

ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

О.С. Арутюнова

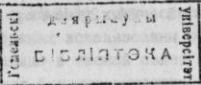
БИОФИЗИКА

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Часть 2

Тексты лекций



Гомель 1966

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИИ

СТОРИНЫ

Рецензенты: С.М. Керимова, кандидат биологических наук
кафедры нормальной физиологии Азербайджанского
государственного медицинского института им. Н. Нариманова,
И.А. Розенталь, заведующий отделением Гомельской
областной больницы

Тексты лекций написаны в соответствии с программой учебного
курса "Биофизика" для государственных университетов.

В них изложены следующие вопросы из области молекулярной
и клеточной биологии: проблемы биофизики и резюмирование представлений
о физико-химической организации мембран, их составные части, ха-
рактеристика мембранных белков, подвижность липидов и белков в
мембране и др.

Предназначены студентам-биологам.

210005 - 051
А М 339 - 86 5 - 86 2001040000

© Гомельский государственный
университет (ГГУ), 1985

I. ПРОБЛЕМЫ ФИЗИКИ МЕМБРАН

В последние годы среди исследователей в области молекулярной
и клеточной биологии необычайно возрос интерес к проблеме био-
логических мембран, их структуре и функции в живой клетке.

Клетка - элементарная единица живой ткани. Почти во всех кле-
точных функциях жизненно важную роль играют мембранные структуры:
без которых клетка не может существовать. Они образуют не только
наружную оболочку клетки, но и сложную систему складок и замыку-
ющих плоскостей внутри клетки.

Возникновение клеточной мембраны, с одной стороны, по-видимому,
явилось важным этапом в возникновении жизни - компартиментализации:
(отделение внутриклеточного пространства от внешнего мира) опреде-
ляла решительное ускорение добиологической и биологической эволю-
ции.

С другой стороны, тонкая регуляция биосинтетических и биоэнер-
гетических процессов в живой клетке осуществляется на основе простран-
ственного разделения функциональных частей клетки, ее органоидов.
Внутриклеточные мембраны служат для компартиментализации внутрен-
него содержимого клетки.

Клеточные и внутриклеточные мембраны представляют собой динами-
ческие надмолекулярные системы, протяженность которых в двух изме-
рениях значительно превосходит их толщину. Хотя толщина мембраны
много меньше ее размеров в двух других измерениях, все механизмы,
ответственные за биологическую функциональность мембраны, локализо-
ваны в ее толще.

Основным источником информации о строении клеточных мембран
(внешних и внутренних) является электронная микроскопия.

Мембраны не являются пассивными полупроницаемыми оболочками,
а принимают участие во всех функциях клетки. Наряду с пассивным
транспортом существует активный транспорт вещества, идущий в на-
правлении, противоположном градиенту химического или электрохими-
ческого потенциала. В мембранах локализованы основные биоэнерге-
тические процессы, протекающие в тесной связи с мембранным транс-
портом. АТФ, необходимая для биосинтетических и биоэнергетических
процессов, синтезируется в специализированных мембранах митохонд-
рий, в мембранах фотосинтезирующих клеток. Ряд важнейших фермент-
ных систем клеток непосредственно связан с мембранами. Есть осно-

вания думать о цитологической связи между рибосомами, на которых синтезируется белок, и эндоплазматическим ретикуломом. Репликация ДНК и хромосом, по-видимому, происходит с участием мембран.

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

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

Изучение мембран — одна из основных задач биофизики. Раскрытие структуры и функциональности мембран позволит решить комплекс основных задач биофизики, относящихся к поведению клеток и организма как открытых систем (транспорт вещества), к биоэнергетике, регуляции биосинтетических и структурообразующих процессов, к действию ферментных систем, к механохимии.

Проблемы биофизики мембран на современной стадии ее развития следующие:

Первая — молекулярное строение мембран. Необходимо установить, каким образом расположены в двух измерениях и в толще мембраны образующие ее вещества. Методы — электронная микроскопия и рентгенография. Несмотря на огромное число работ, эту проблему нельзя считать решенной.

Вторая — роль мембраны как системы, обеспечивающей транспорт вещества в клетку и из клетки. Основная задача состоит в раскрытии молекулярной природы пассивного и активного транспорта к функциональности строения мембраны, определяющей транспорт, то есть установление связи структуры и функции.

Решение этих задач основано на физических и химических методах, на теоретическом и экспериментальном моделировании. Разработаны способы получения искусственных липидных мембран, имеющих гораздо более простое строение, чем мембраны биологические и вместе с тем моделирующие их важные свойства.

Третья — физическая сущность возбудимости мембран. Перемещение ионов сквозь мембрану определяют биэлектрические явления — возникновение биопотенциалов, генерацию и распространение нервного импульса. Экспериментальные и теоретические исследования возбуди-

мых мембран — одна из важнейших областей современной биофизики. Возбудимость мембраны также удается моделировать на искусственных липидных мембранах.

Четвертая — биоэнергетика мембран. С одной стороны, сюда относится превращение энергии АТФ в работу, производимую при активном транспорте и генерации биопотенциалов, с другой — образование АТФ в процессах окислительного фосфорилирования, происходящего, в частности, в биоэнергетических мембранах митохондрий. Биоэнергетические процессы катализируются ферментной системой, локализованной в мембране.

С мембранными биоэнергетическими процессами связана механохимия (мышечное сокращение). Основные фотобиологические процессы — фотосинтез и фоторецепция — разыгрываются в мембранах.

2. РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАН

Гипотезы молекулярного строения клеточной мембраны базировались на косвенных данных. Раньше исследователи считали, что мембраны состоят только из липидов. Это предложение было выдвинуто в 1902 г. Свертоном на основании того, что вещества, растворимые в липидах, легко проникают через плазматическую мембрану.

В 1926 г. Гorter и Грендель обнаружили, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, вдвое больше суммарной площади поверхности всех эритроцитов. Следовательно, плазматическая мембрана состоит из двойного слоя липидных молекул. Это теория подтверждалась данными, полученными при измерении электрических параметров клетки, которые свидетельствовали о высоком сопротивлении клеточной мембраны (порядка 1000 Ом/см^2). Столь высокое сопротивление характерно для липидов, обладающих малой электропроводностью. Экспериментальные данные свидетельствуют о наличии в плазматической мембране белковых молекул. Такие свойства мембран, как эластичность, способность к механическому растяжению и сокращению, низкое поверхностное натяжение можно отнести за счет наличия в мембране фибриллярных белков.

Для объяснения этих фактов Даниэлли и Давсон в 1935 г. предложили модель строения мембраны ("Сэндвич с маслом").

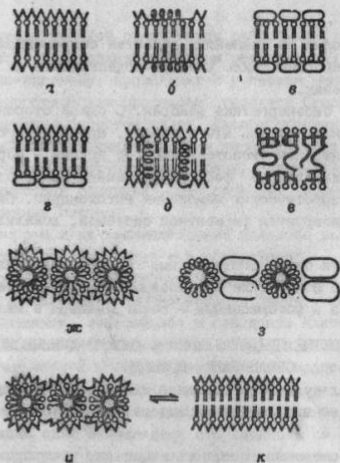


Рис. 1. Различные модели молекулярного строения плазматической мембраны

В основу моделей положены: двухслойная липидная структура (а-е); глобулярная организация (ж-к): в - белок в β - форме, б - α - спираль, в - глобулярный белок, г - асимметрия в расположении белка, д - каналы и поры, частично пронизывающие белковый слой, е - белок внутри двойного слоя липидов, ж - липидные мицеллы с β - белком, з - липидные мицеллы с глобулярным белком, и, к - превращение глобулярной организации в двухслойную.

Согласно этой модели имеется два слоя молекул фосфолипидов, которые расположены перпендикулярно поверхности мембраны. Фосфолипиды содержат в одной и той же молекуле полярные гидрофильные и гидрофобные группы. Гидрофобные концы липидов одного слоя прикреплены к гидрофобной поверхности другого слоя. Гидрофильные концы липидных молекул направлены наружу. На полярных группах молекул фосфолипидов мембраны адсорбированы белковые цепочки, которые в форме глобул покрывают двойной слой фосфолипидов с

обеих сторон, придавая ему тем самым известную эластичность и устойчивость к механическим повреждениям, а также низкое поверхностное натяжение. Полярные группы молекул глобулярных белков направлены наружу - в сторону водной фазы, а неполярные группы - в сторону липидов.

К полярным группам: аминная, карбоксильная, фосфатная, гидроксильная, карбонильная и некоторые другие.

Предполагалось, что на одну молекулу белка приходится приблизительно 75-90 молекул липидов.

Электронномикроскопические исследования подтвердили правильность этой модели.

В 1959 г. Дж. Робертсон выдвинул теорию "унитарной, или ординарной" мембраны. По его мнению, основной единицей всех мембранных структур клеток является 3-слойная структура толщиной 7,5 - 9 нм. Эта элементарная мембрана состоит из одного бимолекулярного слоя фосфолипидов, покрытого с цитоплазматической стороны слоем фибриллярного белка, а с наружной поверхности - мукополисахаридами или мукотепротенидами.

В целом унитарная модель удовлетворительно объясняет некоторые основные функции мембран и в первую очередь их барьерные свойства. Многие растворимые в воде вещества диффундировали через мембрану примерно в 10^8 - 10^9 раз медленнее, чем в обычном растворе без мембраны, причем лучше преодолевали барьер те, которые имели меньший молекулярный размер и хорошо растворялись в липидах.

Однако ряд фактов не могли быть объяснены с позиций унитарной модели мембраны. Было обнаружено, что определенные вещества, нерастворимые в липидах и имеющие большой (сахара, аминокислоты) и малый (мочевина) молекулярные размеры, проникают через биологические мембраны очень быстро. Это наводит на мысль о существовании в них особых транспортных систем или миниатюрных пор, через которые вещество может беспрепятственно преодолевать мембранный барьер. Такие ионы, как Mg^{2+} и K^+ переносились мембраной против своего концентрационного градиента, то есть мембрана работала как насос, накачивая или выталкивая из нее тот или иной ион. Унитарная модель не предусматривала существования заряженных пор, ни тем более белков, пронизывающих мембрану насквозь и выполняющих функцию переносчика, или "насоса".

На сегодняшний день наиболее широкое распространение получили

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ

чили жидкомозаичная модель биологической мембраны, предложенная С.Синджером и Г.Никольсоном, и модель белкового кристалла, постулированная Г.Вандеркой и Д.Грином. Обе модели базируются на двух основных структурных предположениях, предусматривающих термодинамически выгодную максимализацию гидрофильных и гидрофобных взаимодействий.

В зависимости от того какая посылка взята за основу, можно приблизительно предсказать свойства биологической мембраны. Если ее матрикс образован связанными друг с другом белковыми глобулами, следует ожидать проявления в структуре определенной периодичности, которая свойственна кристаллам, а значит, мембрана должна быть жесткой и упругой. Наоборот, в случае липидной природы мембранного матрикса не следует ожидать признаков планарной периодичности, поскольку белки ничем не удерживаются в фиксированном состоянии. Из-за текучести липидной фазы распределение их должно быть не упорядоченным, а статистическим, случайным. Липидные и белковые компоненты должны обладать определенной подвижностью в плоскости мембраны в зависимости от вязкости липидного бислоя.

Рассмотрим "липидную" жидкомозаичную модель. При этой модели основу биологической мембраны составляет жидкий липидный непрерывный бислой, а связанные с ним белки образуют на поверхности мембраны причудливый узор - мозаику. Одни белки комплексуются с его поверхностью, а другие глубоко погружены. Некоторые белки пронизывают мембрану насквозь, образуя как бы канал связи между наружной и внутренней ее сторонами. По определению авторов жидкомозаичной модели, биологическая мембрана является двумерным раствором глобулярных глубокопогруженных белков, диспергированных в жидком липидном матриксе. Экспериментальные данные свидетельствуют о значительной подвижности липидных и белковых молекул в плоскости мембраны. Однако не все белки в одной и той же мембране относятся к свободноплавающим. Например, гликопротеиды мембран эритроцитов, обладающие рецепторными свойствами, фиксируются в определенном положении благодаря прочной связи с жесткой белковой решеткой с внутренней, цитоплазматической стороны. Более того, в некоторых типах мембран - синаптических участках, области межклеточных контактов под электронным микроскопом удается наблюдать целые зоны, построенные из правильно расположенных гексаго-

нальных структур белковой природы. Высокая регулярность организации белка характерна и для мембран ряда прокариотов, к примеру, галобактерий. Следовательно, наряду с жидким липидным бислоем может существовать вторая матрикс - упругий белковый цитоскелет. Эти идеи легли в основу модели "белкового кристалла".

Что же такое "белковый кристалл"? Это образование из двух слоев белковых молекул, тесно примыкающих друг к другу, которые ведут себя как липидные молекулы, причём их неполярные хвосты взаимодействуют в бислой. "Белковый кристалл" стабилизируется белок - белковыми контактами, осуществляемыми гидрофобными участками глобул. Возникает нечто похожее на решетку с ячейками, заполненными жидкими липидами. Другой вариант конструкции мембраны по типу "белкового кристалла" - решетка из одного слоя белковых глобул, пронизывающих мембрану насквозь.

Анализ разнообразного фактического материала показывает, что жидкомозаичной структуре более соответствуют биологические мембраны с высоким отношением липид: белок. К ним относятся мембраны саркоплазматического ретикула митохондриома печени, кишечной палочки. А мембраны с высоким содержанием белка, как, например, у электрического органа морских рыб или у пурпурных галобактерий, более удовлетворяют модели "белкового кристалла".

В последние годы появились сообщения о том, что в состав биологических мембран входят рибонуклеиновые кислоты (РНК).

Выдвинута гипотеза, согласно которой РНК в липопротеидных комплексах мембраны играет роль структурной основы, матрицы, на которой собирается в определенном порядке белки.

Этот порядок детерминируется нуклеотидными последовательностями РНК, которые "узняют" тот или иной белок.

3. ИОННЫЕ ПОРЫ

Хорошая проницаемость мембран большинства клеток для воды и многих водорастворимых веществ позволяет предположить существование в мембранах особых отверстий - пор, заполненных водой. Диаметр пор определяется косвенным путем по размеру водорастворимых молекул, которые еще способны проникать через мембрану. Для эритроцитов разных животных диаметры пор составляют 0,4-0,7 нм, и занимают от 0,01 до 0,1 % всей площади поверхности мембраны.

Поры построены не всегда одинаково и не обязательно занимают одно и то же место; часто они достаточно малы, чтобы представлять собой пространство между липидными молекулами, составляющими

жидкокристаллическую систему. Все это согласуется с высокой проницаемостью липидных слоев для воды, но не позволяет объяснить разницу в скорости движения через мембрану эритроцита сравнительно мало гидратированных ионов K^+ и Cl^- . По-видимому, мембрана должна отличать ионы по заряду. Предполагались и другие объяснения, в которых использовались представления о выстланных белком порах и т.д.

Субстраты, для которых характерны облегченная диффузия, как правило, растворимы в воде и поэтому до проникновения сквозь мембрану их молекулы будут связаны (вероятно, посредством водородных связей) с молекулами воды. Свойство мембраны способствовать диффузии определяется наличием гидрофильных участков, или участков, способных к образованию водородных связей, во всей толще мембраны (ионные поры); наконец, проходящие через мембрану молекулы могут в этот момент каким-то образом модифицировать и стать растворимыми в липидах, маскируя свои гидрофильные свойства. Наибольшее распространение получила гипотеза пор, представляющих собой выстланные белком каналы, пронизывающие липидный барьер. Предполагается, что ионные группы внутри канала способны тонко "газировать" молекулы субстрата, например, молекулы сахаров с разным знаком удельного вращения.

4. СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ МЕМБРАНЫ: ЛИПИДЫ, ПРОТЕИНЫ, УГЛЕВОДЫ, НЕОРГАНИЧЕСКИЕ СОЛИ, ВОДА

Плазматическая мембрана состоит главным образом из липидов, протеинов, углеводов, неорганических солей и воды.

Л и п и д ы. Мембранные липиды - низкомолекулярные вещества близкие по своим свойствам к жирам. Характерная особенность любой липидной молекулы состоит в том, что она построена из двух частей: несудей электрические заряды (полярной) "головки", на которую обычно приходится не более четверти длины всей молекулы, и длинных "хвостов", на несудей электрического заряда. Хвосты липидной молекулы - длинные цепи, построенные из атомов углерода и водорода. Головки могут иметь самое разнообразное устройство, но для липидов мембран наиболее характерны производные сахаров и фосфорной кислоты. В соответствии с этим различают глико- и фосфолипиды.

Полярные головки всех липидных молекул либо заряжены отрицательно, либо нейтральны, то есть, несут одновременно и отрицательные, и положительные заряды. Положительно заряженные головки не встречаются. Это чрезвычайно важно, так как суммарный заряд мембран решающим образом влияет на многие стороны поведения клеток.

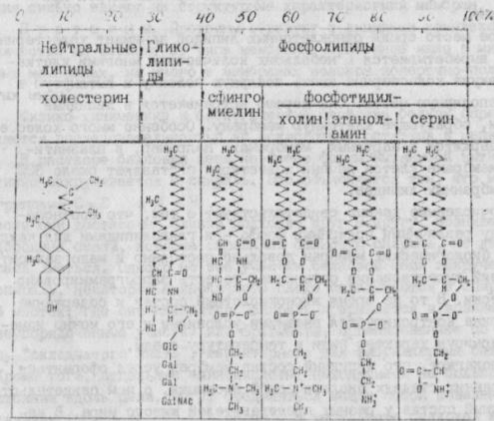


Рис. 2. Структура и состав липидов и фосфолипидов в мембране эритроцита человека

В липидных молекулах связывающим звеном между хвостом и головкой чаще всего служит остаток глицерина, представители другой, более малочисленной группы, построены на основе аминокислота сфинголина (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что липиды имеют по два неполярных хвоста. Это не случайность, а характерная особенность большинства липидных молекул, входящих в состав мембран. Одноцепочечные липиды обычно не синтезируются клеткой в значительном количестве.

так как они, подобно детергентам, разрушают мембраны. Примером может служить одноцепочечный липид - лизолецитин, который образуется из "двухостых" фосфолипидов (лецитина) под влиянием змеиного яда. В присутствии лизолецитина происходит распад клеточных мембран, что является одной из причин смерти при укусе змеи.

Особое место среди одноклеточных липидов занимает холестерин, который вырабатывается в небольших количествах многими клетками. Молекула холестерина имеет полярную головку и вытянутую в длину неполярную часть. Она хорошо встраивается в липидные ансамбли, образующие клеточную мембрану. Особенно много холестерина содержится в наружных мембранах. Например, в плазматической мембране клеток печени холестерин составляет около 30% всех мембранных липидов.

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что соотношение между различными полярными фосфо- и гликолипидами для каждого типа биологических мембран довольно постоянно и мало зависит от условий существования организма, то есть запрограммировано генетически. В то же время жирнокислотный состав и содержание холестерина контролируется внешними условиями и его можно изменить, варьируя характер пищи и температуру среды.

Предполагают, что липидный состав мембран успел сформироваться уже на ранних стадиях биологической эволюции, о чем свидетельствует липидный состав у разных представителей живого мира. В качестве основной эволюционной тенденции развития мембран называют увеличение доли количественно содержащих липидов (фосфатидилхолин и сфингомиелин) при уменьшении доли липидов, несущих аминогруппы. Достоинством количественно содержащих липидов является и способность формировать устойчивые бимолекулярные слои весьма широком интервале концентраций водородных ионов и температур.

Главным липидным компонентом плазматической мембраны являются фосфолипиды (50-55%), из которых на долю лецитина приходится 15-22%. На каждую молекулу белка приходится до 75-90 молекул липидов.

Форма в пространстве липидных молекул различна и изменяется со временем. Даже минимальное изменение этих форм может повлечь модификации в группировке молекул, и, очевидно, структурной

организации мембран, а следовательно и в их функционировании.

Расположение гидрофобных и гидрофильных групп зависит от формы молекул. Это положение определяет вид группировки молекул в мембранах, наверное, влияя на их функционирование.

Различные мембраны содержат разные фосфолипиды. Эти отличия сильно влияют на структурные характеристики мембран.

Протеины. Протеины образуют с липидами комплексы. Количество их зависит от типа мембраны. Протеинов мало в митохондриальных мембранах, но много в мембранах волокон поперечно-полосатых мышц.

Физико-химические и биологические свойства белков определяются последовательностью аминокислотных остатков в цепи.

В растворе белковая цепь не имеет формы вытянутой нити, а частично закручивается в спираль. Это объясняется тем, что между группами $C=O$ и $H-N$, если они достаточно близко подходят друг к другу, возникает водородные связи, которые скрепляют белковую спираль, не давая ей распуститься. Однако не все участки белковой цепи закручены в спираль, некоторые аминокислоты плохо складываются в спираль. В местах, где они находятся, спираль прерывается и возникают неупорядоченные участки или фрагменты, организованные по принципу "складчатого листа", характерного для фибриллярных белков. Кроме того, отдельные аминокислоты, находящиеся на большом расстоянии вдоль цепи, могут соединяться между собой ковалентными связями ($S-S$ - связи). В результате белковая молекула свертывается в объемную структуру - глобулу.

Когда белок входит в состав мембран, то на участках, окруженных липидами, обычно преобладает одна из них - так называемая α -спираль. Значительно реже встречается β -спираль, которая, однако, придает важное биологическое значение. Дело в том, что на участках, окруженных липидами, α -спираль представляет собой полый цилиндр, в наружной стенке которого сосредоточены неполярные (гидрофобные) аминокислотные остатки, а во внутренней - гидрофильные. Такой цилиндр мог бы образовать в мембране канал, через который свободно проходят ионы и водорастворимые вещества.

Сложная молекулярная структура протеинов мембран зависит от их соединения с липидами. Липиды мембран обеспечивают преимуще-

мость и пластичность, а генетический контроль структуры и биохимическое регулирование работы мембраны зависят в основном от протеинов. Объединившись со структурными фосфолипидами, некоторые протеины с вытянутыми молекулами типа α образуют "барьер проницаемости", то есть основное свойство клеточных мембран. Другие протеины в силу своих молекулярных конфигураций составляют активные каталитические области, управляющие физиологической работой некоторых мембранных ферментов.

Углеводы. Сахара входят в состав мембран не в свободном состоянии, а связаны с молекулами липидов или белков - гликолипиды и гликопротеиды. Основная масса гликолипидов и гликопротеидов входит в состав плазматических мембран таким образом, что их углеводородные остатки образуют некое надутое покрытие клеточной поверхности (так называемый гликокаликс). В связи с этим углеводные компоненты мембраны в значительной степени определяют такие явления, как взаимодействие между отдельными клетками, способность клеток агрегироваться, принимать химические сигналы и т.д.

В состав клеточных мембран входят следующие моносахара: глюкоза, галактоза, манноза, фукоза, арабиноза, ксилоза, N -ацетилглюкозамин, N -ацетилгалактозамин, N -ацетилнейтраминовал (сиаловая) кислота. Эти девять простых сахаров могут соединиться друг с другом, образуя цепи полисахаридов различной длины (но не более 20 моносахаридных остатков). При соединении простых сахаров возможно огромное число комбинаций, намного превосходящее таковое при превращении аминокислот в полипептиды. Дело в том, что каждый из моносахаридных остатков имеет по крайней мере пять точек, пригодных для присоединения других остатков, тогда как у каждой аминокислоты таких точек только две. Поэтому даже для короткой цепочки и глюкозы и галактозы насчитывается 36 (6х6) возможных структур. Если же, например, три моносахарида образуют полисахаридную цепочку из 13 остатков, то число возможных комбинаций составляет 10^{24} .

Поскольку каждая химическая структура несет определенную информацию, ясно, что даже сравнительно короткие полисахаридные цепи гликолипидов и гликопротеинов обладают огромным информационным потенциалом.

Важное структурное отличие гликолипидов от гликопротеинов заключается в том, что каждая молекула гликолипида имеет лишь одну углеводородную цепь, тогда как у гликопротеинов таких цепей может быть несколько. Эти цепи могут быть различной длины, однако имеется одно важное ограничение: каждая молекула гликопротеина всегда содержит цепочки одного типа, то есть с одинаковой моносахаридной последовательностью, хотя часть цепей может быть недоразвита. Для того чтобы понять причину этого ограничения, следует обратить внимание на одно принципиальное отличие в биосинтезе полипептидов и полисахаридов. Полипептиды синтезируются в рибосомах, согласно информации, заложенной в молекулах м-РНК. Полисахаридные цепи создаются аппаратом Гольджи без подобного источника информации с участием особых ферментов - гликозилтрансфераз, которые действуют в высшей степени избирательно как в отношении углеводов, который прикрепляется к цепочке, так и в отношении выбора той акцепторной молекулы, с которой этот углевод связывается.

Значение гликопротеинов и гликолипидов велико и многообразно. Они служат рецепторами гормонов, медиаторов, вирусов, токсинов и множества других физиологически активных веществ. Некоторые гликопротеины сами являются гормонами и ферментами.

Гликопротеины, расположенные в поверхности клеток, отвечают за такие важные процессы, как взаимное распознавание клеток и развитие иммунитета. С их помощью клетки многоклеточного организма отличают своих от чужих и устанавливают межклеточные контакты. Они, по-видимому, служат также материалом, склеивающим клетки одного типа между собой. Гликопротеины и гликолипиды, находящиеся на поверхности эритроцитов, определяют группу крови людей. Предполагают также, что от структуры гликопротеинов зависит подвижность клеточной поверхности и многие другие ее свойства.

Неорганические соли. Большая часть клеточных мембран заключает в себе минеральные вещества. Следует различать две категории неорганических элементов.

Некоторые ионы прочно связаны со структурными липидами или протеиновыми молекулами. Они являются обязательной составной частью строения мембраны. Другие ионы подвижны, проходят сквозь мембрану, вмешиваясь в процессы внутри структуры. Эти ионы не принадлежат к мембранам, а относятся ко всей клетке.

Среди неорганических ионов, не связанных со структурами, особенно выделяет кальций.

Вода составляет 30% от сухого веса мембраны. В клетках существуют отчетливые типы "богатых водой" участков. Есть участки с текучей водой и есть участки, где вода прикреплена к макромолекулярным структурам и стала неподвижной.

Последний вариант имеет место в мембранах. Некоторые молекулы воды связаны со структурными липо-протеиновыми молекулами. Исследования показывают, что эта вода кристаллическая и неподвижная, которую нельзя удалить высушиванием. Ее количество так и ее изменения мало изучены.

Цитомембраны построены из гидрофобных липидных субстанций, с минимумом свободной воды. Электроны пробегает в этих мембранах благодаря функционированию окислительно-восстановительных цепочек. В мембране молекулы воды связаны с протеинами неясным образом.

Фиксированные молекулы воды могут быть представлены двумя кристаллическими формами: гексагональная вода или лед и пентагональная или клатрат. Эти кристаллические формы могут переходить одна в другую, а также снова превращаться в текучую воду.

5. ЛИПИД - ЛИПИДНЫЕ И БЕЛОК-ЛИПИДНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В МЕМБРАНАХ

В биологических системах молекулы липидов почти всегда образуют смешанные липидные фазы. Часто они связываются с молекулами других типов, например с белками; кроме того, в системе всегда имеется вода, которая оказывает сильное влияние на характер и на степень взаимодействия липида с белком или с другими липидами. В водной среде фосфолипиды легко образуют агрегаты, в которых углеводородные цепи изолированы от водной фазы. Это явление объяснено тем, что углеводородные цепи взаимодействуют с водой сравнительно слабо, тогда как между молекулами самой воды и между отдельными углеводородными цепями имеет место довольно сильное взаимодействие. Разделение углеводородного и водного компонентов осуществляется либо путем образования непрерывного бимолекулярного слоя липидов, у которых в воде находятся только ионные группы, либо путем образования сферических или цилиндрических агрегатов, ионные группы которых направлены в сторону водной фазы, возможно два типа

16

распределения:

1) ламеллярный, 2) гексагональный

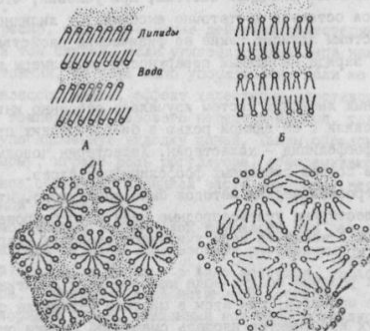


Рис.3. Структура липидных агрегатов в воде. А - гелеобразная; Б - ламеллярная; В - цилиндры липидов в воде; Г - цилиндры в липидной фазе.

Главным фактором, управляющим образованием водно-липидных систем, являются гидрофобные взаимодействия. У фосфолипидов, несущих как положительные, так и отрицательные заряды на различных участках полярных "головок", дополнительным фактором, ориентирующим молекулы в водной среде, является электростатическое взаимодействие. Из всех природных липидов только фосфолипиды могут образовывать протяженные бислоиные структуры, у которых полярные "головки" выступают в воду, а углеводородные "хвосты" погружены в глубь структуры. Роль ван-дер-ваальсовых сил в структурировании липидов в воде сравнительно невелика; вероятно, они обеспечивают наиболее плотную упаковку углеводородных це-

17

д-я р-р-и
БІБЛІОТЕКА

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ

пей липидов без промежутков или пустот между ними.

В водных дисперсных системах в состав протяженных липидных слоев и даже сферических агрегатов могут входить различные липиды, образующие смешанные липидные системы, при условии, что доля ионных липидов остается достаточно высокой. Ст липидного состава данной системы зависят такие ее физические свойства, как распределение заряда на ионных поверхностях и размеры агрегатов.

Одна из смешанных липидных систем изучалась особенно интенсивно — вероятно, в связи с ее важной ролью в биологических структурах, это система фосфолипид — холестерин. Холестерин довольно легко включается в состав смешанных фосфолипидных слоев.

С помощью спектроскопических методов было обнаружено, что при добавлении холестерина углеводородные цепи диспергированных в воде фосфолипидов в какой-то мере учитывают свойства, характерные для жидких систем.

На поверхностях раздела воздух-вода холестерин и лецитин образуют смешанные монослои, при этом в широком интервале соотношений этих двух компонентов площадь смешанной пленки оказывается меньше суммы минимальных площадей, занимаемых при той же степени сжатия каждым компонентом в отдельности.

Это явление получило название конденсации. По мере повышения содержания холестерина площадь, занимаемая фосфолипидами в монослое, сокращается все больше и больше до тех пор, пока содержание холестерина не составит одну молекулу на две молекулы фосфолипида. При дальнейшем возрастании содержания холестерина площадь начинает увеличиваться. Чем объясняется уплотняющее действие холестерина? В обычном монослое углеводородные цепи фосфолипидов располагаются не перпендикулярно к плоскости монослоя, а под некоторым углом. В присутствии холестерина наклон цепей становится меньше. Так, угол между неполярными цепями молекул лецитина и воображаемым перпендикуляром к плоскости монослоя, составляющий в среднем 24° , уменьшается до 10° . Поэтому каждая молекула лецитина занимает в присутствии холестерина меньшую площадь, в результате чего происходит уплотнение всего монослоя. Предполагают, что гидроксильная группа холестерина взаимодействует с полярной головкой соседнего с ней фосфолипида, а кольцевая система — с глицериновым остатком и с той частью углеводо-

родных цепей фосфолипида, которая непосредственно к нему примыкает. Так как кольцевая система холестерина жестка, при таком взаимодействии резко уменьшается подвижность начальных участков углеводородных цепей, тогда как их концы сохраняют относительную свободу.

Интересно, что уплотняющее действие холестерина проявляется только в том случае, если углеводородные цепи находятся в жидком состоянии, то есть мало упорядочены. Если же состояние цепей целесообразное, эффект холестерина противоположен: он снижает температуру фазового перехода бислоя, так как нарушает строго упорядоченную укладку цепей. Таким образом, холестерин, по-видимому, играет роль регулятора, обеспечивающего надлежащее агрегатное состояние липидной части мембраны, необходимое для ее нормальной работы.

Взаимодействие липид-белок изучалось при различных условиях. В большинстве случаев использовали растворимый в воде (ионизированный) белок, а липид — в виде монослоя, бислоя, дисперсных агрегатов, а иногда в виде истинного раствора.

Растворимый белок, введенный под слой фосфолипида, распределенного на поверхности воды, изменяет поверхностное давление монослоя, это означает, что некоторые боковые цепи белка взаимодействуют с монослоем и частично проникают в него. Был сделан вывод, что белок образует монослой, прилегающий к полярной поверхности фосфолипидов.

Взаимодействие между белками и липидами, осуществляется путем образования ковалентных связей за счет электростатического, полярного и гидрофобного взаимодействия. Три последних фактора могут оказаться весьма существенными при формировании термодинамически наиболее выгодной белково-липидной структуры, то есть структуры с минимальной свободной энергией. Водородные связи, несомненно имеющие большое значение для поддержания третичной структуры белка, при образовании комплексов между белками и липидами не играют такой большой роли, поскольку свободная энергия водородных связей не изменяется при переходе от водного окружения к липидному.

На молекулярном уровне это означает, что гидрофильные (полярные) группы должны контактировать друг с другом и с водой, в то время как гидрофобные (неполярные) должны избегать взаимодействия

с полярными группами и с водной средой и контактировать только друг с другом. Все эти условия выполняются в простом липидном бислое, к обеим сторонам которого прилипают молекулы белка.

Специфические взаимодействия между белками и липидами определяют основные особенности структуры и свойств мембраны. Нековалентные взаимодействия способствуют тому, что гидрофобные хвосты липидных молекул легко взаимодействуют с неполярными боковыми цепями аминокислот, а полярные головки — с полярными частями белковой молекулы.

Влияют ли мембранные белки на прилегающую липидную фазу? Белки мембраны вызывают специфические притяжения определенных липидных комплексов, увеличение подвижности или иммобилизации соседних липидов, а также изменение глобальных свойств мембраны (таких, как толщина бислоя, его кривизна и проницаемость). Экспериментальные данные указывают на то, что поведение липидов, контактирующих с белками, отличается от поведения всех остальных липидов. Пограничные липидные молекулы, вероятно, полностью аналогичны тем молекулам воды, которые тесно связаны с растворимыми белками.

Влияют ли липиды на свойства мембранных белков? Например, будет ли мембранный белок функционировать в любом бислое или для его работы необходим особый липидный состав?

Совершенно очевидно, что функционирование некоторых ферментов связано с текучестью мембран. Это особенно легко понять в случае реакций, для протекания которых субстраты или ферменты должны диффундировать в мембране по направлению друг к другу.

6. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ

Белки, входящие в состав мембран, составляют 70–75% е. веса и разделяются на структурные белки, не обладающие ферментативной активностью, и каталитические белки, которые обладают ферментативной активностью.

Способность структурного белка к построению мембран очевидно, обусловлена тремя его свойствами:

- 1) способностью давать комплексы с липидами;
- 2) способностью стехиометрически взаимодействовать с другими белками;

3) способностью к агрегации.

Какие именно белки содержатся в той или иной мембране, можно установить разными способами. Один из них состоит в изучении разных видов ферментативной активности мембран. Можно также идентифицировать белки по их молекулярному весу, пользуясь методом электрофореза в геле. Белки состоят из аминокислот, соединенных в длинные цепи, — так называемые полипептиды. У некоторых белков молекула построена из одной полипептидной цепи, у других имеется несколько таких цепей, тесно прилегающих друг к другу. Для электрофореза в геле белок сначала разделяют на составляющие его полипептидные цепи, воздействуя на него детергентом — додецилсульфатом натрия. Электрофорез в геле указывает на присутствие полипептидов с молекулярными весами от 12500 до 255 000.

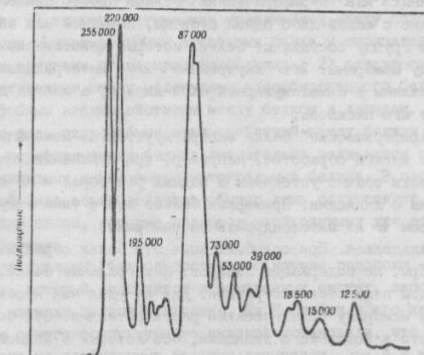


Рис. 4. Белковый состав мембраны эритроцитов. Два белка с наибольшими молекулярными весами (слева) образуют димер, называемый спектрным

Два самых тяжелых полипептидных компонента с молекулярными весами 250 000 и 220 000 образуют фракцию, называемую спектрином (от латинского *spectrum* - призрак). В мембране эритроцита спектрин составляет около трети всего белка. Еще одна треть белка - это белок с молекулярным весом 90 000 и 87 000, число молекул которого равно числу молекул спектрина. Оставшуюся треть составляют белки с весами меньше 70 000. Возможно, что высокое содержание белков с большим молекулярным весом не общее правило, а своеобразная особенность мембран эритроцита. Например, в митохондриальной мембране почти все полипептиды имеют вес менее 70 000.

Белки мембран можно разделить на две группы по их отношению относительно липидной основы. К одной группе относятся белки, связанные только с поверхностью мембраны. Молекулы этих "наружных" или "периферических" белков просто прилегают к мембране с какой-либо одной стороны, наружной или внутренней. Вторую группу составляют белки, которые действительно погружены в толщу мембраны. Эти "внутренние" или "интегральные" белки как бы вдавлены в бимолекулярный слой липида, а иногда даже пронизывают его насквозь.

"Периферические" белки экстрагируются из мембраны при сравнительно мягкой обработке, например, при повышении ионной силы. Эти белки обычно устойчивы в водных растворах и не очень прочно связаны с липидами. Примерами белков этого типа могут служить цитохром *C* из митохондриальной мембраны, α - лактаальбумин, альдолаза. При сольubilизации эти белки образуют истинные растворы, не содержащие липидов. Интегральные белки, напротив, с трудом поддаются экстракции. Для их удаления необходимо обработать мембрану органическими растворителями. Эти белки выделяются часто в комплексе с липидами, без которых в водной среде они обычно либо слипаются, либо выпадают в осадок. Интегральные белки обычно сильно гетерогенны по размеру, и во многих мембранах они составляют более 70% общего количества белка. К числу таких белков относятся: цитохром c_1 ; рецепторы гормонов, родопсин.

Белки двух указанных групп должны различаться по аминокислотному составу, то есть по распределению гидрофобных аминокислотных остатков. Зная аминокислотный состав белка, можно с уверенностью сказать, является ли он "интегральным" мембранным белком.

Периферические белки связаны с фосфолипидами в основном электростатическими силами, а интегральные - гидрофобными.

Рассмотрим влияние периферических белков, адсорбированных на фосфолипидной мембране, на структуру и свойства последней. При изучении действия белков на ионную проницаемость мембраны была установлена способность многих белков (лизина, цитохрома *C* и т.д.) увеличивать значение этого параметра. Кроме того, эти белки при адсорбции на отрицательно заряженном фосфолипидном монослое увеличивали его поверхностное давление. Предполагают, что вследствие частичного проникновения белков в толщу фосфолипидной мембраны возникает некоторая разупорядоченность строения, которая способствует более высокой проницаемости ионов.

Адсорбция периферических белков на отрицательно заряженном фосфолипидном слое контролируется, по крайней мере, тремя факторами: 1) электростатическим притяжением между положительно заряженными аминокислотными остатками белка и отрицательно заряженными группами в молекуле фосфолипида; 2) электростатическим сжатием между молекулами адсорбированного белка; 3) гидрофобным взаимодействием между белком и липидом.

Однако роль гидрофобных взаимодействий между белком и липидом в случае периферических белков значительно отличается от таковых в белок-липидных компонентах интегральных белков. В первом случае гидрофобное взаимодействие обычно лишь сопутствует электростатическим силам, которые являются необходимыми для этого взаимодействия.

Из "интегральных" белков достаточно изучен родопсин - единственный белок, который содержится в мембранных дисках, заполняющих нитчатые членики палочек сетчатки. Дж.К.Блэйзи и его коллеги с помощью рентгеноструктурного анализа установили, что родопсин состоит из глобулярных молекул диаметром $\sim 4,2$ нм. Когда палочки находятся в темноте, молекулы родопсина погружены в мембрану диска с ее наружной стороны \sim на 1/3 своего диаметра. При освещении палочек они вдавливаются в мембрану глубже, уходя в нее примерно наполовину; однако они и в этом случае не доходят до середины двойного слоя липида.

Если "периферические" и цитоплазматические белки в основном окружены водой, то интегральные находятся в совершенно иной

среде. С водой соприкасается только часть молекулы, другая часть ее фактически погружена в масло. Для того чтобы сохранять в этой двойственной среде стабильность, белок должен быть таким же амфипатическим, как и молекулы липида. На поверхности, обращенной к воде, должны преобладать гидрофильные аминокислоты, к которым относятся: лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, серин и треонин. Часть молекулы, погруженная в слой липида, должна иметь на своей поверхности и главным образом гидрофобные аминокислоты.

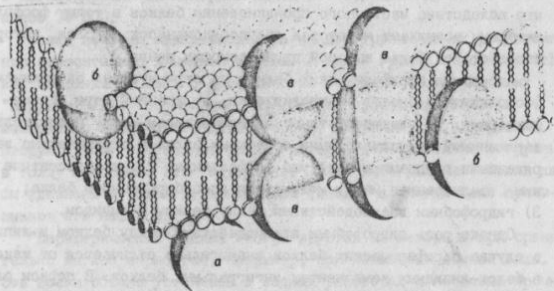


Рис.5. Расположение мембранных белков, а - поверхностные (периферические) белки, б, в - внутренние (интегральные)

Чем глубже белковая молекула погружена в двойной липидный слой, тем меньше ее обращенная к воде поверхность, где могли бы разместиться гидрофильные аминокислоты. Многие интегральные белки содержат сравнительно мало гидрофильных аминокислот и носят преимущественно гидрофобный характер. Так, например, интегральный белок из внутренних мембран митохондрий с м.в. 10000 - содержит 20% гидрофильных и 80% гидрофобных аминокислот. В этом отношении он резко отличается от белков цитоплазмы и периферических мембранных белков, содержащих в среднем 47% гидрофильных и 53% гидрофобных аминокислот.

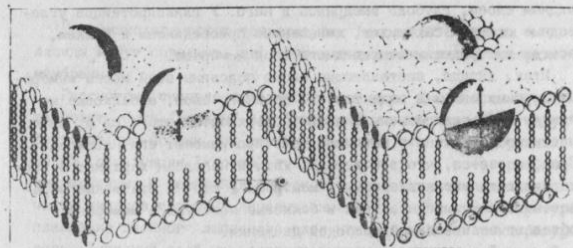


Рис.5. Степень погружения белковых молекул в слой липида может изменяться. В темноте эти молекулы погружены в липид на 1/3 своего диаметра (слева), а при освещении - наполовину (справа)

Интегральные белки родопсин и цитохромоксидаза также гидрофобны: 1) 36% гидрофильные и 64% гидрофобные аминокислоты 2) 37% и 63%

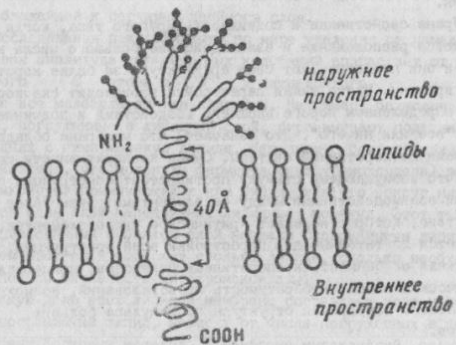


Рис.7. Структура гликофорина - основного интегрального белка мембраны эритроцитов

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ

Гликопротеиды также сильно взаимодействуют с двойным липидным слоем, глубоко внедряясь в него. У гликопротеидов углеводные остатки сахаридов, ковалентно присоединены к белкам, всегда выступающим из липидного слоя мембраны.

Итак, липиды, составляющие около половины всей массы мембраны, организованы в виде тонкого двойного слоя, а белковые молекулы либо прикреплены к обеим поверхностям этого слоя, либо частично погружены в него или даже пронизывают его насквозь. Предполагается, что это верная, хотя и неполная картина. В последние годы установлено, что мембраны — это не статичные образования. Как липидные, так и белковые молекулы в мембранах обладают значительной свободой движения.

7 ДИНАМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МЕМБРАН (ПОДВИЖНОСТЬ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В МЕМБРАНЕ)

Исследования структуры биологических мембран методами ЭПР, ЯМР и другими показали, что эти структуры не статические, а динамические.

Отдельные компоненты мембраны — белковые и липидные молекулы — наделены способностью сложным образом перемещаться вдоль и поперек нее, испытывая колебательные, вращательные и поступательные движения.

Мембране свойственна и подвижность другого типа, когда резко меняются расположение и взаимодействие большого числа компонентов и они перестраивают свою архитектуру за более короткий период времени. Часто такая перестройка происходит скачкообразно при определенном пороге внешнего воздействия и подчиняется закону "все или ничего". Это означает, что мембрана обладает свойствами кооперативной системы. Смысл кооперативности состоит в том, что возмущающему стимулу противостоит конструкция с сильными взаимодействиями между ее элементами. Лишь такое воздействие, которое искажает критическое число элементов, оказывается достаточным для перестройки всей конструкции. Замечательная особенность кооперативных переходов, придавая им биологический смысл, — обратимость преобразования, возможность многократного повторения структурного импульса больших масштабов.

При физиологических температурах (около 37°C) белки и липиды могут совершать диффузионные движения вдоль поверхности мембраны.

Рассмотрим сначала подвижность липидов. Двойной слой липидов может быть "жидким" или "твердым", и это зависит от двух факторов: во-первых, от степени насыщенности углеводородных цепей, образующих "хвосты" липидных молекул и, во-вторых, от температуры. В мембранах клеток млекопитающих значительная часть липидов содержит ненасыщенные цепи, поэтому температура плавления двойного липидного слоя ниже нормальной температуры тела. Липидный слой находится в жидком состоянии и "хвосты" липидных молекул (углеводородные цепи жирных кислот) могут свободно двигаться. Важность "жидкого" состояния мембранных липидов для различных процессов становится очевидной при сопоставлении температурной зависимости транспортных процессов с липидным составом мембраны.

В липидном слое существует градиент гибкости. Наименее гибким в молекулах липида оказался тот участок "хвоста", который ближе всего к "головке" и, следовательно, поверхности мембраны. Наибольшая гибкость свойственна кончикам хвостов, то есть зоне, ближайшей к середине двойного слоя.

Исследования показали, что по мере удаления от начала цепи угловая амплитуда сегментарных колебаний возрастает от 2° у второго C-атома до 70° — у пятнадцатого.

Не все молекулы липида подвижны. Например, белковые молекулы, погруженные в липидный слой, ограничивают подвижность соседних с ними молекул липида. Капальди с сотрудниками было установлено, что молекулы фермента (цитохромоксидазы) эффективно фиксируют примыкающий к ним липид, так что вокруг них образуется один слой неподвижных липидных молекул. Этот тесно ассоциированный с белком слой назвали "пограничным липидом", причем этот слой содержит столько липидов, сколько необходимо для полной активности цитохромоксидазы.

Какую долю всех липидов мембраны составляет этот неподвижный пограничный липид, зависит от числа погруженных в данную мембрану белковых молекул. В мембране митохондрий, содержащей много таких молекул, доля связанного ими липида может, вероятно, достигать 30%.

Гликопротеиды также сильно взаимодействуют с двойным липидным слоем, глубоко внедряясь в него. У гликопротеидов углеводные остатки сахаридов, ковалентно присоединены к белкам, всегда выступающим из липидного слоя мембраны.

Итак, липиды, составляющие около половины всей массы мембраны, организованы в виде тонкого двойного слоя, а белковые молекулы либо прикреплены к обеим поверхностям этого слоя, либо частично погружены в него или даже пронизывают его насквозь. Предполагается, что это верная, хотя и неполная картина. В последние годы установлено, что мембраны — это не статические образования. Как липидные, так и белковые молекулы в мембранах обладают значительной свободой движения.

7 ДИНАМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МЕМБРАН (ПОДВИЖНОСТЬ ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ В МЕМБРАНЕ)

Исследования структуры биологических мембран методами ЭПР, ЯМР и другими показали, что эти структуры не статические, а динамические.

Отдельные компоненты мембраны — белковые и липидные молекулы — наделены способностью сложным образом перемещаться вдоль и поперек нее, испытывая колебательные, вращательные и поступательные движения.

Мембране свойственна и подвижность другого типа, когда резко меняются расположение и взаимодействие большого числа компонентов и они перестраивают свою архитектуру за более короткий период времени. Часто такая перестройка происходит скачкообразно при определенном пороге внешнего воздействия и подчиняется закону "все или ничего". Это означает, что мембрана обладает свойствами кооперативной системы. Смысл кооперативности состоит в том, что возмущающему стимулу противостоит конструкция с сильными взаимодействиями между ее элементами. Лишь такое воздействие, которое искаивает критическое число элементов, оказывается достаточным для перестройки всей конструкции. Существенная особенность кооперативных переходов, придавая им биологический смысл, — обратимость преобразования, возможность многократного повторения структурного импульса больших масштабов.

При физиологических температурах (около 37°C) белки и липиды могут совершать диффузионные движения вдоль поверхности мембраны.

Рассмотрим сначала подвижность липидов. Двойной слой липидов может быть "жидким" или "твердым", и это зависит от двух факторов: во-первых, от степени насыщенности углеводородных цепей, образующих "хвосты" липидных молекул и, во-вторых, от температуры. В мембранах клеток млекопитающих значительная часть липидов содержит ненасыщенные цепи, поэтому температура плавления двойного липидного слоя ниже нормальной температуры тела. Липидный слой находится в жидком состоянии и "хвосты" липидных молекул (углеводородные цепи жирных кислот) могут свободно двигаться. Важность "жидкого" состояния мембранных липидов для различных процессов становится очевидной при сопоставлении температурной зависимости транспортных процессов с липидным составом мембраны.

В липидном слое существует градиент гибкости. Наименее гибкими в молекулах липида оказался тот участок "хвоста", который ближе всего к "головке" и, следовательно, поверхности мембраны. Наибольшая гибкость свойственна кончикам хвостов, то есть зоне, ближайшей к середине двойного слоя.

Исследования показали, что по мере удаления от начала цепи угловая амплитуда сегментарных колебаний возрастает от 2° у второго C-атома до 70° — у пятнадцатого.

Не все молекулы липида подвижны. Например, белковые молекулы, погруженные в липидный слой, ограничивают подвижность соседних с ними молекул липида. Капельди с сотрудниками было установлено, что молекулы фермента (цитохромоксидазы) эффективно фиксируют примыкающий к ним липид, так что вокруг них образуется один слой неподвижных липидных молекул. Этот тесно ассоциированный с белком слой назвали "пограничным липидом", причем этот слой содержит столько липида, сколько необходимо для полной активности цитохромоксидазы.

Какую долю всех липидов мембраны составляет этот неподвижный пограничный липид, зависит от числа погруженных в данную мембрану белковых молекул. В мембране митохондрий, содержащей много таких молекул, доля связанного ими липида может, вероятно, достигнуть 30%.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМН

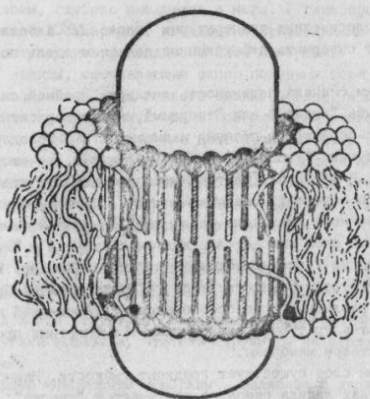


Рис.8. Неподвижные липидные молекулы, окружающие молекулу "внутреннего" белка, образуют вокруг нее однослойную оболочку (показано штриховкой).

Так как значительная часть двойного липидного слоя остается жидкой, мембрана в целом имеет консистенцию жидкого масла. Поэтому неудивительно, что при отсутствии каких-либо особых препятствий липидные молекулы могут свободно диффундировать внутри этой ламинарной структуры. Горизонтальные перемещения более вероятны, чем вертикальные (по отношению к плоскости мембраны): об этом свидетельствует устойчивость ассиметричных конфигураций в мембранах.

Таким образом, липидным молекулам свойственны самые разнообразные движения внутри слоя:

а) сегментарные (в пределах свободного объема, занимаемого жирнокислотной цепью) - изгибы и перегибывания цепи, а также колебания ее вдоль оси, направленной перпендикулярно к плоскости бислоя;

б) вращательные - движения молекулы в целом вокруг оси, перпендикулярной к плоскости бислоя;

в) диффузионные - продольные перемещения липидных молекул в плоскости мембраны;

г) поперечные - перескок молекулы липида с одной половины бислоя на другую (так называемый флип-флоп переход).

Использование методов ЭПР, ЯМР измерения флюоресценции показало, что в липидном слое подвижны не только неполярные цепи. Отдельные липидные молекулы бислоя не закреплены жестко и беспрерывно меняются местами. Перестановка, в ходе которой местами меняются две противостоящие липидные молекулы, получила название "флип-флоп". Перемещение липидных молекул в пределах своего монослоя называют латеральной (или двумерной) диффузией. При латеральной диффузии молекулы липидов меняются местами. Скорость латеральной диффузии липидных молекул достигает 5-10 мкм/с. Это значит, что в жидком липидном слое каждая молекула остается в данном месте в среднем не более чем в течение 10^{-7} с. В то же время полупериод нахождения молекул, совершающих флип-флоп, в пределах одной половины бислоя составляет при 30°C не менее 6 ч. Это означает, что переход в пределах монослоя осуществляется в 10^7 раз быстрее, чем переход из одного монослоя в другой (рис.9).

С помощью ЯМР было показано, что скорость флип-флопа липидов увеличивается в присутствии посторонних молекул, которые сами не склонны к образованию бислоевых структур. Предполагают, что причина этого явления связана с тем, что такие молекулы лучше укладываются совместно с фосфолипидами в агрегаты, напоминающие по своей структуре "обращенные" мицеллы. Появление таких "обращенных" мицеллярных участков рестабилзирует бислой и может привести к флип-флопу (рис.9).

Исследованиями было показано, что скорость флип-флопа возрастает в присутствии некоторых белков, очевидно, поэтому скорость фосфолипидного флип-флопа в некоторых биологических мембранах намного выше, чем в модельных системах, состоящих только из липидов.

Макромолекулы белков, находясь в липидном бислое, тоже не остаются в покое. Они способны вращаться как целое, совершать поступательное движение вдоль плоскости мембраны, всплывать и

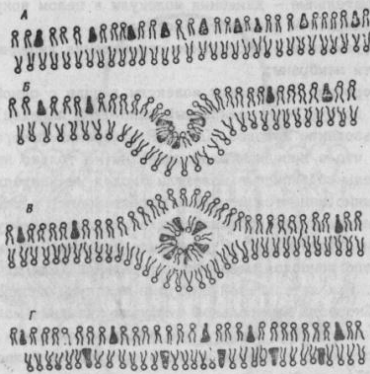


Рис.9. Механизм трансмембранного переноса (флип-флопа) фосфолипидов. А - в один из монослоев мембраны введен фосфолипид, склонный к образованию небилayersких структур (затусованные треугольники); В и В - образование небилayersкой структуры ("обращенной" мицеллы); Г - часть введенного фосфолипида перешла на противоположную сторону билоса.

погружаться, не говоря уже о широком спектре внутримолекулярных перемещений. Так как размеры белковых молекул в сотни раз превышают липидные, подвижность их значительно меньше.

Например, коэффициент диффузии белков мембран матчевых волокон равен $10^{-9} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$, а родопсина в фоторецепторной мембране - $4 \cdot 10^{-9} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$.

Одна молекула родопсина в мембране приходится на 60-90 молекул липидов, из которых 80% содержат ненасыщенную жирную кислоту. Методом вспышечной фотометрии установлено, что молекула белка испытывает быстрое вращение вокруг оси, перпендикулярной к плоскости мембраны. Время такой вращательной диффузии 20 пкс. при 20°С . Изучение взаимодействия родопсина со светом (выцветание) методом микроспектрофотометрии показало, что в мембране происхо-

дит и трансляционная латеральная диффузия родопсина. Средняя длина свободного пробега $\approx 25 \text{ нм}$. Вязкость мембраны на 2 или 3 порядка выше вязкости воды и соответствует вязкости растительного масла.

Латеральная подвижность в составе биологической мембраны была выявлена и у глицопротеидов, несущих антигенные группировки - коэффициент диффузии равен $3 \cdot 10^{-11} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$.

Легко заметить, что подвижность белков в мембране фибробластов и в фоторецепторных мембранах сильно различается. Оказалось, что диффузия белков в значительной мере зависит от того, связаны ли они с другими белками, а также от состояния окружающих их липидов (жидкокристаллическое или кристаллическое). Очевидно, в жидкой липидной фазе подвижности белковых глобул выше. Она увеличивается и при разрушении межбелковых связей. Так, в эритроцитарной мембране практически все интегральные белки закреплены на спектрин, молекулы которого на внутренней стороне мембраны образуют жесткую сеть, и диффузионные движения белковых макромолекул здесь отсутствуют. В других случаях, когда белок встроен в сверхполимерный каркас мембраны, свобода действий резко ограничена или сведена к нулю. Такая ситуация характерна, например, для белков синаптических контактов и бактериородопсина в галобактериях.

Внутримембранная подвижность строго ограничена интересами успешного биологического функционирования. В реальной мембране гармонически сочетаются принципы непрерывности и дискретности. В определенных пределах внутренние ее характеристики могут меняться несплошно и плавно. Мембрана представляет собой типичную кооперативную систему, поэтому ей присущи дискретные, разрешенные типы архитектуры. При достаточно сильном стимуле средние молекулярные координаты каждого из компонентов скачкообразно сместятся, и вся мембрана как целое перейдет в новое структурное состояние с иными динамическими характеристиками.

Итак, согласно современным представлениям, клеточные мембраны являются динамическими мозаичными структурами, содержащими в замкнутом двойном слое липидных молекул ориентированные двумерные растворы белковых молекул, гликопротеиновых, гликолипидов и полисахаридов. Основу мозаичной структуры образует двойной слой липидных молекул с ионными и полярными группами атомов,

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ

лежащими на поверхности мембраны, соприкасаясь с водой.

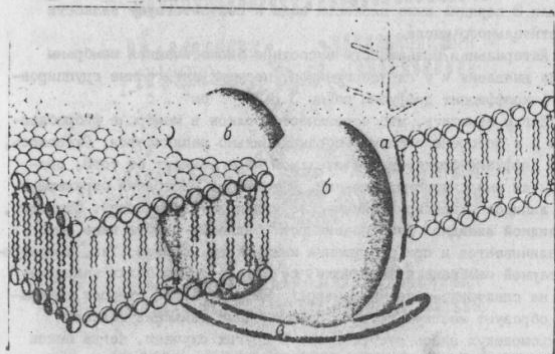


Рис.10. В надмолекулярные агрегаты в мембране эритроцита входят два белка, молекулы которых насквозь пронизывают слой липида. Один из них - гликопротеид (а), другой белок с молекулярным весом 87000 (б). Третий белок - спектрин (в). По-видимому, все три белка соединены таким образом, что в случае перемещения одного из них смещаются и два других.

Строение мембраны ассиметрично. Значительная часть поверхности мембраны свободна от белков. Мембрана имеет неодинаковую толщину - наименьшая толщина - в областях с открытыми головками липидных молекул, наибольшая - в областях выступающих полисахаридных цепей.

Каналы (поры) в мембранах, вероятно, образуются вблизи молекул белков и выстланы полярными группами.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Бергельсон Л.Д. Мембраны, молекулы, клетки. - М.: Наука, 1982. - 182 с.
- Биохимия мембран: Учебное пособие для биологических и медицинских специальностей вузов / Под ред. А.А.Болдырева // Кн. I: Введение в биохимию мембран. - М.: Высшая школа, 1980. - 112 с.
- Волькенштейн М.В. Общая биофизика. - М.: Наука, 1978. - 296 с.
- Давыдов А.С. Биология и квантовая механика. - Киев: Наукова думка, 1979. - 296 с.
- Де Робертис Э., Новинский В., Саэс Ф. Биология клетки. - М.: Мир, 1973. - 487 с.
- Кантор Ч. Шimmel П. Биофизическая химия. - М.: Мир, 1984. Т. I. - 336 с.
- Канальди Р. Динамическая модель клеточных мембран // Молекулы и клетки: Сборник - М.: Мир, 1977. - Вып. 6. - С. 184-198.
- Конов С.В., Аксентев С.Л., Вологовский И.Д. Откровение двухмерного мира. - Мн: Высшая школа, 1981. - 176 с.
- Котык А., Яначек К. Мембранный транспорт. - М.: Мир, 1980. - 341 с.
- Робертсон Дж. Мембрана живой клетки // Структура и функции клетки: Сборник. - М.: Мир, 1964. - С. 159-172.
- Седицева А.А., Образцов В.В., Козлов Д.П. Белок - липидные взаимодействия и их роль в природных комплексах и мембранах: [Науч. докл. высш. школы] // Биологические науки. - 1977. - № 8. - С. 5-19.
- Финсан Дж. Биологические ультраструктуры. - М.: Мир, 1970. - 325 с.
- Финсан Дж., Колман Р., Мичелл Р. Мембраны и их функции в клетке. - М.: Мир, 1977. - 199 с.
- Хокин Л., Хокин М. Химия клеточных мембран // Молекулы и клетки: Сборник. - М.: Мир, 1967. - Вып. 2. - С. 60-71.

СОДЕРЖАНИЕ

1. Проблемы биофизики мембран.....	3
2. Развитие представлений о физико-химической организации мембран	5
3. Ионные поры	9
4. Составные части мембраны: липиды, протеины, углеводы, неорганические соли, вода	10
5. Липид - липидные и белок-липидные взаимодействия в мембранах	16
6. Характеристика мембранных белков	20
7. Динамическое строение мембран (подвижность липидов и белков в мембране)	26
Рекомендуемая литература	33

Ольга Сергеевна Арутюнова

Биофизика

Физико-химическая организация биологических мембран

Часть 2

Тексты лекций

Редактор Л. Зайцева

Подписано к печати 20.II.86. АЗ 43572 Формат 60x84 1/16

Бумага писчая №1. Печать офсетная. Усл.п.л.1,96. Уч.-изд.л. 1,9.

Тираж 200. Заказ 340. Цена 6 к.

Отпечатано на ротапринтере ГГУ, г.Гомель, ул.Советская, 104.