard*, Chem. Comm. **1967**, 1091.
37. *J. Collman, E. Kimura*, J. Amer. Chem. Soc. **89**, 6096 (1967).
38. *S. Fox*, Naturwissenschaften **56**, 1 (1969).
39. *С. Фокс*, в сб. «Происхождение предбиологических систем», «Мир», 1966, стр. 362.
40. *S. Fox, C. Wang*, Science **160**, 547 (1968).
41. *В. Гете*, Фауст, ч. 2.
42. Nature **239**, 420 (1972); **240**, 365 (1972).
43. *М. Эйген*, Самоорганизация материи и эволюция биологических макромолекул, «Мир», 1973.
44. *М. Эйген*, УФН **109**, 545 (1973).
45. *A. Bartholomay*, Bull. Math. Biophys. **20**, 97, 175 (1958); **21**, 363 (1959).
46. *Дж. Дуб*, Вероятностные процессы, ИЛ, 1956.
47. *М. В. Волькенштейн*, УФН **109**, 499 (1973).
48. *F. Lipmann*, in «O. Meyerhoff symposium», July 1970, Springer, 1971, p. 35.
49. *Ф. Крик*, в сб. «Структура и функции клетки», «Мир», 1964, стр. 9.
50. *S. Spiegelman et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **54**, 919 (1965).
51. *R. Levisohn, S. Spiegelman*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **60**, 866 (1968).
52. *S. Spiegelman*, Quart. Rev. Biophys. **4**, 213 (1971).
53. *I. Prigogine, G. Nicolis, A. Babloyantz*, Physics Today **25**, № 12 (1972).
54. *A. Babloyantz*, Biopolymers **11**, 2349 (1972).
55. *H. Kuhn*, Angew. Chemie **84**, 838 (1972).
56. *В. Г. Туманян*, в сб. «Итоги науки и техники. Молекулярная биология», т. 2, ВИНТИ, 1973.
57. *M. Paecht-Horowitz, I. Berger, A. Katchalsky*, Nature **228**, 636 (1970).
58. *H. Forsterling, H. Kuhn, K. Tewes*, Angew. Chemie **84**, 862 (1972).
59. *Д. С. Чернавский, Н. М. Чернавская*, J. Theor. Biol. **50**, 13 (1975).
60. *M. Ageno*, J. Theor. Biol. **37**, 187 (1972).
61. *F. Frank*, *Biochim. Biophys. Acta* **11**, 459 (1953).
62. *F. Seelig*, J. Theor. Biol. **34**, 197 (1972).
63. *D. Kacian et al.*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA **69**, 3038 (1972).
64. *D. Mills, F. Kramer, S. Spiegelman*, Science **180**, 916 (1973).
65. *С. Э. Шноль*, Ж. общей биол. **34**, 331 (1973).

66. И. И. Шмальгаузен, Кибернетические вопросы биологии, «Наука», Новосибирск, 1968.
67. И. И. Шмальгаузен, Факторы эволюции, «Наука», 1968.
68. И. И. Шмальгаузен, Проблемы дарвинизма, «Наука», 1969.
69. Л. А. Блюменфельд, Проблемы биологической физики, «Наука», 1974.
70. П. Моран, Статистические процессы эволюционной теории, «Наука», 1973.
71. N. Goel, S. Maitra, E. Montroll, Nonlinear models of interacting populations, Acad. Press, 1971.
72. В. А. Ратнер, Принципы организации и механизмы молекулярно-генетических процессов, «Наука», Новосибирск, 1972.
73. Сборник «Динамическая теория биологических популяций», ред. Р. А. Полудэктов, «Наука», 1974.
74. J. Monod, Le hasard et la nécessité Seuil, 1971.
75. М. В. Волькенштейн, ДАН СССР 216, 1395 (1974).
76. М. В. Волькенштейн, Генетика № 2, 54 (1965); № 4, 119 (1966); Biochim. Biophys. Acta 119, 421 (1966).
77. М. В. Волькенштейн, Ю. Б. Румер, Биофизика 12, 10 (1967).
78. М. В. Волькенштейн, Физика ферментов, «Наука», 1967.
79. C. Tanford, J. Amer. Chem. Soc. 84, 4240 (1962); 86, 2050 (1964).
80. Л. М. Мухин, Nature 251, 50 (1974).
81. Э. К. Бютнер, ДАН СССР 138, 1050 (1961).
82. R. Brinkman, J. Geophys. Res. 74, 5355 (1969).
83. M. Eigen, R. Winkler, Das Spiel, R. Pipers & Co., 1975.
84. M. Eigen, in «The physicist's conception of nature», ed. J. Mehra, D. Reidel, Publ. Co., 1973, p. 594.
85. V. Küppers, Progr. Biophys. Math. Biol. 30, 1 (1975).
86. P. Richter, Bull. Math. Biol. 37, 193 (1975).
87. W. Ebeling, Strukturbildung bei irreversiblen Prozessen, Teubner Verlagsgesellschaft, 1976.
88. Г. Кастлер, Возникновение биологической организации, «Мир», 1967.
89. W. Ebeling, R. Feistel, Studia biophys. 46, 183 (1976).
90. Ю. М. Романовский, Н. В. Степанова, Д. С. Чернавский, Математическое моделирование в биофизике, «Наука», 1975.
91. М. В. Волькенштейн, Ж. общей биол. 37, 483 (1976).
92. М. В. Волькенштейн, Наука и жизнь, № 1, 73 (1970).
93. А. М. Яглом, И. М. Яглом, Вероятность и информация, «Наука», 1973.
94. D. Lauzer, Sci. Amer. 233, № 6, 56 (1975).
95. М. В. Волькенштейн, Д. С. Чернавский, J. Social Biol. Struct. 2 (1978).
96. А. А. Харкевич, Избранные труды, т. 3, «Наука», 1975, стр. 489.
97. М. М. Бонгард, Проблема узнавания, «Наука», 1967.
98. Р. Л. Стратанович, Теория информации, «Советское радио», 1975.
99. V. Clarke, Sci. Amer. 233, № 2, 50 (1975).
100. А. Г. Бачинский, Ж. общей биол. 37, 163 (1976).
101. М. В. Волькенштейн, Мол. биол. 10, 498, 737 (1976).
102. T. Jukes, Biochem. Biophys. Res. Comm. 66, 1 (1975).
103. T. Jukes, Amer. Scientist 53, 477 (1965).
104. D. Sankoff, R. Cedergren, G. Lapalme, J. Mol. Evol. 7, 133 (1976).
105. В. И. Полтев, В. И. Брусков, Мол. биол. 11, 662 (1977).
106. R. Koch, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 773 (1977).
107. К. Уоддингтон, Морфогенез и генетика, «Мир», 1964.
108. Р. Вагнер, Г. Митчелл, Генетика и обмен веществ, ИЛ, 1958.
109. Л. Саксен, С. Тойвонен, Первичная эмбриональная индукция, ИЛ, 1963.
110. Дж. Иберт, Взаимодействующие системы в развитии, «Мир», 1968.
111. Дж. Тринкаус, От клеток к органам, «Мир», 1972.
112. Д. Ньют, Рост и развитие животных, «Мир», 1973.
113. М. Фишберг, А. Блэклер, в сб. «Живая клетка», ИЛ, 1962, стр. 93.

114. Э. Хадорн, в сб. «Молекулы и клетки», вып. 5, «Мир», 1970, стр. 54.
115. К. Уоддингтон, в сб. «На пути к теоретической биологии», «Мир», 1970, стр. 11.
116. А. Г. Гурвич, Теория биологического поля, «Советская наука», 1944.
117. К. Уоддингтон, Организаторы и гены, ИЛ, 1947.
118. Дж. Гердон, Регуляция функции генов в развитии животных, «Мир», 1977.
119. Н. Уэсселс, У. Раттер, в сб. «Молекулы и клетки», вып. 5, «Мир», 1970, стр. 38.
120. Э. Майр, в сб. «На пути к теоретической биологии», «Мир», 1970, стр. 47.
121. A. Deshpande, L. Niu, M. Niu, in «The role of RNA in reproduction and development», eds. M. Niu, S. Segal, Elsevier, 1973, p. 229.
122. I. Pastan, G. Johnson, Adv. Cancer Res. 19, 303 (1974).
123. A. Deshpande, M. Siddiqui, Nature 263, 588 (1976).
124. Р. Розен, Принцип оптимальности в биологии, «Мир», 1969.
125. W. D'Arcy Thompson, On growth and form, Macmillan, 1945.
126. R. Tom, Morphogénèse et stabilité structurelle, Benjamin, 1971.
127. Р. Том, в сб. «На пути к теоретической биологии», «Мир», 1970, стр. 145.
128. R. Thom, E. Zeeman, Catastrophe theory: its present state and future perspectives. Univ. of Warwick Press, 1975.
129. Л. Вольперт, в сб. «На пути к теоретической биологии», «Мир», 1970, стр. 120.
130. L. Wolpert, J. Theor. Biol. 25, 1 (1969).
131. H. Martinez, J. Theor. Biol. 36, 479 (1972).
132. I. Prigogine, R. Lefever, Adv. Chem. Phys. 29, 1 (1975).
133. B. Lavenda, Quart. Rev. Biophys. 5, 429 (1972).
134. A. Babloyantz, G. Nicolis, J. Theor. Biol. 34, 185 (1972).
135. D. Noack, Studia Biophys. 14, 43 (1969).
136. Ж. Жакоб, Ф. Моно, в сб. «Регуляторные механизмы клетки», «Мир», 1964, стр. 278.
137. Д. С. Чернавский, Л. Н. Григоров, М. С. Полякова, в сб. «Колебательные процессы в биологических и химических системах», «Наука», 1967, стр. 138.
138. S. Zeno, J. Theor. Biol. 8, 258 (1965).
139. V. Edelstein, J. Theor. Biol. 30, 515 (1971); 37, 221 (1972).
140. H. Othmer, L. Scriven, J. Theor. Biol. 32, 507 (1971).
141. A. Turing, Phil. Trans. Roy. Soc. B237, 37 (1952).
142. B. Strehler et al., J. Theor. Biol. 33, 429 (1971).
143. Z. Simon, J. Theor. Biol. 38, 39 (1973).
144. J. Lewis, J. Slack, L. Wolpert, J. Theor. Biol. 65, 579 (1977).
145. Л. В. Белоусов, Д. С. Чернавский, Онтогенез 8, 99 (1977).
146. Ф. Бернет, Целостность организма и иммунитет, «Мир», 1964.
147. Ф. Бернет, Клеточная иммунология, «Мир», 1971.
148. F. Burnet, Immunological surveillance, Pergamon Press, 1970.
149. M. Cooper, A. Lawton, Sci. Amer. 231, № 5, 58 (1974).
150. N. Jerne, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 41, 849 (1955).
151. А. Я. Фриденштейн, И. Л. Чертков, Клеточные основы иммунитета, «Медицина», 1969.
152. И. Л. Чертков, А. Я. Фриденштейн, Усп. совр. биол. 74, № 2, 292 (1972).
153. Р. С. Незлин, Строение и биосинтез антител, «Наука», 1972.
154. Ф. Гауровиц, Иммунохимия и синтез антител «Мир», 1969.
155. F. Nairowitz, in «Developmental aspects of antibody formation and structures», vol. 2, Acad. Publ. House, Czechosl. Acad. Sci., 1970, p. 909.
156. L. Scillard, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 46, 277, 293 (1960).
157. M. Raff, Nature 242, 19 (1973).
158. Д. Носсаль, в сб. «Молекулы и клетки», «Мир», 1966, стр. 115.

159. *P. Спейрс*, в сб. «Молекулы и клетки», «Мир», 1966, стр. 107.
160. *M. Jilek, J. Sterzl*, in «Developmental aspects of antibody formation and structure», vol. 2, Acad. Publ. House, Czechosl. Acad. Sci., 1970, p. 963.
161. *О. А. Смирнова, Н. В. Степанова*, Вестн. МГУ, сер. физ., вып. 5, 520 (1971).
162. *А. М. Молчанов*, Биофизика **16**, 482 (1971).
163. *А. М. Молчанов и др.*, Биофизика **16**, 565 (1971).
164. *G. Bell*, J. Theor. Biol. **29**, 191 (1970); **33**, 339, 379 (1971).
165. *G. Bell*, Math. Biosci. **16**, 291 (1973).
166. *G. Pimbley*, Math. Biosci. **20**, 27 (1974); **21**, 251 (1974).
167. *Б. Ф. Дибров, М. А. Лившиц, М. В. Волькенштейн*, Биофизика **21**, 905 (1976); **22**, 313 (1977); J. Theor. Biol. **65**, 609 (1977); **69**, 23 (1977).
168. *C. Romball, W. Weigle*, J. Exp. Med. **138**, 1426 (1973).
169. *G. Nicolis, I. Prigogine*, Self-organization in nonequilibrium systems, J. Wiley, 1977.
170. *C. Thompson, J. McBride*, Math. Biosci. **21**, 127 (1974).
171. *А. А. Нейфах, М. Я. Тимофеева*, Молекулярная биология процессов развития, «Наука», 1977.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Аксон** 160
—, миелиновая оболочка 161
Актин 219
—, F-форма 220
—, G-форма 220
АМФ циклическая 38, 41—43
Антиген 17, 20, 543
—, гаптеновая группа 21, 28
Антитело 17, 543
—, доменная структура 19
—, специфичность 19
—, строение 18
—, узнавание антитела 19, 28
- Белок** 13 и д.
—, биосинтез 38
—, — в клетках эукариотов 43—50
Биогеоценоз 513, 520
- Взаимодействие** антиген — антитело
17—28, 543
— межклеточное 34—38
— электронно-конформационное 11, 14, 314—327
- Гаптеновое действие** 21
Гаптены 21
Ген-оператор 39
Гиперцикл 495—498
Гистоны 43, 45
Глаз 373
—, зрение цветное 375, 376
—, сетчатка 374
Гомеостаз 463
- Дендриты** 161
Дыхание 338
- Единица фотосинтетическая** 337, 338
- Жгутики** 270
—, движение 272—276
- Запах** 28
— первичный 31
—, рецепция 28
—, —, теории 30—33
- Изопотенциал** 214
Изофора 214
Иммунитет 543—556
— гуморальный 543, 548
—, клонально-селекционная теория 543
Импульсы нервные 160 и д.
— —, генерация 166, 169, 185—192
— — подпороговые 167
— —, проведение 164, 165
— —, — сальтаторное 171
— —, распространение 165, 171, 185
— —, —, скорость 165
— —, —, теория 176, 178—185
— —, —, — градуальная 177
— —, —, синаптическая передача 206—210
- Информация** 87 и д.
—, ценность 94, 510—528
—, — селективная 95, 486—498, 510—528
Информофер 44
- Клетки шванновские** 161
Код 493—498, 506, 509, 521—528
— ферментный 14

- Компартментализация 97, 481, 482, 498
 Комплексы Грина 287
 Конформоны 150, 314, 324
 Кривые изометрические 214
 — изотонические 214
 Кристы 289—291
- Медиатор** 206
Мембрана 97 и д.
 — аксона 162
 — —, деполаризация 169
 —, возбудимость 100
 —, каналы 135, 145
 —, конформационные свойства 145—151
 —, модель мозаичная 144
 —, — унитарная 137
 — полупроницаемая 104
 — постсинаптическая 206—208
 —, потенциал действия 107, 163, 181, 461
 —, — покоя 122, 173, 181
 — пресинаптическая 206, 209
 —, проницаемость 101, 125
 —, —, коэффициент 113, 118, 123
 —, — селективная 101
 —, селективность 104
 —, состав 29, 136
 —, структура 136—142
 — тилакоидная 362
 — —, перенос электронов 371
 — фоторецепторная 143, 387—392
Миграция энергии 370
 — —, механизм индуктивного типа 370
 — —, — полупроводниковый 370
 — —, — экситонный 370
Миозин 219
Миофибрилла 219
Митохондрии 277, 288
 —, мембраны 280
 —, строение 288, 289, 291
 —, элементарные частицы 308, 315, 316
Модель МУШ 433, 434, 436
Мышца 219
 —, действие импульса 227
 —, модель скользящая 224, 231
 —, релаксация 228
 —, свойства кинетические 268
 —, — механические 228
 —, — термомеханические 252
 —, — —, теория 252—258
 —, сокращение 219
 —, — изометрическое 228
- Мышца, сокращение изотоническое** 228
 —, —, инициация 258—264
 —, — одиночное 228, 231
 —, — стационарное 246
 —, — —, теория 246—252
 —, —, теории 238—246
 —, — тетаническое 228, 231
 —, структура 219—222
- Насос ионный** 116, 294
 — —, термодинамическая модель 116—191
Нейроны 160
- Омматины** 377
Оперон 39
 —, модель Жакобо и Моно 44, 538, 540, 541
- Память иммунная** 544
Переносчики ионов 151
Перехваты Ранвье 161
Переход надбарьерный 321
Пигменты зрительные 376, 379—387
Полярон 324
Потенциал действия 107, 163, 181, 461
 — покоя 122, 173, 181
 — химический 102
 — электрохимический 107, 178
Поток облегченный 112—114, 117
 — «просачивания» 113
Проводимость ионная 178
 — —, периодические изменения 451
 — калиевая 178
 — натриевая 178
 — —, активация 193—206
 — —, инактивация 193—206
 — —, теория 193
Процесс автоволновой 429
 — механохимический 211, 455
 — —, к. п. д. 215
- Реакция автокаталитическая** 76, 415, 465, 466, 481, 502
 — Красновского 340
 — Хилла 338, 364, 366
Ревербератор 431, 456—463

- Реобазы 166
 Репликон 43
 Репрессор 39
 Реснички 270
 Рефрактерное состояние 168, 456
 Ритмы циркадные 446
- Самоорганизация 484—492
 Саркомер 219
 Сигнатура 14, 15
 Синапсы 161
 Системы фотохимические 347—355
 — —, дифференциальные спектры 349, 350
- Тельце Пачини 277, 278
 Теорема эргодическая 80
 Ток ионный 178, 182
 — —, компонент калиевый 118
 — —, — натриевый 178
 Транзиции 524—528
 Трансверсии 524—528
 Транскриптон 44, 542
 Транспорт мембранный 99—159
 — — активный 99, 116
 — — —, термодинамика 111—116
 — — —, термодинамическая модель 130—136
 — — индуцированный 151—159
 — — облегченный 112, 117, 156
 — — пассивный 99
 — —, теория 121—130
 — — —, термодинамика 101—111
 Тропомиозин 223
 Тропонин 223
- Узнавание 12—17
 — молекулярное 13
- Фазовый портрет 398
 Фактор качества 485
 — Марша-Бендола 228
 Ферменты 13, 38
 — аллостерические 433
 —, биосинтез 38
 —, — индуцированный 38
 —, —, регуляция 38
- Феромоны 28, 29
 Фибрилляция 455
 — сердца 455, 458
 Фоторецепторы 373, 376, 381, 386
 —, мембраны 143, 387—392
 Фоторецепция 372, 379, 383
 —, молекулярный механизм 379—387
 Фотосинтез 334—336, 348
 —, квантовый выход 344
 —, колебания интенсивности 446
 —, ритм 446
 —, спектр действия 344, 345, 347
 Функция диссипации 52
- Хиральность 10, 507, 510, 512
 Хлоропласты 338, 361—369
 Хлорофилл 336, 339—347
 —, флуоресценция 255
 —, —, выход квантовый 256
 —, —, спектр 255—259
 —, —, — действия 357
- Цепь переносчиков электронов (ЦПЭ) 282, 299, 307, 313 и д.
 Цикл Кальвина 360, 446, 447
 — Кребса 281—283
 Цитохром *c* 327—333
- Часы биологические 423, 446
 — химические 418, 423
- Щель синаптическая 206
- Эволюция 476 и д.
 — добиологическая 483—492
 —, кибернетическая трактовка 513—516
 Энтропия 51 и д.
 —, продукция 52
 Эффект туннельный 321, 371, 372
 — Эмерсона 346, 347
 Эхо 458

Михаил Владимирович Волькенштейн
ОБЩАЯ БИОФИЗИКА
(Серия: «Физика жизненных процессов»)

М., 1978 г., 592 стр. с илл.

Редактор *Н. А. Райская*
Техн. редактор *Н. В. Кошелева*
Корректоры *О. А. Бутусова, Л. С. Сомова*
ИБ № 2325

Сдано в набор 7.10.77. Подписано к печати 13.03.78. Т-06531.
Бумага 60×90^{1/16}, тип. № 1. Литературная гарнитура. Высокая
печать. Условн. печ. л. 37. Уч.-изд. л. 37,53. Тираж 9000 экз.
Заказ № 785.
Цена книги 2 р. 60 к.

Издательство «Наука»
Главная редакция физико-математической литературы
117071, Москва, В-71, Ленинский проспект, 15

Ордена Трудового Красного Знамени
Ленинградская типография № 2 имени Евгении Соколовой
Союзполиграфпрома при Государственном комитете Совета
Министров СССР по делам издательств, полиграфии
и книжной торговли.
198052, Ленинград, Л-52, Измайловский проспект, 29.