

**Новиков Д.А., Филимонов М.М.**

# **БИОФИЗИКА**

**КУРС ЛЕКЦИЙ  
В двух частях**

**ЧАСТЬ I**



**ТЕРМОДИНАМИКА  
И  
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА**



**Минск  
БГУ  
2008**

## СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	6
§ 1. БИОФИЗИКА, ЕЕ ЗАДАЧИ И ПРОБЛЕМЫ.....	8
§ 2. ТЕРМОДИНАМИКА.....	13
2.1. Основные понятия термодинамики. ....	14
2.2. Первый закон термодинамики .....	15
2.3. Цикл Карно. Второй закон термодинамики.....	22
2.4. Термодинамические потенциалы.....	32
§ 3. ТЕРМОДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ.....	34
3.1. Особенности биологических объектов как термодинамических систем. Первый закон термодинамики в биологии и химии.....	34
3.2. Второй закон термодинамики для открытых систем.....	37
3.3. Изменение стандартной свободной энергии. Химические и электрохимические потенциалы.....	39
3.4. Скорость возрастания энтропии и диссипативная функция.....	41
3.5. Сопряженные процессы.....	43
3.6. Положения линейной неравновесной термодинамики. Уравнение Онзагера.....	44
3.7. Критерии достижения и устойчивости стационарных состояний.....	47
§ 4. КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.....	49
4.1. Типы реакций.....	50
4.2. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.....	59
4.3. Кинетика ферментативных процессов.....	64
§ 5. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН....	71
5.1. Химический состав биологических мембран.....	73
5.2. Искусственные мембранные структуры.....	79
5.3. Фазовые переходы в мембранах.....	82
§ 6. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ.....	87
6.1. Пассивный транспорт нейтральных частиц.....	88
6.2. Пассивный транспорт ионов.....	92
6.3. Уравнение Нернста.....	94
6.4. Равновесие Доннана.....	96
6.5. Ионный транспорт через каналы.....	98
6.6. Пассивный транспорт веществ с помощью переносчиков.....	102
6.7. Индуцированный транспорт.....	106
6.8. Активный транспорт.....	108
6.9. Вторично-активный транспорт.....	115
§ 7. БИОФИЗИКА МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ.....	117

7.1. Строение мышечного волокна.....	118
7.2. Сокращение мышцы.....	121
7.3. Мощность и скорость одиночного сокращения.....	123
7.4. Электромеханическое сопряжение в мышцах.....	125
§8. БИОФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА.....	127
8.1. Потенциал покоя.....	128
8.2. Потенциал действия.....	132
8.3. Раздражение мембраны электрическим током.....	135
8.4. Распространение возбуждения по нервному волокну.....	137
§ 9. ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ.....	140
§ 10. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА.....	146
10.1. Пространственная организация биополимеров.....	146
10.2. Гибкость биополимеров.....	150
10.3. Различные типы взаимодействия в макромолекулах.....	152
10.4. Структура воды и гидрофобные взаимодействия.....	158
10.5. Структура и свойства биополимеров.....	163
10.6. Биофизика белков.....	168
10.7. Биофизика нуклеиновых кислот.....	175
ЛИТЕРАТУРА.....	182

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Биофизика — наука, изучающая физические и физико-химические явления в живых организмах. Традиционно биофизику разделяют на молекулярную, объектом исследования которой являются биологические молекулы, биофизику клетки, изучающую надмолекулярные структуры живой клетки, и биофизику сложных систем, рассматривающую различные уровни организации живых систем — сообщества клеток, ткани, организмы, популяции.

Выдающийся советский биофизик Г. М. Франк сказал: «Биофизика не имеет присущего только ей объекта или предмета исследования, как, например, микробиология (наука, изучающая микроорганизмы) или энтомология (раздел зоологии, изучающий насекомых). Эта наука скорее характерна только ей присущим физическим подходом к изучению широкого круга жизненных явлений особенно тесна связь, скорее даже «взаимопроращивание», биофизики и биохимии. И если изображать графически взаимоотношения биохимии и биофизики, нельзя ни в коем случае рисовать черту раздела между ними. Это будут скорее широкие кривые «распределения компетентности» с максимумами, сдвинутыми по отношению друг к другу». Подобные взаимоотношения связывают биофизику и с другими науками — физиологией, молекулярной биологией, фармакологией и др.

Историю развития биофизики можно начать с выдвинутой М. В. Ломоносовым теории о цветном зрении. Дальнейший вклад внесли опыты Л. Гальвани по изучению «животного электричества»; открытия Г. Гельмгольца в области биологической оптики; исследования французского физиолога и физика, основателя первой кафедры биофизики Д'арсонваля в области воздействия переменных токов на биологические объекты (что положило начало методу «д'арсонвализации» — лечению импульсным током высокой частоты, высокого напряжения и малой силы тока). Среди выдающихся достижений биофизики XX века следует выделить расшифровку пространственных структур белка Л. Полингом и двойной спирали ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком.

Биофизика в своих исследованиях широко использует физические, химические, а в последнее время — и вычислительные методы.

Развитие биологии, в особенности ее разделов, находящихся на стыке наук (биохимия, молекулярная биология, генетика, микробиология, физиология и др.), наблюдающееся за последние десятилетия, выявило необходимость подготовки высококвалифицированных специалистов, не только обладающих глубокими знаниями в области профессионально-ориентированных дисциплин, но имеющих фундаментальную теоретиче-

скую и практическую подготовку в области физики, химии и смежных с ними дисциплин; специалистов, способных проводить научные исследования, привлекая для этого физические, химические, биофизические и биохимические методы; специалистов эрудированных, думающих, способных совершенствовать и углублять свои знания самостоятельно после окончания вуза в процессе практической деятельности.

Одним из основополагающих курсов, отвечающих указанным требованиям, является «Биофизика». Задачей данного курса не только традиционное усвоение отдельных теоретических положений и практических умений и навыков, а и развитие у студентов способности анализировать, обобщать, углублять и эффективно применять на практике полученные знания.

Учебник охватывает широкий спектр проблем биофизики. Особое внимание уделено вопросам, имеющим непосредственное отношение к практической и научной деятельности биологов: молекулярной биофизике, транспорту веществ через биологические мембраны, биофизике нервного импульса, термодинамики, кинетики биологических процессов, методам анализа биологических объектов и др.

Ряд теоретических выводов, полезных для студентов, желающих углубить свои знания по данному вопросу, выделен мелким шрифтом.

## 1. БИОФИЗИКА, ЕЕ ЗАДАЧИ И ПРОБЛЕМЫ

В познании свойств живой материи в последнее время все большую и большую роль играют химия и физика. В конце 19 века развитие органической химии привело к возникновению биохимии, которая сформировалась в самостоятельную науку, достигшую в настоящее время высокого уровня развития.

Труднее проникала в биологию физика. Еще в 19 веке, по мере развития физики, делались многочисленные попытки использовать ее методы и законы для изучения и понимания природы биологических явлений. При этом на живые ткани и клетки смотрели как на физические системы и не учитывали того, что основную определяющую роль в этих системах играет химия. Именно поэтому попытки подойти к биологическим объектам с чисто физических позиций носили наивный характер.

Основным методом этого направления являлись поиски аналогий. Биологические явления, сходные внешне с явлениями чисто физическими, трактовались, соответственно, как физические. Например эффект мышечного сокращения объясняли пьезоэлектрическим механизмом на основании того, что при наложении потенциала на кристаллы происходило изменение их длины. На рост клеток смотрели как на явление, вполне аналогичное росту кристаллов. Клеточное деление рассматривали как явление, обусловленное лишь поверхностно активными свойствами наружных слоев протоплазмы. Амебоидное движение клеток рассматривали как результат изменения их поверхностного натяжения и, соответственно, моделировали движением ртутной капли в растворе кислоты.

Даже значительно позже, в двадцатых годах прошлого столетия, детально рассматривали и изучали модель нервного проведения, так называемую “модель Лили”, представлявшую собой железную проволоку, которая погружалась в раствор кислоты и покрывалась при этом пленкой окиси. При нанесении на поверхность царапины окись разрушалась, а затем восстанавливалась, но одновременно разрушалась в соседнем участке и т. д. Другими словами, получилось распространение волны разрушения и восстановления, очень похожее на распространение волны электроотрицательности при раздражении нерва.

Возникновение квантовой теории привело к попытке объяснить действие лучистой энергии на биологические объекты с позиций статической физики. Появилась формальная теория, которая объясняла возникновение лучевой болезни, как результат случайных попаданий

кванта (или ядерной частицы) в особо уязвимые клеточные структуры. При этом совершенно упускались из виду те конкретные физические и последующие химические процессы, которые определяют развитие лучевого поражения во времени.

Еще недавно на основании формального сходства закономерностей электропроводности живых тканей и электропроводности полупроводников пытались применить теорию полупроводников для объяснения структурных особенностей целых клеток.

В настоящее время разрабатываются модели, которые в какой-то мере воспроизводят поведение целых живых организмов. Так были созданы роботы. Они действительно выполняют некоторые акты, присущие живым организмам. Но механизмы, лежащие в основе их работы, отличны от механизмов процессов жизнедеятельности.

В общем, надо отметить, что направление, базирующееся на моделях и аналогиях, хотя и может привлечь к работе весьма совершенный математический аппарат, вряд ли приблизит биологов к пониманию сущности биологических процессов.

Значительно более плодотворным оказалось внедрение физики в химию. Применение физических представлений сыграло большую роль в понимании механизмов химических процессов. Возникновение физической химии сыграло в химии революционную роль. На основе тесного контакта физики и химии возникли современная химическая кинетика и химия полимеров. Некоторые разделы физической химии, в которых физика получила доминирующее значение, стали называться *химической физикой*.

Необходимость возникновения физической химии и химической физики диктовалась тем, что к концу 19 в. химия накопила огромный фактический материал. Стали известны десятки тысяч разнообразных соединений, и поэтому возникла необходимость установить общие закономерности, которые показала бы связь строения молекул с их реактивной способностью.

Именно с возникновением физической химии связано развитие биофизики. Многие важные для биологии представления пришли в нее из физической химии. Например, появление в физической химии *теории растворов* и установление факта, что соли в водных растворах распадаются на ионы, привело к представлению о важной роли ионов в основных процессах жизнедеятельности.

Было установлено, что в явлениях возбуждения и проведения нервного импульса решающая роль принадлежит именно ионам. Так

возникли ионные теории возбуждения, разработанные Нернстом (W. Nernst) и П. П. Лазаревым.

С успехами коллоидной химии связаны исследования, в которых было показано, что в основе повреждения протоплазмы различными факторами лежит коагуляция биокolloидов. В связи с возникновением учения о полимерах коллоидная химия протоплазмы переросла в биофизику полимеров и, особенно, полиэлектролитов.

Появление химической кинетики также вызвало появление аналогичного направления в биологии. Еще Аррениус (S. V. Arrhenius) — один из основателей химической кинетики, показал, что общие закономерности химической кинетики применимы к изучению кинетических закономерностей в живых организмах и к отдельным биохимическим реакциям.

Успехи применения физической и коллоидной химии при объяснении ряда биологических явлений нашли отражение и в медицине. Была выявлена роль ионных и коллоидных явлений в воспалительном процессе. Физико-химическую интерпретацию получили закономерности клеточной проницаемости и ее изменений при патологических процессах. Таким образом открылась новая глава патологии — физико-химическая патология.

Новое направление в биологии, базирующееся на физике и физической химии, стали называть *физико-химической биологией*, *биологической физикохимией*, *биофизической химией*. Позже все эти термины были объединены одним термином — биофизика.

Характерной чертой биофизики, отличающей ее от биохимии, является то, что она рассматривает целостные системы, не разлагая их по возможности на отдельные химические компоненты. Биофизик всегда должен иметь в виду, что элементарные жизненные процессы протекают в сложных высокополимерных комплексах. При выделении же в чистом виде отдельных компонентов утрачиваются, как правило, важнейшие свойства живого. Нормально функционировать биополимеры способны только в условиях ненарушенной живой системы. Поэтому перед биофизикой встает задача получения информации о физико-химическом строении клетки и ее биополимеров именно в таком виде, в котором они существуют при жизни. Получение же сведений от живой функционирующей системы требует применения таких физических методов и в таких условиях, при которых они сами не вносят каких-либо изменений в исследуемую систему. Между тем многие применяемые в экспериментальной биологии воздействия производят в живых системах необратимые изменения. Например, изменения температуры, различные раство-



рители, соли, кислоты и т. п. приводят к разрушению высокополимерных комплексов, хотя внешняя форма клетки и ее органоидов при этом может сохраняться.

Большая сложность и высокая лабильность живых объектов ставит биофизика в трудные условия и вынуждает его перерабатывать физические методы, создавая специализированные биофизические методы и приемы (очень слабые источники излучения при исследовании оптических свойств клеток, слабые электрические токи при измерении электрических параметров и т. п.).

За последнее время четко выявился ряд теоретических и практических проблем, которые могут и должны решаться именно биофизикой. Биофизика занимается, в первую очередь, вопросами размена энергии в биологическом субстрате, исследованием роли субмикроскопических и физико-химических структур в жизнедеятельности клеток и тканей, возникновением возбуждения и происхождением биоэлектрических потенциалов, вопросами авторегуляции физико-химических процессов в живых организмах. Конкретные задачи современной биофизики весьма разнообразны.

Одна из основных задач биофизики — выявление физических и физико-химических параметров, характерных для живых объектов. Известно, что характерным свойством живых клеток является наличие электрического потенциала между клеткой и окружающей средой; способность удерживать ионный градиент по калию и натрию между клеткой и средой; способность поляризовать электрический ток. При гибели живого объекта эти свойства исчезают. В зафиксированных гистологических препаратах выявляются надмолекулярные структуры, отсутствующие в живых неповрежденных клетках. В то же время тонкие молекулярные структуры клетки, обеспечивающие ее основные прижизненные свойства, оказываются нарушенными. Поэтому именно вопрос о выявлении истинных молекулярных структур и определение прижизненных физико-химических параметров биологических объектов приобретает огромное значение.

Одним из важнейших направлений биофизики является изучение биологического действия ионизирующих излучений. Важнейшим моментом в действии лучистой энергии на биологический субстрат является первичный переход физической энергии, поглощенной биологическим субстратом, в химическую энергию и развитие первичных химических реакций. При этом происходит образование высокоактивных радикалов и ионов, которые и служат центрами первичных реакций. Первичный выход активных химических продуктов определяет все даль-

нейшее развитие поражения. Поэтому в настоящее время первостепенное значение приобретает исследование химической природы первичных радикалов и кинетики радикальных реакций. Отсюда вытекает и важная задача торможения радиационно-химических реакций различными ингибиторами природного происхождения.

Вопрос размена и передачи энергии при фотохимических процессах стоит в основе другой важной биофизической проблемы — проблемы механизма фотосинтеза. С этой проблемой связан также еще один принципиальный для биофизики вопрос: вопрос о возможности миграции энергии и о механизме такой миграции. Есть основания полагать, что химическая реакция при фотосинтезе протекает не в том месте, где осуществляется первичный процесс взаимодействия квантов света с веществом, а на некотором расстоянии, т. е. там, куда переносится поглощенная энергия.

В таком же аспекте изучаются биофизикой первичные механизмы, лежащие в основе зрительного акта, исследуются продукты фотохимических реакций, происходящих при поглощении энергии света пигментами зрительных рецепторов.

Следующим важным направлением биофизики является исследование проницаемости клеток и тканей. Физико-химическая биология уже давно занимается выявлением закономерностей проникновения вещества в живые клетки. С проницаемостью связано фармакологическое действие лекарственных веществ и токсическое действие различных ядов. Проникновение веществ в клетки зависит в первую очередь от физико-химических свойств молекул, их растворимости, их электрических свойств — распределения зарядов. С другой стороны, проницаемость связана со способностью поверхностных клеточных мембран пропускать те или иные вещества. Поэтому биофизика изучает и физико-химические свойства биологических мембран и способы повышения или понижения проницаемости действием различных агентов. Последнее имеет большое значение для лечебных мероприятий, для применения ядовитых инсектицидов в сельском хозяйстве, при дезинфекции и т. п.

Изучение физико-химических превращений биополимеров в клетке тесно связано с выявлением механизма возникновения возбуждения и биоэлектрических потенциалов как в недифференцированных клетках, так и в специализированных нервных и мышечных элементах. Физиология уже давно использует биоэлектрические потенциалы для оценки физиологических и патологических состояний организма. Перед биофизикой стоит другая большая задача — выявить физико-

химические причины появления и развития биоэлектрических потенциалов, определить их энергетические источники и этим открыть путь для более глубокого анализа физико-химического состояния клеток в норме и патологии.

Важное место занимает решение вопросов о физико-химических механизмах передачи наследственных свойств и изучение механизмов, определяющие устойчивость вида и его изменчивость. При этом анализируются те силы, которые вызывают деление и расхождение хромосом, физико-химические основы взаимодействия нуклеиновых кислот, физико-химическая природа гена и т. д.

Кроме этого большое внимание привлекает проблема авторегуляции. В клетках с удивительным постоянством поддерживаются величины рН и ионный баланс калия и натрия даже при значительных изменениях концентрации во внешней среде. Биологические системы очень хорошо координируют уровни протекания энергетических процессов. При этом, несмотря на высокую лабильность и способность реагировать на незначительные изменения во внешней среде, биологические системы обладают высокой надежностью. Авторегулирующие механизмы играют большую роль в приспособлении животных и растений к изменяющимся условиям внешней среды. Подводя итоги, можно сказать, что для решения перечисленных выше вопросов необходимо получать информацию о физико-химических процессах в живом субстрате. Это может быть осуществлено только методами биофизики.

## **2. ТЕРМОДИНАМИКА**

Термодинамика является разделом физики, в котором рассматриваются процессы, происходящие во Вселенной, с самых общих позиций. В термодинамике не используются в явном виде какие-либо физические образы или модели, а устанавливаются соотношения между такими величинами, как внутренняя энергия, тепло, энтропия, свободная энергия и др. Термодинамика оперирует такими понятиями, как термодинамическая система, термодинамические параметры, термодинамический процесс.

Термодинамика изучает макроскопические процессы обмена и превращения энергии в системе без учета микроскопического строения тел, составляющих данную систему. При этом размеры рассматриваемых систем и время их существования достаточны для проведения нормальных процессов измерения. Такого рода системы состоят из большого числа материальных частиц (например, молекул, атомов, электронов и т. п.); системы с малым числом частиц в термодинамике не рассматриваются.

## 2.1. Основные понятия термодинамики.

Если изучается часть системы, то оставшаяся часть называется окружающей средой. Окружающую среду можно рассматривать как *термостат*, который налагает некоторые условия на изучаемую часть системы (например, условия постоянства температуры, давления и пр.).

В термодинамике различают три вида систем: *изолированные* — не обмениваются с окружающей средой ни веществом, ни энергией; *закрытые* — обмениваются с окружающей средой энергией, но не веществом; и *открытые* — обмениваются с окружающей средой и веществом, и энергией. Изолированных систем в природе не существует, так как невозможно изготовить абсолютно теплоизолирующую оболочку. Таковыми можно лишь с некоторым приближением считать достаточно теплоизолированные системы, но только в течение определенного промежутка времени.

Величины, характеризующие состояние термодинамической системы (например, давление  $p$ , удельный и молярный объем  $V$ , температура  $T$ ), называются *термодинамическими параметрами*. Совокупность всех значений термодинамических параметров, необходимых для описания системы, определяет *термодинамическое состояние*. Всякая изолированная система со временем приходит к состоянию *термодинамического равновесия*, в котором прекращаются все необратимые процессы, термодинамические параметры не изменяются с течением времени, и отсутствуют их градиенты.

*Функцией состояния* называется такая физическая характеристика системы, изменение которой при переходе системы из одного состояния в другое определяется значениями параметров начального и конечного состояний и не зависит от того, каким образом совершается этот переход. Функциями состояния являются внутренняя энергия, энтальпия, энтропия, свободная энергия Гельмгольца, термодинамический потенциал Гиббса, химический и электрохимический потенциалы.

*Уравнением состояния* называется функциональное соотношение между термодинамическими параметрами системы, находящейся в равновесии.

*Термодинамический процесс* представляет собой изменение состояния системы. Если начальное состояние было равновесным, то процесс может быть вызван только изменением внешних условий.

*Равновесный, или квазистатический термодинамический процесс* происходит в том случае, если внешние условия изменяются так медленно, что в любой момент времени систему можно считать равновесной. Процесс называется обратимым, если он может быть проведен в обратном

направлении, причем система будет проходить в обратном порядке через те же состояния, что и прямом процессе; в противном случае процесс называется необратимым. Обратимые процессы являются квазистатическими, но обратное утверждение не всегда верно. Например, бесконечно медленное расширение газа в пустоту является квазистатическим, но необратимым процессом. Все реальные процессы необратимы; обратимые процессы являются физической идеализацией.

*Термодинамическим контактом* называется такая связь между системами, при которой возможен хотя бы один из следующих типов взаимодействий.

1. *Механическое взаимодействие* — взаимодействие, при котором одна система совершает работу над другой системой с помощью механических, электромагнитных или иных сил.

2. *Тепловое взаимодействие* — взаимодействие, которое приводит к изменению энергии и происходит в форме передачи теплоты посредством теплопроводности или тепловой радиации.

3. *Материальное взаимодействие* — взаимодействие, которое приводит к обмену веществом между двумя системами, например взаимодействие через полупроницаемую мембрану или поверхность тела человека.

**2.2. Первый закон термодинамики** является законом сохранения энергии. Он гласит: *теплота, сообщенная системе, расходуется на приращение внутренней энергии системы и совершение системой работы над внешними телами.*

Математическая запись первого закона термодинамики имеет следующий вид:

$$\delta Q = dU = \delta A \quad (2.1)$$

где  $\delta Q$ ,  $\delta A$  — функционалы (малые изменения) теплоты и работы;  $dU$  — полный дифференциал внутренней энергии, являющейся функцией состояния.

Внутренняя энергия в общем случае может зависеть от многих термодинамических параметров, например:  $U = f(p, V, T)$ ; для идеальных газов внутренняя энергия зависит только от температуры, то есть  $U = f(T)$ . Символы  $\delta$  указывают на то, что теплота и работа не являются функциями состояния, то есть зависят от вида термодинамического процесса и не являются в общем случае полными дифференциалами. Другими словами, в данном термодинамическом состоянии система обладает определенным

значением внутренней энергии, в то время как работа и теплота характеризуют переход между двумя состояниями.

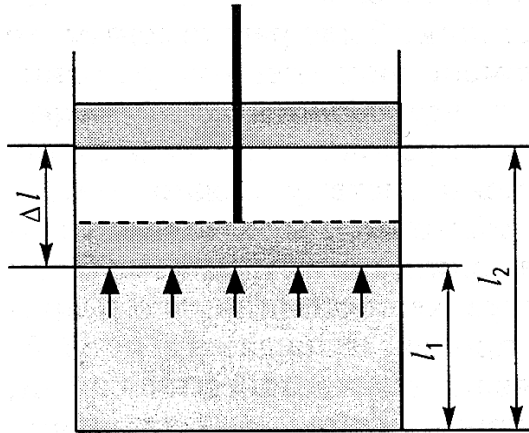


Рис 2.1. Расширение газа, находящегося в цилиндрическом сосуде под поршнем

### Работа расширения газа.

Вычислим работу, совершаемую газом при изменении его объема. Пусть газ, находящийся под поршнем (рис. 2.1), изобарически (при постоянном давлении) расширяется от объема  $V_1$  до  $V_2$ . Газ действует на поршень с силой  $F = pS$  (где  $p$  — давление, оказываемое газом на поршень площадью  $S$ ) и перемещает его на расстояние  $\Delta l = l_1 - l_2$ . Тогда работа, совершаемая газом по перемещению поршня, равна:

$$A = F\Delta l = pS\Delta l = p\Delta V \quad (2.2)$$

где  $F\Delta l = pS\Delta l = V_2 - V_1$  — изменение объема газа.

В том случае, если в процессе расширения давление изменяется, формула (2) становится непригодной для вычисления работы. В этом случае выбирают достаточно малое изменение объема  $dV$ , которому соответствует постоянное значение давления. Тогда элементарная работа составит:

$$\delta A = p\Delta V \quad (2.3)$$

Таким образом, работа, совершаемая газом, при конечном изменении объема на  $\Delta V = V_2 - V_1$  равна сумме элементарных работ, то есть интегралу в пределах от  $V_1$  до  $V_2$

При этом следует обратить внимание, что при расширении газа ( $\Delta V > 0$ ) работа, совершаемая газом, положительна, а при сжатии ( $\Delta V < 0$ ) — отрицательна. С другой стороны, работа внешних сил над газом при его расширении отрицательна, а при сжатии — положительна.

Если изобразить процесс расширения (сжатия) газа в координатах  $p, V$  (рис. 2.2), то работа численно равна площади фигуры, ограниченной осью  $V$ , кривой  $p=f(V)$  и прямыми  $V_1$  и  $V_2$ .

Из графиков, приведенных на рис.2, а и б, видно, что величина работы зависит от того, каким образом система переходила из одного состоя-

ния в другое. Это иллюстрирует тот факт, что работа не является функцией состояния.

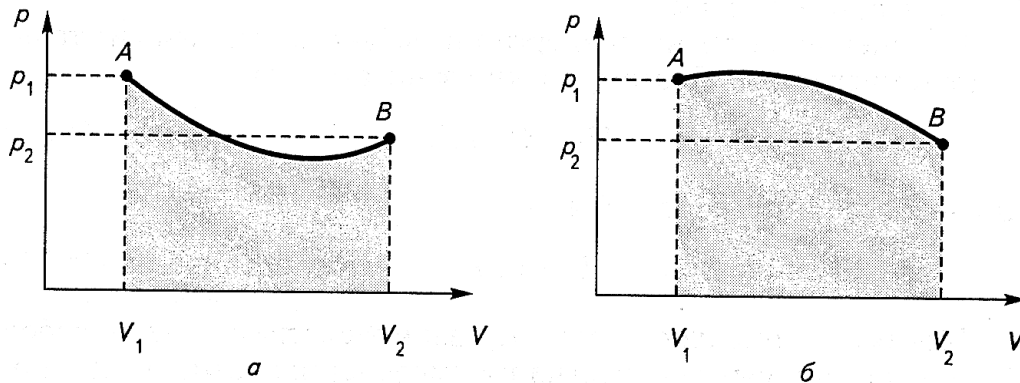


Рис 2.2. Работа, совершаемая газом, при различных способах перехода из состояния  $A$  в состояние  $B$ .

**Теплоемкость газов.** *Теплоемкостью тела* называется величина, численно равная количеству теплоты, которое необходимо сообщить этому телу, чтобы нагреть его на один кельвин. Единицей измерения теплоемкости является джоуль на кельвин (Дж/К).

На практике удобнее рассматривать теплоемкость одного моля — *молярную теплоемкость*,  $[C_\mu] = \text{Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К})$ , или теплоемкость единицы массы — *удельную теплоемкость*,  $[C_m] = \text{Дж}/(\text{кг} \cdot \text{К})$ .

$$C = C_m m = C_\mu \nu \quad (2.4)$$

где  $\nu$  — количество вещества в молях;  $m$  — масса в килограммах.

Теплоемкость системы зависит от того, при каких условиях происходит теплопередача.

Теплоемкость при постоянном объеме  $C_V$  соответствует нагреванию термодинамической системы при постоянном объеме, то есть

$$C_V = \left[ \frac{\delta Q}{dT} \right]_V \quad (2.5)$$

Подставим в формулу (5) выражение для первого закона термодинамики (1) с учетом уравнения (3):

$$C_V = \left[ \frac{\delta Q}{dT} \right]_V = \left[ \frac{dU + pdV}{dT} \right]_V = \left[ \frac{dU}{dT} \right]_V + \left[ \frac{pdV}{dT} \right]_V = \left[ \frac{dU}{dT} \right]_V \quad (2.6)$$

( $dV = 0$  при  $V = \text{const}$ ).

Изменение внутренней энергии идеального газа зависит только от температуры. Поэтому можно записать, что

$$dU = C_V dT \quad (2.7)$$

или — после интегрирования —

$$U = C_V T \quad (2.8)$$

Молекулы идеального газа не взаимодействуют между собой (то есть потенциальная энергия взаимодействия равна нулю), поэтому внутреннюю энергию идеального газа можно представить как произведение средней энергии одной молекулы  $\varepsilon = (i/2)kT$  [см. (10)] на число молекул газа  $N = \nu N_A$ .

$$U = N\varepsilon = \nu N_A (i/2) kT = (i/2)\nu RT \quad (2.9)$$

Сравнение формул (9) и (8) дает, что

$$C_V = (i/2)\nu R \quad (2.10)$$

тогда молярная теплоемкость при постоянном объеме равна

$$C_{V\mu} = (i/2)R \quad (2.11)$$

Теплоемкость при постоянном давлении  $C_p$  соответствует нагреванию при постоянном давлении

$$C_p = \left[ \frac{\delta Q}{dT} \right]_P = \left[ \frac{dU}{dT} \right]_P + P \left[ \frac{dV}{dT} \right]_P \quad (2.12)$$



Из уравнения Менделеева—Клапейрона (27) следует, что при постоянном объеме  $pdV = \nu R dT$ . Тогда с учетом выражения (7) получаем.

$$C_p = C_v + \nu R = ((i + 2)/2)\nu R \quad (2.13)$$

или для одного моля:

$$C_{pm} = C_{vm} + R \quad (2.14)$$

Таким образом, молярная теплоемкость при постоянном давлении равна

$$C_{pm} = ((i + 2)/2)R \quad (2.15)$$

Соотношение (14) называется *соотношением Майера*, которое раскрывает физический смысл универсальной газовой постоянной: универсальная газовая постоянная  $R$  равна работе, производимой одним молем идеального газа при изобарическом процессе, если температура газа повышается на один Кельвин.

Рассмотрим применение первого закона термодинамики к идеальным газам.

#### Изобарический процесс.

При изобарическом процессе давление постоянно, а переменными величинами являются объем  $V$  и температура  $T$ . Используя соотношения (2) и (7), из первого закона термодинамики получаем:

$$\delta Q = C_v dT + p dV \quad (2.16)$$

Изменение внутренней энергии в этом процессе равно

$$\Delta U = C_v dT \quad (2.17)$$

а совершаемая работа, поскольку давление постоянно, составляет

$$A = p \Delta V. \quad (2.18)$$

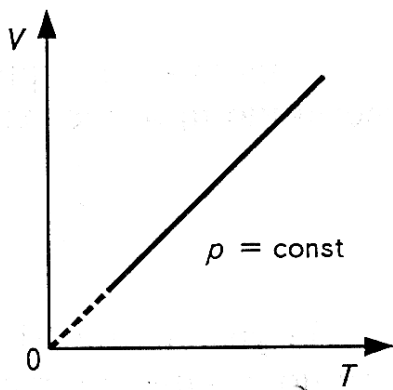


Рис. 2.3. Изобара в координатах  $V, T$ .

Для изобарического процесса можно записать, что  $V/T = \nu R/T$ , или  $V/T = \text{const}$  (уравнение изобары, закон Гей-Люссака). Графически этот процесс лучше всего представить в координатах  $V-T$  (рис. 2.3).

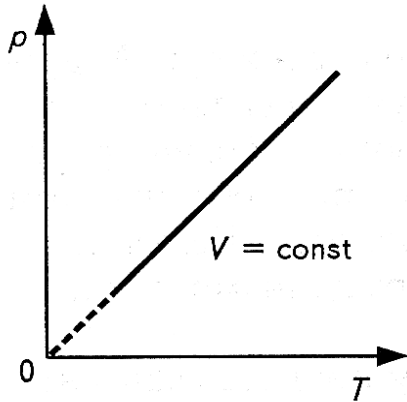


Рис. 2. 4. Изохора в координатах  $p, T$ .

### Изохорический процесс.

Если объем газа не изменяется ( $V = \text{const}$ ), то с повышением температуры возрастает давление. Работа в этом случае не производится, то есть  $A = 0$ , и, значит

$$\delta Q = C_v dT \quad (2.19)$$

Для изохорического процесса  $p = \nu RT/V$ , или  $p/T = \text{const}$  (уравнение изохоры, закон Шарля), и, следова-

тельно, давление изменяется линейно при изменении температуры (рис. 2.4).

### Изотермический процесс.

Происходит при постоянной температуре ( $T = \text{const}$ ), а переменными величинами являются объем  $V$  и давление  $p$ . В изотермическом процессе для идеального газа внутренняя  $T = \text{const}$  энергия не изменяется ( $dU = 0$ ), поэтому вся поглощенная теплота расходуется на совершение работы:

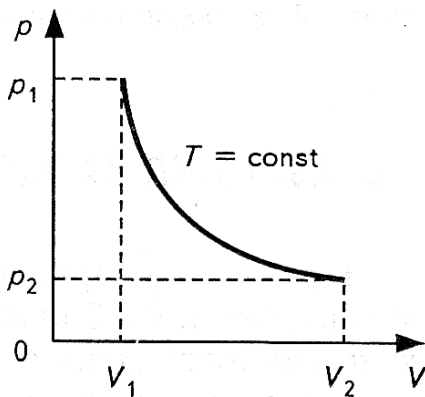


Рис. 2.5. Изотерма в координатах  $p, V$

$$\delta Q = \delta A = p dV \quad (2.20)$$

Выразим давление из уравнения Менделеева-Клапейрона и подставим его в формулу (20):

$$\delta Q = \delta A = (\nu RT/V) dV \quad (2.21)$$

Интегрирование в пределах изменения объема дает

$$\delta Q = \delta A = \nu RT \ln V_2/V_1 \quad (2.22)$$

где  $V_2$  и  $V_1$  — начальный и конечный объемы газа.

В изотермическом процессе вся теплота, поглощенная системой, преобразуется в работу, поэтому в указанном процессе идеальный газ производит наибольшую работу.

Для изотермического процесса  $pV = \text{const}$  (уравнение изотермы, закон Бойля-Мариотта). График изотермического процесса приведен на рис. 2.5.

### Адиабатический процесс.

При адиабатическом процессе система теплоизолирована, то есть  $\delta Q = 0$ , откуда следует, что

$$pdV = -C_v dT \quad (2.23)$$

и производимая системой работа равна убыли внутренней энергии

$$A = -C_v(T_1 - T_2) \quad (2.24)$$

при этом температура идеального газа понижается. Если идеальный газ адиабатически сжимать, то будет производиться работа над газом и его температура повысится.

Из соотношения (23) и уравнения Менделеева—Клапейрона (27) можно получить уравнение адиабаты (уравнение Пуассона):

$$pV^\gamma = \text{const}, \quad (2.25)$$

где  $\gamma$  — показатель адиабаты, равный отношению теплоемкости при постоянном давлении к теплоемкости при постоянном объеме:

$$\gamma = C_p/C_v = (i + 2)/i. \quad (2.26)$$

Уравнение (25) можно преобразовать, получив зависимость между объемом и температурой:

$$TV^{\gamma-1} = \text{const}. \quad (2.27)$$

График адиабатического процесса (адиабата) отличается от изотермы тем, что если из одной точки сначала

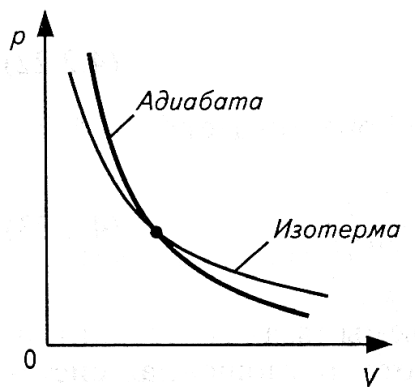


Рис. 2.6. Адиабата (1) и изотерма (2) в координатах  $p, V$

пойти по изотерме, а затем по адиабате, то последняя пойдет круче, то есть для точки  $C$  (рис. 2.6) выполняется условие:

$$\left| \left( \frac{dp}{dV} \right)_{\Delta Q=0} \right| > \left| \left( \frac{dp}{dV} \right)_T \right| \quad (2.28)$$

### 2.3. Цикл Карно. Второй закон термодинамики.

Прежде чем приступить к рассмотрению второго закона термодинамики, удобно рассмотреть принцип действия **тепловых машин**. Тепловая машина включает в себя *рабочее тело* — вещество, над которым осуществляется циклический процесс, и два термостата, один, имеющий более высокую температуру  $T_1$ , — *нагреватель*, другой, имеющий более низкую температуру  $T_2$ , — *холодильник*, или теплоприемник. Для описа-

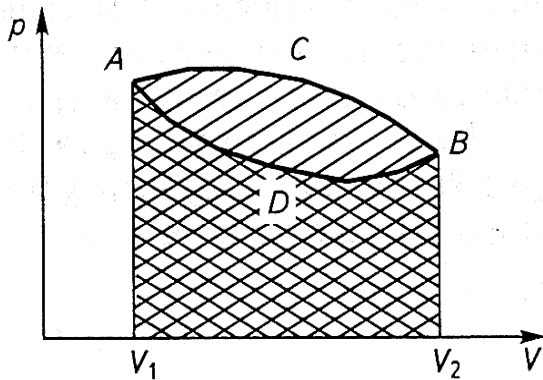


Рис. 2.7. Циклический процесс.

ния устройства тепловых машин используют термодинамические циклы. *Циклом*, или *круговым процессом*, называют процесс, по завершении которого система возвращается в исходное состояние.

Как правило, термодинамические циклы изображаются графически в виде замкнутой кривой на координатной плоскости  $p - V$  (рис 2.7). Пусть система переходит из состояния  $A$  в состояние  $B$  через

точку  $C$ , а затем возвращается обратно в состояние  $A$  через точку  $D$ , то есть совершает обход кривой  $ACBD$  по часовой стрелке (так называемый прямым циклом). В процессе  $ACB$  газ расширяется, при этом совершаемая работа положительна и численно равна площади фигуры  $V_1ACBV_2$ . Возвращение из состояния  $B$  в состояние  $A$  сопровождается сжатием газа, то есть совершением газом отрицательной работы или положительной над газом, численно равной площади фигуры  $V_2BDV_1$ . Тогда суммарная механическая работа, совершенная системой за один цикл, равна площади фигуры  $ACBDA$ . Машина, работающая по прямому циклу, называется *тепловой*, ее рабочее тело совершает положительную работу за счет передачи тепла от нагревателя к холодильнику.

Возможен также обратный цикл, при котором обход кривой осуществляется в направлении  $ADBCA$  (против часовой стрелки). В этом случае совершается положительная работа расширения на участке  $ADB$  и отрицательная работа сжатия на участке  $BCA$ . Работа, совершаемая рабочим телом за цикл, здесь отрицательна, теплота отбирается от более холодного тела и передается более горячему. Такой процесс невозможен сам по себе и осуществляется только за счет работы внешних сил. Машина, работающая по этому принципу, называется *холодильной*.

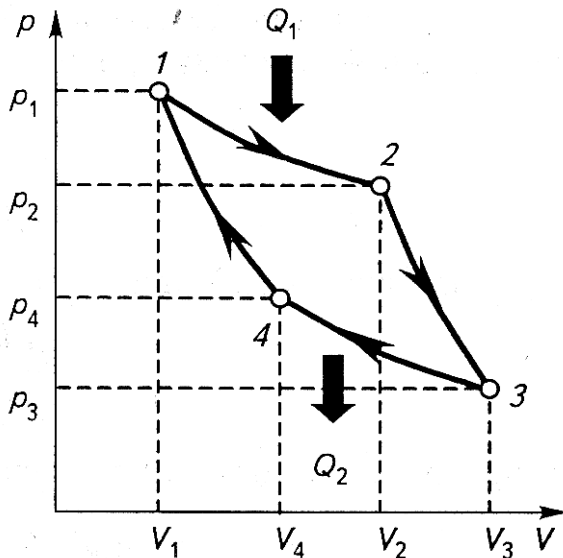


Рис. 2.8. Цикл Карно

Садик Карно предложил цикл идеальной тепловой машины. На основании рассмотрения работы этой машины были получены важнейшие термодинамические соотношения. Рабочий цикл машины состоит из двух обратимых изотермических и двух обратимых адиабатических процессов. В машине отсутствуют потери на лучеиспускание, трение и т. п. Рассмотрим работу тепловой машины по *циклу Карно*, используя диаграмму, представленную на рис. 2.8.

Машина состоит из цилиндра, заполненного рабочим веществом (идеальным газом). Поршень цилиндра, перемещаясь, совершает работу. Точка 1 на диаграмме соответствует тепловому контакту цилиндра с нагревателем, при этом происходит изотермическое расширение при температуре  $T_1$ , соответствующее участку 1—2. В точке 2 цилиндр теплоизолируется и начинается адиабатическое расширение (участок 2—3), в конце которого температура понижается до температуры холодильника  $T_2$ . Затем цилиндр приводится в состояние контакта с холодильником и начинается изотермическое сжатие (участок 3—4). Точка 4 соответствует теплоизоляции цилиндра и началу адиабатического сжатия (участок 4—1). Таким образом, после завершения цикла тепловая машина совершает работу, равную площади, ограниченной кривыми, и приводится в исходное положение, соответствующее точке 1.

Для вычисления работы, производимой машиной за один цикл, можно просуммировать работы, совершаемые на каждом из участков диаграммы, то есть  $A = A_{12} + A_{23} + A_{34} + A_{41}$ . Принимая во внимание то,

что работы на адиабатных участках подчиняются соотношению  $A_{23} = -A_{41}$ , достаточно вычислить  $A_{12}$  и  $A_{34}$ . В дальнейших вычислениях откажемся от понятий теплоты и работы как алгебраических величин (то есть таких, которые могут быть как положительными, так и отрицательными) и будем учитывать только их абсолютные значения.

Используя формулу (22), для изотермических участков 1—2 и 3—4 можно записать:

$$Q_1 = A_{12} = \nu RT_1 \ln V_2/V_1 \quad (2.29)$$

$$Q_2 = A_{34} = \nu RT_2 \ln V_3/V_4 \quad (2.30)$$

где  $Q_1$  — количество теплоты, поглощенной рабочим телом от нагревателя;  $Q_2$  — количество теплоты, отданной рабочим телом холодильнику. Из уравнения Пуассона (25) для адиабатических процессов (участки 2—3 и 4—1) следует, что

$$p_2 V_2^\gamma = p_3 V_3^\gamma \quad (2.31)$$

$$p_1 V_1^\gamma = p_4 V_4^\gamma \quad (2.32)$$

Разделим (2.31) на (2.32)

$$\frac{p_2 V_2^\gamma}{p_1 V_1^\gamma} = \frac{p_3 V_3^\gamma}{p_4 V_4^\gamma}$$

и преобразуем полученное выражение следующим образом:

$$\frac{(p_2 V_2) V_2^{\gamma-1}}{(p_1 V_1) V_1^{\gamma-1}} = \frac{(p_3 V_3) V_3^{\gamma-1}}{(p_4 V_4) V_4^{\gamma-1}} \quad (2.33)$$

Для изотермических процессов (участки 1—2 и 3—4) выполняются условия  $p_2 V_2 = p_1 V_1$  и  $p_3 V_3 = p_4 V_4$ . Тогда из формулы (2.33) получаем:

$$\frac{V_2}{V_1} = \frac{V_3}{V_4} \quad (2.34)$$

Выражение (2.30) в этом случае принимает вид:

$$Q_2 = A_{34} = \nu RT_2 \ln V_1/V_2 \quad (2.35)$$

Работа, совершаемая за весь цикл, равна разности теплоты  $Q_1$ , поглощенной рабочим телом от нагревателя, и теплоты  $Q_2$ , отданной рабочим телом холодильнику, и определяется следующим выражением:

$$A = Q_1 - Q_2 = \nu R(T_1 - T_2) \ln V_2/V_1 \quad (2.36)$$

Коэффициент полезного действия тепловой машины — безразмерная величина, равная отношению тепловой энергии, преобразованной в работу, ко всему количеству тепла, поглощенному машиной, то есть

$$\eta = \frac{A}{Q_1} = \frac{Q_1 - Q_2}{Q_1} \quad (2.37)$$

Формулы (2.36) и (2.31) дают возможность получить важнейшее соотношение термодинамики:

$$\eta = \frac{Q_1 - Q_2}{Q_1} = \frac{T_1 - T_2}{T_1} \quad (2.38)$$

Из этого соотношения следует, что коэффициент полезного действия идеальной тепловой машины не зависит от свойств рабочего вещества и определяется только температурами нагревателя и холодильника. Это позволяет установить абсолютную температурную шкалу, не зависящую от свойств термометрического тела. Соотношение (2.38) определяет максимально возможный КПД тепловой машины и указывает, что он будет тем больше, чем больше разность температур между нагревателем и холодильником. Это необходимо учитывать при конструкции тепловых машин.

Если цикл Карно обратить, то есть начать двигаться по диаграмме, представленной на рис. 2.8, против часовой стрелки, то в данном случае внешние силы будут совершать работу над машиной, при этом будет отбираться теплота от холодильника и передаваться нагревателю. Такой режим работы соответствует холодильной машине.

До сих пор мы рассматривали обратимые процессы, в которых отсутствуют тепловые потери. Все реальные процессы необратимы, в них часть энергии, которая могла бы быть использована для совершения работы, рассеивается в тепловую энергию хаотического движения молекул. Из соотношения (2.38) следует, что если при работе тепловой машины происходят потери, то

$$\frac{Q_1 - Q_2}{Q_1} < \frac{T_1 - T_2}{T_1} \quad (2.39)$$

Из неравенства (2.39) вытекают две формулировки **второго закона термодинамики**. Допустим, что в цикле не производится работа ( $A = Q_1 - Q_2 = 0$ ), то есть все тепло, поглощенное от нагревателя, передается холодильнику, тогда  $(T_1 - T_2)/T_1 > 0$  и  $T_1 > T_2$ . Таким образом, температура нагревателя всегда больше температуры холодильника. Отсюда следует, что *невозможен самопроизвольный переход тепла от тел с более низкой температурой к телам с более высокой температурой (формулировка Клаузиуса)*.

Предположим, что теплота  $Q_1$ , переданная рабочему телу от нагревателя, без потерь расходуется на совершение работы рабочим телом (т.е.  $Q_2 = 0$ ). В этом случае неравенство (2.39) сводится к виду  $1 < 1 - (T_2/T_1)$ . Однако его выполнение невозможно, так как  $T_2 > 0$ ,  $T_1 > 0$  и  $T_2 < T_1$ . Отсюда следует вторая формулировка второго закона термодинамики (формулировка Томсона) *невозможно создание вечного двигателя второго рода, то есть такого циклического процесса, в результате которого все поглощенное системой тепло расходовалось бы на совершение этой системой работы*.

В самом общем случае, объединив соотношение (2.38) и неравенство (2.39), можно записать:

$$\frac{Q_1 - Q_2}{Q_1} \leq \frac{T_1 - T_2}{T_1} \quad (2.40)$$

Знак равенства соответствует идеальному циклу Карно, а знак неравенства — необратимому циклическому процессу. Таким образом, КПД необратимых машин всегда меньше КПД обратимых.

Итак, рассмотрение работы тепловой машины показывает, что ее КПД не может равняться единице, то есть вся теплота, забранная от нагревателя, не может превратиться в работу. Из опыта известно, что полное преобразование работы в теплоту, в конечном счете, происходит всегда. Таким образом, направление термодинамических процессов в природе соответствует рассеянию полезной энергии и превращению ее в энергию хаотического движения микрочастиц.

Соотношение (2.40) может быть переписано в следующем виде:



$$\frac{Q_1}{T_1} - \frac{Q_2}{T_2} \leq 0 \quad (2.41)$$

Отношение поглощенной или отданной теплоты в изотермическом процессе к температуре, при которой производится теплообмен, называется приведенным количеством теплоты.

Произвольный цикл можно представить в виде суммы бесконечно малых циклов, в которых на изотермических участках поглощаются или выделяются бесконечно малые количества теплоты  $\delta Q_i$ . Используя такой прием, соотношение (2.41) можно переписать в следующем виде:

$$\sum \frac{\delta Q_i}{T_i} \leq 0 \quad (2.42)$$

При непрерывном изменении состояния можно считать, что рабочее тело вступает в теплообмен с непрерывным рядом теплоотдатчиков и теплоприемников с постоянно изменяющейся температурой. Тогда сумма в неравенстве (2.42) заменяется интегралом

$$\oint \frac{\delta Q}{T} \leq 0 \quad (2.43)$$

Это соотношение, являющееся математическим выражением второго закона термодинамики, называется неравенством Клаузиуса.

Из соотношения (2.43) следует, что можно ввести функцию состояния системы, названной Клаузиусом энтропией и обозначаемой  $S$ . **Энтропией** называется функция состояния системы, дифференциал которой в бесконечно малом обратимом процессе равен отношению бесконечно малого количества тепла, сообщенного системе, к абсолютной температуре последней:

$$dS = \frac{\delta Q}{T} \quad (2.44)$$

где дифференциал  $dS$  является полным.

Единицей измерения энтропии в системе СИ является Дж/К.

В случае обратимого перехода системы из состояния 1 в состояние 2 сумма приведенных количеств теплоты равна изменению энтропии в этом процессе:

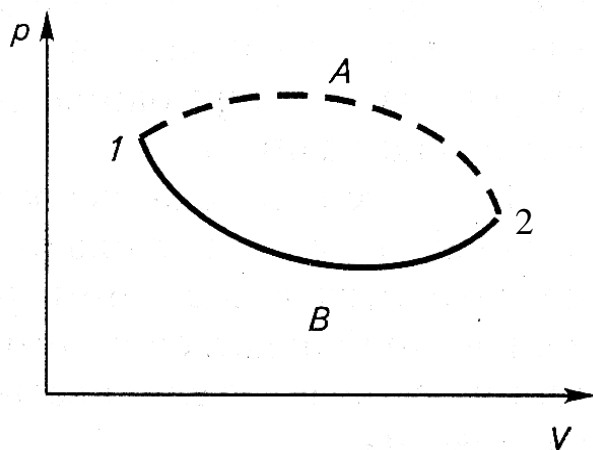


Рис. 2.9. Необратимый цикл

$$\Delta S = S_2 - S_1 = \int_1^2 \frac{\delta Q}{T}$$

Рассмотрим цикл, состоящий из необратимого  $1-A-2$  и обратимого  $2-B-1$  процессов (рис. 2.9). Если хотя бы один участок цикла необратим, то и весь цикл необратим, то есть

$$\oint \frac{\delta Q}{T} = \int_1^2 \frac{\delta Q_{\text{необр}}}{T} + \int_2^1 \frac{\delta Q_{\text{обр}}}{T} < 0 \quad (2.45)$$

Для обратимого участка цикла можно записать:

$$\int_2^1 \frac{\delta Q_{\text{обр}}}{T} = S_1 - S_2$$

Подставим это выражение в соотношение (2.18)

$$\int_1^2 \frac{\delta Q_{\text{необр}}}{T} + S_1 - S_2 < 0$$

и выразим изменение энтропии в необратимом процессе:

$$\Delta S = S_2 - S_1 > \int_1^2 \frac{\delta Q_{\text{необр}}}{T} \quad (2.46)$$

Для произвольного процесса

$$\Delta S = S_2 - S_1 \geq \int_1^2 \frac{\delta Q}{T} \quad (2.47)$$

где равенство имеет место для обратимого процесса, а неравенство — для необратимого.

Для изолированных систем ( $\delta Q = 0$ ), можно записать, что

$$dS \geq 0. \quad (2.48)$$

Таким образом, *энтропия изолированной системы либо возрастает (в необратимых процессах), либо остается неизменной (в обратимых процессах)*. Другими словами, энтропия изорванной системы не может убывать, что является еще одной формулировкой второго закона термодинамики, а выражение (2.48) — его математической записью.

Процесс перехода из состояния 1 в состояние 2 не может быть реализован, если нарушается неравенство (2.47). Если система не находится в состоянии равновесия, то она будет самопроизвольно приближаться к этому состоянию равновесия, причем энтропия ее будет увеличиваться, достигая максимума в положении равновесия.

Больцман показал, что энтропия термодинамической системы определяется **статистическим весом** или **термодинамической вероятностью**  $W$ , равной числу равновероятных микросостояний системы, с помощью которых может реализоваться данное макросостояние этой системы. Согласно Больцману, связь между термодинамической вероятностью  $W$  и энтропией  $S$  имеет вид:

$$S = k \ln W, \quad (2.49)$$

где  $k$  — постоянная Больцмана. Выражение (2.49) носит название формулы Больцмана.

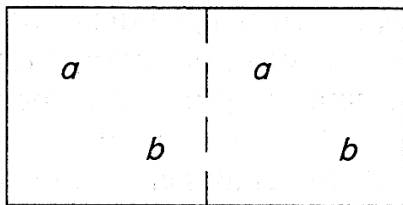


Рис. 2.10. распределение молекул по двум отсекам

Рассмотрим следующий пример. Пусть в некотором объеме, разделенном на два отсека (рис. 2.10), могут находиться четыре молекулы газа:  $a$ ,  $b$ ,  $c$  и  $d$ . В табл. 2.1 показаны возможные способы их распределения между отсеками. Любой из этих способов определяет микросостояние системы. Каждое микросостояние равновероятно. А поскольку общее число таковых равно 16, то вероятность реализации любого из них равна  $1/16$ . Состояние, в котором в каждом из отсеков находится определенное число молекул (не важно каких), является макросостоянием данной системы. Например, макросостояние, в котором слева находится одна молекула, а справа — три, реализуется четырьмя спосо-

бами, а вероятность его реализации равна  $4/16$ . Понятно, что наиболее вероятным макросостоянием (вероятность  $6/16$ ) будет состояние с равномерным распределением частиц (по два в каждом отсеке).

Таблица 2.1.

### Макро- и микросостояния системы

Макросостояние		Микросостояния (способы реализации данного состояния)		Реализация данного макросостояния (термодинамическая вероятность)	
Число молекул		Молекулы, расположенные			
слева	справа	слева	справа	число способов	вероятность
0	4	—	$abcd$		
1	3	$a$ $b$ $c$ $d$	$bcd$ $a\ c\ d$ $abd$ $ab\ c$	4	4/16
2	2	$ab$ $a\ c$ $ad$ $bc$ $bd$ $cd$	$cd$ $bd$ $bc$ $ad$ $a\ c$ $ab$	6	6/16
3	1	$ab\ c$ $abd$ $a\ c\ d$ $bcd$	$d$ $c$ $b$ $a$	4	4/16
4	0	$abcd$	—	1	1/16
		Всего способов:		16	

Для системы из  $k$ -отсеков и общего числа молекул  $N$  термодинамическая вероятность макросостояния рассчитывается по формуле

$$W = \frac{N!}{N_1! N_2! N_3! N_4! \dots N_k!} \quad (2.50)$$

где  $N_1, N_2, N_3, N_4, \dots, N_k$  — количество молекул в соответствующем отсеке.

Из формул (2.49) и (2.50) следует, что наиболее вероятному макросостоянию отвечает наибольшее значение энтропии. В этом состоянии частицы распределены наиболее хаотично, то есть порядок в системе минимальный. Для изолированных систем с очень малым числом частиц (как в приведенном примере) вероятность отклонения от наиболее веро-

ятного макросостояния не так уж мала, то есть возможно самопроизвольное уменьшение энтропии. Поэтому для систем с малым числом частиц второй закон термодинамики неприменим. С увеличением числа частиц вероятность случайного отклонения от наиболее вероятного макросостояния уменьшается и становится практически невозможной для числа частиц порядка числа Авогадро. Поэтому состояние с максимальной энтропией является равновесным, так как не способно самопроизвольно изменяться во времени.

Таким образом, энтропия является мерой неупорядоченности системы, и ее возрастание в изолированной системе указывает на стремление системы перейти из упорядоченного в хаотическое состояние. Классическая термодинамика утверждает, что самопроизвольный переход изолированной системы от хаоса к порядку невозможен.

Состояние макроскопических систем характеризуется термодинамическими параметрами. При этом в малых объемах пространства, занимаемого системой, возможно случайное увеличение или уменьшение плотности, давления, температуры и так далее по сравнению со средними величинами указанных параметров для всей системы. Такие отклонения (флуктуации) являются кратковременными и незначительными.

Клаузиус обобщил второй закон термодинамики на всю Вселенную, считая ее изолированной системой, в которой со временем должно произойти выравнивание термодинамических параметров и равномерное распределение вещества. Теория Клаузиуса получила название теории «тепловой смерти» Вселенной. С самого начала она подвергалась критике и на данный момент опровергнута. Во-первых, если Вселенная должна прийти в состояние равновесия, то возникает вопрос, почему это не произошло до сих пор. Во-вторых, Вселенная состоит из бесконечного числа частиц, и для нее невозможно указать наиболее равновероятное макросостояние.

Первый и второй законы термодинамики можно объединить в **основном уравнении термодинамики**:

$$TdS \geq dU + \delta A. \quad (2.51)$$

Если работа выполняется посредством расширения газа против внешних сил, то основное уравнение термодинамики приобретает вид:

$$TdS \geq dU + pdV \quad (2.52)$$

В заключение укажем, что первый закон термодинамики устанавливает количественное соотношение между теплотой, работой и изменением внутренней энергии термодинамической системы, но не определяет направление термодинамических процессов. Первый закон выполняется всегда для любых систем. Второй закон термодинамики является статистическим законом и справедлив для систем с большим, но конечным числом частиц. Этот закон указывает наиболее вероятное направление процессов, и если утверждается, что данный процесс невозможен, то следует понимать, что вероятность его совершения существует, но ничтожно мала.

## 2.4. Термодинамические потенциалы

Проведение любых термодинамических расчетов невозможно без использования термодинамических потенциалов. *Термодинамическим потенциалом* называется функция состояния, изменение которой в некотором процессе, протекающем при постоянных значениях определенной пары термодинамических параметров, равно полезной работе, совершаемой системой.

Термодинамическими потенциалами являются уже известная нам внутренняя энергия  $U$ , а также энтальпия  $H$ , свободная энергия Гельмгольца  $F$ , термодинамический потенциал Гиббса  $G$ , химический потенциал  $\mu$  и электрохимический потенциал  $\tilde{\mu}$ .

Полная работы системы  $\delta A$  равна сумме работы против внешнего давления  $p dV$  и полезной работы  $\delta A_{\Pi}$  (работы, совершаемой против других внешних сил):

$$\delta A = \delta A_{\Pi} + p dV. \quad (2.53)$$

Объединим записи первого и второго законов термодинамики для обратимых процессов (при этом  $T dS = \delta Q$ ):

$$T dS = dU + \delta A. \quad (2.54)$$

Подставив выражение (2.53) в уравнение (2.54), выразим полезную работу:

$$-\delta A_{\Pi} = dU + p dV - T dS. \quad (2.55)$$

Данное выражение позволяет определить полезную работу в условиях постоянства той или иной пары термодинамических параметров. Например, при постоянных температуре и объеме полезная работа со-

вершается за счет изменения изохорно-изотермического потенциала, или **свободной энергии Гельмгольца  $F$** :

$$dF = -\delta A_{\Pi} = dU - TdS. \quad (2.56)$$

Полезная работа, совершаемая системой в различных условиях, представлена в табл. 2.2.

Процессы, протекающие в биологических системах, чаще всего совершаются при постоянных температуре и давлении. Поэтому полезная работа в биосистемах определяется изменением **термодинамического потенциала Гиббса** (иногда в литературе термодинамический потенциал Гиббса называют свободной энергией Гиббса или просто — свободной энергией):

$$dG = -\delta A_{\Pi} = dU + pdV - TdS = dH - TdS. \quad (2.57)$$

где  $dH = dU + pdV$  — изменение энтальпии.

Таблица 2.2

### Термодинамические потенциалы

Постоянные параметры	Название потенциала	Вид функции	Условие равновесия
$V, S$	Внутренняя энергия, или изохорно-изоэнтروпийный потенциал	$dU$	$U = U_{min}$
$P, S$	Энтальпия, или изобарно-изоэнтропийный потенциал	$dH = dU + pdV$	$H = H_{min}$
$T, V$	Свободная энергия Гельмгольца, или изохорно-изотермический потенциал	$dF = dU - TdS$	$F = F_{min}$
$T, P$	Термодинамический потенциал Гиббса, или изобарно-изотермический потенциал	$dG = dU + pdV - TdS$	$G = G_{min}$

При этом слагаемое  $dH$  определяет изменение потенциальной энергии системы, а слагаемое  $TdS$  — ту часть энергии системы, которая не может быть использована на совершение полезной работы, следовательно, характеризует необратимость процесса. При  $TdS = 0$  процесс обратим. В реальных необратимых процессах

$$TdS > \delta Q. \quad (2.58)$$

Используя данное выражение, можно показать, что процессы всегда протекают в том направлении, при котором свободная энергия Гельмгольца и термодинамический потенциал Гиббса уменьшаются. Так как эти величины всегда стремятся к минимальному значению, то в состоянии равновесия

$$\begin{aligned} F &= F_{min}; \\ G &= G_{min}. \end{aligned}$$

### 3. ТЕРМОДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Одним из условий нормального функционирования отдельной клетки и целого организма является поддержание постоянства их параметров (концентраций веществ, электрических потенциалов и других) и в случае необходимости изменение их в нужном направлении. Это требует обмена веществом и энергией с окружающей средой, превращения одних видов энергии в другие, как, например, в случае процессов мышечного сокращения, передачи нервного импульса, зрительного и слухового восприятия и др.

Изучением этих вопросов занимается термодинамика, законы которой справедливы как для неживой, так и живой природы. Термодинамику подразделяют на два раздела *классическую* (равновесную) и *термодинамику необратимых процессов* (неравновесную). Равновесная термодинамика изучает в основном изолированные и закрытые системы, находящиеся в термодинамическом равновесии или стремящиеся к нему (вопросы классической термодинамики рассматривались в предыдущих разделах). Биологическая система ввиду ее сложности не может быть описана с использованием подобных приближений. Поэтому при изучении биологических процессов используются методы неравновесной термодинамики.

#### 3.1. Особенности биологических объектов как термодинамических систем. Первый закон термодинамики в биологии и химии.

Каждая клетка и весь живой организм в целом являются открытыми системами, и лишь в отдельных частях клетки имеются условия для существования закрытых. Процессы, протекающие в биосистемах, как и в любых других системах, необратимы (неравновесны), то есть при переходе системы из одного состояния в другое обратный переход в начальное состояние невозможен без дополнительного притока энергии извне.

Фундаментальным понятием классической термодинамики является равновесное состояние системы, в котором термодинамические парамет-



ры (объем, давление, температура и другие) имеют одинаковое значение во всех точках системы и не могут меняться самопроизвольно во времени. Равновесное состояние для живого организма недопустимо, так как в этом случае невозможно прохождение никаких направленных процессов, кроме случайных отклонений от положения равновесия. Поэтому в термодинамике биологических процессов основным понятием является **стационарное состояние системы**. В стационарном состоянии параметры также не меняются с течением времени, но могут отличаться в различных частях системы, то есть в таких системах существуют и постоянно поддерживаются градиенты параметров. Это возможно только за счет притока энергии или вещества из окружающей среды. Таким образом, в стационарном состоянии могут находиться только открытые и закрытые системы.

Рассмотрим стационарное состояние системы на примере ионного баланса клетки. Концентрация ионов калия внутри клеток теплокровных в 15—50 раз выше, чем снаружи, а концентрация ионов натрия — в 10—15 раз ниже. Разность концентраций ионов  $K^+$  поддерживается наличием отрицательного потенциала на внутренней стороне мембраны, который препятствует выходу катионов из клетки. Это, а также градиент концентраций способствуют просачиванию ионов натрия внутрь клетки, несмотря на низкую проницаемость для них цитоплазматической мембраны. Поддержание разности концентраций  $Na^+$  требует затрат энергии. Ионы натрия выкачиваются из клетки  $Na$ - $K$ -насосами, работающими за счет энергии, выделяющейся при гидролизе АТФ. Энергии одной молекулы АТФ достаточно для вывода из клетки  $3Na^+$  и ввода  $2K^+$ .

Следует иметь в виду, что любой живой организм постоянно развивается и изменяется и поэтому в целом не является стационарной системой. Однако в течение небольшого интервала времени состояние некоторых его участков принимают за стационарное.

**Первый закон термодинамики имеет вид:**

$$\delta Q = dU + \delta A. \quad (3.1)$$

где  $Q$  — количество теплоты, полученное системой;  $U$  — внутренняя энергия системы;  $A$  — работа (если таковая совершается над системой, то  $\delta A > 0$ ; если работа совершается самой системой, то  $\delta A < 0$ ).

Элементарная работа системы, совершаемая против внешнего давления  $p$ , равна

$$\delta A = p dV, \quad (3.2)$$

где  $dV$  — изменение объема.

Тогда

$$\delta Q = dU + pdV. \quad (3.3)$$

Данное уравнение позволяет вычислить количество выделившейся теплоты для процессов, протекающих в изохорических или изобарических условиях. При  $V = \text{const}$

$$\delta Q = dU; \quad (3.4)$$

при  $p = \text{const}$  —

$$\delta Q = dU + pdV = d(U + pV) = dH, \quad (3.5)$$

где  $H$  — энтальпия — функция состояния, определяющая количество выделившейся теплоты в изобарическом процессе.

Вышесказанное позволяет сформулировать первый закон термодинамики для химических процессов (**закон Гесса**): *тепловой эффект химической реакции не зависит от пути реакции, а определяется лишь только разностью внутренних энергий исходных веществ и продуктов реакции (при  $V = \text{const}$ ) или разностью энтальпий (при  $p = \text{const}$ )*. В биологических системах процессы совершаются при постоянном давлении, следовательно, тепловой эффект биохимических реакций равен изменению энтальпии в ходе реакции.

Существование живого организма требует поддержания его в неравновесном состоянии, а это невозможно без притока энергии извне. Животные в качестве источника энергии используют пищу, точнее химическую энергию, заключенную в ней. Эта энергия высвобождается при окислении веществ, что сопровождается потреблением кислорода и выделением углекислого газа.

В 1780 году Антуан Лавуазье и Пьер Лаплас доказали справедливость первого закона термодинамики для биологических объектов. Они измеряли количества теплоты (по скорости таяния льда) и углекислого газа, выделяемых морской свинкой в процессе жизнедеятельности, и сравнивали эти величины с тепловым эффектом реакции сжигания потребленных продуктов до  $\text{CO}_2$ . Полученные результаты показали равенство внутренней энергии продуктов питания и выделяемой теплоты. Это доказывает, что живые организмы не являются независимым источником энергии, а только осуществляют превращение одних видов энергии в другие.

### 3.2. Второй закон термодинамики для открытых систем

Согласно второму закону термодинамики, изменение энтропии ( $dS$ ) больше или равно поглощенной системой элементарной приведенной теплоты:

$$dS \geq \frac{\delta Q}{T} \quad (3.6)$$

Для изолированной системы ( $\delta Q = 0$ ) второй закон термодинамики принимает вид:

$$dS \geq 0. \quad (3.7)$$

В обратимых (равновесных) процессах энтропия остается неизменной (знак « $=$ »), в необратимых — возрастает до максимального значения (знак « $>$ »). Это положение называется **критерием Клаузиуса**: *изолированная система стремится достигнуть конечного равновесного состояния с максимальной энтропией*. При этом даже, если в результате случайных флуктуации энтропия уменьшится на некоторую величину, то в системе самопроизвольно произойдут такие процессы, которые вернут ее в состояние с максимальной энтропией. Таким образом, второй закон термодинамики указывает направление хода процессов в системе.

В процессе функционирования живой системы возможны следующие ситуации: уровень организации системы уменьшается, остается на неизменном уровне (стационарное состояние) или возрастает. Последние два случая, на первый взгляд, не согласуются со вторым законом термодинамики, так как в стационарном состоянии значение энтропии поддерживается на постоянном уровне и отлично от минимального, а при повышении уровня организации энтропия уменьшается.

Развитие живых систем оказывается возможным благодаря тому, что все они являются открытыми и могут обмениваться с окружающей средой и веществом, и энергией. Поэтому общее изменение энтропии  $dS$  в них происходит как за счет выделения теплоты в результате необратимых процессов в самой системе  $\delta Q_i$ , так и за счет притока теплоты извне  $\delta Q_e$  (индексы « $i$ » и « $e$ » происходят от англ. *internal* — внутренний и *external* — внешний):

$$dS = \frac{\delta Q_e}{T} + \frac{\delta Q_i}{T} = d_e S + d_i S, \quad (3.8)$$

где  $d_e S$  - изменение энтропии, вызванное взаимодействием системы с окружающей средой;  $d_i S$  — изменение энтропии в самой системе в ходе необратимых процессов внутри нее.

В случае обратимых процессов  $d_i S = 0$ , в случае необратимых —  $d_i S > 0$ . Если система изолирована, то  $d_e S = 0$ . В последнем случае выражение (3.8) сводится к виду:

$$d_i S \geq 0, \quad (3.9)$$

то есть к формулировке второго закона в классической термодинамике.

Продифференцировав выражение (3.8) по времени, получаем:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d_e S}{dt} + \frac{d_i S}{dt} \quad (3.10)$$

Таким образом, скорость изменения энтропии открытой системы равна сумме скорости изменения энтропии за счет взаимодействия системы с внешней средой и скорости изменения энтропии, вызванного необратимыми процессами внутри системы.

Необратимые процессы, протекающие внутри системы, вызывают повышение энтропии, поэтому всегда  $d_i S/dt > 0$ . Однако общая энтропия системы может как возрастать, так и убывать за счет того, что член  $d_e S/dt$  может быть как положительным, так и отрицательным. В случае  $d_e S/dt < 0$  энтропия продуктов, поступающих в систему, меньше энтропии продуктов, выходящих из системы, и наоборот. Возможны следующие три случая:

$$1) dS/dt > 0, \text{ если } d_e S/dt > 0 \text{ или если } d_e S/dt < 0 \text{ и } |d_e S/dt| < d_i S/dt; \quad (3.11)$$

$$2) dS/dt < 0, \text{ если } d_e S/dt < 0 \text{ и } |d_e S/dt| > d_i S/dt; \quad (3.12)$$

$$3) dS/dt = 0, \text{ если } d_e S/dt < 0 \text{ и } |d_e S/dt| = d_i S/dt. \quad (3.13)$$

Первый случай ( $dS/dt > 0$ ) соответствует патологическому состоянию организма, так как при этом уменьшается степень упорядоченности системы. Это наблюдается, например, при разложении тканей, наличии онкологических заболеваний (в последнем случае происходит неконтролируемый неупорядоченный рост клеток). Второй случай ( $dS/dt < 0$ ) соответствует повышению уровня организации организма (росту, формированию органов, тканей, систем); третий случай ( $dS/dt = 0$ ) — установлению стационарного состояния в системе.

Общий энергообмен живых организмов можно представить следующим образом. Солнечный свет, поглощенный растительными организмами, энергетически обеспечивает синтез углеводов из  $H_2O$  и  $CO_2$

(фотосинтез). Окисление синтезированных углеводов в процессе дыхания сопровождается выделением энергии, которую используют для своей жизнедеятельности растения и животные. Поглощение света вызывает понижение энтропии в живом организме, однако одновременно идет повышение энтропии на Солнце в процессе ядерных реакций, которое по модулю превышает понижение энтропии на Земле. В целом в системе Земля-Солнце энтропия повышается. Таким образом, развитие живых организмов происходит за счет уменьшения упорядоченности окружающей среды.

### 3.3. Изменение стандартной свободной энергии. Химические и электрохимические потенциалы.

Критерием способности системы совершить то или иное термодинамическое превращение является знак приращения термодинамического потенциала, соответствующего условиям протекания процесса. Биоэнергетические процессы, как правило, характеризуются изменением потенциала Гиббса ( $\Delta G$ ). При  $\Delta G < 0$  (или  $dF < 0$ ) процесс происходит самопроизвольно с выделением энергии, так как при этом энергия конечного состояния меньше энергии начального. Изменения в системе будут происходить до тех пор, пока термодинамический потенциал Гиббса не примет минимальное значение. Химические реакции, протекающие с уменьшением термодинамического потенциала, называются *экзергоническими*. Если же совершение какого-либо термодинамического процесса требует увеличения энергии ( $\Delta G > 0$ ), то такой процесс самопроизвольно произойти не может и требует притока энергии из окружающей среды. Химические реакции, протекающие с увеличением термодинамического потенциала, называются *эндергоническими*.

Изменение свободной энергии зависит от условий протекания процесса (температуры, давления, pH, концентраций реагирующих веществ). Поэтому в химии вводится понятие изменения **стандартной свободной энергии** химической реакции  $\Delta G^0$ , то есть изменения свободной энергии химической системы, каждый из реагентов которой, вступающих в химическую реакцию, находится в концентрации 1 моль/л в стандартных условиях ( $p = 101,325 \text{ кПа}$  (1 атм),  $pH = 7,0$ ,  $T = 298 \text{ K}$ ).

Изменение стандартной свободной энергии в ходе химической реакции связано с *константой химического равновесия*  $K$  этой реакции следующим образом:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K, \quad (3.14)$$

где  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — температура. Зависимость (3.14) позволяет при известном значении константы равновесия химической реакции определить изменение свободной энергии в ней.

Термодинамический потенциал Гиббса одного моля вещества называется **химическим потенциалом**  $\widetilde{\mu}$ , (в случае незаряженных частиц) или **электрохимическим потенциалом**  $\mu$  (в случае заряженных частиц).

Изменение электрохимического потенциала равно

$$\Delta \widetilde{\mu} = \Delta G/\nu, \quad (3.15)$$

где  $\nu$  — количество молей заряженных частиц.

Изменение химического потенциала аналогично (3.15):

$$\Delta \mu = \Delta G/\nu, \quad (3.16)$$

где  $\nu$  — количество молей незаряженных частиц.

Если система состоит из нескольких компонентов, то электрохимический потенциал  $i$ -того компонента  $\widetilde{\mu}_i$  определяется как

$$\Delta \mu_i = \Delta G_i/\nu_i, \quad (3.17)$$

где  $\nu_i$  — количество молей  $i$ -того компонента;  $\Delta G_i$  — термодинамический потенциал Гиббса  $i$ -того компонента.

Для разбавленных растворов незаряженных частиц химический потенциал равен

$$\mu_i = \mu_{oi} + RT \ln c_i, \quad (3.18)$$

где  $c_i$  — молярная концентрация раствора;  $\mu_{oi}$  — стандартный химический потенциал  $i$ -того компонента, численно равный химическому потенциалу этого компонента при его концентрации в растворе 1 моль/л.

Электрохимический потенциал разбавленных растворов равен

$$\widetilde{\mu}_i = \mu_i + zF\phi = \mu_{oi} + RT \ln c_i + zF\phi, \quad (3.19)$$

где  $z$  — заряд иона,  $F = eN_A = 9,65 \cdot 10^4$  Кл/моль — число Фарадея (заряд одного моля одновалентных ионов);  $\phi$  — электрический потенциал.

Запишем изменение электрохимического потенциала  $\Delta \widetilde{\mu}$  для частиц одного сорта при переходе системы из состояния 1 в состояние 2:

$$\widetilde{\mu} = \mu_{o1} - \mu_{o2} + RT \ln(c_2/c_1) + zF(\phi_2 - \phi_1), \quad (3.20)$$

Изменение электрохимического потенциала имеет физический смысл работы, которую необходимо совершить, чтобы:

1) вызвать химическое превращение одного моля соединения при переходе из состояния 1 в состояние 2 (первое слагаемое, определяющее *химическую работу*);

2) изменить молярную концентрацию от  $c_1$  до  $c_2$  (второе слагаемое, определяющее *осмотическую работу*);

3) преодолеть силы электрического отталкивания, возникающие при переносе вещества из области с электрическим потенциалом  $\varphi_1$  в область с потенциалом  $\varphi_2$  (третье слагаемое, определяющее *электрическую работу*).

### 3.4. Скорость возрастания энтропии и диссипативная функция.

В отличие от классической равновесной термодинамики термодинамика необратимых процессов рассматривает изменение термодинамических параметров во времени. Особое значение здесь имеет скорость возрастания энтропии. Информация об этой величине позволяет оценить скорость диссипации различных видов энергии, которые могут быть превращены в работу, в тепловую энергию, за счет которой при постоянной температуре совершение работы невозможно.

Изменение энтропии в открытой системе составляет:

$$dS = d_e S + d_i S, \quad (3.21)$$

причем  $d_e S = \delta Q/T$ , а  $\delta Q = dU + p dV$ . Отсюда

$$d_i S = dS - \frac{\delta Q}{T} \quad (3.22)$$

$$d_i S = \frac{TdS - dU - pdV}{T} \quad (3.23)$$

Выражение в числителе является термодинамическим потенциалом Гиббса, взятым с обратным знаком.

$$TdS - dU - pdV = -dG. \quad (3.24)$$

С учетом формул (4.24) и (4.9) выражение (4.23) примет вид:

$$d_i S = -dG/T > 0. \quad (3.25)$$

(знак «>» указывает на необратимость процессов). Тогда скорость изменения энтропии составит:

$$d_i S/dt = -1/T \cdot dG/dt > 0 \quad (3.26)$$

Таким образом, скорость возрастания энтропии в самопроизвольных необратимых процессах при постоянных температуре и давлении прямо пропорциональна скорости уменьшения термодинамического потенциала Гиббса.

Можно показать, что для химических реакций скорость продукции энтропии составляет

$$d_i S/dt = A\nu/T > 0 \quad (3.27)$$

где  $\nu$  — скорость химической реакции;  $A$  — химическое сродство, или движущая сила химической реакции, причем

$$A = - \sum_i \mu_i n_i, \quad (3.28)$$

где  $\mu_i$ ,  $n_i$  — соответственно химический потенциал и стехиометрический коэффициент  $i$ -того реагента или продукта. Химическое сродство имеет физический смысл разности химических потенциалов начального и конечного состояний ( $A = \mu_{\text{нач}} - \mu_{\text{кон}}$ ) при  $n_i = 1$ . Если в системе протекают несколько необратимых реакций, то скорость изменения энтропии в этой системе составит:

$$d_i S/dt = 1/T \sum_k A_k \nu_k > 0 \quad (3.29)$$

где  $A_k$  и  $\nu_k$  — соответственно скорость и химическое сродство  $k$ -той химической реакции.

В термодинамике необратимых процессов вводится понятие *диссипативной функции*  $\beta$  (часто в литературе диссипативной функцией называют скорость продукции энтропии а в единице объема  $V$ . В силу второго закона термодинамики  $d_i S/dt = f\sigma \nabla M \geq 0$ ):

$$\beta = T \cdot dS/dt \quad (3.30)$$

Из формулы (4.27) следует, что для необратимых процессов

$$\beta > 0 \quad (3.31)$$

Для идеальных обратимых процессов  $\beta = 0$ .



Диссипативная функция, определяющая скорость возрастания энтропии в системе, в которой протекают необратимые процессы, является мерой рассеяния энергии системы в тепло. Чем больше величина диссипативной функции, тем быстрее энергия всех видов превращается в тепловую. Диссипативная функция также определяет возможность самопроизвольного протекания того или иного процесса: при  $\beta > 0$  процесс возможен, при  $\beta < 0$  — нет.

### 3.5. Сопряженные процессы

В процессе функционирования биологических систем происходят как экзергонические процессы, в ходе которых высвобождается энергия ( $\Delta G < 0$ ), так и эндергонические, в ходе которых затрачивается энергия ( $\Delta G > 0$ ). Последние процессы термодинамически невыгодны и не могут совершаться без дополнительного притока энергии, источником которой в живом организме служат экзергонические процессы. Если энергия, выделяющаяся в ходе какого-либо экзергонического процесса, превышает энергию, необходимую для совершения эндергонического процесса, то первый процесс может энергетически обеспечить второй. При этом суммарное изменение потенциала Гиббса остается отрицательным.

Явление, при котором один процесс энергетически обеспечивает протекание второго, называется **сопряжением**. Процесс, являющийся источником энергии, называется **сопрягающим**, а процесс, на который затрачивается энергия, — **сопряженным**. Рассмотрим это явление подробнее на примере сопряженных химических реакций. Пусть в системе одновременно протекают две необратимые реакции. Из формулы (3.29) следует:

$$\beta = T \cdot dS_i/dt = A_1 v_1 + A_2 v_2 > 0 \quad (3.32)$$

Это условие может выполняться в двух случаях:

$$1) A_1 v_1 > 0, A_2 v_2 > 0; \quad (3.33)$$

$$2) A_1 v_1 > 0, A_2 v_2 < 0, \text{ если } |A_1 v_1| > |A_2 v_2|. \quad (3.34)$$

В первом случае обе реакции являются термодинамически выгодными, так как в ходе каждой происходит увеличение энтропии [см. соотношение (3.29)], и тогда, как следует из формулы (3.26) — уменьшение термодинамического потенциала Гиббса. Эти реакции могут совершаться независимо друг от друга.

Во втором случае реакция 1) является термодинамически выгодной, а реакция 2) — термодинамически невыгодной ( $dS_i/dt < 0$ ,  $dG/dt > 0$ ). Вторая реакция (сопряженная) может быть совершена только в том случае, если будет сопряжена с первой (сопрягающей). В ходе сопряжения

этих двух реакций суммарная энтропия системы увеличится, а суммарный потенциал Гиббса — уменьшится.

Из анализа вышесказанного и формулы (3.30) следует, что критерием возможности сопряжения двух или нескольких процессов является положительное значение диссипативной функции для суммарного процесса.

Из условия (3.32) можно найти *максимальную скорость сопряженной реакции*:

$$v_2 = v_{max} < A_1 v_1 / A_2 \quad (3.35)$$

Рассмотрим явление сопряжения на следующем примере. Начальная реакция гликолиза — фосфорилирование глюкозы — является эндергонической реакцией и протекает по схеме:

*Глюкоза + Ф = Глюкоза-6-фосфат + H<sub>2</sub>O*,  $\Delta G_1^0 = 13,4$  кДж/моль, где *Ф* — фосфатная кислота.

Повышение свободной энергии в этом случае компенсируется сопряжением с реакцией гидролиза аденозинтрифосфатной кислоты (АТФ), являющейся наиболее распространенной сопрягающей химической реакцией в живых системах:



где АДФ — аденозиндифосфатная кислота.

Таким образом, общее изменение свободной энергии в ходе этих двух реакций составляет

$$\Delta G = \Delta G_1^0 + \Delta G_2^0 = 13,4 \text{ кДж/моль} - 30,5 \text{ кДж/моль} = -17,1 \text{ кДж/моль}$$

Явление химического сопряжения обеспечивает превращение энергии одних химических связей в энергию других, снижая, таким образом, потери энергии в виде тепла. В отсутствие сопряжения величина диссипативной функции выше, чем в случае наличия сопряжения. Чем меньше значение диссипативной функции, тем энергетически экономичнее работает система.

### 3.6. Положения линейной неравновесной термодинамики.

#### Уравнение Онзагера.

Линейная неравновесная термодинамика изучает процессы, протекающие вблизи термодинамического равновесия. Можно показать, что в этих условиях между обобщенным потоком *J* (скоростью процесса) и обобщенной силой *X* (причиной процесса), его вызывающей, существует линейная зависимость:

$$J = LX, \quad (3.36)$$

где *L* — коэффициент пропорциональности.

Примером линейного процесса является закон Ома:  $I = (1/R)U$ , где в роли потока выступает электрический ток  $I$ , движущей силы — напряжение  $U$ , а коэффициента пропорциональности — величина  $1/R$ , обратная электрическому сопротивлению (проводимость). Некоторые примеры линейных процессов приведены в табл. 3.1.

Допустим, в системе совершается два процесса, сопряженных друг с другом. В таком случае поток первого процесса  $J_1$  будет зависеть как от собственной движущей силы  $X_1$  (коэффициент пропорциональности  $L_{11}$ ), так и от движущей силы второго процесса  $X_2$  (коэффициент пропорциональности  $L_{12}$ ). Аналогичные рассуждения применяем и для второго потока  $J_2$ . Выражения для потоков в случае сопряженных процессов называются **уравнениями Онзагера**:

$$\begin{cases} J_1 = L_{11} X_1 + L_{12} X_2; \\ J_2 = L_{21} X_1 + L_{22} X_2. \end{cases} \quad (3.37)$$

Коэффициенты  $L_{11}$  и  $L_{21}$  называются *коэффициентами взаимности Онзагера* и отражают явление сопряжения процессов: поток первого процесса зависит от движущей силы второго и наоборот — поток второго процесса зависит от движущей силы первого. Коэффициенты  $L_{12}$  и  $L_{21}$  связаны друг с другом соотношением взаимности Онзагера:

$$L_{12} = L_{21}, \quad (3.38)$$

то есть воздействие одного процесса на второй вызывает такую же ответную реакцию со стороны второго процесса на первый.

В выражении (3.27) сродство реакции  $A$  играет роль движущей силы реакции, а скорость  $v$  — роль потока. По аналогии, учитывая выражение (3.30), можно показать, что в общем случае

$$\beta = T \cdot dS/dt = JX > 0 \quad (3.39)$$

Для системы, в которой одновременно протекают  $k$  сопряженных линейных процессов, выполняется соотношение:

$$\beta = T \cdot dS/dt = \sum_k J_k X_k > 0 \quad (3.40)$$

Система уравнения (3.37) справедлива для любых двух взаимосвязанных процессов, например, сопряженных химических реакций, диффузии какого-либо вещества и связанного с этим переноса теплоты, переноса через мембрану воды и сопряженного переноса растворенного в ней вещества. В живых организмах одним из самых распространенных сопряженных процессов является активный транспорт, то есть перенос вещества из области с меньшей его концентрации в область с большей концентрацией. Такой процесс самопроизвольно не протекает, ибо сопровождается увеличением степени упорядоченности системы и, следо-

вательно, понижением энтропии. Активный транспорт требует затраты энергии и может совершаться только в случае сопряжения с другим процессом — источником энергии. В качестве сопрягающего процесса может выступать, например, реакция гидролиза АТФ, транспорт каких-либо других веществ.

Таблица 3.1

Линейные процессы и соответствующие им сопряженные потоки и силы

Процесс	Поток $J$	Обобщенная сила	Закон
Диффузия	Плотность потока $J$ незаряженных частиц	Градиент концентрации ( $dc/dx$ )	Закон Фика $J = -D \cdot dc/dx$
Электро-диффузия	Плотность потока $J$ ионов	Градиент электрохимического потенциала ( $d\mu/dx$ )	Уравнение Теорелла $J = -cu \cdot d\mu/dx$
Электрический ток	Плотность электрического тока $j$	Градиент электрического потенциала ( $d\phi/dx$ )	Закон Ома $j = -\sigma \cdot d\phi/dx$
Теплопроводимость	Плотность потока $J$ тепла	Градиент температуры $dT/dx$	Закон Фурье $J = -k \cdot dT/dx$
Течение жидкости	Объемная скорость $Q$ жидкости через трубку	Градиент гидростатического давления ( $dp/dx$ )	Формула Пуазейля $Q = -\pi r^4/8\eta \cdot dp/dx$

**Примечание:**  $D$  — коэффициент диффузии;  $c$  — молярная концентрация вещества;  $\mu$  — электрохимический потенциал;  $u$  — подвижность ионов;  $\sigma$  — удельная электрическая проводимость;  $k$  — коэффициент теплопроводности;  $r$  — радиус трубки;  $\eta$  — коэффициент динамической вязкости.

Если поток и движущая сила сопряженного процесса равны соответственно  $J_1$ , и  $X_1$ , а сопрягающего —  $J_2$ , и  $X_2$ , то  $J_1 X_1 < 0$ ,  $J_2 X_2 > 0$ .

Количественно степень сопряжения  $q$  определяется соотношением:

$$q = \frac{L_{12}}{\sqrt{L_{11}L_{22}}} \quad (3.41)$$

которая изменяется в пределах  $-1 < q < 1$ .

При  $q = 0$ ,  $L_{12} = L_{21} = 0$ . Тогда уравнения (3.37) сводятся к виду:

$$J_1 = L_{11} X_1; \quad (3.42)$$

$$J_2 = L_{22} X_2. \quad (3.43)$$

то есть процессы полностью не зависят друг от друга и каждый из потоков определяется только «собственной» движущей силой.

При  $q = \pm 1$  потоки полностью сопряжены. Если  $q < 0$  (то есть  $L_{12} < 0$ ), тогда, как следует из формулы (4.37), увеличение движущей силы одного процесса будет сопровождаться уменьшением потока сопряженного с ним другого процесса.

В процессе сопряжения не вся энергия, выделяющаяся в ходе сопрягающего процесса, передается сопряженному: часть энергии переходит в тепло. Для определения КПД превращения энергии вводят понятие эффективности сопряжения:

$$\eta = \left| \frac{J_1 X_1}{J_2 X_2} \right| \quad (3.44)$$

где  $J_1 X_1$  и  $J_2 X_2$  соответственно потоки и движущие силы сопряженного и сопрягающего процессов. Для биологических процессов эффективность сопряжения довольно высока и может достигать 80-90 %.

### 3.7. Критерии достижения и устойчивости стационарных состояний.

В классической термодинамике увеличение энтропии до некоторого максимального значения является критерием установления в системе равновесного состояния; знак изменения энтропии, таким образом, определяет направление хода процесса. Неравновесная термодинамика рассматривает стационарные состояния. Аналогичной проблемой здесь является вопрос о предсказании установления в системе стационарного состояния по характеру изменения энтропии за счет внутренних процессов.

Рассмотрим систему, в которой одновременно происходят два сопряженных процесса: например, поток тепла  $J_1$  вызванный градиентом температур (движущей силой  $X_1$ ), и поток вещества  $J_2$ , вызванный разностью концентраций (движущей силой  $X_2$ ). Вблизи положения термодинамического равновесия для них справедливы уравнения Онзагера:

$$J_1 = L_{11} X_1 + L_{12} X_2; \quad (3.45)$$

$$J_2 = L_{21} X_1 + L_{22} X_2. \quad (3.46)$$

Согласно соотношению (3.40), диссипативная функция в этом случае запишется в виде:

$$\beta = J_1 X_1 + J_2 X_2 > 0 \quad (3.47)$$

С учетом уравнений Онзагера и соотношения (4.38) получаем:

$$\begin{aligned} \beta &= J_1 X_1 + J_2 X_2 = (L_{11} X_1 + L_{12} X_2) X_1 + (L_{21} X_1 + L_{22} X_2) X_2 = \\ &= L_{11} X_1^2 + (L_{12} + L_{21}) X_1 X_2 + L_{22} X_2^2 = \\ &= L_{11} X_1^2 + 2L_{12} X_1 X_2 + L_{22} X_2^2 > 0. \end{aligned} \quad (3.48)$$

Допустим, в системе установилось стационарное состояние, в котором количество вещества, входящего в систему, равно количеству вещества, покидающего систему, то есть  $J_2 = 0$ , а поток теплоты совершается с постоянной скоростью.

Продифференцируем соотношение (3.48) по  $X_2$  при  $X_1 = \text{const}$  и приравняем нулю:

$$\delta\beta/\delta X_2 = 2(L_{12} X_1 + L_{22} X_2) = 2J_2 = 0 \quad (3.49)$$

Данное уравнение определяет экстремум функции, описываемой уравнением (3.48).

Так как вторая производная

$$\delta^2\beta/\delta X_2^2 = 2L_{22} > 0 \quad (3.50)$$

положительна (при  $L_{22} > 0$ ), то данная экстремальная точка соответствует минимуму диссипативной функции. Аналогично можно доказать, что при  $J_1 = 0$

$$\delta\beta/\delta X_1 = 2J_1 = 0 \quad (3.51)$$

Сказанное можно обобщить и на любое число сопряженных процессов в системе вблизи положения равновесия. Выражения (3.49) или (3.51) позволяют сформулировать один из основных принципов неравновесной термодинамики линейных процессов (**теорему Пригожина**): *при постоянных внешних условиях в системе, находящейся вблизи положения термодинамического равновесия в стационарном состоянии, скорость возрастания энтропии за счет внутренних необратимых процессов, определяемая величиной  $\beta$ , принимает постоянное минимальное, отличное от нуля положительное значение.*

Таким образом, по изменению во времени скорости возрастания энтропии за счет внутренних необратимых процессов можно судить о том, приведут ли данные процессы систему в стационарное состояние или нет. Если скорость возрастания энтропии уменьшается, то есть

$$d\beta/dt < 0 \quad (3.52)$$

то система стремится к состоянию с минимальной скоростью продукции энтропии, а именно к стационарному состоянию. Выражение (3.52) определяет **критерий эволюции открытой системы** к стационарному состоянию вблизи положения равновесия.

Как видно из графика на рис. 3.1, диссипативная функция  $\beta$  монотонно уменьшается до минимального значения, то есть система стремится к стационарному состоянию. Такая система не может самостоятельно выйти из стационарного состояния, поскольку увеличение  $\beta$  приводит к

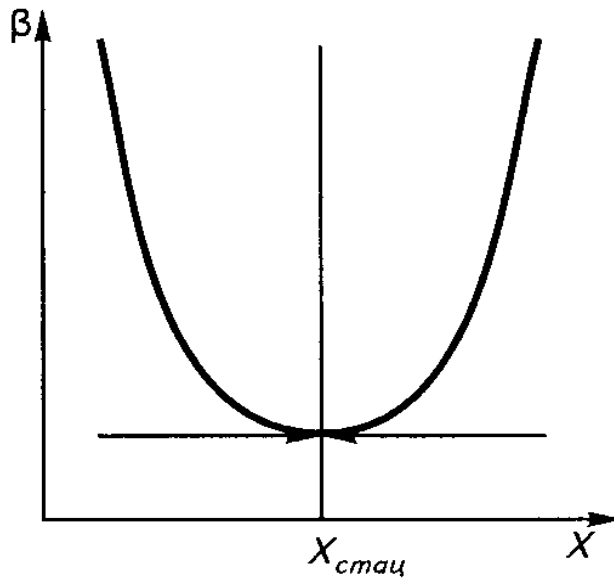


Рис. 3. 1. Зависимость диссипативной функции  $\beta$  от движущих сил около стационарной точки  $X_{\text{стац}}$

возрастанию скорости продукции энтропии.

Если система в силу каких-либо флуктуаций все-таки вышла из стационарного состояния, то в ней возникают силы, стремящиеся свести скорость возрастания энтропии к минимуму. Такое стационарное состояние является устойчивым (отклонение от него приводит к увеличению диссипативной функции). Таким образом, **критерием устойчивости стационарного состояния** является условие:

$$d\beta > 0. \quad (3.53)$$

При значительных изменениях внешних условий система выходит из одного стационарного состояния и переходит в другое. Это наблюдается, например, при проведении нервного импульса или при мышечном сокращении. Смена одного стационарного состояния на другое при изменении внешних условий означает приспособление (адаптацию) к ним организма. Неспособность адаптироваться может привести к гибели.

#### 4. КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Кинетика изучает закономерности протекания во времени и механизмы химических процессов. Скорость превращений веществ в клетках

и тканях организма играет основную роль в регулировании нормального течения жизненного процесса. Организм представляет собой открытую систему, обменивающуюся со средой энергией и веществом. Процессы обмена веществ в организме образуют сложную систему сопряженных реакций — последовательных, параллельных, замкнутых в циклы.

В биологических системах осуществляется принцип наиболее экономного расходования свободной энергии. Этим и определяется, какая из возможных реакций окажется превалирующей в тех или иных условиях. Важное значение при этом имеют кинетические условия протекания реакции. В живом организме скорость протекания реакции зависит главным образом от следующих условий: от наличия катализаторов — ферментов, от наличия и концентрации ингибиторов и от структурных условий развития реакции. В зависимости от всего этого биохимический процесс может протекать различными путями.

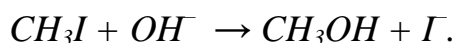
#### 4.1. Типы реакций.

Каждая элементарная реакция складывается из большого числа повторяющихся превращений исходных частиц — элементарных актов химического превращения. *Реакции, в элементарном акте которых участвуют одна, две или три частицы, называются соответственно мономолекулярными, бимолекулярными и тримолекулярными.*

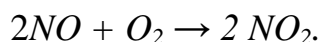
К числу мономолекулярных относятся реакции внутримолекулярной перегруппировки, например, превращение *цис*-изомера в *транс*-изомер, а также некоторые реакции распада, например, распада хлористого этила на этилен и *HCl*:



В качестве примера бимолекулярной реакции, в элементарном акте которой участвуют две частицы, можно привести гидролиз йодистого метила:



Реакция окисления окиси азота до двуокиси является тримолекулярной:



Вероятность одновременного столкновения более чем трех частиц чрезвычайно мала, поэтому реакции, в которых участвует более трех частиц, протекают, как правило, не в один акт, а в несколько элементарных стадий — моно-, би- и тримолекулярных.



### **Скорость реакции.**

Важнейшей количественной характеристикой процесса химического превращения является *скорость процесса*, определяемая как возрастание или уменьшение во времени концентрации данного вещества. В соответствии с кинетической теорией протекания химических реакций скорости зависят от концентрации реагирующих веществ и от температуры.

Согласно представлениям химической кинетики реакции происходят при столкновении молекул, а число столкновений при заданных внешних условиях (температура, давление, среда, в которой происходит процесс) является функцией концентрации реагирующих веществ. В результате реакции часть молекул исходных веществ расходуется на образование продуктов реакции; концентрация исходных веществ при этом убывает и скорость реакции падает. Именно поэтому химические реакции моно-, би- и тримолекулярные идут с непрерывно убывающей скоростью.

В мономолекулярной реакции типа  $A \rightarrow P_1$  скорость накопления продукта  $P_1$  выражается уравнением:

$$\frac{dP_1}{dt} = k_1[A], \quad [A] = [A_0]e^{-k_1 t} \quad (4.1)$$

отсюда:

$$\frac{dP_1}{dt} = k_1[A_0]e^{-k_1 t}. \quad (4.2)$$

Здесь  $dP_1/dt$  - скорость реакции, т.е. изменение концентрации продукта  $P_1$  во времени,  $[A_0]$  — начальная концентрация исходного вещества,  $[A]$  — концентрация исходного вещества в момент времени  $t$ ,  $k_1$  — константа.

Изучая зависимость скорости реакции от *концентраций реагирующих* веществ, можно сделать вывод о порядке реакции, т. е. судить о ее механизме. *Порядок реакции* — это суммарное значение степени в произведении концентраций реагирующих веществ, взятых в степенях, равных их стехиометрическим коэффициентам в реакции. Это применимо как для отдельных реакций, так и для систем реакций. Сравнивая характеристики гипотетических и реальных систем реакций, можно анализировать особенности реальных систем, пути и кинетику реакций в организме.

Если скорость реакции зависит от концентрации одного исходного вещества, то реакция называется *реакцией первого порядка*. Для бимолекулярной реакции

$$A + B \rightarrow P_2; \quad \frac{dP_2}{dt} = k_2[A][B], \quad (4.3)$$

где  $[A]$  и  $[B]$  — концентрации реагирующих веществ.

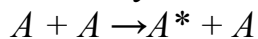
В этом случае скорость реакции определяется произведением концентраций двух веществ, и эта реакция называется **реакцией второго порядка**.

Как можно видеть из уравнений (4.1) и (4.3), в случае если  $[A] = 1$  и  $[B] = 1$ , скорости реакций будут, соответственно, равны  $k_1$  и  $k_2$ . Эти величины называются *константами скорости*.

Величина константы скорости определяется рядом факторов — вероятностью удачных столкновений, длиной пробега молекул, вязкостью среды и т. д. Эта величина является численным выражением реакционной способности молекул и может быть обозначена как истинное число молекул, реагирующих в единицу времени при концентрации, равной единице (1 моль/л).

Следует отметить, что понятия порядка и молекулярности реакции не всегда совпадают. Так, чисто бимолекулярные реакции подчиняются кинетике реакций первого порядка, если они идут в условиях избытка одного из реагирующих веществ. В этом случае скорость реакции зависит лишь от концентрации того вида молекул, которые находятся в меньшем количестве, так как убыль молекул второго вида не меняет существенно их концентрации, а следовательно, и скорости реакции. К числу таких реакций относятся реакции гидролиза в водной среде, например, кислотный гидролиз сахарозы.

Реакции мономолекулярные по мере расходования исходного вещества могут от кинетики первого порядка перейти к кинетике реакций второго порядка. Это зависит от того, что молекулы достигают нужной для распада энергии активации за счет удачных соударений:



Число соударений пропорционально  $A$  при больших концентрациях и пропорционально  $A^2$  при малых концентрациях. Таким образом, при малых концентрациях скорость реакции становится пропорциональной квадрату концентрации.

Как уже упоминалось, скорость реакции, помимо концентрации, зависит от *температуры*. Известно, что с повышением температуры скорость химических реакций увеличивается. Раньше полагали, что это связано с увеличением числа соударений при нагревании. Однако подсчеты показывают, что если бы каждое соударение приводило к реакции, то

скорости реакций должны были бы в  $10^2$  —  $10^6$  раз превышать реально существующие скорости. Отсюда возникло представление, что лишь часть соударений приводит к осуществлению реакций. Чтобы произошло внедрение электронных орбит одной молекулы в электронные орбиты другой молекулы, чтобы произошло обобществление электронов, молекулы должны обладать определенной энергией, не ниже некоторого уровня  $E$ .

Согласно статистической физики распределение молекул газа по скоростям а, следовательно, и по энергиям, описывается кривой Максвелла-Больцмана. Доля молекул  $n_E$ , обладающих энергией  $E$ , в общем их числе  $n$  равна  $n_E/n = e^{-E/RT}$

На рис. 4.1, А приведена кривая, показывающая распределение молекул по энергиям. Сопоставление реальных скоростей реакций с рассчитанными из теории соударений показало, что лишь часть молекул (на рисунке они расположены вправо от пунктирной линии), обладающих энергией, равной  $E$  и выше, способны вступать в реакции. Это так называемые «горячие молекулы».

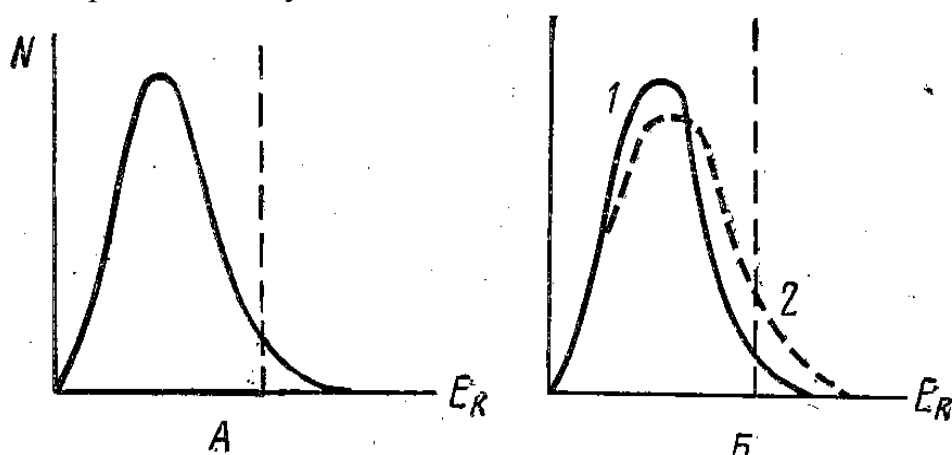


Рис. 4.1. Распределение молекул по энергиям.

1 — при  $T = 273^\circ$ , 2 - при  $T = 283^\circ$ .

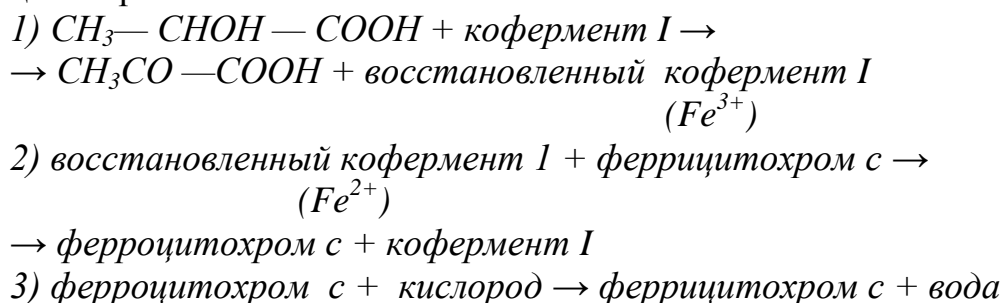
по оси абсцисс — кинетическая энергия молекул ( $E_k$ ), по оси ординат — количество молекул, обладающих данной энергией ( $N$ ).

С увеличением температуры кривая сдвигается вправо, число горячих молекул, способных вступить в реакцию, увеличивается, скорость реакции растет (рис. 4.1, Б).

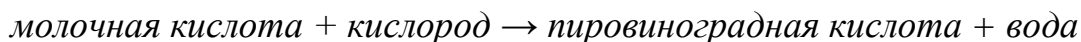
Величина  $E$  характеризует способность молекул вступать в реакцию. Чтобы преодолеть барьер отталкивания между электронными оболочками, молекулы должны обладать большой кинетической энергией, не меньшей  $E_{акт}$ , называемой **энергией активации**. Поэтому величина  $E_{акт}$  является очень важным кинетическим параметром, определяющим

ход реакции. Оказалось, однако, что при одинаковых концентрациях, температурах и энергиях активации скорости реакций могут отличаться. Следовательно, не каждое столкновение молекул, обладающих достаточным запасом энергии, приводит к реакции. Это связано с геометрической конфигурацией сталкивающихся молекул. Реакция идет лишь в том случае, если молекулы сталкиваются участками, в которых может произойти разрыв старых и образование новых химических связей. Чем больше молекулы, тем меньше вероятность удачного столкновения. У крупных молекул эта вероятность оценивается как  $10^{-5}$ . Эту вероятность характеризуют с помощью так называемого стерического фактора  $\rho$ .

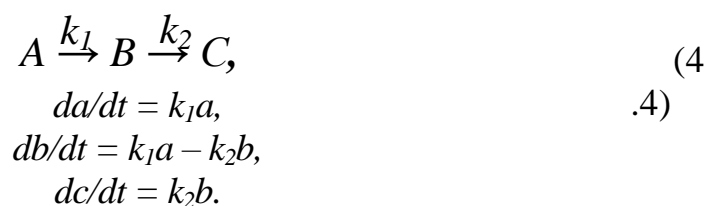
Для живого организма характерно, что протекающие в нем реакции идут обычно в несколько стадий — последовательных и параллельных. Например, биологическое дегидрирование молочной кислоты идет следующим образом:



Суммарная реакция:



Рассмотрим простейшую цепь реакций:



Графические изменения концентрации  $a$ ,  $b$ ,  $c$  представлены на рис. 4.2.

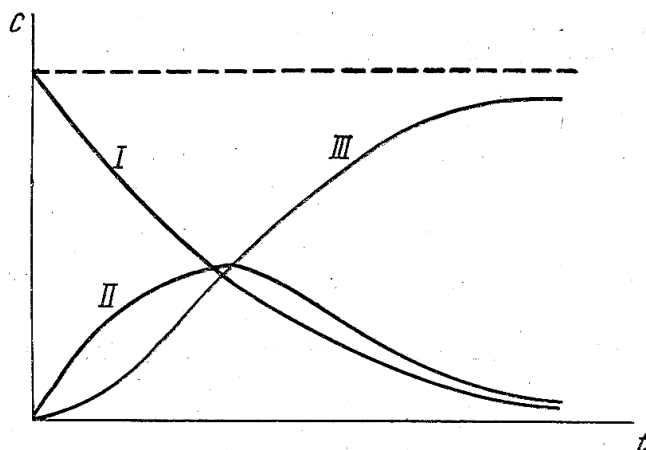


Рис. 4.2. Изменение количества вещества во времени в последовательной реакции:

I - для исходного вещества A; II - для промежуточного вещества B; III - для конечного продукта C. По оси абсцисс - время ( $t$ ), по оси ординат - концентрация вещества ( $c$ )

Интересно рассмотреть некоторые частные предельные варианты для рассмотренной цепи реакций.

1)  $k_1 \gg k_2$ , т.е. быстрая первая фаза и медленная вторая. Обе фазы подчиняются кинетике первого порядка. Скорость суммарной реакции, т.е. накопление вещества C, определяется второй, медленно протекающей стадией реакции.

2)  $k_2 \gg k_1$ . Вещество B можно рассматривать как промежуточный нестойкий продукт, концентрация которого мала по сравнению с концентрациями  $a$  и  $c$ . Тогда  $db/dt$  можно пренебречь, так как концентрация  $b$  мала и постоянна. Скорость накопления C определяется скоростью первой реакции, имеющей меньшую константу скорости.

Таким образом, в обоих случаях суммарная скорость процесса зависит от реакции, имеющей меньшую константу скорости. Такая реакция, которая определяет суммарное течение процесса, называется *определяющей*.

В живом организме многие процессы следуют кинетике системы двух последовательных реакций первого порядка. Так, реакция:  $\text{про-тромбин} \rightarrow \text{тромбин} \rightarrow \text{комплекс тромбин} \rightarrow \text{антитромбин}$  следует этой кинетике, и измеренное в опыте накопление промежуточного вещества (тромбина) совпадает с рассчитанным.

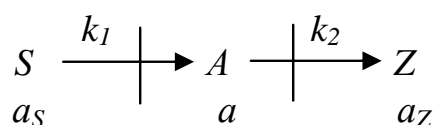
Скорость многих реакций в организме не зависит от концентрации реагирующих веществ и постоянна:

$$dc/dt = k_0. \quad (4.5)$$

Такие реакции называются **реакциями нулевого порядка**. Кинетике нулевого порядка следуют, например, ферментативные реакции, идущие

в условиях избытка субстрата. Это связано с тем, что в таких условиях весь фермент связан с субстратом и скорость реакции определяется скоростью распада фермент-субстратного комплекса, концентрация которого остается постоянной. В этом случае система  $A \rightarrow B \rightarrow C$  состоит из реакций первого и нулевого порядка. Скорость образования продукта  $C$  не зависит от концентрации вещества  $A$ , т. е. суммарная реакция  $A \rightarrow C$  является реакцией нулевого порядка. Это определяется, как уже говорилось, тем, что реакция идет в две стадии с образованием промежуточного продукта  $B$ , концентрация которого остается постоянной. Нулевым порядком не может иметь отдельная элементарная реакция, а лишь система реакций. Следовательно, если в организме какая-либо реакция имеет нулевой порядок, это значит, что она протекает, по крайней мере, в две стадии.

В открытых системах, помимо скоростей химических реакций, важную роль играют скорости поступления реагентов в систему и удаления продуктов из системы, т. е. процессы диффузии. Пусть вещество  $A$  переходит из источника  $S$  в сток  $Z$ , не претерпевая в системе химических превращений:



где  $a_s$  — концентрация вещества в источнике,  $a_z$  — концентрация вещества в стоке,  $a$  — концентрация вещества в открытой системе,  $k_1$  и  $k_2$  — константы переноса.

Пусть  $a_s$  и  $a_z$  постоянны,  $a_s > a_z$ , тогда, согласно (4):

$$da/dt = k_1(a_s - a) - k_2(a - a_z). \quad (4.6)$$

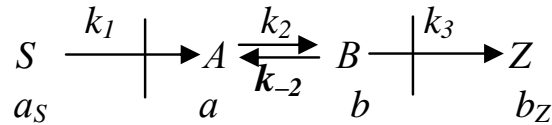
При решении этого уравнения получается следующее выражение для концентрации вещества  $a$  в системе:

$$a = \frac{k_1 a_s + k_2 a_z}{k_1 + k_2} + (a_0 - \frac{k_1 a_s + k_2 a_z}{k_1 + k_2}) e^{-(k_1 + k_2)t} \quad (4.7)$$

где  $a_0$  — исходная концентрация вещества в системе,  $t$  — время.

Член, содержащий  $a_0$ , меняется экспоненциально в зависимости от  $t$ , поэтому при достаточно большом  $t$  ( $t \rightarrow \infty$ ) или при  $k_1 + k_2 > 5$  экспоненциальный член становится ничтожно малым и  $a$  — постоянно и не зависит от  $a_0$  в системе. Таким образом, стационарная концентрация  $a$  не зависит от  $a_0$ , а зависит только от концентрации  $a$  в источнике ( $a_s$ ) и стоке ( $a_z$ ) и констант диффузии.

Рассмотрим более сложный случай, когда в открытой системе помимо диффузии происходит химическая реакция  $A \leftrightarrow B$

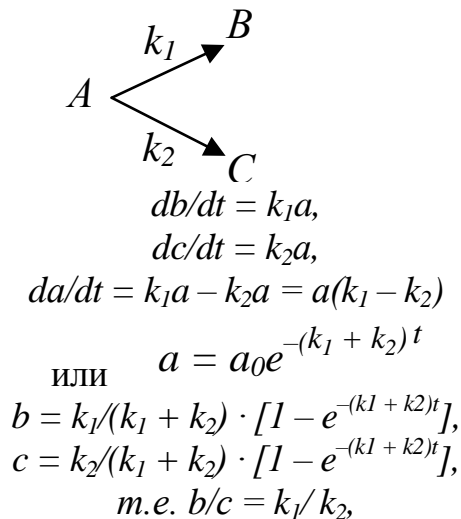


Стационарные концентрации  $a$  и  $b$  не зависят от начальных концентраций  $A$  и  $B$ , постоянны, несмотря на постоянный перенос вещества через систему, а зависят только от констант скорости, констант переноса и  $a_s$  и  $b_Z$ . Например, стационарная концентрация  $\bar{a}$  ( $a$ ) будет равна:

$$\bar{a} = \frac{k_2 k_{-2} a_s + k_1 k_3 a_s + k_{-2} k_3 b_Z}{k_1 k_{-2} + k_1 k_3 + k_2 k_3} \quad (4.8)$$

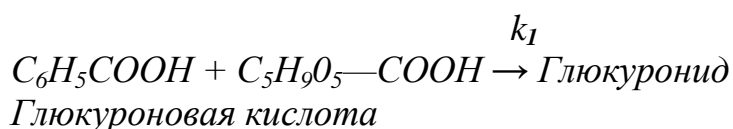
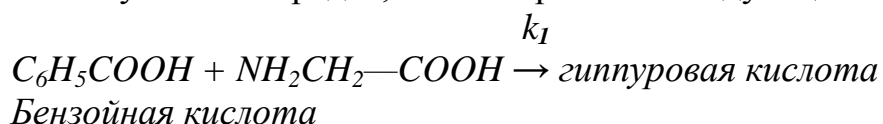
Ряд веществ в организме может вступать в параллельно идущие реакции. Например, глюкоза может окисляться по гликолитическому пути и далее — в цикле Кребса, или войти в цикл гексозомонофосфата.

Рассмотрим простейшую систему *параллельно протекающих реакций*:



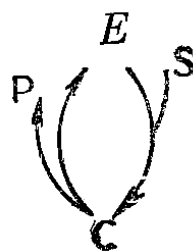
т. е. если две реакции первого порядка происходят одновременно, количества превращенного в каждой из них вещества относятся между собой, как константы их скоростей. В случае, если одна из параллельных реакций подчиняется нулевому порядку, то определяющее значение получает реакция первого порядка. Это связано с тем, что после некоторой критической концентрации “ $a$ ” дальнейшее ее увеличение уже не влияет на скорость реакции, которая приобретает нулевой порядок, но увеличивает скорость реакции первого порядка.

Исходя из того, что при наличии двух параллельных реакций первого и нулевого порядка основное расхождение исходного вещества происходит в реакции первого порядка, Хиншельвуд (С. Hinshelwood) сделал важный вывод об относительной роли различных реакций в организме. При малых концентрациях субстрата происходящие в нем ферментативные реакции можно считать реакциями первого порядка. Отношение количества метаболитов, обмен которых следует различными путями, в этом случае постоянно. При повышении концентрации субстрата насыщение фермента на одном пути может произойти раньше, и реакция будет следовать кинетике нулевого порядка. Тот путь, где наиболее полно сохраняются условия, при которых ферментативные реакции следуют кинетике первого порядка, приобретает наибольшее значение в процессах обмена веществ. Для параллельных реакций, следующих кинетике первого и нулевого порядка, можно привести следующий пример:



При малых концентрациях  $C_6H_5COOH$  обе реакции являются реакциями первого порядка, но поскольку  $k_1 > k_2$ , в основном идет реакция с гликоколом, и в моче можно обнаружить только гиппуровую кислоту. При больших концентрациях бензойной кислоты первая реакция становится реакцией нулевого порядка, и при дальнейшем увеличении концентрации бензойная кислота выводится в виде глюкуронидов, образование которых остается реакцией первого порядка.

Важную роль в процессе обмена веществ играют различные *циклы* реакций. Наиболее характерным из них является цикл Кребса. Благодаря ему небольшие количества лимонной, яблочной и других органических кислот в организме могут катализировать окисление сотен граммов уксусной кислоты. Простейшей формой циклической реакции может служить ферментативная реакция, в которой фермент многократно проходит через свободную и связанную форму.



В этой схеме  $E$  — фермент,  $S$  — субстрат,  $C$  — фермент-субстратный комплекс и  $P$  — продукт реакции.



В таком цикле одна молекула фермента обеспечивает превращение многих молекул субстрата. Существование циклов в организме можно рассматривать как приспособление к эффективному использованию метаболитов, доступных организму в малых количествах.

Наиболее нагляден пример с витаминами группы В, которые входят в состав коферментов и других акцепторов водорода. Суточная потребность человека в витаминах группы В такова: 1-2 мг тиамина и рибофлавина и 10-20 мг никотиновой кислоты. Соответствующие коферменты перерабатывают за сутки 400 г углеводов, 70-100 г жиров и 70-100 г белков, т.е. число молекул субстрата, измененных одной молекулой фермента в минуту, достигает очень больших величин -  $10^3$  -  $10^6$ .

Скорость вращения циклов зависит от относительных концентраций веществ, составляющих отдельные стадии цикла, и тем больше, чем дальше эти отношения находятся от состояния равновесия. Отдельные циклы реакций связаны со всей сеткой обменных процессов с помощью тех веществ, которые проходят через цикл и претерпевают в нем необратимые превращения. Кроме того, и промежуточные вещества, входящие в состав цикла, могут не только образовываться в цикле, но и поступать в него извне. Благодаря этому организм может тонко регулировать концентрации реагирующих веществ в цикле, и тем самым скорость вращения цикла и интенсивность производимых циклом превращений. Например, скорость вращения цикла Кребса может увеличиваться за счет поступления добавочного количества уксусной кислоты, необратимо окисляющейся в нем. Такой же эффект может быть получен за счет добавочного поступления в цикл одного из промежуточных веществ, например - фумаровой кислоты, образующейся из аспарагиновой кислоты.

#### **4.2. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.**

Согласно кинетической теории химических процессов скорости реакций зависят от концентрации реагирующих веществ и от температуры. Зависимость скорости реакции от температуры описывается уравнением Аррениуса:

$$k = pZe^{-E_{акт}/RT} \quad (4.9)$$

где  $Z$  — число столкновений,  $R$  — универсальная газовая постоянная,  $E_{акт}$  — энергия активации,  $p$  — стерический фактор. Это уравнение можно представить в логарифмической форме:

$$\ln k = \ln pZ - \frac{E_{акт}}{RT} \quad (4.10)$$

Если построить график зависимости  $\ln k$  от  $1/T$ , то  $\tan \alpha = -E_{акт}/R$  (рис. 4.3).

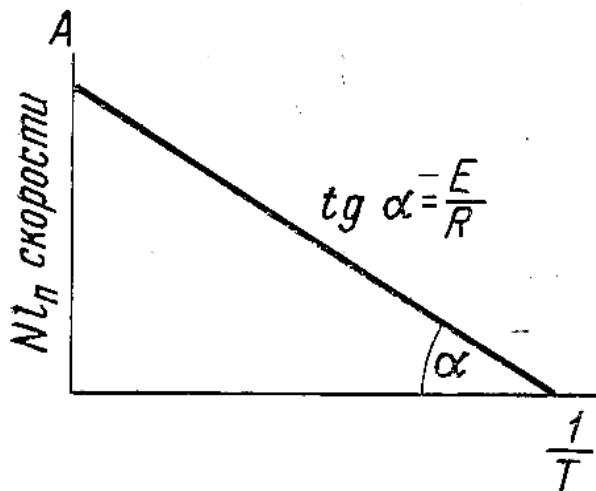


Рис. 4.3. Диаграмма Аррениуса

Изучение температурных характеристик биологического процесса может дать ряд сведений о его механизме. Наиболее употребимой температурной характеристикой, наряду с энергией активации, является **коэффициент Вант-Гоффа  $Q_{10}$** , характеризующий ускорение реакций при повышении температуры на  $10^\circ\text{C}$

$$Q_{10} = \frac{V_{T+10}}{V_T} \quad (4.11)$$

Реакции различной природы имеют разные энергии активации и, следовательно, по-разному зависят от температуры. Химические реакции имеют энергии активации порядка нескольких десятков килокалорий на моль и  $Q_{10}$  для них соответственно равен 2 — 3.

Энергия активации ферментативных реакций несколько ниже - порядка 4 - 12 ккал/моль, и  $Q_{10}$  меньше 2. Для фотохимических реакций, а также для физических процессов, например диффузии, энергия активации очень невелика и коэффициент Вант-Гоффа близок к единице. Таким образом, определяя в эксперименте  $Q_{10}$  или  $E_{акт}$  можно судить о механизме процесса в целом или, по крайней мере, о природе определяющих реакций.

Энергии активации большинства биологических процессов того же порядка, что и для химических реакций. Они группируются в основном у трех величин — 33, 50 и 75 кДж/моль. Однако в процессах разрушения клеток различными токсическими факторами энергии активации очень велики — порядка 628 кДж/моль. Такая же высокая энергия активации характерна для реакций *денатурации белка*. Например, для свертывания гемоглобина - 250 кДж/моль, для гемолиза при действии горячей воды энергия активации равна 268 кДж/моль, для бактериолиза *B. paratyphosus* в феноле — 203 кДж/моль.

Для ферментативных реакций характерны более низкие значения энергии активации. Согласно современным представлениям, ускорение реакции в присутствии ферментов связано с тем, что фермент образует комплекс с субстратом. При этом конфигурация электронного облака реагирующей молекулы изменяется так, что облегчается ее вступление в реакцию, и, следовательно, уменьшается энергия активации реакции. Например, энергия активации гидролиза сахарозы при действии амилазы равна 46 кДж/моль, а при действии кислот — 107 кДж/моль.

Для фотохимических процессов в клетках  $E_{акт}$  очень низка, например 2,09—4,18 кДж/моль для процессов, протекающих в сетчатке глаза.

Энергия активации связана с коэффициентом Вант-Гоффа следующим соотношением:

$$E_{акт} = 0,46T_1 \cdot T_2 \lg Q_{10}. \quad (4.12)$$

Анализируя зависимость скорости биологических реакций от температуры, можно судить также о разделении процесса на отдельные стадии и о механизме этих стадий. Например, температурный коэффициент фотосинтеза колеблется от 1,2 до 2,5. Температурный анализ показал, что при малой интенсивности света  $Q_{10} = 1,2$ , а при большой —  $Q_{10} = 2,5$ . Это позволило констатировать, что скорость процесса может определяться либо первой, световой стадией процесса, либо второй, темновой

реакцией Блекмана. Отсюда видно, что скорость процесса определяется находящейся в «минимуме» реакцией, которая представляет собой узкое место процесса. А.Ф. Самойлов установил, что процесс возбуждения в нерве имеет температурный коэффициент  $\sim 1,7$ , т. е. величину, характерную для ферментативных реакций. Для проведения же возбуждения от концевых пластинок нерва к мышце получен коэффициент 2,5—2,7, характерный для химических процессов.

При изучении многих биологических процессов (ритма сокращений сердца, интенсивности люминесценции бактерий, сокращений колокола медузы, скорости дробления яиц мор-

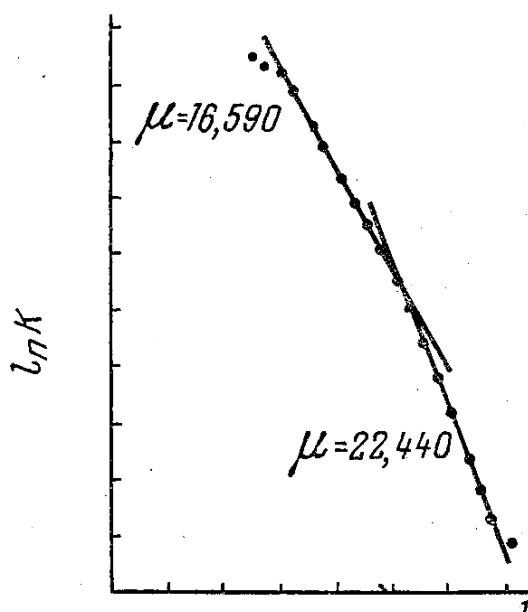


Рис. 4.4. Влияние температуры на люминесценцию *Bacterium phosphoricum*, где  $\mu$  — «кажущаяся» энергия активации

ского ежа и др.) найдено удовлетворительное совпадение с законом Аррениуса для изменения скорости этих процессов с температурой в пределах температурного оптимума.

Удовлетворительное совпадение было найдено Аррениусом для реакции гемолиза эритроцитов аммиаком и гемолитическими ядами, для реакции разложения гемолизина и др. Это связано именно с тем, что несмотря на большую сложность протекающих в организме процессов, определяющую роль играет одна реакция.

В ряде случаев на кривой Аррениуса наблюдаются переломы (рис. 4.4). Это свидетельствует о том, что данная реакция является результатом развития двух или большего числа конкурирующих реакций, либо результатом последовательных реакций. Ведущая, определяющая реакция меняется с температурой, а точка пересечения двух прямых, точка перелома - та критическая точка, в которой одна ведущая реакция сменяется другой. Процессы, имеющие разные энергии активации, должны иметь и различную химическую природу, поэтому изучение температурных характеристик может служить методом определения ведущих реакций в живых функционирующих системах.

Возрастание скорости реакции при увеличении температуры происходит тем быстрее, чем больше энергия активации реакции. Поэтому, если процесс осуществляется конкурирующими реакциями, скорость которых по-разному зависит от температуры, при низких температурах основным выход продукта будет идти за счет реакции с малой энергией активации, а при повышении температуры будет возрастать роль реакции, имеющей большую энергию активации. В случае последовательных реакций скорость суммарного процесса будет определяться скоростью наиболее медленно протекающей реакции. При низкой температуре более медленно протекающей реакцией может быть реакция с большей энергией активации, а при повышении температуры — реакция с меньшей энергией активации.

Именно таким неравномерным ускорением реакций при изменении температуры Крозье объясняет наличие переломов на кривых температурной зависимости для биологических процессов — например, движения ресничек мерцательного эпителия. В этом случае в температурном интервале  $+15 - +30^{\circ}\text{C}$  энергия активации равна 50 кДж/моль, а при температуре ниже  $+15^{\circ}\text{C}$  — 69,8 кДж/моль. Для люминесценции *B. phosphoricum*  $E_1$  и  $E_2$  равны 16 590 и 22 400 кал/моль (рис. 4.4). Необходимо отметить, что во всех случаях перелома характеристик экспериментальные данные совпадают с теоретически предсказанными. При повышении температуры после перелома наблюдается «снижение» энергии актива-

ции за счет того, что узким местом становится реакция с низкой энергией активации. Для биологических процессов характерен общий ход температурной зависимости, подобный представленному на графике (см. рис. 4.5).

Начало, вершина, и конец кривой соответствуют минимуму, оптимуму и максимуму температур, при которых идут биологические процессы. Некоторые исследователи высказывали мнение, что такой ход температурной зависимости является результатом сложения двух процессов, которые ускоряются с повышением температуры - реакции химического обмена и реакции разрушения структурных

элементов. Энергия активации второй реакции выше, чем первой, и при более высоких температурах она начинает превалировать, приводя уже вторично к разрушению ферментов и замедлению реакций обмена:

$$v = A_1 e^{-E_1/RT} - A_2 e^{-E_2/RT} \quad (4.13)$$

где  $v$  — скорость биологических реакций,  $A_1 = \rho_1 Z$ ,  $A_2 = \rho_2 Z$  (константы, определяющие число столкновений молекул).

Однако во многих случаях положение температурного оптимума и ниспадающей части кривой при повышении температуры лежит далеко от области температур, вызывающих денатурацию белка, например, у северных форм растений. Существование температурного оптимума определяется по-видимому несколькими обстоятельствами. Как уже говорилось, в процессе жизнедеятельности клеток и даже в отдельных его звеньях участвует много последовательных и параллельных реакций с различными энергиями активации. Стационарное состояние — т.е. стационарные концентрации веществ и определенное соотношение скоростей реакций — определяется соотношением констант скоростей реакций, которые по-разному зависят от температуры. По-видимому, не при всякой температуре может быть достигнута такая координация скоростей, которая привела бы к установлению стационарного состояния, это возможно лишь в определенной температурной зоне, которая и является зоной температурного оптимума.

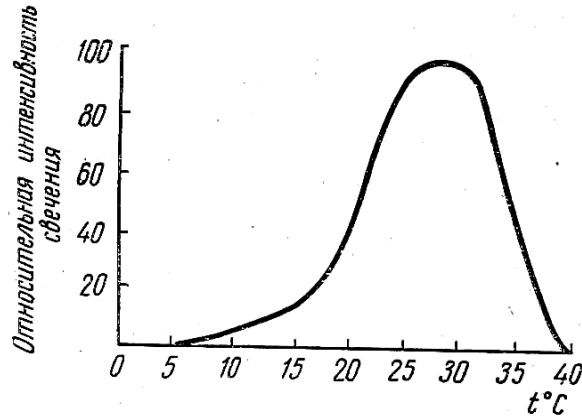


Рис. 4.5. Температурная зависимость свечения суспензии *Asotobacter fisheri*

### 4.3. Кинетика ферментативных процессов

Одной из основных функций белков является ферментативная. Белки-ферменты способны ускорять биохимические реакции в  $10^8$ - $10^{10}$  раз по сравнению с тем, если бы эти реакции происходили бы без участия ферментов

Согласно формуле Аррениуса, константа скорости реакции равна

$$k = A \exp \left[ - \frac{E_{акт}}{RT} \right] \quad (4.14)$$

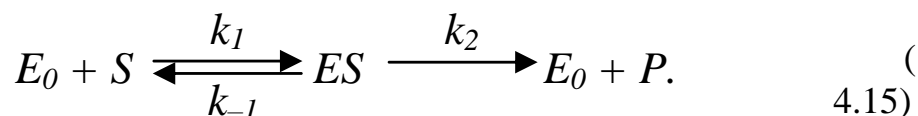
где  $A$  — константа, определяющая частоту столкновений реагирующих молекул,  $E_{акт}$  — энергия активации — высота потенциального барьера, который должна преодолеть система для осуществления реакции,  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — температура; множитель  $\exp(-E_{акт}/RT)$  — определяет долю молекул, энергия которых превышает энергию активации.

Ферменты никогда не сдвигают химическое, равновесие в реакциях, определяемое разностью свободных энергий продукта и субстрата. Эти реакции совершаются и в отсутствие фермента, но со значительно меньшей скоростью. Роль ферментов сводится к уменьшению энергии активации данной реакции, а, следовательно, увеличению константы скорости реакции.

Ферменты обладают высокой специфичностью и, как правило, катализируют только определенные реакции или реакции с участием узкого класса соединений. Первой моделью, объясняющей специфичность фермента, явилась модель Фишера, согласно которой субстрат стерически соответствует активному центру фермента (участку фермента, к которому присоединяется субстрат). Эта модель получила название **ключ – замок**. Согласно более поздней модели Кошланда — **модели индуцированного соответствия**, присоединение определенного субстрата вызывает конформационные перестройки в ферменте, в результате чего его каталитические группы ориентируются в пространстве таким образом, что оказываются способными осуществить превращение субстрата в продукт. Эта модель объясняет тот факт, что присоединение к ферменту некоторых веществ, структурно похожих на субстрат, не ускоряет их химическое превращение.

Рассмотрим кинетику ферментативных реакций. В простейшем случае присоединение субстрата к свободному ферменту  $E_0$  приводит к образованию фермент- субстратного комплекса  $[ES]$  с константой скорости

реакции  $k_1$ , из которого образуется продукт  $P$  (константа  $k_2$ ) или комплекс распадается на субстрат и фермент (константа  $k_{-1}$ ):



Общая концентрация фермента в этом случае равна

$$[E] = [E_0] + [ES]. \quad (4.16)$$

Скорость изменения концентрации фермент-субстратного комплекса составляет:

$$v_I = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E_0][S] - (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (4.17)$$

или, с учетом формулы (4.16)

$$v_I = \frac{d[ES]}{dt} = k_1([E] - [ES])[S] - (k_{-1} + k_2)[ES]. \quad (4.18)$$

Если в системе концентрация субстрата намного превышает концентрацию фермента ( $[E] \gg [S]$ ), то число существующих в каждый момент фермент-субстратных комплексов остается постоянным ( $v_I = 0$ ), то есть система находится в стационарном состоянии. В этом случае из формулы (4.18) получаем концентрацию фермент-субстратного комплекса

$$[ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2 + k_1[S]} = \frac{[E][S]}{(k_{-1} + k_2)/k_1 + [S]} = \frac{[E][S]}{k_m + [S]} \quad (4.19)$$

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

где  $k_m$  – константа Михаэлиса

С учетом выражения (4.19) скорость ферментативной реакции равна

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = k_2 \frac{[E][S]}{k_m + [S]}. \quad (4.20)$$

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата приведена на рис. 4.6. При увеличении концентрации субстрата скорость стремится к некоторому максимальному значению:

$$v_{max} = \lim_{[S] \rightarrow \infty} v = k_2[E]. \quad (4.21)$$

Тогда выражение (4.20) примет вид (*уравнение Михаэлиса-Ментен*)

$$v = \frac{v_{max}[S]}{k_m + [S]} \quad (4.22)$$

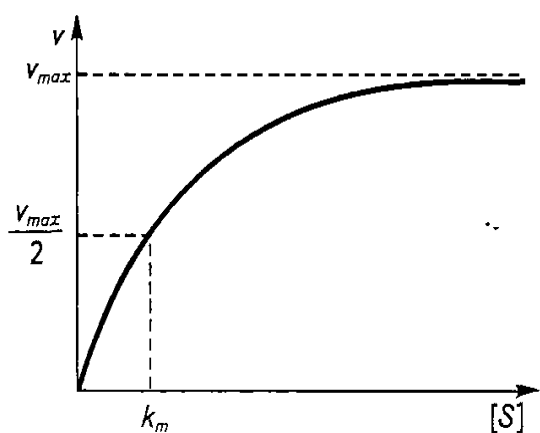


Рис. 4.6. Зависимость скорости ферментативной реакции  $v$  от концентрации субстрата  $[S]$ .

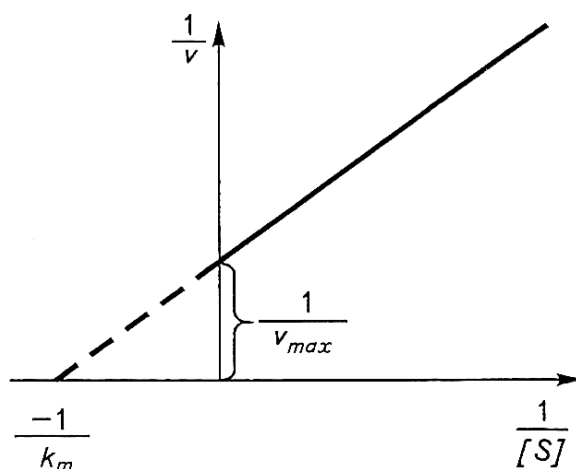


Рис. 4.7. График Лайнуивера-Берка.

Как видим, *константа Михаэлиса* численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной.

Для численного определения величин  $k_m$  и  $v_{max}$  по *методу Лайнуивера-Берка* уравнение (10) преобразуют к виду:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{k_m}{v_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} \quad (4.23)$$

График уравнения (4.23) приведен на рис. 4.7. При  $1/[S]=0$  получаем  $1/v = 1/v_{max}$ , как тангенс угла наклона прямой дает нам число оборотов фермента, а точка пересечения прямой с осью абсцисс -  $-1/K_M$ .



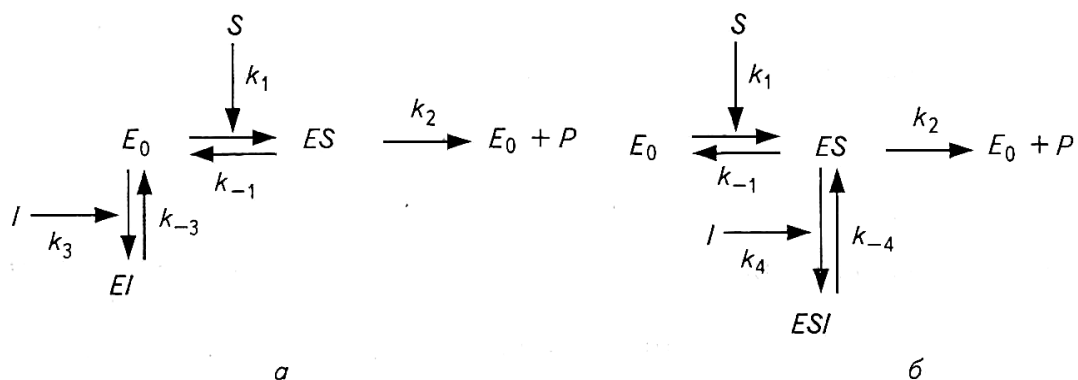


Рис. 4.8. Схемы процессов с конкурентным (а) и неконкурентным (б) ингибированием.

Некоторые вещества, связываясь с ферментом, уменьшают скорость ферментативного процесса (**ингибиторы**) или увеличивают (**активаторы**). В качестве ингибиторов и активаторов, имеющих общее название модификаторов, могут выступать естественные физиологические вещества, регулирующие ферментативную активность, а также целый ряд лекарственных препаратов.

Различают конкурентные и неконкурентные ингибиторы. *Конкурентные ингибиторы* связываются с активным центром фермента, образуя комплекс фермент-ингибитор  $EI$ , снижая, тем самым концентрацию активных молекул фермента в системе.

В случае присутствия в системе конкурентного ингибитора, согласно схеме, приведенной на рис. 4.8, а, скорости изменения концентрации комплексов фермент-субстрат и фермент-ингибитор примут вид соответственно:

$$v_1 = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E_0][S] - (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (4.24)$$

$$v_2 = \frac{d[EI]}{dt} = k_3[E_0][I] - k_{-3}[EI], \quad (4.25)$$

а общая концентрация фермента составит:

$$[E] = [E_0] + [ES] + [EI]. \quad (4.26)$$

Решая совместно данные уравнения при условии установления стационарного состояния ( $v_1 = 0$ ,  $v_2 = 0$  при  $[S] \gg E$  и  $[I] \gg E$ ) выразим концентрацию фермент-субстратного комплексав присутствии конкурентного ингибитора:

$$[ES] = \frac{[E][S]}{k_m + [S] + k_m k_i [I]} \quad (4.27)$$

где  $k_i = k_3/k_{-3}$ .

Отсюда скорость ферментативной реакции в присутствии конкурентного ингибитора составит:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{k_2[E][S]}{k_m + [S] + k_m k_i [I]} \quad (4.28)$$

В этом случае максимальная скорость реакции не изменяется по сравнению с максимальной скоростью в отсутствии конкурентного ингибитора:

$$v_{max} = \lim_{[S] \rightarrow \infty} v = k_2[E]. \quad (4.29)$$

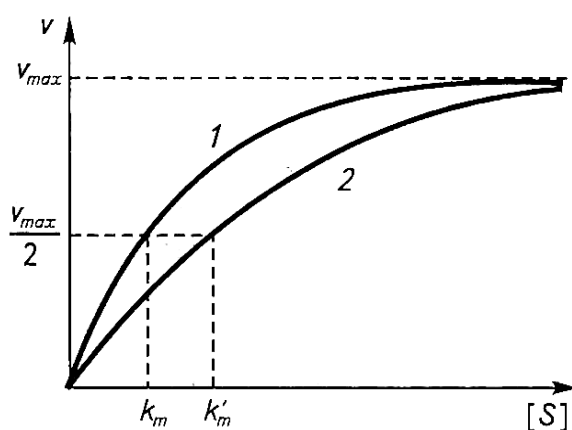


Рис. 4.9. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата в отсутствии (1) и присутствии (2) конкурентного ингибитора.

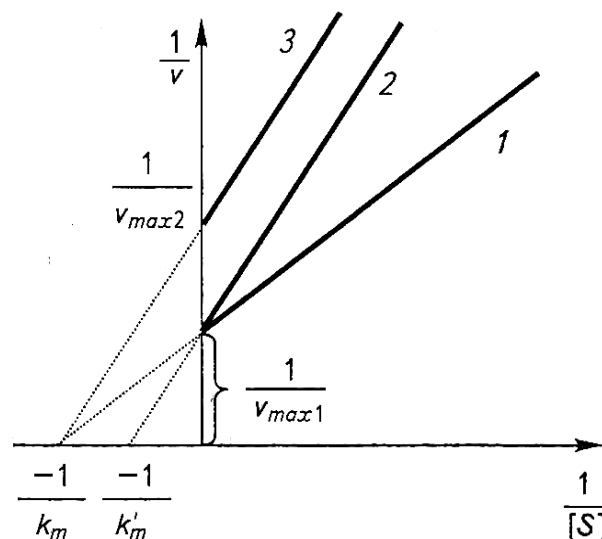


Рис. 4.10. График Лайнуивера-Берка: 1 – без ингибитора; 2 – в присутствии конкурентного ингибитора; 3 – в присутствии неконкурентного ингибитора

Однако при малых концентрациях субстрата скорость реакции уменьшается по сравнению с той, которая была в отсутствии конкурентного ингибитора (рис. 4.9). Это можно объяснить тем, что при высоких концентрациях субстрата ( $[S] \rightarrow \infty$ ) фермент связывается преимущественно с ним, а не с ингибитором, концентрация которого оказывается значительно ниже концентрации субстрата ( $[S] \gg [I]$ ). При сравнимых с кон-

центрацией ингибитора концентрациях субстрата ( $[S] \approx [I]$ ) фермент образует комплексы как с субстратом, так и с ингибитором, что уменьшает скорость реакции. В этом случае для достижения скорости, составляющей половину максимальной, концентрацию субстрата нужно увеличить в  $(1 + k_i[I])$  раз.

В координатах Лайнуивера-Берка уравнение (4.28) примет вид:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{k_m + k_m k_i [I]}{v_{max} [S]} = \frac{1}{v_{max}} + \frac{k'_m}{v_{max} [S]}, \quad (4.30)$$

где  $k'_m = k_m(1 + k_i[I])$  – константа Михаэлиса в присутствии конкурентного ингибитора (рис. 4.10, кривая 2).

Неконкурентный ингибитор связывается с фермент-субстратным комплексом, образуя неактивный комплекс  $ESI$ . В этом случае, согласно схеме (4.8, б), скорости изменения концентрации комплексов фермент-субстрат и фермент-ингибитор составляют соответственно:

$$v_1 = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E_0][S] - (k_{-1} + k_2 + k_4[I])[ES] + k_4[ESI], \quad (4.31)$$

$$v_2 = \frac{d[ESI]}{dt} = k_4[ES][I] - k_{-4}[ESI], \quad (4.32)$$

а общая концентрация фермента составит:

$$[E] = [E_0] + [ES] + [ESI]. \quad (4.33)$$

Тогда скорость ферментативной реакции в присутствии неконкурентного ингибитора составит:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{k_2[E][S]}{k_m + [S] + k_i[S][I]} \quad (4.34)$$

где  $k_i = k_4/k_{-4}$ .

В этом случае максимальная скорость будет равна:

$$v_{max} = \lim_{[S] \rightarrow \infty} v = \frac{k_2[E]}{1 + k_i[I]} \quad (4.35)$$

то есть уменьшится по сравнению с максимальной скоростью в отсутствие неконкурентного ингибитора в  $(1 + k_i[I])$  раз (рис. 4.10, кривая 3).

Существует ряд ферментов, кинетика которых не подчиняется уравнению Михаэлиса—Ментен. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата для них имеет вид, отличный от гиперболы. В большинстве случаев это явление можно объяснить следующим образом.

Некоторые ферменты состоят из нескольких субъединиц и имеют несколько центров связывания субстрата. Присоединение субстрата к одному из центров связывания вызывает такие конформационные перестройки в ферменте, которые облегчают присоединение субстрата к следующему центру (так называемый кооперативный эффект). В этом случае зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата имеет *S*-образный вид.

Рассмотрим явление кооперативности на примере белка гемоглобина, состоящего из четырех субъединиц и четырех центров связывания, и сравним его кинетику с миоглобином, мономерным белком с одним центром связывания. Несмотря на то, что эти белки являются не ферментами, а транспортными белками, снабжающими организм кислородом, кинетические уравнения для них сходны с уравнениями для ферментов, проявляющих свойство кооперативности, как гемоглобин, или не проявляющих, как миоглобин.

Реакцию образования комплекса лиганда *L* с мономерным белком *E* можно представить как



где *k* — константа связывания, равная

$$k = \frac{[EL]}{[L][E]} \quad (4.37)$$

Запишем степень насыщения белка лигандом, то есть отношение занятых центров связывания к их общему числу:

$$Y = \frac{[EL]}{[E] + [EL]}, \quad (4.38)$$

или с учетом уравнения (4.37):

$$Y = \frac{k[E][L]}{[E] + k[E][L]} = \frac{k[L]}{1 + k[L]} \quad (4.39)$$

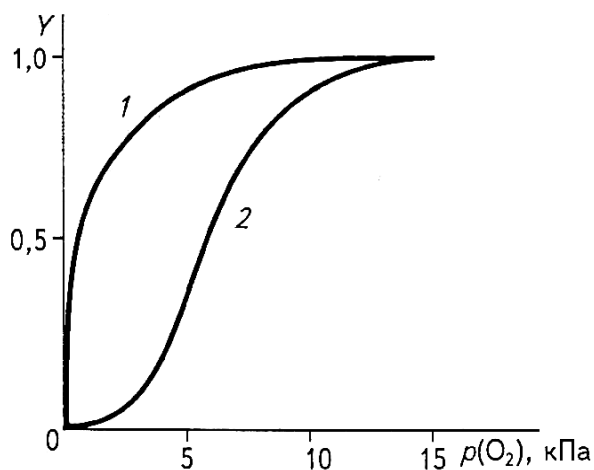


Рис. 4.11. Кривые насыщения кислородом миоглобина (1) и гемоглобина (2) в зависимости от парциального давления кислорода  $pO_2$

Уравнение (4.39), подобно уравнению Михаэлиса—Ментен, и графически представляет собой гиперболу (рис. 4.11, кривая 1).

Для описания степени насыщения гемоглобина используют уравнение, предложенное Хиллом:

$$Y = \frac{k_h [L]^h}{1 + k_h [L]^h}, \quad (4.40)$$

где  $k_h$  — константа связывания;  $h$  — параметр кооперативности.

При  $h = 1$  кооперативность отсутствует и уравнение (4.40)

сводится к виду уравнения (4.39). При  $h > 1$  кооперативность положительна, то есть присоединение одного лиганда к центру связывания облегчает связывание с остальными, при  $h < 1$  кооперативность отрицательна. Для гемоглобина  $h = 2,8$ . На рис. 4.11 приведена зависимость насыщения миоглобина и гемоглобина в зависимости от парциального давления кислорода  $pO_2$ , пропорционального его концентрации.

В организме парциальное давление кислорода меняется в небольших пределах, однако кооперативные свойства гемоглобина, проявляющиеся в S-образной форме кривой, приводят к тому, что даже при небольших изменениях парциального давления кислорода значительно меняется степень насыщения им гемоглобина. Если бы гемоглобин не проявлял свойство кооперативности, то отщепление кислорода в тканях происходило бы не столь интенсивно.

## 5. СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Термин "мембраны" как окружающей клетку невидимой плёнки, служащей барьером между содержимым клетки и внешней средой и одновременно - полупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и некоторые растворенные в ней вещества, был впервые использован, по-видимому, ботаниками фон Модем и независимо К. фон Негели (1817-1891) в 1855 г для объяснения явлений плазмолиза. В 1877 г. ботаник В. Пфедер (1845-1920) опубликовал свой труд "Исследования осмоса" (Leipzig), где постулировал существование клеточных мем-

бран, основываясь на сходстве между клетками и осмометрами, имеющими искусственные полупроницаемые мембраны, которые были приготовлены незадолго до этого М. Траубе.

Дальнейшее изучение осмотических явлений в растительных клетках датским ботаником Х. де Фризом (1848-1935) послужило фундаментом при создании физико-химических теорий осмотического давления и электролитической диссоциации датчанином Я. Вант-Гоффом (1852-1911) и шведским ученым С. Аррениусом (1859-1922). В 1888 году немецкий физико-химик В. Нернст (1864-1941) вывел уравнение диффузионного потенциала. В 1890 году немецкий физико-химик и философ В. Оствальд (1853-1932) обратил внимание на возможную роль мембран в биоэлектрических процессах.

Между 1895 и 1902 годами Э. Овертон (1865-1933) измерил проницаемость клеточной мембраны для большого числа соединений и показал прямую зависимость между способностью этих соединений проникать через мембраны и их растворимостью в липидах. Это было чётким указанием на то, что именно липиды формируют плёнку, через которую проходят в клетку вещества из окружающего раствора. В 1902 году Ю. Бернштейн (1839-1917) привлек для объяснения электрических свойств живых клеток мембранную гипотезу.

В 1925 году Гортер и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в два раза больше суммарной площади эритроцитов. Гортер и Грендел экстрагировали липиды из гемолизированных эритроцитов ацетоном, затем выпаривали раствор на поверхности воды и измеряли площадь образовавшейся мономолекулярной пленки липидов. На основе результатов этих исследований было сделано предположение, что липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя. Это предположение подтвердили исследования электрических параметров биологических мембран (Коул и Кёртис, 1935 год): высокое электрическое сопротивление, порядка  $10^7$  Ом $\cdot$ м $^2$  и большая электроемкость. Вместе с тем имелись экспериментальные данные, которые свидетельствовали о том, что биологическая мембрана содержит в своем составе и белковые молекулы.

Эти противоречия экспериментальных результатов были устранены Даниелли и Давсоном, предложившими в 1935 году "бутербродную" модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течение почти 40 лет. Согласно этой модели, на поверхности фосфолипидного бислоя в мембранах располагаются белки.

Биофизика мембран изучает структуру биологических мембран, транспорт веществ через них, генерацию и распространение нервного импульса, процессы рецепции и преобразования энергии, большинство которых осуществляются на биомембранах.

Биологические мембраны выполняют в организме множество функций: они ограничивают клетку (так называемые цитоплазматические мембраны или плазмалемма) и клеточные органеллы, разделяя клетку на отдельные области (компартаменты), что позволяет поддерживать неравновесное состояние организма; формируют межклеточные контакты, обеспечивают механическую защиту клеток, избирательный и регулируемый транспорт веществ, проведение нервного импульса, участвуют в синтезе АТФ, обеспечивают оптимальное расположение в пространстве мембранных белков, которые осуществляют ферментативные реакции, обеспечивают работу рецепторов, иммунной системы.

Данный раздел биофизики особенно важен для биологии и в связи с тем, что эффективность лекарств зависит от скорости их проникновения в ту или иную ткань, что определяется проницаемостью биологических мембран. Кроме того, действие многих лекарств направлено на изменение проницаемости мембран для некоторых веществ или на изменение других свойств мембран. Так как многие патологические процессы, действие физических и химических факторов в первую очередь отражаются на мембранах, то изучение их свойств нашло широкое применение в биологии.

### **5.1. Химический состав биологических мембран.**

В настоящее время является общепризнанной предложенная в 1971 году Николсоном и Сингером жидкостно-мозаичная модель биологической мембраны (рис.5.1), согласно которой основу ее строения составляет двойной слой липидов.

*Липиды* биомембран в основном представлены фосфолипидами. Эти соединения состоят из глицерина или сфингозина, к первому атому углерода которых присоединена фосфорная кислота, а один или два других этерифицированы остатками жирных кислот. Фосфорная кислота, кроме того, связана с полярным соединением (холином, этаноламином, серином и др.). Молекула лецитина (рис. 5.2) имеет в своем составе одну положительно и одну отрицательно заряженные группы и поэтому является диполем. Некоторые другие фосфолипиды имеют один положительный и два отрицательных заряда.

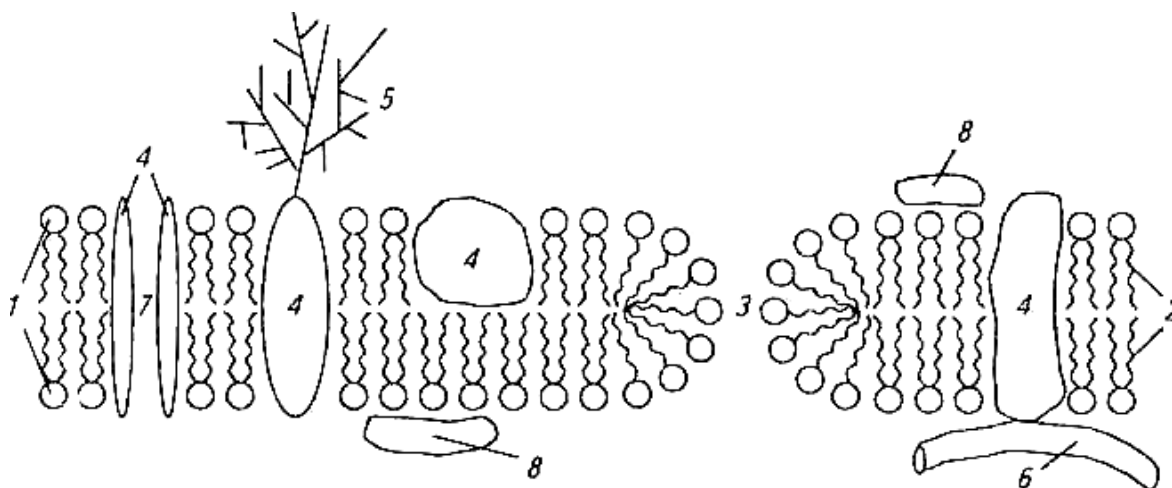


Рис. 5.1. Схема строения биологической мембраны:

1 — гидрофильные «головки» липидов; 2 — гидрофобные «хвосты» липидов; 3 — гидрофильная липидная пора; 4 — интегральные белки; 5 — углеводная компонента гликолипида; 6 — микротрубочка, удерживающая белок; 7 — белковый канал; 8 — периферические белки

Липиды обладают свойством амфифильности (или амфипатичности) (амфифильность — в переводе с греческого означает «любящий обоих»), так как имеют в своем составе полярную гидрофильную «головку» и неполярный гидрофобный «хвост» (рис. 5.2), относящиеся друг к другу по длине приблизительно как 1: 4. Благодаря такому строению, в водной среде липиды стремятся расположиться таким образом, чтобы неполярные хвосты контактировали друг с другом, а полярные «головки» — с водой. Поэтому липиды в гидрофильной среде самопроизвольно формируют двойной слой (бислоем): внутри оказываются гидрофобные участки, а снаружи — гидрофильные. Такая организация липидных молекул отвечает состоянию с наименьшим значением потенциала Гиббса. Образовавшийся билипидный слой не образует краев, а стремится замкнуться на себя. Так, например, образуются липосомы (см. ниже).

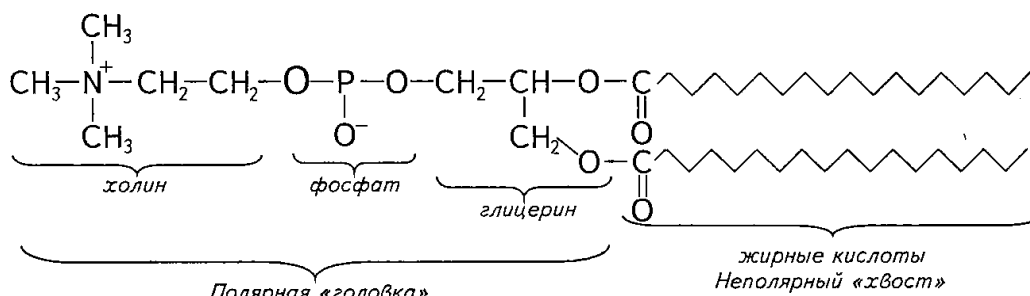


Рис. 5.2. Лецитин (фосфатидилхолин)

Подобное строгое пространственное расположение молекул в мембране во многом определяет ее физические свойства. Мембраны имеют



высокое удельное электрическое сопротивление (порядка  $10^7$  Ом  $\cdot$  м<sup>2</sup>) и высокую удельную емкость (приблизительно  $0,5 \cdot 10^{-2}$  Ф/м<sup>2</sup>). Диэлектрическая проницаемость мембранных липидов равна 2.

Большинство фосфолипидов имеют два жирнокислотных остатка. Такие липиды имеют форму, близкую к цилиндру. Если же в липиде одна из двух жирных кислот отсутствует, например в результате перекисного окисления липидов или действия некоторых фосфолипаз, то молекула напоминает конус. В водном растворе такие липиды образуют мицеллы (рис. 5.3), а в мембране — гидрофильные поры (рис. 5.1), через которые способны проходить молекулы воды и ионы. Изменение проницаемости мембраны для веществ может привести к нарушению функционирования и гибели клетки. Ионизирующее излучение усиливает процессы перекисного окисления липидов способствует образованию пор, что является одним из механизмов поражения клетки при воздействии излучения.

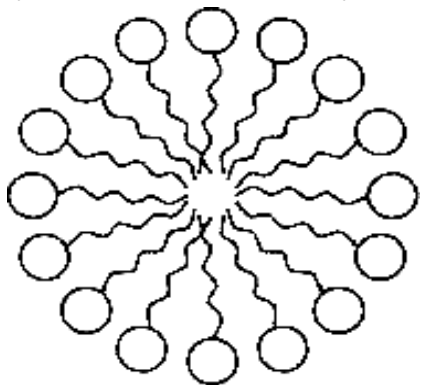


Рис. 5.3. Мицелла

Мембраны содержат большое число различных белков. Их количество так велико, что поверхностное натяжение мембраны ближе к величине поверхностного натяжения на границе раздела «белок—вода» ( $\sigma \sim 10^{-4}$  Н/м), чем «липид—вода» ( $\sigma \sim 10^{-2}$  Н/м). Концентрация мембранных белков зависит от вида клетки. Например, в миелиновой оболочке аксона белков в 2,5 раза меньше, чем липидов, а в эритроцитарной мембране, наоборот,— белков в 2,5 раза больше (рис. 5.4). Одни белки находятся на поверхности мембраны (периферические белки), другие частично погружены в липидный слой или пронизывают мембрану насквозь (интегральные белки).

*Интегральные белки*, так же как и липиды, обладают свойством амфифильности: та часть белка, которая находится в мембране, состоит из гидрофобных аминокислот, обычно скрученных в  $\alpha$ -спираль; другая часть, выступающая из мембраны — из гидрофильных аминокислот. Интегральные белки удерживаются в мембране благодаря гидрофобным взаимодействиям, а кроме них иногда и молекулами цитоскелета — микротрубочками или микрофиламентами (рис. 5.1). К концу интегрального белка, выступающего во внеклеточную среду, могут быть присоединены углеводы. Эти комплексы, называемые гликопротеинами, часто являются рецепторами и играют важную роль в иммунных реакциях организма.

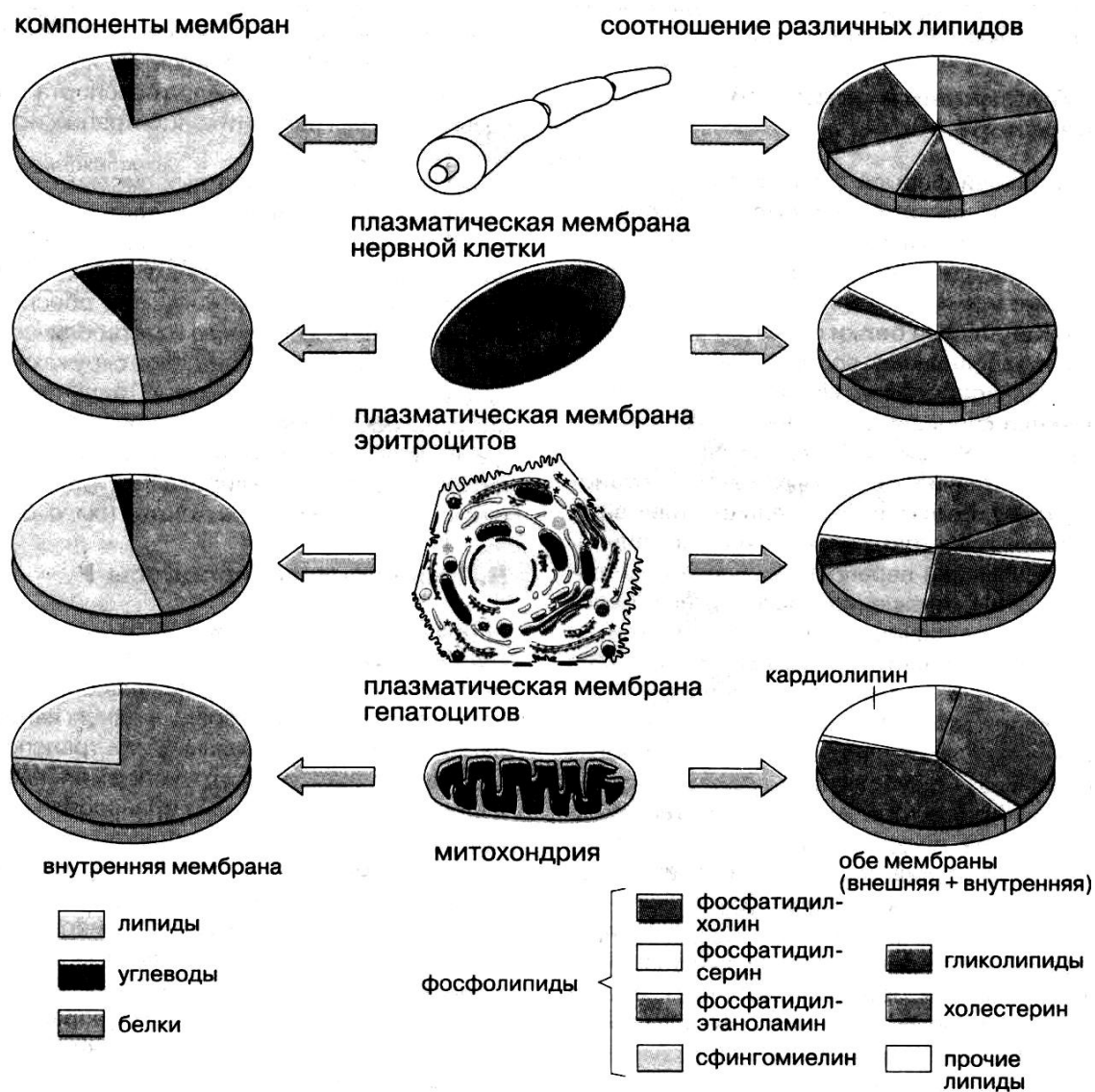


Рис. 5.4. Химический состав биологических мембран

Примерами интегральных белков являются белок фоторецепторных мембран — бактериородопсин, пронизывающий мембрану семь раз, белок эритроцитов — гликофорин, к полипептидной цепи которого могут быть присоединены различные олигосахариды; эти гликопротеины определяют группу крови системы АВО. Многие интегральные белки образуют каналы, через которые могут проходить водорастворимые молекулы и ионы. В этом случае внутренняя часть канала содержит гидрофильные радикалы аминокислот.

*Периферические белки* могут находиться как с внутренней, так и с внешней стороны мембраны. Обычно они связаны с мембраной электро-

статическими взаимодействиями, то есть значительно слабее, чем интегральные белки. Поэтому многие периферические белки легко удаляются с мембраны.

*Углеводы* (как правило, в виде гликолипидов и гликопротеинов) в основном содержатся в гликокаликсе (гликокаликс — мукополисахаридная поверхностная оболочка клетки) животных клеток и клеточной стенке растительных клеток и бактерий. Эти структуры примыкают к липидному бислою. Удельная доля углеводов в биомембранах, как правило, составляет не более 10—15 %.

Толщина биологических мембран составляет 5—10 нм, однако, несмотря на это, их доля в сухой массе клеток превышает 50 %. Это объясняется плотной упаковкой компонентов мембран, а также большой суммарной площадью цитоплазматических и внутриклеточных мембран.

Все природные мембраны асимметричны, то есть одинаковые молекулы липидов находятся на наружной и внутренней поверхностях мембраны в различных концентрациях. Липиды этих двух поверхностей отличаются, как правило, своими гидрофильными головками. Свойство асимметрии присуще и расположению мембранных белков. Например, углеводные компоненты мембранных гликолипидов находятся только снаружи клетки. Асимметрия мембран часто способствует тому, что транспорт веществ осуществляется только в каком-либо одном направлении.

Мембранные липиды и белки обладают большой подвижностью, то есть способны диффундировать вследствие теплового движения. Если перемещение их молекул происходит в пределах одного мембранного слоя, то такой процесс называется *латеральной диффузией*; если же их молекулы перемещаются из одного слоя в другой, то процесс называется «**флип-флоп**»-переход.

Частота перескоков молекул вследствие латеральной диффузии равна

$$\nu = 2\sqrt{3} \frac{D}{A} \quad (5.1)$$

где  $D$  — коэффициент латеральной диффузии;  $A$  — площадь, занимаемая одной молекулой на поверхности мембраны.

Время оседлой жизни молекулы в одном положении обратно пропорционально частоте перескоков:

$$\tau = \frac{1}{\nu} = \frac{A}{2\sqrt{3}D} \quad (5.2)$$

При этом среднее квадратичное перемещение молекул за время  $t$  составляет:

$$S_{\text{ср.кв}} = 2\sqrt{Dt} \quad (5.3)$$

Коэффициент диффузии липидов очень велик. Например, липиды мембран саркоплазматического ретикулума при температуре 40 °С имеют коэффициент диффузии, равный  $1,2 \cdot 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ . Если  $A = 7 \cdot 10^{-19} \text{ м}^2$ , то эти липиды за одну секунду совершают  $5,9 \cdot 10^7$  перескоков, то есть время оседлой жизни липида составляет  $1,7 \cdot 10^{-8} \text{ с}$ . Для молекул яичного лецитина  $S_{\text{ср.кв}} = 5 \text{ мкм}$ , то есть за одну секунду каждая молекула липида способна обежать вокруг такой клетки, как *E. coli* (*Escherichia coli* — кишечная палочка (лат.)). Липиды, находящиеся вблизи молекул белков в пределах двух-трех диаметров липидной молекулы, диффундируют с несколько меньшей скоростью, чем свободные липиды.

Молекулы белков также довольно быстро перемещаются, хотя и медленнее, чем липиды. Так, белковые молекулы антигенов лимфоцитарной мембраны имеют  $D = 10^{-14} \text{ м}^2/\text{с}$ ,  $S_{\text{ср.кв}} = 0,2 \text{ мкм}$ . Подвижность многих мембранных белков бывает резко ограничена микротрубочками или микрофиламентами, удерживающими белки в определенном месте на мембране.

Кроме поступательного движения, мембранные молекулы совершают еще и вращательное. Молекулы фосфолипидов поворачиваются на 1 радиан за  $10^{-9} \text{ с}$ , родопсин — за  $10^{-6} \text{ с}$ , цитохромоксидаза — за  $10^{-4} \text{ с}$ .

По сравнению с латеральной диффузией «флип-флоп»-переходы происходят гораздо реже. Среднее время между переходами молекулы фосфолипида с одной поверхности мембраны на другую не превышает одного часа. Молекулы белков почти не испытывают таких переходов, за редким исключением.

Большие различия между скоростями латеральной диффузии и «флип-флоп»-переходов очень важны. Столь большая скорость латеральной диффузии обеспечивает высокую скорость химических реакций, происходящих на мембранах, а малая скорость «флип-флоп»-переходов способствует сохранению асимметрии мембран.

В организме позвоночных, а также многих беспозвоночных животных существуют так называемые *базальные мембраны*. Эти мембраны представляют собой стенки, окружающие группы клеток или реже отдельные клетки, часто они расположены между эпителиальной и соединительной тканью, в стенках кровеносных сосудов. Строение базальных мембран принципиально отличается от строения билипидных мембран клеток. Базальные мембраны в основном состоят из гликолипидов и бел-

ков (коллагена, ламинина, фибронектина и др.). Они обеспечивают механические связи между клетками, играют роль фильтра, особенно в стенках кровеносных сосудов, где они регулируют проникновение веществ из крови в ткани. Система базальных мембран капилляров мозга называется гематоэнцефалическим барьером. Благодаря ему в мозг не проникают многие вещества, в том числе целый ряд ксенобиотиков.

## 5.2. Искусственные мембранные структуры

Для изучения многих свойств мембран, таких, как проницаемость для различных веществ (в том числе и лекарств), электропроводность, механизм формирования трансмембранных потенциалов и других, удобно использовать не природные, а искусственные мембраны. Последних существует несколько видов.

Известно, что липиды, нанесенные на поверхность воды, не смешиваются с ней, а образуют пленку. При нанесении некоторого количества липидов на поверхность воды можно получить *мономолекулярный слой*. Благодаря свойству амфифильности, на границе раздела вода — воздух гидрофильные «головки» липидов обращены к воде, а гидрофобные «хвосты» — в воздух.

Такие мономолекулярные слои удобно использовать для изучения механических свойств мембран, подвижности и упаковки мембранных молекул, всевозможных процессов, протекающих на границе раздела фаз, а также действия лекарств. Монослои готовят не только из искусственных липидов, но и из липидов природных мембран как здоровых, так и патологических клеток, что позволяет проводить ряд биологических исследований. Известно, что некоторые физические (например изменение температуры) и химические (например действие некоторых анестетиков) воздействия способны изменить величину площади, занимаемой одной молекулой фосфолипида. Монослои позволяют относительно несложными методами измерить величину этого изменения.

На способности липидов образовывать мономолекулярные слои на границе раздела гидрофобной и гидрофильной фаз основано действие моющих средств. Мыло состоит из липидных молекул, которые в воде окружают засаленные участки отмываемой поверхности. Гидрофобные фрагменты загрязнений оказываются внутри капсулы, окруженной монослоем из молекул мыла. Снаружи такая капсула имеет гидрофильные группы и поэтому легко смывается водой.

Монослои имеют существенный недостаток: они состоят из одного

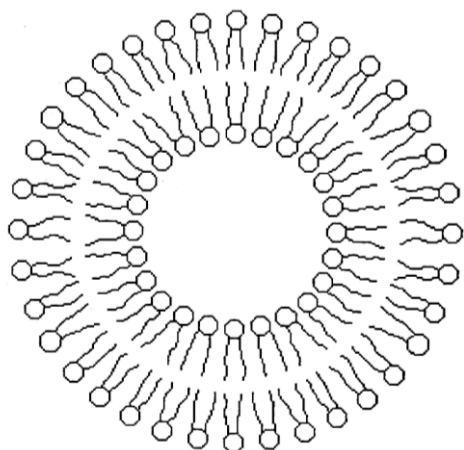


Рис. 5.5. Липосома

слоя липидов, в то время как природные мембраны образованы двумя слоями. Этого недостатка лишены такие искусственные мембранные структуры, как липосомы и плоские бислойные липидные мембраны.

*Липосомы* (рис.5.5) образуются при добавлении фосфолипидов в полярный растворитель. При этом происходит самопроизвольное формирование бислойных замкнутых структур, так как именно такая структура отвечает состоянию с минимальной энергией. Как правило, спонтанно образуются многослойные (*мультиламеллярные*) липосомы, в кото-

рых каждый липидный бислой отделен от другого слоем воды. Толщина билипидных слоев составляет 6,5—7,5 нм, в зависимости от природы липидов. Монослойные (*моноламеллярные*) липосомы можно получить при воздействии ультразвуком на эмульсию с многослойными липосомами. Липосомы, полученные этим методом, не очень удобны для исследований, так как слишком малы (диаметр 20—40 нм). В настоящее время существуют методы для получения липосом большего размера (диаметром до 400 нм и более). Липосомы могут образовывать и природные мембраны при действии на них разрушающих факторов (ультразвук, механические воздействия).

В состав мембраны липосом, кроме липидов, могут быть включены белки, а также небольшие фрагменты природных мембран. Липосомы, содержащие белки, называются *протеолипосомами*. Они широко применяются для исследования мембран. Липосомы позволяют, изменяя липидный и белковый состав, смоделировать цитоплазматические мембраны митохондрий, мембраны эндоплазматического ретикулума и других органелл клетки. С помощью липосом можно определить проницаемость мембраны для того или иного лекарственного препарата. Для этого липосомы получают в растворе, содержащем изучаемый препарат. Часть препарата оказывается внутри липосом, после этого оставшуюся часть выводят из окружающего раствора и по количеству препарата, просачиваемого из липосом в раствор за определенное время, определяют скорость его выхода.

Липосомы можно использовать не только в научных исследованиях, но и на практике. При введении внутрь липосомы лекарственного препарата облегчается его доставка и проникновение в ткани или органы. Состав липосомальных липидов можно подобрать таким образом, что такая оболочка будет совершенно не токсична. В косметологии, например, в состав кремов включают липосомы, содержащие биологически активные вещества. Рассматривается возможность введения инсулина с помощью липосом. Билипидная оболочка защитит белковую молекулу инсулина от действия ферментов пищеварительного тракта. Это позволит вводить инсулин перорально, а не с помощью инъекций.

Иногда требуется доставить препарат именно в данный орган или определенный участок органа. Известно, что каждый класс клеток организма имеет на своей мембране среди множества белков отличительные белки (антигены), свойственные только этим клеткам. К каждому антигену существует комплементарная молекула (антитело), способная взаимодействовать только со «своим» антигеном. Если такое антитело включить в билипидную оболочку липосомы, то, случайно оказавшись (с током крови) возле нужного антигена, к клетке прикрепится антитело, а с ним — и липосома с лекарством. Однако подобные методы терапии еще только разрабатываются.

*Плоские бислойные липидные мембраны (БЛМ)* можно получить, если на небольшое отверстие диаметром около 1 мм в тонкой фторопластовой пластине, помещенной в воду, нанести каплю углеводородного (например гептанового) раствора липида. Растворитель диффундирует в раствор, образуется толстая липидная пленка, которая самопроизвольно утончается в течение 5—20 мин до тех пор, пока не получится билипидная мембрана толщиной 5—7 нм (рис. 5.6). Утончению пленки способствуют силы поверхностного натяжения и силы Ван-дер-Ваальса, притягивающие слои воды по обе стороны пленки. Лишние липидные молекулы скапливаются на ободке отверстия в пластиковом стаканчике, образуя торус.

В БЛМ, так же как и в липосомы, можно включить белки, например, формирующие белковый канал для какого-либо иона, и другие мембранные компоненты, что делает БЛМ хорошим объектом для изучения электрических, транспортных и других свойств мембран. Например, БЛМ помогли изучить действие антибиотиков валиномицина и грамицидина, а также ряда других лекарственных препаратов, изменяющих проницаемость мембраны.

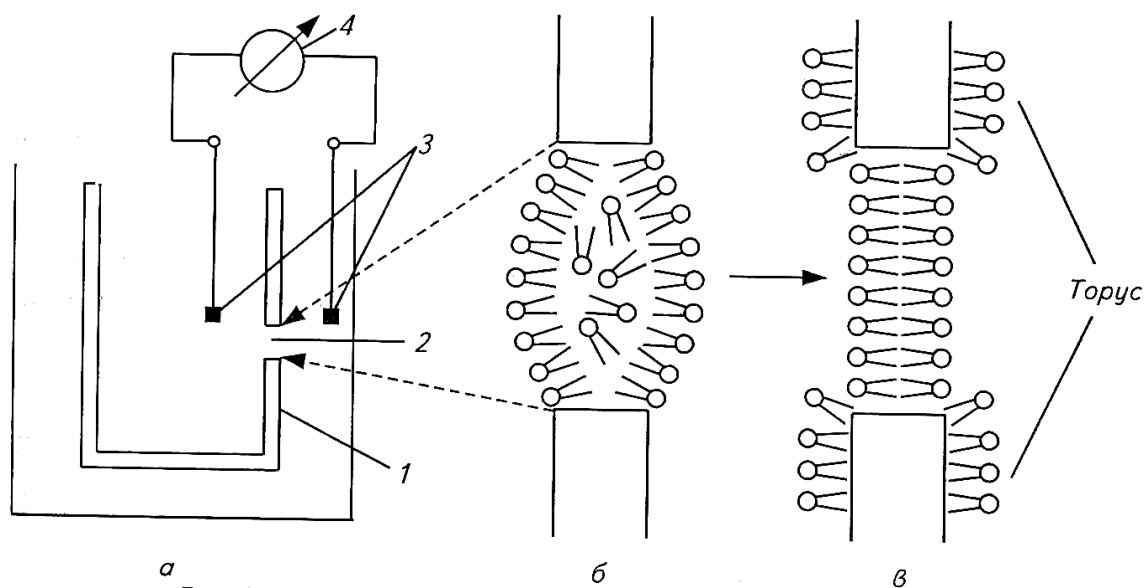


Рис. 5.6. Образование бислойной липидной мембраны:  
 а — ячейка для получения БЛМ и изучения ее свойств; б и в — последовательные этапы формирования БЛМ; 1 — фторопластовый стаканчик; 2 — отверстие в стенке стаканчика; 3 — электроды; 4 — вольтметр.

Важную информацию можно получить, измеряя разность потенциалов в растворах по обе стороны БЛМ.

### 5.3 Фазовые переходы в мембранах

При нормальных физиологических условиях мембраны находятся в жидком состоянии, однако, в отличие от жидкостей, они имеют строгую упорядоченную пространственную структуру. Благодаря таким свойствам состояние мембран называется *жидкокристаллическим*.

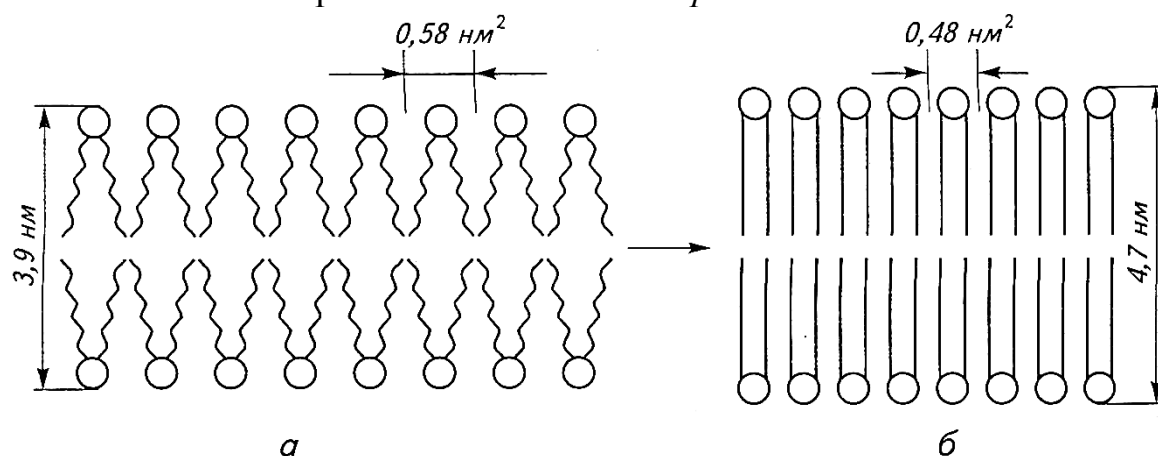


Рис. 5.7. Фазовый переход мембранных липидов из жидкокристаллического состояния (а) в гель-состояние (б) при понижении температуры.



По данным физических методов анализа, таких как рентгеноструктурный анализ, микрокалориметрия (измерение теплоемкости) и других, биологические мембраны способны испытывать фазовый переход первого рода. С понижением температуры мембраны переходят из жидкокристаллического состояния в *твёрдокристаллическое* (гель-состояние).

При таком переходе сохраняется общая структура мембраны: липиды по-прежнему образуют двойной слой с обращенными внутрь гидрофобными «хвостами», но порядок в системе еще более возрастает: «хвосты» липидов вытянуты строго параллельно друг другу (рис. 5.7), их колебания ограничены. Если в жидком состоянии площадь мембраны, приходящаяся на одну молекулу липида, составляет  $0,58 \text{ нм}^2$ , то в гель-состоянии эта величина уменьшается до  $0,48 \text{ нм}^2$ . Толщина мембраны при переходе в твёрдокристаллическое состояние увеличивается, но за счет уменьшения площади объем мембраны в целом уменьшается.

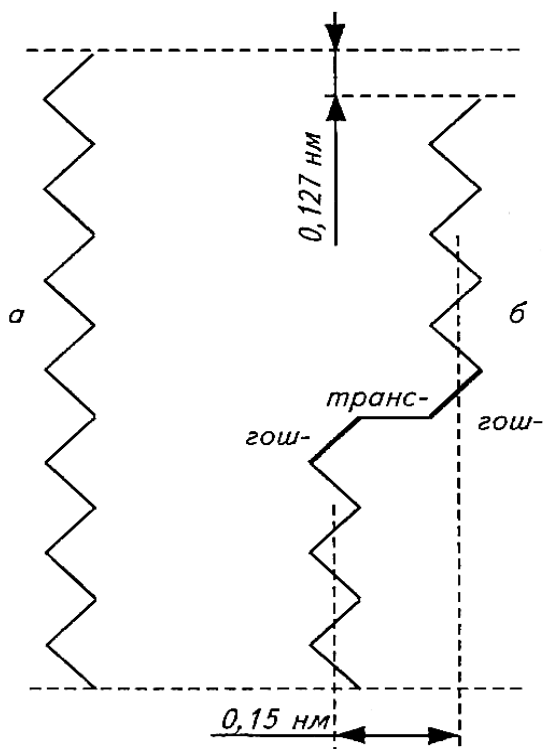


Рис. 5.8. Углеводородные цепи полностью в *транс*-конформации (а) и в *гош*-конформации (б)

Подвижность липидных молекул в обоих фазовых состояниях существенно отличается. В гель-состоянии липиды способны вершать только совместные колебания или вращательные движения. В жидком состоянии липидные «хвосты» имеют гораздо большую свободу, особенно велика их ность в середине мембраны. Молекулы липидов жидкой мембраны могут находиться в двух конформациях: в полностью *транс*- и в двойной *гош*-конформации (поворот на  $+120^\circ$  относительно *транс*-конформации) (*гош-транс-гош*-конформации), в гель-состоянии реализуется только *транс*-конформация (рис. 5.8). Длина молекулы в *гош*-конформации меньше, чем в *транс*-, а ширина, наоборот,— больше; этим объясняется уменьшение толщины и увеличение площади мембраны, приходящейся на один липид, при переходе из гель- в жидкокристаллическое состояние.

Способность липидов жидкокристаллической мембраны переходить в *гош*-конформации способствует повышению ее проницаемости для некоторых гидрофильных низкомолекулярных соединений, например воды. Если два соседних участка рядом расположенных молекул находятся в *гош*-конформации (рис. 5.9), то образуется так называемый *кинк* (от англ. *kink* — изгиб). Кинки способны перемещаться вдоль липидных «хвостов», и случайно оказавшаяся между ними небольшая молекула может таким образом пересечь гидрофобный слой.

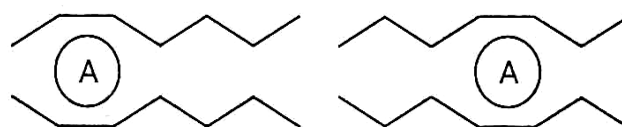


Рис. 5.9. Перенос молекулы А в результате диффузии кинка

В последнее время доказано, что при фазовых переходах из жидкокристаллического состояния в гель-состояние и обратно в мембранах образуются поры диаметром 2—6 нм. То есть при фазовом переходе увеличивается проницаемость мембраны для ионов и низкомолекулярных соединений, способных проходить через такие поры. Ниже будет показано, что проведение нервного импульса определяется изменением проницаемости мембраны для некоторых ионов. Было высказано предположение, что механизмы терморцепции (чувствительность нервных клеток-рецепторов к изменению температуры), возможно, определяются фазовым переходом в мембранах рецепторов, который способствует возникновению нервного импульса. Так как фазовый переход может иметь и химическую природу (например, липиды мембраны могут перейти в гель-состояние вследствие увеличения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  от 1 до 10 ммоль/л в межклеточной жидкости), то, возможно, эти процессы определяют и хеморецепцию (чувствительность к химическим веществам).

Фазовый переход в мембранах происходит не мгновенно, а на протяжении некоторого температурного интервала. *Температурой фазового перехода* называется температура, при которой одна половина мембран-

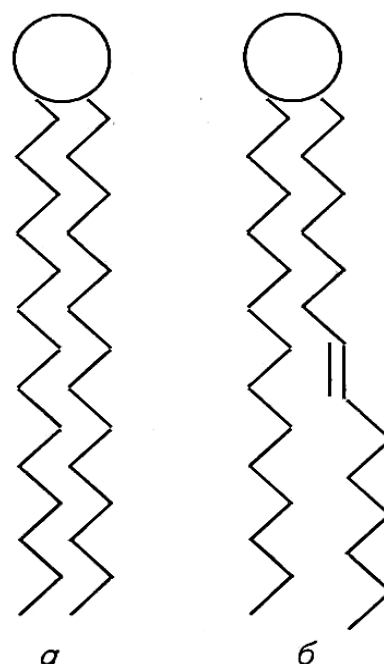


Рис. 5.10. Полностью насыщенный липид (а) и липид, у которого один из жирнокислотных остатков является ненасыщенным (б)

ных липидов находится в жидкокристаллическом состоянии, а другая половина — в твердокристаллическом.

Температура фазового перехода зависит от липидного состава мембран: чем больше в «хвостах» липидов двойных связей (а их число в одном «хвосте» молекулы может колебаться от нуля до четырех), то есть чем больше степень ненасыщенности жирнокислотных остатков, тем ниже температура фазового перехода.

Для мембран, состоящих из насыщенных липидов, эта величина составляет  $+60^{\circ}\text{C}$ , а для мембран, состоящих из ненасыщенных липидов, — снижается до  $-20^{\circ}\text{C}$ . Такая разница в температурах плавления объясняется тем, что ненасыщенные жирные кислоты, находящиеся в *цис*-конформации, способствуют удалению друг от друга молекул липидов, и, следовательно, уменьшают силы сцепления между ними (рис. 5.10). Чем слабее взаимосвязь между молекулами, тем ниже температура перехода мембран в жидкую фазу.

Живые организмы, обитающие в разных климатических условиях, имеют различное соотношение насыщенных и ненасыщенных связей в молекулах липидов, что обеспечивает им приспособление к холоду или жаре в зависимости от среды их обитания. Более того, это соотношение меняется для разных участков тела одного и того же организма. Например, температура ноги возле копыта полярного оленя может составлять  $-20^{\circ}\text{C}$ , а температура ноги возле туловища достигает  $+30^{\circ}\text{C}$ . Однако клеточные мембраны не претерпевают фазовый переход за счет того, что мембраны клеток возле копыта содержат больше ненасыщенных липидов, а возле туловища — больше насыщенных. Известно, что животные жиры при комнатной температуре обычно находятся в твердом состоянии, а растительные, наоборот, — в жидком. Это объясняется тем, что в животных клетках меньше ненасыщенных липидов, чем в растительных.

Фазовые переходы мембранных липидов носят кооперативный характер, то есть чем большее количество липидов совершило фазовый переход, тем легче это будет сделать остальным. В идеале, если на каком-либо участке одна молекула липида перешла из твердой в жидкокристаллическую фазу, то за этим сразу же последует фазовый переход всех липидов этого участка (закон «все или ничего»). Такой участок называется *кооперативной единицей*, а число молекул, входящих в него, — *размером кооперативной единицы*  $n$ . Для липидных мембран  $n$  может достигать нескольких десятков. Величина  $n$  тем больше, чем более однороден химический состав мембран. Для уменьшения однообразия липидного состава мембраны животных клеток содержат большое количество холестерина, например, в эритроцитах млекопитающих его удельная до-

ля от всех липидов составляет от 40 до 60%. Это значительно уменьшает размер кооперативной единицы и снижает различия между твердой и жидкой фазами.

Одним из наиболее распространенных методов изучения фазовых переходов в мембранах является метод микрокалориметрии, который позволяет определить количество теплоты  $Q$ , поглощенное при плавлении вещества, содержащего  $\nu$  молей молекул. Зная  $Q$ , можно рассчитать удельную энтальпию плавления:

$$\Delta H = \frac{Q}{\nu} \quad (5.4)$$

Плавление вещества совершается при такой температуре ( $T_{пл}$ ), для которой энергия Гиббса в твердом состоянии ( $G_{тв} = H_{тв} - T_{пл}S_{тв}$ ) равна энергии Гиббса в жидком состоянии ( $G_{жс} = H_{жс} - T_{пл}S_{жс}$ ). Так как  $G_{тв} = G_{жс}$ , то

$$\Delta G = G_{тв} - G_{жс} = \Delta H - T\Delta S = 0, \quad (5.5)$$

откуда изменение энтропии при фазовом переходе:

$$\Delta S = \Delta H/T_{пл}, \quad (5.6)$$

Эта величина примерно одинакова для каждой группы  $CH_2$  и составляет  $4,8 \cdot 10^{-24}$  Дж/К, тогда для моля  $CH_2$ -групп она равна 2,9 Дж/К. Таким образом, чем длиннее углеводородные цепи жирнокислотных остатков, тем больше изменение энтропии, приходящееся на один моль молекул.

Известно, что

$$S = k \ln W, \quad (5.7)$$

где  $k$  — постоянная Больцмана;  $W$  — статистический вес, или число возможных микросостояний системы.

Уравнение (7) позволяет определить изменение числа микросостояний одной  $CH_2$ -группы при фазовом переходе. Если в жидкокристаллическом состоянии число микросостояний равнялось  $W_{жс}$ , а в гелеобразном состоянии —  $W_{тв}$ , то изменение энтропии при фазовом переходе составит:

$$\Delta S = k \ln W_{тв} - k \ln W_{жс} = k \ln(W_{тв}/W_{жс}), \quad (5.8)$$

откуда

$$W_{тв}/W_{жс} = e^{\Delta S/k} = 1/1,4 \quad (5.9)$$

Здесь  $\Delta S < 0$ , так как при переходе в более упорядоченное твердокристаллическое состояние энтропия уменьшается. Таким образом, во время кристаллизации число возможных микросостояний  $CH_2$ -группы уменьшается почти в полтора раза.

## 6. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

Большинство процессов жизнедеятельности, таких, как всасывание, выделение, проведение нервного импульса, мышечное сокращение, синтез АТФ, связано с переносом веществ через мембраны. Этот процесс в биологических системах получил название транспорта.

Если перенос вещества происходит с уменьшением электрохимического потенциала, то есть не требует затрат энергии, то такой транспорт называется *пассивным*. Его разновидностями являются *диффузия* (перемещение веществ в сторону меньшей концентрации) и *фильтрация* (просачивание веществ через поры в сторону меньших значений давления). С помощью диффузии в клетку проникают растворенные молекулы кислорода и углекислого газа, а также не свойственные организму соединения, например яды и лекарственные препараты. Примером фильтрации в организме является перенос воды через стенки кровеносных сосудов, выдавливание плазмы крови в почечные каналы.

Транспорт веществ через липидный бислой с помощью простой диффузии совершается с малой скоростью, особенно в случае заряженных частиц, и почти не контролируется. Поэтому в процессе эволюции для некоторых веществ появились специфические мембранные каналы и мембранные переносчики, которые способствуют повышению скорости переноса и, кроме того, осуществляют *селективный* (избирательный) транспорт. Пассивный транспорт веществ с помощью переносчиков называется *облегченной диффузией*.

Иногда требуется перенести вещество из области с меньшим значением электрохимического потенциала в область с большим его значением. Этот процесс не может протекать самопроизвольно и требует затрат энергии. Такой вид транспорта называется *активным*. Например, в сторону увеличения электрохимического потенциала осуществляется трансмембранный перенос ионов натрия. Если энергия, необходимая для осуществления активного транспорта, берется за счет гидролиза АТФ или окислительно-восстановительных реакций, то такой транспорт называется *первично-активным*; если — за счет градиента концентраций других ионов, то — *вторично-активным* или *сопряженным*.

Через мембрану могут переноситься не только отдельные молекулы, но и твердые тела (*фагоцитоз*), растворы (*пиноцитоз*). Если вещество транспортируется внутрь клетки, то такой вид транспорта называется *эндоцитозом*, если наружу, то — *экзоцитозом*. В первом случае на наружной стороне мембраны образуется впячивание, постепенно превращающееся в пузырек, который отрывается от мембраны внутри клетки. Такой

пузырек (фаго- или пиносома) содержит внутри транспортируемое вещество, окруженное билипидной оболочкой (везикулой). В дальнейшем везикула сливается с какой-нибудь клеточной органеллой (например лизосомой) и выпускает в нее свое содержимое. В случае экзоцитоза процесс происходит в обратной последовательности: везикула подходит к мембране с внутренней стороны клетки, сливается с ней и выбрасывает свое содержимое в межклеточное пространство.

### 6.1. Пассивный транспорт нейтральных частиц.

При наличии градиента концентраций вещества совершается *диффузия* или *пассивный транспорт* указанного вещества из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией. Это явление происходит самопроизвольно (без затрат энергии) до тех пор, пока концентрации не выровняются, и суммарный поток вещества не обратится в ноль (в случае живых клеток такое выравнивание может и не наступить, если вещества непрерывно синтезируются или, наоборот, затрачиваются в ходе химических реакций в какой-либо области пространства).

Диффузия возможна по всем направлениям в пространстве, и в каждом направлении скорость ее может быть различной. Чтобы упростить вычисления, выберем только одно направление. Пассивный перенос вещества вдоль оси  $x$  описывается уравнением Фика:

$$J = -D \frac{dc}{dx}; \quad (6.1)$$

где  $J$  — поток вещества;  $D$  — коэффициент диффузии;  $dc/dx$  — градиент концентрации  $c$  в направлении  $x$ . Знак « $-$ » означает, что поток направлен в сторону меньших значений концентрации, то есть приводит к уменьшению величины концентрационного градиента.

**Поток** численно равен количеству перенесенного вещества за единицу времени через единицу площади поверхности, перпендикулярной направлению переноса:

$$J = \frac{1}{S} \cdot \frac{dM}{dt} \quad (6.2)$$

где  $dM$  — количество перенесенного вещества за время  $dt$  через поверхность площадью  $S$ . Так как  $dM/dt$  — это скорость переноса вещества, то поток прямо пропорционален данной величине.

Строго говоря, потоком называется скорость переноса, то есть количество перенесенного вещества (или другой величины) за единицу времени. Поток, отнесенный к единице площади поверхности, через кото-

рую осуществляется перенос, называется *плотностью потока*. Иногда, особенно при описании процессов транспорта веществ, слово «плотность» опускают.

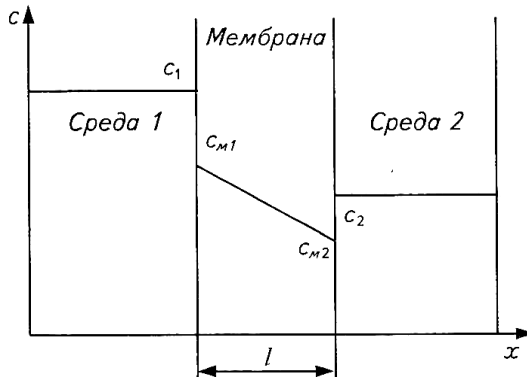


Рис. 6.1. Перенос вещества через мембрану

Рассмотрим пассивный транспорт незаряженных частиц через мембрану. Если концентрация  $c_{m1}$  частиц на одной стороне мембраны у внутренней ее границы отлична от концентрации  $c_{m2}$  на другой стороне у внутренней границы (рис. 6.1), то на мембране создается градиент концентраций. В некотором приближении указанный градиент можно считать постоянной величиной. При условии, что  $c_{m1} > c_{m2}$ , запишем:

$$\frac{dc}{dx} = \frac{c_{m1} - c_{m2}}{l} \quad (6.3)$$

где  $l$  — толщина мембраны. Подставив выражение (3) в уравнение Фика (6.1), получаем:

$$J = -D \frac{c_{m1} - c_{m2}}{l} \quad (6.4)$$

Введем понятие **коэффициента распределения** вещества между мембраной и окружающей средой:

$$K = \frac{c_{m1}}{c_1} = \frac{c_{m2}}{c_2} \quad (6.5)$$

где  $c_1$  и  $c_2$  — концентрация вещества в среде 1 и среде 2 соответственно (рис. 6.1). Различия в значениях  $c_{m1}$  и  $c_1$ ,  $c_{m2}$  и  $c_2$  объясняется различной растворимостью вещества в полярных и неполярных растворителях. Значение  $K$  может быть как больше, так и меньше единицы. Выразим  $c_{m1}$  и  $c_{m2}$  из формулы (5):

$$c_{m1} = Kc_1; \quad c_{m2} = Kc_2 \quad (6.6)$$

и подставим их в выражение (6.4):

$$J = -DK \frac{c_{m1} - c_{m2}}{l} \quad (6.7)$$

Введем обозначение

$$P = \frac{DK}{l} \quad (6.8)$$

где  $P$  называют *коэффициентом проницаемости* или просто *проницаемостью*.

$$J = -P(c_2 - c_1). \quad (6.9)$$

Связь коэффициента проницаемости с другими величинами в последнем уравнении полна глубокого физического смысла. В самом деле проницаемость:

1. Прямо пропорциональна коэффициенту диффузии иона  $D$  в веществе мембраны. Последняя величина связана с геометрическими размерами иона и вязкостью мембраны. Для сферических частиц коэффициент диффузии связан с вязкостью среды  $\eta$  и радиусом иона  $r$  уравнением Стокса:

$$D = kT / 6\eta r \quad (6.10)$$

2. В более вязкой среде диффузия затруднена, и проницаемость вязкой мембраны ниже, чем проницаемость мембраны с более "жидким", или лучше сказать, более текучим липидным слоем.

3. Прямо пропорциональна коэффициенту распределения иона  $K$  в системе мембрана/вода, т.е. гидрофобности иона. Поэтому жирорастворимые лекарства проникают в клетки в общем-то лучше, чем водорастворимые.

4. Обратно пропорциональна толщине мембраны  $l$ .

Выражение (6.9) является *законом Фика* для пассивного транспорта веществ через мембрану. Из формул (6.8) и (6.9) видно, что величина потока, а следовательно, и скорость транспорта вещества через мембрану прямо пропорциональны коэффициенту распределения, который количественно отражает степень липофильности вещества. В эксперименте определяют по формуле

$$K = \frac{c_l}{c_s} \quad (6.11)$$

где  $c_l$  — концентрация вещества в липофильной среде;  $c_s$  — концентрация этого же вещества в гидрофильной среде.

Чем больше значение  $K$ , тем лучше вещество растворяется в мембране и с тем большей скоростью переносится через нее. Для нейтральных веществ с приблизительно одинаковыми молекулярными массами и диаметром молекулы, но с разным значением коэффициента распределе-



ния это доказано экспериментально. Например, коэффициент проницаемости мембраны бычьих эритроцитов для 1,2-дигидроксипропана, имеющего  $K = 570$ , в 235 раз выше, чем для глицерина, коэффициент распределения которого равен 7. Напомним, что глицерин отличается от 1,2-дигидроксипропана наличием третьей гидроксильной группы, способной образовывать водородные связи с молекулами воды, что значительно повышает гидрофильность глицерина. Скорость проникновения в клетку лекарств также напрямую зависит от их коэффициента распределения в неполярном и полярном растворителях.

При переносе одного моля вещества из области, где концентрация этого вещества равна  $c_1$ , в область, где его концентрация равна  $c_2$ , происходит изменение свободной осмотической энергии:

$$\Delta G = RT(\ln c_2 - \ln c_1). \quad (6.12)$$

Для бесконечно малых изменений концентраций можно записать:

$$\Delta G = RT d(\ln) = RT dc/c. \quad (6.13)$$

Разделим выражение (6.13) на  $dx$ :

$$\frac{dG}{dx} = RT \frac{1}{c} \cdot \frac{dc}{dx} \quad (6.14)$$

Выразим

$$\frac{dc}{dx} = \frac{c}{RT} \cdot \frac{dG}{dx} \quad (6.15)$$

и подставим в уравнение Фика (6.12):

$$J = - \frac{Dc}{RT} \cdot \frac{dG}{dx} = -uc \frac{dG}{dx} \quad (6.16)$$

где коэффициент

$$u = \frac{D}{RT} \quad (6.17)$$

называется *подвижностью частицы*. Таким образом, поток, прямо пропорционален концентрации и градиенту свободной энергии, а подвижность частиц играет роль коэффициента пропорциональности.

## 6.2. Пассивный транспорт ионов

Все вышеизложенное относилось к незаряженным частицам. Поток частиц, обладающих зарядом  $q$ , при наличии градиента электрического потенциала  $d\phi/dx$ ; равен

$$J = -qnu \frac{d\phi}{dx} \quad (6.18)$$

где  $n$  — число частиц в единице объема;  $u$  — подвижность частицы.

Изменение свободной электрической энергии одного моля заряженных частиц составляет:

$$\Delta G = zF(\phi_2 - \phi_1) = zeN_A(\phi_2 - \phi_1) = qN_A(\phi_2 - \phi_1), \quad (6.19)$$

где  $z$  — заряд иона в единицах элементарного заряда;  $F = N_A e$  — число Фарадея;  $e$  — элементарный электрический заряд;  $N_A$  — число Авогадро;  $\phi_1$  — электрический потенциал в той области пространства, откуда переносятся ионы;  $\phi_2$  — электрический потенциал в той области пространства, куда переносятся ионы. Перейдя от разностей к дифференциалам и разделив это выражение на  $dx$ , получаем:

$$\frac{dG}{dx} = qN_A \frac{d\phi}{dx} \quad (6.20)$$

$$\frac{d\phi}{dx} = \frac{1}{qN_A} \cdot \frac{dG}{dx} \quad (6.21)$$

Выразив и подставив в уравнение (18):

$$J = -uc \frac{dG}{dx} \quad (6.22)$$

где  $c = n/N_A$  — молярная концентрация.

Таким образом, уравнения для потоков как незаряженных, так и заряженных частиц сходны. В том случае, когда изменяется не только концентрация вещества и электрический потенциал, но и стандартный химический потенциал ( $\mu_0$ ), уравнение для потока вещества записывается в следующем виде (**уравнение Теорелла**):

$$J = -uc \frac{d\tilde{\mu}}{dx} \quad (6.23)$$

Подставив в уравнение (6.23) выражение для электрохимического потенциала, получаем следующее:

$$J = -uc \frac{d\mu_0}{dx} - uRT \frac{dc}{dx} - cuzF \frac{d\phi}{dx} \quad (6.24)$$

Стандартный химический потенциал  $\mu_0$  зависит только от природы вещества и природы растворителя. Если во всей рассматриваемой области диффузии отсутствуют химические превращения вещества и растворитель одинаков, то  $\mu_0/dx = 0$ . В этом случае уравнение Теорелла сводится к **электродиффузионному уравнению Нернста—Планка**:

$$J = -uRT \frac{dc}{dx} - cuzF \frac{d\phi}{dx} \quad (6.25)$$

Это уравнение описывает пассивный перенос частиц в условиях существования градиентов концентрации вещества и электрического потенциала в растворе или в однородной незаряженной мембране.

Один из способов решения уравнения Нернста—Планка предполагает линейную зависимость электрического потенциала  $\phi$  от координаты  $x$  (так называемое приближение постоянного поля) при учете того, что концентрации ионов внутри мембраны пропорциональны соответствующим концентрациям в водных растворах.

Решение электродиффузионного уравнения Нернста—Планка можно записать в виде:

$$J = \frac{zF\Delta\phi P}{RT} \cdot \frac{c_2 \exp(zF\Delta\phi/RT) - c_1}{1 - \exp(zF\Delta\phi/RT)} \quad (6.26)$$

Выражение (6.26) называется **уравнением Гольдмана**. Оно позволяет вычислить величину пассивного потока ионов, если известны их концентрации по обе стороны мембраны, трансмембранная разность потенциалов и коэффициент проницаемости (обычно в эксперименте его определяют методом меченых атомов).

Поток  $J$  в уравнении Гольдмана является суммой двух потоков, один из которых  $J_1$  направлен из области с концентрацией  $c_1$ , в область с концентрацией  $c_2$ , а другой,  $J_2$  — наоборот. Если  $c_1 > c_2$ , то  $J_1 > J_2$ . Так как эти потоки имеют противоположное направление, то один из них берется со знаком «минус»:

$$J = J_1 - J_2 \quad (6.27)$$

Разделив суммарный поток в уравнении (6.26) на односторонние составляющие, получаем выражения для  $J_1$  и  $J_2$

$$J_1 = \frac{zF\Delta\phi P}{RT} \cdot \frac{c_2 \exp(zF\Delta\phi/RT)}{1 - \exp(zF\Delta\phi/RT)} \quad (6.28)$$

$$J_2 = \frac{zF\Delta\phi P}{RT} \cdot \frac{c_1}{1 - \exp(zF\Delta\phi/RT)} \quad (6.29)$$

Так как поток, направленный из области с концентрацией  $c_1$  в область с концентрацией  $c_2$ , зависит только от концентрации  $c_1$  ионов, а поток, направленный из области с концентрацией  $c_2$  в область с концентрацией  $c_1$  — только от концентрации  $c_2$ , то эти уравнения доказывают независимость входящего и выходящего потоков в случае пассивного транспорта при условии линейного изменения электрического потенциала вдоль толщины мембраны.

Отношение противоположно направленных потоков описывается **уравнением Уссинга—Теорелла**:

$$\frac{J_2}{J_1} = \frac{c_1}{c_2} \exp \left[ - \frac{zF\Delta\phi}{RT} \right] \quad (6.30)$$

Пассивный транспорт может происходить только в случае наличия на мембране градиентов концентрации или электрического потенциала (т.е. перенос вещества не происходит, когда суммарный поток равен нулю:  $J = J_1 - J_2 = 0$ , хотя отдельные его компоненты ( $J_1$  или  $J_2$ ) могут быть отличны от нуля) и описывается в общем случае уравнениями Нернста—Планка (25), Гольдмана (26) или Уссинга—Теорелла (30), невыполнение этих уравнений свидетельствует о том, что перенос ионов осуществляется активно или через узкие мембранные каналы, где невозможно существование независимых ионных потоков.

### 6.3. Уравнение Нернста

В живом организме по обе стороны любой биологической мембраны находятся ионные растворы, причем концентрации одного и того же иона по обе стороны часто отличаются. Одной из причин установления и поддержания этих градиентов концентраций является различная проницаемость мембраны для тех или иных ионов. В этом случае градиент концентрации одного вещества может поддерживаться за счет наличия градиента концентрации другого вещества и/или разности потенциалов по обе стороны мембраны (так называемой трансмембранной разности потенциалов).

Условием установления равновесия между двумя растворами, разделенными полупроницаемой мембраной (мембрана, проницаемая для одних веществ и непроницаемая для других), с различными концентрациями одинаковых ионов является равенство электрохимических потенциалов по одну и другую сторону мембраны:

$$RT \ln c_i + zF\phi_i = RT \ln c_o + zF\phi_o, \quad (6.31)$$

где  $c_i$  ( $c_o$ ) и  $\phi_i$  ( $\phi_o$ ) — соответственно концентрации иона и электрические потенциалы внутри (снаружи) клетки или клеточной органеллы (индексы «i» и «o» происходят от англ. *inside* — внутри и *outside* — снаружи). Здесь  $\mu_{oi} = \mu_{oo}$ , так как предполагается, что с ионом по обе стороны мембраны не происходит никаких химических превращений и он находится в одном и том же растворителе.

Из условия уравнения (31) можно получить значение разности электрических потенциалов, которая устанавливается на мембране при наличии градиента концентраций (**уравнение Нернста**):

$$\Delta\phi = \phi_i - \phi_o = \frac{RT}{F} \ln \frac{c_o}{c_i} \quad (6.32)$$

Как видим, причиной существования разности электрических потенциалов на мембране является градиент концентраций. Если  $c_i = c_o$ , то  $\Delta\phi = 0$ .

Рассмотрим случай, когда по обе стороны мембраны находятся ионы калия и хлора различных концентраций. Равновесный мембранный потенциал для ионов калия имеет вид:

$$\Delta\phi = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} \quad (6.33)$$

а для хлора —

$$\Delta\phi = \frac{RT}{F} \ln \frac{[Cl^-]_o}{[Cl^-]_i} \quad (6.34)$$

где  $[K^+]_i$  и  $[Cl^-]_i$  ( $[K^+]_o$  и  $[Cl^-]_o$ ) — концентрации соответствующих ионов внутри (снаружи) клетки. Приравняем уравнения (6.33) и (6.34):

$$\frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} = \frac{[Cl^-]_i}{[Cl^-]_o} = \exp \left[ \frac{zF\Delta\phi}{RT} \right] = r \quad (6.35)$$

где  $r$  — **отношение Доннана**.

Из выражений (6.32) и (6.35) видно, что градиент концентраций по обе стороны мембраны может поддерживаться наличием трансмембранной разности потенциалов, или, наоборот, разность потенциалов опреде-

ляется наличием градиента концентраций; кроме того, трансмембранная разность концентраций одного вещества может поддерживать разность концентраций другого вещества. Например, в эритроцитах наличие градиентов концентраций ионов создает трансмембранный потенциал; в мышечных клетках  $Na^+$ ,  $K^+$ -насосы за счет энергии АТФ создают градиент концентраций ионов, что вызывает, соответственно, появление трансмембранного потенциала, а это, в свою очередь, поддерживает градиент концентрации ионов хлора.

#### 6.4. Равновесие Доннана

В клетке кроме малых ионов находятся еще и заряженные макромолекулы (белки, нуклеиновые кислоты). Рассмотрим случай, когда в системе находятся ионы калия и хлора и отрицательно заряженные макромолекулы, причем мембрана проницаема для малых ионов и непроницаема для крупных молекул. Для каждого из растворов, находящихся по обе стороны мембраны, необходимо выполнение условия электронейтральности, то есть сумма положительных и отрицательных зарядов всех ионов должна равняться нулю.

Следовательно,

$$\begin{aligned} [K^+]_i &= [Cl^-]_i + [R^-]_i; \\ [K^+]_o &= [Cl^-]_o + [R^-]_o, \end{aligned} \quad (6.36)$$

где  $[R^-]_i$  и  $[R^-]_o$  — концентрации макромолекул во внутри- и внеклеточной среде соответственно. Межклеточная жидкость почти не содержит крупных заряженных частиц ( $[R^-]_o = 0$ ), поэтому

$$[K^+]_o = [Cl^-]_o = c \quad (6.37)$$

Объединив равенство (37) и пропорцию (35), получаем:

$$[K^+]_i [Cl^-]_i = [K^+]_o [Cl^-]_o = c^2 \quad (6.38)$$

Подставим в данное выражение условие электронейтральности для внутриклеточной среды (36):

$$\begin{aligned} \{[Cl^-]_i + [R^-]_i\} [Cl^-]_i &= c^2; \\ \text{или} \quad [Cl^-]_i^2 + [R^-]_i [Cl^-]_i - c^2 &= 0. \end{aligned} \quad (6.39)$$

Решив это квадратное уравнение относительно  $[Cl^-]_i$  получаем, что концентрация малых анионов во внутриклеточной среде составляет:

$$[Cl^-]_i = -\frac{[R^-]_i}{2} + \sqrt{\frac{[R^-]_i^2}{4} + c^2} \quad (6.40)$$

Если концентрация макромолекул значительно ниже концентрации малых ионов ( $[R^-] \ll c$ ), то  $\sqrt{\frac{[R^-]_i^2}{4} + c^2} \approx c$ . В этом случае получаем, что

$$[Cl^-]_i = -\frac{[R^-]_i}{2} + c \quad (6.41)$$

Тогда из выражений (6.36) и (6.41) следует, что внутриклеточная концентрация ионов калия составляет:

$$[K^+]_i = -\frac{[R^-]_i}{2} + c \quad (6.42)$$

То есть для компенсации отрицательных зарядов макромолекул часть малых отрицательных ионов выходит из клетки (в данном случае уменьшается концентрация ионов хлора), а часть положительных зарядов проходит в клетку из межклеточной среды (увеличивается концентрация ионов калия).

Возникающая на мембране *доннановская разность потенциалов* составляет:

$$\varphi_i - \varphi_o = -\frac{RT}{F} \ln \frac{[Cl^-]_o}{[Cl^-]_i} = \frac{RT}{F} \ln \frac{c}{c - [R^-]_i/2} = \frac{RT}{F} \ln \left[ 1 - \frac{[R^-]_i}{2c} \right] \quad (6.43)$$

Так как  $\ln(1 - x) \approx -x$  (при малых  $x$ ), то

$$\varphi_i - \varphi_o = -\frac{RT}{F} \cdot \frac{[R^-]_i}{2c} \quad (6.44)$$

Как правило, заряд макромолекулы равен не единице, как было указано выше, а 10—20. Обозначив эту величину  $n$ , можно показать, что трансмембранная разность потенциалов будет равна

$$\varphi_i - \varphi_o = -\frac{RT}{F} \cdot \frac{n[R^-]_i}{2c} \quad (6.45)$$

Например, если концентрация макромолекул составляет 0,01  $c$ ,  $n = 10$ , то доннановская разность потенциалов при температуре 37 °C составит — 1,3 мВ.

## 6.5. Ионный транспорт через каналы.

Транспорт ионов через липидный бислой с помощью простой диффузии совершается крайне медленно. Согласно *формуле Борна*, для проникновения одного моля ионов из раствора с диэлектрической проницаемостью  $\epsilon_v \sim 80$  в мембрану с диэлектрической проницаемостью  $\epsilon_m = 2$  необходимо преодолеть потенциальный барьер, равный:

$$\Delta W = \frac{(ze)^2 N_A}{8\pi\epsilon_0 r} \left[ \frac{1}{\epsilon_m} - \frac{1}{\epsilon_b} \right] \quad (6.46)$$

где  $z$  — заряд иона в единицах элементарного заряда;  $N_A$  — число Авогадро;  $\epsilon_0$  — электрическая постоянная;  $r$  — радиус иона. Для одновалентных ионов  $K^+$  и  $Na^+$   $\Delta W$  составляет от 250 до 350 кДж/моль. Коэффициент распределения, то есть отношение числа ионов  $n_m$ , находящихся в мембране, к числу ионов  $n_b$ , находящихся в жидкой фазе, рассчитывается по **формуле Больцмана**:

$$K = \frac{n_m}{n_b} = \exp \left[ - \frac{\Delta W}{RT} \right] \quad (6.47)$$

где  $RT$  — энергия тепловых колебаний ( $R$  — универсальная газовая постоянная,  $T$  — температура). При температуре 300 К коэффициент распределения составит:

$$K = \exp \left[ - \frac{350000}{8,31 \cdot 300} \right] = \exp (-140) \approx 10^{-60} \quad (6.48)$$

То есть из каждых  $10^{61}$  ионов, находящихся в водном растворе, только один находится в липидной фазе мембраны. Поэтому вероятность прохождения ионов и других гидрофильных веществ через мембрану вследствие простой диффузии ничтожно мала.

Скорость переноса ионов значительно возрастает, если в мембране существуют ионные каналы. Наиболее распространены каналы для ионов калия, натрия, кальция.

Ионные мембранные каналы образованы интегральными белками. Такой канал может быть либо открыт, либо закрыт для транспорта иона. Эти два состояния реализуются изменением конформации каналообразующих белков, что, в свою очередь, может быть вызвано изменением условий в клетке и во внеклеточной среде, например изменением мембранного потенциала (так называемые потенциалзависимые ионные каналы), как в случае натриевых и калиевых каналов нервных волокон. Эти каналы играют важную роль при проведении нервного импульса и являются наиболее изученными. Так как обычно с помощью каналов транспортируются гидрофильные вещества, то во внутренней полости их имеется большое число гидрофильных химических групп.

Если предположить, что электрический потенциал изменяется по всей длине канала линейно ( $d\phi/dx \approx \Delta\phi = const$ ), отношение концентраций ионов внутри мембраны у ее границ и в окружающей среде равно коэффициенту распределения  $K$ , канал однороден и ионы движутся неза-



висимо друг от друга, то транспорт веществ через каналы будет описываться электродиффузионным уравнением Нернста—Планка (6.25).

Однако чаще всего в случае переноса веществ через каналы большинство этих условий не выполняется, и транспорт описывается более сложными уравнениями. Канал, прежде всего, неоднороден по строению: вдоль его внутренней полости располагаются различные химические группы, сродство ионов к которым неодинаково. Канал может иметь один или несколько ионных центров связывания, обычно представляющих собой заряженные группы, связавшись с которыми, ион попадает в потенциальную яму. Для того чтобы попасть в другую потенциальную яму, иону требуется преодолеть некоторый потенциальный барьер. Таких барьеров вдоль длины канала может быть несколько, причем высота их обычно неодинакова и может изменяться в зависимости от наличия или отсутствия ионов в канале, изменения трансмембранной разности потенциалов.

Так как в канале находятся заряженные группы, то предположение о линейном изменении мембранного потенциала не выполняется. Наличие заряженных групп также может привести к непостоянству значений коэффициента распределения по длине канала.

Многие мембранные каналы настолько узки, что ионы не могут в них двигаться в различных направлениях независимо друг от друга: если в какой-либо потенциальной яме уже находится ион, то другой не может в нее попасть. Это относится, например, к калиевым каналам. Встречные потоки ионов натрия через натриевые каналы можно считать независимыми, но если через эти каналы движутся ионы калия, то принцип независимости уже не выполняется.

Для многих каналов, в зависимости от их строения, при высоких концентрациях ионов в окружающей среде наблюдается *эффект насыщения* (при увеличении концентрации ионов скорость их переноса повышается, но только до определенного уровня, выше которого скорость не изменяется) или *блокировки* (при концентрациях ионов выше некоторого значения скорость переноса начинает снижаться).

При переходе одновалентного иона из окружающей среды в канал изменение свободной энергии составляет:

$$\Delta W = \frac{e^2 N_A}{8\pi\epsilon_0 r} \left[ \frac{1}{\epsilon_k} - \frac{1}{\epsilon_b} \right] - \frac{e^2 N_A}{4\pi\epsilon_0(r + a)\epsilon_k} \quad (6.49)$$

где  $\epsilon_b$  — диэлектрическая проницаемость воды;  $\epsilon_k$  — диэлектрическая проницаемость среды канала;  $r$  — радиус иона;  $a$  — радиус канала.

В данном уравнении первое слагаемое обусловлено переходом иона из одной среды в другую с различными диэлектрическими проницаемостями, а второе — связыванием заряженного иона с противоположно заряженной группой канала. В случае транспорта иона через канал величина потенциального барьера снижается по сравнению с потенциальным барьером переноса непосредственно через бислой благодаря наличию второго отрицательного слагаемого, а также благодаря уменьшению первого слагаемого вследствие того, что ион попадает в среду с большим значением диэлектрической проницаемости, по сравнению с диэлектрической проницаемостью мембраны. В результате действия этих факторов  $\Delta W$  при переходе иона через канал составляет около 30 кДж/моль.

Ионные каналы обладают свойством **селективности**, то есть имеют различные величины проводимости для различных ионов. Каждый канал транспортирует преимущественно ионы одного вида, например, натриевый канал — ионы натрия, калиевый — ионы калия (рис. 6.2.). Через катионные каналы не способны проходить анионы и наоборот. Но для ионов того же знака, что и основной ион, канал уже не обладает такой абсолютной селективностью. Проводимость канала для других ионов своего знака ниже, чем для собственного, но отлична от нуля. Например, через специфические натриевые каналы способны транспортироваться также и ионы калия, но в 20 раз медленнее, чем ионы натрия.

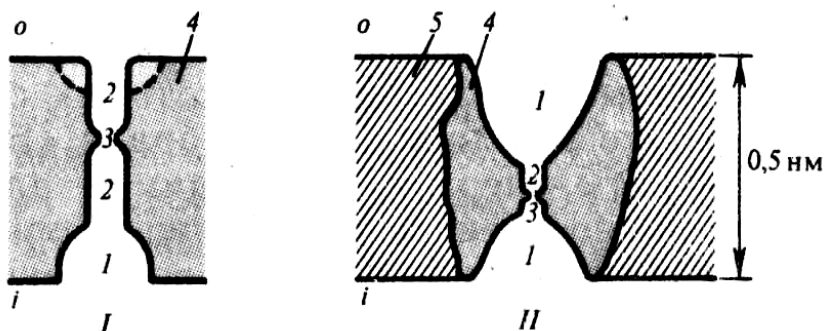


Рис. 6.2. Калиевые каналы аксона (I) и саркоплазматического ретикулума (II): 1 — широкое устье (1 нм), 2 — узкая часть, 3 — селективный фильтр, 4 — белковый компонент, 5 — липидный бислой, о, i — внешняя и внутренняя сторона мембраны.

Калиевый канал — ионы калия, натриевый — ионы натрия (рис. 6.2.). Через катионные каналы не способны проходить анионы и наоборот. Но для ионов того же знака, что и основной ион, канал уже не обладает такой абсолютной селективностью. Проводимость канала для других ионов своего знака ниже, чем для собственного, но отлична от нуля. Например, через специфические натриевые каналы способны транспортироваться также и ионы калия, но в 20 раз медленнее, чем ионы натрия.

Согласно современным представлениям, селективность канала прежде всего определяется радиусом транспортируемого иона. Ионы, радиус которых превы-

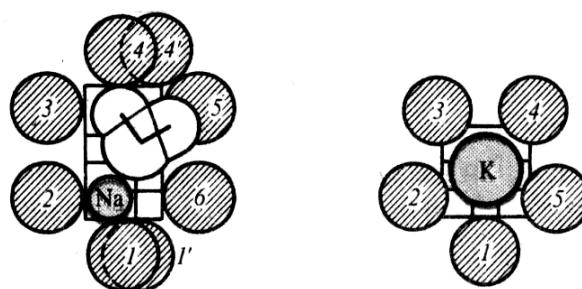


Рис. 6.3. Гипотетическая структура селективных фильтров  $\text{Na}^+$  -  $\text{K}^+$  - с находящимися внутри ионами: 1, 1' —  $\text{COO}^-$  группа, 2 — 6 — атомы кислорода, масштабная сетка нанесена в десятых долях нанометра, в  $\text{Na}^+$ -канале находится молекула воды.

шает радиус канала, не способны проходить через канал вследствие такого стерического несоответствия. Ионы, обладающие меньшим радиусом, по сравнению с радиусом канала, казалось бы, должны легко пересекать его. Однако проницаемость для них уменьшается с уменьшением радиуса иона. Этот эффект объясняется тем, что ионы в водном растворе всегда находятся в гидратированном состоянии. Перенос же через канал требует сброса, если не всех, то, по крайней мере, нескольких гидратных оболочек, что сопровождается значительными затратами энергии. Например, энергия полной дегидратации ионов  $K^+$  и  $Na^+$  составляет от 280 до 400 кДж/моль, в то время как энергия тепловых колебаний при физиологических температурах приблизительно равна 2,5 кДж/моль. Для транспорта иона через канал требуются меньшие затраты энергии по сравнению с энергией полной дегидратации, так как сброшенная гидратная оболочка иона заменяется другими полярными соединениями, в роли которых выступают фиксированные дипольные группы канала. Размер иона должен быть таковым, чтобы ион мог взаимодействовать с оптимальным числом этих полярных групп. Например, ион калия, попав в *селективный фильтр* (самое узкое место в канале, определяющее его селективные свойства) калиевого канала, способен взаимодействовать со всеми пятью атомами кислорода, окружающими просвет поры (рис. 6.3), в то время как меньший по размеру ион натрия, оказавшись в калиевом канале, может связаться только с двумя атомами кислорода. Потенциальная энергия иона калия, находящегося в «своем» канале, не намного превышает его потенциальную энергию в воде, а вот увеличение потенциальной энергии иона натрия, попавшего в калиевый канал, уже значительно. Итак, наилучшим образом через канал проникают те ионы, эффективный радиус которых приблизительно равен радиусу канала.

Селективность каналов определяется не только зависимостью проводимости канала от радиуса транспортируемого иона, но и химическим строением иона, как в случае органических катионов. Например, через натриевые каналы переносятся ионы гидроксиламмония ( $H_3N^+—OH$ ) и не переносятся ионы метиламмония ( $H_3N^+—CH_3$ ), хотя их радиусы почти одинаковы и приблизительно равны радиусу канала. Это объясняется тем, что гидроксильная группа гидроксиламмония способна образовывать водородные связи с атомами кислорода, выстилающими внутренний диаметр канала, а метильная группа метиламмония с ними не взаимодействует.

Каналы могут блокироваться некоторыми соединениями, которые связываются с селективным фильтром или с входом в канал, закупоривая его. Так как молекула-блокатор должна стерически соответствовать уча-

стку блокируемого канала, то для каналов определенного вида существуют специфические блокаторы. Например, молекулы тетродотоксина блокируют натриевые каналы, а молекулы тетраэтиламмония — калиевые.

### 6.6. Пассивный транспорт веществ с помощью переносчиков.

Для некоторых веществ существуют специфические переносчики белковой природы, которые понижают энергию активации, необходимую для переноса вещества через липидный бислой. Переносчики осуществляют так называемую облегченную диффузию. Общий поток веществ через мембрану при участии переносчиков состоит из двух компонент: потока, вызванного простой диффузией (рис. 6.4, кривая 1), и потока, вызванного облегченной диффузией (рис. 6.4, кривая 2). Поэтому в данном случае вещества транспортируются с большей скоростью, чем в случае простой диффузии. Переносчики, осуществляющие пассивный транспорт, переносят вещества из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией и не требуют затрат энергии.

Переносчики обеспечивают транспорт веществ, которые сами по себе проникают через мембрану крайне медленно из-за высокой гидрофильности. Существуют переносчики для некоторых аминокислот, углеводов, пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеозидов. Таким образом, например, происходит всасывание многих пищевых продуктов в кишечнике, процессы реабсорбции в почках.

Отличительные признаки транспорта веществ с помощью переносчиков:

1. Переносчики обладают высокой химической специфичностью, то есть способны переносить только определенные субстраты (некоторые

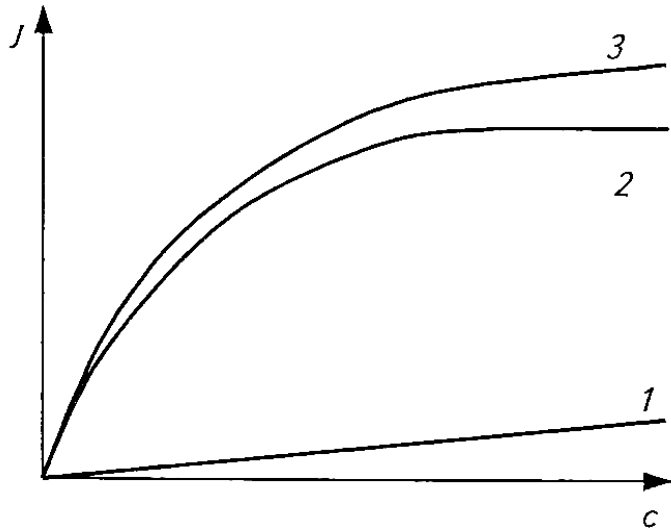


Рис. 6.4. Зависимость потока вещества, переносимого из области, с концентрацией  $c$ , в область, где его концентрация равна нулю, от концентрации  $c$ :

1 — простая диффузия, 2 — транспорт с участием переносчика, 3 — суммарный поток.

переносчики даже способны различать *L*- и *D*-изомеры одного и того же вещества).

2. Скорость переноса возрастает пропорционально концентрации переносимого вещества, но лишь до некоторой определенной величины, то есть наблюдается эффект насыщения переносчика (рис. 6.4, кривая 2). Следует иметь в виду, что в реальной клетке даже при полном насыщении переносчика при увеличении разности концентраций скорость переноса все равно будет возрастать за счет простой диффузии (рис. 6.4, кривая 3).

3. Переносчики способны конкурентно ингибироваться веществами, структура которых сходна со структурой субстрата.

Поток вещества, транспортируемого переносчиками из области, где его концентрация равна  $c$ , в область, где концентрация этого же вещества равна нулю, описывается формулой:

$$J = J_{max} \frac{c}{K_{mp} + c} \quad (6.50)$$

где  $J_{max}$  — максимальный поток (поток в случае насыщения переносчиков);  $K_{mp}$  — константа, аналогичная константе Михаэлиса—Ментен и численно равная концентрации вещества, при которой  $J = J_{max}/2$ .

Тогда односторонние потоки вещества из межклеточной среды в клетку ( $J_i$ ) и из клетки наружу ( $J_o$ ) записываются в виде:

$$J = J_{max} \frac{c_i}{K_{mp} + c_i}, \quad J = J_{max} \frac{c_o}{K_{mp} + c_o} \quad (6.51)$$

где  $c_i$  и  $c_o$  — концентрации вещества внутри и снаружи клетки соответственно.

Если концентрации вещества по обе стороны мембраны отличны от нуля, то суммарный поток будет представлять собой алгебраическую сумму двух разнонаправленных потоков  $J_i$  и  $J_o$ :

$$J = J_i - J_o = J_{max} \left[ \frac{c_i}{K_{mp} + c_i} - \frac{c_o}{K_{mp} + c_o} \right] \quad (6.52)$$

Из формулы видно, что поток со временем будет уменьшаться, пока концентрации не выровняются и поток не станет равным нулю.

Выше уже указывалось, что такое выравнивание в организме обычно не наступает ввиду того, что вещества все время образуются или расходуются в биохимических реакциях. Поэтому обычно величину потока с некоторым приближением можно определять по уравнению (6.50).

График уравнения (6.50), представленный на рис. 6.4, неудобен для определения констант  $J_{max}$  и  $K_{тр}$ . С помощью несложных преобразований уравнение можно свести к виду (уравнение Лайнуивера — Бэрка):

$$\frac{1}{J} = \frac{K_{тр}}{J_{max}c} + \frac{1}{J_{max}} \quad (6.53)$$

Тогда график зависимости  $1/J=f(1/c)$  будет представлять собой прямую (рис. 6.5). Получив экспериментальные значения  $1/J$  и  $1/c$  на некотором ее промежутке, можно путем экстраполяции прямой определить значения  $J_{max}$  и  $K_{тр}$  на пересечении прямой с осями координат. Этот метод позволяет также определить присутствие конкурентного ингибитора переноса данного вещества в системе (рис. 6.5, прямая 2).

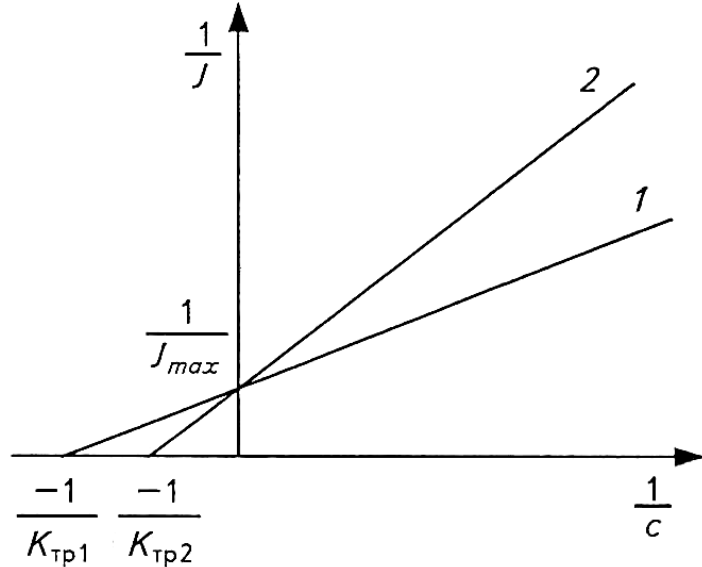


Рис. 6.5. Определение констант  $J_{max}$  и  $K_{тр}$ . По методу Лайнуивера—Бэрка и влияние конкурентного ингибитора на величину потока:

1 — поток вещества в отсутствии ингибитора; 2 — поток вещества в присутствии ингибитора.

Одним из наиболее изученных случаев пассивного транспорта веществ с помощью переносчиков является перенос глюкозы в эритроциты. Переносчик  $D$ -глюкозы

способен транспортировать также вещества, структурно напоминающие субстрат, например,  $D$ -маннозу,  $D$ -ксилозу,  $D$ -арабинозу и  $D$ -галактозу, но не соответствующие  $L$ -сахара. Перечисленные  $D$ -изомеры углеводов вызывают конкурентное ингибирование переносчика  $D$ -глюкозы, который вынужден переносить эти вещества вместо своего собственного субстрата. Другой конкурентный ингибитор транспорта глюкозы в некоторые клетки — флоридзин (глюкозид, получаемый из коры грушевого дерева) — также конкурентно связывается с переносчиком, но в клетку не проникает.

Для того чтобы специфический переносчик сахара перенес другое вещество, последнее должно, по крайней мере, иметь в своей структуре шестиуглеродный пиранозный скелет. Многие природные переносчики

способны переносить некоторые не свойственные организму соединения, например лекарства, если эти вещества обладают структурным сходством с природным субстратом. Так, противоопухолевый препарат из класса азотистых ипритов — сарколизин — содержит фенилаланиновый остаток и поэтому способен транспортироваться в клетку переносчиком для фенилаланина.

Явление насыщения переносчика при высоких концентрациях транспортируемого вещества можно продемонстрировать на примере реабсорбции глюкозы в почечных канальцах. Из курса физиологии известно, что плазма крови выдавливается под действием гидростатического давления (явление фильтрации) в почечный клубочек, а затем реабсорбируется обратно за исключением продуктов обмена и избыточных количеств воды и электролитов. Если концентрация глюкозы в плазме крови не превышает так называемый почечный порог, величина которого составляет 11 ммоль/л (2 г/л), то глюкоза реабсорбируется полностью. В противном случае наблюдается явление насыщения системы переноса глюкозы и ее остаток выделяется с мочой, где в норме концентрация глюкозы должна быть практически равна нулю. Если анализы при этом показывают повышенную концентрацию сахара в крови, то данный факт может свидетельствовать о наличии сахарного диабета у пациента. С другой стороны, наблюдаются случаи, когда в моче глюкоза присутствует, в то время как ее концентрация в крови не повышена. В этом случае, возможно, нарушены процессы транспорта глюкозы в почках.

Почечный порог реабсорбции существует и для некоторых других веществ, например, фосфата, сульфата, аминокислот. Явление насыщения переносчиков иногда может способствовать поддержанию постоянной концентрации данного вещества в организме. В случае глюкозы почечный порог вдвое выше ее нормальной концентрации в плазме крови, поэтому почки не могут принимать заметного участия в регуляции содержания глюкозы в крови. Для фосфата же нормальная концентрация в крови почти совпадает с величиной почечного порога, что приводит к выведению излишнего его количества с мочой и поддержанию его концентрации на постоянном уровне.

### 6.7. Индуцированный транспорт.

Транспорт ионов с помощью переносчиков называется *индуцированным ионным транспортом*, а сам переносчик — *ионофором*.

Структура ионофора такова, что снаружи он покрыт неполярными группами, благодаря чему ему выгодно находиться в гидрофобной части мембраны; внутри же ионофор имеет полость, покрытую полярными

группами, к которым и присоединяются ионы. Многие ионофоры выделены из микроорганизмов; другие имеют синтетическое происхождение.

Согласно формуле Борна (6.46), энергия, необходимая для перехода иона через мембрану, обратно пропорциональна радиусу иона. При связывании иона с переносчиком происходит увеличение радиуса переносимой частицы, что способствует снижению энергии перехода.

Пассивный транспорт ионов с помощью подвижных переносчиков описывается уравнением, выведенным на основе формулы Борна:

$$\Delta W = \frac{e^2 N_A}{8\pi\epsilon_0\epsilon_m b} + \frac{e^2 N_A}{8\pi\epsilon_0\epsilon_{\text{п}}} \left( \frac{1}{r} - \frac{1}{b} \right) \quad (6.54)$$

где  $\Delta W$  — энергия комплекса ион-переносчик;  $r$  — радиус иона;  $b$  — радиус переносчика;  $\epsilon_m$  — диэлектрическая проницаемость мембраны;  $\epsilon_{\text{п}}$  — диэлектрическая проницаемость внутренней сферы переносчика.

Рассчитанная по данной формуле энергия комплекса переносчика с ионами натрия или калия составляет около 15 кДж/моль, в то время как энергия, необходимая для их переноса через мембрану без участия переносчика — 250...350 кДж/моль.

Многие переносчики являются сами по себе нейтральными и, присоединив к себе ион, пересекают мембрану в виде заряженного комплекса, другие, как, например, нигерицин, ионизированы, а в комплексе с ионом представляют собой нейтральные частицы.

Известны две разновидности ионных переносчиков. Так называемые **подвижные переносчики** (рис. 6.6) связы-

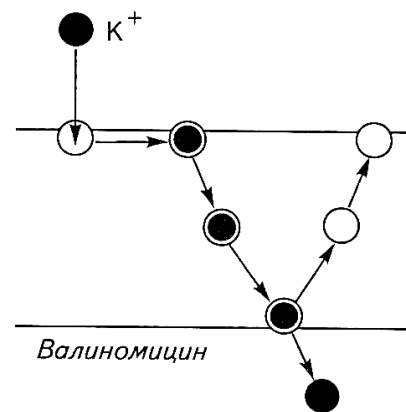


Рис. 6.6. Подвижный переносчик

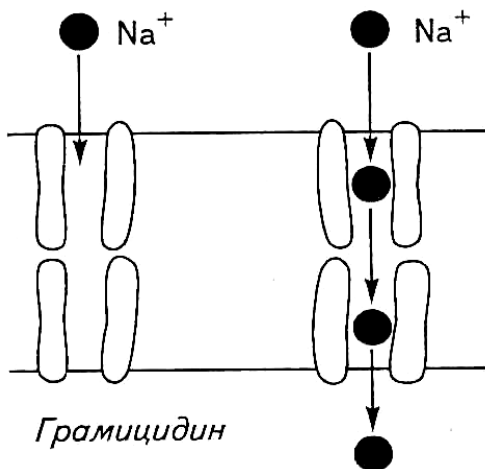


Рис. 6.7. Эстафетный перенос

ваются с ионом, диффундируют с ним через мембрану, высвобождают его по другую сторону и возвращаются обратно. При этом, если переносчик не покидает мембрану, то говорят, что перенос происходит по механизму «малой карусели», как, например, в случае переноса ионов валиномицином; если же переносчик выходит из мембраны во вне- или внутриклеточную жидкость, где и происходит свя-



зывание и высвобождение иона, то — по механизму «большой карусели».

Другие переносчики остаются неподвижными относительно мембраны, они формируют мембранные каналы, которые обычно не пронизывают мембрану насквозь. Ионы, пересекая мембрану, вынуждены переходить по цепочке из одной молекулы-переносчика в другую, поэтому такой перенос называется *эстафетным* (рис. 6.7).

Примером подвижных переносчиков являются антибиотики валиномицин и нигерицин. Молекула валиномицина (рис. 6.8) имеет циклическое строение. Ее внутренняя полость содержит гидрофильные группы, с которыми способны связываться ионы. Так как переносчик имеет жесткое строение и размер его полости фиксирован, то с валиномицином способны связываться только те ионы, которые стерически соответствую-

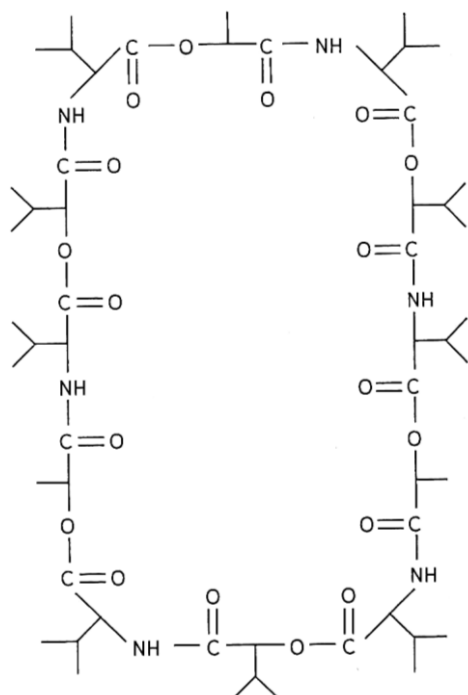


Рис. 6.8. Валиномицин

ют полости переносчика. Поэтому валиномицин обладает высокой селективностью. Основным ионом, который он переносит, является  $K^+$ . Меньший по размеру ион натрия хуже взаимодействует с группами, выстилающими полость переносчика, и поэтому переносится в  $10^4$  раз медленнее, чем  $K^+$ .

Молекула другого подвижного переносчика — нигерицина — представляет собой цепь из 15 гидрофобных аминокислот, среди которых встречаются не только *L*-, но и *D*-изомеры. Напомним, что *D*-аминокислоты никогда не встречаются в природных белках. Молекула нигерицина не замкнута в цикл, а при связывании с ионом обвивает его вокруг. Нигерицин представляет собой слабую кислоту (при ней-

тральных значениях pH его молекула ионизирована) и поэтому способен связываться с протонами и ионами металлов. Если валиномицин, оттранспортировав  $K^+$  на другую сторону мембраны, возвращается обратно пустым, то нигерицин способен переносить ионы в оба конца при наличии соответствующих трансмембранных разностей концентраций. Например, связавшись с  $H^+$  по одну сторону мембраны и оттранспортировав его на другую, нигерицин способен там связаться с  $K^+$  и вернуться вместе с ним обратно. Этот вид транспорта называется обменным. Ниге-

рицин и его аналоги не настолько специфичны, как нейтральные ионофоры.

Одним из наиболее изученных каналообразующих переносчиков является антибиотик грамицидин. Молекула грамицидина представляет собой цепь, которая свернута в спираль таким образом, что образует канал длиной 3 нм и внутренним диаметром 0,5— 0,8 нм. Поскольку такой длины недостаточно, чтобы пронизать мембрану насквозь, то транспорт может осуществляться только в том случае, если две молекулы грамицидина образуют последовательную цепочку. Грамицидин также не обладает высокой специфичностью ввиду того, что диаметр канала может изменяться в зависимости от размера иона.

Многие каналообразующие переносчики, например аламецитин, способны чередовать открытое и закрытое состояния. Причиной этих переходов может быть, например, изменение трансмембранного потенциала.

### 6.8. Активный транспорт.

Рассматриваемый ранее транспорт частиц через мембрану всегда происходил с уменьшением электрохимического потенциала. Однако в организме часто наблюдается транспорт нейтральных частиц или ионов, в процессе которого электрохимический потенциал системы возрастает. Например, концентрация ионов калия в клетке намного выше, чем в межклеточной среде, а натрия, наоборот, ниже (это соотношение выполняется для всех клеток, кроме возбужденных нервных и мышечных клеток, а также наружных сегментов палочек (зрительных клеток)). Высокий градиент концентрации калия поддерживается градиентом электрического потенциала, направленным в противоположную сторону, и подчиняется условию равновесия, определяемому уравнением Нернста (6.32). Направление градиента электрического потенциала таково, что ионам натрия также гораздо выгоднее находиться в клетке, чем во внеклеточной среде. Самопроизвольный вынос из клетки ионов натрия невозможен и осуществляется только за счет притока энергии. Известны системы активного транспорта для ионов *натрия, калия, кальция и водорода*.

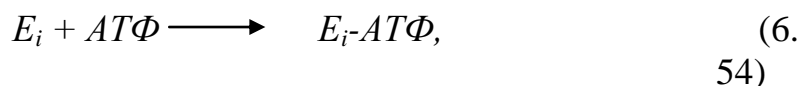
Поддержание градиента концентраций ионов натрия и калия обеспечивается работой **натрий-калиевого насоса** ( $Na^+$ ,  $K^+$ -насоса).  $Na^+$ ,  $K^+$ -насос не следует путать с натриевыми и калиевыми каналами. Через последние осуществляется пассивный транспорт. Для ионов калия и натрия существуют отдельные каналы, а  $Na^+$ ,  $K^+$ -насос транспортирует оба этих иона, но в разные стороны. Он представляет собой мембранные белки, которые работают как ферменты аденозинтрифосфатазы (АТФазы). За-

дачей этих ферментов является расщепление АТФ на АДФ и неорганический фосфат. Процесс распада сопровождается выделением энергии, которая расходуется на транспорт ионов в сторону увеличения электрохимического потенциала. Расщепление АТФ стимулируется ионами  $Na^+$  и  $K^+$  и зависит от наличия  $Mg^{2+}$ . Активный транспорт возможен только за счет сопряжения транспорта какого-либо вещества с реакцией гидролиза АТФ.

Механизм сопряжения окончательно не выяснен. Вероятнее всего, энергия АТФ расходуется на изменение конформации транспортного белка, что изменяет его сродство (константу связывания) к тем или иным ионам. Транспорт всегда осуществляется в ту сторону, где сродство ниже. В клетке константа связывания переносчика с  $Na^+$  значительно выше, чем с  $K^+$ . Поэтому ионы натрия в клетке связываются с белком и транспортируются во внеклеточную среду. По другую сторону мембраны конформация белка меняется таким образом, что константа связывания с  $Na^+$  уменьшается, а с  $K^+$  — увеличивается.

Структура ионсвязывающего участка белка (рис. 6.9) в этом случае такова, что к нему могут присоединиться уже не три, а два иона калия, которые и переносятся в клетку. Согласно современным представлениям, процесс активного транспорта  $Na^+$  и  $K^+$  происходит в следующие семь этапов.

1. В присутствии  $Mg^{2+}$  на внутренней стороне мембраны образуется комплекс фермента АТФазы с АТФ:



где  $E_i$  —  $Na^+, K^+$ -АТФаза, ионсвязывающий центр которой находится на внутренней стороне мембраны;  $E\text{-АТФ}$  — комплекс фермента с АТФ.

2. Присоединение АТФ изменяет конформацию фермента таким образом, что к образовавшемуся комплексу присоединяются три иона натрия:

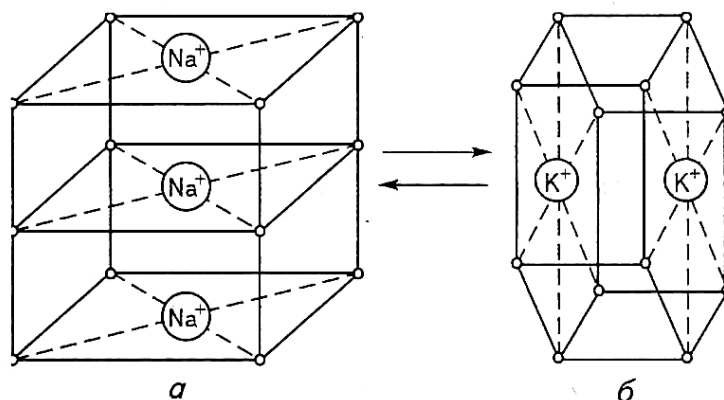
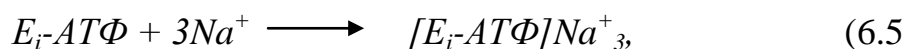
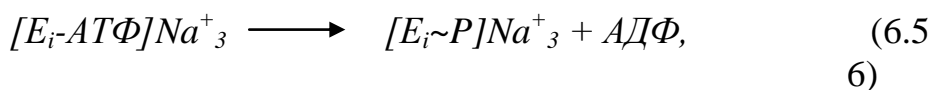


Рис. 6.9. Две конформации ионсвязывающего центра в  $Na^+, K^+$ -насосе:  
а — внутри клетки; б — снаружи.

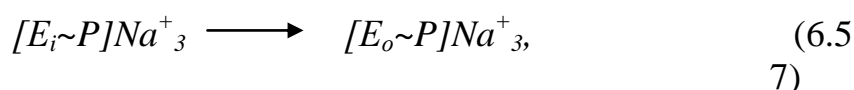
5)

3. Происходит фосфорилирование  $Na^+, K^+$ -АТФазы и отщепление АДФ:



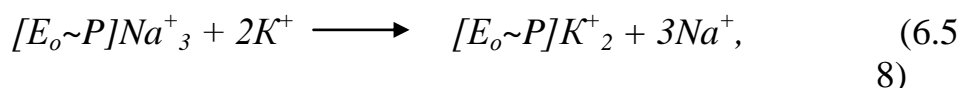
где  $P$  — остаток фосфорной кислоты; знак « $\sim$ » обозначает макроэргическую связь, при разрыве которой высвобождается большое количество энергии.

4. Ионсвязывающий центр фермента перемещается относительно толщины мембраны (возможно, вследствие «флип-флоп»-перехода белка), в результате чего ион натрия оказывается на внешней стороне клетки:

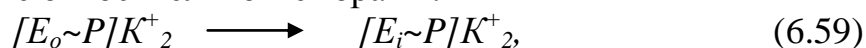


где  $E_o$  —  $Na^+, K^+$ -АТФаза, ионсвязывающий центр которой находится на внешней стороне мембраны.

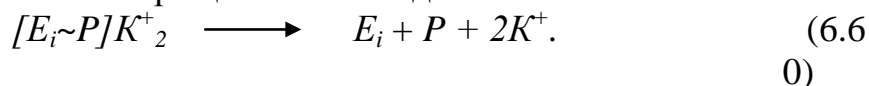
5. Снаружи клетки вследствие уменьшения сродства фермента к ионам натрия и повышения сродства к калию происходит обмен этими ионами:



6. Далее фермент с присоединенными ионами калия снова изменяет положение относительно мембраны:



7. Ионы калия и неорганический фосфат высвобождаются в цитоплазму, и фермент возвращается в исходное состояние:



Таким образом, энергии, выделяющейся при гидролизе одной молекулы АТФ, достаточно, чтобы вынести из клетки три иона натрия и внести два иона калия.  $Na^+, K^+$ -насос способствует не только повышению градиентов концентраций ионов, но и возрастанию градиента электрического потенциала, то есть является электрогенным, так как сумма вносимых зарядов не равна сумме выносимых. Межклеточная среда приобретает «более положительный» заряд по сравнению с клеткой за счет выноса одного «лишнего» положительного иона.

В мембранах саркоплазматического ретикулума мышечных клеток и цитоплазматических мембранах кардиомиоцитов существует  $Ca^{2+}$ -насос, работа которого во многом сходна с механизмом переноса ионов  $Na^+, K^+$ -

насосом. За один цикл, в процессе которого расходуется одна молекула АТФ, переносится два иона кальция.

*Строение кальцевой АТФазы.* Многие ферменты получены в виде кристаллов, и на основании рентгеноструктурного анализа воссоздана их подробная пространственная структура, а подчас и структура их комплексов с субстратами и ингибиторами. К сожалению, транспортные АТФазы, не растворимые в воде и работающие в составе мембран, не

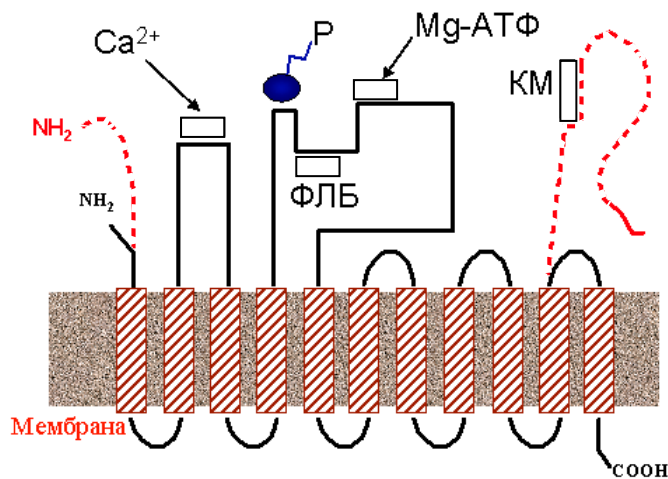


Рис. 6.10 Схема строения *Ca*-АТФазы саркоплазматического ретикулума.

Черная линия - полипептидная цепь *Ca*-АТФазы саркоплазматического ретикулума, пунктирная - участки цепи *Ca*-АТФазы цитоплазматической мембраны. Заштрихованные прямоугольники -  $\alpha$ -спиральные участки, пронизывающие мембрану (обозначены в тексте как  $M_1$ ,  $M_2$  и т, считая слева направо),  $NH_2$  - N-конец полипептидной цепи,  $COOH$  - C-конец. Белые прямоугольники обозначают участки связывания:  $Ca^{2+}$  - ионов кальция,  $Mg$ -АТФ - молекулы АТФ,  $PLB$  - фосфоламбана (у *Ca*-АТФазы эндоплазматического ретикулума),  $CM$  - кальмодулина (у цитоплазматической *Ca*-АТФазы).  $P$  - участок фосфорилирования

$M_2$  и  $M_3$ , более длинная - между  $\alpha$ -спиралями  $M_4$  и  $M_5$ . Длинная петля содержит АТФ-связывающий участок, включающий остаток аспарагиновой кислоты, к которому присоединяется фосфат. Связывание ионов  $Ca^{2+}$  происходит на участке, образованном малой петлей (между  $\alpha$ -спиралями  $2M$  и  $3M$ ), возможно с участием аминокислотных остатков, прилежащих

удается получить в виде настоящих кристаллов. Тем не менее, многое об их структуре все же известно, включая последовательность аминокислот в полипептидной цепи, локализацию мест связывания ионов и АТФ в полипептидной цепи и расположение определенных участков цепи по отношению к мембране.

На рис. 6.10 приведено схематическое изображение *Ca*-АТФазы саркоплазматического ретикулума скелетных мышц. Фермент пронизывает мембрану 11-ю  $\alpha$ -спиральными участками, большая часть которых соединена снаружи короткими полипептидными связками, за исключением двух протяженных гидрофильных петель на стороне цитоплазмы. Более короткая петля расположена между  $\alpha$ -спиралями

к спиральям  $M_1$  и  $M_4$ . В местах связывания собрано несколько остатков аспарагиновой кислоты, несущих отрицательные заряды.

Даже в одних и тех же клетках поперечно-полосатых мышц содержится не менее двух изоферментов *Ca*-АТФазы, встроенной в мембраны эндоплазматического ретикулума, которые различаются по чувствительности к кофеину. Вообще же можно говорить о целом семействе кальциевых АТФаз. Различают *Ca*-АТФазы цитоплазматических мембран и *Ca*-АТФазы эндоплазматического (в том числе саркоплазматического) ретикулума. Каждая из них представлена несколькими изоформами. Плазматическая *Ca*-АТФаза, в отличие от саркоплазматической, содержит третью петлю полипептидной цепи, экспонированной в цитоплазму и образуемый *C*-концом. На рис. 6.10 она обозначена пунктиром. На этом домене имеется центр связывания кальмодулина (КМ) - регуляторного белка, который, помимо ряда других функций, реактивирует плазматическую *Ca*-АТФазу, о чем будет сказано в следующем разделе.

Активность кальциевых АТФаз внутриклеточных депо (например, эндоплазматического ретикулума клеток сердца, печени или эпителия) регулируется особым белком – фосфоламбаном (ФЛБ), который связывает участок пептидной цепи АТФазы неподалеку от места фосфорилирования и тормозит работу фермента за счет уменьшения сродства участков связывания  $Ca^{2+}$  к этому иону. При необходимости, внутриклеточные регуляторные системы "отцепляют" фосфоламбан от АТФазы, и ее работа восстанавливается. Это осуществляется за счет фосфорилирования фосфоламбана протеинкиназами. Фосфорилированный фосфоламбан не обладает способностью связываться с *Ca*-АТФазой и снижать ее активность.

Основным регулятором кальциевых АТФаз цитоплазматической мембраны служит другой белок - кальмодулин. Его действие как бы противоположно действию фосфоламбана. Дело в том, что цитоплазматическая *Ca*-АТФаза обладает любопытной способностью ингибировать саму себя. Ее *C*-конец, экспонированный, как уже говорилось, в цитоплазму, загибается и, подобно жалю скорпиона, поражает *Ca*-АТФазу "прямо в сердце", блокируя центры связывания кальция. Кальмодулин берет на себя функцию защитника: он связывается с участком вблизи *C*-конца и снимает ингибирование *Ca*-АТФазы, лишая полипептидный хвост способности связываться с активным участком АТФазы. Таким образом, если фосфоламбан ингибирует эндоплазматическую *Ca*-АТФазу, то кальмодулин реактивирует "аутоингибированную" цитоплазматическую *Ca*-АТФазу. Несмотря на противоположное действие, кальмодулин и фосфоламбан - родственники: сравнение аминокислотных последовательно-

стей показывает, что многие участки полипептидной цепи у них совпадают. Изобретательная природа сумела один и тот же исходный материал (белок-предшественник, как бы прокальмодулин) приспособить для выполнения противоположных функций.

У экспериментальных животных, страдающих гипертонией, снижена активность кальциевых АТФаз в гладких мышцах стенок кровеносных сосудов. Это снижение активности приводит к повышению содержания внутриклеточного кальция. А поскольку ионы  $Ca^{2+}$  запускают механизм мышечного сокращения, тонус сосудистой стенки увеличен, а это приводит к повышению кровяного давления в целом организме.

В числе причин поражения *Са*-АТФазы у гипертоников называют активацию процессов с участием свободных радикалов. Действительно, в модельных опытах с изолированными везикулами саркоплазматического ретикулума было показано, что *Са*-АТФаза очень чувствительна к перекисному окислению липидов, при котором происходит окисление SH-групп, входящих в активный центр фермента. Мало того, что "подпорченная" таким образом *Са*-АТФаза перестает качать ионы кальция; из насоса она превращается в канал для кальция, через который эти ионы начинают переноситься не из цитозоля в ретикулум, как им полагается, а наоборот, из ретикулума, где их концентрация выше, в клеточный сок, где их концентрация ниже (см. рис. 6.11).

Превращение *Са*-АТФазы из помпы в канал предопределено ее структурой. Подобно велосипедному насосу, *Са*-АТФаза состоит из трубки, поршня и клапанов. Трубка - это ионный канал, состоящий из сравнительно небольшого фрагмента полипептидной цепи, который удалось отделить от остальной части АТФазы обработкой фермента протеазами, выделить и очистить. При встраивании этих фрагментов в липосомы их мембраны становятся проницаемыми для ионов  $Ca^{2+}$ . При перекисном окислении липидов, окружающих АТФазу, ее поршень и клапаны, по-видимому, ломаются, и ионы кальция начинают беспрепятственно течь по трубке в сторону меньшей концентрации.

Подобного типа повреждение кальциевых насосов, надо думать, происходит нередко. Хорошо известна роль свободных радикалов в развитии широкого круга так называемых дегенеративных болезней, включая рак, многие интоксикации, болезни, связанные с атеросклерозом и иммунными нарушениями. Во многих случаях повреждение *Са*-АТФаз свободными радикалами может играть не последнюю роль в зарождении и развитии заболевания.

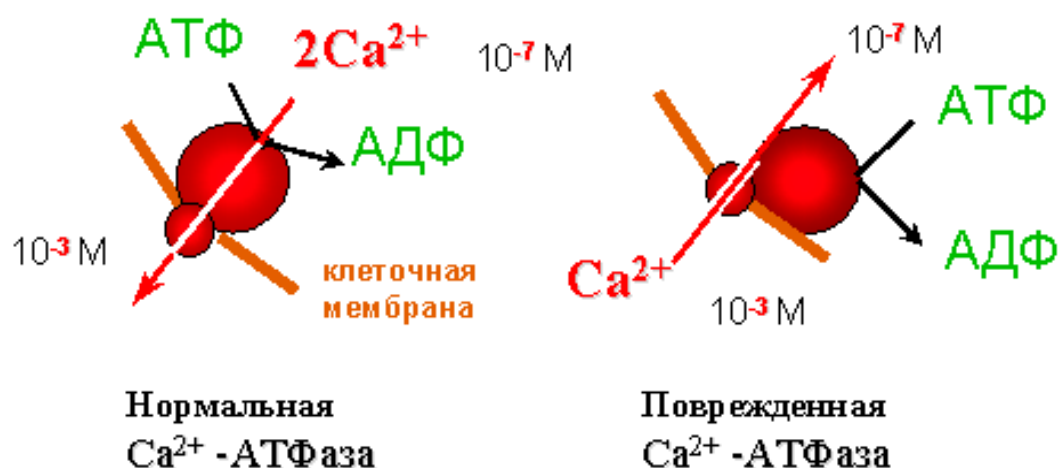


Рис. 6.11. Нарушение работы  $\text{Ca}$ -АТФазы после повреждения фермента под действием процесса перекисного окисления липидов мембран. Способность АТФазы гидролизовать АТФ сохраняется, но кальций не накачивается, а наоборот, начинает выходить из ретикулума, как показали специальные опыты. Ионный насос превратился в ионный канал.

*Активный транспорт протонов* может осуществляться как с помощью подвижных переносчиков, например пластохинона в мембранах хлоропластов, так и через мембранные каналы, например через каналы, образованные молекулами бактериородопсина в пурпурных мембранах галофильных бактерий.

Протонные каналы представляют собой интегральные белки, образующие внутреннюю пору, где содержатся участки (полярные группы), к которым могут присоединяться протоны. Энергия АТФ расходуется на изменение конформации белковых молекул, вследствие чего сродство одних участков связывания к протонам понижается, а других — увеличивается, что заставляет протон перескочить на тот участок канала, сродство которого к протону на данный момент выше. Путем таких перескоков с одного участка связывания на другой ион водорода пересекает мембрану.

Перенос  $\text{H}^+$  против градиентов их концентраций осуществляется не только за счет энергии, выделяющейся при гидролизе АТФ, но и за счет энергии фотонов. Последний способ используют вышеупомянутые галофильные бактерии, которые на свету выкачивают протоны из клетки, а энергию создавшегося градиента концентраций используют для синтеза АТФ.

Если электрические потенциалы по обе стороны мембраны одинаковы, то поток ионов, образованный системами активного транспорта, описывается уравнением:



$$J = \frac{c_0 P}{2} \left[ \frac{c_1}{K_1 + c_1} - \frac{c_2}{K_2 + c_2} \right] \quad (6.61)$$

где  $c_0$  — внутримембранная концентрация АТФазы, за счет энергии которой осуществляется перенос иона;  $P$  — коэффициент проницаемости для комплекса иона с белковой молекулой;  $c_1$  и  $c_2$  — концентрации ионов по обеим сторонам мембраны;  $K_1$  и  $K_2$  — константа диссоциации комплекса иона с белком по разные стороны мембраны.

Уравнение (6.61) позволяет вычислить максимальную разность концентраций, которую может создать данный ионный насос. При достижении состояния, когда разность концентраций по обе стороны мембраны максимальна, поток станет равным нулю. Тогда получаем:

$$\frac{c_1}{c_2} = \frac{K_1}{K_2} \quad (6.62)$$

Таким образом, чем выше отношение констант диссоциации иона и белка по обе стороны мембраны, тем больше разность концентраций, которую может создать данный насос. Чем выше  $K$ , тем легче белок отсоединяет ионы, поэтому концентрация иона будет выше в той области, где выше константа диссоциации.

Состояние равновесия, при котором  $J = 0$ , в клетке практически недостижимо, в связи с тем, что ионы, несмотря на крайне низкую проницаемость для них липидного бислоя, все-таки проникают через него пассивно, то есть в ту область, где их концентрация ниже. Функционирование нервных и мышечных клеток требует временного открывания каналов, через которые осуществляется пассивный перенос ионов. Так как концентрация ионов по обе стороны мембраны все время стремится к выравниванию, то системы активного ионного транспорта никогда полностью не прекращают свою работу, а могут лишь уменьшить или увеличить скорость переноса.

Уравнение (6.61) не учитывает существование разности электрического трансмембранного потенциала, который уменьшает или увеличивает скорость переноса иона в зависимости от знака самого иона и знака потенциала области, в которую этот ион переносится.

## 6.9. Вторично-активный транспорт.

Транспорт веществ, идущий с увеличением градиента концентраций (активный транспорт), источником энергии которого служила АТФ создает градиенты концентрации ионов по обе стороны биологических мембран. Эти градиенты концентраций веществ образуют на мембране раз-

ность химического или электрохимического потенциала, за счет чего может осуществляться перенос других веществ против градиентов их концентраций. Такой транспорт, источником энергии которого служит не непосредственно АТФ или энергия окислительно-восстановительных реакций, а градиент концентраций других веществ, называется **вторично-активным**, или **сопряженным**.

Существует три вида вторично-активного транспорта ионов: унипорт, симпорт и антипорт (рис. 6.12).

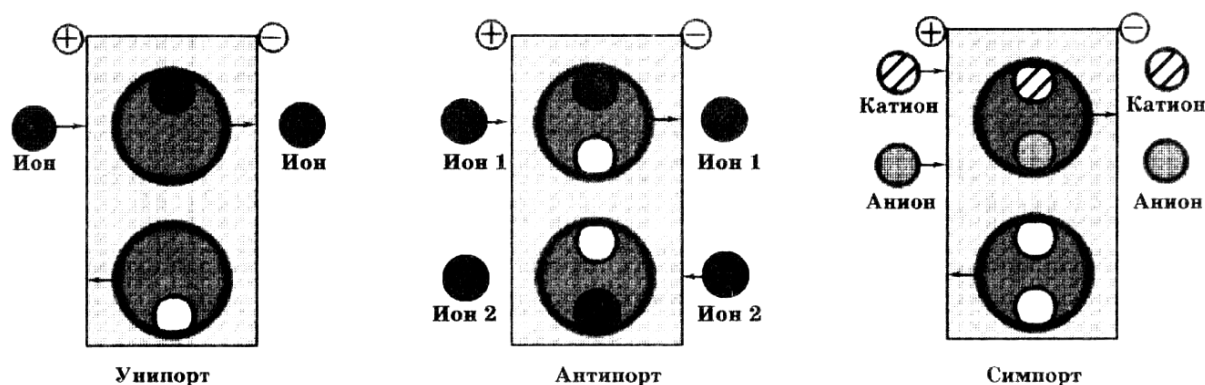


Рис. 6.12. Основные схемы вторичного активного транспорта.

В случае *унипорта* за счет существования на мембране градиента электрического потенциала осуществляется односторонний транспорт заряженных частиц в сторону меньшего значения потенциала. Например, митохондрии в процессе своего функционирования активно выкачивают протоны из матрикса в цитоплазму, в результате чего их внутренняя область оказывается заряженной более отрицательно, чем внешняя. В нормальных условиях созданный градиент электрохимического потенциала используется для синтеза АТФ. Если же в клетку добавить антибиотик валиномицин, который является специфическим переносчиком ионов калия, то начинается транспорт этих ионов из цитоплазмы во внутреннюю среду митохондрий, то есть в область, где электрический потенциал отрицательный. В данном случае транспорт  $K^+$  хотя и идет против градиента концентраций (в митохондриях концентрация ионов калия выше, чем в цитоплазме), но не требует энергии АТФ, так как осуществляется в сторону уменьшения градиента электрического потенциала, созданного разницей концентраций протонов.

В процессе *антипорта* (обменного транспорта или противотransпорта) осуществляется транспорт одинаково заряженных ионов двух типов в разные стороны. Например, антибиотик ниге-рицин транспортирует протоны по градиенту концентраций, что приводит к увеличе-

нию градиента электрического потенциала, а это, в свою очередь, влечет за собой перенос ионов калия в противоположную сторону (градиента электрического потенциала), в результате чего возрастает градиент концентраций  $K^+$ .

По механизму *симпорта* (котранспорта) осуществляется транспорт противоположно заряженных ионов в одну сторону. При этом транспорт одного из ионов осуществляется по градиенту концентраций, а транспорт второго — по градиенту электрического потенциала, создаваемого транспортом первого иона.

Одним из наиболее изученных случаев вторично-активного транспорта незаряженных молекул является всасывание глюкозы в стенках кишечника. Концентрация глюкозы в энтероцитах (клетках эпителия кишечника) выше, чем в просвете кишечника, поэтому пассивное ее всасывание невозможно. Клетки Кишечника активно (за счет энергии АТФ) выкачивают натрий из энтероцитов в серозную область кишечника (то есть туда, где находятся кровеносные сосуды), в результате чего концентрация  $Na^+$  в клетке снижается по сравнению с его концентрацией снаружи. Благодаря этому становится возможным пассивный транспорт  $Na^+$  из просвета кишечника в энтероцит. Однако простая диффузия ионов через бислой крайне маловероятна и  $Na^+$  может пересечь мембрану только с помощью переносчика. При этом переносчик связывается не только с  $Na^+$ , но и с молекулой глюкозы. Образовавшийся комплекс пассивно по градиенту концентраций ионов  $Na^+$  и электрического потенциала переносится внутрь клетки. Таким образом, транспорт глюкозы осуществляется против градиента концентрации, но не за счет энергии АТФ, а за счет существования градиента концентрации другого вещества, в данном случае — ионов натрия. Подобные системы транспорта существуют и для многих других веществ, например углеводов и аминокислот, что очень важно, так как для них отсутствуют специфические насосы.

## 7. БИОФИЗИКА МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Мембрана мышечных клеток — саркоlemma — также, как и мембрана нервных клеток, электровозбудима и способна проводить потенциал действия. Эти процессы в мышечных клетках происходят по тому же принципу, что и в нервных. Потенциал покоя ( $V_0$ ) мышечного волокна составляет приблизительно – 90 мВ, что ниже такового в нервном волокне (–70 мВ), а критическая деполяризация ( $V_K$ ), по достижении которой возникает потенциал действия, имеет одинаковое значение с нервным. Поэтому возбудимость мышечного волокна несколько ниже, чем нервного, так как клетку требуется деполяризовать на большую величину.

$$\Delta V_m > \Delta V_n \quad (7.1)$$

где  $\Delta V = V_K - V_0$ , индексы «м» и «н» относятся соответственно к мышечным и нервным клеткам.

### 7.1. Строение мышечного волокна.

Ответом мышечного волокна на возбуждение является сокращение, которое совершает сократительный аппарат клетки — **миофибриллы**. Они представляют собой тяжи, состоящие из двух видов нитей: толстых — *миозиновых*, и тонких — *актиновых*.

Толстые нити (диаметром 15 нм и длиной 1,5 мкм) имеют в своем составе только один белок — миозин; тонкие (диаметром 7 нм и длиной 1 мкм) содержат три вида белков: актин, тропомиозин и тропонин.

Актин представляет собой длинную белковую нить, однако его нельзя отнести к фибриллярным белкам. Он состоит из отдельных глобулярных белков, сцепленных между собой таким образом, что вся структура представляет собой вытянутую цепь. Молекулы глобулярного актина (*G-актина*) имеют боковые и концевые центры связывания с другими такими же молекулами. В результате они объединяются таким об-

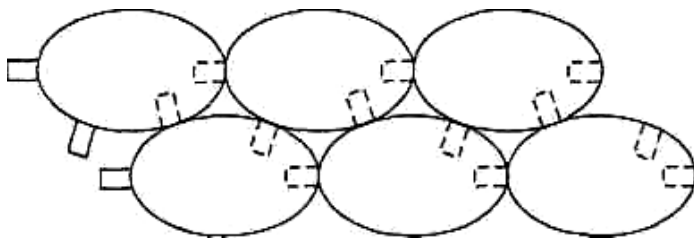


Рис. 7.1. Объединение отдельных глобул G-актина в F-актин.

разом, что образуют структуру, которую часто сравнивают с двумя нитками бус, соединенных вместе (рис. 7.1). Образованная из молекул *G-актина* лента закручена в спираль. Такая структура называется фибриллярным актином (*F-актином*). Шаг спирали

(длина витка) составляет 38 нм, на каждый виток спирали приходится 7 пар *G-актина*. Полимеризация *G-актина*, то есть образование *F-актина*, происходит за счет энергии АТФ, и, наоборот, при разрушении *F-актина* выделяется энергия. Вдоль спиральных желобков актиновых филаментов (нитей) располагается белок *тропомиозин* (греч. *trope* — поворачивать, *mys* — мышца). Каждая нить тропомиозина, имеющая длину 41 нм, состоит из двух идентичных  $\alpha$ -цепей, вместе закрученных в спираль с длиной витка 7 нм. Вдоль одного витка *F-актина* расположены две молекулы тропомиозина.

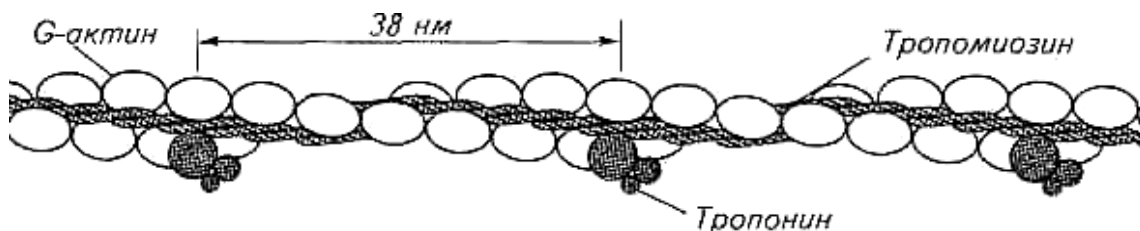


Рис. 7.2. Строение тонкой нити миофибриллы

Каждая тропомиозиновая молекула соединяется, немного перекрываясь, со следующей, в результате тропомиозиновая нить простирается вдоль актина непрерывно (рис. 7.2).

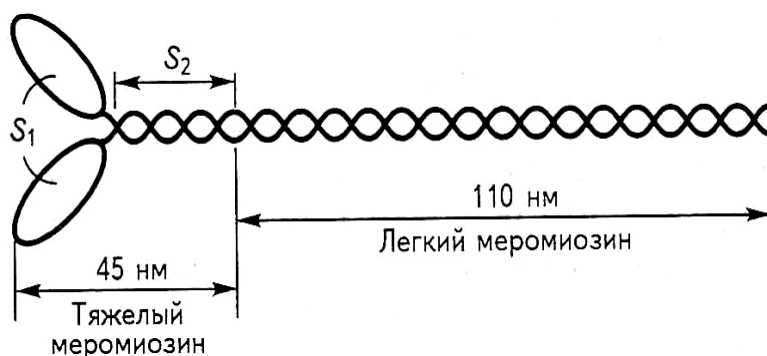


Рис. 7.3. Строение молекулы миозина

В клетках поперечнополосатых мышц в состав тонких нитей кроме актина и тропомиозина входит еще и белок *тропонин*. На каждый шаг спирали F-актина приходится две молекулы тропонина. Этот глобулярный белок имеет сложное строение. Он состоит из

трех субъединиц, каждая из которых выполняет свою функцию в процессе сокращения.

Толстая нить состоит из большого числа молекул *миозина*, собранных в пучок. Каждая молекула миозина длиной около 155 нм и диаметром 2 нм состоит из шести полипептидных нитей: двух длинных и четырех коротких (рис. 7.3). Длинные цепи вместе закручены в спираль с шагом 7,5 нм и образуют фибриллярную часть миозиновой молекулы. На одном из концов молекулы эти цепи раскручиваются и образуют раздвоенный конец. Каждый из этих концов образует комплекс с двумя короткими цепями, то есть на каждой молекуле имеются две головки. Это глобулярная часть миозиновой молекулы. В миозине выделяют два фрагмента: *лег-*

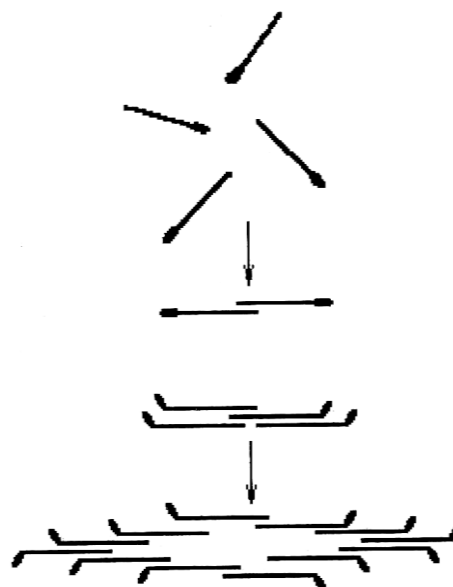


Рис. 7.4. Схема агрегации молекул миозина

кий меромиозин (ЛММ) и тяжелый меромиозин (ТММ), между ними находится шарнир. ТММ состоит из двух субфрагментов:  $S_1$  и  $S_2$ . ЛММ и фрагмент  $S_2$  ТММ вложены в пучок нитей, а субфрагмент  $S_1$  выступает над поверхностью. Этот выступающий конец (миозиновая головка) способен связываться с активным центром на актиновой нити и изменять угол наклона к пучку миозиновых нитей.

Объединение отдельных молекул миозина в пучок (рис. 7.4) происходит, скорее всего, за счет электростатических взаимодействий между ЛММ. Центральная часть нити (около 300 нм) не имеет головок. Весь комплекс миозиновых молекул простирается на 1,5 мкм. Это одна из самых больших биологических молекулярных структур, известных в природе.

При рассмотрении в поляризационный микроскоп продольного среза поперечнополосатой мышцы видны светлые и темные участ-

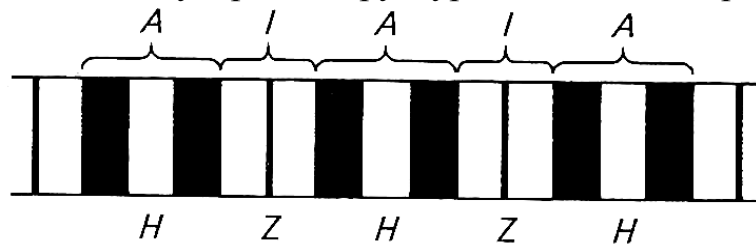


Рис. 7.5. Структура миофибриллы (поперечный срез)

ки. Темные участки (диски) являются анизотропными: в поляризованном свете они выглядят прозрачными в продольном направлении и непрозрачными — в поперечном, обозначаются буквой  $A$ . Светлые участки являются изотропными и обозначаются буквой  $I$  (рис. 7.5).

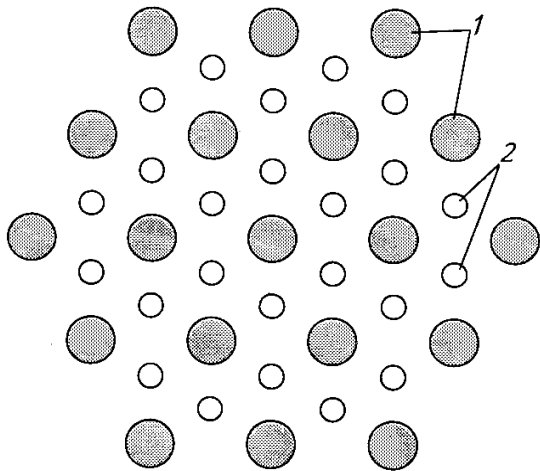


Рис. 7.6. Поперечный срез миофибриллы: 1. — миозиновые нити, 2 — ак-

тиновые нити. Таким образом, в поперечном срезе мышечное волокно имеет правильную гексагональную структуру (рис. 7.6).

Диск  $I$  включает в себя только тонкие нити, диск  $A$  — и толстые, и тонкие. В середине диска  $A$  видна светлая полоса, называемая  $H$ -зоной. Она не имеет тонких нитей. Диск  $I$  разделен тонкой полосой  $Z$ , которая представляет собой мембрану, содержащую структурные элементы, скрепляющие между собой концы тонких нитей. Участок между двумя  $Z$ -линиями называется *саркомером*.

Каждая толстая нить окружена шестью тонкими, а каждая тонкая — тремя толстыми. Таким образом,

## 7.2. Сокращение мышцы.

При сокращении мышцы длина актиновых и миозиновых филаментов не изменяется. Происходит лишь их смещение относительно друг друга: тонкие нити задвигаются в промежутки между толстыми. При этом длина диска  $A$  остается неизменной, а диск  $I$  укорачивается, полоса  $H$  почти исчезает. Такое скольжение оказывается возможным благодаря существованию поперечных мостиков (миозиновых головок) между толстыми и тонкими нитями. При сокращении возможно изменение длины саркомера приблизительно от 2,5 до 1,7 мкм.

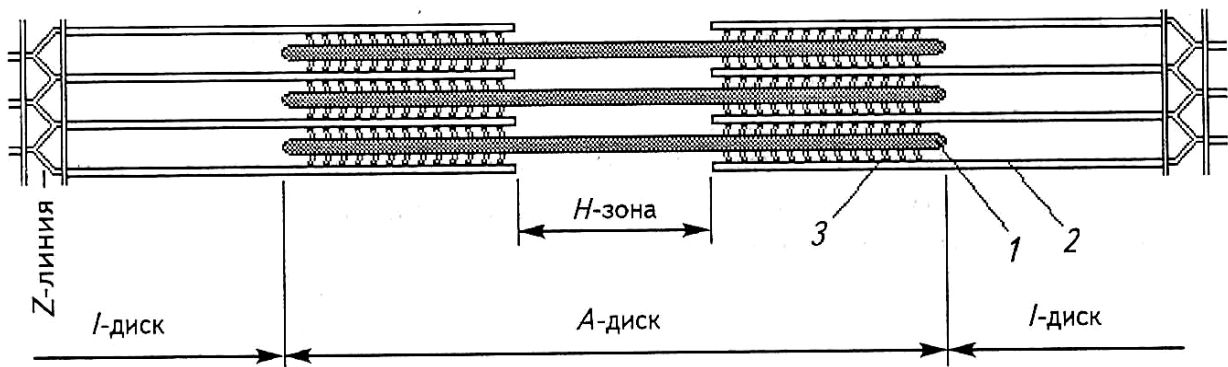


Рис. 7.7. Строение поперечнополосатой мышцы (продольный срез):

1 — толстая (миозиновая) нить; 2 — тонкая (актиновая) нить; 3 — поперечные мостики, обеспечивающие связь между актиновыми и миозиновыми нитями.

Как уже указывалось, миозиновая нить имеет на себе множество головок, которыми она может связываться с актином. Актиновая же нить, в свою очередь, имеет участки (активные центры), к которым могут прикрепляться головки миозина (рис. 7.7). В покоей мышечной клетке эти центры связывания прикрыты молекулами тропомиозина, что препятствует образованию связи между тонкими и толстыми нитями.

Для того чтобы актин и миозин могли взаимодействовать, необходимо присутствие ионов кальция. В покое они находятся в саркоплазматическом ретикулуме. Эта органелла представляет собой ограниченные мембранами полости, содержащие кальциевый насос, который за счет энергии АТФ транспортирует ионы кальция внутрь саркоплазматического ретикулума. Его внутренняя поверхность содержит белки, способные связывать  $Ca^{2+}$ , что несколько уменьшает разность концентраций этих ионов между цитоплазмой и полостью саркоплазматического ретикулума. Распространяющийся по клеточной мембране потенциал действия активирует близко расположенную к поверхности клетки мембрану саркоплазматического ретикулума и вызывает выход  $Ca^{2+}$  в цитоплазму.

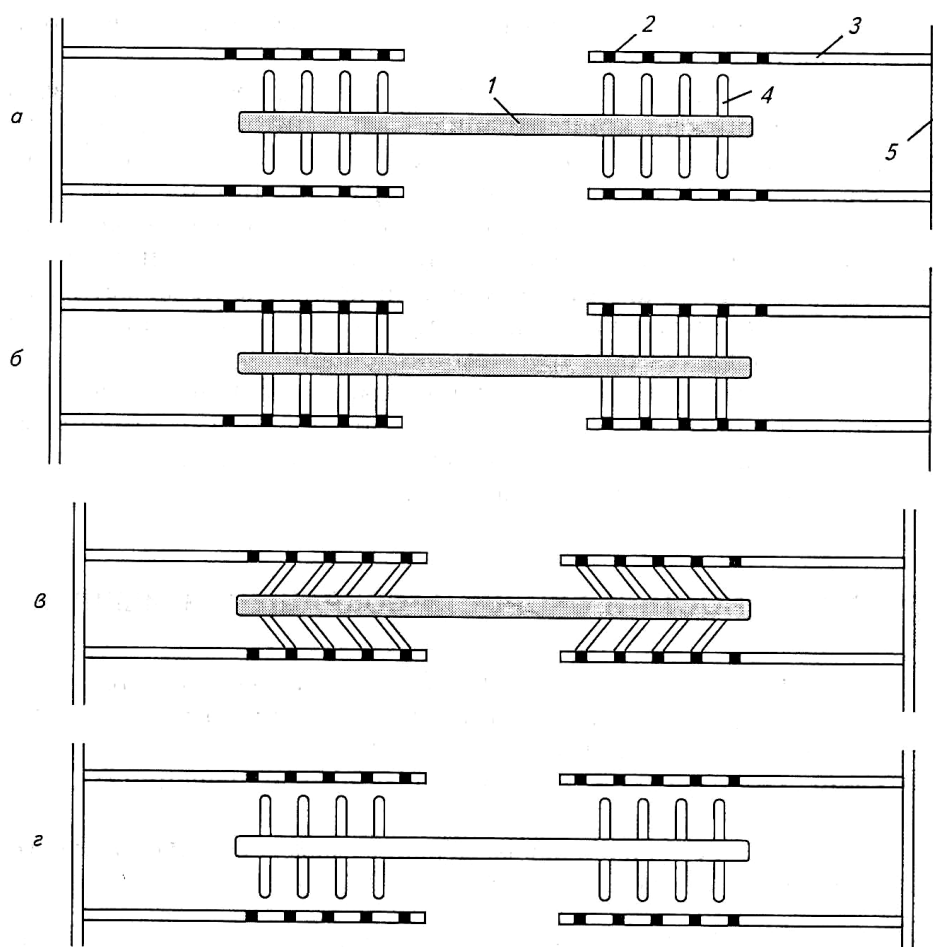


Рис. 7.8. Сокращение саркомера:

1 — миозиновая нить; 2 — активный центр; 3 — актиновая нить; 4 — миозиновая головка; 5 — Z-линия;

а — взаимодействие между тонкими и толстыми нитями отсутствует; б — в присутствии  $Ca^{2+}$  миозиновая головка связывается с активным центром на актиновой нити; в — поперечные мостики наклоняются и протаскивают тонкую нить относительно толстой, вследствие чего длина саркомера уменьшается; г — связи между нитями разрываются за счет энергии АТФ, миозиновые головки готовы взаимодействовать с новыми активными центрами

Молекула тропонина обладает высоким сродством к кальцию. Под его влиянием она изменяет положение тропомиозиновой нити на актиновой таким образом, что открывается активный центр, ранее прикрытый тропомиозином. К открывшемуся активному центру теперь может присоединиться поперечный мостик. Это приводит к взаимодействию актина с миозином (рис. 7.8, а, б). После образования связи миозиновая головка, ранее расположенная почти под прямым углом к нитям, наклоня-



ется и протаскивает актиновую нить относительно миозиновой приблизительно на 10 нм (рис. 7.8, в).

Образовавшийся актин-миозиновый комплекс препятствует дальнейшему скольжению нитей относительно друг друга, поэтому необходимо его разъединение. Это возможно только за счет энергии АТФ. Миозин обладает АТФ-азной активностью, то есть, способен вызывать гидролиз АТФ. Выделяющаяся при этом энергия разрывает связь между актином и миозином (рис. 7.8, г), и миозиновая головка способна взаимодействовать с новым участком молекулы актина. Работа мостиков синхронизирована таким образом, что связывание, наклон и разрыв всех мостиков одной нити происходит одновременно.

При расслаблении мышцы активизируется работа кальциевого насоса, что понижает концентрацию  $Ca^{2+}$  в цитоплазме; следовательно, связи между тонкими и толстыми нитями уже не могут образовываться. В этих условиях при растяжении мышцы нити беспрепятственно скользят относительно друг друга. Однако такая растяжимость возможна только в присутствии АТФ. Если в клетке отсутствует АТФ, то актин-миозиновый комплекс не может разорваться. Нити остаются жестко сцепленными между собой. Это явление наблюдается при трупном окоченении.

Существует два режима сокращения мышцы: *изотоническое* (изменяется длина волокна, а напряжение остается неизменным) и *изометрическое* (концы мышцы неподвижно закреплены, вследствие чего изменяется не длина, а напряжение).

### 7.3. Мощность и скорость одиночного сокращения.

Важными характеристиками работы мышцы являются сила и скорость сокращения. Уравнения, выражающие эти характеристики, были эмпирически получены А. Хиллом и впоследствии подтверждены кинетической теорией мышечного сокращения (модель Дещеревского).

**Уравнение Хилла**, связывающее между собой силу и скорость сокращения мышцы, имеет следующий вид

$$(P + a)(v + b) = (P_0 + a)b = a(v_{max} + b), \quad (7.2)$$

где  $v$  — скорость укорочения мышцы;  $P$  — мышечная сила или приложенная к ней нагрузка (внешняя сила, действующая на мышцу);  $v_{max}$  — максимальная скорость укорочения мышцы ( $v = v_{max}$  при  $P = 0$ );  $P_0$  — сила, развиваемая мышцей в изометрическом режиме сокращения, то есть при такой нагрузке, при которой не происходит изменение длины мыш-

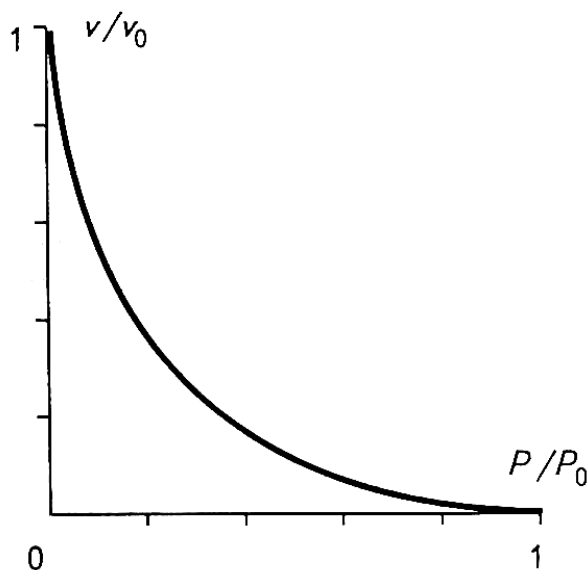


Рис. 7.9. Зависимость относительной скорости укорочения от относительной силы

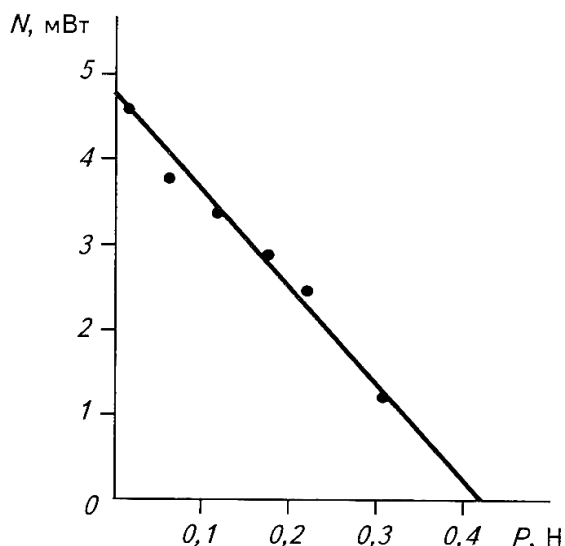


Рис. 7.10. Зависимость суммарной мощности портняжной мышцы лягушки от нагрузки при тетаническом изотоническом сокращении

цы ( $P = P_0$  при  $v = 0$ );  $a$  и  $b$  — константы. Приведенное уравнение имеет вид гиперболы (рис. 7.9).

При сокращении за время  $t$  мышца совершает работу  $A$ :

$$A = Pvt. \quad (7.3)$$

Выразив  $v$  из уравнения Хилла (7.2.), получаем:

$$A = bP \frac{P_0 - P}{P + a} t \quad (7.4)$$

В процессе сокращения мышцы выделяется некоторое количество теплоты  $Q$ . Эта величина называется *теплопродукцией*. Как показал Хилл, теплопродукция зависит только от изменения длины  $x$  мышцы и не зависит от нагрузки  $P$ :  $Q = ax$ .

Общая мощность  $N_{\text{общ}}$ , развиваемая мышцей, определяется скоростями выполнения мышцей работы и выделения теплоты:

$$N_{\text{общ}} = \frac{dA}{dt} + \frac{dQ}{dt} = Pv + \frac{dQ}{dt} \quad (7.5)$$

Как следует из уравнения Хилла,

$$N_{\text{общ}} = (P + a)v = b(P - P_0), \quad (7.6)$$

то есть зависимость мощности  $N_{\text{общ}}$  от нагрузки  $P$  является линейной (рис. 7.10).

Коэффициент полезного действия мышцы  $\eta$  записывается в виде:

$$\eta = \frac{A}{A + Q} = \frac{P_v}{N_{общ}} \quad (7.7)$$

где  $P_v = N_{пол}$  — полезная мощность. КПД мышцы  $\eta$  сохраняет постоянное значение (около 40 %). В диапазоне значений силы от  $0,2P_0$  до  $0,8P_0$ .

Константы  $a$  и  $b$  имеют постоянные значения для данной мышцы. Константа  $a$  имеет размерность силы, а  $b$  — скорости. Константа  $b$  в значительной степени зависит от температуры, например, при нагревании на  $10^\circ\text{C}$  вблизи  $0^\circ\text{C}$   $b$  удваивается. Константа  $a$  находится в диапазоне значений от  $0,25P_0$  до  $0,4P_0$ . По этим данным легко оценить максимальную скорость сокращения для данной мышцы. Так как (следует из последнего равенства уравнения Хилла)

$$v_{max} = b \frac{P_0}{P} \quad (7.8)$$

то, следовательно,  $v_{max}$  превышает константу  $b$  в 2,5—4 раза.

#### 7.4. Электромеханическое сопряжение в мышцах.

Электромеханическое сопряжение — это цикл последовательных процессов, начинающийся с возникновения потенциала действия ПД на сарколемме (клеточной мембране) и заканчивающийся сократительным ответом мышцы. Нарушение последовательности процессов сопряжения может приводить к патологиям и даже к летальному исходу. Основные этапы этого процесса можно проследить по схеме (рис. 7.11.) Процесс сокращения кардиомиоцита происходит следующим образом (номера пунктов в тексте соответствуют номерам процессов в схеме электромеханического сопряжения на рис. 7.11):

1 - при подаче на клетку стимулирующего импульса открываются быстрые (время активации 2 мс) натриевые каналы, ионы  $Na^+$  входят в клетку, вызывая деполяризацию мембраны;

2 - в результате деполяризации плазматической мембраны в ней и в Т-трубочках открываются потенциал-зависимые медленные кальциевые каналы (время жизни 200 мс), и ионы  $Ca^{2+}$  поступают из внеклеточной среды, где их концентрация  $= 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л, внутрь клетки (внутриклеточная концентрация  $Ca^{2+} \sim 10^{-7}$  моль/л);

3 - кальций, поступающий в клетку, активирует мембрану СР, являющегося внутриклеточным депо ионов  $Ca^{2+}$  (в СР их концентрация достигает  $= 10^{-3}$  моль/л), и высвобождает кальций из пузырьков СР, в ре-

зультате чего возникает так называемый "кальцевый залп". Ионы  $Ca^{2+}$  из СР поступают на актин-миозиновый комплекс МФ, открывают активные центры актиновых цепей, вызывая замыкание мостиков и дальнейшее развитие силы и укорочения саркомера;

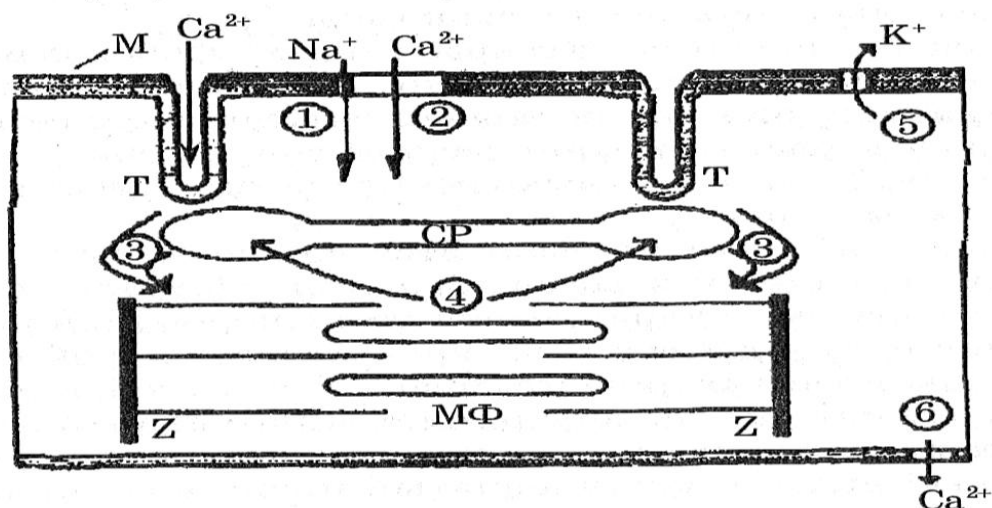


Рис. 7.11. Схема электрохимического сопряжения в кардиомиоците (М - клеточная мембрана-сарколемма, СР - саркоплазматический ретикулум, МФ - миофибрилла, Z - z-диски, Т - Т-система поперечных трубочек); 1 - поступления  $Na^+$  и 2 - поступления  $Ca^{2+}$  в клетку при возбуждении мембраны, 3 - "кальцевый залп", 4 - активный транспорт  $Ca^{2+}$  в СР, 5 - выход из клетки  $K^+$ , вызывающий реполяризацию мембраны, 6 - активный транспорт  $Ca^{2+}$  из клетки

4 - по окончании процесса сокращения миофибрилл ионы  $Ca^{2+}$  с помощью кальциевых насосов, находящихся в мембране СР, активно закачиваются внутрь саркоплазматического ретикула;

5 - процесс электрохимического сопряжения заканчивается тем, что  $K^+$  пассивно выходит из клетки, вызывая реполяризацию мембраны;

6 - ионы  $Ca^{2+}$  активно выводятся во внеклеточную среду с помощью кальциевых насосов сарколеммы.

Таким образом, в кардиомиоците электрохимическое сопряжение идет в две ступени: вначале небольшой входящий поток кальция активирует мембраны СР, способствуя большему выбросу кальция из внутриклеточного депо, а затем в результате этого выброса происходит сокращение саркомера. Описанный выше двухступенчатый процесс сопряжения доказан экспериментально. Опыты показали, что: а) отсутствие потока кальция извне клетки  $j_{Ca}$  прекращает сокращение саркомеров, б) в условиях постоянства количества кальция, высвобождаемого из СР, из-

менение амплитуды потока кальция приводит к хорошо коррелирующему изменению силы сокращения. Поток ионов  $Ca^{2+}$  внутрь клетки выполняет таким образом две функции: формирует длительное (200 мс) плато потенциала действия кардиомиоцита и участвует в процессе электромеханического сопряжения.

Следует отметить, что не во всех мышечных клетках организма процесс сопряжения происходит, как в кардиомиоците. Так, в скелетных мышцах тепловых потенциал действия короткий (2-3 мс) и медленный поток ионов кальция в них отсутствует. В этих клетках сильно развита Т-система поперечных трубочек, подходящих непосредственно к саркомерам близко к z-дискам. Изменения мембранного потенциала во время деполяризации через Т-систему передается в таких клетках непосредственно на мембрану СР, вызывая залповое высвобождение ионов  $Ca^{2+}$  и дальнейшую активацию сокращения (3, 4, 5). Временной ход описанных процессов показан на рис. 7.12.

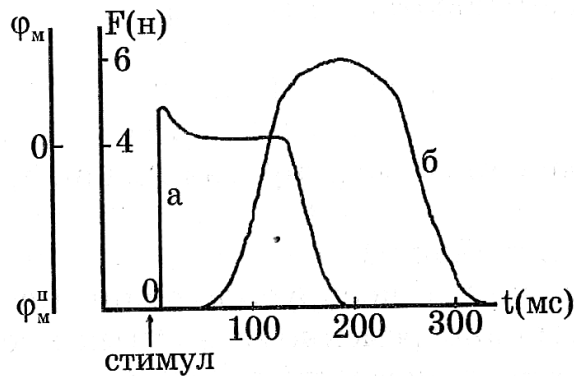


Рис. 7.12. Временное соотношение между потенциалом действия кардиомиоцита (а) и одиночным сокращением (б) в этих клетках. Ордината слева - мембранный потенциал, справа - сила.  $\phi^n$  - потенциал покоя

Общим для любых мышечных клеток является процесс освобождения ионов  $Ca^{2+}$  и внутриклеточных депо - саркоплазматического ретикула и дальнейшая активация сокращения. Ход кальциевого выброса из СР экспериментально наблюдается с помощью люминесцирующего в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  белка экворина, который был выделен из светящихся медуз. Задержка начала развития сокращения в скелетных мышцах составляет 20 мс, а в сердечной - несколько больше (до 100 мс).

## 8. БИОФИЗИКА НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

Нормальное функционирование организма невозможно без обмена информацией между клетками, одним из способов которого является возможность генерации и восприятия клетками нервного импульса. В организме существуют так называемые *возбудимые клетки*, к которым относятся мышечные, нервные и секреторные. Эти клетки способны откликаться каким-либо образом на их возбуждение. Так, мышечные клет-

ки сокращаются, секреторные выделяют биологически активные вещества, а нервные генерируют электрические колебания — *нервный импульс*.

### 8.1. Потенциал покоя.

На мембране клетки всегда существует разность потенциалов, то есть электрический потенциал внутри клетки отличается от наружного. Эта разность потенциалов называется *потенциалом покоя*. Если наружный потенциал принять равным нулю, то внутренний составит от -50 до -90 мВ, в зависимости от вида клеток.

Причиной возникновения потенциала покоя является наличие градиента концентраций ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$  на клеточной мембране (табл. 8.1). Допустим, что мембрана проницаема только для ионов калия и непроницаема для остальных, тогда потенциал покоя будет определяться равновесным калиевым потенциалом и описываться *уравнением Нернста*:

$$\Delta\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} \quad (8.1)$$

где  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — абсолютная температура;  $F$  — число Фарадея;  $[K^+]_o$  и  $[K^+]_i$  — наружная и внутренняя концентрации ионов калия соответственно. Если внутриклеточная концентрация  $K^+$  в 50 раз превышает внеклеточную, то потенциал покоя при температуре 27 °С составляет -100,7 мВ.

Величина потенциала покоя всегда несколько ниже равновесного калиевого потенциала, что объясняется просачиванием внутрь клетки ионов натрия, которые приносят туда свой положительный заряд. Диффузия отрицательно заряженных ионов хлора, наоборот, способствует увеличению  $\Delta\varphi$ . Таким образом, вклад в формирование потенциала покоя вносят потоки всех ионов, коэффициенты проницаемости которых отличны от нуля.

Вычислим зависимость потенциала покоя от концентрации и коэффициентов проницаемости ионов. В дальнейших расчетах будем учитывать только ионы  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ .

В стационарном состоянии сумма потоков ионов через мембрану равна нулю:

$$J_{Na} + J_K - J_{Cl} = 0 \quad (8.2)$$

хотя потоки отдельных ионов могут быть и отличны от нуля. Так как ионы хлора заряжены отрицательно, то перед потоком ионов хлора  $J_{Cl}$  ставится знак «-».

Таблица 8.1

Концентрация ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$  внутри и снаружи клетки, значения равновесных потенциалов, потенциалов покоя и потенциалов действия некоторых клеток

Клетки	Значения концентраций ионов внутри (i) и снаружи (o) клетки, mM			Равновесный потенциал для разных ионов, мВ			Измеренные потенциалы, мВ	
	$K_i^+/K_o^+$	$Na_i^+/Na_o^+$	$Cl_i^-/Cl_o^-$	$K^+$	$Na^+$	$Cl^-$	покоя	на максимуме потенциала
Гигантский аксон	340/10,4	49/463	114/592	-88	+57	-42	-60	+ 50
Гигантский аксон каль-	360/10,0	69/425	157/496	-90	+46	-29	-60	+ 35
Мышечное волокно	(48:1)	(1:7)	(1:64)	-98	+49	-105	-88	+ 34
Моторный нейрон кошки	150/5,5	15/150	9/125	-90	+60	-70	-90	+ 30

Выразим из уравнения Гольдмана (см. формулу 6.26) потоки для ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  с учетом их заряда  $z$ .

$$J_K = \frac{F\Delta\phi P_K}{RT} \cdot \frac{[K^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - [K^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} \quad (8.3)$$

$$J_{Na} = \frac{F\Delta\phi P_{Na}}{RT} \cdot \frac{[Na^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - [Na^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} \quad (8.4)$$

$$J_{Cl} = \frac{F\Delta\phi P_{Cl}}{RT} \cdot \frac{[Cl^-]_i e^{F\Delta\phi/RT} - [Cl^-]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} \quad (8.5)$$

и подставим их в уравнение (8.2). Сократив на общий множитель  $F\Delta\phi/RT$ , запишем:

$$\begin{aligned} & \frac{P_K[K^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_K[K^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} + \frac{P_{Na}[Na^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_{Na}[Na^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} + \\ & + \frac{P_{Cl}[Cl^-]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_{Cl}[Cl^-]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} = 0; \end{aligned} \quad (8.6)$$

Разделив числитель и знаменатель последнего слагаемого на множитель  $e^{F\Delta\phi/RT}$ :

$$\frac{P_K[K^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_K[K^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} + \frac{P_{Na}[Na^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_{Na}[Na^+]_o}{1 - e^{F\Delta\phi/RT}} + \frac{P_{Cl}[Cl^-]_i - P_{Cl}[Cl^-]_o e^{F\Delta\phi/RT}}{e^{F\Delta\phi/RT} - 1} = 0; \quad (8.7,a)$$

получаем:

$$P_K[K^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_i e^{F\Delta\phi/RT} - P_{Na}[Na^+]_o - P_{Cl}[Cl^-]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o e^{F\Delta\phi/RT} = 0; \quad (8.7,b)$$

или

$$\frac{F\Delta\phi}{RT} = \ln \frac{P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o} \quad (8.7,b)$$

В результате получаем:

$$\Delta\phi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o} \quad (8.8)$$

Данное выражение называется **уравнением Гольдмана—Ходжкина—Катца**.

В состоянии покоя мембранные проницаемости для ионов  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$  относятся друг к другу как

$$K^+ : Na^+ : Cl^- = 1 : 0,004 : 0,45 \quad (8.9)$$

Так как в покое проницаемость клетки для ионов калия намного больше ее проницаемости для других ионов, то потенциал покоя определяется преимущественно разностью концентраций ионов калия.

Поддержание разности концентраций ионов осуществляется при помощи работы ионных насосов, использующих энергию АТФ.  $Na^+, K^+$ -насос, кроме того, способствует увеличению трансмембранного потенциала, так как выводит три иона натрия и закачивает в клетку только два иона калия, что увеличивает положительный заряд межклеточной среды, а следовательно, увеличивает потенциал покоя.

Увеличение трансмембранной разности потенциалов называется *гиперполяризацией*, уменьшение — *деполяризацией*. В последнем случае может даже измениться знак внутриклеточного потенциала.

Нарушение работы АТФ-азы, которое можно вызвать, например, действием сердечного гликозида убаина, уменьшает потенциал покоя. К такому же эффекту приводит действие различных ядов (например батра-



хотоксина), увеличивающих проницаемость клеточной мембраны для ионов натрия. Деполяризацию вызывает также торможение процессов, обеспечивающих в клетке синтез АТФ.

## 8.2. Потенциал действия.

При воздействии на клетку какого-либо раздражителя ее трансмембранный потенциал изменяется, возникает так называемый **потенциал действия**, или **спайк**. Причиной такого колебания потенциала покоя является изменение проницаемости мембраны для натрия, что, в свою очередь, вызвано открытием натриевых ионных каналов. При возбуждении проницаемости мембраны для ионов калия и натрия относятся друг к другу как

$$P_K : P_{Na} = 1 : 20. \quad (8.10)$$

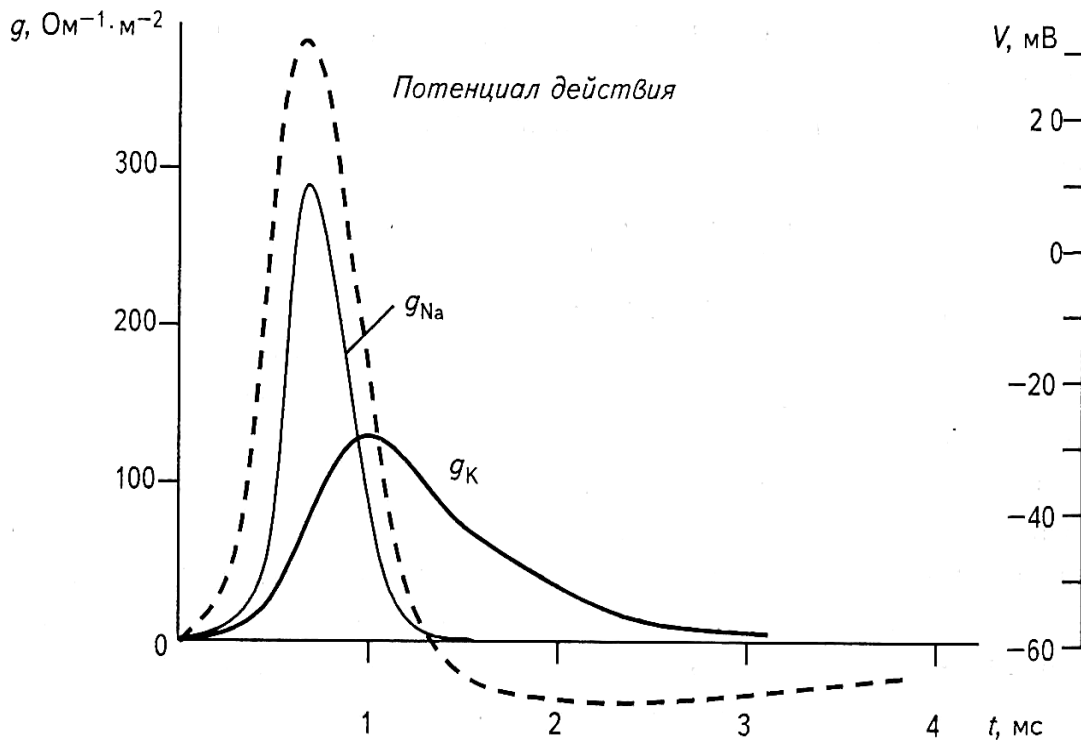


Рис. 8.1. Зависимость проводимости мембраны для ионов натрия и калия ( $g_{Na}$  и  $g_K$ ) от времени  $t$  для гигантского аксона кальмара во время генерации потенциала действия  $V$

В результате поток ионов натрия в клетку начинает превышать поток ионов калия из клетки (рис. 8.1). Если раньше потенциал на мембране был близок к равновесному калиевому потенциалу, то теперь он стремится к равновесному натриевому, но не достигает его только вследствие того, что проводимости для ионов калия и хлора отличны от нуля.

В клетке происходит деполяризация мембраны: отрицательный потенциал клетки приближается к нулю, а потом и вовсе меняет знак на противоположный (рис. 8.2). Последний процесс называется реверсией мембранного потенциала. Максимальное значение потенциала действия составляет обычно 30...40 мВ. Увеличение натриевой проводимости длится доли миллисекунд. Далее она начинает снижаться, а калиевая — возрастать, в результате чего в клетке восстанавливается потенциал покоя. Этот процесс называется *реполяризацией* клеточной мембраны.

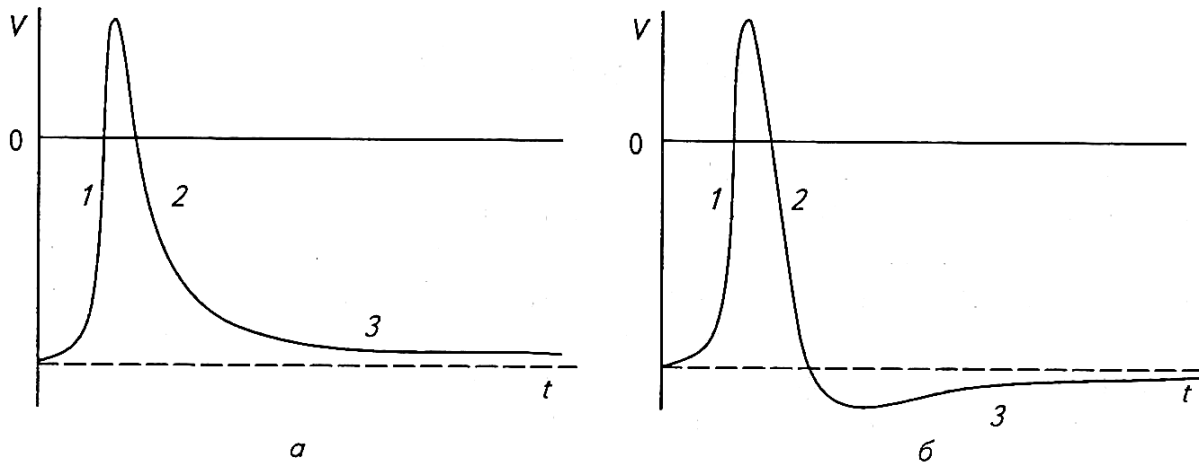


Рис. 8.2. Фазы потенциала действия:

1 – фаза деполяризации; 2 – фаза реполяризации; 3 – следовой потенциал: а – отрицательный, б – положительный.

Для восстановления потенциала покоя клетке требуется некоторое время. В процессе реполяризации сначала происходит быстрое приближение к нормальному значению потенциала покоя, затем скорость изменения потенциала уменьшается, и клетка некоторое время пребывает в деполяризованном состоянии. Это называется *следовой деполяризацией*. В некоторых клетках, наоборот, возникает *следовая гиперполяризация*, то есть в процессе реполяризации разность потенциалов начинает превышать обычную. Оба эти отклонения от нормального значения потенциала покоя называются *следовыми потенциалами* (рис.8.2).

Длительность потенциала действия отличается для различных клеток (колеблется в пределах от 0,5 до 3 мс) и существенно зависит от температуры. При ее уменьшении на 10°C время существования потенциала действия увеличивается в три раза. Длительность реполяризации обычно превышает длительность деполяризации.

Вычислим электрический ток  $I_M$  через мембрану. Он состоит из емкостного тока  $I_C$  и тока ионов  $\Sigma I_I$  (см. эквивалентную схему на рис. 8.3):

$$I_M = I_C + \Sigma I_I \quad (8.11)$$

Емкостной ток обусловлен перезарядкой конденсатора (мембраны) и равен отношению количества заряда  $dq$ , прошедшего через мембрану за время  $dt$ . Так как  $dq = C_M d\phi_M$ , где  $C_M$  — емкость мембраны,  $\phi_M$  — трансмембранный потенциал, то

$$I_C = C_M d\phi/dt \quad (8.12)$$

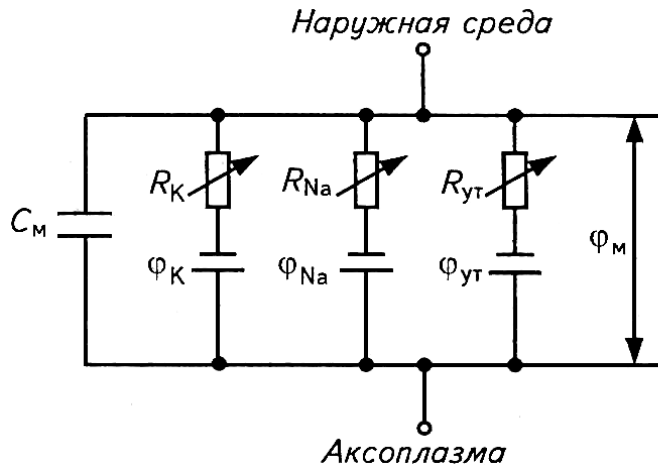


Рис. 8.3. Эквивалентная электрическая схема возбуждения мембраны:

$R_{Na}$ ,  $R_K$ ,  $R_y$  — сопротивление участка мембраны для ионов  $Na^+$ ,  $K^+$  и остальных ионов соответственно;  $\phi_{Na}$ ,  $\phi_K$ ,  $\phi_y$  — трансмембранный потенциал.

Ионный ток  $\Sigma I_I$  обусловлен протеканием через трансмембранные каналы ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ , а также других ионов (например  $Cl^-$ ), ток которых называется *током утечки*  $I_y$ :

$$\Sigma I_I = I_{Na} + I_K + I_y \quad (8.1 \quad 3)$$

Тогда суммарный мембранный ток равен:

$$\Sigma I_M = C_M d\phi/dt + I_{Na} + I_K + I_y \quad (8.1 \quad 4)$$

Для непосредственного изучения ионных токов необходимо исключить емкостной ток. Это достигается с помощью **метода фиксации потенциала**, который заключается в том, что на некотором участке мембраны потенциал смещается до некоторой заданной величины и удерживается на данном уровне с помощью схемы с обратной связью.

На основании закона Ома запишем ток ионов данного типа:

$$I_I = g_u(\phi_M + \phi_{и.р}) \quad (8.1 \quad 5)$$

где  $g_u = 1/R_u$  — проводимость (величина, обратная сопротивлению) для данного типа ионов;  $\phi_M$  — трансмембранный потенциал;  $\phi_{и.р}$  — равновесный потенциал Нернста данного типа ионов.

Метод фиксации потенциала позволил изучить механизм генерации потенциала действия. Изменяя ионный состав среды, Ходжкин и Хаксли показали, что фаза деполяризации мембраны обусловлена увеличением ее проводимости для ионов  $Na^+$ , а фаза деполяризации — снижением натриевого и увеличением калиевого токов.

В ходе проведенных экспериментов была выдвинута гипотеза о существовании потенциалзависимых специфических калиевых и натриевых каналов, которые могут чередовать во времени открытое и закрытое состояние, регулируя тем самым проницаемость мембраны для ионов данного типа в зависимости от величины мембранного потенциала.

В последнее время появился метод, позволяющий определять ионный ток через отдельно взятый ионный канал, так называемый **метод «пэтч-клемп»** (*patch* — заплатка, *clamp* — зажим (англ.)). Этот метод также используется для изучения белков, формирующих ионные каналы.

Действие раздражителя обычно приводит к локальной деполяризации мембраны. Это вызывает открытие натриевых каналов, чувствительных к изменению потенциала, а следовательно, — увеличивает натриевую проводимость, что приводит к еще большей деполяризации. Указанный процесс способствует открытию новых натриевых каналов. Существование такой обратной связи обеспечивает регенеративную или самообновляющуюся деполяризацию клеточной мембраны.

После возникновения потенциала действия данный участок мембраны нервной клетки некоторое время находится в невозбудимом — *рефракторном* — состоянии, то есть действие раздражителя не вызывает генерацию потенциала действия, так как натриевые каналы некоторое время после активации находятся в закрытом состоянии и не способны открыться в ответ на изменение трансмембранного потенциала.

При возникновении потенциалов действия в клетке уменьшается концентрация ионов калия и увеличивается концентрация ионов натрия. Поэтому в этих условиях необходима активация мембранных насосов, осуществляющих активный транспорт ионов. Так как для этого требуются молекулы АТФ, то в клетке активируются процессы дыхания, увеличивается потребление кислорода и теплообмен.

### **8.3. Раздражение мембраны электрическим током.**

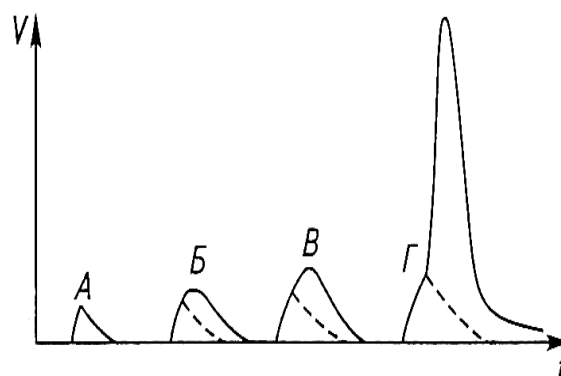
В эксперименте возбуждение мембран чаще всего производят электрическим током, что позволило получить многие количественные характеристики этого процесса. В одном из наиболее распространенных методов в исследуемую клетку помещают анод, а катод оставляют во внеклеточной среде. Пропускание электрического тока вызывает деполя-

ризацию мембраны, а следовательно,— возникновение потенциала действия. При противоположной полярности электродов, когда анод оставляют у поверхности клетки, а катод помещают внутрь, возникновение потенциала действия невозможно, так как происходит гиперполяризация мембраны.

Было замечено, что амплитуда потенциала действия не зависит от силы раздражителя, а сам он возникает только в том случае, если деполяризация превысила некоторый пороговый уровень, определяемый свойствами данной клетки. Это явление получило название закона «*все или ничего*». Однако если деполяризация составляет 50—75 % от уровня пороговой, то в клетке может возникнуть так называемый *локальный ответ*, амплитуда которого значительно ниже амплитуды потенциала действия (рис. 8.4). Чем выше уровень подпороговой деполяризации, то есть чем ближе он к пороговой, тем выше амплитуда локального ответа. Отсутствие потенциала действия при подпороговом уровне деполяризации объясняется тем, что при этом недостаточно увеличивается натриевая проницаемость, чтобы вызвать регенеративную деполяризацию. Возникающий уровень деполяризации не вызывает открытия новых натриевых каналов, поэтому натриевая проводимость быстро уменьшается, и в клетке восстанавливается потенциал покоя.

Рис. 8.4. Локальный ответ:

А, Б, В — изменение трансмембранного потенциала при действии подпорогового возбуждения; А — локальный ответ отсутствует; Б, В — подпороговая деполяризация стимулировала развитие локального ответа (пассивное изменение потенциала обозначены пунктирной линией); Г — критический уровень деполяризации перерастает в потенциал действия



Следует отметить, что амплитуда потенциала действия и пороговый уровень деполяризации не являются строго постоянными величинами для данной клетки. Длительная деполяризация приводит к увеличению инактивации натриевых каналов и активации калиевых, следствием чего является уменьшение амплитуды потенциала действия и увеличение порогового уровня деполяризации. Длительная гиперполяризация вызывает обратные эффекты: увеличение амплитуды потенциала действия и уменьшение порогового уровня деполяризации.

Возникновение потенциала действия зависит не только от силы тока, но и от времени его действия. Чем больше сила тока, тем меньше

времени требуется подавать его на клетку, чтобы возник потенциал действия. Действие больших токов в течение короткого промежутка времени не вызывает нужного уровня деполяризации, так же как и действие в течение длительного времени токов малой силы. Наименьший ток, который способен вызвать потенциал действия, называется *реобазой* (отрезок ОА на рис. 8.5); соответствующее ему время возбуждения — *полезным временем* (отрезок ОС на рис. 8.5). В биологии и медицине часто используется термин *хронаксия* (отрезок ОВ на рис. 8.5), означающий время, в течение которого должен действовать ток в две реобазы (отрезок ОД на рис. 8.5), вызывающий возбуждение. Для каждой клетки существует свое значение реобазы и хронаксии, поэтому измерение этих характеристик имеет диагностическое значение.

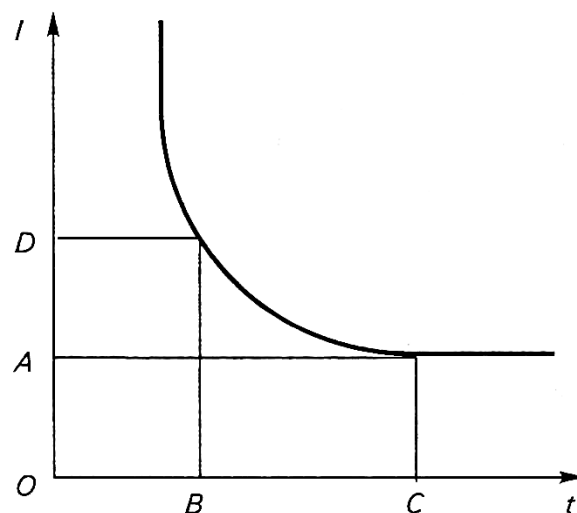


Рис. 8.5. Зависимость минимального уровня силы тока, от времени его воздействия на клетку.

#### 8.4. Распространение возбуждения по нервному волокну.

Нервные волокна делятся на миелинизированные (мякотные) и немиелинизированные (безмякотные). Миелинизированное нервное волокно состоит из осевого цилиндра, покрытого цитоплазматической мембраной и содержащего аксоплазму (рис. 8.6). Вокруг него многократно обертываются шванновские клетки (в периферической нервной системе) или клетки олигодендроглии (в центральной нервной системе), слои которых сливаются и образуют миелиновую оболочку нервного волокна. Через равные промежутки (от 0,2 до 2 мм), характерные для данной клетки, эта оболочка прерывается, и мембрана осевого цилиндра остается открытой. Такие участки волокна называются перехватами Ранвье. Их длина составляет примерно 1 мкм. Миелиновая оболочка, состоящая из мембранных

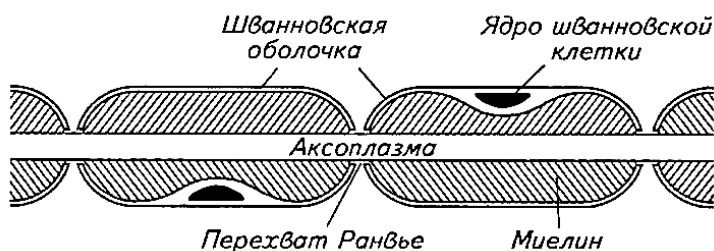


Рис. 8.6. Миелинизированное нервное волокно.

липидов и белков, является надежным изолятором нервной клетки, благодаря ей возбуждение может возникнуть только на оголенном участке мембраны аксона. Немиелинизированные нервные волокна не имеют такой плотной жировой оболочки. Шванновская клетка окружает их только один раз.

Возбуждение какого-либо участка немиелинизированного нервного волокна приводит к локальной деполяризации мембраны. В то же время остальная (невозбужденная) часть мембраны сохраняет свою обычную разность потенциалов: наружная среда

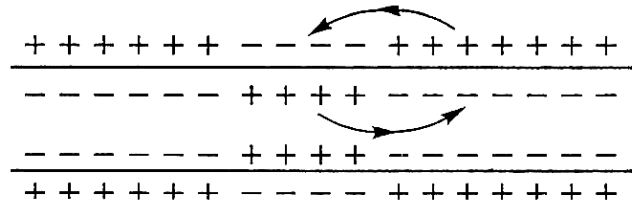


Рис. 8.7. Непрерывное проведение возбуждения по нервному волокну

заряжена положительно, а внутренняя — отрицательно. Между возбужденной и невозбужденной областями возникают местные токи (рис. 8.7). Это приводит к деполяризации соседнего участка, который, в свою очередь, деполяризует следующий. Подсоединив электроды осциллографа к двум участкам клеточной мембраны, можно пронаблюдать распространение потенциала действия. Такой способ проведения возбуждения называется непрерывным.

В миелинизированных нервных волокнах непрерывное проведение нервного импульса невозможно. Возбуждение (деполяризация) может возникать не по всей длине мембраны, а только в перехватах Ранвье. Деполяризация одного такого участка *A* вызывает деполяризацию соседнего участка *B* (рис. 8.8). Далее

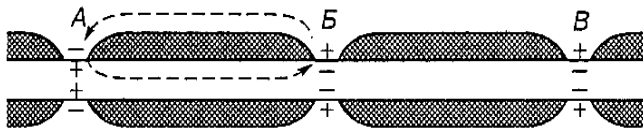


Рис. 8.8. Распространение возбуждения в миелинизированном нервом волокне

возбуждение способно перейти только к участку *B*, так как *A* в течение некоторого времени остается нечувствительным к возбуждению (*рефракторным*). По этой причине

импульс распространяется по нервному волокну только в одном направлении. Возникающий потенциал действия в несколько раз превышает порог необходимый для возникновения возбуждения в следующем перехвате Ранвье, который, таким образом, каждый раз усиливает сигнал, ослабевающий в результате сопротивления межтканевой жидкости и аксоплазмы, и действует подобно ретранслирующему генератору. Механизм распространения возбуждения по миелинизированным волокнам называется *скачкообразным* или *сальтаторным*.

Сальтаторный механизм выгоднее непрерывного, так как позволяет увеличить скорость проведения нервного импульса и более экономичен с энергетической точки зрения: деполяризуются только небольшие участки мембраны, возникают меньшие потери ионов, следовательно, клетке приходится расходовать меньше энергии для обеспечения работы,  $Na^+$ ,  $K^+$ -насосов.

При одном из аутоиммунных заболеваний — рассеянном склерозе — иммунная система организма разрушает миелиновую оболочку, происходит оголение (демиелинизация) нервных волокон. При этом проведение нервных импульсов через пораженный участок нарушается, что приводит к различным проявлениям: нарушению зрения и координации, мышечной слабости, повышению мышечного тонуса и др. Демиелинизация может происходить и при некоторых других заболеваниях: невралгиях, радикулитах, различных полиневропатиях.

Скорость распределения потенциала действия  $\phi$  в зависимости от расстояния  $x$  и времени  $t$  по немиелинизированному нервному волокну определяется так называемым телеграфным уравнением

$$\frac{d^2\phi}{dx^2} = \frac{4\rho_a}{D} \left[ C_M \frac{d\phi}{dt} + \frac{\phi}{\rho_M l} \right] \quad (8.16)$$

где  $D$  — диаметр волокна;  $l$  — толщина мембраны;  $C_M$  — емкость;  $\rho_a$  — удельное сопротивление аксоплазмы;  $\rho_M$  — удельное сопротивление мембраны, которое резко снижается при возбуждении.

Решение этого уравнения в стационарном режиме (при  $t \rightarrow \infty$ ) имеет следующий вид:

$$\phi = \phi_0 \exp(-x/\lambda) \quad (8.17)$$

где  $\phi_0$  — потенциал в точке  $x = 0$ ;  $\lambda$  — постоянная длины волокна, равная

$$\lambda = \sqrt{\frac{D \rho_M l}{4\rho_a}} \quad (8.18)$$

При удалении от точки приложения возбуждения на величину  $\lambda$  потенциал уменьшается в  $e$  раз. Клетке выгоднее иметь большие значения  $\lambda$ , так как при этом затухание импульса происходит медленнее. Отсутствие полного затухания импульса объясняется тем, что каждый новый потенциал действия усиливает сигнал.

Скорость проведения нервного импульса по немиелинизированным нервным волокнам, так же как и постоянная длины, пропорциональна квадратному корню из диаметра волокна. Увеличение диаметра способствует увеличению  $\lambda$  и скорости распространения возбуждения. Этим



объясняется существование гигантских аксонов головоногих моллюсков. Скорость проведения возбуждения по немиелинизированному волокну диаметром 1 мкм составляет только 2 м/с, тогда как для волокон диаметром 0,5—1 мм эта величина уже достигает 20 м/с.

Для миелинизированных нервных волокон скорость проведения возбуждения зависит от длины межперехватных участков (участков между двумя перехватами Ранвье). Замечено, что время, необходимое для передачи сигнала от одного перехвата к другому, примерно одинаково и составляет около 0,07 мс. В то же время длина межперехватных участков пропорциональна диаметру волокна. Таким образом, скорость проведения нервного импульса по мякотным волокнам пропорциональна их диаметру. Поэтому у организмов, имеющих миелинизированные волокна, отпала необходимость значительно увеличивать их диаметр. Такое волокно диаметром 20 мкм проводит возбуждение со скоростью 120 м/с.

Измерение скорости проведения нервного импульса часто проводят в медицинской практике: при нарушении миелиновой оболочки скорость распространения возбуждения снижается.

Для нервных волокон приблизительно одинакового диаметра скорость распространения возбуждения зависит от величины так называемого фактора надежности  $\eta$ , который выражается следующим образом:

$$\eta = \frac{V_0}{V_{кр}} \quad (8.19)$$

где  $V_0$  — амплитуда потенциала действия;  $V_{кр}$  — критический уровень деполяризации, вызывающий генерацию потенциала действия.

Обычно фактор надежности составляет 5—6, то есть потенциал действия способен возбудить следующий участок мембраны, так как его величина значительно превышает пороговый уровень деполяризации. Действие местных анестетиков (например новокаина) сводится к снижению величины  $V_0$  и увеличению  $V_{кр}$  за счет инактивации натриевых каналов, что приводит к снижению фактора надежности.

## 9. ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ

К электрокинетическим явлениям относят движение фаз гетерогенной системы под влиянием наложенного на нее постоянного электрического поля, а также образование разности потенциалов в системе при механическом движении фаз.

В связи с тем, что клетки и ткани биологических объектов представляют собой сложные гетерогенные коллоидные системы, изучение электрокинетических явлений, протекающих в этих системах, представляет

большой интерес при исследовании физикохимических свойств биологических структур.

Электрокинетические явления впервые обнаружил профессор Московского университета Ф. Рейс, установивший в 1908 г. возможность передвижения в постоянном электрическом поле дисперсной фазы и дисперсионной среды коллоидных растворов (рис. 9.1).

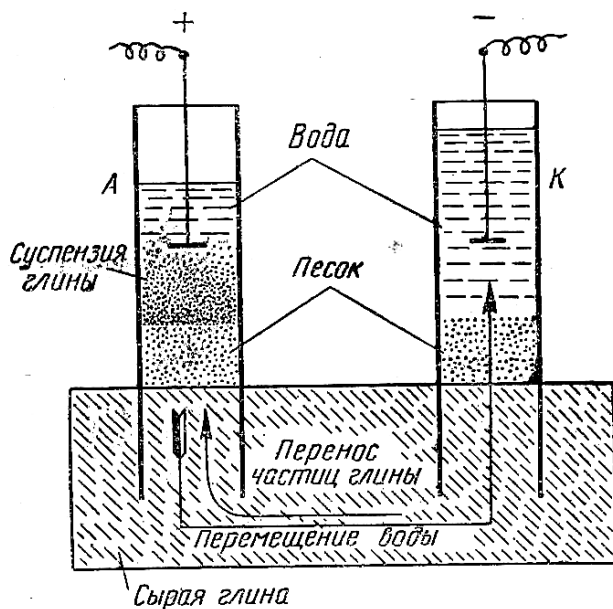


Рис. 9.1. Схема опыта Рейса:

Под влиянием электрического тока в анодной трубке над песком появляется муть, состоящая из частиц глины (заряженных отрицательно). Уровень воды в анодной трубке понизился. В катодной трубке муть не появилась.

сти гидростатического давления или градиента силы тяжести между дисперсной фазой и дисперсионной средой может возникать разность потенциалов. Эти потенциалы получили название: *потенциалы течения (протекания)* и *потенциалы седиментации (оседания)*.

Потенциалы течения впервые обнаружил в 1859 г. немецкий исследователь Квинке (*Quinke*). Они возникают в результате движения жидкости через капилляры или поры пористой перегородки под влиянием разности гидростатического давления.

Потенциалы седиментации впервые описал в 1878 г. немецкий исследователь Дорн (*Dorn*). Потенциалы седиментации могут возникать в гетерогенной среде под влиянием силы тяжести между верхними и нижними слоями системы.

Так были открыты два электрокинетических явления — *электрофорез* и *электроосмос*.

Так были открыты два электрокинетических явления — *электрофорез* и *электроосмос*.

*Электрофорез* — это движение частиц дисперсной фазы в постоянном электрическом поле по направлению к противоположно заряженному электроду.

*Электроосмос* — движение дисперсионной среды в постоянном электрическом поле по направлению к электроду, заряженному одноименно с частицами неподвижной дисперсной фазы.

В дальнейшем было обнаружено, что в коллоидных растворах при наличии разно-

На основании изложенного следует, что потенциалы седиментации и течения представляют собой явления, обратные электрофорезу и электроосмосу. Все электрокинетические явления так или иначе связаны с возникновением разности потенциалов, возникающей между дисперсной фазой и дисперсионной средой. Такой потенциал называется *электрокинетическим*, или *дзета-потенциалом* ( $\xi$ -потенциал). Электрокинетический потенциал возникает только вследствие движения фаз гетерогенной системы; разность потенциалов образуется на границе между тончайшей водяной пленкой (так называемый *адсорбционный слой* или *адсорбционная пленка*), которая адсорбирована каждой взвешенной частицей и всей остальной массой жидкости (рис. 9.2.).

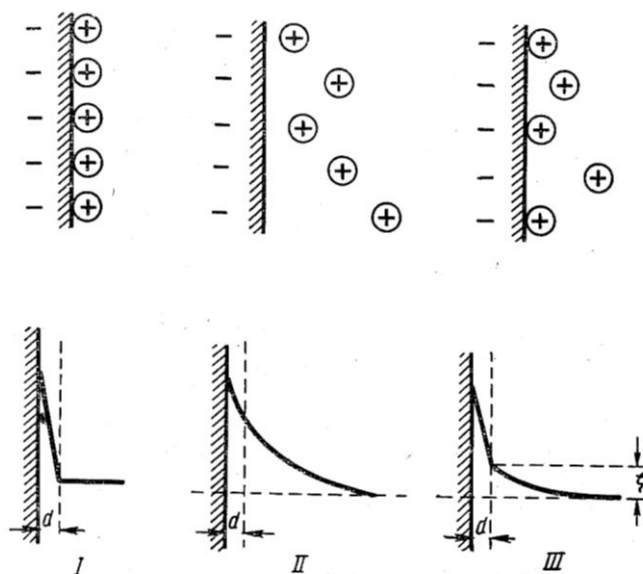


Рис. 9.2. Схема двойного электрического слоя. Вверху обозначено расположение ионов, внизу — кривые падения потенциала: I — по Гельмгольцу; II — по Гуи; III — по Штерну;  $d$  — адсорбционный слой

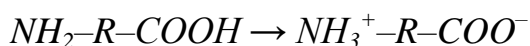
Возникновение потенциала на границе двух фаз всегда связано с наличием на поверхности раздела электрического заряда. Электрический заряд на поверхности клеток и биосубстратов возникает в ряде случаев в результате адсорбции ионов на поверхности частиц, которые сами не способны образовывать ионы (неионогенные частицы), а также может образоваться за счет ионизации диссоциирующих групп дисперсной фазы. Возникновение зарядов на неионогенных поверхностях (например, масла, целлюлоза, холестерин и др.) принципиально возможно за счет адсорбции

как катионов, так и анионов, однако преимущественно адсорбируются анионы. Объясняется это тем, что анионы менее гидратированы, чем катионы, и поэтому для удаления анионов из раствора и их последующей адсорбции на поверхности раздела требуется меньшая затрата энергии. Возникновение поверхностного заряда за счет ионизации может, например, происходить в белках и других органических электролитах, содержащих карбоксильные, гидроксильные, аминные и другие полярные группы.

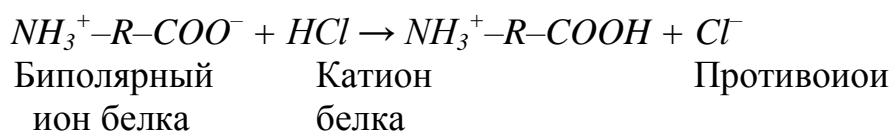
В результате ионизации этих групп одни ионы (так называемые противоионы) уходят в дисперсионную среду, а другие (потенциалообразующие ионы) остаются фиксированными на поверхности частиц дисперсной фазы и оказываются ответственными за знак ее потенциала.

Так, в белковых молекулах возникновение заряда на поверхности зависит от кислотных и щелочных группировок. Кислотные группировки белка происходят, главным образом, за счет карбоксильных групп дикарбоновых аминокислот. Кислой реакцией обладают также фенольные гидроксилы и сульфгидрильные группы. Щелочной реакцией — аминные, гуанидиновые и иминные группы диаминокислот. На кислотно-щелочные свойства белка влияет также характер соединения остатков аминокислот в белковой молекуле.

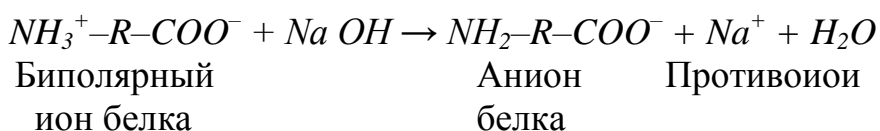
Благодаря наличию одновременно кислотных и щелочных групп, белки представляют собой биполярные ионы:



В кислых растворах белок играет роль катиона. Например, при действии соляной кислоты образуется протеин — хлорид.



Таким образом возникает потенциалообразующий ион группы  $NH^+$  и противоион  $Cl^-$ . В щелочных растворах образуется анион белка. Например, с едким натром белок образует протеинат натрия.



Возникновение заряда на поверхности белка в щелочной среде связано с диссоциацией карбоксильной группы и с возникновением отрицательно заряженных потенциалообразующих ионов (карбоксилата) и положительно заряженных противоионов.

Как известно, диссоциация белков зависит от их изоэлектрической точки. Для большинства белков изоэлектрическая точка слегка сдвинута в кислую сторону. Некоторые белки (например, протамины и гистоны) имеют изоэлектрическую точку при слабощелочной реакции, так как такие белки относительно богаче аминными группами и в своем составе

содержат больше остатков диаминокислот. В нейтральном растворе протамины и гистоны являются слабыми основаниями.

Наличие заряда на поверхности разделов двух фаз обусловлено асимметрическим распределением ионов. Ионы одного знака прочно связаны поверхностью частиц, а ионы противоположного знака находятся в дисперсионной среде. Такая система ионов, в целом электрически нейтральная, называется *двойным электрическим слоем*.

Структура двойного электрического слоя не зависит от механизма возникновения заряда на поверхности частицы: происходит ли образование заряда путем диссоциации ионогенных групп молекул или за счет преимущественной адсорбции ионов из раствора. Структура двойного электрического слоя зависит от плотности расположения зарядов на поверхности частицы. При редком расположении зарядов на поверхности частицы вокруг каждого заряда в растворах возникает ионная атмосфера. В случае плотного расположения зарядов обобществление ионных атмосфер образует структуру истинного двойного слоя.

Представление о двойном электрическом слое подвергалось значительным изменениям на протяжении всей истории изучения электрокинетических потенциалов.

Согласно наиболее старым представлениям, которые выдвинул еще Гельмгольц в 1867 г., двойной электрический слой образован двумя противоположно заряженными слоями, каждый из которых состоит из ионов одного знака и находится один от другого на расстоянии средней величины радиуса входящих в него ионов (см. рис. 9.2).

В результате действия сил электростатического притяжения противоположные ионы стремятся расположиться возможно ближе к ионам, адсорбированным на поверхности частицы. Таким образом, двойной электрический слой, по Гельмгольцу, представляет собой конденсатор, обкладки которого состоят из ионов противоположного знака. Ионы как одного, так и другого знака прочно и неподвижно фиксированы и поэтому двойной слой, согласно представлению Гельмгольца, должен иметь постоянную жесткую структуру.

Разность потенциалов между твердой фазой и раствором ( $E$ ) в рассмотренном случае может быть выражена в виде уравнения:

$$E = 4\pi l\sigma/D \quad (9.1)$$

где  $l$  — расстояние между слоями,  $\sigma$  — заряд на единицу поверхности,  $D$  — диэлектрическая постоянная.

Таким образом, по Гельмгольцу, не должно быть различия между величиной полной разности потенциалов, возникающей между двумя фазами (термодинамический потенциал) и величиной скачка потенциала

на границе раздела двух фаз (электрокинетический или *дзета*-потенциал). Падение потенциала, по этой теории, происходит на очень малом расстоянии, равном средней величине ионного радиуса, и поэтому происходит очень резко.

Исходя из того, что двойной электрический слой имеет жесткую структуру, его толщина, согласно теории Гельмгольца, не должна зависеть от общего количества ионов, находящихся в растворе, и от их валентности, т.е. от ионной силы раствора, количественное выражение которой представляет собой полусумму произведений величины зарядов ионов, содержащихся в растворе, на квадрат заряда ионов, т. е.

$$\mu = c \sum n Z^2 / 2 \quad (9.2)$$

где  $\mu$  — ионная сила,  $c$  — молярная концентрация,  $n$  — число ионов, составляющих молекулу,  $Z$  — заряд иона.

Представления Гельмгольца о двойном электрическом слое справедливы только для разбавленных растворов и представляют собой лишь частный случай более общей теории, которую в дальнейшем развили Гуи (Guoy) (1910), О. Штерн (1924), А. Н. Фрумкин (1929) и Б. В. Дерягин (1935—1941).

Гуи впервые заметил, что противоионы не находятся в фиксированном состоянии, а пребывают в неупорядоченном тепловом движении. Однако помимо неупорядоченного теплового движения, противоионы подвергаются притяжению потенциалообразующими ионами, находящимися на поверхности частицы. В результате взаимодействия этих двух сил — теплового движения и электрического притяжения, устанавливается равновесие, при котором плотность распределения ионов около поверхности частицы будет убывать с увеличением расстояния от поверхности твердой фазы по закону распределения Больцмана.

Таким образом, по Гуи, двойной электрический слой имеет структуру диффузного двойного слоя (рис. 9.2, II). Толщина этого слоя составляет, например, в 0,001 н. растворе KCl — 10 мкм, а в 0,1 н. растворе — 1 мкм. Теория Гуи, также как и Гельмгольца, представляет лишь частный случай более общей теории, которая была разработана в 20 веке.

По современным представлениям (О. Штерн, А. Н. Фрумкин, Б. В. Дерягин), часть ионов находится на молекулярном расстоянии от поверхности частицы, образуя плотный гельмгольцовский двойной электрический слой. Такой слой, состоящий из потенциалообразующих ионов и некоторой части противоионов, удерживающихся на поверхности частицы силами специфической адсорбции, перемещается в электрическом поле вместе с частицей и адсорбированным на ней слоем жидкости, так называемым адсорбционным слоем. Другая часть противоионов, не

находящаяся в адсорбционном слое, остается в дисперсионной среде, образуя так называемый диффузионный слой (рис. 9.2 III).

Если бы коллоидная частица передвигалась без части противоионов, то электрокинетический потенциал соответствовал бы полной разности потенциалов между поверхностью частицы и дисперсионной средой, т. е. обычно определяемому в электрохимии полному или термодинамическому потенциалу  $\varphi_a$ . На самом деле, противоионы, находящиеся в адсорбционном слое, увлекаются вместе с коллоидной частицей, поэтому электрокинетический потенциал частицы возникает на границе адсорбционного и диффузионного слоев и составляет лишь часть термодинамического потенциала. При уменьшении концентрации ионов толщина диффузионного слоя возрастает и структура двойного электрического слоя приближается к структуре слоя Гуи. При повышении концентрации ионов толщина диффузионного слоя уменьшается, и структура двойного слоя приближается к структуре двойного слоя, предложенного Гельмгольцем. Знак потенциала определяется знаком потенциалобразующих ионов, а величина его пропорциональна разности числа потенциалобразующих ионов и противоионов, входящих в состав адсорбционного слоя.

Из изложенного следует, что любые факторы, влияющие на величину двойного электрического слоя, изменяют величину электрокинетического потенциала. Электрокинетический потенциал образуется в очень тонком слое жидкости, непосредственно прилегающем к дисперсной фазе и притом в направлении, перпендикулярном к направлению движения фазы (или среды). В связи с этим  $\xi$ -потенциал нельзя зарегистрировать непосредственно с помощью электродов. Величину  $\xi$ -потенциала можно рассчитать только косвенно, измеряя скорость движения фазы в электрическом поле по следующей формуле (по Смолуховскому):

$$\xi = 4\pi\eta u/DE \quad (9.3)$$

где  $\xi$  - дзета-потенциал (электрокинетический потенциал),  $\eta$  — коэффициент вязкости дисперсионной среды,  $u$  — скорость передвижения фазы,  $D$  — диэлектрическая проницаемость,  $E$  — градиент потенциала внешнего электрического поля.

Зная напряженность внешнего поля, диэлектрическую проницаемость и коэффициент вязкости среды и определив опытным путем скорость передвижения дисперсной фазы, вычисляют величины электрокинетического потенциала.

Согласно формуле Смолуховского, электрофоретическая скорость передвижения фазы (частицы) не зависит от размеров и формы частицы.

Формула Смолуховского справедлива в тех случаях, когда размеры частицы (ее радиус) значительно превышают толщину двойного электрического слоя.

## 10. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

*Молекулярная биофизика* изучает структуру биологически важных молекул, физические процессы, лежащие в основе их функционирования, связь структуры и свойств молекул с их биологической функцией. Объектами исследования молекулярной биофизики являются белки и нуклеиновые кислоты, формирующие основу всего живого.

Молекулярная масса белков и нуклеиновых кислот составляет от  $10^3$  до  $10^{10}$  а.е.м. Поэтому их называют *макромолекулами*. Белки и нуклеиновые кислоты состоят из большого числа однотипных звеньев: белки — из аминокислот; нуклеиновые кислоты — из нуклеотидов.

Все биологические макромолекулы являются динамичными системами. Благодаря возможности поворотов вокруг единичных связей и наличия большого числа степеней свободы, каждая макромолекула имеет огромное число конформаций. Эти конформации не являются равновероятными из-за возможности возникновения невыгодных межатомных взаимодействий, что накладывает ограничения на количество возможных в данных условиях конформаций.

Для исследования макромолекул используют множество физических методов: рентгеноструктурный анализ, ЯМР- и ЭПР-спектроскопию, спектрофотометрию, ИК-спектроскопию и др. В последнее время, благодаря появлению мощных ЭВМ, для изучения структуры макромолекул широко используются вычислительные методы исследования, которые позволяют рассчитать наиболее выгодные в данных условиях конформаций, соответствующие минимуму потенциальной энергии молекулы.

### 10.1. Пространственная организация биополимеров.

*Объемные взаимодействия и переходы глобула - клубок.* Все виды взаимодействий между атомами независимо от их физической природы при формировании различных макромолекулярных связей можно разделить на 2 основных типа:

1. взаимодействия ближнего порядка между атомами соседних звеньев;
2. дальние взаимодействия между атомами, которые хотя и отстоят по цепи далеко друг от друга, но случайно встретились в пространстве в результате изгибов цепи.



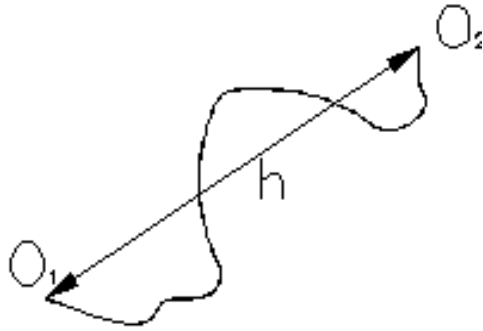


Рис. 10.1. Свободно-сочлененная цепь (O1 – O2):  
h - расстояние между концами цепи.

$$\bar{h} = \sum_{i=1}^N \bar{l}_i$$

(10.1)

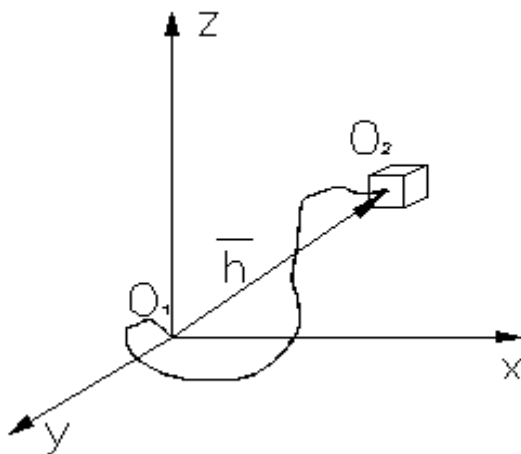


Рис. 10.2. К выводу функции распределения величин вектора в свободно-сочлененной цепи (объяснения см. в тексте)

В качестве простейшей модели биополимера рассмотрим **свободно-сочлененную цепь**. Будем считать, что цепь состоит из ряда прямолинейных сегментов, каждый из которых включает определенное число отдельных звеньев. Внутри каждого сегмента сохраняется абсолютная корреляция в ориентации звеньев. При этом между сегментами эта корреляция полностью отсутствует.

Радиус-вектор  $\bar{h}$  между концами цепи может быть представлен в виде суммы отдельных векторов  $l_i$ , характеризующих каждый сегмент. Число сегментов должно быть достаточно большим (не меньше 80), чтобы можно было корректно использовать статистические подходы  $\bar{h} \in [0, |N|]$  и может внутри него принимать любые значения. Вероятность того, что определенный сегмент находится в определенном положении относительно другого сегмента, может быть выражена через функцию распределения  $W_a$  вектора расстояний между сегментами цепи.

Функция  $W_a$  называется функцией распределения величины  $a$  или плотностью вероятности нахождения данного значения  $a$ , если произведение  $W_a da$  равно вероятности нахождения значения переменной  $a$  в интервале от  $a$  до  $a+da$ :  $W_a \cdot da = P \{a, a+da\}$ .

В термодинамике строго доказывается, что для достаточно длинной свободно-сочлененной цепи, находящейся в термодинамическом равновесии с окружающей средой, функция распределения является *гауссовой*.

Для определенности введем систему координат, в начало которой поместим начало цепи.

$$d\tau = dx \cdot dy \cdot dz, \quad |\vec{h}| = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}, \quad (10.2)$$

$$W_{x,y,z} = \left( \frac{3}{2\pi N l^2} \right)^{3/2} \cdot e^{\frac{-3x^2}{2N l^2}} \quad (10.3)$$

ординат  $x, y, z$  конца цепи являются гауссовыми (рис. 10.2).

Так как  $x, y, z$  являются независимыми, то вероятность попадания конца цепи в элемент объема  $d\tau = dx \cdot dy \cdot dz$  окрестности точки  $(x, y, z)$  равна произведению трех независимых событий, следовательно:

$$W_{\tau} \cdot d\tau = \left( \frac{3}{2\pi N l^2} \right)^{3/2} \cdot e^{\frac{-3h^2}{2N l^2}} \quad (10.3)$$

Для ансамбля, состоящего из  $n$  молекул, произведение  $W_i dt$  равно относительной доли молекул  $(dn/n)$ , конец которых попадает в элемент объема  $d$  при закреплении всех цепей в точке  $(0,0,0)$ . Вероятность того, что  $\vec{h}$  имеет длину  $|\vec{h}|$ , не зависит от направления  $\vec{h}$  и пропорциональна

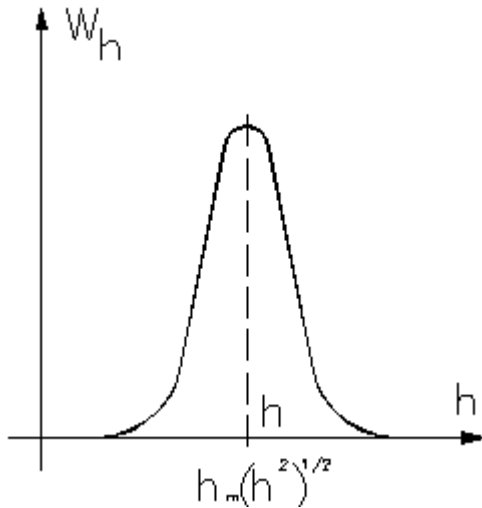


Рис. 10.3. График функции распределения  $W_h$ .

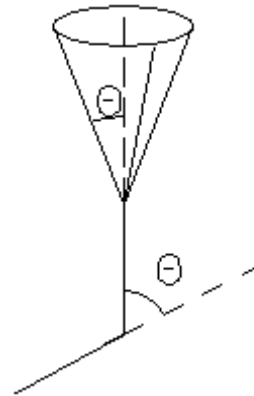


Рис. 10.4. Цепь с фиксированными валентными углами

произведению  $W_i$  на элемент объема шарового слоя  $4\pi h^2 dh$ , в котором находятся концы всех векторов длиной от  $h$  до  $h+dh$  или:

$$\begin{aligned}
 W_h \cdot dh &= W_r \cdot 4 \pi h^2 dh = \\
 &= 4 \cdot \pi h^2 \left( \frac{3}{2 \cdot \pi N \cdot l^2} \right)^{3/2} \cdot e^{\frac{-3h^2}{2Nl^2}}
 \end{aligned}
 \quad (10.4)$$

То есть произведение  $W_h dh$  равно относительному числу молекул ( $dn/n$ ), для которых длина вектора  $\vec{h}$  заключена в интервале от  $h$  до  $h+dh$  (рис. 10.3).

В соответствии с этим распределением принято различать следующие статистические характеристики свободного состояния цепи:

*Среднее значение длины цепи  $h$ :*

$$\bar{h} = \frac{1}{n} \cdot \int_0^\infty h \cdot dn = \int_0^\infty h \cdot W_h \cdot dh = \sqrt{\frac{8}{3\pi}} \cdot N \cdot l^2
 \quad (10.5)$$

*Наиболее вероятное значение длины свободно-сочлененной цепи:*

$$h_m \Rightarrow \max \{W_h\} \Rightarrow h_m = \sqrt{\frac{2}{3}} \cdot N \cdot l^2
 \quad (10.6)$$

*Среднеквадратичное значение:*

$$\bar{h}^2 = \frac{1}{n} \cdot \int_0^\infty h^2 \cdot dn = \int_0^\infty h^2 \cdot W_h \cdot dh = N \cdot l^2
 \quad (10.7)$$

В полимерной цепи, где все валентные углы, соединяющие сегменты, фиксированы и одинаковы, а вокруг всех одинарных связей разрешено свободное вращение (рис. 10.4), для среднеквадратичного значения имеем следующее выражение:

$$\bar{h}^2 = M^2 \frac{1 + \cos \vartheta}{1 - \cos \vartheta}
 \quad (10.8)$$

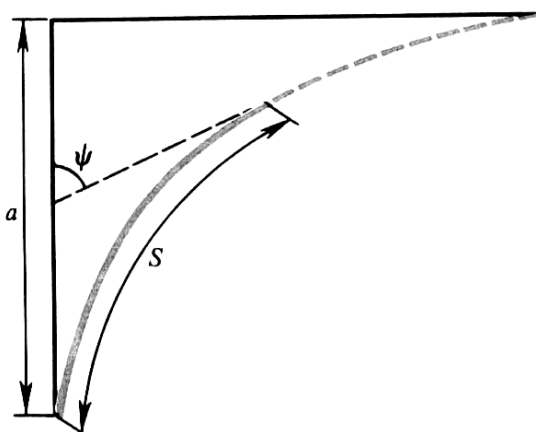


Рис. 10.5. Червеобразная цепь с непрерывной кривизной ( $a$  – персистентная длина,  $\Psi$  – угол между касательными к двум участкам цепи, разделенной достаточно большой длиной  $S$ )

Каждое макросостояние полимера характеризуется определенными значениями молекулярных параметров и может осуществляться большим количеством микросостояний (конформаций). Тепловое движение и вращение вокруг одинарных связей (пептидных) должно приводить к значительной свернутости цепи и образованию клубка.

Отклонения от гауссовой статистики могут наступать при небольшом числе (меньше 20 – 50)

связей в полимерной цепи и молекулярной массе в несколько сотен единиц. Однако известны полимеры (ДНК, спиральные полипептиды), в которых даже при огромных массах цепь не подчиняется гауссовой статистике, а длина сегмента цепи существенно увеличивается. Такие жесткие молекулы моделируются **червеобразной цепью**, у которой в пределах среднего значения угла  $\Theta$  между звеньями стремиться к 0 при уменьшении длины звена  $l \rightarrow 0$ , а цепь имеет непрерывную кривизну (рис. 10.5). Среднее значение  $\cos\Psi$  – угол между касательными к двум участкам цепи, разделенной достаточно большой длиной  $S$  вдоль нити убывает с экспоненциальным ростом  $S$ :

$$\cos \psi(s) \sim \exp(-s/a), \quad (10.9)$$

где  $a$  – **персистентная длина**. Косинус угла между касательными к цепи, разделенными длиной  $a$  вдоль цепи ( $S = a$ ), уменьшается в  $e$  раз. Короткий по сравнению с  $a$  участок цепи ведет себя как твердый стержень, а разные сегменты длиной  $a$  вращаются практически независимо друг от друга. Для червеобразной цепи среднеквадратичное расстояние связано с персистентной длиной:

$$\bar{h}^2 = 2a^2 \left( \frac{L}{a} - 1 + e^{-L/a} \right), \quad (10.10)$$

где  $L$  – контурная длина цепи.

При бесконечно жесткой цепи  $a \rightarrow \infty$  и  $\bar{h}^2 \approx L^2$ . Напротив, в случае гибкого стержня  $a \ll L$  образуется обычный гауссовый клубок, где  $\bar{h}^2 = 2aL$ .

Для молекул ДНК персистентная длина составляет 50 – 60 нм, что намного больше, чем у большинства обычных гибких полимерных молекул. Жесткость ДНК определяется взаимодействием плоских ароматических колец: пар оснований расположенных стопкой вдоль оси спирали и соединенных сахарофосфатными связями.

## 10.2. Гибкость биополимеров

Сворачиваемость цепи в клубок определяется термодинамической гибкостью: чем больше гибкость, тем меньше  $\bar{h}^2$ . В растворе наиболее вероятная конформация полимера – свернутый клубок, в котором энтропия системы максимальна. При растяжении полимеров происходит разворачивание клубка и уменьшение размера возможных конформаций, что сопровождается уменьшением энтропии.

$$S = K_B \ln W, \quad (10.11)$$

где  $W$  – термодинамическая вероятность,  $K_B$  – константа Больцмана.

$$s = K_B \ln W, = C - 3K_B h^2 \frac{1}{2M^2}. \quad (10.12)$$

Сила, необходимая для растяжения полимерной цепи:

$$f dh = -TdS + dU, \quad (10.13)$$

где  $U$  - внутренняя энергия. В первом приближении внутренняя энергия не зависит от конформаций, поэтому:

$$f dh = -TdS + dU \approx -TdS, \\ f = -T \frac{dS}{dh} = \frac{3K_B T}{M^2} h. \quad (10.14)$$

(сила линейно зависит от размеров)

Геометрические размеры задаются с помощью среднеквадратичного расстояния биополимера -  $h^2$ . Внутренняя пространственная структура задаётся пространственным распределением плотности звеньев. Вследствие объёмного взаимодействия, число звеньев в пространстве может меняться от точки к точке.

В полимерных нитях, вследствие взаимосвязанности звеньев, изменение плотности в одной точке пространства связано с изменением плотности в другой точке, то есть существует пространственная корреляция плотности. Если в макромолекуле отсутствует объёмное взаимодействие, то она не имеет достоверной пространственной структуры. В этом состоянии флуктуация (изменение вероятности) плотности имеет значение того же порядка, что и сама плотность. Такое состояние носит название **клубка**. Радиус корреляции  $\xi$ , то есть характерное расстояние, в пределах которого плотность звеньев резко меняется, становится того же порядка, что и размеры макромолекулы  $R$ :

$$(\xi \sim R, R \sim \sqrt{h^2}, \xi \sim l N^{1/2}). \quad (10.15)$$

Наличие объёмных взаимодействий может привести к такому состоянию, в котором флуктуация плотности мала по сравнению с самой плотностью. Такое плотное образование называется **глобулой**.

В нем радиус корреляции флуктуации плотности намного меньше размеров молекулы  $\xi \ll R$ . Глобула в отличие от клубка обладает компактной пространственной структурой. Сердцевина большой глобулы примерно однородна, с постоянной концентрацией звеньев  $n_0$ .

Вследствие объёмных взаимодействий сблившиеся участки могут притягиваться или отталкиваться. Повышение температуры приводит к увеличению отталкивания между мономерами, а понижение - к сближению. Существует температура, при которой отталкивание компенсируется притяжением. Эта температура называется  $\Theta$ -точкой или  $\Theta$  - темпера-

турой. В этой точке объёмное взаимодействие отсутствует, и макромолекула представляет собой клубок с размерами порядка  $R \sim lN^{1/2}$ . Клубок сохраняется при повышении температуры выше точки  $\Theta$ . В области  $t > \Theta$  из-за увеличения сил отталкивания размеры клубка возрастают, т.е.  $R > lN^{1/2}$ , тогда линейные размеры макромолекулы можно выразить формулой

$R^3 = \alpha(Nl^3) = \alpha R_0^3 N l^3 = R_0^3$  - характерный размер без учета объёмного взаимодействия,  $\alpha$  - коэффициент набухания молекулы.

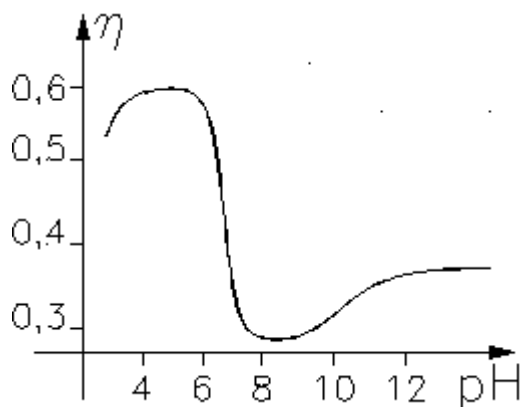


Рис. 10.6. зависимость вязкости раствора полиглутаминовой кислоты от её кислотности

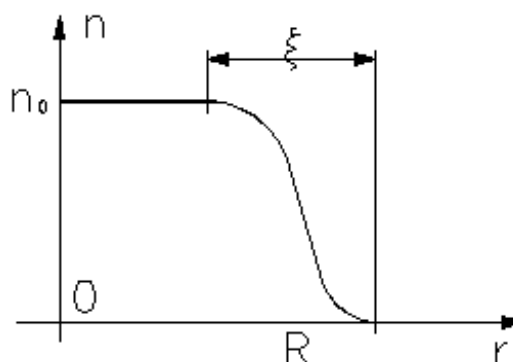


Рис. 10.7. Распределение звеньев в глобуле.

В области  $t > \Theta$ ,  $\alpha > 1$  и  $\alpha = 1$  при  $\Theta = t$ . В сильных растворителях притяжение электронов цепи и растворителя больше, чем звеньев цепи, что равносильно повышению их взаимного отталкивания, т.е.  $\alpha > 1$ . При температурах  $t < \Theta$  во взаимодействиях преобладают силы притяжения, которые могут привести к конденсации клубка в плотную, слабо флуктуирующую глобулу. Эта глобула стабилизируется самосогласованно со сжимающим полем, обусловленным силами притяжения между мономерами. Примером перехода глобулы в клубок может служить зависимость вязкости раствора полиглутаминовой кислоты от её кислотности (рис. 10.6).

В реальных макромолекулах объёмное взаимодействие в отсутствие внешнего воздействия создаёт самосогласованное поле, приводящее к образованию глобулы. Характер распределения плотности имеет другой вид (рис. 10.7):

Профиль плотности - размытые ступеньки, в сердцевине - постоянная концентрация звеньев  $n_0$ . Для данного графика  $R \sim N^{1/3}$  - радиус корреляции.

### 10.3. Различные типы взаимодействия в макромолекулах.

Первичная структура или основная последовательность биополимеров определяется химическими или валентными взаимодействиями. Помимо этого между молекулами действуют слабые невалентные силы, которые приводят к притяжению на больших расстояниях и отталкиванию на малых. Типичная зависимость потенциальной энергии взаимодействия  $U(r)$  двух частиц молекулярной природы можно представить в виде (рис. 10.8):

При малых расстояниях преобладает сила отталкивания, и  $F_{отталк} > 0$ , при больших  $r$  преобладает сила притяжения. Общую энергию можно представить в виде:

$$U(r) = U_{отт}(r) - U_{притяж}(r). \quad (10.16)$$

Минимум на графике соответствует равновесию.

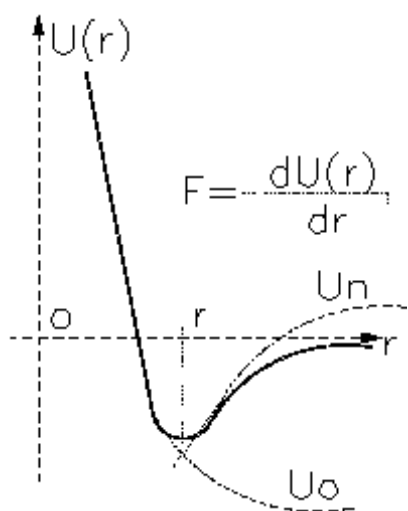


Рис. 10.8. Зависимость энергии взаимодействия от расстояния.

### **Ван-дер-ваальсовы (ВВ) силы.**

ВВ силы играют важнейшую роль в образовании конденсированных жидких и твердых состояний. Ими определяются взаимодействия газов и возникающие отклонения законов идеальных газов. Эти отклонения подчиняются уравнению Ван-дер-Ваальса для газов:

$$\left(P + \frac{a}{V^2}\right) \cdot (V - b) = nRT, \quad (10.17)$$

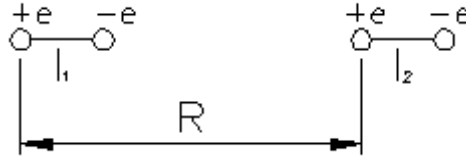
где  $a$ ,  $b$  - константы притяжения и отталкивания;  $V$  - объем.

Биомакромолекулы можно рассматривать как своего рода конденсируемые системы, состояния которых определяются относительно слабыми невалентными взаимодействиями. Именно такие взаимодействия дают основной вклад к стабилизации конденсации состояния биополимеров и его изменения в процессе функционирования. Значения энергии при ВВ взаимодействиях лежат в интервале 4-8 кДж/моль и выше. Энергия при комнатной (температуре) составляет 2,5 кДж/моль, а энергия коллективных ионных связей составляет 150 - 600 кДж/моль.

Силы ВВ имеют *электромагнитную природу* и определяются взаимодействием *электрических диполей* молекул. В зависимости от того, обладает ли взаимодействие молекулы электрическим дипольным моментом, или последнее возникает вследствие поляризации оболочек, существуют различные типы сил ВВ.

### Ориентационное взаимодействие.

Рассмотрим энергию взаимодействия диполей, расположенных простейшим образом. При этом расстояние между диполями  $R$  много больше их размеров.



Найдем энергию их взаимодействия:

$$U = k \frac{q_1 q_2}{\varepsilon r},$$
$$U = \frac{ke^2}{\varepsilon} \left( -\frac{1}{l_1} + \frac{1}{R} - \frac{1}{R+l_2} \right) -$$
$$-\frac{ke^2}{\varepsilon} \left( \frac{1}{R-l_1} + \frac{1}{R-l_1+l_2} - \frac{1}{l_2} \right). \quad (10.18)$$

Энергия взаимодействия двух диполей является функцией квадратных, а не линейных членов, следовательно:

$$U = \frac{k \cdot e^2}{\varepsilon} \cdot \left( \frac{1}{R} - \frac{1}{R+l_2} - \frac{1}{R-l_1} + \frac{1}{R-l_1+l_2} \right). \quad (10.19)$$

Разложим в ряд Тейлора:

$$U = \frac{k \cdot e^2}{\varepsilon} \cdot \frac{1}{R} \cdot \left( 1 + \frac{1}{1 - \frac{l_1 - l_2}{R}} - \frac{1}{1 + \frac{l_2}{R}} - \frac{1}{1 - \frac{l_1}{R}} \right). \quad (10.20)$$

$$(1+x)^n = 1 + n \cdot x + \frac{n \cdot (n-1)}{2} \cdot x^2 + \dots \quad (10.21)$$

Имеем:

$$U = 2 \cdot k \cdot \frac{P_1 \cdot P_2}{\varepsilon R^3}. \quad (10.22)$$

Если диполи свободны и совершают тепловое движение, то в среднем они будут принимать ориентации, соответствующие притяжению (так как в этом случае энергия их взаимодействия понижается). Вероятность взаимного расположения диполей зависит от их энергий, и в равновесии описывается законом Больцмана.

Расчет дает:



$$U_{op} = - \frac{2P_1^2 P_2^2}{3k_B T R^6} \quad (10.23)$$

### ***Индукционное взаимодействие.***

Когда одна из молекул имеет постоянный дипольный момент, она наводит (индуцирует) дипольный момент  $P_2$  другой молекуле, причем эта индукция не зависит от того, имеет ли молекула постоянный момент. Из электродинамики известно, что  $P_2 = \alpha E_1$  ( $E_1$  - напряженность поля, создаваемое первой молекулой в точке второй молекулы;  $\alpha$  - поляризуемость). Расчеты показывают, что в этом случае энергия индукционного взаимодействия определяется формулой:

$$U_{ind} = - \frac{2\alpha P_1^2}{R^6} \quad (10.24)$$

В жидких и твердых телах поляризуемая молекула испытывает симметричное влияние большого количества соседних молекул, при этом результат их действия сильно компенсирует индукционное взаимодействие. Это приводит к тому, что реальное индукционное взаимодействие:

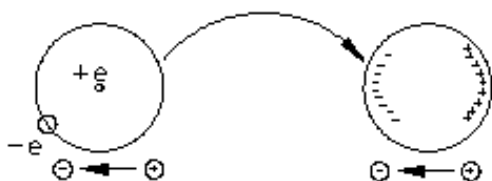
$$U_{ind} \sim \frac{1}{R^n}, n = 8 \div 13 \quad (10.25)$$

### ***Дисперсионное взаимодействие.***

Дисперсионное или поляризационное взаимодействие наблюдается между молекулами, которые не обладают постоянным дипольным моментом. Они обусловлены внешними слабосвязанными электронами. Природа дисперсионных взаимодействий носит *квантомеханический* характер и является результатом появления *линейных диполей*, возникающих в результате движения электронов в молекулах, но обладающих постоянным дипольным моментом.

Энергия притяжения, обусловленная дисперсионными силами:

$$U_{дисп} = - \frac{e^4 \cdot \hbar \cdot \omega_0}{2 \cdot f^2 \cdot R^6}, f = m \cdot \omega_0^2 \quad (10.26)$$



где  $\omega_0$  - частота колебаний (вращения) электрона;  $f$  - частотный фактор (сравним с моментом инерции).

Таблица 10.1

Относительная роль разных видов сил ВВ для отдельных молекул.

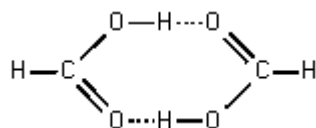
Вещество	$\cdot \alpha \cdot 10^{24} \text{ см}^3$	$P [D]$	$U_{op}$	$U_{инд} \alpha 10^5 \text{ Дж}$	$U_{дисп}$
$H$	0.67	0.00	0.00	0.00	6.10
$O_2$	1.51	0.00	0.00	0	39.80
$H_2O$	1.48	1.84	190.00	10.00	47.00
$NH_3$	2.24	1.50	84.00	10.00	70.00
$HCl$	2.63	2.63	19.00	5.40	111.00

Суммарное ВВ взаимодействие есть  $U_{ориент} + U_{инд} + U_{дисперс}$ , и для полимеров составляет от 4 до 100 кДж/моль. Силы ВВ лежат в основе некоторых биоструктур и, в частности, биспиральных полинуклеотидов. Упаковка плоских молекул азотистых оснований в вертикальной пачке обеспечивается вертикальными взаимодействиями (стекинг), в которых сила ВВ вносит основной вклад.

### **Водородная связь и электростатические взаимодействия.**

Наряду с силами Ван-дер-Ваальса, водородная связь и электростатические взаимодействия играют важнейшую роль в стабилизации макромолекулярных структур. В частности, водородная связь стабилизирует внутреннюю структуру полинуклеотидных цепей. Водородная связь осуществляется между атомом водорода одной молекулы и электроотрицательным атомом кислорода ( $O$ ), азота ( $N$ ), фтора ( $F$ ), или хлора ( $Cl$ ), принадлежащего другой молекуле (известны случаи образования и внутримолекулярных водородных связей). Природа водородной связи сложна и не сводится только к электростатическому притяжению, хотя оно и дает основной вклад в энергию водородной связи. Наряду с взаимодействиями Ван-дер-Ваальса и электростатическими силами, в энергию водо-

родной связи ( $U_H$ ) вносит вклад энергия делокализации ( $U_{делок.}$ )  $2^{-x}$  электронов связи ( $A-H$ ) и неподеленной пары электронов другого атома. ( $A$  - какой-либо из  $4^{-x}$  электроотрицательных элементов). Энергия делокализации приводит к тому, что длина связи уменьшается. Например, для димера муравьиной кислоты:



Для большинства полимеров энергия водородной связи  $O-H \cdots O$  оценивается:

$$U_H = U_{эл/стат} + U_{дисп} + U_{делок} + U_{отталки} \Rightarrow$$

$$U = -25,2 - 12,6 - 33,6 + 35,3 = -36,1 \text{ кДж/моль.} \quad (10.27)$$

Как правило, для большинства биополимеров  $U_H$  связи лежит в пределах 1235 кДж/моль.

*Физическая природа водородной связи.*

Экспериментальные и квантомеханические исследования показы-

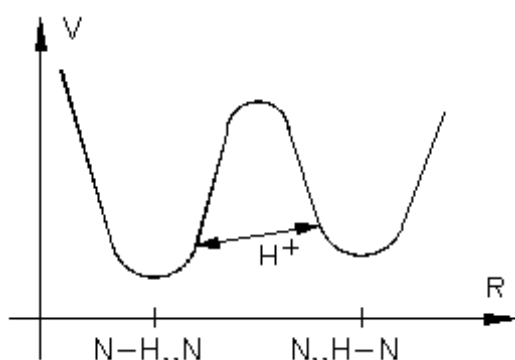


Рис. 10.9. Потенциальная функция водородной связи с двумя минимумами

вают, что потенциальная энергия водородной связи имеет вид асимметричной кривой с двумя минимумами, локализованными вблизи отрицательных атомов, между которыми протон совершает туннельные переходы.

Потенциальная энергия водородной связи, соответствующая локализации протона около  $2^{-x}$  различных атомов азота (рис. 10.9).

Проявление водородной связи в спектрах, приводя к расширению инфракрасных полос поглощения  $A-H$  групп, частоты колеблющихся групп, содержащих водородную связь, снижаются по отношению к их свободному состоянию.

### **Электростатические взаимодействия.**

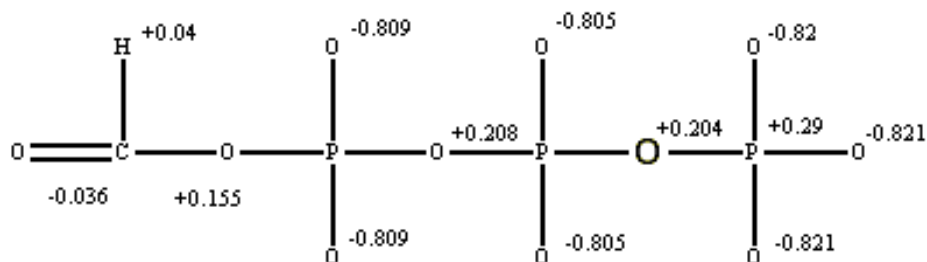
Этот вид взаимодействий дает не только существенный вклад в энергию водородной связи, но и играет большую роль в стабилизации биоструктур. Различные атомы в пептидных цепях существенно различаются по характеру взаимодействия в их частях. Взаимодействие частично заряженных атомов характеризуется электростатическим потен-

циалом, который в квазиклассическом приближении описывается законом Кулона:

$$U_{\text{анализ}} = \sum k_i \cdot \frac{q_i \cdot q_j}{\varepsilon R_i \cdot R_j}, \quad (10.28)$$

где  $\varepsilon$  - проницаемость, для белков  $\sim 3,5$ .

Распределение зарядов частично заряженных атомов в трифосфате имеет вид:



Подобное точечное представление, полученное на основе квантовых расчетов, оправдано в тех случаях, когда размеры составляют 60-70% от суммы радиусов Ван-дер-Ваальса, т.е. характерных расстояний, которые определяются дисперсионными, ориентационными и индукционными взаимодействиями.

#### 10.4. Структура воды и гидрофобные взаимодействия.

Биологические макромолекулы функционируют в водной среде, их пространственное строение во многом определяется водным окружением. Поэтому одной из самых важных проблем молекулярной биофизики является вопрос о структуре воды.

Воду называют аномальной жидкостью. В отличие от других гидридов VI группы таблицы Менделеева ( $H_2Po$ ,  $H_2Te$ ,  $H_2Se$ ,  $H_2S$ ) вода имеет слишком высокие температуры плавления и кипения, а также большой температурный диапазон между этими величинами. Сопоставление температур плавления и кипения гидридов IV группы показывает, что вода должна плавиться при температуре  $-95^{\circ}\text{C}$ , а закипать при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ , то есть существовать в жидком виде в диапазоне всего лишь  $15^{\circ}\text{C}$ .

При понижении температуры вода, как и все жидкости, сжимается, однако уменьшение удельного объема продолжается только до 4°C. Ниже указанной температуры вода начинает расширяться. Поэтому максимальная плотность воды достигается при 4°C и составляет  $1 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$  (для сравнения: при 0 °C плотность воды —  $0,9167 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$ ). Плотность льда оказывается меньше плотности воды, благодаря чему лед не тонет в воде, а плавает на поверхности. Это свойство воды препятствует

полному вымерзанию водоемов зимой и сохраняет жизнь в них. Даже в самые сильные морозы температура придонных слоев не опускается ниже  $4^{\circ}\text{C}$ .

Вода имеет аномально высокие теплоемкость, удельную теплоту плавления и кипения, диэлектрическую проницаемость. Последняя величина для воды равна 80, в то время как для большинства других веществ — меньше 10.

Большинство вышеописанных аномальностей можно объяснить, предположив в воде наличие связей, скрепляющих между собой отдельные молекулы. Такими связями являются водородные связи. Для того чтобы понять, каким образом вода образует разветвленную систему водородных связей, рассмотрим строение ее молекулы.

В молекуле воды атомы расположены нелинейно. Угол, образуемый между связями  $\text{O} - \text{H}$ , составляет  $104,5^{\circ}$ . Атом кислорода имеет на внешней оболочке четыре электрона, два из которых образуют ковалентные связи с двумя атомами водорода. Электроны водорода оказываются смещенными в сторону атома кислорода. Неподделенная пара электронов кислорода, в свою очередь, стремится удалиться от электронов водорода. Поэтому электронные орбитали неподделенной пары сильно вытянуты в противоположную от водорода сторону. В результате атом кислорода оказывается расположенным в центре тетраэдра, в двух вершинах которого находятся атомы водорода. По направлению к двум другим вершинам тетраэдра располагаются орбитали неподделенной электронной пары кислорода. Эти электроны создают локальный отрицательный заряд, в то время как атомы водорода — положительный.

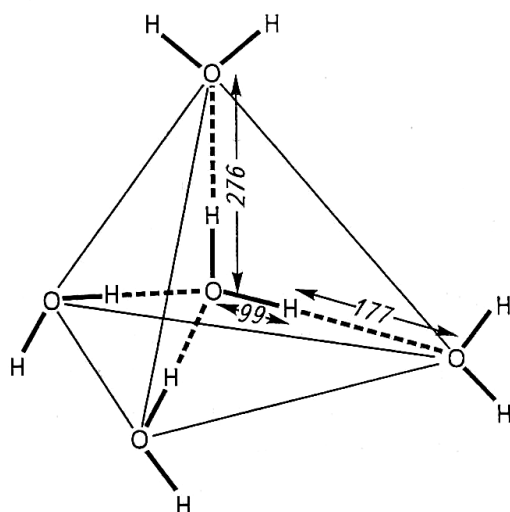


Рис 10. Тетраэдрическая структура воды. Длины связей выражены в пико метрах

Благодаря такому строению молекула воды является диполем с довольно большим дипольным моментом ( $6 \cdot 10^{-30}$  Кл  $\cdot$  м). Высокое значение дипольного момента молекул воды объясняет большую диэлектрическую проницаемость этой жидкости. В жидкой воде диполи ориентированы хаотично, и результирующее электрическое поле, создаваемое ими, равно нулю. Во внешнем электрическом поле диполи выстраиваются таким образом, чтобы их соб-

ственное поле ослабляло внешнее. Благодаря высокому дипольному моменту молекул воды внешнее поле ослабляется в 80 раз

Электронная структура воды определяет ее способность выступать одновременно и донором, и акцептором при образовании водородной связи: каждый атом водорода одной молекулы связывается с атомом кислорода другой молекулы, а атом кислорода данной молекулы — с двумя атомами водорода других молекул.

Таким образом, каждая молекула воды связана водородными связями с четырьмя соседними молекулами (рис. 10.10), то есть координационное число воды в твердой фазе равно 4. Комплексы тетраэдров образуют гексагональную кристаллическую решетку льда. Так как при этом между молекулами остается большое свободное пространство, то лед имеет относительно низкую плотность.

Что касается структуры жидкой воды, то по этому вопросу нет единого мнения. Во время плавления кристаллическая решетка частично разрушается и часть воды оказывается несвязанной. Однако, как показали данные рентгенографического анализа, в воде сохраняются признаки упорядоченной структуры.

Образование упорядоченной структуры воды вызывает уменьшение энтропии системы ( $\Delta S < 0$ ), что термодинамически невыгодно. Однако это явление сопровождается образованием четырех водородных связей, что приводит к уменьшению энтальпии ( $\Delta H < 0$ ), причем  $|\Delta H| > |T\Delta S|$ . Таким образом, полное изменение термодинамического потенциала Гиббса отрицательно:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S < 0 \quad (10.29)$$

то есть данный процесс является энергетически выгодным.

Наличие водородных связей в структуре льда объясняет высокое значение удельной теплоты плавления льда, а их присутствие в жидкой воде — ее высокие теплоемкость и теплоту парообразования, так как разрушение водородных связей, происходящее во время плавления льда или нагревания воды, требует высоких затрат энергии.

Согласно одной из моделей жидкой воды, модели мерцающих кластеров, в воде имеются упорядоченные области, сходные со структурой льда, — кластеры — и неупорядоченные области, представляющие собой не связанные водородными связями молекулы (рис. 10.11). Кластеры и неструктурированные области постоянно обмениваются молекулами. Согласно расчетам Г. Немети и Х. Шерага, при температуре 20°C доля молекул, объединенных в кластеры, составляет 70%, а свободных молекул — 30%. С повышением температуры все больше молекул переходит

в несвязанное состояние, а средний размер кластеров и их количество уменьшаются.

В кластерах не всегда сохраняется правильная кристаллическая решетка, свойственная льду. Согласно *модели Самойлова*, плавление льда, сопровождающееся частичным разрушением кристаллической решетки, приводит к тому, что часть молекул, утративших водородные связи, располагается в полостях тетраэдров, формирующих кристаллическую решетку. Размер тетраэдра таков, что в его полости может разместиться одна молекула воды, не разрушая и не задевая водородных связей, формирующих данный тетраэдр. Этим объясняется повышение плотности воды при плавлении льда. Однако с повышением температуры возрастает тепловая энергия молекул, и, следовательно, увеличивается амплитуда их колебаний, что уменьшает плотность воды. При температуре ниже 4°C преобладающим является первый фактор (заполнение полостей решетки), а при более высоких температурах — второй (увеличение амплитуды колебаний), то есть максимальная плотность воды достигается при температуре 4 °C.

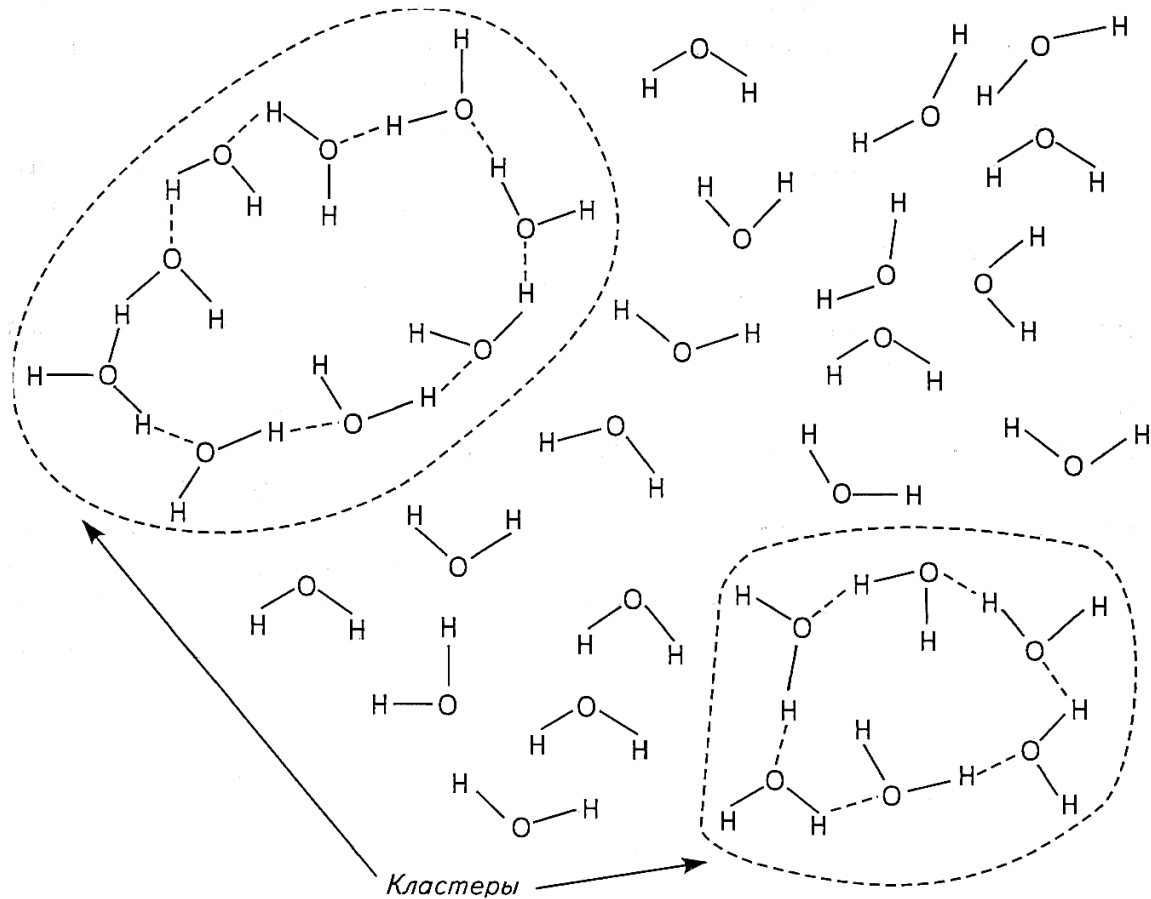


Рис. 10.11. Модель мерцающих кластеров

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

Молекулы воды, находясь в узлах кристаллической решетки или образуя упорядоченную структуру в жидкой воде, совершают колебания вокруг положения равновесия с периодом  $\tau_{\text{колеб}} = 2 \cdot 10^{-13}$  с и вращения ( $\tau_{\text{вр}} = 10^{-5}$  с для льда и  $10^{-11}$  с для жидкой воды). Если время наблюдения  $\tau$  намного меньше времени колебательной диффузии ( $\tau \ll \tau_{\text{колеб}}$ ), то возникает мгновенная, или *М*-структура (рис. 10.12, а); при условии  $\tau_{\text{колеб}} \ll \tau \ll \tau_{\text{вр}}$  — колебательно-усредненная, или *К*-структура (рис. 10.12, б); при  $\tau \gg \tau_{\text{вр}}$  — диффузионно-усредненная, или *Д*-структура (рис. 10.12, в). Молекулы способны совершать и трансляционные переходы, но в кристалле их частота очень мала, а в жидком состоянии — уже значительна, поэтому *Д*-структура жидкой воды размыта.



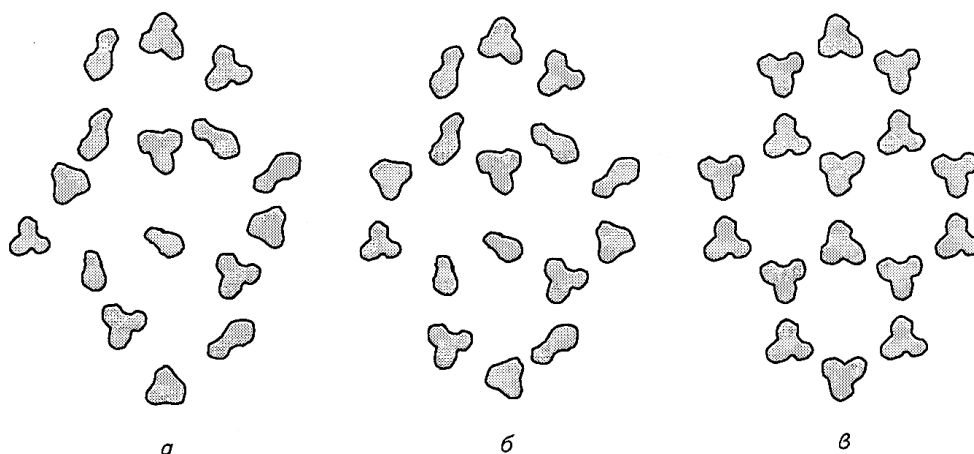


Рис. 10.12. Структура воды:

а — мгновенная (М-структура), б — колебательно-усредненная (К-структура),  
в - диффузионно-усредненная (Д-структура)

Вокруг растворенных в воде макромолекул и ионов образуется так называемая *сольватная*, или *гидратная оболочка*. Свойства воды, образующей эту оболочку, отличаются от свойств обычной воды. Так, среднее время оседлой жизни молекулы увеличивается в несколько раз.

В зависимости от степени растворимости в воде различают *гидрофильные* и *гидрофобные соединения*. Для количественного описания гидрофильности или гидрофобности соединения используют величину изменения термодинамического потенциала Гиббса  $\Delta G^0$  при переносе соединения из неполярного растворителя в полярный, например, из этанола в воду. Чем меньше величина  $\Delta G^0$ , тем лучше растворимость соединения. Гидрофильными, как правило, являются полярные соединения, а гидрофобными - неполярные, однако имеются некоторые исключения. Например, полярная аминокислота аргинин и неполярная аланин имеют одинаковое значение  $\Delta G^0$  (3070 Дж/моль), за счет того, что в состав аргинина входит большой углеводородный остаток.

Качественная картина взаимодействия растворенных веществ с водой заключается в следующем. Вокруг растворенного соединения среднее время оседлой жизни молекул воды увеличивается, доля молекул, образующих упорядоченные области, возрастает по сравнению с их долей в остальном растворе. В результате энтропия системы уменьшается ( $\Delta S < 0$ ). Образование большего числа водородных связей снижает энтальпию системы ( $\Delta H < 0$ ), но в случае растворения неполярных соединений в воде  $|\Delta H| > |T\Delta S|$ , то есть

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S > 0 \quad (10.30)$$

что и определяет энергетическую невыгодность этого процесса.

Неполярные соединения выталкиваются из водного окружения и ассоциируют друг с другом (рис. 10.13). Такие взаимодействия называются *гидрофобными*. Из вышесказанного следует, что эти взаимодействия возникают не в силу каких-либо специфических сил притяжения между неполярными соединениями, а целиком определяются свойствами воды.

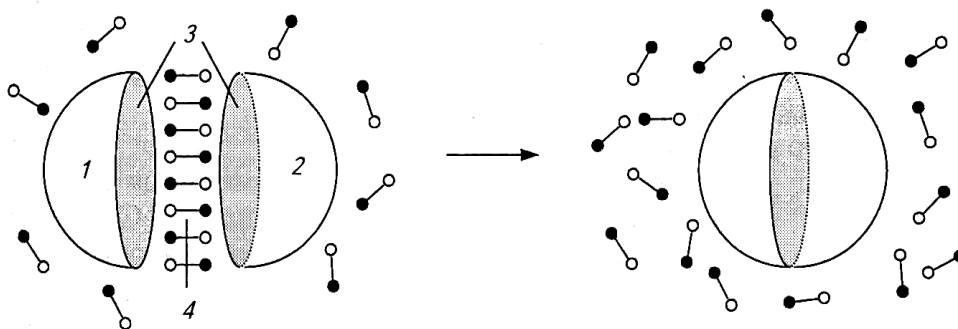


Рис. 10.13. Схематическое изображение возникновения гидрофобных взаимодействий: 1, 2 — молекулы с неполярными областями, 3, 4 — упорядоченный участок воды

### 10.5. Структура и свойства биополимеров.

*Структура макромолекул* имеет несколько уровней организации. *Первичной структурой* называется последовательность мономеров, образующих полимерную цепь; в белках это последовательность аминокислот, в нуклеиновых кислотах — нуклеотидов. Первичная структура стабилизирована ковалентными связями, в то время как все остальные уровни организации — в основном слабыми связями (водородными, гидрофобными, электростатическими и др.). Под *вторичной структурой* понимается регулярное расположение в пространстве элементов цепи, например, вторичная структура нуклеиновых кислот представляет собой спираль. *Третичной структурой* называется взаимное расположение в пространстве регулярных и нерегулярных элементов цепи, хотя на самом деле различие между вторичной и третичной структурой является условным. Некоторые макромолекулы состоят из нескольких цепей, называемых субъединицами. Взаимное расположение субъединиц называется *четвертичной структурой* биополимера.

Полимеры, синтезируемые в живом организме, обладают свойством *хиральности*. Большинство сложных органических молекул асимметричны, то есть не имеют ни плоскости, ни центра симметрии. Такие молекулы существуют в двух формах — правой и левой — и являются зеркальным отражением друг друга. Термин «хиральность» произошел от

древнегреческого слова «хейр» — рука, так как наши ладони также являются зеркально-симметричными. Левую и правую формы одной молекулы, которые обычно называют *стереоизомерами*, нельзя совместить друг с другом никаким поворотом системы как целого в пространстве (так, например, правую перчатку нельзя надеть на левую руку).

В природе обычно приходится сталкиваться с асимметричным атомом углерода (в химических формулах он помечается звездочкой). Такой атом связан с четырьмя разными группами ( $C^*XYZR$ ). Если хотя бы две группы из четырех являются одинаковыми, то такая молекула имеет плоскость симметрии, то есть не является хиральной. Так, в молекуле  $CX_2YZ$  такой плоскостью является плоскость  $CYZ$ . Хиральными являются все аминокислоты (за исключением глицина), углеводы, нуклеиновые кислоты. Азотистые основания этим свойством не обладают, поэтому хиральность нуклеиновых кислот определяется углеводной компонентой.

Физической стороной хиральности является способность раствора одного стереоизомера данного соединения вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света. Одни стереоизомеры вращают плоскость поляризации влево (против часовой стрелки для наблюдателя, смотрящего навстречу лучу), они называются *левовращающими*, и перед ними ставят знак «-»; другие вращают плоскость поляризации вправо (по часовой стрелке) и называются *правовращающими* («+»). Раствор, состоящий из одного стереоизомера хирального соединения, является оптически активным, то есть способен вращать плоскость поляризации. Смесь двух стереоизомеров, взятых в равных количествах, оптической активностью не обладает.

Обычно стереоизомеры различают не по направлению вращения плоскости поляризации, а сравнивают с неким эталоном, которым для органических соединений является глицеральдегид. Различают *D*- и *L*-стереоизомеры (рис. 10.14).

В лабораторных условиях невозможно получить вещество, состоящее из одного стереоизомера. Полученный раствор будет содержать 50% левого изомера и 50 % правого, то есть будет являться *рацемической смесью*. Такое соотношение отвечает максимальной энтропии. Стереоизомеры обладают одинаковой химической активностью, однако в живой природе хиральные соединения существуют обычно в какой-либо одной форме. Организм различает *L*-и *D*-изомеры при поглощении извне (так некоторые соединения являются ядовитыми в одной конфигурации и безвредными — в другой; фармпрепарат фенамин в *L*-форме оказывает в 25 раз большее влияние на двигательную активность мышей, чем в *D*-

форме) и синтезирует соединения в одной стереоконфигурации. В живых организмах аминокислоты присутствуют в *L*-форме, а углеводы — в *D*-форме.

Вокруг одинарных атомных связей в молекуле возможно вращение. С помощью физических методов исследований (в частности, спектроскопии и ЯМР) было установлено, что не все значения углов поворота равновероятны. Так, в молекуле этана наиболее вероятны значения углов поворота одной группы  $\text{CH}_3$  относительно другой, кратные  $120^\circ$ . В этом

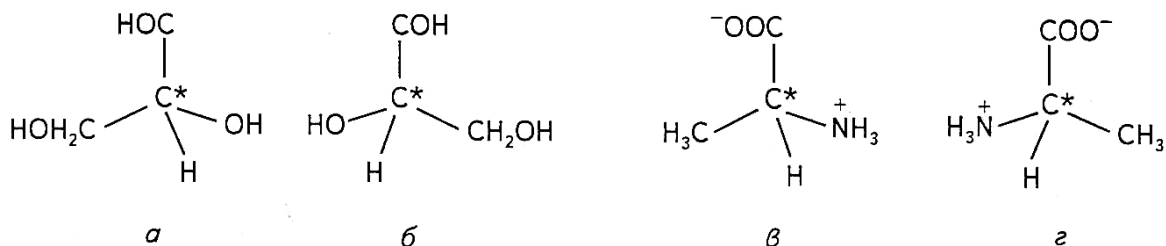


Рис. 10.14. Различные конфигурации глицеральдегида и аланина:

а — *D*-глицеральдегид, б — *L*-глицеральдегид, в — *D*-аланин, г — *L*-аланин

случае молекула находится в транс-конформации (рис. 10.15, а). Углы, отвечающие цис-конформации ( $60^\circ$ ,  $180^\circ$  и  $300^\circ$ , рис. 10.15, б), наименее вероятны. Зависимость потенциальной энергии этана и других молекул, приближенно описывается следующим образом:

$$U = \frac{1}{2} U_0 (1 - \cos 3\varphi) \quad (10.31)$$

где  $U_0$  — высота потенциального барьера между двумя транс-состояниями (для этана  $U_0 = 12,5$  кДж/моль);  $\varphi$  — угол поворота вокруг C-C-связи (отсчет ведется от транс-конформации).

Графически зависимость  $C/(\varphi)$  приведена на рис. 10.16. Причины, по которым транс-конформация является более выгодной, чем цис-, имеют квантово-механическую природу и заключаются в отталкивании близко расположенных валентно не связанных атомов (в данном случае атомов водорода одной группы  $\text{CH}_3$  от атомов водорода другой группы  $\text{CH}_3$ ), а также во взаимодействиях связей, примыкающих к оси вращения (так называемый эффект ориентации связей).

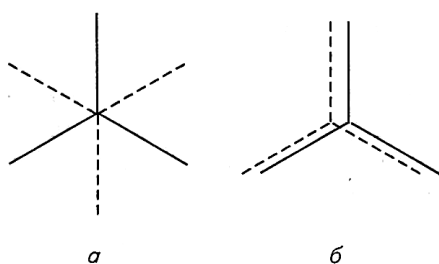


Рис. 10.15. Молекулы этана в транс- (а) и цис- (б) конформации.

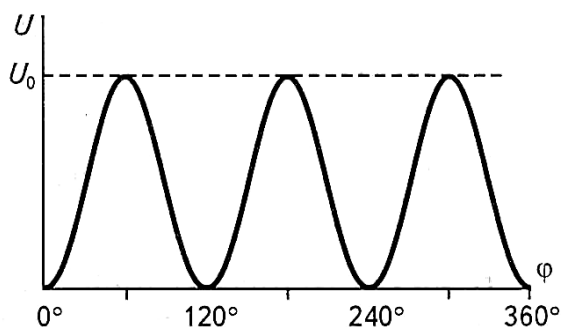


Рис. 10.16. Зависимость потенциальной энергии  $U$  от угла поворота  $\varphi$  для этана.

Энергия взаимодействия зависит от расстояния  $r$  между атомами и определяется соотношением сил отталкивания и притяжения. Энергия притяжения, определяемая ориентационными, индукционными и дисперсионными взаимодействиями, обратно пропорциональна  $r^6$ . На близких расстояниях становится значительной энергия отталкивания, обратно пропорциональная  $r^{12}$ . Поэтому полную энергию Ван-дер-ваальсовых взаимодействий можно представить в виде:

$$U(r) = \frac{A}{r^{12}} - \frac{B}{r^6} \quad (10.32)$$

где  $U(r)$  — потенциал «6—12» Леннарда—Джонса,  $A$  и  $B$  — эмпирические константы. На рис. 10.17 приведен вид соответствующей кривой.

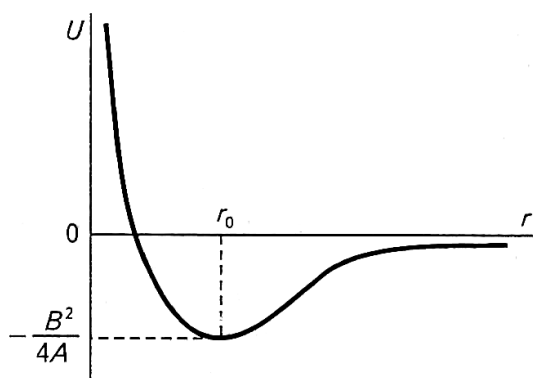


Рис. 10.17. Зависимость потенциальной энергии от меомолекулярного расстояния.

находится в равновесии

$$r_0 = \sqrt[6]{\frac{2A}{B}} \quad (10.33)$$

тогда минимальная энергия составляет:

$$U_{min} = -\frac{B^2}{4A} \quad (10.34)$$

Для молекул, не обладающих коаксиальной симметрией, зависимость внутренней энергии от угла поворота вокруг одинарной связи принимает более сложный характер.

Например, внутренняя энергия для *n*-бутана в зависимости от угла поворота вокруг связи между двумя группами  $C_2H_5$ , так же как и для этана, имеет три минимума (рис. 10.18). Однако они имеют неодинаковую глубину. Это объясняется тем, что для молекулы бутана конформации, соответствующие минимуму потенциальной энергии, отличаются друг от друга, в то время как для этана они одинаковы. На рис. 10.18 схематически представлены три наиболее выгодные конформации *n*-бутана.

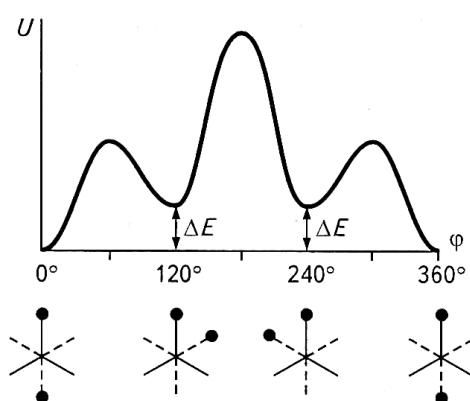


Рис. 10.18. Зависимость внутренней энергии  $U$  от угла поворота  $\varphi$  для *n*-бутана и его конформации, соответствующих минимуму потенциальной энергии (сплошными линиями обозначены связи ближайшей группы  $C_2H_5$ ; штриховыми — дальней группы; черными кружками обозначены группы  $CH_3$ ; проекции даны на плоскость, перпендикулярную центральной  $C-C$ -связи).

Наиболее глубокий минимум энергии характерен *транс*-конформации, а два других — так называемым свернутым, или *гош*-конформациям.

Энергетически выгодные конформации, возникающие при поворотах вокруг единичных связей, называются поворотными изомерами. Молекула будет переходить из одной выгодной конформации в другую со скоростью, которая определяется высотой потенциального барьера, отделяющего эти конформации. Так, при высоте потенциального барьера около 12,5 кДж/моль время превращения одного поворотного изомера в другой составляет  $10^{-10}$  с.

Макромолекулы обладают несколькими видами изомерии. Различные изомеры одного и того же соединения, переход между которыми возможен только при условии разрыва и образования новых ковалентных связей, называются конфигурациями этого соединения. Примером конфигураций являются *L*- и *D*-изомеры. Если же переход из одного изомера в другой осуществляется за счет поворота вокруг одинарных ковалентных связей без их разрыва, то такие изомеры называются конформациями.

## 10.6. Структура белков

В составе природных белков встречаются 20 аминокислот. Все они являются производными карбоновых кислот, у которых к атому углерода, находящемуся в  $\alpha$ -положении (рис. 10.19), присоединена аминогруппа ( $-\text{NH}_2$ ).

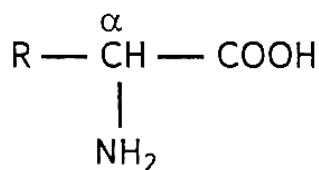


Рис. 10.19.  $\alpha$ -Аминокислота

Как видно из общей формулы (рис. 19), аминокислоты отличаются друг от друга радикалом  $R$ , который может содержать алифатические, ароматические, гидроксильные, карбоксильные группы и включать атомы углерода, водорода, кислорода, азота и серы. Образование белковой цепи из нескольких аминокислот происходит путем образования ковалентной пептидной связи (рис. 10.20). Цепь из нескольких аминокислот называется *пептидом*. Определенная последовательность аминокислот в цепи составляет первичную структуру белка.

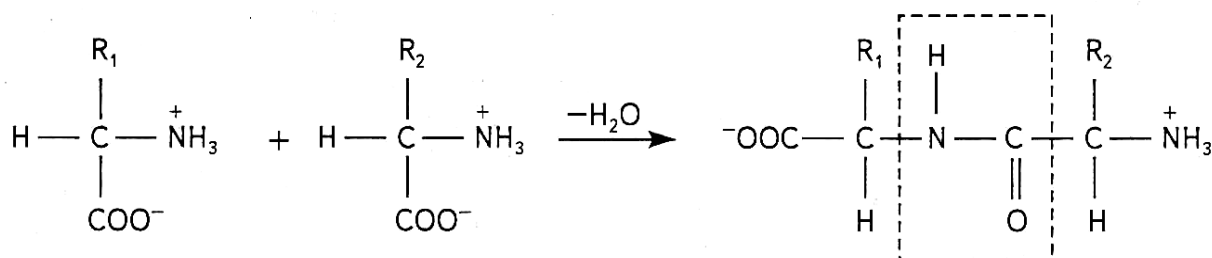


Рис. 10.20. Образование пептидной связи (обозначена пунктирной линией)

При образовании пептидной связи  $N-C$ -связь приобретает частично двойной характер (ее длина составляет 0,132 нм, что меньше длины оди-

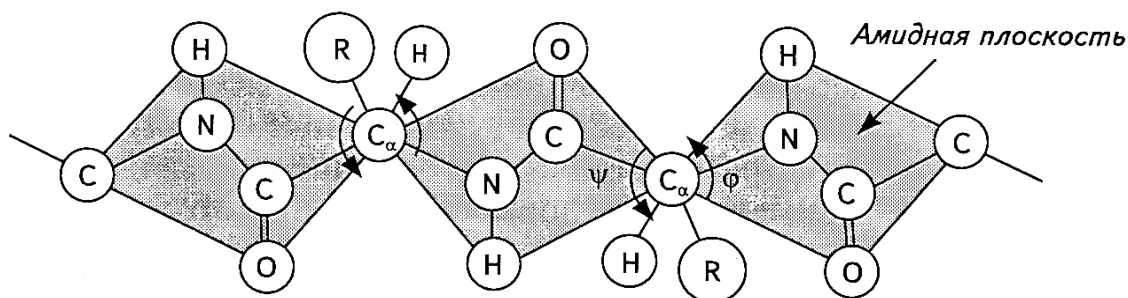


Рис. 10. 21. Расположение пептидных групп белковой молекулы

нарной связи и больше длины двойной связи), а  $C=O$ -связь — частично одинарный (при этом ее длина увеличивается от 0,121 до 0,124 нм). Вследствие сопряжения  $N-C$ - и  $C=O$ -связей вращение вокруг  $N-C$ -связи невозможно. Поэтому все четыре атома  $O, C, N, H$ , участвующих в образовании пептидной связи, а также связанные с ними ковалентно два

соседних атома  $C_\alpha$  лежат в одной плоскости. Существование множества конформаций макромолекул обеспечивается возможностью вращения вокруг  $C-C_\alpha$ - (на угол  $\psi$ ) и  $C_\alpha-N$ -связей (на угол  $\phi$ ) (рис. 10.21).

Не все значения углов  $\phi$  и  $\psi$  допустимы вследствие возможного стерического несоответствия двух соседних аминокислотных остатков. Индийский ученый Г. Рамачандран рассчитал допустимые значения углов  $\phi$  и  $\psi$  (углы отсчитываются от плоской *транс*-конформации полипептидной цепи) и построил стерические карты, на которых по оси абсцисс откладываются значения углов  $\phi$  от 0 до  $360^\circ$ , а по оси ординат — значения углов  $\psi$ . На карте отмечаются полностью разрешенные (при обычных межатомных расстояниях) и частично разрешенные (при минимальных межатомных расстояниях) области значений этих углов (рис. 10.22).

Молекулы белков стремятся находиться в состоянии с минимальной внутренней энергией. Это достигается за счет пространственной стабилизации химических групп водородными связями. Таким образом, образуется некая упорядоченная система, которая называется вторичной структурой белка. Как установили Полинг и Кори, полипептидные цепи могут образовывать спиральные и складчатые структуры.

$\alpha$ - Спирали бывают левозакрученными ( $\phi = 228^\circ$ ,  $\psi = 237^\circ$ ) и правозакрученными ( $\phi = 132^\circ$ ,  $\psi = 123^\circ$ ). Водородные связи, стабилизирующие такую структуру, образуются между  $C=O$ -группой  $i$ -й аминокислоты и  $N-H$ -группой  $(i + 4)$ -й аминокислоты (рис. 10.23). Каждый мономер поворачивается вокруг оси спирали на  $100^\circ$  и перемещается вдоль оси на 0,15 нм. Таким образом, на каждый виток спирали приходится 3,6 пептидных единицы, а длина витка составляет 0,54 нм. Существуют спиральные структуры с параметрами, отличными от вышеприведенных, например коллагеновая спираль. Некоторые спирали закручиваются одна

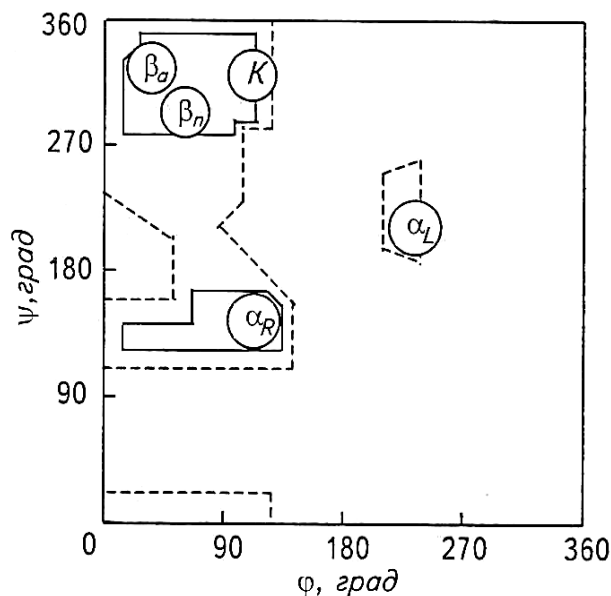


Рис. 10. 22. стерическая карта для поли-L-аланина.

Сплошные линии обозначают границы полностью разрешенных областей; пунктирные — частично разрешенных. На карте указаны области значений углов  $\phi$  и  $\psi$  для параллельной ( $\beta_\eta$ ) и антипараллельной ( $\beta_\alpha$ )  $\beta$ -форм, спирали белка коллагена (K), правой ( $\alpha_R$ ) и левой ( $\alpha_L$ )  $\alpha$ -спиралей.



вокруг другой, образуя суперспиральные структуры, например, в белках тропомиозин и тропоколлаген.

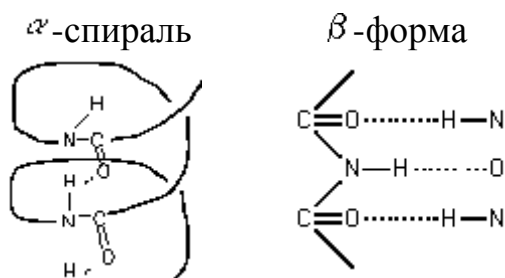


Рис. 10.23. Расположение водородных связей в  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -форме белка

Другим типом конформаций является  $\beta$ -форма (рис. 10.23, 10.24). Такая структура образуется совокупностью нескольких полипептидных цепей (рис. 10.24, а) или из одной цепи, несколько раз изогнутой (кросс- $\beta$ -форма) (рис. 10.24, б), и стабилизируется водородными связями, возникающими между рядом расположенными цепями. В результате образуется структура типа складчатого слоя. Отдельные цепи в такой структуре могут располагаться параллельно и антипараллельно. В параллельной  $\beta$ -форме углы  $\phi$  и  $\psi$  составляют  $61^\circ$  и  $239^\circ$ , а в антипараллельной —  $380^\circ$  и  $325^\circ$  соответственно.

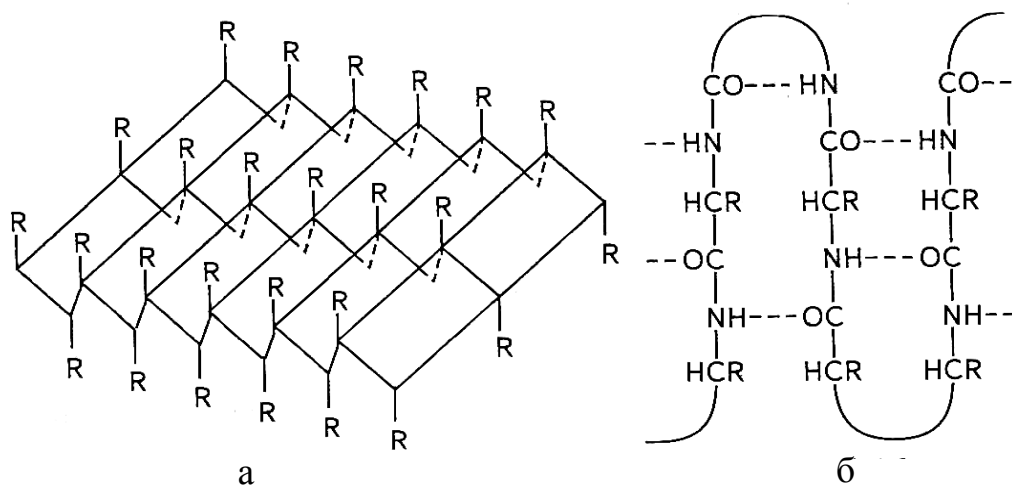


Рис. 10.24.  $\beta$ -Слой из нескольких полипептидных цепей (а); Кросс- $\beta$ -форма (б)

В белках встречаются и неупорядоченные участки, на которых углы  $\phi$  и  $\psi$  имеют значения, отличные от тех, которые были указаны выше. Доля *неупорядоченных участков* в некоторых белках может составлять до 50—60%. Так, например, в гемоглобине 75 % полипептидных цепей находятся в виде  $\alpha$ -спирали, а оставшиеся 25 % представляют собой неупорядоченные участки. Последние обеспечивают изгибы цепей в про-

странстве, в частности, такие участки находятся в месте изгиба кросс-β-формы.

Вероятность встретить ту или иную аминокислоту в α-, β-формах или неупорядоченных участках различна. Так, например, в α-спиралях чаще всего встречаются такие аминокислоты, как *глутаминовая кислота*, *аланин*, *лейцин*; в β-формах — *метионин*, *валин*, *изолейцин*; в неупорядоченных участках — *глицин* и *пролин* (последний не способен образовывать водородных связей, так как на самом деле является не аминокислотой). Зная частоту встречаемости аминокислот в различных видах конформаций белка, можно на основании информации о первичной структуре с вероятностью до 70 % предсказать вторичную.

Полипептидная цепь стабилизируется в пространстве не только водородными связями, но и гидрофобными взаимодействиями, ионными и дисульфидными ( $\text{—S—S—}$ ) связями; которые могут образовываться между аминокислотными остатками, далеко отстоящими друг от друга в цепи. В результате этих взаимодействий белковая цепь оказывается уложенной в некую компактную структуру, в которой чередуются упорядоченные и неупорядоченные участки (*третичная структура белка*).

Некоторые белковые молекулы содержат в своем составе не одну, а несколько полипептидных цепей (субъединиц). Каждая цепь имеет свою третичную структуру и связана с другими цепями не-ковалентными связями. В результате формируется четвертичная структура. Белки, обладающие четвертичной структурой, имеют в своем составе строго определенное число субъединиц, например, в гемоглобине их четыре.

Связи, стабилизирующие вторичную, третичную и четвертичную структуры, являются слабыми (кроме ковалентных дисульфидных). Поэтому изменение условий окружающей среды может привести к их разрыву и образованию новых связей. Образуется новая конформация, энергетически выгодная в данных условиях, то есть происходит *конформационный переход*.

Среди аминокислот, входящих в состав белков, есть как гидрофильные (аргинин, аспарагин, гистидин, глутамин, лизин, серин, тирозин и треонин), так и гидрофобные (табл. 10.2). В состав одного и того же белка входят, как правило, и те, и другие аминокислоты. Белковая молекула в воде (полярном растворителе) стремится свернуться таким образом, чтобы ее гидрофильные аминокислоты контактировали с ним, а гидрофобные были «спрятаны» внутри. В результате внутри молекулы образуется гидрофобное ядро, покрытое сверху гидрофильной оболочкой. Такая структура называется *белковой глобулой* (от лат. *globulus* — шарик).

Ее образование обеспечивает формирование компактной структуры при большой молекулярной массе.

Степень гидрофобности остатка определяют по разности свободных энергий растворения аминокислоты в слабополярном растворителе и воде (обычно используют этиловый спирт).

Основную роль в формировании белковой глобулы играют именно гидрофобные взаимодействия, способствующие выталкиванию неполярных аминокислот из водной среды, а не выигрыш энергии при образовании водородных связей между полярными аминокислотами и водой, так как примерно такое же количество энергии выделяется и при формировании водородных связей между аминокислотами в белке.

Таблица 10.2

Степень гидрофобности аминокислотных остатков					
Гидрофобные $\Delta F$ кДж/моль	Три	Иле	Тир	Фен	Про
	12.50	12.40	12.00	11.10	10.85
Гидрофобные $\Delta F$ кДж/моль	Лей	Вал	Лиз	Гис	Нет
	10.10	7.06	6.27	5.85	5.45
Гидрофильные $\Delta F$ кДж/моль	Ала	Арг	Цис	Глу	Асп
	3.05	3.05	2.71	2.50	2.26
Гидрофильные $\Delta F$ кДж/моль	Тре	Сер	Гли	Асн	Глн
	1.84	0.17	0.00	-0.04	-0.42

Названия остатков: глицил, аланил, валил, лейцил, изолейцил (иле), фенилаланил (фен), пролил, триптофил (три), серил (сер), треонил (тре), метионил (мет), аспарагинил (асп), глутаминил (глн), цистинил, аспаргил, глутамил (глу), тирозил, гистидил (гис), лизил (лиз), аргинил (арг).

Форма глобулы определяется соотношением числа полярных и неполярных аминокислотных остатков. Если в белке  $b = b_s$  (где  $b$  — отношение числа полярных остатков к неполярным;  $b_s$  — отношение объема гидрофильной фазы к объему гидрофобного ядра), то глобула будет стремиться образовать сферу. При  $b > b_s$ , то есть полярных остатков больше, чем необходимо, чтобы покрыть сферическое гидрофобное ядро, глобула примет вытянутую форму. При  $b < b_s$  полярных остатков не хватает и части гидрофобного ядра приходится контактировать с водой. Во избежание этого несколько таких молекул образуют комплекс друг с другом. На рис. 10.25 приведены возможные формы белковых глобул в зависимости от параметра  $b$ .

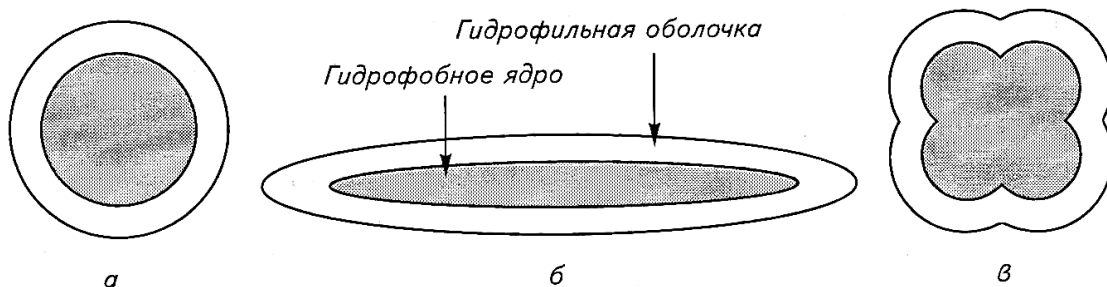


Рис. 10.25. Различные формы белковой глобулы:

а — сфера ( $b = b_s$ ); б — эллипсоид ( $b > b_s$ ); в — надмолекулярные структуры ( $b < b_s$ )

**Переходы спираль-клубок.** Вторичная структура макромолекул является стабильной лишь в определенных условиях. Изменения температуры, растворителя, рН, ионного состава среды может привести к разрушению слабых водородных связей и превращению упорядоченной структуры в клубок, характеризующийся случайным расположением элементов цепи. Происходит так называемый переход спираль — клубок. Такой переход сходен с фазовым переходом, поэтому иногда этот процесс называют плавлением.

Кривая плавления имеет S-образную форму, так как плавление белка носит кооперативный характер. Это объясняется расположением водородных связей в  $\alpha$ -спирали белка. Связи между  $i$ -тым и  $(i + 4)$ -м мономером фиксируют положение в пространстве  $(i + 1)$ -го,  $(i + 2)$ -го и  $(i + 3)$ -го мономеров. Поэтому для разрушения одного участка спиральной структуры требуется разорвать подряд как минимум три водородные связи. Только в случае таких кооперативных разрывов свободная энергия системы будет уменьшаться.

Плавление спирали происходит при условии равенства свободной энергии Гиббса  $\alpha$ -спирали  $G_\alpha$  и образующегося клубка  $G_{кл}$ :

$$G_\alpha = H_\alpha - T_{пл}S_\alpha = H_{пл} - T_{пл}S_{кл} = G_{кл}, \quad (10.35)$$

или

$$\Delta G = G_{кл} - G_\alpha = \Delta H - T_{пл}\Delta S = 0. \quad (10.36)$$

Отсюда следует, что

$$T_{пл} = \Delta H / \Delta S \quad (10.37)$$

Введем параметр  $\Theta$ , обозначающий долю спирализованных звеньев в цепи ( $\Theta = 1$  для полностью спирализованной цепи,  $\Theta = 0$  для полностью расплавленной цепи);

$$\Theta = s^n / (1 - s^n) \quad (10.38)$$

где  $n$  — параметр, определяющий длину кооперативности ( $1 < n < N$ ,  $N$  — число звеньев  $\alpha$ -спирали);

$$s = \exp \left[ - \frac{\Delta G}{RT} \right] \quad (10.39)$$

является константой равновесия процесса образования водородной связи в звене, следующим за уже связанным звеном.

При большой длине кооперативности ( $n \gg 1$ ) возможны несколько случаев:  $\Theta = 0$  при  $s < 1$ ,  $\Theta = 0,5$  при  $s = 1$  (то есть при  $\Delta G = 0$ ) и  $\Theta = 1$  при  $s > 1$

Условие  $n \gg 1$  выполняется только в том случае, если велика свободная энергия, необходимая для разрыва одной водородной связи. Это в свою очередь происходит, если мала константа равновесия а для такого процесса:

$$\sigma = \exp \left[ - \frac{G_{разр}}{RT} \right] \quad (10.40)$$

Расчет показывает, что

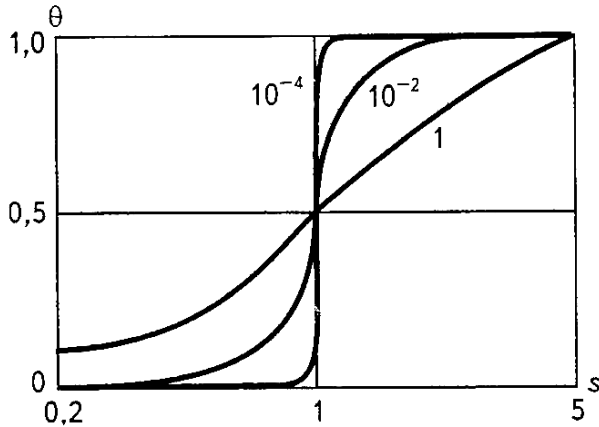


Рис. 10.26. Зависимость доли  $\Theta$  спирализованных звеньев от константы  $s$  при различных значениях  $\sigma$

$$n \approx \frac{1}{\sqrt{\sigma}} \quad (10.41)$$

где  $\sigma$  — параметр кооперативности, определяющий крутизну кривой плавления/ Длина кооперативности максимальна ( $n \rightarrow N$ ) при  $G_{разр} \rightarrow \infty$  и  $\sigma \rightarrow 0$  и минимальна ( $n \rightarrow 1$ ) при  $G_{разр} \rightarrow 0$  и  $\sigma \rightarrow 1$ . В последнем случае получаем

$$\Theta = \frac{s}{1 + s} \quad (10.42)$$

На рис 10.26 приведены теоретические кривые  $Q(s)$  при различных значениях  $\sigma$ .

### 10.7. Биофизика нуклеиновых кислот.

Строение и свойства нуклеиновых кислот определяются их функцией в организме: хранением и передачей генетической информации.

В цепи дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) чередуются в определенном порядке мономеры и нуклеотиды, связанные между собой ковалентными фосфодиэфирными связями фосфатных групп с углеводами. Каждый из нуклеотидов имеет в своем составе дезоксирибозу и остаток фосфорной кислоты и отличается от других азотистым основанием, которых в ДНК имеется четыре вида: аденин (А), гуанин (Г), тимин (Т) и цитозин (Ц). Первые два — (А) и (Г) — являются пуриновыми, а вторые — (Т) и (Ц) — пиримидиновыми основаниями. Определенная последовательность нуклеотидов в цепи составляет первичную структуру нуклеиновой кислоты.

Вторичная структура ДНК была расшифрована с помощью рентген-структурного анализа в 1952 году Р. Франклин, Ф. Криком, Дж. Уотсоном и М. Уилкинзом. Молекула ДНК, как правило, состоит из двух нуклеотидных цепей, и лишь в некоторых вирусах встречаются одноцепочечные молекулы ДНК. Две цепи ДНК связаны друг с другом через азотистые основания водородными связями, причем аденин всегда образует пару с тимином, а гуанин — с цитозином (рис. 27), то есть аденин комплементарен тимину, а гуанин — цитозину, одна цепь ДНК комплементарна другой. Это объясняет правила Чаргоффа, которые были сформулированы раньше открытия структуры ДНК:

1)  $A = T$ ; 2)  $G = C$ ; 3)  $(A + G)/(T + C) = 1$ ; 4)  $(A + C)/(G + T) = 1$

Кроме водородных связей между парами оснований стабилизация структуры ДНК достигается также межплоскостными взаимодействиями оснований (*стэкинг-взаимодействиями*). Каждая комплементарная пара нуклеотидов поворачивается относительно предыдущей на некоторый угол вокруг оси спирали, в результате образуется вторичная структура ДНК — двойная спираль.

Модель Уотсона-Крика объяснила явление самоудвоения ДНК — редупликацию. В процессе редупликации в ДНК разрываются водородные связи между основаниями, и на каждой из двух цепей строится новая, при этом каждая материнская цепь используется как матрица для дочерней. Новые нуклеотиды присоединяются по принципу комплементарности, то есть к аденину присоединяется тимин, к гуанину — цитозин, к тимину — аденин, к цитозину — гуанин. Такая модель редупликации называется полуконсервативной, так как каждая новая молекула ДНК включает в себя одну материнскую и одну дочернюю цепи. Цепи ДНК могут быть линейными или кольцевыми. У последних концы молекул

ковалентно замкнуты. Две нуклеотидные цепи одной молекулы ДНК всегда располагаются антипараллельно: одна цепь — от 3' — к 5'-концу, вторая — наоборот (рис. 10.27).

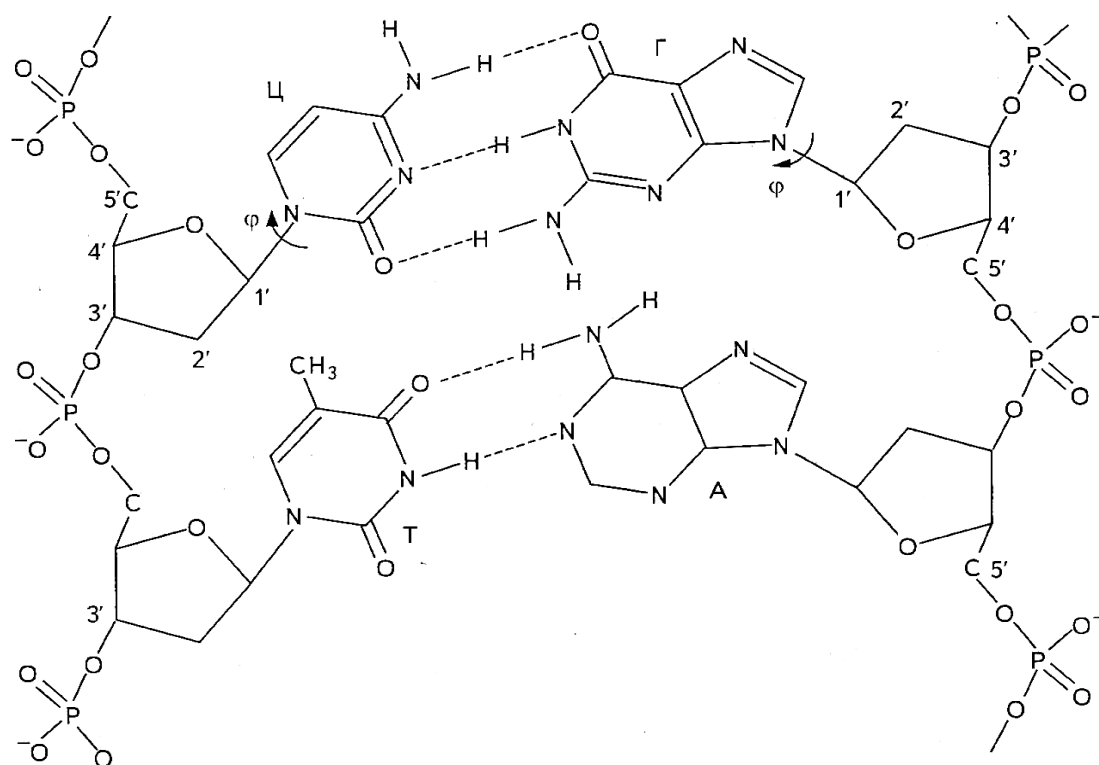


Рис. 10.27. Участок цепи ДНК:

$\phi$  — угол между перпендикуляром к оси спирали и плоскостью оснований

Двойная спираль ДНК может существовать в различных конформациях, переход между которыми осуществляется при изменении влажности кристаллических препаратов ДНК, соли ДНК и ряда других условий, а также может быть вызван взаимодействием ДНК с белками. Считается, что физиологическим условиям отвечает В-форма ДНК. Характеристики А-, В- и С-форм ДНК приведены в табл. 3, схематические изображения А-и В-форм ДНК — на рис. 10.28. В В-форме центры тяжести пар оснований находятся на оси спирали, а в А-форме сдвинуты к периферии, поэтому в центре остается отверстие около 4 нм.

А-, В- и С-формы ДНК являются правыми. В 1978 году была получена левая спираль ДНК — молекула синтетического полимера полидезоксигуанилата. Его сахарофосфатный остов имеет зигзагообразный вид. Поэтому такая конформация ДНК получила название *Z-форма*. Z-Форма может быть энергетически выгодна только в том случае, если цепь ДНК

образована чередованием пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, например — Г и Ц.

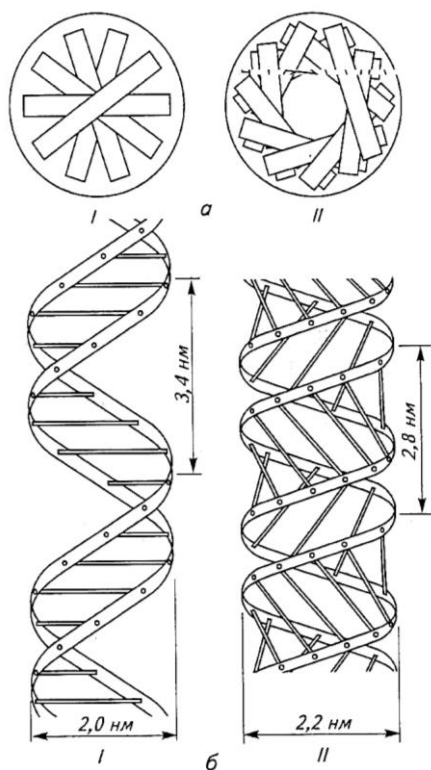
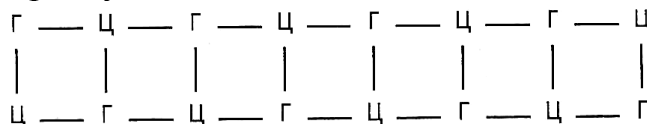


Рис. 10.28. Схема строения А- (I) и В-форм ДНК (II)  
А — вид сверху; б — вид сбоку

Таким образом, повторяющейся единицей в такой структуре являются две пары нуклеотидов:



Z-Форма имеет 12 пар оснований на виток спирали, то есть поворот пары нуклеотидов относительно предыдущей пары вокруг оси спирали равен  $30^\circ$ .

Для любой конформации ДНК, кроме Z-формы, характерно наличие широкой и узкой бороздки на поверхности спирали.

Молекула рибонуклеиновой кислоты (РНК) так же, как и ДНК, образована определенной последовательностью нуклеотидов, но, как правило, состоит из одной цепи. Молекула сахара в РНК представлена рибозой, и вместо тимина в ее состав входит пиримидиновое основание — гуанин. Во время синтеза матричной

РНК (транскрипции) генетическая информация, содержащаяся на определенном участке ДНК, по принципу комплементарности переходит на РНК, на которой как на матрице происходит синтез белка (трансляция) в рибосомах. Присоединение нужных аминокислот к синтезирующейся полипептидной цепи осуществляется с помощью транспортной РНК. Таким образом, РНК является посредником между ДНК и белком, а в некоторых вирусах - носителем генетической информации.

Различные конформации полинуклеотидной цепи достигаются благодаря возможности поворотов вокруг некоторых связей (рис. 10.29). Конформация нуклеиновых кислот в значительной степени определяется конформацией дезоксирибозы в ДНК или рибозы в РНК. Молекула углевода является циклической. В зависимости от того, какой из атомов углерода ( $C2'$  или  $C3'$ ) находится вне плоскости остальных четырех атомов, различают следующие конформации. Если атом  $C2'$  или  $C3'$  находится с той же стороны от плоскости, что и атом  $C5'$ , то такая конформация называется *эндо*-, если с другой стороны, то — *экзоконформация*.



Таблица 10.3

## Геометрические характеристики ДНК в различных формах

Соль ДНК	Влажность, %	Число звеньев на виток спирали	Шаг спирали, нм	Перемещение на один нуклеотид, нм	Поворот на нуклеотид, град	Угол $\varphi$ между перпенди- куляром к оси спирали и плоскостью оснований, град
<i>Na</i> , <i>A</i> -форма	75	11	2,82	0,255	32,7	20
<i>Na</i> , <i>B</i> -форма	92	10	3,46	0,346	36	2
<i>Li</i> , <i>B</i> -форма	66	10	3,37	0,337	36	2
<i>Li</i> , <i>C</i> -форма	66	9,3	3,10	0,332	39	6

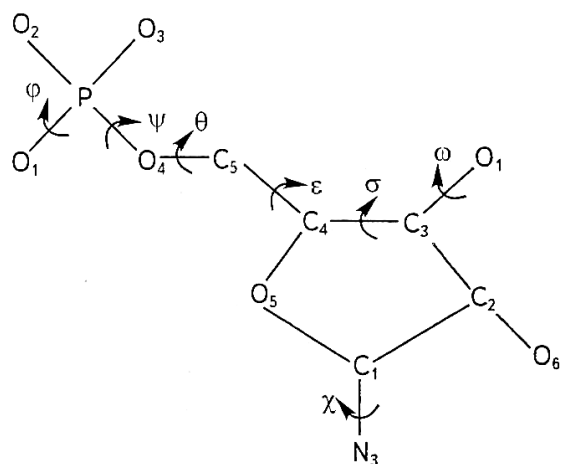


Рис. 10.29. Углы поворота в звене полинуклеотидной цепи

Следовательно, возможны четыре случая:  $C2'$ -эндо,  $C3'$ -эндо-,  $C2'$ -экзо- и  $C3'$ -экзоконформации (рис. 10.30). В зависимости от конформации углевода, различают два семейства конформации ДНК: *A*-семейство ( $C3'$ -эндоконформация, *A*-форма ДНК) и *B*-семейство ( $C2'$ -эндоконформация, *B*-, *C*- и *T*-формы ДНК). Из рис. 30 видно, что в  $C2'$ -эндо- и  $C3'$ -экзоконформациях угол  $\varphi$  невелик (составляет 2—6°), поэтому в 5-семействах ДНК нуклеотид-

ные пары расположены почти перпендикулярно к оси спирали, для  $C3'$ -эндо-конформации  $\varphi = 20^\circ$ . Конформационные переходы ДНК внутри одного семейства осуществляются плавно, а переход из *A*- в *B*-семейства

— скачкообразно, сопровождаясь изменением конформации углевода от  $C_3$ -эндо к  $C_2$ -экзо.

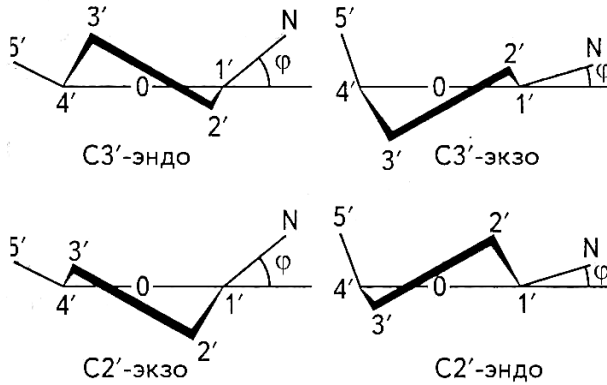


Рис. 10.30. Четыре наиболее устойчивые конформации сахарного кольца в нуклеотиде

Молекулы ДНК являются самыми большими в природе. Например, кольцевые ДНК фага  $T_2$  имеют длину 49 мкм, а ДНК *E. coli* — 400 мкм, молекулярная масса последней составляет  $10^9$ . Каждая хромосома содержит только одну молекулу ДНК, которая имеет длину от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров. Суммарная длина всех молекул ДНК одной клетки человека составляет около двух метров.

Огромные размеры молекул нуклеиновых кислот требуют их особой укладки в пределах малых размеров клеток или вирусов. Это достигается за счет возможности образования в молекуле ДНК перегибов, петель, суперспиралей, что формирует ее третичную структуру.

Особое строение молекулы ДНК — плотная упаковка азотистых оснований, связанных сильными и слабыми взаимодействиями, — обеспечивает высокую сохранность генов даже при значительных вариациях условий окружающей среды. Комплементарные пары оснований связаны друг с другом водородными связями, которые относятся к слабым взаимодействиям. Например, для Г – Ц-пар энергия связи  $E_{св}$  составляет всего лишь 5 кДж/моль, а константа диссоциации  $K$ , согласно уравнению Больцмана —

$$K = \exp \left[ - \frac{E_{св}}{RT} \right] = \exp \left[ - \frac{5000}{8,31 \cdot 309} \right] = 0,14 = \frac{1}{7}, \quad (10.43)$$

то есть в одномолярном растворе на каждые 7 пар оснований приходится одна “разорванная”. Для двух пар оснований константа диссоциации составляет  $(1/7)^2 = 1/49$ . Для цепи из нескольких тысяч пар нуклеотидов константа диссоциации уже настолько мала, что равновесие почти полностью смещено в сторону образования комплексов пар оснований.

Вторичная структура ДНК является стабильной лишь в определенных условиях. Изменения температуры, растворителя,  $pH$ , ионного состава среды может привести к разрушению слабых водородных связей

между парами нуклеотидов и образованию вместо двойной спирали ДНК или двуспиральных участков РНК отдельных нуклеотидных цепей, сворачивающихся в клубок. Этот процесс называется *денатурацией* или *плавлением нуклеиновых кислот*.

В процессе плавления ДНК происходит уменьшение вязкости раствора, а в области максимального поглощения (260 нм) - увеличение оптической плотности (*гиперхромизм*). Поэтому явление плавления легко обнаружить по спектру поглощения ДНК (рис. 10.31). Изменение поглощения ДНК при переходе спираль — клубок дает количественную оценку спиральности ДНК. Этот метод также можно использовать при измерении степени спиральности белков, однако максимум их поглощения лежит в далекой ультрафиолетовой области (200 нм), что усложняет спектрофотометрические измерения.

ДНК характеризуется не определенной температурой плавления, а

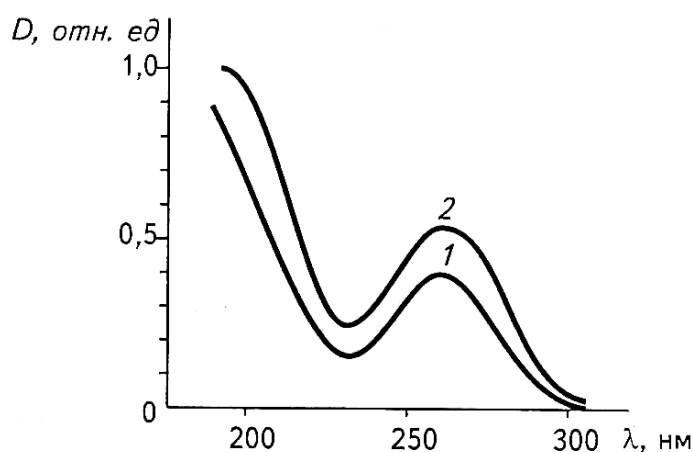


Рис. 10.31. Зависимость оптической плотности  $D$  от длины волны  $\lambda$  для спиральной (1) и клубкообразной (2) конформаций ДНК тимуса телят в тяжелой воде

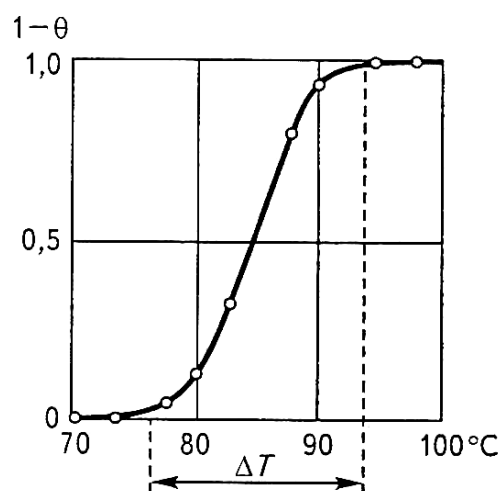


Рис. 10.32. Переход спираль - клубок в ДНК:

$\Theta$  — доля спирализованных звеньев,  $\Theta = 1$  для полностью спирализованной ДНК,  $\Theta = 0$  для полностью расплетенной ДНК

некоторым температурным интервалом, в котором происходит переход спираль—клубок S-образный вид кривой плавления (рис. 10.32) свидетельствует о кооперативности этого процесса

Температура плавления двойной спирали ДНК зависит от соотношения АТ- и ГЦ-пар Аденин связан с тиминном двумя водородными связями, а гуанин с цитозином — тремя. Поэтому, чем больше в составе ДНК ГЦ-пар, тем выше ее температура плавления. Так, для синтетиче-

ского полимера поли-АТ температура плавления составляет 65°C, а для поли-ГЦ — 104 °C.

Значение температуры плавления нуклеиновых кислот зависит также от концентрации катионов в растворе: чем она выше, тем выше температура плавления (зависимость близка к логарифмической). Это объясняется тем, что в растворе происходит диссоциация фосфатной кислоты. Образующиеся отрицательные заряды отталкивают друг от друга комплементарные цепи. Катионы в этом случае компенсируют отрицательный заряд и уменьшают силы отталкивания.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

Абрагам А, Ядерный магнетизм / Пер. с англ.— М.: Изд. иностр. лит., 1963.— 471 с.

- Ахиезер А. И. Общая физика. Электрические и магнитные явления: Справ, пособие.— К.: Наук, думка, 1981.— 471 с.
- Бабилев Ф. В., Андроник И. Я. Полиморфизм лекарственных веществ / Под ред. А. И. Тенцовой.— Кишинев: Штиинца, 1981.— 239 с.
- Белая М. Л., Левадный В. Г. Молекулярная структура воды.— М.: Знание, 1987.— 64 с.— (Новое в жизни, науке, технике.— Сер. «Физика»; № 11).
- Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия: Учебник для вузов.— М: Медицина, 2002.— 704 с.
- Биофизика / Под общ. ред. П. Г. Костюка.— К.: Вища шк. Головное изд-во, 1988.— 504 с.
- Биофизика / Под ред. В. Ф. Антонова.— М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 1999.— 288 с.
- Боковой А. А., Финкельштейн Э. Б., Херувимов А. Н. Законы электромагнетизма.— М.: Наука, 1970.— 348 с.
- Бранд Дж., Эглинтон Г. Применение спектроскопии в органической химии / Пер. с англ.; Под ред. Ю. Н. Шейнкера.— М.: Мир, 1967.— 279 с.
- Браун Д., Флойд А., Снейсберн М. Спектроскопия органических веществ / Пер. с англ.— М.: Мир, 1992.— 303 с.
- Вилков Л. В., Пентин Ю. А. Физические методы исследования в химии: Структурные методы и оптическая спектроскопия.— М.: Мир, 2003.— 683 с.
- Владимиров Ю. А., Потапенко А. Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов.— М.: Высш. шк., 1989.— 199 с.
- Владимиров Ю. А., Ращупкин Д. И., Потапенко А. Я., Деев А. И. Биофизика.— М.: Медицина, 1983.— 272 с.
- Волобуев А. Н. Биофизика.— Самара: «Самар. дом печати», 1999.— 168 с.
- Волькенштейн В. С. Сборник задач по общему курсу физики.— М.: Наука, 1990.— 397 с.
- Волькенштейн М. В. Биофизика.— М.: Наука, 1990.— 397 с.
- Горбачук Т. Т. Збірник задач.— К.: Вища шк., 1993.— 265 с.
- Гороноеский И. Т., Назаренко Ю. П., Некряч Е. Ф. Краткий справочник по химии / Под общ. ред. А. Т. Пилипенко.— К.: Наук, думка, 1987.— 829 с.
- Гофман Ю. В. Законы, формулы, задачи физики.— К.: Наук, думка, 1977.— 574с.
- Граселли Дж., Снейвшш М., Балкин Б. Применение спектроскопии КР в химии / Пер. с англ.; Под ред. Ю. А. Пектина.— М.: Мир, 1984.— 216 с.
- Губанов Н. И., Утепбергенов А. А. Медицинская биофизика.— М.: Медицина, 1978.— 336 с.
- Губський Ю. І. Бюлопчна хімін.— Кшв—Тернотль: Укрмедкнига, 2000.— 508 с.
- Давид Р. Введение в биофизику.— М.: Мир, 1982.— 208 с.
- Де Дюв К. Путешествие в мир живой клетки: Пер. с англ./Предисл. Ю. А. Овчинникова.— М.: Мир, 1987.— 256 с.
- Деньгуб В. М., Смирнов В. Г. Единицы величин: Словарь-справочник.— М.: Изд-во стандартов. 1990.— 256 с.
- Державна фармакопея України / Держання пшприемство «Науково-експерт-ний фармакопейний центр». — 1-е вид.— Харгав: РІРЕГ, 2001.— 556 с.

- Доис Э. Количественные проблемы биохимии: Пер. с англ.— М.: Мир, 1983.— 376 с.
- Драго Р. Физические методы в химии / Пер. с англ.; Под ред. О. А. Реутова.— М.: Мир, 1981.— Т. 1 - 422 с.; Т. 2 - 456 с.
- Дубровский И. М., Егоров Б. В., Рябошанка К. П. Справочник по физике.— К.: Наук, думка, 1986.— 556 с.
- Енохович А. С. Справочник по физике и технике: Учеб. пособ. для учащихся.— М.: Просвещение, 1989.— 223 с.
- Жубанов Б. А., Агашкин О. В., Рухина Л. Б. Атлас инфракрасных спектров некоторых гетероциклических мономеров и полимеров.— Алма-Ата: Наука, 1984.— 150 с.
- Задачи по физике: Учеб. пособие / И.И.Воробьев, П. И. Зубков, Г.А.Кутузова и др.; Под ред. О. Я. Савченко.— М.: Наука, 1988.— 416 с.
- Зима В. Л. Бюф1зика: Зб(рник задач: Навч. посіб. — К.: Вища шк., 2001. — 124 с.
- Иванов-Муромский К. А. Электромагнитная биология.— К.: Наук, думка, 1977.— 156 с.
- Исмаилов Э. Ш. Биофизическое действие СВЧ-излучений.— М.: Энергоатомиздат, 1987.— 144 с.
- Калинюк Т. Г., Лопушанський Я. И. Ф(зичш величини у фармацц.— Льв1в: Ліга-Прес, 2002.- 248 с.
- Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения: Пер. с англ.— М.: Мир, 1981.— 624 с.
- Китайгородский А. И., Зоркий П. М., Вельский В. К. Строение органического вещества.— М.: Наука, 1982.— 510 с.
- Козел С. М., Рашба Э. И., Славатинский С. А. Сборник задач по физике.— М.: Наука, 1987.- 301 с.
- Кольрауш К. Спектры комбинационного рассеяния / Пер. с нем.— М.: Изд. иностр. лит., 1952.— 466 с.
- Корнилов М. Ю., Кутров Г. П. Ядерный магнитный резонанс в химии.— К.: Вища шк., 1985.- 199 с.
- Красовский И. В., Вайль Е. И., Безуглый В. Д. Физическая и коллоидная химия.— К.: Вища школа, 1983.— 352 с.
- Кузмичев В. Е. Законы и формулы физики: Справочник.—К.: Наук, думка, 1989.- 861 с.
- КухлингХ. Справочник по физике / Пер. с нем.; Под ред. Е. М. Лейкина.— М.: Мир, 1985.-519 с.
- ЛевтовВ.А., РегирерС.А., Шадрин Н. Х. Реология крови.—М.: Медицина, 1982.- 272 с.
- Ленский А, С. Введение в бионеорганическую и биофизическую химию: Учеб. пособие для студентов медицинских вузов.— М.: Высш. шк., 1989.— 256 с.
- Леше А. Физика молекул / Пер. с нем.; Под ред. П.Г.Крюкова.— М.: Мир, 1987.- 228 с.
- Люминесцентный анализ / Под ред. М. А. Константиновой-Щлезингер.— М.: Физматгиз. 1961.— 399с.
- Молчанов Г, Ультразвук в фармации.— М.: Медицина, 1980.— 176 с.

- Позднякова В. Т. Микроскопический анализ фармацевтических препаратов и ядов.— М.: Медицина, 1986.
- Поль Р. В. Оптика и атомная физика / Пер. с нем.: Под ред. Н. А. Толстого.— М.: Наука, 1966.— 552 с.
- Ремизов А Н Медицинская и биологическая физика — М Высш шк , 1999 — 616с
- Ремизов А Н, Исакова Н Х, Максима А Г Сборник задач по медицинской и биологической физике — М Высш шк , 1987 — 159 с
- Рис Э, Стернберг М От клеток к атомам иллюстрированное введение в молекулярную биологию Пер с англ — М Мир, 1988 — 144 с
- Россель Жан Общая физика / Пер с англ , Под ред К П Яковлева — М Мир, 1964-506 с
- Рубин А Б Биофизика В 2-х кн — М Высш шк , 1987 — 622 с
- Русяев В Ф, Мищенко С В , Пронина Н В Медицинская физика (сборник вопросов и задач) — Полтава Изд-во «АСМИ», 2001 — 172 с
- Рыбин И А Лекции по биофизике — Свердловск Изд-во Уральского университета, 1990 — 240 с
- Савельев И В Сборник вопросов и задач по общей физике — М Астрель, АСТ, 2001- 319 с
- Сердюк А М Взаимодействие организма с электромагнитными полями как с фактором окружающей среды — К Наук думка, 1977 — 228 с
- Серова Ф Г, Янкина А А Сборник задач по термодинамике — М Просвещение, 1976 — 160 с
- Сильверстейн Р, Басслер Г, Моррил Т Спектрометрическая идентификация органических соединений / Пер с англ под ред А М Мальцева — М Мир, 1977 — 590 с
- Смит А Л Прикладная ИК-спектроскопия Основы, техника аналитическое применение / Пер с англ Б Н Тарасевича, Под ред А А Мальцева — М Мир, 1982 - 327 с
- Соловьев В И, Фирсов А А, Филов В А Фармакокинетика — М Медицина, 1980 - 423 с
- Спектроскопия комбинационного рассеяния света в газах и жидкостях — Под ред А Вебера / Пер с англ — М Мир, 1982 — 373 с
- Тарьян И Физика для врачей и биологов — Budapest Akademiai kiado, 1969 — 600 с
- Трофимова Т И, Павлова З Г Сборник задач по курсу физики с решениями Учеб пособие для вузов — 2-е изд , испр — М Высш шк , 2001 — 591 с ил
- Установление структуры органических соединений физическими и химическими методами / Пер с англ , Под ред А Вайсберга — М Химия, 1967 Т 11 Кн 1 — 531 с , Кн 2 — 800 с — (Методы органической химии, серия монографий)
- Фано У, Фано Л Физика атомов и молекул / Пер с англ , Под ред Л И Пономарева М Наука, 1980 — 656 с
- Фейнман Р, Лейтон Р, Сэнкс М Задачи и упражнения с ответами и решениями — М Мир 1978 - 656 с
- Фен Дж Машины, энергия, энтропия Пер с англ — М Мир, 1986 — 336 с
- Физиология человека / Под ред Г И Косицкого — М Медицина, 1985 — 544 с
- Физиология человека В 3-х томах / Под ред Р Шмидта и Г Тевса — М Мир, 1996 - 880 с
- Физический энциклопедический словарь — М Наука, 1984 — 944 с

ФинеанДж, Колмэн Р, Мичелл Р Мембраны и их функции в клетке— М Мир, 1977 - 200 с

Фриш С Э Оптические спектры атомов — М — Л Физматгиз, 1963 — 640 с

Хроматография Практическое применение, методы — В 2 т / Пер с англ , Под ред Э Хефтмана - М Мир, 1986 - Т 1 - 366 с , Т 2 — 422 с

Чертов А Г, Воробьев А А Задачник по физике Учеб пособие — 4-е изд перераб и доп — М Высш шк , 1981 — 496 с

Швилкин Б Н, Мискинова Н А Физическая электроника в задачах — М Наука, 1987 - 255 с