

Биофизика

открытый учебник

Научный редактор: [С.И. Барцев](#)

Технический редактор: [И.А. Денисов](#)

Версия от 13:09:36 2018/05/07.

Учебник опубликован под лицензией [CC BY-SA 3.0](#).

Исходные файлы проекта учебника доступны по адресу:

<http://gitlab.molpit.org/molpit/biophysics>

Последняя версия PDF-файла доступна по адресу:

<http://build.molpit.org/pub/biophysics/tutorial.pdf>

Авторы: С.И. Барцев, В.В. Межевикин, И.А. Денисов, Д.В. Гульнов, К.В. Шадрин,
А.В. Архипова, Е.В. Васюнькина, Л.В. Задорожная, А.В. Орлова, В.В. Симанько,
А.А. Калачев, К.В. Кошков, Е.В. Кочемарова, Н.В. Ронжин, К.В. Харин

Красноярск 2017

Оглавление

Предисловие	6
1 Методология биофизики	7
1.1 Объект и метод биофизики	7
1.1.1 Понятие объекта и метода в методологии естественных наук . . .	7
1.1.2 Биофизика в системе биологических и физических наук	9
1.2 Моделирование в биофизике	13
1.2.1 Понятие о моделях в методологии естественных наук	13
1.2.2 Теоретические и экспериментальные модели	14
1.3 Математический аппарат биофизики	16
1.3.1 Описания биологических процессов с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений	16
1.4 Редукционизм и холизм в исследовании биологических систем	19
1.4.1 Функциональное и структурное описания живых систем	19
1.4.2 Живые организмы как (M, R)-системы по Р. Розену	22
2 Проблема жизни	26
2.1 Атрибуты живого с эволюционных позиций и с точки зрения ключевых свойств	26
2.1.1 Необходимость расширения понятийной и терминологической базы физики для объяснения жизни	26
2.2 Ключевые проблемы абиогенного возникновения жизни и подходы для их снятия	34
2.2.1 Эксперименты Миллера—Юри	34
2.2.2 Невозможность самосборки простейшей живой клетки	36
2.2.3 Необходимые условия для запуска химической эволюции, требованя к предшественнику живой клетки	37
2.3 Экстремальные принципы в биологии	39
2.3.1 Физическая каузальность и биологический финализм	39
2.3.2 Оптимальность в биологии	40

2.3.3	Принцип максимальной простоты	40
2.3.4	Принцип оптимальной конструкции	41
2.3.5	Частные принципы оптимальности	41
2.3.6	Принцип адекватной конструкции	44
2.4	Управление и информация в биологических системах	46
2.4.1	Связь между понятиями «управление», «сигнал» и «информация» .	46
3	Термодинамика (малых систем)	51
3.1	Классическая термодинамика	51
3.1.1	Предмет термодинамики: чем занимается термодинамика	51
3.1.2	Функции состояния — язык термодинамики	52
3.1.3	Начала термодинамики	53
3.1.4	Температура как функция состояния (0-ое начало)	53
3.1.5	Закон сохранения энергии (первое начало)	54
3.1.6	Энтропия и энергия (второе начало)	55
3.2	Термодинамические потенциалы	58
3.3	Химический потенциал	60
3.3.1	Понятие химического потенциала	60
3.3.2	Химический потенциал как критерий химического равновесия . .	63
3.3.3	Сопоставление с критериями механического и теплового равновесия	63
3.4	Второе начало термодинамики и развитие биологических систем	65
3.4.1	Энтропия и биологические систем	65
3.5	Теория Онзагера	70
3.5.1	Принцип локальности	70
3.5.2	Термодинамические уравнения движения	70
3.5.3	Соотношение взаимности Онзагера	71
3.6	Стационарные состояния в неравновесных системах	73
3.6.1	Теорема Пригожина	73
4	Статистическая биофизика	76
4.1	Фазы и фазовые переходы в биологических системах	76
4.1.1	Вывод правила фаз Гиббса	76
4.1.2	Правило фаз Гиббса и биологические мембраны	77
4.2	Осмотическое давление	79
4.2.1	Вывод формулы для расчета осмотического давления	79
4.3	Химические реакции и константы равновесия	83
4.3.1	Вывод константы равновесия	83
4.3.2	Активность как термодинамическая концентрация	84
4.3.3	Вывод уравнения Гиббса—Дюгема	85

4.3.4	Самопроизвольное протекание химических реакций	85
4.4	Стационарная ферментативная кинетика	88
4.4.1	Кинетическая схема Михаэлиса—Ментен и условие квазистационарности	88
4.4.2	Вывод уравнения Михаэлиса—Ментен	89
4.4.3	Линеаризация уравнения Михаэлиса—Ментен	90
4.5	Нестационарная ферментативная кинетика	91
4.5.1	Релаксационные методы исследования ферментативных реакций .	91
4.5.2	Основные экспериментальные способы измерения характеристик нестационарных ферментативных процессов	92
4.6	Теория переходного состояния и скорости химических реакций	95
4.6.1	Температурная зависимость констант равновесия	95
4.6.2	Температурная зависимость индивидуальных констант скоростей реакции	95
5	Молекулярная биология клетки	99
5.1	Биологические молекулы и их окружение	99
5.1.1	Организуящие меж- и внутримолекулярные силы	99
5.2	Структура и функция белков	103
5.2.1	Классификация структур белков	103
5.2.2	Принципы структурной организации белков	104
5.2.3	Переходы спираль-клубок	105
5.2.4	Кооперативные переходы в белковых молекулах	106
5.2.5	Формирование пространственной организации белков	107
5.3	Ферменты	111
5.3.1	Механизмы ферментативного катализа	111
5.3.2	«Белок-машина» биологические макромолекулярные конструкции .	112
5.4	Основные механизмы изменения активности ферментов	117
5.4.1	Ингибиторы ферментов	117
5.4.2	Влияние pH среды на фермент	118
5.4.3	Аллостерическая регуляция активности ферментов	120
5.4.4	Кооперативные эффекты в ферментативных реакциях	121
5.5	Биологические мембраны как составная часть клеточной оболочки	124
5.5.1	Функции мембран	124
5.5.2	Структура мембраны	124
5.5.3	Динамические свойства мембран	125
5.6	Биологические механохимические машины	127
5.6.1	Ферменты. АТФ-синтетаза	127

5.6.2	Бактериальный мотор	130
5.6.3	Броуновская «трещотка»	132
5.6.4	Мышцы	132
5.6.5	Механохимическая машина Качальского и Оплатки	137
5.7	Трансформация энергии в биомембранах	138
5.7.1	АТР (универсальный химический переносчик энергии)	138
6	Природа биологических и химических сигналов	141
6.1	Транспорт ионов в возбудимых мембранах и распространение нервного импульса	141
6.1.1	Потенциал действия и потенциал покоя	141
6.1.2	Транспорт ионов в возбудимых мембранах	143
6.1.3	Генерация импульса	143
6.1.4	Ионные токи в модели Ходжкина—Хаксли	144
6.1.5	Физико-химические и математические модели возбудимых мембран	146
6.1.6	Распространение нервного импульса	148
6.2	Пассивный транспорт веществ через мембрану	150
6.2.1	Диффузия	150
6.2.2	Транспорт ионов	152
6.2.3	Ионное равновесие на границе раздела фаз	153
6.3	Активный транспорт	158
6.3.1	Молекулярное строение каналов	158
6.3.2	Каналы и транспорт ионов через них	159
6.3.3	Электронейтральный и электрогенный транспорт ионов	159
6.3.4	Калий-натриевый насос	160
6.3.5	Активный транспорт кальция	161
6.3.6	Транспорт протонов	162
6.4	Способность к молекулярной рецепции — необходимое условие функционирования биологических систем	164
6.4.1	Понятие молекулярной рецепции	164
7	Физиология клетки	168
7.1	Гомеостаз (клетки, ткани и организма)	168
7.1.1	Принципы организации процессов в клетке	175
7.2	Моделирование полиферментных клеточных систем	177
7.2.1	Модель энергетического метаболизма клетки	177
7.2.2	Первичная, вторичная и третичная структуры метаболизма	177

Предисловие

Учебник основан на курсе лекций преподавателей кафедры биофизики [Сибирского федерального университета](#) С.И. Барцева и В.В. Межевикина.



Сергей Игоревич
Барцев



Владислав Валентинович
Межевикин



Коллектив группы
ФФ05-44С

Первый черновик документа является результатом усилий коллектива студентов биофизиков при подготовке к экзамену в 2009 году. В подготовке текста приняли участие: А.В. Архипова, Е.В. Васюнькина, Д.В. Гульнов, И.А. Денисов, Л.В. Задорожная, А.В. Орлова, В.В. Симанько, А.А. Калачев, К.В. Кошков, Е.В. Кочемарова, Н.В. Ронжин, К.В. Харин и К.В. Шадрин. В качестве структуры были взяты вопросы экзаменационных билетов. Использованы собственные конспекты лекций, презентации и заметки преподавателей, классические книги, периодические издания и материалы википедии.

Затем моим научным руководителем профессором П.И. Белобровым была навеяна идея создать некий учебник по биофизике. Поэтому в 2013 году при подготовке к сдаче кандидатского минимума по биофизике была подготовлена вторая итерация учебника. Мною вместе с Д.В. Гульновым и К.В. Шадриным материалы были доработаны и перенесены в LaTeX. Этот вариант в 2013 году был включен в учебно-методический комплекс по биофизике Сибирского федерального университета.

В августе 2016 года на основе черновика авторов был запущен открытый проект учебника по биофизике, проведена техническая коррекция. С.И. Барцев провел доработку материалов учебника, дополнил значительное число недостающих фрагментов.

Проект опубликован под лицензией [Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0](#). Такая лицензия означает возможность бесплатно копировать, распространять и использовать учебник, в том числе — в коммерческих целях, но при условии, что вы сошлетесь на авторов и лицензию. Ваши труды, основанные на учебнике, должны быть опубликованы под такой же лицензией.

Ваши предложения и замечания ждем в [трекере](#) и по [электронной почте](#).

Иван Андреевич Денисов, *технический редактор и соавтор учебника*

Глава 1

Методология биофизики

1.1 Объект и метод биофизики

Понятие объекта и метода в методологии естественных наук. Биофизика в системе биологических и физических наук.

1.1.1 Понятие объекта и метода в методологии естественных наук

Поскольку биофизика является относительно молодой наукой, находящейся в периоде становления и оформления своих подходов и методов, то краткое обсуждение общенаучных методологических вопросов представляется весьма уместным. Подробнее ознакомиться с проблемами и достижениями методологии можно в трудах Г.П. Щедровицкого [1].

Объект — это то, на что направлена наука, а предмет — те стороны объекта, которые она высвечивает своим научным аппаратом. Важно понимать, что Объект существует независимо от знания, он существовал и до его появления. Начиная изучать или просто «включая» в деятельность какой-либо объект, мы берем его с одной или нескольких сторон. Содержание знаний, вырабатываемых при решении конкретных исследовательских задач, можно уподобить проекциям, которые «снимаются» с объекта при разных его «поворотах». При этом элементы, на которые расчленяется целое, принципиально разные в различных системных представлениях. Таким образом каждый проекционный экран задает собственное членение на элементы, порождая тем самым определенную структуру объекта.

В наглядной форме понимаемое таким образом отношение между несколькими научными предметами и объектом изучения представлено на рисунке 1.1.

Одному и тому же объекту может соответствовать несколько различных предметов науки (или исследований). Это объясняется тем, что характер предмета зависит не

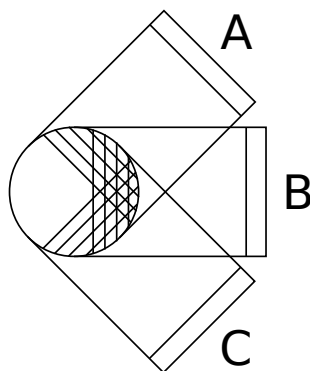


Рисунок 1.1 — Круг с заштрихованными секторами изображает сам объект; линии (А), (В), (С) — знания, фиксирующие разные «стороны» объекта; заштрихованные секторы — «объективное содержание», которое выделяется и фиксируется этими знаниями

только от того, какой объект он отражает, но и от того, зачем этот предмет сформирован, для решения какой задачи.

Эта схема иллюстрирует тот факт, что про объект, как таковой, мы можем только сказать, что он есть. Как только мы пытаемся сказать про объект что-то конкретное, мы делаем это, исходя из своей точки зрения, которая определяется, в частности, нашими теоретическими представлениями, т.е. определенными шаблонами восприятия и нашими практическими целями исследования этого объекта. Очевидно, что характер исследования одного и того же биологического объекта, например, лягушки определяется тем, кто это исследование проводит — зоолог, эколог, генетик и т.д.

Если спросить предметника, с чем он имеет дело, то он скажет, что с объектами. Но на самом деле, он всегда имеет дело только с предметами; это — та реальность, первая и основная реальность в которой он живет. На многих этапах специального научного исследования предмет рассматривается как «адекватный» объекту. Это правильно, вполне обоснованно, пока исследовательское движение идет в рамках данного предмета. Когда же относительно одного объекта построено несколько различных предметов исследования (как показано на рисунке 1.1), или когда этот объект выступает в предметах различных наук, такая позиция становится препятствием к синтезу этих различных предметов, порождает парадоксы или противоречия, в развитии и систематизации знаний.

На примере физики этот эффект проявляется в виде заблуждений о том, что гипотезы и теории физики представляют собой лишь сконденсированный опыт, индуктивный синтез экспериментальных данных. «Даже наиболее „практичные“ из формул теоретической физики — формулы физики твердого тела — содержат более или менее изощренные теоретические понятия, далекие от непосредственного опыта» [2].

Такое же положение характерно и для различных дисциплин современной теоретической биологии. Все они исследуют «жизнь», но «берут» ее каждый раз с какой-то

одной стороны и на этой основе строят теоретические представления, частные по отношению к целостной картине «жизни». Когда речь заходит о такой целостности, то ее представляют как сумму частей, описанных в частных биологических дисциплинах, как сведение воедино различных «биологических уровней». При этом сами «уровни» понимаются чисто онтологически, т.е. как уровни самого биологического объекта, а не как проекции этого объекта на те или иные уровни теоретического описания. По мнению Щедровицкого это пока не препятствует развитию исследований на каждом «уровне», но не позволяет построить целостную теоретическую концепцию «жизни».

В качестве инструмента построения целостной концепции «жизни» методология предполагает использовать так называемый «конфигуратор», т.е. некоторую структурную модель объекта, по отношению к которой эти разноуровневые знания биологического объекта являются разными проекциями, т.е. получают обоснование своего существования. Более подробную информацию про конфигурирование вы найдете в стенограмме выступлений Щедровицкого на семинаре «Объект и предмет» в 1965 году¹.

Представляется, что для успешного создания конфигуратора необходимо, чтобы «проекции» объекта на разных уровнях описания живого были бы достаточно абстрактны, т.е. не страдали приверженностью к «кажимости», завязанной на множество несущественных деталей, и воспринимаемой как истинное или близкое к истинному описание объекта. Для пояснения, что имеется ввиду приведем аналогию с палкой, погруженной в воду, которая обсуждалась еще древними греками. Известно, что палка, погруженная одной частью в воду, кажется переломленной, хотя на самом деле она остается прямой.

Непосредственное восприятие объекта, т.е. явление (кажимость) дает неверное представление об объекте (о сущности). Процесс научного познания может рассматриваться как движение от «кажимости» к «действительно сущему». Щедровицкий отмечает важность принципа, согласно которому знание, претендующее на истинность, получается при все большем отходе от непосредственной данности объекта, при все большем опосредовании.

Рассмотрим какую роль играет или может играть биофизика в познании сущности живого.

1.1.2 Биофизика в системе биологических и физических наук

Поскольку, как уже отмечалось, биофизика, в отличие от биологии молодая наука, то не существует ее общепринятого и устоявшегося определения. Попробуем, на основании анализа существующих определений выбрать или сформулировать рабочее определение биофизики.

¹Г.П. Щедровицкий. Объект и предмет. Системно-структурный семинар, 1965 г., Арх. № 3653.

Энциклопедический словарь дает следующее определение:

«Биофизика — наука, изучающая физические и физико-химические явления в живых организмах, структуру и свойства биополимеров, влияние различных физических факторов на живые системы».

Основной недостаток этого определения в том, что используемые понятия слишком широки и подразумевают отнесение к биофизике весьма далеких от нее областей знания [3].

Другое, представленное в литературе, определение тоже трудно назвать удачным:

«Биофизика — наука, изучающая физические явления и свойства, **важные** для функционирования биологических систем, и использующая для этого комплекс экспериментальных и теоретических методов физики и физической химии» [4].

Согласно этому определению биофизика должна изучать важные для жизни физические явления и свойства. То есть, поскольку, например, диффузия очень важна для функционирования живого, то биофизика должна изучать диффузию. Где же здесь специфика живого? Следующее определение биофизики перекликается с определением физики из энциклопедии:

А.Б. Рубин: «Биофизика — наука о наиболее простых и фундаментальных взаимодействиях, лежащих в основе биологических процессов». Сравним: «Физика — наука о природе, изучающая простейшие и вместе с тем наиболее общие свойства материального мира».

Недостаток этого определения в том, что наиболее простые и фундаментальные взаимодействия, сохраняющие при этом специфику живого, еще нужно выделить, в чем, по-видимому, и заключается одна из задач биофизики.

М.В. Волькенштейн: «Задачи биофизики состоят в познании явлений жизни, основанном на общих принципах физики, и изучении атомно-молекулярной структуры вещества».

Ключевым в этом определении является замечание методологического характера о том, что познание явлений жизни должно основываться на общих принципах физики, а к таким общим принципам относятся именно методологические принципы физики — ее подход.

И, наконец, перейдем к определению, которое ляжет в основу рабочего определения, используемого в этой книге.

Л.А. Блюменфельд: «Биофизика — это область биологии, в которой должны предпочтительно работать ученые, имеющие фундаментальное физическое образование».

Это определение на первый взгляд кажется парадоксальным. Однако если обратиться к его сути, то возможно переформулировать высказанную автором мысль в более привычной форме. Блюменфельд в этом определении считает, что фундаментальное физическое образование имеет свои особенности и способ мышления человека, получившего это образование, отличается от способа мышления других специалистов [5]. Эти различия в мышлении должны проявляться при работе разных специалистов с одним и тем же объектом. И биология и биофизика работают с одними и теми же объектами, но по-разному. В чем специфика физического подхода?

Суть физического подхода к биологическим системам выразил К.Н. Рашевский:

«Мы начинаем с исследования в высшей степени идеализированных систем, которые могут не иметь никаких прямых аналогов в реальной природе. Этот момент следует особо подчеркнуть. Против такого подхода можно выдвинуть возражение, что подобные системы не имеют никакой связи с действительностью и что поэтому никакие заключения относительно таких систем не могут быть перенесены на реальные системы. Тем не менее, именно этот подход применяли и всегда применяют в физике. Физик занимается детальным математическим исследованием таких нереальных вещей, как „материальные точки“, „абсолютно твердые тела“, „идеальные жидкости“ и т.п. В природе подобных вещей не существует. Однако же физик не только изучает их, но и применяет свои выводы к реальным вещам. И что же? Такое применение ведет к практическим результатам — по крайней мере, в известных пределах. Все дело в том, что в этих пределах реальные вещи имеют свойства, общие с воображаемыми идеальными объектами! Только сверхчеловек мог бы охватить в математическом аспекте сразу всю сложность реального предмета. Мы, обыкновенные смертные, должны быть скромнее, и нам следует подходить к реальности асимптотически, путем постепенного приближения» [6].

Опираясь на определение Блюменфельда и текст Рашевского мы можем сформулировать рабочее, т.е. рассчитанное на использование в контексте данной книги определение.

Биофизика — это наука, занимающаяся построением и исследованием идеализированных систем, моделирующих ключевые свойства живого на разных уровнях его организации.

Из методологии науки известно, что введение идеальных объектов, является необходимым этапом формирования зрелой науки. Тем самым биофизика представляет собой неявную попытку развить биологию до стадии зрелой науки путем последовательного применения методологического подхода, хорошо зарекомендовавшего себя в физике. Поэтому в какой мере удастся работать с идеализированными системами в рамках исследуемой области, в той мере возможно говорить о биофизическом подходе.

Авторы надеются, что последовательное применение этого подхода, позволит достичь такого уровня абстракции при описании живого на разных уровнях его организации, что станет возможным создание теоретического каркаса («конфигуратора»), способного отобразить сущность живого.

Текущее соотношение физики, биологии и биофизики в очень упрощенном виде возможно отобразить на следующем рисунке 1.2.

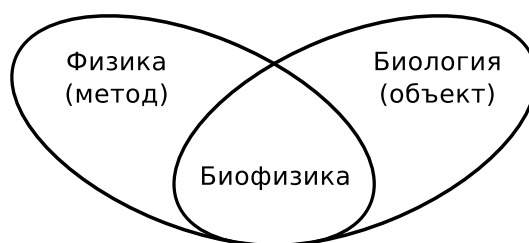


Рисунок 1.2 — Вклад физики и биологии в биофизику

Физика — наука о природе, изучающая простейшие и вместе с тем наиболее общие свойства материального мира. Биофизика использует методы физики.

Биология — совокупность наук о живой природе. Биология устанавливает общие и частные закономерности, присущие жизни во всех ее проявлениях и свойствах. Биология определяет объект исследования для биофизики.

Биофизика условно подразделяется на три области.

Молекулярная биофизика изучает строение и физико-химические свойства биологически функциональных молекул, прежде всего белков и нуклеиновых кислот. Задачи молекулярной биофизики состоят в раскрытии механизмов, ответственных за биологическую функциональность молекул, например за каталитическую активность белковых ферментов.

Биофизика клетки изучает строение и функциональность клеточных и тканевых систем. Основные задачи связаны с изучением физики биологических мембран и биоэнергетических процессов, генерации и распространения нервного импульса, фотобиологических явлений (фотосинтез, зрение, биолюминесценция).

Биофизикой сложных систем условно называется преимущественно теоретическая часть биофизики, посвященная рассмотрению общих физико-биологических проблем и физико-математическому моделированию биологических процессов.

1.2 Моделирование в биофизике

Понятие о моделях в методологии естественных наук. Теоретические и экспериментальные модели. Особенности биофизических моделей.

1.2.1 Понятие о моделях в методологии естественных наук

Практически любая наука, изучающая объективную реальность, явно или неявно имеет дело с моделями. Дело в том, что реальные объекты сложны и многогранны и описание всего многообразия их свойств в понятиях не представляется возможным. К счастью, полное описание объекта не нужно, поскольку задачей науки является выявление общих закономерностей и свойств, присущих выбранному классу объектов, что уже позволяет абстрагироваться от индивидуальных особенностей представителей выбранного класса объектов. Концентрация внимания на специфическом наборе свойств приводит к формированию научных дисциплин: физика, химия, биология, физика твердого тела, электродинамика и т.п. Дальнейшее абстрагирование от свойств, которые исследователь считает несущественными для целей своего исследования приводят к дальнейшему упрощению описания объекта (который с самого начала попыток описания в понятиях становится предметом исследования) — более простой модели. Тем самым следует признать, что любое описание объекта в понятиях (словами) является моделью, не обязательно теоретической и, тем более, математической.

Нам для определенности нужно уточнить, что понимается в книге под моделью. Остановимся на следующем достаточно строгом и лаконичном определении «Если между двумя объектами может быть установлено сходство хотя бы в каком-либо одном определенном смысле, то между этими объектами существуют отношения оригинала и модели» [7, стр. 40]. Важность этого определения в том, что оно явно подчеркивает двусторонность, симметричность отношения модель-оригинал. Другими словами, изоморфизм **описания** двух систем [8] обеспечивает обратимость потока информации и тем самым является основой моделирования и возможной основой редукции сложности описания.

Наиболее наглядно симметричность отношений между оригиналом и моделью видна на примере процедуры проектирования нового самолета, когда испытываемая в аэродинамической трубе и модифицируемая на основе результатов этих испытаний модель будущего самолета выступает в качестве оригинала по которому с помощью методов подобия строится полномасштабный образец самолета.

1.2.2 Теоретические и экспериментальные модели

Для решения ряда фундаментальных проблем биологии требуется высокий уровень обобщения, которого трудно достичь при изучении реальных биологических систем, поскольку исследованию общих свойств биологических систем препятствуют два фактора:

- высокая сложность реальных биологических объектов, приводящая к невозможности учета огромного количества взаимодействий, которые определяют функцию и свойства объекта;
- единственность эволюционных исходов, которая не позволяет использовать один из самых эффективных инструментов исследования — только один вариант живого, реализовавшийся на Земле). В создавшейся ситуации одним из выходов, видимым в настоящее время, является обращение к эвристическим или, по-другому, феноменологическим моделям.

Необходимость перехода к искусственным модельным объектам обосновал фон Нейман: «Поскольку у нас нет достаточно ясного представления о том, как функционируют живые организмы, то обращение к органике большой пользы нам не принесет. Мы займемся поэтому автоматами, которые мы в совершенстве знаем, ибо мы их сделали. Опишем автоматы, способные воспроизводить себя».

Обобщая специфику использования эвристических моделей, можно сформулировать понятие «эвристического модельного объекта».

Эвристический модельный объект — это сконструированный формальный объект, соответствующий в определенном смысле широкому классу реальных объектов; предназначен не для имитации поведения некоторой конкретной системы, а для выяснения общих зависимостей поведения системы от ее структуры и свойств ее компонентов.

Эвристический модельный объект является моделью, но он отличается от традиционной модели по способу работы с ним. Он выступает как полноправный (пусть и абстрактный) объект, отличающийся от реальных только тем, что он доступнее для экспериментирования. Абстрактный модельный объект «прозрачен», про его структуру известно все и это позволяет сконцентрировать усилия непосредственно на выявлении общих закономерностей, а не на поиске кажущихся важными, а по сути бесконечных, деталей структуры. Применимость результатов, полученных с помощью эвристического модельного объекта, зависит от степени общности задаваемых модельному объекту вопросов.

Работа с эвристическим модельным объектом принципиально отличается от традиционных способов моделирования. При создании математических моделей производится подборка параметров, для того чтобы они лучше описывали свойства моделируемых

систем. Для эвристического модельного объекта подборки параметров не происходит, поскольку нет реальной системы-оригинала. В процессе выявления закономерностей и свойств, демонстрируемых модельным объектом, производится поиск закономерностей и свойств-аналогов в реальных системах. Это позволяет оценить адекватность положенных в основу построения эвристического модельного объекта общих предположений. При обнаружении таких свойств-аналогов возможно говорить об адекватности и общности, положенных в основу эвристического модельного объекта предположений. Тогда свойства такого модельного объекта, которые не имеют известных аналогов в реальных системах или еще не попадали в фокус внимания исследователей, могут лечь в основу новых общих утверждений или гипотез о свойствах реальных систем.

1.3 Математический аппарат биофизики

Примеры описания биологических процессов с помощью: обыкновенных дифференциальных уравнений; уравнений в частных производных; разностных уравнений; клеточных автоматов; формул теории вероятности.

1.3.1 Описания биологических процессов с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений

Для описания поведения биологических систем в непрерывном времени используют дифференциальные уравнения вида:

$$\frac{dx_i}{dt} = F_i(x_1, x_2, \dots, x_n), \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (1.1)$$

где $F_i(x_1, x_2, \dots, x_n)$ — нелинейные функции динамических переменных x_i .

Как правило, они состоят из нескольких слагаемых. Положительные члены описывают прибыль компонента x_i , отрицательные — убыль. Для построения системы достаточно знать скорости притока и оттока каждого компонента и их зависимость от переменных.

В разных биологических системах в качестве переменных могут выступать различные измеряемые величины: в биохимии — это концентрации промежуточных веществ; в микробиологии — концентрации субстратов и метаболитов, а также, число микроорганизмов или их суммарная биомасса; в экологии — численности или биомассы видов, в биофизике мембранных процессов — мембранные потенциалы и концентрации веществ по обе стороны мембраны и внутри нее, и т.д. Параметрами могут служить температура, влажность, рН, электрическая проводимость мембраны.

Процессы, происходящие в биологических системах, как правило, существенно нелинейны, соответственно нелинейны и модели этих процессов. В моделях таких систем правые части уравнений содержат нелинейные члены, что может создать математические трудности в их решении.

На существенные вопросы, касающиеся финального состояния динамической системы, отвечают методы качественной теории дифференциальных уравнений. Эти методы позволяют выявить важные общие свойства модели, не прибегая к нахождению в явном виде неизвестных функций $x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t)$.

Различные процессы в биологических системах и их подсистемах могут сильно отличаться друг от друга по характерным временам протекающих в них процессов. Так, в целостной биологической системе одновременно протекают быстрые процессы ферментативного катализа (характерное время оборота фермента $\tau = 10^{-1} - 10^{-5}$ с), физиологические процессы (характерное время — минуты) и процессы репродукции (десять минут и более).

В ряде случаев в биологических системах осуществляется известный принцип узкого места (общая скорость превращения вещества во всей цепи реакции определяется наиболее медленной стадией). Именно наличие такой временной иерархии процессов позволяет существенно упростить исходную модель, по существу сведя задачу ее кинетического описания к изучению поведения наиболее медленной стадии. В этом смысле самое медленное звено — управляющее, поскольку воздействие именно на него, а не на более быстрые стадии, может повлиять на скорость протекания всего процесса.

Рассмотрим **пример понижения сложности модели с помощью временного масштабирования**. Пусть удалось представить систему (1.1) в виде:

$$\begin{cases} \varepsilon^2 \frac{dx_i}{dt} = F_i(x_1, x_2, \dots, x_n), & i = 1, \dots, l, \\ \varepsilon \frac{dx_j}{dt} = F_j(x_1, x_2, \dots, x_n), & j = l + 1, \dots, l + m, \\ \frac{dx_k}{dt} = F_k(x_1, x_2, \dots, x_n), & k = l + m + 1, \dots, n. \end{cases} \quad (1.2)$$

Тогда, если расположить по степеням малого параметра ε при производной, коэффициенты ε и ε^2 фактически определяют скорости изменения концентраций и система (1.2) распадается на три группы уравнений с близкими характерными временами в каждой группе:

$$\frac{dx_i}{dt} = \frac{1}{T_1} F_i, \quad \frac{dx_j}{dt} = \frac{1}{T_2} F_j, \quad \frac{dx_k}{dt} = \frac{1}{T_3} F_k, \quad (1.3)$$

где $T_1 = \varepsilon^2$, $T_2 = \varepsilon$, $T_3 = 1$.

Если мы интересуемся поведением всех переменных, как на отрезках времени порядка ε^2 , так и на временах порядка единицы, то необходимо исследовать всю систему. Если нет, то система значительно упрощается.

Уравнения и системы уравнений в частных производных ожидаемо используются в моделях где считается существенной и учитывается пространственная распределенность системы (автоволны в возбудимых средах, стационарные диссипативные структуры, окрас шерсти животных, модели пространственного распределения популяций). Кроме того уравнения в частных производных удобны для описания процессов в системах, имеющих распределение по какому-то параметру (распределение популяции по возрастам).

Разностные уравнения

Разностные уравнения используются для описания систем в которых изменения происходят в дискретные моменты времени или для таких систем, где обращение к дискретному описанию больше соответствует природе процессов, например, динамика популяций насекомых, которые за одно лето успевают пройти только часть жизненного цикла (яички, личинка-гусеница, зимующая куколка, взрослое насекомое-имаго,

вылупляющееся из куколки поздней весной или в начале лета). Дискретное описание подходит для популяций, где существование родителей и потомков разнесено по времени. Разностные уравнения могут быть использованы для описания клеточного цикла.

Клеточные автоматы

Клеточным автоматом называется регулярная решетка (любой размерности) ячеек, которые могут находиться разных дискретных состояниях. Смена состояний ячеек происходит в определенные такты времени (синхронные автоматы) или произвольно. То, в какое состояние перейдет данная ячейка зависит от состояния ее самой и соседей в предыдущие моменты времени. Клеточные автоматы используются для исследования общих свойств эволюции, морфогенеза, самоорганизации, катастрофических переходов и т.п.

Классическим примером клеточных автоматов является игра «Жизнь», придуманная Джоном Конвеем в 1970 году: <https://models.molpit.org/model/79>

1.4 Редукционизм и холизм в исследовании биологических систем

Функциональное и структурное описания живых систем. Живые организмы как (M, R)-системы по Р. Розену. Понятие замкнутости по эффективной причине.

1.4.1 Функциональное и структурное описания живых систем

Относительно малая (по сравнению с физикой) эффективность использования идеализированных систем в изучении живого может быть связана с тем, что используемые в физике базовые идеализации (онтологии) и способы описания (представления) систем не адекватны специфике (сущности) систем биологических. Очень подробно этот вопрос рассмотрел ученик Н.Рашевского Р.Розен [108].

По мнению Розена, должное понимание особенностей моделирования биологических систем должно начинаться с понимания взаимодействия физики и биологии. Биологические системы состоят из атомов и молекул, и, следовательно, они просто физические системы. Физик изучает поведение ансамблей физических частиц, включая и те, которые представляют собой организмы.

Фундаментальный принцип редукционизма в биологии состоит в том, что у нас нет реального понимания биологической активности до тех пор и, пока это понимание не выражено непосредственно в терминах взаимодействия между физическими частицами, из которых состоит организм, т.е. в терминах, принимаемых и узнаваемых физиком.

Позиция редукционизма неявно отрицает, что существуют, какие-либо принципиальные различия между органическим и неорганическим; между биологией и физикой. В дополнение к этому экспериментальные инструменты, с помощью которых мы наблюдаем биологические системы, и теоретические конструкторы, с помощью которых мы делаем попытки их описать, взяты из небιологических дисциплин и не имеют специального отношения к сложности и высокому уровню взаимодействия компонентов, типичных для живых организмов. Поэтому, чтобы точнее понять, как наиболее эффективно осуществлять моделирование биологических систем, нужно понять природу смещения, которое наши физические инструменты, как теоретические, так и экспериментальные, навязывают нам. Поскольку это воздействие осуществляется через способы описания систем, будет уместно обратить на них внимание.

Для систем, в которых пассивный автономный аспект является первостепенным, используется так называемое внутреннее описание. Обычно это описание начинается с фиксации некоторого набора параметров системы в данный момент времени, и это называется определить состояние системы. Множество всех возможных состояний системы, позволяющее оценить состояние системы в любой момент времени, называется

пространством состояний системы. В физике эти состояния определяются через измерение определенных, численно выражаемых показателей, которые называются существенными переменными или переменными состояниями. Фундаментальная задача системного описания заключается в определении того, как внутренние состояния изменяются по времени под действием сил, действующих на систему. В физике такого рода динамические проблемы формулируются в терминах дифференциальных уравнений. Временная эволюция системы принимает форму кривой, или траектории в пространстве состояний.

Другой тип описания системы называется внешним описанием. В этом случае мы не делаем попыток идентифицировать множество переменных состояний системы. Вместо этого имеется семейство возмущений или воздействий, которые мы можем оказывать на систему, называемых входами системы и набор наблюдаемых величин, которые используются для обозначения эффекта воздействия входов на систему. Эти величины называются выходами или откликом системы. В общем случае, в соответствии с этим подходом задача заключается в прогнозе отклика системы на произвольное входное воздействие.

Одна из целей науки заключается в совмещении (сопоставлении) этих двух видов системного описания. Внешнее описание — это функциональное описание; оно говорит нам, что система делает, но в общем случае, не то, как она это делает. Внутреннее описание — это структурное описание; оно говорит нам, как система делает то, что она делает, но практически не содержит функционального содержания.

Природные системы, с которыми физик имеет дело, в общем случае достаточно просты и понятие «функция» к ним не применимо. Внешнее описание становится важным, когда мы обсуждаем искусственные системы, особенно управление и регуляцию машин, которые мы для себя сделали.

В биологии по ряду причин ситуация существенно иная. Природа основной проблемы состоит в том, что биологические системы построены на существенно отличных (и по большей части неизвестных) принципах по сравнению с искусственными системами. При этом наше описание организмов представляет собой смесь внутренних и внешних характеристик. Многие типы биологической активности фактически определены и наблюдались только функционально в терминах формализма «вход-выход». С другой стороны, мы используем много экспериментальных подходов (взятых из физики) для получения огромного количества разнообразной структурной информации.

Однако переменные внутреннего состояния, которые относительно легко измеряемы, не связаны простым отношением с функциональной активностью биологических систем и наоборот, внутреннее описание, подходящее к функциональному поведению биологических систем, не связано простым отношением со структурными наблюдаемыми величинами, которые можно измерять физическими методами.

Проблема заключается в эффективном переходе от одного описания к другому и

обратно, т.е. получении возможности выводить функцию системы (внешнее описание) из знания структуры системы (внутреннего описания), и наоборот, зная функцию системы, определенно знать кое-что об ее структуре.

Тем самым проблема структурно-функционального соответствия является ключевой на пути научного познания биологических систем. Существование этой проблемы проявляется, в частности, в том, что в биологии и биофизике существуют фундаментальные понятия, которые широко употребляются в исследованиях, но с трудом поддаются формализации: структура, функция, сложность, эволюция и другие. В этих понятиях выражаются другие ключевые проблемы биофизики (в частности: уникальность биологических систем и связанная с ней проблема воспроизводимости биологических экспериментов, эквивиальность эволюционных исходов, возрастание сложности в эволюционном процессе и ряд других).

Подходы к исследованию сложных систем

Гипотеза редукционизма говорит, что базовые свойства биологических систем могут быть эффективно поняты в терминах внутреннего физического описания. Возникает вопрос, как может физик подходить к системе, которая слишком сложна, чтобы допускать исследование в целом? Обычным подходом является абстрагирование или упрощение системы, обычно достигаемое путем разделения исходной системы на подсистемы. И так до тех пор, пока полученные подсистемы не будут допускать исследование как целое.

Неявно здесь допускается две ключевые гипотезы теоретико-системного характера:

1. Любая физико-химическая система, даже сложная, может быть разложена на спектр подсистем, таких, что каждая из подсистем в отдельности может быть полностью понята;
2. Любое свойство исходной системы может быть реконструировано из соответствующих свойств выделенных подсистем.

Последняя гипотеза очевидно неверна, о чем говорит ряд примеров из физики (например, задача трех тел) и биологии. Приходится признать, что методика разделения системы на подсистемы, пришедшая в биологию из физики в общем случае не совместима с динамикой биологических систем.

Системные аналоги

Существует промежуточный между внутренним и внешним описанием подход к исследованию биологических систем, позволяющий продвинуться дальше, чем при использовании только внешнего описания. Имеется в виду использование систем-аналогов или модельных систем, которые используются при исследовании сложных систем, включая биологические. Модели ферментов, мембран, искусственные нейросети и т.п.

Подход основан на том, что одни и те же динамические или функциональные свойства могут принадлежать огромному классу систем разнообразной природы.

Две системы, которые физически различны, но динамически эквивалентны, называются аналогами друг друга. Моделирование с помощью системных аналогов полностью отличается от метода разложения системы на подсистемы! Системная аналогия показывает, что динамические или функциональные свойства могут быть исследованы независимо от специфики физико-химической структуры, важной при редукционизме.

Пример подобного подхода в физике — оптико-механическая аналогия и вариационные принципы.

Согласно Р.Розену: любое функциональное или динамическое свойство данной системы может быть исследовано одинаково хорошо на любом из системных аналогов или даже целиком абстрактно. Такое абстрактное функциональное свойство, проявляемое каждым из системных аналогов, которые реализуют абстрактную систему назовем **динамической метафорой**.

На этом пути можно начать развивать то, что может быть названо «функциональным разделением (фракционированием)», которое дает возможность видеть следствия простейших динамических свойств некоторой метафоры, а также необходимость более специфических динамических или структурных предположений. Примеры метафор: открытые системы, переключающиеся системы, пороговые элементы, эквифинальность в развитии и регенерации.

Проблема в том, что типичный биолог требует привязки наблюдаемых функций к конкретной биологической структуре, которую он исследует. Можно предположить, что динамические метафоры, дополненные условиями (в частности, ограничениями, возникающими из рассмотрения оптимальной конструкции) дадут возможность выбирать отдельную систему из огромного класса систем-аналогов (именно ту, которая удовлетворяет дополнительным ограничениям оптимальности) и относительно этой выбранной системы можно сделать гораздо больше специфических заключений о ее структуре.

1.4.2 Живые организмы как (М, R)-системы по Р. Розену

Существующие определения живого, достаточно подробно рассмотренные в работах [76; 110; 114], можно грубо разделить на две группы, различающиеся выбором ключевого признака. В первой группе за ведущий признак принимается воспроизведение себе подобных и способность к эволюции. Во второй группе ведущим признаком является способность живых систем существовать, поддерживая свою структуру в течение некоторого времени, несмотря на внешние разрушающие воздействия и естественную деградацию относительно малоустойчивых компонентов, из которых живое состоит [9].

Совершенно очевидно, что без обладания обоими свойствами — воспроизведением

себе подобных и самосохранения живое не могло бы существовать и развиваться. Однако также очевидно, что остаться живым — это проблема, которая должна быть решена в первую очередь: первичные живые сущности не могли начать воспроизводиться или эволюционировать, пока не научились оставаться живыми достаточное для самовоспроизводства время, поддерживая организационный инвариант на фоне изменяющихся внешних условий [63; 70; 126].

Наиболее проработанными в рамках второго направления являются определения живого организма как аутопоэтической (самосоздающей) системы [126] и как (M, R)-системы (от англ. Metabolism, Repair — метаболизм и ремонт) [107], очень подробно рассмотренной в [97].

Согласно гипотезе аутопоэза живая клетка является самосоздающей машиной (an autopoietic machine), которая организована как сеть процессов производства, преобразования и деструкции компонентов, которые:

- (i) через свое взаимодействие и преобразования регенерируют и реализуют сеть взаимоотношений, которые воспроизводят их самих;
- (ii) составляют ее (машину) как конкретную целостность в пространстве, в котором ее компоненты существуют путем спецификации топологической области своей реализации в виде вышеуказанной сети.

Аутопоэзис является «все-или-ничего» свойством; система не может быть «более или менее» аутопоэтической. В соответствии с этой теорией такие центральные биологические явления, как эволюция, самовоспроизводство, репликация, являются феноменологически вторичными по отношению к конституции аутопоэтических единиц в физическом пространстве.

В более абстрактном и формализованном виде идея самоподдержания представлена в теории (M,R)-систем Розена, разработанной в рамках теории категорий. Метаболизм организма в целом обозначается отображением f . Это действительно полная абстракция. Затем ставится задача описать процесс самоподдержания метаболизма, поскольку ферменты, катализирующие метаболические реакции, имеют конечный срок функционирования. Значит должна существовать система, которая заменяет неактивные ферменты активными. Но для поддержания самой системы замещения нужна другая система восстановления этой системы. Для того чтобы избежать бесконечного порождения систем восстановления, Розеном предложена идея цикличности или замкнутости метаболизма. Это свойство метаболизма называется также «замкнутость по эффективной причинности» (closure to efficient causation), которое отражает тот факт, что источник или причина существования метаболизма находится в самом метаболизме. Чтобы стало понятнее, что имел в виду Р.Розен, говоря о замкнутости по эффективной причине нужно ознакомиться с терминологией Аристотеля.

Введение в терминологию. Аристотель рассмотрел варианты ответов на вопрос

«почему?», «по какой причине?» применение которых открывает совершенно новую сферу (область) описания в системах. Эти причины могут быть проиллюстрированы как ответы на вопрос о причинах существования дома. Ответами на вопрос «Почему, или по какой причине этот дом стоит здесь?» являются:

- Материальная причина: кирпичи, дерево, металл, стекло . . .
- Деятельная (эффективная) причина: те, кто собрал из материалов дом, — строители, производитель . . .
- Формальная причина: планы и чертежи, что позволили собрать материалы в форму;
- Финальная причина: у того, кто деньги заплатил за строительство нужно было место для жилья.

Замкнутость по эффективной причине

В терминах аристотелевской причинности клеточный метаболизм может быть описан в виде диаграммы отображений (Рис. 1.3) где: материальные причины — сплошные стрелки, пунктирные — действующие причины.

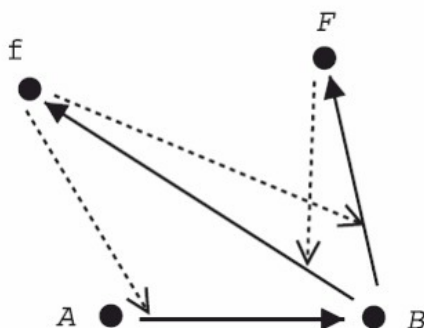
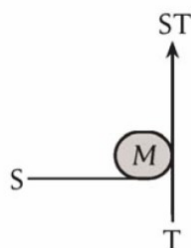


Рисунок 1.3 — Механизм обеспечения замкнутости метаболизма по действующей причине. А, В — метаболиты; f — множество ферментов, катализирующих метаболизм; F — система поддержания (репарации) ферментативной системы

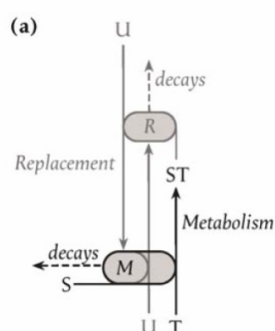
Простейшая иллюстрация замкнутости метаболизма по эффективной причине

В этом простом примере единственная метаболическая функция организма заключается в производстве метаболита ST и предшественников S и T , присутствующих в окружающей среде. Она требует катализатора, молекулы M , но иллюстрация не отражает тот факт, что M имеет неустранимую тенденцию к распаду, то есть система может существовать только ограниченное время.

Метаболический пример (M, R)-системы



- (a) исходная модель расширена с учетом распада катализатора M , который сейчас восстанавливается благодаря активности второго катализатора R , действующего на третий внешний субстрат U (Рис. 1.4 (a)). Сам R восстанавливается в результате вторичной активности M , действующего на U как альтернативный к S субстрат. Восстановительный модуль показан серым;
- (b) катализаторы представлены структурами STU и SU , и каждый каталитический процесс представлен как цикл из трех реакций, например $STU \rightarrow STUS \rightarrow STUST$, чтобы сделать химическую структуру катализа явной (Рис. 1.5 (b)).



с учетом распада катализатора M

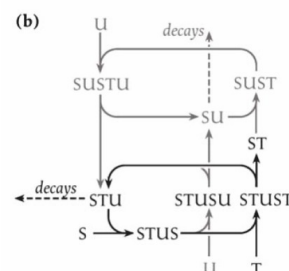


Рисунок 1.4 — Исходная модель, расширенная

Рисунок 1.5 — Катализаторы представлены структурами STU и SU

По мнению известного специалиста по биохимической кинетике Э. Корниш-Боуден, что помимо того, что биологи должны помнить, что жизнь написана на языке химии, они должны также помнить оригинальную версию Галилея, что природа написана на языке математики. Он считает, что полностью удовлетворительная теория жизни будет требовать не только всех биологических деталей, которые подчиняются законам химии и термодинамики, но также математического формализма того сорта, который Розен пытался развивать.

Глава 2

Проблема жизни

2.1 Атрибуты живого с эволюционных позиций и с точки зрения ключевых свойств

2.1.1 Необходимость расширения понятийной и терминологической базы физики для объяснения жизни

1) Как отличить живое от не живого? Атрибуты живого для выявления живых систем из окружения.

В биологии при описании живых существ перечисляются существенные признаки живого: рост, развитие, самовоспроизведение, обмен веществ, раздражимость. Однако следуя требованиям биофизического подхода необходимо выделить ключевой базовый признак, не связанный с конкретным материалом из которого сделана известная нам форма жизни. Возможный способ выделения такого ключевого признака — идеализации заключается в следующем: будем перебирать известные из курса биологии признаки живого и смотреть проявления этого признака у живых и неживых систем естественного происхождения. При этом, если данный признак наблюдается у неживых систем и одновременно может отсутствовать у некоторых очевидно живых организмов, то этот признак не сможет быть ключевым признаком живого.

Важно отметить, что проявления признаков мы будем оценивать на примере отдельного организма, существующего здесь и сейчас, а не на биологическом виде в целом и не в масштабах эволюционных проявлений. Для наглядности можно сформулировать задачу следующим образом: автономный робот посылается на другую планету с задачей поиска жизненных форм. Естественно, имея обычный набор датчиков и находясь в конкретном месте он может наблюдать и взаимодействовать только с отдельными организмами, если они конечно найдутся.

По каким признакам он может решить, что перед ним живое существо. Биохими-

ческие анализы не предполагаются, поскольку, если жизнь вдруг окажется высокоорганизованной, то взятие образцов тела может быть расценено как агрессия, и кроме того, ориентация только на земной биохимический базис может существенно сузить горизонт возможного поиска. Рассмотрим таблицу с сопоставлением вышеперечисленных свойств.

Признак	Встречается у неживых	Отсутствует у живых
Рост, развитие	Сталактиты, огонь	Насекомые в стадии имаго
Самовоспроизведение	Кристаллы, огонь	Старушки, рабочие пчелы
Обмен веществ	Огонь	Лишайники (условно)
Раздражимость	нет	нет

Для того, чтобы явно выделяющийся результат сравнения свойства «раздражимость» был понятен необходимо отдельно пояснить, что понимается под раздражимостью. Раздражимость, это не просто некая реакция на внешнее воздействие. Если мы, допустим, толкнули лежащий на столе карандаш и он в результате этого откатился, то это нельзя назвать раздражимостью, т.к. «реакция» карандаша полностью определяется приложенным к нему импульсом силы, причем произведенная карандашом работа равна переданной ему при толчке энергии за вычетом затрат на трение и нагрев в результате деформации.

Совсем по другому реагирует живое существо, например, сидящий на столе тарантул — при очень слабом воздействии (суммарная энергия фотонов, сформировавших изображение в глазу паука) мы, во-первых, наблюдаем более энергичную реакцию и, во-вторых, заранее не знаем как он отреагирует, он может: убежать, принять угрожающую позу или сразу напасть. Подобная реакция у неживых естественных объектов не наблюдается.

Конечно снежная лавина может возникнуть в ответ на относительно слабое воздействие, но это приведет к разрушению системы, в то время как живые системы после реагирования сохраняют свою структуру.

Можно сказать, что **раздражимость** — несоизмеримая с величиной раздражающего воздействия ответная реакция объекта, подвергнутого этому воздействию.

То есть мы сталкиваемся с кажущимся нарушением законов механики. Формально условие $\frac{W_S(t)}{W_R(t)} \leq 1$ представляет собой сигнатуру «жизнеподобных» аномалий, и условие $\frac{W_S(t)}{W_R(t+\tau)} \rightarrow \infty$ применимо к обычной механике, где W_S — мощность внешнего воздействия, W_R — мощность отклика, t — текущее время, τ — временная задержка. Например, мощность фотонов, создавших изображение на сетчатке птичьего глаза су-

щественно меньше мощности, затрачиваемой птицей для изменения направления полета.

Шуточный вариант 1-го закона Ньютона для живых систем «тело поддерживает состояния покоя или прямолинейного и равномерного движения, если на него не действуют другие тела и ему все равно» отражает еще одну особенность живых систем, которую мы им приписываем на основе их поведения — наличие некоторых внутренних побудительных причин, определяющих конкретную реакцию живой системы.

Это отметил, выделяя ключевое свойство живого Э.С. Бауэр: «Всем живым существам свойственно, прежде всего, самопроизвольное изменение своего состояния, т.е. изменение состояния, которое не вызвано внешними причинами, лежащими вне живого существа».

Специфическая особенность реагирования живых систем отмечал также А.А. Ляпунов: «Для процессов жизнедеятельности характерно наличие специальных управляющих процессов. Последние отличаются тем, что передача небольших масс или порций энергии вызывает действия, состоящие в передаче много больших энергий или масс. ... Управление можно объявить характеристическим свойством живого в широком смысле». В этом высказывании появляется понятие, которое не относится к понятийному аппарату физики — управление. Понятие «управление» тесно связано с понятием сигнала, которое, в свою очередь, с понятием «информация». Понятие «информация» обсуждается в соответствующем разделе.

2) Эволюционные соображения об атрибутах живого

Проведем выявление ключевого свойства или атрибута живого, опираясь на представление о химической эволюции. Под химической эволюцией понимается процесс постепенного усложнения исходно очень простых химических автокаталитических систем приведший в конечном счете к возникновению живых организмов. Подробно условия химической эволюции обсуждаются ниже здесь нам достаточно принять, что пробионты, находившиеся у истоков химической эволюции, вследствие своей простоты могли возникать в результате самосборки и разные пробионты могли иметь разный набор свойств. Рассмотрим какие свойства могли бы сначала обеспечить протекание химической эволюции, а затем и привести к замене химической эволюции биологической.

Начнем с известного определения жизни, данного Ф.Энгельсом: «Жизнь есть способ существования белковых тел ...». Оставим вне рассмотрения продолжение этого довольно пространного определения, поскольку там приводится некая детализация, связанная с обменом и размножением. Сейчас эта детализация представляется совершенно естественной и там нечего разбирать. По поводу первой части определения существуют разные критические высказывания или дополнения. Основной характер возражений относиться к тому, что белок, в этом определении понимается структурно и естественно приходится добавлять, что для жизни нужны еще нуклеиновые кислоты, липиды и

еще много чего. Другое возражение направлено на кажущуюся ограниченность определения из которого как кажется следует, что жизнь может иметь только белковую основу.

Однако есть основания считать, что Энгельс делал акцент на другом. Во времена написания книги «Диалектика природы» никто не знал, химическую структуру белков, не говоря уже о их пространственной организации. Только в начале XX века Э.Фишер экспериментально доказал, что белок состоит из аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями. Очевидно, что Энгельс имел в виду не структуру белков как таковых, а что-другое. В то время про белок было известно, что он легко коагулирует (денатурирует) под действием достаточно слабых воздействий, относительно невысокой температуры или изменения pH, т.е. белок представлялся очень неустойчивым веществом.

Если отбросить наши знания о структуре белков и подставить в определение Энгельса известное в то время свойство белков, то его определение следует перефразировать следующим образом: «Жизнь есть способ (стабильного) существования нестабильных тел». Анализ соответствующих фрагментов незаконченной Энгельсом книги «Диалектика природы» указывает на правильность такого трактования исходного определения. В таком варианте определение Энгельса становится глубоким, отражающем парадоксальные свойства живого — химическую нестабильность и способность к длительному (3,8 млрд.лет) существованию. Выяснение, как это жизни удается, возможно, и будет пониманием сути жизни.

Разберем модифицированное определение Энгельса. Говорить о существовании чего-то можно, когда это выделено из окружающего мира, имеет с ним некоторую границу. То есть пробионты должны были представлять собой фазовообособленные системы с простыми структурами, возникающими в результате самосборки. Аргументом в пользу обязательности требования фазовой обособленности является доказательство того, что эволюция автокаталитических систем типа гиперциклов Эйгена возможна только если они существуют внутри фазовообособленных систем, а не в растворе (ссылки).

В условиях постоянного воздействия разрушающих факторов длительное долгое существование отдельного пробионта невозможна, тогда единственным способом обеспечения длительного существования, необходимого для протекания химической эволюции является их самовоспроизведение. Однако очевидно, что для того иметь возможность дать потомство необходимо просуществовать какое-то время. Следовательно есть основания считать, что самосохранение — ключевое свойство живых существ. Как гипотетически это свойство могло возникнуть и к каким последствиям приводит его развитие? Допустим, случайно возникали примитивные химические системы, которые по-разному реагировали на разрушающие воздействия:

1. Не реагировали на разрушающие факторы среды → не могли существовать дол-

го.

2. Усиливали внешнее разрушающее воздействие (положительная обр. связь) → разрушались даже раньше 1.
3. сформировались отрицательные обратные связи, ослабляющие действие разрушающих воздействий (принцип Ле-Шателье). Имеют очевидное преимущество перед 1. и 2.
4. Помимо отрицательной реакции по отношению к разрушающим воздействиям имели механизмы положительной обратной связи в отношении к благоприятным воздействиям. Имеют очевидное преимущество перед 3.

Вариант 4 уже напоминает реакцию живого организма — избегание негативных воздействий и стремление к позитивным (например, к пище). Тем самым этот вариант предполагает различение, распознавание этих внешних воздействий. При этом комбинация отрицательных и положительных обратных связей, обеспечивающая продолжительное существование пробионта может рассматриваться, как архаичная форма инстинкта самосохранения. Ответ на вопрос, откуда взялся инстинкт самосохранения очень прост — образовывались разные пробионты, но те в которых не реализовывался четвертый вариант реагирования просто не прошли, а быстрее даже не вступили в химическую эволюцию.

Дальнейшее развитие реагирования на внешние факторы должно обеспечивать более эффективное самосохранение, что возможно если пробионт начинает реагировать не непосредственно на разрушающее воздействие окружающей среды, а на его предвестники или **сигнал**. Восприятие сигналов позволяет пробионту, а потом и живому существу выживать, давая время для адекватного ответа.

Поскольку сигнал не является непосредственно действующим сильным воздействием в отношении которого выбор уже не возможен, то в случае сигнала пробионт имеет возможность выбора того или иного ответа. Важно, что на этом этапе развития системы обеспечения существования появляется выбор и характерное для систем управления соотношение мощностей сигналов и отклика на него.

Тем самым выходит, что выясняя каким образом могут неустойчивые тела обеспечить устойчивое существование мы вышли на новое определение жизни, которое в отличие от модифицированного определения Энгельса направлено не на феномен, а на ключевой механизм его обеспечения.

Жизнь есть способность осуществлять выбор, направленная на сохранение этой способности.

Положительные и обратные связи приводят к возможности выбора, при наличии у пробионта, а потом и живого существа: 1) запаса свободной энергии 2) механизма

обработки сигналов (информации). В этом случае **информация** понимается как **мера уменьшения неопределенности выбора**. Такое понимание информации занимает промежуточное положение между классическим определением информации по К. Шеннону и понятием ценности информации по А.А. Харкевичу: $V = \log_2(P/D)$, где D — вероятность достижения цели до получения информации, а P — после.

Суммируя, можно принять к обсуждению следующие утверждения:

Среди естественных объектов понятие информации может быть применено (имеет смысл) только к биологическим системам как к единственным естественным системам способным осуществлять выбор. Обработка информации является атрибутом жизни как явления;

Информация и ее значение (ценность) представляют собой неразделимые понятия. Если сообщение не имеет значения, то оно не содержит информации и не является информацией вообще.

В заявленном выше контексте поиска идентифицирующих признаков (сигнатур) жизни возникает ключевой вопрос: «Как могут проявлять себя вовне системы осуществляющие выбор?». Осуществление выбора означает неотъемлемую (имманентную) способность управлять потоком свободной энергии поступающей из внутреннего запаса. Тогда окончательное определение жизни как явления выглядит так:

Жизнь — есть специфическое сопряжение информационных и энергетических процессов, делающее возможным осуществление выбора и проявляющееся как кажущиеся аномалии всякого рода:

1. Ускорение центра масс без внешней силы;
2. Абнормальные отклонения от средних вероятностей. Например, прямолинейное (неслучайное) движение жгутиковых бактериальных клеток отличается от броуновского движения неживых частиц;
3. Форма растений представляет собой фиксированную последовательность выборов;
4. Химические аномалии — локальные концентрации высокоэнергетических соединений, устойчивая разность концентраций;
5. Некоторые отклонения от термодинамических регулярностей — абнормальный (неравновесный) химический спектр (включая изначальную жизнь), неравновесные распределения температур.

Необходимость расширения понятийной и терминологической базы физики для объяснения жизни.

Физических понятий и терминов не достаточно для объяснения жизни как явления, поскольку при выводе ключевой характеристики живого вообще мы с необходимостью

применили понятия сигнала, информации и управления. Эти понятия **не** относятся к физическим. Осуществление выбора возможно при наличии определенной организации реагирующей системы, т.е. при наличии конструкции.

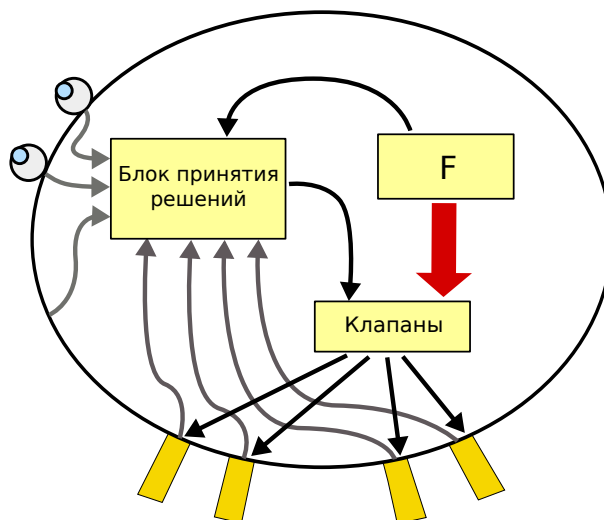


Рисунок 2.1 — Принципиальная схема машины, способной осуществлять выбор

Чтобы система могла осуществлять выбор, она определенным образом сконструирована, как машина. Необходим **внутренний запас энергии (F)**, который может направляться к **эффекторам**. Чтобы управлять потоком энергии, нужен коммутатор, или **система клапанов/вентилей**. Распределение потока энергии зависит от внешних и внутренних факторов, нужны **внешние датчики и индикаторы состояния внутренней среды системы**, например измерение внутреннего запаса энергии.

Представленные в этой абстрактной машине выбора компоненты присутствуют в любом организме и в некоторых его подсистемах.

Конструкция — это полный набор степеней свободы статистической системы, не участвующих в тепловом движении в течение времени, интересующего наблюдателя (ссылка на Блюменфельда)

Применимость понятия «конструкция» («машина») к биологическим системам разной иерархии.

Для того чтобы понять что следует из такого представления о ключевом, специфическом свойстве живого и об условиях реализации этого свойства — наличии определенного устройства рассмотрим аналогии между машинами разного рода. Что общего есть, например, у двигателя внутреннего сгорания, фермента, рибосомы и организма. Общее то, что они конструкции, то есть их структура (устройство) не выводится в принципе из законов физики и химии. Отсюда следует, что надежда получить некое общее уравнение биофизики по типу уравнения Шредингера, по-видимому, не имеет оснований. Может ли существовать уравнение магнитофона?

Что, например, можно изучать у живого?

1. Вопросы оптимального соответствия условиям эксплуатации — «принцип адекватной конструкции».
2. Поиск ключевых отношений конструкции как целого — «принцип биологического эпиморфизма». **Биологический эпиморфизм** — свойство общности некоторых черт живых организмов / по Рашевскому
3. Эволюционное возникновение конструкций «Принцип структурно-функционального полиморфизма»
4. Вопросы самосборки, самоформирования и самоподдержания биологических конструкций.
5. Вопросы эффективного накопления и преобразования энергии (механо-химического сопряжения)

Методологические замечания

1. Иерархия живых систем приводит к относительной независимости от материала и более низкого уровня организации. Например, уравнения, описывающие динамику экосистем не зависят от того из чего сделаны организмы, будут меняться только феноменологические коэффициенты.
2. Способность к выбору не ведет к непредсказуемости поведения (свободе воли) системы, а порождает новые, отличные от физических, закономерности. При этом остается возможность обобщенного описания на уровне ансамблей или типичности.

2.2 Ключевые проблемы абиогенного возникновения жизни и подходы для их снятия

Необходимые условия для возникновения и эволюции живого. Эксперименты Миллера—Юри. Невозможность самосборки простейшей живой клетки. Парадокс Кастлера. Возможные предшественники живой клетки и химическая эволюция.

Исходя из современных представлений о происхождении Солнечной системы следует, что на начальных стадиях формирования на Земле были условия полностью исключающие существование форм жизни, основанных на углероде. Отсюда возникает естественно-научная проблема происхождения жизни на Земле. Гипотеза панспермии переносит место зарождения жизни на другие планеты, но не устраняет вопрос в принципе — каким способом, по какому сценарию возможно зарождение жизни из неживой материи?

Первая проблема — проблема материала. Живые организмы состоят из веществ, отличающихся от присутствующих в неживой природе. Вначале даже считали, что они могут синтезироваться только в живых организмах и поэтому получили название органических веществ. Поскольку живые организмы состоят из органических веществ, а на ранней Земле никаких организмов быть не могло, то следует предположить, что достаточно сложные органические вещества могут возникать абиогенным путем. Для того, чтобы вообще можно было говорить о зарождении жизни нужно было доказать возможность абиогенного синтеза органических соединений и очертить условия при которых этот синтез возможен.

2.2.1 Эксперименты Миллера—Юри

В 1953 году Стенли Миллер под руководством Гарольда Юри¹ показал, что при определенных условиях возможно возникновение не очень сложных органических соединений из неорганических.

Эксперимент Миллера—Юри — один из важнейших экспериментов в исследовании происхождения жизни, в котором воспроизводились гипотетические условия раннего периода развития Земли для проверки возможности химической эволюции. Аппарат, спроектированный для проведения эксперимента, включал смесь газов, соответствующую тогдашним представлениям о составе атмосферы ранней Земли, и пропускавшиеся через нее электрические разряды.

Первичный анализ показал наличие в смеси 5 аминокислот, но более точный по-

¹американский физик и физикохимик. Пионер в области исследования изотопов, за открытие одного из которых — дейтерия — был награжден Нобелевской премией по химии в 1934 году. Позже перешел к изучению эволюции планет.

вторный анализ, опубликованный в 2008 году [10], показал, что эксперимент привел к образованию 22 аминокислот!

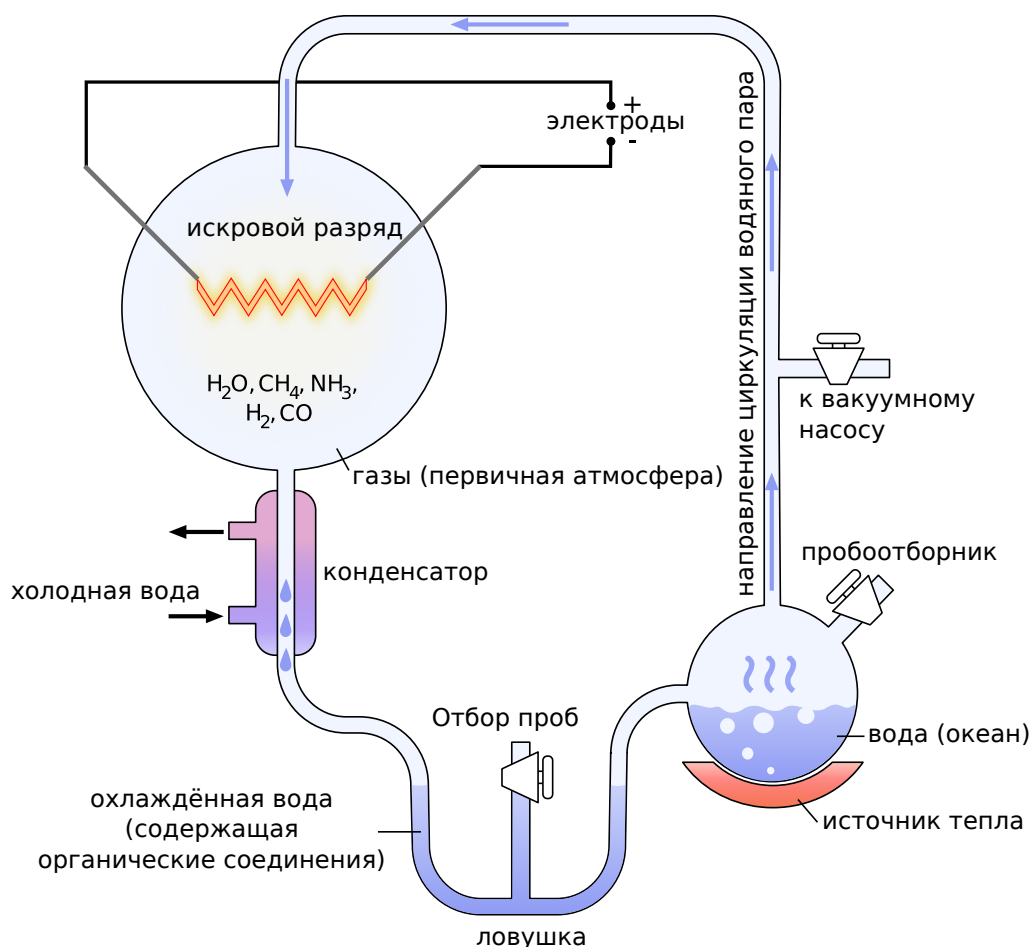


Рисунок 2.2 — Схема эксперимента Миллера—Юри (автор рисунка [YassineMrabet](#))

Описание эксперимента. Две колбы, соединенные стеклянными трубками (Рис. 2.2) в цикл. Заполнявший систему газ — смесь метана (CH_4), аммиака (NH_3), водорода (H_2) и монооксида углерода (CO). Одна колба на половину заполнена водой, которая при нагревании испарялась, и пары воды попадали в верхнюю колбу, куда подавались электрические разряды (как молнии на ранней Земле). По охлаждаемой трубке конденсировавшийся пар возвращался в нижнюю колбу, обеспечивая постоянную циркуляцию.

После недели непрерывного цикла Миллер и Юри обнаружили, что десятая часть углерода перешла в органическую форму. Немного углерода оказалось в виде аминокислот, причем глицин оказался наиболее распространенной из них. Были также обнаружены сахар, липиды и предшественники нуклеиновых кислот. Конечно этот эксперимент сам по себе не дает оснований считать, что формирование органических соединений на ранней Земле шло подобным путем. Более того для известных форм живого характерна единая хиральность, а в абиогенном синтезе образуются в равных

пропорциях оптические изомеры обоих типов. Но значение этого эксперимента в том, что он продемонстрировал принципиальную возможность возникновения органических соединений абиогенным путем.

Следующим заметным шагом в этом направлении были опыты Фокса (ссылку). В этих экспериментах набор аминокислот нагревался до 800 градусов без доступа кислорода и затем охлаждался в результате чего образовывались полипептиды, проявляющие каталитическую активность. Эти полипептиды отличались по структуре от белков, но опять же, главное, что была продемонстрирована возможность абиогенного возникновения органических катализаторов. Позднее была показана возможность возникновения аминокислот в условиях, аналогичных условиям подводных гейзеров.

Позже было показано, что самореплицирующиеся пептидные системы в состоянии эффективно усиливать синтез молекул определенной хиральности, таким образом, преобладание одного из стереоизомеров могло возникнуть естественным образом. Кроме того, показано, что существует возможность спонтанного возникновения хиральности в обычных химических реакциях, известны пути синтеза ряда стереоизомеров, в том числе, углеводов и аминокислот, в присутствии катализаторов.

Однако доказательство возможности абиогенного синтеза органических соединений не решает проблему происхождения жизни, поскольку живая клетка, это не совокупность определенного набора органических веществ, а в первую очередь — специальным образом организованная структура. Могла ли самая простая живая клетка случайно собраться из имеющихся органических веществ.

2.2.2 Невозможность самосборки простейшей живой клетки

Получить представление о вероятности случайной сборки бактериальной клетки можно на основе оценки времени, необходимого для перебора всех возможных вариантов не очень длинной полипептидной (белковой) цепи длиной в 100 аминокислотных остатков.

Допустим, что на каждом квадратном нанометре океанской поверхности происходит сборка одного варианта цепи за 10^{-8} секунд. Общее количество комбинаций из 20 аминокислот в цепочке длиной 100 равно 20^{100} или $\approx 10^{130}$. Площадь Земли составляет примерно 10^{32} нм². Тогда, для бесповторного перебора всех возможных вариантов комбинаций аминокислот в цепочке потребуется $10^{130} \times 10^{32} \times 10^{-8} = 10^{90}$ секунд. Для сравнения, возраст Вселенной оценивается сейчас величиной 1010 лет или $\approx 10^{17}$ секунд. Такое чудовищное время потребуется для перебора всех вариантов полипептида с длиной, примерно соответствующей длине инсулина — не самого большого белка. Жизнедеятельность бактериальной клетки обеспечивается набором из ≈ 1000 ферментов, то есть белковых макромолекул длиной в среднем 300 аминокислотных остатков. Отсюда

следует, что самосборка организма является предельно невероятным событием и, очевидно, жизнь зарождалась по-иному. Парадокс Кастлера состоит в том, что самосборка простейшей клетки представляет собой невероятное событие, и, в то же время, палеонтологические данные указывают на то, что жизнь на Земле возникла почти сразу же (по геологическим масштабам), как только сконденсировалась вода [11].

По-видимому, единственным, соответствующим современным представлениям сценарием происхождения жизни, является формирование простейшей пробиотической системы, которая в результате постепенного нарастания сложности превратилась на каком-то этапе этого процесса превратилась в живую. То есть живая клетка является продуктом химической эволюции от существенно более простых молекулярных пробиотических систем. Впервые эту идею предложил Опарин в 1924 году. Позднее ее высказал Холдейн, который предложил термин «химическая эволюция».

2.2.3 Необходимые условия для запуска химической эволюции, требования к предшественнику живой клетки

Исходно пробионт должен быть весьма просто устроен, чтобы вероятность его самосборки была достаточно высока и среднее время самосборки укладывалось в геологические масштабы времени. Кроме того, естественно, предполагается, что он существует рядом с достаточно стабильным источником доступной химической энергии. По современным представлениям наиболее вероятными зонами возникновения жизни являются подводные прибрежные гейзеры, извергающие энергосодержащие (в первую очередь, серосодержащие) соединения. Близость к берегу необходима для того, чтобы мог осуществляться цикл: формирование органических мономеров в результате различных факторов — электрических разрядов, радиации, УФ, деятельности самих гейзеров; отлив, высыхание прибрежных луж, что способствует протеканию реакции поликонденсации; смыв синтезированных полимеров в море в окрестности гейзера.

- **Фазовая обособленность.** В ряде публикаций [?] показано, что химическая эволюция не может идти в растворе — необходимо, чтобы пробионты представляли собой фазовообособленные системы.
- **Способность к самовоспроизведению.** На уровне простых химических систем самовоспроизведение называется автокатализом. В данном случае необходимо, чтобы пробионт в целом представлял собой фазовообособленную автокаталитическую систему. Самовоспроизведение себе подобных в биологии по сути есть превращенная, развитая форма автокатализа.
- **Мутабельность.** Способности к автокатализу недостаточно, чтобы запустить химическую эволюцию. Необходимо, чтобы автокаталитическая система была спо-

собна к модификации, к усложнению. Известно достаточно много автокаталитических реакций, но они способны воспроизводить только один, заданный тип автокатализатора. Наиболее вероятным типом автокатализатора, способного к усложнению, являются линейные гетерогенные полимерные катализаторы, синтез которых обеспечивается реакцией одного типа — реакцией полимеризации или поликонденсации, а различные последовательности мономеров в полимерной цепочке способны приводить к различным пространственным конфигурациям и, как следствие, к различным каталитическим функциям.

Принятие гипотезы химической эволюции снимает проблему самосборки, однако проблема Кастлера не устранена, она приобрела эволюционную форму. Действительно, если мы хотим объяснить возникновение жизни на Земле именно в той форме, как мы ее знаем, то нам нужно прописать причинно-следственную цепочку, которая привела от пробионта к Земной форме жизни. Возможны два варианта разрешения эволюционной проблемы Кастлера:

- сами законы физики определяют форму жизни, т.е. в условиях, сходных с земными, должна возникнуть в точности такая же форма жизни;
- отказаться от попыток объяснить возникновение именно земной формы жизни.

Вариант (1) представляется крайне маловероятным, если посмотреть даже на историю развития земной жизни. Действительно, трудно предположить, что все перипетии эволюции определяются законами физики.

Для объяснения второго варианта хорошо подходит аналогия с погодной эрозией скал. Является ли научным вопрос: «Почему данная скала похожа, например, на птицу?». Самый адекватный ответ: «Ни почему. Так вышло».

Действительно, в формировании конечного птичьего облика скалы играло роль множество факторов: структура скалы, определившаяся в ходе тектонических процессов, конкретная погода в течение сотен лет. Можно изучать общие закономерности погодной эрозии, ее темпы, но направление изучать и прогнозировать по-видимому невозможно. Не исключено, что похожая ситуация с формированием конкретной реализации формы жизни. Мы не можем объяснить, почему жизнь такая, но можно проработать общий сценарий возникновения живых форм. В качестве не очень сильного аргумента в пользу второго варианта является тот факт, что любая функция может выполняться множеством различных, часто не родственных структур, а значит и интегральная функция под названием «жизнь» тоже может быть реализована различными структурами.

2.3 Экстремальные принципы в биологии

Физическая каузальность и биологический финализм. Принципы максимальной простоты, оптимальной конструкции, адекватной конструкции. Частные принципы оптимальности.

2.3.1 Физическая каузальность и биологический финализм

Биологическая эволюция определяется преимущественным выживанием популяций, более приспособленных к условиям среды. Соответственно строение организма характеризуется такой приспособленностью и адаптацией к определенной экологической нише. Поэтому в биологии естественным образом возникает финалистическая трактовка изучаемых явлений. Развитие зиготы во взрослый организм можно описывать, пользуясь понятием цели: целью развития является создание приспособленного организма. Уже на ранних стадиях эмбриогенеза определенные группы клеток предназначены для развития в определенный орган, и этим задается их функциональность на всех уровнях, вплоть до молекулярного [12].

Организм подобен машине, построенной по плану для достижения определенных целей. Более того, это машина высшего уровня сложности, способная целесообразно реагировать на заранее не запланированные события. Пример — производство организмом высшего животного антител в ответ на практически любые антигены, в том числе и искусственные, с которыми никогда не приходится встречаться в природе. Финалистическое описание непосредственно следует из историчности живых организмов. Оно не свойственно обычной физике и химии. Очевидна бессодержательность такого, например, утверждения: «Ионы натрия и хлора взаимодействуют друг с другом для того, чтобы построить кубический кристалл». Напротив, утверждение «...так как ионы Na^+ и Cl^- имеют единичные заряды и такие-то радиусы, ионный кристалл $NaCl$ должен быть кубическим» имеет ясный смысл [12].

Биологи часто задают вопрос «для чего?», физики спрашивают «почему?». Очевидно, что истинный научный смысл имеет именно второй вопрос. Физика и естествознание в целом каузальны — наука ищет причины (causa) явлений. В действительности нет противоречия между финализмом и каузальностью, и указанное различие между физикой и биологией является внешним. Финализм возникает в физике всякий раз, когда мы встречаемся с проблемами устойчивости, с вариационными принципами. Мы имеем в виду устойчивость в строгом математическом смысле, по Ляпунову (см. гл. 15). Устойчивое состояние динамической системы сохраняется при малых возмущениях — система, будучи отклонена от этого состояния, в него возвращается. Финалистическая формулировка: система стремится сохранить свое состояние. Напротив, неустойчивое

состояние необратимо изменяется при малом возмущении — система стремится перейти в другое состояние. Пример — состояния равновесия физического маятника, устойчивое и неустойчивое [12].

Вариационный принцип всегда финалистичен. Так, согласно принципу наименьшего действия Гамильтона, вариация действия равна нулю, действие минимально. «Цель механической системы состоит в ее наименьшем действии». Но, как показывает классическая механика, принцип Гамильтона эквивалентен уравнениям движения Лагранжа, в свою очередь следующих из второго закона Ньютона. Этот закон каузален, он описывает ускоренное движение как результат действия сил. Другие примеры финалистически формулируемых законов физики: принцип Ферма в оптике, принцип Ле Шателье в термодинамике, правило Ленца в электродинамике. Вариационный финализм сводится к каузальности [12].

2.3.2 Оптимальность в биологии

Вопрос об оптимальности в биологии подробно изучался Н. Рашевским и Р. Розеном. Основой для их рассуждений является естественный отбор, в результате которого живые организмы приобретают признаки, оптимальные для данных условий, т.е. такие, которые не скажутся отрицательно на их способности конкурировать с соперниками.

Любой организм, одноклеточный и многоклеточный осуществляет ряд биофизических, биохимических и иных функций. Большинство этих функций помимо характеристик, описывающих собственно функционирование имеют также количественные характеристики, которые можно было бы назвать ценой реализации функции. В качестве наглядных примеров можно привести: количество оборотов фермента в секунду с одной стороны и его специфичность; для достижения высокой скорости бега нога должна иметь достаточную длину, однако это приводит к увеличению ее веса; то же самое относится к клыкам наиболее ярко выраженным у саблезубых тигров.

2.3.3 Принцип максимальной простоты

Одни и те же функции при одинаковой их интенсивности, вообще говоря, могут выполняться несколькими различными структурами. В 1943 году был предположительно сформулирован принцип, согласно которому та конкретная структура или конструкция, которую мы действительно находим в природе, является *простейшей* из возможных структур или конструкций, способных выполнять данную функцию или группу функций.

Применение этого принципа состоит в рассмотрении различных механизмов (то есть моделей), способных выполнять заданную функцию. Из этих моделей выбирается самая простая. Затем к разным моделям применяется **принцип максимальной простоты**.

Как всякий общий принцип он должен быть применим к любой данной ситуации. Однако простота — понятие несколько неопределенное. Не существует такой «единицы» с помощью которой можно было бы количественно оценить простоту во всех случаях. Нечто простое с одной точки зрения (устройство) может быть в другом аспекте может быть сложным (формирование).

2.3.4 Принцип оптимальной конструкции

В 1954 году Рашевским предложен принцип оптимальной конструкции, согласно которому органическая структура, необходимая для выполнения данной функции, должна быть оптимальна в отношении нужного количества материала и необходимых затрат энергии.

Основная гипотеза заключается в том, что организмы, обладающие биологической структурой, оптимальной в отношении естественного отбора, оптимальны также и в том смысле, что они минимизируют некоторую оценочную функцию (принцип оптимальной конструкции). Эта функция определяется исходя из основных характеристик окружающей среды.

Был предложен ряд частных принципов оптимальной конструкции, которые дают хорошее соответствие расчетных величин реальным для этих частных случаев.

2.3.5 Частные принципы оптимальности

Одно из приложений принципа оптимальной конструкции — **моделирование кровеносной системы**. Рассмотрена задача нахождения оптимального угла отклонения боковой ветви от основного ствола. Радиусы ствола и ответвления известны: r_0 и r_1 . В качестве оценочной функции выбирается сопротивление кровеносной системы, которое согласно принципу оптимальности должно быть минимальным (АДС на Рис. 2.3) [13].

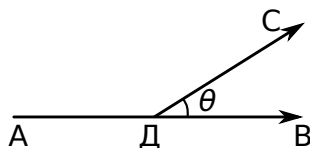


Рисунок 2.3 — Отхождение бокового сосуда [13]

Полного сопротивления RT участка АДС от угла ответвления θ зависит так:

$$R_T(\theta) = const + k\lambda_0 \left(\frac{\operatorname{cosec} \theta}{r_1^4} - \frac{\operatorname{ctg} \theta}{r_0^4} \right), \quad (2.1)$$

где k — коэффициент пропорциональности, зависящий от вязкости и плотности жидкости;

λ_0 — длина отрезка CB .

Продифференцируем $R_T(\theta)$ по θ и приравняем результат нулю. Получим оптимальное значение θ :

$$\theta_{min} = \arccos\left(\frac{r_1^4}{r_0^4}\right). \quad (2.2)$$

Следующим шагом является рассмотрение разветвления сосудов (Рис. 2), где оценочной функцией здесь выступает мощность, рассеиваемая при движении жидкости.

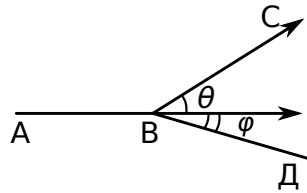


Рисунок 2.4 — Разветвление сосудов

$$P_T = f^2 R_T + KV, \quad (2.3)$$

где f — поток жидкости;

K — постоянный коэффициент пропорциональности;

R_T — полное сопротивление;

V — объем изучаемого участка.

Полученные оптимальные значения углов разветвления сравнивали с реальными углами системы кровеносных сосудов кошки и получили хорошие совпадения. Оптимальный радиус аорты, обеспечивающий экономию материала и одновременно предотвращающий возникновение турбулентности, тоже соответствует реальности. То же относится к параметрам сердечного цикла, ударным объемом сердца, диапазон изменений кровяного давления между систолой и диастолой.

Развитие описанных методов позволяет найти оптимальный радиус отходящей ветви, радиус аорты, а также общее число капилляров, в предположении, что сосуды образуются в результате разветвления более крупного сосуда. Полученные результаты совпадают с эмпирическими данными.

Принцип минимума общего осмотического давления. С. Шустер и Р. Гейнрих применяли метод условной экстремизации при изучении стационарного течения биохимических реакций. Они принимают, что общее осмотическое давление промежуточных продуктов в реакции можно записать в виде:

$$\Omega = \sum_{i=1}^n g_i(x_i)x_i, \quad (2.4)$$

где x_i и g_i обозначают, соответственно, концентрацию и коэффициент осмотического

давления i -го промежуточного продукта реакции (зависимость g_i только от x_i является упрощающим предположением).

Естественно, что осмотическое давление в клетке не может превосходить некоторой критической величины. Поэтому авторы считают, что при стационарном течении реакции, при котором все x_i не зависят от времени, Ω должно принимать минимальное значение при ограничениях:

$$\sum_{i=1}^n c_{ij} \ln x_j \leq \ln \hat{q}_j, \quad j = 1, \dots, r \quad (2.5)$$

где \hat{q}_j — некоторые равновесные константы реакции, c_{ij} — элементы стехиометрической матрицы реакционной системы.

Таким образом, при стационарном течении реакции, концентрации промежуточных продуктов, $i = 1, \dots, n$, находятся как решения следующей задачи:

$$\begin{cases} \sum_{i=1}^n g_i(x_i) x_i \rightarrow \min; \\ \sum_{i=1}^n c_{ij} \ln x_j \leq \ln \hat{q}_j, \quad j = 1, \dots, r. \end{cases} \quad (2.6)$$

Логистическое уравнения как экстремаль функционала действия. Один из способов применения целевой функции состоит в формулировании общего утверждения относительно поведения системы. Хорошо известные экстремальные принципы относятся к этому случаю. В экологии предпринимались попытки использования этого подхода для получения уравнения роста популяции, точнее, рассматривалась обратная задача: записать действие, которое приведет к специальному уравнению роста.

В качестве функционала действия, который приведет к логистическому уравнению роста популяции численности n , было рассмотрено следующее выражение:

$$S = \int \left[\frac{1}{2} \left(\frac{\dot{n}}{n} \right)^2 + \frac{1}{2} r^2 \left(1 - \frac{n}{k} \right)^2 \right] dt \quad (2.7)$$

Для упрощения вычисления была сделана замена переменных:

$$\begin{cases} S = \int \left[\frac{1}{2} \dot{x}^2 - V(x) \right] dt, \text{ где } x = \ln \left(\frac{n}{k} \right); \\ V(x) = -\frac{1}{2} r^2 (1 - e^x). \end{cases} \quad (2.8)$$

Согласно вариационному принципу, уравнение эволюции $x(t)$ задается требованием $dS = 0$ (экстремальность действия). После вычислений получим динамическое уравнение

$$\ddot{x}^2 = -r^2 e^x (1 - e^x). \quad (2.9)$$

Чтобы сравнить этот результат с логистическим уравнением

$$\frac{dn}{dt} = rn \left(1 - \frac{n}{k}\right), \quad (2.10)$$

его переписали в переменных $x = \ln \left(\frac{n}{k}\right) \Rightarrow \dot{x} = r(1 - e^x)$ и продифференцировали:

$$\ddot{x}^2 = -r^2 e^x (1 - e^x). \quad (2.11)$$

Полученное совпадение показывает, что любое решение логистического уравнения является решением динамического уравнения, выведенного из функционала действия. Однако не любое решение уравнения $\ddot{x}^2 = -r^2 e^x (1 - e^x)$ является решением логистического уравнения. Для выявления взаимосвязи между данными уравнениями было проведено исследование полученного уравнения эволюции. После соответствующих преобразований и интегрирования было получено выражение

$$\frac{1}{2} \left(\frac{\dot{n}}{n}\right)^2 + \frac{1}{2} r^2 \left(1 - \frac{n}{k}\right)^2 = R, \quad R = \text{const} \quad (2.12)$$

Уравнение эволюции характеризуется константой R : при $R > 0$ популяция неограниченно растет, при $R < 0$ популяция достигает максимального значения, а затем уменьшается до 0. Значение $R = 0$ приводит к логистическому уравнению, тем самым, показывая, что логистический рост — это особый случай равновесия между неограниченным ростом и затуханием:

$$S = \int \left[\frac{1}{2} \left(\frac{\dot{n}}{n}\right)^2 + \frac{1}{2} r^2 \left(1 - \frac{n}{k}\right)^2 \right] dt \quad (2.13)$$

Рассмотрен также вопрос об интерпретации введенного таким образом «биологического» действия.

Описание в терминах кинетической и потенциальной энергии неприемлемо, поскольку ведет к неизменности общей энергии системы (экологические системы обычно подразумеваются открытыми).

По аналогии с физикой, где действие разделено на свободное движение и взаимодействие, предлагалось рассматривать введенное действие как сумму члена, описывающего популяцию, которая не подвержена помехам в росте, и члена $V(x)$, описывающего внешнее влияние среды на популяцию. Однако, подобная интерпретация хорошо описывает лишь случай $V(x) = 0$, когда применение вариационного принципа приводит к уравнению экспоненциального роста.

2.3.6 Принцип адекватной конструкции

Большое количество частных принципов оптимальности, применимых в отношении конкретных органов или функций организма указывает на то, что должен существовать

еще более общий принцип. На роль такого принципа Рашевский предложил принцип адекватной конструкции.

Если задан некоторый набор функций организма или отдельного органа, то чтобы найти форму или структуру этого органа, биофизик должен идти таким же путем, каким идет инженер, конструируя устройство или машину для выполнения заданной функции. Конструкция должна быть адекватна заданной функции при заданных изменяющихся условиях среды.

Сформулированный принцип допускает, очевидно, не единственное решение проблемы формы и структуры. В органическом мире мы действительно находим организмы и органы, которые выполняют в основном одинаковые функции, но различны по своей форме. Однако организмы, выполняющие разные функции всегда различны по своей структуре. Так же обстоит дело и в технике.

Например: толщина тела должна быть примерно пропорциональна его длине в степени $3/2$.

2.4 Управление и информация в биологических системах

Связь между понятиями «управление», «сигнал» и «информация». Необходимость введения понятий «управление» и «информация» для описания специфики биологических систем. Мышление человека, как предельный известный нам уровень обработки информации.

2.4.1 Связь между понятиями «управление», «сигнал» и «информация»

При обсуждении ключевых признаков живого мы пришли к заключению, что способность осуществлять выбор является универсальным признаком живого существа и не встречается у неживых объектов естественного происхождения. Понятие «выбор» тесно связано с понятием «управление».

Об этой тесной связи говорит и то, что известный А.А. Ляпунов² связывал специфику живого с наличием управления:

«Для процессов жизнедеятельности характерно наличие специальных управляющих процессов. Последние отличаются тем, что передача небольших масс или порций энергии вызывает действия, состоящие в передаче гораздо больших энергий или масс. ...Управление можно объявить характеристическим свойством живого в широком смысле».

Использование понятия «управление» невозможно без понятий «цель управления», «сигнал», «датчик», «рабочий орган» и др. Эти понятия не относятся к понятиям физики. Но они не кажутся чужеродными в отношении биологических систем. Действительно, «цель», «сигнал», «ответная реакция», «рецептор» (датчик), «эффектор» (рабочий орган) — это слова из биологического словаря.

К сожалению, как это является обычным для начальных базовых понятий, нет общепринятых определений понятий управления и сигнала. Например, в технических отраслях знаний термин «сигнал» (signal, от латинского signum — знак) очень часто используется в широком смысловом диапазоне, без соблюдения строгой терминологии. Фактически эти понятия являются неопределимыми, и мы можем получить о них представление, рассматривая работу системы управления в целом, и вводя, для определенности, рабочие (то есть для данного конкретного случая) определения.

²Выдающийся советский математик, один из основоположников кибернетики. Не путать с его прадедушкой Александром Михайлович Ляпуновым, который жил веком ранее и разработал теорию устойчивости.

Для определения сигнала можно обратиться к приведенной выше цитате. **Сигналом называется передача небольших масс или порций энергии, которые вызывают действия системы, состоящие в передаче гораздо больших энергий или масс.** Тогда многие процессы в живом организме находят свое естественное описание в терминах сигнала и управления. Например, поток фотонов, попавший в светочувствительный элемент глаза, запускает целый каскад реакций, который завершается возникновением потока нервных импульсов, который, в конечном счете, после его обработки в мозгу может завершиться реагированием всего организма. Очевидно, что энергия фотонов, попавших на сетчатку, и энергетические затраты организма, связанные с его реакцией на сигнал не сопоставимы. Другим примером может служить аллостерическая регуляция активности какого-либо фермента, когда изменения в количествах молекул регулятора и продукта ферментативной реакции также не сопоставимы.

Появление определенного сигнала, вызывает конкретную реакцию биологической системы в определенных условиях, что означает осуществление выбора. Например, бактерия, попав в новую среду изначально «не знает» ее состава, а значит «не знает» какой набор транспортных ферментов необходим для роста. И только получив от рецепторов соответствующие сигналы, бактерия «решает» что ей нужно синтезировать для роста на данной среде. То есть бактерия осуществляет выбор, и поступление определенных сигналов с рецепторов уменьшило исходную неопределенность этого выбора. В данной ситуации напрашивается употребление еще одного широко распространенного термина «информация». Можно сказать, что бактерия получила информацию о состоянии среды и эта информация помогла ей осуществить правильный, выбор.

Что же такое информация?

Этимология термина «информация» восходит к латинскому глаголу *informare* — придавать форму разуму (интеллекту), формировать идею (представление о чем-либо) — обучать, инструктировать, дисциплинировать, тренировать. Информирование — это процесс, в результате которого разум приобретает форму. В этом смысле «информирование» сходно со славянским «образованием», в основе которого — образ, «обрезать», то есть отрезать лишнее. Исторически так сложилось, что измерять количество информации стали раньше, чем дали определение самой информации.

Мера количества информации была введена К.Э. Шенноном в 1948 г [14]. Количество информации в сообщении, содержащем N символов I_N , по Шеннону равно:

$$I_N = -N \sum_{i=1}^M p_i \log_2 p_i, \quad (2.14)$$

где M — число букв в алфавите,

p_i — частота встречаемости i -ой буквы в алфавите.

Двоичные логарифмы выбраны для удобства. При однократном бросании монеты

$M = 2$, $N = 1$, и $p = 1/2$. При этом получаем минимальное количество информации ($I = 1$), которое называется «бит».

В общем случае, когда делается выбор одного варианта из n возможных (реализующихся с априорной вероятностью $p_i, i = 1, 2, \dots, n$) количество информации выражается формулой:

$$I_N = -N \sum_{i=1}^n p_i \log_2 p_i, \quad \text{где } i = 1, 2, \dots, n. \quad (2.15)$$

Если все варианты равновероятны, т.е. $p_i = 1/n$, то: $I = \log_2 n$.

Выражения (2.14) и (2.15) описывают количество полученной, переданной, обработанной информации. Но информация имеет еще одну важную характеристику — ценность. Соотношение количества информации и ее ценности представляется важным для дальнейшего рассмотрения. Если любое сочетание букв в тексте является ценным, то количество ценной информации совпадает с ее полным количеством, но не может превышать ее. Это значит, что любая передача сигналов может содержать какое-то количество ценной (или осмысленной) информации, но может содержать и меньшее и не содержать вовсе. В этой связи количество информации в (2.16) можно назвать информационной тарой. Это понятие играет существенную роль при рецепции информации и/или обработке ее (в частности при перекодировке). Приведем пример.

Имеется текст на русском языке, содержащий N_r букв кириллицы (алфавит содержит 32 буквы). Перевод его на английский язык содержит N_e букв латинского алфавита (26 букв). Русский текст — результат выбора определенного варианта из $n_r = 32^{N_r}$ возможных. Английский перевод — выбор определенного расположения латинских букв, который предопределен русским текстом (рецепция информации). Число вариантов в английском тексте порядка 26^{N_e} . Количество ценной информации одинаково (если смысл не искажен), а количество информации различно.

Процессы генерации, рецепции и обработки ценной информации, сопровождаются «переливанием» информации из одной тары в другую. При этом, как правило, количество информации уменьшается, но количество ценной информации сохраняется. Пример, процесс трансляции генетической информации. Иногда «информационные тары» столь различны, что можно говорить об информации разного типа. Этот термин применяется к информации, имеющим одинаковый смысл и ценность, но сильно различающимся количественно, т.е. помещенными в разные тары. Но поскольку мы вышли к понятию информации через управление и осуществление системой выбора, то в контекст нашего рассмотрения лучше вписывается следующее рабочее определение: **«информация есть мера уменьшения неопределенности выбора»**.

Это определение практически совпадает с мерой ценности информации, предложенной А.А. Харкевичем:

$$V = \log_2 \frac{P}{p}, \quad (2.16)$$

где p — вероятность достижения цели **до** получения информации,

P — вероятность достижения цели **после** получения информации.

Априорная вероятность зависит от информационной тары или, что то же, полного количества информации I в (2.15): $p = 2^{-I}$. Так, если до получения информации все варианты равновероятны, то $p = 1/n$ (где n — число вариантов).

Апостериорная вероятность P может быть как больше, так и меньше p . В последнем случае ценность отрицательна и такая информация называется дезинформацией. Примером последней является червеобразный отросток над губой глубоководного курилщика, который привлекает жертв. Вид этого отростка несет отрицательную информацию с точки зрения целей жертвы. Таким образом, вероятность P находится в пределах $0 < P < 1$, и соответственно, $-\infty < V < V_{max}$.

Мера ценности информации, предложенная В.И. Корогодиным:

$$V = \frac{P - p}{1 - p}, \quad (2.17)$$

где обозначения совпадают с (2.16).

Эта мера обладает теми же свойствами, что и (2.16), но изменяется от 0 до 1, что иногда удобнее при сравнении ценностей информации в разных процессах ее возникновения, передачи и обработки.

Согласно (2.16) ценность информации зависит от величины p — вероятности достижения цели до получения информации, т.е. от того, какой предварительной (априорной) информацией уже располагает система, принимающая решение. Предварительная осведомленность называется тезаурусом. Если таковая отсутствует, то априорная вероятность во всех вариантах одинакова и равна $p = 1/n$ (где n — число вариантов). Если при этом после получения информации цель достигается наверняка ($P = 1$), то ценность этой информации максимальна и равна $V = V_{max} = \log_2 n$, то есть совпадает с максимальным количеством информации в данном множестве (в данной таре). Это совпадение не случайно, именно для этого была выбрана форма (2.16), при этом ценность информации можно понимать как количество ценной информации. Ценность информации субъективна.

Существует информация, которая на первый взгляд, ни для кого и никогда не может стать ценной. Пример: в тексте наборщик, переставил буквы так, что текст потерял всякий смысл. Количество информации сохранилось, но ценность его для кого бы то ни было, стала равна нулю. Так появляется понятие «осмысленность». В отличие от «ценности» это понятие претендует на объективность, что основано на следующем положении: в информационной таре, куда вмещена данная информация, можно выделить определенное количество информации, которая никогда ни для кого ни для какой цели не понадобится. Тогда эту информацию называют лишенной смысла. Объективность критерия основана на утверждениях: «ни для кого, никогда, ни для какой цели». Это

определение сильное, абсолютное, и как таковое, конечно не применимое к реальности. Так в приведенном примере можно сказать, что абракадабра, которую сотворил наборщик содержит ценную информацию для психиатра, цель которого — поставить наборщику диагноз. Поэтому утверждение «ни для кого» следует понимать: ни для кого, кого интересует смысл текста и ничего более.

Вопросы ценности и осмысленности информации особенно важны в отношении биологических систем, поскольку возникновение живого и его эволюция представляют собой возникновение ценной информации и ее эволюцию. Ценность информации эволюционирует: неценная информация становится ценной, бессмысленная — осмысленной и наоборот.

Глава 3

Термодинамика (малых систем)

3.1 Классическая термодинамика

Предмет термодинамики: чем занимается термодинамика. Значение термодинамики для биологии и биофизики. Функции состояния — язык термодинамики. Начала термодинамики. Температура как функция состояния (нулевое начало). Закон сохранения энергии (первое начало). Энтропия и энергия (второе начало).

3.1.1 Предмет термодинамики: чем занимается термодинамика

Термодинамика — это раздел физики, изучающий соотношения и превращения теплоты и других форм энергии. Современную термодинамику принято делить на термодинамику равновесных процессов, квазистатических (классическая термодинамика) и термодинамику неравновесных процессов (термодинамика необратимых процессов). Равновесная термодинамика вводит в рассмотрение новые переменные, такие как внутренняя энергия, температура, энтропия, химический потенциал, а также комбинации перечисленных величин. Все они носят название термодинамических параметров.

Классическая (квазистатическая) термодинамика занимается изучением общих свойств макроскопических систем в состоянии равновесия, а также общих закономерностей, имеющих место при установлении термодинамического равновесия [15]. Термодинамика изучает объекты только в состоянии термодинамического равновесия, под которым подразумевается состояние, в которое с течением времени приходит система, находящаяся при определенных внешних условиях и постоянной температуре окружающих тел. При достижении термодинамического равновесия система «забывает» предысторию и «помнит» только то, что сохраняется в силу законов сохранения (в изолированной системе это суммарные энергия, импульс и масса). Поэтому время в явном виде в термодинамику не входит. В этом смысле об обычной термодинамике говорят как о термостатике. Поскольку окружающие нас системы, не находятся в

состоянии термодинамического равновесия, термодинамическое равновесие есть некая абстракция, упрощенная модель, но в большинстве практически важных случаев она приводит к правильным результатам [15].

Предметом рассмотрения классической термодинамики служат связи термодинамических параметров друг с другом и с переменными других разделов физики (масса, давление, поверхностное натяжение, сила тока и другие). Химические и фазовые реакции (фазовые переходы первого рода) также есть предмет изучения классической термодинамики, поскольку в этом случае рассматриваются связи между массами компонентов системы и их химическими потенциалами.

3.1.2 Функции состояния — язык термодинамики

Функция состояния системы — величина, значение которой зависит только от состояния системы, а не от пути, которым оно достигнуто. Функциями состояния являются, например, температура, энергия, энтропия.

Напомним, что основными понятиями классической механики являются координаты и импульсы составляющих ее частиц. Квантовая механика описывает процессы на языке волновых функций. Термодинамика же разговаривает на языке функций состояния.

Термодинамика работает с функциями состояния, однако среди ее основных понятий имеются два — работа и теплота, — которым, вообще говоря, не соответствуют функции состояния. Понятие работы перекочевало в термодинамику из механики и имеет тот же смысл. Работа зависит от истории изменения объема системы. Суммарная работа, совершенная системой при изменении объема от значения V_1 до значения V_2 , равна сумме всех элементарных работ на этом пути:

$$A = \int_{V_1}^{V_2} p dV \quad (3.1)$$

Термин «теплота» исторически остался от несостоявшейся теории теплорода. Термин «количество теплоты» не очень удачен. Можно лишь говорить о количестве теплоты, например в калориях, которое подводится к системе вполне определенным образом. Причем количество теплоты, передаваемое телу, будет зависеть от способа подвода.

И работа и количество теплоты не являются полными дифференциалами, поэтому малые приращения этих величин мы везде будем указывать как δA и δQ .

Изолированная система (газ в сосуде с теплоизолирующими стенками) независимо от своего начального состояния в конечном итоге приходит в состояние, которое в дальнейшем уже не меняется. Это конечное состояние называется состоянием теплового равновесия. На микроскопическом уровне материальные частицы продолжают свое сложное движение, но на макроскопическом уровне состояние является простым и определяется несколькими параметрами (температурой, давлением). Если между двумя

системами устанавливается физический контакт, то суммарная система приходит в состояние теплового равновесия. Это равновесие не нарушится, если устранить контакт между системами, а затем через некоторое время восстановить его.

Термодинамика исторически возникла как эмпирическая наука об основных способах преобразования внутренней энергии тел для совершения механической работы. Однако в процессе своего развития термодинамика проникла во все разделы физики, химии и биологии, где возможно ввести понятие «температура» и позволила теоретически предсказать многие явления задолго до появления строгой теории этих явлений.

3.1.3 Начала термодинамики

3.1.4 Температура как функция состояния (0-ое начало)

0. Нулевое начало термодинамики постулирует существование термодинамического равновесия и вводит понятие абсолютной температуры.

Термодинамическое равновесие. Для каждой изолированной термодинамической системы существует состояние термодинамического равновесия, которого она при фиксированных внешних условиях с течением времени самопроизвольно достигает. Если две изолированные системы A и B приведены в контакт друг с другом, то после достижения термодинамического равновесия полной системой $A+B$ системы A и B находятся в состоянии теплового (термического) равновесия друг с другом. При этом каждая из систем A и B в отдельности также находится в состоянии термодинамического равновесия. Это равновесие не нарушится, если устранить контакт между системами, а затем восстановить его. Следовательно, если установление контакта между двумя системами A и B , которые до этого были изолированными, не приводит ни к каким изменениям, то эти системы находятся в тепловом равновесии друг с другом.

Закон транзитивности теплового равновесия. Если системы A и B находятся в тепловом равновесии и системы B и C находятся в тепловом равновесии, то системы A и C также находятся в тепловом равновесии между собой. На основании этого закона делается вывод о существовании абсолютной температуры как термодинамического параметра, обладающего свойствами эмпирической температуры, но не зависящего от способа ее измерения. Равенство температур есть условие теплового равновесия систем (или частей одной и той же системы).

Состояние каждой из систем A , B и C характеризуется давлением p и объемом V . Когда мы говорим, что между двумя системами существует равновесие, то это значит, что объем и давление одной системы связаны с объемом и давлением другой системы. Таким образом, для трех систем в равновесии существуют три функциональных

соотношения [15]:

$$\begin{aligned} F_1(p_A, V_A, p_B, V_B) &= 0, \\ F_2(p_A, V_A, p_C, V_C) &= 0, \\ F_3(p_C, V_C, p_B, V_B) &= 0. \end{aligned} \quad (3.2)$$

Эти соотношения удовлетворяются, если каждую функцию представить в виде:

$$\begin{aligned} F_1 &= f_A(p_A, V_A) - f_B(p_B, V_B), \\ F_2 &= f_A(p_A, V_A) - f_C(p_C, V_C), \\ F_3 &= f_B(p_B, V_B) - f_C(p_C, V_C). \end{aligned} \quad (3.3)$$

Если теперь одну из систем, например A , использовать как термометр, то значение функции $f_A(p_A, V_A) = \Theta$ можно рассматривать как эмпирическую температуру. Сами же уравнения:

$$f_A(p_A, V_A) = f_B(p_B, V_B) = f_C(p_C, V_C) = \Theta, \quad (3.4)$$

называются уравнениями состояния. В случае идеального газа это уравнение Менделеева—Клапейрона:

$$PV = \nu RT \quad (3.5)$$

3.1.5 Закон сохранения энергии (первое начало)

1. Первое начало. Каждая термодинамическая система обладает характеристической функцией состояния — энергией. Эта функция состояния возрастает на величину сообщенного системе тепла δQ и уменьшается на величину совершенной системой внешней работы δA . Для изолированной системы справедлив закон сохранения энергии [15].

Первое начало термодинамики можно записать в виде:

$$dU = \delta Q - \delta A \quad \text{или} \quad \delta Q = dU + \delta A, \quad (3.6)$$

где dU — внутренняя энергия, характеристическая функция состояния. Второе из этих уравнений удобнее для словесной формулировки первого начала: теплота поглощенная телом идет на увеличение внутренней энергии тела и на совершение работы против внешних к системе сил. Внутренняя энергия включает энергию хаотического (теплового) движения всех микрочастиц системы (молекул, атомов, ионов и т.д.) и энергию взаимодействия этих частиц.

Для изолированной системы, то есть для системы, не обменивающейся с окружающей средой ни веществом, ни энергией $dU = 0$ и, следовательно, $U = \text{const}$, то есть имеет место закон сохранения энергии.

В циклическом процессе внутренняя энергия не изменяется:

$$\oint dU = 0 \Rightarrow \oint \delta Q - \oint \delta A = 0 \Rightarrow \oint \delta Q = \oint \delta A \quad (3.7)$$

Откуда очевидно, что совершение работы без подвода теплоты невозможно. Поэтому первое начало термодинамики часто формулируют как невозможность существования вечного двигателя первого рода, который совершал бы работу, не черпая энергию из какого-либо источника.

Покажем, что теплота не является полным дифференциалом.

$$\left. \begin{aligned} \delta Q &= dU + p dV \\ dU &= \left(\frac{\partial U}{\partial T} \right)_V dT + \left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_T dV \end{aligned} \right\} \Rightarrow \delta Q = \left(\frac{\partial U}{\partial T} \right)_V dT + \left[\left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_T + p \right] dV \quad (3.8)$$

Вспомним необходимые условия существования полного дифференциала. Выражение:

$$P(x, y)dx + Q(x, y)dy, \quad (3.9)$$

является полным дифференциалом некоторой функции

$$z = F(x, y) \quad (3.10)$$

тогда и только тогда, когда выполняется равенство:

$$\frac{\partial P(x, y)}{\partial y} = \frac{\partial Q(x, y)}{\partial x} \quad (3.11)$$

Допустим, что $\delta Q = 0$ является полным дифференциалом. Тогда для частных производных уравнения (3.8) должно выполняться равенство:

$$\frac{\partial}{\partial V} \left(\frac{\partial U}{\partial T} \right)_V = \frac{\partial}{\partial T} \left[\left(\frac{\partial U}{\partial V} \right)_T + p \right], \quad (3.12)$$

но $\left(\frac{\partial p}{\partial T} \right)_V \neq 0$, что и доказывает, что теплота не является полным дифференциалом.

3.1.6 Энтропия и энергия (второе начало)

Для начала введем необходимые определения для процессов и систем:

- **Обратимым термодинамическим процессом** называется термодинамический процесс, допускающий возможность возвращения системы в первоначальное состояние без того, чтобы в окружающей среде остались какие-либо изменения. Необходимым и достаточным условием обратимости термодинамического процесса является его равновесность.

- **Стационарное состояние системы** называется равновесным, если его неизменность во времени не обусловлена протеканием какого-либо внешнего по отношению к системе процесса.
- **Равновесным процессом** называется процесс, при котором система проходит непрерывный ряд равновесных состояний.
- **Необратимым термодинамическим процессом** называется термодинамический процесс, не допускающий возможности возвращения системы в первоначальное состояние без того, чтобы в окружающей среде остались какие-либо изменения.
- **Все реальные процессы** протекают с конечной скоростью. Они сопровождаются трением, диффузией и теплообменом при конечной разности между температурами системы и внешней среды. Следовательно, все они **неравновесны и необратимы**.

Второе начало термодинамики. Каждая термодинамическая система обладает функцией состояния, называемой энтропией. Энтропия вычисляется следующим образом: система переводится из произвольно выбранного начального состояния в соответствующее конечное состояние через последовательность состояний равновесия; вычисляются все подводимые при этом к системе порции тепла δQ , каждая делится на соответствующую ей абсолютную температуру T , и все полученные таким образом значения суммируются. При реальных (неравновесных) процессах энтропия изолированной системы возрастает.

Если обозначить энтропию через S , то из этого определения следует, что приращение энтропии:

$$dS = \frac{\delta Q}{T} \quad (3.13)$$

Если подставить таким образом определенную энтропию в выражение для первого начала термодинамики, то получится соотношение

$$TdS = dU + \delta A, \quad (3.14)$$

которое известно в литературе как соотношение Гиббса. Это фундаментальное уравнение объединяет первое и второе начала, и в нем по существу заключена вся равновесная термодинамика.

Некоторые из формулировок второго начала термодинамики:

- Постулат Томсона (Кельвина): невозможен процесс, единственным результатом которого является совершение работы, эквивалентной количеству теплоты, полученному от нагревателя;

В. Постулат Клаузиуса: невозможен процесс, единственным результатом которого является передача энергии в форме тепла от холодного тела к горячему;

С. вечный двигатель второго рода невозможен.

Энтропия физической однородной системы является функцией двух независимых параметров состояния, например p и T или T и V (масса системы предполагается неизменной).

$$\begin{cases} S(V, T) = \int_0^T C_V \frac{dT}{T} + S_0 \\ S(p, T) = \int_0^T C_p \frac{dT}{T} + S_0 \end{cases} \quad (3.15)$$

Откуда получаем:

$$S_2 - S_1 = \int_1^2 \frac{\delta Q}{T_{\text{обп}}}, \quad (3.16)$$

— изменение энтропии в любом обратимом процессе.

3.2 Термодинамические потенциалы

Внутренняя энергия. Энтальпия. Термодинамический потенциал Гельмгольца. Термодинамический потенциал Гиббса. Вычисление энтропии.

Характеристической функцией называется функция состояния системы, посредством которой, а также ее производных могут быть явно выражены термодинамические свойства системы.

Термодинамическим потенциалом называется характеристическая функция, убыль которой в равновесном (обратимом) процессе, протекающем при неизменных значениях определенной пары термодинамических параметров (T, V, p, S) , равна — полной работе, произведенной системой, за вычетом работы против внешнего давления:

$$\delta A^* \leq TdS - dU - pdV \quad (3.17)$$

здесь знак меньше соответствует случаю необратимых процессов.

Из (уравнения выше) следует, что при постоянном объеме и при отсутствии обмена теплотой с внешней средой (адиабатический процесс) $(V, S = \text{const})$ внутренняя энергия является термодинамическим потенциалом:

$$\delta A^* \leq -(dU)_{S,V}. \quad (3.18)$$

Однако обычно измерения ведутся не при постоянном объеме, а при постоянном внешнем давлении. Для того, чтобы перейти к другой паре термодинамических параметров (p, S) прибавим и отнимем от (выражение для вн.энергии) выражение Vdp . Тогда группируя $-pdV$ и $-Vdp$ приходим к новому термодинамическому потенциалу — энтальпии $(H(p, S) = U + pV)$. В изменение энтальпии помимо собственно изменения энергии тела, входит работа, совершенная против постоянного внешнего давления при изменении объема этого тела:

$$\delta A^* \leq TdS - dH - Vdp. \quad (3.19)$$

Из (уравнения выше) следует, что при постоянном давлении и при отсутствии обмена теплотой с внешней средой $(p, S = \text{const})$ энтальпия является термодинамическим потенциалом:

$$\delta A^* \leq -(dH)_{S,p}. \quad (3.20)$$

Однако адиабатическое приближение применимо либо в условиях хорошей теплоизоляции реакционной зоны, либо к быстро протекающим реакциям, когда вкладом теплового обмена с внешней средой можно пренебречь. Практически гораздо легче поддерживать в реакционной зоне постоянную температуру. Для этих условий нужно

использовать соответствующий термодинамический потенциал. Поскольку нам нужно, чтобы вместо дифференциала по S в выражении появился дифференциал по T , то к выражению (ссылка на энергию) нужно прибавить и отнять SdT . Тогда выделяя $d(ST)$ и группируя его с dU переходим к свободной энергии Гельмгольца ($F(V, T) = U - TS$):

$$\delta A^* \leq -dF - SdT - pdV. \quad (3.21)$$

Теперь при постоянных температуре и объеме ($V, T = \text{const}$) термодинамическим потенциалом является свободная энергия Гельмгольца:

$$\delta A^* \leq -(dF)_{V,T}. \quad (3.22)$$

Более вероятному, более стабильному состоянию системы отвечает то, где ниже F , а самому стабильному состоянию системы (при заданной температуре и фиксированном объеме этой системы) отвечает минимум свободной энергии F . «Свободная энергия» — естественное расширение обычного понятия «энергия» на случай, когда система обменивается теплом с окружающей средой.

Теперь мы переходим к термодинамическому потенциалу, который в наибольшей степени соответствует типичным условиям биологического и биохимического эксперимента, который проводится в условиях постоянного давления (т.е. не в герметичной камере) и при поддержании постоянной температуры. Используя аналогичные вышеприведенным преобразования приходим к потенциалу или свободной энергии Гиббса ($G(p, T) = U + pV - TS$):

$$\delta A^* \leq -dG - SdT + Vdp. \quad (3.23)$$

Запомним, что для типичных лабораторных условий ($p, T = \text{const}$) термодинамическим потенциалом является свободная энергия Гиббса:

$$\delta A^* \leq -(dG)_{p,T}. \quad (3.24)$$

Для растворов при атмосферном давлении разница между E и H , а также между F и G незначительна, поскольку величина PV много меньше, чем тепловая энергия тела. Поэтому для расчетов вместо энергии Гиббса можно использовать энергию Гельмгольца. Однако стоит запомнить, что обсуждая процессы, протекающие в замкнутом объеме, следует употреблять буквы E и F , а при постоянном давлении — H и G .

3.3 Химический потенциал

Понятие химического потенциала. Химический потенциал как критерий химического равновесия. Сопоставление с критериями механического и теплового равновесия.

3.3.1 Понятие химического потенциала

Энергия Гиббса (изобарно-изотермический потенциал, свободная энтальпия, свободная энергия Гиббса) представляет собой характеристическую функцию: $G(p, T, n_1, \dots, n_k)$ термодинамической системы, где давление p , температура T , количество вещества в системе n_1, n_2, \dots, n_k — независимые параметры.

Если система является закрытой, то химический состав (n_1, n_2, \dots, n_k) ввиду его постоянства можно не включать явным образом в термодинамическое описание.

В открытой системе химический состав может изменяться, поэтому необходимо вводить новые переменные — концентрации (x_1, x_2) или количество вещества (n_1, n_2) веществ X_1, X_2 данного вида.

Энергия Гиббса пропорциональна числу частиц в системе и используется для описания открытых систем, в которых возможен обмен веществом с окружающими телами.

Химическим потенциалом вещества X в данной системе называется величина, которая определяется энергией Гиббса, приходящейся на моль данного вещества в заданных условиях:

$$\mu(X) = \frac{G(X)}{n(X)}, \quad (3.25)$$

где $\mu(X)$ — химический потенциал вещества X , Дж/моль;

$G(X)$ — энергия Гиббса вещества X в системе, Дж;

$n(X)$ — количество вещества X в системе, моль.

Если система состоит из нескольких компонентов X_1, X_2, \dots, X_k в количестве n_1, n_2, \dots, n_k , то энергия Гиббса термодинамической системы описывается следующим образом:

$$G = n_1\mu_1 + n_2\mu_2 + \dots + n_k\mu_k. \quad (3.26)$$

Для системы с многокомпонентным составом полный дифференциал энергии Гиббса равен сумме частных дифференциалов:

$$\begin{aligned} dG = & \left(\frac{\partial G}{\partial p} \right)_{T,n} dp + \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_{p,n} dT + \left(\frac{\partial G}{\partial n_1} \right)_{p,T} dn_1 + \\ & + \left(\frac{\partial G}{\partial n_2} \right)_{p,T} dn_2 + \dots + \left(\frac{\partial G}{\partial n_k} \right)_{p,T} dn_k. \end{aligned}$$

Поскольку энергия Гиббса — характеристическая функция системы, через нее можно получить все остальные термодинамические параметры. Таким способом устанавливают связь энергии Гиббса с другими термодинамическими функциями состояния и макроскопическими параметрами системы:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_{T,n} = V, \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_{p,n} = -S, \left(\frac{\partial G}{\partial n_k}\right)_{p,T,n_k} = \mu_k, \quad (3.27)$$

отсюда следует, что объем — величина, определяемая приращением энергии Гиббса на единицу давления при постоянных температуре и количестве вещества.

Идентифицируем частные производные для системы постоянного состава:

$$G = G(T, p) = U + pV - TS \Rightarrow dG = dU + pdV - TdS - SdT. \quad (3.28)$$

Для обратимого процесса:

$$\left. \begin{aligned} dU &= \delta Q - pdV + \delta A'_{max} \\ \delta Q &= TdS \end{aligned} \right\} \Rightarrow dG = Vdp - SdT + \delta A'_{max} \quad (3.29)$$

Если $\delta A'_{max} = 0$, то $dG = Vdp - SdT$.

Тогда

$$\left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_{T,n} = V, \left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_{p,n} = -S. \quad (3.30)$$

Значит:

$$dG = Vdp - SdT + \sum_i \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{V,S,n_j \neq n_i} dn_i, \quad (3.31)$$

$$dG = VdP - SdT + \sum_i \mu_i dn_i. \quad (3.32)$$

Подобное можно проделать для других термодинамических потенциалов, например для U :

$$dU = \left(\frac{\partial U}{\partial S}\right)_{V,n_i} dS + \left(\frac{\partial U}{\partial V}\right)_{S,n_i} dV + \sum_i \left(\frac{\partial U}{\partial n_i}\right)_{V,S,n_j \neq n_i} dn_i \quad (3.33)$$

$$\mu_i = \left(\frac{\partial U}{\partial n_i}\right)_{V,S,n_j} = \left(\frac{\partial H}{\partial n_i}\right)_{p,S,n_j} = \left(\frac{\partial F}{\partial n_i}\right)_{T,V,n_j} = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{T,p,n_j}. \quad (3.34)$$

Величина полезной работы химической реакции может быть представлена в виде:

$$\begin{aligned} \delta A'_{max} &= -(dG)_{T,p} = -(dF)_{T,V} = \\ &= -(dH)_{S,p} = -(dU)_{S,V} = -\sum_i \mu_i dn_i \end{aligned} \quad (3.35)$$

Соответственно химический потенциал представляет собой парциальную энергию Гиббса и измеряется приращением $\partial G/\partial n_k$ этой функции состояния системы при возрастании количества вещества (числа молей) данного k -го химического компонента системы на 1 моль.

Для открытой системы можно записать:

$$dG = Vdp - SdT + \sum_k^i \mu_k dn_k. \quad (3.36)$$

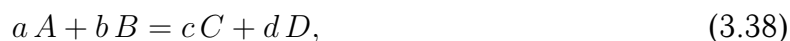
При $p, T = \text{const}$ приращение энергии Гиббса происходит только в результате изменения состава системы:

$$dG = \sum_k^i \mu_k dn_k, \quad i = 1, 2, \dots, k. \quad (3.37)$$

Химический потенциал определяет направление движения компонентов в ходе различных процессов, происходящих в системе. Например, при диффузии совершается работа, определяемая через разность химических потенциалов: $A_{diff} = dn(\mu_2 - \mu_1)$.

В равновесном состоянии химически потенциалы в различных частях гетерогенной системы равны.

Приращение энергии Гиббса в химической реакции вида



где A, B — реагенты;

C, D — продукты;

a, b, c, d — стехиометрические коэффициенты;

определяется следующим образом.

Для i -го компонента X_i системы энергия Гиббса пропорциональна химическому потенциалу и количеству данного типа вещества:

$$G_i = \mu_i n_i. \quad (3.39)$$

Суммарная энергия Гиббса реагентов системы (1 — исходное состояние)

$$G_1 = a\mu_a + b\mu_b, \quad (3.40)$$

суммарная энергия Гиббса продуктов (2 — конечное состояние)

$$G_2 = c\mu_c + d\mu_d. \quad (3.41)$$

Тогда приращение энергии Гиббса в химической реакции определяется из соотношения

$$\Delta G_r = \sum_{j=1}^k n_j \mu_j - \sum_{i=1}^k n_i \mu_i \quad (3.42)$$

Если вещество X_i находится в растворе, то его химический потенциал зависит от концентрации раствора и природы вещества. Анализ экспериментальных данных показывает, что эта зависимость носит логарифмический характер:

$$\mu(X) = \mu_0(X) + RT \ln C(X), \quad (3.43)$$

где $\mu_0(X)$ — стандартный химический потенциал вещества X при концентрации, равной единице; величина постоянная для данного вещества и не зависящая от концентрации; R — универсальная газовая постоянная; $C(X)$ — молярная концентрация вещества X , моль/л.

3.3.2 Химический потенциал как критерий химического равновесия

- **Тепловое равновесие**

При равновесии отсутствует суммарный поток *теплоты*;

Экстенсивное свойство — S ;

Интенсивное свойство — T ;

Условие равновесия фаз — $dS = 0$ или $T_A = T_B$ (P и n_j постоянны)

- **Механическое равновесие**

При равновесии отсутствует суммарный поток *работы*;

Экстенсивное свойство — V ;

Интенсивное свойство — P ;

Условие равновесия фаз — $dV = 0$ или $P_A = P_B$ (T и n_j постоянны)

- **Химическое равновесие**

При равновесии отсутствует суммарный поток *вещества*;

Экстенсивное свойство — G или n_j ;

Интенсивное свойство — μ_j ;

Условие равновесия фаз — $dG = 0$ или $\mu_j^A = \mu_j^B$ (P и T постоянны)

3.3.3 Сопоставление с критериями механического и теплового равновесия

Фиксированная граница (тепловое равновесие)

$$dS = dS_A + dS_B = \frac{dQ_A}{T_A} + \frac{dQ_B}{T_B} = \frac{-dQ}{T_A} + \frac{dQ}{T_B} \quad (3.44)$$

$$dS = 0 \Leftrightarrow T_A = T_B \quad (3.45)$$

Мобильная граница (механическое равновесие)

$$dA = dA_A + dA_B = p_A dV_A + (-p_B) dV_B = p_A dV - p_B dV \quad (3.46)$$

$$dA = 0 \Leftrightarrow p_A = p_B \quad (3.47)$$

Фиксированная граница (химическое равновесие)

$$dG = dG_A + dG_B = \mu_i^A dn_i^A + \mu_i^B dn_i^B = \mu_i^A dn_i + \mu_i^B dn_i \quad (3.48)$$

$$dG = 0 \Leftrightarrow \mu_i^A = \mu_i^B \quad (3.49)$$

3.4 Второе начало термодинамики и развитие биологических систем

Энтропия и биологические системы. Химическое сродство. Функция диссипации. Производство энтропии в биологических системах.

3.4.1 Энтропия и биологические систем

Второй закон термодинамики в открытых (биологических) системах

Критерием направления самопроизвольных изменений в изолированной системе служит увеличение энтропии S , а конечным состоянием — состояние равновесия. В то же время открытые системы, в первую очередь биологические, прекращают свое функционирование как таковые в состоянии равновесия.

В термодинамическом отношении открытые (биологические) системы в процессе своего изменения проходят через ряд неравновесных состояний, что, в свою очередь, также сопровождается соответствующими изменениями термодинамических переменных.

В целом поддержание неравновесных состояний в открытых системах возможно лишь за счет создания в них соответствующих потоков вещества и энергии.

При обратимых процессах изменение энтропии равно нулю, а при необратимых оно положительно. Таким образом, чем меньше в системе градиенты энергии и чем больше в ней рассеянной в виде тепла деградированной энергии, тем больше ее энтропия.

При **необратимом процессе** система изменяется по направлению к конечному состоянию (при самопроизвольном протекании процесса — к состоянию равновесия) с определенной скоростью. При этом часть свободной энергии системы теряется в виде тепла. Эти потери и характеризует энтропия. **Обратимый процесс** — это такой, при котором система в каждый момент времени находится в состоянии, бесконечно близком к термодинамическому равновесию, и достаточно лишь незначительно изменить условия, чтобы процесс был обращен.

Таким образом, открытым системам присущи неравновесные состояния, параметры и свойства которых, вообще говоря, есть функции времени. Для термодинамического потенциала G и свободной энергии F это означает, что $G = G(T, p, t)$, $F = F(T, v, t)$.

Изменение энтропии открытой системы. Оно может происходить либо за счет процессов обмена системы с внешней средой ($d_e S$), либо за счет возникновения энтропии в самой системе вследствие внутренних необратимых изменений ($d_i S$). Постулируется, что общее изменение энтропии открытой системы (dS) складывается из двух независимых частей:

$$dS = d_e S + d_i S. \quad (3.50)$$

В этом состоит исходное положение термодинамики необратимых процессов.

Если внутри системы протекают обратимые изменения, то они не сопровождаются возникновением энтропии и $d_i S = 0$. Во всех случаях необратимых изменений $d_i S > 0$. Очевидно, для изолированных систем, где $d_e S = 0$, выражение (3.50) сводится к:

$$dS = d_i S > 0, \quad (3.51)$$

что соответствует классической формулировке второго закона термодинамики для изолированных систем.

Если в каком-либо участке открытой системы одновременно протекают различные необратимые процессы, то величина $d_i S > 0$ описывает приращение энтропии, являющееся следствием взаимодействия этих необратимых процессов друг с другом.

Именно разделение величины изменения энтропии открытой системы на две составляющие $d_e S$ и $d_i S$ позволяет изучать различия в термодинамических свойствах открытых и изолированных систем.

Продифференцируем выражение (3.50):

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d_e S}{dt} + \frac{d_i S}{dt}. \quad (3.52)$$

Полученное уравнение означает, что скорость изменения энтропии системы $d_e S/dt$ равна скорости обмена энтропией между системой и окружающей средой плюс скорость возникновения энтропии внутри системы.

Член $d_e S/dt$, учитывающий процессы обмена системы со средой, может быть и положительным, и отрицательным, так что при $d_i S/dt > 0$ общая энтропия системы может как возрастать, так и убывать.

Положительная величина $d_e S/dt > 0$ связана с увеличением энтропии системы в результате обмена веществом и энергией с внешней средой. Отрицательная величина $d_e S/dt < 0$ соответствует тому, что отток положительной энтропии от системы во внешнюю среду превышает приток положительной энтропии извне, так что в результате общая величина баланса обмена энтропией между системой и средой является отрицательной. Очевидно, что при одном и том же условии $d_i S/dt > 0$ возможны следующие три случая:

- 1) $dS/dt > 0$, если $d_e S/dt > 0$ или если $d_e S/dt < 0$, но $|d_e S/dt| < d_i S/dt$;
- 2) $dS/dt < 0$, если $d_e S/dt < 0$ и $|d_e S/dt| > d_i S/dt$;
- 3) $dS/dt = 0$, если $d_e S/dt < 0$ и $|d_e S/dt| = d_i S/dt$.

Последний случай соответствует установлению в системе стационарного состояния, при котором продуцирование энтропии в системе $d_i S/dt$ компенсируется оттоком положительной энтропии во внешнюю среду, так что общее изменение энтропии равно нулю:

$$dS = d_e S + d_i S = 0 \quad dS/dt = d_e S/dt + d_i S/dt = 0. \quad (3.53)$$

Анализ общих свойств биологических систем на основе уравнения (3.52) помог объяснить внешнее противоречие между поведением организмов и вторым законом классической термодинамики. Действительно, рост и развитие организмов сопровождаются усложнением их организации и с точки зрения классической термодинамики выглядят как самопроизвольное уменьшение энтропии живых систем, что, конечно, явно противоречит второму закону. Однако это противоречие лишь кажущееся, поскольку направление самопроизвольных процессов определяется увеличением энтропии лишь для изолированных систем, а отнюдь не для открытых, какими являются биологические системы.

В реальных условиях развитие организмов, сопровождающееся уменьшением общей величины их энтропии, происходит при условии:

$$\frac{d_e S}{dt} > 0, \quad \left| \frac{d_e S}{dt} \right| > \frac{d_i S}{dt}, \quad (3.54)$$

за счет того, что в других участках внешней среды идут сопряженные процессы с образованием положительной энтропии.

Общий энергообмен земных организмов можно упрощенно представить как образование в фотосинтезе сложных молекул углеводов из CO_2 и H_2O с последующей деградацией продуктов фотосинтеза в процессах дыхания. Именно этот энергообмен обеспечивает существование и развитие как отдельных организмов — звеньев в круговороте энергии, так и в жизни на Земле в целом. С этой точки зрения, уменьшение энтропии живых систем в процессах их жизнедеятельности обусловлено в конечном итоге поглощением квантов света фотосинтезирующими организмами, что, однако, с избытком компенсируется образованием положительной энтропии в ядерных реакциях на Солнце. Этот принцип относится и к отдельным организмам, для которых поступление извне питательных веществ, несущих приток «отрицательной» энтропии, всегда сопряжено с продуцированием положительной энтропии при их образовании в других участках внешней среды, так что суммарное изменение энтропии в системе организм + внешняя среда всегда положительно. Точно так же уменьшение энтропии в части клетки, где идет биохимический синтез, происходит за счет избыточного увеличения энтропии в других частях организма или среды.

В целом уменьшение энтропии живых систем в процессе их роста происходит за счет свободной энергии, освобождаемой при распаде поглощаемых извне питательных веществ или за счет энергии солнца (фотосинтез). Одновременно это приводит к увеличению их свободной энергии. Таким образом, поток отрицательной энтропии необходим для компенсации процесса возникновения положительной энтропии и убыли свободной энергии в клетке в результате самопроизвольных реакций метаболизма. В сущности, речь идет о круговороте и превращениях свободной энергии, за счет которой поддерживается функционирование живых структур.

Вычисление величины d_iS .

В открытых системах, где протекают процессы, приводящие к изменению химического состава веществ, вычисление d_iS представляет собой главную проблему. Если внутри открытой системы достигнуто равновесие в отношении распределения температуры (но не химического состава реагентов) и процессы обмена со средой протекают равновесно, такая система находится в частично равновесном состоянии. Общее изменение энтропии для нее составит:

$$dS = d_eS + d_iS = 0, \quad (3.55)$$

где $d_e = \delta Q/T$ описывает изменение энтропии открытой системы в результате ее равновесного теплообмена с окружающей средой, а член d_iS соответствует самопроизвольному возрастанию энтропии внутри системы за счет химических превращений веществ, находившихся в начальном неравновесном состоянии, и совершению при этом полезной работы. Отсюда следует, что:

$$d_iS = dS - d_eS = dS - \delta Q/dt. \quad (3.56)$$

Так как поглощенная теплота приводит только к совершению механической работы, а вся полезная работа $\delta A'_{max}$ в системе совершается за счет внутренних самопроизвольных химических реакций, то первый закон термодинамики имеет вид:

$$\delta Q = dU + pdv \quad (3.57)$$

Подставляя в (3.56) выражение (3.57), получим, что:

$$d_iS = (1/T)(TdS - dU - pdV). \quad (3.58)$$

Так как:

$$dG = -TdS + dU + pdV, \quad \text{то:} \quad (3.59)$$

$$d_iS = -dG/T, \quad (T, p = const). \quad (3.60)$$

Таким образом, скорость возникновения энтропии в открытой системе при постоянных температуре и давлении пропорциональна скорости уменьшения ее термодинамического потенциала:

$$\frac{d_iS}{dt} = -\frac{1}{T} \frac{dG}{dt} = -\frac{1}{T} \sum_k \mu_k \left(\frac{dn_k}{dt} \right). \quad (3.61)$$

В соответствии с ранее сделанным предположением в частично равновесной системе единственной причиной необратимости, а значит, уменьшения ее термодинамического потенциала ($-dG < 0$) и увеличения энтропии ($d_iS > 0$) являются химические реакции, самопроизвольное протекание которых приводит к изменению химического состава системы и соответствующему совершению полезной работы.

$$\left. \begin{aligned} \frac{d_i S}{dt} &= -\frac{1}{T} \frac{dG}{dt} = -\frac{1}{T} \sum_k \mu_k \left(\frac{dn_k}{dt} \right) \\ dn_k &= v_k d\xi \end{aligned} \right\} \Rightarrow \frac{d_i S}{dt} = -\frac{1}{T} \sum_k \mu_k v_k \frac{d\xi}{dt} = -\frac{1}{T} A v, \quad (3.62)$$

где μ_k , v_k — соответственно химический потенциал и стехиометрический коэф. k -го реагента.

$$\frac{d_i S}{dt} = \int \sigma dV \geq 0, \quad (3.63)$$

где $\sigma = Av/T$ — функция диссипации.

Если в системе одновременно протекают несколько реакций то функция диссипации имеет вид:

$$\sigma = \frac{1}{T} \sum_l A_l v_l \geq 0. \quad (3.64)$$

Реакция j для которой $A_j v_j < 0$ может протекать в открытой системе в результате сопряжения, если

$$\sum_{i \neq j} A_i v_i > |A_j v_j|. \quad (3.65)$$

Примером реакции, не осуществляемой в отсутствие сопряжения, является поликонденсация аминокислот в пептидную цепь. Это эндергоническая реакция, сопровождаемая увеличением свободной энергии. Однако в организме поликонденсация сопряжена с экзергонической реакцией расщепления АТФ и функция диссипации в целом положительна.

3.5 Теория Онзагера

Принцип локальности. Термодинамические уравнения движения. Соотношение взаимности. Сопряжение химических процессов с механохимическими процессами и активным переносом через мембраны.

3.5.1 Принцип локальности

В живом организме сопряжены разнообразные процессы: химические, электрические, массопереноса, теплопереноса, механические и др. Процессы переноса характеризуются соответствующими потоками. Например, градиент температуры вызывает поток тепла, градиент плотности — поток массы и т.д. В общем случае говорят, что потоки вызываются обобщенными термодинамическими силами.

Появление в системе потоков, вообще говоря, нарушает статистическое равновесие. Например, перенос тепла можно представить, как диффузию «горячих» молекул, а уход горячих молекул нарушает равновесное состояние в системе. Для неравновесных состояний термодинамическое описание, строго говоря, теряет смысл, поскольку, например, нельзя говорить о температуре такого состояния.

Однако существует своеобразная конкуренция между процессами переноса, нарушающими равновесие, и внутренними (релаксационными) процессами, стремящимися его восстановить. Если процессы, возмущающие равновесие, менее интенсивны, чем процессы, которые формируют равновесие, то можно говорить с определенной степенью точности о локальном равновесии, то есть о равновесии в физически бесконечно малом объеме. Точность такого утверждения будет тем выше, чем меньше отношение скорости изменения состояния за счет внешних условий к скорости восстановления равновесия за счет внутренних релаксационных процессов.

Идея о локальном термодинамическом равновесии была впервые высказана И. Пригожиным и оказалась очень плодотворной в термодинамике необратимых процессов. Это определяется тем, что для неравновесных процессов можно ввести функции состояния, например энтропию, которые будут зависеть от тех же переменных, от которых они зависят, когда система находится в состоянии равновесия. Это значит, что второе начало термодинамики в форме соотношения Гиббса справедливо и для неравновесных состояний, когда термодинамические функции являются функциями координат и времени.

3.5.2 Термодинамические уравнения движения

Из опыта известно, что для широкого класса необратимых явлений и в широком диапазоне экспериментальных условий потоки являются линейными функциями термо-

динамических сил. Наряду с этими основными (прямыми) процессами существуют и побочные (перекрестные) процессы, которые неразрывно связаны с первыми. Например, перенос заряда под действием электрического поля, осуществляемый при движении ионов в электролите, означает одновременно перенос их кинетической энергии (тепла) и массы (диффузия). И наоборот.

Это позволило Онзагеру предположить, что при небольших отклонениях от равновесия существует линейная связь между потоками J_i и термодинамическими силами X_k :

$$J_i = \sum_{j=1}^N L_{ij} X_j, \quad (3.66)$$

где в случае химической реакции в качестве обобщенной силы X_j — выступают A_j/T , а в качестве обобщенных потоков J_i — скорость реакции — v_i .

В рамках термодинамики необратимых процессов определить конкретные границы применимости этих соотношений невозможно. Эксперимент показывает, что для процессов диффузии и теплопроводности линейные соотношения справедливы в достаточно широкой области параметров. Для химических реакций они справедливы в очень узкой области вблизи состояния химического равновесия.

3.5.3 Соотношение взаимности Онзагера

Принцип симметрии Онзагера гласит, что при соответствующем выборе потоков и термодинамических сил в линейных соотношениях недиагональные кинетические коэффициенты равны: $L_{ij} = L_{ji}$. В качестве примера можно привести эффекты Соре (термодиффузия) и Дюфора (диффузионный термоэффект).

Что значит соответствующий выбор потоков и термодинамических сил? Рассмотрим пример двух взаимодействующих процессов. Вспомним выражение для производства энтропии:

$$\frac{d_i S}{dt} = \int \sigma dV \geq 0. \quad (3.67)$$

Для двух процессов функция диссипации имеет вид:

$$\sigma = J_1 X_1 + J_2 X_2. \quad (3.68)$$

В линейном приближении обобщенные потоки можно записать в виде:

$$\begin{aligned} J_1 &= L_{11} X_1 + L_{12} X_2 \\ J_2 &= L_{21} X_1 + L_{22} X_2 \end{aligned} \quad (3.69)$$

Тогда из условий $\sigma = L_{11} X_1^2 + (L_{12} + L_{21}) X_1 X_2 + L_{22} X_2^2 \geq 0$ и $L_{12} = L_{21}$ следуют ограничения на коэффициенты L_{ij} (знак L_{12} может быть любым):

$$L_{11} > 0, \quad L_{22} > 0, \quad L_{12} < L_{11} L_{22} \quad (3.70)$$

Это условие не позволяет однозначно выбирать потоки и силы. Однако это обстоятельство уже несущественно, по аналогии с выбором разных систем отсчета при описании механического движения

3.6 Стационарные состояния в неравновесных системах

Теорема Пригожина о минимальном производстве энтропии в стационарном состоянии, близком к равновесию.

3.6.1 Теорема Пригожина

Теорема Пригожина о минимальном производстве энтропии в стационарном состоянии вытекает из теории Онзагера.

Рассмотрим открытую систему, в которой одновременно протекают необратимые процессы (вблизи состояния термодинамического равновесия, где справедливы линейные соотношения между значениями скоростей и сродства и соотношения взаимности Онзагера).

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

$$\begin{aligned} J_i &= 0, & i > k \\ J_i &\neq 0, & i \leq k \end{aligned} \quad (3.71)$$

Энтропия такой системы не достигает максимума, и функция диссипации отлична от нуля.

Рассмотрим простой пример. Допустим, что система обменивается со средой энергией и веществом, но масса ее остается постоянной. В системе имеется тепловой поток J_T и поток вещества J_M , причем последний равен нулю. Тогда:

$$\begin{aligned} \sigma &= J_T X_T + J_M X_M \\ J_T &= L_{11} X_T + L_{12} X_M \neq 0 \\ J_M &= L_{21} X_T + L_{22} X_M = 0 \end{aligned} \quad (3.72)$$

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

$$\sigma = L_{11} X_T^2 + (L_{12} + L_{21}) X_T X_M + L_{22} X_M^2 \quad (3.73)$$

При $X_T = \text{const}$:

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_M} = 2L_{22} X_M + (L_{12} + L_{21}) X_T \quad (3.74)$$

Если система близка к равновесию, то $L_{12} = L_{21}$ и в результате получаем:

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_M} = 2(L_{22}X_M + L_{21}X_T) = 2J_M. \quad (3.75)$$

Следовательно, в стационарном состоянии, близком к равновесию, продукция энтропии достигает экстремума. Какого экстремума, максимума или минимума? Вторая производная от предыдущего выражения имеет вид:

$$\frac{\partial^2 \sigma}{\partial X_M^2} = 2L_{22} > 0. \quad (3.76)$$

Значит продукция энтропии в стационарном состоянии минимальна. Это — теорема Пригожина, которая непосредственно связана с теоремой Онзагера о симметричности перекрестных коэффициентов и справедлива лишь в пределах применимости линейной термодинамики.

На примере открытой химической системы покажем, что условие постоянства скоростей, т.е. условие стационарности эквивалентно минимуму производства энтропии. Вещество A попадает в нее извне, претерпевает ряд последовательных реакций внутри системы, и конечный продукт реакции P покидает систему:

(здесь рисунок)

Эта система описывается следующей системой уравнений:

$$\frac{dn_A}{dt} = \frac{d_{ex}n_A}{dt} - v_1, \quad \frac{dn_B}{dt} = v_1 - v_2, \dots, \quad \frac{dn_P}{dt} = v_r - \frac{d_{ex}n_P}{dt} \quad (3.77)$$

В стационарном состоянии:

$$\frac{dn_A}{dt} = v_1 = v_2 = \dots = v_r = -\frac{d_{ex}n_P}{dt} = v \quad (3.78)$$

$$T\sigma = A_A \frac{d_{ex}n_A}{dt} + \sum_{\rho=1}^r A_\rho v_\rho + A_P \frac{d_{ex}n_P}{dt} > 0, \quad (3.79)$$

где $A_A = \mu_A^{(1)} - \mu_A^{(2)}$; $A_P = \mu_P^{(1)} - \mu_P^{(2)}$; индекс (1) соответствует системе, (2) - среде.

$$T\sigma = (A_A + \sum_{\rho=1}^r A_\rho - A_P)v = Av > 0, \quad (3.80)$$

где A соответствует суммарному процессу.

В линейной области:

$$\sigma = \sum_{\rho=1}^{r+2} \sum_{\rho'=1}^{r+2} L_{\rho\rho'} \frac{A_\rho}{T} \frac{A_{\rho'}}{T} > 0 \quad (3.81)$$

Определим минимум при данном значении суммарного сродства с помощью функции Лагранжа:

$$\Phi = \sum_{\rho=1}^{r+2} \sum_{\rho'=1}^{r+2} L_{\rho\rho'} \frac{A_\rho}{T} \frac{A_{\rho'}}{T} - 2\mu \sum_{\rho} \frac{A_\rho}{T} \quad (3.82)$$

$$\frac{\partial \Phi}{\partial (\frac{A_\rho}{T})} = 2 \sum_{\rho'} L_{\rho\rho'} \frac{A_{\rho'}}{T} - 2\mu = 0 \quad (3.83)$$

$$v_\rho = \sum_{\rho'} L_{\rho\rho'} \frac{A_{\rho'}}{T} = \mu = 0 \quad (3.84)$$

Следовательно, условие постоянства скоростей эквивалентно минимуму производства энтропии и действительно означает стационарность.

Глава 4

Статистическая биофизика

4.1 Фазы и фазовые переходы в биологических системах

Вывод правила фаз Гиббса. Биологические мембраны как многокомпонентные системы. Биологический смысл многокомпонентности в свете правила фаз Гиббса. Взаимосвязь между функцией мембраны и фазовым состоянием мембраны.

4.1.1 Вывод правила фаз Гиббса

Фаза — система, характеризующаяся макроскопической однородностью и по химическому составу и по физическому состоянию.

Фазовый переход — переход вещества из одной термодинамической фазы в другую при изменении внешних условий.

Вопрос: сколько фаз может присутствовать в системе при различных условиях?

Состояние системы, находящейся в равновесии, можно охарактеризовать температурой, давлением и концентрацией (которая определяет химический потенциал) каждого химически индивидуального составляющего (компонента) системы.

На практике число компонентов определяется как разность между числом всех химических веществ и числом химических реакций, которые связывают эти вещества. Например для реакции $CaO + CO_2 = CaCO_3$ число компонентов равно $3 - 1 = 2$.

Для описания системы, состоящей из p фаз и c компонентов, требуется исследовать переменные параметры, общее число которых составляет $pc + 2$, поскольку в каждой фазе содержится c компонентов (и, следовательно, c концентраций), в то время как температура и давление одинаковы для всех фаз, находящихся в равновесии.

Однако не все эти переменные независимы. Если выразить концентрации различных компонентов через мольные доли $X_i = \frac{n_i}{\sum_i n_i}$, то в любой выбранной фазе (пусть в фазе

В) сумма мольных долей всех компонентов, находящихся в этой фазе, равна единице: $X_1^B + X_2^B + X_3^B + \dots + X_c^B = 1$.

Следовательно, если известны концентрации всех компонентов, кроме одного, то его концентрацию можно рассчитать из этого уравнения. Это распространяется на каждую из p фаз системы. Поэтому общее число параметров, необходимых для описания системы, можно уменьшить на p :

$$pc + 2 - p = p(c - 1) + 2 \quad (4.1)$$

Далее, согласно условию химического равновесия, химический потенциал i -го компонента в некоторой фазе системы равен химическому потенциалу этого компонента в любой другой фазе:

$$\begin{cases} \mu_1^A = \mu_1^B = \dots = \mu_1^p \\ \mu_2^A = \mu_2^B = \dots = \mu_2^p \\ \vdots \\ \mu_c^A = \mu_c^B = \dots = \mu_c^p \end{cases} \quad (4.2)$$

Эта система уравнений накладывает еще $c(p - 1)$ ограничений, что приводит к тому, что общее число независимых интенсивных переменных (степеней свободы) составляет:

$$f = p(c - 1) + 2 - c(p - 1) \text{ или } f = c - p + 2 \quad (4.3)$$

— правило фаз Гиббса.



Рисунок 4.1 — Схема фазовых переходов для однокомпонентной системы — воды

Согласно правилу фаз Гиббса для однокомпонентной системы ($c = 1$) в зависимости от числа фаз p (1, 2 или 3) существует f (2, 1 или 0) степеней свободы.

4.1.2 Правило фаз Гиббса и биологические мембраны

Биологические мембраны не являются статическими структурами, их внутренняя область может обладать некоторой степенью «текучести», которая коррелирует с био-

логическими функциями (транспорт углеводов) или со степенью анестезии, вызываемой анестетиками.

Важно, что биологические мембраны являются многокомпонентными системами. Согласно правилу фаз Гиббса, при существовании двух фаз (например, твердой и жидкой) в системе, содержащей всего два компонента ($c = 2$), система обладает двумя степенями свободы. То есть, двухкомпонентная система в общем случае не характеризуется четко выраженной температурой плавления, поскольку при изменении температуры в некоторых пределах в системе находятся две фазы.

Биологическое значение этой особенности очевидно: если бы биологические мембраны были построены из липидов только одного типа, мембрана бы обладала резкой температурой плавления, и организм мог бы отвечать на колебания температуры изменением состояния и, следовательно, функции мембраны только по типу «все-или-ничего». Однако, благодаря многокомпонентному составу мембрана может претерпевать постепенные изменения степени текучести в широком интервале температур, обеспечивая гораздо более «тонкий» контроль за функцией клетки в соответствии с температурой окружающей среды.

Многокомпонентный мембраны необходимы клетке, чтобы реагировать на изменение температуры и формировать липидные рафты.

4.2 Осмотическое давление

Вывод формулы для расчета осмотического давления. Значение осмотического давления для биологических систем. Определение молекулярной массы веществ по величине осмотического давления.

4.2.1 Вывод формулы для расчета осмотического давления

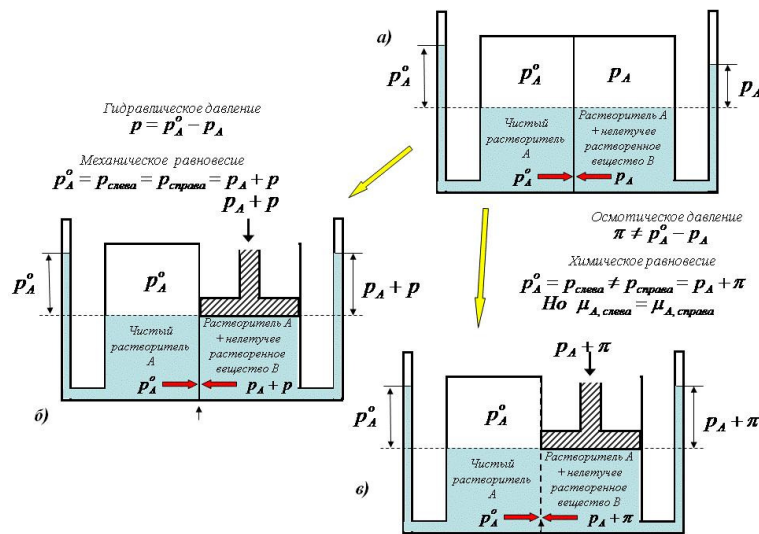


Рисунок 4.2 — Вывод формулы для расчета осмотического давления

В соответствии с законом Рауля парциальное давление насыщенного пара компонента раствора прямо пропорционально его мольной доле в растворе, причем коэффициент пропорциональности равен давлению насыщенного пара над чистым компонентом:

$$p_A = p_A^0 X_A, \quad (4.4)$$

где p_A — давление насыщенного пара;

p_A^0 — давлению насыщенного пара над чистым компонентом;

X_A — мольная доля молекул растворителя.

Связь между химическим потенциалом и давлением:

$$dG = VdP - SdT + \mu_A dN_A + \mu_B dN_B \quad (4.5)$$

$$\left(\frac{\partial G}{\partial p} \right)_{T, n_A, n_B} = V \quad \Rightarrow \quad \left(\frac{\partial}{\partial n_A} V \right)_{T, p, n_B} = \bar{V}_A \quad (4.6)$$

\bar{V}_A — парциальный молярный объем растворителя

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial}{\partial n_A}\right) \left(\frac{\partial G}{\partial p}\right)_{T, n_A, n_B} &= \bar{V}_A = \\ \left(\frac{\partial}{\partial p}\right) \left(\frac{\partial G}{\partial n_A} V\right)_{T, p, n_B} &= \frac{\partial}{\partial p} \mu_A \end{aligned} \quad (4.7)$$

$$\left(\frac{\partial \mu_A}{\partial p}\right)_{T, n_A, n_B} = \bar{V}_A \quad d\mu_A = (\bar{V}_A)_{\text{жидк.}} dp - \text{для жидкости}$$

$$\mu_A = \mu_{A(\text{станд. сост.})} + \int_{\text{ст. сост.}}^{\text{эксп. сост.}} d\mu_A = \mu_A^0 + \int_{\text{ст. давл.}}^{\text{эксп. давл.}} \bar{V}_A dp \quad (4.8)$$

Для несжимаемой жидкости макроскопические изменения химического потенциала равны:

$$\mu_A = \mu_A^0 + \bar{V}_A \int_{p_A^0}^p dp \Rightarrow \mu_A = \mu_A^0 + \bar{V}_A (p - p_A^0) \quad (4.9)$$

Для пара (согласно закону идеальных газов $\bar{V}_A = \frac{RT}{p_A}$)

$$d\mu_A = RT \frac{dp_A}{p_A} \quad \text{отсюда} \quad d\mu_A = RT d \ln(p_A) \quad (4.10)$$

$$\mu_A = \mu_A^0 + RT \int_{\text{станд. сост.}}^{\text{эксп. сост.}} d \ln p \quad (4.11)$$

$$\begin{aligned} \mu_A &= \mu_A^0 + RT \int_{1 \text{ атм}}^{p \text{ атм}} d \ln p = \\ &= \mu_A^0 + RT (\ln p - \ln 1) = \mu_A^0 + RT \ln \left(\frac{p}{1}\right) \end{aligned} \quad (4.12)$$

$\mu_A^0 + RT \ln(p)$ — (постоянная температура, идеальный газ, p в атмосферах)

Любой раствор находится в равновесии со своим паром:

$$\begin{aligned} (\mu_A)_{\text{пар, слева}} &= (\mu_A)_{\text{жидк., слева}}, \\ (\mu_A)_{\text{пар, справа}} &= (\mu_A)_{\text{жидк., справа}} \end{aligned} \quad (4.13)$$

$$\begin{aligned} (\mu_A)_{\text{жидк., слева}} - (\mu_A)_{\text{жидк., справа}} &= \\ = (\mu_A)_{\text{пар, слева}} - (\mu_A)_{\text{пар, справа}} \end{aligned} \quad (4.14)$$

$$\begin{aligned} (\mu_A)_{\text{жидк., слева}} - (\mu_A)_{\text{жидк., справа}} &= \mu_A^0 + RT \ln p_A^0 - \\ - (\mu_A^0 + RT \ln p_A) &= RT \ln \left(\frac{p_A^0}{p_A}\right) = -RT \ln \left(\frac{p_A}{p_A^0}\right) \end{aligned} \quad (4.15)$$

$$(\mu_A)_{\text{жидк., слева}} - (\mu_A)_{\text{жидк., справа}} = -RT \ln (X_A)_{\text{справа}} \quad (4.16)$$

Важность этого уравнения в том, что поскольку X_A справа < 1 , то на основании этого можно сделать вывод, что химический потенциал растворителя А (слева от мембраны) больше химического потенциала раствора (справа от мембраны). Следовательно, молекулы растворителя проявляют тенденцию к миграции через полупроницаемую мембрану для уменьшения своего химического потенциала.

Химический потенциал жидкого растворителя можно увеличить, наложив внешнее давление π к раствору, так чтобы его химический потенциал увеличился на величину точно равную начальной разности химических потенциалов растворителя и раствора:

$$\begin{aligned} \Delta(\mu_A)_{\text{жидк., справа}} &= (\bar{V}_A)_{\text{жидк.}}(P_A + \pi - P_A^0) - \\ &- (\bar{V}_A)_{\text{жидк.}}(P_A - P_A^0) = \pi(\bar{V}_A)_{\text{жидк.}} \end{aligned} \quad (4.17)$$

$\pi(\bar{V}_A)_{\text{жидк.}} = -RT \ln (X_A)_{\text{справа}}$ — осмотическое давление идеального раствора.

$X_A + X_B = 1 \Rightarrow \pi(\bar{V}_A)_{\text{жидк.}} = -RT \ln [1 - (X_B)_{\text{справа}}]$

$X_B \ll 1 \Rightarrow$

$$\pi(\bar{V}_A)_{\text{жидк.}} \approx RT X_B = RT \frac{n_B}{n_A + n_B} \approx RT \frac{n_B}{n_A} \quad (4.18)$$

$\pi = mRT$, где m — молярная концентрация (число молей в 1 литре)

В качестве примера: различие концентраций на $\sim 0,1$ моль/л приводит к возникновению осмотического давления $\sim 2,5$ атм.

Значение осмотического давления для биологических систем.

Осмотическое давление в клетках животных, растений, микроорганизмов и в биологических жидкостях зависит от концентрации веществ, растворенных в их жидких средах. Солевой состав биологических жидкостей и клеток, характерный для организмов каждого вида, поддерживается избирательной проницаемостью биологических мембран для разных солей и активным транспортом ионов. Относительное постоянство осмотического давления обеспечивается водно-солевым обменом, т. е. всасыванием, распределением, потреблением и выделением воды и солей (см. Выделение, Выделительная система, Осморегуляция). У т. н. гиперосмотических организмов внутреннее осмотическое давление больше внешнего, у гипоосмотических — меньше внешнего; у изоосмотических (пойкилоосмотических) внутреннее осмотическое давление равно внешнему. В первом случае ноны активно поглощаются организмом и задерживаются в нем, а вода поступает через биологические мембраны пассивно, в соответствии с осмотическим градиентом. Гиперосмотическая регуляция свойственна пресноводным организмам, мор. хрящевым рыбам (акулы, скаты) и всем растениям. У организмов с гипоосмотической регуляцией имеются приспособления для активного выделения солей. У костистых рыб преобладающие в океанических водах ионы Na^+ и Cl^- выделяются через жабры, у морских пресмыкающихся (змеи и черепахи) и у птиц — через особые солевые железы, расположенные в области головы. Ионы Mg^{2+} , , у этих организмов выделяются

через почки. Осмотическое давление у гипер- и гипоосмотических организмов может создаваться как за счет ионов, преобладающих во внешней среде, так и продуктов обмена. Например, у акул и скатов осмотическое давление на 60% создается за счет мочевины и триметиламмония; в плазме крови млекопитающих — главным образом за счет ионов Na^+ и Cl^- ; в личинках насекомых — за счёт разнообразных низкомолекулярных метаболитов. У морских одноклеточных, иглокожих, головоногих моллюсков, миксин и других изоосмотических организмов, у которых осмотическое давление определяется осмотическим давлением внешней среды и равно ему, механизмы осморегуляции отсутствуют (исключая клеточные).

Диапазон средних величин осмотического давления в клетках организмов, не способных поддерживать осмотический гомеостаз, довольно широк и зависит от вида и возраста организма, типа клеток и осмотического давления окружающей среды. В оптимальных условиях осмотическое давление клеточного сока наземных органов болотных растений колеблется от 2 до 16 атм, у степных — от 8 до 40 атм. В разных клетках растения осмотическое давление может резко различаться (так, у мангровых осмотическое давление клеточного сока около 60 ат, а осмотическое давление в сосудах ксилемы не превышает 1–2 атм). У гомоосмотических организмов, т. е. способных поддерживать относительное постоянство осмотического давления, средней величины и диапазон колебаний осмотического давления различны (дождевой червь — 3,6–4,8 атм, пресноводные рыбы — 6,0–6,6, океанические костистые рыбы — 7,8–8,5, акул — 22,3–23,2, млекопитающие — 6,6–8,0 атм). У млекопитающих осмотическое давление большинства биологических жидкостей равно осмотическому давлению крови (исключение составляют жидкости, выделяемые некоторыми железами, — слюна, пот, моча и др.). Осмотическое давление, создаваемое в клетках животных высокомолекулярными соединениями (белки, полисахариды и др.), незначительно, но играет важную роль в обмене веществ (см. Онкотическое давление).

Определение молекулярной массы веществ по величине осмотического давления.

Пример: в 1 мл воды растворено 80 мг исследуемого белка. Осмотическое давление этого раствора при 25 °С оказалось равным 12 мм.рт.ст. Какова молекулярная масса исследуемого белка?

$$M = \frac{c}{\pi} RT \quad (4.19)$$

$$M(\text{г/моль}) = (80\text{г/л}) \cdot (0,08206(\text{л атм/((моль К))}) \cdot 298\text{К} \cdot (760/12(1/\text{атм})) \quad (4.20)$$

Решение приводит к молекулярной массе белка равной $M = 124000$ г/моль.

4.3 Химические реакции и константы равновесия

Вывод константы равновесия. Активность как термодинамическая концентрация. Вывод уравнения Гиббса—Дюгема. Самопроизвольное протекание химических реакций.

4.3.1 Вывод константы равновесия

Запишем изменение потенциала Гиббса с учетом изменения состава смеси веществ:

$$dG = Vdp - SdT + \sum_i \mu_i dn_i \quad (4.21)$$

При постоянных T и P имеем $dG = \sum_i \mu_i dn_i$ или $G = \sum_i \mu_i n_i$.

Полученное уравнение утверждает, что общая свободная энергия смеси представляет собой сумму числа молей каждого компонента, умноженных на свободную энергию моля компонента (т.е. химический потенциал) при указанной концентрации.

$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln X_i$, i — (идеальный) растворитель

$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln m_i$, i — (идеальное) растворенное вещество

$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln P_i$, i — (идеальный) газ

где X_i — мольная доля; m_i — моляльная концентрация и P_i — (парциальное) давление.

Для равновесной типичной химической реакции



где a молей вещества A реагируют с b молями вещества B с образованием c молей вещества C и d молей вещества D , суммарная свободная энергия продуктов реакции равна суммарной свободной энергии реагентов.

$$G_A + G_B = G_C + G_D \quad (4.23)$$

подставляя $G = \sum_i \mu_i n_i$ получаем $a\mu_A + b\mu_B = c\mu_C + d\mu_D$.

Теперь подставляем $\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln m_i$ получаем:

$$(c\mu_C^0 + d\mu_D^0) - (a\mu_A^0 + b\mu_B^0) = -RT[\ln(m_C)^c + \ln(m_D)^d - \ln(m_A)^a + \ln(m_B)^b] \quad (4.24)$$

$$(G^0)_{products} - (G^0)_{substrates} = \Delta G_{rx}^0 = -RT \ln \left[\frac{m_C^c m_D^d}{m_A^a m_B^b} \right] \quad (4.25)$$

Основной смысл уравнения состоит в том, что поскольку левая часть уравнения постоянна (то есть не зависит от концентрации), то и правая часть должна также не зависеть от общих концентраций всех веществ, участвующих в реакции. Под константой равновесия понимают следующее соотношение:

$$K_{eq} = \frac{m_C^c m_D^d}{m_A^a m_B^b}, \quad (4.26)$$

при постоянных T и P , и идеальных веществах в растворе.

Эта формула применима только для *разбавленных* растворов (особенно растворов незаряженных веществ). Разбавленными можно считать растворы с концентрацией $\leq 0,01$ моль/л.

4.3.2 Активность как термодинамическая концентрация

Константа равновесия может зависеть от общей концентрации компонентов в равновесной системе. В концентрированных растворах в закон Рауля нужно внести поправку, например для растворителя A :

$$a_A = \frac{P_A}{P_A^0} = \gamma_A X_A \quad (4.27)$$

где a_A — активность; X_A — мольная доля; $\gamma_A \rightarrow 1$ при $X_A \rightarrow 1$, т.е. для бесконечно разбавленного раствора.

Аналогичные соотношения существуют для твердого вещества в растворе: $a_B = \gamma_B m_B$, причем так же, $\gamma_B \rightarrow 1$ при $m_B \rightarrow 1$. То же самое для газа, растворенного в жидкости: $a_B = \gamma_B P_B$ и $\gamma_B \rightarrow 1$ при $P_B \rightarrow 0$.

Выражение для изменения энергии Гиббса имеет тот же вид, что и для разбавленных растворов, только вместо константы равновесия для концентраций в выражение входит истинная константа равновесия, зависящая от активностей.

$$(G^0)_{products} - (G^0)_{substrates} = \Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_A, \quad (4.28)$$

где $K_a = \frac{a_C^c a_D^d}{a_A^a a_B^b}$ не зависит от общей концентрации веществ в системе.

$$K_a = \frac{a_C^c a_D^d}{a_A^a a_B^b} = \frac{m_C^c m_D^d}{m_A^a m_B^b} \frac{\gamma_C^c \gamma_D^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b} = K_{eq} \frac{\gamma_C^c \gamma_D^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b} \quad (4.29)$$

Очевидно, что $\lim_{\infty \text{ dilution}} K_a = K_{eq}$.

4.3.3 Вывод уравнения Гиббса—Дюгема

Поскольку активность и концентрация могут различаться очень существенно (в 10 и более раз в растворах некоторых солей; см. Рис.????), необходимо найти способ определения активности каждого компонента в равновесной смеси для того, чтобы рассчитать истинную константу равновесия K_a . Для оценки активности растворенного вещества используют уравнение Гиббса—Дюгема, вывод которого приведен ниже.

Общую свободную энергию G системы, состоящей из растворителя A и растворенного вещества B , можно выразить через свободные энергии обоих компонентов системы G_A и G_B .

Находим полный дифференциал выражения для свободной энергии Гиббса $G = n_A\mu_A + n_B\mu_B$ при постоянных T и P :

$$dG = n_A d\mu_A + \mu_A dn_A + n_B d\mu_B + \mu_B dn_B \quad (4.30)$$

Сопоставляя это выражение с приведенным ранее: $dG = \mu_A dn_A + \mu_B dn_B$ переходим у уравнению Гиббса—Дюгема:

$$n_A d\mu_A + n_B d\mu_B = 0 \quad (4.31)$$

Но поскольку $\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln(a_i)$, то $d\mu_i = \mu_i^0 + RT d \ln(a_i)$ и используя новые обозначения, можно переписать уравнение (4.31) в виде:

$$n_A d \ln a_A + n_B d \ln a_B = 0 \quad (4.32)$$

Если приходится работать с достаточно насыщенными растворами, то возможные отклонения ожидаемых зависимостей скоростей реакций от концентраций могут быть следствием серьезных различий между концентрациями и активностями. В этом случае необходимые поправки могут быть сделаны с помощью уравнения Гиббса—Дюгема.

Поскольку состав данного раствора известен (n_A и n_B), а *активность растворителя* можно измерить, пользуясь уравнением (4.27), то с помощью уравнения (4.32) можно найти *активность растворенного вещества*.

4.3.4 Самопроизвольное протекание химических реакций

При рассмотрении любой химической реакции прежде всего надо выяснить, может ли она протекать самопроизвольно. Поскольку свободная энергия Гиббса G минимальна при равновесии, то в общем случае химическая реакция:



происходит самопроизвольно, если суммарное изменение свободной энергии, характеризующее превращение веществ A и B в вещества C и D — отрицательная величина:

$$(G^0)_{products} - (G^0)_{substrates} = \Delta G_{rx}^0 < 0. \quad (4.34)$$

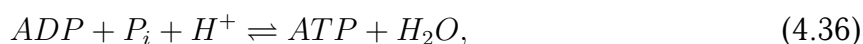
Более простой критерий самопроизвольного протекания реакции следует из ранее выведенного соотношения

$$\Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_a, \quad (4.35)$$

где K_a — истинная константа равновесия. При условии стандартного состояния компонентов можно получить простой критерий равновесия: если $K_a > 1$ то реакция протекает самопроизвольно при превращении реагентов в стандартном состоянии в продукты в стандартном состоянии; аналогично, если $K_a < 1$, то реакция самопроизвольно не протекает.

Следовательно, если равновесие реакции сдвинуто вправо ($K_a > 1$), то реакция при условии стандартных состояний происходит самопроизвольно, а если равновесие сдвинуто влево ($K_a < 1$), то реакция является несамопроизвольной.

Множество жизненно важных химических реакций клеточного метаболизма оказываются несамопроизвольными. Энергия, необходимая для осуществления этих реакций, обеспечивается путем сопряжения такой реакции с другой (самопроизвольной) так, чтобы изменение свободной энергии Гиббса в обеих сопряженных реакциях было отрицательным и суммарный процесс являлся самопроизвольным. Наиболее широко распространенной «движущей» реакцией является гидролиз ATP до ADP и неорганического фосфата P_i . Проанализируем изменение свободной энергии в этом процессе при разных условиях:



для которой в равновесии $K_a = \frac{a_{ATP}a_{H_2O}}{a_{ADP}a_{P_i}a_{H^+}}$ и $\Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_a$, что есть изменение свободной энергии при превращении 1 моля ADP в ATP , где все реагенты и продукты находятся в стандартных состояниях (концентрация равна 1 моль на литр в идеальном растворе). Тогда при условии, что активности всех реагентов и продуктов равны единице имеем:

$$\Delta G_{rx}^0 = -2,2 \text{ ккал/моль}. \quad (4.37)$$

Таким образом, реакция должна происходить самопроизвольно слева направо. Стандартное состояние H^+ ($a_{H^+} = 1$) соответствует $[H^+] = 1$ моль/л в идеальном растворе (т.е. pH раствора около нуля!). В биохимии обычно определяют в качестве стандартного состояния H^+ , такое, при котором ($a_{H^+} = 10^{-7}$), т.е. $[H^+] = 10^{-7}$ моль/л ($pH=7.0$);

тогда получают значение $\Delta G'^0$ более соответствующее действительным условиям биологических процессов. Новый стандартный химический потенциал протонов имеет вид:

$$\Delta\mu_{H^+}^{0*} = \Delta\mu_{H^+}^0 + RT \ln 10^{-7}, \quad (4.38)$$

где $\Delta\mu_{H^+}^0$ — свободная энергия H^+ в стандартном состоянии ($m_{H^+} = 1$ моль/л в идеальном растворе); $\Delta\mu_{H^+}^{0*}$ — свободная энергия H^+ в новом стандартном состоянии ($m_{H^+} = 10^{-7}$ моль/л в идеальном растворе с $pH = 7.0$).

Отсюда можно рассчитать изменение стандартной свободной энергии ΔG_{rx}^{0*} для нового стандартного состояния протонов в водной среде:

$$\begin{aligned} \Delta G_{rx}^{0*} &= \mu_{ATP}^{0*} + \mu_{H_2O}^0 - \mu_{H^+}^{0*} - \mu_{ADP}^0 - \mu_{P_i}^0 = \\ &= \mu_{ATP}^0 + \mu_{H_2O}^0 - \mu_{H^+}^0 - RT \ln 10^{-7} - \mu_{ADP}^0 - \mu_{P_i}^0 = \\ &= \mu_{rx}^0 - RT \ln 10^{-7} = -2.2 + 9.5 = +7.3 \text{ ккал/моль} \end{aligned} \quad (4.39)$$

В итоге вычисленное для новых условий изменение свободной энергии Гиббса ($\Delta G_{rx}^{0*} = +7.3 \text{ ккал/моль}$) говорит о том, что при снижении концентрации ионов водорода до 10^{-7} моль/л, реакция происходит самопроизвольно в направлении справа налево, то есть в сторону гидролиза ATP .

4.4 Стационарная ферментативная кинетика

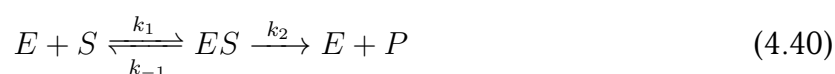
Кинетическая схема Михаэлиса—Ментен и условие стационарности. Вывод уравнения Михаэлиса—Ментен и линеаризация по Лайнуиверу—Берку.

Ферментативная кинетика — раздел химической кинетики, науки о скоростях химических реакций. Механизмы этих реакций характеризуются кинетическими параметрами, к которым относится скорость химических реакций (количество вещества, прореагировавшего в единицу времени).

4.4.1 Кинетическая схема Михаэлиса—Ментен и условие квазистационарности

Схема Михаэлиса—Ментен предложена в 1913 году для фермента инвертазы. Она состоит из стадий: образования фермент-субстратного комплекса ES , превращения субстрата S в продукт P , наконец, десорбции продукта с фермента и восстановление последнего в первоначальное состояние E .

Для этой простейшей схемы ферментативного процесса с участием одного промежуточного соединения кинетику реакции



описывает система уравнений, включающая два дифференциальных уравнения (4.41, 4.42) и уравнения материального баланса [16, 17]:

$$d[P]/dt = k_2[ES], \quad (4.41)$$

$$d[ES]/dt = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES], \quad (4.42)$$

$$[E]_0 = [E] + [ES], \quad (4.43)$$

$$[S]_0 = [S] + [P] + [ES]. \quad (4.44)$$

Принцип стационарности в применении к этой реакции означает, что после малого промежутка времени с начала реакции концентрация промежуточного продукта достигает некоторого значения, определяемого текущей концентрацией субстрата и в течении некоторого малого промежутка времени ее можно считать неизменной $[ES] = \text{const}$ [17].

Скорость реакции по схеме Михаэлиса—Ментен определяется скоростью распада комплекса с образованием продукта, т.е. произведением константы скорости k_2 на концентрацию комплекса ES . Условие квазистационарности ($d[ES]/dt \approx 0$) реализуется при условии $S \gg E_0$, т.е. формула применима до концентраций субстрата превышающих концентрацию фермента не менее, чем в 10–100 раз.

4.4.2 Вывод уравнения Михаэлиса—Ментен

Уравнение Михаэлиса—Ментен (4.48) является основным уравнением ферментативной кинетики и описывает зависимость скорости образования продукта от концентрации субстрата и фермента согласно реакции (4.40).

Используя условие $d[ES]/dt = 0$, из уравнения (4.42) получим:

$$[E] = \frac{(k_{-1} + k_2)[ES]}{k_1[S]}. \quad (4.45)$$

Подставим полученное выражение (4.45) в уравнение (4.43):

$$[E]_0 = \frac{(k_{-1} + k_2)[ES]}{k_1[S]} + [ES] = \frac{(k_{-1} + k_2) + k_1[S]}{k_1[S]} [ES] \quad (4.46)$$

Из уравнения (4.45) выразим $[ES]$:

$$[ES] = \frac{k_1[S][E]_0}{(k_{-1} + k_2) + k_1[S]} = \frac{[S][E]_0}{(k_{-1} + k_2)/k_1 + [S]} \quad (4.47)$$

Найдем скорость реакции, подставим (4.47) в (4.41):

$$v = \frac{k_2[E]_0[S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1} \quad \text{или} \quad \boxed{v = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_M}} \quad (4.48)$$

где $K_M = (k_2 + k_{-1})/k_1$ — константа Михаэлиса—Ментен;

V_{max} — максимальная скорость реакции, равная $k_2[E]_0$;

$[S]$ — концентрация субстрата;

$[E]_0$ — начальная концентрация фермента.

Константа Михаэлиса характеризует сродство фермента к субстрату: высокое сродство характеризуется низкой величиной константы, и наоборот. Константа Михаэлиса численно равна той концентрации субстрата $[S]$, при которой скорость реакции достигает половины максимальной величины (Рис. 4.3).

Вывод формулы Михаэлиса—Ментен опирается на несколько допущений, которые для некоторых ферментов и условий протекания реакции могут быть вполне приемлемыми, а для некоторых могут приводить к большим ошибкам описания:

- необратимое превращение ES в $E + P$;
- достижение равновесия между E , S и ES ;
- отсутствие в растворе других форм фермента, кроме E и ES .

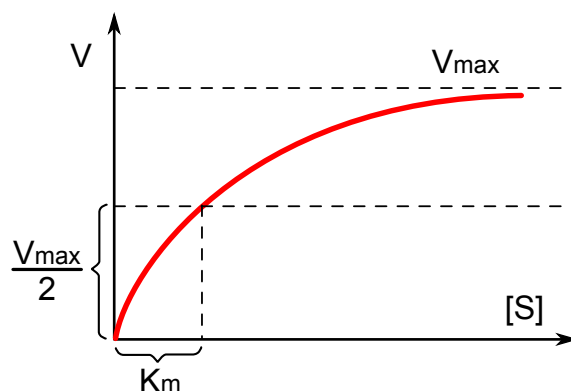


Рисунок 4.3 — Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата

4.4.3 Линеаризация уравнения Михаэлиса—Ментен

Для удобства расчетов уравнение (4.48) возможно преобразовать так, чтобы экспериментальные точки лежали на прямой. Для простого графического определения констант часто используют различные линеаризации уравнения. Наиболее часто используется линеаризация Лайнуивера—Берка.

Перевернем уравнение (4.48) и получим:

$$\frac{1}{V} = \frac{[S] + K_M}{V_{max}[S]}, \quad \rightarrow \quad \frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}[S]} + \frac{[S]}{V_{max}[S]}, \quad (4.49)$$

линейную зависимость от обратных координат (см. Рис. 4.4):

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}. \quad (4.50)$$

Уравнение (4.50) является уравнением Лайнуивера—Берка.

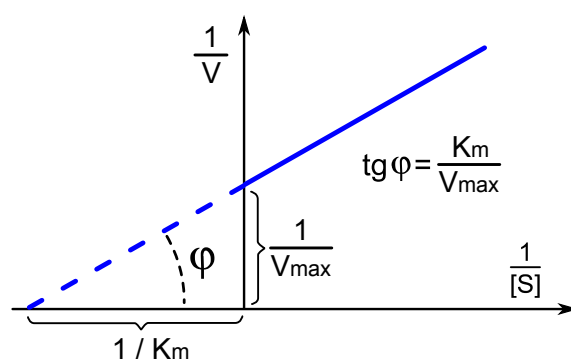


Рисунок 4.4 — Линеаризованная форма зависимости скорости реакции от концентрации субстрата в обратных координатах (по Лайнуиверу—Берку)

4.5 Нестационарная ферментативная кинетика

Релаксационные методы исследования ферментативных реакций. Основные экспериментальные способы измерения характеристик нестационарных ферментативных процессов.

4.5.1 Релаксационные методы исследования ферментативных реакций

Нестационарная ферментативная кинетика и, тем самым, механизм действия ферментов эффективно изучаются методами химической релаксации, развитыми Эйгеном. Система выводится из равновесного или стационарного состояния быстрым изменением внешнего параметра и изучается кинетика ее приближения к новому равновесному или стационарному состоянию. Чаще всего пользуются скачком концентрации или температуры, воздействием ультразвука и др. Доступны измерению времена релаксации вплоть до 10^{-10} с [12].

Рассмотрим в качестве примера простейшую одностадийную реакцию:



где S — лиганд.

Кинетическое уравнение имеет вид:

$$\dot{F}_0 = -k_1 F_0 S + k_{-1} F_1 \quad (4.52)$$

В стационарном состоянии: $\dot{F}_0 = \dot{F}_1 = \dot{S} = 0$. Выведем систему из равновесия небольшим возмущением какой-либо переменной:

$$F_0 = \overline{F}_0 + x_0, \quad F_1 = \overline{F}_1 + x_1, \quad S = \overline{S} + y, \quad (4.53)$$

где $\overline{F}_0, \overline{F}_1, \overline{S}$ — стационарные концентрации;

x_0, x_1, y — отклонения концентраций при возмущении.

Тогда, подставив (4.53) в (4.52), динамика возмущения:

$$\dot{x}_0 = -k_1 \overline{F}_0 y - k_1 \overline{S} x_0 - k_1 x_0 y + k_{-1} x_1. \quad (4.54)$$

Из закона сохранения для реакции (4.51):

$$x_0 = y = -x_1. \quad (4.55)$$

В уравнении (4.54) пренебрегаем $k_1 x_0 y = 0$, в силу того, что в нем два малых возмущения. Тогда с учетом (4.55) получим:

$$\dot{y} = -(k_1 \overline{F}_0 - k_1 \overline{S} + k_{-1}) y. \quad (4.56)$$

Тогда после разнесения переменных в (4.56) получим:

$$\frac{dy}{y} = -(k_1 \overline{F}_0 - k_1 \overline{S} + k_{-1}) dt, \quad (4.57)$$

и решение этого уравнения (4.57) будет:

$$y(t) = y(0) \exp(-t/\tau), \quad (4.58)$$

где $\tau = k_1(\overline{F}_0 \overline{S}) + k_{-1}$.

Измерение τ при разных концентрациях \overline{F}_0 и \overline{S} позволяет определить k_1 и k_{-1} .

4.5.2 Основные экспериментальные способы измерения характеристик нестационарных ферментативных процессов

Кинетика ферментативных реакций в предстационарном режиме их протекания изучается в основном «струевыми» методами, которые позволяют смешать два раствора за доли миллисекунды, в то время как число оборотов большинства ферментов составляет около 1000с^{-1} , и методами релаксационной кинетики. Проблема мертвого времени, связанного со смешиванием реагентов, здесь отсутствует, благодаря использованию предварительно смешанных растворов.

«Струевые» методы для измерения кинетики быстрых реакций в растворе впервые были использованы Хартриджем и Роутоном в 1923 г. Сущность «струевых» методов заключается в том, что реакция инициируется быстрым смешиванием реагентов в проточных условиях. Различают 3 «струевых» метода: метод непрерывной струи, ускоренной и остановленной струи. По методу непрерывной струи два раствора реагирующих веществ вводят в смесительную камеру, и раствор после смешивания поступает в трубку для наблюдения.

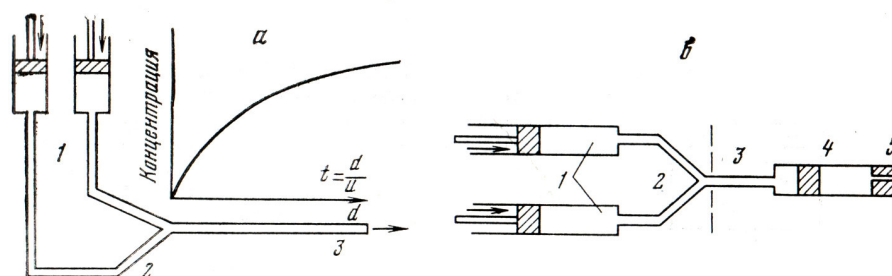


Рисунок 4.5 — а. Принципиальная схема установки, используемой в методе непрерывной струи: 1 — растворы реагирующих веществ; 2 — смесительная камера; 3 — трубка для наблюдений б. Принципиальная схема установки, используемой в методе остановленной струи: 1 — растворы реагирующих веществ; 2 — смесительная камера; 3 — точка наблюдения; 4 — останавливающий поршень; 5 - ограничитель [17]

Время t в этом методе при постоянной скорости потока u определяется расстоянием l от смесительной камеры: $t = l/u$. Например, если скорость струи равна 10 м/с, то на расстоянии 1 см от смесителя «возраст» раствора будет равен 1 мс, на расстоянии 10 см – 10 мс и т. д.

По методу ускоренной струи растворы реагирующих веществ помещают в шприцы, поршни которых приводят в движение резким толчком в течение примерно 0,1 с. Наблюдение проводят в фиксированной точке вблизи смесительной камеры. При этом скорость течения жидкости (и, следовательно, время протекания реакции) постоянно меняется. Методика ускоренной струи позволяет использовать весьма малые объемы реагирующих веществ (до 0,1 мл), что является важным преимуществом при исследовании ферментативных реакций.

Наиболее широкое распространение нашел метод остановленной струи.

Для остановки струи используют простое устройство, которое позволяет остановить поток за 1-2 мс. Это устройство представляет собой поршень, помещенный в конце трубки для наблюдений. Реакционная смесь толкает этот поршень, и он резко останавливается, дойдя до внешних ограничителей.

Чаще всего в «струевых» методах используют спектрофотометрический метод измерения с осциллографической регистрацией сигнала от фотоумножителя. «Мертвое» время лучших современных установок подобного типа составляет 0,1 - 0,3 мсек. Следовательно, «струевые» методы не позволяют изучать нестационарную кинетику в микросекундном режиме.

Метод импульсного фотолиза (флеш-метод)

Дальнейшее увеличение временной разрешающей способности аппаратуры для исследования нестационарной кинетики дает использование в энзимологии метода импульсного фотолиза. Этот метод применяется для реакций, которые инициируются действием света за счет протекающих в системе фотохимических реакций. В отличие от «струевых» методов метод импульсного фотолиза не требует быстрого смешивания реагентов.

Реакция инициируется под действием мощного светового импульса на раствор фермента с веществом, которое под действием света превращается в субстрат (или эффектор ферментативного процесса). Фотохимическая реакция может протекать и в активном центре фермента. Продуктом такой реакции является активный фермент, который начинает катализировать исследуемую реакцию.

«Мертвое» время метода определяется двумя параметрами: 1) временем импульсной вспышки и 2) временем фотохимического образования соответствующего компонента ферментативной реакции. Ксеноновая импульсная техника позволяет получить мощные импульсы света продолжительностью 10–100 мсек. Время вспышки может быть уменьшено без уменьшения мощности при использовании лазерной техники. Время

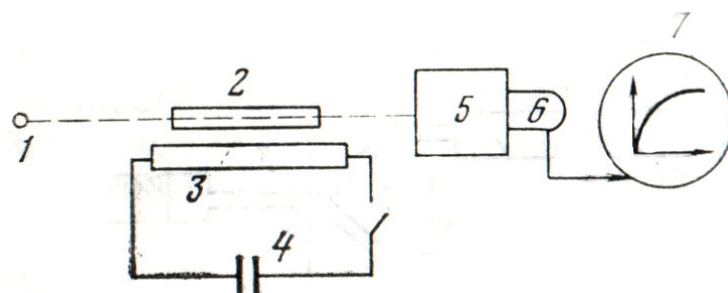


Рисунок 4.6 — Принципиальная схема установки импульсного фотолиза: 1 — источник света; 2 — кювета с исследуемым раствором; 3 — импульсная лампа; 4 — высоковольтный конденсатор; 5 — монохроматор; 6 — фотоумножитель; 7 — осциллограф [17]

фотохимической реакции может быть достаточно коротким.

4.6 Теория переходного состояния и скорости химических реакций

Температурная зависимость констант равновесия. Температурная зависимость индивидуальных констант скоростей реакции. Теория переходного состояния и скорости химических реакций. Денатурация белков. Термодинамические характеристики ферментативной реакции.

4.6.1 Температурная зависимость констант равновесия

Из определения свободной энергии Гиббса $G = H - TS$ и общего соотношения $\Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_a$ легко вывести, что при любой данной (постоянной) температуре T :

$$\Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_a = \Delta H_{rx}^0 - T \Delta S_{rx}^0, \quad (4.59)$$

где ΔH_{rx}^0 и ΔS_{rx}^0 — соответствующие изменения энтальпии и энтропии при превращении 1 моля реагента в продукт при условии, что все реагенты и продукты находятся в стандартном состоянии.

Отсюда получаем:

$$\ln K_a = -\frac{\Delta H_{rx}^0}{RT} + \frac{\Delta S_{rx}^0}{R}. \quad (4.60)$$

Уравнение имеет двойное значение: для предсказания по известным ΔH_{rx}^0 и ΔS_{rx}^0 изменений константы равновесия с температурой, если они известны при какой-то одной температуре, а также для определения ΔH_{rx}^0 и ΔS_{rx}^0 в данной реакции из температурной зависимости константы равновесия.

Дифференцируя можно получить уравнение Вант-Гоффа:

$$\frac{\partial \ln K_a}{\partial \left(\frac{1}{T}\right)} = -\frac{\Delta H_{rx}^0}{R}. \quad (4.61)$$

Отсюда можно получить формулу для расчета константы равновесия для данной температуры по ее значению для другой (стандартной) температуры:

$$(\ln K_a)_{T_2} - (\ln K_a)_{T_1} = -\frac{\Delta H_{rx}^0}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right). \quad (4.62)$$

4.6.2 Температурная зависимость индивидуальных констант скоростей реакции

В состоянии равновесия скорости прямой и обратной реакций равны.



То есть $k_1[A][B] = k_{-1}[C][D]$. Отсюда можно получить:

$$\frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[C][D]}{[A][B]} = K_{eq} \quad (4.64)$$

Представим $\ln K_{eq}$ в виде $\ln k_1 - \ln k_{-1}$ и сделаем допущение, что уравнение Вант-Гоффа:

$$\frac{\partial \ln K_a}{\partial \left(\frac{1}{T}\right)} = -\frac{\Delta H_{rx}^0}{R}, \quad (4.65)$$

справедливо для констант скоростей реакций:

$$\frac{\partial \ln k}{\partial \left(\frac{1}{T}\right)} = -\frac{E_a}{R}, \quad (4.66)$$

где $E_{a(direct\ rx)} - E_{a(revers\ rx)} = \Delta H_{rx}^0$.

Мы приходим к феноменологическому уравнению Аррениуса:

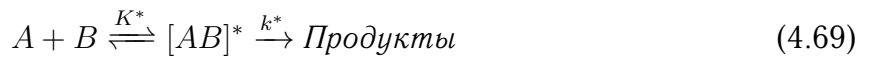
$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (4.67)$$

Экспериментально найдено, что константы скоростей реакций, описывающих одно-стадийное равновесие, действительно удовлетворяют этому феноменологическому уравнению. Здесь A не зависит от температуры, а E_a называется энергией активации.

В состоянии равновесия скорости прямой и обратной реакций равны:

$$\Delta G_{rx}^0 = -RT \ln K_a = \Delta H_{rx}^0 - T \Delta S_{rx}^0. \quad (4.68)$$

Рассмотрим схему реакции, в которой постулируется существование промежуточного комплекса.



В этой реакции $K^* = \frac{[AB]^*}{[A][B]}$.

Выражение для скорости реакции с учетом промежуточного комплекса имеет:

$$\begin{aligned} -\frac{d[A]}{dt} &= [AB]^* \times (\text{Скорость перехода через барьер}) = \\ &= [AB]^* \times k^* = k^* K^* [A][B] \end{aligned} \quad (4.70)$$

Из обычного выражения скорости прямой реакции $-\frac{d[A]}{dt} = k_f[A][B]$ можем записать более детальное выражение для константы скорости прямой реакции $= k_f = k^* K^*$ или еще более подробно:

$$k_f = k^* \exp\left(\frac{\Delta S^{o*}}{R}\right) \exp\left(\frac{-\Delta H^{o*}}{RT}\right), \quad (4.71)$$

где ΔS^{o*} и ΔH^{o*} — соответствующие изменения стандартной энтальпии и энтропии, сопровождающие переход от реагентов к активированному комплексу.

Скорость перехода через энергетический барьер можно приравнять к частоте ν колебаний связи(ей), которая(ые) должна(ы) разорваться; другими словами, если атомы колеблются с частотой ν колебаний в секунду, то существует ν возможностей в секунду для ее разрыва. Поскольку, согласно классическим представлениям, энергия колебаний связи составляет $h\nu$, и поскольку тепловая энергия колебаний составляет kT имеем:

$$h\nu = kT \quad k^* = \nu \frac{kT}{h}. \quad (4.72)$$

Константа скорости прямой реакции:

$$k_f = \left(\frac{kT}{h} \right) \exp \left(\frac{\Delta S^{o*}}{R} \right) \exp \left(\frac{-\Delta H^{o*}}{RT} \right) \quad (4.73)$$

Сравнивая это уравнение с эмпирическим уравнением Аррениуса получаем:

$$E_a = \Delta H^{o*} + RT. \quad (4.74)$$

Это уравнение описывает связь между (теоретическим) переходным состоянием и (экспериментальным) уравнением Аррениуса. Поскольку при комнатной температуре $RT = 600$ кал, в то время как для большинства химических реакций E_a составляет много килокалорий, разность эмпирической энергии активации E_a и энтальпии активации ΔH^{o*} — не велика.

Уравнение позволяет объяснять различия в константах скоростей реакции на термодинамическом языке энтальпии и энтропии. Согласно теории переходного состояния, смысл полученного уравнения состоит в том, что это уравнение позволяет найти как величину константы скорости, так и ее зависимость от температуры, а это дает возможность охарактеризовать энергию, необходимую для разрыва связей в реакции (ΔH^*), и изменение неупорядоченности в системе (ΔS^*).

$$k_f = \left(\frac{kT}{h} \right) \exp \left(\frac{\Delta S^{o*}}{R} \right) \exp \left(\frac{-\Delta H^{o*}}{RT} \right). \quad (4.75)$$

Следовательно, по аналогии с критерием самопроизвольности протекания всей реакции в целом, разность свободных энергий реагентов и переходного состояния выполняет такую же роль при решении вопроса о протекании реакции по данному пути.

Например, в реакциях денатурации энергия активации может составлять <100000 кал/моль, так что для разворачивания белка из компактной нативной конформации в статистически свернутую цепь необходимо разрушить много связей. Из уравнения следует, что если ΔH^{o*} большая положительная величина, то константа скорости реакции должна быть очень мала.

Действующая сила в такой реакции обеспечивается очень значительным увеличением ΔS^{o*} , то есть изменением неупорядоченности при переходе от реагентов к переходному состоянию, поскольку в действительности при очень небольшом числе нативных конформаций белка существует огромное число возможных конформаций для белка денатурированного. Величина ΔS^{o*} компенсирует величину ΔH^{o*} в уравнении (4.75), и в результате константа скорости может быть большой. Однако, если энтальпия реакции ΔH^{o*} велика, скорость реакции значительно изменяется в температурном интервале, узком по сравнению с большинством химических реакций.

Глава 5

Молекулярная биология клетки

5.1 Биологические молекулы и их окружение

Основные меж- и внутримолекулярные силы, обеспечивающие формирование и поддержание структуры биомолекул и их комплексов. Пространственная организация биополимеров. Электронные свойства биополимеров.

5.1.1 Организующие меж- и внутримолекулярные силы

Полимерная цепь биологических макромолекул (аминокислоты в цепи белка, нуклеотиды в цепи нуклеиновых кислот), существует за счет химических или валентных взаимодействий. Помимо этого, между молекулами действуют также слабые невалентные силы, которые участвуют в формировании пространственной структуры макромолекул. Кратко рассмотрим природу этих взаимодействий и их вклад в стабилизацию структуры биомacroмолекулы.

Взаимодействие Ван-дер-Ваальса

Силы Ван-дер-Ваальса участвуют в образовании конденсированных жидких и твердых состояний и во взаимодействии на поверхности раздела фаз. Ими же определяются взаимодействия в газах, приводящие к отклонению законов идеального газа, которые в первом приближении описываются известным уравнением Ван-дер-Ваальса для газов:

$$(p + a/v^2)(v - b) = nRT, \quad (5.1)$$

где a , b — константы, определяющие взаимное притяжение и отталкивание молекул.

В зависимости от соотношения между давлением (p) и объемом (v) могут осуществляться разные агрегатные состояния жидкости и газа и переходы между ними. Например, для жидкости энергия межмолекулярных взаимодействий определяет теплоту испарения. Тогда биологическую макромолекулу также можно рассматривать как своего

рода конденсированную систему, состояние которой определяется слабыми невалентными взаимодействиями. Тогда стабилизация и изменения конформации макромолекулы при функционировании должны во многом определяться этими взаимодействиями.

Значение характерной энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий лежит обычно в диапазоне от 4–8 кДж/моль и выше, в то время как тепловая энергия молекулы при комнатной температуре ($T = 300$ K) составляет $RT \approx 48$ Дж/(моль · град) · 300град = 2,52 кДж/моль, а энергия ковалентных связей 170–630 кДж/моль. Силы Ван-дер-Ваальса имеют электромагнитную природу и определяются взаимодействием электрических диполей в соседних молекулах. В зависимости от того, обладают ли взаимодействующие молекулы постоянными или индуцированными электрическими дипольными моментами существуют различные типы сил Ван-дер-Ваальса.

Ориентационные взаимодействия

Если молекулы обладают постоянными дипольными моментами, то энергия их взаимодействия равна

$$U_{\text{ор}} = -\frac{2P_1^2 P_2^2}{3kTR^6}, \quad (5.2)$$

где P_1 и P_2 — дипольные моменты молекул; R — расстояние между ними; k — константа Больцмана; T — абсолютная температура.

Данное выражение выводится на основе известной энергии взаимодействия диполей при ориентации, соответствующей минимальной энергии $U = -\frac{2P_1 P_2}{R^3}$, при этом учитывается тепловое движение, приводящее к отклонению ориентации диполей от энергетически минимальной.

Индукционные взаимодействия

Если одна молекула имеет постоянный дипольный момент P_1 , то она может навести диполь P_2 другой молекуле, обладающей поляризуемостью α :

$$P_2 = \alpha E_1, \quad (5.3)$$

где P_2 — наведенный диполь; α — коэффициент поляризуемости второй молекулы; E_1 — локальная напряженность электрического поля постоянного диполя первой молекулы P_1 в центре поляризуемой молекулы. Поле E_1 диполя P_1 на расстоянии R равно $E_1 = \frac{2P_1}{R^3}$ при расположении диполя вдоль направления R . Тогда энергия индукционного взаимодействия ($U_{\text{инд}}$), усредненная по всем ориентациям постоянного диполя P_1 , равна

$$U_{\text{инд}} = -\frac{1}{2} E_1^2 = -\frac{2\alpha P_1^2}{R^6} \quad (5.4)$$

В жидких и твердых телах поляризуемая молекула испытывает симметричное влияние большого количества соседних молекул в результате чего их результирующее действие в значительной степени компенсируется.

Дисперсионные взаимодействия

Наиболее распространенными видами невалентных взаимодействий являются дисперсионные, или поляризационные, взаимодействия, которые наблюдаются между молекулами, не обладающими постоянными дипольными моментами. Основная часть такого взаимодействия обусловлена внешними наиболее слабо связанными электронами. Природа дисперсионных взаимодействий носит квантово-механический характер и является результатом появления «мгновенных» диполей, которые возникают при движении электронов в молекулах.

Одним из следствий принципа неопределенности Гейзенберга является неравенство нулю минимальной энергии электрона, что можно представить как существование так называемых нулевых колебаний электрона в атоме. Эти колебания связаны с быстрыми смещениями электрона из положения равновесия, что приводит к появлению «мгновенных» диполей, которые в свою очередь индуцируют появление индуцированных дипольных моментов в соседней молекуле и наоборот. В результате осцилляции электронов в молекулах оказываются связанными, что приводит к изменению частот их колебаний. Расчеты показывают, что энергия связанных осцилляторов меньше суммы нулевых колебаний несвязанных осцилляторов — эта разность и есть энергия дисперсионного взаимодействия:

$$U_{\text{дисп}} = -\frac{3I_1 I_2}{2(I_1 + I_2)} \frac{\alpha_1 \alpha_2}{R^6} \quad (5.5)$$

где I_1, I_2 — ионизационные потенциалы, т.е. энергия, необходимая для отрыва электрона; α_1 и α_2 — поляризуемости молекул.

Существенным отличием дисперсионных сил от ориентационных и индукционных является их аддитивность. Суммарное ван-дер-ваальсово взаимодействие двух молекул определяется суммой выражений (5.2), (5.4) и (5.5) и составляет от 4,0 до нескольких десятков кДж/моль.

На малых расстояниях начинают сказываться силы отталкивания между атомами, которые связаны с эффектами отталкивания электронных облаков при их взаимопроникновении. Силы отталкивания связаны с обменными взаимодействиями, подчиняющимися принципу Паули. Обменные взаимодействия происходят при перекрывании волновых функций электронов, т. е. на расстояниях 0,1 нм (т. е. длин химических связей), и убывают с расстоянием скорее ($\sim 1/R^2$), чем притяжение ($\sim 1/R^6$) диполей.

Потенциалы взаимодействия складываются из энергии притяжения, пропорциональной $-A/R^6$ и энергии отталкивания, которая подбирается феноменологически, либо в виде атом-атомных потенциалов Букингема:

$$U(R) = -\frac{A}{R^6} + B \exp(-\mu R) \quad (5.6)$$

либо потенциала Леннарда — Джонса:

$$U(R) = -\frac{A}{R^6} + \frac{B}{R^{12}} \quad (5.7)$$

где A , B , μ — константы; R — расстояние между взаимодействующими атомами. Первые члены (5.6) и (5.7) соответствуют притяжению, вторые — отталкиванию.

Водородная связь

Помимо сил Ван-дер-Ваальса большую роль в стабилизации структур макромолекул играют также водородные связи и электростатические взаимодействия между заряженными и полярными группами. Например, известно, что водородные связи стабилизируют вторичную структуру полипептидных цепей. Водородная связь осуществляется между атомом водорода, химически связанным с одной молекулой и электроотрицательными атомами O, N, F, Cl, принадлежащими, как правило, другой молекуле.

Природа водородной связи сложна и не сводится только к электростатическому притяжению, хотя оно и дает основной вклад в энергию водородной связи. Расстояние между электроотрицательными атомами, связанными водородной связью, обычно меньше ван-дер-ваальсовых радиусов соответствующих атомов примерно на 0,02–0,05 нм. Как правило, значения энергии водородной связи лежат в пределах 12,6–33,6 кДж/моль.

Проявляется водородная связь в спектрах, приводя, в частности, к уширению и увеличению интенсивности инфракрасных полос поглощения ОН-групп. Частоты колебаний групп, содержащих водород, снижаются при образовании с ним водородных связей.

Электростатические взаимодействия

Этот вид взаимодействий не только дает вклад в энергию водородных связей, но и играет важную самостоятельную роль в стабилизации макромолекул. Различные атомы в пептидных цепочках сильно различаются по характеру распределения на них зарядов. Взаимодействие частично заряженных атомов характеризуется электростатическим потенциалом, вид которого задается уравнением:

$$U_{\text{эл.ст.}} = \sum \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}}, \quad (5.8)$$

где q_i , q_j — величины парциальных зарядов на атомах i и j ; R_{ij} — расстояние между атомами; ϵ — диэлектрическая постоянная, зависящая от поляризуемости атомов и их взаимного расположения, значение которой для белков обычно принимается равным $\approx 3,5$.

Учет электростатических взаимодействий наряду с собственно ван-дер-ваальсовыми силами несколько изменяет, хотя и незначительно, расстояния между атомами и, следовательно, их общее стерическое расположение в структуре биополимеров.

5.2 Структура и функция белков

Классификация структур белков. Принципы структурной организации белков. Переходы спираль-клубок. Кооперативные переходы в белковых молекулах. Формирование пространственной организации белков. Проблема предсказания пространственной структуры белков по первичной структуре.

5.2.1 Классификация структур белков

Белки можно разбить на три больших класса: глобулярные, фибриллярные и мембранные белки [18].

Глобулярные: белки, у которых одна или большее число полипептидных цепей свернуты в плотную компактную структуру сферической (или глобулярной) формы. Обычно глобулярные белки растворимы в водных системах и легко диффундируют; одни из этих белков выполняют функции, обусловленные их подвижностью, а другие функционируют как динамические системы. К глобулярным белкам относятся почти все ферменты, равно как и транспортные белки крови, антитела и пищевые белки.

Фибриллярные: белки, молекулы которых представляют собой нерастворимые в воде длинные нитевидные полипептидные цепи, вытянутые вдоль одной оси. Типичными фибриллярными белками являются альфа-кератин волос и шерсти, фиброин шелка и коллаген сухожилий. К этому классу относятся также нитевидные белки, присутствующие в сократительных системах мышечных и немышечных клеток, например, актин и миозин, а также микротрубочки.

Мембранные белки.

Мембраны обеспечивают фазовую обособленность отдельной клетки и формирование внутриклеточных компартментов. Мембрана — граница между внутренней средой клетки и внешним окружением. Однако существование клетки невозможно без обмена веществом с внешним миром, но вещества должны проникать в клетку и удаляться из нее избирательно. Функцию селективного переноса веществ через мембрану осуществляют так называемые мембранные белки. Вторая не менее важная функция мембранных белков — перенос сигналов. Характерной особенностью строения мембранных белков является высокая регулярность укладки остова трансмембранной белковой цепи — части молекулы, погруженные в липидное окружение являются либо α -спиралями, либо β -цилиндрами. Поэтому мембранные белки представляют собой пучки спиралей, пронизывающие мембрану. При этом у транспортных мембранных белков внутри пучка имеется канал для переноса молекул. У рецепторных белков канал отсутствует — сигнал о связывании с внешним рецептором сигнальных молекул передаются внутрь клетки через изменение конформации трансмембранного пучка

Короткие пептиды ???.**5.2.2 Принципы структурной организации белков**

Существует два информационных уровня организации белковых (и других) макромолекул.

Первый уровень организации — специфическая последовательность аминокислотных остатков, ковалентно связанных в полипептидные цепи.

Аминокислотный код является тем молекулярным кодом, с помощью которого осуществляется сначала преобразование, а затем, и, через деятельность белков, — воплощение и реализация генетической информации.

Подробное изучение глобулярных и фибриллярных белков показало, что для каждого индивидуального белка характерна своя пространственная трехмерная организация, которая зависит от его первичной структуры — то есть от информации, записанной линейным аминокислотным кодом. Генетическим кодом кодируется только первичная — «линейная» структура полипептидной цепи.

Второй уровень организации белковых молекул — пространственный, осуществляется уже при помощи химических связей, значительно более слабых, чем ковалентные. К таким связям относятся слабые: водородные и ионные связи, ван-дер-ваальсовы силы, гидрофобные взаимодействия, которые в совокупности оказываются весьма сильными. Через посредство этих сил и связей идёт воплощение линейной молекулярной информации в пространственную структуру и стереохимическую форму информации белковых молекул. В результате всех преобразований «одномерная» молекулярная информация полипептидных цепей «сворачивается, упаковывается и сжимается» в трехмерную информацию белковых молекул, которая в таком виде становится пригодной для транспортировки, передачи по различным каналам и компартментам, а затем, и для непосредственного использования в различных биологических процессах.

Наличие в структурах белковых макромолекул как внутримолекулярных, так и внешних информационных сил и связей взаимодействия позволяет говорить о том, что внутри и вокруг макромолекулы образуется специфическое силовое «информационное поле», способное влиять как на структуру самого белка, так и на его микроокружение. Поэтому белковая макромолекула как бы стабилизируется самосогласованным сжимающим информационным полем, обусловленным кооперативными силами притяжения между боковыми атомными R-группами аминокислот.

Белок не обладает сильной структурной жесткостью, он подвижен в пределах, необходимых для выполнения ими биологических функций.

- Первичная структура — последовательность аминокислот.

- Вторичная (2D) — α -спирали, β -структуры.
- Третичная (3D) (домены) — укладка вторичных структур одной полипептидной цепи в глобулу.
- Четвертичная — объединение нескольких белковых цепей с «суперглобулу».

5.2.3 Переходы спираль-клубок

Эта теория должна давать выражения для зависимости числа разорванных водородных связей от температуры. В α -спирали каждое звено соединено водородными связями с двумя другими, отстоящими от него на четыре звена в цепи. Для освобождения данного звена надо одновременно разорвать не две, а сразу несколько водородных связей. Теория переходов спираль-клубок основана на одномерной модели кооперативных явлений. Энергия всей цепи зависит от набора свободных и связанных звеньев, поскольку их энергии отличаются друг от друга. Для нахождения условий перехода спираль-клубок необходимо вычислить статистическую сумму цепи, учитывая всевозможные распределения водородных связей между звеньями.

Статистическая сумма цепи равна:

$$Z = \sum_{\mu_i} \exp(-G\mu_i/RT), \quad (5.9)$$

где G — собственная энергия i -го звена, включающая и энергию его водородных связей ($G = 0$ для звена в свободном состоянии, $G = 1$ — в связанном состоянии).

В произведении Z наибольшее значение имеют два типа множителей, которые определяют энергию состояния звена, следующего за связанным или за свободным звеньями. Множитель для каждого звена в связанном состоянии ($\mu_i = 1$) равен

$$S = \exp(-\Delta G/RT) = \exp[-(\Delta H - T\Delta S)/RT], \quad (5.10)$$

где ΔH определяет суммарное изменение энергии связей при фиксации звена, а ΔS включает уменьшение энтропии при ограничении его подвижности. S определяет долю спирализованных звеньев в цепи.

Другой множитель в Z для каждого звена в связанном состоянии ($\mu_i = 1$), следующего за тремя (и более) свободными звеньями ($\mu_{i-1} = \mu_{i-2} = \mu_{i-3} = 0$), равен $\sigma = \exp(-G_{inic}RT)$, где G_{inic} — энергия инициирования спирального участка. Эта энергия затрачивается для закрепления сразу четырех звеньев, что необходимо для фиксации одного звена, следующего за тремя свободными. Фактически в этом случае при фиксации одного звена организуется сразу целый спиральный участок с понижением энтропии, что и является следствием кооперативности системы.

Степень кооперативности процесса тем больше, чем меньше множитель, зависящий от понижения энтропии при фиксации одного звена.

При $\sigma = 1$ кооперативность отсутствует ($G_{inic} = 0$), $Z = (1 + S^N)$, где N — число звеньев в цепи.

При $\alpha = 0$ (полная кооперативность, $G_{inic} \rightarrow$), $Z = 1 + S^N$.

В этом случае цепь находится только в двух состояниях: полная спиральность ($S > 1$) и клубок ($S < 1$);

- при $S > 1$, $S^N \gg 1$ — цепь является полностью спиралью,
- при $S < 1$, $S^N \ll 1$, $Z_{\text{клуб}} = 1$ — цепь переходит в состояние клубка,
- при $S = 1$ — происходит резкий кооперативный переход спираль-клубок.

Этот результат следует и из условия $\alpha = \exp(-G_{inic}RT)$, так как при бесконечно большой энергии инициирования спирального участка в цепи невозможно сосуществование в одной молекуле спиральных и клубкообразных областей. В реальных системах имеется некоторый небольшой, но конечный интервал изменения температуры, ширина которого определяет область сосуществования спиральных и клубкообразных участков цепи.

5.2.4 Кооперативные переходы в белковых молекулах

Сила взаимодействия атомов или молекул возрастает по мере нарастания изменений в системе, делая их коллективно согласованными. Кооперативность нельзя объяснить простым сложением свойств отдельных атомов и молекул, ее природа — в кооперации элементов системы, в результате которой система ведет себя как единый ансамбль, подчиняющийся определенному закону изменения. Когда субстрат связывается с активным сайтом одной субъединицы фермента, остальные субъединицы активируются.

Изменение энергии молекулы при образовании водородной связи одним из звеньев существенно зависит от наличия или отсутствия водородных связей у соседних с ним звеньев. Эта кооперативность носит энтропийный характер.

Если разность энергий состояний спираль-клубок $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, S известна как функция температуры, то доля спирализованных звеньев Θ может быть найдена по формуле:

$$\Theta = \frac{\exp(\Delta G/RT)}{1 + \exp(\Delta G/RT)}, \quad (5.11)$$

а соответственно доля расплавленного материала составит

$$1 - \Theta = \frac{1}{1 + \exp(\Delta G/RT)}, \quad (5.12)$$

Резкость перехода при нагревании можно вычислить, дифференцируя выражение по T и учитывая, что при $T = T_{пл}$, $\Delta G = 0$, $|\frac{d\Theta}{dT}|_{T_{пл}} = |\frac{\Delta H}{4RT^4}|$, где H — энтальпия перехода спираль — клубок. Величина ΔH должна зависеть от числа n освобожденных звеньев, т.е. $\Delta H \approx n\Delta H_0$, где H_0 — энтальпия разрыва связей одного звена. Кооперативный характер процесса плавления означает, что в области перехода одновременно меняется состояние n звеньев цепи, а резкость перехода пропорциональна n .

Формирование пространственной организации белков Первым белком, пространственная структура которого была установлена на основе анализа картины дифракции рентгеновских лучей на кристалле этого белка, был фибриллярный белок фиброин шелка. Первыми глобулярными белками, элементы пространственной структуры которых были определены с помощью рентгено-структурного анализа их кристаллов, были эдестин, альбумин и эксельстин.

5.2.5 Формирование пространственной организации белков

Общие черты пространственных структур белков:

1. Длины связей и величины валентных углов всех пептидных групп — одинаковы.
2. Все атомы пептидной группы расположены в одной плоскости и предпочтительной конфигурацией пептидной группы является транс-конфигурация.
3. Полипептидная цепь полностью насыщена водородными связями.
4. Двухгранные углы вращения вокруг связей N–Ca и Ca–C' отвечают минимумам торсионных потенциалов, а расстояния между всеми валентно не связанными атомами превышают суммы ван-дер-ваальсовых радиусов.
5. Конформационные состояния всех звеньев полипептидной цепи эквивалентны.

Была сформулирована гипотеза, согласно которой α -спираль и складчатая β -структура имеют фундаментальное значение в пространственной организации белковых молекул и что структуры фибриллярных, глобулярных белков и синтетических пептидов могут быть описаны с помощью небольшого числа канонических форм — некоторых структурных блоков.

Общая структура свернутого белка исключительно компактна. По плотности упаковки белки очень близки кристаллам малых органических молекул (70–78%), связанных между собой дисперсионными силами. Из-за высокой плотности упаковки белки отличаются слабой сжимаемостью. Так их коэффициент сжимаемости меньше, чем у масла, и практически совпадает с коэффициентами сжимаемости олова и каменной соли.

Проблема предсказания пространственной структуры белков по первичной структуре

Стратегии предсказания белковых структур:

1. Структура ищется как результат кинетического процесса сворачивания (существенного прогресса нет, т.к. сложные расчеты и весьма приблизительные потенциалы взаимодействия).
2. Ищется структура с минимальной возможной для данной цепи свободной энергией.

Оценка стабильности различных структур базируется на потенциалах взаимодействий, либо на частотах встречаемости разных структурных элементов и разных взаимодействий в белках. Здесь нет принципиальной разницы: квази-Больцмановская статистика белковых структур определяется потенциалами взаимодействий (при взаимодействии с водой используются гидрофобные взаимодействия).

Мы можем предсказать вторичную структуру белка по ее аминокислотной последовательности до предсказания третичной структуры, но не абсолютно точно. Все закономерности, наблюдающиеся в структурах белков, носят вероятностный, частотный характер. Невозможно выделить четкого кода белковых структур. Мы пытаемся предсказать вторичную структуру белка только по части тех взаимодействий, что ее держат в действительности (знаем внутренние взаимодействия, но не знаем те, что действуют между куском цепи и остальной глобулой). Точность распознавания α - и β -структуры и нерегулярных петель белка по одной его аминокислотной последовательности 65%.

Парадокс Левинтала — в 1968 году Сайрус Левинталь сформулировал известный парадокс: «Промежуток времени, за который полипептид приходит к своему скрученному состоянию, на много порядков меньше, чем если бы полипептид просто перебирал все возможные конфигурации»

Чтобы разрешить данный парадокс, необходимо ответить на вопрос: «Как белок выбирает свою нативную структуру среди бесчисленного множества возможных?». Для цепи из 100 остатков число возможных конформаций $\approx 10^{100}$, и их полный перебор занял бы $\approx 10^{80}$ лет, если один переход осуществлять за $\approx 10^{-13}$ секунды. Поэтому сложность проблемы заключается в том, что данный вопрос нельзя решить экспериментально, так как придется ждать $\approx 10^{80}$ лет.

Нативная структура определяется не стабильностью, не термодинамикой, а кинетикой, т.е. она соответствует быстро достижимому минимуму свободной энергии цепи.

Основа парадокса: если по ходу сворачивания цепь очень близко подходит к своей финальной структуре перед тем, как возникнут стабилизирующие эту структуру контакты (проигрыш всей энтропии до начала выигрыша энергии), сворачивание будет очень медленным.

Причина того, что самая стабильная структура белка достигает всего за

$$t = \exp [(1 \pm 0.5)N^{2/3}] \times 10\text{нс}, \quad (5.13)$$

где N — число звеньев цепи, — в том, что падение энтропии по ходу последовательного сворачивания тут же компенсируется энергией возникающих взаимодействий.

Все перестройки происходят в рыхлом клубке, а не перестраиваются по ходу сворачивания. Т.е. цепь из 100–150 АК находит стабильную структуру за секунды или минуты. Эта оценка объясняет, почему большие белки состоят из отдельно сворачивающихся стабильных доменов, иначе их сворачивание было бы слишком медленным. Если две структуры стабильны по сравнению с клубком, первой свернется та, к которой ведет лучший (с более низким барьером) путь сворачивания.

Шапероны

Пептидная цепь, растущая в процессе трансляции, принимает вторичную и третичную структуру в результате сложного многоступенчатого процесса, идущего во времени. Для образования правильной структуры с еще несвернувшейся пептидной цепочкой связываются белки — шапероны.

Шапероны — класс белков, главная функция которых состоит в восстановлении правильной третичной структуры повреждённых белков, а также образование и диссоциация белковых комплексов.

Механизм их действия, нековалентное присоединение к белкам и их «расплетение» с использованием энергии гидролиза АТФ также консервативен. Они обладают сродством к экспонированным гидрофобным участкам полипептидной цепи. Связывание с шаперонами препятствует агрегации с другими белками и тем самым создает условия для нормального сворачивания растущего пептида. При освобождении шаперонов гидролизует АТФ.

Шапероны принадлежат к трем белковым семействам, так называемым белкам теплового шока (hsp60, hsp70, hsp90). Свое название эти белки получили потому, что их синтез возрастает при повышении температуры и других формах стресса. При этом они выполняют функцию защиты белков клетки от денатурации. Белки — представители семейства hsp70 — связываются на начальной фазе образования растущего пептида. Одни из них контролируют процесс сворачивания белка в цитоплазме, другие — участвуют в переносе белков в митохондрии. Белки hsp60 охватывают синтезированный полипептид наподобие бочонка, тем самым обеспечивая условия для принятия правильной конформации.

В конце XX века были открыты белки, вызывающие болезни типа «коровьего бешенства», названные прионами. Попадая в организм, такие белки изменяют пути формирования пространственной структуры белка, синтезирующегося в организме. Этот белок с измененной пространственной структурой накапливается в клетках головного

мозга и приводит к смерти.

5.3 Ферменты

Механизмы ферментативного катализа. Концепция белок-машина.

5.3.1 Механизмы ферментативного катализа

1. Модель «ключ-замок» Фишера.

В рамках этой модели фермент — жесткая структура (ферма) не способная к конформационным переходам. Объясняется эффект специфичности. Эффективность катализа объясняется только за счет изменения конфигурационной энтропии субстрата (энтропийный катализ). Конформационные переходы в модели отсутствуют. Эффекты аллостерической модификации объяснения не находят.

2. Модель «рука-перчатка» Кошланда.

Фермент обладает очень низкой жесткостью — «цепь» и способен принимать форму комплементарную реакционно-способной конфигурации субстрата, т.е. «обволакивать» ее, как перчатка. Эффективность катализа повышается только за счет конфигурационной энтропии субстрата (энтропийный катализ). Запасания и использования энергии, строго говоря, не может иметь места. Однако, поскольку модель сформулирована вербально, отрицать эффект запасания тоже нельзя. В таком неопределенном состоянии модель существует по сей день.

3. Модель дыбы.

Фермент представляется как жесткая конструкция (ферма), которая комплементарна, но не полностью к одной реакционноспособной конфигурации субстрата. Субстрат представляется как деформируемое тело, которое при связывании напрягается. В переходном состоянии напряжение концентрируется на атакуемой связи, что и обеспечивает эффективность катализа. Энергия запасается только в субстрате, но не в ферменте. Осуществляется энергетический и энтропийный катализ. В отличие от выше рассматриваемой модели «белок-машина» не учитывается участие тела фермента в запасании и использовании энергии. Это отличие существенно, поскольку в модели «дыбы» не учитывается роль конформационных переходов, а также эффекты аллостерической модификации.

В рамках вышеприведенных моделей действует ряд факторов, которые способствуют резкому ускорению химических реакций по сравнению с протеканием этой реакции в водной среде без участия фермента. Физическое своеобразие ферментативного катализа определяется прежде всего ролью глобулы, размеры которой на порядок больше размеров субстрата. При сорбции активным центром молекула субстрата внедряется в гидрофобную, неполярную, полость в молекуле фермента. Тем самым, молекула субстрата переходит из водного в гидрофобное окружение. Фермент является не только

специфическим реагентом, но и специфической средой реакции. Неполярные внутренние области ферментов обеспечивают живую клетку эквивалентами органических растворителей, которые имеют преимущества по сравнению с водой, обеспечивая среду с низкой диэлектрической проницаемостью, в которой могут иметь место сильные электрические взаимодействия между реагентами, которые способствуют активации субстрата.

Вышеперечисленные модели известны достаточно давно. Относительно новой моделью ферментативного катализа является модель «белок-машина», разрабатываемая Д.С.Чернавским.

5.3.2 «Белок-машина» биологические макромолекулярные конструкции

Белковые макромолекулы занимают промежуточное положение между простыми молекулами и макроскопическими телами. Размеры белковых макромолекул много больше размеров простых молекул. Поэтому к белкам применимы такие понятия макрофизики, как температура, упругость, диэлектрическая проницаемость и т.п. Иными словами, макромолекула белка может рассматриваться как макроскопическое тело в физическом понимании этого слова. К простой молекуле (например, молекуле воды) эти понятия неприменимы, но к телам нанометровых масштабов, содержащих тысячи простых молекул, их уже вполне можно применять. Встает вопрос: к какому из известных классов макроскопических физических тел можно отнести белковую макромолекулу.

Этот вопрос связан с тем, что белок для науки является достаточно новым объектом и методологи исследования этого объекта находится в стадии разработки. Сопоставление «нового» объекта и «привычного» (хорошо изученного) его аналога является основой любой науки, поскольку именно аналогия позволяет использовать уже развитые и апробированные методы для описания «новых» объектов и объяснения их свойств.

За историю развития белка были предложены с разной степенью успешности использовались следующие аналогии: «белок-капля», «белок-кристалл», «белок-аперриодический кристалл», «белок-стекло», «белок» - «клубок»/«глобула» (теория агрегатных состояний полимерных цепей Лившица).

Не смотря на определенную помощь в формировании начальных представлений о свойствах белков, все эти аналогии не учитывают две тесно взаимосвязанные принципиальные особенности белка не имеющие аналогов среди естественных объектов неживой природы.

Белок: 1) строится «по плану»; 2) белок имеет назначение — функцию. Сам «план» создается в процессе эволюции биосферы, сохраняется в геноме и передается потомству. Наличие биологической информации и есть то «нечто», что отличает живые объ-

екты от неживых и определяет «биологическую специфику»

Тогда аналогом белка-фермента может лишь быть объект, построенный по плану, предусматривающему его целесообразное использование.

Такие объекты есть и именуются конструкциями. Согласно определению, конструкция есть механическая гетерогенная система, построенная по определенному плану и предназначенная для выполнения определенной функции. Это определение, заимствованное из теории машин и механизмов, почти буквально соответствует макромолекуле белка-фермента. Информация о конструкции создается в процессе эволюции техники, хранится в архивах и используется при ее построении.

Аналогия между макромолекулами белков-ферментов и конструкциями является основой концепции «белок-машина».

Для изложения этой концепции требуется краткий экскурс в теорию машин и механизмов.

Макроскопические конструкции состоят из деталей нескольких типов, каждый из которых имеет свое назначение. К деталям относятся:

1. рычаги — жесткие детали, продольный размер которых порядка размеров конструкции. Назначение рычагов — передавать напряжение;
2. шарниры — сочленения, допускающие вращение рычагов в определенной плоскости;
3. фиксаторы — детали, способные ограничить вращение (зафиксировать угол) или снять ограничение.
4. энергетический резервуар - «пружина» — сравнительно мягкий упругий элемент, способный запасать энергию в форме упругих напряжений.

В конструкции детали сочленены. Классификация конструкций проводится по признаку наличия выделенных степеней свободы. Выделенной считается степень свободы, допускающая перемещение на макроскопические расстояния порядка размеров самой конструкции. Важно, что такая классификация определяет в то же время функцию конструкции.

Типы конструкций, схемы сочленения деталей и их функции.

Примером фермы могут служить мосты, рамы и т.п. В них все степени свободы фиксированы на все время существования конструкции. Существуют фермы, в которых одна степень свободы фиксирована временно (например, дверь, запертая на замок) и может быть расфиксирована, и тогда ферма переходит в машину.

Под транспортом энергии понимается перераспределение и/или перемещение энергии на расстояния порядка размеров конструкции. При этом перемещения отдельных

деталей по ВСС могут быть и существенно меньше. Преобразование энергии означает ее переход в другую форму. Преобразование энергии всегда сопровождается ее перераспределением в пространстве, т.е. транспортом.

В сложных машинах имеется много выделенных степеней свободы, но в каждый момент времени они либо все зафиксированы, либо зафиксирована только одна из них. Таким образом, работа машины представляет собой цепь переходов «машина» \leftrightarrow «ферма» \leftrightarrow «машина».

Биологические аспекты теории машин и механизмов проявляются в наличии соответствия (или возможности его установить) между деталями машин и элементами белковой молекулы. Так роль жестких рычагов в белковых макромолекулах могут выполнять α -спиральные участки и/или β -структуры.

Роль «шарниров» выполняют участки с малыми аминокислотными остатками (например, глицин, который часто называют шарнирным остатком).

Роль фиксаторов часто выполняют водородные связи (при этом замыкаются или размыкаются сразу несколько связей). Иногда используются ковалентные S-S связи; они более прочны, но для их образования (или разрыва) требуются большие усилия.

Роль энергетических резервуаров играют неспирализованные участки, которые сравнительно легко деформируются. Ту же роль могут играть заряженные группы или подвижные группы белка, энтальпия и энтропия которых изменяется при переходах «ферма» \leftrightarrow «машина» (как в тепловых машинах). Важно, что в нанометровых объектах все формы энергии практически связаны друг с другом.

Можно оценить правдоподобность такого представления о белке через сопоставление энергоемкости и размеров белков с энергетическими параметрами катализируемых реакций. Характерная для ферментативных реакций энергия имеет порядок 0,5 эВ. Именно такого порядка энергия выделяется при гидролизе АТФ. Роль энергетического резервуара в белке выполняют относительно мягкие неспирализованные участки. Критическая величина деформации $U_{cr} = 0,05$. Из соотношения $E_{cr} = \frac{1}{2}GU_{cr}^2V$ можно получить линейные размеры резервуара $\sim 5 \cdot 10^{-7}$ см. Они совпадают с размерами белков-ферментов, и это не случайно. Размеры белка не могут быть меньше размера энергетического резервуара, но не должны быть и много больше. Объем активного центра в 100-1000 раз меньше объема белка. Эти оценки делают понятным зачем может понадобиться такое большое белковое тело.

Подведем итог: главной особенностью «белка-машины» является способность использовать свободную энергию реакции для повышения эффективности и специфичности катализа в неравновесных (по концентрациям условиям). Обычно «машина» способна рекуперировать свободную энергию в прямой реакции и не способна это делать в обратной. Это выражается в том, что комплементарность субстрата к ферменту отличается от таковой в в продукт-субстратном комплексе. Можно построить другой фермент,

способный работать как «машина» в обратной реакции, однако конструкция его будет отличаться от первого не по типу, но по характеру сочленения деталей, определяющему связывание с субстратом и/или продуктом. В качестве примера такой пары выступают фосфофруктокиназа и бифосфатаза в гликолизе. Иногда в прямой и обратной реакциях используется один и тот же фермент, но содержащий различные лиганды (то есть по существу разные ферменты).

В рамках данной концепции естественное объяснение находит аллостерическая регуляция ферментативной активности. Так, например, ингибирование означает изменение (нарушение) работы «машины» при связывании фермента с лигандом (ингибитором) в области, далекой от активного центра. Для эффективной работы «машины» необходимо, чтобы:

А) конструкция содержала одну выделенную степень свободы (как правило, комбинированную).

Б) связи между ферментом и субстратом могли образовываться, но только при условии напряжения комплекса (последнее условие изображается «пружиной”).

В) в комплексе могли бы происходить конформационные перестройки «машина"↔«ферма”.

Отсюда ясно, что в процессе должна участвовать вся конструкция белка-фермента, а не только активный центр. Сравнительно небольшие изменения параметров конструкции (жесткость шарнира, упругость пружины и т.п.) могут существенно повлиять на эффективность работы машины. В олигомерных белках на каждом этапе работает одна ВСС, в то время как другие зафиксированы. Это, впрочем, имеет место и в макроскопических сложных машинах.

Каково место концепции «белок-машина» в биофизике?

Основная назначение концепции — сформулировать достаточно универсальный принцип функционирования белков-ферментов и ферментных систем. Этот принцип — преобразование и транспорт энергии. Он совпадает с принципом работы конструкций типа «машины», который тоже универсален.

Имеются границы применимости этой концепции. Не все белки-ферменты работают как «машины”. Многие ферменты в определенных условиях функционирует по принципу «ключ-замок», т.е. осуществляют энтропийный катализ.

Раздел биофизики где полезно использовать аналогию между белками-ферментами и макроскопическими конструкциями — это молекулярная эволюция. До сих пор остается актуальным вопрос о спонтанном возникновении белков-ферментов и белковых систем с принципиально новой функцией. Примером может служить АТФ-синтаза. Вероятность возникновения этой системы за счет точечных мутаций абсурдно мала. То же можно сказать о дыхательной цепи, фотосинтетической системе и др. Тем не менее, в биологической эволюции такие акты имели место и неоднократно, более того, именно

они обеспечили наблюдаемый темп эволюции. Возникает вопрос, каков механизм случайного возникновения таких сложных структур. Ответ: блочность и комбинирование небольшого количества стандартных деталей, как это осуществляется в машиностроении.

Эволюционно первыми должны возникнуть конструкции типа «фермы», поскольку они проще (как и в истории техники). Ферменты работающие по механизму «ключ-замок», характеризуются низкими значениями k_{cat} и K_m и работают эффективно при низких концентрациях субстрата. Ферменты, работающие по принципу «белок-машина», напротив, обладают высокими значениями k_{cat} и K_m и работают эффективно при высоких концентрациях субстрата и низких концентрациях продукта.

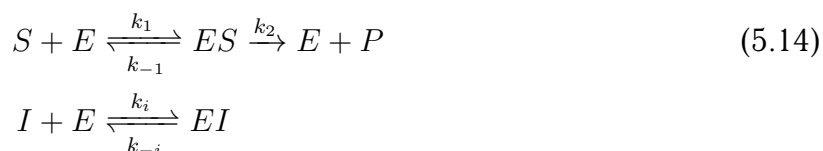
5.4 Основные механизмы изменения активности ферментов

Ингибиторы ферментов. Основные типы обратимого ингибирования активности ферментов. Влияние pH среды на фермент. Аллостерическая регуляция активности ферментов. Кооперативные эффекты в ферментативных реакциях.

5.4.1 Ингибиторы ферментов

Ингибиторами (от лат *inhibeo* останавливаю, сдерживаю) называются вещества тормозящие химические реакции. Ингибирование ферментативных реакций может быть обратимым и необратимым. В обоих случаях ингибитор способен к образованию комплекса с ферментом, но не может быть подвергнут каталитическому превращению и препятствует образованию комплекса фермент-субстрат. Различают следующие случаи обратимого ингибирования.

Прямое конкурентное ингибирование, при котором молекулы ингибитора I и субстрата S конкурируют за присоединение к активному центру фермента E . Процесс описывается соотношениями (P — продукт реакции):



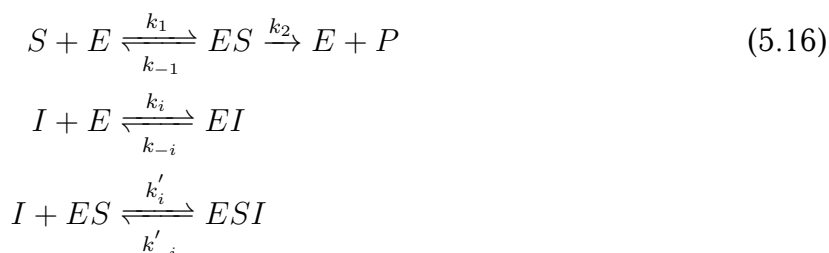
При таком механизме торможения, если $[E] \ll [S_0]$ и $[E] \ll [I_0]$ (условия квазистационарности), то квазистационарная скорость ферментативной реакции описывается следующей формулой:

$$v(S, I) = \frac{k_2 E_0 S}{K_m \left(1 + \frac{I}{K_i} \right) + S}, \quad (5.15)$$

где K_m — константа Михаэлиса—Ментен; K_i — константа ингибирования; E_0 и S_0 — начальные концентрации фермента и субстрата.

По виду формулы легко видеть, что конкурентный ингибитор увеличивает кажущуюся константу Михаэлиса—Ментен не оказывая влияния на максимальную скорость реакции $V_{max} = k_2 E_0$. Из этого следует, что большие концентрации субстрата «снимают» действие конкурентного ингибитора.

Неконкурентное (смешанное) ингибирование, при котором ингибитор присоединяется к активному ферменту и комплексу фермента с субстратом с образованием каталитически неактивных форм:



В этом случае квазистационарная скорость ферментативной реакции описывается следующей формулой:

$$v(S, I) = \frac{k_2 E_0 S}{K_m \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K'_i}\right)}.
 \tag{5.17}$$

Такой вид ингибирования называется смешанным, поскольку действие ингибитора одновременно увеличивает кажущуюся константу Михаэлиса—Ментен и уменьшает максимальную скорость реакции. Легко видеть, что в отличие от случая конкурентного ингибирования действие ингибитора нельзя «снять» высокими концентрациями субстрата.

Бесконкурентное ингибирование можно рассматривать как предельный случай смешанного ингибирования при K_i стремящейся к бесконечности, т.е. если допустить, что образование формы EI не происходит вообще. Тогда выражение для квазистационарной скорости реакции имеет вид:

$$v(S, I) = \frac{k_2 E_0 S}{K_m + S \left(1 + \frac{I}{K'_i}\right)}.
 \tag{5.18}$$

Легко видеть, что конкурентное 5.15 и бесконкурентное 5.18 ингибирование представляют собой предельные случаи смешанного ингибирования 5.17.

5.4.2 Влияние pH среды на фермент

Очевидно, что ферментативная активность должна существенно зависеть от pH среды. Макромолекулы белка содержат ионизуемые группы. То же относится к большинству субстратов, модификаторов и коферментов. Изменение pH может изменить состояние ионизуемых групп в активном центре или соседствующих с ним; оно может также влиять на состояние неферментных компонент системы и на структуру глобулы локально или в целом.

Фермент может существовать в различных состояниях ионизации, находящихся в равновесии друг с другом. В качестве простейшей модели ионизации фермента рас-

смотрим двухосновную кислоту. Имеем:



где K_1 и K_2 — первая и вторая константы ионизации.

Обозначим сумму концентраций всех трех форм через A_t

$$A_t = [AH_2] + [AH^-] + [A^{2-}] \quad (5.20)$$

Применим эту грубую модель к ферменту, приняв, что активный центр может существовать в трех указанных формах, но лишь одна из них AH^- реакционноспособна. Тогда скорость реакции пропорциональна концентрации этой формы и после необходимых выкладок можно получить:

$$v = \frac{kA_t}{1 + \frac{[H^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[H^+]}}. \quad (5.21)$$

График зависимости v от $[H^+]$, т. е. от pH , проходит через максимум, отвечающий условию $[H^+] = \sqrt{K_1 K_2}$, т. е.

$$pH = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2) \quad (5.22)$$

Действительно, во многих случаях зависимость активности фермента от pH имеет колоколообразную форму. Изложенная феноменологическая теория это объясняет и приводит к удобным для расчетов формулам.

Следует рассмотреть еще один механизм влияния pH на фермент — прямое влияние pH на конформационную структуру белка. Если считать, что реализуется индуцированный контакт фермента с субстратом, то повороты связей сопровождаются перемещением зарядов. Ясно, что концентрация водородных ионов должна влиять на конформационные свойства белка. Она не может не связываться также на гидрофобных взаимодействиях, формирующих глобулу.

Соответствующие модельные расчеты показали, что форма зависимости спиральности от pH определяется характером последовательности катионных и анионных групп цепей. Если группы регулярно чередуются, будучи разделены постоянным числом нейтральных групп, то кривая имеет форму симметричного колокола с максимумом при $pH = \frac{1}{2}(pK_a + pK_k)$.

Имеются данные о корреляции между ферментативной активностью и степенью α — спиральности фермента. Эти данные подтверждают общие представления об определяющей роли конформационных явлений в ферментативной активности.

5.4.3 Аллостерическая регуляция активности ферментов

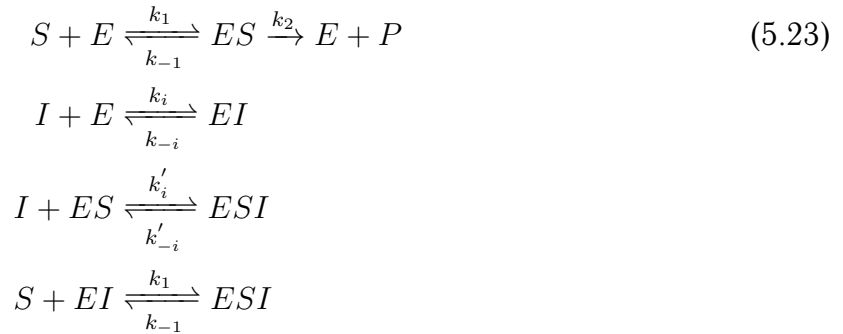
Каталитическое действие ферментов определяет течение всех биохимических реакций — природу и скорости образования продуктов. Биохимические реакции *in vivo* подлежат точной регуляции и самосогласованию, обеспечивающим оптимальное химическое поведение клетки и организма. Из самых общих соображений следует, что ферменты должны играть не только организующую, но регуляторную роль.

Наличие регуляции означает существование каналов прямой и обратной связи, по которым передается надлежащая информация. Передача информации в клетке есть передача химических сигналов, т. е. молекул и ионов. В клетке должны функционировать вещества, реактивность которых определяется воздействием на них молекулярных сигналов. Поскольку источником таких сигналов являются ферменты, именно они подлежат влиянию химических обратных связей. Таким образом, можно прийти к умоглядному выводу о существовании регуляторных моно- и полиферментных систем. Как уже говорилось, фермент можно рассматривать как преобразователь сигналов: входной сигнал, т. е. субстрат, преобразуется в выходной сигнал, т. е. продукт. Если выходной сигнал влияет на работу преобразователя, то реализуется обратная связь, положительная или отрицательная в зависимости от того, активирует или ингибирует конечный продукт функцию фермента.

Такого рода системы действительно функционируют в клетке. Были обнаружены цепочки ферментативных реакций, в которых конечный метаболит влияет на активность фермента, катализирующего первую реакцию последовательности. Вначале было установлено ингибирование, кинетика которого сходна с кинетикой конкурентного ингибирования, хотя структура ингибитора, именуемого в данном случае аллостерическим (в буквальном переводе с древнегреческого это слово означает «инопространственный»), отлична от структуры субстрата. Первым ферментом у которого была обнаружена аллостерическая регуляция была треониндезаминаза *E. coli*, субстратом которой является треонин и которая ингибируется изолейцином — продуктом последней стадии цепей реакции. В настоящее время известно множество аллостерических ферментов, регулируемых сходным образом по принципу обратной связи.

Рассмотрим пример аллостерического ингибитора. Кинетическая схема работы та-

кого фермента может иметь следующий вид:



В соответствии с этой схемой субстрат может обратимо связываться как со свободным ферментом, так и с комплексом фермент-регулятор, что указывает на наличие отдельного сайта, куда присоединяется аллостерический регулятор. Выражение для квазистационарной скорости реакции имеет вид:

$$v(S, I) = \frac{k_2 E_0 S}{S \left(1 + \frac{I}{K'_i} \right) + K_m \left[1 + \frac{I(K_i + K'_i)}{2K_i K'_i} \right]} \tag{5.24}$$

Принимая для наглядности, что константа связывания ингибитора не зависит от того присоединен или нет субстрат к ферменту, получаем выражение:

$$v(S, I) = \frac{k_2 E_0 S}{(S + K_m) \left(1 + \frac{I}{K_i} \right)}. \tag{5.25}$$

Легко видеть, что аллостерический ингибитор действует на максимальную скорость ферментативной реакции.

С явлением аллостеризма, с кооперативными свойствами олигомерных белков, играющих регуляторную роль, приходится, по-видимому, встречаться во многих биологических процессах. Есть основания думать, что аллостерическими свойствами обладают функциональные белки мембран и сократительные белки. Аллостеризм представляет собой важнейший механизм обратной связи на молекулярном уровне

5.4.4 Кооперативные эффекты в ферментативных реакциях

Стационарная кинетика ферментативных реакций зачастую отличается от кинетики Михаэлиса—Ментен. На кривой зависимости скорости реакции v от концентрации субстрата S или (и) концентрации модификатора наблюдаются перегибы, максимумы, плато. Не смотря на то, что гемоглобин, строго говоря не является ферментом на нем очень удобно демонстрировать эффект кооперативности (Рис. 5.1). На рисунке ясно виден S -образный вид кривой оксигенации гемоглобина и сигма-образный у миоглобина.

Как правило, отклонения от сигма-образной кривой объясняются наличием у фермента четвертичной структуры и взаимодействием субъединиц [18, стр. 373].

Тем самым, поведение фермента кооперативно — сродство к субстрату и каталитическая активность данной субъединицы (протомера) зависят от того, в каких состояниях находятся остальные субъединицы — связали они субстрат или нет.

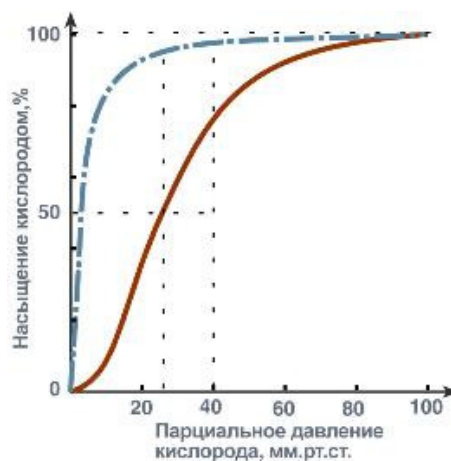


Рисунок 5.1 — Кривые насыщения молекулярным кислородом миоглобина (1) и гемоглобина (2) [12]

Взаимодействие гемоглобина с миоглобином являются хорошей иллюстрацией того, какую роль может играть кооперативность в физиологии организма. Молекула гемоглобина состоит из четырех субъединиц, каждая из которых подобна, хотя и не тождественна, молекуле миоглобина. При этом гемоглобин обладает кооперативными свойствами, а, напротив, миоглобин этих свойств лишен.

Миоглобин локализован в мышечной ткани и обладает более высоким сродством к кислороду по сравнению с гемоглобином. Это свойство обуславливает функцию миоглобина — депонирование кислорода в мышечной клетке и использование его только при значительном уменьшении парциального давления O_2 в мышце (до 1–2 мм рт.ст.).

Кривые насыщения кислородом показывают отличия миоглобина и гемоглобина:

- одно и то же 50%-е насыщение достигается при совершенно разных концентрациях кислорода — около 26 мм рт.ст. для гемоглобина и 5 мм рт.ст. для миоглобина,
- при физиологическом парциальном давлении кислорода от 26 до 40 мм рт.ст. гемоглобин насыщен на 50-80%, тогда как миоглобин — почти на 100%.

Таким образом, миоглобин остается оксигенированным до того момента, пока количество кислорода в клетке не снизится до предельных величин. Только после этого начинается отдача кислорода для реакций метаболизма.

В результате в легких, где кислорода много, гемоглобин им насыщается. А в тканях организма, где парциальное давление кислорода относительно мало, гемоглобин отдает молекулы кислорода, причем освобождение одной молекулы облегчает освобождение последующих (кооперативный эффект). Освобождающийся кислород связывается миоглобином (кривая оксигенации идет существенно выше), который передает его дальше по окислительной цепи мышц.

5.5 Биологические мембраны как составная часть клеточной оболочки

Функция мембран. Структура мембран. Динамические свойства мембран.

5.5.1 Функции мембран

Мембраны обеспечивают фазовую обособленность отдельной клетки и формирование внутриклеточных компартментов у эукариотических клеток. Мембрана — граница между внутренней средой клетки и внешним окружением. Поскольку живое по определению является открытой термодинамической системой, то очевидно, что мембрана осуществляя разграничение внешней и внутренней среды должна обеспечивать избирательный обмен веществ.

Три основные функции биологических мембран.

1. Барьерная функция обеспечивает селективный, регулируемый, пассивный и активный обмен веществ с окружающей средой.
2. Матричная функция обеспечивает взаимное расположение и ориентацию мембранных белков, обеспечивает их оптимальное взаимодействие (например, работу цитохромной цепи).
3. Механическая функция обеспечивает прочность и автономность клеток и внутриклеточных структур.

Кроме того в мембранах локализованы основные биоэнергетические процессы, протекающие в тесной связи с мембранным транспортом. АТФ, необходимая для биосинтетических и биоэнергетических процессов, синтезируется в специализированных мембранах митохондрий, в тилакоидных мембранах фотосинтетических клеток.

5.5.2 Структура мембраны

Мембраны состоят в основном из липидов и белков. В клетках млекопитающих содержатся и небольшие количества углеводов, связанных с белками (гликопротеиды) или с липидами. В большинстве случаев мембраны весьма гетерогенны. Фосфолипиды и липиды представлены в них целыми семействами.

Так, в мембранах эритроцитов человека содержится не менее 20 видов лецитина. Липиды построены из полярной «головы» и двух длинных неполярных углеводородных «хвостов», обладающих гидрофобными свойствами.

Еще в 1935 г. Даниэлли и Давсон предложили так называемую унитарную модель биологической мембраны. Унитарная мембрана состоит из двойного липидного слоя, причем гидрофобные «хвосты» липидов обращены внутрь мембраны, а их «головы» выходят на поверхность, где они взаимодействуют с внешними мономолекулярными белковыми слоями. Унитарная модель не раз модифицировалась. В настоящее время наиболее правдоподобной представляется жидко-мозаичная модель мембраны, показанная на (Рис. 10.2). Билипидный слой фигурирует и в этой модели. Он имеет толщину 5–6 нм, на его внутренней и внешней поверхностях адсорбированы, как правило, слои из белковых молекул с толщиной порядка 1,0–1,3 нм. Следовательно, общая толщина мембраны не превышает 8–9 нм.

Белки мембран можно разделить на два класса. Одни из них связываются только поверхностями мембраны; подобно глобулярным белкам, функционирующим в водном окружении, они имеют гидрофильную поверхность. Белки второго класса способны проникать в мембрану, взаимодействуя с гидрофобными «хвостами» липидов. Эти белки нерастворимы в воде, их поверхности гидрофобны.

Как всякая модель жидко-мозаичная модель дает упрощенную и схематическую картину строения мембраны. В частности, обнаружено, что белки не всегда свободно плавают по мембране, а могут быть «заякорены» на цитоплазматические структуры клетки. К таким структурам относятся микрофиламенты и микротрубочки.

5.5.3 Динамические свойства мембран

Ряд фактов свидетельствует о высокой подвижности билипидного слоя. Липиды в мембране ведут себя подобно жидким кристаллам. Именно в жидком кристалле реализуется сочетание высокой упорядоченности с текучестью и лабильностью. Это сочетание обеспечивает выполнение мембранами их важных функций.

Для нормального функционирования мембрана должна быть в жидкокристаллическом состоянии. Поэтому в живых системах при продолжительном понижении температуры окружающей среды наблюдается адаптационное изменение химического состава мембран, обеспечивающее понижение температуры фазового перехода. Температура фазового перехода понижается при увеличении числа ненасыщенных связей в жирнокислотных хвостах. В хвосте молекулы может быть до четырех ненасыщенных связей.

В зависимости от химического состава липидных мембран температура фазового перехода гель-жидкий кристалл может меняться от -20°C (для мембран ненасыщенных липидов) до $+60^{\circ}\text{C}$ (для насыщенных липидов). Увеличение числа ненасыщенных липидов в мембране при понижении температуры обитания наблюдается у микроорганизмов, растительных и животных клеток.

Можно считать установленной конформационную природу жидко-кристаллических

свойств модели. С этими свойствами тесно связано явление взаимодействия мембран с различными лигандами, имеющие большое значение для физиологии и фармакологии. Во многих случаях реакции клеточных мембран на присоединение специфических лигандов имеют кооперативный характер. Зачастую кривые ответов мембраны и клетки на возрастающую концентрацию лиганда изотермы Ленгмюра (сигмоидная кривая с насыщением) имеют небольшой изгиб, а в некоторых случаях перегиб оказывается очень резким. Вследствие кооперативного эффекта мембрана может обладать усилительными свойствами — рецепция одной молекулы служит триггером, вызывая макроскопические события в масштабе клетки. По-видимому, триггерные процессы реализуются в мембранах рецепторных клеток — при рецепции запаха, вкуса, и при зрительной рецепции световых квантов.

5.6 Биологические механохимические машины

Ферменты. АТФ-синтетаза. Бактериальный мотор. Броуновская «трещотка». Мышцы. Механохимическая машина Качальского и Оплатки.

5.6.1 Ферменты. АТФ-синтетаза

Молекула АТР является универсальным источником энергии для большинства многочисленных биохимических, механохимических и транспортных процессов, которые протекают внутри живой клетки. Она работает как вращающаяся машина, ее ротор вращается при прохождении через нее электрического тока, создаваемого не движением электронов, а потоком протонов.

АТФ-синтаза — это обратимая молекулярная машина, которая способна катализировать как синтез, так и гидролиз АТР.

Строение АТФ-синтазы

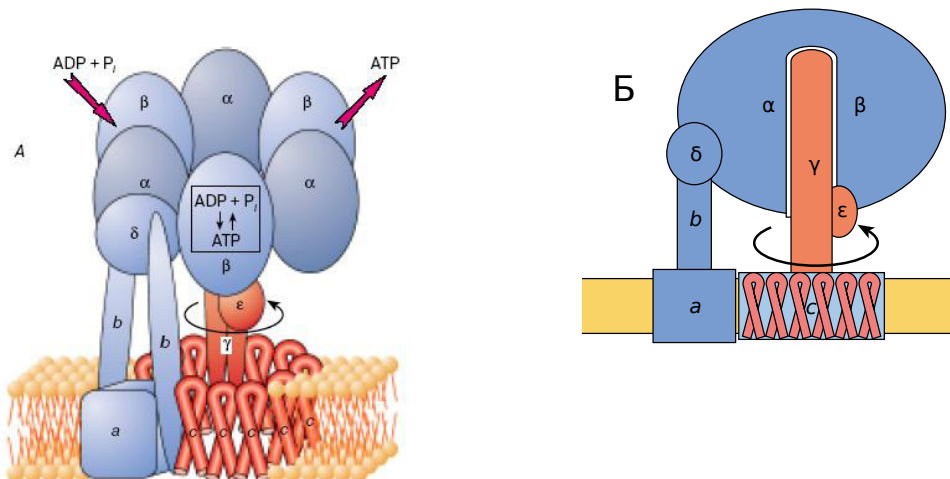
Способность синтезировать АТФ — это свойство единого комплекса F_0F_1 .

Комплекс F_1 — фрагмент АТФ-синтазы, выступающий из мембраны в виде сферического образования.

- ориентирован в водную фазу;
- состоит из девяти субъединиц пяти типов (3α , 3β , γ , δ и ε);
- имеет вид слегка приплюснутого шара, в центре которого находится субъединица γ , образована двумя протяженными полипептидными цепями; нижняя ее часть выступает из шара на 3 нм в сторону мембранного комплекса F_0 ;
- минорная субъединица ε находится внутри ансамбля $(\alpha\beta)_3$; она связана с субъединицей γ ;
- субъединицы γ и ε подвижны; вращаются внутри неподвижного комплекса $(\alpha\beta)_3$.

Мембранный комплекс F_0 — мембранная часть АТФ-синтазы, гидрофобный белковый комплекс.

- основание, которое удерживает АТФ-синтазу в мембране;
- включает в себя протонный канал (ионы водорода переносятся через АТФ-синтазу);
- белковая субъединица типа a (гидрофобна, почти полностью погружена в мембрану);



- две копии субъединицы b (сравнительно короткий участок, погруженный в мембрану; остальная часть заметно выступает из мембраны в сторону комплекса F_1 и закрепляется за расположенную на его поверхности субъединицу δ);
- большое количество более мелких субъединиц c (сравнительно небольшой белок, состоящий из двух гидрофобных α -спиралей; образуют единый ансамбль, имеющий форму цилиндра, погруженного в мембрану).

F_0 и F_1 соединены друг с другом двумя перемычками. Одна из них представляет собой неподвижный «кронштейн» (субъединицы b), а другая — «ножка» — является подвижной субъединицей γ ротора.

Ротор и статор АТФ-синтазы

Статор — шарообразный гексамер (3α и 3β); субъединицы δ , a и b мембранного комплекса F_0 ; b — кронштейн, связывающий субъединицы F_0 и F_1 ; гидрофобное кольцо из субъединицы c .

Ротор:

- субъединицы γ (внутри комплекса $(\alpha\beta)_3$, заметно выступает и соединяется с c);
- ϵ (препятствует свободному вращению ротора, зацепляясь за неровности внутри полости, образованной субъединицами α и β).

Поворот γ вызывает одновременное изменение конформации всех трех каталитических субъединиц β , что в конечном итоге обеспечивает работу фермента.

Смазка:

Центральная часть субъединицы γ гидрофобна (не содержит заряженных групп, взаимодействие которых с зарядами субъединиц α и β создавало бы дополнительное

трение, препятствующее вращению γ). Для того, чтобы провернуть ротор внутри статора, и тем самым заставить АТФ-синтазу сделать молекулу АТР, необходим внешний источник энергии (синтез — энергия ионов водорода, гидролиз — энергия, запасенная в АТР).

Вращение

Способы доказательства:

1. Применение искусственных химических сшивок между субъединицами β и γ с помощью дисульфидных ($S-S$) мостиков.
2. Использование оптического метода, который позволяет изучать подвижность специальной химической метки, присоединенной к субъединице γ .
3. Наблюдение за вращением субъединицы γ с помощью флуоресцентного микроскопа.

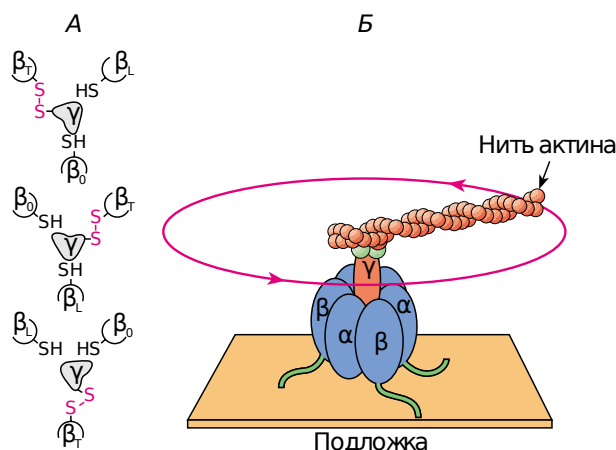


Рисунок 5.2 — Вращение АТФ-синтазы [19]

Было показано, что молекула F_1 вращает актиновый хвост дискретными скачками с шагом, равным 120° . А один скачок — гидролизом одной молекулы АТР. При этом средняя скорость вращения мотора зависит от нагрузки: чем она выше, тем медленнее крутится мотор. Работа, которую совершает мотор при повороте актинового хвоста на 120° , почти в точности равна энергии, запасенной в молекуле АТР. Это означает, что КПД работы мотора примерно 100%.

Протонный канал АТФ-синтазы

Протонный канал расположен на границе между субъединицами a и c . Путь переноса протонов включает следующие структурные элементы.

1. Два протонных «полуканала», расположенных в мембранной части АТФ-синтазы. Один из них обеспечивает поступление протонов к определенным функциональным группам F_0 , расположенным внутри мотора. Другой — обеспечивает выход протонов в область с пониженной концентрацией ионов водорода (щелочной резервуар). Полуканалы не связаны друг с другом непосредственно, поскольку они расположены несоосно, то есть смещены друг относительно друга.
2. Кольцо из субъединиц c . Каждая из этих субъединиц в своей центральной части содержит протонируемую карбоксильную группу ($R - COOH$), которая способна присоединять протон из кислотной области ($R - COO^- + H^+ \rightarrow R - COOH$) и отдавать его в щелочную область ($R - COOH \rightarrow R - COO^- + H^+$) через соответствующие протонные каналы.

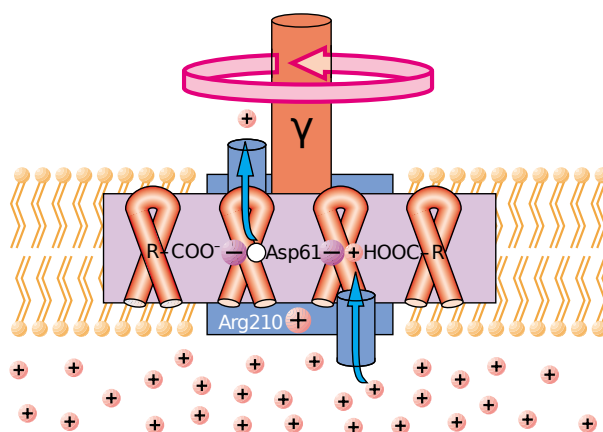


Рисунок 5.3 — Протонный канал АТФ-синтазы [19]

Движение протонов может происходить также под действием разности электрических потенциалов. Положительный потенциал со стороны нижнего полуканала будет способствовать протонированию, а отрицательный потенциал со стороны верхнего полуканала — депротонированию карбоксильных групп субъединиц c . Поддерживая на мембране достаточно высокую разность электрических потенциалов ($\Delta\varphi$) можно заставить мотор вращаться даже при одинаковых концентрациях ионов водорода по обе стороны мембраны. Как правило, для этого достаточно создать на мембране разность потенциалов $\Delta\varphi$ порядка 180–200 мВ.

5.6.2 Бактериальный мотор

Бактерии плавают с помощью жгутиков, вращаемых электромоторами. Их может быть несколько. Когда жгутики начинают синхронно вращаться против часовой стрелки, они сплетаются в единый пучок, который образует своеобразный пропеллер. После

того как направление вращения жгутиков изменяется на противоположное, пучок расплетается и бактерия останавливается.

Электромоторы бактерий в качестве источника энергии используют разность протонных потенциалов на цитоплазматической мембране.

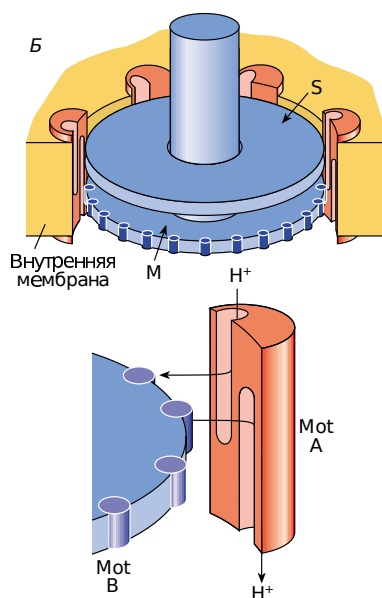


Рисунок 5.4 — Бактериальный мотор [19]

Мотор состоит из ротора, статора и некоторых вспомогательных белковых субъединиц, выполняющих роль подшипника, внутри которого вращается стержень ротора. Важными узлами бактериального электромотора являются два соосных диска (M – и S – диски), центры которых соединены с вращающимся стержнем, выступающим наружу. На периферии диска M находятся многочисленные копии белка $Mot B$. Несколько копий белка $Mot A$, входящего в состав статора, встроены в мембрану и примыкают к краям дисков M – и S –.

Вращающий момент возникает за счет взаимодействия субъединиц $Mot B$ с белковыми субъединицами $Mot A$, расположенными на статоре электромотора. Подобно протонному каналу АТФ-синтазы, путь переноса протонов через мембрану проходит через протонные полуканалы субъединиц $Mot A$ и $Mot B$.

Один полный оборот ротора связан с переносом через мембрану около 1000 протонов. Бактерии плавают со средней скоростью около 25 мкм/с, но некоторые виды могут двигаться поступательно со скоростью больше 100 мкм/с. Электромоторы, которые могут так быстро вращать жгутики бактерий, очень экономичны — они потребляют не более 1% энергетических ресурсов клетки.

5.6.3 Броуновская «трещотка»

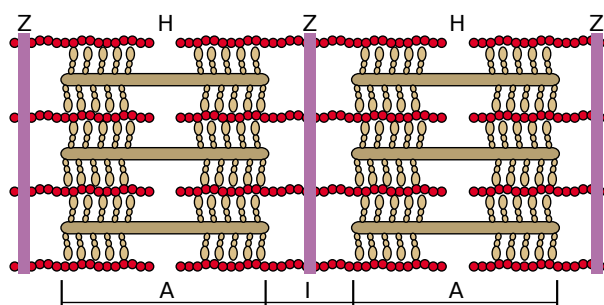
Известно, что амёбы и подобные им клетки перемещаются путем вытягивания псевдоподий и последующим перемещением туда цитоплазмы. Амёбы используют броуновские колебания мембран. Как только на участке мембраны, ориентированном в нужном для клетки направлении, происходит вздутие, тут же синтезируется, опирающийся на сеть микрофиламентов фрагмент микрофиламента и «подпирает», фиксирует этот участок. Причем на конце филамента, упирающегося в мембрану формируется «вилка») с ножками под углом 70° .

5.6.4 Мышцы

Модель скользящих нитей

Саркомер — структурно-функциональная единица миофибрилл, располагается вдоль мышечных волокон, состоит из параллельных рядов толстых и тонких нитей.

Z — граница. Между ними видны горизонтальные нити сократительного аппарата. От *Z*-линий отходят тонкие нити — светлые полосы *I*. В центральной части саркомера расположены толстые нити — темные полосы *A*. В середине каждой полосы *A* видна более светлая полоса *H*. Более светлая полоса (зона *H*) соответствует участку саркомера, где толстые нити не перекрываются с тонкими нитями. Толстые нити состоят из молекул миозина [20].



Тонкие нити содержат белки трех типов: актин, тропомиозин и тропониновый комплекс. Если посмотреть на поперечный срез саркомера в области, где соседствуют толстые и тонкие нити (темный участок полосы *A*), то можно увидеть, что каждая тонкая нить окружена тремя толстыми нитями, а каждая толстая нить окружена шестью тонкими нитями. При взаимодействии заполняют щели между соседними толстыми и тонкими нитями.

В основе модели скользящих нитей лежат следующие факты:

- а) при сокращении мышцы длины толстых и тонких нитей саркомера не изменяются;

- б) саркомер укорачивается за счет перекрывания толстых и тонких нитей, которые скользят друг относительно друга во время сокращения мышцы. Это проявляется в том, что при сокращении мышцы полосы Н и I укорачиваются;
- с) сила, развиваемая мышцей, создается в процессе движения соседних нитей.

Скольжение толстых и тонких нитей друг относительно друга совершается за счет энергии, выделяемой при гидролизе АТФ до АДФ и неорганического фосфата (P_i). Актин и миозин образуют актомиозиновый комплекс.

Строение толстых и тонких нитей

Толстые нити

Элементарная структурная единица — молекула миозина.

Миозин скелетных мышц (миозин класса II) представляет собой димер, каждый мономер которого состоит из одной тяжелой цепи и двух легких цепей. На одном конце тяжелой цепи полипептидная цепь свернута в виде глобулы, образующей «головку» миозина (фрагмент S1). С помощью более тонкой шейки (фрагмент S2) головка миозина соединяется с длинным хвостом, который образован протяженной полипептидной цепью, уложенной в виде α -спирали. Хвосты двух мономерных единиц сплетены друг с другом. В ходе сокращения наклон головок миозина относительно его хвост изменяется, в результате чего обеспечивается взаимодействие миозина с актином.

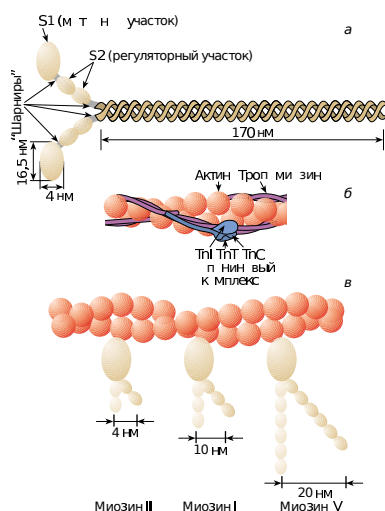


Рисунок 5.5 — Строение молекулы миозина и тонкой нити [20]

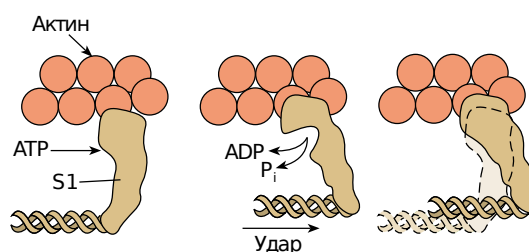
Наличие молекулярных шарниров дает возможность фрагменту S1 присоединяться и отсоединяться от нити актина, а также изменять свою ориентацию в ходе сократительного цикла.

Молекулы миозина в мышцах работают не поодиночке, а образуют толстые жгуты из сплетенных друг с другом димеров. В саркомерах поперечнополосатых мышц каждая толстая нить состоит приблизительно из 300 сплетенных димеров миозина.

Тонкие нити

Тонкие нити мышечных волокон состоят из нескольких белков (Рис. 5.5). Основной составляющей тонких нитей является G-актин, присутствующий в них в форме вытянутых полимерных нитей. Его мономеры могут связываться друг с другом, образуя вытянутые линейные полимеры (F-актин) микрофиламенты.

Тонкие нити также другие белки — тропомиозин и три белка тропонинового комплекса, которые играют решающую роль в регуляции взаимодействия миозина с актином.



Акт мышечного сокращения

В покое мышце тропомиозин и белки тропонинового комплекса препятствуют взаимодействию головок миозина с нитью актина. Активация актомиозинового комплекса инициируется ионами Ca^{2+} . Тянувшая сила, вызывающая движение молекул миозина вдоль нитей актина, возникает за счет структурных изменений, происходящих в каталитическом центре миозина после гидролиза молекулы ATP.

Структурные перестройки каталитического центра S1, дают небольшое смещение атомов в активном центре, вызывают значительное перемещение хвоста миозина (3–5 нм для миозина скелетных мышц), т.к. рычаг имеет неравные плечи (точка опоры существенно ближе к активному центру S1, чем конец шейки, соединяющийся с хвостом миозиновой нити).

Рабочий цикл актомиозинового комплекса

В процессе сокращения мышцы каждая головка миозина совершает многократные повороты, периодически изменяя угол своего наклона относительно нити актина.

(1 → 2) — расслабленная мышца, миозиновый мостик отделен от актиновой цепи, молекула ATP расщепляется на ADP и P_i в каталитическом центре;

(3) — за гидролизом молекулы ATP происходит присоединение головки миозина к актиновой нити: сначала образуется слабая связь;

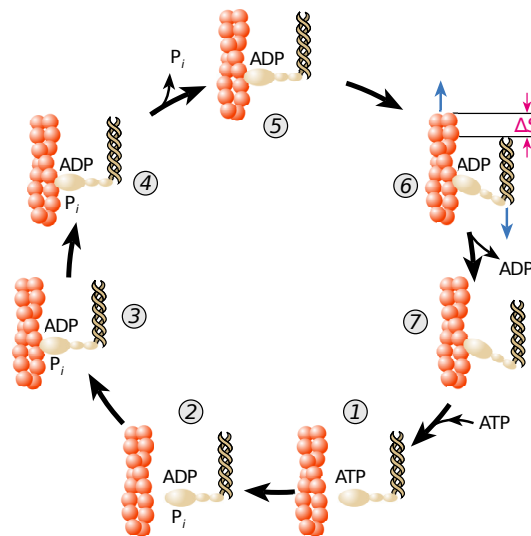


Рисунок 5.6 — Цикл актомиозинового комплекса [20]

(4) — возникает более прочная связь, вращательная подвижность миозинового мостика становится ограниченной;

(4 → 5) — прочное связывание головки миозина с актином инициирует освобождение фосфата P_i из активного центра, происходит увеличение сродства миозина к актину;

(5 → 6) — появляется сила, вызывающая поворот мостика в сторону хвоста, вместе с поворотом мостика смещается вдоль нити актина хвост миозина, происходит сокращение длины саркомера.

(7 → 1) — после смещения головки миозина, инициированного диссоциацией фосфата, молекула ADP диссоциирует из каталитического центра, а ее место занимает новая молекула АТФ, отсоединение головки миозина от актина.

В результате многократно повторяющихся циклов гидролиза АТФ возникает направленное скольжение нитей миозина и актина друг относительно друга.

Кооперативная деятельность миозина

В мышечных волокнах молекулы миозина работают не индивидуально, а кооперативно, в составе крупных макромолекулярных ансамблей. Во время сокращения мышцы лишь сравнительно небольшая часть мостиков (10–15%) одновременно находится в контакте с окружающими их нитями актина (картинка про бревно).

Это значит, что каждый из мостиков большую часть времени проводит в свободном состоянии, когда он непосредственно не создает тянущей силы. При этом молекулы миозина, у которых мостики отсоединены от актиновых нитей, во время сокращения саркомера перемещаются вместе с остальными молекулами миозинового жгута. Это значит, что каждый мостик не просто шагает вдоль нити, равномерно ступая между соседними звеньями актиновой цепи, а как бы прыгает вдоль нее. Таким образом, со-

кращение мышечных волокон обеспечивается за счет кооперативной работы большого количества молекул миозина, собранных в толстые нити.

Кинезин

Кинезин работает как переносчик различных органелл (митохондрии, лизосомы) и супермолекулярных частиц. Молекула кинезина — это димер, образованный двумя одинаковыми полипептидными цепями. С одной стороны каждой полипептидной цепи кинезина формируется глобулярная головка, соединенная со сравнительно длинным хвостом. Хвосты двух мономерных цепей сплетены вместе, а наклоненные в разные стороны головки образуют своеобразную рогатину, которая непосредственно взаимодействует с глобулярными мономерами микротрубочки, вдоль которой перемещается кинезин.

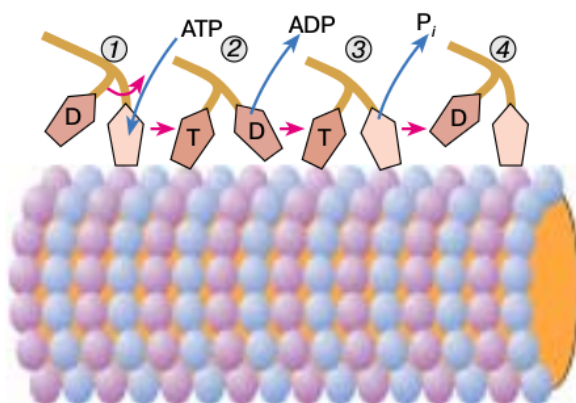


Рисунок 5.7 — Схема перемещения молекулы кинезина вдоль микротрубочки, состоящей из мономеров тубулина α и β . Буквами Т и D обозначены головки кинезина, с которыми связаны соответственно ATP или ADP. В исходном положении (состояние 1) головка кинезина, не связанная с микротрубочкой, содержит молекулу ADP, вторая головка, которая в это время контактирует с микротрубочкой, свободна от нуклеотидов. После связывания ATP второй головкой изменяется конформация молекулы кинезина, в результате чего первая головка, содержащая ADP, смещается вправо (переход 1 \rightarrow 2). После диссоциации ADP свободная головка связывается с микротрубочкой (переход 2 \rightarrow 3). Затем происходят гидролиз ATP и диссоциация фосфата (P_i), в результате чего головка, с которой связана молекула ADP, отходит от микротрубочки (переход 3 \rightarrow 4). В конечном положении (состояние 4) углы наклона головок кинезина относительно микротрубочки такие же, как в исходном состоянии 1, но при этом молекула кинезина оказывается смещенной вдоль микротрубочки на расстояние, соответствующее двум мономерным звеньям тубулина α и тубулина β [20]

Головки кинезина попеременно связываются с мономерными звеньями микротрубочки. В ходе структурных перестроек моторных участков кинезина угол наклона головок относительно микротрубочки изменяется, вследствие чего кинезиновый димер смещается вдоль микротрубочки. Сила, развиваемая одной молекулой кинезина, составляет

величину $F \approx 6$ пН. Если бы такой мощностью в расчете на единицу массы обладали автомобильные моторы, то они могли бы легко разгонять машины до скоростей, существенно превышающих скорость звука. Коэффициент полезного действия кинезинового мотора также велик. Кинезин может совершать перемещения на очень большие расстояния (до 1 мм).

5.6.5 Механохимическая машина Качальского и Оплатки

Слабо сшитые полиэлектролитные гели способны трансформировать химическую энергию в механическую работу. Представим себе полианионный гель, изготовленный, например, из полиметакриловой кислоты и набухший в воде при нейтральном pH . Добавление щелочи к такому гелю увеличит степень ионизации кислотных групп, их взаимное электростатическое отталкивание и, следовательно степень набухания. Изменение объема геля можно использовать для совершения работы. Если изготовить из слабо сшитого полиэлектролита волокно, то оно будет удлиняться или укорачиваться при добавлении щелочи или кислоты и производить соответствующую работу. Напротив, механическое растяжение такого волокна приводит к изменению ионного состава омывающей жидкости. Аналогичные процессы происходят в результате изменения ионной силы — внедрения в набухший полиэлектролит нейтральной соли.

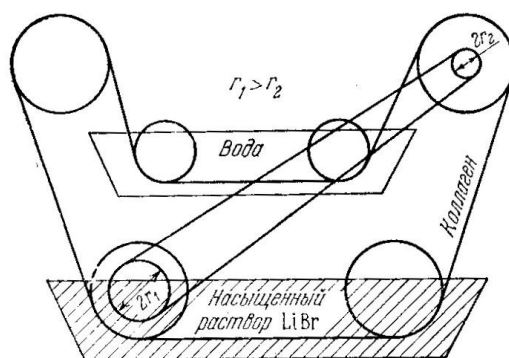


Рисунок 5.8 — Схема машины Качальского и Оплатки

Качальский и Оплатка построили непрерывно работающую машину, в которой полиэлектролитное волокно (коллаген) попеременно погружается в раствор соли и в чистую воду. Работа машины прекращается, когда в результате переноса малых ионов волокном в воду химические потенциалы обоих резервуаров выравниваются. Такая машина может быть пущена в обратную сторону за счет внешнего источника энергии.

Полианионное волокно Качальского и Оплатки сокращается при понижении pH , скажем, при добавлении HCl .

5.7 Трансформация энергии в биомембранах

АТФ как универсальный химический переносчик энергии для сопряжения химических реакций друг с другом и другими клеточными процессами. Перенос электронов и трансформация энергии в биомембранах. Электрон-транспортные цепи. Механизмы генерации электрохимического потенциала. Окислительное фосфорилирование и хемиосмотическая теория Митчелла.

5.7.1 АТФ (универсальный химический переносчик энергии)

Для гетеротрофных клеток источником свободной энергии, получаемой в химической форме, служит процесс расщепления, или катаболизм, пищевых молекул (в основном углеводов и жиров). Эту энергию клетки используют в следующих целях:

1. для синтеза биомолекул из молекул-предшественников небольшого размера;
2. для выполнения механической работы, например мышечного сокращения;
3. для переноса веществ через мембраны против градиента концентрации;
4. для обеспечения точной передачи информации.

Главным связующим звеном между клеточными реакциями, идущими с выделением и с потреблением энергии, служит АТФ. При расщеплении высокоэнергетического клеточного топлива часть содержащейся в этом топливе свободной энергии используется для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата Р. Позже АТФ, распадаясь на АДФ и фосфат, отдает значительное количество своей химической энергии тем процессам, для которых энергия необходима. АТФ — переносчик химической энергии, от клеточных процессов, сопровождающихся выделением энергии, с процессами, в которых энергия потребляется.

Процессы преобразования энергии при электронном транспорте в мембранах митохондрий, хлоропластов, хроматофоров и некоторых бактерий обладают фундаментальным сходством. Во всех этих системах реализуется единый принцип сопряжения переноса электронов по цепи электронного транспорта с синтезом АТФ. Этот принцип иллюстрирует Рис. 1, на котором показано, что перенос электронов по электронтранспортной цепи (1) приводит к переносу протонов через гидрофобный барьер мембраны. В результате энергия окислительно-восстановительных реакций трансформируется в трансмембранную разность электрохимических потенциалов ионов водорода (H^+), которая используется АТФ-синтетазой (2) для синтеза АТФ из АДФ и P_i .

Рис. 1. Схема превращения энергии в биомембранах. Цепь электронного транспорта (1), используя энергию окислительно-восстановительных реакций, транспортирует протоны через мембрану против их электрохимического потенциала.

Стадии превращения энергии в митохондриях: Образование доноров электронов для ЦЭТ (НАДН, сукцинат и др.), Перенос электронов по ЦЭТ от НАДН и сукцината к кислороду, сопряженный с образованием трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода, который используется для синтеза АТФ из АДФ и Ф_Н.

Все стадии, кроме первой, протекают во внутренней мембране митохондрий. Основной энергетической функцией ЦЭТ митохондрий является использование энергии редокс-реакций для синтеза АТФ, причем образующаяся в процессе этих реакций может непосредственно использоваться для совершения химической и осмотической работы и других процессов. Известно около 20 переносчиков электронов, составляющих ЦЭТ митохондрий. К ним относятся НАДН, флавины, убихинон, цитохромы, которые содержат гемовую (железо-порфириновую) простетическую группу. Цитохромы подразделяются на три основных класса (a, b, c) согласно типу гема, а также их характерному спектру поглощения в восстановленной форме. Дыхательная цепь переноса электронов является частью окисл. фосфорилирования.

В каждом обороте цикла лимонной кислоты специфичные дегидрогеназы отщепляют от изоцитрата, α-кетоглутарата, сукцината и малата четыре пары атомов водорода. Они в определенной точке отдают свои электроны в цепь переноса электронов и превращаются таким образом в ионы H⁺, которые поступают в водную среду. Электроны, переходя от одного переносчика к другому, достигают в конце концов цитохрома aa₃, или цитохромоксидазы, при участии которой они и передаются на кислород — конечный акцептор эл-ов у аэробных организмов.

Поток электронов по дыхательной цепи возможен благодаря тому, что он сопровождается уменьшением свободной энергии. При переносе двух электронов от НАДН на кислород изменение стандартной свободной энергии составляет — 52,6 ккал.

Стадии переноса электронов:

Кофермент NAD⁺ выполняет коллекторную функцию — собирает пары восстановительных эквивалентов, поступающих от разных субстратов в одной молекулярной форме НАДН.

Пара восстановительных эквивалентов (электронов, гидрид-ионов и т.д.) переносится от НАДН к НАДН-дегидрогеназе, находящейся во внутренней митохондриальной мембране. При этом ее простетическая группа FMN восстанавливается.

В [Fe(II) – Fe(III)] — циклах, связанных с изменением валентности, атомы железосерных центров передают восстановительные эквиваленты от восстановленной простетической группы FMNH₂ на следующий переносчик дыхательной цепи — убихинон Q (кофермент Q), который восстанавливается до QH₂. Убихинон передает электроны на цепь цитохромов.

Цитохромы — железосодержащие белки, окрашенные в красный или коричневый

цвет. Существует три класса а, b, с, различаются по спектрам поглощения. Каждый из цитохромов, находясь в окисной форме [$Fe(III)$], присоединяет один электрон и переходит в закисную форму [$Fe(II)$].

Хемиосмотическая гипотеза сформулирована английским биохимиком Питером Митчелом. Функция переноса электронов, происходящего во внутренней митохондриальной мембране, заключается в том, чтобы откачивать ионы H^+ из матрикса митохондрий в наружную среду и таким образом создавать между двумя водными фазами, которые разделяет эта мембрана, градиент конц. ионов H^+ с более кислым значением снаружи. Этот же процесс ведет к появлению трансмембранного эл. потенциала — наружная сторона мембраны оказывается электроположительной. Ионы H^+ из окружающей среды вновь устремляются внутрь, т.е. митохондриальный матрикс, на этот раз по электрохимическому градиенту через специальные поры в молекуле F₀F₁-АТРаза. Этот переход ионов H^+ из зоны с более высокой в зону с более низкой их концентрацией сопровождается выделением свободной энергии, за счет которой и синтезируется АТФ. Таким образом, хемиосмотическая гипотеза предполагает, что между митохондрией и окружающей ее средой совершается непрерывный круговорот ионов H^+ , движущей силой которого является перенос электронов.

Глава 6

Природа биологических и химических сигналов

6.1 Транспорт ионов в возбудимых мембранах и распространение нервного импульса

Потенциал действия и потенциал покоя. Генерация импульса. Транспорт ионов в возбудимых мембранах. Ионные токи в модели Ходжкина—Хаксли. Физико-химические и математические модели возбудимых мембран. Распространение нервного импульса.

6.1.1 Потенциал действия и потенциал покоя

Генерация импульса начинается со слабой деполяризации, или уменьшения отрицательного потенциала внутренней поверхности мембраны, в том месте, где аксон отходит от клеточного тела. Этот небольшой сдвиг потенциала открывает некоторые из натриевых каналов, вызывая тем самым дальнейшее уменьшение потенциала. Этот процесс является самоусиливающимся: поток ионов натрия через мембрану способствует открыванию большего числа каналов и облегчает другим ионам возможность следовать за ними.

Проникшие в клетку ионы натрия изменяют отрицательный внутренний потенциал мембраны на положительный. Поток ионов натрия внутрь будет ускоряться до тех пор, пока внутренняя поверхность мембраны не станет локально положительной. Изменение знака потенциала приведет к закрыванию натриевых каналов и открыванию калиевых, что позволяет ионам калия выходить наружу. Этот поток восстанавливает потенциал внутри аксона до величины его потенциала покоя, т.е. до -70 мВ. Резкий скачок потенциала сначала в положительную, а затем в отрицательную сторону, ко-

торый выглядит на экране осциллографа как пик («спайк»), и называется «потенциал действия» и является электрическим выражением нервного импульса. Поток ионов калия наружу быстро восстановит отрицательный потенциал. Кратковременная реверсия потенциала (от лат. *reversio* — возвращение, возврат), получившая название потенциала действия, сама распространяется по аксону. После короткого рефрактерного периода (франц. *réfractaire* — невосприимчивый) за первым импульсом может следовать второй.

Потенциал покоя

В мембране имеется Na^+/K^+ -АТФаза, осуществляющая активный перенос ионов Na^+ из клетки в обмен на ионы K^+ . Этот транспорт энергозависим и сопряжен с гидролизом АТФ. За счет работы Na^+, K^+ -насоса поддерживается неравновесное распределение ионов Na^+ и K^+ между клеткой и окружающей средой, поскольку расщепление одной молекулы АТФ обеспечивает перенос трех ионов Na^+ из клетки и двух ионов K^+ в клетку.

В состоянии покоя мембрана более проницаема для K^+ , чем для Na^+ . Вследствие диффузии K^+ наружу из аксоплазмы внутреннее содержимое нервного волокна в состоянии покоя заряжено отрицательно по отношению к наружному раствору. Эта постоянная разность потенциалов — потенциал покоя — равна 50–70 мВ. Какими факторами определяется это значение? Если бы мембрана была проницаема только для K^+ , равновесная разность потенциалов достигла бы значения, определяемого уравнением Нернста для калиевого электрода:

$$\varphi_k = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K_0]}{[K_i]}, \quad (6.1)$$

где R — универсальная газовая постоянная, равная 8,31 Дж/(моль \times К);

T — абсолютная температура;

F — число Фарадея, равное 96485,35 Кл/моль.

Пример

Концентрация калия в крови 20 мМ в аксоплазме 400 мМ у кальмара.

$$\varphi_k = \frac{8,31 \times 3000}{96485,35} \ln \frac{20}{4000} \approx -75 \text{ мВ}, \quad (6.2)$$

Каналы, проницаемые для Na^+ и Cl^- , преимущественно закрыты. Ионы фосфата и органические анионы, например белки, практически не могут проходить через мембраны. Но более точно при низких концентрациях калия потенциал покоя вычисляется по формуле учитывающую диффузию натрия:

$$\varphi_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_k[K_0] + P_{Na}[Na_0]}{P_k[K_i] + P_{Na}[Na_i]}, \quad (6.3)$$

где P_m — ионная проницаемость для ионов.

Отношение ионных проницаемостей $P_k : P_{Na} = 1 : 0,04$

Потенциал действия

Возбуждение нервной клетки под действием химического сигнала (реже электрического импульса) приводит к возникновению потенциала действия. Это означает, что потенциал покоя -60 мВ скачком изменяется на $+30$ мВ и спустя 1 мс принимает исходное значение. Процесс начинается с открывания Na^+ -канала (1). Ионы Na^+ устремляются в клетку (по градиенту концентрации), что вызывает локальное обращение знака мембранного потенциала (2). При этом Na^+ -каналы тотчас закрываются, т. е. поток ионов Na^+ в клетку длится очень короткое время (3). В связи с изменением мембранного потенциала открываются (на несколько мс) потенциал-управляемые K^+ -каналы (2) и ионы K^+ устремляются в обратном направлении, из клетки. В результате мембранный потенциал принимает первоначальное значение (3), и даже превышает на короткое время по модулю потенциал покоя (4). После этого нервная клетка вновь становится возбудимой.

За один импульс через мембрану проходит небольшая часть ионов Na^+ и K^+ , и концентрационные градиенты обоих ионов сохраняются (в клетке выше уровень K^+ , а вне клетки выше уровень Na^+). Поэтому по мере получения клеткой новых импульсов процесс локального обращения знака мембранного потенциала может повторяться многократно. Распространение потенциала действия по поверхности нервной клетки основано на том, что локальное обращение мембранного потенциала стимулирует открывание соседних потенциал-управляемых ионных каналов, в результате чего возбуждение распространяется в виде деполяризационной волны на всю клетку.

6.1.2 Транспорт ионов в возбудимых мембранах

6.1.3 Генерация импульса

Реверсия мембранного потенциала во время развития импульса вызвана тем, что на гребне спайка потенциала действия мембрана избирательно проницаема больше для ионов натрия, так что отношение ионных проницаемостей $P_K : P_{Na} = 1 : 20$. Как видно из формулы (6.3), в этих условиях потенциал на мембране приближается к равновесному натриевому потенциалу φ_{Na} . Разность потенциалов на мембране, проницаемой только для натрия выражается формулой Нернста:

$$\varphi_{Na} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[Na_o]}{[Na_i]}, \quad (6.4)$$

Предельное значение потенциала, вычисленного по формуле (6.4), равное $+55$ (??и)В лишь немного превышает экспериментально наблюдаемые значения обращенного потенциала. Эти вводы сохраняются, если воспользоваться для выражения выбранного потенциала более полной формулой, где учтены потоки хлора:

$$\varphi_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_k[K_0] + P_{Na}[Na_0] + P_{Cl}[Cl_0]}{P_k[K_i] + P_{Na}[Na_i] + P_{Cl}[Cl_i]}, \quad (6.5)$$

В состоянии покоя $P_k : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$, а в состоянии возбуждения на пике потенциала действия, когда вновь соблюдается условие нулевого тока через мембрану, $P_k : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0,45$

Процесс возбуждения развивается вследствие зависимости проницаемости мембраны для ионов от мембранного потенциала. При достижении критической деполяризации, когда возрастает проницаемость мембраны для Na^+ , эти ионы устремляются внутрь и вызывают дальнейшую деполяризацию мембраны. Процесс продолжается до тех пор, пока потенциал не сместится до равновесного натриевого потенциала. В этих условиях потоки Na^+ наружу и внутрь сравниваются. Затем происходит увеличение проницаемости для K^+ и ионы K^+ начинают выходить из клетки по градиенту своего электрохимического потенциала. В этом процессе мембрана реполяризуется. Выход K^+ прекращается, когда потенциал на мембране приблизится к равновесному калиевому потенциалу.

После прохождения по аксону одного спайка система возвращается в исходное состояние, за исключением того, что в клетке появился некоторый избыток ионов Na^+ , вошедших в период деполяризации, и некоторый недостаток ионов K^+ , вышедших на фазе реполяризации. Изменения внутриклеточной концентрации Na^+ и K^+ , вызванные одиночным потенциалом действия, крайне малы, но могли бы оказаться значительными при многократном прохождении нервных импульсов. Для поддержания постоянного уровня внутриклеточных концентраций K^+ и Na^+ в клеточной мембране и существует система Na^+, K^+ –насоса, обеспечивающая активное выведение Na^+ в обмен на поступление в клетку K^+ , работающая за счет энергии АТФ.

6.1.4 Ионные токи в модели Ходжкина—Хаксли

Первая модель распространения электрического импульса вдоль аксона гигантского кальмара была предложена Ходжкиным и Хаксли (1952), и до сих пор является базовой моделью для описания такого типа явлений.

На основе опытов по фиксации напряжения в аксоне кальмара А. Ходжкин и А. Хаксли сформулировали ряд важных принципов.

1. Перенос Na^+ и K^+ осуществляется различными невзаимодействующими структурами.
2. Изменение токов являются следствием изменения проницаемости мембран (для Na^+ и K^+).

3. Пропускная способность мембраны управляется электрическим полем.

Модель имеет четыре переменные: φ (мембранный потенциал), n , m и h . Три последних переменных характеризуют соответственно проницаемость мембраны для ионов K^+ , Na^+ и других типов ионов. Более современные модели отличаются от модели Ходжкина—Хаксли в основном учетом большего количества типов ионов. Одно из уравнений модели представляет собой закон Кирхгоффа. Остальные уравнения строятся из общефизических соображений и экспериментальных данных. Они имеют вид:

$$I(t) = C \frac{d\varphi}{dt} + I_j, \quad (6.6)$$

$$I_j = I_{Na} + I_K + I_L = g_K(\varphi - \varphi_K)n^4 + g_{Na}(\varphi - \varphi_{Na})m^3h + g_L(\varphi - \varphi_L). \quad (6.7)$$

$$\begin{cases} C \frac{d\varphi}{dt} = -[g_K(\varphi - \varphi_K)n^4 + g_{Na}(\varphi - \varphi_{Na})m^3h + g_L(\varphi - \varphi_L)] + I(t); \\ \frac{dn}{dt} = \alpha_n(1 - n) - \beta_n n; \\ \frac{dm}{dt} = \alpha_m(1 - m) - \beta_m m; \\ \frac{dh}{dt} = \alpha_h(1 - h) - \beta_h h. \end{cases} \quad (6.8)$$

В первом уравнении системы левая часть этого равенства представляет собой емкостный ток, а правая — разность между полным током $I(t)$, текущим во внешней цепи, и ионным током, складывающимся из трансмембранного тока Na^+ , K^+ и тока утечки $g_L(\varphi - \varphi_L)$.

Остальные уравнения системы описывают кинетику перераспределения частиц через мембрану при наложении электрического поля; α, β — константы скорости, зависящие только от мембранного потенциала.

Система имеет стабильное стационарное состояние в отсутствие внешних токов, но когда приложенный импульс тока выше порогового значения, демонстрирует регулярное периодическое возбуждение мембраны. Модель удастся упростить в соответствии с временной иерархией переменных m , n , h . Натриевые токи (величина m) протекают гораздо быстрее, чем калиевые (величина n), поэтому в соответствии с теоремой Тихонова можно заменить дифференциальные уравнения для натриевой составляющей на алгебраические ($dm/dt = 0$). Если считать, что токи утечки протекают еще более медленно ($h = h_0 = const$), модель сводится к системе уравнений для двух переменных:

$$\begin{cases} \frac{d\varphi}{dt} = f(\varphi) - W + I_0; \\ \frac{dW}{dt} = bv - \gamma W, \end{cases} \quad (6.9)$$

где $f(\varphi) = \varphi(a - \varphi)(\varphi - 1)$, $0 < a < 1$;

b и γ — положительные константы;

потенциал V , W — характеризует нелинейные свойства проводимости мембраны для всех типов ионов.

6.1.5 Физико-химические и математические модели возбудимых мембран

Среди различных моделей электрической возбудимости клеток особый интерес представляет предложенная в конце 50-х годов Т. Теореллом физико-химическая модельная система, названная мембранным осциллятором.

Модель представляет собой две ячейки, заполненные электролитом разной концентрации и разделенные мембраной из пористого стекла с фиксированными отрицательными зарядами. При пропускании через мембрану тока в ячейках возникает отчетливый сдвиг уровней жидкости, т. е. создается перепад гидростатических давлений. Пока ток не превышает некоторого критического значения, разность потенциалов на мембране и перепад давлений остаются постоянными. Однако после превышения критического значения тока система переходит в автоколебательный режим, при котором разность потенциалов на мембране и разность давлений начинают совершать релаксационные колебания.

В основе работы мембранного осциллятора лежат электрокинетические явления. Суммарный поток жидкости по капиллярам пористой мембраны представляет собой разность электроосмотического потока (его направление совпадает с направлением электрического поля) и встречно направленного гидродинамического потока.

Если поток направлен так, что мембрана заполняется концентрированным раствором электролита, то сопротивление мембраны резко снижается, и наоборот, если мембрана заполняется малопроводящим разбавленным раствором, ее сопротивление возрастает.

В зависимости от направления движения жидкости профиль концентрации внутри мембраны приобретает вогнутую или выпуклую форму, соответствующую низкой и высокой концентрации носителей заряда в мембране (Рис. 6.1).

С увеличением скорости течения профиль концентрации в мембране приближается к прямоугольному. При высоких скоростях течения сопротивление мембраны принимает одно из двух предельных значений в зависимости от направления потока раствора (Рис. 6.2).

Скорость течения жидкости v через мембрану зависит от разности давлений p и разности потенциалов φ следующим образом:

$$v = \alpha p - \beta \varphi, \quad (6.10)$$

где α и β — коэффициенты пропорциональности. Первый член описывает фильтрационное течение через пористую среду, второй — соответствует электроосмотическому потоку.



Рисунок 6.1 — Распределение концентрации ионов внутри мембраны в зависимости от направления и скорости протекания жидкости

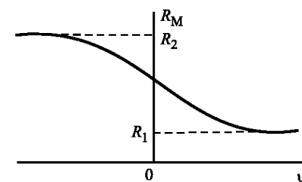


Рисунок 6.2 — Зависимость сопротивления мембраны R_m от скорости потока жидкости v

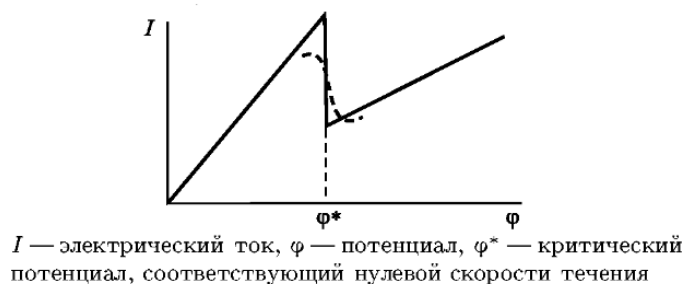


Рисунок 6.3 — Вольтамперная характеристика мембранного осциллятора (по В. С. Маркину и др., 1981)

Отсюда следует, что вольтамперная характеристика мембраны состоит из двух линейных участков с резким переходом между ними (Рис. 6.3). Наклоны участков определяются сопротивлением электролита в мембране при c_1 и c_2 , а переход между участками происходит при потенциале φ , соответствующем нулевой скорости течения. Реальная вольтамперная характеристика, полученная методом фиксации потенциала (штриховая на том же рисунке), отличается лишь тем, что вместо резкого перехода имеется довольно крутой участок с отрицательным наклоном.

Существование этого участка создает предпосылки для возникновения колебаний в системе. В некоторых пределах каждому значению тока соответствуют три значения потенциала. Промежуточное значение относится к неустойчивому состоянию, крайние — к устойчивому, т. е. такая система является триггерной.

В том случае, когда в рассматриваемой модели перепад давлений поддерживается на постоянном уровне, с помощью импульсов тока можно переводить систему из одного

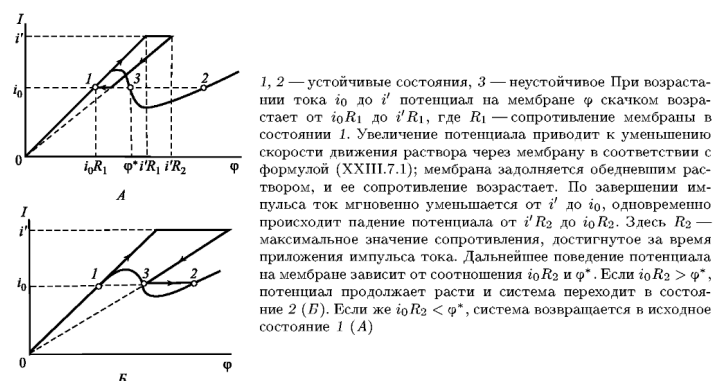


Рисунок 6.4 — Переход между двумя устойчивыми состояниями в модели Теорелла

устойчивого состояния в другое (Рис. 6.4).

В условиях, когда разность давлений не зафиксирована, изменения потенциала на мембране, вызываемые импульсами тока, имеют выраженное сходство с потенциалом действия в аксоне. Амплитуда потенциала в модельной системе составляет около 2 В, а продолжительность достигает нескольких минут. Как следует из уравнения (6.10), изменение перепада на мембране не оказывает влияния на крутизну устойчивых участков вольтамперной кривой, а влияет только на значение потенциала φ , при котором происходит изменение направления движения жидкости, т. е. на положение вертикального участка вольтамперной характеристики.

Электрохимическая модель, предложенная Теореллом, способна воспроизводить многие свойства нервного волокна, включая проведение возбуждения.

6.1.6 Распространение нервного импульса

Распространение нервного импульса вдоль волокна происходит без затухания с постоянной скоростью. Внутренняя часть волокна на участке возникновения спайка заряжена положительно, а в соседних участках — отрицательно. Причем, в направлении, откуда спайк распространяется, отрицательный заряд меньше в силу того, что на восстановление прежней разности потенциалов требуется время (рефрактерный период). Вследствие этого возникает локальный ток между возбужденным и покоящимися участком по направлению движения спайка. Направление тока такого, что он деполаризует часть мембраны перед активным участком, что приводит к возбуждению и возникновению нового спайка. Таким образом, возбуждение передается дальше по волокну.

Скорость распространения устойчивого импульса обратно пропорциональна квадратному корню из диаметра волокна.

В организме нервные волокна объединены в нервные стволы, где каждое волокно

может самостоятельно производить возбуждение. Электрическое поле, возникающее при этом в возбужденном волокне, влияет на мембранный потенциал соседних волокон, которые тем самым при некоторых условиях могут также возбуждаться.

6.2 Пассивный транспорт веществ через мембрану

Диффузия. Облегченная диффузия. Транспорт ионов. Ионное равновесие на границе раздела фаз. Уравнения электродиффузии Нернста—Планка и их решение.

6.2.1 Диффузия

Транспорт неэлектролитов. Диффузия (простая и облегченная)

Прохождение многих незаряженных веществ через мембраны подчиняется законам диффузии. Процесс диффузии был впервые количественно описан Фиком. Первый закон Фика отражает тот простой факт, что поток вещества J в направлении оси x пропорционален движущей силе, т. е. градиенту концентрации dC/dx :

$$J = -D \frac{dC}{dx}, \quad (6.11)$$

где D — коэффициент диффузии [cm^2c^{-1}], зависящий от температуры и подвижности u вещества в среде:

$$D = RTu. \quad (6.12)$$

В случае тонкой мембраны градиент концентрации постоянен, а движущая сила равна разности концентраций C_1 и C_2 в омывающих мембрану растворах:

$$J = P(C_1 - C_2), \quad (6.13)$$

где P — коэффициент проницаемости мембраны для данного вещества.

Проницаемость зависит от коэффициента диффузии D и распределения вещества γ между водной и липидной фазами и уменьшается с увеличением толщины h мембраны:

$$P = \frac{D\gamma}{h} = \frac{RTu\gamma}{h}. \quad (6.14)$$

Многочисленные исследования диффузии веществ через биологические мембраны выявили корреляцию между проникающей способностью веществ и их растворимостью в липидах. В связи с этим долгое время полагали, что молекулы проникают через липидную часть мембраны благодаря своей способности растворяться в липидах, но это справедливо только для больших молекул. Малые гидрофильные молекулы могут проникать через поры в мембране или с диффузией «кинков» через углеводородную зону.

Для проникновения неэлектролитов из воды в гидрофобную часть мембраны или узкую мембранную пору необходима частичная или полная дегидратация молекул, т.е. затраты энергии на преодоление взаимодействий полярных групп молекулы ($-COOH$, $-OH$, $-NH_2$) с диполями воды. Например, значения энергии активации, полученные

для проникновения этиленгликоля, глицерина и эритрита через искусственные фосфолипидные мембраны, а также через мембраны изолированных клеток, близки к значениям энергии дегидратации этих соединений. Необходимость дегидратации молекул является причиной сильной температурной зависимости коэффициента проницаемости мембран для ряда неэлектролитов. Хотя через биологические мембраны диффундируют самые разные соединения, в то же время даже сравнительно небольшие молекулы аминокислот и моносахаридов практически не проникают через мембраны большинства клеток за счет простой диффузии.

Пассивный транспорт веществ при участии переносчиков характеризуется некоторыми чертами, отличающими его от простой диффузии.

1. Высокая специфичность, которая связана со способностью переносчиков различать близкие по структуре соединения (например, *L*- и *D*-изомеры сахаров и аминокислот)
2. С ростом концентрации субстрата скорость транспорта увеличивается только до некоторой предельной величины (насыщение)
3. Наблюдается чувствительность к низким концентрациям ингибиторов, взаимодействующих с переносчиками

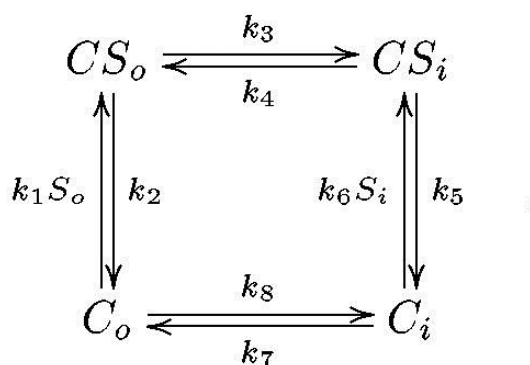


Рисунок 6.5 — Схема переноса. *C* — переносчик, *S* — субстрат

Начальная скорость переноса вещества (субстрата) определяется уравнением, аналогичным уравнению Михаэлис-Ментен:

$$J = \frac{J_{max} S_0}{K_m + S_0}, \quad (6.15)$$

где S_0 — концентрация субстрата по внешнюю сторону мембраны, K_m — концентрация субстрата, при которой $J = \frac{J_{max}}{2}$.

Движущей силой транспорта с участием переносчика является градиент химического или электрохимического потенциала вещества. Функционирование систем с облегченной диффузией, так же как и простой диффузии, направлено на выравнивание градиентов и установление равновесия в системе. Однако градиенты вещества могут поддерживаться длительное время за счет того, что проникающие молекулы потребляются или образуются в ходе биохимических реакций по одну из сторон мембраны.

Ткани животных обладают системами облегченной диффузии для ряда метаболитов, которые они получает из плазмы крови, например для сахаров, аминокислот, пуринов и глицерина.

6.2.2 Транспорт ионов

Существует несколько возможных механизмов прохождения ионов через мембрану:

1. растворение иона в липидной фазе мембраны, диффузия и последующий переход из мембраны в раствор;
2. движение по ионным каналам, являющимся структурными компонентами мембран;
3. транспорт с участием переносчиков.

Эти механизмы переноса установлены как для биологических мембран, так и для бислойных липидных мембран. Отдельную категорию составляет транспорт через мембранные барьеры клетки по механизму пиноцитоза. Скорость проникновения ионов через мембрану определяется такими ее свойствами, как толщина, значение диэлектрической проницаемости, наличие фиксированных электрических зарядов на ее поверхности, знак и плотность расположения этих фиксированных зарядов на мембране, размеры и число пор в мембране, наличие фиксированных зарядов в порах, и некоторыми другими.

Пассивное движение ионов происходит из области с высоким электрохимическим потенциалом в область с более низким электрохимическим потенциалом. Движущей силой переноса ионов является градиент электрохимического потенциала, обуславливающий в свою очередь разность химических потенциалов данного вещества в двух областях, между которыми происходит диффузия.

Взаимодействие иона с молекулами растворителя определяет значение стандартного химического потенциала μ_0 . В воде гидратация ионов приводит к изменению их эффективного радиуса. Радиус гидратированных ионов обычно оценивают с помощью соотношения Стокса—Эйнштейна:

$$r = \frac{kT}{6\pi D\eta}, \quad (6.16)$$

где D — коэффициент диффузии,

η — вязкость среды.

Дегидратация любого иона щелочных металлов является энергетически невыгодной. Энергия гидратации равна энергии поляризации диэлектрика сильным локальным полем иона. Чем выше значение диэлектрической проницаемости среды, тем сильнее поляризация и более стабилен ион.

Согласно электростатической теории Борна, энергия иона радиусом r в среде с диэлектрической проницаемостью определяется формулой:

$$W = \frac{Z^2 e^2}{8\pi r \epsilon \epsilon_0}, \quad (6.17)$$

а приращение свободной энергии при прохождении границы раздела сред в расчете на моль ионов

$$\Delta W = \frac{Z^2 e^2 N}{8\pi \epsilon_0 r} \left(\frac{1}{\epsilon_2} - \frac{1}{\epsilon_1} \right). \quad (6.18)$$

6.2.3 Ионное равновесие на границе раздела фаз

Ионное равновесие между двумя водными растворами, разделенными мембраной, описывается наиболее просто. В случае равновесия по ионам одного типа электрохимические потенциалы иона в обоих растворах одинаковы:

$$RT \ln C_1 + zF\varphi_1 = RT \ln C_2 + zF\varphi_2, \quad (6.19)$$

откуда:

$$\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_1}{C_2}. \quad (6.20)$$

Уравнение Нернста показывает, что в условиях электрохимического равновесия разность потенциалов на мембране определяется соотношением концентраций данного иона в двух соприкасающихся растворах. После перехода к десятичным логарифмам и подстановке $2,3RT/F$ и 58 мВ (при температуре 20 °С) уравнение Нернста для одновалентных ионов принимает вид:

$$\Delta\varphi = 58 \lg \frac{C_1}{C_2}. \quad (6.21)$$

В биологических системах распределение K^+ между цитоплазмой животных клеток и средой достаточно хорошо соответствует уравнению Нернста. Однако распределение Na^+ в большинстве клеток резко отличается от равновесного. Рассмотрим ионное равновесие на границе вода-неполярный растворитель. Такая система может рассматриваться как модель границы раздела вода-липидная мембрана с диэлектрической проницаемостью 2–3. Представим систему из двух несмешивающихся жидкостей,

например масло-вода, в которой растворен электролит A^+B^- . Вследствие неодинаковой липофильности ионов A^+ и B^- между объемами фаз возникает так называемая межфазная разность потенциалов.

На границе раздела потенциал и концентрации ионов испытывают скачки:

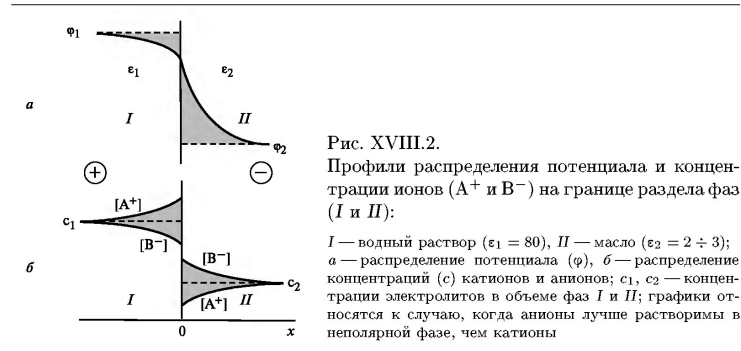


Рисунок 6.6 — Профили распределения иотенциала и концентрации ионов (A^+ и B^-) на границе раздела фаз (I и II)

Электрохимическое уравнение Нернста—Планка

В электродиффузионной модели мембрану рассматривают как непрерывную гомогенную среду, в которой происходит диффузия точечных невзаимодействующих частиц. Суммарный поток произвольного вида ионов j , движущихся пассивно и независимо в такой гомогенной среде в направлении оси x , пропорционален концентрации ионов, их подвижности и действующей на ион силе. Общее транспортное уравнение имеет вид:

$$\text{поток} = \text{концентрация} \times \text{действующая сила} \times \text{подвижность}. \quad (6.22)$$

Таким образом, поток J ионов j , концентрация которых в плоскости x равна C , а подвижность u , равен

$$J = Cu \left(-\frac{d\bar{\mu}}{dx} \right). \quad (6.23)$$

Учитывая определение электрохимического потенциала

$$\bar{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + zF\varphi, \quad (6.24)$$

и с учетом

$$\frac{d \ln C}{dx} = \frac{1}{C} \frac{dC}{dx}, \quad (6.25)$$

получим

$$J = -uRT \frac{dC}{dx} - uCzF \frac{d\varphi}{dx}. \quad (6.26)$$

Уравнение (6.26) называется уравнением электродиффузии или **уравнением Нернста—Планка** и описывает диффузию ионов в растворе или в гомогенной незаряженной

мембране. Первый член в правой части уравнения описывает свободную диффузию (диффузионная компонента общего потока), второй выражает миграцию ионов в электрическом поле (миграционная компонента).

Задача описания диффузии заряженных частиц предполагает решение системы двух уравнений, одно из которых — уравнение Нернста-Планка, второе — уравнение Пуассона. Для упрощения электро-диффузионной задачи вводят дополнительные условия, например допущение о постоянстве одного из градиентов в мембране $dC/dx = \text{const}$ или $d\varphi/dx$, или допущение об электронейтральности мембраны.

В подходе Планка—Гендерсона к решению электродиффузионного уравнения предполагают, что условие электронейтральности выполняется не только для объема фаз, разделенных мембраной, но и для самой мембраны. Иначе говоря, предполагают, что концентрации катионов и анионов в любой плоскости по оси x одинаковы ($C^+ = C^-$). В стационарном состоянии при условии разомкнутой цепи суммарный электрический ток через мембрану не течет, т. е. сумма переносимых катионов равна сумме переносимых анионов. Для бинарного электролита, содержащего одновалентный катион и одновалентный анион, условие равенства потоков имеет вид:

$$u_+ RT \frac{dC}{dx} - u_+ C z F \frac{d\varphi}{dx} = u_- RT \frac{dC}{dx} - u_- C z F \frac{d\varphi}{dx} \quad (6.27)$$

где u с соответствующим знаком обозначает подвижность катиона или аниона в мембране

$$\frac{d\varphi}{dx} = \varphi_2 - \varphi_1 = - \frac{u_+ - u_-}{u_+ + u_-} \frac{RT}{F} \frac{1}{C} \frac{dC}{dx} \quad (6.28)$$

$$\Delta\varphi = - \frac{u_+ - u_-}{u_+ + u_-} \frac{RT}{F} \ln \frac{dC}{dx} \quad (6.29)$$

Уравнение (6.29) называется **уравнением Гендерсона** и иллюстрирует принцип Ле-Шателье, т.к. при смешении растворов разной концентрации и их взаимопроникновении через перегородку потенциал определенного знака, создаваемый ионом того же знака, имеющим большую подвижность, будет «привлекать» ионы противоположного знака и скорости диффузии ионов обоих знаков, т.о., выравниваются. Уравнение Гендерсона несправедливо в случае липидных и клеточных мембран, для которых условие локальной электронейтральности не выполняется (липофильность катионов и анионов разная, поэтому разные концентрации их в мембране).

В случае тонких биологических (клеточных) мембран применяется другой, несколько более сложный, дискретный подход к решению уравнения Нернста—Планка. Основан он на том факте, что при прохождении по каналу ионы перескакивают из одной пот.ямы в другую.

Индукцированный транспорт ионов

Основные закономерности транспорта ионов через мембраны изучены в опытах с различными моделями, из которых самой близкой к биомембранам оказалась *бислойная липидная мембрана (БЛМ)*.

Затраты энергии, необходимые для проникновения иона в неполярную фазу, можно оценить по формуле Борна, согласно которой энергия, затрачиваемая на перемещение иона из воды в мембрану, зависит от его радиуса r и диэлектрических проницаемостей воды ε_w и мембраны ε_m .

В системе СГС:

$$W = \frac{Z^2 e^2}{2r} \left(\frac{1}{\varepsilon_m} - \frac{1}{\varepsilon_w} \right). \quad (6.30)$$

Рассчитанные по данному уравнению значения свободной энергии для перехода Na^+ и K^+ из воды в неполярный растворитель $\varepsilon_m = 2$ составляют большую величину 250–350 кДж/моль. Именно это создает барьер, препятствующий прохождению ионов щелочных металлов через гидрофобную часть липидного бислоя в негидратированной форме.

Как видно из формулы выше, энергия перехода иона в мембрану снижается с увеличением радиуса иона. Поэтому крупные органические ионы проникают через БЛМ легче, чем катионы щелочных металлов. Для таких крупных липофильных ионов, как дипикриламин и тетрафенилбор, возможно прямое прохождение через мембрану. При изменении градиента концентрации в случае одного проникающего иона разность электрических потенциалов на БЛМ изменяется в соответствии с уравнением Нернста. Этим методом было продемонстрировано пассивное движение проникающих ионов через мембраны митохондрий, субмитохондриальных частиц, бактериальных хроматофоров при энергозависимой генерации мембранного потенциала.

Как видно из величина энергетического барьера в мембране уменьшается, а следовательно, проницаемость мембраны для иона возрастает не только при увеличении его радиуса, но и при приближении значений ε_m к ε_w . На этих физических принципах и основан перенос ионов ионофорами. Ионофоры могут образовывать с ионом комплекс большого размера — переносчики — либо формировать пору в мембране, заполненную водой, — каналы. Это механизмы переноса — с участием переносчиков и через ионные каналы — изучены наиболее подробно в опытах с БЛМ.

Перенос иона через мембрану с участием переносчика включает стадии образования комплекса иона с ионофором на одной стороне мембраны, перемещения комплекса через мембрану, освобождения иона на другой стороне и возвращения ионофора. Возможны две схемы работы переносчика: малая «карусель», когда ионофор не выходит из мембраны, и большая «карусель», когда ионофор проходит мембрану насквозь, а образование и распад комплексов протекает в перемешиваемых слоях около мембраны. По механизму малой карусели около мембраны. По механизму малой карусели

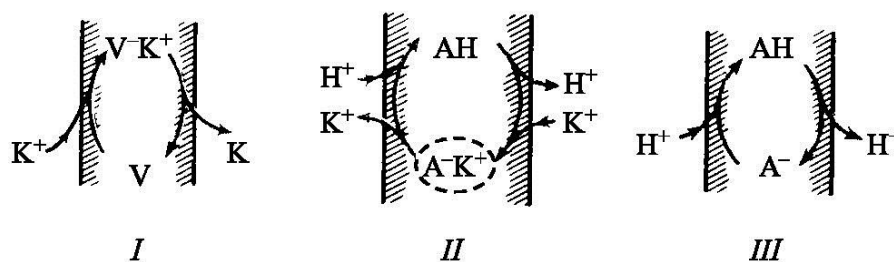


Рисунок 6.7 — Индуцированный транспорт ионов при участии различных переносчиков, I — нейтральные ионофоры (валиномицин); II — нигрицин (обменный транспорт H^+ и K^+); III — липофильные разобщители фосфорилирования (перенос протонов): K^+ — диссоциированная форма переносчика, AH — протонированная форма переносчика, V — валиномицин

осуществляется, например, перенос K^+ в присутствии валиномицина.

Энергия комплекса ион-переносчик оказывается значительно меньше энергии дегидратированного иона. Так, для заряженного комплекса радиусом 1 нм свободная энергия перехода из воды в мембрану составляет около 15 кДж/моль в отличие от значений 250–350 кДж/моль, соответствующих энергии дегидратации свободных ионов с радиусом 0,1–0,15 нм. Среди соединений, относящихся к ионным переносчикам, центральное место занимают макроциклические антибиотики, выделенные из микроорганизмов, и ряд синтетических макроциклических комплексонов.

Некоторые соединения из этой группы — нейтральные ионофоры — не содержат ионизируемых групп. Это циклические полипептиды, циклические молекулы, состоящие из чередующихся аминокислот и α -оксикислот (так называемые депсипептиды, примером которых являются валиномицин и его аналоги), макроциклические структуры, включающие четыре лактоновых кольца, — макротетролиды (нонактин) — и некоторые синтетические циклические полиэферы. Комплексы, образуемые нейтральными макроциклическими соединениями с ионами щелочных металлов, несут положительный заряд. Перенос иона через мембрану происходит в виде заряженного комплекса.

Движение иона значительно облегчается, если молекулы ионофора образуют комплекс, имеющий водную пору — канал. Наиболее известными каналообразующими соединениями являются грамицидин А, аламетицин, амфотерицин, мицин и полиеновые антибиотики.

Все эти молекулы обладают сродством к водной и органической фазам, что, с одной стороны, позволяет им образовывать водную пору, а с другой — приводит к сильной сорбции антибиотика на мембрану. Внешняя часть молекул в поре гидрофобна, а внутри канала обращены хорошо поляризуемые группы. Заряженные или сильно полярные группы могут находиться на одном конце молекулы. Такие группы служат «якорем», удерживая полярный конец на одной из сторон мембраны, позволяя молекуле пронизать гидрофобную часть мембраны.

6.3 Активный транспорт

Молекулярное строение каналов. Каналы и транспорт ионов через них. Электронейтральный и электрогенный транспорт ионов. Калий-натриевый насос. Активный транспорт кальция. Транспорт протонов.

Активный транспорт — это перенос вещества через клеточную или внутриклеточную мембрану (трансмембранный активный транспорт) или через слой клеток (трансцеллюлярный активный транспорт), протекающий против электрохимического градиента, т. е. с затратой свободной энергии организма.

В большинстве случаев источником энергии служит энергия макроэргических связей АТФ. Различные транспортные АТФазы, локализованные в клеточных мембранах и участвующие в механизмах переноса веществ, являются основным элементом молекулярных устройств — насосов, обеспечивающих избирательное поглощение и откачивание определенных веществ клеткой, например электролитов. Активный специфический транспорт неэлектролитов (молекулярный транспорт) реализуется с помощью нескольких типов молекулярных машин — насосов, переносчиков, каналов и пр. Транспорт неэлектролитов (моносахаридов, аминокислот и других мономеров) может сопрягаться с механизмом транспорта другого вещества, движение которого по градиенту концентраций является источником энергии для первого процесса. Вторичная энергизация может обеспечиваться ионными градиентами (например, натрия) без непосредственного участия АТФ, а также некоторыми другими механизмами, природа которых не ясна (например, натрийзависимый транспорт мономеров, освобождающихся при мембранном гидролизе ди- и олигомеров).

6.3.1 Молекулярное строение каналов

Известно, что для выявления механизмов активации и инактивации каналов, их селективности, блокировки, прохождения ионов через пору и других функциональных свойств необходимо знание структуры макромолекул, входящих в состав канала.

В середине 70-х гг. было установлено, что K^+ -канал ($4,5 \times 4,5 \text{ \AA}$) представляет собой трансмембранный белок, погруженный в липидный бислой. Аналогичный вывод был получен и в отношении другого типа каналов, изменение проводимости которых достигается не за счет изменения электрического потенциала на мембране, а в результате действия химических нейромедиаторов.

Методы генной инженерии позволили детально раскрыть структуру белков Na^+ - ($3.1 \times 5.1 \text{ \AA}$), K^+ -, Ca^{2+} -каналов. Установлено, что основным носителем функциональных свойств в натриевых и кальциевых каналах являются большие α - (в натриевом канале) и α_2 - (в кальциевом канале) субъединицы, состоящие из четырех повторов по

300–400 аминокислот в каждом. В свою очередь, каждый из этих повторов включает в себя 6 трансмембранных α -спиральных сегментов ($S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_6$).

Особая роль среди них в обеспечении функциональных свойств канала принадлежит сегменту S_4 , который несет положительные заряды от 4 до 8 на каждом третьем остатке аргинина или лизина.

Этот сегмент S_4 , возможно, играет роль сенсора в воротном механизме канала. В натриевых и кальциевых каналах одна большая субъединица достаточна для обеспечения работы канала.

6.3.2 Каналы и транспорт ионов через них

При продвижении иона по узкому однорядному каналу возможно взаимодействие ионов друг с другом и с молекулярными группами канала. При поступлении иона в канал происходит замещение гидратной оболочки иона полярными группами канала. Увеличение свободной энергии иона при дегидратации с лихвой компенсируется энергией его взаимодействия с полярными группами канала, в результате чего его свободная энергия понижается и прохождение по каналу облегчается. Наличие полярных групп и фиксированных анионных центров в канале приводит за счет их кулоновского взаимодействия с ионом к снижению энергетического барьера перехода иона из раствора в канал. Лучше всего проходят через канал ионы, прочно связывающиеся кулоновским взаимодействием с анионным центром. После потери гидратной оболочки меньший по размеру ион натрия лучше связывается с анионным центром, чем ион калия. В качестве анионного центра натриевого канала могут выступать атомы кислорода группы COO^- . Через натриевые каналы могут проходить также органические ионы размером не более $3 \times 5 \text{ \AA}$. Калиевые каналы имеют широкое (более 8 \AA) устье со стороны цитоплазмы.

Однорядный транспорт характеризуется тем, что каждый следующий ион не может попасть в занятую другим ионом потенциальную яму из-за кулоновского отталкивания между ионами. Перескоки между ямами совершаются под действием тепловых флуктуаций. Проводимость канала зависит от того, насколько заполнены участки «входа» и «выхода» канала, связывающие ионы (чем больше заполнение, тем ниже проводимость). Выход из канала иона, связанного анионным центром, облегчается при появлении на входе канала другого иона вследствие их ион-ионного кулоновского отталкивания.

6.3.3 Электронеutralный и электрогенный транспорт ионов

Электронеutralный транспорт ионов — такой транспорт, при котором функционирование транспортной системы сопровождается обменом внутриклеточных ионов в соотношении «заряд на заряд». Система активного транспорта является лишь средством

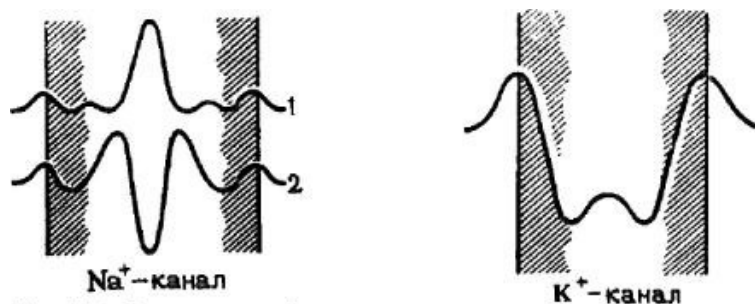


Рисунок 6.8 — Энергетический профиль натриевого (слева) и калиевого (справа) каналов возбудимых мембран

поддержания концентрационных градиентов и не участвует непосредственно в создании разности потенциалов на клеточной мембране. Потенциал на мембране создается только за счет диффузии ионов по градиентам концентрации.

Если число зарядов, переносимых в одном направлении в единицу времени, не компенсируется суммой зарядов, переносимых в другом направлении, транспортный механизм непосредственно участвует в создании дополнительной разности потенциалов на мембране — *электрогенный режим* (3 натрия на 2 калия — *Na-K насос*).

6.3.4 Калий-натриевый насос

Калий-натриевый насос — мембранный механизм, поддерживающий определенное соотношение ионов Na^+ и K^+ в клетке путем их активного транспорта против электрохимического и концентрационного градиентов.

Клетки большинства тканей содержат больше ионов K^+ , чем Na^+ , в то время как в омывающей их жидкости (кровь, лимфа, межклеточная жидкость) значительно выше концентрация Na^+ . Определенное количество ионов постоянно входит в клетки и покидает их.

Пассивный транспорт катионов (движение ионов через мембрану по системе специальных каналов вдоль электрохимического и концентрационного градиентов) в норме компенсируется активным транспортом ионов. Функционирование насоса связано с переносом метаболитов в клетки, а для нервных и мышечных волокон также с механизмом возбуждения. Работа насоса в целом зависит от интенсивности метаболизма клетки и сопровождается накоплением на мембране разности электрических потенциалов.

Этот процесс сопровождается расщеплением АТФ, т.е. является эндоэргическим. Насос представляет собой не что иное, как фермент, расщепляющий АТФ, — натрий-калий-зависимую АТФ-азу. Этот фермент обычно расположен в мембранах и активируется при повышении концентрации ионов натрия внутри клетки или ионов калия в

наружной среде. Большинство исследователей склоняется к мысли, что насос действует по принципу открывающихся и закрывающихся каналов. Предполагается, что натриевые и калиевые каналы соседствуют друг с другом. Связывание молекул «канального» белка с ионом натрия приводит к нарушению вторичной структуры белка, в результате чего меняется его конформация. Обычная α -спираль, в которой на каждый виток приходится 3,6 аминокислотного остатка, переходит в более рыхлую β -спираль (4,4 аминокислотного остатка). В результате образуется внутренняя полость, достаточная для прохождения иона Na^+ , но слишком узкая для иона калия. После прохождения Na^+ β -спираль переходит в туго свернутую так называемую спираль 310 (это означает, что 3 аминокислотных остатка приходится на виток и водородная связь у каждого десятого атома). При этом натриевый канал закрывается, а стенки соседнего калиевого канала раздвигаются, образуя полость, достаточно широкую для прохождения иона калия. Натрий-калиевый насос работает по принципу перистальтического насоса (наподобие передвижения пищевого комка по кишечнику).

6.3.5 Активный транспорт кальция

Кальций-зависимая АТФаза, сопряженная с мощным кальций-насосом, локализована в мембранах саркоплазматической сети и имеет некоторые сходные черты с натрий-калиевой АТФазой. Ca -АТФаза состоит из одной полипептидной цепи с молекулярной массой около 100 кДа и относительно высоким содержанием гидрофобных аминокислот. Для работы кальций-зависимой АТФазы также необходимо присутствие фосфолипидов.

Работу Ca -АТФазы изучают на фрагментах саркоплазматического ретикулума, выделяемых из мышечной ткани, а также на мембранных пузырьках, которые образуются в определенных условиях в смеси очищенного препарата Ca -АТФазы с фосфолипидами. Схема работы Ca -АТФазы может быть представлена следующим образом. На первом этапе происходит связывание Ca и АТФ. Эти соединения связываются с разными центрами на внешней поверхности мембранного пузырька. Константа связывания Ca составляет порядка $10^7 M^{-1}$. На втором этапе АТФ гидролизуетсся с образованием фосфорилированного фермента. Образование фермент-фосфатного комплекса можно обнаружить по включению в белок радиоактивного изотопа ^{32}P из АТФ, меченной по фосфату. Образующаяся фосфорилированная форма фермента $E \sim P$ конформационно неустойчива и претерпевает изменение пространственной структуры так, что ион-связывающие участки оказываются отделенными от внешней среды.

На следующем этапе цикла происходит изменение сродства Ca -связывающих центров к ионам Ca одновременно с изменением характера связи фосфатной групп- группы с ферментом. Энергия, ранее сосредоточенная в макроэргической фосфатной связи ком-

плекса $E \sim P$, расходуется на изменение константы связывания ионов Ca с ферментом. Как и в случае Na^+ , K^+ –АТФазы, изменение сродства обусловлено, по-видимому, изменением расположения полярных групп, образующих координационные связи с Ca^{2+} . Вследствие происшедшего изменения пространственной структуры фермента ионы Ca получают доступ во внутреннее пространство мембранных пузырьков и выбрасываются во внутренний объем. Константа связывания Ca при образовании стабильной фосфорилированной формы фермента уменьшается.

На основании соотношения, связывающего константу химического равновесия с изменением свободной энергии в ходе реакции ΔG_0 , т. е. $\Delta G_0 = -RT \ln K$, можно найти, что изменение свободной энергии при уменьшении константы связывания составляет 17,8 кДж/моль. Таким образом, суммарные затраты энергии на перенос Ca через мембрану примерно вдвое меньше энергии гидролиза АТФ (около 40 кДж/моль при $pH=9$), которой хватает на перенос двух ионов Ca^{2+} . Вследствие десорбции Ca^{2+} с фермента суммарный положительный заряд в ион-связывающей полости уменьшается, что значительно облегчает десорбцию фосфата. В результате этих превращений фермент вновь приходит в исходное состояние.

6.3.6 Транспорт протонов

Перенос электронов в энергосопрягающих мембранах митохондрий, хлоропластов и бактерий сопровождается трансмембранным переносом H^+ и образованием градиента электрохимического потенциала этого иона $\Delta\mu_{H^+}$, который включает электрический (мембранный потенциал) и концентрационный (градиент pH) компоненты:

$$\Delta\bar{\mu}_H = RT \ln \left(\frac{C_1}{C_2} \right) + zF(\varphi_i - \varphi_0) = zF\Delta\varphi - 2,3RT\Delta pH \quad (6.31)$$

В выражении (6.31) индексы i и 0 относятся к растворам, находящимся внутри и снаружи замкнутой мембранной системы. В сопрягающих мембранах локализованы также АТФ–синтетазные системы, через каналы которых осуществляется пассивное движение H^+ по градиенту электрохимического потенциала.

Перенос H^+ через мембраны может осуществляться механизмами трех типов:

1. В некоторых мембранах существуют подвижные переносчики протонов (пластохинон в фотосинтетической мембране хлоропластов).
2. Возможны также конформационные переходы мембранного белка при связывании протона на одной стороне мембраны и депротонировании белка с другой стороны мембраны.
3. Протоны могут транспортироваться через мембрану по специализированным структурам — H^+ –каналам.

Протонный канал представляет собой узкую полость, образованную полярными группами белка. Протонный канал — важный компонент всех H^+ -АТФаз. Он образован гидро- гидрофобной частью субъединицы сопрягающего фактора — комплексом CF_0 . По H^+ - каналу протоны поступают к каталитическому участку транспортной системы, в котором осуществляется сопряжение переноса H^+ с реакциями синтеза- гидролиза АТФ. Таким образом, основными узлами H^+ -насосов являются протонный канал и активный центр.

Транспорт протонов по H^+ -каналам обычно сравнивают с переносом H^+ по регулярной решетке, образованной системой водородных связей, аналогичной таковой во льду. В структуре льда возможны переходы протона от одной молекулы воды к соседней. В результате возникает ионная пара, состоящая из положительно заряженного иона гидроксония H_3O^+ и гидроксила OH^- . В отсутствие электрического поля обмен протонами происходит хаотично, однако при создании разности потенциалов возникает направленная миграция дефектов. В итоге достигается быстрое смещение протонов вдоль упорядоченной цепи водородных связей.

В биологических мембранах системы водородных связей, по которым транспортируются протоны, образованы полярными группами, не участвующими в формировании H -связей α -спирали полипептидной цепи. Для формирования сквозной трансмембранной структуры, транспортирующей H^+ , необходимо около 20 аминокислотных остатков.

В общем виде систему активного транспорта рассматривают как трансмембранный канал с большим числом участков связывания H^+ , в котором транслокация протонов происходит за счет последовательных перескоков H^+ между участками связывания. Такой ионный канал может работать как ионный насос, если структура энергетических барьеров претерпевает динамические изменения за счет энергообеспечивающей реакции, например изменяются константа диссоциации протон связывающих участков канала и высота соседних барьеров. В этом случае протон будет освобождаться преимущественно с одной стороны мембраны, а поглощаться — с другой.

Изменение высоты активационных барьеров, обусловленное небольшими изменениями конформации H^+ канала, может быть связано с изменением pK_a сродства к протону аминокислотных остатков переносчиков H^+ . Рассмотренная схема может быть распространена на H^+ -насосы, использующие в качестве источника энергии разность окислительно-восстановительных потенциалов. В этом случае разные конформационные состояния канала соответствуют окисленной и восстановленной форме ферментов — переносчиков электрона. Аналогичным образом можно описать АТФ-зависимый транспорт протонов.

6.4 Способность к молекулярной рецепции — необходимое условие функционирования биологических систем

Понятие молекулярной рецепции. «Сквозное» присутствие молекулярной рецепции практически во всех биологических реакциях. Молекулярная рецепция в функционировании ферментов. Каскады ферментативных реакций.

6.4.1 Понятие молекулярной рецепции

Молекулярная рецепция — широко распространенное свойство на молекулярном уровне живого. Более того, если учесть, что специфичность ферментов тоже есть проявление молекулярной рецепции, то приходится признать, что рецепция лежит в основе живого.

Узнавание (распознавание) сигнала рецептором есть основное свойство регулируемой и регулирующей системы, осуществляющей классификацию объектов, воздействующих на рецепторы.

Распознающие системы могут быть 1) необучающимися и 2) обучающимися.

Клеточное распознавание имеет принципиальное значение для процессов развития, в частности, для возникновения иммунитета. Молекулярное распознавание (рецепция) определяет все важнейшие молекулярно-биологические процессы — ферментативную активность, редупликацию ДНК, все этапы биосинтеза белка, взаимодействие антиген-антитело, и т.д.

Молекула белка-фермента узнает молекулу субстрата или некоторую ее часть, как, например, в случае протеолитических ферментов, катализирующих гидролиз пептидных связей. Рецепция выражается в образовании реакционного комплекса со специфическим субстратом. Комплексы с ингибиторами и активаторами, с аллостерическими эффекторами также возникают в результате специфического узнавания.

Более простой случай рецепции: комплементарное связывание нуклеотидов в двойной спирали ДНК, в гибридной двойной спирали ДНК-РНК, при взаимодействии кодон-антикодон.

Приходим к термину «молекулярная рецепция». Это понятие имеет смысл применительно к системам, в которых узнающее устройство сохраняет свою целостность в акте узнавания и в ряде случаев возвращается в исходное состояние, совершая преобразование молекулярного сигнала. Одна молекула фермента перерабатывает множество молекул субстрата, одна рибосома «читает» весь текст, записанный в цепи мРНК. В биосинтезе белка ферментативная рецепция происходит в акте транскрипции, в котором участвуют РНК-полимераза, и в акте трансляции, где узнающими системами,

наряду с мРНК, служат аминоксил-тРНК синтетаза, вся рибосома и пр.

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

Молекулярное кодирование в биологии основывается в конечном счете на молекулярной рецепции. Генетический код связан с функционированием ряда узнающих систем, перечисленных выше. Естественно возникает вопрос о ферментном коде, т.е. о классификации соответствий между активными центрами ферментов и субстратов. Громадное число комбинаций из 20 сортов аминокислотных остатков на поверхности реактивной полости фермента, в его активном центре, обеспечивает неограниченное многообразие функциональности ферментов. Можно думать о наличии фиксированных комбинаций, кодирующих узнавание характерных атомных групп субстратов. Точнее следует говорить о кодовых сорбирующих комбинациях и кодовых каталитических комбинациях, действующих согласованно, но пространственно разделенных.

Взаимодействие, определяющее узнавание субстрата или ингибитора белком, есть процесс передачи информации молекулярным сигналом рецептору. По Кастлеру, **в большинстве реальных случаев передается не вся информация, содержащаяся в данном объекте, но лишь некоторая ее часть, именуемая сигнатурой. Сигнатурой молекулы служат все те ее особенности, благодаря которым она становится участником данной реакции.** В случае образования фермент-субстратного комплекса сигнатурой субстрата являются его функциональные группы, взаимодействующие с активным центром. В свою очередь, сигнатура фермента есть его активный центр, т.е. ограниченная совокупность аминокислотных остатков, непосредственно взаимодействующих с субстратом. Узнавание сводится здесь к структурному соответствию молекулярных сигнатур, реализуемому в результате многоточечных слабых взаимодействий.

Специфичность ферментов не абсолютна. Данный фермент зачастую катализирует не определенную реакцию одного строго заданного субстрата, а однотипные реакции группы сходных субстратов. Одна из причин наличия конечного интервала специфичности имеет молекулярно-кинетический характер. Реальная молекулярная распознающая система, фермент, предназначена не только для узнавания молекулярного сигнала, но и для его достаточно быстрого преобразования. Степень специфичности узнавания, вообще говоря, зависит от степени связывания субстрата, т.е. выражается свободной энергией взаимодействия. Если выигрыш свободной энергии слишком велик, то проч-

ность фермент-субстратного комплекса может быть настолько большой, что число оборотов фермента окажется чрезмерно низким. **Необходимо оптимальное соотношение между точностью узнавания и скоростью преобразования.**

Доведение событий молекулярной рецепции, то есть события на уровне отдельных молекул, до уровня целого организма осуществляется ферментативными каскадами. Все каскады имеют характерную для них общую структуру (Рис. 6.9).

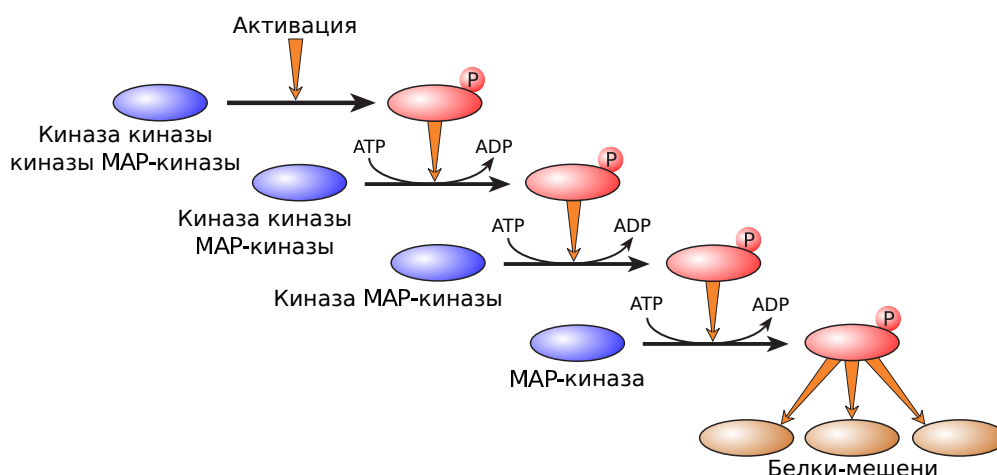


Рисунок 6.9 — Общая схема каскадной сигнальной реакции [21]

Пример — действие адреналина. Роль «тормоза» выполняет фосфатаза, которая переводит активную форму киназы фосфорилазы в неактивную. При превышении пороговой концентрации адреналина фосфатаза ингибируется, каскад начинает развиваться и при этом ингибируется гликоген-синтаза, активность которой мешает мобилизации энергетических ресурсов мышечной клетки.

Зачем нужны такие процессы в организме? Они могут выступать в качестве элементов конструктора из которых можно создавать устройства со сложной кинетикой. Например с помощью каскада легко сделать выключатель — триггер, генератор импульсов определенной формы, или генератор колебаний. Более того, недавно стало понятно, как с помощью каскадов природа может формировать сложные пространственные конструкции — задача крайне важная в процессах пространственной дифференцировки многоклеточных организмов.

Общим свойством всех систем, использующих ферментативные каскады, является существование порога и ответ по типу все или ничего. Благодаря кинетическим свойствам каскада система, перевалив через порог, неудержимо и быстро устремляется к новому состоянию, характеристики которого практически не зависят от силы и кинетики воздействия, вызвавшего переход (Рис. 6.10).

Другая особенность ферментативных каскадов состоит в том, что они не являются самостоятельными метаболическими или регуляторными системами. Они всегда явля-

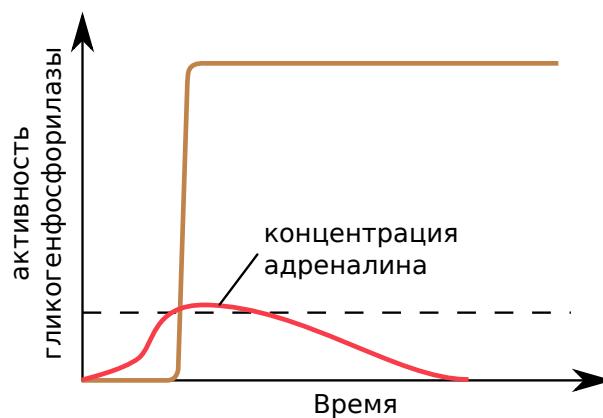


Рисунок 6.10 — Изменение активности гликогенфосфорилазы во времени в ответ на изменение уровня адреналина в крови

ются частью системы, поведение которой зависит от устройства всей системы в целом. Это обеспечивает разнообразие возможных ответов.

Глава 7

Физиология клетки

7.1 Гомеостаз (клетки, ткани и организма)

Отрицательные и положительные обратные связи в организме. Элементы теории управления. Примеры проявления отрицательных обратных связей в организме. Принципы соорганизации процессов в клетке. Механизмы координации внутриорганизменных химических и физиологических процессов.

Гомеостаз (греч. *homoios* — подобный, тот же самый; *stasis*-состояние, неподвижность) — относительное динамическое постоянство внутренней среды (крови, лимфы, тканевой жидкости) и устойчивость основных физиологических функций (кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т.д.) организма человека и животных. Регуляторные механизмы, поддерживающие физиологическое состояние или свойства клеток, органов и систем целостного организма на оптимальном уровне, называются гомеостатическими. «Сохранение структурно-функциональной стабильности» — суть любого гомеостаза, управляемого гомеостатом или саморегулируемого.

Как известно, живая клетка представляет подвижную, саморегулирующую систему. Ее внутренняя организация поддерживается активными процессами, направленными на ограничение, предупреждение или устранение сдвигов, вызываемых различными воздействиями из окружающей и внутренней среды. Способность возвращаться к исходному состоянию после отклонения от некоторого среднего уровня, вызванного тем или иным «возмущающим» фактором, является основным свойством клетки.

Как показывают исследования, существующие у живых организмов способы регуляции имеют много общих черт с регулируемыми устройствами в неживых системах, таких как машины. И в том и в другом случае стабильность достигается благодаря определенной форме управления.

Особое значение для жизнедеятельности организма имеет постоянство состава кро-

ви. Хорошо известна устойчивость ее активной реакции (рН), осмотического давления, соотношения электролитов (натрия, кальция, хлора, магния, фосфора), содержания глюкозы, числа форменных элементов и т. д. Так, например, рН крови, как правило, не выходит за пределы 7,35-7,47. Наличие большого количества осморецепторов в тканях и органах и координированной системы регуляторов водного обмена и ионного состава позволяет организму быстро устранить сдвиги в осмотическом давлении крови, происходящие, например, при введении воды в организм.

Особо важное значение имеет постоянство внутренней среды для деятельности центральной нервной системы: даже незначительные химические и физико-химические сдвиги, возникающие в цереброспинальной жидкости, глии и околочлеточных пространствах, могут вызвать резкое нарушение течения жизненных процессов в отдельных нейронах или в их ансамблях.

Особо важное значение имеет постоянство внутренней среды для деятельности центральной нервной системы: даже незначительные химические и физико-химические сдвиги, возникающие в цереброспинальной жидкости, глии и околочлеточных пространствах, могут вызвать резкое нарушение течения жизненных процессов в отдельных нейронах или в их ансамблях.

К наиболее совершенным гомеостатическим механизмам в организме высших животных и человека относятся процессы терморегуляции; у гомойотермных животных колебания температуры во внутренних отделах тела при самых резких изменениях температуры в окружающей среде не превышают десятых долей градуса.

Организирующая роль нервного аппарата лежит в основе широко известных представлений о сущности принципов гомеостаза. Примером решения проблемы гомеостаза с позиций кибернетики является попытка Эшби сконструировать саморегулирующее устройство, моделирующее способность живых организмов поддерживать уровень некоторых величин в физиологически допустимых границах.

Французский исследователь К. Бернар писал, что условием свободного поведения живого организма является постоянство внутренней среды. По его мнению, все жизненные процессы имеют одну цель — поддержание постоянства условий жизни во внутренней среде организма. Позднее эта мысль нашла воплощение в трудах американского физиолога У. Кеннона в форме учения о гомеостазе.

Гомеостаз — относительное динамическое постоянство внутренней среды и устойчивость физиологических функций организма. Основным механизмом поддержания гомеостаза является саморегуляция.

Саморегуляция — вариант управления, при котором отклонение какой-либо физиологической функции или характеристики внутренней среды от уровня, обеспечивающего нормальную жизнедеятельность, является причиной возвращения этой функции к исходному уровню. У человека и высших животных гомеостатические механизмы

достигли совершенства.

Процессы саморегуляции основаны на использовании прямых и обратных связей. Прямая связь предусматривает выработку управляющих воздействий на основании информации об отклонении константы или действии возмущающих факторов. Например, раздражение холодным воздухом терморецепторов кожи приводит к увеличению процессов теплопродукции.

Обратные связи заключаются в том, что выходной, регулируемый сигнал о состоянии объекта управления (константы или функции) передается на вход системы. Различают положительные и отрицательные обратные связи. Положительная обратная связь усиливает управляющее воздействие, позволяет управлять значительными потоками энергии, потребляя незначительные энергетические ресурсы. Примером может служить увеличение скорости образования тромбина при появлении некоторого его количества на начальных этапах коагуляционного гемостаза.

Отрицательная обратная связь ослабляет управляющее воздействие, уменьшает влияние возмущающих факторов на работу управляющих объектов, способствует возвращению измененного показателя к стационарному уровню. Отрицательные обратные связи повышают устойчивость биологической системы — способность возвращаться к первоначальному состоянию после прекращения возмущающего воздействия.

В организме обратные связи построены по принципу иерархии (подчиненности) и дублирования. Например, саморегуляция работы сердечной мышцы предусматривает наличие обратных связей от рецепторов самой сердечной мышцы, рецепторных полей магистральных сосудов, рецепторов, контролирующих уровень тканевого дыхания, и др.

Гомеостаз организма в целом обеспечивается согласованной содружественной работой различных органов и систем, функции которых поддерживаются на относительно постоянном уровне процессами саморегуляции.

Элементы теории управления. Обратные связи и гомеостаз.

Как уже отмечалось понятие «управление» неотделимо от понятия «цель управления». Цели управления в организме могут быть разными, но одна из важнейших — это поддержание внутренней среды организма в допустимых пределах, несмотря на внешние возмущения. Такая способность называется гомеостаз. Обеспечение гомеостаза невозможно без типичного для систем управления воздействия выходного сигнала системы не ее вход, которое носит название обратная связь.

Проиллюстрируем роль обратной связи в управлении на примере линейных систем управления, поскольку математический аппарат для их описания наиболее развит. Рассмотрим общее описание систем управления, не погружаясь в детали операторных методов.

Пусть зависимость выходного сигнала системы $y(t)$ от внешнего воздействия $F(t)$ описывается линейным дифференциальным уравнением:

$$a_n y^{(n)} + a_{n-1} y^{(n-1)} + \dots + a_0 = F(t). \quad (7.1)$$

Переведем это уравнение в алгебраическое используя преобразование Лапласа:

$$\psi(s) = \int_0^{\infty} f(t) e^{-st} dt, \quad (7.2)$$

где $f(t)$ произвольная непрерывная функция, удовлетворяющая необходимым требованиям; s — новая независимая переменная, в общем случае комплексная.

Соотношения (7.2) часто записывают в операторном виде:

$$\psi(s) = L[f(t)]. \quad (7.3)$$

Оператор L обладает свойством линейности и существует обратный ему оператор, определяющий обратное преобразование Лапласа.

Вернемся к уравнению (7.1). Обозначим связь между выходным сигналом системы и новой переменной в виде:

$$L[y(t)] = \eta(s). \quad (7.4)$$

Используя интегрирование по частям можно показать, что

$$L[y'(t)] = s\eta(s) - y(0). \quad (7.5)$$

Используя (7.5), можно по индукции доказать, что в общем случае получается формула:

$$L[y^{(k)}(t)] = s^k \eta(s) - y^{(k-1)}(0) \sum_{j=1}^k s^{k-j}; k = 1, 2, \dots, n. \quad (7.6)$$

С помощью формулы (7.6) уравнение (7.1) можно переписать в следующем виде:

$$\left(\sum_{k=0}^n a_k s^k \right) \eta(s) = L[F(t)], \quad (7.7)$$

где начальные условия выбраны так, что $y^{(k-1)}(0) = 0$.

Тогда выходной сигнал системы можно выразить в следующем виде:

$$\eta(s) = \frac{1}{\sum_{k=0}^n a_k s^k} L[F(t)] \text{ or } \eta(s) = G(s) L[F(t)]. \quad (7.8)$$

Пусть имеется некоторая система, обладающая передаточной функцией $G(s)$, на вход которой подается сигнал $y_1(t)$, и при этом получается выходной сигнал $y_2(t)$. Тогда по определению:

$$\eta_2(s) = G(s) \eta_1(s), \quad (7.9)$$

где $\eta_1(s)$, $\eta_2(s)$ — преобразования Лапласа сигналов $y_1(t)$ и $y_2(t)$ соответственно.

Обычно такую схему изображают в виде структурной схемы, показанной на рисунке. 7.1 а.

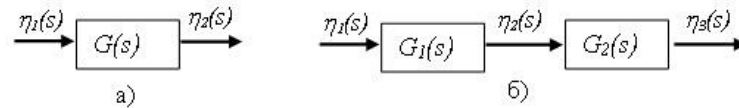


Рисунок 7.1 — Структурные схемы систем со входом и выходом

Пусть теперь выходной сигнал такой системы служит входным сигналом для второй системы, то есть, образована система из двух звеньев, соединенных последовательно (Рис. 7.1 б).

Передаточная функция полученной системы по определению равна отношению преобразования Лапласа выходной функции к преобразованию Лапласа входного сигнала рассматриваемой системы. Выполняя вычисления находим, что

$$\frac{\eta_3(s)}{\eta_1(s)} = \frac{\eta_2(s)}{\eta_1(s)} \frac{\eta_3(s)}{\eta_2(s)} = G_1(s)G_2(s). \quad (7.10)$$

Итак, передаточная функция системы, состоящей из двух последовательно соединенных звеньев, равна произведению передаточных функций этих звеньев. Аналогичный результат справедлив и для систем, состоящих из любого числа последовательно соединенных звеньев.

Теперь мы можем приступить к рассмотрению систем с обратной связью. Понятно, что системы управления, в которых используется обратная связь, должны состоять по крайней мере из двух звеньев; одно из них — это объект управления, а другое — управляющее устройство, или регулятор.

Объект управления — это система, которую нужно поддерживать в определенном режиме работы; в одних случаях требуется, чтобы, несмотря на флуктуации условий сред, у нее сохранился определенный рабочий режим (система регулирования), в других — система должна следовать изменениям того или иного параметра, характеризующего внешнюю среду (следающая система). Эти цели достигаются за счет того, что сигнал на входе объекта управления изменяется на определенную величину, зависящую от того, насколько состояние объекта управления в данный момент времени t отклоняется от требуемого состояния.

Следовательно, входной сигнал объекта управления должен вырабатываться некоторой другой системой — регулятором, который определяет, насколько состояние объекта управления отклоняется от требуемого, и затем формирует для него нужный входной сигнал, под влиянием которого это отклонение минимизируется. Для работы регулятора необходимо, чтобы он получал входные сигналы как от внешней среды, так и от

самого объекта управления (это и есть то, что принято называть обратной связью). Типичная структурная схема системы с обратной связью изображена на рисунке 7.2, где приведены общепринятые названия различных звеньев и блоков.

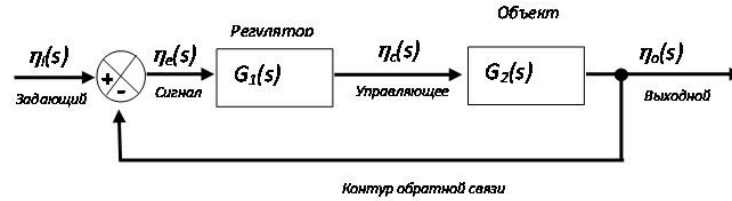


Рисунок 7.2 — Типичная структурная схема системы с обратной связью

Из передаточных функций $G_1(s)$ и $G_2(s)$, относящихся соответственно к управляющему устройству и к объекту управления, можно получить ряд других передаточных функций, характеризующих поведение всей системы с обратной связью в целом и ее отдельных частей. Во-первых, используя формулу (7.10) находим, что

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_e(s)} = G_1(s)G_2(s). \quad (7.11)$$

Выражение (7.11) называется передаточной функцией разомкнутой системы, так как здесь не учитывается контур обратной связи. Из него можно получить две другие передаточные функции.

Вычисляя отношение $\eta_0(s)/\eta_i(s)$, то есть передаточную функцию замкнутой системы, из (7.11) находим

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_i(s)} = G_1(s)G_2(s) \frac{\eta_e(s)}{\eta_i(s)}. \quad (7.12)$$

Но по определению $\eta_e(s) = \eta_i(s) - \eta_0(s)$, и поэтому

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_i(s)} = G_1(s)G_2(s) \left[1 - \frac{\eta_0(s)}{\eta_i(s)} \right]. \quad (7.13)$$

Еще раз используя (7.11), получаем

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_i(s)} = \frac{G_1(s)G_2(s)}{1 + G_1(s)G_2(s)}. \quad (7.14)$$

Наконец, принимая во внимание (7.14), вычисляем передаточную функцию для сигнала ошибки:

$$\frac{\eta_e(s)}{\eta_i(s)} = \frac{\eta_i(s) - \eta_0(s)}{\eta_i(s)} = 1 - \frac{\eta_0(s)}{\eta_i(s)} = \frac{1}{1 + G_1(s)G_2(s)}. \quad (7.15)$$

Система, изображенная на рисунке 7.2, представляет собой классическую следящую систему. Вполне очевидно, что выходной сигнал такой системы воспроизводит

задающий сигнал, а свойства передаточных функций (7.11-7.15) позволяют оценить насколько хорошо система выполняет свое назначение.

На рисунке 7.3 показана структурная схема классической системы регулирования.

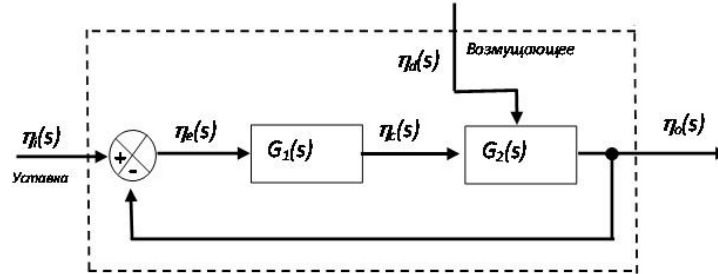


Рисунок 7.3 — Структурная схема классической системы регулирования

При работе этой системы задающий сигнал является постоянным и соответствует заданному значению регулируемой величины (это так называемая установка, например, заданное значение температуры в термостате); в этом случае приходится рассматривать еще один дополнительный входной сигнал, преобразование Лапласа которого обозначено на схеме через $\eta_d(s)$. Этот сигнал характеризует влияние флуктуаций параметров внешней среды. Как и предыдущем случае, передаточные функции, характеризующие работу системы регулирования, могут быть выписаны без труда, причем для удобства можно положить $\eta_k(s) = 0$ (так что при этом $\eta_e(s) = -\eta_o(s)$):

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_d(s)} = G_2(s). \quad (7.16)$$

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_d(s)} = \frac{G_2(s)}{1 + G_1(s)G_2(s)}. \quad (7.17)$$

$$\frac{\eta_e(s)}{\eta_d(s)} = -\frac{G_2(s)}{1 + G_1(s)G_2(s)}. \quad (7.18)$$

Из формулы (7.17) видно, что если $G_1(s)G_2(s) \gg 1$ (а это для большинства систем управления так и есть), то влияние возмущающего воздействия на величину выходного параметра уже не зависит от свойств объекта управления, а полностью определяется параметрами регулятора:

$$\frac{\eta_0(s)}{\eta_d(s)} = \frac{1}{G_1(s)}$$

Причем степень влияния возмущающего воздействия на выход системы, который требуется удерживать постоянным тем меньше, чем больше передаточная функция регулятора.

Здесь были изложены элементарные принципы классического инженерного подхода к анализу общих систем управления. Такого же рода методы исследования можно

использовать при изучении механизмов управления в живых организмах. В определенных границах, присущих этому методу (его применимость ограничена тем, что он может быть использован лишь для линейных систем), такой подход к изучению физиологических систем оказался весьма плодотворным. Для биолога основной интерес представляют те специфические механизмы, которые лежат в основе изучаемой им физиологической функции, а не весь класс эквивалентных механизмов в целом. И если биолог собирается применить какую-то общую теорию, скажем, как теория систем управления, для общего исследования биологических систем, в его распоряжении должны быть определенные методы для выбора соответствующих специфических механизмов из того класса механизмов, к которому относится применяемая теория. А для этого необходим некоторый общий принцип, или критерий, лежащий вне этой теории.

Одним из таких принципов может стать принцип оптимальной конструкции, позволяющий выработать такой критерий при решении задач управления и регулирования. Главная роль принципа оптимальности в теоретической биологии заключается именно в том, что он позволяет переходить от самого общего и абстрактного рассмотрения биологических функций к одному или нескольким механизмам частного характера, которые реализуют эти функции оптимальным образом в реальных биологических системах.

7.1.1 Принципы соорганизации процессов в клетке

1. Не должно быть неспецифического, неконтролируемого взаимодействия внутриклеточных процессов. Специфичность ферментов позволяет сосуществовать тысячам химических реакций в одном реакционном объеме — внутриклеточной среде.
2. Клетке не нужно контролировать активность каждого фермента, поскольку биохимическая система клетки имеет модульно-иерархическую организацию управления процессами. Примером может служить организация гликолиза, к ключевым ферментам которого относятся пары фосфофруктокиназа/бифосфатаза пируваткиназа/фосфоенолпируваткарбоксикиназа, расположенные в начале и конце гликолиза. От их согласованной активности зависит режим работы ферментов гликолиза гликолиз/глюконеогенез. Остальные ферменты гликолиза не управляются.
3. Принцип относительной независимости структурных блоков в иерархии. Пояснение: необходимо, чтобы управление было завязано на содержательные сигналы. Если блок начинает реагировать еще на чужой сигнал — это плохо, должна быть развязка. Уровень АТФ в клетке должен поддерживаться на постоянном уровне, чтобы его потребление одной реакции не влияло на другие потребляющие АТФ системы. Аналогия — напряжение в электрической сети не должно меняться существенно при подключении различных нагрузок, чтобы приборы не влияли друг

на друга через электросеть.

4. Режим идеального перемешивания внутриклеточной среды обеспечивает концентрационную однородность управляемой системы. Поэтому не зря нитчатая водоросль тратит примерно 15% энергии клетки на перемещение везикул по цитоскелету от одного конца водоросли до другого.
5. Согласование работы ферментов, работающих в необратимых процессах (аллостерические ферменты) — пример с фосфофруктокиназой. В процессе гликолиза она работает только в сторону расщепления глюкозы. При глюконеогенезе работает другой фермент — бифосфатаза. В противном случае синтез глюкозы *de novo* был бы невозможен.

7.2 Моделирование полиферментных клеточных систем

Модель энергетического метаболизма клетки. Понятие о первичной, вторичной и третичной структурах метаболизма. Режимы работы системы энергетического метаболизма.

7.2.1 Модель энергетического метаболизма клетки

Полиферментная система — термин для обозначения совокупности взаимосвязанных реакций, выполняющих некоторую биохимическую функцию [22]. Важным для экспериментального и теоретического анализа свойством полиферментных систем является их относительная автономность. Это прежде всего относится к энергетическому метаболизму. Существенная автономность позволяет проводить моделирование полиферментных систем по отдельности, без связей с остальным клеточным метаболизмом. Конечно, такое изолированное рассмотрение полиферментных систем имеет смысл только до тех пор, пока не возникает необходимость исследования их взаимодействий друг с другом.

7.2.2 Первичная, вторичная и третичная структуры метаболизма

Функциональная организация клетки эволюционировала, по-видимому, на протяжении 3 млрд. лет. Длительная эволюция создала хорошо различимую иерархию взаимодействий в функциональной организации метаболизма современных клеток. В этой иерархии можно выделить три иерархические структуры: первичную, вторичную и третичную.

Первичная структура клеточного метаболизма представляет собой скелет метаболизма, образованный взаимодействиями между смежными реакциями через общие промежуточные вещества. Изображение первичной структуры гликолиза показано на рисунке 7.4. Есть основания считать, что метаболические пути (т.е. первичная структура) возникли в эволюции раньше, чем ферменты, катализирующие эти пути.

Вторичная структура, или стехиометрическая, клеточного метаболизма образуется из первичной структуры и взаимодействий между реакциями через общие кофакторы. Вторичная структура — это совокупность всех стехиометрических взаимодействий между реакциями. На 7.5 показана вторичная структура гликолитической системы. Как видно из рисунка, взаимодействия четырех фосфотрансферазных реакций вызывают спирализацию первичной структуры (выделена толстой линией).

Множество ферментативных реакций, связанных общим кофактором, образуют ядро реакции. На рисунке 7.5 показаны два ядра, образованных четырьмя фосфотрансферазными и тремя дегидрогеназными реакциями. Благодаря таким ядрам осуществляет-

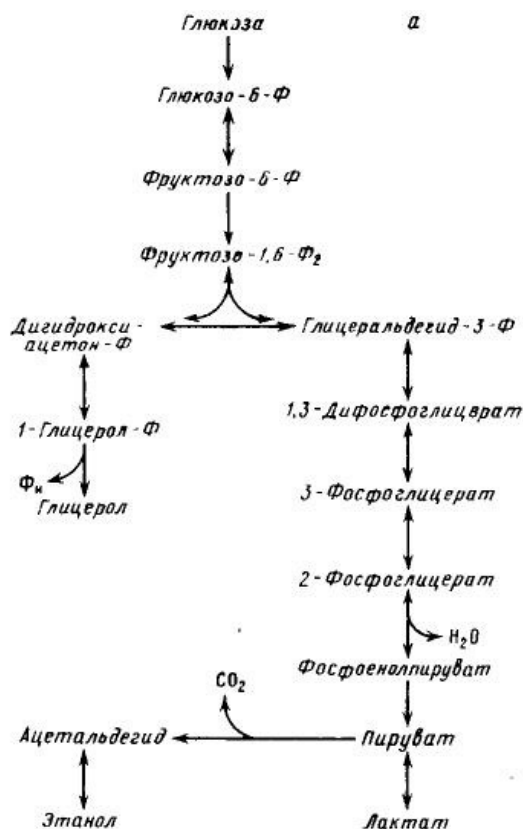


Рисунок 7.4 — Схема первичной структуры гликолиза [22]

ся очень тесная связь между отдельными частями первичной структуры. Это позволяет пируваткиназной реакции, отстоящей в первичной структуре очень далеко от гексокиназной реакции, реагировать на изменения в первой гликолитической реакции очень быстро — одновременно с другими фосфотрансферазными реакциями.

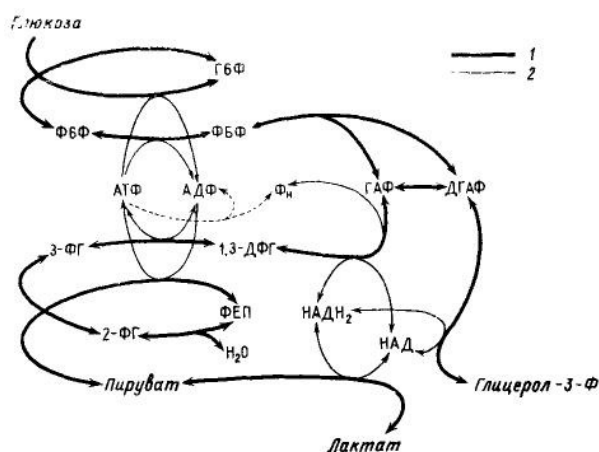


Рисунок 7.5 — Схема вторичной структуры гликолиза [22]

Третичная структура клеточного метаболизма представляет собой совокупность всех стехиометрических и нестехиометрических взаимодействий, контролирующих ак-

тивности ферментов. К нестехиометрическим взаимодействиям относятся любые изо- и аллостерические взаимодействия между ферментами и модификаторами их каталитической активности. На 7.6 в качестве примера показана третичная структура гликолитической системы. Регуляторные связи третичной структуры, по-видимому, возникли в ходе эволюции и улучшили свойства вторичной структуры. Если это так, то в наших руках оказывается очень простой метод математического анализа полиферментных систем. Суть его состоит в следующем. Для выяснения роли многочисленных регуляторных взаимодействий третичной структуры данной полиферментной системы необходимо сначала изучить свойства значительно более простой и поэтому легко доступной для анализа вторичной структуры этой системы. На основании анализа вторичной структуры можно теоретически предсказать, какие нестехиометрические регуляторные взаимодействия следует внести во вторичную структуру, чтобы улучшить ее свойства. Если предсказанные регуляторные связи действительно существуют, то это указывает на то, что улучшаемое ими свойство полиферментной системы, обнаруженное на уровне вторичной структуры, играет важную роль в функциональной организации клетки.

Простая модель стехиометрической структуры энергетического метаболизма

Гликолиз и окислительное фосфорилирование имеют автокаталитическую, точнее рефлексивно-каталитическую, стехиометрическую структуру: их продукт АТФ участвует в «активации» субстратов окисления, используемых для фосфорилирования АДФ. В гликолизе активация заключается в фосфорилировании гексоз, в окислительном фосфорилировании — в ацилировании кофермента А или карбоксилировании пирувата. Энергозависимый транспорт субстратов окисления через клеточную или митохондриальную мембраны также можно рассматривать как один из этапов активации.

Совокупность реакции, участвующих в энергетическом метаболизме, можно упрощенно представить кинетической моделью, показанной на 7.7.

В этой модели S — субстрат, I_1 и I_2 — интермедиаты, P — продукт окисления. При анализе схемы принято, что неорганический фосфат и окисляющий I_2 кофакторы имеются в избытке. Принимается также, что скорости реакций (Рис. 7.7) могут быть описаны простыми выражениями (7.19).

$$\begin{aligned} v_0 &= v_{0m} - k_0[S], \\ v_1 &= k_1[ATP][S]/(K_1 + [S]), \\ v_2 &= k_2[I_1], \\ v_3 &= k_3[I_2][ADP], \\ v_4 &= k_4[I_2], \\ v_5 &= V_5[ATP]/(K_5 + [ATP]), \\ v_6 &= k_6[ADP] \end{aligned} \tag{7.19}$$

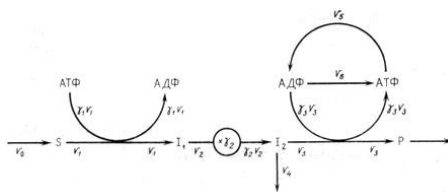


Рисунок 7.7 — Упрощенная кинетическая модель энергетического метаболизма

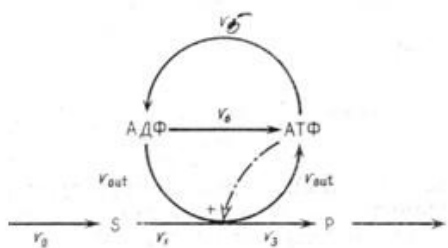


Рисунок 7.8 — Редуцированная кинетическая модель энергетического метаболизма

цессов, потребляющих АТФ. Семейство нагрузочных характеристик, построенных с помощью полученной модели энергетического метаболизма приведено на Рис. 7.9. Как видно из Рис. 7.8 при малой активности утечки нагрузочная характеристика обладает важной особенностью: с изменением нагрузки в широком диапазоне стационарная концентрация АТФ меняется очень слабо. Таким образом стехиометрическая структура энергетического метаболизма (7.7) способна без участия каких-либо аллостерических регуляторных связей с высокой точностью поддерживать стабильную концентрацию АТФ в широком диапазоне изменений нагрузки.

Плато очень нужно, чтобы обособить подсистемы. Чтобы потребление АТФ одной системой не влияло на другие системы.

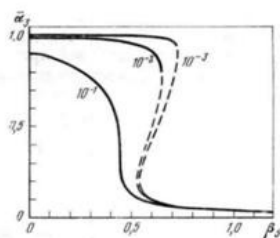


Рисунок 7.9 — Семейство стационарных нагрузочных характеристик энергетического метаболизма при различных активностях утечки (k_4)

Таким образом, из анализа стехиометрической структуры энергетического метаболизма и с помощью различных обобщений этой модели следует, что плато и гистерезис нагрузочной характеристики являются фундаментальными свойствами любого энергетического метаболизма, имеющего автокаталитическую природу.

На основании анализа стехиометрической структуры энергетического метаболизма можно высказать предположение, что плато и гистерезис нагрузочной характеристики должны быть объектами тонкой регуляции, осуществляемой на уровне третичной структуры. Это предположение основано на том, что оба свойства имеют очевидную ценность для клеточного обмена. Действительно, наличие четко выраженного плато означает точную стабилизацию уровня АТФ, необходимую **для независимой и поэтому стабильной работы систем**, потребляющих АТФ. Что касается гистерезиса нагрузочной характеристики, то он может быть основой для временной организации не только энергетического метаболизма, но и всего клеточного обмена.

Предположение о том, что гистерезис нагрузочной характеристики энергетического метаболизма важен для существования клетки позволяет утверждать, что в процессе эволюции и формировании третичной структуры метаболизма (сети аллостерической регуляции) должны отбираться такие аллостерические связи, которые улучшают полезные для клетки свойства нагрузочной характеристики — уменьшение наклона плато и увеличение его ширины. Тогда перед теоретическим анализом стоит вполне осуществимая задача — из всех возможных аллостерических регуляторных связей выбрать те, которые этому способствуют. Работы, проведенные Е.Е. Сельковым, позволили выявить такие регуляторные связи. Важно отметить, что энзимологические исследования подтвердили существование в третичной структуре энергетического метаболизма аллостерических связей контролирующих плато и гистерезис нагрузочной характеристики.

Можно надеяться, что дальнейшее развитие теории полиферментных систем позволит реконструировать третичную структуру всего клеточного метаболизма исходя из его простейшей и древнейшей по происхождению первичной структуры. В ходе такой реконструкции могут быть вскрыты фундаментальные закономерности клеточной организации.

Список литературы

- [1] Шедровицкий А.Г. Избранные труды / Под ред. А.А. Пископпель, Л.П. Шедровицкий. — М. : Шк.Культ.Полит., 1995. — С. 800.
- [2] Бунге Марио. Философия физики. — М. : Прогресс, 1975. — С. 348.
- [3] Попова С.С. Некоторые аспекты междисциплинарного взаимодействия физики и биологии в научных исследованиях // Философия науки. — 2003. — Т. 17, № 2. — С. 4.
- [4] Мешалкин Ю.П. Основы биофизики: учебное пособие. — Новосибирск : Изд-во Новосибирск. гос. техн. ун-та, 2000. — С. 62.
- [5] Барцев С.И., Барцева О.Д. Эвристические нейросетевые модели в биофизике: приложение к проблеме структурно-функционального соответствия. — Красноярск : Сибирский федеральный университет, 2010. — С. 115.
- [6] Уотермэн Т, Моровиц Г, Рашевский Н. Теоретическая и математическая биология. — М. : Мир, 1968. — С. 448.
- [7] Лернер А.Я. Начала кибернетики. — М. : Наука, 1976. — С. 400.
- [8] Кимура М. Молекулярная эволюция теория нейтральности. — М. : Мир, 1985. — С. 394.
- [9] Розен Р. Принцип оптимальности в биологии. — М. : Мир, 1969. — С. 215.
- [10] The Miller volcanic spark discharge experiment. / Adam P Johnson, H James Cleaves, Jason P Dworkin et al. // [Science \(New York, N.Y.\)](#). — 2008. — Vol. 322, no. 5900. — P. 404–404.
- [11] Кастлер Г. Возникновение биологической организации. — М. : Мир, 1967. — С. 91.
- [12] Волькенштейн М.В. Биофизика. — М. : Наука, 1988. — С. 592.

- [13] Фурсова П.В., Левич А.П., Алексеев В.Л. Экстремальные принципы в математической биологии // Успехи современной биологии. — 2003. — Т. 123, № 2. — С. 115–137.
- [14] Shannon Claude Elwood. A mathematical theory of communication // Bell System Technical Journal. — 1948. — Vol. 27. — P. 379–423, 623–656.
- [15] Осипов А.И. Термодинамика вчера, сегодня, завтра Часть 1. Равновесная термодинамика // Соросовский образовательный журнал. — 1999. — № 4. — С. 79–85.
- [16] Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология: учебник. — М. : Издательский центр «Академия», 2005. — С. 480.
- [17] Березин И.В., Варфоломеев С.Д. Биокинетика. — М. : Наука, 1979. — С. 312.
- [18] Финкельштейн А.В., Птицын О.Б. Физика белка. Курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами: учебное пособие. — 4-е изд. — М. : Книжный Дом Университет, 2012. — С. 524.
- [19] Тихонов А.Н. Молекулярные моторы Часть 1. Вращающиеся моторы живой клетки // Соросовский образовательный журнал. — 1999. — № 6. — С. 8–16.
- [20] Тихонов А.Н. Молекулярные моторы Часть 2. Молекулярные основы биологической подвижности // Соросовский образовательный журнал. — 1999. — № 6. — С. 17–24.
- [21] Аттуаллаханов Ф.И. Биология каскады ферментативных реакций и их роль в биологии // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — Т. 6, № 7. — С. 2–10.
- [22] Иваницкий Г.Р., Кринский В.И., Сельков Е.Е. Математическая биофизика клетки. — М. : Наука, 1978. — С. 308.