УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
ПОЛЕССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Электронный учебно-методический комплекс

О. Н. МИНЮК

БИОФИЗИКА

Специальность 1-31 01 01 ”Биология (по направлениям)“,
1-31 01 02 ”Биохимия“,
6- 05- 0511-01 ”Биология“,
6- 05- 0511-02 ”Биохимия“,
6-05-0511-06 ”Биотехнология“

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА
ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ
ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ
РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ
ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

Пинск
ПолесГУ
2024

РЕЦЕНЗЕНТЫ

И. Н. Бруй, заведующий кафедрой информационных технологий и физико-математических дисциплин УО ”Барановичский государственный университет“, кандидат физико-математических наук, доцент

В. Н. Босак, профессор кафедры безопасности жизнедеятельности УО ” Белорусская государственная орденов Октябрьской Революции и Трудового Красного Знамени сельскохозяйственная академия “, доктор сельскохозяйственных наук, проессор

Рассмотрено и утверждено на заседании научно-методического совета _30.04. 2024___г., протокол №_7а___

СОГЛАСОВАНО
Заведующий кафедрой аквакультуры и дизайна экосреды
_____О. Н. Минюк
_____20___г.

СОГЛАСОВАНО
Декан инженерного факультета
_____А. В. Астренков
_____20___г.

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс по курсу ”Биофизика“ представляет собой целостную совокупность разновидностей учебных материалов, необходимых для проведения всех видов занятий по данной дисциплине, является дисциплиной образовательной программы при подготовке специалистов в области биологии, предназначенной для студентов дневной формы обучения по специальности 1-31 01 01 ”Биология (по направлениям)“, 1-31 01 02 ”Биохимия“. УМК может быть использован для специальностей 6-05-0511-06 ”Биотехнология“; 6-05-0511-02 ”Биохимия“, 6-05-0511-01, ”Биология“.

Курс ”Биофизика“ является базой фундаментального курса наук о жизни. В этом качестве биофизика является необходимой для специалистов-небиофизиков, в частности для биологов, биотехнологов и биохимиков.

Целью курса является освоение студентами основных принципов и теоретических положений биофизики, объяснение взаимосвязи физического и биологического аспектов функционирования живых систем, а также приобретение студентами навыков биофизического подхода к экспериментальному исследованию биологических явлений и закономерностей.

Задачами курса являются:

- освоение студентами основных принципов и теоретических положений биофизики;
- объяснение взаимосвязи физического и биологического аспектов функционирования живых систем;
- приобретение студентами навыков биофизического подхода к экспериментальному исследованию биологических явлений и закономерностей.

В результате изучения учебной дисциплины ”Биофизика“ студент должен:

знать:

- основные понятия, законы термодинамики и их применимость к биологическим системам и основные понятия кинетики биологических процессов, молекулярной биофизики, биофизики мембран и мембранных процессов, биофизики сократительных систем, биоэлектрических явлений и фотохимических процессов;
- новейшие достижения в области биофизики и перспективы их использования в биологии;

уметь:

- использовать основные законы биофизики для характеристики биологических систем;
- использовать методы теоретической и экспериментальной биофизики в биологии.

Курс биофизики предполагает изучение основных тем учебной программы:

–Предмет, задачи и методология курса ”Биофизика“. Связь с другими дисциплинами.

–Термодинамика биологических систем.

– Кинетика биологических процессов.

– Молекулярная биофизика.

– Биофизика мембран.
– Биофизика процессов транспорта веществ через биомембраны.
– Биоэлектрические явления.
– Биофизика сократительных систем.
– Биофизика фотобиологических процессов.

ЭУМК *включает разделы*: теоретический, практический, контроля знаний и вспомогательный.

Теоретический раздел содержит краткий конспект лекций дисциплины. В нем изложены основные темы, изучаемые при прохождении курса.

Практический раздел содержит материалы для проведения практических занятий в соответствии в соответствии с типовым учебным планом указанных специальностей.

Раздел контроля знаний содержит материалы текущей аттестации, позволяющие определить соответствие результатов учебной деятельности студентов требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации.

Вспомогательный раздел содержит элементы учебно-программной документации образовательной программы высшего образования.

ПЕРЕЧЕНЬ МАТЕРИАЛОВ В КОМПЛЕКСЕ

Электронный учебно-методический комплекс содержит:

1. Теоретический раздел

Тема 1. Предмет, задачи и методология курса ”Биофизика“. Связь с другими дисциплинами.

Тема 2. Термодинамика биологических систем

Тема 3. Кинетика биологических процессов

Тема 4. Молекулярная биофизика

Тема 5. Биофизика мембран

Тема 6. Биофизика процессов транспорта веществ через биомембраны

Тема 7. Биоэлектрические явления

Тема 8. Биофизика сократительных систем

Тема 9. Биофизика фотобиологических процессов

2. Практический раздел

2.1 Материалы для лабораторных работ по дисциплине ”Биофизика“.

3. Раздел контроля знаний

3.1 Вопросы к экзамену

4. Вспомогательный раздел

4.1 Учебная программа дисциплины ”Биофизика“.

ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

ТЕМА 1. ПРЕДМЕТ, ЗАДАЧИ И МЕТОДОЛОГИЯ КУРСА ”БИОФИЗИКА“. СВЯЗЬ С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ.

1. Предмет, объект и задачи биофизики. Разделы биофизики. Становление биофизики.
2. Особенности биофизических методов.
3. Связь биофизики с другими науками.

1. Предмет, объект и задачи биофизики. Разделы биофизики. Становление биофизики.

Биофизика является синтетической наукой на стыке физике, химии, биологии и других наук. Существует множество определений данной науки.

Лауреат Нобелевской премии А. Сент-Дьердьи утверждал, будто биофизика − ”все то, что интересно“. Термин ”биофизика“ закрепился в научной литературе с 1892 г., когда Карл Пирсон, автор книги ”Грамматика науки“, на ее страницах заявил: ”...наука, пытающаяся показать, что факты биологии − морфологии, эмбриологии и физиологии образуют частные случаи приложения общих физических законов, получила название этиологии... “

”Биофизика – это физическая химия и химическая физика биологических процессов“ (Макаров П. О., 1968).

”Биофизика – физика явлений жизни, изучаемых на всех уровнях“ (Волькенштейн М. В., 1981).

И в то же время: ”Биофизика – часть биологии, имеющая дело с физическими принципами построения и функционирования некоторых сравнительно простых биологических систем“ (Блюменфельд Л. А., 1977).

”Биофизика – это наука, о более простых и фундаментальных взаимодействиях, лежащих в основе биологических явлений“ (Рубин А. Б., 1987).

Биофизика – это наука, изучающая физические и физико-химические процессы, протекающие в биосистемах на разных уровнях организации и являющиеся основой физиологических актов.

Биофизика как самостоятельная наука сформировалась только в XX в. Как и любая другая, биофизика – наука, имеющая свой объект изучения, цели и задачи, а также достойные и значимые результаты.

Основные цели биофизики:

✓ основываясь на законах и представлениях физики и химии с широким применением математики изучать фундаментальные элементарные

процессы, протекающие в биополимерах и надмолекулярных комплексах, лежащие в основе жизнедеятельности клеток и организмов;

✓ исследовать действие ряда физических и химических факторов на биообъекты.

Предметом биофизики является изучение физических и физико-химических процессов, лежащих в основе жизни.

Объекты исследования для биофизики являются биосистемы на разных организационных уровнях:

✓ Микроорганизмы (бактерии, вирусы, одноклеточные грибы и водоросли)

✓ Простейшие животные. Отдельные клетки и их структурные части (органеллы).

✓ Растения.

✓ Животные (в том числе человек).

✓ Экологические сообщества.

Таким образом, биофизика изучает живые системы. Живой организм – открытая, саморегулирующаяся, самовоспроизводящаяся и развивающаяся гетерогенная система, важнейшими функциональными веществами в которой являются биополимеры.

Важнейшими биологическими признаками живого являются:

1. Универсальность, системность
2. Клеточное строение, дискретность
3. Единство химического состава, соответствие структуры и функций
4. Обмен веществ, энергозависимость
5. Самовоспроизведение, размножение, наследственность и изменчивость
6. Рост, развитие, отмирание
7. Саморегуляция, ритмичность
8. Возбудимость (раздражимость)
9. Подвижность (сократимость).

Система – множество взаимосвязанных элементов, обособленное от среды и взаимодействующее с ней, как целое. Система становится живой, когда каждый элемент обретает функцию (то есть может совершать полезную работу).

Как направление физики биофизика раскрывает принципы возникновения, существования и эволюции живых систем.

Исходя из признаков живого, можно сформулировать физические принципы организации живой материи:

•Системность – связность через физические законы, в биологии – биосинтез, метаболизм и функции.

•Сопряжение микро- (квантового) и макроуровней, твердой, жидкой и газообразной фаз.

•Дискретность –- структурная и термодинамическая основы биологической дискретности.

•Термодинамическая неравновесность – статическая и проточная, сосредоточенный и распределенный ресурс энергии, активные среды.

В живом нет ни одного физического принципа или явления, которого нет в неживой природе.

Структура и функции живого:

- Принципы – физические;
- Инструментарий – химический;
- Механизмы – физико-химические;
- Функции – биологические.

Очевидно, что в любой системе реализуются одни и те же физические принципы, однако химическое исполнение может разниться. Например, некоторые животные способны выжить в серной кислоте, но не из-за другой физики, а из-за своей особой химической восприимчивости.

В 1961 году был создан Международный союз чистой и прикладной биофизики (IUPAB), где и были сформулированы задачи биофизики.

Задачи биофизики:

1.Раскрытие общих закономерностей поведения открытых неравновесных систем. Теоретическое обоснование термодинамических основ жизни.

2.Научное истолкование явлений индивидуального и эволюционного развития, саморегуляции и самовоспроизведения.

3.Выяснение связей между строением и функциональными свойствами биополимеров и других биологически активных веществ.

4.Создание и теоретическое обоснование физико-химических методов исследования биообъектов.

5.Физическое истолкование обширного комплекса функциональных явлений (генерация и распределение нервного импульса, мышечное сокращение, рецепция, фотосинтез и др.)

Разделы биофизики (по решению Международной ассоциации общей и прикладной биофизики):

1. Молекулярная биофизика. Изучает пространственную структуру биополимеров и механизмы функционирования макромолекул.

2. Биофизика мембранных процессов или биофизика клетки. Изучает свойства биологических мембран, их молекулярную организацию, конформационную подвижность белковых и липидных комплексов, молекулярное строение и механизмы функционирования ионных каналов и межклеточных взаимодействий, процесс транспорта веществ через мембрану, электрогенез.

3. Биофизика фотобиологических процессов. Изучает закономерности и механизмы действия света на биологические системы и его использования ими.

4. Биофизика органов чувств. Изучает функционирование этих систем в физических и биологических аспектах и исследует превращение энергии, которые происходят при восприятии внешних раздражений.

5. Биофизика сложных систем. Изучает кинетику биопроцессов, поведение во времени разнообразных процессов присущих живой материи и термодинамику биосистем. Живой организм представляет собой очень сложную систему, не всегда доступную для точного физического эксперимента. В этом случае плодотворным становится использование физических, аналоговых, математических моделей. Любое крупное открытие в биофизике получено путём применения моделей.

Действительно, в отдельную научную дисциплину биофизика выделилась сравнительно недавно, но зачатки биофизики возникли давно.

Первым, кто сказал, что живые объекты подчиняются тем же законам и содержат те же частицы материи, что и неживые, был греческий философ Эпикур (примерно 300 лет до нашей эры).

В становлении биофизики как науки условно выделяют ***3 этапа***.

I этап (начало XVII - середина XVIII вв.) – накопление отдельных фактов, использование законов физики и метода аналогий для объяснения наблюдаемых явлений.

16 в – создание первого микроскопа (братья Янсоны).

У. Гарвей (1578-1657) провел прямые наблюдения на людях и использовал учение о гидродинамике для исследования кровообращения.

1637 г. – Р. Декарт дал описание устройства глаза как оптического прибора и механизма формирования зрительного восприятия.

А. ван Левенгук (1632-1723) – создал линзы с 160-кратным увеличением, которые были использованы для изучения простейших организмов.

Р. Гук (1635-1703) – усовершенствование микроскопа, установил клеточное строение растительной ткани.

Л. Эйлер (1707-1783) – учение о движении крови.

М. В. Ломоносов (1711-1765) – работы по термодинамике и цветному зрению.

А. Л. Лавуазье (1743-1794) – доказал, что дыхание животных равнозначно окислению и горению веществ.

1785 г. – Ш. Кулон исследовал действие электрических зарядов на человека и животных

Л. Гальвани (1737- 1798) и А. Вольта (1745-1827) исследовали электрические явления у животных.

II этап (середина XVIII - середина XX вв.) – проведение экспериментов и определение физико-химических параметров живых организмов; использование законов физики и химии для объяснения сложных биологических явлений.

М. Шлейден (1838 г.), Т. Шван (1839 г.) – обосновали клеточную теорию.

Ю. Либих (1803-1873), М. Рубнер (1854-1932) – установили применимость 1 закона термодинамики к живым организмам.

У. Этуотер и Ф. Бенедикт в 1892-1897 гг. провели калориметрические исследования на животных и человеке.

Т. Юнг (1773-1829) – теория цветного зрения.

Ю.Р. Майер (1814-1878) – обосновал закон хранения энергии в живых организмах.

К. Матеуччи (1837 г.), Э.Г. Дюбуа-Реймон (1818-1896), Г. Гельмгольц, Ю. Бернштейн (1912) исследовали электрические явления в тканях живых организмов

Л. Герман (1838-1914) высказал гипотезу об электрической природе распространения нервного импульса.

В. Пфеффер (1877 г.), Х. де Фриз (1884) – предложили мембранную гипотезу.

Р. Овертон (1902 г.) – сформулировал основные правила проникновения веществ в клетку.

Ж. Леб (1859-1924) – основоположник физико-химической биологии, исследовал роль различных ионов в биологических процессах.

Х. Шаде (1912) – работа о роли физико-химических явлений в различных заболеваниях.

В. Нернст (1864-1941) – ионная теория биоэлектрических явлений.

А. Хилл (1886-1977) – термодинамика мышечных сокращений.

А. Ходжкин, Дж. Эклс, А.Ф. Хаксли (1914 г.) - мембранная теория биоэлектрогенеза.

III этап (середина XX в. до настоящего времени) – разработка сложных биофизических методов исследования, выделение разделов биофизики, формирование терминов; для объяснения биологических процессов и явлений привлекают не только законы физики и химии, но и математики и биологии.

Л. Полинг – расшифровка пространственной структуры белка.

Ф. Крик и М. Уилкинс – создание двухцепочечной спиральной модели ДНК.

Дж. Уотсон – раскрытие роли ДНК в наследовании признаков.

А. Ходжкин – создана современная мембранная теория биоэлектрогенеза.

П. Митчелл доказал роль мембран в сопряжении окисления с фосфорилированием.

1919-1922 гг.– создан Институт биофизики (Москва) под руководством П.П. Лазарева.

1961 г. – создание Международного союза теоретической и прикладной биофизики.

1982 г. – первый Всесоюзный биофизический съезд в Москве.

Современная биофизика исследует механизмы физических и физико-химических процессов в биологических системах на субмолекулярном, молекулярном, надмолекулярном, клеточном, тканевом, органном и организменном уровнях. Интенсивно развиваются биофизика сложных систем и молекулярная биофизика: влияние космогеофизических факторов на течение физических и биохимических реакций, фотобиологические процессы, математическое моделирование, физика белковых и мембранных структур, нанобиология и др.

По природе объектов исследования, биофизика − типичная биологическая наука. По методам изучения биообъектов и анализа результатов исследований, биофизика является своеобразным разделом физики (по мнению М.В. Волькенштейна, ”биофизика − физика явлений жизни“). Она идет в авангарде тех областей биологии, которые превращают эту древнейшую область человеческого знания из гуманитарной в точную науку. Внедрение физических принципов анализа биологических явлений в медицину позволяет ей стать не только искусством, но и наукой. В этом особая роль биофизики среди других медицинских теоретических дисциплин.

Так в настоящее время важнейшими направлениями биофизики считаются:

1) изучение биологического действия ионизирующих излучений;
2) Вопрос размена и передачи энергии при фотохимических процессах;
3) исследование проницаемости клеток и тканей;
4) выявление физико-химических причин появления и развития биоэлектрических потенциалов;
5) вопросы о физико-химических механизмах передачи наследственных свойств и изучение механизмов, определяющие устойчивость вида и его изменчивость;
6) изучение структуры биополимеров.

2. Особенности биофизических методов.

Принцип качественной несводимости в биофизике обусловливает необходимость ”качественного сплава“ методов физики и биологии. Биофизические методы исследования характеризуются рядом общих свойств.

Во-первых, биофизика оперирует количественными методами, позволяющими измерить и объективно оценить исследуемое явление. Этот методологический принцип привнесен из физики.

Во-вторых, биофизика рассматривает изучаемый объект в целом, не расчленяя его. Естественно, что любое измерение неизбежно вносит в изучаемую систему некоторые возмущения, но биофизические методы стремятся свести это возмущение к минимуму. По этой причине в настоящее время широкое распространение в биофизике получают такие методы, как спектроскопия, исследование взаимодействия света с веществом, флуоресцентные методы исследований.

В-третьих, важным методологическим принципом биофизики является ”стратегия системного подхода“. Биофизические методы основываются на структурно-функциональных взаимосвязях в живых системах, как основном принципе их организации.

Названные особенности определяют биофизику как самостоятельное научное направление, имеющее собственный предмет исследований и методологические подходы

Биофизические методы (ЭКГ, ЭЭГ, ЭМГ) и проведение электрического тока в живых системах имеют важное значение для ранней диагностики ряда заболеваний, а также для оценки процессов роста, развития, регенерации и жизнеспособности тканей, используемых при трансплантации.

Без соответствующих биофизических исследований нельзя достоверно выявить все проблемы, связанные с функционированием органа зрения, слуха, вкусовым ощущениям, нельзя установить все закономерности работы сердца, влияния излучений различной природы.

Биофизика, изучая физико-химические основы жизненных явлений, исследуя закономерности и механизмы действия различных физических факторов на биологические объекты, должна изыскать пути наиболее рационального применения этих факторов в сельском хозяйстве с целью повышения продуктивности животных и растений, направленного их изменения, совершенствования.

3. Связь биофизики с другими науками.

Биофизика имеет тесный контакт с многими науками, в том числе химией и биологией. В некоторых вопросах границы между этими науками настолько тесные, что сложно разобрать, какая из них конкретно задействована и в приоритете. Поэтому рассматривать биофизику стоит как комплексную науку, изучающую глубокие физические и химические процессы, происходящие в живых системах на уровне как молекул, клеток, органов, так и на уровне биосферы в целом.

Связь биофизики с биологией. Биофизика является биологической наукой и тесно связана с молекулярной биологией, физиологией, фармакологией и биохимией.

Связь биофизики с биохимией. Биофизика, как и биохимия – типичная пограничная наука. Объектом биохимии, как и биофизики, являются биологические процессы. Предметом биохимии в настоящее время является метаболизм, как основа всех физиологический проявлений. Но предметом она была не всегда. В 20-х годах прошлого века биохимия была наукой, которая занималась составом живых организмов: количество белков, жиров и углеводов.

Основу связи биофизики и биохимии составляет изучение биологических процессов в живом организме, а также с помощью методов биофизики проводят изучение конформации молекул и элементарных актов межмолекулярных взаимодействий в биохимических процессах.

Связь биофизики с физиологией. Физиология постоянно опирается на законы химии, физики, биофизики, широко используя их методы исследования. Причина этого в том, что при каждом жизненном процессе происходят превращения вещества и энергии, то есть физические и химические процессы. С помощь методов биофизики в физиологии возможно изучение молекулярных процессов формирующих

функциональный ответ (биоэлектрогенез, рецепция, фотосинтез, радиация и т. д.).

Одно из важных ответвлений биофизического направления – электрофизиология, изучающая электрические явления в животном организме, которые сопровождают процессы возбуждения в нервной, мышечной и железистой тканях. Биофизика открывает большие возможности для анализа жизненных явлений, однако не дает, к сожалению, полного познания функция, которое достигается только путем именно физиологического их изучения на основе синтеза физических, химических и биологических данных.

Связь биофизики с молекулярной биологией**.** В тесной связи с проблемами молекулярной биологии шло развитие биофизики. Интерес к этой области биологии стимулировался, с одной стороны, необходимостью всестороннего изучения действия на организм различного рода излучений, с другой – потребностью исследования физических и физико-химических основ жизненный явлений, протекающих на молекулярном уровне. Получение точных сведений о молекулярных структурах и совершающихся в них процессах стало возможным в результате применения новых тонких физико-химических методов. На основе достижений электрохимии удалось усовершенствовать метод измерения биоэлектрических потенциалов, применив ионно-избирательные электроды. Все шире входит в практику инфракрасная спектроскопия с использованием лазерных устройств, позволяющая исследовать конформационные изменения белков. Ценные сведения дает также метод электронного парамагнитного резонанса и биохемолюминесцентный метод, которые позволяют, в частности, судить о транспорте электронов при окислительных процессах. Главным направлением в исследовательской работе является изучение биофизики нуклеиновых кислот – ДНК и РНК. Применение вышеуказанных методов и прежде всего рентгеноструктурного анализа способствовало расшифровке молекулярной структуры нуклеиновых кислот.

Значительную помощь биофизика, а конкретнее, молекулярная оказывает молекулярной биологии в изучении структуры белковых молекул при помощи рентгеноструктурного анализа, впервые примененного в 1930 году Дж. Берналом. Именно в результате использования физических методов в сочетании с биохимическими была вскрыта молекулярная конформация и последовательность расположения аминокислот в ряде белков.

Связь биофизики с сельским хозяйством. Путем воздействия физических факторов удается открыть новые способы повышения урожайности сельскохозяйственных культур и продуктивности скота.

Для развития растений исключительно большое значение имеет свет. Интенсивность света играют, наряду с температурой, существенную роль в закалке растений, в их морозоустойчивости.

Перед биофизикой стоит задача и выявить закономерности действия радиации на растительные объекты с тем, чтобы установить стимулирующие

дозы ее для использования в практике сельского хозяйства. Для этой цели биофизические исследования должны проводиться в полном единстве с биохимическими, цитологическими и фенологическими наблюдениями.

Особое внимание следует обратить на выявление роли облучения семян для вегетации и урожайности растений как доступного агроприема, который может дать интересные результаты. В данном случае важно установление не столько оптимальных доз облучения, сколько его длительности.

В сельском хозяйстве может быть использовано также свойство ионизирующей радиации при соответствующих дозах подавлять, угнетать жизнедеятельность. С этой целью должны быть поставлены исследования по дозированному облучению овощей и пищевого картофеля для задержки их прорастания при длительном хранении, по дозированному облучению фруктовых деревьев для некоторой задержки их цветения и тем самым предохранения от возможных заморозков.

Обработка ультракороткими электромагнитными волнами или током высокой частоты семян улучшает их всхожесть и повышает урожайность сельскохозяйственных растений. Происходящее при этом селективное, быстрое прогревание отдельных участков семени создает, по-видимому, условия для передвижения влаги, а с нею питательных и биологически активных веществ, что ускоряет возникновение и интенсивность биологических процессов, наступающих при прорастании семян.

Интересные новые перспективы открывает ультразвук. Быстрая гибель микроорганизмов в ультразвуковом поле указывает на целесообразность его использования для стерилизации воды в водоводах, что, в частности, имеет большое значение для рыбозаводов, где не применима химическая стерилизация. Имеются основания предполагать стимулирующее влияние слабых ультразвуковых полей на растительные клетки (ускорение всхожести, сокращение сроков созревания).

Особое значение для сельского хозяйства имеют исследования влияния ультрафиолетового облучения на продуктивность сельскохозяйственных животных и птиц. Механизм действия ультрафиолетового облучения, заключающийся в. фотореакции образования витамина Д в теле облучаемых животных, хорошо изучен, однако благоприятная роль ультрафиолета не может быть сведена только к витаминизации.

Связь биофизики с медициной. В последнее время биофизика стала оказывать заметное влияние на развитие теоретической и практической медицины. К настоящему времени стал формироваться определенный круг вопросов, который можно охарактеризовать как медицинскую биофизику. Одна из основных задач медицинской биофизики – это выявление физических и физико-химических параметров, которые можно было бы использовать для объективной диагностики функционального состояния организма. О нарушении жизненных процессов можно, прежде всего, судить по изменению этих параметров. Известно, что характерным свойством живых клеток является наличие мембранного потенциала, способность

удерживать ионные градиенты, способность поляризовать электрический ток, наличие электрокинетического потенциала, способность к хемилюминесценции, движение цитоплазмы. Некоторые из этих параметров медицина уже давно использует для оценки состояния организма. Методы, основанные на регистрации биопотенциалов, стали классическими (электрокардиография, электроэнцефалография и т. п.). В настоящее время начинают более широко применять измерение электропроводности и хемилюминесценции. Показано, что эти методы могут служить для диагностики определенных заболеваний, для оценки поражающего действия различных факторов на ткани и т. д.

Следующей важной проблемой медицинской биофизики является углубление представлений о механизмах действия на организм тех факторов, которые применяются в физиотерапии (диатермии, индуктотермии, УВЧ-терапии, рентгенотерапии и пр.). Это позволит более эффективно использовать их для лечения ряда заболеваний.

Связь биофизики с биотехнологией. Именно достижения биофизики позволили разработать технологические регламенты – протоколы – биотехнологии, и такие методы молекулярной биологии и молекулярной биотехнологии как полимеразная цепная реакция, дидезоксисеквенирование ДНК, методики нозерн- и саузерн-блоттинга, методики скрининга радиоактивно и флуоресцентно мечеными зондами появились в результате фундаментальных биофизических исследований межмолекулярных взаимодействий и элементарных клеточных процессов.

Такие науки как биология, медицина, сельскохозяйственные науки становятся всё более точными. Трудно переоценить в этом случае роль биофизики призванной исследовать явления жизни с использованием физических представлений и методов. Успеха биофизики за последние десятилетия развеяли всякие сомнения относительно значимости физических методов, понятий и законов для понимания жизненных процессов. Однако, прогресс познания жизни неотделим и от собственно биологических понятий и специфически биологического понимания процессов в живой природе.

ТЕМА 2. ТЕРМОДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

1. Биологическая термодинамика. Термодинамические системы, их классификация. Термодинамические функции, применяемые при анализе биологических процессов.

2. Первый закон термодинамики в биологии. Закон Гесса как следствие 1-го закона термодинамики, его применимость к биопроцессам и практическое значение.

3. Второй закон термодинамики в биологии.

4. Особенности живых организмов как термодинамических систем.

5. Стационарное состояние открытых систем, его сходство и отличия от термодинамического равновесия. Изменение энтропии и свободной энергии в открытых системах. Принцип минимума прироста энтропии (теорема Пригожина).

6. Расчет термодинамических функций и энергетических эффектов химических реакций в биосистемах. Свободная энергия Гельмгольца и Гиббса.

7. Термодинамические характеристики важнейших молекулярно-энергетических процессов в биосистемах.

8. Роль энтропии.

1. Биологическая термодинамика. Термодинамические системы, их классификация. Термодинамические функции, применяемые при анализе биологических процессов.

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

Изучением этих вопросов занимается термодинамика, законы которой справедливы как для неживой, так и живой природы.

Одним из основных специфических свойств живых существ является их способность превращать и хранить энергию в различных формах. Все биологические объекты для поддержания жизни требуют поступления энергии. Все биологические процессы связаны с передачей энергии. Растения способны получаемую ими энергию солнца накапливать в процессе фотосинтеза в форме энергии химических связей органических веществ. Животные используют энергию химических связей органических веществ, получаемых с пищей. Все процессы превращения энергии в растениях и животных происходят в пределах ограничений

термодинамических принципов. Основные принципы термодинамики универсальны для живой и неживой природы.

Термодинамика не дает ответов о механизмах и природе явлений, происходящих в живых организмах, а исследует энергетические основы этих процессов.

Термодинамика биологических процессов – один из разделов биофизики, изучающий наиболее общие закономерности превращения различных видов энергии в биосистеме.

Одна из основных задач биотермодинамики – выявление физических и физико-химических параметров, характерных для биоэнергетики живых объектов.

В своих исследованиях широко использует физические, химические, математические методы и информационные технологии.

Различают термодинамику равновесных систем (классическую, равновесную) и термодинамику неравновесных систем (линейную и нелинейную). В классической термодинамике рассматриваются главным образом равновесные состояния системы, в которых параметры не изменяются во времени

Законы классической термодинамики используются в биологии:

1. для расчета параметров энергетических превращений в организме;
2. для определения КПД биологических процессов.

Химическая термодинамика использует для расчетов параметры, значения которых получены опытным путем – данные о начальном и конечном состоянии системы и условия в которых протекает химический процесс (температура, давление, объем и др.). Среди понятий классической термодинамики нет понятия времени, т. е. классическая термодинамика изучает состояние, а не процессы. Объектом исследования биотермодинамики являются биологические термодинамические системы.

Для изучения живых организмов с точки зрения физики вводятся понятие системы и ее видов для того, чтобы установить энергетические основы жизни. Примерами систем могут служить клетка, сердце, организм, биосфера и т.п. Система – это совокупность материальных объектов, ограниченных каким-либо образом от окружающей среды.

Термодинамическая система – часть пространства с материальным содержимым, ограниченная оболочкой.

В зависимости от характера обмена энергии и веществом с окружающей средой через границы системы образуют три группы.

- Изолированные системы – не обмениваются с внешней средой ни энергией, ни веществом.
- Закрытые (замкнутые) системы обмениваются с окружающей средой только энергией.
- Открытые системы обмениваются с окружающей средой и веществом, и энергией.

Любая система характеризуется определенными свойствами, или термодинамическими параметрами. Их совокупность определяет термодинамическое состояние системы, поэтому изменение хотя бы одного из параметров приводит к изменению термодинамического состояния системы в целом.

Термодинамические параметры:

- экстенсивные, зависят от количества вещества в системе (масса, объем)
- интенсивные, не зависят от количества вещества в системе (давление, t^0).

Различают три вида термодинамических процессов:

- Обратимый процесс – такой процесс, при котором при затрате работы A = δG можно полностью вернуть систему (из состояния B) в исходное состояние (A).
- Необратимый процесс – такой процесс, при котором при затрате работы невозможно полностью вернуть систему (из состояния B) в исходное состояние (A), вследствие преобразования части свободной энергии (G) в связанную.

Термодинамика включает в себя рассмотрение трех состояний системы:

1) равновесного состояния;
2) неравновесного состояния вблизи равновесия;
3) состояния, далекого от равновесия.

Соответственно, термодинамика делится на три раздела:

1) равновесная термодинамика, развитие которой, в основном, происходило в XIX в.;
2) линейная неравновесная термодинамика, которая создана в 30– 50- х гг. XX в.;
3) нелинейная неравновесная термодинамика, которая появилась в 70- х гг. XX в.

Основная задача термодинамики – однозначное описание изменений в термодинамической системе при её переходе из одного состояния в другое. Различают равновесное и неравновесное состояния термодинамической системы. Равновесным называется такое состояние системы, когда ее параметры не меняются с течением времени. Интенсивные параметры одинаковы во всех точках системы, т.е. градиенты этих параметров отсутствуют. Параметры системы не меняются с течением времени.

Неравновесным называется такое состояние системы, когда ее параметры меняются с течением времени. Интенсивные параметры различны в разных точках системы, т.е. имеются градиенты этих параметров.

Градиент – изменение параметра в пространстве. Существуют градиенты: температуры – $\Delta T/\Delta x$, концентрации – $\Delta c/\Delta x$, давления –

Δp/Δx и т.д.

Связи между параметрами системы называют уравнениями состояния. Изменение любого из параметров приводит к изменению состояния системы. Переход системы от одного состояния к другому происходит в результате различных процессов, которые подчиняются законам термодинамики.

Функции состояния – функции независимых параметров, определяющих равновесное состояние термодинамической системы, т.е. это величины, не зависящие от предыстории системы и полностью определяемые ее состоянием в данный момент.

Свойства функции состояния :

1)бесконечно малое изменение функции f является полным дифференциалом df;

2)изменение функции при переходе из состояния 1 в состояние 2 определяется только этими состояниями:

$$\int df = f_2 - f_1 \qquad (2.1)$$

3) в результате любого циклического процесса функция состояния не изменяется, следовательно,

$$\int df = 0 \qquad (2.2)$$

Градиент – изменение параметра в пространстве.

2. Первый закон термодинамики в биологии. Закон Гесса как следствие 1-го закона термодинамики, его применимость к биопроцессам и практическое значение.

В открытых биологических системах постоянно происходит процесс обмена энергией с внешней средой. Внутренние метаболические процессы также сопровождаются превращениями одних форм энергии в другие.

Энергия – количественная мера определенного вида движения материи при ее превращении из одного вида в другой.

Единицы измерения энергии – джоуль (1 Дж), калория – количество тепла, необходимое для нагревания 1 г воды на 1∘С (1 кал = 4,18 Дж).

Энергия может сохраняться или передаваться системой. Она также может быть переведена из одной формы в другую. Существует две формы перехода энергии из одной формы в другую: работа и теплота. Они не являются параметрами состояния системы. Обе – теплота и энергия – зависят от процесса изменения энергии в системе.

Основные виды (формы) энергии для живых организмов: тепловая, механическая, химическая, осмотическая, электрическая.

Тепловая энергия – сумма кинетической энергии теплового, хаотического движения атомов и молекул вещества.

Показатель теплового движения частиц – температура. Средняя кинетическая энергия: $E = 3/2k_Б \cdot T$, где $k_Б$ – постоянная Больцмана:

$k_Б = 1{,}380 \cdot 10^{-16}$ эрг/град или $3{,}31 \cdot 10^{-24}$ кал/град.

Механическая энергия – форма энергии, характеризующая движения макротел и способность совершать механическую работу по перемещению макротел.

Механическая энергия подразделяется на кинетическую, определяемую скоростью движения тел, и потенциальную, определяемую расположением макротел относительно друг друга.

Химическая энергия – энергия взаимодействия атомов в молекулах.

Электрическая энергия – энергия взаимодействия преодоления сил электрического отталкивания при наличии разности потенциалов $\Delta\psi$.

Осмотическая энергия – энергия необходимая для концентрирование раствора от $C1$ до $C2$.

Внутренняя энергия системы включает в себя формы энергии всех форм движения, существующих в системе, и, соответственно, все виды энергии каждой формы энергии, взятой в отдельности.

Внутренняя энергия (U, dU) – это общая сумма всех видов энергии в данной системе (тепловой, механической, химической, электрической). Внутренняя энергия является функцией состояния системы: ΔU есть разность двух значений внутренней энергии, соответствующих конечному и начальному состояниям системы.

Работа – это мера превращения энергии из одной формы в другую. Численно работа равна энергии, превращенной из одной формы в другую в процессе совершения работы.

Химическая работа – работа при синтезе различных высокомолекулярных веществ из низкомолекулярных, при осуществлении различных химических реакций.

Механическая работа – работа по перемещению частей и органов против механических сил (работа мышц).

Осмотическая работа – работа по переносу через мембраны и многомембранные образования против градиента концентрации. Перенос осуществляется механизмами активного транспорта против сил диффузии и требует затраты энергии.

Электрическая работа – работа по переносу заряженных частиц электрическом поле, создание разности потенциалов и электрического тока (биопотенциалы, проведение возбуждения по клеткам). Особенно большой величины достигает эта работа у животных имеющих электрические органы, с помощью которых они поражают жертвы (электрический угорь генерирует ток более 8 А при напряжении 10000 В).

У некоторых животных совершается также работа по высвечиванию (по сути химическая). Кроме того, все ткани живых организмов испускают сверхслабое электромагнитное излучение.

Теплота – энергия, передаваемая от одной системы к другой за счет разницы температур. Способы передачи энергии: теплопроводность, конвекция и радиация.

Теплопроводность происходит между объектами при непосредственном их контакте, при столкновении молекул, во время которого они передают избыток энергии друг другу.

Конвекция – перенос теплоты от одного объекта к другому с помощью движения газа или жидкости.

И теплопроводность, и конвекция требуют присутствия вещества между объектами. Однако, теплота может переноситься и через вакуум. Излучение – передача энергии в форме волн или частиц через пространство или через материальную среду.

Первый закон термодинамики является обобщением закона сохранения и превращения энергии для термодинамической системы. Обычная его запись имеет вид:

$$\delta Q = dU + \delta A \qquad (2.3)$$

Данный закон означает, что количество теплоты δQ, поглощенное системой из внешней среды, идет на увеличение ее внутренней энергии dU и совершение общей работы dA, которая включает работу против сил внешнего давления p по изменению объема dV системы и максимальную полезную работу dA_n, сопровождающую химические превращения:

$$\delta A = pdV + \delta A_n \qquad (2.4)$$

Попытки проверить опытным путем справедливость первого закона термодинамики для биологических объектов предпринимались уже давно. Лавуазье и Лаплас (1780 г) измеряли в ледяном калориметре количество теплоты и CO_2, выделяемого организмом морской свинки, а затем сравнивали полученные величины с тепловым эффектом реакции сжигания исходных продуктов питания до CO_2. Такого рода измерения показали, что потребление одного литра O_2 и выделение одного литра CO_2 при прямом сжигании или окислении в организме продуктов сопровождается выделением 21,2 кДж теплоты. Совпадение тепловых эффектов в обоих случаях и для других реакций свидетельствует, очевидно, о том, что пути превращения продуктов питания в метаболических процессах и в химических реакциях вне живой клетки являются эквивалентными с точки зрения суммарных тепловых эффектов.

Применимость первого закона термодинамики к живым системам была продемонстрирована в начале XX века Рубнером. В серии работ с микроорганизмами Рубнер показал, что энергия, поступающая в бактерии с пищей, разделяется в процессе потребления на две части:

1) выделяющуюся в среду в виде тепла и энергии, содержащейся в продуктах жизнедеятельности;

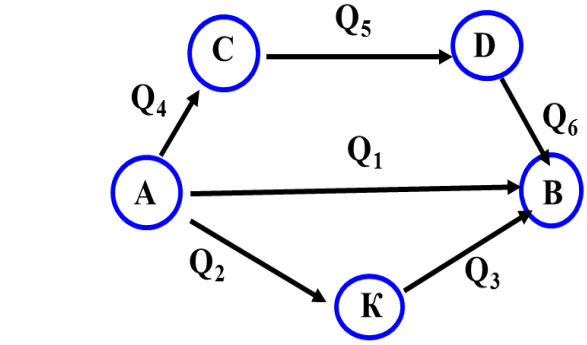
2) запасаемую в клеточном материале (эта энергия выявляется с помощью сжигания объектов в калориметрической бомбе).

Сумма этих двух частей равна внутренней энергии поступающей пищи. Аналогичные экспериментальные подтверждения первого начала термодинамики были получены Этуотером при изучении теплового баланса человека с помощью калориметра, представляющего собой изолированную камеру, куда помещался человек.

Прямые опыты показали, что количество энергии, поглощенной за сутки человеческим организмом вместе с питательными веществами, равно выделенной за это же время теплоте. Этот результат подтверждает справедливость для организмов первого закона термодинамики. *Следовательно, сами по себе организмы не являются независимым источником какой-либо новой формы энергии.*

Первый закон термодинамики свидетельствует только о сохранении энергии, но не указывает направления, в котором могут осуществляться термодинамические процессы. Возможное направление термодинамических процессов является предметом второго закона термодинамики.

При химических превращениях следствием первого закона термодинамики является ***закон Гесса*:** Тепловой эффект химического процесса, проходящего ряд промежуточных стадий, не зависит от пути превращения, а определяется лишь начальным и конечным состояниями химической системы(рис. 2.1).



$Q_1 = Q_2 + Q_3 = Q_4 + Q_5 + Q_6$

A – исходные продукты, B – конечные продукты,
K,C, D – промежуточные продукты;
$Q_1, Q_2, Q_3, Q_4, Q_5, Q_6$ – тепловые эффекты отдельных стадий

Рисунок 2.1 – Иллюстрация закона Гесса.

Математическое выражение закона Гесса:

$$Q = \Delta H = \sum_i H_{i,k} - \sum_j H_{j,u} \qquad (2.5)$$

где $\Sigma_i H_{i,k}$ – сумма энтальпий всех продуктов реакции, $\Sigma_j H_{j,u}$ – сумма энтальпий всех исходных веществ, ΔH – изменение энтальпии химической реакции.

Биохимические реакции в организме сложные и имеют много промежуточных стадий, которые не всегда известны. Однако на основании закона Гесса, зная начальные и конечные продукты реакции, можно рассчитать тепловой эффект сложной биохимической реакции. Закон Гесса используется также для вычисления калорийности пищевых продуктов. Питательные вещества претерпевают в организме сложные превращения и энергетический эффект их равен тепловому эффекту непосредственного сжигания в калориметрической бомбе, поскольку в обоих случаях начальное и конечное состояния реагирующих веществ одинаковы.

3. Второй закон термодинамики в биологии.

Первый закон термодинамики показывает, что различные виды энергии могут превращаться друг в друга в эквивалентных количествах. Но первый закон термодинамики ничего не говорит о направлении, в котором происходить превращение энергии в системе – в каком направлении будет развиваться тот или иной процесс.

Второй закон термодинамики заключается в том, что все процессы превращения энергии протекают с рассеиванием части энергии в виде тепла.

Второй закон термодинамики определяет направление протекания процесса. Направление самопроизвольно протекающих процессов устанавливает второй закон термодинамики. Он может быть сформулирован в виде запрета на определенные виды термодинамических процессов.

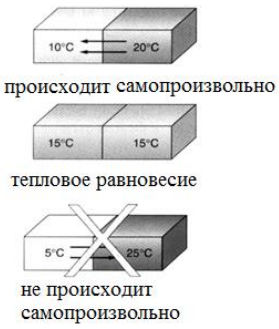


Рисунок 2.2 – Направление передачи теплоты согласно второго закона термодинамики.

Второй закон термодинамики говорит о том, что все реальные процессы (физические, биологические и т.д.) проходят с рассеиванием части энергии в виде тепла. Все виды энергии (могут быть переведены в тепло без остатка. Но теплота не может перейти в другие формы энергии полностью. Ни один процесс, переводящий теплоту в энергию, не может быть 100% эффективным. Таким образом, рассеивание энергии в виде тепла необратимо.

Английский физик У. Кельвин дал в 1851 г. следующую

формулировку второго закона: в циклически действующей тепловой машине невозможен процесс, единственным результатом которого было бы преобразование в механическую работу всего количества теплоты, полученного от единственного теплового резервуара.

Немецкий физик Р. Клаузиус дал другую формулировку второго закона термодинамики: невозможен процесс, единственным результатом которого была бы передача энергии путем теплообмена от тела с низкой температурой к телу с более высокой температурой.

Г. Гельмгольц подразделил внутреннюю энергию термодинамической системы на свободную (способную полностью переходить в работу) и на связанную (не обладающую способностью совершать работу).

В реальных процессах часть энергии всегда бесполезно растрачивается, переходя в теплоту. Эта так называемая обесцениваемая энергия («рассеяние свободной энергии») определяется, во-первых, тем видом энергии (лучистая, химическая, электрическая и др.), за счет которой производится работа, то есть относительным запасом свободной энергии, и, во-вторых, эффективностью механизмов, с помощью которых мы получаем работу. Превращение различных видов энергии в теплоту является своеобразным обесцениванием энергии. При переходе некоторого количества тепла в работу, понижение температуры системы сопровождается обесцениванием остальной, не подвергавшейся превращению теплоты.

Всякое изменение состояния системы описывается соответствующим изменением особой функции состояния – энтропии (ΔS, $\mathrm{d}S$, δS), которая определяется суммарной величиной поглощенных системой теплот:

Для обратимых процессов отношение:

$$dS = \delta Q/T \qquad (2.6)$$

S[Дж/К] – функция состояния системы, названная энтропией.

Второе начало термодинамики (в формулировке неубывания энтропии) иногда используется критиками эволюции с целью показать, что развитие природы в сторону усложнения невозможно. Подобная интерпретация физического закона неверна: энтропия не убывает только в замкнутых системах, живые системы являются открытыми.

4. Особенности живых организмов как термодинамических систем.

При применении термодинамики к биологическим системам необходимо учитывать особенности организации живых систем:

1) биологические системы открыты для потоков вещества и энергии;

2) процессы в живых системах, в конечном счете, имеют необратимый характер;

3) живые системы далеки от равновесия;

4) биологические системы гетерофазны, структурированы и отдельные фазы могут иметь небольшое число молекул.

Все это отличает биологические системы от изолированных и близких к состоянию равновесия систем, в которых, как это делалось в предыдущих разделах, рассматриваются обратимые процессы в гомогенной среде, содержащей огромное множество молекул. Для более адекватного описания свойств биологических систем во многих случаях полезно применение термодинамики необратимых процессов, основателями которой считают лауреатов Нобелевской премии по химии Л. Онзагера и И. Пригожина.

В отличие от классической термодинамики, в термодинамике необратимых процессов рассматривается ход процессов во времени. Фундаментальное понятие классической термодинамики – равновесное состояние. В термодинамике необратимых процессов столь же важным понятием можно считать стационарное состояние системы.

5. Стационарное состояние открытых систем, его сходство и отличия от термодинамического равновесия. Изменение энтропии и свободной энергии в открытых системах. Принцип минимума прироста энтропии (теорема Пригожина).

Применение второго закона к биологическим системам в его классической формулировке приводит, как кажется на первый взгляд, к парадоксальному выводу, что процессы жизнедеятельности идут с нарушением принципов термодинамики. В самом деле, усложнение и увеличение упорядоченности организмов в период их роста сопровождаются кажущимся уменьшением, а не увеличением энтропии, как должно было бы следовать из второго закона. Однако увеличение энтропии в необратимых самопроизвольных процессах происходит в изолированных системах, а биологические системы являются открытыми. Проблема поэтому заключается в том, чтобы, во-первых, понять, как связано изменение энтропии с параметрами процессов в открытой системе, а во-вторых, выяснить, можно ли предсказать общее направление необратимых процессов в открытой системе по изменению ее энтропии. Главная трудность в решении этой проблемы состоит в том, что мы должны учитывать изменение всех термодинамических величин во времени непосредственно в ходе процессов в открытой системе.

Итак, необходимо рассматривать организм не изолированно от внешней среды, а во взаимодействии с ней. Как известно, в изолированной системе самопроизвольно протекающие процессы приводят ее к состоянию так называемого термодинамического равновесия. При этом состоянии градиенты энергии выровнены, работоспособность системы равна нулю, а ее энтропия максимальна. Однако хорошо известно, что биологические системы, пока они функционируют, никогда не достигают такого состояния. Они всегда

обладают работоспособностью, а их энтропия не максимальна. Это связано с тем, что биосистемы являются не изолированными, а открытыми системами. Они постоянно обмениваются энергией с внешней средой. При этом свободная энергия поступает в организм в виде пищевых продуктов, различных излучений и т.д, а выделяется чаще всего в деградированной тепловой форме или в виде низкоэнергетических соединений. Поскольку приток свободной энергии способствует уменьшению энтропии системы (увеличиваются градиенты энергии, уменьшается количество деградированной формы энергии), то нередко говорят, что организм питается отрицательной энтропией и выделяет положительную энтропию. Исходя из сказанного, для рассмотрения приложимости второго принципа термодинамики к биосистемам следует брать не организм как таковой, а организм вместе с участком среды, обеспечивающим его нормальное функционирование в течение определенного времени. Такая система получила название условно изолированной системы. В ней второй принцип термодинамики полностью приложим. В отдельных участках этой системы энтропия, казалось бы вопреки второму принципу термодинамики, может даже уменьшаться (например, в зеленом листе при фотосинтезе). Однако это уменьшение происходит за счет возрастания энтропии в другой части такой системы (например, в источнике света, от которого световая энергия поступает в лист). В результате общая энтропия такой системы в соответствии со вторым принципом термодинамики не уменьшается, а имеет тенденцию к увеличению. Таким образом, можно констатировать, что, так же как и к неживым объектам, второй принцип термодинамики приложим и к биосистемам. Протекание процессов в них идет в соответствии с этим принципом и энтропии здесь принадлежит важная роль.

Таким образом, *постулат И.П. Пригожина* состоит в том, что общее изменение энтропии dS открытой системы может происходить независимо либо за счет процессов обмена с внешней средой (d_eS), либо вследствие внутренних необратимых процессов (d_iS):

$$dS=d_eS+d_iS \qquad (2.7)$$

Во всех реальных случаях $d_iS>0$, и только если внутренние процессы идут обратимо и равновесно, то $d_iS=0$. Для изолированных систем $d_eS= 0$, и это классическая формулировка второго закона: $dS = d_iS =0$. *В* клеточном метаболизме всегда можно выделить такие две группы процессов. Например, поступление извне глюкозы, выделение наружу продуктов ее окисления (d_eS) и окисление глюкозы в процессах дыхания (d_iS). В фотосинтезе приток свободной энергии света приводит к уменьшению энтропии клетки $d_eS<0$, а процессы дыхания, диссимиляции в клетке увеличивают ее энтропию $d_iS>0$. В зависимости от соотношения

скоростей изменения d_eS и d_iS общая энтропия dS открытой системы может либо увеличиваться, либо уменьшаться со временем. Если единственной причиной необратимости и увеличения энтропии системы являются ее внутренние процессы, то они ведут к уменьшению ее термодинамического потенциала. В этом случае:

$$\frac{d_iS}{dt} = \frac{1}{T}\left(\frac{dG}{dt}\right)_{T.p} \qquad (2.8)$$

где G – полный термодинамический потенциал (или энергия Гиббса $G = U + PV - TS$).

Энергетическую характеристику открытой биологической системы в соответствии со вторым принципом термодинамики можно дать на основе баланса (обмена) энтропии. Это впервые сделал бельгийский ученый, лауреат Нобелевской премии И. Пригожин. Если обозначить dS/dt - скорость изменения энтропии открытой системы, d_iS/dt - скорость образования энтропии в системе за счет внутренних необратимых процессов, d_eS/dt – скорость обмена энтропией с внешней средой, то *уравнение Пригожина* имеет вид:

$$dS/dt = dS_i/dt + dS_e/dt \qquad (2.9)$$

причем член dS_i/dt по определению, всегда положителен, а член d_eS/dt может быть как положительным, так и отрицательным. Таким образом, это изящное уравнение в лаконичной и обобщенной форме выражает суть энергетических процессов, происходящих в открытой биологической системе.

Особенностью биосистем является то, что они не просто открытые системы, но системы, находящиеся в стационарном состоянии. При стационарном состоянии приток и отток энтропии происходят с постоянной скоростью, поэтому общая энтропия системы не меняется во времени (dS/dt=0). Благодаря стационарному состоянию за счет непрерывного обмена энергией с внешней средой биосистемы не только находятся на удалении от термодинамического равновесия (низший возможный энергетический уровень, на котором энтропия системы максимальна) и сохраняют свою работоспособность, но и поддерживают во времени постоянство своих параметров. Немаловажно и то, что в стационарном состоянии биосистемы обладают способностью к авторегуляции. По крайней мере два основных свойства характерны для стационарного состояния биосистем. Прежде всего, это его энергетический уровень, который показывает, насколько далеко система удалена от термодинамического равновесия. Живой организм, как отмечал Оствальд, – это очаг установившихся стационарных состояний.

Их уровни не случайны. Они возникли в процессе эволюции и обеспечивают организму наиболее выгодный энергетический обмен в данных конкретных условиях.

Особенностью биосистем является то, что многие протекающие в них процессы находятся на значительном удалении от термодинамического равновесия. В этих условиях для системы характерен очень интенсивный обмен энтропией с внешней средой, что обеспечивает возможность протекания в ней процессов самоорганизации и возникновение специфических динамических структур. Системы, далекие от равновесия, в которых происходит интенсивное рассеяние, диссипация энергии, обозначаются как диссипативные, а область физики, изучающая эти системы и их упорядочение, называется синергетикой. Другой интересной особенностью стационарного состояния является определенная степень его устойчивости. Если стационарное состояние достаточно устойчиво, то после не очень сильного отклонения от него, вызванного каким-либо возмущающим воздействием, система может вновь вернуться в исходное положение. Типичный пример такой устойчивости – содержание глюкозы в крови человека. Как известно, оно достаточно постоянно, но это постоянство поддерживается за счет непрерывного притока и оттока глюкозы. Если ввести в кровь какое-то количество этого углевода, то его содержание увеличится. Однако через некоторое время содержание глюкозы в крови вернется к исходному уровню. Причина устойчивости стационарных состояний была вскрыта Пригожиным. Он доказал, что в стационарном состоянии биосистемы обладают очень интересным свойством. Если система не очень удалена от состояния термодинамического равновесия, член d_iS/dt при стационарном состоянии сохраняет свое положительное значение, но стремится к минимуму, то есть:

$$dS_i/dt > 0 \rightarrow min \qquad (2.10)$$

Такое нахождение системы в экстремуме, соответствующем минимуму производства энтропии, обеспечивает ей наиболее устойчивое состояние. Важность этого положения ярко обрисовал известный биоэнергетик А. Качальский: «Этот замечательный вывод проливает свет на мудрость живых организмов. Жизнь – это постоянная борьба против тенденции к возрастанию энтропии. Синтез больших, богатых энергией макромолекул, образование клеток с их сложной структурой, развитие организации – все это мощные антиэнтропийные факторы. Но поскольку, согласно второму закону термодинамики, справедливому для всех явлений природы, избежать возрастания энтропии нельзя, живые организмы избрали наименьшее зло – они существуют в стационарных состояниях, для которых характерна минимальная скорость возрастания энтропии».

Следовательно, по мере приближения к стационарному состоянию скорость образования энтропии внутри открытой системы монотонно уменьшается, постепенно приближаясь к своему минимальному положительному значению. В этом состоит критерий направленности необратимых процессов в открытых системах, находящихся вблизи равновесия. Экспериментальные измерения скорости образования энтропии внутри системы можно проводить в калориметрах, изучая тепловые потоки, сопровождающие образование энтропии при необратимых изменениях в системе.

Второй закон термодинамики для живых систем:

Скорость изменения энтропии в организме равна алгебраической сумме скоростей производства энтропии внутри организма и скорости поступления отрицательной энтропии из среды в организм.

Математическая запись второго закона термодинамики для живых систем:

$$dS/dt = dS_i/dt + dS_e/dt \qquad (2.11)$$

где dS, dS_i, dS_e – общее изменение энтропии системы, изменение энтропии за счет процессов, происходящих в организме и изменение энтропии, обусловленное взаимодействием с внешней средой, соответственно.

Стационарным называют такое состояние открытой системы, при котором основные макроскопические параметры системы остаются постоянными.

Необходимо различать стационарные состояния от равновесного состояния.

В состоянии равновесия в системе прекращаются все процессы, кроме теплового движения молекул, при этом выравниваются все градиенты.

В стационарном состоянии идут химические реакции, диффузия, перенос ионов и другие процессы, но они так стабилизированы, что состояние системы в целом не изменяется. В стационарном состоянии существуют градиенты между отдельными частями системы, но они сохраняют постоянные значения. Это возможно только при условии, что система из окружающей среды получает вещество и свободную энергию, а отдает продукты реакции и выделяющееся тепло.

6. Расчет термодинамических функций и энергетических эффектов химических реакций в биосистемах. Свободная энергия Гельмгольца и Гиббса.

Проведение любых термодинамических расчетов невозможно без использования термодинамических потенциалов. Термодинамическим потенциалом называется функция состояния, изменение которой в некотором процессе, протекающем при постоянных значениях

определенной пары термодинамических параметров, равно полезной работе, совершаемой системой. Термодинамическими потенциалами являются внутренняя энергия U, а также энтальпия H, свободная энергия Гельмгольца F, термодинамический потенциал Гиббса G, химический потенциал μ и электрохимический потенциал μ.

Внутренняя энергия – функция состояния системы и для данного состояния имеет определенное значение: U есть разность двух значений внутренней энергии, соответствующих конечному и начальному состояниям системы:

$$U = U_2 - U_1 \qquad (2.12)$$

Определяется в соответствии с первым началом термодинамики, как разность между количеством теплоты, сообщённым системе, и работой, совершённой системой над внешними телами.

(2.13)

Полное теплосодержание системы – энтальпия (H, dH) – это мера изменения теплоты системы, которая соответствует теплообмену при постоянном давлении:

$$dH = dU + pdV \qquad (2.14)$$

В биохимических процессах при постоянных p и V**:**

$$dH = dU \qquad (2.15)$$

Таким образом, энтальпия в данном состоянии представляет собой сумму внутренней энергии тела и работы, которую необходимо затратить, чтобы тело объёмом *V* ввести в окружающую среду, имеющую давление *p* и находящуюся с телом в равновесном состоянии. Энтальпия системы *H* – аналогично внутренней энергии и другим термодинамическим потенциалам – имеет вполне определённое значение для каждого состояния, то есть является функцией состояния

Изменение энтальпии (или Тепловой эффект химической реакции) не зависит от пути процесса, определяясь только начальным и конечным состоянием системы. Если система каким-либо путём возвращается в исходное состояние (круговой процесс), то изменение любого её параметра, являющегося функцией состояния, равно нулю.

Практическое применение этой функции основано на том, что множество химических процессов в реальных или лабораторных условиях реализуются именно при постоянном (атмосферном) давлении,

когда резервуар открыт. Так, энтальпия образования – количество энергии, которое выделяется или поглощается при образовании сложного вещества из простых веществ.

Все химические реакции сопровождаются выделением (экзотермические) или поглощением (эндотермические) тепла. Мерой теплоты реакции служит изменение энтальпии ΔH, которая соответствует теплообмену при постоянном давлении. В случае экзотермических реакций система теряет тепло и ΔH – величина отрицательная. В случае эндотермических реакций система поглощает тепло и ΔH – величина положительная.

Критерием способности системы совершить то или иное термодинамическое превращение является знак приращения термодинамического потенциала, соответствующего условиям протекания процесса. Биоэнергетические процессы, как правило, характеризуются изменением потенциала Гиббса ΔG.

Свободная энергия Гиббса или потенциал Гиббса – это термодинамический потенциал следующего вида:

$$G=U+pV-TS \qquad (2.16)$$

Энергию Гиббса можно понимать, как полную химическую энергию системы (кристалла, жидкости и т.д.) где U – внутренняя энергия, p – давление, V – объем, T – абсолютная температура, S – энтропия.

Энергия Гиббса характеризует ту часть полной энергии системы, которая может быть превращена в работу в изобарно-изотермическом процессе (так называемая полезная работа, совершаемая системой). В закрытой системе знак изменения энергии Гиббса является критерием направленности самопроизвольного процесса при проведении его в изобарно-изотермических условиях:

- при dG = 0 (G=Gmin, энергия Гиббса имеет минимальное значение) система находится в состоянии термодинамического равновесия;
- при dG<0 (Ga Gmin , энергия Гиббса убывает) процесс самопроизвольно протекает в прямом направлении, т.е. термодинамически возможен;
- при dG>0 (Ga Gmin, энергия Гиббса возрастает) самопроизвольно протекает только обратный процесс, прямой процесс термодинамически невозможен.

Химические реакции, протекающие с уменьшением термодинамического потенциала, называются экзергоническими. Если же совершение какого-либо термодинамического процесса требует увеличения энергии (ΔG>0), то такой процесс самопроизвольно произойти не может и требует притока энергии из окружающей среды. Химические реакции, протекающие с увеличением термодинамического потенциала, называются эндергоническими. Изменение свободной энергии зависит от условий протекания процесса (температуры,

давления, pH, концентраций реагирующих веществ). Поэтому вводится понятие изменения стандартной свободной энергии химической реакции ΔG=0, то есть изменения свободной энергии химической системы, каждый из реагентов которой, вступающих в химическую реакцию, находится в концентрации 1 моль/л в стандартных условиях.

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

$$\Delta G^0 = -RT \ln K \qquad (2.17)$$

где R – универсальная газовая постоянная; T – температура.

Данное уравнение позволяет при известном значении константы равновесия химической реакции определить изменение свободной энергии в ней.

Термодинамический потенциал Гиббса одного моля вещества называется химическим потенциалом μ (в случае незаряженных частиц) или электрохимическим потенциалом μ% (в случае заряженных частиц).

Изменение электрохимического потенциала равно:

$$\Delta\mu = G/\nu \qquad (2.18)$$

где ν – количество молей заряженных частиц.

Если система состоит из нескольких компонентов, то электрохимический потенциал i-тогокомпонента $\mu\%_i$ определяется:

$$\Delta\mu\,\% = \Delta Gi\ /\nu_i \qquad (2.19)$$

где νi – количество молей i-того компонента; ΔGi – термодинамический потенциал Гиббса i-того компонента.

Для разбавленных растворов незаряженных частиц химический потенциал:

$$\mu_i = \mu_i^{\circ} + RT\ ln\ Ci \qquad (2.20)$$

где C_i – молярная концентрация раствора; μi – стандартный химический потенциал i-того компонента, численно равный химическому потенциалу этого компонента при его концентрации в растворе 1 моль/л.

Электрохимический потенциал разбавленных:

$$\mu i\,\% = \mu i + zF\,\varphi = \mu i + RT\ ln\ ci + zF\,\varphi \qquad (2.21)$$

где z – заряд иона, F = eN = 9,65•104 Кл/моль – число Фарадея; φ – электрический потенциал.

Таблица 1. – Термодинамические потенциалы

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

Свободная энергия Гельмгольца (F) – часть внутренней энергии системы, которую можно использовать для совершения работы. Электрическая, осмотическая и химическая энергии могут быть использованы для совершения работы, т.е. для направленного перемещения тела против действующих на него сил. Определяется как:

$$F = U - TS \qquad (2.22)$$

где U – внутренняя энергия, T – температура, S – энтропия.

Энергия Гиббса и энергия Гельмгольца являются функциями состояния системы, их абсолютные значения не поддаются вычислению.

Связанная энергия (Wсв) - остальная часть внутренней энергии системы, которую нельзя превратить в работу.

Связанная энергия пропорциональна температуре, однако в разных системах с одинаковой температурой связанная энергия разная. Следовательно, степень неупорядоченности молекулярного движения зависит не только от температуры, но и от некоего фактора – коэффициента или энтропии:

$$Wсв = T \cdot S \qquad (2.23)$$

Таким образом внутренняя энергия состоит из суммы свободной и связанной энергии:

$$U = F + Wсв \qquad (2.24)$$

где F – свободная энергия, Wсв – связанная энергия

Энергия Гиббса связана с энтальпией, энтропией и температурой соотношением:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \qquad (2.25)$$

Тепловая машина – это периодически действующий механизм, который преобразует внутреннюю энергию топлива в механическую работу и возвращается в первоначальное состояние.

Тепловая машина должна работать периодически, возвращаясь в первоначальное состояние (иначе, для человека просто не будет смысла от машины, которая, например, однократно совершит работу). Из всех известных нам видов термодинамических процессов, принципу действия тепловой машины будет удовлетворять только циклический процесс, напомним, при котором сама система возвращается в первоначальное состояние, но последствия в окружающей среде не ликвидируются.

Второе начало термодинамики: невозможно создать периодически действующий механизм, который всѐ получаемое тепло переводил бы в полезную работу (часть тепла все равно необходимо отдать холодильнику).

В тепловой машине, работающей на основе цикла Карно. Рабочее тело – газ, получая от нагревателя, находящегося при температуре T_1, количество тепла Q_1, совершает полезную работу и, под действием работы внешних сил, возвращается в первоначальное состояние, отдавая некоторое количество тепла Q_2 холодильнику, находящемуся при температуре T_2.

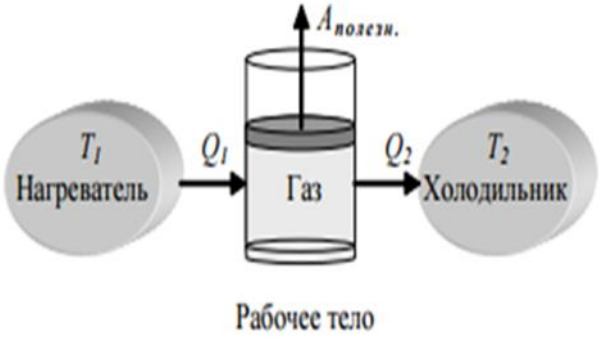


Рисунок 2.3 – Тепловая машина

”Роль“ нагревателя играет – энергия взрыва топлива! А ”роль“ холодильника играет – окружающая. Если, аналогично, предположить, что и живой организм – это тоже тепловая машина, то, что в живом организме является нагревателем и холодильником? Холодильник для живого организма очевиден – это тоже окружающая среда. Но ”роль“нагревателя в живом организме более сложна. Энергия в живом

организме высвобождается при окислительно-восстановительных реакциях. С точки зрения энергетики – это экзотермические реакции. В частности, в живом организме главным источником энергии является реакция расщепления (гидролиза) АТФ – аденозинтрифосфатной кислоты. Источником энергии в организме является не сама АТФ, а энергия, которая выделяется при ее расщеплении.

Тепловая машина характеризуется коэффициентом полезного действия (КПД) – величина, равная отношению полезной работы к затраченной :

$$\boldsymbol{\eta} = \frac{A_{пол}}{A_{затр}} \qquad (2.26)$$

Величина КПД. может быть выражена в %.

Полезная работа – это разность между теплотой, полученной от нагревателя и теплотой, отданной холодильнику. Затраченная работа – количество теплоты, полученное от нагревателя: $A_{затр}=Q_1$, тогда КПД реальной тепловой машины:

$$\eta_{реал} = \frac{Q_1 - Q_2}{Q_2} \qquad (2.27)$$

Рассматривать живой организм как идеальную тепловую машину нельзя !

Живой организм в какой-то степени сходен с тепловой машиной: он также выделяет теплоту в окружающую среду, т.е. обладает свойством теплопродукции за счет энергии, полученной от продуктов питания и фотосинтеза и, кроме того, выполняет различные виды работы:

механическую (мышцы при сокращениях);

электрическую (при генерации биопотенциалов в клетках и клеточных органеллах, при проведении возбуждения в нервных клетках);

химическую (совершается клеткой при синтезе высокомолекулярных веществ из низкомолекулярных);

осмотическую (при активном транспорте веществ через клеточные мембраны против направления градиента концентрации веществ); оптическое высвечивание (на люминесценцию: светлячки, грибы, глубоководные рыбы, медузы и т.д. – всего насчитывают около 250 видов живых организмов, в той или иной степени создающей свечение).

В живом организме на протяжении всей жизни происходит образование тепла (тепловой энергии). В настоящее время условно различают два вида тепла, продуцируемого организмом: первичную, или основную, теплоту и вторичную, или активную, теплоту. Первичная теплота выделяется как результат неизбежного теплового рассеивания энергии в ходе обмена веществ из-за необратимо протекающих биохимических и биофизических процессов. Под необратимостью процессов в данном случае следует понимать следующее: при совершении любого вида работы не вся энергия, приходящаяся на данный процесс, используется для совершения полезной работы; часть энергии необратимо, безвозвратно рассеивается в виде тепла.

Следовательно, образование первичной теплоты – результат того, что все процессы в организме протекают с КПД меньше 100%.

Так, не вся поглощаемая энергия Солнца и энергия пищи используется для синтеза АТФ – часть энергии рассеивается в виде тепла. Это же относится и ко всем другим рабочим процессам. Поэтому на схеме энергетических превращений в организме параллельно со всяким рабочим процессом следует изобразить образование некоторого количества первичной теплоты. Очевидно, что образование первичной теплоты пропорционально интенсивности обменных процессов и обратно пропорционально их КПД.

Полезная энергия, затрачиваемая на производство всех видов работы в организме, также в конечном счете превращается в теплоту. Например, энергия, затрачиваемая сердцем на передвижение крови по сосудам (на совершение механической работы), расходуется на преодоление трения в сосудах и превращается в теплоту. Электрическая энергия расходуется на преодоление электрического сопротивления тканей при протекании тока и тоже в конечном счете превращается в теплоту. Эта теплота, в которую превращается энергия всех процессов в организме, называется *вторичной теплотой.* Понятно, что если организм совершает физическую работу, то часть энергии рабочих процессов передается во внешнюю среду, а не превращается во вторичную теплоту в организме. Так как в организме постоянно совершаются различные виды работы, то и постоянно образуется первичное и вторичное тепло. Образование вторичной теплоты пропорционально активности тканей. Основная часть вторичной теплоты образуется в результате мышечной деятельности.

Таким образом, первичная теплота – результат непосредственного теплового рассеивания энергии, а вторичная – итог перехода в теплоту той части энергии, которая вначале использовалась для совершения работы.

Из выше изложенного следует, что *организм работает не как тепловая машина, а как химическая машина:* хемомеханическая, хемоэлектрическая, хемоосмотическая. Выделяющаяся при работе теплота представляет не движущую силу, а побочную потерю, подобно теплоте, образующейся при трении частей машины. Организм не только не содержит приспособлений для создания тех резких температурных различий, которые необходимы для работы тепловой машины, но, наоборот, обнаруживает у своих высших представителей – теплокровных животных – тенденцию производить работу в строго изотермических условиях. Поэтому образование тепла в организме нельзя считать абсолютно бесполезным процессом – организм теплокровных нуждается в значительных количествах тепловой энергии для поддержания постоянной температуры тела. Как отметил Д. Л. Рубинштейн, организм ”можно сравнить не с чисто силовой установкой, а скорее с системой теплоэлектроцентрали, использующей тепловые отходы для целей отопления“.

7. Термодинамические характеристики важнейших молекулярно-энергетических процессов в биосистемах.

В биосистемах протекают энергетические процессы: дыхание, фотосинтез, мышечное сокращение, транспорт веществ и т.д. Эти процессы делятся на два типа: обратимые и необратимые.

Для определения термодинамических параметров биологических систем используются два метода: определение теплопродукции (калориметрия) и измерение констант равновесия. Так как объект, находящийся в калориметре, не производит работы, изменение энергии (энтальпии) можно считать равным количеству выделившегося тепла ΔQ. Так находят изменение энтальпии (ΔH), например, в ходе изучаемого биофизического процесса или биохимической реакции.

Независимо от этого производят вычисление свободной энергии процесса (реакции) на основании определения константы равновесия К, т.е. измерения равновесных концентраций субстратов и продуктов реакции.

Зная ΔH, температуру T и ΔG, можно по уравнению рассчитать изменение энтропии в данном процессе (ΔS). Существует также другой подход к изучению термодинамических параметров процесса, основанный на измерении констант равновесия при разных температурах. Этот метод пригодентолько в том случае, когда ни изменение энтальпии системы (ΔH), ни изменение энтропии (ΔS) от температуры не зависят. В этом случае получаем для1 моля вещества:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \qquad (2.28)$$

Это соотношение называется уравнением Вант-Гоффа. График зависимости lnK от 1/T представляет собой прямую линию, пересекающую ось абсцисс в точке ΔS/ΔH, ось ординат – в точке ΔS/R.

Энергетический обмен у живых организмов организован таким образом, что они могут обходить энтропийный термодинамический критерий и в них протекают не только возможные, но и невозможные с термодинамической точки зрения реакции. Это все реакции, при которых энтропия уменьшается, а свободная энергия увеличивается, – биосинтез различных веществ, работа систем активного транспорта и т.д. Это оказывается возможным благодаря механизму так называемого энергетического сопряжения. Суть этого сопряжения состоит в том, что возможная с точки зрения энтропийного критерия реакция сопрягается с реакцией термодинамически невозможной и дает для нее энергию.

Два условия необходимы для осуществления энергетического сопряжения:

1) Свободная энергия, даваемая термодинамически возможной реакцией, должна превышать энергию, потребляемую реакцией термодинамически

невозможной, то есть должен быть некоторый избыток энергии с учетом вероятных потерь при ее передаче

2) Обе сопрягаемые реакции должны иметь общий компонент. Такими компонентами в биологических системах могут быть фосфат, электрохимический градиент протона и др.

Отметим, что, выбрав в качестве основного источника свободной энергии химическую энергию окислительно-восстановительных процессов, живая природа не только получила надёжный и универсальный источник энергии, но и удобный инструмент саморегуляции элементарных биоэнергетических процессов.

8. Роль энтропии.

Энтропия как мера рассеяния энергии при необратимых процессах. Чем больше возрастание энтропии при каком-либо процессе, тем больше рассеяние энергии и тем более необратим данный процесс.

Энтропия как мера возможности процесса. В этом качестве энтропия выполняет важную роль, и приговор ее непререкаем. Самопроизвольно могут протекать только такие процессы, при которых эта функция или увеличивается (необратимые), или остается постоянной (обратимые). Процессы, при которых энтропия уменьшается, самопроизвольно протекать не могут, то есть термодинамически невозможны. Эта роль энтропии полностью приложима и к биологическим системам. Термодинамический энтропийный критерий однозначно определяет возможность протекания того или иного процесса.

Энтропия как мера упорядоченности системы. Чем меньше порядка в системе, то есть чем меньше градиенты энергии, тем больше ее энтропия. Особенно четко связь энтропии с упорядоченностью системы проявляется в формуле Планка-Больцмана, которая связывает энтропию с термодинамической вероятностью:

$$S=k \bullet lnW \qquad (2.29)$$

где S –энтропия, k – постоянная Больцмана, равная $1{,}38 \times 10^{-23}$ Дж $\cdot$ К$^{-1}$ или $3{,}31 \times 10^{24}$ энтропийных единиц (энтропийная единица равна 1 кал/град$^{-1}$) и W – термодинамическая вероятность, то есть число способов, которыми достигается данное состояние.

Термодинамическая вероятность – всегда больше единицы. В общем виде равна:

$$W = \frac{N!}{N_1!N_2!\ldots N_i!} \qquad (2.30)$$

где (если речь идет о молекулах) N - общее число молекул, N_i - число молекул в i-м фазовом объеме.

Таким образом, энтропия – мера упорядоченности системы и отражает ту часть энергии системы, которая деградировала и равномерно рассеялась в виде тепла. То есть, чем меньше порядка в системе и чем меньше градиенты энергии, тем больше ее энтропия. Особенно четко связь энтропии с упорядоченностью системы проявляется в формуле Планка-Больцмана, которая связывает энтропию с термодинамической вероятностью. Чем больше упорядоченность в данной системе, тем меньше ее термодинамическая вероятность, и, следовательно, тем меньше энтропия.

Связь между энтропией и информацией. Пусть задано макроскопическое состояние некоторой системы, то есть с определенной степенью точности указаны значения таких параметров, как объем, давление, температура, химический состав и т.п. Каждому макросостоянию системы соответствует набор микросостояний. В микросостоянии точно заданы состояния всех частиц, входящих в систему. Для любой макросистемы при температуре выше абсолютного нуля число микросостояний W, соответствующих данному макросостоянию, огромно. W называется статистическим весом или термодинамической вероятностью данного макросостояния. Согласно основному постулату статистической физики, все W микросостояний, соответствующие одному макросостоянию, имеют одинаковую вероятность. Знать микросостояние системы – значит знать о системе все! Величина W непосредственно связана с энтропией формулой Планка-Больцмана.

Количество информации, которое надо получить о системе, находящейся в данном макросостоянии, чтобы однозначно определить ее микросостояние равно:

$$I = -\log_2 \frac{1}{W} = \log_2 W \qquad (2.31)$$

Таким образом, энтропия системы в данном макросостоянии, есть количество информации, недостающее до ее полного описания.

ТЕМА 3. КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

1. Биокинетика. Кинетика реакций нулевого, первого и второго порядка. Константа равновесия. Принцип ”узкого места“ в биологических процессах.
2. Последовательные, параллельные, циклические, автокаталитические и цепные реакции.
3. Зависимость скорости ферментативных реакций от различных факторов.
4. Особенности ферментативного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен.
5. Строение, свойства и особенности кинетики аллостерических (регуляторных) ферментов, его типы, их участие в саморегуляции биопроцессов.
6. Ингибирование ферментов.
7. Механизм действия ферментов. Энергетическая схема ферментативной реакции. Модели ферментативного катализа. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.

1. Биокинетика. Кинетика реакций нулевого, первого и второго порядка. Константа равновесия. Принцип ”узкого места“ в биологических процессах.

Кинетика биологических процессов – это раздел биофизики, изучающий процессы в живых системах – законы их протекания во времени, скорости и механизмы.

Кинетика и динамика биологических процессов изучает поведение во времени самых разнообразных процессов, присущих различным уровням организации живой материи: биохимические превращения в клетке, генерация электрического потенциала на биологических мембранах, биологические ритмы, процессы накопления биомассы или размножения вида, взаимодействие популяций живых организмов в биоценозах.

В основе процессов обмена клетки со средой и внутреннего метаболизма лежит сложная сеть организованных определенным образом во времени и пространстве различных реакций. В результате этих процессов изменяются концентрации различных веществ, численность отдельных клеток, биомасса организмов, могут изменяться и другие величины, например, величина трансмембранного потенциала в клетке. Изменения всех этих переменных величин во времени и составляют кинетику биологических процессов. Таким образом: кинетика биологических процессов изучает закономерности протекания во времени биохимических процессов, механизмы биохимических превращений в зависимости от различных факторов (температуры, концентрации реагирующих веществ, давления, pH среды).

Динамику биологических процессов можно описывать уравнениями, аналогичными уравнениям химической кинетики.

Основа математического описания кинетики химических превращений – составление кинетических уравнений. В левой части уравнения расположена скорость изменения параметра по времени, то есть дифференциал (производная) по времени. В химических и биохимических превращениях анализируемый параметр представлен концентрацией реагирующего вещества. Правая часть уравнения составлена на основе закона действующих масс, согласно которому скорость элементарного акта химической реакции пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ (с) в степенях, соответствующих их стехиометрическим коэффициентам:

$$\frac{dC}{dt} = k\,C^n \qquad (3.1)$$

Однако по сравнению с обычной химической кинетикой биологическая кинетика характеризуется следующими особенностями.

1. В качестве переменных выступают не только концентрации веществ, но и другие величины.
2. Переменные изменяются не только во времени, но и в пространстве.
3. Биологическая система пространственно гетерогенна, и условия взаимодействия реагентов могут быть различны в разных точках системы.
4. Существуют специальные механизмы саморегуляции, действующие по принципу обратной связи.

Современная практика математического моделирования показала, что наиболее содержательные и вместе с тем не слишком перегруженные деталями модели содержат, как правило, два уравнения. Именно в том случае, когда, пользуясь разделением переменных на быстрые и медленные, можно свести исходную систему к виду:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= P\,(x,y), \\ \frac{dy}{dt} &= Q(x,y) \end{aligned} \qquad (3.2)$$

Удается успешно использовать качественные методы исследования подобных систем. В процессе изменения состояния системы во времени переменные x, y изменяются согласно уравнениям так, что каждому состоянию соответствует пара значений (x, y). Иными словами, измеряя в последовательные моменты времени t_1, t_2,…, tn значения переменных x, y, мы представляем состояние системы в виде соответствующих пар (x_1, y_1), (x_2, y_2), …, (x_n , y_n), которые являются координатами точек M_1, M_2, …, Mn , изображающих движение системы.

В каждый момент времени t изображающая точка будет двигаться в соответствии с системой уравнений и каждый раз принимать положение M (x, y) в зависимости от значений x(t), y(t). Совокупность этих точек называется фазовой траекторией.

Характер фазовых траекторий отражает общие качественные черты поведения системы во времени или дает фазовый портрет системы.

Все гомогенные элементарные химические реакции различают по числу молекул, участвующих в элементарном акте химического взаимодействия. По этому признаку реакции подразделяют: *мономолекулярные, бимолекулярные и тримолекулярные*.

Мономолекулярные – в элементарном акте взаимодействия участвует 1 молекула.

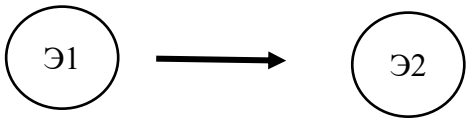


Рисунок 3.1 – Мономолекулярные реакции

Бимолекулярные – в элементарном акте взаимодействия две одинаковые или разные молекулы.

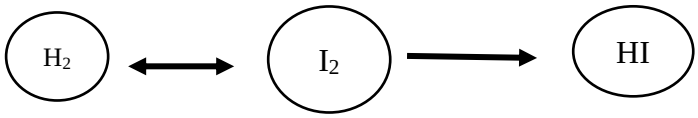


Рисунок 3.2 – Бимолекулярные реакции

Тримолекулярные – в элементарном акте взаимодействия участвует 3 молекулы.

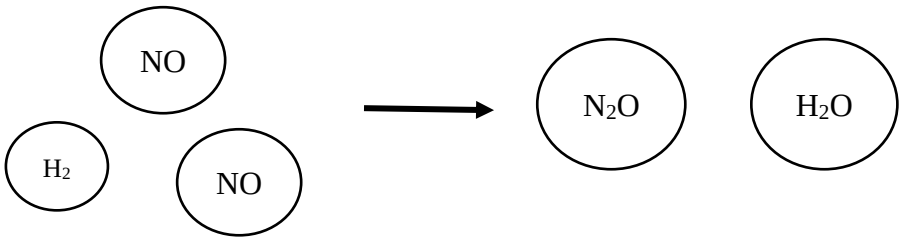


Рисунок 3.3 – Тримолекулярные реакции

Порядок реакции по данному веществу — показатель степени при концентрации этого вещества в кинетическом уравнении реакции. Если зависимость скорости химической реакции от концентраций исходных веществ записать в виде:

$$\vartheta = k\,[A_1]^{n1}[A_2]^{n2}\ldots\ldots\ldots[A_i]^{ni} \qquad (3.3)$$

где n_i – порядок реакции по веществу A_i, а (n_1+ n_2 + ……..+ n_i) – порядок реакции в целом.

Выделяют реакции 0, 1, 2, 3 – порядков.

Химические реакции 0 порядка. Кинетическое уравнение имеет следующий вид:

$$\vartheta_0 = k_0 \qquad (3.4)$$

Скорость реакции нулевого порядка постоянна во времени и не зависит от концентраций реагирующих веществ. Нулевой порядок характерен, например, для гетерогенных реакций в том случае, если скорость диффузии реагентов к поверхности раздела фаз меньше скорости их химического превращения. Пример реакции 0 порядка: омыление избытка малорастворимого эфира в разбавленном водном растворе (рис. 3.4).

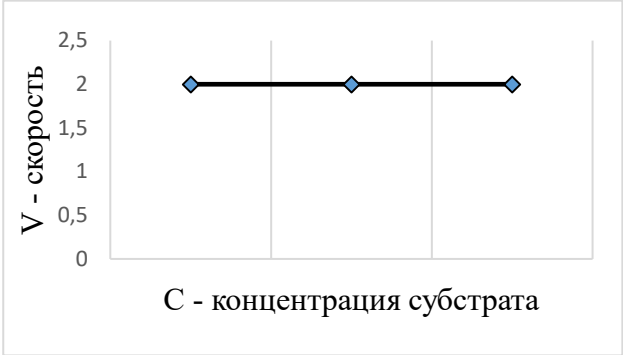


Рисунок 3.4– Диаграмма зависимости скорости химической реакции от концентрации субстрата при химической реакции 0 порядка.

Химические реакции 1 порядка. Кинетическое уравнение имеет следующий вид (рис. 3.5):

$$\vartheta_1 = k_1[C] \qquad (3.5)$$

Пример реакции 1 порядка:

$2N_2O_5 = 2N_2O_4 + O_2$

$CH_3OCH_3 = CH_4 + H_2 + CO$ - разложение диметилового эфира

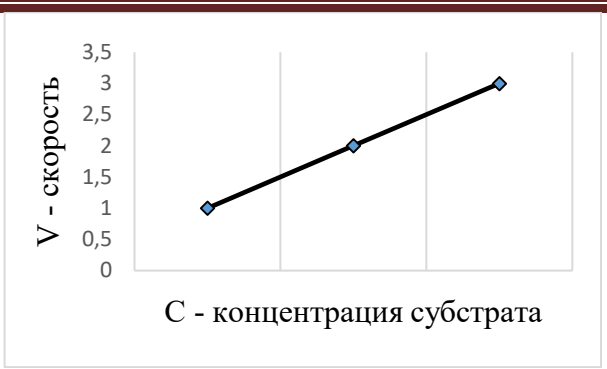


Рисунок 3.5 – Диаграмма зависимости скорости химической реакции от концентрации субстрата при химической реакции 1 порядка.

Химические реакции 2 порядка. Кинетическое уравнение имеет следующий вид(рис. 3.6):

$$\vartheta_2 = k_2[C_A]^2 \text{ или } \vartheta_2 = k_2[C_A]\,[C_Б] \qquad (3.6)$$

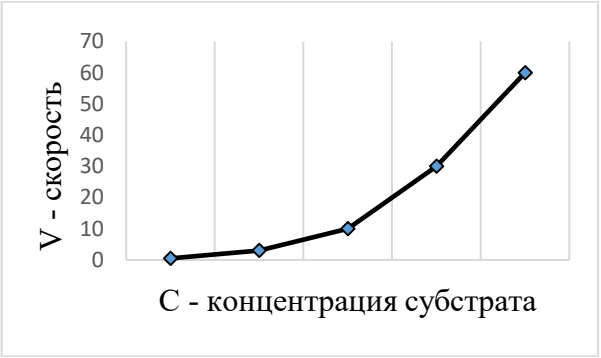


Рисунок 3.6 – Диаграмма зависимости скорости химической реакции от концентрации субстрата при химической реакции 2 порядка.

Все химические реакции можно разбить на две группы: необратимые и обратимые реакции. Необратимые реакции протекают до конца – до полного израсходования одного из реагирующих веществ. Обратимые реакции протекают не до конца: при обратимой реакции ни одно из реагирующих веществ не расходуется полностью. Это различие связано с тем, что необратимая реакция может протекать только в одном направлении. Обратимая же реакция может протекать как в прямом, так и в обратном направлениях. Вначале, при смешении исходных веществ, скорость прямой реакции велика, а скорость обратной реакции равна нулю, по мере протекания реакции исходные вещества расходуются и их концентрации падают. В результате этого уменьшается скорость прямой реакции. Одновременно появляются продукты реакции, и их концентрация возрастает. Вследствие этого начинает идти обратная реакция, причем ее скорость постепенно увеличивается. Когда скорости прямой и обратной реакций становятся одинаковыми, наступает химическое равновесие.

Количественной характеристикой химического равновесия служит величина, называемая константой химического равновесия:

$К_{равн} = К_{обр}/ К_{прям}$.

Принцип узкого места. Некоторые важные свойства стационарных состояний можно выявить, изучая свойства правых частей дифференциальных уравнений (нахождение знака производной) и не прибегая к их точному аналитическому решению. Однако такой подход дает хорошие результаты при исследовании моделей, состоящих из небольшого числа, чаще всего из двух, уравнений. Если нужно учесть все переменные концентрации промежуточных веществ, принимающих участие даже в простых биохимических циклах, число уравнений в модели окажется весьма большим. Поэтому для успешного анализа необходимо будет провести редукцию числа уравнений в исходной модели и сведение ее к модели, состоящей из небольшого числа уравнений, которые, тем не менее, отражают наиболее важные динамические свойства системы. Это уменьшение числа уравнений не может происходить произвольно, а его осуществление должно подчиняться объективным законам и правилам. В противном случае мы рискуем потерять какие-либо существенные свойства объекта, что не только обеднит нашу модель, но и сделает ее вообще неадекватной моделируемой биологической системе.

Редукция числа уравнений основана на известном в биологии принципе узкого места, или принципе разделения всех переменных в сложных системах на быстрые и медленные. Гетерогенный характер организации биологических систем проявляется как в структурном, так и в динамическом отношении.

Различные функциональные процессы, отдельные метаболические циклы сильно отличаются друг от друга по их характерным временам τ и скоростям. В целостной биологической системе одновременно протекают быстрые процессы ферментативного катализа ($\tau \approx 10^{-1}$-10^{-6} с), физиологической адаптации (τ секунды и минуты), репродукции (τ от нескольких минут и больше). Даже в пределах одной отдельной цепи взаимосвязанных реакций всегда имеются наиболее медленные и наиболее быстрые стадии. Это и является основой для осуществления принципа узкого места, согласно которому общая скорость превращения вещества во всей цепи реакций определяется наиболее медленной стадией (узким местом). Эта медленная стадия обладает самым большим характерным временем (самой малой скоростью) по сравнению со всеми характерными временами других отдельных стадий. Общее время процесса практически совпадает с характерным временем этого узкого места. Самое медленное звено и является управляющим, поскольку воздействие именно на него, а не на более быстрые стадии может повлиять и на скорость протекания всего процесса. Таким образом, хотя сложные биологические процессы и включают очень большое число промежуточных стадий, их динамические свойства определяются сравнительно небольшим числом отдельных наиболее медленных звеньев.

Это и означает, что исследование можно проводить на моделях, которые содержат существенно меньшее число уравнений. Наиболее медленным стадиям соответствуют медленно меняющиеся, а быстрым стадиям – быстро меняющиеся переменные величины. Это имеет глубокий смысл. Если мы воздействуем каким-то образом на такую систему (внесем в нее какое-то возмущение), то в ответ все переменные концентрации взаимодействующих веществ начнут соответственно и изменяться. Однако это будет происходить с существенно разными скоростями для разных веществ.

В устойчивой системе быстрые переменные быстро отклонятся, но зато и быстро вернутся затем к своим первоначальным значениям. Наоборот, медленные переменные будут долго изменяться в ходе переходных процессов, которые и определят динамику изменений во всей системе. В реальных условиях система испытывает внешние толчки, которые приводят к видимым изменениям медленных переменных, однако быстрые переменные будут в основном пребывать около стационарных значений. Тогда для быстрых переменных вместо дифференциальных кинетических уравнений, описывающих их поведение во времени, можно записать простые алгебраические уравнения, определяющие их стационарные значения. Таким путем осуществляется редукция числа дифференциальных уравнений полной системы, которые теперь будут включать лишь медленные переменные, зависящие от времени.

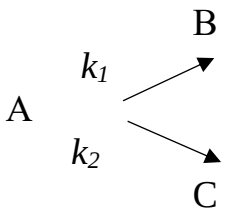
В одной и той же биологической системе роль узкого места и медленной стадии могут выполнять разные звенья цепи в зависимости от внешних условий.

2. Последовательные, параллельные, циклические, автокаталитические и цепные реакции.

Последовательные реакции – это реакции, протекающие через ряд последовательных стадий, где k_1 и k_2 – константы скорости соответствующих реакций.

$$A \xrightarrow{k_1} B \xrightarrow{k_2} C$$

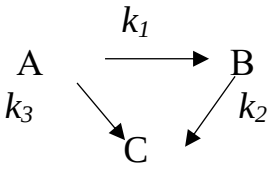
Параллельные реакции – это реакции, в которых вещество, распадаясь, образует разные продукты.



Сопряженные реакции – это реакции, одна из которых индуцирует (реакция 1) протекание другой (реакция 2). А – актор, С – индуктор, В – акцептор.

$$\mathrm{A} + \mathrm{B} \rightarrow \mathrm{M}$$
$$\mathrm{A} + \mathrm{C} \rightarrow N$$

Циклические реакции – это реакции, протекающие по типу замкнутого цикла:



Большое значение в жизнедеятельности организмов имеют цепные реакции. Создание современной теории цепных реакций связано с именами отечественных ученых Н. Н. Семенова, В. А. Каргина, А. Н. Теренина и Н. М. Эмануэля. Эти реакции могут осуществляться лишь при участии активных частиц, свободных атомов или радикалов с ненасыщенной валентностью, а также молекул или ионов, имеющих некоторый избыток энергии.

Цепная реакция – это самоподдерживающаяся химическая реакция, при которой первоначально появляющиеся продукты принимают участие в образовании новых. Эти реакции протекают с большой скоростью и нередко имеют характер взрыва. Цепные реакции проходят три главные стадии: зарождения, развития и обрыва цепи.

На стадии зарождения происходит образование промежуточных продуктов (атомов, ионов, нейтральных молекул). Инициирование этого процесса может осуществляться светом, ионизирующей радиацией, тепловой энергией, катализаторами.

Стадия развития характеризуется тем, что промежуточные продукты реагируют с исходными веществами, образуя новые интермедиаты и конечные продукты. Стадия развития в цепных реакциях повторяется много раз и приводит к образованию большого числа начальных и конечных продуктов. На стадии обрыва происходит окончательное расходование промежуточных продуктов или их разрушение, поэтому реакция прекращается. Цепная реакция может оборваться самопроизвольно или под действием специальных веществ (ингибиторов).

Цепные реакции разделяются на реакции с разветвленными и неразветвленными цепями.

Существуют такие химические процессы, в которых роль катализатора выполняют конечные продукты реакции. Это автокаталитические процессы. Примером такой реакции является превращение пепсиногена в пепсин. Катализируется эта реакция вновь образующимися молекулами пепсина.

Конечный продукт – пепсин, являясь катализатором, ускоряет биохимический процесс. Для автокаталитических реакций характерен инкубационный период, затем скорость реакции стремительно нарастает. Автокаталитические реакции в организме протекают не непрерывно, а периодически. Так, при поступлении пищи в пищеварительный тракт возникает потребность перехода проферментов в ферменты и наблюдаются реакции их превращения: пепсиногена в пепсин, трипсиногена в трипсин. Превращение трипсиногена начинает другой, менее эффективный фермент-энтерокиназа, которая выделяется при раздражении стенок желудка частицами пищи.

Скорость автокаталитической реакции зависит от концентраций как исходных, так и конечных веществ:

$$\frac{d[B]}{dt} = k_1[A][B] \qquad (3.7)$$

Процесс идет при переменной возрастающей концентрации катализатора. С увеличением концентрации образующегося продукта (B) скорость реакции растет.

Автокаталитические реакции характеризуются тем, что начальная скорость увеличения количества вещества B формально равна нулю и поэтому реакция имеет лаг-фазу – период накопления катализатора.

Чем длиннее и сложнее цепь аутокаталитических реакций, тем больше величина лаг-периода, причем за индукционным периодом следует логарифмическая фаза, которая показывает, что концентрация вещества B увеличивается экспоненциально. Автокаталитические реакции могут быть отдельными звеньями биохимических циклов, когда продукт реакции является активатором одной из предыдущих стадий цикла.

3. Зависимость скорости ферментативных реакций от различных факторов.

Основная функция ферментов заключается в повышении скорости химических реакций в соответствии с потребностями живого организма. Для понимания функционирования ферментов изучают кинетику их действия.

Скорость ферментативных реакций зависит от:

- концентрации фермента;
- концентрации субстрата;
- температуры;
- pH;
- наличия активаторов и ингибиторов.

3.1 Зависимость скорости реакции от концентрации фермента.

В условиях избытка субстрата скорость реакции прямо пропорциональна концентрации фермента (рис. 3.7).

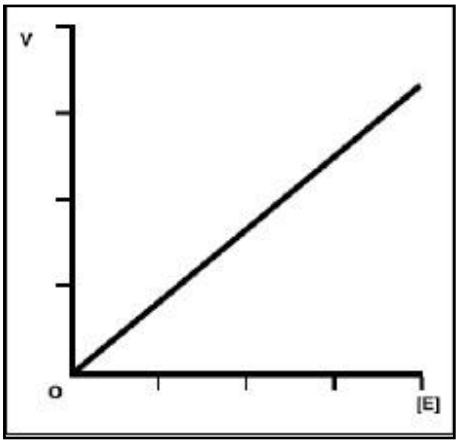


Рисунок 3.7 – Зависимость скорости реакции (V) от концентрации фермента ([E])

3.2 Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата представлена на рисунке 3.8.

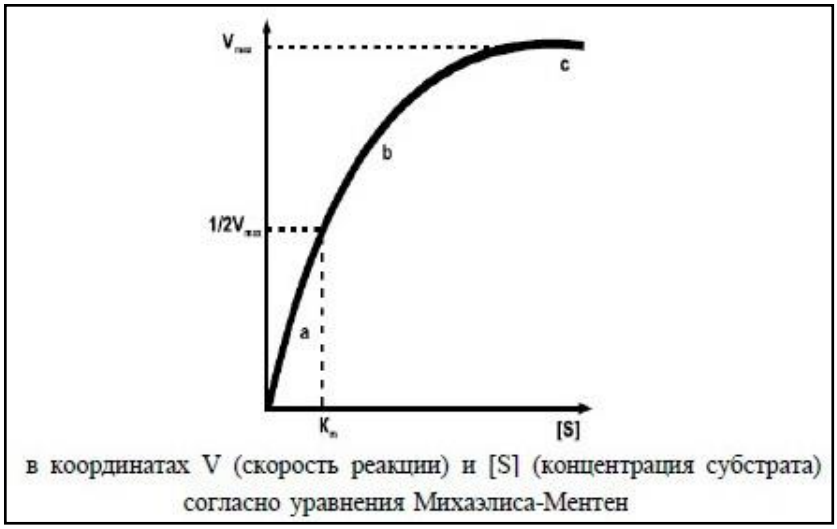


Рисунок 3.8 – Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата

На гиперболической кривой графика выделяют три участка. При низкой концентрации субстрата (участок *a*) скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата и подчиняется кинетике первого порядка. На участке *b* (реакция смешанного порядка) эта зависимость нарушается. На участке *c* скорость реакции максимальна и не зависит от концентрации субстрата.

3.3 Зависимость скорости реакции от pH среды.

Графическое изображение зависимости скорости реакции от величины pH имеет колоколообразную форму. Значение pH, при котором фермент проявляет максимальную активность, называется оптимумом pH (рис. 3.9).

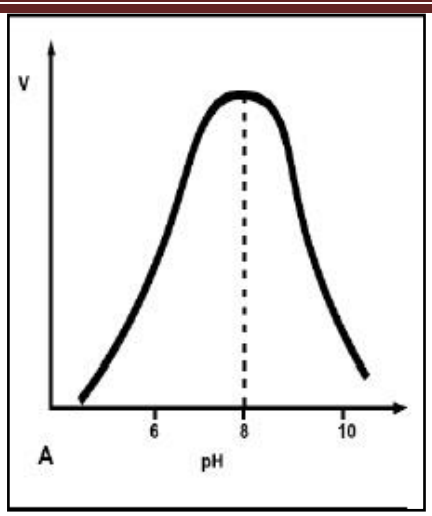


Рисунок 3.9 – Зависимость скорости реакции от pH

Для большинства ферментов оптимум pH равен 6-8. Исключение составляет пепсин, оптимум которого равен 1,5-2,0. При изменении pH в ту или другую сторону от оптимума скорость реакции уменьшается, вследствие ионизации функциональных групп фермента и субстрата, что нарушает образование фермент-субстратного комплекса.

3.4 Зависимость скорости реакции от температуры.

Скорость химической реакции повышается в 2 раза при повышении температуры на 10°С. Однако вследствие белковой природы фермента при дальнейшем повышении температуры наступает денатурация фермента.

Графическое изображение зависимости скорости реакции от температуры представлена на рисунке 3.10.

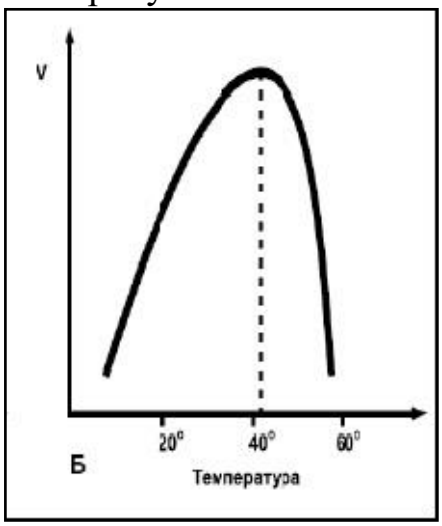


Рисунок 3.10 – Зависимость скорости реакции от температуры

Температура, при которой скорость реакции максимальна, называется температурным оптимумом. Для большинства ферментов оптимум температуры составляет 37-40°С. Существуют термостабильные ферменты, например, миокиназа мышц.

4. Особенности ферментативного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен.

Ферменативный катализ осуществляется с помощью ферментов. Ферменты – биологические катализаторы белковой природы.

Основными особенностями ферментативного катализа являются:

1. Ферментативные реакции протекают в ”мягких“ условиях (давление 1 атм, температура 37 ^{0}C и нейтральное значение pH).

3. Данные реакции характеризуются более высокой эффективностью по сравнению с неферментативными реакциями.

4. Активность ферментов регулируется и контролируется на генетическом уровне (на этапе синтеза белка-фермента и его фолдинга) и посредством низкомолекулярных соединений (субстратов, продуктов реакции и других низкомолекулярных эффекторов).

5. Ферменты обладают специфичностью. Различают 4 вида специфичности ферментов:

- абсолютная специфичность – фермент катализирует превращение только одного субстрата;
- относительная специфичность – фермент расщепляет определенный тип связи;
- относительная групповая специфичность – фермент расщепляет определенный тип связи, но в ее образовании участвуют определенные функциональные группы;
- стереохимическая специфичность – фермент катализирует превращение определенного стереоизомера.

6. В организме действуют, как правило, полиферментные системы, в результате чего происходит многоэтапное превращение вещества с допустимыми для организма перепадами энергии. Полиферментные системы (комплексы) представляют собой несколько ферментов, катализирующих ряд согласованных реакций, причем конечные продукты одной ферментативной реакции являются субстратами для следующей.

Ферментативный катализ идет в 3 стадии:

I стадия – присоединение молекулы субстрата (S) к молекуле фермента (E) и образование фермент-субстратного комплекса (ES):

$$E + S \rightarrow ES.$$

Изменение энергии активации на этой стадии незначительно. В образовании фермент-субстратного комплекса участвуют водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия. Для этой стадии важно сближение и правильная ориентация фермента и субстрата. Сближение и необходимая ориентация реагентов значительно повышают вероятность образования продуктивного фермент-субстратного

комплекса. В сумме эти факторы могут ускорить реакцию в 10^4 раз.

II стадия – преобразование фермент-субстратного комплекса в один или несколько последовательных (переходных) комплексов с образованием на поверхности фермента конечного продукта реакции:

$$ES \rightarrow EZ \rightarrow EP.$$

На этой стадии происходит образование переходных состояний. При этом важным фактором является стабилизация переходного состояния вследствие взаимодействия между функциональными группами субстрата и фермента. Переходное состояние в случае ферментативной реакции требует меньшей энергии активации. Механизмы действия ферментов на этой стадии объясняются:

- эффектом деформации субстрата;
- кислотно-основным катализом;
- ковалентным катализом.

Эффект деформации субстрата (или так называемая теория «дыбы») объясняет действие гидролаз, лиаз и трансфераз. После связывания с активным центром молекула субстрата как бы растягивается на активном центре фермента. Чем больше длина межатомной связи в субстрате, тем меньше энергия ее разрыва.

При *кислотно-основном катализе* осуществляется перенос протонов. Ферментативный кислотно-основный катализ более эффективен, чем обмен протонов с кислотами и основаниями в растворе. При закреплении субстрата в активном центре на его молекулу влияют электрофильные и нуклеофильные группы каталитического участка, что вызывает перераспределение электронной плотности на участках субстрата, атакуемого кислотно-основными группами.

При *ковалентном катализе* химические группировки ковалентно присоединяются к остаткам фермента. Ковалентные фермент-субстратные комплексы очень неустойчивы и легко распадаются. Ковалентный катализ подразумевает наличие реакционных групп в активном центре, чаще всего нуклеофильного типа, которые вступают во временные ковалентные связи с субстратом в процессе катализа. Так реализуется протеолитическое действие химотрипсина.

Вторая стадия лимитирует скорость всего катализа. Скорость катализируемого процесса очень чувствительна к величине энергии активации. Ее изменение, соответствующее образованию всего одной водородной связи, может ускорить реакцию в миллион раз.

На этой стадии возможно разделение реакции на 2-3 этапа, каждый из которых требует меньшей энергии активации, чем, если бы процесс осуществлялся в один этап. При такой разбивке суммарная энергия активации будет такой же, как и при одноэтапном процессе, но энергетический барьер будет уменьшен.

С учетом всех механизмов второй стадии катализа скорость реакции может увеличиться до 10^{10} раз.

III стадия – отделение продукта реакции от фермента:

$$EP \rightarrow E+P.$$

Стадия непродолжительна и определяется скоростью диффузии продуктов реакции в окружающую среду. Фермент освобождается без изменений. Суммарное повышение скорости катализируемой реакции может достигать 10^{14}–10^{16} раз.

В участке связывания субстрат при помощи нековалентных связей взаимодействует с ферментом, формируя фермент-субстратный комплекс.

Выделяют следующие основные механизмы, которые играют главную роль в образовании фермент-субстратного комплекса:

1. Образование ковалентных связей.
2. Возникновение гидрофобных взаимодействие между неполярными углеводородными радикалами молекул субстрата и дегидратированными участками белковой глобулы.
3. Электростатическое взаимодействие между заряженной группой субстрата и ионизированными группами фермента.
4. Образование водородных связей.

Катализатор – вещество, увеличивающее скорость реакции, но не участвующее в образовании конечных продуктов.

Ферменты – биологические катализаторы, высокомолекулярные белки.

$$E + S \leftrightarrow (ES) \rightarrow E+P,$$

где E – фермент, S – субстрат, (ES) – фермент-субстратный комплекс, P – продукт.

Математическая модель ферментативного катализа была разработана Л. Михаэлисом и М. Ментен в 1913 г. и представляет собой решение системы уравнений:

$$\begin{cases} \dfrac{dS}{dt} = -k_2 \mathrm{E}S + k_{-1}(\mathrm{E}S); \\ \dfrac{d\mathrm{E}}{dt} = -k_2 \mathrm{E}S + k_{-1}(\mathrm{E}S) - k_1(\mathrm{E}S); \\ \dfrac{dP}{dt} = k_1(\mathrm{E}S) = -\dfrac{dS}{dt}; \\ \dfrac{d(\mathrm{E}S)}{dt} = k_2 \mathrm{E}S + k_{-1}(\mathrm{E}S) - k_1(\mathrm{E}S). \end{cases} \quad (3.8)$$

Исходя из условия закрытости системы:

1. Весь продукт реакции образуется из субстрата: $P+S=const;$

2. Существует начальная концентрация фермента: $E_0=const=E+(ES)$.

Решив систему, можно получить уравнение Михаэлиса-Ментен:

$$\upsilon = \upsilon_{max}\frac{S}{K_m + S}. \quad (3.9)$$

где K_m – константа Михаелиса-Ментен.

$$K_m = \frac{k_1+k_2}{k_{-1}} \quad (3.10)$$

K_m измеряется в молях на литр и колеблется от 10^{-2} до 10^{-7} моль/л. Чем меньше K_m, тем активнее фермент. При $\vartheta = \frac{1}{2}\vartheta_{max}$, имеем K_m = [S].

Линейные преобразования уравнения Михаэлиса-Ментен можно производить разными способами, из которых особенно популярны три:

1. Способ Ленгмюра:
2. Способ Иди-Хофсти:
3. Способ Лайнувера-Берка:

5. Строение, свойства и особенности кинетики аллостерических (регуляторных) ферментов, его типы, их участие в саморегуляции биопроцессов.

Аллостерическими ферментами называют ферменты, активность которых регулируется не только количеством молекул субстрата, но и другими веществами, называемыми эффекторами.

Эффектор, вызывающий снижение активности фермента, называют ингибитором. Эффектор, вызывающий повышение активности ферментов, называют активатором.

Схематическое строение аллостерического фермента можно рассмотреть на рисунке 3.11.

Рисунок 3.11 – Схематическое строение аллостерического фермента

Аллостерическими эффекторами часто служат различные метаболиты. Конечные продукты метаболического пути – часто

ингибиторы аллостерических ферментов, а исходные вещества – активаторы. Это так называемая гетеротропная регуляция. Такой вид аллостерической регуляции очень распространён в биологических системах. Более редкий случай аллостерической регуляции, когда сам субстрат может выступать в качестве положительного эффектора. Такая регуляция называется гомотропной (эффектор и субстрат – одно и то же вещество).

Особенности строения и свойства аллостерических ферментов:

1) аллостерические ферменты состоят из 2-х или более, часто симметричных, субъединиц, т.е. имеют четвертичную структуру;

2) субъединицы фермента могут находиться в 2-х конформациях: R и T. Конформация R (relax – расслабление) обладает высоким сродством к субстрату, конформация T (tense – напряженная) – низким сродством. Формы R и T могут переходить друг в друга;

3) субъединицы аллостерических ферментов связаны между собой нековалентными связями. Изменение конформации одной субъединицы приводит к изменению конформации соседних субъединиц (кооперативный эффект);

4) данные ферменты имеют аллостерический центр, пространственно удалённый от каталитического активного центра;

5) эффекторы присоединяются к ферменту нековалентно в аллостерических (регуляторных) центрах;

6) эффекторы связываются с T и R-конформациями фермента. Аллостерический ингибитор связывается преимущественно с T-конформацией и ее стабилизирует. В присутствии ингибитора большая часть молекул находятся в T-конформации, что снижает сродство фермента к субстрату. Аллостерический активатор связывается преимущественно с R-формой;

7) регуляция аллостерических ферментов обратима: отсоединение эффектора от регуляторной субъединицы восстанавливает исходную каталитическую активность фермента;

8) аллостерические ферменты катализируют ключевые реакции данного метаболического пути.

Кинетика аллостерических ферментов не подчиняется законам Михаэлиса-Ментен. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата для них имеет вид, отличный от гиперболы. В большинстве случаев это явление можно объяснить следующим образом.

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

Предложено 2 модели кооперативного эффекта:

- *Симметричная модель.* Субъединицы должны находится в одном и том же конформационном состоянии, т.е. возможны состояния RR и TT и невозможно состояние RT. В отсутствие субстрата почти все молекулы фермента находятся в Т-форме. Добавление субстрата приводит к переходу Т-формы в R-формы одновременно всех субъединиц.
- *Последовательная модель.*Согласно этой модели каждая субъединица может существовать в одном из возможных конформационных состояний (R или T). Связывание субстрата с одной субъединицей может вызвать последовательное изменение конформации соседней субъединицы или соседних субъединиц и в результате увеличивать (положительная кооперативность) или уменьшать (отрицательная кооперативность) их сродство к субстрату.

Аллостерические ферменты играют важную роль в метаболизме, так как они чрезвычайно быстро реагируют на малейшие изменения внутреннего состояния клетки. Аллостерическая регуляция имеет большое значение в следующих ситуациях:

- при анаболических процессах (ингибирование конечным продуктом метаболического пути и активация начальными метаболитами позволяют осуществлять регуляцию синтеза этих соединений);
- при катаболических процессах (в случае накопления АТФ в клетке происходит ингибирование метаболических путей, обеспечивающих синтез энергии, субстраты при этом расходуются на реакции запасания резервных питательных веществ);
- для координации анаболических и катаболических путей (АТФ и АДФ – аллостерические эффекторы, действующие как антагонисты);
- для координации параллельно протекающих и взаимосвязанных метаболических путей (например, синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, используемых для синтеза нуклеиновых кислот) (таким образом, конечные продукты одного метаболического пути могут быть аллостерическими эффекторами другого метаболического пути).

6. Ингибирование ферментов.

Ингибирование ферментов – это снижение каталитической активности в присутствии определённых веществ – ингибиторов. К ингибиторам следует относить вещества, вызывающие снижение активности фермента. Следует отметить, что все денатурирующие агенты также вызывают уменьшение скорости любой ферментативной реакции, вследствие неспецифической денатурации белковой молекулы, поэтому денатурирующие агенты к ингибитррам не относят.

Ингибиторы способны взаимодействовать с ферментами с разной степенью прочности. На основании этого различают обратимое и необратимое ингибирование. По механизму действия ингибиторы подразделяют на конкурентные и неконкурентные.

К типам ингибирования относится обратимое и необратимое ингибирование.

6.1 *Обратимое ингибирование*

Обратимые ингибиторы связываются с ферментом слабыми нековалентными связями и при определённых условиях легко отделяются от фермента. Обратимые ингибиторы бывают конкурентными и неконкурентными.

Конкурентное ингибирование

К конкурентному ингибированию относят обратимое снижение скорости ферментативной реакции, вызванное ингибитором, связывающимся с активным центром фермента и препятствующим образованию фермент-субстратного комплекса. Такой тип ингибирования наблюдают, когда ингибитор – структурный аналог субстрата, в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за место в активном центре фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо ингибитор, образуя комплексы фермент-субстрат (ES) или фермент-ингибитор (EI). При формировании комплекса фермента и ингибитора (EI) продукт реакции не образуется.

Для конкурентного типа ингибирования справедливы следующие уравнения:

$$E + S \Leftrightarrow ES \rightarrow E + P,$$
$$E + I \Leftrightarrow EI.$$

Конкурентные ингибиторы уменьшают скорость химической реакции. Конкурентный ингибитор повышает K_m для данного субстрата (уменьшает сродство субстрата к ферменту). Это означает, что в присутствии конкурентного ингибитора необходима большая концентрация субстрата для достижения 1/2 V_{max}.

Увеличение соотношения концентрации субстрата и ингибитора снижает степень ингибирования. При значительно более высоких концентрациях субстрата ингибирование полностью исчезает, потому что активные центры всех молекул фермента будут находиться преимущественно в комплексе с субстратом.

Неконкурентное ингибирование

Неконкурентным называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра. Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата.

Неконкурентный ингибитор может связываться либо с ферментом,

либо с фермент-субстратным комплексом, образуя неактивный комплекс. Присоединение неконкурентного ингибитора вызывает изменение конформации молекулы фермента таким образом, что нарушается взаимодействие субстрата с активным центром фермента, что приводит к снижению скорости ферментативной реакции.

Кинетическая зависимость неконкурентного ингибирования представлена на рисунке 3.12.

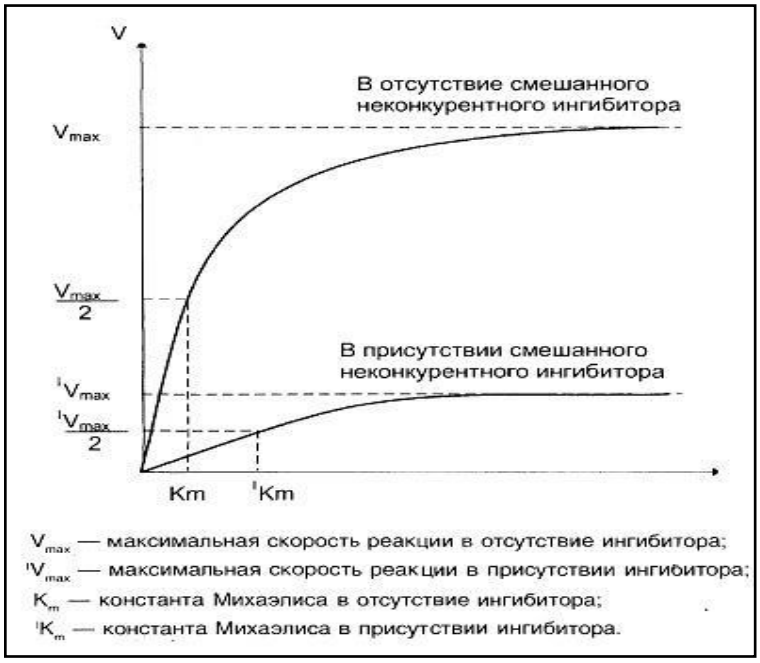


Рисунок 3.12 – Влияние неконкурентного ингибитора на скорость ферментативной реакции в зависимости от концентрации субстрата

Этот тип ингибирования характеризуется снижением Vmax ферментативной реакции и уменьшением сродства субстрата к ферменту, т.е. увеличением $К_m$.

6.2 Необратимое ингибирование

Необратимое ингибирование наблюдают в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента. Чаще всего модификации подвергается активный центр фермента, В результате фермент не может выполнять каталитическую функцию.

К необратимым ингибиторам относят ионы тяжёлых металлов, например ртути (Hg^{2+}), серебра (Ag^{+}) и мышьяка (As^{3+}), которые в малых концентрациях блокируют сульфгидрильные группы активного центра. Субстрат при этом не может подвергаться химическому превращению. При наличии реактиваторов ферментативная функция восстанавливается. В больших концентрациях ионы тяжёлых металлов вызывают денатурацию белковой молекулы фермента, т.е. приводят к полной инактивации фермента.

Ингибиторы вызывают большой интерес для выяснения механизмов

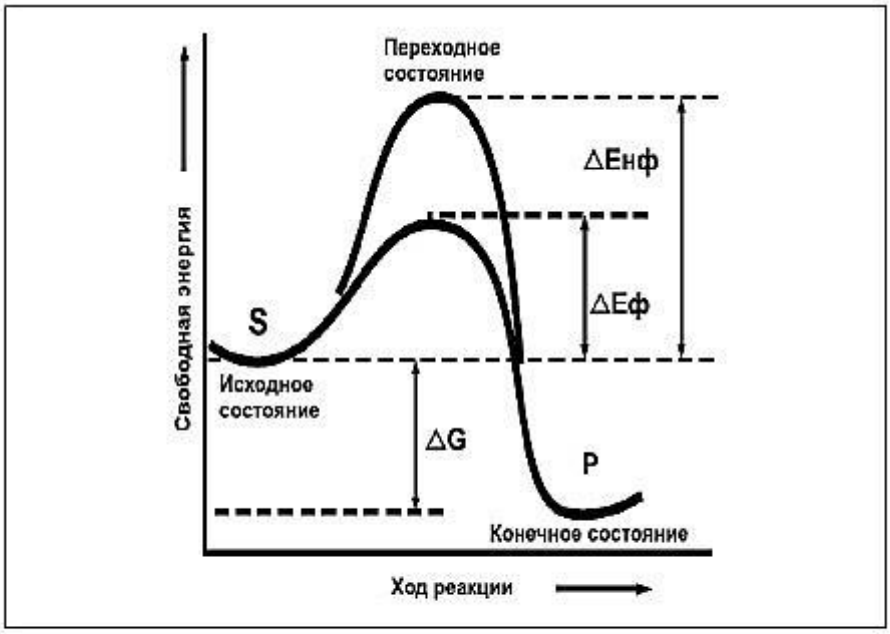
ферментативного катализа, помогают установить роль отдельных ферментов в метаболических путях организма., поэтому знание механизмов этого процесса крайне важно для молекулярной фармакологии и токсикологии.

7. Механизм действия ферментов. Энергетическая схема ферментативной реакции. Модели ферментативного катализа. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.

Изменение свободной энергии при катализируемой и некатализируемой реакции представлено на рисунке 3.13.

Энергия активации – это дополнительное количество энергии, которое необходимо дать молекуле для преодоления энергетического барьера (или для достижения переходного состояния), т.е. это энергия, необходимая для перевода всех молекул моля вещества в активированное состояние.

Ферменты ускоряют реакцию путем снижения энергии активации за счет увеличения числа активизированных молекул, которые становятся реакционно-способными на более низком энергетическом уровне.



S – исходный субстрат; P – продукт; ΔЕнф – энергия активации неферментативной реакции; ΔЕф – энергия активации ферментативной реакции; ΔG – стандартное изменение свободной энергии.

Рисунок 3.13 – Изменение свободной энергии при катализируемой и некатализируемой реакции.

Модели ферментативного катализа:

1. Статическая модель ферментативного катализа, известная еще как модель ”ключ - замок“, предложенная Э. Фишером. Эта предполагает очень жесткую подгонку субстрата к активному центру фермента.

2. Динамическая модель ферментативного катализа (теория индуцированного структурного соответствия фермента и субстрата), предложенная Д. Кошландом. В соответствии с этой моделью субстрат при взаимодействии с активным центром фермента вызывает существенные изменения его конформации, поэтому и происходит точная переориентировка функциональных групп активного центра.

Согласно конформационно-релаксационной концепции появление продукта ферментативной реакции рассматривается как результат последовательных конформационных изменений в фермент-субстратном комплексе, индуцированных первоначальными изменениями электронного состояния в активном центре фермента.

Этапы процесса:

1. диффузия субстрата к активному центру;

2. спонтанное сближении соответствующих реакционных групп в активном центре фермента;

3. образование строго определенной конфигурации фермента, включающей функциональные группы фермента и химические связи субстрата;

4. протекание электронно-колебательных взаимодействий, затрагивающих только выделенные химические связи субстрата и функциональные группы фермента, но не остальную часть белковой глобулы;

5. образование конформационно-неравновесного состояния, которое релаксирует к новому равновесию с образованием продукта реакции;

6. отщепление продукта реакции из активного центра фермента;

7. релаксация свободной молекулы фермента к исходному равновесному состоянию.

Общая скорость ферментативного катализа определяется временем образования нужной конформации.

Зависимость скорости биологических процессов от температуры.

Повышение температуры до определенных пределов оказывает влияние на скорость ферментативной реакции. С повышением температуры ускоряется движение молекул, что приводит к повышению вероятности взаимодействия реагирующих веществ. Кроме того, температура может повышать энергию реагирующих молекул, что приводит к ускорению реакции.

Однако скорость ферментативной реакции имеет свой температурный оптимум, превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, возникающей из-за термической денатурации белковой молекулы. Для большинства ферментов этот

оптимум находится в пределах 37-38 °С. Однако существуют и термостабильные ферменты.

Зависимость скорости реакции от температуры описывается уравнением Аррениуса:

$$k = pZe^{-Eакт/RT} \quad (3.12)$$

где Z – число столкновений, R – универсальная газовая постоянная, $E_{акт}$ – энергия активации, p – стерический фактор.

Это уравнение можно представить в логарифмической форме:

$$lnk = lnpZ \frac{Eакт}{RT} \quad (3.13)$$

Наиболее употребимой температурной характеристикой, наряду с энергией активации, является коэффициент Вант-Гоффа Q_{10}, характеризующий ускорение реакций при повышении температуры на 10°С:

$$Q_{10} = \frac{V_{T+10}}{V_T} \quad (3.14)$$

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

Энергия активации ферментативных реакций несколько ниже – порядка 4-12 ккал/моль, и $Q_{10} < 2$. Для фотохимических реакций, а также для физических процессов, например, диффузии, энергия активации очень невелика и коэффициент Вант-Гоффа близок к единице.

Энергии активации большинства биологических процессов того же порядка, что и для химических реакций. Они группируются в основном у трех величин – 33, 50 и 75 кДж/моль.

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

Энергия активации связана с коэффициентом Вант-Гоффа следующим соотношением:

$$E_{акт} = 0,46T_1 \cdot T_2 lgQ_{10} \qquad (3.15)$$

Анализируя зависимость скорости биологических реакций от температуры, можно судить также о разделении процесса на отдельные стадии и о механизме этих стадий. Например, температурный коэффициент фотосинтеза колеблется от 1,2 до 2,5. Температурный анализ показал, что при малой интенсивности света Q_{10} = 1,2, а при большой – Q_{10} = 2,5. Это позволило констатировать, что скорость процесса может определяться либо первой, световой стадией процесса, либо второй, темновой реакцией Блекмана. Отсюда видно, что скорость процесса определяется находящейся в ”минимуме “ реакцией, которая представляет собой узкое место процесса.

ТЕМА 4. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

1. Биополимеры как основа организации биоструктур. Пространственное строение биополимеров. Структура и свойства биополимеров.
2. Типы взаимодействий биополимеров.
3. Природа пептидной связи и ее основные свойства.
4. Пространственная организация белковой молекулы.
5. Взаимодействие белков с растворителем. Гидратация. Фазовые переходы в белках.
6. Особенности структуры и пространственной организации нуклеиновых кислот. Сверхспиральные структуры ДНК.
7. Стабилизация пространственной структуры нуклеиновых кислот. Взаимодействие нуклеиновых кислот с растворителем. Фазовые переходы нуклеиновых кислот.
8. Основные типы РНК. Особенности вторичной и третичной структуры тРНК.

1. Биополимеры как основа организации биоструктур. Пространственное строение биополимеров. Структура и свойства биополимеров.

Биополимеры составляют структурную основу всех живых организмов и участвуют практически во всех процессах жизнедеятельности. Основная функция – построение клеток и обеспечение биоэнергетических процессов.

Биополимеры – класс полимеров, встречающихся в природе в естественном виде, входящие в состав живых организмов: белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды. Биополимеры состоят из одинаковых (или разных) звеньев – мономеров: мономеры белков – аминокислоты, нуклеиновых кислот – нуклеотиды, полисахаридов – моносахариды.

Выделяют два типа биополимеров – регулярные (некоторые полисахариды) и нерегулярные (белки, нуклеиновые кислоты, некоторые полисахариды). Известны также смешанные биополимеры, такие как липопротеины (комплексы содержащие белки и липиды), гликопротеины (соединения, в которых олиго - или полисахаридные цепи ковалентно связаны с пептидными цепями), липополисахариды (соединения, молекулы которых построены из липидов, олиго- и полисахаридов).

Особенности биополимеров:

- ✓ состоят из большого числа атомов;
- ✓ имеют большое число функциональных групп;
- ✓ обладают значительным числом степеней свободы.

Биополимеры имеют цепное строение, причем большинство из них имеют линейную структуру. Количество разветвленных биополимеров не так велико, в качестве примера можно привести молекулу гликогена.

Цепи биополимеров могут быть построены из одинаковых мономеров –

гомополимеры или разных мономеров – гетерополимеры (сополимеры). Однако информационной емкостью обладают только гетерополимеры.

Биополимеры ограничены в своем вращении дальними связями (дальние взаимодействия), которые реализуются в результате свертывания белков.

Все виды взаимодействий между атомами при формировании различных макромолекулярных связей можно разделить:

- ✓ взаимодействия ближнего порядка между атомами соседних звеньев;
- ✓ дальние взаимодействия между атомами, которые хотя и отстоят по цепи далеко друг от друга, но случайно встретились в пространстве в результате изгибов цепи.

В качестве простейшей модели биополимера обычно рассматривают свободно-сочлененную цепь (Рис.4.1). Свободно-сочлененная цепь – модель полимерной молекулы, в которой полимерная цепь состоит из прямолинейных сегментов длины l, каждый из которых может принимать с равной вероятностью любую ориентацию в пространстве независимо от ориентации соседних звеньев.

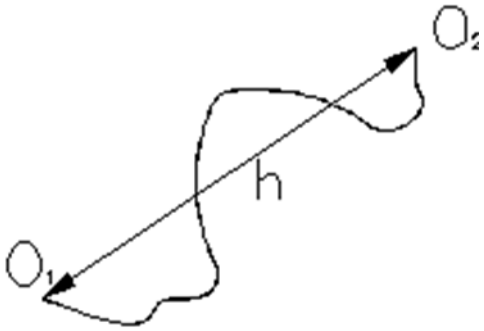


Рисунок 4.1 – Свободно-сочлененная цепь (O_1 – O_2)

Расстояние между концами биополимера рассчитывается по формуле:

$$h = N\,l \qquad (4.1)$$

где N – количество звеньев молекулы биополимера, l – длина цепи биополимера.

Каждое макросостояние биополимера характеризуется определенными значениями молекулярных параметров и может осуществляться большим количеством микросостояний (конформаций). Тепловое движение и вращение вокруг одинарных связей (пептидных) должно приводить к значительной свернутости цепи и образованию клубка. Сворачиваемость цепи в клубок определяется термодинамической гибкостью: чем больше гибкость, тем меньше h^2. В растворе наиболее вероятная конформация биополимера – свернутый клубок, в котором энтропия системы максимальна. *Конформация* –пространственное расположение атомов и групп атомов, которое может быть изменено без разрыва химических связей основной цепи в результате теплового движения или внешних воздействий. Изменения параметров окружающей среды вызывают конформационную перестройку

биомакромолекул с образованием новой стабильной пространственной структуры.

При растяжении биополимеров происходит развертывание клубка и уменьшение размера возможных конформаций, что сопровождается уменьшением энтропии (формула Планка-Больцмана).

Таким образом, сворачивание биополимера в пространстве приводит к образованию клубка или глобулы. В растворе наиболее вероятная конформация биополимера – свернутый клубок, в котором энтропия системы максимальна. При растяжении биополимера происходит развертывание клубка и уменьшение числа возможных конформаций, что сопровождается уменьшением энтропии.

Глобула – вид пространственной структуры полимера, с компактной пространственной структурой, с малыми флуктуациями плотности, с однородной сердцевиной и постоянной концентрацией звеньев n_0.

Свойства глобулы:

- ✓ Имеет структуру;
- ✓ Сердцевина большой глобулы пространственно однородна с постоянной концентрацией звеньев (большей по сравнению с наружными слоями).

Клубок – вид пространственной структуры полимера, при котором взаимодействуют только соседние звенья.

Свойства клубка:

- ✓ Переход между конформациями в результате микроброуновского движения частей цепи.
- ✓ Не обладает внутренней структурой, все время ”дышит“ самплитудой порядка размера клубка.
- ✓ Взаимное положение отдельных частей подчиняется статистическим закономерностям (рис. 4.2).

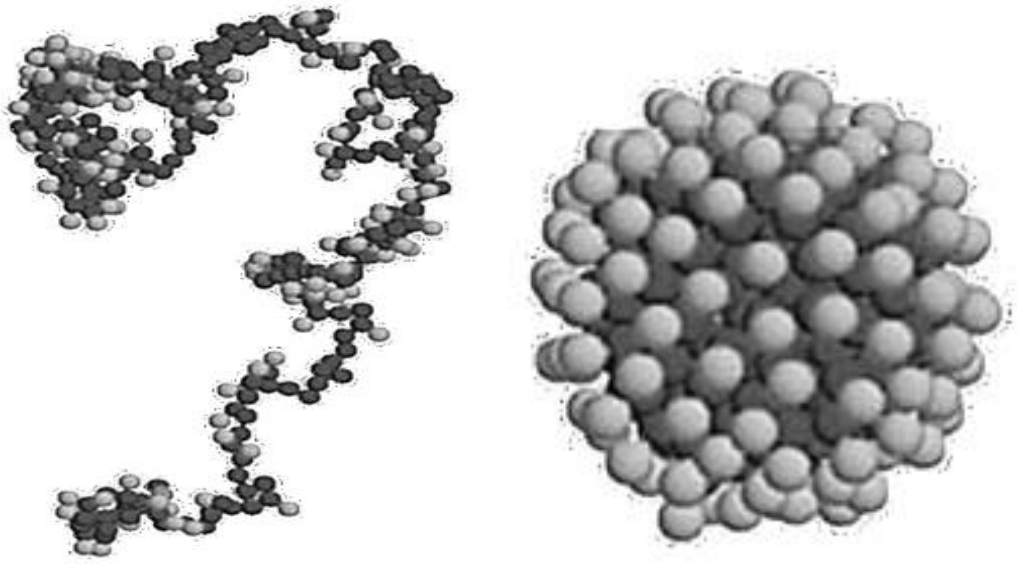


Рисунок 4.2 – Строение клубка и глобулы

В биополимерах наиболее подробно эти процессы изучены в белках. Белковые глобулы претерпевают переходы порядок-беспорядок в относительно малом интервале температуры и напоминают в этом отношений фазовые переходы 1-го рода. Переход осуществляется под действием внешних факторов (давление, температура). Наиболее часто исследуют переход клубок-глобула при изменении температуры.

Θ-точка – температура, при которой отталкивание мономеров полностью компенсируется их взаимным притяжением, объемные взаимодействия отсутствуют. Полная компенсация притяжения и отталкивания в θ -точке является специфическим свойством полимеров. Это явление связано с низкой концентрацией звеньев в полимерном клубке.

Структура макромолекул имеет несколько уровней организации.

Первичная структура макромолекулы –последовательность мономеров, образующих полимерную цепь; в белках это последовательность аминокислот, в нуклеиновых кислотах – нуклеотидов. Первичная структура стабилизирована ковалентными связями, в то время как все остальные уровни организации – в основном слабыми связями.

Вторичная структура – регулярное расположение в пространстве элементов цепи при помощи водородных связей, например, вторичная структура нуклеиновых кислот представляет собой спираль.

Третичная структура – взаимное расположение в пространстве регулярных и нерегулярных элементов цепи. Укладка цепи осуществляется ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями.

Четвертичная структура – способ укладки в пространстве нескольких стабилизированных электростатическими силами полимерных цепей с образованием надмолекулярного комплекса.

Полимеры, синтезируемые в живом организме, обладают свойством *хиральности:* молекулы асимметричны, то есть не имеют ни плоскости, ни центра симметрии, существуют в двух формах – правой и левой – и являются зеркальным отражением друг друга. Левую и правую формы одной молекулы, которые обычно называют *стереоизомерами*, нельзя совместить друг с другом никаким поворотом системы как целого в пространстве. Хиральными являются все аминокислоты (за исключением глицина), углеводы, нуклеиновые кислоты. Азотистые основания этим свойством не обладают, поэтому хиральность нуклеиновых кислот определяется углеводной компонентой.

Макромолекулы обладают несколькими видами изомерии. Различные изомеры одного и того же соединения, переход между которыми возможен только при условии разрыва и образования новых ковалентных связей, называются *конфигурациями*. Вокруг одинарных атомных связей в молекуле может осуществляться вращение. Установлено, что не все значения углов поворота равновероятны. Наиболее вероятны значения углов поворота кратные 120°. В этом случае молекула находится в транс-конформации. Наименее вероятными считаются значения углов поворота – 60°, 180°, 300°.

В этом случае молекула находится в цис-конформации. Причины, по которым транс-конформация является более выгодной, чем цис, имеют квантово-механическую природу и заключаются в отталкивании близко расположенных валентно не связанных атомов, а также во взаимодействиях связей, примыкающих к оси вращения (*эффект ориентации связей*).

Энергетически выгодные конформации, возникающие при поворотах вокруг единичных связей, называются *поворотными изомерами*. Молекула будет переходить из выгодной конформации в другую со скоростью, которая определяется высотой потенциального барьера, отделяющего эти конформации.

2. Типы взаимодействий биополимеров.

Относительно энергии теплового движения молекул воды при нормальных условиях все взаимодействия в биополимерах можно подразделить на сильные и слабые связи (Рис.4.3).

Рисунок 4.3 – Схема взаимодействий в биополимерах.

Величина энергии связей рассчитывается по закону Кулона:

$$W = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} \cdot \frac{q_1 q_2}{\varepsilon\, r} \qquad (4.2)$$

где q_1 и q_2 – электрические заряды групп, ε и ε_0 – диэлектрические постоянные в среде и вакууме.

2.1 Ковалентная связь

Самыми сильными взаимодействиями в биомакромолекулах являются ковалентные связи, которые образуются между атомами благодаря квантовомеханическому обобществлению электронов. При физиологических температурах ковалентные связи стабильны. Для того чтобы их сформировать или разорвать требуется значительная энергия.

Ковалентная связь – это связь, возникающая между атомами за счет образования общих электронных пар. Существуют два механизма образования данного типа связи:

- Обменный механизм – способ образования ковалентной связи между двумя атомами или группой атомов, при котором каждый атом предоставляет по одному неспаренному электрону в общую электронную пару.
- Донорно-акцепторный механизм – способ образования ковалентной связи между двумя атомами или группой атомов, осуществляемый за счет неподеленной пары электронов атома-донора и свободной орбитали атома-акцептора.

2.2 Ионная связь.

Ионня связь – химическая связь, основанная на электростатическом притяжении ионов. Ионные связи в макромолекулах образуются между заряженными атомами, которые обусловлены присутствием ионогенных групп: карбоксильных и аминогрупп в белках, фосфатных групп в нуклеиновых кислотах. В биомембранах ионогенными группами являются фосфаты, а также карбоксилы свободных жирных кислот. За счет ионных связей образуются комплексы различных ионов с макромолекулами. Например, многие белки связывают ионы кальция, а нуклеиновые кислоты еще и ионы магния.

2.3 Ван-дер-Ваальсовы связи.

В молекулах существуют весьма слабые и короткодействующие силы притяжения между электрически нейтральными атомами и функциональными группами. Это так называемые ван-дер-ваальсовые взаимодействия. Они имеют электромагнитную природу и определяются взаимодействием электрических диполей в соседних молекулах.

$$\left(\mathrm{p} + \frac{a}{V^2}\right)(V - b) = nRT \qquad (4.3)$$

где p – давление; V – объем; T – объем; *а* и *в* – постоянные притяжения и отталкивания.

Уравнение Ван-дер-Ваальса описывает отклонения реального газа от идеального. Значение характерной энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий лежит обычно в диапазоне от 4-8 кДж/моль и выше. В зависимости от того, обладают ли взаимодействующие молекулы постоянными или индуцированными электрическими дипольными моментами существуют различные типы сил Ван-дер-Ваальса.

- *Ориентационные взаимодействия (диполь-дипольные)* – возникают, когда обе молекулы обладают постоянными дипольными моментами M_1 и M_2:

$$W_{\text{ор}} = \frac{1}{6\pi\varepsilon\varepsilon_0 kT} \cdot \frac{M_1^2 M_2^2}{r^6} \qquad (4.4)$$

где k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура, r – расстояние между молекулами.

• *Индукционные взаимодействия (диполь-индуцированный диполь)* – возникают тогда, когда молекула, имеющая постоянный дипольный момент, способна индуцировать его в соседней молекуле, которая характеризуется поляризуемостью (α).

$$W_{ind} = -\frac{1}{2\pi\varepsilon\varepsilon_0}\cdot\frac{\alpha M^2}{r^6} \qquad (4.5)$$

• *Дисперсионные (поляризационные) взаимодействия* – наблюдаются между молекулами, не обладающими постоянными дипольными моментами, но обладают поляризуемостью (α_1 и α_2) и наведенным потенциалами ионизации (I_1 и I_2). Основная часть такого взаимодействия обусловлена внешними наиболее слабо связанными электронами.

$$W_{dis} = -\frac{3}{2}\cdot\frac{I_1\cdot I_2}{I_1+I_2}\cdot\frac{\alpha_1\cdot\alpha_2}{\alpha_1+\alpha_2} \qquad (4.6)$$

2.4 Водородная связь.

Водородная связь – это слабое взаимодействие между частично положительно заряженным водородом, химически связанным с одной молекулой и другим более электроотрицательными атомами O, N, F, C1, принадлежащими, как правило, другой молекуле. Данный тип связи стабилизирует вторичную структуру полипептидных цепей. Природа водородной связи сложна и не сводится только к электростатическому притяжению, хотя оно и дает основной вклад в энергию водородной связи. Частоты колебаний групп, содержащих водород, снижаются при образовании с ним водородных связей.

2.5 Электростатические взаимодействия.

Электростатические взаимодействия образуются за счет взаимодействия электростатически-заряженных групп в молекуле биополимера. В молекулах белков роль электростатически-заряженных центров играют положительно (аргинин, лизин, гистидин) и отрицательно заряженные (глутаминовая и аспарагиновая кислота) радикалы аминокислот. В молекуле ДНК электростатически-заряжены остатки фосфорной кислоты.

2.6 Гидрофобные взаимодействия.

Гидрофобное взаимодействие – неспецифическое притяжение, возникающее в молекуле белка между радикалами гидрофобных аминокислот – вызывается силами Ван-дер-Ваальса и дополняется выталкивающей силой воды.

Вода представляет собой довольно сложную структуру, асимметрична и имеет большой дипольный момент. Молекулы воды ассоциированны с координаторным числом 4, атомы кислорода четырёх молекул образуют тетраэдр, в центре которого атом кислорода пятой молекулы. Структура жидкой воды до конца не ясна.

Существуют две группы гипотез:

✓ Модель непрерывной структуры воды. Вода представляет собой непрерывную структуру, связанную водородными связями, и при изменении температуры, давления и других факторов они лишь растягиваются и деформируются

✓ Модели мерцающих кластеров. Водородные связи формируют короткоживущие кластеры, размер которых зависит от температуры. С увеличением температуры количество кластеров и их размеры уменьшаются. При высоких температурах, жидкая вода превращается в пар. В газообразном состоянии воды (пар) водородные связи отсутствуют, и пар с представляет собой смесь одиночных молекул.

Таким образом, даже из приведенного очень сжатого обзора моделей структуры воды видно отсутствие единой теории и приемлемость разных предположений.

Биополимеры могут проявлять свои функции в воде, но также молекулы воды сильно влияют на конформацию макромолекул. Неполярные вещества слабо или почти не растворяются в воде. Вблизи неполярных участков уменьшается подвижность молекул воды, что приводит к упорядочиванию их в кластерные структуры с увеличением свободной энергии.

В зависимости от степени растворимости в воде различают гидрофильные и гидрофобные соединения. Для количественного описания гидрофильности или гидрофобности соединения используют величину изменения термодинамического потенциала Гиббса ΔG^0 при переносе соединения из неполярного растворителя в полярный, например, из этанола в воду. Чем меньше величина ΔG^0, тем лучше растворимость соединения. Гидрофильными, как правило, являются полярные соединения, а гидрофобными – неполярные, однако, имеются некоторые исключения.

Качественная картина взаимодействия растворенных веществ с водой заключается в следующем. Вокруг растворенного соединения среднее время оседлой жизни молекул воды увеличивается, доля молекул, образующих упорядоченные области, возрастает по сравнению с их долей в остальном растворе. В результате энтропия системы уменьшается ($\Delta S < 0$).

Понижение энтропии связано с изменением структуры воды. Вблизи неполярных участков снижается конкуренция за водородные связи, соответственно, повышается вероятность формирования упорядоченных кластеров.

3. Природа пептидной связи и ее основные свойства.

Пептиды – органические вещества, состоящие из остатков аминокислот, соединенных пептидной связью. Пептидная связь – вид амидной связи, возникающей при образовании белков и пептидов в результате взаимодействия α-аминогруппы ($–NH_2$) одной аминокислоты с α-карбоксильной группой (–COOH) другой аминокислоты (Рис. 4.4).

В зависимости от количества аминокислотных остатков, входящих в

состав пептида, различают дипептиды, трипептиды, тетрапептиды и т.д. Образование пептидной связи может повторяться многократно. Это приводит к образованию полипептидов. На одном конце пептида находится свободная аминогруппа (N-конец), а на другом – свободная карбоксильная группа (С-конец).

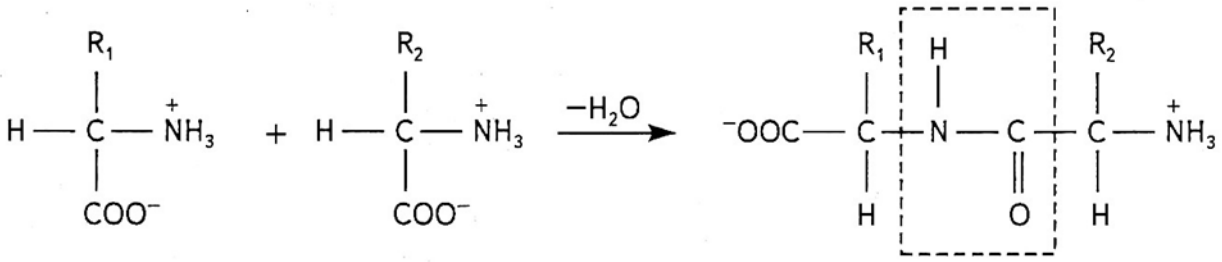


Рисунок 4.4 – Образование пептидной цепи.

Основные свойства пептидной связи:

- Компланарность – все атомы, входящие в пептидную группу, находятся в одной плоскости, т.е. 4 атома связи (С, N, О и Н) и 2 α-углерода находятся в одной плоскости. R-группы аминокислот и водороды при α-углеродах находятся вне этой плоскости.
- Атом водорода аминогруппы и атом кислорода карбонильной группы находятся в транс-положении.
- Вращение вокруг связи С-N затруднено, возможно вращение вокруг С-С связи. Так как пептидная связь имеет характеристику частично двойной связи из-за чего она короче, чем остальные связи пептидного остова. Поэтому свободное вращение вокруг пептидной связи невозможно.
- Пептидная связь является ковалентной и стабильной связью. Разрушение пептидной связи возможно только в присутствии катализаторов.

Электронное строение пептидной связи определяет плоскую жёсткую структуру пептидной группы. Плоскости пептидных групп расположены под углом друг к другу.

Пептидные связи обычно расположены в транс-конфигурации, т.е. α-углеродные атомы располагаются по разные стороны от пептидной связи. В результате боковые радикалы аминокислот находятся на наиболее удалённом расстоянии друг от друга в пространстве.

Пептидные связи очень прочны и самопроизвольно не разрываются при нормальных условиях, существующих в клетках (нейтральная среда, температура тела).

4. Пространственная организация белковой молекулы.

Белки являются биополимерными молекулами, в которых мономерами служат аминокислоты. Белки – это высокомолекулярные азотсодержащие

биополимеры, состоящие из α-аминокислот, соединенных пептидными связями, в формировании которых принимают участие карбоксильная группа одной и α-аминогруппа другой аминокислоты.

Различия между белками и пептидами:

✓структура и размер: белки значительно больше пептидов; пептиды состоят из 2–50 аминокислот, а белки – из более чем 50 аминокислот.

✓пептиды менее строго определены в структуре, в то время как белки могут принимать сложные конформации.

✓пептиды делятся на олигопептиды и полипептиды, а белок состоит из нескольких полипептидов.

В основе каждого белка лежит полипептидная цепь. Существует понятие о 4-х уровнях пространственной организации белка, а именно – первичной, вторичной, третичной и четвертичной структурах белковых молекул.

Первичная структура белка – линейная последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Первичная структура определяет уникальность чередования аминокислотных остатков и предопределяет особенности всех последующих уровней структурной организации (Рис. 4.5).

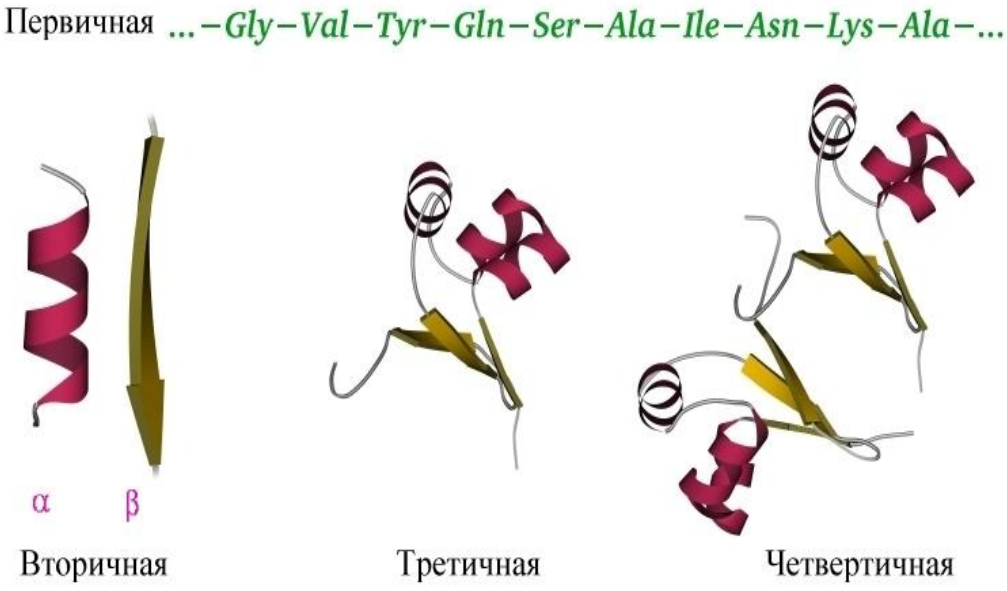


Рисунок 4.5 –Уровни организации белковой структуры.

Вторичная структура белка – упорядоченное расположение полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями между пептидными группами (рис. 4.6).

Существуют 3 типа вторичной структуры:

1) *Альфа-спираль (α-спираль)* – чаще всего встречается и наиболее термодинамически выгодна, имеет определенные характеристики: ширину, расстояние между двумя витками спирали. Для белков характерна правозакрученная спираль, характеризующаяся следующими параметрами:

3,6 аминокислотных остатка на 1 виток, шаг спирали (расстояние между витками) – 0,54 нм. Образование α-спирали происходит за счет водородных связей между C=O и NH пептидных. Фиксируется альфа-спираль с помощью водородных связей между NH-группами одного витка спирали и C=O группами соседнего витка. Эти водородные связи расположены параллельно оси спирали и многократно повторяются, поэтому прочно удерживают спиралеобразную структуру. Более того, удерживают в несколько напряженном состоянии, как сжатую пружину

2) *Бета-складчатая структура* или *структура складчатого листа (β-структуры)*. Фиксируется также водородными связями между C=O и NH-группами. Фиксирует два участка полипептидной цепи. Эти цепи могут быть параллельны или антипараллельны. Если такие связи образуются в пределах одного пептида, то они всегда антипараллельны, а если между разными полипептидами, то параллельны.

3) *Нерегулярная структура* – тип вторичной структуры, в котором расположение различных участков полипептидной цепи относительно друг друга не имеет регулярного (постоянного) характера, поэтому нерегулярные структуры могут иметь различную конформацию.

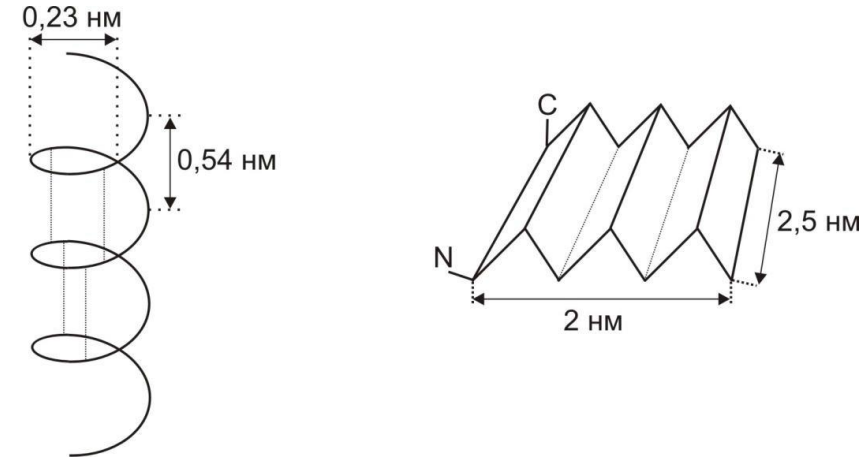


Рисунок 4.6 – Вторичная структура белка: α-спираль и β-складчатая структура.

Также выделяют супервторичные (надвторичные) структуры – термодинамически и кинетически стабильные комплексы α-спиралей и β-структур (Рис.4.7).

К супервторичные β-структурам относят:

- ✓ β-меандр, слой из трёх и более антипараллельных βцепей,
- ✓ IG-β-укладка, которая характерна для доменов иммуноглобулинов (антител);
- ✓ ОВ-β-укладка

К супервторичным смешанным α/β-структурам относят:

- ✓ α/β-цилиндр фермента тирозофосфатизомераза,
- ✓ складка Россмана;
- ✓ αβ-складка.

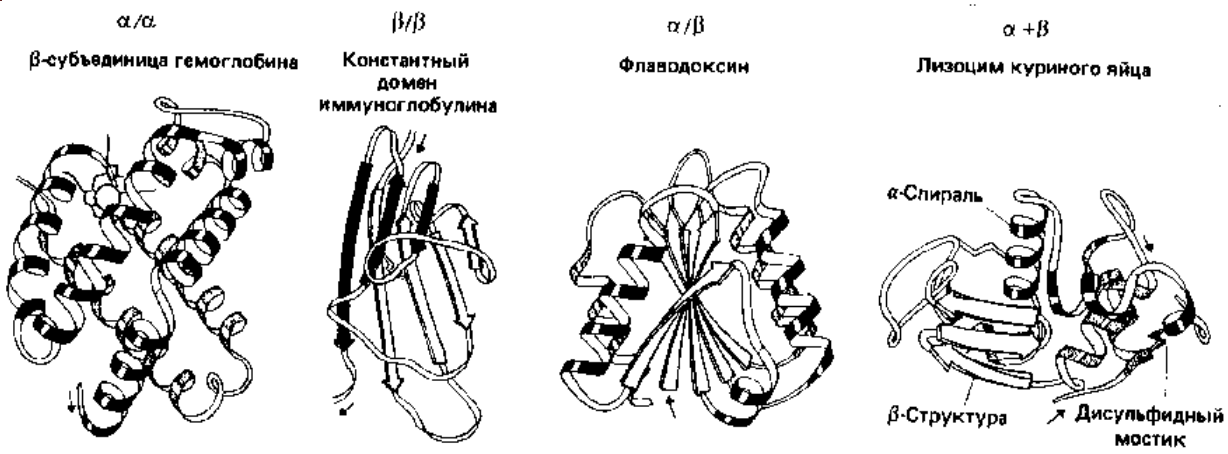


Рисунок 4.7 – Надвторичные структуры белка

Третичная структура белка – трехмерная архитектура полипептидной цепи – особое взаимное расположение в пространстве спиралеобразных, складчатых и нерегулярных участков полипептидной цепи. У разных белков третичная структура различна. Стабильность третичной структуры обусловлена ковалентной связью и слабыми типами связей: водородной, гидрофобной и электростатическим взаимодействием.

Третичная структура полностью задается первичной.

Выделяют два общих типа третичной структуры:

1. *в фибриллярных белках* (например, коллаген, эластин) молекулы которых имеют вытянутую форму и обычно формируют волокнистые структуры тканей, третичная структура представлена либо тройной альфа-спиралью (например, в коллагене), либо бета-складчатыми структурами.
2. *в глобулярных белках*, молекулы которых имеют форму шара или эллипса, встречается сочетание всех трех типов структур: всегда есть нерегулярные участки, есть бета-складчатые структуры и альфа-спирали.

Обычно в глобулярных белках гидрофобные участки молекулы находятся в глубине молекулы. Соединяясь между собой, гидрофобные радикалы образуют гидрофобные кластеры (центры). Формирование гидрофобного кластера вынуждает молекулу соответствующим образом изгибаться в пространстве. Обычно в молекуле глобулярного белка бывает несколько гидрофобных кластеров в глубине молекулы. Это является проявлением двойственности свойств белковой молекулы: на поверхности молекулы – гидрофильные группировки, поэтому молекула в целом – гидрофильная, а в глубине молекулы – спрятаны гидрофобные радикалы.

Домены – области в третичной структуре белка с определённой структурной автономией. Домены бывают структурными и функциональными. Домены являются основными элементами структуры белка. Их наличие доменов создает структурные предпосылки для большей внутренней гибкости, динамики, белковых молекул, достигаемой смещением

доменов относительно друг друга.

Формирование третичной структуры приводит к образованию функционально активной, или нативной, белковой структуры. Нарушение третичной структуры белка приводит к потере его активности.

Приобретение пространственной структуры (сворачивание) белка – называется фолдинг. *Фолдинг* – это ферментативный процесс, протекающий сразу же после синтеза полипептида на рибосомах. В фолдинге принимают участие ферменты:

Четвертичная структура белка – это ассоциированные между собой два и более субъединиц – полипептидных цепей, имеющих третичную структуру. Каждая такая цепь называется субъединицей данной молекулы (или протомером). Поэтому белки, обладающие четвертичной структурой, называют олигомерными белками. В состав белковой молекулы могут входить одинаковые или разные субъединицы. Фиксируются четвертичные структуры белков всеми типами слабых связей, а иногда еще и дисульфидными связями.

Основные функции четвертичной структуры белка.

1. Объединение нескольких взаимосвязанных функций в единой структуре.
2. Архитектурная функция.
3. Обеспечение множественных взаимодействий белка с протяженными структурами.
4. Регуляторная функция.

5. Взаимодействие белков с растворителем. Гидратация. Фазовые переходы в белках.

Растворимость белков в растворителях неодинакова и зависит от многих факторов: их структуры, природы, величины pH, солевого состава раствора, температуры и других факторов. Поэтому одни белки хорошо растворимы в воде, другие – в водных растворах нейтральных солей, третьи – в слабых растворах кислот или щелочей, четвертые – в смеси воды и органических растворителей. В большинстве чистых органических растворителей белки не растворяются. Однако, есть белки нерастворимые во всех перечисленных растворителях, что связывают с особенностью их структуры.

Устойчивость белка в растворе зависит от:

- ✓ заряда белковой молекулы;
- ✓ наличия гидратной оболочки;
- ✓ молекулярной массы белка.

Растворение связано с гидратацией белков, т. е. связыванием молекул воды с белками. При этом, например, -CO-NH-группы связывают по одной молекуле воды, карбоксильные группы – по четыре молекулы воды, аминогруппы – по одной молекуле воды.

При растворении в водной среде на поверхности белковой молекулы формируется гидратная оболочка, состоящая из молекул воды,

ориентированных по отношению к молекуле белка строго определенным образом (Рис. 4.8).

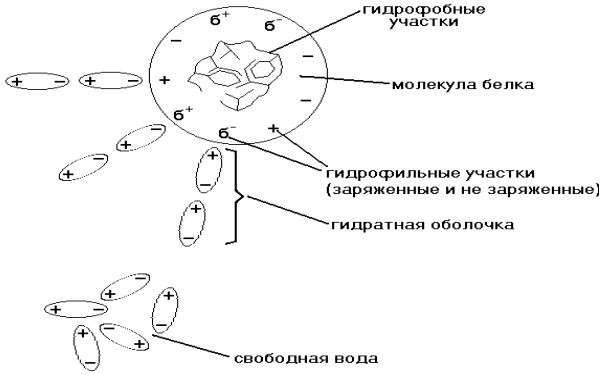


Рисунок 4.8 – Образование гидратной оболочки

Чем дальше молекулы воды удалены от поверхности молекулы белка, тем беспорядочнее их расположение в растворе. Вокруг электронейтральных молекул белка гидратная оболочка не образуется.

Гидратная оболочка препятствует агрегации белковых частиц и тем самым способствует устойчивости раствора белка. Следовательно, заряд и гидратная оболочка являются важными факторами, обусловливающими устойчивость белковых растворов.

Одной из самых важных проблем молекулярной биофизики является вопрос о структуре воды, так как биологические макромолекулы функционируют в водной среде, их пространственное строение во многом определяется водным окружением.

Фазовые переходы первого рода – фазовые переходы, при которых скачком изменяются первые производные термодинамических потенциалов по интенсивным параметрам системы (температуре или давлению). Переходы первого рода реализуются как при переходе системы из одного агрегатного состояния в другое, так и в пределах одного агрегатного состояния (в отличие от фазовых переходов второго рода, которые происходят в пределах одного агрегатного состояния).

В процессе фазового перехода наблюдается только начальное и конечное состояния, невозможно уловить промежуточные состояния. Стабильные состояния между фазовыми переходами первого рода разделены достаточно высоким энергетическим барьером, поэтому они происходят достаточно длительное время. Образование β-листов происходит как фазовый переход первого рода,

При фазовом переходе второго рода плотность и внутренняя энергия не меняются, так что невооружённым глазом такой фазовый переход может быть незаметен. Скачок же испытывают их производные по температуре и давлению: теплоёмкость, коэффициент теплового расширения, различные восприимчивости и т. д. К фазовым переходам второго рода могут относиться процессы образования и разрушения доменных структур, которые часто сопровождаются ростом теплоёмкости системы.

Для нефазовых переходов характерно значительное изменение

упорядоченности системы без изменения её агрегатного состояния и размерности.

В процессах денатурации и ренатурации белка разные стадии представляют собой фазовые переходы разного рода.

Денатурация – разрушение третичной и частично вторичной структуры белка с сохранением первичной структуры, т.е. потеря нативной структуры (Рис.4.9).

Рисунок 4.9 – Процессы денатурации и ренатурации белка

Существует два механизма денатурации для малых и крупных белковых молекул:

1. глобула →клубок;
2. глобула →расплавленная глобула →клубок.

В первом случае процесс денатурации представляет собой фазовый переход первого рода, что обеспечивается наличием большого числа слабых связей в глобуле. Во втором случае на первом этапе плавления глобулы происходит нарушение упорядоченности боковых групп, но сохраняется общая пространственная структура. Этот переход происходит как фазовый переход первого рода. Дальнейшие этапы денатурации зависят от доменной и вторичной структуры и могут происходить как фазовый переход любого рода.

Денатурация отличается от гидролиза белка тем, что при гидролизе необратимо разрушается первичная структура путем разрыва пептидных связей. Денатурации может быть частичной или полной. При этом изменяются физические свойства белка: снижается растворимость и белок выпадает в осадок из-за потери основных факторов устойчивости – заряда и гидратной оболочка структура. При денатурации первичная структура не изменяется, т.е. не происходит разрыва пептидных связей.

К факторам, вызывающим денатурацию относятся:

✓ химические факторы: сильные кислоты или щелочи, органические растворители, детергенты, восстанавливающие агенты, концентрированные соли, тяжелые металлы;

✓ физические факторы: температура, давление, механическое воздействие, ультразвуковое и ионизирующее излучение.

Долго считалось, что денатурация необратима. Однако в некоторых случаях при удалении денатурирующего агента восстанавливается биологическая активность белка.

Ренатурация – процесс, обратный денатурации, при котором белки возвращают свою природную структуру. Однако, не все белки способны ренатурировать, у большинства белков денатурация необратима.

6. Особенности структуры и пространственной организации нуклеиновых кислот. Сверхспиральные структуры ДНК.

Нуклеиновые кислоты – это биополимеры, построенные из мономерных единиц – нуклеотидов, структура которых включает в себя остаток углевода (пентозы), связанный N-гликозидной связью с гетероциклическим основанием. Термин ”нуклеиновая кислота“ появился в 1889 году. Его ввел ученый Рихард Альтман, которому удалось избавиться от белковых примесей.

Нуклеиновым кислотам присущи три важнейшие функции: хранение, передача и реализация генетической информации. Кроме этих, они выполняют и другие функции, например, участвуют в катализе некоторых химических реакций, осуществляют регуляцию реализации генетической информации, выполняют структурные функции и др.

В природе существует два вида нуклеиновых кислот – дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК). Различие в названиях объясняется тем, что молекула ДНК содержит пяти-углеродный сахар дезоксирибозу, а молекула РНК– рибозу. В настоящее время известно большое число разновидностей ДНК и РНК, отличающихся друг от друга по строению и значению в метаболизме. Клеточные РНК в зависимости от местоположения в клетке, состава и функций подразделяются на транспортные (тРНК), матричные, или информационные (мРНК) и рибосомные (рРНК); отдельно выделяют РНК неклеточных организмов – вирусов и фагов.

В общем виде молекулу нуклеиновой кислоты можно представить следующим образом (рис. 4.10):

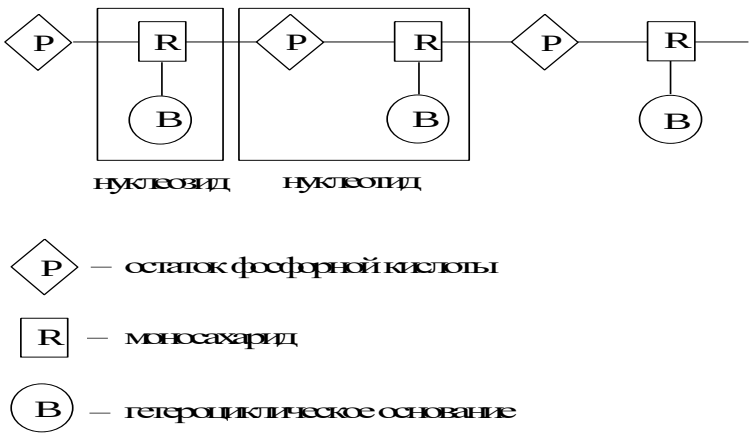


Рисунок 4.10 – Общий вид молекулы нуклеиновой кислоты

Нуклеотиды являются сложными веществами, в состав которого входит азотистое основание, пятиуглеродный сахар (рибоза или дезоксирибоза) и остаток фосфорной кислоты. Существует пять основных азотистых оснований: аденин, гуанин, урацил, тимин и цитозин. Первые два являются пуриновыми; их молекулы состоят из двух колец, первое содержит пять членов, второе – шесть. Следующие три являются пиримидинами и имеют одно пятичленное кольцо.

Нуклеозиды состоят из гетероциклических оснований, связанных с моносахаридом N-гликозидной связью. В образовании этой связи участвуют аномерный атом углерода моносахарида и атомы азота N-1 (у пиримидинового основания) и N-9 (у пуринового основания).

Определенная последовательность нуклеотидов в цепи составляет первичную структуру нуклеиновой кислоты.

Первичная структура нуклеиновых кислот представляет собой набор нуклеотидных компонентов с последовательностью их чередования. Для обозначения последовательности первичной структуры полинуклеотидной цепи используют однобуквенные символы образующих ее нуклеотидов, которые идентичны символам соответствующих азотистых оснований.

В полинуклеотидных цепях нуклеотидные звенья связываются через фосфатную группу. Каркас цепи состоит из чередующихся пентозных и фосфатных остатков, а гетероциклические основания являются «боковыми» группами, присоединёнными к пентозным остаткам.

Для определения последовательности нуклеотидов в цепи используются ферменты рестриктазы, расщепляющие длинную ДНК на короткие фрагменты, которые с помощью электрофореза разделяются и разводятся.

Определение первичной структуры ДНК – крайне сложная и трудная задача, так как размеры молекул огромны, но при этом она построена всего лишь из четырех типов нуклеотидов. Большие успехи в изучении структуры ДНК были достигнуты в результате работ Э. Чаргаффа с сотрудниками. Оказалось, что ДНК, выделенные из разных источников, существенно отличались по количественному нуклеотидному составу, но во всех случаях нуклеотидный состав молекул ДНК подчиняется универсальным закономерностям, которые получили название правил Чаргаффа (табл. 4.1).

Таблица 4.1 – Правила Чаргаффа

1 правило	2 правило	3 правило	4 правило
Суммарное содержание пуриновых нуклеотидов равно суммарному содержанию пиримидиновых:	Содержание тимина равно содержанию аденина:	Содержание гуанина равно содержанию цитозина:	Количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина:
А + Г = Ц + У + Т	А = Т	Г = Ц	А + Ц = Г + Т

Величину отношения содержания суммы гуанина и ци-тозина к сумме

содержания аденина и тимина, характеризующую нуклеотидный состав данного вида ДНК, принято называть коэффициентом специфичности. Каждая ДНК имеет характерный коэффициент специфичности, который может изменяться в пределах от 0,3 до 2,8.

РНК обычно состоят из одной полимерной цепи, а ДНК, напротив, в большинстве случаев представляют собой структуру из двух нековалентно связанных цепей.

Вторичная структура нуклеиновых кислот создается за счет взаимодействия соседних по полинуклеотидной цепи мономерных звеньев, а в случае двуспиральных молекул также взаимодействием нуклеотидных остатков, находящихся напротив друг друга в двойной спирали.

В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик описали вторичную структуру ДНК в виде двойной спирали, которая характерна для большинства молекул ДНК, однако в настоящее время известны и другие пространственные формы.

Основные положения модели Уотсона и Крика:

1. Молекулы ДНК построены из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно и по всей длине связанных друг с другом водородными связями (причем в образовании водородных связей участвует каждый мононуклеотид).

2. Пуриновые и пиримидиновые основания направлены внутрь спирали. Между пуриновым основанием одной цепи и пиримидиновым основанием другой цепи возникают водородные связи. Эти основания составляют так называемые комплементарные пары. Две цепи ДНК связаны друг с другом через азотистые основания водородными связями, причем аденин всегда образует пару с тимином, а гуанин – с цитозином, то есть аденин комплементарен тимину, а гуанин – цитозину, одна цепь ДНК комплементарна другой.

3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК в составе двойной цепи комплементарна первичной структуре другой цепи.

Если в положении n (считая с 5′-конца) первой цепи находится остаток аденина, то в положении n (считая с 3′-конца) второй цепи находится комплементарный ему остаток тимина, а не другое азотистое основание. Таким образом, зная первичную структуру одной цепи ДНК и используя принцип комплементарности азотистых оснований, можно легко записать первичную структуру другой цепи.

4. Обе цепи закручены в правовинтовую спираль диаметром 2,0 нм, образованную двумя антипараллельными полинуклеотидными цепями, закрученными друг относительно друга и вокруг общей оси. Длина витка спирали (ее шаг, или период идентичности) составляет 3,40 нм. На один виток спирали приходится 10 дезоксирибонуклеотидов в одной цепи, а межнуклеотидное расстояние вдоль оси составляет соответственно 0,34 нм. Спираль закручена таким образом, что на ее поверхности можно выделить две бороздки: большую шириной около 2,20 нм и малую шириной около 1,20 нм (их называют также главным и минорным желобками). Азотистые

основания обращены внутрь спирали; их плоскости перпендикулярны оси спирали и параллельны друг другу, образуя внутри спирали стопку оснований. Между основаниями в этой стопке возникают гидрофобные, или стэкинг- взаимодействия, которые, наряду с водородными связями, способствуют стабилизации структуры двойной спирали в пространстве. Азотистые основания упакованы очень плотно и не контактируют с окружающим водным раствором.

Модель Уотсона – Крика описывает структуру только одной, основной формы двуспиральной ДНК. Эта структура была названа B-формой. Но установлено, что двойная спираль ДНК может существовать в виде нескольких форм: A-, B-, C-, D-и Z-. Указанные формы ДНК различаются диаметром и шагом спирали, числом пар оснований в витке, углом наклона плоскости оснований по отношению к оси молекулы (табл.4.2).

Таблица 4.2 – Характеристика конформационных состояний ДНК

Параметр	A-форма	B-форма	C-форма	D-форма	Z-форма
Число пар нуклеотидных остатков на виток	11	10	9,3	8	12
Угол наклона плоскостей оснований к оси спирали, град	20	-2	-6	-6	-7
Угол поворота оснований вокруг оси спирали, град	32,7	36	38,6	45,0	-30
Расстояние комплементарных пар от оси спирали, нм	0,425	0,063	0,213	0,143	-
Расстояние между нуклеотидными остатками по высоте спирали, нм	0,256	0,338	0,332	0,304	0,340
Конформация дезоксирибозы	C3'-эндо-	C2'-эндо-	C2'-эндо-	C2'-эндо-	C2'-эндо-C3'-эндо-

A-форма ДНК может быть получена из водных растворов при добавлении в них растворителей с меньшей диэлектрической проницаемостью, например, спирта. Остаток дезоксирибозы при переходе в A-форму

принимает C3'-эндо-конформацию, приводя к уменьшению расстояния между фосфатными группами и к уменьшению расстояний между нуклеотидными парами вдоль оси спирали. Диаметр спирали увеличивается, изменяется ширина и глубина бороздок (большая бороздка становится шире и глубже), пары оснований образуют с осью спирали угол около 20° и смещаются от оси к периферии спирали почти на половину радиуса. Винтовая лестница, с которой сравнивают двойную спираль, вследствие этих факторов у A-формы становится более пологой. Внутри спирали возникает полость диаметром 0,40 нм (рис. 4.11).

Впоследствии были описаны и другие конфигурации правозакрученных спиральных ДНК, более ”рыхлые“, чем A- и B-формы.

A-, B-, C-, D-формы ДНК являются правыми. В 1978 году была получена левая спираль ДНК – молекула синтетического полимера полидезокси-ГЦ. Его сахарофосфатный остов имеет зигзагообразный вид и называется Z-формой. Z-Форма может быть энергетически выгодна только в том случае, если цепь ДНК образована чередованием пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, например – Г и Ц.

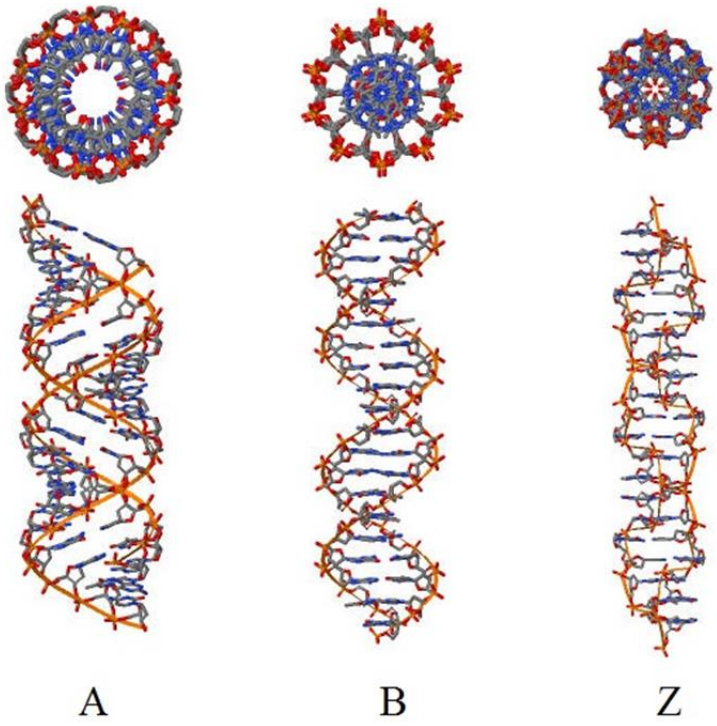


Рисунок 4.11 – Схема строения различных форм ДНК

Описанные формы ДНК способны к взаимно обратимым переходам в зависимости от условий среды. Например, B-форма и Z-форма переходят друг в друга при изменении ионной силы раствора или концентрации катионов, нейтрализующих отрицательный заряд на фосфодиэфирном каркасе. Z-форма ДНК имеет особое значение для суперспирализации молекулы ДНК оказывает очень сильное влияние на топологию

суперспиральной ДНК, и это используется клеткой в процессе экспрессии генов.

Таким образом, двойная спираль ДНК может существовать в различных конформациях, переход между которыми осуществляется при изменении влажности кристаллических препаратов ДНК, соли ДНК и ряда других условий, а также может быть вызван взаимодействием ДНК с белками.

Третичная структура ДНК – формируется только в связи с белками и служит для компактной упаковки ДНК в ядре. Белки, входящие в состав нуклеопротеинов:

1. Гистоновые: богаты аргинином и лизином, имеют ”+“ заряд (основные), поэтому легко связываются с ДНК ионными связями; участвуют в упаковке ДНК.

2. Негистоновые: для связывания с ДНК имеют специальные домены, которые ”узнают“ специфические последовательности нуклеотидов; регулируют процессы репликации, репарации, транскрипции

В частицах вирусов, клетках бактерий и высших организмов, молекулы ДНК плотно ”упакованы“ и образуют довольно сложные структуры. Вирусную ДНК можно отнести к сравнительно мелким биополимерах, но если ее вытянуть, то она окажется во много раз длиннее, чем сам вирус. Выделенные из вирусных частиц молекулы ДНК имеют либо линейную, либо кольцевую форму. Линейные молекулы ДНК in vivo свертываются в плотный клубок. В таком состоянии они более устойчивы к деградации. Кольцевую ковалентно-связанную структуру имеют двухцепочечные ДНК бактерий, вирусов, плазмид, митохондрий и др. Двухцепочечные кольцевые ДНК легко переходят в суперспирализованное состояние, которое обеспечивает более плотную упаковку громадной молекулы ДНК в малом объеме ядра или клетки (Рис. 4.12).

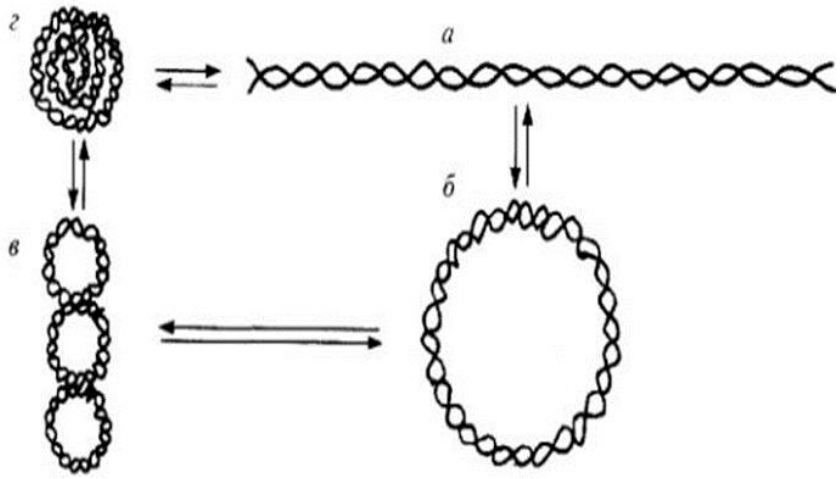


Рисунок 4.12– Третичная структура молекул ДНК: а – линейная; б – кольцевая; в – суперспирализованная (суперкольцевая); г – компактный клубок

Суперспирализация ДНК – структурная форма двуцепочечной молекулы ДНК, в которой она образует супервитки, пересекая при этом собственную

ось. Суперспирализованная ДНК обладает большой энергией. нормальных условиях в ДНК образуются только отрицательные супервитки, которые закручивают ДНК вокруг ее оси против часовой стрелки, т.е. в направлении, противоположном правосторонней двойной спирали. Имея форму суперспирали, ДНК в большей степени подвержена структурным изменениям.

Образование кольцевой формы молекулы ДНК у бактерий или в митохондриях клеток животных часто вызвано ковалентным соединением их открытых концов. Известно, что суперспиральная структура обеспечивает экономную упаковку огромной молекулы ДНК в хромосоме: вместо 8 см длины, которую она могла бы иметь в вытянутой форме, в хромосоме человека молекула ДНК настолько плотно упакована, что ее длина составляет 5 нм.

Образование супервитков катализируется специфическими ферментами, получившими название топоизомераз. Подобные суперспирали соединяются с белками, упакованными в бороздках, обеспечивая тем самым стабильность третичной структуры ДНК. Наличие супервитков молекулы ДНК обычно устанавливают по изменению константы седиментации в определенных условиях. Суперспирализация ДНК может быть нарушена разрывом в одной из цепей или в обеих цепях двойной спирали под действием ДНКазы или при обработке интеркалирующими соединениями. *Интеркаляция* – встраивание плоских ароматических колец между парами оснований ДНК. Интеркаляция может быть вызвана антибиотиками и красителями; в интактных клетках она может быть обусловлена ароматическими кольцами амнокислот.

Как было сказано, молекулы ДНК являются самыми большими в природе, соответственно укладка молекул нуклеиновых кислот в пределах малых размеров клеток или вирусов достигается за счет возможности образования в молекуле ДНК перегибов, петель, суперспиралей, что и формирует ее третичную структуру.

7. Стабилизация пространственной структуры нуклеиновых кислот. Взаимодействие нуклеиновых кислот с растворителем. Фазовые переходы нуклеиновых кислот.

Стабилизация структуры нуклеиновых кислот возможна благодаря ряду факторов:

1.Стэкинг-взаимодействия: пары оснований, уложенные в спирали ”стопками“ удерживаются силами Вандер-Ваальса.И несмотря на то, что связи между 2 парами оснований крайне слабые, их большое количество во всей молекуле ДНК является важным фактором её стабилизации.

Наиболее популярный пример такого расположения наблюдается в последовательных парах оснований ДНК. Стэкинг взаимодействия также часто наблюдается в РНК и белках.

2.Гидрофобные связи: гидрофобные азотистые основания ”погружены“ внутрь спирали и взаимодействуют друг с другом, это придаёт спирали

дополнительную стабильность.

3.Водородные связи образуются между азотистыми основаниями цепей. Между аденином и тимином – 2 водородных связи, а между гуанином и цитозином – 3.

4.Электростатические взаимодействия: электростатическое отталкивание между отрицательно заряженными остатками фосфорной кислоты дестабилизирует спираль ДНК, однако эти эффекты минимизированы присутствием ионов Mg^{2+} и катионных белков (богатых лизином и аргинином).

Нуклеиновые кислоты хорошо растворимы в воде, практически не растворимы в органических растворителях. Очень чувствительны к действию температуры и критическим значениям уровня pH.

В воде ДНК образует вязкие растворы, при нагревании таких растворов выше 60°С или при действии щелочей двойная спираль распадается на две составляющие цепи, которые вновь могут объединиться, если вернуться к исходным условиям. В слабокислых условиях происходит гидролиз, в результате частично расщепляются фрагменты – Р-О-CH_2- с образованием фрагментов – Р-ОН и НО-CH_2, соответственно результате образуются мономерные, димерные (сдвоенные) или примерные (утроенные) кислоты, представляющие собой звенья, из которых была собрана цепь ДНК.

Нужно отметить, что кислотно-основные свойства нуклеиновых кислот обусловлены наличием в них фосфатных групп и присутствием азотистых оснований. Кислотно-основные свойства гетероциклических оснований влияют главным образом на состояние и прочность водородных связей и стэкинг-взаимодействий, стабилизирующих вторичную структуру ДНК.

Вторичная структура макромолекул является стабильной лишь в определенных условиях. Изменения температуры, растворителя, pH, ионного состава среды может привести к разрушению слабых водородных связей и превращению упорядоченной структуры в клубок, характеризующийся случайным расположением элементов цепи. Происходит переход спираль – клубок. Такой переход сходен с фазовым переходом, поэтому иногда этот процесс называют плавлением. Этот процесс называется денатурацией или плавлением нуклеиновых кислот.

Таким образом, все внешние факторы, которые приводят к ослаблению или нарушению водородных связей или стэкинг-взаимодействий, вызывают денатурацию нуклеиновых кислот. При этом происходит нарушение вторичной и третичной структуры нуклеиновых кислот, но сохраняется первичная структура молекул.

Денатурация или *плавление* – расхождение цепей ДНК при нагревании ДНК ~100^0С или при повышении pH.

Расхождение цепей происходит из-за разрушения слабых водородных связей и плоскостных взаимодействий между основаниями (Рис. 4.13).

На денатурацию также влияют: ионы одно- и двухвалентных металлов, белки, нейтрализующие отрицательные заряды фосфатных групп.

При нагревании ДНК ведет себя подобно кристаллам: двухцепочечная молекула ”расплетается “ на составляющие ее цепи в пределах небольшого температурного интервала. Поэтому денатурацию ДНК нередко называют плавлением, а температуру, при которой ДНК денатурирована на 50%, – температурой плавления $T_{пл}$.

Температура плавления зависит от относительного содержания пар гуанин – цитозин и аденин – тимин, поскольку первая пара более прочная. Денатурация ДНК является процессом кооперативным, т.е. каждое предшествующее изменение повышает вероятность последующего. Так, если в определенном месте спирали происходит нарушение водородных связей, то это приводит к нарушению стэкинг-взаимодействий, что облегчает разрыв последующих водородных связей и т. д.

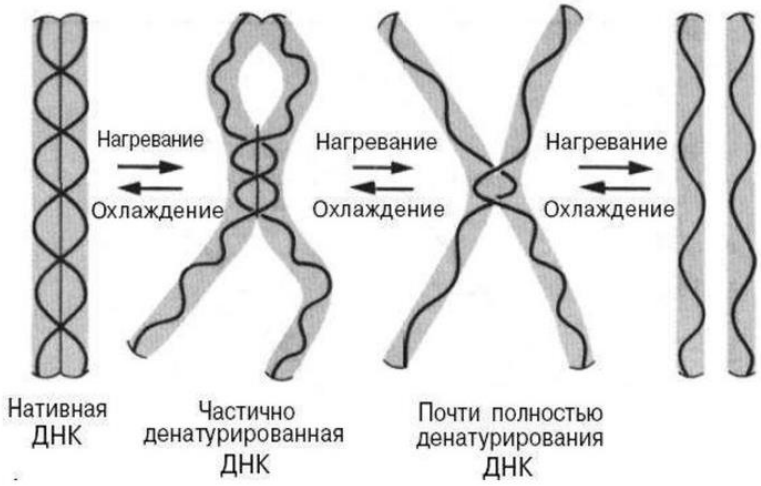


Рисунок 4.13 - Процесс денатурации ДНК

Разрушенная двуспиральная структура в определенных условиях может быть восстановлена, по крайней мере частично. Этот процесс называют *ренатурацией*. Ренатурация происходит, если раствор денатурированной ДНК выдерживать определенное время в условиях, когда двуспиральная структура стабильна. Скорость ренатурации зависит от многих факторов, и в первую очередь от так называемой сложности ДНК, которая представляет собой число нуклеотидных пар в неповторяющихся последовательностях ДНК.

При резком понижении температуры или pH правильное воссоединение комплементарных цепей затрудняется из-за спаривания оснований локально комплементарных участков в пределах одной или разных цепей.

Ренатурация широко применяется для исследования структуры ДНК. В частности, она используется для изучения сходства и различий разнородных ДНК. Две ДНК из разных источников денатурируют и затем смесь их ренатурируют. При этом, наряду с исходными нативными молекулами, образуются гибридные молекулы.

8. Основные типы РНК. Особенности вторичной и третичной структуры тРНК.

РНК, так же как ДНК, представляет собой биополимер, мономерами которого являются нуклеотиды.

Отличия РНК от ДНК:

- ✓ по локализации (цитоплазма);
- ✓ по функциям (обеспечивает биосинтез белка);
- ✓ по размерам;
- ✓ по строению: содержит урацил вместо тимина, включают другую пентозу – рибозу (вместо дезоксирибозы).

Существует несколько видов одноцепочечных РНК. Их названия обусловлены выполняемой функцией или место нахождением в клетке.

Информационная (матричная) РНК (иРНК). Этот вид наиболее разнороден по размерам и структуре. иРНК представляет собой незамкнутую полинуклеотидную цепь. Она синтезируется в ядре при участии фермента РНК-полимеразы, комплементарна участку ДНК, на котором происходит ее синтез. Несмотря на относительно низкое содержание (3-5% РНК клетки), она выполняет важнейшую функцию в клетке: служит в качестве матрицы для синтеза белков, передавая информацию об их структуре с молекул ДНК. Каждый белок клетки кодируется специфической иРНК, поэтому число их типов в клетке соответствует числу видов белков.

Рибосомная РНК (рРНК). Это одноцепочечные нуклеиновые кислоты, образующие в комплексе с белками рибосомы — органеллы, на которых происходит синтез белка. Рибосомные РНК синтезируются в ядре. Информация об их структуре закодирована в участках ДНК, которые расположены в области вторичной перетяжки хромосом. Рибосомные РНК составляют 80% всей РНК клетки, поскольку в клетке имеется огромное количество рибосом. Рибосомные РНК обладают сложной вторичной и третичной структурой, образуя петли на комплементарных участках, что приводит к самоорганизации этих молекул в сложное по форме тело. В состав рибосом входит три типа рРНК у прокариот и четыре типа рРНК у эукариот.

Транспортная (трансферная) РНК(тРНК). Молекула тРНК состоит в среднем из 80 нуклеотидов. Содержание тРНК в клетке – около 15% всей РНК. Функция тРНК – перенос аминокислот к месту синтеза белка. Число различных типов тРНК в клетке невелико (20-60). Все они имеют сходную пространственную организацию.

Вопрос о вторичной структуре одноцепочечных РНК наиболее подробно изучен для транспортных РНК.

Вторичная структура тРНК формируется за счет образования максимального числа водородных связей между внутримолекулярными комплементарными парами азотистых оснований. В результате образуются биспиральные ветви, заканчивающихся петлями из неспаренных нуклеотидов. Пространственное изображение вторичных структур всех тРНК имеет форму клеверного листа.

В ”клеверном листе “ различают четыре обязательные ветви: акцепторную (служит местом присоединения аминокислоты), антикодоновую (узнает кодон в иРНК в процессе трансляции) и две боковые. Кроме того, могут содержать короткую пятую (дополнительную) ветвь.

Акцепторная ветвь обеспечивает адапторную функцию тРНК. Т-Ветвь обеспечивает взаимодействие тРНК с рибосомой. Д-ветвь обеспечивает взаимодействие тРНК с соответствующей аминоацил-тРНКсинтетазой. Функции пятой дополнительной ветви пока мало исследованы, предположительно она уравнивает длину разных молекул тРНК(рис 4.14).

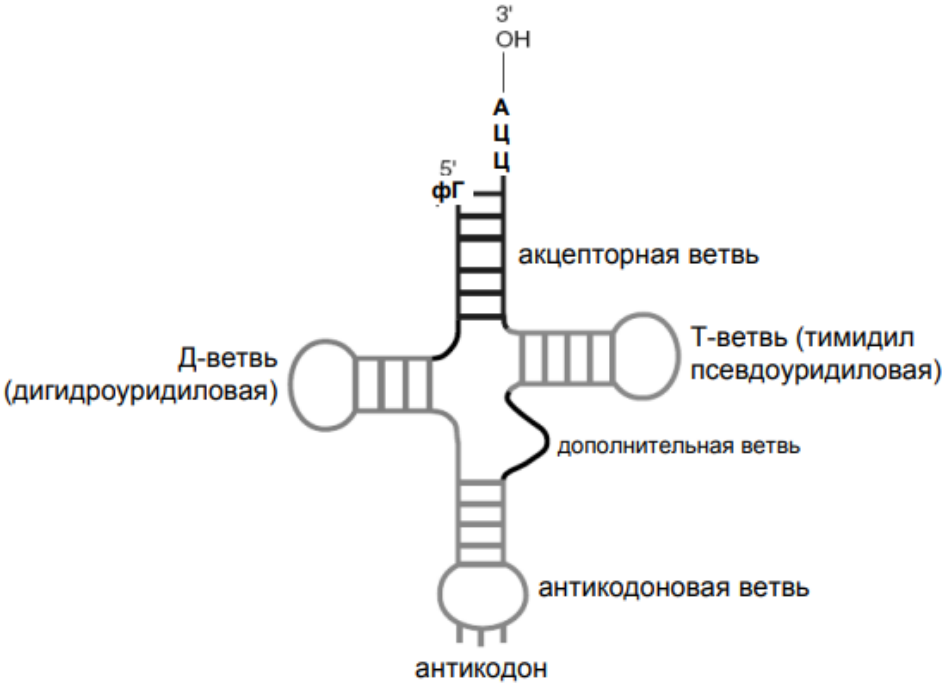


Рисунок 4.14 – Вторичная структура тРНК

Благодаря внутрицепочечкым водородным связям молекула тРНК приобретает характерную вторичную структуру, называемую клеверным листам. Трехмерная же модель тРНК выглядит несколько иначе. В тРНК выделяют четыре петли: акцепторную (служит местом присоединения аминокислоты), антикодоновую (узнает кодон в иРНК в процессе трансляции) и две боковые. Кроме того, могут содержать короткую пятую (дополнительную) ветвь.

На долю тРНК приходится 10-15% всей РНК клетки. Она выполняет функцию транспорта аминокислот к рибосомам, на которых происходит сборка полипептидных последовательностей белка.

Все тРНК имеют общие черты как в их первичной структуре, так и в способе складывания полинуклеотидной цепи во вторичную структуру за счет взаимодействий между основаниями нуклеотидных остатков. Особенность тРНК – наличие стабильной третичной структуры. Четыре двухцепочечных участка, попарно сближаясь, образуют примерно два витка

двойной спирали, расположенные почти перпендикулярно друг другу – так, что молекула приобретает Г-образную форму (рис. 4.15).

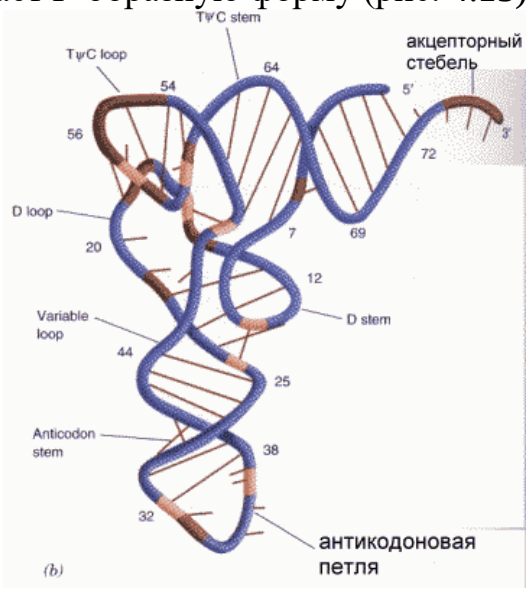


Рисунок 4.15 – Третичная структура тРНК

Третичная структура тРНК очень компактна и образуется путем сближения отдельных ветвей ”клеверного листа“ за счет дополнительных водородных связей и стэкинг-взаимодействий с образованием L-формы, или «локтевого сгиба».

Третичные структуры всех тРНК настолько похожи, что смесь различных тРНК образует кристаллы. В то же время имеющиеся в пространственной структуре незначительные отличия обеспечивают специфическое узнавание тРНК соответствующими аминоацил-тРНК-синтетазами.

Таким образом, можно сказать, что молекулы ДНК и РНК существенно различаются по своему строению и выполняемым функциям (табл. 3).

ТЕМА 5. БИОФИЗИКА МЕМБРАН.

1. Биомембрана как универсальный компонент биологических систем. Функции мембран.
2. Развитие представлений о структурной организации мембран. Жидкостно-мозаичная модель, ее основные характеристики.
3. Биофизическая характеристика молекулярных компонентов мембран: белков, липидов, углеводов и их комплексов. Вода как составной компонент биомембран.
4. Типы межмолекулярных взаимодействий в мембранах, их природа и роль в стабилизации мембранных структур.
5. Основные типы моделей, предложенных в мембранологии для объяснения строения и функционирования мембран.
6. Свойства и параметры биомембран.
7. Подвижность компонентов биомембраны. Вращательное движение, латеральная и вертикальная диффузия мембранных липидов.
8. Фазовые переходы в мембранах. Жидкие кристаллы в структуре мембран, их свойства. Кооперативные переходы мембран, факторы, инициирующие их.
9. Понятие о доменовой структуре мембран.

1. Биомембрана как универсальный компонент биологических систем. Функции мембран.

Элементарная живая система, способная к самостоятельному существованию, развитию и воспроизведению – живая клетка – основа строения всех животных, растений и микроорганизмов. Важнейшим условием существования клетки является:

1) автономность по отношению к окружающей среде (вещество не должно смешиваться с веществом окружения, должна соблюдаться автономность химических реакций в клетке и ее отдельных частях);

2) связь с окружающей средой (непрерывный, регулируемый перенос вещества и энергии между клеткой и окружающей средой).

Живая клетка – термодинамически открытая система.

Таким образом, важнейшим условием существования клетки, и, соответственно, жизни является нормальное функционирование биологических мембран.

Биомембраны – функционально активные поверхностные структуры толщиной в несколько молекулярных слоев, ограничивающие цитоплазму и большинство органелл клетки, а также образующие единую внутриклеточную систему канальцев, складок, замкнутых областей. Биологические мембраны имеются во всех клетках. Их значение определяется важностью функций, которые они выполняют в процессе нормальной жизнедеятельности, а также многообразием заболеваний и патологических состояний, возникающих при различных нарушениях

мембранных функций и проявляющихся практически на всех уровнях организации – от клетки и субклеточных систем до тканей, органов и организма в целом. Мембрана – динамическая надмолекулярная структура, толщина которой много меньше ее площади. Следовательно, мембрана – двумерное образование (h ~ 8-10 нм).

К основным функциям биологических мембран относят:

- ✓ *барьерная* – обеспечивает селективный, регулируемый, пассивный и активный обмен веществом с окружающей средой (селективный (избирательный) – значит: одни вещества переносятся через биологическую мембрану, а другие не переносятся; регулируемый – значит: в зависимости от генома и функционального состояния клетки проницаемость мембраны для определенных веществ меняется);
- ✓ *матричная* – обеспечивает определенное взаимное расположение и ориентацию мембранных белков, обеспечивает их оптимальное взаимодействие;
- ✓ *механическая* – обеспечивает прочность и автономность клетки, внутриклеточных структур.

Биологические мембраны могут также выполняют следующие функции:

- ✓ *энергетическую* – синтез АТФ на внутренних мембранах митохондрий и фотосинтез в мембранах хлоропластов;
- ✓ *генераторную* – генерация и проведение биопотенциалов;
- ✓ *рецепторную* – механическая, акустическая, обонятельная, зрительная, химическая, терморецепция – мембранные процессы.
- ✓ *и другие функции.*

В настоящее время не вызывает сомнений, что биологические мембраны образуют наружную оболочку всех живых клеток, а также участвуют в формировании многочисленных внутриклеточных органелл.

2. Развитие представлений о структурной организации мембран. Жидкостно-мозаичная модель, ее основные характеристики.

В 1902 г. Э. Овертон предложил первую модель строения биологических мембран. Изучая проницаемость клеточных мембран, что через мембраны лучше всего проникают вещества, хорошо растворимые в липидах, и на основании этого было сделано предположение, что биологические мембраны состоят из тонкого слоя фосфолипидов. Так как, на поверхности раздела полярной и неполярной среды молекулы фосфолипидов образуют мономолекулярный слой. Их полярные ”головы “ погружены в полярную среду, а неполярные ”хвосты “ ориентированы в сторону неполярной среды. Поэтому предположили, что биологические мембраны построены из монослоя липидов.

В 1925 г. Гортер и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в 2 раза больше суммарной площади эритроцитов. Была высказана идея, что липиды в мембране

располагаются в виде молекулярного бислоя.

В 1935 г. Коул и Кертис определили электрические параметры биологических мембран: высокое электрическое сопротивление (≈10^7 Ом·м^2) и большая электрическая емкость (≈0,5·10^{-2} Ф/м^2).

Биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор, в котором пластинами являются электролиты внеклеточного раствора и цитоплазмы с погруженными в них головками липидных молекул. Проводники разделены диэлектрическим слоем, образованным неполярной частью липидных молекул -– двойным слоем их хвостов. Липиды – диэлектрики с диэлектрической проницаемостью ε ≈ 2.

Емкость плоского конденсатора:

$$C = \frac{\varepsilon\varepsilon_0 S}{d} \qquad (5.1)$$

где ε_0 – электрическая постоянная = $8{,}85\cdot10^{12}$ *Ф/м*; d – расстояние между пластинами конденсатора; *S* – площадь пластины.

Удельная емкость (на единицу площади):

$$C_{уд} = \frac{\varepsilon\varepsilon_0}{d} \qquad (5.2)$$

Отсюда можно найти расстояние между пластинами конденсатора, соответствующее толщине липидной части мембраны

$$d = \frac{\varepsilon\varepsilon_0}{C_{уд}} = 3{,}5 \text{ нм} \qquad (5.3)$$

В 1935 г. Ф.Даниэлли и Г.Девсон выдвинули гипотезу о строении биологических мембран, согласно которой мембрана состоит из двойного липидного слоя, покрытого с двух сторон слоями глобулярных белков, так называемая ”бутербродная модель“ – модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течении почти 40 лет (рис.5.1).

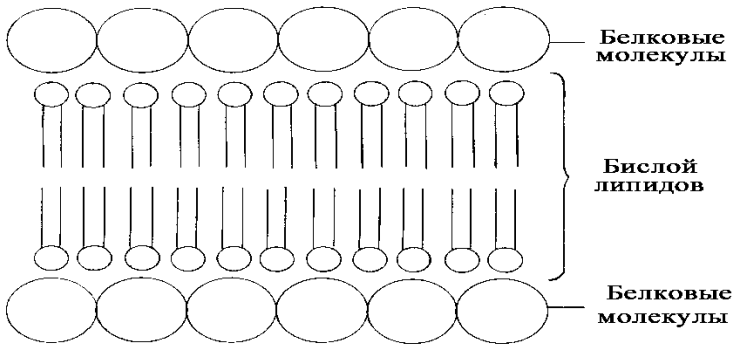


Рисунок 5.1 – ”Бутербродная“ модель строения мембраны

В 1964 г. Дж. Робертсон предложил унитарную схему асимметричного

строения мембраны. В соответствии с этой схемой белки могут разворачиваться на поверхности двойного липидного слоя под действием сил электростатического взаимодействия с заряженными головками фосфолипидов мембран; на наружной поверхности мембраны располагаются еще и молекулы гликопротеинов. Однако под влиянием новых фактов, и в первую очередь обнаружения зернистой структуры мембран, которая просматривалась на снимках, полученных при большом увеличении, первоначальные представления о трехслойности мембран были пересмотрены.

Совокупность результатов, полученных физическими и химическими методами исследования, дала возможность предложить новую *жидкостно-мозаичную модель строения биологических мембран* (Сингер и Никольсон, 1972 г.). Согласно Сингеру и Никольсону, структурную основу биологической мембраны образует двойной слой фосфолипидов, инкрустированный белками (рис. 5.2).

Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии. Это позволяет сравнить мембрану с фосфолипидным морем, по которому плавают белковые «айсберги». Одним из подтверждений жидкостно-мозаичной модели является и тот факт, что, как установил химический анализ, в разных мембранах соотношение между содержанием белков и фосфолипидов сильно варьирует: в миелиновой мембране белков в 2,5 раза меньше, чем липидов, а в эритроцитах, напротив, белков в 2,5 раза больше, чем липидов. При этом, согласно современной модели, соотношение количества белков и липидов во всех мембранах должно быть примерно одинаково. Тот факт, что не вся поверхность биологической мембраны покрыта белками, показал и метод ядерного магнитного резонанса. Кроме фосфолипидов и белков, в биологических мембранах содержатся и другие химические соединения.

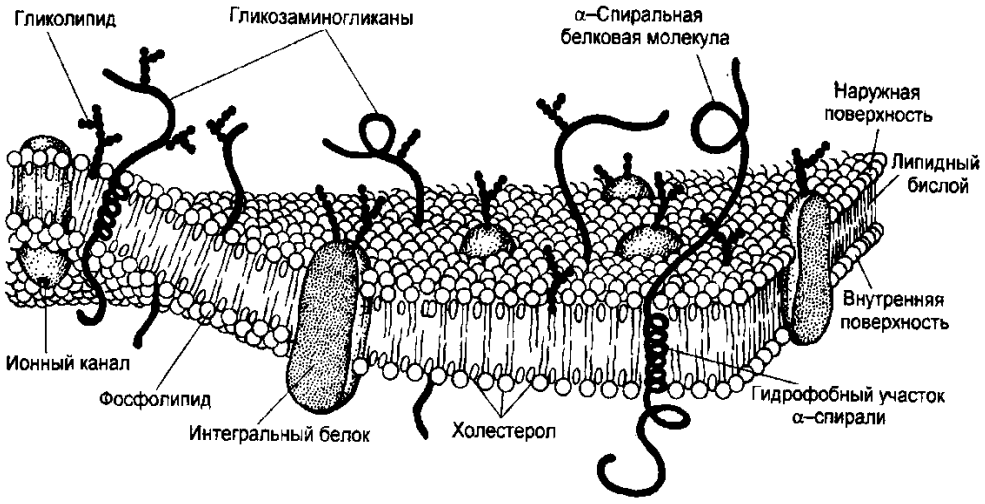


Рисунок 5.2 – Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны.

Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны в настоящее время общепринята, однако дает довольно упрощенную картину строения

мембраны. Обнаружено, что белковые ”айсберги“ не всегда свободно плавают в липидном море, а могут быть ”заякорены“ на внутренние (цитоплазматические) структуры клетки. К таким структурам относятся микрофиламенты и микротрубочки. Микротрубочки – полые цилиндры диаметром около 300 нм из особого белка (тубулина) играют важную роль в функционировании клетки. Не все липиды в мембране расположены по принципу бислоя. Физические методы исследования показали, что липидная фаза мембран содержит также участки, где липидные молекулы не образуют двойной слой.

Основная область приложения биофизики – структурная основа мембраны, а именно двойной слой фосфолипидных молекул. Молекула фосфолипида лецитина содержит полярную голову (производную фосфорной кислоты) и длинный неполярный хвост (остатки жирных кислот). В голове фосфолипидной молекулы лецитин имеются две заряженные группы, расположенные на некотором расстоянии друг от друга. Два разноименных заряды, равные по абсолютной величине, образуют электрический диполь.

Полярные головы молекул фосфолипидов – гидрофильны, а их неполярные хвосты – гидрофобны. В смеси фосфолипидов с водой термодинамически выгодно, чтобы полярные головы были погружены в состоящую из полярных молекул воду, а их неполярные хвосты были бы расположены подальше от воды. Такое расположение амфифильных (имеющих и гидрофильную, и гидрофобную части) молекул соответствует наименьшему значению энергии Гиббса по сравнению с другими возможными расположениями молекул. Очень существенным является то обстоятельство, что молекулы фосфолипидов имеют два хвоста. Такая молекула в пространстве имеет форму, близкую к цилиндру. Из молекул фосфолипидов в водной среде происходит самосборка бислойной мембраны. Присутствие молекул с одним хвостом (лизолецитин), имеющих в пространстве форму, близкую к конусу, разрушает клеточные мембраны. Фосфолипидные молекулы, лишенные одного из хвостов, образуют поры в бислойной мембране, т.е. нарушается барьерная функция мембран.

Недостатки жидкостно-мозаичной модели строения мембраны:

1. Не все белки свободно диффундируют в жидком липидном бислое.
2. Имеются отличия от классического липидного бислоя за счет липидного полиморфизма. Наблюдаются вариации толщины и образование небислойных структур.
3. Наблюдается неоднородность мембраны за счет явления латеральной гетерогенности бислоя (рафты).
4. Мембранные липиды имеют не меньшее значение, чем мембранные белки.

Разрабатывается метаморфно-мозаичная и рафтовая модели БМ

Жидкостно-мозаичная модель строения мембран названа ”последней классической“ теорией потому что, с одной стороны, она явно устарела, а с

другой – современные представления не достигли еще той лаконичной изящности, чтобы их начала можно было бы легко изложить.

3. Биофизическая характеристика молекулярных компонентов мембран: белков, липидов, углеводов и их комплексов. Вода как составной компонент биомембран.

Исследования показали, что основными химическими компонентами мембран являются липиды (около 30%), белки (около 60%) и углеводы (около 10%). Минорными компонентами мембран являются нуклеиновые кислоты, полиамины, неорганические ионы.

Липиды. Основными липидами мембран являются фосфолипиды, гликолипиды и стероиды.

Фосфолипиды построены по единому плану, их молекула имеет полярную головку и два неполярных хвоста. В состав головки фосфолипида обязательно входят:

- ✓ остаток спирта (реже аминокислоты);
- ✓ остаток фосфорной кислоты;
- ✓ глицерин (глицерофосфолипиды) либо многоатомный спирт сфингозин (сфингофосфолипиды).

.*Глицерофосфолипиды* являются основным компонентом большинства мембран и состоят из спирта глицерола, 2-х остатков жирных кислот, остатка фосфорной кислоты и спирта.

В зависимости от того, какой именно спирт (аминокислота) входит в состав головки молекулы, различают несколько классов глицерофосфолипидов.

Самые распространенные:

- ✓ фосфатидилхолин, содержащий спирт холин;
- ✓ фосфатидилэтаноламин, содержащий спирт этаноламин;
- ✓ фосфатидилинозитол, содержащий циклический спирт инозитол;
- ✓ фосфатидилсерин, содержащий остаток гидроксиаминокислоты, – серина.

Сфингомиелины содержат спирт сфингозин. Сфингомиелины находятся преимущественно в миелиновых оболочках.

Гликолипиды – липиды, содержащие 2 остатка жирных кислот, спирт сфингозин и остатки моно- (цереброзиды) или олигосахаров (ганглиозиды).

Основным стероидом в мембранах является холестерол, который находится преимущественно в плазматической мембране клеток.

Фосфолипиды выполняют структурную функцию, образуя липидный бислой мембраны. Кроме того, они могут выполнять и важные физиологические функции.

Гликолипиды широко представлены в различных тканях, в частности в нервной. Они локализованы преимущественно на наружной поверхности цитоплазматической мембраны, где их углеводные компоненты входят в число других углеводов клеточной поверхности.

Холестерин выполняет важную роль в модификации бислоя, регулируя упаковку и подвижность фосфолипидов мембраны. Для мутантных клеток, которые не могут синтезировать холестерол, необходимо его присутствие в культуральной среде. В его отсутствии мембраны быстро разрушаются.Также холестерин служит предшественником в образовании половых гормонов, гормонов коры надпочечников, а также желчных кислот.

Белки. Доля белка в общей массе мембраны может колебаться в очень широких пределах – от 18% в миелине до 75% в митохондриальной мембране.

Классификация белков по расположению в мембране (рис. 5.3).

- ✓интегральные белки являются, как правило, гидрофобными и легко встраиваются в липидный бислой.
- ✓периферические белки обладают меньшей глубиной проникновения в липидный бислой и, соответственно, более слабо взаимодействуют с липидами мембраны, оказывая на них гораздо меньшее воздействие, чем интегральные.

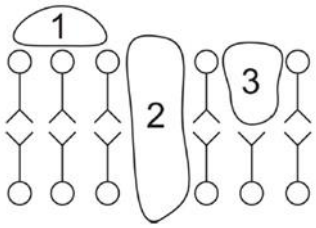


Рисунок 5.3 – Классификация белков по месту их расположения в мембране. 1 – периферические; 2 – интегральные;3 – полуинтегральные

Классификация белков по характеру взаимодействия с мембраной:

- ✓монотопические белки взаимодействуют с поверхностью мембраны (моно– одним из слоев липидов);
- ✓ битопические пронизывают мембрану насквозь (би – двумя слоями липидов);
- ✓политопические пронизывают мембрану несколько раз (поли – многократное взаимодействие с липидами).

Понятно, что первые относятся к периферическим белкам, а вторые и третьи – интегральным.

Классификация белков по выполняемой ими функции:

- ✓ структурные белки;
- ✓ белки-ферменты;
- ✓ белки-рецепторы;
- ✓ транспортные белки;
- ✓ белки цитоскелета клетки выделяют в особую группу, так как они не являются компонентами мембраны, примыкая к ней с цитоплазматической стороны. Белки цитоскелета входят в состав всех его компонентов: миофиламенты содержат молекулы белка актина; в состав микротрубочек входит белок тубулин, промежуточные филаменты также содержат более полиморфный белковый комплекс.

Цитоскелет не только обеспечивает эластичность мембраны, противостоит изменениям объема клетки, но, по-видимому, участвует и в различных внутри- и внеклеточных механизмах регуляции.

Углеводы. В составе мембран углеводы находятся только в соединении с белками (гликопротеины и протегликаны) и липидами (гликолипиды).

Функции углеводов:

- ✓ определяют межклеточное взаимодействие;
- ✓ участвуют в системе иммунитета (антигенные детерминанты групп крови);
- ✓ входят в состав рецепторов.

Вода. С водой связаны многие структурно-функциональные свойства мембран, а также процессы стабилизации и формирования мембран. Вода входит в состав мембран и делится на свободную, связанную и захваченную. Наименьшей подвижностью и растворяющей способностью обладает внутренняя *связанная вода*. Она присутствует в липидной зоне мембран в виде отдельных молекул. Основную часть связанной воды представляет вода гидратных оболочек. Эта вода окружает полярные группы белков и липидов, имеет минимальную подвижность и практически не обладает свойствами растворителя.

Свободная вода находится в порах и каналах. По ней могут перемещаться свободные ионы. Она является хорошим растворителем, подвижная и обладает всеми свойствами жидкой воды.

Захваченная вода обладает изотопным движением, характерным для жидкой воды, является хорошим растворителем. Она встречается в центральной зоне мембран, между ее липидными слоями, но эта вода пространственно делится как с внеклеточной жидкостью, так и с цитоплазмой. У нее нет возможности свободно с ними обмениваться.

4. Типы межмолекулярных взаимодействий в мембранах, их природа и роль в стабилизации мембранных структур.

В реальных условиях не только природные, но часто и искусственные мембраны существенно неоднородны по липидному или белковому составу. В структурной организации стабилизации таких систем наряду с обычными гидрофобными эффектами важное место занимают так называемые липид-белковые и белок-белковые взаимодействия. Эти термины используют для обозначения широкого круга разнообразных, отличающихся по механизмам явлений, которые приводят неравномерному распределению молекулярных компонентов в мембранах – микрогетерогенности мембран.

Липид-липидные взаимодействия. Этот термин обычно используют, чтобы выделить специфические взаимодействия, возникающие в мембранных системах вследствие неоднородности липидного состава. Среди различных факторов, определяющих состояние липидов в мембранах, наибольшее значение имеют межмолекулярные взаимодействия:

- ✓ электростатические силы притяжения и отталкивания между

заряженными полярными головками,

- ✓ стереохимические факторы, учитывающие форму молекул липидов и характер расположения их головок и гидрофобных углеводородных хвостов,
- ✓ силы гидратации,
- ✓ водородные связи между головками липидов.

Гидратационные силы играют важную роль при взаимодействии фосфолипидных мембран между собой. Сохранение слоя воды около наружной полярной поверхности мембраны препятствует сближению мембран и их непосредственному контакту. Для удаления такого слоя воды необходимо нарушить его состояние и затратить энергию, что собственно и лежит в основе проявления гидратационных сил.

Гидратация липидов сильно зависит от их природы и во многом определяет их физические свойства. Чаще всего меньшая гидратация наблюдается у липидов с донорными и акцепторными группами, принимающие участие в образовании водородных связей.

Липид-белковые взаимодействия. В основе данных взаимодействий лежат межмолекулярные дисперсионные и электростатические силы, водородные связи или другие эффекты связывания. Липид-белковые взаимодействия и обусловленные ими явления условно классифицируют следующим образом: взаимодействия белок - липидный монослой; взаимодействия белок - липидный бислой; липид-белковые взаи- взаимодействия в мембранах, включающие липид-зависимые ферменты.

1. *Взаимодействие белков с липидными монослоями* обнаруживается при включении в монослои радиоактивно - меченых белков (альбумин, цитохром С). Электростатические взаимодействия между белками и монослоем проявляются в виде резкого изменения сорбции белков на заряженных монослоях при отклонении от изоэлектрической точки белков.

2. *Взаимодействие белок-липидный бислой* – высокоспецифичный и многостадийный процесс, характеризующийся наряду с поверхностной сорбцией внутримембранным встраиванием белков. Экспериментальным критерием встраивания белков в липидный бислой обычно служит изменение ионной проницаемости мембран. В модельных экспериментах встраивание мембранных белков в искусственные бислойные системы играет решающую роль в их успешной функциональной реконструкции. Такие взаимодействия наблюдаются Липид-белковое взаимодействие в мембранах проявляется при образовании внутри мембран специфичного липидного окружения вокруг белковых молекул. Такие липиды называются связанными или аннулярными (от англ. annular - кольцеобразный). Функциональное значение аннулярных липидов обычно интерпретируют, исходя из экспериментальных наблюдений, согласно которым большая активность белков проявляется в менее вязком липидном окружении.

3. *Липид-белковые взаимодействия в мембранах, включающие липид-зависимые ферменты.* В настоящее время описано несколько десятков

мембранных ферментов, активность которых зависит от присутствия липидов. Например, для работы Na^+/K^+-АТФазы необходимыми являются такие липиды как фосфатидилсерин, фосфатидилглицерол. Некоторые из мембранных ферментов, такие как, митохондриальные электрон-транспортные белки, слабо чувствительны к липидному составу, но эффективно активируются суммарной липидной фракцией, содержащей некоторое количество ненасыщенных липидов.

Для достижения максимальной активности других ферментов тре-буются липиды строго определённого состава. Эти ферменты проявляют специфичность по отношению к полярным головкам липидов и слабо зависят от жирнокислотного состава. В противоположность этому функциональная активность, например, родопсина зависит от длины углеводородных цепей липидов.

Белок-белковые взаимодействия проявляются в мембранах в виде обратимой внутримембранной агрегации мембранных белков, часто сопровождающейся изменением функциональной и ферментативной активности системы.

В основе агрегационных взаимодействий могут лежать следующие явления:

- ✓ силы электростатического характера;
- ✓ более сложный характер межмолекулярного взаимодействия, определяемый особенностями липидного окружения белков;
- ✓ локальная кристаллизация липидов в мембранах.

5. Основные типы моделей, предложенных в мембранологии для объяснения строения и функционирования мембран.

Биологические мембраны обычно имеют сложную структуру и отличаются относительно низкой устойчивостью к механическим, химическим и электрическим воздействиям. Поэтому для изучения основных свойств мембран широко используются многочисленные искусственные модельные мембранные системы.

Изучение физических свойств липидного слоя мембран осуществляется преимущественно на двух видах искусственных мембранных структур, образованных синтетическими фосфолипидами или липидами, выделенными из биологических источников: липосомах и бислойных липидных мембранах.

Бимолекулярные липидные мембраны (БЛМ), называемые также бислойными или ”черными“ липидными мембранами, представляют собой широко используемую экспериментальную модель, которая позволяет воспроизводить в искусственных условиях многие свойства и характеристики биологических мембран. Структурной сновой таких мембран является одиночный липидный бислой, разделяющий две водные фазы и прикрепленный по периметру к инертной подложке из гидрофобного материала типа полиэтилена или тефлона. Самопроизвольное образование

мембраноподобной пленки на небольшом отверстии в перегородке, разделяющей два водных отсека, было впервые описано американским ученым П. Мюллером в 1962 г.

Способ формирования бислойных мембран технически прост. На маленькое отверстие диаметром около 1 мм в пластине из фторопласта, погруженной в водную среду, наносят каплю раствора липидов (в спирте, хлороформе, гептане). Растворитель диффундирует из раствора в воду, и на отверстии остается пленка липида. Эта пленка спонтанно утончается до тех пор, пока не образуется бимолекулярный слой толщиной около 6 нм. Лишний липид собирается в виде ободка у краев отверстия.

Для формирования бимолекулярных липидных мембран могут быть использованы в чистом виде или в смеси практически любые липиды. В первых работах мембраны приготовляли из плохо охарактеризованных тканевых липидных экстрактов и затем получали их из индивидуальных липидов, как природных, так и синтетических. При формировании БЛМ применяется широкий набор различных растворителей, однако наилучшие результаты дает использование высших нормальных алканов, таких, как н-декан или н-тетрадекан.

Существенной является проблема стабильности бислойных мембран, так как рано или поздно, а чаще всего в самый неподходящий момент любая мембрана лопается. Нестабильность бислойных мембран вызывают разнообразные факторы, такие, как наличие нежелательных примесей в образце, окисление липидов, загрязнение оборудования и посуды, неподходящий для формирования растворитель, колебания температуры, вибрация, резкие перепады концентрации и вязкости среды и т. д. Тем не менее образующийся липидный бислой обладает исключительно высокой механической прочностью и эластичностью. Бислойные мембраны выдерживают осторожное прикосновение стеклянной палочки, несколько прогибаясь при ее нажиме. Они легко деформируются под действием механического или осмотического давления и т.д.

Лучше всего эта модельная система подходит для измерения электрических характеристик липидного бислоя, таких, как электрическая емкость, проводимость, потенциал пробоя, мембранные потенциалы и др.

Таким образом, возможности практического использования бислойных мембран в различных исследованиях весьма широки и перспективы их применения непрерывно растут.

Другой модельной системой, хорошо воспроизводящей многие свойства биологических мембран, являются *липосомы* – это липидные везикулы (пузырьки), образующиеся из фосфолипидов в водных растворах. Чтобы получить липосомы, спиртовый раствор фосфолипидов впрыскивают в большой объем водного раствора фосфолипиды, нерастворимые в воде, образуют мелкие пузырьки, стенки которых состоят из одного липидного бислоя (однослойные липосомы). Все неполярные гидрофобные хвосты находятся внутри мембраны, и ни один из них не соприкасается с полярными

молекулами воды.

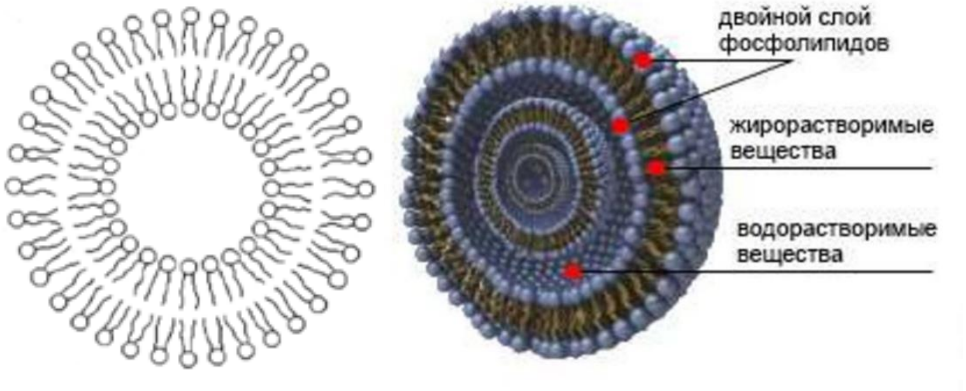


Рисунок 5.5 – Виды липосом

Использование липосом в качестве модельных систем оказалось исключительно плодотворным и позволило выяснить целый ряд вопросов, касающихся молекулярной организации и функционирования биологических мембран.

В зависимости от размера частиц и числа образующих их липидных слоев липосомы подразделяются на три основных типа:

- ✓ многослойные (мультиламеллярные) липосомы, имеющие диаметр 5-10 мкм и насчитывающие до нескольких десятков, а то и сотен липидных бислоев;
- ✓ малые моноламеллярные липосомы, образованные одинарным липидным бислоем и имеющие диаметр в пределах 20-50 нм;
- ✓ крупные моноламеллярные липосомы, также образованные одиночным бислоем, с диаметром обычно от 50 до 200 нм, а иногда и более.

Как модели, липосомы значительно ближе к биологическим мембранам, чем бислойные липидные пленки. Как и биологические мембраны, они представляют собой замкнутые системы, что делает их пригодными для изучения пассивного транспорта ионов и малых молекул через липидный бислой. В отличие от БЛМ, липосомы достаточно стабильны и не содержат органических растворителей. Состав липидов в липосомах можно произвольно варьировать и таким образом направленно изменять свойства мембраны. В настоящее время хорошо разработаны методы включения функциональноактивных мембранных белков в липосомы. Такие искусственные белково-липидные структуры обычно называются протеолипосомами. Благодаря возможности реконструкции мембраны из ее основных компонентов удается моделировать ферментативные, транспортные и рецепторные функции клеточных мембран. В липосомы можно ввести антигены, а также ковалентно присоединить антитела и использовать их в иммунологических исследованиях. Они представляют собой удобную модель для изучения действия многих лекарственных веществ, витаминов, гормонов, антибиотиков и т. д. Как уже отмечалось, при образовании липосом водорастворимые вещества захватываются вместе с

водой и попадают во внутреннее пространство липосом. Таким путем можно «начинять» липосомы различными веществами, включая лекарственные препараты, пептиды, белки и даже нуклеиновые кислоты и их фрагменты.

В настоящее время ведутся интенсивные работы по выяснению возможностей медицинского применения липосом в качестве средства доставки различных лекарственных препаратов в определенные органы и ткани с целью воздействия на целый организм.

6. Свойства и параметры биомембран.

Мембраны обладают следующими свойствами:

1. *Текучесть (жидкостность) мембраны.* Текучесть мембраны характеризуется способностью компонентов мембраны к движению. Текучесть мембраны определяется липидным составом, процентом полиненасыщенных жирных кислот и холестерола. Особое влияние на текучесть мембраны оказывает молекулы холестерола, погруженные в липидный бислой. Бактерии регулируют жидкостность своих мембран числом двойных связей в цепях жирных кислот фосфолипидов. Текучесть влияет на функцию мембраны. При повышении текучести увеличивается проницаемость для воды и других гидрофильных молекул. У животных и человека ненасыщенные жирнокислотные остатки глицерофосфолипидов и холестерол играют ключевую роль в поддержании жидкостности мембран.

2. *Избирательная проницаемость.* Это свойство обеспечивает регуляцию транспорта в клетку необходимых молекул, а также удаления из клетки продуктов метаболизма, т.е. активный обмен клетки и ее органелл с окружающей средой. Избирательная проницаемость мембран зависит от того, какие белки-переносчики в нее встроены. Избирательный транспорт необходим также для поддержания трансмембранного градиента ионов, служит основой всех биоэнергетических механизмов, определяет эффективность процессов рецепции, передачи нервного возбуждения и т.п.

3. *Асимметричность мембраны.* Клеточные мембраны замкнуты, они имеют внутреннюю и внешнюю поверхности, различающиеся по липидному и белковому составу – эту особенность мембран называют трансмембранной асимметрией. Характерная особенность биологических мембран – различный состав липидов по обе стороны бислоя.

Белки в мембранах расположены также асимметрично (расположение периферических белков, различная степень погружения интегральных белков). Наиболее асимметрично распределены в плазматической мембране гликолипиды и гликопротеины. Углеводные части гликолипидов и гликопротеинов выходят на наружную поверхность, иногда образуя сплошное покрытие на поверхности клетки – гликокаликс.

4. *Динамичность мембран.* Молекулы белков и липидов с высокой скоростью двигаются в плоскости мембраны (латеральная диффузия).

Кроме того, молекулы белков и липидов очень быстро вращаются вокруг своих продольных осей (вращательная диффузия).

Существует также перемещение молекул мембранных фосфолипидов поперек мембраны.

Биологические мембраны обладают высокой прочностью на разрыв, устойчивостью и гибкостью. По электроизоляционным свойствам они значительно превосходят многие изоляционные материалы, применяемые в технике.

7. Подвижность компонентов биомембраны. Вращательное движение, латеральная и вертикальная диффузия мембранных липидов.

Режим функционирования мембраны сильно зависит от: микровязкости липидного бислоя и подвижности фосфолипидных молекул в мембране, фазового состояния мембранных липидов. Отклонения биофизических характеристик липидного бислоя от нормы связано с разного рода патологиями. Важную роль в физиологии клетки играют фазовые переходы в биологических мембранах.

Липидная фаза биологических мембран при физиологических условиях (температуре, давлении, химическом составе окружающей среды) находится в жидком агрегатном состоянии. Это доказано тремя биофизическими методами: флуоресцентный анализ, электронный парамагнитный резонанс, ядерный магнитный резонанс.

Биофизические исследования показали, что подвижность фосфолипидных молекул в мембране сравнительно велика, а вязкость мала. В нормальных физиологических условиях липидная часть мембраны находится в жидком агрегатном состоянии.

Изменение микровязкости липидного окружения мембранных белков-ферментов резко сказывается на их функционировании. Некоторые экспериментальные данные свидетельствуют о том, что значительное снижение вязкости липидной фазы мембраны.

Микровязкость мембраны у концов липидных хвостов меньше, чем около полярных голов, высокая подвижность липидных молекул обусловливает латеральную (боковую) диффузию.

Латеральная диффузия – это хаотическое тепловое перемещение молекул липидов и белков в плоскости мембраны. При латеральной диффузии рядом расположенные молекулы липидов скачком меняются местами и вследствие таких последовательных перескоков из одного места в другое молекула перемещается вдоль поверхности мембраны.

Скорость вращательного движения мембранных молекул довольно велика, и она зависит от размеров молекулы и свойств мембраны.

Флип-флоп – это диффузия молекул мембранных фосфолипидов поперек мембраны (рис. 5.6).

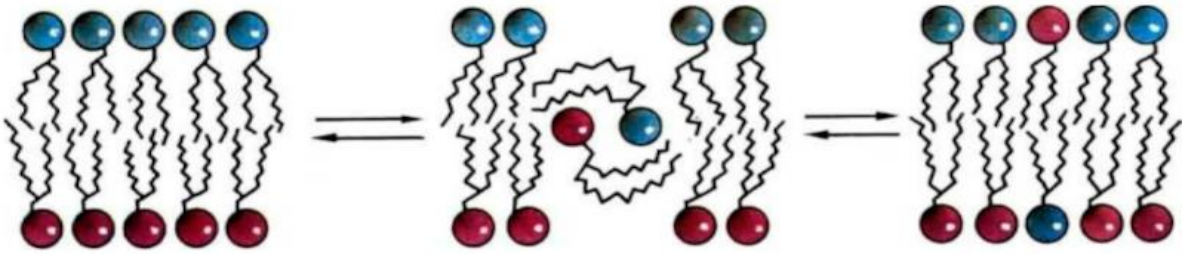


Рисунок 5.6 – Схема флип-флопа в бислоях фосфолипидных молекул.

Скорость перескоков молекул с одной поверхности мембраны на другую (флип-флоп) определена методом спиновых меток в опытах на модельных липидных мембранах – липосомах. Перескоки молекул с одной поверхности бислоя на другую совершаются значительно медленнее, чем перескоки при латеральной диффузии. Среднее время, через которое фосфолипидная молекула совершает флип-флоп (Т ~ 1 час), в десятки миллиардов раз больше среднего времени, характерного для перескока молекулы из одного места в соседнее в плоскости мембраны.

Сочетание быстрой диффузии молекул вдоль мембраны и очень медленной диффузии поперек мембраны имеет большое значение для функционирования мембран, а именно для матричной функции мембраны. Благодаря затрудненному переходу поперек мембраны поддерживается упорядоченность в молекулярной структуре мембраны, ее анизотропия, асимметрия (относительно плоскости мембраны) расположения липидных и белковых молекул, определенная ориентация белков-ферментов поперек мембраны. Все перечисленное имеет результирующее значение, например, для направленного переноса веществ через мембрану.

Мембранные белки так же, как и мембранные липиды, способны вращаться вокруг оси, перпендикулярной плоскости бислоя – вращательная диффузия, а также перемещаться в плоскости самой мембраны – латеральная диффузия. Однако они не могут перевертываться и осуществлять флип-флоп переход. Измерение скоростей латеральной диффузии различных белковых молекул во многих мембранах показало, что коэффициент диффузии может варьировать в довольно широком диапазоне значений – от 5×10^{-9} до 10^{-12} кв.см/с. Латеральная подвижность многих мембранных белков ограничена. Ограничение подвижности достигается с помощью барьеров, образованных при участии клеточных контактов особого рода (так называемые плотные контакты). Существует несколько возможных способов регуляции латеральной подвижности мембранных белков.

8. Фазовые переходы в мембранах. Жидкие кристаллы в структуре мембран, их свойства. Кооперативные переходы мембран, факторы, инициирующие их.

Вещество при разных температурах, давлении, концентрациях

химических компонентов может находиться в различных физических состояниях, например, газообразном, жидком, твердом, плазменном.

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

Таким образом, жидкокристаллическое состояние – физическое состояние, при котором есть дальний порядок во взаимной ориентации и расположении молекул, но агрегатное состояние жидкое.

Жидкие кристаллы образовываются не во всех веществах, а в веществах из «длинных молекул» (поперечные размеры которых меньше продольных).

Могут быть различные жидкокристаллические структуры (рис.5.7):

✓ нематическая (нитевидная), когда длинные молекулы ориентированы параллельно друг другу;

✓ смектическая (мылообразная) – молекулы параллельны друг другу и располагаются слоями;

✓ холестерическая – молекулы располагаются параллельно друг другу в одной плоскости, но в разных плоскостях ориентации молекул разные (повернуты на некоторый угол в одной плоскости относительно другой).

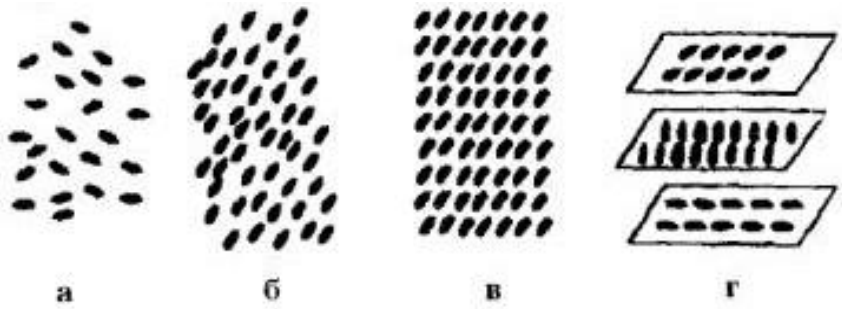


Рисунок 5.7 –Расположение молекул: а- аморфная фаза, б-нематическая фаза, в - смектическая фаза, г – холестерическая фаза).

Бислойная липидная фаза биологических мембран соответствует смектическому жидкокристаллическому состоянию.

Жидкокристаллические структуры очень чувствительны к изменению температуры, давления, химического состава, электрическому полю, что определяет динамичность липидных бислойных мембран – изменение их структуры при различных, даже небольших изменениях внешних условий или химического состава. При изменении условий вещество может перейти в другое фазовое состояние (например, из газообразного в жидкое, из жидкого в твердое, из одной кристаллической модификации в другую).

С понижением температуры мембраны переходят из жидкокристаллического состояния в твердокристаллическое (гель-состояние). При таком переходе сохраняется общая структура мембраны: липиды по-прежнему образуют двойной слой с обращенными внутрь

гидрофобными ”хвостами“, но порядок в системе еще более возрастает: ”хвосты“ липидов вытянуты строго параллельно друг другу, их колебания ограничены. Если в жидком состоянии площадь мембраны, приходящаяся на одну молекулу липида, составляет 0,58 нм^2, то в гель-состоянии эта величина уменьшается до 0,48 нм^2. Толщина мембраны при переходе в твердокристаллическое состояние увеличивается, но за счет уменьшения площади объем мембраны в целом уменьшается (рис 5.8).

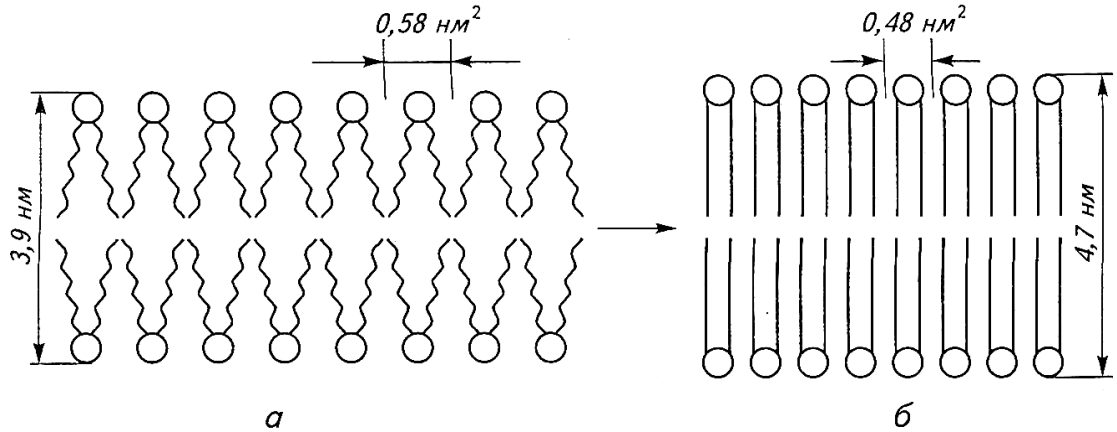


Рисунок 5.8 –Фазовый переход мембранных липидов из жидкокристаллического состояния (а) в гель-состояние (б) при понижении температуры.

Подвижность липидных молекул в обоих фазовых состояниях существенно отличается. В гель-состоянии липиды способны совершать только совместные колебания или вращательные движения. В жидком состоянии липидные ”хвосты“ имеют гораздо большую свободу, особенно в середине мембраны. Молекулы липидов жидкой мембраны могут находиться в двух конформациях: в полностью транс- и в двойной гош- конформации, в гель-состоянии реализуется только транс- конформация. Длина молекулы в гош-конформации меньше, чем в транс-, а ширина, наоборот – больше. Этим можно объяснить уменьшение толщины и увеличение площади мембраны, приходящейся на один липид, при переходе из гель- в жидкокристаллическое состояние.

Способность липидов жидкокристаллической мембраны переходить в гош-конформации способствует повышению ее проницаемости для некоторых гидрофильных низкомолекулярных соединений, например, воды.

Возможность изменения конфигурации цепей жирных кислот имеет большое значение для растворения в липидном слое и переноса через него различных молекул и ионов. Ион попадает в полость внутри липидного бислоя, образуемую за счет соответствующих изгибов окружающих цепей жирных кислот.

Такая полость называется кинком (от англ. слова kink – петля, изгиб). Кинки образуются в результате теплового движения молекул и ион может перемещаться в липидном слое мембраны, перескакивая из одного кинка в соседний.

При фазовых переходах из жидкокристаллического состояния в гель-

состояние и обратно в мембранах образуются поры диаметром 2-6 нм. То есть при фазовом переходе увеличивается проницаемость мембраны для ионов и низкомолекулярных соединений, способных проходить через такие поры.

Фазовый переход в мембранах происходит не мгновенно, а на протяжении некоторого температурного интервала. Температура фазового перехода – температура, при которой одна половина мембранных липидов находится в жидкокристаллическом состоянии, а другая половина – в твердокристаллическом. Температура фазового перехода зависит от липидного состава мембран: чем больше в ”хвостах“ липидов двойных связей, то есть чем больше степень ненасыщенности жирнокислотных остатков, тем ниже температура фазового перехода.

Фазовые переходы мембранных липидов носят кооперативный характер, то есть чем большее количество липидов совершило фазовый переход, тем легче это будет сделать остальным. В идеале, если на каком-либо участке одна молекула липида перешла из твердой в жидкокристаллическую фазу, то за этим сразу же последует фазовый переход всех липидов этого участка (закон ”все или ничего“). Такой участок называется кооперативной единицей, а число молекул, входящих в него – размером кооперативной единицы n.

Таблица 5.1 – Перечень стимулирующих агентов фазовых переходов и ответов на них.

Стимулы	Ответные реакции
pH	Химический ответ (стимуляция или ингибирование реакции)
Температура	Изменение формы (сжатие или разбухание) Изменение проницаемости
Химические или биохимические агенты	Разделение фаз (осаждение) Оптический ответ (помутнение, обесцвечивание, изменение цвета)
Растворители и соли	Изменение поверхностных свойств (становится несмачиваемой)
Механическое воздействие	Механический ответ (затвердевание или размягчение)
Электрическое поле	Электрический ответ (электрический сигнал или электрохимическая реакция)

9. Понятие о доменовой структуре мембран.

В настоящее время наибольшее признание получила платформенная модель мембраны, в которой ригидные участки (упорядоченные домены) отделены друг от друга жидкостными участками. Понятие доменной структуры собирательное, оно характеризует такие образования в плоскости мембраны, где внутренние связи в несколько раз сильнее по сравнению с внешними связями одного домена с другим, а его сохранность

поддерживается за счет молекулярных взаимодействий с белками, фосфолипидами и электролитным окружением. Такие упорядоченные платформы (домены) могут состоять из одного или разнородных компонентов (например, белков и липидов), причем они разделены полями относительно жидких липидов или другими разупорядоченными участками мембранного бислоя. Ригидные доменные участки структуры могут объединяться в макродомены, которые, в свою очередь, при понижении температуры способны формировать кластеры, а затем переходить в состояние геля. Ригидные участки липидной матрицы мембраны всегда "стремятся" приобрести планарную форму, а жидкостные – сферическую.

ТЕМА 6. БИОФИЗИКА ПРОЦЕССОВ ТРАНСПОРТА ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ

1. Электрохимический потенциал. Пассивный транспорт. Уравнение диффузии Фика.
2. Облегченная диффузия, ее основные свойства и отличия от простой диффузии.
3. Проблема проницаемости веществ через биомембраны. Проницаемость мембран для воды, нейтральных молекул и ионов.
4. Ионный транспорт в каналах. Современное представление о строении и функционировании каналов. Селективность каналов.
5. Индуцированный ионный транспорт. Ионофоры: подвижные переносчики и каналообразующие вещества. Механизмы прохождения ионов через мембрану.
6. Активный транспорт молекул и ионов, его отличие от облегченной диффузии. Свойства и функции активного транспорта. Термодинамика активного переноса молекул и ионов.
7. Механизмы активного транспорта. Первичный и вторичный активный транспорт.
8. Транспортные АТФ-азы, их краткая характеристика и классификация. Строение и механизм действия Na+/K+-насоса. Активный транспорт Ca^{2+} и протонов.

1. Электрохимический потенциал. Пассивный транспорт. Уравнение диффузии Фика

Для термодинамического описания транспорта веществ через мембраны используется понятие электрохимического потенциала (см. тема 2).

Пассивный транспорт – это перенос вещества из мест с большим значением электрохимического потенциала к местам с его меньшим значением.

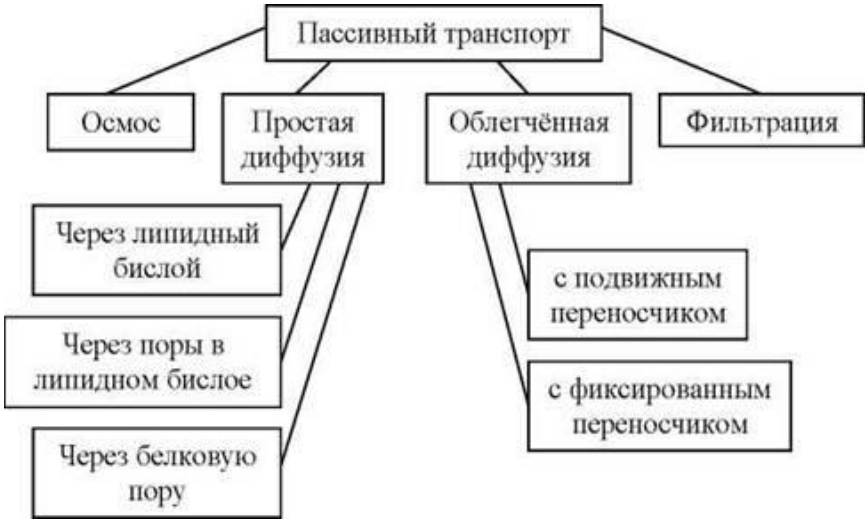


Рисунок 6.1 – Типы пассивного транспорта веществ через биомембрану

Пассивный транспорт идет с уменьшением энергии Гиббса, и поэтому процесс может идти самопроизвольно без затраты энергии. Плотность потока вещества j_m при пассивном транспорте подчиняется *уравнению Теорелла*:

$$j_m = -UC\ grad\ \mu \tag{6.1}$$

где U – подвижность частиц; C – концентрация. Знак минус показывает, что перенос происходит в сторону убывания μ.

Плотность потока вещества j_m – величина, численно равная количеству вещества, перенесенного за единицу времени через единицу площади поверхности, перпендикулярной направлению переноса:

$$j_m = \frac{m}{S \cdot t}\left(\frac{\text{моль}}{\text{м}^2 \cdot \text{с}}\right) \tag{6.2}$$

где m – масса вещества; S – площадь поверхности; t – время переноса.

Подставив в уравнение Теорелла выражение для электрохимического потенциала, при μ_o = const получается *уравнение Нернста-Планка* для разбавленных растворов:

$$j_m = -URT\ grad\ C - UCzF\ grad\ \varphi \tag{6.3}$$

Таким образом, уравнение Нернста-Планка отражает две причины переноса вещества при пассивном транспорте: градиент концентрации и градиент электрического потенциала. Знаки минусов показывают, что градиент концентрации вызывает перенос вещества от мест с большей концентрацией к местам с его меньшей концентрацией, а градиент электрического потенциала вызывает перенос положительных зарядов от мест с большим к местам с меньшим потенциалом.

В отдельных случаях вследствие сопряжения этих двух причин может происходить пассивный перенос вещества от мест с меньшей концентрацией к местам с большей концентрацией за счет преобладания электрической составляющей уравнения.

Диффузия – самопроизвольное перемещение вещества из мест с большей концентрацией в места с меньшей концентрацией вещества вследствие хаотического теплового движения молекул. Диффузия вещества через липидный бислой вызывается градиентом концентрации в мембране. Плотность потока вещества по *уравнению Фика*:

$$j_m = -D\ grad\ C \tag{6.4}$$

где D = URT – коэффициент диффузии; C – концентрация.

Уравнение Фика можно получить из уравнения Теорелла в случае

присутствия неэлектролитов или отсутствия электрического поля (z = 0; $\varphi = 0$). Это уравнение лежит в основе биофизических механизмов транспорта веществ в организме, также с успехом применяется в технике при решении многих задач, связанных с переносом газов и жидкостей. Уравнение Фика является основой конструирования ряда биотехнических систем.

Уравнение Фика можно записать и в другом виде:

$$j_m = P(C_1 - C_2) \tag{6.5}$$

где P – коэффициент проницаемости мембраны, который зависит от свойств мембраны и переносимых веществ.

$$P = \frac{DK}{l} \tag{6.6}$$

где К – коэффициент распределения, который показывает соотношение концентрации вещества вне мембраны и внутри нее; D – коэффициент диффузии; l – толщина мембраны.

Коэффициент проницаемости тем больше, чем больше коэффициент диффузии (чем меньше вязкость мембраны), чем тоньше мембрана (чем меньше l) и чем лучше вещество растворяется в мембране (чем больше К).

Хорошо растворимы в фосфолипидной фазе мембраны неполярные вещества, например, органические жирные кислоты, эфиры. Эти вещества хорошо проникают через липидную фазу мембраны. Плохо проходят через липидный бислой полярные, водорастворимые вещества: соли, основания, сахара, аминокислоты, спирты.

Проникновение через липидные бислойные мембраны мелких полярных молекул связывают с образованием между жирнокислотными хвостами фосфолипидных молекул при их тепловом движении кинков. Кинки – небольшие свободные полости, образованные гош-транс-гош-конфигурацией липидных молекул. Вследствие чего они могут перемещаться поперек мембраны и переносить попавшие в них мелкие молекулы, в первую очередь молекулы воды. Через липидные и белковые поры сквозь мембрану проникают молекулы нерастворимых в липидах веществ и водорастворимые гидратированные ионы, окруженные молекулами воды.

Рисунок 6.2 – Виды простой диффузии

Избирательность переноса обеспечивается набором в мембране пор определенного радиуса, соответствующих размеру проникающей частицы. Распределение зависит от мембранного потенциала. Селективность ионных каналов неабсолютна, каналы доступны и для других ионов, но с меньшими значениями коэффициента проницаемости мембраны. Максимальная величина коэффициента соответствует ионам калия. Ионы с большими кристаллическими радиусами имеют меньшие коэффициенты проницаемости, т. к. их размеры с одной гидратной оболочкой превышают размер канала.

Фильтрация – движение раствора через поры в мембране под действием градиента давления. Скорость переноса при фильтрации подчиняется *закону Пуазейля*:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{p_1 - p_2}{W} \qquad (6.7)$$

где dV/dt – объемная скорость переноса раствора; $(p_1 - p_2)$ – разность давлений; $W = (8\eta l)/\pi r^4$ – гидравлическое сопротивление; l – длина поры; r – радиус поры; η – коэффициент вязкости раствора.

Явление фильтрации наблюдается при переносе воды через стенки кровеносных сосудов (капилляров). Фильтрация играет важную роль во многих физиологических процессах.

Осмос – это процесс перемещения молекулы воды через полупроницаемую мембрану из области меньшей концентрации растворенного вещества в область большей.

Сила, вызывающая движение растворителя, называется осмотическим давлением. Осмотическое давление раствора зависит от количества растворенных ионов и температуры. В соответствии с *уравнением Вант-Гоффа* осмотическое давление (π) раствора определяется:

$$\pi = iRTC \qquad (6.8)$$

где i – изотонический коэффициент, зависящий от степени диссоциации электролита и показывающий, во сколько раз увеличивается количество растворенных частиц при диссоциации молекул; R – универсальная газовая постоянная; C – концентрация растворенного вещества; T – абсолютная температура раствора.

Гидравлическая проводимость мембраны в данном случае определяется из соотношения:

$$j = L(P - \pi) \qquad (6.9)$$

где P – гидростатическое давление в клетке; L – гидравлическая проводимость; j – поток воды.

Осмотическое давление обусловлено воздействием на мембрану молекул растворителя. Обычно вода проникает в клетку до тех пор, пока не выровняется осмотическое давление между клеткой и средой.

Осмос играет большую роль во многих биологических явлениях. Явление осмоса обусловливает гемолиз эритроцитов в гипотонических растворах.

2. Облегченная диффузия, ее основные свойства и отличия от простой диффузии.

Облегчённая диффузия – транспорт веществ через клеточные мембраны, который происходит в том же направлении, что и простая диффузия, но гораздо быстрее. Её движущей силой служит электрохимический потенциал на биомембране.

Облегченная диффузия происходит от мест с большей концентрацией переносимого вещества к местам с меньшей концентрацией. Облегченной диффузией объясняется также перенос через биологические мембраны аминокислот, сахаров и других биологически важных веществ.

Отличия облегченной диффузии от простой:

- ✓ перенос вещества с участием переносчика происходит значительно быстрее;
- ✓ облегченная диффузия обладает свойством насыщения: при увеличении концентрации с одной стороны мембраны плотность потока вещества возрастает лишь до некоторого предела, когда все молекулы переносчика уже заняты;
- ✓ при облегченной диффузии наблюдается конкуренция переносимых веществ в тех случаях, когда переносчиком переносятся разные вещества; при этом одни вещества переносятся лучше, чем другие, и добавление одних веществ затрудняет транспорт других; так, из сахаров глюкоза переносится лучше, чем фруктоза, фруктоза лучше, чем ксилоза, а ксилоза лучше, чем арабиноза, и т. д.;
- ✓ есть вещества, блокирующие облегченную диффузию. Они образуют прочный комплекс с молекулами переносчика (например, флоридзин подавляет транспорт сахаров через биологическую мембрану).

Если транспорт какого-либо вещества через биологическую мембрану обладает этими особенностями, можно сделать предположение, что имеет место облегченная диффузия.

Разновидностью облегченной диффузии является транспорт с помощью неподвижных молекул-переносчиков, фиксированных определенным образом поперек мембраны. При этом молекула переносимого вещества передается от одной молекулы переносчика к другой, как по эстафете.

3. Проблема проницаемости веществ через биомембраны. Проницаемость мембран для воды, нейтральных молекул и ионов.

Проницаемость биологических мембран – важнейшее свойство биологических мембран, заключающееся в их способности пропускать в

клетку и из неё различные метаболиты (аминокислоты, сахара, ионы и т. п.). Проницаемость биологических мембран имеет большое значение для осморегуляции и поддержания постоянства состава клетки, её физико-химический гомеостаз; играет важную роль в генерации и проведении нервного импульса, в энергообеспечении клетки, сенсорных механизмах и других процессах жизнедеятельности.

Проницаемость биологических мембран регулируется гормонами и другими биологически активными веществами. Так, некоторые стероидные гормоны, инсулин и др. увеличивают проницаемость мембран эритроцитов, мышечных и жировых клеток. Проницаемость биологических мембран возбудимых клеток (например, нервных) зависит от особых веществ – медиаторов (ацетилхолин и др.). На проницаемость биологических мембран для ионов сильно влияют антибиотики (валиномицин, грамицидин, нонактин), а также некоторые синтетические полиэфиры. Для изучения проницаемости биологических мембран широко применяются электрохимические, физические и химические методы.

С точки зрения проницаемости липидные поры принципиально отличаются от белковых каналов своим происхождением и исключительной динамичностью. В то время как белковые каналы имеют строго определенные размеры, сохраняющиеся в течение всей жизни клетки, размеры липидных пор в процессе затекания варьируют в широких пределах.

Липидные поры в отличие от белковых ионных каналов не обладают выраженной избирательностью, что коррелирует с их сравнительно большими исходными размерами. В процессе затекания липидные поры могут достигать сколь угодно малых размеров, в том числе сравнимых с размерами белковых ионных каналов, что может приводить к перераспределению ионных токов в мембране (например, при возбуждении).

Известно, что после выключения стрессового воздействия бислойная липидная мембрана может вернуться в состояние с низкой проводимостью, что подразумевает достижение порами размера, недостаточного для прохождения гидратированных ионов. Таким образом, гидрофильные липидные поры универсальны в том отношении, что могут быть использованы клеткой для транспорта высокомолекулярных веществ, ионов и молекул воды.

Исследования проницаемости липидных пор развиваются в настоящее время в двух направлениях: в первом исследуются максимально большие поры, во втором, наоборот, – липидные поры минимального радиуса.

Явление высокой водной проницаемости клеточных мембран полностью воспроизводится на искусственных липидных бислоях, что подразумевает участие в этом процессе гидрофильных липидных пор.

Долгое время считалось, что для диффузии воды через клеточные мембраны достаточно ее естественной проницаемости через липидную часть мембран за счет движения кинков. В 1988 г. были описаны водные каналы, названные аквапоринами. Аквапорины представляют новый класс белков,

которые высокоэффективно пропускают молекулы воды, будучи абсолютно непроницаемы ни для каких ионов, включая протоны.

В отличие от ионных каналов, аквапорины осуществляют избирательное пропускание воды через мембраны клеток. Аквапорины находятся в мембране в виде тетрамеров (рис.6.3). Пространственная структура канального белка-аквапорина представляет собой цилиндрический канал, по которому движутся молекулы воды. Через него проходит вода и только вода, но не ионы. Аминокислоты в этом белке расположены таким образом, что полярность создаваемого ими электростатического поля переключается в центре канала на обратную. Поэтому молекулы воды, дойдя до середины канала, переворачиваются так, что их дипольные моменты в верхней и нижней части канала оказываются направленными в противоположные стороны. Такое переориентирование предотвращает просачивание через канал заряженных ионов. Аквапорин не пропускает даже ионы водорода, от концентрации которых зависит кислотность среды. При этом клеточный мембранный ”водопровод“ обладает потрясающей пропускной способностью: он пропускает до миллиарда молекул воды в секунду. Сейчас известно уже около 200 разновидностей белков водных каналов у растений и животных, в том числе 11 – у человека. Благодаря аквапоринам клетки не только регулируют свой объём и внутреннее давление, но и выполняют такие важные функции, как всасывание воды в почках животных и корешках растений.

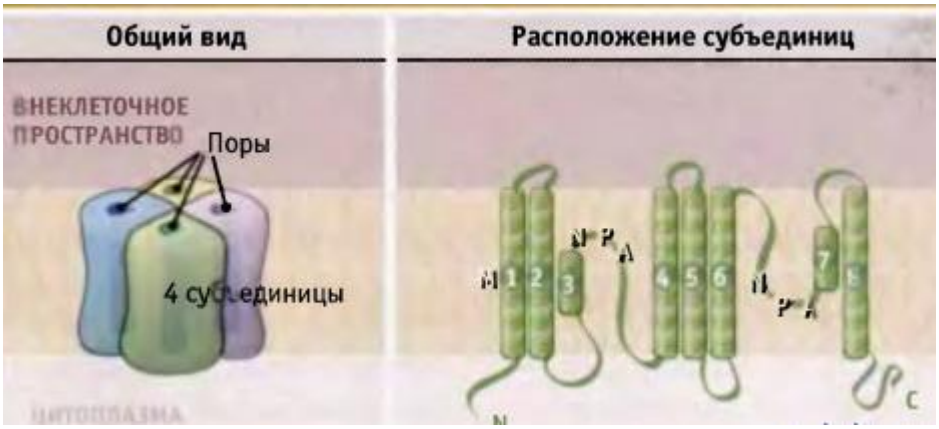


Рисунок 6.3 – Строение аквапорина

Нарушения работы аквапоринов (например, в случае генетических дефектов этих белков) приводят к тяжелым патологиям.

4. Ионный транспорт в каналах. Современное представление о строении и функционировании каналов. Селективность каналов.

Ионные каналы биомембран – это специализированные селективные поры, образованные белковыми молекулами, предназначенные для облегченной диффузии определенных ионов. Ионные каналы расположены в наружной клеточной мембране и мембранах ряда органелл (митохондрии, эндоплазматическая сеть, саркоплазматический ретикулум и др.). Ионные каналы обеспечивают пассивный транспорт ионов по градиенту

концентрации. Энергией для транспорта служит разность концентрации ионов по обе стороны мембраны (трансмембранный ионный градиент).

Ионные каналы можно рассматривать как транспортный механизм, обеспечивающий перемещение ионов между цитоплазмой клетки и наружной средой.

Ионные каналы классифицируют:

✓ по количеству ионов, для которых канал проницаем:

1) селективные (проницаемы только для одного вида ионов;
2) неселективные (проницаемы для нескольких видов ионов);

✓ по типу ионов:

1) натриевые;
2) калиевые;
3) кальциевые;
4) хлорные каналы;

✓ по способу регуляции (рис. 6.4):

1) потенциал-чувствительные;
2) хемочувствительные (рецептор-управляемые);
3) АТФ-чувствительные;
4) кальций-зависимые.

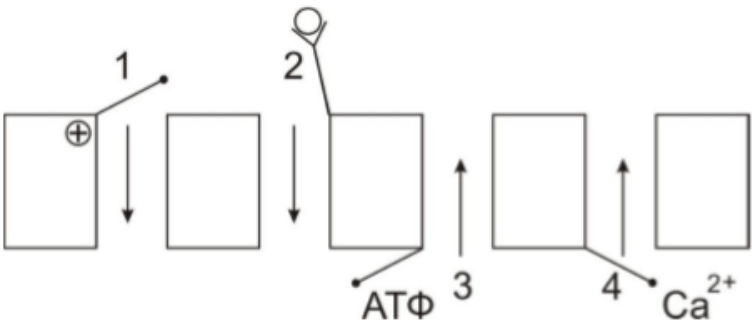


Рисунок 6.4 – Классификация ионных каналов по способу регуляции: 1 – потенциал-чувствительные, 2 – хемочувствительные, 3 – АТФ-чувствительные, 4 – кальций-зависимые

Ионселективный канал состоит из следующих частей (рис. 6.5):

✓ погруженной в бислой белковой части, имеющей субъединичное строение;

✓ селективного фильтра, образованного отрицательно заряженными атомами кислорода, которые жестко расположены на определенном расстоянии друг от друга и пропускают ионы только определенного диаметра;

✓ воротной части.

Рисунок 6.5 – Строение ионного канала

Ионный мембранный канал может быть либо открыт, либо закрыт для транспорта ионов. Нормальное положение ворот ионного канала – закрытое. Эти два состояния реализуются изменением конформации каналообразующих белков, что может быть вызвано изменением условий в клетке и во внеклеточной среде (например, изменением мембранного потенциала).

Так как обычно с помощью каналов транспортируются гидрофильные вещества, то во внутренней полости их имеется большое число гидрофильных химических групп. Каждый канал неоднороден по строению: вдоль его внутренней полости располагаются различные химические группы, сродство ионов к которым неодинаково. Канал может иметь один или несколько ионных центров связывания. Эти центры представляют собой заряженные группы. Когда ион попадает в канал, он связывается с этими группами и таким образом попадает в потенциальную яму. Для того чтобы попасть в другую потенциальную яму, иону требуется преодолеть некоторый потенциальный барьер. Таких барьеров вдоль длины канала может быть несколько, причем высота их обычно неодинакова и может изменяться в зависимости от наличия или отсутствия ионов в канале, или изменения трансмембранной разности потенциалов. Так как в канале находятся заряженные группы, то изменение мембранного потенциала является нелинейным. Кроме этого, наличие заряженных групп может привести к непостоянству значений коэффициента распределения по длине канала.

Многие мембранные каналы настолько узки, что ионы не могут в них двигаться в различных направлениях независимо друг от друга: если в какой-либо потенциальной яме уже есть ион, то другой не может в неё попасть

Это относится, например, к калиевым каналам. Встречные потоки ионов натрия через натриевые каналы можно считать независимыми, но если через эти каналы движутся ионы калия, то принцип независимости уже не выполняется. Для многих каналов, в зависимости от их строения, при высоких концентрациях ионов в окружающей среде наблюдается:

- ✓ *эффект насыщения*: при увеличении концентрации ионов скорость их переноса повышается, но только до определенного уровня, выше которого скорость не изменяется;

✓ *блокировка*: при концентрациях ионов выше некоторого значения скорость переноса начинает снижаться.

При переходе иона из окружающей среды в канал свободная энергия уменьшается. При этом величина потенциального барьера ниже, чем при переходе иона непосредственно через липидный бислой мембраны.

Основные свойства ионных каналов:

1. Селективность – способность ионных каналов избирательно пропускать ионы какого-либо одного типа. Ионные каналы обладают абсолютной селективностью по отношению к катионам или анионам (катион-селективные каналы, анион-селективные каналы). В то же время через катион-селективные каналы способны проходить различные катионы различных химических элементов. Но проводимость мембраны для неосновного иона будет существенно ниже. Способность ионного канала пропускать различные ионы называется относительной селективностью и характеризуется рядом селективности – соотношением проводимостей канала для разных ионов, взятых при одной концентрации. При этом для основного иона селективность принимают за 1. Например, для Na^+-канала этот ряд имеет вид:

$$Na^+ : K^+ = 1 : 0{,}05.$$

2. Независимость работы отдельных каналов. Прохождение тока через отдельный ионный канал не зависит от того, идет ли ток через другие каналы. Влияние каналов друг на друга происходит опосредованно: изменение проницаемости каких-либо каналов меняет мембранный потенциал, а уже он влияет на проводимость прочих ионных каналов.

3. Дискретный характер проводимости ионных каналов. Ионные каналы представляют собой субъединичный комплекс белков, пронизывающий мембрану. В центре его существует трубка, сквозь которую могут проходить ионы. Проводимость ионного канала дискретна, и он может находиться в двух состояниях: открытом или закрытом. Переходы между состояниями происходят в случайные моменты времени и подчиняются статистическим закономерностям. Нельзя сказать, что данный ионный канал откроется именно в этот момент времени. Можно лишь сделать утверждение о вероятности открывания канала в определенном интервале времени.

4. Зависимость параметров канала от мембранного потенциала. Ионные каналы нервных волокон чувствительны к мембранному потенциалу. Это проявляется в том, что после начала деполяризации мембраны соответствующие токи начинают изменяться с той или иной кинетикой. Ион-селективный канал имеет сенсор, чувствительный к действию электрического поля. При изменении мембранного потенциала меняется величина действующей на сенсор силы, в результате эта часть ионного канала перемещается и меняет вероятность открывания или закрывания ворот, действующих по принципу ”всё или ничего“. Скачок напряжения на мембране, создаваемый при измерениях методом фиксации потенциала, приводит к тому, что большое число каналов открывается. Через

них проходит больше зарядов, а значит, в среднем, протекает больший ток. Процесс роста проводимости канала определяется увеличением вероятности перехода канала в открытое состояние, а не увеличением диаметра открытого канала.

Под действием электрического поля увеличивается вероятность открытого состояния, ворота открываются, поток гидратированных ионов получает возможность проходить через селективный фильтр. Ионные каналы могут быть чувствительны и к другим физическим воздействиям: механическим деформациям, связыванию химических веществ и т. д. В этом случае они являются структурной основой механорецепторов, хеморецепторов и т. д.

Ионные каналы клеточной мембраны имеют огромное значение для жизни клеток. Они обеспечивают обмен клетки с окружающей средой веществом, энергией и информацией, с них начинаются и ими поддерживаются процессы возбуждения и торможения в нервной системе и мышцах, именно они (вместе с другими молекулярными рецепторами) обеспечивают восприятие клеткой внешних сигналов. С помощью ионных каналов происходит передача в клетку управляющих сигналов из окружающей её среды. Именно они обеспечивают синаптическую передачу возбуждения от возбуждённого нейрона на другие клетки.

Изучение ионных каналов в мембранах есть одна из важнейших задач современной биофизики.

5. Индуцированный ионный транспорт. Ионофоры: подвижные переносчики и каналообразующие вещества. Механизмы прохождения ионов через мембрану.

Транспорт ионов с помощью переносчиков называется индуцированным ионным транспортом, а сам переносчик – ионофором. Структура ионофора такова, что снаружи он покрыт неполярными группами, благодаря чему ему выгодно находиться в гидрофобной части мембраны. Внутри ионофора имеется полость, которая покрыта полярными группами, к которым и присоединяются ионы. Многие ионофоры выделены из микроорганизмов, другие имеют синтетическое происхождение. Известны две разновидности ионных переносчиков. Так называемые подвижные переносчики связываются с ионом, диффундируют с ним через мембрану, высвобождают его по другую сторону и возвращаются обратно. Другие переносчики остаются неподвижными относительно мембраны, они формируют мембранные каналы, которые обычно не пронизывают мембрану насквозь. Ионы, пересекая мембрану, вынуждены переходить по цепочке из одной молекулы-переносчика в другую, поэтому такой перенос называется эстафетным.

Ионофоры – это небольшие гидрофобные молекулы, которые растворяются в липидных бислоях и повышают их ионную проницаемость. Большинство ионофоров синтезируется микроорганизмами, некоторые из

них используются как антибиотики. Ионофоры широко применяются для повышения проницаемости мембран по отношению к определенным ионам в исследованиях на синтетических бислоях, клеточных органеллах, интактных клетках.

Ионофоры обоих типов действуют, экранируя заряд транспортируемого иона так, чтобы последний мог пройти гидрофобную внутреннюю область липидного бислоя. Поскольку ионофоры не связаны ни с каким источником энергии, они лишь позволяют ионам двигаться по их электрохимическим градиентам.

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 $\varepsilon_В$ и мембраны $\varepsilon_м$.

$$W = \frac{z^2 e^2}{2r}\left(\frac{1}{\varepsilon_м} - \frac{1}{\varepsilon_в}\right) \qquad (6.10)$$

где z – валентность иона; e – элементарный заряд.

Энергия перехода иона в мембрану снижается с увеличением радиуса иона. Поэтому крупные органические ионы проникают через мембрану легче, чем катионы щелочных металлов. Величина энергетического барьера в мембране уменьшается, а следовательно, проницаемость мембраны для иона возрастает не только при увеличении его радиуса, но и при приближении значений $\varepsilon_м$ к $\varepsilon_В$. 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.

Классическим представителем мембранных ионофоров является антибиотик депсипептидной природы – валиномицин. Он способен образовывать комплексы с калием на 3 порядка более активно, чем с натрием. Это позволяет использовать валиномицин как специфический калиевый ионофор.

В липидной фазе молекула валиномицина имеет форму манжетки, устланной изнутри полярными группами, а снаружи – неполярными гидрофобными остатками молекул валина. Образуя комплекс с ионами калия, попадающими внутрь молекулы-манжетки, валиномицин приобретает лучшую растворимость в липидной фазе мембраны. Ионы калия удерживаются внутри молекулы за счет межзарядных взаимодействий. Молекулы валиномицина, оказавшиеся у поверхности мембраны, могут захватывать из окружающей среды ионы калия и переносить его через мембрану, возвращаясь обратно с каким-нибудь противоионом (например, протоном). Таким образом, происходит челночный перенос ионов калия через мембрану.

Аналогично валиномицину ведут себя и депсипептидные антибиотики энниатиновой группы. Меньшая эффективность комплексообразования в данном случае связана с более открытой структурой комплекса и большей доступностью иона для растворителя.

Следует отметить, что движущей силой ионного транспорта является электрохимический потенциал для некоторого иона.

Важным фактором, способным модулировать транспорт заряженных частиц, является их гидратация, т. е. формирование вокруг иона оболочки из полярных молекул воды. Этот фактор является весьма важным потому, что для диффузии неэлектролитов скорость диффузии зависит от радиуса диффундирующей молекулы, а гидратация может существенно менять такой радиус.

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.

Для прохождения по каналам через липидный бислой ионы должны обладать достаточным запасом кинетической энергии для преодоления энергетических барьеров. Первый барьер состоит в том, что прежде чем войти в канал, ионы должны освободиться от гидратной оболочки, что требует определённых затрат энергии. Второй энергетический барьер обусловлен наличием заряженных полярных групп белков стенок поры. При прохождении через такую пору молекулам необходимо преодолеть электрическое взаимодействие между своими заряженными группами и заряженными группами поры.

Особенно большой энергетический барьер преодолевают ионы в момент проникновения через мембранную часть канала. Это обусловлено значительным электрическим взаимодействием ионов с заряженными группами пор. Если ион приближается к одноименно заряженной поре, то при этом он испытывает отталкивание и проникает через мембрану только в том случае, если обладает кинетической энергией, достаточной на преодоление этого отталкивания. Если ион и стенка поры имеют противоположные заряды, то ион испытывает притяжение к центру поры, его проникновение во многих случаях может облегчиться. Но так как ион притягивается к электрическому центру поры, то в некоторых случаях он может оказаться в так называемой потенциальной яме. Другими словами, попадание иона в потенциальную яму приводит к повышению энергетического барьера транспортного процесса. Поэтому вход второго иона в канал по сравнению с входом первого затрудняется, однако выход первого иона из канала, напротив, идет очень легко, так как этому способствует электростатическое отталкивание между самими ионами, в

результате чего следующий ион может заполнить освободившуюся потенциальную яму.

6. Активный транспорт молекул и ионов, его отличие от облегченной диффузии. Свойства и функции активного транспорта. Термодинамика активного переноса молекул и ионов.

Активный транспорт – это перенос вещества из мест с меньшим значением электрохимического потенциала в места с его большим значением. Активный транспорт в мембране сопровождается ростом энергии Гиббса, он не может идти самопроизвольно, а только в сопряжении с процессом гидролиза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), то есть за счет затраты энергии, запасенной в макроэргических связях АТФ.

Активный транспорт веществ через биологические мембраны имеет большое значение для клетки. Так за счет активного транспорта в организме создаются градиенты концентраций, градиенты электрических потенциалов, градиенты давления и т. д., поддерживающие жизненные процессы, т. е. с точки зрения термодинамики активный перенос удерживает организм в неравновесном состоянии, поддерживает жизнь.

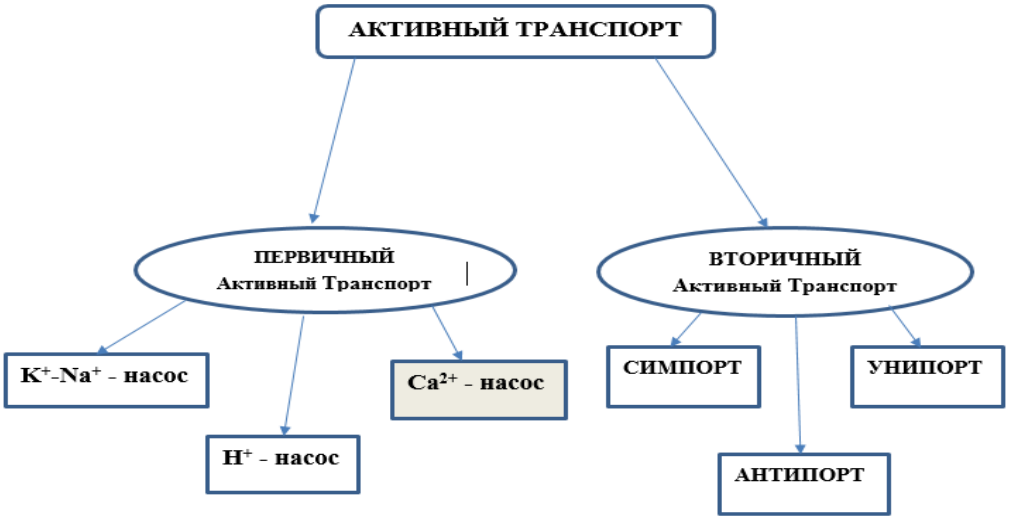


Рисунок 6.6 – Типы активного транспорта веществ через биомембрану

Существование активного транспорта веществ через биологические мембраны впервые было доказано в опытах Уссинга (1949 г.) на примере переноса ионов натрия через кожу лягушки.

На коже лягушки, разделяющей раствор Рингера, возникает разность потенциалов – внутренняя сторона кожи имеет положительный потенциал по отношению к наружной. Поддерживалась одинаковая концентрация ионов с наружной и внутренней стороны $C_{нар} = C_{вн}$. При этих условиях, если бы перенос натрия через кожу лягушки определялся только пассивным транспортом, то согласно уравнению Уссинга–Теорелла потоки $j_{m,вн}$ и $j_{m,нар}$ были равны друг другу. Суммарный поток через мембрану был бы равен

нулю. Обнаружено, что в условиях опыта (отсутствие градиентов электрического потенциала и концентрации) через кожу лягушки течет электрический ток I, следовательно, происходит односторонний перенос заряженных частиц. Установлено, что ток протекает через кожу от внешней стороны к внутренней. Экспериментальные данные неопровержимо свидетельствовали о том, что перенос ионов натрия через кожу лягушки не подчиняется уравнению пассивного транспорта. Следовательно, имеет место активный перенос.

Уравнение Уссинга-Теорелла, описывающее отношение потоков веществ в случае активного транспорта:

$$\frac{j_{m,\text{вн}}}{j_{m,\text{нар}}} = \frac{C_{\text{нар}}}{C_{\text{вн}}} \cdot e^{\frac{zF}{RT}} \qquad (6.11)$$

К основным особенностям активного транспорта следует отнести:

1. Транспорт осуществляется против концентрационного градиента.
2. Для активного транспорта необходима энергия АТФ или другие источники энергии, гидролиз, который осуществляется АТФ-азами, присутствующими в мембране.
3. Большинство мембранных насосов в высшей степени специфичны. Натриевый насос, например, не способен переносить ион лития, хотя по своим свойствам последний очень близок к натрию.
4. Некоторые мембранные насосы откачивают из клетки одну разновидность молекул или ионов и закачивают в противоположном направлении другую.
5. Активный транспорт может избирательно подавляться блокирующими агентами. Сердечный гликозид уабаин, введенный во внеклеточную среду, блокирует калий-натриевый насос, препятствуя связыванию ионов калия с соответствующим участком ионного насоса.
6. Некоторые мембранные насосы выполняют электрическую работу, осуществляя суммарный перенос заряда. К примеру, натриевый насос, производящий обмен трех ионов натрия на два иона калия, осуществляет суммарное выведение одного положительного заряда.

Облегченная диффузия и активный транспорт во многом сходны. Оба процесса реализуются при участии специальных белков-переносчиков, для них характерна специфичность к ионам, сахарам и аминокислотам, но существуют и значительные отличия между ними.

Основные различия между облегченной диффузией и активным транспортом состоят в следующем:

1. Облегченная диффузия может осуществляться в обоих направлениях, тогда как активный транспорт – обычно лишь в одном.
2. Активный транспорт всегда идет против электрического или химического градиента и требует энергетических затрат.

К свойствам активного транспорта относятся:

1. Перенос вещества осуществляется против градиентов за счет свободной энергии, освобождая при окислении вещества в организме.
2. Свободная энергия обеспечивает активный транспорт, передается биологической мембране в ходе химических процессов, связанных с переносом вещества, т. е. свободная энергия подводится в результате реакции, в которой участвуют сами мембраны.
3. Активный транспорт избирателен, т. е. каждая система активного транспорта обеспечивает перенос только одного вещества в одном направлении.

Пассивный транспорт свойствен любым мембранам (и биологическим, и искусственным). Напротив, активный транспорт, происходящий в направлении, противоположном направлению падения химического или электрохимического потенциала, является одной из важнейших особенностей жизненных процессов. Поддержание присущей клетке и организму пространственной гетерогенности в сущности и означает наличие активного транспорта.

Активный транспорт разрешает одно из основных противоречий живой материи – противоречие между сохранением пространственной гетерогенности и метаболизмом (обменом веществом и энергией с окружающей средой).

Активный транспорт реализуется в результате сопряжения диффузионных потоков с химическими реакциями. Иными словами, перенос вещества через мембрану происходит за счет свободной энергии, получаемой в ходе химических реакций. Указанное сопряжение не тривиально. Коэффициенты сопряжения векторных и скалярных потоков в изотропной системе должны равняться нулю, иначе нарушался бы принцип Кюри. Сопряжение диффузии и химических реакций может быть косвенным, возникая в результате поддержания стационарного состояния. С другой стороны, реализуется и прямое сопряжение вследствие анизотропии мембраны, в частности, вследствие хиральности образующих мембрану молекул.

Первая задача, возникающая при рассмотрении активного транспорта, состоит в исследовании сопряжения диффузионных потоков и химических реакций.

7. Механизмы активного транспорта. Первичный и вторичный активный транспорт.

Выделяют два механизма активного транспорта: первичный и вторичный.

Первичным активным транспортом называется активный транспорт веществ через мембрану, когда в случае источника энергии выступает гидролиз АТФ, а не перемещение каких-то других молекул или ионов. Первичный активный транспорт через мембраны осуществляется ионными насосами (другие названия: ион-транспортирующие АТФ-азы и АТФ-азные насосы) за счет гидролиза АТФ и, следовательно, является энергозависимым.

В настоящее время известны три типа электрогенных ионных насосов, осуществляющих активный перенос ионов через мембрану.

Перенос ионов транспортными АТФ-азами происходит вследствие сопряжения процессов переноса с химическими реакциями за счет энергии метаболизма клеток. При работе K^+/Na^+-АТФ-азы за счет энергии, освобождающейся при гидролизе каждой молекулы АТФ, в клетку переносится два иона калия и одновременно из клетки выкачиваются три иона натрия. Таким образом, создается повышенная по сравнению с межклеточной средой концентрация в клетке ионов калия и пониженная концентрация ионов натрия, что имеет огромное физиологическое значение. В Ca^{2+}-АТФ-азе за счет энергии гидролиза АТФ переносятся два иона кальция, а в H^+-помпе – два протона (рис. 6.).

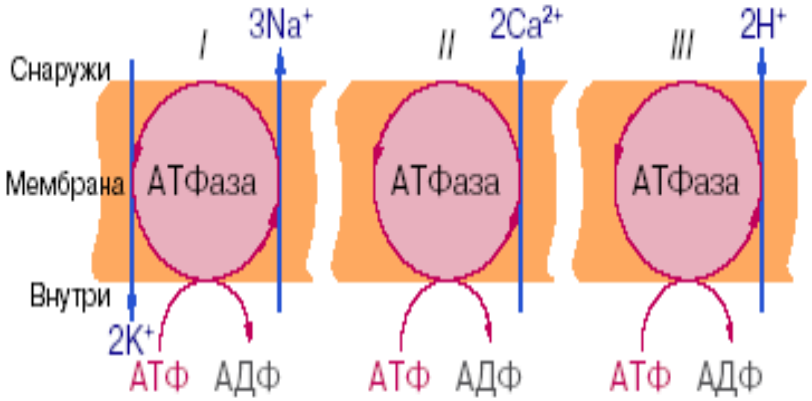


Рисунок 6.7 – Виды ионных насосов:
I – K^+/Na^+- АТФ-аза в цитоплазматических мембранах (К+/Na+-насос);
II – Ca^{2+}-АТФ-аза (Са2+-насос); III – Н+-АТФ-аза в энергосопрягающих мембранах митохондрий, хлоропластов (Н+-насос, или протонная помпа)

Характерные признаки ”бионасоса“:

1. Вещество переносится против градиента электрохимического потенциала.
2. Поток вещества сопряжен с гидролизом АТФ или другого источника энергии.
3. Асимметрия транспортной машины.
4. Работоспособность насоса зависит от температуры.
5. Насос *in vitro* способен гидролизовать АТФ только в присутствии тех ионов, которые он переносит *in vivo*.
6. При встраивании насоса в искусственную среду он способен сохранять селективность.

Молекулярный механизм ионных АТФ-аз до конца не изучен.

Насосы являются первичными активными транспортерами, так как они превращают электрохимическую или химическую энергию в трансмембранные концентрационные градиенты. Градиенты концентрации

ионов, созданные насосами, используются некоторыми переносчиками, называемыми вторичными транспортерами, для переноса ионов или растворенных веществ.

При первичном активном транспорте энергия АТФ расходуется на установление градиента концентрации веществ через мембрану. В случае вторичного активного транспорта этот градиент используется для транспорта необходимых молекул уже в направлении областей с меньшими концентрациями переносимых веществ.

В настоящее время достаточно глубоко исследованы три схемы вторичного активного транспорта. Рассмотрим транспорт одновалентных ионов с участием молекул-переносчиков (рис. 6.8). При этом подразумевается, что переносчик в нагруженном или ненагруженном состоянии одинаково хорошо пересекает мембрану. Источником энергии служит мембранный потенциал и/или градиент концентрации одного из ионов.

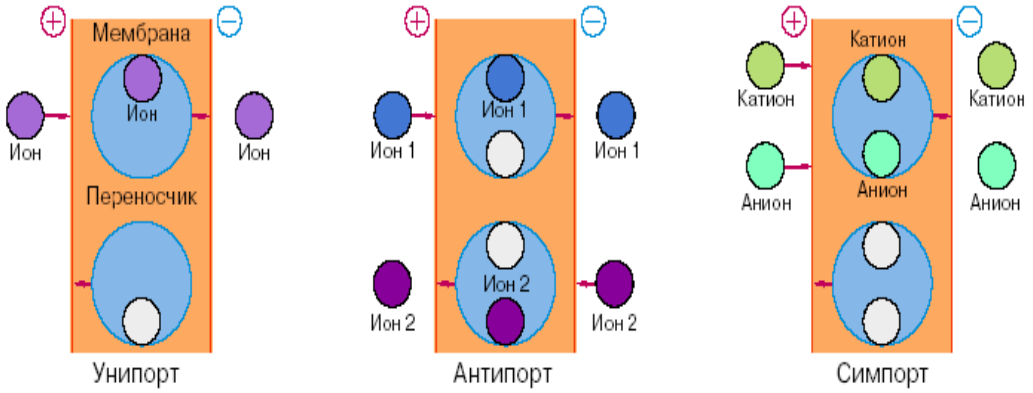


Рисунок 6.8 – Схема сопряженного транспорта

Однонаправленный перенос иона в комплексе со специфическим переносчиком получил название унипорта. При этом через мембрану переносится заряд либо комплексом, если молекула переносчика электронейтральна, либо пустым переносчиком, если перенос обеспечивается заряженным переносчиком. Результатом переноса будет накопление ионов за счет снижения мембранного потенциала. Такой эффект наблюдается при накоплении ионов калия в присутствии валиномицина в энергизированных митохондриях.

Встречный перенос ионов с участием одноместной молекулы-переносчика получил название антипорта. Предполагается, что молекула-переносчик образует прочный комплекс с каждым из переносимых ионов. Перенос осуществляется в два этапа: сначала один ион пересекает мембрану слева направо, затем второй ион – в обратном направлении. Мембранный потенциал при этом не меняется. Что же является движущей силой этого процесса? Очевидно, разность концентраций одного из переносимых ионов.

Если исходно разность концентрации второго иона отсутствовала, то результатом переноса станет накопление второго иона за счет уменьшения разности концентраций первого. Классическим примером антипорта служит перенос через клеточную мембрану ионов калия и водорода с участием молекулы антибиотика нигерицина.

Совместный однонаправленный перенос ионов с участием двухместного переносчика называется симпортом. Предполагается, что в мембране могут находиться две электронейтральные частицы: переносчик в комплексе с катионом и анионом и пустой переносчик. Поскольку мембранный потенциал в такой схеме переноса не изменяется, то причиной переноса может быть разность концентраций одного из ионов. Считается, что по схеме симпорта осуществляется накопление клетками аминокислот. Калий-натриевый насос создает начальный градиент концентрации ионов натрия, которые затем по схеме симпорта способствуют накоплению аминокислот. Из схемы симпорта следует, что этот процесс должен сопровождаться значительным смещением осмотического равновесия, поскольку в одном цикле через мембрану переносятся две частицы в одном направлении.

8. Транспортные АТФ-азы, их краткая характеристика и классификация. Строение и механизм действия Na+/K+-насоса. Активный транспорт Ca^{2+} и протонов.

Перенос иона в процессе активного транспорта осуществляется транспортными АТФ-азами, энергозависимой лимитирующей стадией которого является гидролиз АТФ. Так происходит первично-активный транспорт.

Если же перенос веществ обеспечивает энергия, обусловленная градиентом ионов, созданным в ходе первично-активного транспорта, то это вторично-активный транспорт. С его помощью осуществляется перенос сахаров и аминокислот за счет энергии, обусловленной градиентом ионов, чаще натрия, созданного первично-активным транспортом.

Транспортные АТФ-азы классифицируют по переносимым ими (и активирующим их работу) ионам:

- протонные (K^+, H^+-зависимая) – АТФ-азы;
- анионные (HCO^{3-}) – АТФ-азы, которые участвуют в транспорте анионов через плазматическую мембрану клеток.

Транспортные АТФ-азы прокариотических и эукаритических клеток делятся на 3 типа:

- P-тип (АТФ-аза эндо(сарко)плазматического ретикулума);
- V-тип (находятся в мембранах в вакуолях дрожжей, в лизосомах, эндосомах, секреторных гранулах животных клеток);
- F-тип (находятся в мембранах бактерий, в хлоропластах, митохондриях).

Натрий-калиевый насос поддерживает градиент концентраций ионов натрия и калия по обе стороны мембраны. Натрий-калиевый насос

контролирует прямо или косвенно такие важные процессы в клетках, как производство тепла, подержание объема клетки, pH, уровня Ca^{2+}, мембранного потенциала и т. д. Модулируя уровень Ca^{2+} и мембранный потенциал в возбудимых клетках (нервных и мышечных), Na^+/K^+-насос регулирует выброс и поглощение нейромедиаторов, проведение нервного импульса, эффективность сокращения.

Na^+/K^+-АТФ-аза представляет собой сложный белок, встроенный в наружную мембрану клетки и имеющий центры связывания для ионов натрия и калия, а также активный центр, где осуществляются связывание и гидролиз АТФ. Механизм сопряжения окончательно не выяснен.

Согласно современным представлениям, процесс активного транспорта Na^+ и K^+ происходит в следующие семь этапов (рис. 6.9).

1. В присутствии Mg^{2+} на внутренней стороне мембраны образуется комплекс фермента АТФ-азы с АТФ:

$E + АТФ \rightarrow E \times АТФ$.

2. Связывание комплексом трех ионов натрия:

$E \times АТФ + 3Na \rightarrow [E \times АТФ] \times Na_3$.

3. Фосфорилирование фермента с образованием АДФ:

$[E \times АТФ] \times Na_3 \rightarrow [E \sim P] \times Na_3 + АДФ$.

4. Флип-флоп фермента.

5. Реакция ионного обмена натрия на калий, происходящая на внешней поверхности мембраны:

$[E \sim P] \times Na_3 + 2K \rightarrow [E \sim P] \times K_2 + 3Na$.

6. Обратный поворот ферментного комплекса с переносом ионов калия внутрь клетки.

7. Возвращение фермента в исходное состояние с освобождением ионов калия и неорганического фосфата:

$[E \sim P] \times K_2 \rightarrow E + P + 2K$.

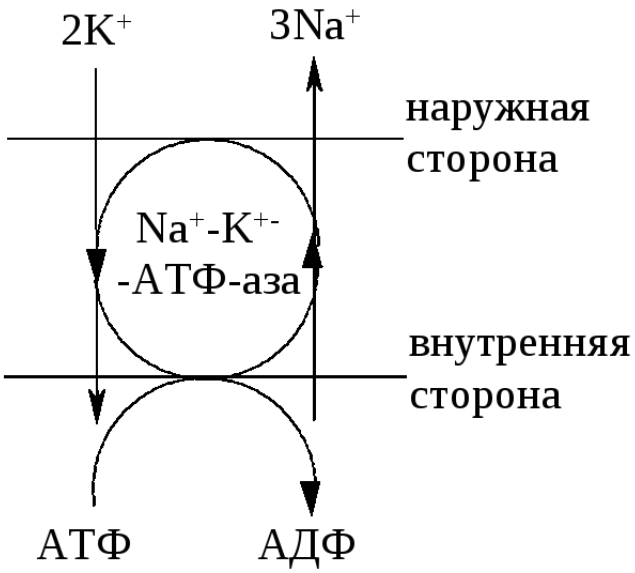


Рисунок 6.9 – Схема работы Na^+/K^+-насоса

Таким образом, за полный цикл происходят выброс из клетки трех ионов натрия, обогащение цитоплазмы двумя ионами калия и гидролиз одной молекулы АТФ.

Кальциевые АТФ-азы представляют собой мономерные белки, то есть состоят из единственной полипептидной цепи, хотя несколько различаются по молекулярной массе. Кальциевый насос обеспечивает стабильно низкий уровень Ca^{2+} в цитозоле. В отличие от натрий-калиевого насоса, который использует энергию АТФ, он выводит избыток ионов не в межклеточную среду, а в органеллы (в эндоплазматическую сеть).

Для работы Ca^{2+}-АТФ-азы необходимо присутствие ионов Mg^{2+}. Можно выделить 4 этапа работы кальциевого насоса:

Первый этап – связывание компонентов иона Ca^{2+} и комплекса Mg-АТФ.

Второй этап – гидролиз АТФ с образованием фермент-фосфатного комплекса (E ~ P).

Третий этап – транслокация – переход центра связывания кальция на противоположную сторону мембраны. Энергия, необходимая для отрыва прочно связанных ионов кальция, поступает за счет гидролиза АТФ. При гидролизе одного моля АТФ освобождается около 40 кДж, которых хватает для переноса двух молей ионов через мембрану из цитоплазмы.

Четвертый этап – конформационная перестройка, которая приводит к транслокации кальцийсвязывающий центров в исходное положение.

Таким образом, на перенос двух ионов Ca^{2+} затрачивается одна молекула АТФ, но при очень высоких физико-химических градиентах это отношение изменяется с двух к одному до одного к одному.

В функционировании биоэнергетических систем важное место занимает транспорт протонов.

H^+-АТФ-аза – это интегральный белок, полипептидная цепь которого, как и Na^+/K^+-АТФ-аза, десять раз пересекает поверхностную (плазматическую) мембрану.

H^+-АТФ-аза использует энергию, освобождающуюся при гидролизе АТФ для того, чтобы переносить через клеточную мембрану ионы водорода. Особая роль H^+-АТФ-азы у растений заключается в том, что, выкачивая протоны из клетки наружу, она не только поддерживает pH цитоплазмы близкий к нейтральному (что очень важно для протекания многих ферментативных процессов), но и создает на мембране разность потенциалов, во многом определяя электрические свойства высших растений.

ТЕМА 7 БИОЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ

1. Биоэлектрокинетические явления. Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Биопотенциалы. Классификация биопотенциалов.
2. Потенциал покоя, его происхождение.
3. Потенциал действия.
4. Модель Ходжкина–Хаксли. Доннановское равновесие и потенциал Доннана. Транспорт ионов.
5. Современное представление о генерации нервного импульса. Распространение нервного импульса по миелиновым и немиелиновым нервным волокнам. Энергообеспечение процессов распространения возбуждения.

1. Биоэлектрокинетические явления. Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Биопотенциалы. Классификация биопотенциалов.

Биоэлектрические явления – это клеточные процессы, сопровождающиеся перераспределением и транспортом электрических зарядов, обусловленные присутствием в клетках фиксированных (заряженные группы белков и фосфолипидов) и подвижных (свободные ионы и электроны) электрических зарядов.

В настоящее время принято классифицировать биоэлектрические явления на следующие типы:

✓ *биоэлектрический потенциал* – электрический потенциал плазматической мембраны клетки (мембранный потенциал), источником которого являются электрохимические градиенты различных ионов. Условно различают биоэлектрический потенциал покоя и потенциал действия;

✓ *окислительно-восстановительный потенциал* (редокс-потенциал) – разность потенциалов, возникающая в процессе окислительно-восстановительной реакции переноса электронов от донора к акцептору;

✓ *электрокинетический потенциал* (электрокинетические явления) – разность потенциалов, возникающая в системе при механическом движении фаз. В данном типе различают:

а) электрофорез – движение дисперсной фазы по отношению к дисперсионной среде в электрическом поле (например, дрожжевых клеток или форменных элементов крови в жидкой среде при помещении их в постоянное электрическое поле);

б) электроосмос – движение жидкости через пористую перегородку под влиянием внешнего электрического поля (например, аномальный осмос в почках);

в) потенциал течения – потенциал, возникающий между жидкой фазой и стенками сосуда при движении жидкости (ток крови по артериям и венам);

г) потенциал оседания (седиментации) – потенциал, который возникает

в гетерогенной среде под влиянием силы тяжести между верхними и нижними слоями системы.

Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Середина 18 века (1751 г.) – первые данные о существовании биоэлектрических явлений были получены, когда Адансон отметил сходство действия ударов электрических рыб и разрядов лейденской банки на животных и человека.

Итальянский врач Луиджи Гальвани в 1771 г. опубликовал работу ”Трактат о силах электричества при мышечном движении“. Он обратил внимание на то, что отпрепарированные лапки лягушки приходили в движение, как только соприкасались с железной решеткой балкона, к которому были подвешены за медный крючок. Гальвани считал, что он открыл ”животное электричество“, находящееся в мышцах. Но физик А. Вольта утверждал, что электричество в данном случае возникает в результате контакта через влажную среду двух разнородных металлов. Результатом споров было: 1) открытие источника постоянного тока (вольтов столб – гальванический элемент); 2) Гальвани же видоизменил опыт: отпрепарировал седалищный нерв и набрасывал его на разрез мышцы голени, в результате чего мышца сокращалась. Он экспериментально доказал наличие ”животного электричества“.

Многолетний научный спор (1791–1797 гг.) между естествоиспытателем Л. Гальвани и физиком А. Вольта о природе ”животного электричества“ завершился двумя крупными открытиями: были получены факты, доказывающие существование биоэлектрических явлений в живых тканях, и открыт новый принцип получения электрического тока с помощью разнородных металлов – гальванический элемент (вольтов столб). Правильная оценка наблюдений Гальвани стала возможной лишь после применения достаточно чувствительных электроизмерительных приборов – гальванометров.

К середине 19 века было определено, что биотоки возникают между поврежденным и неповрежденным участком (токи покоя) или между возбужденным и невозбужденным участком мембраны (токи действия).

Наиболее полно учение об биоэлектрических явлениях в живых тканях было разработано в середине 19 века Э. Дюбуа-Реймоном. Особой его заслугой является техническая безупречность опытов. С помощью усовершенствованных им и приспособленных для нужд физиологии гальванометра, индукционного аппарата и неполяризующихся электродов Дюбуа-Реймон дал неопровержимые доказательства наличия электрических потенциалов в живых тканях как в покое, так и при возбуждении. Именно Дюбуа-Реймон ввел понятия ”возбуждение“ и «возбудимые ткани“. Но ему не удалось (в силу большой инерционности гальванометра) зарегистрировать быстрые, длящиеся тысячные доли секунды колебания биопотенциалов при проведении импульсов вдоль нервов и мышц.

В 1886 г. немецкий физиолог Ю. Бернштейн проанализировал форму

потенциала действия; французский учёный Э. Ж. Марей (1875) применил для записи колебаний потенциалов бьющегося сердца капиллярный электрометр; русский физиолог Н. Е. Введенский использовал (1883) для прослушивания ритмических разрядов импульсов в нерве и мышце телефон, а голландский физиолог В. Эйнтховен (1903) ввёл в эксперимент и клиническую практику струнный гальванометр – высокочувствительный и малоинерционный прибор для регистрации электрических токов в тканях. Значительный вклад в изучение биопотенциалов внесли русские физиологи: В. В. Правдич-Неминский (1913–1921) впервые зарегистрировал электроэнцефалограмму, А. Ф. Самойлов (1929) исследовал природу нервно-мышечной передачи возбуждения, а Д. С. Воронцов (1932) открыл следовые колебания биопотенциалов, сопровождающие потенциал действия в нервных волокнах.

Дальнейший прогресс в изучении биопотенциалов был тесно связан с успехами электроники, позволившими применить в физиологическом эксперименте электронные усилители и осциллографы (работы американских физиологов Г. Бишопа, Дж. Эрлангера и Г. Гассера в 30–40-х гг. 20 в.).

Качественно новый этап в изучении электрических явлений в живых тканях наступил в середине 20 века в связи с разработкой точных методов регистрации электрических потенциалов. Важное значение для выяснения механизмов генерации биопотенциалов имело использование гигантских нервных волокон головоногих моллюсков, главным образом кальмара. Диаметр этих волокон в 50–100 раз больше, чем у позвоночных животных, он достигает 0,5–1 мм, что позволяет вводить внутрь волокна микроэлектроды, инъецировать в протоплазму различные вещества и т. п. Изучение ионной проницаемости мембраны гигантских нервных волокон позволило английским физиологам А. Ходжкину, Э. Хаксли и Б. Катцу (1947–1952) сформулировать современную мембранно-ионную теорию биоэлектрогенеза (Нобелевская премия, 1963 г.).

Электрокинетические явления впервые обнаружил профессор Московского университета Ф. Рейс, установивший в 1908 г. возможность передвижения в постоянном электрическом поле дисперсной фазы и дисперсионной среды коллоидных растворов. Так были открыты два электрокинетических явления – электрофорез и электроосмос.

В дальнейшем было обнаружено, что в коллоидных растворах при наличии разности гидростатического давления или градиента силы тяжести между дисперсной фазой и дисперсионной средой может возникать разность потенциалов. Эти потенциалы получили название: потенциалы течения (протекания) и потенциалы седиментации (оседания).

Потенциалы течения впервые обнаружил в 1859 г. немецкий исследователь Квинке. Они возникают в результате движения жидкости через капилляры или поры пористой перегородки под влиянием разности гидростатического давления.

Потенциалы седиментации впервые описал в 1878 г. немецкий

исследователь Дорн. Потенциалы седиментации могут возникать в гетерогенной среде под влиянием силы тяжести между верхними и нижними слоями системы.

На основании изложенного следует, что потенциалы седиментации и течения представляют собой явления, обратные электрофорезу и электроосмосу. Все электрокинетические явления в любом случае связаны с возникновением разности потенциалов, возникающей между дисперсной фазой и дисперсионной средой. Такой потенциал называется электрокинетическим.

Биопотенциалы. Классификация биопотенциалов. Одна из важнейших функций биологической мембраны – генерация и передача биопотенциалов.

В процессе жизнедеятельности в клетках и тканях могут возникать разности электрических потенциалов ($\Delta\varphi$):

1) окислительно-восстановительные потенциалы возникают вследствие переноса электронов от одних молекул к другим;

2) мембранные – вследствие градиента концентрации ионов и переноса ионов через мембрану.

Биопотенциалы, регистрируемые в организме, – это в основном мембранные потенциалы.

Мембранным потенциалом называется разность потенциалов между внутренней (цитоплазматической) и наружной поверхностями мембраны:

$$\varphi_м = \varphi_{нар} - \varphi_{вн} \qquad (7.1)$$

Прогресс в исследовании биопотенциалов обусловлен:

1) разработкой микроэлектродного метода внутриклеточного измерения потенциалов;

2) созданием специальных усилителей биопотенциалов (УПТ);

3) выбором удачных объектов исследования крупных клеток и среди них гигантского аксона кальмара.

Для биофизики гигантский аксон кальмара послужил великолепным модельным объектом для изучения биопотенциалов. В гигантский аксон кальмара можно ввести микроэлектрод, не нанеся аксону значительных повреждений.

Изучение мембранного потенциала было проведено на аксоне кальмара. Диаметр аксона кальмара достигает 0,5 мм. В него можно ввести микроэлектрод, не нанося значительных повреждений. Этот микроэлектрод делают стеклянным и заполняют его раствором KCl или NaCl (желатинизированный). Второй электрод – электрод сравнения. Он располагается в растворе у наружной поверхности клетки. Регистрирующее устройство, содержащее усилитель постоянного тока, измеряет мембранный потенциал (рис. 7.1).

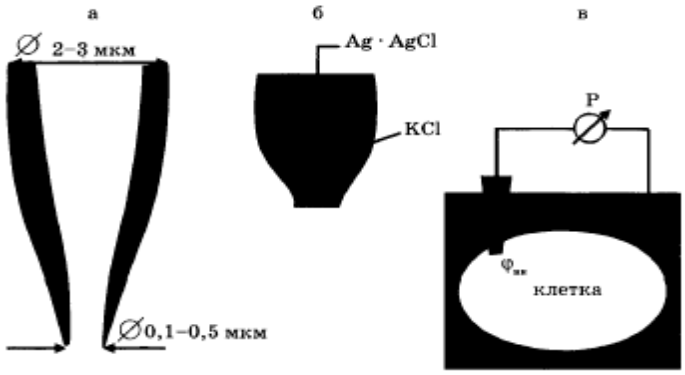


Рисунок 7.1 – Микроэлектродный метод измерения биопотенциалов: а – стеклянная микропипетка; б – стеклянный микроэлектрод; в – схема регистрации мембранного потенциала

Микроэлектродный метод дал возможность измерить биопотенциалы не только на гигантском аксоне кальмара, но и на клетках нормальных размеров: нервных волокнах других животных, клетках скелетных мышц, клетках миокарда и других.

Мембранные потенциалы подразделяются на потенциалы покоя и потенциалы действия.

2. Потенциал покоя, его происхождение.

Потенциал покоя – стационарная разность электрических потенциалов, регистрируемая между внутренней и наружной поверхностями мембраны в невозбужденном состоянии. Потенциал покоя определяется разной концентрацией ионов по разные стороны мембраны и диффузией ионов через мембрану. Когда клетка находится в состоянии физиологического покоя, её внутренний потенциал электроотрицателен по отношению к наружному. У различных клеток потенциал варьирует от –50 до –90 мВ. Если концентрация какого-либо иона внутри клетки $C_{вн}$ отлична от концентрации этого иона снаружи $C_{нар}$ и мембрана проницаема для этого иона, возникает поток заряженных частиц через мембрану, вследствие чего нарушается электрическая нейтральность системы, образуется разность потенциалов внутри и снаружи клетки, которая будет препятствовать дальнейшему перемещению ионов через мембрану.

Равновесие – состояние системы, при котором каждая частица может переходить из некоторого состояния в другое состояние и обратно, но в целом доля этих состояний в системе не изменяется. Поэтому при установлении равновесия выравниваются значения электрохимических потенциалов по разные стороны мембраны.

Формула Нернста для равновесного мембранного потенциала:

$$\varphi_{м}^{р} = \varphi_{вн} - \varphi_{нар} = -\frac{RT}{F}\ln\frac{C_{вн}}{C_{нар}} \qquad (7.2)$$

где $C_{вн}$ и $C_{нар}$ – концентрация потенциалопределяющих ионов по обе стороны мембраны; R – универсальная газовая постоянная; T – температура; F – число Фарадея; знак минус (–) означает, что внутренняя поверхность мембраны заряжена отрицательно.

В результате действия натрий-калиевого насоса два иона калия проходят в клетку, а на смену им из клетки выводятся три иона натрия, в результате чего один положительный заряд покидает клетку, что способствует появлению отрицательного потенциала внутриклеточного вещества относительно внеклеточного.

Таким образом, потенциал покоя на самом деле ближе к потенциалу, рассчитанному по формуле Нернста для K^+. Вместе с тем обращает на себя внимание значительное расхождение экспериментальных и теоретических значений. Причины расхождения в том, что не учтена проницаемость мембраны для других ионов. Одновременная диффузия через мембрану ионов K^+, Na^+ и $C1^-$ учитывается уравнением Гольдмана. Уравнение для мембранного потенциала, созданного потоками через мембрану трех видов ионов, – *уравнение Гольдмана*:

$$\varphi_м = -\frac{RT}{F}\ln\frac{P_K[K^+]_{вн} + P_{Na}[Na^+]_{вн} + P_{Cl}[Cl^-]_{нар}}{P_K[K^+]_{нар} + P_{Na}[Na^+]_{нар} + P_{Cl}[Cl^-]_{вн}} \qquad (7.3)$$

где P_K, P_{Na}, P_{Cl} – коэффициенты проницаемости соответствующих ионов внутри и снаружи мембраны.

В числителе выражения, стоящего под знаком логарифма, представлены концентрации $[K^+]_{ВН}$, $[Na^+]_{ВН}$, *но* $[C1^-]_{НАР}$, а в знаменателе – $[K^+]_{НАР}$, $[Na^+]_{НАР}$, но $[C1^-]_{ВН}$, так как ионы хлора отрицательно заряжены. В состоянии покоя проницаемость мембраны для ионов K^+ значительно больше, чем для Na^+ и $C1^-$: $P_K >> P_{Na}$, $P_K > P_{Cl}$.

Штейнбах, Шпигельман, Ходжкин, Катц определили, что у покоящегося гигантского нервного волокна кальмара, находящегося в растворе искусственной морской воды, существуют следующие отношения констант проницаемости:$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0{,}04 : 0{,}45$.

Уравнение Нернста является частным случаем уравнения Гольдмана. И формула Нернста, и уравнение Гольдмана не учитывают активного транспорта ионов через мембрану, наличия в мембранах электрогенных (вызывающих разделение зарядов, а следовательно, и возникновение разности потенциалов) ионных насосов, играющих важную роль в поддержании ионного равновесия в мелких клетках. В цитоплазматической мембране работают K^+/Na^+-АТФ-азы, перекачивающие калий внутрь клетки, а натрий из клетки. С учетом работы электрогенных ионных насосов для мембранного потенциала было получено *уравнение Томаса:*

$$\varphi_м = -\frac{RT}{F}\ln\frac{m\,P_K[K^+]_{вн} + P_{Na}[Na^+]_{вн}}{m\,P_K[K^+]_{нар} + P_{Na}[Na^+]_{нар}} \qquad (7.4)$$

где m – отношение количества ионов натрия к количеству ионов калия, перекачиваемых ионными насосами через мембрану.

Чаще всего K^+/Na^+-АТФ-аза работает в режиме, когда m = 3 / 2, m всегда > 1. Нет ионных насосов, перекачивающих *Cl*, поэтому в уравнении Томаса отсутствуют члены $P_{Cl}[Cl^-]$.

Коэффициент m > 1 усиливает вклад градиента концентрации калия в создание мембранного потенциала, поэтому мембранный потенциал, рассчитанный по Томасу, больше по абсолютной величине, чем мембранный потенциал, рассчитанный по Гольдману, и дает совпадение с экспериментальными значениями для мелких клеток.

Нарушение биоэнергетических процессов в клетке и работы K^+/Na^+-АТФ-азы приводит к уменьшению мембранного потенциала, поэтому в этом случае для его расчета лучше применимо уравнение Гольдмана. Повреждение клеточной мембраны приводит к повышению проницаемости клеточных мембран для всех ионов: P_K, P_{Na}, P_{CL}. Вследствие уменьшения различия проницаемостей абсолютное значение мембранного потенциала снижается. Для сильно поврежденных клеток его значение еще меньше, но сохраняется отрицательный мембранный потенциал за счет содержащихся в клетке полианионов – отрицательно заряженных белков, нуклеиновых кислот и других крупных молекул, которые не могут проникнуть через мембрану (доннановский потенциал).

Увеличение трансмембранной разности потенциалов называется *гиперполяризацией*, уменьшение – *деполяризацией*. В последнем случае может даже измениться знак внутриклеточного потенциала.

3. Потенциал действия.

Потенциал действия – это электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости мембраны и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения.

Условием возникновения потенциала действия является изменение мембранного потенциала покоя до критического уровня деполяризации. Это тот уровень мембранного потенциала, при котором открываются быстрые натриевые каналы, блокируемые тетродотоксином, и формируется входящий натриевый ток ионов в клетку. Данный процесс носит регенеративный характер: открытие одних каналов быстро способствует открытию последующих каналов. Поток ионов натрия лавинообразно нарастает и при достижении равновесного натриевого потенциала быстро обрывается за счет механизма инактивации, который хорошо выражен в натриевом быстром канале. После этого начинается постепенное открытие калиевых каналов и закрытие быстрых натриевых каналов, что приводит к восстановлению исходного уровня мембранного потенциала покоя. Восстановление исходного уровня мембранного потенциала происходит иногда через ряд

следовых потенциалов: отрицательный следовой потенциал – остаточная деполяризация; положительный следовой потенциал – остаточная гиперполяризация.

В развитии потенциала действия различают следующие фазы.

1. Фаза медленной деполяризации, которая связана с увеличением проницаемости для ионов натрия. Транспорт ионов натрия в эту фазу происходит с участием медленных натриевых каналов, которые не блокируются тетродотоксином.
2. Фаза быстрой деполяризации. Она связана с открытием быстрых натриевых каналов, блокирующихся тетродотоксином и лавинообразным входом ионов натрия внутрь клетки. Амплитуда и крутизна этой фазы определяется как пассивными, так и активными свойствами мембраны (постоянной времени RC и системой натриевой проводимости мембраны).
3. Овершут – превышение мембранного потенциала над нулевой линией.
4. Фаза быстрой реполяризации. В эту фазу наблюдается открытие калиевых каналов, увеличение скорости диффузии ионов калия из клетки и закрытие быстрых натриевых каналов.
5. В некоторых типах возбудимых мембран наблюдается фаза отрицательного следового потенциала (остаточная деполяризация). Она связана с тем, что ионные токи, принимающие участие в формировании мембранного потенциала в покое, не сразу приобретают те скорости, которыми обеспечивается величина исходного мембранного потенциала. В данном случае входящий медленный ток ионов натрия превышает тот, который наблюдается в состоянии покоя.
6. Фаза положительного следового потенциала наблюдается по тем же причинам, которые указаны выше. В этом случае диффузионный поток ионов калия из клетки превышает ток ионов калия во время мембранного потенциала покоя (рис. 7.2).

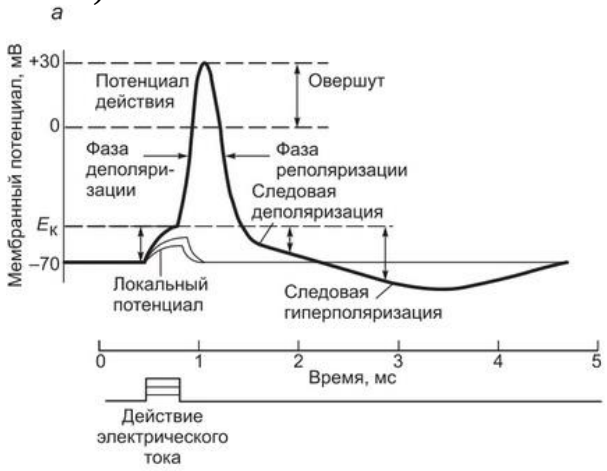


Рисунок 7.2 – Фазы потенциала действия

В процессе возбуждения (во время генерации потенциала действия) меняется возбудимость, как способность к возбуждению. В фазу медленной

деполяризации она растет, в фазу быстрой деполяризации она падает, на уровне овершута она отсутствует вследствие инактивации натриевых быстрых каналов.

Порог деполяризации – эта та величина, на которую нужно изменить мембранный потенциал покоя, чтобы достичь критического уровня деполяризации.

Характерные свойства потенциала действия:

1. Наличие порогового значения деполяризующего потенциала.
2. Закон ”все или ничего“, т. е. если деполяризующий потенциал больше порогового, то развивается потенциал действия, амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса; если деполяризующий потенциал меньше порогового, то потенциал действия не развивается.
3. Есть период рефрактерности (невозбудимости) мембраны во время развития потенциала действия и остаточных явлений после снятия возбуждения.
4. В момент возбуждения резко уменьшается сопротивление мембраны.

Положительный потенциал реверсии имеет натриевую природу, т. к. именно диффузия натрия создает положительную разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны.

Опыты, проведенные с радиоактивным изотопом натрия, позволили установить, что при возбуждении проницаемость для натрия резко возрастает. Если в состоянии покоя соотношение коэффициентов проницаемости мембраны аксона кальмара для разных ионов: $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0{,}04 : 0{,}45$, то в состоянии возбуждения: $P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 20 : 0{,}45$. По сравнению с невозбужденным состоянием при возбуждении коэффициент проницаемости для натрия возрастает в 500 раз. Расчеты мембранного потенциала реверсии по уравнению Гольдмана, если в него подставить значения проницаемостей мембраны для возбужденного состояния, совпадают с экспериментальными данными.

4. Модель Ходжкина–Хаксли. Доннановское равновесие и потенциал Доннана. Транспорт ионов

Исторически первая модель, хорошо описывающая все особенности потенциала действия, была предложена Ходжкиным и Хаксли задолго до того, как методами молекулярной биологии были изучены микроскопические мембранные системы.

Согласно теории Ходжкина–Хаксли, возбуждение элемента мембраны связано с изменением проводимости мембраны для ионов натрия и калия. Проводимости мембраны сложным образом зависят от мембранного потенциала и времени.

Возбуждение мембраны описывается уравнениями Ходжкина–Хаксли. Одно из уравнений Ходжкина–Хаксли имеет вид:

$$I_{\text{м}} = C_{\text{м}} \frac{d\varphi_{\text{м}}}{dt} + \sum I_i \qquad (7.5)$$

где $I_{\text{м}}$ – ток через мембрану; $C_{\text{м}}$ – емкость мембраны; ΣI_i – сумма ионных токов через мембрану.

Электрический ток через мембрану складывается из ионных токов: ионов калия, натрия и других (в том числе хлора), тока утечки, а также емкостного тока. Емкостный ток обусловлен перезарядкой конденсатора, который представляет собой мембрана, перетеканием зарядов с одной ее поверхности на другую. Его величина определяется количеством заряда, перетекающего с одной обкладки на другую за единицу времени. Каждый ионный ток определяется разностью мембранного потенциала и равновесного нерстовского потенциала, создаваемого диффузией ионов данного типа.

Полный мембранный ток:

$$I_{\text{м}} = C_{\text{м}} \frac{d\varphi_{\text{м}}}{dt} + I_K + I_{Na} + I_{\text{ут}} \qquad (7.6)$$

где $I_K, I_{Na}, I_{\text{ут}}$ – токи ионов калия, натрия и утечки.

Экспериментальной базой для создания модели генерации потенциала действия явились результаты опытов по разделению ионных токов возбужденного аксона. Для разделения токов использовали блокатор натриевого тока (тетродотоксин) и блокатор калиевого тока (тетраэтиламмоний). Измерение входящих и выходящих токов проводилось в режиме фиксации потенциала. При введении в раствор тетродотоксина регистрировали временную зависимость выходящего тока калия при данном фиксированном значении мембранного потенциала. Затем величину фиксированного деполяризующего потенциала изменяли и снова регистрировали зависимость. То же самое делали для натрия.

Таким образом, экспериментально была показана зависимость токов натрия и калия от мембранного потенциала и от времени.

В серии опытов на аксоне кальмара было показано:

- образование потенциала действия связано с переносом натрия и калия через мембрану;
- проводимость мембраны для этих ионов меняется в зависимости от величины мембранного потенциала и времени.

В дальнейшем Ходжкин и Хаксли предложили математическую модель, которая описывала изменения проводимостей, следовательно, и токов ионов натрия и калия через мембрану в процессе возбуждения.

Основные постулаты модели Ходжкина и Хаксли:

1. В мембране существуют отдельные каналы для переноса ионов натрия и калия.

2. Во внутренней структуре мембраны существуют некоторые заряженные частицы, управляющие проводимостью каналов. В зависимости от величины напряженности приложенного электрического поля эти гипотетические частицы могут передвигаться в мембране, тем самым увеличивать или уменьшать потоки ионов натрия и калия через каналы.

Таким образом, Ходжкин и Хаксли обосновали ионную теорию возбудимых мембран и смогли удовлетворительно описать в рамках этой теории изменения ионной проводимости и процесс генерации потенциала действия нервной клетки. Модель Ходжкина–Хаксли не объясняла природу активирующих и блокирующих частиц и механизм их влияния на проводимость ионного канала.Физическая интерпретация модели Ходжкина–Хаксли требует наличия внутри мембраны заряженных частиц, причем эти частицы должны передвигаться в зависимости от внешнего электрического поля.

Таким образом, для подтверждения второго постулата модели необходимо зарегистрировать перемещения заряженных частиц внутри мембраны при изменении мембранного потенциала, т. е. зарегистрировать так называемые воротные токи.

Доннановское равновесие и потенциал Доннана. Транспорт ионов. Если налить в сосуд с полупроницаемой перегородкой воды, то в первом и во втором будет вода. Доннан добавил в первый отсек соль KCl. По истечении определенного времени концентрации различных ионов в двух отсеках стали равны. Доннан взял соль с органическими ионами, которые не проходят через мембрану. Через некоторое время ионы K+ и Cl^- начинают диффунцировать. Наступает ситуация, при которой в первом отсеке $[K^+]$ больше, чем во втором, в первом отсеке $[Cl^-]$ меньше, чем во втором.

Вывод: анион, не проходящий через мембрану, оказывает влияние на распределение анионов и катионов, свободно проходящих через мембрану между отсеками. Такая же ситуация наблюдается и в клетках, и в биосистемах. Три основных аспекта Доннановского равновесия включают:

1) неравномерное распределение ионов;
2) осмотическое давление;
3) разность потенциалов между фазами.

Установленное Доннаном равновесие обусловлено несколькими фактами:

1. Оба отсека по отдельности должны быть электронейтральными, то есть в каждом отсеке число ”+“ ионов должно быть равно числу ”–“ ионов.
2. Диффундирующие ионы (K^+ и Cl^-) пересекают мембрану парами, при этом сохраняется электронейтральность отсеков. Вероятность пересечения мембраны этими ионами определятся произведением их концентраций $[K^+] \times [Cl^-]$.
3. В равновесии скорость диффузии KCl в одном направлении равна скорости диффузии KCl в противоположном направлении. Поэтому $[K^+] \times [Cl^-]$ должно быть одинаковым для обоих отсеков.

Математическое выражение Доннановского равновесия:

$$[K^+]_2 / [K^+]_1 = ([A^-]_1 + [Cl^-]_1) / [Cl^-]_2. \quad (7.7)$$

Для транспорта ионов необходимо учитывать и влияние электрических сил. На заряженные частицы (органические и неорганические ионы) действуют две силы, определяющие их диффузию через мембрану: концентрационный градиент и электрическая сила (определяется разностью потенциалов). Совокупность этих двух сил составляет электрохимический потенциал.

Существует разность потенциалов, уравновешивающая действующий на данный ион концентрационный градиент и предотвращающая трансмембранный перенос данного иона. В этой ситуации будет существовать некоторое состояние равновесия (электрохимическое равновесие), а соответствующие потенциалы мембраны будут называться равновесными потенциалами. Например, на мембране много $К^+$, идет отток $К^+$. Если зарядить внутреннюю поверхность мембраны до –97 мВ, для Na^+ равновесный потенциал ≈ +55 мВ.

Диффузия заряженных частиц может происходить против концентрационного градиента, если электрический градиент будет направлен противоположно концентрационному и будет превышать его действие.

5. Современное представление о генерации нервного импульса. Распространение нервного импульса по миелиновым и немиелиновым нервным волокнам. Энергообеспечение процессов распространения возбуждения.

Согласно теории Ходжкина–Хаксли, возбуждение элемента мембраны зависит от мембранного потенциала и времени. Соответственно, если в каком-либо участке возбудимой мембраны сформировался потенциал действия, мембрана деполяризована, возбуждение распространяется на другие участки мембраны.

Локальные токи образуются и внутри клетки и на наружной ее поверхности. Локальные электрические токи приводят к повышению потенциала внутренней поверхности невозбужденного участка мембраны и к понижению наружного потенциала невозбужденного участка мембраны, оказавшегося по соседству с возбужденной зоной. Таким образом, отрицательный потенциал покоя уменьшается по абсолютной величине, т. е. повышается. В областях, близких к возбужденному участку, мембранный потенциал повышается выше порогового значения. Под действием изменения мембранного потенциала открываются натриевые каналы, дальнейшее повышение происходит уже за счет потока ионов натрия через мембрану. Происходит деполяризация мембраны, развивается потенциал действия. Затем возбуждение передается дальше на покоящиеся участки мембраны.

Величина деполяризующего потенциала, передаваемого от возбужденных участков мембраны, зависит от расстояния.

Повышение мембранного потенциала – величина деполяризующего потенциала V, передаваемого от возбужденных участков вдоль мембраны, зависит от расстояния *x* (как это следует из электродинамики) по формуле:

$$V(x) = V_0 e^{\frac{x}{\lambda}} \qquad (7.7)$$

где V_0 – повышение мембранного потенциала в зоне возбуждения; x – расстояние от возбужденного участка; λ – константа длины нервного волокна, равная расстоянию, на котором деполяризующий потенциал уменьшается в *e* раз.

Чем больше константа длины мембраны, тем больше скорость распространения нервного импульса. Величина λ тем больше, чем больше радиус аксона и удельное сопротивление мембраны и чем меньше удельное сопротивление цитоплазмы.

У позвоночных животных большая скорость передачи возбуждения в нервных волокнах. Их аксоны снабжены миелиновой оболочкой, которая увеличивает сопротивление мембраны и ее толщину.

Существуют два типа нервных волокон: миелиновые (быстрые) и безмиелиновые (медленные).

К миелинизированным волокнам относятся чувствительные и двигательные волокна, а также часть волокон вегетативной нервной системы.

В безмиелиновых волокнах возбуждение распространяется за счет малых круговых токов, которые возникают внутри волокна или в окружающей его жидкости. Ток распространяется от положительного заряда к отрицательному. Между возбужденными и невозбужденными участками мембраны возникает разность потенциалов, которая способствует возникновению круговых токов. В месте выхода кругового тока повышается проницаемость плазматической мембраны для ионов Na^+, в результате чего происходит деполяризация мембраны. Между вновь возбужденным участком и соседним невозбужденным вновь возникает разность потенциалов, что вновь приводит к возникновению круговых токов. Возбуждение постепенно охватывает соседние участки и так распространяется до конца аксона.

Недостатки безмиелиновых волокон:

– процессы метаболизма в них не обеспечивают быструю компенсацию расхода энергии, поэтому распространение возбуждения идет с постепенным затуханием (с декрементом);

– низкая скорость распространения возбуждения (0,5–2 м/с).

В миелиновых волокнах за счет миелиновой оболочки, которая является диэлектриком, электрический ток может входить и выходить из волокна только в области перехвата. При прохождении возбуждения возникает деполяризация в области первого перехвата, соседний второй перехват в это время поляризован. Между перехватами возникает разность потенциалов,

появляются круговые токи. За счет круговых токов возбуждаются другие перехваты. При этом возбуждение распространяется сальтаторно (скачкообразно) от одного перехвата Ранвье (участка, свободного от миелиновой оболочки) до другого.

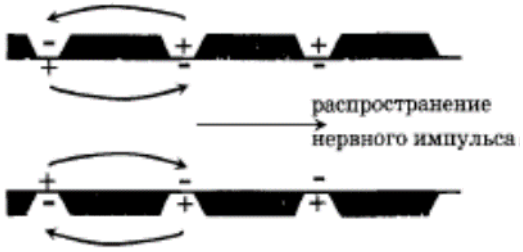


Рисунок 7.4– Сальтаторное распространение потенциала действия по миелинизированному волокну

Преимущества миелиновых волокон:

– благодаря совершенству метаболизма возбуждение проходит, не затухая (без декремента);

– высокая скорость распространения возбуждения (70–120 м/с).

В настоящее время установлено, что генерация потенциала действия и его проведение по нервным волокнам (как и другим специализированным возбудимым клеткам) не требуют непосредственного расхода энергии АТФ. Механизмы распространения возбуждения относительно независимы от метаболизма, который главным образом обеспечивает процессы восстановления и поддержания готовности к возбуждению. Нерв, находящийся в состоянии покоя, потребляет около половины энергии от той, которую он использует при максимальном ритмическом возбуждении. Первые сведения о том, что работа возбудимых образований связана с затратами энергии, получены еще в начале XX в.

Исключительно большое значение в исследовании метаболизма возбудимых образований имеют публикации А. Хилла и его учеников, посвященные измерению теплопродукции нерва. Установлено, что при возбуждении она проходит две стадии. Так называемое начальное тепло выделяется во время проведения возбуждения или сразу после потенциала действия, что составляет всего 1/30 часть общей теплопродукции. При восстановлении мембранного потенциала после ритмического возбуждения теплота, постепенно уменьшаясь, выделяется примерно еще час.

Начальное теплообразование изучено подробнее, чем теплообразование восстановления. Так, на нерве краба доказано, что изменение начального тепла происходит в две фазы.

Биохимические процессы, поставляющие возбудимым клеткам энергию, не отличаются от таковых для живых клеток вообще. Основным источником энергии служит АТФ, а первичной реакцией, обеспечивающей работу, является ферментативное расщепление аденозинтрифосфата:

$$АТФ + H_2O = АДФ + H_3PO_4 + 41{,}8\ кДж. \quad (7.8)$$

Живые ткани являются источником электрических потенциалов (биопотенциалов).

Регистрация биопотенциалов тканей и органов с диагностической (исследовательской) целью получила название электрографии. Такой общий термин употребляется сравнительно редко, более распространены конкретные названия соответствующих диагностических методов: электрокардиография (ЭКГ) – регистрация биопотенциалов, возникающих в сердечной мышце при ее возбуждении; электромиография (ЭМГ) – метод регистрации биологической активности мышц; электроэнцефалография (ЭЭГ) – метод регистрации биологической активности головного мозга.

В большинстве случаев биопотенциалы снимаются электродами не непосредственно с органа (сердце, головной мозг), а с других, соседних тканей, в которых электрические поля этим органом создаются. В клиническом отношении это существенно упрощает саму процедуру регистрации, делая ее безопасной и несложной.

ТЕМА 8. БИОФИЗИИКА СОКРАТИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

1. Основные типы сократительных и подвижных систем. Биофизическая характеристика некоторых мышечных и немышечных сократительных белков.
2. Основные свойства поперечно-полосатой мышцы как механохимического преобразователя энергии.
3. Молекулярный механизм мышечного сокращения, его регуляция.
4. Теории, объясняющие механизм сокращения. Энергообеспечение мышечного сокращения.

1. Основные типы сократительных и подвижных систем. Биофизическая характеристика некоторых мышечных и немышечных сократительных белков.

Подвижные системы отличаются достаточным разнообразием в мире живых организмов. Среди них можно выделить мышечную систему у животных и сократительную систему жгутиков и ресничек простейших и прокариот. Также у высших животных есть немышечные сократительные элементы – миофибробласты, перициты и миоэпителиальные клетки. Сократительные системы имеют одну общую и крайне важную черту – они осуществляют превращение химической энергии, освобождающейся при гидролизе АТФ, в механическую.

Наиболее изученными являются сократительные системы мышечной ткани. Мышечная ткань представляет собой совокупность мышечных клеток (волокон), внеклеточного вещества (коллаген, эластин и др.) и густой сети нервных волокон и кровеносных сосудов. Мышцы по строению делятся на:

- гладкие – мышцы кишечника, стенки сосудов;
- поперечно-полосатые:

а) поперечно-полосатые скелетные – это мышцы тела, конечностей;

б) поперечно-полосатая сердечная (кардиомиоциты) – особый тип поперечно-полосатых мышц, которые встречаются только в сердце.

Независимо от строения все они имеют близкие механические свойства, одинаковый механизм активации и близкий химический состав.

2. Основные свойства поперечно-полосатой мышцы как механохимического преобразователя энергии.

Ответом мышечного волокна на возбуждение является сокращение, которое совершает сократительный аппарат клетки – миофибриллы. Они представляют собой тяжи, состоящие из двух видов нитей: толстых – миозиновых, и тонких – актиновых.

В состав ***тонкой нити*** входят такие белки, как актин, тропомиозин и тропонин. *Актин* представляет собой длинную белковую нить, однако его нельзя отнести к фибриллярным белкам. Он состоит из отдельных

глобулярных белков, сцепленных между собой таким образом, что вся структура представляет собой вытянутую цепь. Молекулы глобулярного актина (*G-актина*) имеют боковые и концевые центры связывания с другими такими же молекулами. В результате они объединяются таким образом, что образуют структуру, которую часто сравнивают с двумя нитками бус, соединенных вместе. Образованная из молекул G-актина лента закручена в спираль. Такая структура называется *фибриллярным актином (F- актином)*.

Шаг спирали (длина витка) составляет 38 нм, на каждый виток спирали приходится 7 пар G-актина. Полимеризация G-актина, то есть образование F-актина, происходит за счет энергии АТФ, и, наоборот, при разрушении F-актина выделяется энергия.

Вдоль спиральных желобков актиновых филаментов (нитей) располагается белок *тропомиозин***.** Каждая нить тропомиозина, имеющая длину 41 нм, состоит из двух идентичных α-цепей, вместе закрученных в спираль с длиной витка 7 нм. Вдоль одного витка F-актина расположены две молекулы тропомиозина. Каждая тропомиозиновая молекула соединяется, немного перекрываясь, со следующей, в результате тропомиозиновая нить простирается вдоль актина непрерывно.

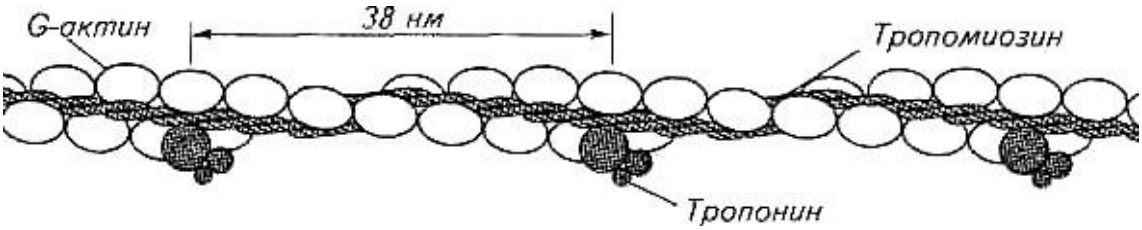


Рисунок 8.1 - Строение тонкой нити миофибриллы

В клетках поперечнополосатых мышц в состав тонких нитей кроме актина и тропомиозина входит еще и белок *тропонин.* На каждый шаг спирали F-актина приходится две молекулы тропонина. Этот глобулярный белок имеет сложное строение, который состоит из трех субъединиц, каждая из них выполняет свою функцию в процессе сокращения.

Толстая нить состоит из большого числа молекул *миозина,* собранных в пучок. Каждая молекула миозина длиной около 155 нм и диаметром 2 нм состоит из шести полипептидных нитей: двух длинных и четырех коротких. Длинные цепи вместе закручены в спираль с шагом 7,5 нм и образуют фибриллярную часть миозиновой молекулы. На одном из концов молекулы эти цепи раскручиваются и образуют раздвоенный конец. Каждый из этих концов образует комплекс с двумя короткими цепями, то есть на каждой молекуле имеются две головки. Это глобулярная часть миозиновой молекулы.

В миозине выделяют два фрагмента: *легкий меромиозин (ЛММ)* и *тяжелый меромиозин (ТММ)*, между ними находится шарнир. ТММ

состоит из двух субфрагментов: S1 и S2. ЛММ и фрагмент S2 ТММ вложены в пучок нитей, а субфрагмент S1 выступает над поверхностью. Этот выступающий конец (миозиновая головка) способен связываться с активным центром на актиновой нити и изменять угол наклона к пучку миозиновых нитей.

Объединение отдельных молекул миозина в пучок происходит, скорее всего, за счет электростатических взаимодействий между ЛММ. Центральная часть нити (около 300 нм) не имеет головок. Весь комплекс миозиновых молекул простирается на 1,5 мкм.

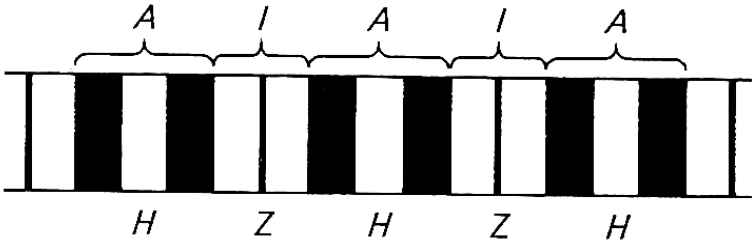


Рисунок 8.2 Структура миофибриллы (поперечный срез)

Поперечно-полосатая структура мышечных волокон может наблюдаться под обычным микроскопом. Отдельное мышечное волокно имеет диаметр 20-80 мкм и окружено плазматической мембраной толщиной 10 нм. Каждое отдельное волокно – это сильно вытянутая клетка. Длина отдельных волокон (клеток) может существенно варьироваться, в зависимости от вида мышцы, от сотен микрон до нескольких сантиметров. Мышечное волокно представляет собой многоядерную клетку. Внутри волокна, кроме известных органелл (ядро, ядрышко, митохондрии, аппарат Гольджи и др.), находятся сократительный аппарат клетки, состоящий из 1000-2000 параллельно расположенных миофибрилл диаметром 1-2 мкм, а также клеточные органеллы: саркоплазматический ретикулум и система поперечных трубочек – Т-система.

Особенность мышцы как механохимического преобразователя энергии заключается в том, что в ней содержится сократительный аппарат и система электромеханического сопряжения. Первый аппарат осуществляет само сокращение мышцы, а система электромеханического сопряжения – регуляцию мышечного сокращения за счет управления концентрации ионов кальция в мышечном волокне.

Каждое мышечное волокно имеет отдельную мембранную оболочку – сарколемму – и электрически изолированно от других мышечных клеток. Помимо миофибрилл, во структуре волокна выделяется еще две части:

а) *система поперечных трубочек (Т-система)* – это впячивания поверхностной мембраны, которые образуют разветвленную системупоперечных трубочек, которые повторяются в волокне согласно с повторяемостью саркомера;

б) *саркоплазматический ретикулум* – система вытянутых соединяющихся с друг другом пузырьков, которая охватывает каждый саркомер миофибриллы.

В миофибриллах различают: *А-зону* – темные полосы, которые в поляризованном свете дают двойное лучепреломление, то есть обладают свойством анизотропии (отсюда и название: А-зона), *I-зону* – светлые полосы, не дающие двойного лучепреломления, то есть изотропные (отсюда название: I-зона). В области I-зоны проходит темная узкая полоса – *Z-диск*. В середине А-полосы выделяется светлая зона (участок), называемая *Н-зоной*, посередине которой проходит *М-линия*. Промежуток между двумя Z-дисками называется *саркомером* и является элементарной сократительной единицей мышечной клетки.

Саркомер – это упорядоченная система толстых и тонких нитей, расположенных гексагонально в поперечном сечении. Каждая толстая нить окружена шестью тонкими, а каждая тонкая нить – тремя толстыми. Толстая нить имеет толщину 12 нм и длину 1,5 мкм и состоит из белка миозина. Тонкая нить имеет диаметр 8 нм, длину 1 мкм и состоит из белка актина, прикрепленного одним концом к Z-диску. Саркомер ограничен Z-линиями с обоих сторон и половины I-зоны, а посередине А-зону и находящуюся внутри неё Н-полосу. Таким образом, формулу саркомера можно представить так: ½ I + A + ½ I

При сокращении мышцы длина актиновых и миозиновых филаментов не изменяется. Происходит лишь их смещение относительно друг друга: тонкие нити задвигаются в промежуток между толстыми. При этом длина диска А остается неизменной, а диск I укорачивается, полоска Н почти исчезает. Такое скольжение оказывается возможным благодаря существованию поперечных мостиков (миозиновых головок) между толстыми и тонкими нитями. При сокращении возможно изменение длины саркомера приблизительно от 2,5 до 1,7 мкм.

3. Молекулярный механизм мышечного сокращения, его регуляция.

В расслабленной мышце мембрана волокна электрически поляризована. В фазном мышечном волокне в состоянии покоя разность потенциалов между внешней и внутренней сторонами мембраны составляет 70-90 мВ. При этом концентрация ионов кальция в саркоплазме не превышает 10^{-7} М.

Миозиновая нить имеет на себе множество головок, которыми она может связываться с актином. Актиновая же нить, в свою очередь, имеет участки (*активные центры*), к которым могут прикрепляться головки миозина. В покоящейся мышечной клетке эти центры связывания прикрыты молекулами тропомиозина, что препятствует образованию связи между тонкими и толстыми нитями.

Для того чтобы актин и миозин могли взаимодействовать, необходимо присутствие ионов кальция. В покое они находятся в

саркоплазматическом ретикулуме. Эта органелла представляет собой ограниченные мембранами полости, содержащие кальциевый насос, который за счет энергии АТФ транспортирует ионы кальция внутрь саркоплазматического ретикулума. Его внутренняя поверхность содержит белки, способные связывать Ca^{2+}, что несколько уменьшает разность концентраций этих ионов между цитоплазмой и полостью саркоплазматического ретикулума. Распространяющийся по клеточной мембране потенциал действия активирует близко расположенную к поверхности клетки мембрану саркоплазматического ретикулума и вызывает выход Ca^{2+} в цитоплазму.

Молекула тропонина обладает высоким сродством к кальцию. Под его влиянием она изменяет положение тропомиозиновой нити на актиновой таким образом, что открывается активный центр, ранее прикрытый тропомиозином. К открывшемуся активному центру теперь может присоединиться поперечный мостик. Это приводит к взаимодействию актина с миозином. После образования связи миозиновая головка, ранее расположенная почти под прямым углом к нитям, наклоняется и протаскивает актиновую нить относительно миозиновой приблизительно на 10 нм.

Образовавшийся актин-миозиновый комплекс препятствует дальнейшему скольжению нитей относительно друг друга, поэтому необходимо его разъединение. Это возможно только за счет энергии АТФ. Миозин обладает АТФ-азной активностью, то есть, способен вызывать гидролиз АТФ. Выделяющаяся при этом энергия разрывает связь между актином и миозином, и миозиновая головка способна взаимодействовать с новым участком молекулы актина. Работа мостиков синхронизирована таким образом, что связывание, наклон и разрыв всех мостиков одной нити происходит одновременно.

При расслаблении мышцы активизируется работа ***кальциевого насоса***, что понижает концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме; следовательно, связи между тонкими и толстыми нитями уже не могут образовываться. В этих условиях при растяжении мышцы нити беспрепятственно скользят относительно друг друга. Однако такая растяжимость возможна только в присутствии АТФ. Если в клетке отсутствует АТФ, то актин-миозиновый комплекс не может разорваться. Нити остаются жестко сцепленными между собой. Это явление наблюдается при трупном окоченении.

Существует два режима сокращения мышцы:

1) изотоническое (изменяется длина волокна, а напряжение остается неизменным);

2) изометрическое (концы мышцы неподвижно закреплены, вследствие чего изменяется не длина, а напряжение).

4. Теории, объясняющие механизм сокращения. Энергообеспечение мышечного сокращения.

Существует несколько теорий молекулярных механизмов мышечного сокращения. Одной из самых известных теорий (моделей) является *теория скользящих нитей Х. Хаксли,* который впервые обнаружил скольжение нитей в саркомере.

Основные положения модели скользящих нитей:

1. Длины нитей актина и миозина в ходе сокращения не меняются.
2. Изменение длины саркомера при сокращении – результат относительного продольного смещения нитей актина и миозина.
3. Поперечные мостики, отходящие от миозина, могут присоединяться к комплементарным центрам актина.
4. Мостики прикрепляются к актину не одновременно.
5. Замкнувшиеся мостики подвергаются структурному переходу, при котором они развивают усилие, после чего происходит их размыкание.
6. Сокращение и расслабление мышцы состоит в нарастании и последующем уменьшении числа мостиков, совершающих цикл замыкание-размыкание.
7. Каждый цикл связан с гидролизом одной молекулы АТФ.
8. Акты замыкания-размыкания мостиков происходят, не зависимо друг от друга.

При однократном движении поперечных мостиков вдоль актиновых нитей саркомер укорачивается на 1 % его длины. С увеличением скорости сокращения мышцы число одновременно прикрепленных поперечных мостиков в каждый момент времени уменьшается. Этим объясняется уменьшение силы сокращения мышцы с увеличением скорости ее сокращения.

Теорию скользящих нитей Хаксли доработал В. И Дещеревский, котрый взял за основу гипотезу *мостика* – выступающие из ствола толстой нити мостики тяжёлого меромиозина (ТММ). *Модель мышечного сокращения Дещеревского* рассматривает три состояния мостиков: замкнутые мостики, развивающие тянущую силу; замкнутые мостики, тормозящие скольжение нитей, и разомкнутые мостики. Мостики замыкаются независимо друг от друга и тянут нити, вызывая активное сокращение. Далее те же мостики тормозят движение, т.к. нити переместились, и, наконец, мостики разрываются. Обозначив через n_0 полное число активных ТММ-выступов (ТММ - тяжелый меромиозин) в половине толстой нити, через n – число тянущих и m – число тормозящих мостиков, получаем уравнение:

$$m = k_1(n_0 - n - m) - \frac{\vartheta}{L} n \; m = \frac{\vartheta}{L} n - k_2 m \qquad (8.1)$$

где υ/L – константа скорости превращения тянущих мостиков в тормозящие,

равная скорости относительного перемещения нитей υ, деленной на расстояние L между двумя соседними активными центрами актина, на которые может быть замкнут мостик; k_1 и k_2 – константы скоростей замыкания и размыкания мостика.

Данная теория дает правильное решение для стационарного изотонического сокращения, но не объясняет развитие напряжения при изометрическом сокращении.

Важными характеристиками работы мышцы являются *сила и скорость сокращения.* Уравнения, выражающие эти характеристики, были эмпирически получены А. Хиллом и впоследствии подтверждены кинетической теорией мышечного сокращения (модель Дещеревского).

Уравнение Хилла, связывающее между собой силу и скорость сокращения мышцы, имеет следующий вид:

$$(P + a)(v + b) = (P_0 + a)b = a(v_{max} + b) \qquad (8.2)$$

где v – скорость укорочения мышцы; P – мышечная сила или приложенная к ней нагрузка (внешняя сила, действующая на мышцу); v_{max} – максимальная скорость укорочения мышцы ($v = v_{max}$ при $P = 0$); P_0 – сила, развиваемая мышцей в изометрическом режиме сокращения, то есть при такой нагрузке, при которой не происходит изменение длины мышцы ($P = P_0$ при $v = 0$); a и b – константы.

Приведенное уравнение имеет вид гиперболы.

При сокращении за время t мышца совершает работу А:

$$A = Pvt \qquad (8.3)$$

При сокращении мышца обычно не только совершает работу, но и выделяет тепло (нагревается). Живая мышца даже в состоянии покоя постоянно выделяет небольшое количество тепла, связанное с обменом веществ (теплота покоя). В процессе сокращения мышцы выделяется количество теплоты Q, которое называется *теплопродукцией.* Как показал Хилл, теплопродукция зависит только от изменения длины x мышцы и не зависит от нагрузки Р: $Q = ax$.

Общая мощность $N_{общ}$, развиваемая мышцей, определяется скоростями выполнения мышцей работы и выделения теплоты:

$$N_{\text{общ}} = \frac{dA}{dt} + \frac{dQ}{dt} = Pv + \frac{dQ}{dt} \qquad (8.4)$$

Коэффициент полезного действия мышцы η записывается в виде:

$$\eta = \frac{A}{A+Q} = \frac{Pv}{N\text{общ}} \qquad (8.5)$$

где $Pv = N_{пол}$ — полезная мощность. КПД мышцы сохраняет постоянное значение (около 40 %). В диапазоне значений силы от $0{,}2P_0$ до $0{,}8P_0$.

Константы a и b имеют постоянные значения для данной мышцы. Константа a имеет размерность силы, а b – скорости. Константа b в значительной степени зависит от температуры, например, при нагревании на 10°С вблизи 0°С b удваивается. Константа a находится в диапазоне значений от $0{,}25P_0$ до $0{,}4P_0$. По этим данным легко оценить максимальную скорость сокращения для данной мышцы.

ТЕМА 9. БИОФИЗИИКА ФОТОБОИЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

1. Общая характеристика и классификация фотобиологических процессов и их стадий.
2. Поглощение света биомолекулами. Закон Ламберта-Бэра. Механизм и спектры поглощения биомолекул. Оптические свойства белков и нуклеиновых кислот. Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом.
3. Люминесценция, ее виды и основные физические характеристики. Биолюминесценция.
4. Миграция энергии в биосистемах, ее механизмы.
5. Типы фотохимических реакций.
6. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Биологическое значение фотоповреждений молекул.
7. Фотосенсибилизация и фотозащита. Световая и темновая репарация.
8. Физический смысл фотосинтеза. Превращение энергии в первичных процессах фотосинтеза. Транспорт электронов и фотофосфорилирование.
9. Термодинамика фотосинтеза, квантовый выход и квантовый расход, КПД превращения световой энергии в химическую.
10. Бактериородопсиновый фотосинтез.
11. Основные физические характеристики и биологическое действие лазерного излучения. Роль двухквантовых реакций.

1. Общая характеристика и классификация фотобиологических процессов и их стадий.

Фотобиологический процесс – процесс, который начинается с поглощения квантов света молекулами и заканчивается физиологической реакцией организма.

Классификация фотобиологических процессов с энергетической точки зрения:

• *эндэргонические реакции* – реакции, при которых энергия света превращается в энергию химических связей с высоким запасом свободной энергии;

• *экзэргонические реакции* – реакции, при которых большая часть энергии рассеивается в тепло, а часть энергии используется для преодоления активационного барьера.

Классификация фотобиологических процессов с биологической точки зрения (рис. 9.1):

1. функционально-физиологические реакции:
• энергетические,
• информационные,

• биосинтетические,

2. декструктивно-модифицирующие реакции:

• летальные,

• мутационные,

• патофизиологические.

Рисунок 9.1– Классификация фотобиологических процессов с биологической точки

Функционально-физиологические реакции – реакции, запускающиеся при помощи света, в которых образуются продукты, необходимые для выполнения естественных функций клеток или организмов. Общим для всех функционально-физиологических реакций является отсутствие повреждений жизненно важных макромолекулярных и надмолекулярных структур клетки.

Энергетические реакции – реакции, в ходе которых световая энергия в результате синтеза новых органических молекул трансформируется в химическую. При этом суммарная свободная энергия конечных продуктов реакции выше, чем у исходных. Основной энергетической реакцией является фотосинтез, в результате которого из воды и углекислого газа за счет энергии света синтезируется глюкоза. Фотосинтез включает в себя образование богатых энергией промежуточных продуктов, например, АТФ и восстановленный НАДФ. Возникновение каждого из промежуточных продуктов фотосинтеза может рассматриваться как самостоятельная эндергоническая фотобиологическая реакция. Особая разновидность

фотосинтеза – это светозависимое образование АТФ с участием бактериородопсина у галофильных бактерий.

Информационные реакции – реакции, при которых свет через образование фотопродуктов запускает специализированные усилительные механизмы, в результате чего организм получает необходимую информацию о ситуации в окружающей среде. Отличительный признак информационных реакций – сложная конструкция усилительного аппарата, достигающая самой высокой степени совершенства в органе зрения. Один квант света, попавший в рецепторную клетку сетчатки, вызывает передвижение огромного количества ионов, формирующих зрительный сигнал. Как и при энергетических реакциях, пигмент, поглощающий свет, практически не расходуется, поскольку его фотопревращения обратимы. К этой группе реакций можно отнести также:

• фототаксис – движение организмов (например, бактерий) к свету или от света;

• фототропизм – поворот листьев (стеблей) растений к свету или от него;

• фотопериодизм – регуляция суточных и годовых циклов животных путем циклических воздействий «свет - темнота»;

• зрение – восприятие света глазом, сопровождающееся превращением световой энергии в энергию нервного импульса; помутнение хрусталика.

Биосинтетические реакции – реакции, при которых в сложной цепи последовательных этапов синтеза органических молекул представлены отдельные фотохимические стадии, т. е. химические реакции, в норме протекающие только под действием света. Например, биосинтеза хлорофилла на заключительной стадии – превращение протохлорофиллида в хлорофиллид, провитамины D, накапливаемые без участия света, превращаются в витамин фотохимическим путем. При информационных и при биосинтетических реакциях существенного запасания энергии не происходит.

Деструктивно-модифицирующие реакции – реакции, при которых под действием света происходит повреждение биологических молекул, что приводит к химическим реакциям, не свойственным организму в норме.

Летальные реакции – реакции, приводящие к гибели организма, вызываются в основном ультрафиолетовым светом. Гибель организма наступает вследствие фотохимических повреждений биологически важных макромолекул и прежде всего ДНК. Эти ж соединения являются акцепторами повреждающего света. Летальные эффекты наблюдаются у низкоорганизованных форм живой материи: животных, растительных и бактериальных вирусов (фагов), микроорганизмов, простейших. В случае микроорганизмов различают бактериостатический (клетки живут, но не размножаются) и бактерицидный (клетки гибнут) эффекты. Особой разновидностью летальных реакций представляется так называемый фотодинамический эффект, когда искусственно внесенная в клетку краситель сенсибилизирует организм к видимому свету в присутствии кислорода.

Мутационные реакции – реакции, при которых в результате действия УФ-света происходит замена или выпадение основания в ДНК, т. е. возникновение мутантной формы организма. Подобно летальным, мутационные реакции возникают и при фотодинамическом действии видимого света.

Патофизиологические реакции – реакции, которые приводят к временным нарушениям метаболизма и физиологического состояния клеток организмов. В ходе этих реакций не происходит необратимого повреждения уникальных, критических, жизненно важных структур. Патофизиологические реакции развиваются после поглощения света различными хромофорами: белками, нуклеиновыми кислотами, липидами, витаминами и др. К патофизиологическим реакциям примыкают и некоторые фотобиологические процессы, протекающие в коже, например, эритема, эдема, загар, пигментация, ожог, рак кожи.

Все разнообразие фотобиологических процессов условно можно свести к реализации нескольких последовательных стадий.

Стадии фотобиологических процессов:

I. Фотофизическая стадия. Заключается в поглощении света биологически активным хромофором, т.е. молекулой, от которой начинается вся цепочка событий, приводящих к конечному эффекту на уровне целого организма. Вообще, хромофорами называют молекулы, способные поглощать свет из определенного диапазона длин волн. Благодаря этому их свойству мы воспринимаем вещества, содержащие хромофоры, как цветные. Например, лист растения зеленым, потому что он содержит хлорофиллы, которые поглощают синий и красный свет и пропускают зеленый. После взаимодействия света с хромофорной молекулой она переходит в возбужденное состояние, что может дать начало фотобиологическому процессу.

II. Первичная фотохимия. В ходе этой стадии образуется первичный фотопродукт, непосредственно участвующий в дальнейших химических или физико-химических превращениях.

III. Вторичная фотохимия. В результате этой стадии после спонтанных химических превращений первичного фотопродукта образуется стабильный продукт. Стабильное соединение отличается устойчивостью в течение достаточно длительных промежутков времени.

IV. Темновые превращения. Включает в себя цепь биохимических реакций или перестроек клеточных структур (чаще всего мембран).

V. Конечный биологический эффект. Результат биохимических или структурных изменений проявляется на уровне организма: происходит синтез богатых энергией веществ, движение биообъекта, модификация генотипа и т.п.

Таким образом, всякий фотобиологический процесс можно представить следующей схемой:

поглощение квантов → *фотохимические реакции* → *химические*

и биохимические реакции → физиологический акт.

В качестве физиологических актов можно назвать: выделение кислорода при фотосинтезе, движение листьев у растений навстречу солнцу, реакция животного на освещение, гибель организма при сильном облучении и т. д.

В задачу биофизики входит исследование первых трех стадий фотопроцессов, остальные стадии являются предметов исследования биохимиков, физиологов и медиков.

2. Поглощение света биомолекулами. Закон Ламберта-Бэра. Механизм и спектры поглощения биомолекул. Оптические свойства белков и нуклеиновых кислот. Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом.

Свет имеет двойственную природу: с одной стороны, свет – это поток квантов, с другой стороны, свет имеет волновую природу. В связи с этим его основными характеристиками считаются частота (ν) и длина волны (λ), а также энергия кванта:

$$W = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \qquad (9.1)$$

где h – постоянная Планка ($6{,}626 \cdot 10^{-34}$ Дж·с); с – скорость света.

Энергия фотона используется при его поглощении молекулами для осуществления фотохимических реакций, таких как, например, превращение родопсина в сетчатке глаза, которое лежит в основе зрения.

Мощность излучения Φ (Вт) равен энергии, переносимой через некоторую поверхность S за единицу времени:

$$\Phi = \frac{dW}{dt} \qquad (9.2)$$

Интенсивность света I (Вт/м^2) – плотность потока излучения, т. е. мощность, падающего на единицу площади поверхности, перпендикулярной направлению распространения света:

$$I = \frac{\Phi}{S} \qquad (9.3)$$

Поглощение света – это явление уменьшения интенсивности света при прохождении его через вещество. Уменьшение интенсивности света происходит в результате того, что энергия света переходит в другие виды энергии: энергию активизации, ионизации молекул, энергию теплового хаотического движения частиц в веществе и др.

Способность молекулы поглощать свет зависит от ее электронной конфигурации. При поглощении света происходит переход электронов в

возбужденное состояние. Данным веществом поглощается свет определенной длины волны.

Мерой интенсивности поглощения служит *оптическая плотность (D)*.

$$D = \lg \frac{I_0}{I} \tag{9.4}$$

Пропускание (T) – отношение интенсивности светового потока, прошедшего через раствор к интенсивности падающего светового потока.

$$T = \frac{I}{I_0} \tag{9.5}$$

Закон Бугера–Ламберта–Бера – физический закон, определяющий ослабление параллельного монохроматического пучка света при распространении его в поглощающей среде. Закон выражается следующей формулой:

$$I = I_0 \, e^{-\varepsilon C l} \tag{9.6}$$

где I – интенсивность выходящего света; I_0 – интенсивность падающего света; l – толщина слоя вещества, через которое проходит свет; ε – коэффициент, зависящий от природы вещества; C – концентрация вещества.

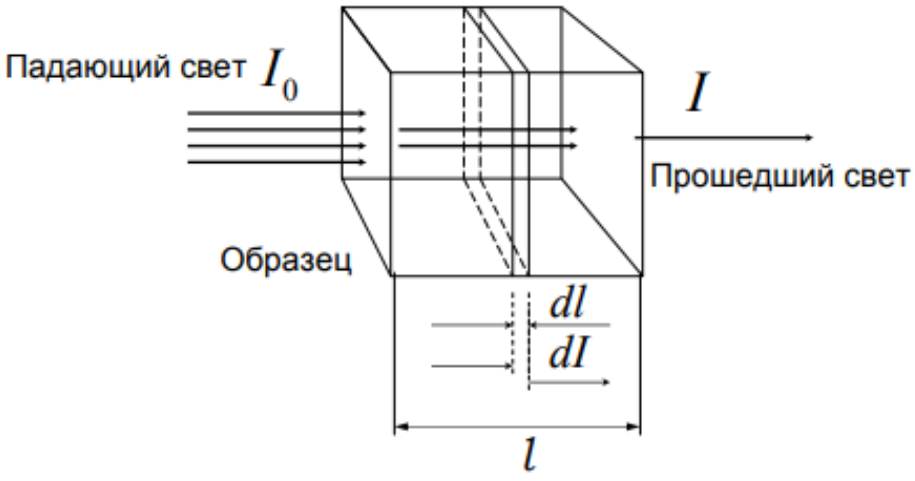


Рисунок 9.2 – К выводу закона Бугера–Ламберта–Бера

Закон Бугера–Ламберта–Бера выполняется при условиях:

- свет монохроматический – одной длины волны (частоты);
- отсутствие взаимодействия между молекулами;
- беспорядочная ориентация молекул.

Последние два условия выполняются в случае разбавленных растворов.

Спектр пропускания – зависимость коэффициента пропускания T от длины волны λ. Спектр пропускания используется для характеристики

светофильтров. Спектр поглощения – зависимость оптической плотности какого-либо объекта, например, раствора, от длины световой волны λ.

Оптические свойства белков – превращение α-спирали в беспорядочный клубок. Следить за им можно разными способами. Превращение сопровождается изменением оптических свойств белка, изменением вязкости его раствора. Происходит такое превращение весьма резко при определенной температуре. Можно вызвать переход спираль - клубок и другими способами, например, воздействием на белок кислотой или щелочью. В этих случаях резкий переход совершается при определенной концентрации кислоты или щелочи в растворе.

Белки представляют собой слабые электролиты амфотерного характера и проявляют хорошие буферные свойства. Каждый белок характеризуется своей изоэлектрической точкой. Большинство белков аморфно, и лишь некоторые были получены в кристаллическом состоянии. Они оптически активны и все почти без исключения имеют левое вращение.

Физико-химические свойства белков в значительной степени определяются их высоким молекулярным весом, амфотерностью аминокислот и лабильностью вторичной и третичной структур белка. Водородные связи, поддерживающие вторичную структуру белка, очень непрочны и легко разрушаются уже при нагревании раствора белка до 60-70° или при действии 8 М раствора мочевины. В результате наблюдается, так называемое, плавление вторичной структуры белка, ведущее к изменению таких физико-химических свойств раствора белка, как светорассеяние, вязкость и оптическое вращение. Белок с разрушенной вторичной структурой становится гидрофобным и имеет тенденцию выпадать в осадок.

Оптическая активность белков, полисахаридов и нуклеиновых кислот обусловлена их оптически активными компонентами – аминокислотами и сахарами, а также асимметрией их вторичной структуры, имеющей форму право- или левовинтовых спиралей. Денатурированный белок имеет конформацию беспорядочного клубка и поэтому дает оптическое вращение, отличное от того, которое дает соответствующий нативный белок, содержащий спиральные участки. Оптическое вращение растворов амилопектина, имеющего в основном неспиральное строение, отличается от оптического вращения свежеприготовленной спиральной амилозы, если проводить сравнение в пересчете на один и тот же вес глюкозы. Изменения конформации белков, обусловленные изменением pH, также отражаются на величине удельного вращения. Все эти свойства белковых растворов известны по наблюдениям их удельного вращения при одной длине волны – как правило, при длине волны D-линии натрия.

Переход от упорядоченной к неупорядоченной структуре ДНК часто называют переходом спираль - клубок, хотя столь же часто применяется термин денатурация.

При переходах спираль - клубок обычно отмечают изменения в каких-нибудь физических свойствах молекулы, например, характеристической

вязкости, оптической плотности, коэффициента седиментации и т.д. Обычно переход спираль - клубок происходит при нагревании, при изменении pH и концентрации солей, а также под действием химических денатурирующих агентов, таких, как мочевина и хлоргидрат гуанидина для белков и формамид, формальдегид и этиленгликоль для нуклеиновых кислот.

Качественно охарактеризовать способность нуклеиновой кислоты поглощать свет можно исходя из спектров поглощения входящих в нее нуклеотидов. *Гипохромизм* – уменьшение оптической плотности раствора нативной ДНК по сравнению с эквимолярной смесью свободных нуклеотидов или денатурированной ДНК. Гипохромизм обусловлен наличием стэкинг-взаимодействий в двухцепочечной молекуле ДНК. На основании данного явления определяют степень ренатурации ДНК.

Наибольший интерес для биофизики представляют эффекты, возникающие вследствие экситонного резонансного взаимодействия, а именно, давыдовское расщепление и гипохромизм.

Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом.

Каждый электрон занимает в молекуле определенный энергетический уровень, характеризующийся определенной энергией. В невозбужденной молекуле электроны занимают уровни с наименьшей энергией. Это электронные уровни. На каждом заполненном уровне может находиться два электрона с противоположными (антипараллельными) спинами – +1/2 и –1/2.

Суммарный спиновый момент в этом случае равен 0. Такие уровни называют *синглетными*. Состояние молекулы, в которой электроны находятся на низших синглетных уровнях в невозбужденном состоянии, называется *основным*.

Под воздействием света электроны могут переходить с основного синглетного на другой возбужденный синглетный уровень, с более высокой энергией. Такие переходы не сопровождаются изменением спина.

Время жизни электрона в возбужденном синглетном состоянии очень мало и равно 10^{-8}–10^{-9} с. Электронный переход осуществляется при поглощении 1 кванта света.

Ряд молекул обладает так называемыми *триплетными* уровнями, на которых находятся неспаренные электроны, особенностью которых является проявление возможности однонаправленного спинового момента. Суммарный спиновый момент в этом случае может быть равен трем значениям: –1, 0 или +1.

Переход из основного синглетного состояния в триплетное запрещен, т.к. этот переход должен сопровождаться обращением спина электрона, а для этого необходима энергия. На триплетный уровне электрон попадает из возбужденного синглетного состояния.

Время жизни электрона в триплетном состоянии намного дольше, чем в синглетном, и составляет 10^{-4}–10 сек.

Многоатомные макромолекулы кроме электронных энергетических уровней имеют вращательные и колебательные подуровни. Их

существование и энергетические характеристики связаны с внутримолекулярными движениями, например ядер атомов.

В зависимости от величины энергии состояния они представляют следующую последовательность: электронный > колебательный > вращательный уровни.

При поглощении кванта света молекула переходит в возбужденное состояние. Так как долго находиться в этом состоянии молекула не может, она возвращается в основное состояние. Энергия возбужденного состояния может тратиться (размениваться) на разные процессы при:

• переходе в основное состояние с выделением энергии в виде тепла;

• высвечивании квантов света: люминесценция (флуоресценция и фосфоресценция);

• миграции энергии;

• фотохимической реакции.

По своей сути, все фотобиологические процессы – это пути размена энергии возбужденного состояния молекул

3. Люминесценция, ее виды и основные физические характеристики. Биолюминесценция.

Люминесценция – излучение, представляющее собой избыток над тепловым излучением, испускаемым веществом при данной температуре, и продолжающееся после поглощения энергии возбуждения в течение времени, которое значительно превышает период световых волн.

Люминесценция, в отличие от теплового свечения, является неравновесным излучением. Для того чтобы вызвать люминесценцию вещества, к нему необходимо подвести извне определенное количество энергии. Частицы вещества (атомы, молекулы), поглощая поступающую извне энергию, переходят в возбужденное энергетическое состояние. Возбужденные частицы довольно быстро теряют избыточную энергию и переходят в основное состояние. Такой переход может совершаться с излучением фотонов люминесценции или безызлучательно, путем передачи энергии окружающим частицам в виде тепла. Для возникновения люминесценции необходимо, чтобы вероятность излучательных переходов превышала вероятность безызлучательных переходов.

Вещества могут люминесцировать, находясь в любом агрегатном состоянии – газообразном, жидком (растворы веществ), твердом (стекла, кристаллические вещества). Основным условием люминесценции является наличие у веществ дискретных энергетических спектров. Вещества с непрерывным энергетическим спектром (например, металлы в конденсированном состоянии) не люминесцируют, поскольку энергия возбуждения у них непрерывно переходит в теплоту.

Общее название веществ, обладающих способностью люминесцировать – люминофоры. Так же называются неорганические люминофоры. Сложные неорганические кристаллические люминофоры с дефектной структурой,

вызванной внедрением в их кристаллическую решетку ионов тяжелых металлов (активаторов), называют кристаллофосфорами. Органические люминофоры принято называть органолюминофорами.

Классификация люминесценции по длительности свечения: флуоресценция и фосфоресценция.

Флуоресценция – излучательный переход между состояниями одинаковой мультиплетности. Время жизни флуоресценции мало, она затухает сразу после прекращения возбуждения.

Фосфоресценция – излучательный переход между состояниями разной мультиплетности. Свечения, продолжавшиеся заметный промежуток времени после прекращения возбуждения.

В настоящее время термины «флуоресценция» и «фосфоресценция» обычно применяют для того, чтобы отличить люминесценцию, возникающую при переходах между электронными уровнями одной мультиплетности (например, синглет-синглетный переход) от переходов между электронными уровнями разной мультиплетности (например, триплет-синглетный переход).

Характеристики флуоресценции:

Спектр испускания – зависимость интенсивности люминесцентного излучения от длины волны испускаемого света.

Квантовый выход – величина, показывающая отношение среднего числа излучённых квантов к числу поглощённых:

$$\varphi = \frac{N_i}{N_p} \qquad (9.7)$$

где: N_i — число излучённых квантов, N_p — число поглощённых квантов.

Вавиловым было показано, что квантовый выход в растворах не зависит от длины волны возбуждающего света. Это связано с огромной скоростью колебательной релаксации, в ходе которой возбуждённая молекула передаёт избыток энергии молекулам растворителя.

Законы флуоресценции:

Принцип Франка - Кондона: часть электронной энергии при поглощении и испускании света должна расходоваться на увеличение колебаний структуры, превращаться в тепло.

Правило Стокса: спектр люминесценции, как правило, сдвинут относительно спектра поглощения в сторону длинных волн. Данное правило принято объяснять потерей некоторой части поглощённой энергии на тепловое движение молекул.

Правило Каши: независимо от способа возбуждения и длины волны возбуждающего света спектр люминесценции остаётся неизменным при данной температуре.

Правило зеркальной симметрии Левшина: спектральные линии

испускания и поглощения в координатах частоты являются взаимным зеркальным отражением.

Характеристики и законы фосфоресценции – те же, что и для флуоресценции.

Классификация люминесценции по способу возбуждения: фотолюминесценция (электромагнитное излучение УФ- и видимого спектрального диапазона); хемилюминесценция (энергия химических реакций); катодолюминесценция (поток электронов); радиолюминесценция (радиоактивное излучение); рентгенолюминесценция (рентгеновское излучение); триболюминесценция (Механическое воздействие) и т.д.

Люминесценция, возникающая в химических реакциях, при которых происходит выделение энергии, называется *хемилюминесценцией*. При этом происходит превращение химической энергии в световую. Хемилюминесценция подразделяется на собственную хемилюминесценцию, активированную хемилюминесценцию и биолюминесценцию (рис.3).

Обычно хемилюминесценция имеет низкую интенсивность и для ее измерения используют специальные приборы – хемилюминометры. В процессе жизнедеятельности практически всегда сопровождается очень слабым излучением, которое иногда называют сверхслабым свечением, или собственным излучением клеток и тканей.

При хемилюминесценции свет испускается либо непосредственно продуктами реакции, либо другими компонентами, которым передается возбуждение. Яркость хемилюминесценции пропорциональна скорости реакции.

Молекулярный механизм хемилюминесценции:

1. Восстановление одного из участников реакции (присоединение электрона) и окисление второго (отрыв электрона). Это приводит к запасанию химической энергии в системе, которая позднее выделится в виде фотона.

2. Перенос электрона (окислительно-восстановительная реакция) не на самый нижний, а на один из более высоких энергетических уровней и образование, таким образом, продукта реакции в электронно-возбужденном состоянии.

3. Высвечивание фотона при переходе молекулы из электронно-возбужденного в основное состояние (люминесценция).

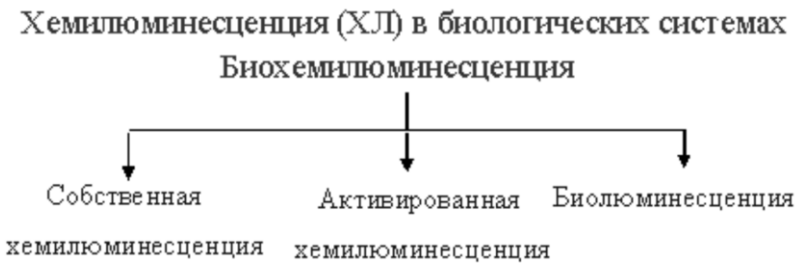


Рисунок 9.3 – Классификация явлений хемилюминесценции в биологических

системах.

Хемилюминесценция, которая возникает в биологических объектах, называется *биолюминесценцией*.

Биохемилюминесценция является частным случаем хемилюминесценции, связанным со специфическими ферментативными реакциями, происходящими в живых организмах. Выделяют следующие виды биолюминесценции (рис. 9.4):

1. Митогенетические лучи Гурвича – слабое ультрафиолетовое излучение клеток, которое индуцирует деление окружающих клеток.

2. Сверхслабое свечение Вавилова (собственная хемилюминесценция клеток и тканей) практически всегда сопровождает процессы жизнедеятельности.

3. Активированная биохемилюминесценция (химические и биохимические активаторы биохемилюминесценции, физические факторы.

Рисунок 9.4 – Классификация биохемилюминесценции

Биолюминесцентные реакции представляют собой, как правило, окисление некоторого вещества, называемого люциферином, кислородом воздуха, катализируемое специальным ферментом люциферазой. Во время такого ферментативного окисления люциферина выделяется большое количество энергии (40–80 ккал/моль), переводящее промежуточный продукт этой реакции в возбужденное состояние. Названия люцифераза и люциферин – условные. У разных светящихся организмов эти ферменты и субстраты не схожи по своему химическому строению.

Весь цикл преобразований в ходе биолюминесцентной реакции условно разбивается на четыре стадии.

I. Образование промежуточных фермент-субстратных комплексов (интермедиатов).

II. Элементарный акт возбуждения и переход некого интермедиата в эмиттер.

III. Испускание кванта света.

IV. Релаксация люциферазы в исходное состояние.

Механизм биохемилюминесценции определяется реакциями окисления. За собственное свечение тканей могут быть ответственны три типа реакций:

1. Реакции так называемых активных форм кислорода.

2. Реакции цепного (перекисного) окисления липидов.
3. Реакции с участием окиси азота.

4. Миграция энергии в биосистемах, ее механизмы.

Миграция энергии – безызлучательный обмен энергией между электронно-возбужденной молекулой (донором) и молекулой в основном состоянии (акцептором):

$$M_1^* + M_2 \rightarrow M_1 + M_2^*$$

Миграция энергии является чисто физическим процессом, не сопровождающимся химическим изменением вещества. Она может происходить как между одинаковыми, так и между разными молекулами в направлении от более высокого к более низкому или одинаковому энергетическому уровню. Известно несколько механизмов миграции энергии: индуктивно-резонансный, экситонный, обменно-резонансный и полупроводниковый (зонная проводимость).

Индуктивно-резонансная миграция энергии. Передача энергии осуществляется за счет диполь-дипольных взаимодействий между M_1^* и M_2 без переноса каких-либо частиц вещества или световых квантов. Для протекания индуктивно-резонансной миграции энергии необходимо только, чтобы M_1 и M_2 имели одинаковые ΔE между определенными энергетическими уровнями (условие резонанса) и чтобы взаимодействия между ними были достаточно интенсивны (условие индукции). Для соблюдения этих условий необходимо и достаточно выполнение трех правил Ферстера:

1. Донор энергии (M_1^*) должен обладать способностью к флуоресценции.
2. Спектр флуоресценции донора (M_1) должен перекрываться со спектром поглощения акцептора (M_2). Эффективность миграции прямо пропорциональна интегралу (площади) перекрытия.
3. Донор и акцептор должны располагаться на определенном (не далее 2 нм) расстоянии друг от друга.

Индуктивно-резонансная миграция энергии возможна как между синглетными уровнями донора и акцептора, так и между синглетным уровнем донора и триплетным уровнем акцептора.

Экситонная миграция энергии. По своей природе этот тип переноса энергии близок к механизмам индуктивного резонанса. Как и при индуктивном резонансе, экситонный перенос возникает вследствие электрических, диполь-дипольных взаимодействий между молекулами или ионами. Однако экситонный перенос предполагает более интенсивные, чем индуктивный резонанс, межмолекулярные взаимодействия. Экситонная миграция наблюдается в кристаллах. Пара «электрон –дырка» называется экситоном.

Как и при индуктивном резонансе, при экситонной миграции энергии не отмечается эффекта фотопроводимости или уменьшения электрического

сопротивления образца при освещении, т.е. молекулы обмениваются не электронами, а только электронным возбуждением. Экситонная миграция энергии возможна как между синглетными возбужденными (синглет-синглетный перенос), так и между триплетными (триплет-триплетный перенос) уровнями.

Обменно-резонансная (триплет-триплетная) миграция энергии. Энергия переносится с триплетного уровня донора на триплетный уровень акцептора при прямом перекрывании «триплетных» электронных орбит (электронных облаков) за счет электростатических взаимодействий электронов донора и акцептора. Чем больше объем перекрывания, тем вероятнее перенос, при котором партнеры взаимно обмениваются своими электронами: донор получает «богатый» энергией электрон акцептора, отдавая ему свой «бедный» энергией электрон. Отсюда возник и сам термин «обменно-резонансный перенос».

Полупроводниковая миграция энергии (зонная проводимость) отличается от предыдущих тем, что энергия переносится с помощью относительно свободно перемещающихся зарядов. Полупроводники характеризуются наличием валентной зоны, зоны проводимости, которые разделены запрещенной зоной. Переход из валентной зоны в зону проводимости может произойти вследствие влияния кванта света (фотопроводимость).

5. Типы фотохимических реакций.

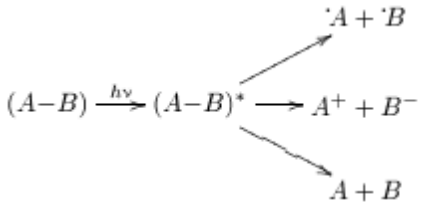
Фотохимические реакции – реакции, идущие под действием света. При фотохимической реакции происходит квантовый переход молекулы вещества из основного электронного состояния в одно из возбужденных состояний. При этом происходит фотоионизация – отщепление электрона и образование катион-радикала:

$$M + h\nu = M^{+} + e^{-}$$

Возбужденные состояния молекул имеют отличную от основного состояния электронную структуру и, как правило, более высокую реакционную способность. Молекулы вступают в химические реакции, первичные продукты которых (ионы, радикалы, изомеры) чаще всего оказываются нестабильными.

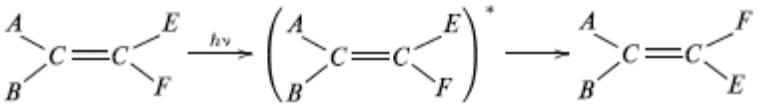
Известны следующие основные типы одноквантовых фотохимических реакций органических молекул:

1. *Фотораспад.* При фотораспаде происходит разрыв химических связей с расщеплением молекулы на радикалы, ионы или нейтральные более простые молекулы. Фотораспад наблюдается, например, при облучении большими дозами ультрафиолета аминокислот, пептидов и белков, а также нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

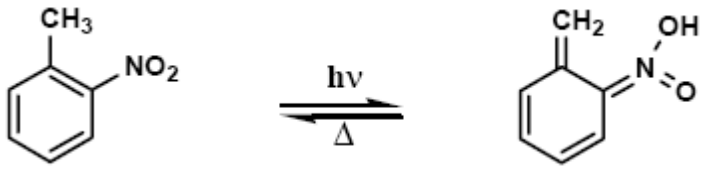


2. *Фотоперегруппировка* – фотореакции, в ходе которых один изомер или таутомер превращается в другой.

✓ *Фотоизомеризация.* Если перегруппировываются отдельные атомы или группы в молекуле, имеет место фотоизомеризация, частный случай которой – фотостереоизомеризация, заключающаяся в изменении пространственного расположения отдельных группировок в молекуле относительно её ”оси “.



✓ *Фототаутомеризация* – внутримолекулярное перемещение протона под действием света наблюдается для многих ароматических соединений:



3. *Фотоприсоединение.* Присоединение к возбужденной молекуле других молекул. В зависимости от того, какая молекула присоединяется, различают:

✓ *Фотодимеризацию*. A* + A = (A*….A) = A_2

✓ *Фотооксидирование.* A* + O_2 = (A*….A) = OAO

✓ *Фотогидратацию.* A* + H_2O = HAOH

4. Фотоперенос электронов.

✓ *Фотоокисление.* Возбуждённая молекула отдаёт свой электрон второй невозбуждённой молекуле:

$$A^* + B = A^+ + X^-$$

✓ *Фотовосстановление.* Возбуждённая молекула получает лишний электрон:

$$A^* + C = A^- + C^+$$

5. *Фотоперенос протона.* Суть реакции – в присоединении к возбужденной молекуле протона от невозбужденной кислоты или, наоборот, – в отдаче возбужденной кислотой своего протона основанию:

✓ *фотоприсоединение H^+:* $A + BH = AH^+ + B^-$

✓ *фотоотдача H^+:* $AH^+ + B = A^- + H^+B$

В обоих случаях реакция обусловлена изменением протонодонорных или протоноакцепторных свойств возбужденных молекул.

Основополагающие для фотохимии принципы и закономерности сформулированы в виде ее основных законов:

1 *Закон Гротгуса – Дрепера* (1817 и 1843 гг. соответственно): химические изменения в системе может вызывать только поглощаемый ею свет. Этот закон определяет необходимое, но не достаточное для протекания фотохимической реакции условие.

1. *Закон Вант-Гоффа (1904):* количество превратившегося в фотохимической реакции вещества пропорционально количеству поглощенной энергии света.

2. *Закон Штарка – Эйнштейна* (закон фотохимической эквивалентности) (1912): каждый поглощенный квант света в первичном акте вызывает активацию только одной молекулы.

6. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Биологическое значение фотоповреждений молекул.

Разрушающее канцерогенное и мутагенное действие света на живые организмы связано, прежде всего, с действием ультрафиолета на нуклеиновые кислоты, особенно на ДНК. Поэтому в данной области проделано огромное число разнообразных исследований.

Фотохимические реакции белков – совокупность фотохимических реакций, приводящих к различным повреждениям белковых молекул и их возможной инактивации. Основными хромофорами белков являются остатки ароматических аминокислот, главным образом триптофана, тирозина и фенилаланина. Эти аминокислоты совместно с цистином ответственны за функционально-активное поглощение квантов света макромолекулами белков.

Таким образом при воздействии УФ - излучения на уровне белков происходят следующие процессы:

1. *Фотоионизация ароматических аминокислот* с образованием катион-радикала и сольватированного электрона.

2. *Фотолиз цистина* с разрывом S-S связей и возникновение радикала цистеина.

И в том и в другом процессе образуются свободные радикалы, которые дают начало каскаду реакций, заканчивающихся нарушением природной структуры белка и инактивацией фермента. Следовательно, конечным результатом действия ультрафиолетового света на белки является их инактивация, т.е. потеря ферментативной, регуляторной, гормональной, транспортной и иммунологической активностей. Фотоинактивация белков представляет собой одноквантовый, одноударный необратимый процесс. Если молекула белка была встроена в липидный слой биологической мембраны, то могут запускаться цепные реакции в липидной фазе.

Фотохимические реакции в белках играют важную роль в действии УФ-излучения на живые существа. Изучение механизма действия УФ-лучей на такие простые системы, как аминокислоты и белки, позволяет лучше понять механизм более сложных фотобиологических процессов, таких, как эритема (покраснение кожи), зрение или фотосинтез.

Фотохимические реакции нуклеиновых кислот – совокупность фотохимических реакций, приводящих к их различным повреждениям, прежде всего ДНК. При воздействии УФ-излучения на уровне белков происходят следующие процессы:

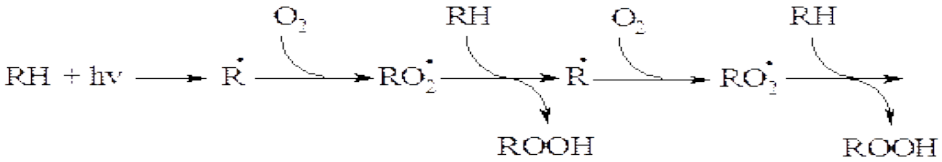
Необходимо подчеркнуть, что пуриновые основания приблизительно на порядок более фоторезистентны, чем пиримидиновые. Поэтому нуклеиновые кислоты повреждаются в основном через фотохимию пиримидиновых оснований. К настоящему времени выявлено несколько типов фотохимических реакций, ведущих к различным повреждениям ДНК:

1. образование фотодимеров тимина, урацила, цитозина и смешанных димеров;
2. реакция гидратации урацила и цитозина;
3. разрывы сахаро-фосфатного остова нуклеиновых кислот;
4. образование внутри- и межмолекулярных сшивок ДНК; сшивок ДНК – белок;
5. фотоденатурация ДНК.

Ультрафиолетовое облучение приводит к блокированию или модификации всех известных функций нуклеиновых кислот. Конечным результатом фотохимических повреждений нуклеиновых кислот являются гибель или разнообразные мутации, а также всевозможные физиологические изменения бактериофагов, клеток и организмов.

Очевидно, что биологическое значение могут иметь только те фотохимические реакции в растворах нуклеиновых кислот, которые приводят к образованию заметных количеств фотопродуктов уже в результате облучения.

Основной фотохимической реакцией липидов под влиянием УФ-излучения является реакция пероксидного фотоокисления. В результате УФ-облучения молекул липидов образуются гидропероксиды жирных кислот (ROOH), которые относятся к первичным, относительно стабильным продуктам. Эта реакция происходит по цепному, свободнорадикальному механизму:



Гидропероксиды претерпевают дальнейшие превращения с образованием более стабильных токсичных продуктов (альдегиды, кетоны).

Фотолиз фосфолипидов может приводить к серьезным нарушениям структуры биомембран. Наблюдается повышение проницаемости мембраны для ряда веществ, в том числе для ионов H^+, K^+, Na^+. Это нарушает осмотический баланс, приводит к лизису клеток. В нормальной (интактной) мембране процессы пероксидного окисления липидов, по-видимому, заторможены за счет наличия антиоксидантов (а-токоферол или витамин Е).

Разрушение липидов может привести к серьезным нарушениям структурной организации мембран. Вместе с тем известно, что продукты их окисления имеют достаточно выраженные токсические свойства. Результатом действия перекисей липидов и продуктов их дальнейших превращений (альдегидов и кетонов) может быть повреждение белков (прежде всего, сульфгидрильных групп). Известно, что эти продукты способны инактивировать многие ферменты. Кроме того, они окисляют ряд других биологически важных соединений: цистеин, глютатион, нуклеотиды, витамины А и D, липоевую кислоту и т.д. Перекиси липидов могут увеличивать проницаемость мембран как в результате повреждения белков, так и вследствие влияния на липидную часть биологической мембраны. В предельном случае наступает глубокая дезинтеграция мембран. Однако в нормальной мембране цепное перекисное фотоокисление липидов, по-видимому, заторможено вследствие структурных ограничений и наличия разнообразных антиоксидантов.

7. Фотосенсибилизация и фотозащита. Световая и темновая репарация.

Фотосенсибилизация – явление повышения чувствительности организма (чаще кожи и слизистых оболочек) к действию ультрафиолетового или видимого излучений.

Фотосенсибилизаторы или фотореактивные вещества – вещества, делающие клетки, ткани либо организм в целом, сверхчувствительными к УФ-излучению. Фотосенсибилизаторы вызывают два типа реакций – фототоксические реакции и фотоаллергии.

Фотоаллергия возникает, когда УФ-излучение химически изменяет вещество, оказавшееся на коже, так, что оно начинает вызывать аллергию. Фотоаллергия возникает примерно через полчаса после начала воздействия УФ-излучения и затем распространяется на закрытые от облучения участки кожи.

При фототоксических реакциях вещество, находящееся в коже, поглощает энергию УФ-излучения, а потом передает ее своему окружению, что приводит к повреждению и гибели соседних клеток. Реакция проявляется либо сразу, либо в течение нескольких часов, но обнаруживается только на участках, подвергшихся облучению.

Эффект фотосенсибилизации используется для лечения некоторых заболеваний кожи и для лечения рака.

*Фотозащита***.** Помимо фотоферментативного расщепления димеров ДНК (процесс фотореактивации), уменьшить выход этих фотопродуктов в клетках

можно с помощью другого фотобиологического процесса – фотозащиты. Фотозащитный эффект заключается в том, что предварительное облучение меток длинноволновым УФ-светом приводит к значительному уменьшению их чувствительности к летальному действию коротковолнового УФ-излучения. Недавно такой эффект обнаружен у ряда представителей дрожжевых организмов. Характерная особенность фотозащитного эффекта заключается в том, что для его проявления необходим температурно-зависимый интервал времени между последовательными воздействиями на клетки длинноволнового и коротковолнового УФ-света. В этот интервал времени в клетках происходит фотоиндуцированное образование определенного соединения, идентифицированного как 5-окситриптамин, или серотонин.

Репарация – особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённой при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физических или химических агентов. Осуществляется специальными ферментными системами клетки. Первоначально способность к репарации была обнаружена у бактерий, подвергавшихся воздействию ультрафиолетового излучения. В результате облучения целостность молекул ДНК нарушалась, так как в ней возникали димеры.

Каждая из систем репарации включает следующие компоненты:

1) ДНК-хеликаза – фермент, «узнающий» химически изменённые участки в цепи и осуществляющий разрыв цепи вблизи от повреждения.

2) Экзонуклеаза – фермент, удаляющий повреждённый участок.

3) ДНК-полимераза – фермент, синтезирующий соответствующий участок цепи ДНК взамен удалённого.

4) ДНК-лигаза – фермент, замыкающий последнюю связь в полимерной цепи и тем самым восстанавливающий её непрерывность.

В зависимости от того, участвует ли видимый свет в модификации повреждений ДНК, репарацию можно подразделить на световую и темновую.

При световой репарации исправляются повреждения, возникшие только под воздействием ультрафиолетовых лучей, при темновой – повреждения, появившиеся под влиянием жесткой радиации, химических веществ и других факторов. Темновая репарация обнаружена как у прокариот, так и в клетках эукариот. Если репарация не наступает, то клетка либо гибнет, либо наступает мутация.

Прямая репарация – наиболее простой путь устранения повреждений в ДНК, в котором обычно задействованы специфические ферменты, способные быстро (как правило, в одну стадию) устранять соответствующее повреждение, восстанавливая исходную структуру нуклеотидов.

Эксцизионная репарация (предрепликативная репарация) включает удаление повреждённых азотистых оснований из ДНК и последующее восстановление нормальной структуры молекулы по комплементарной цепи. В ней выделяют 4 основные стадии:

1) обнаружение, места повреждения и разрез одной из нитей ДНК;

2) вырезание поврежденного фрагмента полинуклеотидной цепи и расширение бреши;

3) комплементарная застройка дефекта по матрице оставшейся нити ДНК;

4) восстановление целостности полинуклеотидной цепи путем соединения концов.

Пострепликативная репарация – тип репарации, имеющей место в тех случаях, когда процесс эксцизионной репарации недостаточен для полного исправления повреждения: после репликации с образованием ДНК, содержащей поврежденные участки, образуются одноцепочечные бреши, заполняемые в процессе гомологичной рекомбинации. Это единственный тип репарации, не имеющий этапа узнавания повреждения. На основе этого механизма легко объясняется факт сохранения димеров в ДНК у чувствительных к УФ-свету мутантов на протяжении нескольких циклов репликации.

SOS-репарация – один из видов репарации, который осуществляется индуцибельными ферментами. Этот механизм включается для спасения клетки в условиях, когда нарушения ДНК реально угрожают ее жизнеспособности, тем самым:

- снижается скорость репликации, что делает процесс репарации более эффективным;
- блокируется деление клеток;
- индуцируется синтез ряда белков, участвующих в образовании олигонуклеотидов.

Действие SOS-репарации носит кратковременный характер.

8. Физический смысл фотосинтеза. Превращение энергии в первичных процессах фотосинтеза. Транспорт электронов и фотофосфорилирование.

Фотосинтез – один из важнейших биологических процессов, постоянно и в огромных масштабах совершающийся на нашей планете. В результате этого процесса происходит образование высшими растениями, водорослями, фотосинтезирующими бактериями сложных органических веществ, необходимых для жизнедеятельности как самих растений, так и всех других организмов, из простых соединений (например, углекислого газа и воды) за счёт энергии света, поглощаемой хлорофиллом и другими фотосинтетическими пигментами.

Фотосинтез можно определить, как процесс преобразования электромагнитной энергии в энергию химических связей, сопровождающийся увеличением энергетического потенциала системы.

Все живые системы представляют собой термодинамически открытые системы, осуществляющие непрерывный обмен веществом и энергией с внешней средой. Для высших растений, водорослей и некоторых бактерий источником энергии является энергия солнечного излучения, при

поглощении которой возрастают уровни свободной энергии (ΔF) и общей энергии (ΔU) (в последней значительную часть составляет электронная энергия) и снижается энтропия системы (TΔS):

$$\Delta F = \Delta U - T\Delta S$$

Накопление энергии при фотосинтезе сопряжено с химической и электронной перестройкой участвующих в процессе компонентов.

Суммарная реакция фотосинтеза:

$$6CO_2 + 6H_2O + Nh\nu \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + \Delta G$$

Эта реакция имеет положительное сродство только за счёт энергии света, и в итоге на один шаг реакции в её продуктах запасается ΔG = 686 ккал свободной энергии. Однако это уравнение объединяет два этапа превращения субстратов, а именно световой и темновой, и не указывает важные промежуточные продукты.

Физический смысл фотосинтеза состоит в том, что в этом процессе происходит электронная перестройка молекул. В целом фотосинтез – окислительно-восстановительный процесс, в ходе которого электроны от воды переносятся к пиридиннуклеотидам, где электроны находятся на более высоком энергетическом уровне. Перенос электрона идет против термодинамического потенциала и требует энергии. В итоге электронной перестройки компонентов и образования восстановленных соединений (НАДФН) накапливаются электроны с высоким энергетическим потенциалом. Таким образом, в световых реакциях фотосинтеза при поглощении энергии фотонов создается мощный восходящий поток электронов против градиента термодинамического потенциала. В результате создается большой фонд богатых энергией электронов с запасом энергии 1,5-2 эВ. Эта редокс-энергия в процессах фотосинтетического и окислительного фосфорилирования преобразуется в другие виды химической энергии (электрохимический потенциал, энергия фосфатных связей АТФ). Создание мощного восстановительного потенциала в фотосинтезе имеет решающее значение для осуществления важнейших метаболических процессов (прежде всего – восстановление CO_2). Образующийся восстановительный потенциал используется также для восстановления нитрита, сульфита и ряда соединений, участвующих в регуляции ферментов углеродного цикла.

Основной биологический смысл фотосинтеза – извлечение свободной энергии из окружающей среды и накопление ее в виде стабильных органических молекул. Только свет делает возможной явно эндергоническую реакцию синтеза углеводов из воды и углекислоты. Запасенная световая энергия используется в дальнейшем всеми автотрофными и гетеротрофными организмами при выполнении ими всех биологических функций.

В фотосинтезе выделяют 3 этапа:

1) фотофизический,

2) фотохимический,

3) ферментативный.

На фотофизическом этапе под действием энергии кванта света молекула хлорофилла переходит в возбуждённое состояние, т.е. в состояние с избыточным запасом энергии. Эта энергия может быть растрачена в виде тепла, испускания кванта света или пойти на фотохимическую работу.

Молекулы хлорофилла с помощью белковых молекул фиксированы определённым образом в мембранах хлоропластов и организованы группами. В центре каждой такой группы находится особая молекула хлорофилла, способная поглощать длинноволновый красный свет, называемая реакционным центром. Именно эта молекула отдает электрон на первичный акцептор электронов. Вокруг реакционного центра располагается светособирающий комплекс, состоящий из 50-200 молекул хлорофилла, которые находятся в непосредственной близости друг от друга. Когда такая молекула поглощает квант света и переходит в возбуждённое состояние, она способна энергию возбужденного состояния передать соседней молекуле.

В результате такого процесса передачи энергии возбуждения от одной молекулы антенного хлорофилла к другой (миграция энергии) энергия возбуждения от всех молекул антенного хлорофилла стекается на реакционный центр, а реакционный центр, получая энергию возбуждения, отдаёт свой электрон на первичный акцептор электронов – первое звено в фотосинтетической электронно-транспортной цепи (ЭТЦ).

При переходе электрона от молекулы реакционного центра (P_{680}) на первичный акцептор электронов (Q_A) (рис. 4) происходит первичное разделение зарядов: P680 получает положительный заряд, а QA – отрицательный.

С химической точки зрения P_{680} – окислился, а Q_A – восстановился, т.е. энергия квантов света перешла в химическую форму и фотофизический этап фотосинтеза завершился.

Такая организация молекул хлорофилла обеспечивает непрерывное функционирование электронно-транспортной цепи и непрерывную генерацию химической энергии в виде АТФ и восстановительного потенциала в виде НАДФ·Н.

В улавливании и передаче энергии в реакционный центр участвуют и молекулы каротиноидов.

Таким образом, фотофизический этап фотосинтеза можно представить в виде 3 реакций:

1. Возбуждение молекул хлорофилла:

$$Хл + h\nu \rightarrow Хл^*$$

2. Передача энергии возбужденного электрона на соседние молекулы:

$$Хл^* + Хл_1 \rightarrow Хл_1^* + Хл$$

3. Миграция энергии возбуждения по пигментной матрице до РЦ:

$$Хл^* + РЦ \rightarrow Хл + РЦ^*$$

К фотохимическому этапу относят 3 реакции, в которых, благодаря поглощенной хлорофиллом энергии кванта света образуются новые химические вещества:

1) фотоокисление или фотолиз воды в результате, которого из воды образуются молекулы O_2 и свободные протоны H^+;

2) перенос протонов во внутритилакоидное пространство, а электрона воды по электронно-транспортной цепи с участием двух фотосистем на $НАДФ^+$ и восстановление этого соединения до $НАДФ{\cdot}H + H^+$;

3) фотофосфорилирование – образование АТФ из АДФ и неорганического фосфата за счёт энергии света.

Соответственно двум типам потока электронов различают циклическое и нециклическое фотофосфорилирование.

При нециклическом потоке электронов принимают участие две фотосистемы. Отличительными особенностями нециклического фотосинтетического фосфорилирования являются:

1) окисление двух молекул воды;

2) участие двух фотосистем;

3) передача электронов от молекул воды (первичный донор) через электронтранспортную цепь на НАДФ (конечный акцептор).

Продуктами процесса нециклического фотофосфорилирования являются восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат ($НАДФН + H^+$) и АТФ. Эти соединения в дальнейшем используются в темновой фазе фотосинтеза.

Циклическое фосфорилирование. Общая схема циклического фотофосфорилирования дана на рисунке 4. В этом процессе принимает участие лишь фотосистема I. На схеме показано, что в результате поглощения кванта света молекула P_{700} отдает возбужденный электрон сначала первичному переносчику, а затем от ферредоксина возвращается к P_{700}. Суммарное уравнение циклического фотосинтетического фосфорилирования выглядит следующим образом:

$$АДФ + H_3PO_4 + hv \rightarrow АТФ + H_2O.$$

При рассмотрении приведенных схем надо учитывать, что в зависимости от состояния хлоропластов расположение и набор переносчиков в электронтранспортной цепи могут меняться.

На завершающем этапе фотосинтеза происходит восстановление CO_2 до углеводов с использованием $НАДФ{\cdot}H$ и АТФ, образованных в световых фотохимических реакциях.

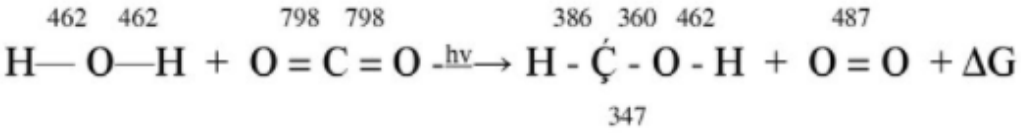
Таким образом, фотосинтез растений заключается в преобразовании и запасании солнечной энергии, в результате чего из простых веществ – углекислоты и воды – синтезируются углеводы, и выделяется молекулярный кислород.

В задачу биофизики входит выяснение механизмов начальных стадий, которые следуют непосредственно за поглощением кванта света. Несмотря на большое разнообразие фотобиологических эффектов, именно начальные этапы преобразования энергии света характеризуются общими молекулярными механизмами.

9. Термодинамика фотосинтеза, квантовый выход и квантовый расход, КПД превращения световой энергии в химическую.

Энергетические характеристики фотосинтеза можно рассчитать двумя способами

1. При фотосинтезе и конечном счете энергии квантов света расходуется на преобразование химических связей H2O и CO2 в связи HCOH и O_2. Поскольку энергии них связей известны, можно рассчитать общее приращение энергии при фотосинтезе:



Цифрами указаны значения энергии связей (кДж/моль).

Энергия кванта света расходуется на замену суммарно более простых ковалентных связей на суммарно менее прочные связи.

Подсчитав сумму энергий химических связей для левой и правой сторон реакции, получим для H_2O и CO_2 – 2520 кДж/моль, для [HCOH] и O_2 – 2042 кДж/моль. Отсюда ΔG = 478 кДж/моль.

2. Поскольку в ходе фотосинтеза реализуется энергия первоначально разделенных в фотохимическом этапе процесса электрических зарядов, можно рассчитать значение энергии, израсходованной на восстановление CO_2 по разности окислительно-восстановительных потенциалов исходных продуктов фотосинтеза.

Для большей части известных веществ, способных к окислительно-восстановительным реакциям окислительновосстановительные потенциалы (редокс-потенциалы) определены и являются табличными величинами.

Итоговую реакцию фотосинтеза можно представить в виде таких сопряженных между собой окислительно-восстановительных реакций.

$$2H_2O \rightarrow 4H^+ + 4e^- + O_2,$$
$$CO_2 + 4H + 4e^- = [HCOH] + H_2O$$

Таким образом для осуществления реакции фотосинтеза необходимо перенести 4 электрона в электрическом поле с разностью потенциалов:

$$\Delta\varphi = 0{,}82 - (-0{,}4) = 1{,}22 \text{ В}$$

Для этого требуется 470 кДж/моль.

Сопоставив это значение энергии с энергетическим эквивалентом кванта красного света, поглощаемого фотосинтетическим пигментом, хлорофиллом: 1 эйнштейн фотонов света длиной волны 650 нм составляет 184 кДж.

Следовательно, для одного кванта света данной длины волны недостаточно, чтобы осуществилась фотосинтетическая реакция молекулы CO_2.

Для покрытия энергетических затрат, связанных с осуществлением реакции фотосинтеза, теоретически достаточно трех квантов красного света (1 эйнштейн для 680 нм соответствует примерно 40 ккал). Однако в реальных условиях требуется большая энергия.

Квантовый расход фотосинтеза – величина, обратная квантовому выходу, которая определяется количеством квантов, необходимых для образования тех или иных продуктов фотосинтеза.

Квантовый выход фотосинтеза – это соотношение между количеством молекул усвоенного CO_2 или образовавшихся молекул O_2 и числом квантов, поглощенных фотосинтезирующим аппаратом. Квантовый выход фотосинтеза иллюстрирует эффективность использования растением света при фотосинтезе.

Минимальное определенное в эксперименте значение квантового расхода на образование одной молекулы O_2 колеблется, по данным различных авторов, от 4 до 12. Наиболее корректные и прецизионные определения последних лет дают величину 8hv и для фотосинтетиков, использующих в качестве донора водорода воду, и для микроорганизмов с иными донорами водорода.

Простой расчет показывает, что коэффициент полезного действия *трансформации световая → химическая форма энергии* равен:

$$\eta = \frac{120 \text{ ккал} \cdot 100}{40 \text{ ккал } \cdot 8} = 37\%$$

Приведенная эффективность фотосинтеза отражает, однако, его максимально достижимый уровень. При неблагоприятных условиях (освещенность, температура, влажность и др.) квантовый расход фотосинтеза может увеличиваться в десятки, сотни и т.д. раз, вплоть до бесконечности (свет поглощается – фотосинтеза нет). Верхний предел эффективности фотосинтеза связан с неизбежными энергетическими потерями в ходе фотофизических или фотохимических стадий, а также многочисленных промежуточных химических реакций, каждая из которых катализируется своим специфическим ферментом.

С другой стороны, умеренные значения коэффициента полезного действия, т.е. существование известного перепада в энергии, содержащейся в начальных (CO_2, H_2O, hv) и конечных (CH_2O, O_2) продуктах, приводят к высоким направленным скоростям суммарного процесса (при $\Delta F=0$ никакой физический или химический процесс вообще не идет, для обратимой

химической реакции наступает состояние динамического равновесия, когда скорости прямой и обратной реакций равны между собой).

10. Бактериородопсиновый фотосинтез.

Бактериородопсиновый фотосинтез представлен только у одной группы микроорганизмов – галофильных бактерий.

Отличия бактериородопсинового фотосинтеза у галофильных бактерий от фотосинтеза у других растительных и микробных организмов:

✓ по месту локализации аппарата и его устройству (плазматические мембраны вместо мембран хлоропластов);

✓ природе светопоглощающих хромофоров (бактериородопсин вместо хлорофилла);

✓ первичной фотохимической реакции (изомеризация ретиналя вместо окислительно-восстановительных превращений пигмента);

✓ темновой утилизации световой энергии (транспорт протона вместо транспорта электронов);

✓ эффективности трансформации световой энергии в химическую.

Установлено, что свет, поглощаемый бактериородопсином галофильных бактерий (*Halobacterium halobium*), через создание электрохимического градиента протонов у плазматических мембран без участия цепи переносчиков электронов приводит к синтезу АТФ, благодаря чему достигается трансформация световой энергии в химическую: свет→$\Delta\mu_{H^+}$→АТФ.

Пурпурные мембраны H. halobium обязаны своим цветом бактериородопсину, составляющему 50% (по другим данным еще больше) от общего содержания белков. Молекулы_бактериородопсина, погруженные в гидрофобный мембранный матрикс, не рассеяны по мембране равномерно, а образуют гексагональную упаковку, повторяющиеся единицы которой состоят из трех молекул белка и около 40 молекул липида. 75% полипептидной цепи бактериородопсина закручено в α-спираль, образующую в пределах одной молекулы семь тяжей, ориентированных перпендикулярно к плоскости мембраны.

Ретиналь бактериородопсина ориентирован перпендикулярно к белковым тяжам, т.е. параллельно плоскости мембраны. В бактериородопсине ретиналь находится в 13-цис –конформации (рис.9.5).

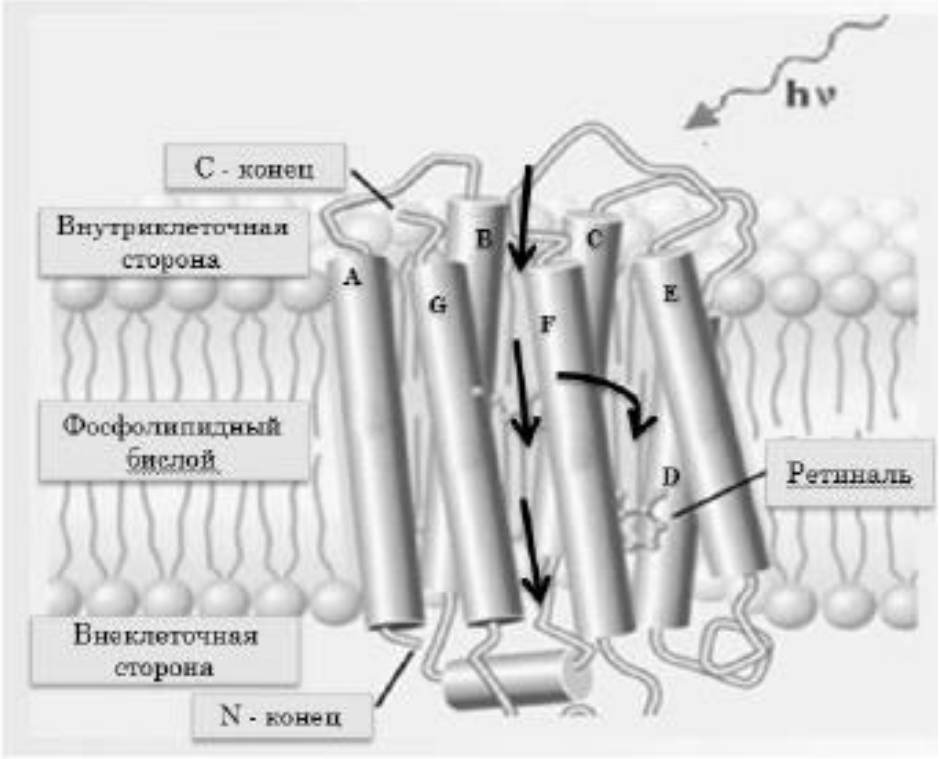
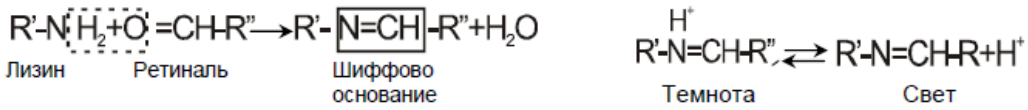


Рисунок 9.5 – Схематическое изображение бактериородопсина.
Путь протона показан прямыми стрелками. Изогнутая стрелка показывает направление изгиба спирали F в ходе фо-тохимического цикла

Связь между ретиналем и полипептидной цепью осуществляется через шиффово основание, образованное в результате взаимодействия альдегидной группы ретиналя с ε-аминогруппой 216-го лизинового остатка (рис. 9.6). Шиффово основание в темноте находится в протонированной форме. Бактериородопсин, в молекуле которого шиффово основание находится в протонированной форме, поглощает свет с длиной волны 570 нм, а в депротонированной – при 412 нм.



а б

Рисунок 9.6 – Бактериородопсин архебактерий Halobacterium halobium.
а) образование связи между ретиналем и полипептидной цепью бактериородопсина;
б) протонированная и депротонированная формы шиффова основания

Итак, фотохимические процессы, протекающие в бактериородопсине, сопряжены с запасанием энергии квантов света в трансмембранном электрохимическом градиенте ионов водорода, как промежуточном энергетическом «резервуаре» на пути синтеза микробной клеткой АТФ.

Таким образом, представляется вероятной определенная

последовательность смены форм энергии в ходе бактериородопсинового фотосинтеза: *световая → электронно-колебательная возбужденного состояния бактериородопсина → механическая (конформационная) бактериородопсинового комплекса → осмотически-электрическая (электрохимический потенциал) → химическая (макроэргические связи АТФ)*.

Фотоцикл бактериродопсина не включает каких-либо окислительно-восстановительных реакций, где подобно фотосинтезу происходил бы отрыв и перенос электрона между разными молекулами. Под действием поглощенного кванта света происходящая в результате транс-цис-фотоизомеризация ретиналя является триггером, «запускающим» всю дальнейшую цепь последовательных превращений бактериродопсина.

Основной биологический смысл – накопление энергии в виде стабильных органических молекул, благодаря наличию света. Физический смысл заключается в том, что в результате данного процесса происходит накопление энергии без изменений различных молекул, а посредством одного вещества.

11. Основные физические характеристики и биологическое действие лазерного излучения. Роль двухквантовых реакций.

Лазерное излучение – это вынужденное (посредством лазера) испускание атомами вещества порций-квантов электромагнитного излучения.

Лазерные системы помимо широкого научно-технического и промышленного использования имеют разнообразное применение в медицине, биологии, биотехнологии, генной инженерии и т.п.

По виду лазерное излучение подразделяют на прямое; рассеянное; зеркально-отраженное; диффузное.

Свойства лазерного излучения:

1. высокая направленность (малая расходимость пучка) – так как максимально усиливается только излучение, распространяющееся перпендикулярно зеркалам;
2. высокая монохроматичность – определяется длиной волны лазерного перехода (разностью энергий уровней);
3. высокая когерентность – следствие когерентных свойств вынужденного излучения;
4. высокая мощность – за счет многократного усиления. Поэтому параметру лазерное излучение превосходит все другие виды излучений.

Биологическое действие лазерного излучения. При взаимодействии лазерного излучения с веществом и с биологическими объектами возникают эффекты, обусловленные характерными свойствами этого излучения.

Термический эффект. При поглощении лазерного излучения веществом значительная часть энергии электромагнитного поля переходит в теплоту. В биологической ткани поглощение происходит избирательно, так как входящие в состав тканей клетки, ферменты, гормоны и пигменты имеют

различные показатели поглощения и отражения света. Термический эффект лазерного излучения зависит как от интенсивности светового потока, так и от степени его поглощения тканью. Поражение ткани при мощном лазерном облучении сходно с ожогом, возникающим под действием токов высокой частоты, но только с более резкой границей пораженного участка. Наиболее чувствительны к повышению температуры ферменты, которые при термическом ударе разрушаются первыми. Поскольку они служат ускорителями биохимических реакций, то при разрушении ферментов эти реакции затормаживаются, а это может приводить к гибели клеток. Вследствие термического эффекта происходит коагуляция белков, образование тромбов в венах, а при достаточной интенсивности облучения ткани разрушаются, что используют в лазерной хирургии.

Ударный эффект. В месте падения лазерного луча в ткани возникает тепловое объемное расширение, вследствие чего появляются механические напряжения. Кроме того, испарение частиц ткани в облучаемой области по закону сохранения импульса приводит к появлению импульса, направленного противоположно скорости испаряемых частиц, т.е. по ходу лазерного луча, следовательно, к возникновению давления. В жидких компонентах клеток и тканей под действием резко возрастающего давления образуется ударная волна, распространяющаяся со сверхзвуковой скоростью. При попадании лазерного луча на кожный покров ткани оно не обязательно вызывает повреждение кожи, если мощность излучения и его термический эффект не слишком велики, но ударная волна, распространяясь во внутренних тканях, может повреждать их без каких-либо внешних проявлений.

Электрические явления. При попадании атомов и молекул в электромагнитное поле под действием электрической составляющей волны образуются электрические диполи, это приводит к изменению электрических параметров вещества, а также к деформации тел пропорционально квадрату напряженности электрического поля. Это явление называют электрострикцией. Уменьшение электросопротивления можно объяснить тем, что при достаточно больших напряженностях электрического поля происходит ионизация атомов и валентные электроны переходят в свободное состояние. Ионизация нарушает также химические связи в молекулах, что приводит к изменению хода биологических процессов в связи с образованием свободных радикалов. Так, под действием лазерного излучения в водных растворах, всегда имеющихся в биологических тканях, образуются радикалы OH^- и HO_2, обладающие высокой реакционной способностью. Свободные радикалы образуются не только при лазерном облучении, но и при естественном обмене веществ, и, по представлениям ряда ученых, с ним связаны различные патологические процессы в организме животных. Предполагается, что они обусловливают химические мутации, возникновение некоторых форм рака, биологическое старение. Поэтому появление дополнительных свободных радикалов при лазерном облучении

считается нежелательным эффектом.

Лазерная диагностика в биологии и медицине – новое перспективное направление в фотобиологии, являющееся эффективным средством изучения биологических систем различной степени организации – от биомолекул до клеток, биотканей и отдельных органов животных и человека.

Методы лазерной макро- и микродиагностики обладают высокой чувствительностью, значительным пространственным разрешением и универсальностью. Они перспективны для ранней диагностики рака, катаракты, различных заболеваний крови и др. Их используют для анализа загрязнений окружающей среды токсическими и патогенными веществами. С их помощью изучают сверхбыстрые процессы фотосинтеза и фотобиохимических реакций, а также определяют малые скорости кровотока в сосудах, подвижность бактерий и пр.

Двухквантовые реакции – фотохимические реакции, которые происходят в результате последовательного поглощения молекулой двух квантов света, причем второй квант поглощается молекулой в электронно-возбужденном состоянии. Двухквантовые реакции известны пока лишь для молекул с π - электронами, которые в обычных (одноквантовых) фотохимических реакциях участвуют в своих низших возбужденных состояниях с энергией 3-5 эВ. Последовательное поглощение двух квантов света приводит к образованию высоковозбужденных состояний этих молекул с энергией превышающей энергию основного состояния, что и обусловливает специфичность двухквантовых реакций. В газовой фазе под действием импульсного лазерного ультрафиолетового облучения обычно происходит двухквантовая фотоионизация, регистрируемая масс-спектрометрическими методами. В конденсированных фазах, в отличие от газовой, происходят различные двухквантовые реакции, которые не могут быть реализованы путем поглощения одного кванта света с энергией 6-9 эВ, вследствие сильного поглощения квантов с такой энергией молекулами среды.

Большая мощность и ультракороткое время действия делают лазерное ультрафиолетовое излучение потенциально новым инструментом для исследования процессов двухквантового возбуждения электронных уровней оснований ДНК и особенностей протекающих при этом фотохимических реакций, а также их проявления на биологическом уровне. Лазер-индуцированное двухквантовое возбуждение оснований в составе ДНК приводит к таким ее фотохимическим превращениям, которые не наблюдаются (либо идут с очень низким квантовым выходом) в случае действии низкоинтенсивного ультрафиолетового света. Наряду с деградацией оснований в ДНК выявлены разрывы N-гликозидной связи с отрывом тимина от цепи ДНК (при низко интенсивном ультрафиолетовом облучении такой процесс не происходит) и одноцепочечные разрывы.

ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1
Введение в практикум

Цель работы: ознакомление студентов с организацией проведения и задачами, стоящими перед ними во время подготовки и выполнения лабораторных работ, а также с правилами техники безопасности при выполнении работ практикума; тестовая оценка знаний для адаптации учебной программы к уровню знаний студентов.

Контрольные вопросы:

1. Ученые, которые внесли вклад в развитие биофизики как науки.
2. Объекты исследования биофизики.
3. Задачи, которые ставить перед собой биофизика.
4. Приоритетными исследования в биофизике.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2
Биофизические методы иследования

Цель работы: изучение основных методов биофизических исследований.

Контрольные вопросы:

1. Описать основные принципы биофизических методов исследования.
2. Описать основные принципы и границы примения ИК-спектроскопии.
3. Описать основные принципы и границы применения флуоресценции.
4. Описать основные принципы и границы применения ЯМР.
5. Описать основные принципы и границы применения ЭПР.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3
Первое начало термодинамики и его применение к живым системам. Тепловой баланс организма. Способы теплообмена.

Цель работы: изучение основных понятий и законов термодинамики; умение интерпретировать законы термодинамики применительно к процессам энергообмена в биологических системах

Контрольные вопросы:

1. Основные понятия термодинамики.

2. Внутренняя энергия, теплота и работа. Эквивалентность теплоты и работы.

3. Закон сохранения и превращения энергии. Работа расширения (сжатия) и максимально полезная работа (δA).

4. Первый закон термодинамики.

5. Внутренняя энергия как функция состояния. Круговой процесс.

6. Первый закон термодинамики в живых системах. Закон Гесса.

7. Понятие об энтальпии.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4
Второе начало термодинамики и его применение к живым системам.

Цель работы: изучение основных понятий и законов термодинамики; уменение интерпретировать законы термодинамики применительно к энергообмену в биологических системах.

Контрольные вопросы:

1. Энтропия и её свойства.

2. Свободная и связанная энергия в организме.

3. Второе начало термодинамики.

4. Термодинамические потенциалы как функции состояния термодинамической системы.

5. Организм как открытая система. Теорема Пригожина.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 5
Определение оптимальных условий для действия фермента. Зависимость скорости ферментативной реакции.

Цель работы: установиление зависимости скорости ферментативной реакции от различных факторов.

Контрольные вопросы:

1. Опишите кинетику биологических процессов.
2. Дайте классификация реакций по числу молекул, участвующих в химическом взаимодействии.
3. Охарактеризуйте стационарную кинетику ферментативных реакций.
4. От каких факторов зависит скорость ферментативных реакций?
5. При каких условиях протекают ферментативные реакции?
6. Константа Михаэлиса (Km), ее физический смысл, размерность, значимость для характеристики ферментативной реакции.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 6
Изучение энергии активации биологических процессов

Цель работы: установление зависимости скорости образования веществ от температуры. Рассчет коэффициент Вант-Гоффа и энергию активации.

Контрольные вопросы:

1. Особенности ферментов как белковых катализаторов.
2. Специфичность действия ферментов0 Виды специфичности.
3. Охарактеризуйте зависимость скорости биологических процессов от температуры.
4. Уравнение Аррениуса и его использование для определения энергии активации и числа стадий ферментативной реакции.
5. Уравнение Вант-Гоффа и его использование для определения изменения энтальпии и энтропии для стадии образования фермент-субстратного комплекса.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 7
Денатурация белков

Цель работы: изучение денатурирующие факторы белков.

Контрольные вопросы:

1. Охарактеризуйте структурную организацию белковой молекулы.
2. Назовите примеры глобулярных и фибриллярных белков.
3. Ионизация молекул белка (заряд), гидратация и растворимость. Свойства белковых растворов.
4. Назовите особенности механизма денатурации белков. Свойства денатурированного белка.
5. Факторы, вызывающие денатурацию белков. Ренативация. Практическое применение денатурирующих агентов.
6. Перечислите методы разделения и очистки белков.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 8
Методы исследования нуклеиновых кислот

Цель работы: изучение основных методов определения и исследования нуклеиновых кислот.

Контрольные вопросы:

1. Опишите структуру нуклеиновых кислот.
2. Охарактеризуйте методы выделения и очистки НК.

3. Перечислите методы определения концентрации НК
4. Опишите принцип метода гель-электрофореза.
5. Опишите принцип и методику проведения рестрикционного анализа.
6. Охарактеризуйте методы гибридизации НК.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 9
Структурно-функциональная организация мембран

Цель работы: изучение отличительных особенностей структурно-функциональной организации клеточных мембран.

Контрольные вопросы:

1. Значение биологических мембран в процессе жизнедеятельности клетки.
2. Перечислите функции мембран.
3. Физические свойства и параметры мембран.
4. Молекулярная организация и модели клеточных мембран.
5. Охарактеризуйте жидкостно-мозаичную модель строения мембран.
6. Охарактеризуйте химический состав мембран.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 10
Транспорт веществ через биологические мембраны

Цель работы: изучение явления переноса через биологические мембраны, рассмотрение законов, описывающих явление диффузии, умение объяснить различия между облегченной диффузией и вторично активным транспортом.

Контрольные вопросы:

1. Значение изучения транспорта веществ через клеточные мембраны. Классификация мембранного транспорта.
2. Пассивный транспорт веществ и его разновидности. Математическое описание пассивного транспорта.
3. Перечислите различия облегченной диффузии от простой.
4. Активный транспорт ионов.
5. Механизм активного транспорта вещества на примере натрий-калиевого насоса.
6. Способы проникновения веществ через биологические мембраны.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 11
Формирование мембранных потенциалов клетки в покое и при возбуждении

Цель: Изучение механизмов генерации потенциала покоя и потенциала действия, рассмотрение механизма проведения потенциала действия по нервным волокнам.

Контрольные вопросы:

1. История открытия биопотенциалов.
2. Дайте классификацию биоэлектрическим явлениям.
3. Напишите уравнение Нернста, Гольдмана, Томаса. В чем заключаются их отличия.
4. Опишите потенциал покоя.
5. Перечислите характерные свойства потенциала действия. Перечислите фазы, которые выделяют в потенциале действия.
6. Напишите уравнение Ходжкина-Хаксли.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 12
Спектрофотометрическое определение концентрации вещества

Цель работы: изучение спектрофотометрического метода; определение концентрации вещества в растворе.

Контрольные вопросы:

1. Перечислите и охарактеризуйте основные виды фотобиологических процессов.
2. Охарактеризуйте спектры светопропускания и светопоглощения.
3. Сущность явления поглощения света веществом. Закон Бугера, его смысл.
4. Запишите закон Бугера-Ламберта-Бера и условия его выполнения.
5. Опишите метод спектрофотометрического определения веществ.

РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

Перечень вопросов к зэкзамену по дисциплине ”Биофизика“ для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), 1-31 01 02 Биохимия

1. Предмет, задачи и методы биофизики.
2. Особенности биофизических методов.
3. Значение биофизики для биологии, медицины, сельского хозяйства и биотехнологии.
4. Предмет и задачи биологической термодинамики. Термодинамические системы, их классификация. Термодинамические функции.
5. Первый закон термодинамики в биологии. Закон Гесса. Особенности живых организмов как термодинамических систем.
6. Второй закон термодинамики в биологии. Стационарное состояние открытых систем, его сходство и отличия от термодинамического равновесия. Теорема Пригожина.
7. Роль энтропии.
8. Расчет термодинамических функций и энергетических эффектов химических реакций в биосистемах. Свободная энергия Гельмгольца и Гиббса. Термодинамические характеристики важнейших молекулярно-энергетических процессов в биосистемах.
9. Биокинетика. Кинетика реакций нулевого, первого и второго порядка. Константа равновесия. Принцип "узкого места" в биологических процессах. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.
10. Последовательные, параллельные, циклические, автокаталитические и цепные реакции.
11. Особенности ферментативного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Модели ферментативного катализа.
12. Зависимость скорости ферментативных реакций от различных факторов. Механизм действия ферментов. Энергетическая схема ферментативной реакции. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.
13. Строение, свойства и особенности кинетики аллостерических ферментов, его типы, их участие в саморегуляции биопроцессов.
14. Ингибирование ферментов.
15. Предмет и задачи молекулярной биофизики. Биополимеры как основа организации биоструктур. Пространственное строение биополимеров. Структура и свойства биополимеров.
16. Типы взаимодействий в биополимерах и их биофизическая характеристика.

17. Природа пептидной связи и ее основные свойства. Структура и пространственная организация белковых макромолекул.

18. Взаимодействие белков с растворителем. Гидратация. Фазовые переходы в белках.

19. Особенности структуры и пространственной организации нуклеиновых кислот. Сверхспиральные структуры ДНК.

20. Стабилизация пространственной структуры нуклеиновых кислот. Взаимодействие нуклеиновых кислот с растворителем. Фазовые переходы нуклеиновых кислот.Основные типы РНК. Особенности вторичной и третичной структуры тРНК.

21. Биофизика мембранных процессов. Биомембрана. Функции мембран.

22. Развитие представлений о структурной организации мембран. Жидкостно-мозаичная модель, ее основные характеристики.

23. Биофизическая характеристика молекулярных компонентов мембран: белков, липидов, углеводов и их комплексов. Вода как составной компонент биомембран.

24. Типы межмолекулярных взаимодействий в мембранах, их природа и роль в стабилизации мембранных структур. Основные типы моделей, предложенных в мембранологии для объяснения строения и функционирования мембран.

25. Свойства и параметры биомембран. Подвижность компонентов биомембраны. Вращательное движение, латеральная и вертикальная диффузия мембранных липидов.

26. Фазовые переходы в мембранах. Жидкие кристаллы в структуре мембран, их свойства. Кооперативные переходы мембран, факторы, инициирующие их. Понятие о доменовой структуре мембран.

27. Электрохимический и химический потенциал. Пассивный транспорт.

28. Облегченная диффузия, ее основные свойства и отличия от простой диффузии. Проницаемость биомембраны.

29. Ионный транспорт в каналах. Современное представление о строении и функционировании каналов. Селективность каналов.

30. Индуцированный ионный транспорт. Ионофоры: подвижные переносчики и каналообразующие вещества. Механизмы прохождения ионов через мембрану.

31. Активный транспорт, его свойства и функции. Термодинамика активного переноса молекул и ионов. Отличия активного транспорта от облегченной диффузии.

32. Механизмы активного транспорта. Первичный и вторичный активный транспорт.

33. Транспортные АТФ-азы. Строение и механизм действия Na^+-K^+-насоса. Активный транспорт Ca^{2+} и протонов.

34. Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Классификация биопотенциалов.

35. Потенциал покоя, его происхождение.

36. Потенциал действия.

37. Модель Ходжкина-Хаксли. Равновесие Доннана. Распространение нервного импульса по миелиновым и немиелиновым нервным волокнам. Энергообеспечение процессов распространения возбуждения.

38. Основные типы сократительных и подвижных систем. Биофизическая характеристика некоторых мышечных и немышечных сократительных белков. Основные свойства поперечно-полосатой мышцы как механохимического преобразователя энергии.

39. Молекулярный механизм мышечного сокращения, его регуляция.

40. Теории, объясняющие механизм сокращения. Энергообеспечение мышечного сокращения.

41. Общая характеристика и классификация фотобиологических процессов и их стадий.

42. Поглощение света биомолекулами. Закон Ламберта-Бэра. Оптические свойства белков и нуклеиновых кислот. Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом. Оптические методы анализа.

43. Люминесценция, ее виды и основные физические характеристики. Биолюминесценция.

44. Миграция энергии в биосистемах, ее механизмы.

45. Типы фотохимических реакций.

46. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на белки, липиды и нуклеиновые кислоты.

47. Биологическое значение фотоповреждений молекул. Фотосенсибилизация и фотозащита; световая и темновая репарация.

48. Физический смысл фотосинтеза. Превращение энергии в первичных процессах фотосинтеза. Термодинамика фотосинтеза.

49. Бактериородопсиновый фотосинтез.

50. Основные физические характеристики и биологическое действие лазерного излучения. Роль двухквантовых реакций.

Критерии оценок результатов учебной деятельности

Письмо Министерства образования Республики Беларусь от 07.12.2023, 8/40729

Критерии оценки результатов учебной деятельности обучающихся в учреждениях высшего образования по десятибалльной шкале

Десятибалльная шкала в зависимости от величины балла и отметки включает следующие критерии:

№ п/п	Отметка	Критерии
1	10 (десять) баллов, зачтено	систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю, а также по основным вопросам, выходящим за ее пределы; точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответов на вопросы, умение делать обоснованные выводы и обобщения; безупречное владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; выраженная способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации; полное и глубокое усвоение основной и дополнительной литературы по изучаемой учебной дисциплине, модулю; умение свободно ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой учебной дисциплине и давать им аналитическую оценку, использовать научные достижения других дисциплин; творческая самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, активное творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
2	9 (девять) баллов, зачтено	систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; точное использование научной терминологии, (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации в рамках учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; полное усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; умение ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой учебной дисциплине, модулю и давать им аналитическую оценку; систематическая, активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
3	8 (восемь) баллов, зачтено	систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы и обобщения; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля (методами комплексного анализа, техникой информационных

		технологий), умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; способность самостоятельно решать сложные проблемы в рамках учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; умение ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой учебной дисциплине, модулю и давать им аналитическую оценку; активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, систематическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
4	7 (семь) баллов, зачтено	систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы и обобщения; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач; свободное владение типовыми решениями в рамках учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; умение ориентироваться в основных теориях, концепциях, направлениях по изучаемой учебной дисциплине, модулю и давать их аналитическую оценку; самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
5	6 (шесть) баллов, зачтено	достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; использование необходимой научной терминологии, грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обобщения и обоснованные выводы; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач; способность самостоятельно применять типовые решения в рамках, учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине, модулю и давать им сравнительную оценку; активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, периодическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий
6	5 (пять) баллов, зачтено	достаточные знания в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; использование научной терминологии, грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать выводы; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач; способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой учебной дисциплине, модулю и давать им сравнительную оценку; самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, фрагментарное участие в групповых обсуждениях, достаточный уровень культуры исполнения заданий

7	4 (четыре) балла, зачтено	достаточный объем знаний в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; использование научной терминологии, логическое изложение ответа на вопросы, умение делать выводы без существенных ошибок; владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, умение его использовать в решении стандартных (типовых) задач; умение под руководством преподавателя решать стандартные (типовые) задачи; умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой учебной дисциплине, модулю и давать им оценку; работа под руководством преподавателя на практических, лабораторных занятиях, допустимый уровень культуры исполнения заданий
8	3 (три) балла, не зачтено	недостаточно полный объем знаний в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; знание части основной литературы, рекомендованной учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; использование научной терминологии, изложение ответа на вопросы с существенными, логическими ошибками; слабое владение инструментарием учебной дисциплины, модуля, некомпетентность в решении стандартных (типовых) задач; неумение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях изучаемой учебной дисциплины, модуля; пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий
9	2 (два) балла, не зачтено	фрагментарные знания в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю; знания отдельных литературных источников, рекомендованных учебной программой УВО по учебной дисциплине, модулю; неумение использовать научную терминологию учебной дисциплины, модуля, наличие в ответе грубых, логических ошибок; пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий
10	1 (один) балл, не зачтено	отсутствие знаний и компетенций в объеме учебной программы УВО по учебной дисциплине, модулю, отказ от ответа, неявка на аттестацию без уважительной причины

Ф 3 - 8.3

Учреждение образования ”Полесский государственный университет“
(название учреждения высшего образования)

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
УО ”Полесский государственный университет“
_____ О.А. Золотарева

_____
(дата утверждения)

Регистрационный № _____/уч.

БИОФИЗИКА

(название учебной дисциплины)

Учебная программа
по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 01 (код специальности) Биология (по направлениям) (наименование специальности)

2023 г.

Учебная программа составлена на основе образовательного стандарта ОСВО
(название образовательного стандарта,

ОСВО 1-31 01 01-2013, учебных планов регистрационный номер №087-20/уч. от
(образовательных стандартов), типовой учебной программы,
07.02.2020, №097-20/уч. от 30.03.2020, №030-18 от 07.02.2018
дата утверждения, регистрационный номер

СОСТАВИТЕЛИ:

О. Н. Минюк, доцент кафедры информационных технологий и интеллектуальных
(И.О. Фамилия, должность, ученая степень, ученое звание)
систем Учреждения образования ”Полесский государственный университет“,
кандидат сельскохозяйственных наук; Е. М. Плющай, начальник цеха жидких
стерильных лекарственных форм филиал ООО ”Промветсервис“

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

А. В. Козырь, и. о. директора ООО ”Технопарк ”Полесье“ ;
(И.О. Фамилия, должность, ученая степень, ученое звание рецензента)

С. Н. Лекунович, доцент кафедры биотехнологии учреждения образования
”Полесский государственный университет“, кандидат биологических наук
(И.О. Фамилия, должность, ученая степень, ученое звание рецензента)

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой информационных технологий и интеллектуальных систем
(название кафедры-разработчика учебной программы)
(протокол № 11 от 28.06.2023 г.);

Научно-методическим советом учреждения образования ”Полесский
(название учреждения высшего образования)
государственный университет“
(протокол № ____ от . . 2023 г.)

СОГЛАСОВАНО:

Заведующий кафедрой _____ М. А. Романова
(подпись) (И.О. Фамилия)
Заведующий библиотекой_____ С. В. Буйницкая
(подпись) (И.О. Фамилия) (подпись) (И.О. Фамилия)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

1 Место дисциплины в системе подготовки специалиста

Биофизика как междисциплинарная наука, находящаяся на стыке биологии, физики, химии и математики, играет существенную роль в формировании мировоззрения современного биолога, дает базу для глубокого усвоения других дисциплин, относящихся к разделу физико-химической биологии и биотехнологии. Современная биофизика стремительно развивается, ее достижения способствуют переходу биологии на качественно более высокий атомно-молекулярный уровень исследования.

В системе подготовки специалистов по специальности 1-31 01 01 ”Биология (по направлениям)“ дисциплина ”Биофизика“ является фундаментальной наукой и тесно связана с другими учебными дисциплинами, прежде всего с такими как ”Физика“, ”Физическая и коллоидная химия“, ”Биохимия“, ” Физиология растений“.

2 Цели и задачи учебной дисциплины

Целью курса является освоение студентами основных принципов и теоретических положений биофизики, объяснение взаимосвязи физического и биологического аспектов функционирования живых систем, а также приобретение студентами навыков биофизического подхода к экспериментальному исследованию биологических явлений и закономерностей.

Задачами курса являются:

- освоение студентами основных принципов и теоретических положений биофизики;
- объяснение взаимосвязи физического и биологического аспектов функционирования живых систем;
- приобретение студентами навыков биофизического подхода к экспериментальному исследованию биологических явлений и закономерностей.

3 Требования к уровню освоения учебной дисциплины

В результате изучения дисциплины студент должен закрепить и развить академические (АК), овладеть следующими профессиональными (ПК) компетенциями, предусмотренные в образовательном стандарте 1-31 01 01 Биология (по направлениям):

а) академические:

АК-1: Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2: Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3: Владеть исследовательскими навыками.

АК-4: Уметь работать самостоятельно.

АК-6: Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

б) профессиональные:

научно-исследовательская деятельность

ПК-1: Квалифицированно проводить научные исследования в области биофизики, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-2: Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3: Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4: Готовить научные статьи, сообщения, рефераты доклады и материалы к презентациям.

ПК-5: Составлять и вести документацию по научным проектам исследований.

научно-производственная деятельность

ПК-6: Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

ПК-7: Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

ПК-8: Организовывать работу по подготовке научных статей и заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-9: Организовывать работу по обоснованию целесообразности научных проектов и исследований.

ПК-10: Составлять и вести документацию по научно-производственной деятельности.

производственная деятельность

ПК-11: Выполнять работы на современном производственном и лабораторном оборудовании, используя техническую документацию.

ПК-12: Подбирать соответствующее оборудование, аппаратуру, приборы и инструменты и использовать их при осуществлении производственной деятельности.

ПК-13. Учитывать основные принципы организации производств при выполнении профессиональной деятельности и обоснованно формулировать рекомендации по совершенствованию технологического процесса.

ПК-17: Владеть информацией о производствах, основанных на использовании биологических объектов в Республике Беларусь, странах ближнего и дальнего зарубежья, и использовать ее в производственной деятельности.

Для приобретения профессиональных компетенций в результате изучения дисциплины студент должен:

знать:

- основные понятия, законы термодинамики и их применимость к

биологическим системам и основные понятия кинетики биологических процессов, молекулярной биофизики, биофизики мембран и мембранных процессов, биофизики сократительных систем, биоэлектрических явлений и фотохимических процессов;

- новейшие достижения в области биофизики и перспективы их использования в биологии;

уметь:

- использовать основные законы биофизики для характеристики биологических систем;

- использовать методы теоретической и экспериментальной биофизики в биологии.

3 Объем дисциплины и виды учебной работы

Дисциплина ”Биофизика“ изучается студентами дневной и заочной формами получения высшего образования специальности 1-31 01 01 Биология.

Для изучения дисциплины предусмотрено:

– для очной формы получения высшего образования специальности ”Биология“ – 128 часов, в том числе 54 аудиторных часов, из них: лекции – 30 часов, лабораторные занятия – 24 часа, управляемая самостоятельная работа – 4 часа (2 ч. лабораторных занятий).

– для заочной формы получения высшего образования специальности ”Биология“ –14 аудиторных часа, из них 8 часов лекции и 6 часов лабораторных занятий.

Форма получения высшего образования – **дневная и заочная.**

Форма текущей аттестации – ***экзамен.***

На лекциях предполагается дать студентам знания основных теоретических положений биофизики.

На лабораторных занятиях преследуется цель выработки навыков использования: современных биофизических методов исследования биологических явлений и закономерностей, как инструмента для решения научных и практических задач в области биологии и биотехнологии, интерпретация и их трактовка с точки зрения современных научных представлений. Проводятся групповые и индивидуальные занятия под руководством преподавателя, решаются ситуационные задачи.

К сдаче экзамена допускаются студенты, успешно выполнившие программу по дисциплине.

Контроль усвоения знаний: оценка учебных достижений студентов осуществляется по 10-балльной шкале, утвержденной Министерством образования Республики Беларусь, в соответствии с критериями оценки результатов учебной деятельности обучающихся в учреждениях высшего образования.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

ТЕМА 1 ВВЕДЕНИЕ

Предмет и задачи биофизики. Уровни биофизических исследований; методы исследования и требования, предъявляемые к ним. История развития биофизики. Задачи и перспективы развития современной биофизики. Методы биофизических исследований.

Связь биофизики с другими науками: физикой, химией, биохимией, физиологией и молекулярной биологией. Границы и своеобразие проявления законов физики и химии в биологии. Диалектический подход к вопросу о соотношении физических и биологических форм движения материи, принципы системного, функционально-структурного и исторического подхода к изучению природы биологических явлений. Значение биофизики для биологии, медицины, сельского хозяйства и биотехнологии.

ТЕМА 2 ОСНОВЫ ТЕРМОДИНАМИКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Предмет и задачи биологической термодинамики. Термодинамические системы, их классификация. Особенности живых организмов как термодинамических систем. Термодинамические функции, применяемые при анализе биологических процессов. Первый закон термодинамики в биологии. Закон Гесса как следствие 1-го закона термодинамики, его применимость к биопроцессам и практическое значение. Второй закон термодинамики в биологии. Стационарное состояние открытых систем, его сходство и отличия от термодинамического равновесия. Изменение энтропии и свободной энергии в открытых системах. Принцип минимума прироста энтропии (теорема Пригожина). Условия перехода живых систем на новый стационарный уровень. Устойчивость стационарных состояний. Применение термодинамики в биологии.

Расчет термодинамических функций и энергетических эффектов химических реакций в биосистемах (энтропии, энтальпии, свободной энергии, коэффициентов полезного действия метаболических циклов). Свободная энергия Гельмгольца и Гиббса. Термодинамические характеристики важнейших молекулярно-энергетических процессов в биосистемах (окисление углеводов, липидов, фотосинтез и др.).

ТЕМА 3 КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Предмет и задачи биокинетики, ее особенности. Описание кинетического поведения биосистем на различных уровнях биологической организации. Кинетика реакций нулевого, первого и второго порядка. Обратимые и необратимые реакции, константа равновесия. Принцип "узкого места" в биологических процессах. Автокаталитические и цепные реакции в биосистемах, особенности их кинетики. Роль свободных радикалов в развитии цепных процессов.

Кинетика ферментативных реакций. Особенности ферментативного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Строение, свойства и особенности кинетики аллостерических (регуляторных) ферментов, их участие в саморегулировании биопроцессов.

Ингибирование ферментов, его типы. Кинетическая модель для определения типа ингибирования ферментативных реакций. Практическое значение ингибирования.

Современное представление о механизме действия ферментов. Энергетическая схема ферментативной реакции. Модели ферментативного катализа. Электронно-конформационные взаимодействия в фермент-субстратном комплексе. Влияние температуры на скорость биологических процессов. Применимость закона Аррениуса к биосистемам. Энергия активации ферментов и ее экспериментальное определение.

ТЕМА 4 МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОФИЗИКА

Предмет и задачи молекулярной биофизики; методы исследования. Биополимеры как основа организации биоструктур; своеобразие строения и функций биологических макромолекул.

Различные типы взаимодействий в полимерах (ковалентные связи, силы Ван-дер-Ваальса, электростатические и гидрофобные взаимодействия, водородные связи), их биофизическая характеристика.

Природа пептидной связи и ее основные свойства. Строение полипептидной цепи, внутреннее вращение и подвижность ее звеньев. Пространственная организация белковой молекулы. Разнообразие вторичных и третичных структур белка; сверхспирали. Домены в пространственной структуре белков. Взаимодействие белков с растворителем. Гидратация. Состояние воды в биоструктурах. Фазовые переходы в белках; тепловая и химическая денатурация. Динамические свойства глобулярных белков. Методы изучения конформационной подвижности белков. Связь конформационной подвижности белковых молекул с их функциональными свойствами.

Особенности структуры и пространственной организации нуклеиновых кислот (НК). Физические модели ДНК. Классификация НК по форме молекулы. Полиморфизм вторичной структуры НК; роль стэкинг-взаимодействий и других факторов в стабилизации пространственной структуры НК. Особенности вторичной и третичной структуры т-РНК. Сверхспиральные структуры ДНК.

Взаимодействие НК с растворителем. Фазовые переходы спираль-клубок, денатурация и ренатурация НК, факторы денатурации. Метод молекулярной гибридизации ДНК, его биологическое значение.

ТЕМА 5 БИОФИЗИКА МЕМБРАН

Биомембрана как универсальный компонент биологических систем. Развитие представлений о структурной организации мембран. Биофизическая характеристика молекулярных компонентов мембран: белков, липидов, углеводов и их комплексов.

Связанная вода как составной компонент биомембран. Биомембрана как надмолекулярная структура. Типы межмолекулярных взаимодействий в мембранах, их природа и роль в стабилизации мембранных структур. Основные типы моделей, предложенных в мембранологии для объяснения строения и функционирования мембран. Жидкостно-мозаичная модель, ее основные характеристики.

Подвижность компонентов биомембраны. Вращательное движение, латеральная и вертикальная диффузия мембранных липидов. Подвижность мембранных белков. Фазовые переходы в мембранах. Жидкие кристаллы в структуре мембран, их свойства. Кооперативные переходы мембран, факторы, инициирующие их. Понятие о доменовой структуре мембран.

ТЕМА 6 БИОФИЗИКА ПРОЦЕССОВ ТРАНСПОРТА ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ

Проблема проницаемости веществ через биомембраны. Типы транспорта веществ через биомембрану. Пассивный транспорт (диффузия). Уравнение диффузии Фика. Проницаемость мембран для воды, нейтральных молекул и ионов. Факторы, влияющие на скорость пассивного транспорта ионов. Электрохимический потенциал. Механизмы прохождения ионов через мембрану. Ионный транспорт в каналах. Современное представление о строении и функционировании каналов. Селективность каналов. Индуцированный ионный транспорт. Ионофоры: подвижные переносчики и каналообразующие вещества. Облегченная диффузия, ее основные свойства и отличия от простой диффузии.

Активный транспорт молекул и ионов, его отличие от облегченной диффузии. Свойства и функции активного транспорта. Термодинамика активного переноса молекул и ионов. Механизмы активного транспорта. Электрогенный и нейтральный транспорт. Первичный и вторичный активный транспорт. Транспортные АТФ-азы, их краткая характеристика и классификация. Строение и механизм действия Na-K-насоса. Активный транспорт Ca^{2+} и протонов.

ТЕМА 7 БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ

Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Классификация биопотенциалов. Характеристика ионных и электродных биопотенциалов. Потенциал покоя, его происхождение.

Потенциал действия. Современное представление о генерации нервного импульса. Модель Ходжкина-Хаксли. Равновесие Доннана. Транспорт ионов в возбудимых мембранах. Распространение нервного импульса по

миелиновым и немиелиновым нервным волокнам. Энергообеспечение процессов распространения возбуждения. Значение регистрации биопотенциалов для биологии и медицины.

ТЕМА 8 БИОФИЗИКА СОКРАТИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ

Общая характеристика механохимических процессов. Основные типы сократительных и подвижных систем. Биофизическая характеристика некоторых мышечных и немышечных сократительных белков. Основные свойства поперечно-полосатой мышцы как механохимического преобразователя энергии; структура саркомеров, ее изменение при сокращении. Молекулярный механизм мышечного сокращения, его регуляция. Энергообеспечение мышечного сокращения. Теории, объясняющие механизм сокращения.

ТЕМА 9 БИОФИЗИКА ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Общая характеристика и классификация фотобиологических процессов и их стадий. Применимость законов физики и фотохимии к фотобиологическим процессам. Поглощение света биомолекулами. Закон Ламберта-Бэра. Механизм поглощения света. Закономерности перехода фотоэлектрона на возбужденный уровень. Спектры поглощения биомолекул| Оптические свойства белков и нуклеиновых кислот: поглощение света, оптическая активность, дисперсия оптического вращения, круговой дихроизм, природа гипохромного и гиперхромного эффектов. Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом.

Люминесценция, ее виды и основные физические характеристики: спектры испускания, квантовый выход, длительность свечения. Биолюминесценция и сверхслабое свечение объектов (биохемилюминесценция). Миграция энергии в биосистемах, ее механизмы: индуктивно-резонансный, экситонный, обменно-резонансный, полупроводниковый. Типы фотохимических реакций; одно- и двухквантовые реакции. Спектры действия фотобиологических процессов. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на белки, липиды и нуклеиновые кислоты. Биологическое значение фотоповреждений молекул. Фотосенсибилизация и фотозащита; световая и темновая репарация.

Физический смысл фотосинтеза. Превращение энергии в первичных процессах фотосинтеза. Транспорт электронов и фотофосфорилирование. Термодинамика фотосинтеза, квантовый выход и квантовый расход, КПД превращения световой энергии в химическую.

Бактериородопсиновый фотосинтез: физический и биологический смысл, последовательность энергетических превращений, молекулярный механизм. Фотодеструктивные процессы. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на нуклеиновые кислоты. Молекулярные механизмы действия ультрафиолетового излучения на белки и липиды. Биологическое значение фотоповреждений молекул. Фотосенсибилизация и

фотозащита; световая и темповая репарация.

Основные физические характеристики и биологическое действие лазерного излучения. Роль двухквантовых реакций. Лазерные методы исследования.

Биофизика

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

дневная форма получения высшего образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов				Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия		
1	Введение*	**2**			**2**	**2**	Устный доклад с презентацией
2	Термодинамика биологических систем*	**4**			**2**	**2**	Фронтальный опрос, реферат.
3	Кинетика биологических процессов*	**4**			**4**		Фронтальный опрос
4	Молекулярная биофизика*	**4**			**4**		Фронтальный опрос **Контрольная точка 1– коллоквиум**
5	Биофизика мембран*	**2**			**2**		Фронтальный опрос
6	Биофизика процессов транспорта веществ через биомембраны*	**4**			**2**		Фронтальный опрос
7	Биоэлектрические явления*	**2**			**2**		Фронтальный опрос **Контрольная точка 2 – контрольная**
8	Биофизика сократительных систем*	**2**					Фронтальный опрос
9	Биофизика фотобиологических процессов*	**6**			**2**		Фронтальный опрос **Контрольная точка 3 — коллоквиум**
Итого:		**30**			**20**	**4**	**Экзамен**

*- проведение занятий может осуществляться в аудиториях, а также с применением платформ Moodle и Mc Teams

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

заочная форма получения высшего образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов				Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия		
1	Введение*	**2**					
2	Термодинамика биологических систем*	**2**			**2**		Фронтальный опрос
3	Кинетика биологических процессов*				**2**		Самостоятельное изучение
4	Молекулярная биофизика*	**2**					Фронтальный опрос
5	Биофизика мембран*	**1**					Фронтальный опрос
6	Биофизика процессов транспорта веществ через биомембраны*	**1**					Фронтальный опрос
7	Биоэлектрические явления*						Самостоятельное изучение
8	Биофизика сократительных систем*						Самостоятельное изучение
9	Биофизика фотобиологических процессов*				**2**		Самостоятельное изучение
Итого:		**8**			**6**		**Экзамен**

*- проведение занятий может осуществляться в аудиториях, а также с применением платформ Moodle и Mc Teams.

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1 Перечень основной и дополнительной литературы

Основная литература

1. Биофизика : учебник / В. Г. Артюхов, Т. А. Ковалева, М. А. Наквасина [и др.]; под редакцией В. Г. Артюхова. – Москва : Академический Проект, 2020. –294 с.
2. Волькенштейн, М. В. Биофизика : учебное пособие / М. В. Волькенштейн. – 4- е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2022. – 608 с.
3. Минюк, О.Н. Биофизика. Раздел ”Биофизика мембран“ : учебно-методическое пособие для студентов специальностей 1-31 01 01 ”Биология (по направлениям) “, 1-31 01 02 ”Биохимия“ / О.Н. Минюк. – Пинск : ПолесГУ, 2020. – 44 с.
4. Минюк, О.Н. Биофизика : раздел ”Биофизика транспорта веществ“ : учебно-методическое пособие: для студентов специальностей 1-31 01 01 ”Биология(по направлениям) “ 1-31 01 02 ”Биохимия“ / О.Н. Минюк. – Пинск : ПолесГУ, 2021. – 78 с.
5. Минюк, О. Н. Биофизика: раздел ”Биофизика фотобиологических процессов“: учебно-методическое пособие / О. Н. Минюк ; Министерство образования Республики Беларусь, УО ”Полесский государственный университет“. - Пинск : ПолесГУ, 2022. – 57 с.
6. Присный, А. А. Биофизика. Курс лекций : учебное пособие / А. А. Присный. – Санкт-Петербург : Лань, 2020. – 188 с.

Дополнительная литература

1. Антонов В. Ф. Биофизика / В. Ф. Антонов. М.: Гум. издат. центр ”Владос“, 2002.
2. Биофизика. Учебное пособие для мед. вузов./Ю.А.Владимиров, А.И.Деев, Д.И.Рощупкин и др./ - Москва: ”Медицина“, 1983.
3. Владимиров Ю. А., Проскурнина Е. В. Лекции по медицинской биофизике: Учебное пособие.- М.: Изд-во МГУ; ИКЦ ”Академкнига“, 2007.
4. Вечканов Е.М. Основы фотобиологии: учебное пособие для вузов / Е.М. Вечканов, В.В. Внуков.– Ростов-на-Дону: Изд-во Копи-Центр, 2011. – 53 с.
5. Журавлев А.И. Основы физики и биофизики/А.И. Журавлев, А.С. Белановский, В.Э. Новиков и др. –2-е изд., испр. – М.:Мир; БИНОМ, 2008. – 384 с.
6. Рубин А. Б. Биофизика. / А. Б.Рубин. М.: Книжный дом ”Университет“, 1999-2000. Т. 1-2.
7. Трухан, Э.М. Введение в биофизику: учеб. пособие / Э.М. Трухан. М.: МФТИ, 2008.
8. Шилина М.В. Биофизика. Биомембралогия: курс лекций./М.В. Шилина. – Витеск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2013 . – 50 с.

2.Рекомендуемые методы и технологии обучения

Основные методы и технологии обучения, отвечающие целям и задачам учебной дисциплины:

– проблемное обучение (проблемное изложение, вариативное изложение, частично-поисковый метод), реализуемое на лекционных занятиях;

– учебно-исследовательская деятельность, творческий подход, реализуемые на лабораторных занятиях;

– работа в парах;

– использование мультимедийных материалов и презентаций.

Для управления учебным процессом и организации контрольно-оценочной деятельности рекомендуется использовать рейтинговые, системы оценки учебной деятельности студентов, управляемую самостоятельную работу, учебно-методические комплексы.

3 Перечень средств диагностики результатов учебной деятельности:

В целях стимулирования познавательной активности и организации работы студентов в течение семестра рекомендуется использование модульно-рейтинговой системы оценки.

Текущий контроль в течение семестра проводится по следующим видам учебной деятельности студентов:

- усвоение теоретических знаний (контрольная работа, коллоквиумы);
- выполнение презентации с устной защитой;
- сдача реферата.

В соответствии с Положением ”О рейтинговой системе оценки знаний обучающихся по дисциплине в учреждении образования ”Полесский государственный университет“ №49 от 21.06.2023 г. успеваемость обучающихся по дисциплине ”Биофизика“ оценивается в ходе текущей и промежуточной аттестации. Текущая аттестация обучающихся проводится в течении всего семестра в целях периодического контроля и оценки их учебной деятельности учебной дисциплине.

Предусмотрено три контрольных точки:

Контрольная точка № 1 – коллоквиум.

Контрольная точка №2 – контрольная работа.

Контрольная точка № 3 – коллоквиум.

Оценка результатов текущего (модульного) контроля проводится в баллах, выделенных на задание, с округлением до целого числа, по следующим критериям:

0% – задание не выполнено;

40% – задание выполнено частично и содержит существенные ошибки методического или расчетного характера;

60% – задание выполнено полностью, но содержит существенные ошибки в расчетах или в методике;

80% – задание выполнено полностью и в срок, однако содержит отдельные несущественные недостатки (размерности, выводы, оформление и т.д.);

100% – задание выполнено правильно, вовремя и без замечаний.

Итоговая оценка текущей аттестации знаний осуществляется по трем контрольным точкам текущего контроля знаний.

Отметка текущей аттестации по дисциплине рассчитывается как среднеарифметическая величина положительных отметок (не ниже 4 баллов) по трем контрольным точкам текущего контроля знаний всех видов учебной деятельности студента.

$$\text{ОТА} = (\text{КТ}_1 + \text{КТ}_2 + \text{КТ}_3)/3$$

где ОТА – отметка текущей аттестации (в баллах);
КТ – контрольная точка текущего контроля знаний (в баллах).

В случае получения неудовлетворительной (ниже 4 баллов) оценки по текущей аттестации обучающийся не допускается к зачету и экзамену.

Итоговая отметка промежуточной аттестации предусматривает использование весовых коэффициентов для отметки текущей аттестации и экзаменационной отметки по дисциплине. Вклад текущей аттестации в итоговую отметку промежуточной аттестации по дисциплине составляет 50%, оценка знаний студента в ходе экзамена – 50%. Итоговая отметка промежуточной аттестации по дисциплине рассчитывается на основе отметки текущей аттестации и экзаменационной отметки с учетом их весовых коэффициентов и использования правил математического округления.

$$\text{ОПР}_{\text{итог.}} = \text{ОТА} \times 0{,}5 + \text{ОПР}_{\text{экзам.}} \times 0{,}5$$

где $\text{ОПР}_{\text{итог.}}$ – итоговая отметка промежуточной аттестации (в баллах);
ОТА – отметка текущей аттестации (в баллах);
$\text{ОПР}_{\text{экзам.}}$ – отметка экзаменационная (в баллах).

Промежуточная аттестация представляет собой экзамен (в соответствии с учебным планом и учебно-методической картой) в сессионный период по дисциплине.

4 Примерный перечень заданий управляемой самостоятельной работы

Управляемая самостоятельная работа студента по дисциплине ”Биофизика“ направлена на углубленное самостоятельное теоретическое изучение приведенных ниже тем.

Управляемая самостоятельная работа студентов предусматривает использование материалов, размещенных в модульной объектно-ориентированной среде e-learning ПолесГУ.

Таблица 1. – Примерный перечень заданий управляемой самостоятельной работы

Тема	Задания	Форма контроля
1	**2**	**3**
1. Введение	Изучить биофизические методы: 1Электрофорез. 2. ИК-спектроскопия. 3. Круговой дихроизм и дисперсия оптического вращения. 4. Флуоресценция. 5. Ядерно-магнитный резонанс. 6. Электронный парамагнитный резонанс.	Устный доклад с презентацией
2.1 Термодинамика биологических систем	С целью закрепления теоретических знаний подготовить реферат по темам: 1.Биологические и физические процессы и закономерности в живых системах. 2.Применение термодинамики в биологии. 3.Доказательства применимости второго закона термодинамики к биосистемам. 4.Теорема И. Пригожина и направленность эволюции биосистем. Энтропия и биологический прогресс. 5.Термодинамические параметры. Равновесное и неравновесное состояние термодинамической системы.	Реферат

5 Примерный перечень лабораторных работ

1. Техника безопасности при проведении экспериментов.
2. Методы биофизических исследований.
3. Первое начало термодинамики и его применение к живым системам. Тепловой баланс организма. Способы теплообмена.
4. Второе начало термодинамики и его применение к живым системам. Расчет кислородного обеспечения организма.
5. Определение оптимальных условий для действия фермента. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, температуры и pH среды.
6. Экспериментальное определение энергии активации фермента.
7. Фазовые переходы в белках. Тепловая и химическая денатурация.
8. Количественное определение ДНК.
9. Моделирование на биологических мембранах.
10. Пассивная диффузия ионов через полупроницаемую мембрану.
11. Исследование особенностей генерации потенциала действия.
12. Спектрофотометрическое определение концентрации растворов.

6 Примерный перечень вопросов к экзамену:

1. Предмет, задачи и методы биофизики.
2. Особенности биофизических методов.
3. Значение биофизики для биологии, медицины, сельского хозяйства и биотехнологии.
4. Предмет и задачи биологической термодинамики. Термодинамические системы, их классификация. Термодинамические функции.
5. Первый закон термодинамики в биологии. Закон Гесса. Особенности живых организмов как термодинамических систем.
6. Второй закон термодинамики в биологии. Стационарное состояние открытых систем, его сходство и отличия от термодинамического равновесия. Теорема Пригожина.
7. Роль энтропии.
8. Расчет термодинамических функций и энергетических эффектов химических реакций в биосистемах. Свободная энергия Гельмгольца и Гиббса. Термодинамические характеристики важнейших молекулярно-энергетических процессов в биосистемах.
9. Биокинетика. Кинетика реакций нулевого, первого и второго порядка. Константа равновесия. Принцип "узкого места" в биологических процессах. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.
10. Последовательные, параллельные, циклические, автокаталитические и цепные реакции.
11. Особенности ферментативного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Модели ферментативного катализа.
12. Зависимость скорости ферментативных реакций от различных факторов. Механизм действия ферментов. Энергетическая схема ферментативной реакции. Зависимость скорости биологических процессов от температуры.
13. Строение, свойства и особенности кинетики аллостерических ферментов, его типы, их участие в саморегуляции биопроцессов.
14. Ингибирование ферментов.
15. Предмет и задачи молекулярной биофизики. Биополимеры как основа организации биоструктур. Пространственное строение биополимеров. Структура и свойства биополимеров.
16. Типы взаимодействий в биополимерах и их биофизическая характеристика.
17. Природа пептидной связи и ее основные свойства. Структура и пространственная организация белковых макромолекул.
18. Взаимодействие белков с растворителем. Гидратация. Фазовые переходы в белках.
19. Особенности структуры и пространственной организации нуклеиновых кислот. Сверхспиральные структуры ДНК.

20. Стабилизация пространственной структуры нуклеиновых кислот. Взаимодействие нуклеиновых кислот с растворителем. Фазовые переходы нуклеиновых кислот.Основные типы РНК. Особенности вторичной и третичной структуры тРНК.

21. Биофизика мембранных процессов. Биомембрана. Функции мембран.

22. Развитие представлений о структурной организации мембран. Жидкостно-мозаичная модель, ее основные характеристики.

23. Биофизическая характеристика молекулярных компонентов мембран: белков, липидов, углеводов и их комплексов. Вода как составной компонент биомембран.

24. Типы межмолекулярных взаимодействий в мембранах, их природа и роль в стабилизации мембранных структур. Основные типы моделей, предложенных в мембранологии для объяснения строения и функционирования мембран.

25. Свойства и параметры биомембран. Подвижность компонентов биомембраны. Вращательное движение, латеральная и вертикальная диффузия мембранных липидов.

26. Фазовые переходы в мембранах. Жидкие кристаллы в структуре мембран, их свойства. Кооперативные переходы мембран, факторы, инициирующие их. Понятие о доменовой структуре мембран.

27. Электрохимический и химический потенциал. Пассивный транспорт.

28. Облегченная диффузия, ее основные свойства и отличия от простой диффузии. Проницаемость биомембраны.

29. Ионный транспорт в каналах. Современное представление о строении и функционировании каналов. Селективность каналов.

30. Индуцированный ионный транспорт. Ионофоры: подвижные переносчики и каналообразующие вещества. Механизмы прохождения ионов через мембрану.

31. Активный транспорт, его свойства и функции. Термодинамика активного переноса молекул и ионов. Отличия активного транспорта от облегченной диффузии.

32. Механизмы активного транспорта. Первичный и вторичный активный транспорт.

33. Транспортные АТФ-азы. Строение и механизм действия Na^+-K^+-насоса. Активный транспорт Ca^{2+} и протонов.

34. Краткая история открытия и изучения биоэлектрических явлений. Классификация биопотенциалов.

35. Потенциал покоя, его происхождение.

36. Потенциал действия.

37. Модель Ходжкина-Хаксли. Равновесие Доннана. Распространение нервного импульса по миелиновым и немиелиновым нервным волокнам. Энергообеспечение процессов распространения возбуждения.

38. Основные типы сократительных и подвижных систем. Биофизическая характеристика некоторых мышечных и немышечных сократительных белков. Основные свойства поперечно-полосатой мышцы как механохимического преобразователя энергии.

39. Молекулярный механизм мышечного сокращения, его регуляция.

40. Теории, объясняющие механизм сокращения. Энергообеспечение мышечного сокращения.

41. Общая характеристика и классификация фотобиологических процессов и их стадий.

42. Поглощение света биомолекулами. Закон Ламберта-Бэра. Оптические свойства белков и нуклеиновых кислот. Пути дезактивации энергии молекул, возбужденных светом. Оптические методы анализа.

43. Люминесценция, ее виды и основные физические характеристики. Биолюминесценция.

44. Миграция энергии в биосистемах, ее механизмы.

45. Типы фотохимических реакций.

46. Фотохимические реакции при действии ультрафиолетовых излучений на белки, липиды и нуклеиновые кислоты.

47. Биологическое значение фотоповреждений молекул. Фотосенсибилизация и фотозащита; световая и темновая репарация.

48. Физический смысл фотосинтеза. Превращение энергии в первичных процессах фотосинтеза. Термодинамика фотосинтеза.

49. Бактериородопсиновый фотосинтез.

50. Основные физические характеристики и биологическое действие лазерного излучения. Роль двухквантовых реакций.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
”Физика“	Кафедра информационных технологий и интеллектуальных систем	согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу (протокол № 11 от 28.06.2023 г.)
”Физиология растений“	Кафедра биотехнологии	согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу (протокол №11 от 28.06.2023 г.)
”Физическая и коллоидная химия“	Кафедра биотехнологии	согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу (протокол № 11 от 28.06.2023 г.)
”Биохимия“	Кафедра биохимии и бионформатики	согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу (протокол № 11 от 28.06.2023 г.)

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
на_____/ _____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры информационных технологий и интеллектуальных систем (протокол № ____ от _____202__ г.)
(название кафедры)

Заведующий кафедрой _____ _____
(ученая степень, ученое звание) (подпись) (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ _____ _____
(ученая степень, ученое звание) (подпись) (И.О.Фамилия)