

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ИНЖЕНЕРНО-ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
(ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

М.Г. Таирбеков

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ
СИСТЕМАХ**

Курс лекций

Москва 2001

УДК 577.32 (075)
ББК 28.05 я 7
Т 14

Таирбеков М. Г. Физико-химические процессы в биологических системах: Курс лекций. М МИФИ, 2001. - 132 с.

В основу данного пособия положен курс лекций, прочитанный студентам МИФИ в 1999 г. и 2000 г. в рамках учебной программы «Медицинская физика», осуществляемой ГНЦ РФ - Институтом медико-биологических проблем совместно с кафедрой экспериментальных методов в ядерной физике МИФИ. Пособие предназначено для студентов-физиков и аспирантов, специализирующихся в области биологической и медицинской физики.

Рецензент д.ф.-м.н. С.А. Регирер Рекомендовано редакционным советом МИФИ в качестве учебного пособия

ISBN 5-7262-0366-6

©Московский государственный
инженерно-физический институт
(технический университет), 2000

Редактор Н.Н. Антонова
ЛР № 020676 от 09.12.97.

Подписано к печати: 12.04.01 Формат 60x84 1/16

Печ. л. 8,25 Уч. изд. л. 8,0 Тираж 100 экз.

Изд. № 037-1 Заказ № 27

*Московский государственный инженерно-физический институт
(технический университет).*

115409, Москва, Каширское ш., 31

Отпечатано в ООО «ЛИРКОМ» Москва, ул. Доброслободская, д. 10, стр. 5

Содержание

Предисловие.....	4
Основные характеристики живых систем.....	8
Проблема размеров и формы в биологии.....	14
Клетка - основная единица биологической активности.....	27
Физический мир клетки.....	34
Термодинамика и механика биологических процессов.....	40
Общий принцип структурно-Функциональной организации клетки.....	49
Пути преобразования энергии в клетке.....	63
Хранение и передача информации в клетке.....	72
Химические реакции в клетке и механизмы их регуляции.....	58
Биологическое действие ионизирующих излучений.....	105
Морфогенез. Процессы роста, развития и дифференциации.....	109
Принципы и основные этапы биологической эволюции.....	125

Предисловие

Автор, будучи биофизиком (больше физиком от биологии, чем биологом от физики), считает необходимым, прежде чем перейти к изложению существа проблемы, отметить значение физических концепций для понимания биологических процессов, а также роль ученых-физиков в биологической науке.

Физику и биологию объединяют общий характер и последовательность развития. История науки запомнила многих выдающихся физиков нашего столетия, внесших весомый вклад в развитие молекулярной биологии. Достаточно назвать такие имена как Э.Шредингер, К. Поллинг, Э. Поллард, Д.Бернал, Ф.Крик, М. Дельбрюк и др. Именно в физике в начале XX века произошла подлинная революция, были созданы квантовая механика и теория относительности. Несколько десятилетий спустя такие же драматические события произошли и в биологии. Принято датировать начало революции в биологии 1953 г. с момента открытия и расшифровки молекулярного строения ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты). Творческий тандем биолога Д.Уотсона и физика Ф.Крика позволил не только сформулировать, но и экспериментально доказать существование знаменитой двойной спирали, лежащей в основе конструкции универсального наследственного вещества - ДНК. Благодаря этому открытию коренным образом изменились наши представления о механизмах наследственности, процессах синтеза энергии и вещества в живых системах. Возникла новая наука - молекулярная биология. Современная биология становится все более «молекулярной», ибо для многих специалистов - это единственно приемлемый подход к объяснению биологических процессов с помощью физических и химических законов.

Устремление физиков в биологию и применение физических и химических методов при изучении особенностей структурно-функциональной организации живых систем в значительной степени способствовало прогрессу биологической науки. Физики внесли в биологию свой стиль работы, методологию мышления и ярко выраженный дедуктивный характер анализа. В этой связи следует согласиться с мнением некоторых выдающихся ученых, которые считают целесообразным рассматривать закономерность биологических явлений с единых позиций законов физики и химии.

Это означает, что успехи в изучении процесса биологической эволюции от первичных молекул до высокоорганизованных совершенных организмов животных и растений есть результат последовательного применения физических и химических критериев.

В настоящее время основные биологические процессы можно описать совершенно точными молекулярными уравнениями. При этом не существует принципиальной разницы между молекулярными уравнениями жизненных процессов и уравнениями, используемыми химиками для описания реакций простых соединений, а физиками - для описания энергий электронов в атомах реагирующих между собой молекул. Вместе с тем в биологии остается немало задач, решение которых должно привести к раскрытию свойств, создающих специфические качества живого. Эти задачи нельзя описать простыми молекулярными уравнениями.

Несмотря на впечатляющие достижения в молекулярной биологии, не следует забывать, что авторы этих достижений при решении многих проблем «стояли на плечах» корифеев естествознания; физиков, химиков и биологов.

Изучение живой материи - занятие столь же древнее, как и возраст человечества.

Однако биология - наука о живом, в основе которой лежит идея единства всех жизненных явлений, представляет собой в историческом плане сравнительно недавнее достижение человеческой деятельности и связано с именами древнегреческих мыслителей: Аристотеля, Платона, Гиппократов. С тех самых времен и до середины XIX столетия наука о жизни оставалась на уровне умозрительных метафизических представлений.

Только немногим более полутора столетия назад в биологии были созданы три главные научные системы, которые позволили вскрыть различные аспекты единства живой материи: клеточная теория, сформулированная Т. Шваном и М. Шлейденем (1838), законы

наследственности, открытые Г. Менделем (1856) и теория эволюции, принадлежащая Ч. Дарвину (1858).

В начале XX века, благодаря исследованиям в области биоэнергетики и энзимологии, а также классической генетики, биология приобрела статус современной экспериментальной науки, в полной мере использующей достижения физики и химии. Результаты этих исследований были необходимы для понимания механизмов регуляции процессов метаболизма химических соединений, как основы для поддержания энергетического баланса в живых системах и их нормального функционирования.

В начале 40-х годов Ф. Липманом было показано, что в клетке имеется своего рода аккумулятор, который способен поглощать и сохранять энергию, освобождающуюся при деструктивных (катаболических) реакциях и вновь выделять ее по мере необходимости для осуществления синтетических (анаболических) процессов. Действующее начало и материальная основа этого «аккумулятора» - аденозин-трифосфорная кислота (АТФ).

К успехам биологической науки середины нашего столетия, несомненно, следует отнести также такие крупнейшие открытия, как выяснение способов хранения и передачи наследственной информации вследствие расшифровки структуры нуклеиновых кислот и белков благодаря работам Д. Уотсона, Ф. Крика, А. Чаргоффа и др.

Появление к этому времени двух новых мощнейших инструментов научного познания - одного практического, а другого теоретического - существенно расширили наши знания о структурной организации и функционировании живых систем. Во-первых, - это электронный микроскоп, позволивший получать увеличение объекта в 100 000 раз и более, что впервые дало возможность увидеть и изучить строение клетки и внутриклеточных органелл во всех тончайших деталях. Во-вторых, основы кибернетики, разработанные Н. Винером, благодаря чему появилась возможность выявить и проследить пути переноса вещества и энергии т.н. метаболические пути, существующие в живой системе для управления процессом обмена веществ.

Таким образом, в последние годы, современные методологические подходы, используемые в молекулярной биологии, биофизике и биохимии внесли неоценимый вклад в изучение сложных макромолекулярных комплексов биохимических ансамблей.

Несомненно, такого рода открытия в биологии могли быть сделаны при сочетании нескольких факторов, а именно: выбора удачных объектов, на которых данное явление можно изучать при минимальных помехах со стороны других биологических явлений, использования методов, открывающих новые возможности количественного изучения процесса, воображения и обширной эрудиции, позволяющих исследователю строить обобщения, опираясь на новые факты и экспериментальные данные.

1. Основные характеристики живых систем

Живая материя составляет неотъемлемую часть физического мира. Она является особой чрезвычайно интересной разновидностью материи, отличающейся длительностью и характерной историей развития, поразительной компактностью пространственной организации и высочайшей энергетической экономичностью. Остановимся, вкратце, на перечисленных моментах.

Основной вопрос биологической эволюции - это вопрос времени. По современным данным Вселенная существует $\sim 2 \cdot 10^{10}$ лет. Земля $\sim 5 \cdot 10^9$ лет. Жизнь $\sim 4 \cdot 10^9$ лет. Современные модельные теории показывают, что этого времени было достаточно для возникновения и развития жизненных форм при соблюдении основных физико-химических принципов, заключающихся в том, что однажды приобретенная биологическая (генетическая) информация не утрачивается, а служит исходным моментом для дальнейшего развития. Главная проблема теории происхождения жизни состоит в объяснении возникновения упорядоченных информационных структур - «текстов» из неупорядоченной совокупности мономеров. По всей вероятности, возникновение порядка

(космоса) из беспорядка (хаоса) могло иметь место, если система одновременно содержала постоянно размножающиеся и гибнущие единицы. Для этого эволюционирующая система, в которой возникают эти единицы (информационные макромолекулы), должна была быть открытой, далекой от равновесия и снабжаться энергией. Соответствующая модель такой физико-химической системы была не так давно (1979) разработана М. Эйгеном. Им была создана физико-химическая теория отбора в популяции макромолекул и утвержден кинетический принцип саморазвития в соответствии с правилами необратимой термодинамики, разработанными И. Пригожиным. Суть этой теории состоит в том, что если в системе содержится несколько типов мономеров (несколько нуклеотидов), то в составе индивидуальной цепи может быть закодирована определенная информация (информационный полимер). Состав этой информации задается последовательностью мономеров. Цепи создаются и разрушаются. Между цепями происходит конкуренция за мономеры. Наиболее приспособленный тип цепи имеет больше шансов сохраниться. Однако они могут погибнуть в результате случайной мутации. В конце концов, в ходе этого процесса происходит самоорганизация живой материи.

Таким образом, ключевым моментом в эволюции органического мира был процесс взаимодействия структур - носителей информации (макромолекул нуклеотидов) с каталитическими структурами, обеспечивающими использование энергии субстратов. Возникшие в результате слияния новые соединения уже были способны к самосборке и дальнейшей самоорганизации в структуры более высокого порядка. Одним из принципиальных этапов эволюционного процесса следует считать появление клетки - основной единицы всех без исключения живых организмов.

Поэтому в дальнейшем все наши рассуждения об особенностях структурной организации живых систем и принципах их функционирования в различные периоды развития как в филогенезе (историческом, эволюционном), так и в онтогенезе (индивидуальном) приводятся на примере организации обобщенной модели клетки. Несомненно, одно из самых удивительных свойств клетки как принципа организации живой материи - это миниатюризация пространства, т.е. почти бесконечно малый объем, в котором способна укладываться биологическая организация.

Несмотря на ошеломляющие успехи последних десятилетий в области новейших технологий, особенно в электронном приборостроении, характерная для биологических систем компактность остается все еще недоступной для техники.

Итак, необходимо уяснить себе, что размеры подавляющего большинства клеток очень малы. Биологи и врачи, привыкшие рассматривать объекты под микроскопом, для сравнений обычно используют в качестве масштаба (эталона) диаметр эритроцита. Эритроцит (красное кровяное тельце) по форме напоминает монетку или диск диаметром 7 мкм (напомним, что 1 мкм равен 0,001 мм).

Однако, как бы ни были малы размеры клеток, их внутреннее содержимое весьма богато, разнообразно, и, что самое главное, рационально и четко организовано. Как уже было сказано, электронный микроскоп позволяет рассмотреть строение клетки при огромном увеличении в 100 000 раз. При этом исследователь может увидеть мельчайшие детали клетки, например молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Эти молекулы довольно длинные (до 3 мкм), но очень узкие. Диаметр их составляет около 20 ангстрем (Å^0). Следует напомнить, что в 1 мкм содержится 10 000 ангстрем.

Другое, принципиальное отличие живых систем от неживых заключается в том, что в самой биологической системе диссипация (рассеяние) энергии сведена к минимуму. Это происходит за счет увеличения энтропии (возрастания степени неупорядоченности) в окружающей среде. По образному выражению Э. Шредингера, биологические системы «питаются» отрицательной энтропией, уменьшая при этом свободную энергию окружающей среды. Это означает, что живая система любого уровня организации способна сохранять свою индивидуальность только за счет постоянного притока энергии, поступающей из окружающей среды. Как только этот приток прекращается, степень

дезинтеграции (неупорядоченности) в живой системе спонтанно возрастает, что, в конечном счете, приводит к гибели системы. Однако приток свободной энергии - это только одно из условий поддержания стационарного состояния системы. Другое условие - наличие соответствующим образом организованной структуры, позволяющей использовать энергию. Эта организация со времени появления постоянно эволюционировала и ее эффективность повышалась. В историческом плане совершенствование структурной организации живых систем можно проследить на различных типах клеток и клеточных ассоциаций.

Существуют ли уникальные признаки, отвечающие критериям живых систем? На этот вопрос, по-видимому, можно ответить положительно. Совершенно ясно, что живые системы подчиняются законам физики и химии, описывающим эти системы через энергию и граничные условия. Вместе с тем, деятельность биологических систем в значительной степени определяется информацией. Информационно-зависимые системы не нарушают законов физики и химии, но не исчерпываются ими. Поэтому первейшая задача на пути объединения физики, химии и биологии заключается в том, чтобы понять физические «энергозависимые» системы как частный случай «информационно-зависимых» систем.

Дело в том, что языком физики и химии можно описать с достаточной полнотой все те процессы, которые протекают в неживой природе. Но для описания процессов живой природы этого языка уже недостаточно.

По мнению Н.Моисеева, понятие информации имеет «исторический смысл», т.е. необходимость его введения возникает лишь при описании довольно поздних этапов развития материального мира, когда в нем зарождалась жизнь. Если, по мнению автора, описывать последовательно развитие организованных структур материального мира, то информация появится только тогда, когда мы начнем изучать целенаправленные действия.

Из работ М. Эйгена вытекает возможность описания такого уникального явления, как механизм генетического кода в рамках обычного языка физики и химии, без использования понятия информации.

Однако совсем иное дело, когда мы хотим описать причины того, почему в земных условиях передача наследственной информации стала необходимостью в ходе прогрессивной эволюции и почему утвердился этот ныне существующий один единственный код.

В этом случае, видимо, имел место целенаправленный отбор. Однако на вопрос, как возник и почему утвердился именно этот код, пока нет ответа.

Термодинамика позволяет представить информацию в виде физической величины отрицательной энтропии. Живые организмы являются термодинамически открытыми системами, способными обмениваться с окружающей средой энергией и веществом.

Эффективность функционирования биологических систем как преобразователей свободной энергии можно оценить, сравнив свободную энергию на выходе системы со свободной энергией на входе (максимальная термодинамическая эффективность).

В этом отношении клетку можно представить как энергопреобразующую систему, которая, сжигая горючее (органические вещества) или поглощая солнечную энергию (квант света), совершает работу.

Структура (упорядоченность) любой биологической системы поддерживается, в конечном счете, вследствие притока извне в систему энергии и вещества. В этом смысле живые системы представляют собой диссипативные структуры. Эти структуры строятся по строгой программе, составленной на основе осмысленной информации, созданной за многие миллиарды лет химической и биологической эволюции.

Естественно по этой причине живые системы «неравновесны» на всех уровнях организации и во время их функционирования эта неравновесность поддерживается за счет диссипации поступающей в них извне энергии и вещества.

Вместе с тем биологические системы, возникающие по заданной программе, стабилизированы кинетически. Поэтому их переход в равновесное состояние - разрушение

уже существующей конструкции (смерть) требует преодоления определенного потенциального барьера.

Однако, строго говоря, нет абсолютного равновесия в биологической системе любого уровня организации ни в клетке, ни в организме, ни в биосфере в целом. Имеется лишь некая динамическая циклограмма процессов и если нарушается регуляция (четкая реализация) этой циклограммы и «выбросы» превышают «разрешенную» амплитуду, наступает заболевание или гибель клетки или всего организма и катастрофические последствия в живой природе. В приведенной фразе кроется смысл и основа для рассуждения на одну из центральных проблем биологии: проблемы резистентности и реактивности живой системы, а также способности этой системы к адаптации.

Наконец, поражает воображение огромное разнообразие и одновременно сходство в организации живых систем. К настоящему времени биологи описали более миллиона видов живых организмов, и удивительно, что в химии живого есть много общего. Например, белки растений, животных и микроорганизмов состоят всего лишь из 20 аминокислот, а генетический код, как уже было отмечено выше, универсален. Но как бы ни впечатляло сходство между живыми организмами, различия между ними не менее поразительны. Некоторые особенности обмена веществ живых систем также разнообразны, как их форма и размеры. Но не будем забегать вперед и рассмотрим все высказанные положения по порядку.

2. Проблема размеров и формы в биологии

Математические уравнения, как известно, остаются неизменными, если умножить обе части на одно и то же число. По-иному обстоит дело в реальном физическом мире, где на взаимоотношения между объектами, в том числе и биологическими, сильно влияют их абсолютные размеры. Объясняется это наличием сил, принимающих непосредственное участие в организации этих структур. Эти силы в принципе можно свести к четырем основным типам в порядке убывания их интенсивности с увеличением расстояния между взаимодействующими объектами: силы ядерного происхождения, межмолекулярные, электромагнитные и гравитационные силы. Каждая из этих сил имеет свою компетенцию в определенной области применения и обеспечивается определенными видами энергии. Если перечислить эти силы в порядке убывания свободной энергии (возрастания энтропии), то получится следующий ряд: гравитационная энергия, радиационная энергия, энергия химических связей и энергия ядерных взаимоотношений.

Соотношение «радиуса» наблюдаемой Вселенной ($\sim 10^{28}$ см.) к радиусу электрона (10^{-12} см) имеет порядок 10^{39} . Любопытно, что отношение электромагнитных к гравитационным силам, действующим между электроном и протоном в ядре, составляет аналогичную величину $\sim 10^{39}$.

Из приведенных выше соотношений становится понятно, что силы электромагнитного взаимодействия в такой биологической системе как клетка будут на 39 порядков величины превышать силы гравитационные. Отсюда ожидать эффекта прямого воздействия гравитации (измененной силы тяжести) на клетку и тем более на внутриклеточные процессы, очевидно, не приходится.

Предполагается, что за 10 миллиардов лет существования Галактики гравитационная постоянная уменьшилась вдвое, но ничего катастрофического в ее эволюции, в том числе и эволюции нашей планеты, не произошло. Однако изменение электромагнитных сил в этом диапазоне привело бы, например, к тому, что вода не могла бы находиться в жидком состоянии ни при какой температуре. Кроме того, при весьма незначительных изменениях отношения электромагнитных сил к ядерным обнаружилось бы, что при горении гелия образуется не окись углерода (CO), а углерод (C) и кислород (O) в отдельности. Отсюда нетрудно догадаться, что расширяющийся и сжимающийся мир «Кэрроловской Алисы» - это продукт воображения математика, но не физика и биолога.

Проблема размеров и формы живых организмов занимала умы многих ученых. Одним из первых, кто обратил на это внимание и серьёзно занимался этой проблемой, был Г.Галилей. Им было установлено наличие четких взаимоотношений между размерами и массой живых организмов. Вообще, в отношении размеров в мире живого существуют жесткие ограничения, причем положенные пределы, с космической точки зрения, узки. На рис. 1 приведена схема, иллюстрирующая соотношение размеров биологических объектов: от макромолекул до многоклеточных организмов.

Размеры биомолекул, клеточных органелл и клеток имеют очень большое значение для биологии, особенно для биохимии. Например, известно, что изменение размеров и формы могут привести к катастрофическим последствиям вследствие нарушения характера и скорости метаболических реакций в клетке. Для описания биомолекул, в том числе и биополимеров используется единица массы дальтон (D), а для измерения размеров - ангстрем (A^0). Один дальтон - это масса одного атома водорода, равная $1,67 \cdot 10^{-24}$ г, а один ангстрем - 0,1 нм или 10^{-7} см



Рис. 1. Размеры биологических объектов (логарифмический масштаб)

Хотя массы молекул принято выражать в дальтонах, но приравнивать их к молекулярной массе не корректно, т.к. под массой молекул понимают молярную массу вещества. В то же время дальтон удобно использовать в случае обозначения массы таких внутриклеточных структур, как хромосомы и др., к которым неприменим термин молекулярная масса. Размеры и масса некоторых распространенных молекулярных комплексов клетки приведены в таблице 1.

Молекулярный комплекс	Размер, A ⁰	Масса, D
Аминокислота	50	89 10 ³
Глюкоза	70	180 10 ³
Фосфолипид	350	750 10 ³
Гемоглобин	680	65.000 10
Миозин	1.600	470.000 10 ³

Как известно, масса ДНК должна примерно в 20 раз превышать массу белка, который она кодирует. Если принять за среднюю молекулярную массу белка величину 40 000 Э, то получим, что вес ДНК примерно равен 800 000. Таким образом, ДНК с молекулярным весом $6,5 \cdot 10^8$ D содержит информацию = $3,3 \cdot 10^7$ D белка.

Следовательно, в клетке в этом случае содержится около 800 различных ферментов, катализирующих такое же количество биохимических реакций. При таком подсчете мы явно пренебрегаем структурными белками. Приведенное число реакций - это минимальное условие для функционирования самой мелкой клетки. Система меньшего размера, очевидно, не могла бы содержать необходимого количества ДНК для кодирования всех белков, катализирующих 800 реакций, которые представляют собой необходимый минимум для выполнения клеткой жизненно важных функций.

Вообще говоря, не исключено, что существуют свободноживущие, очень мелкие, организмы. Но, очевидно также, что существует предел, ниже которого клетка не может вместить достаточного количества ферментов для катализа тех реакций, без которых невозможно поддержание независимого образа жизни, свойственного клеточным формам.

С другой стороны, у вирусов, не представляющих клетку в классическом понимании, эти функции, в частности редупликация ДНК, зависят от биологических потенций их хозяев, размеры которых гораздо больше.

Самые мелкие клетки мы находим среди бактерий. Например, бактерия *Dialister pneumosines* имеет размеры 0,5 мкм. Однако самое мелкое из известных живых существ на Земле - это микоплазма - одноклеточный организм, способный жить и самостоятельно размножаться в искусственной среде.

Она настолько мала, что при нейтральном рН клеточного содержимого в ее клетке имелось бы в среднем по 2 водородных иона. Тем не менее, в столь малом объеме клетки должен содержаться необходимый для обмена веществ набор белков (ферментов), способный обеспечить ее жизненно необходимые процессы.

Чтобы быть способной к размножению, клетка должна содержать в полном объеме генетическую информацию, необходимую для воспроизведения всей этой системы в целом. Поскольку макромолекулы, несущие метаболические генетические функции крайне важны и их размеры уменьшать нельзя, то, по-видимому, микоплазма представляет собой реальный нижний предел размеров живого организма. Еще более мелкие вирусы в процессе эволюции расстались с необходимостью иметь приспособления для осуществления собственного метаболизма. Они состоят в основном только из генетического материала и паразитируют внутри живых организмов. Генетические «приказы», отдаваемые клетке, исходят от ДНК. Молекулы ДНК, как и белков, построены в виде цепочек, состоящих, в первом случае из нуклеотидов, а во втором - из аминокислот. Однако молекулы ДНК, в отличие от белков, двухцепочечные, т.е. состоят из двух двойных спиралей полинуклеотидных цепочек; комплементарные основания противоположных цепочек образуют *нуклеотидные пары*.

В настоящее время установлено, что большая часть генетических сообщений в ДНК представляет собой последовательность кодовых «слов» или *кодонов*. Каждый кодон состоит из трех нуклеотидов (или трех нуклеотидных пар, если ДНК двухцепочечная) и соответствует одной из 20 аминокислот, т.е. кодирует одну из них. Последовательность

кодонов в ДНК определяет, в каком порядке должны соединяться аминокислоты при синтезе каждого из многочисленных белков.

Верхние пределы размеров клетки определяются многими факторами. Следует знать, что, хотя в подавляющем большинстве случаев диаметр клеток колеблется от 35 до 60 мкм, известны поистине гигантские клетки, существование которых связано с особыми биологическими обстоятельствами. Примером таких гигантских клеток могут служить яйца рептилий и птиц, в которых запасено большое количество питательных веществ и воды для развивающегося зародыша. Однако уже в самом начале эмбрионального развития они делятся на клетки меньшего размера. Кроме того, в природе существуют гигантские клетки, размеры которых могут достигать 1 метра и более. Но это - лишь исключение из правил, установленных природой.

Одна из главных причин, от которых зависит верхний предел клеточных размеров, по-видимому, кроется в соотношении размеров между ядром и остальной частью клетки. Как мы увидим из дальнейшего изложения материала, именно из ядра в цитоплазму поступают «посредники», управляющие синтезом белков.

Отсюда ясно, что должен существовать определенный предел для объема цитоплазмы, который ядро в состоянии «контролировать». Важная роль принадлежит также соотношению между разными частями клетки, а также соотношению между клеткой и окружающей средой. Все приведенные нами параметры, устанавливающие нижние и верхние границы клеток, имеют принципиальное значение для реализации биологических процессов и поэтому будут рассмотрены подробно.

Клетку можно определить как единицу биологической активности; ограниченную мембраной и способную к самовоспроизведению в абиотической (неживой) среде, а вирус как самовоспроизводящуюся единицу, лишенную мембраны и способную к самовоспроизведению только в клетке.

Одним из главных факторов, лимитирующих линейные размеры клеток и определяющих их конфигурацию (форму), является транспорт веществ, осуществляемый во внутриклеточном объеме исключительно за счет диффузии. Диффузия - медленный процесс.

Максимальное расстояние, на котором возможно эффективное использование диффузии для обеспечения потоков вещества и энергии между компонентами клетки и ее поверхностью, не превышает 1 мм. Поэтому согласно теоретическим положениям и расчетам, выполненным на их основе, оптимальное отношение площади поверхности клетки к ее объему должно быть 3/1. Сохранение такого соотношения на всем протяжении роста и растяжения клетки необходимо для обеспечения внутриклеточного транспорта веществ: доставки субстратов и удаления продуктов жизнедеятельности во всех участках клетки с одинаковой вероятностью и высокой гарантией. По этой же причине не менее важным фактором, от которого зависит верхний предел размеров клетки, является соотношение между ядром и остальной частью цитоплазмы.

Как известно, именно из ядра в цитоплазму поступает информация, необходимая для управления синтезом белков, и отсюда ясно, что должен существовать какой-то предел размеров клетки (объема цитоплазмы), который ядро может контролировать. Немаловажное значение имеет также соотношение между клеткой и окружающей средой. Ограничивающая клеточная мембрана обладает слабой проницаемостью.

Поэтому чем больше клетка, тем меньше отношение ее поверхности к объему и тем больше она будет изолирована от окружающей среды. Отсюда затруднения, испытываемые клеткой при увеличении ее размеров. Следует, однако, отметить, что в ряде случаев эти затруднения преодолеваются клетками за счет различных анатомических приспособлений, одним из которых является увеличение площади поверхности путем образования многочисленных впячиваний (инвагинаций) внешней мембраны клетки. То же относится и к клеточным органеллам. Наконец, увеличение размеров клетки ограничено условиями поддержания механической целостности ее конструкции, обеспечиваемой в пределах баланса сил деформации содержимого клетки, с одной стороны, и поверхностного

натяжения - с другой. Таким образом, клетка в рамках специфики своей организации может эволюционировать в направлении укрупнения только до тех пор, пока все эти условия будут выполняться.

Если оставить в стороне клетки-гиганты, достигающие необычно крупных размеров за счет разного рода специальных анатомических приспособлений, то легко убедиться в том, что средняя эукариотическая клетка, как правило, в несколько сот раз больше прокариотической клетки. Увеличение размеров и возрастание сложности должны были сопровождаться увеличением количества ДНК, что в свою очередь должно повлечь за собой создание совершенно иной «техники» перераспределения наследственного материала. С другой стороны, по мере увеличения клетки, проблемы, связанные с диффузией, частично разрешались благодаря разделению биохимических функций между специализированными органеллами, их пространственному разделению и внутриклеточной компартментизации. Тем не менее, дальнейшее эволюционное развитие осуществлялось на основе принципа многоклеточности. Каковы же взаимоотношения размеров и формы клетки?

Форма клеток. Взаимоотношение между формой клетки, размерами - с одной стороны, и ее функциональным состоянием - с другой, представляет собой одну из кардинальных проблем современной биологии клетки. Эта проблема имеет самое непосредственное отношение к структурно-функциональной организации клетки и к особенностям влияния факторов среды на морфологический статус различных типов клеток. Повышенное внимание к данной проблеме, проявляемое специалистами в последние десятилетия, послужило заметным толчком к пониманию фундаментальных механизмов взаимодействия клетки с факторами среды, отличающимися по интенсивности и длительности действия, в частности, силы тяжести.

За последнее время накопилось огромное количество работ, в которых предприняты попытки объяснить накопленный экспериментальный материал, относящийся к проблеме взаимосвязи размеров, формы и функциональной активности клетки. Основные теоретические положения по данной теме обсуждаются в работах ведущих специалистов, в которых обсуждаются тонкие механизмы регуляции функциональной активности клеток особенностью их формы и рассматриваются основные факторы (внешние и внутренние), которые могут определять форму клетки, значение физических и механических констант для молекулярных механизмов, обеспечивающих связь между формой клетки и ее функциональной активностью.

Может ли форма клетки определять ее функции, и если да, то каким образом? Пытаясь ответить на этот вопрос, ученые анализируют механизмы деформации клеточной конструкции. По их мнению, напряжения в клетке могут возникать либо в результате взаимодействия сил, генерированных деятельностью внутриклеточных сократительных элементов цитоскелета, либо внешних сил. Для выяснения этого вопроса специалисты сконструировали трехмерную модель клетки с целью анализа роли механических сил в процессе модификации формы клетки.

Предложенные клеточные модели содержат различные типы взаимосвязанных элементов клетки, находящейся в напряженном состоянии, и обеспечивающих стабильность таких типов архитектурной систем, вследствие этого определяющих форму клетки. Предполагается, что рост клетки является формозависимым процессом. Эта гипотеза основана на том, что акт деления клетки, развивающейся на твердом субстрате, требует большего, чем контакт с этим субстратом. Клетка в этом случае должна быть распластана, изменить свою форму и только после этого перейти к первой фазе деления.

Известно, что синтез ДНК в клетке увеличивается экспоненциально в ответ на линейное увеличение проекции клетки в области, занимаемой ядром. Другие аспекты метаболизма ядра, такие как синтез РНК и репликация ДНК, регулируются также путем изменения клеточной конфигурации, хотя цитоплазматические функции, такие, как синтез белка и РНК, контролируются независимо от формы.

Механические силы, выступающие в качестве биологического регулятора, играют очень

важную роль в процессе роста клетки. Показано, что метаболизм сильно различающихся между собой типов клеток зависит от сходных причин, в основе которых лежит механическое напряжение.

Таким образом, исследования с клеточными моделями позволили сделать заключение о том, что регуляторные функции в клетке могут выполнять механохимические механизмы посредством изменения формы клетки. Другими словами, изменение напряженности внутриклеточных элементов может привести к изменению активности метаболизма клетки. В этом случае физический стимул воспринимается специальными рецепторами, расположенными на поверхности клетки. Непрерывная структурная целостность элементов, обеспечивающая механизм передачи сигналов от поверхности клетки в область ядра и от ядра к поверхности клетки, способствует непосредственному и немедленному обмену информацией между ядром и цитоплазмой. Это, в свою очередь, вызывает быстрые и необратимые изменения в процессах, происходящих в клетке.

Физические и химические процессы, которые управляют движением клетки, так же, как процессы, координирующие поддержание и пространственное распределение клеточных структур, очень сложны и разнообразны. Эти процессы имеют значение особенно на ранних этапах развития и представляют несомненный интерес для биологии развития. В этом направлении наиболее актуальной задачей является объяснение закономерностей взаимосвязи между формой клетки, ее метаболической активностью и процессами морфогенеза.

Размеры живых организмов - одна из самых важных характеристик. Самое маленькое многоклеточное животное - землеройка в десять раз меньше мыши и в миллион раз меньше слона. Представленная табл. 2. иллюстрирует различие в размерах организмов.

Таблица 2

Одноклеточный организм	Масса, г	Многоклеточный организм	Масса, г
Микоплазма	10^{-13}	Пчела	10^{-1}
Бактерия	10^{-10}	Хомячок	10^2
Тетрахимена	10^{-7}	Человек	10^5
Амеба	10^{-4}	Голубой кит	10^8

Каждая строчка представляет тысячекратную разницу в размерах, причем самый маленький и самый крупный организмы различаются в 10^{21} раз. Для сравнения, общая масса Вселенной по расчетам астрофизиков составляет 10^{40} г.

Итак, на одном конце шкалы находится самое маленькое существо - землеройка массой 1 г, а на другом конце голубой кит, масса которого равна 100 т. Предполагается, что голубой кит смог вырасти до таких размеров и набрать столь большую массу исключительно по той причине, что развивался в воде.

Масса самого крупного наземного (сухопутного) животного - слона не более 5 тонн. Животные с большей массой, очевидно, жить на суше не могут, так как способность выдерживать статические нагрузки - это одно из жестких требований, предъявляемых к прочности конструкции, и поэтому она выступает главным фактором, ограничивающим размеры наземных животных. Мир, в котором мы живем, управляется законами физики и химии, и животные могут жить только в пределах, определяемых этими законами.

Ньютоновская механика оперирует фундаментальными понятиями массы, длины и времени. Их можно обозначить как M, L, T. Важно отметить также, что они не связаны с реальными числами. Например, символ L обозначает размерность длины вне зависимости от числа или единиц. Вместе с тем, данное расстояние есть физическая величина с определенным численным значением в определенных единицах. Символы размерности представляют собой простой, но важный математический язык.

С ними можно манипулировать по определенным правилам, причем самое главное

заключается в том, что их можно использовать в операциях с умножением и делением, но не сложением и вычитанием. Важным применением символов размерности - это операции, получившие название анализа размерностей, используется, главным образом, в инженерии. В биологии такой анализ получил название аллометрического.

Аллометрические уравнения, выведенные соответствующим образом, обычно сопровождаются статистической обработкой, которая дает информацию о значимости и доверительных границах. В аллометрическом уравнении $y=ax^b$ (или в соответствующей линии регрессии) имеются два важных числовых элемента: *коэффициент пропорциональности «a»* (который зависит от выбора единиц измерения) и *показатель степени «b»* (который определяет наклон линии регрессии).

Реальные организмы обычно не изометричны, даже если они организованы сходным образом. В биологии такое неизометрическое изменение размеров (scaling) часто называется аллометрическим (от греческого *alloios* - различный). Огромное число морфологических и физиологических переменных связано с размерами тела зависимостью, выраженной общей формой аллометрического уравнения $y = ax^b$. Это уравнение выражает то хорошо знакомое биологам положение, когда зависимость двух переменных, построенная в логарифмическом масштабе, имеет вид прямой линии. С этим общим уравнением согласуется множество биологических переменных, связанных с размерами тела.

Большое место в своих исследованиях уделил этой проблеме американский ученый Д.Томпсон. Его интереснейшая книга «Организм и форма», изданная в начале столетия (1916), до сих пор остается одной из наиболее полных и достоверных источников по теории и практике аллометрических принципов организации конструкций живых организмов. В частности, обсуждая клеточный аспект этой проблемы, Д. Томпсон пишет: «Феномен деления развивающейся клетки, независимо от способа деления, будет именно таким, какой необходим для поддержания постоянного соотношения между поверхностью и массой».

Дело в том, что при делении зародышевой клетки на две масса ее не увеличивается, но зато возрастает площадь поверхности, что не сопровождается увеличением ее объема. Вследствие этого создается несоответствие между объемом и массой клетки, с одной стороны, и площадью ее поверхности, другой. Такая ситуация, возникающая в процессе роста клетки, является основной причиной и исходным стимулом для начала деления клетки с одной стороны и одновременно фактором, лимитирующим дальнейший рост клетки по достижению ее критических размеров.

3. Клетка - основная единица биологической активности

Клетка занимает центральное положение в иерархической системе организации жизни, являясь основой всех без исключения живых организмов не только в структурном, но и в функциональном отношении. Более того, с эволюционной точки зрения, клетка является исходной формой жизни, так как представляет собой первый уровень организации живой материи, способной воспринимать физические сигналы окружающей среды, преобразовывать их в физиологические импульсы и формировать на этой основе ответные реакции на внешние воздействия.

Все без исключения «аспекты» жизни присущи любой клетке независимо от того, существует ли она самостоятельно как одноклеточный организм или функционирует в составе органа или ткани единого многоклеточного организма. В любом случае клетка способна удваивать свой генетический материал, осуществлять передачу информации, энергии, вещества и выполнять работу.

Именно только в клетке хаотическое движение молекул складывается во флуктуирующий поток энергии и вещества за счет четко организованной структуры и наличия в ней молекулярного механизма регуляции этого потока.

Клетка, в силу особенностей своей структурно-функциональной организации, представляет собой устройство, в высшей степени рационально использующее энергию для поддержания своей индивидуальности в постоянно меняющихся условиях окружающей среды.

Функциональную организацию клетки в самом общем виде можно объяснить, прибегнув к простой аналогии с организацией современного производственного процесса, с хорошо отлаженной автоматизированной системой управления, надежным функционированием всех технологических линий, начиная от бесперебойного поступления сырья на конвейер и заканчивая утилизацией готовой продукции с минимальной затратой энергии и исходного вещества. Но даже такое идеально налаженное современное производство не может конкурировать с высочайшим уровнем надежности и четкостью функционирования живой материи в микроскопическом объеме клетки.

Попытаемся описать работу клетки с двух позиций; в одном случае проследим за «поток энергии» в клетке, в другом - за «поток информации». На рис 2. и 3. в схематическом виде представлены пути преобразования энергии и информации в клетке.

В самом общем виде клетку, с одной стороны, можно представить себе как «машину», использующую энергию для совершения различных видов работ, с другой - как информационную систему, регулирующую интенсивность и эффективность этих работ.

В клетке превращение энергии происходит на структурном матриксе, имеющем четкую организацию и состоящем в основном из тех же веществ, которые подвергаются расщеплению и синтезу. Образно говоря, клетка в процессе роста и развития не только постоянно «чинит», но и «продолжает» себя, заменяя «изношенные детали» и удваиваясь (дублируется). Для того чтобы уяснить себе, каким образом это происходит, необходимо ввести понятие (концепцию) биологической информации и связанное с ней понятие наследственного материала. Наследственный материал, ведающий в клетке информацией, сосредоточен в универсальном веществе ДНК. Поток информации от ДНК к белку можно разделить на несколько этапов: каждый этап, вероятно, регулируется механизмами, работающими по принципу обратной связи.

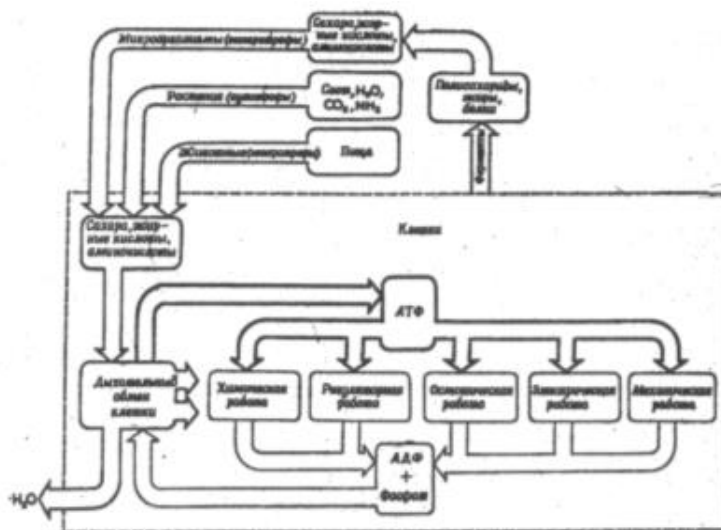


Рис. 2. Поток энергии в клетке

Одно из самых удивительных свойств клетки - ее компактность, достигаемая за счет совершенной организации ее деталей на молекулярном уровне. Например, регулирующие жизнедеятельность клетки «рабочие детали» - ее ферменты, представляют собой отдельные молекулы. Одно из следствий этой компактности состоит в универсальном эффекте

усиления, характеризующем живые системы. В качестве примера такого усиления эффекта можно отметить, что в $5 \cdot 10^{-15}$ г ДНК, содержащейся в оплодотворенной яйцеклетке кита, заключается информация, определяющая большинство признаков взрослого животного массой в $5 \cdot 10^7$ г. Усиление достигает здесь 22 порядков величины - результат пока еще недоступный инженерам - разработчикам самой совершенной электронной аппаратуры.

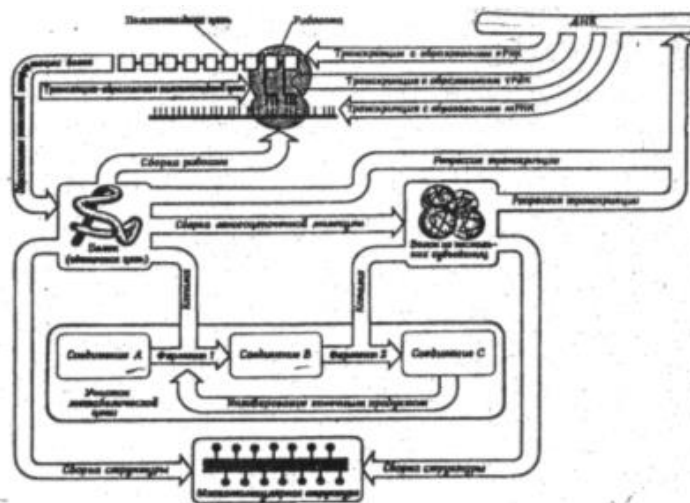


Рис. 3. Поток информации в клетке

Клетка использует энергию для осуществления процессов, с помощью которых она поддерживает свою высокоспецифическую структуру. Однако можно взглянуть на этот феномен и под другим углом зрения: вполне справедливо, конечно, и утверждение, что без наличия структуры энергия не может соответствующим образом преобразовываться для поддержания, распространения и самовоспроизведения живой материи. Таким образом, энергия необходима для *сохранения* структуры, а структура необходима для *использования* энергии. Другими словами, если структура клетки служит организационной основой для осуществления ее функций, то клеточная функция является поведенческой основой ее организации.

В экспериментальной биологии выработалась и утвердилась ценная практика - отбирать для изучения особенностей структурно-функциональной организации клетки такие биологические системы (типы клеток или клеточных ассоциаций), которые, будучи высокоэффективными в выполнении тех или иных функций, могут в тоже время служить уникальными, экспериментальными объектами для анализа этих функций, т.е. выбирать модели, адекватные выполнению поставленной задачи.

В связи с этим весьма заманчивой идеей является создание умозрительной модели клетки, максимально приближенной по своей структурной организации и выполняемым функциям к идеальной клетке. И хотя в природе никакой «идеальной» клетки не существует, обсуждение свойств такой клетки, представляющей собой прототип всех клеток, основывается на постулате, согласно которому биологические явления допустимо было бы анализировать исходя из общих физических и химических принципов. Именно этот постулат лежит в основе большинства экспериментальных подходов в современной биологии.

Теперь попытаемся вникнуть в сущность клеточного содержимого, для чего сначала познакомимся с элементарным составом клетки.

Элементарный состав клетки. Живая клетка для построения своей структуры и нормальной жизнедеятельности нуждается лишь в 22 элементах из более 100 распространенных в атмосфере, воде и земной коре. Более того, на четыре основных

элемента: Н, О, С и N приходится около 90% массы всех биологических молекул. Остальная часть клеточного содержимого включает четыре необходимых катиона: К, Mg, Na, Са и незначительное количество микроэлементов: Zn, Cu, Mn, и др. В состав клетки входят водород - 60 %, кислород - (25 %), углерод - (10 %) и азот - (2,5 %).

На остальные 18 элементов таблицы Менделеева приходится всего лишь 2,5 % общей массы клетки. Существенное преобладание названных элементов в живых системах, в частности в клетке, имеет под собой веские основания. Во-первых, среди всех элементов, образующих сильные (ковалентные) связи, их способность - наивысшая. Причина здесь ясна, так как прочность связи обратно пропорциональна массе атома.

Чем легче элемент, тем стабильнее и прочнее связь. Более того, эти элементы наилучшим образом связываются между собой, гораздо лучше, чем с другими элементами. Рекордсменом в этом отношении является углерод, способный образовывать четыре ковалентные связи с четырьмя атомами: Н, О, С, N. Эти связи служат каркасом для строительства будущих органических молекул

Соединения, содержащиеся в клетке, расположены по степени возрастания их сложности. Все органические макромолекулы (биомолекулы), в конечном счете, происходят из очень простых низкомолекулярных предшественников, а именно: двуокиси углекислого газа (CO_2), воды (H_2O) и азота атмосферы (N). Эти предшественники последовательно превращаются, минуя ряд промежуточных продуктов метаболизма, в биомолекулы, играющие роль строительных блоков. В дальнейшем эти строительные блоки связываются друг с другом ковалентными связями, образуя макромолекулы. Так, из аминокислот образуются белки, из моносахаридов - полисахариды, из мононуклеотидов - полинуклеотиды, а из жирных кислот - липиды. На следующем этапе, на более высоком уровне организации, эти макромолекулы образуют надмолекулярные комплексы: ферментные и сократительные, состоящие из белков или рибосом. Эти комплексы в свою очередь являются основным материалом для синтеза внутриклеточных органелл: ядра, пластид, митохондрий и т.д.

Элементарная (гипотетическая) клетка содержит 70 % воды, 15 % белков, 3 % углеводов, 2 % жиров, 1 % ДНК, 6 % РНК и около 3 % неорганических веществ.

По мере эволюции в клетке возникали все новые соединения - сложные и разнообразные комплексы, представляющие собой структурные и метаболические производные 30 «первичных» биомолекул. Так, например, огромное количество белков, содержащихся в клетках современных живых организмов, используют в качестве исходного материала всего 20 известных к настоящему времени аминокислот, а большое количество нуклеотидов происходят из четырех главных азотистых основания. 70 простых Сахаров происходят из одного источника - глюкозы, а почти все жирные кислоты - от одной пальмитиновой кислоты.

Конечно, «молекулярные блоки» клетки и субклеточные органеллы и сами по себе уже обладают некоторыми свойствами цельной функциональной единицы. Однако именно клетка представляет собой наименьшую единицу *относительно независимой* активности.

Клетка - наименьшая часть организма, наделенная всем спектром свойств, которые ассоциируются у нас с живой материей, таких как, способность к воспроизведению, к изменениям, метаболизм и чувствительность. Это кажется естественным проявлением свойств клетки, ибо с эволюционной точки зрения клетка - это автономная единица, из которой развивается многоклеточный организм.

Итак, клетка представляет собой высокоструктурированную систему с достаточной степенью упорядоченности элементов и четкими параметрами их взаимодействия. Эти качества позволяют рассматривать клетку как единый архитектурный ансамбль.

4. Физический мир клетки

Для того чтобы обсуждать физический мир клетки, мы должны в значительной степени

игнорировать ее специфические биологические свойства и представить ее в максимально упрощенном виде, например как идеальную микроскопическую сферу радиусом $r = 5 \text{ мкм}$ ($5 \cdot 10^{-4} \text{ см}$). В соответствии с представлениями макроскопического мира можно представить себе другую идеальную сферу радиусом $R = 50 \text{ см}$, которая в 100.000 раз больше «идеальной» клетки. Объемы и поверхности таких сфер могут быть вычислены соответственно по формулам: $V = 4\pi/3 R^3$, $S = 4\pi R^2$. Наиболее существенным моментом в этих расчетах является величина отношения площади поверхности клетки к ее объему: $S/V = 3/R$. В соответствии с этим отношение S/V для истинной клетки (микросферы) будет равно $6 \cdot 10^3 \text{ см}^{-1}$, а для макросферы $6 \cdot 10^{-2} \text{ см}^{-1}$. Другими словами, в случае с истинной клеткой (микросферой) поверхность клетки будет в 1000 раз превышать объем, если даже она имеет форму идеальной сферы. В живых клетках это преобладание площади поверхности над объемом достигается благодаря наличию многочисленных неровностей (инвагинаций) на поверхности клеточной мембраны. Однако основной причиной такого различия между макросферой и микросферой является чисто геометрический феномен, а именно тот факт, что если площадь изменяется по отношению к радиусу в квадрате, то объем растет в кубе. В этой, казалось бы, простой причине заключается суть проблемы для микроскопических объектов, в частности для клеток. Фактор ϕ , который вызывает уменьшение общего геометрического пространства объекта ϕ^χ , где χ может менять свое значение в положительную или отрицательную сторону. В случае уменьшения этого параметра во взаимоотношениях различных физических факторов в микросфере могут возникнуть драматические ситуации.

Попытаемся рассмотреть эти ситуации по отношению к основным физическим параметрам.

Вес и поверхностное натяжение. Сравним для примера, массу W с поверхностным натяжением A . В этом случае истинная клетка (микросфера) массой $W = 5 \cdot 10^{-7} \text{ дин}$ и поверхностным натяжением $A = 2 \cdot 10^{-2} \text{ дин}$ будет иметь, поверхностное натяжение в 400000 раз выше, чем масса. Такая клетка не может быть деформирована собственной массой. В, другом случае с большой сферой (макросферой) ее масса W , будет равна $5 \cdot 10^8 \text{ дин}$, а поверхностное натяжение $A = 7 \cdot 10^3 \text{ дин}$. Здесь имеет место диаметрально противоположная ситуация. Если попытаться поместить такую гигантскую, «каплю» диаметром в 1 метр на твердую поверхность, то масса такой сферы будет в 100000 раз больше, чем поверхностное, натяжение. Понятно, что такое в принципе невозможно.

Вязкость. Для того чтобы выяснить, какова вязкость воды, попробуем поместить две сферы (микросферу и макросферу) под давление и вычислим их плавучесть. Предположим, что истинная клетка (микросфера) и большая сфера полностью состоят из белковой смеси плотностью $\rho = 1,2 \text{ г/см}^3$. Для более точного сравнения будем также считать, что исходно обе сферы имеют начальную скорость плавания на расстояние, одного своего диаметра в секунду, т.е. $V_0 = 2R$. В этом случае, начальные скорости будут $V = 10^{-3} \text{ см/с}$ для микросферы и $V = 100 \text{ см/с}$ для макросферы. Принимая во внимание закон Стокса, $F = 6\pi\eta RV$ ($\eta = 0.01 \text{ г/см}$ при $t = 20^\circ \text{ C}$), мы будем наблюдать медленное падение скорости для обеих сфер (макро- и микросферы). Проведя вычисления, мы найдем, что истинная клетка (микросфера) остановится через $t = 10^{-6} \text{ с}$. В течение, этого времени она пройдет расстояние, равное 10^{-9} см или около $1/100000$ своего диаметра. Другими словами, истинная клетка (микросфера) остановится мгновенно, так быстро, как если бы она плавала, находясь не в воде, а в патоке!

В противоположность этому, макросфера имеет время плавания 10.000 сек. (~ 3 часа).

Броуновское движение. Жидкость внутри клетки также представляет собой патоку, но с гораздо большей вязкостью и движется толчками. Этот феномен хорошо известен как «броуновское» движение, в результате которого из-за неравномерного распределения тепла происходят флуктуации в жидкой среде. Количественная характеристика этого феномена выражается формулой $k \cdot T$, где k - константа Больцмана, T - абсолютная температура -273° C ,

и характеризует количество тепловой энергии при снижении свободной энергии на одну молекулу. При комнатной температуре это количественно соответствует энергии $4 \cdot 10^{-14}$ эрг или 2 ккал/моль. Если сравнить эту энергию с гравитационной энергией (dE), которую клетка испытывает, если ее поместить в жидкость (воду) на глубину одного ее диаметра, то энергетический выход в этом случае будет приблизительно 5 ккал. Другими словами, тепловая энергия, выделенная при столкновении 2-3 молекул, может полностью нейтрализовать (сбалансировать) эффект гравитационной энергии на клетку, находящуюся в жидкости (воде). Разумеется, клетка, имеющая больший диаметр будет испытывать несколько больший гравитационный стимул. Если несколько по-иному сформулировать эти результаты, то можно сказать, что гравитация не может конкурировать с другими силами в объемах, характерных для истинной клетки (микросферы).

Химическая энергия оказывает мощное влияние на клетку и поэтому, существенное влияет на ее механическую стабильность. Количественное значение химической энергии клетки гораздо больше, чем $k \cdot T = 2$ ккал/моль. Это следует иметь в виду, так как именно высокая энергия является причиной превалирования химических процессов в клетке над другими. Напомним, что энергия ковалентных связей составляет в среднем 90 ккал/мол, ионных связей - 80 ккал/моль, а водородных - всего лишь 4 ккал/моль. При этом следует принять во внимание, что внутриклеточный континуум содержит примерно триллион химических связей.

Электрические силы. Другой доминантной силой в микроскопическом мире клеток, которую мы почти не замечаем в нашем макроскопическом мире, является сила электрического взаимодействия - заряда Q с зарядом q . В самой простой форме, она возникает как «кулоновская» сила, пропорциональная произведению ее взаимодействием зарядов Qq и увеличивающаяся обратно пропорционально квадрату расстояния. F кул. = Qq/r^2 . Следовательно, электрический заряд становится довольно существенной силой на малых расстояниях, где r очень мал. Если заряд Q локализован в воде и окружен ионами, то зона его притяжения (или отталкивания) становится еще меньше, потому что ионы с противоположными зарядами сосредотачиваются вокруг этого поля, что нейтрализует его влияние на больших расстояниях. Согласно теории Дебая - Хейгеля эффект этих ионов может быть приблизительно вычислен при уменьшении, конкурирующих с ним «кулоновских сил», концентрация ионов в которых не так высока. Электрические силы имеют короткий радиус действия, что является еще одним следствием для микроскопического мира клетки. Поэтому возникновение катастрофических явлений, например электрической дуги, требует гораздо больших (более мощных) электрических полей, чем в нашем привычном макроскопическом мире. Это означает, что типичные потенциалы покоя, например в нервной клетке величиной 70 мВ, могут легко «пробить» мембрану толщиной в 100 Å. В соответствии с этим можно вычислить напряженность электрического поля мембраны $E = 70 \cdot 10^{-3} / 10^{-8} = 7 \cdot 10^4$ В/см². Ясно, что напряженности электрических полей таких величин (размеров) не могут возникать в макроскопическом мире без каких-либо катастрофических последствий. Электрические силы в электрическом поле (E) оцениваются как $F = e_0 E$ ($e_0 = 1,6 \cdot 10^{-19}$ кул) для одного элементарного заряда e_0 . В случае, если электрическое поле пронизывает мембрану клетки, его сила F может достигать 10^7 дин., что приблизительно приравнивается силе, развиваемой массой целой клетки в жидкости. Отсюда становится ясно, что одиночный электрический заряд в ограниченном электрическом поле мембраны может сбалансировать массу одной клетки в воде. Разумеется, поверхность мембраны любой клетки содержит не один, а несколько тысяч таких зарядов. Превалирование электрических сил над гравитационными в микроскопическом мире клеток является, в частности, причиной возникновения коллоидов, т.е. частиц, размеры которых гораздо больше размеров обычных молекул, но не больше 0,5 мкм. Именно взаимное отталкивание одноименных электрических зарядов держит коллоидные частицы на расстоянии друг от друга вопреки гравитационному притяжению.

Полимеризация. Еще одна из заметных сил, которую мы обнаруживаем в мире клеток (микросфер) и которую невозможно обнаружить в макроскопическом мире, - это сила полимеризации. Обычно, добавление более одной субъединицы к стабильному полимеру внутри клетки приводит к образованию биологической сети немедленно. Обозначим энергию полимеризации, вернее разность энергий, через G . Эта энергия используется для прикрепления одного конца полимера к концу другого полимера. Если другой полимер способен к растяжению, с затратой энергии F_p , для этого необходима консервация энергии $F_p d = G$. Это равновесие только приблизительное, однако важно отметить, что силы полимеризации не зависят от длины полимера или мономера.

Следовательно, если размер субъединицы (полимера или мономера) достаточно мал или велик, то это не отражается на скорости полимеризации. Обычно сила полимеризации преобладает над другими силами, такими, как гравитация, поверхностное натяжение, сократительные силы, эффективность которых снижается монотонно по мере уменьшения размеров.

Большинство клеточных полимеров, таких, как микротрубочки, микрофиламенты, промежуточные филаменты, толстые нити и другие удерживаются в связанном состоянии силами Ван-дер-Ваальса с энергией от 6 до 30 ккал/моль ($0,4 \cdot 10^{-12}$ эрг) на одну связь. Размеры субъединиц колеблются в диапазоне 30 \AA ($3 \cdot 10^{-7}$ см). Поэтому сила, приложенная только к одной субъединице, в десять раз больше, чем масса одной клетки. Иначе говоря, присоединения одной субъединицы к полимеру вполне достаточно для того, чтобы поднять 10 клеток на расстояние длины их диаметра. Предположим, что силы поверхностного натяжения удерживают клетку или разворачивают ее вокруг собственной оси на радиус ее поверхности $0,01 \text{ мкм}$ (10^{-6} см). Если даже это очень мощные силы, они равны $F_s = 2R\sigma w = 10^{-4}$ дин. Другими словами, если 30-60 мономеров соединить вместе, акт полимеризации окажется намного мощнее сил поверхностного натяжения $F_p = 6 \cdot 10^{-6}$.

Таким образом, силы полимеризации обладают достаточной мощностью, чтобы конкурировать с силой поверхностного натяжения. Было показано, что именно силы полимеризации служат основой для организации и функционирования системы сократительных элементов в клетке, известных под названием цитоскелета.

Цитоплазму, исходя из рассуждений, приведенных выше можно рассматривать со следующих позиций: как коллоидный раствор свободно плавающих молекул - «цитозоль», как образование, состоящее из плотных полимерных структур - «цитогель», или, наконец, как решетку из гидратированных белков, в ячейках которых находятся ионы малых молекул. Внутри клетки молекулы в основном включены в полимерные структуры (цитоскелет, мембраны), поэтому их окружает крайне неоднородная среда, принципиально меняющая их поведение по сравнению со свободно реагирующими молекулами, например, в лабораторной пробирке (*in vitro*).

5. Термодинамика и механика биологических процессов

В живой клетке, в буквальном смысле слова, в одном и том же месте и в одно и то же время происходят тысячи различных реакций: катаболических - направленных на распад и анаболических - на синтез веществ. Катаболические реакции протекают с выделением энергии, а анаболические - поглощением энергии. Функционирование биологических систем, в том числе и клетки, как преобразователей свободной энергии можно оценить с помощью ряда критериев, один из которых является чисто термодинамическим, а именно оценивающим отношение свободной энергии на выходе системы к свободной энергии на входе (максимум термодинамической эффективности теоретически не может превышать 1!). В рамках классической термодинамики энергия системы (в том числе и биологической) может проявляться в виде механической работы и теплоты. Если мы имеем дело с чисто

механической системой, то теплоту можно не принимать во внимание и тогда энергия системы определяется ее способностью совершать работу.

По мнению Л.А. Блюменфельда, «если бы для описания клетки нам пришлось бы выбирать между двумя крайними моделями — часовым механизмом и гомогенной химической реакцией в газовой среде, выбор был бы однозначен; клетка несравненно ближе к часовому механизму, чем к чисто статистической системе». Очевидно, структурно-функциональную организацию клетки следует рассматривать с двух позиций: с одной стороны, клетка представляет собой механическую конструкцию, с другой - это химический реактор, функционирующий в полном соответствии с законами термодинамики.

Клетка как термодинамический реактор

В отличие от рукотворных (созданных людьми) машин, в «биологической машине» - клетке сжигание органических соединений (углеводов, белков и жиров) происходит в структурном материале (состоящем в основном из тех же веществ, которые подвергаются сгоранию). Поэтому клетки постоянно заменяют (пополняют) запас веществ и одновременно восстанавливают структуру в ходе своей жизнедеятельности. Органические и неорганические соединения внутри клетки сильно отличаются как по составу, так и по абсолютной концентрации от веществ, присутствующих в окружающей среде. Для поддержания концентрационных градиентов клетка должна постоянно совершать соответствующую работу - химическую или осмотическую, соответственно с затратой необходимого количества энергии. Суть этой работы заключается в накоплении необходимых веществ, поступающих в клетку из окружающей среды, и выведении других веществ из клетки в окружающую среду. В подавляющем большинстве случаев эти процессы происходят против градиентов концентраций, т. е. в клетку «накачиваются» вещества, содержащиеся в ней в больших концентрациях, чем во внешней среде, и наоборот, - «выдавливаются» соединения, имеющиеся в окружающей среде в больших концентрациях. Разумеется, что эта работа требует затрат энергии. Следует, однако, заметить, что наличие клеточной мембраны облегчает данный процесс благодаря ее селективным свойствам.

Изучение процессов обмена в самых разных типах клеток показало, что почти все они обладают системой, служащей для переноса веществ. Проникновение молекул в клетку и выход из нее, а также перенос их из одной части клетки в другую в основном осуществляется благодаря двум энергозависимым процессам: диффузии и конвекции. В ранних работах Э. Полларда было показано, что транспорт и последующий синтез веществ в бактериальной клетке осуществляется исключительно за счет диффузии. Расчеты скоростей синтеза белков, нуклеиновых кислот, выполненные автором, показали, что в клетках, имеющих малые размеры, случаи столкновения молекул возрастают в очень большой степени по сравнению с крупными клетками. Значит, энергия активации молекул тесно связана с концентрацией веществ в данном объеме. Следовательно, для надежной работы бактериальной клетки необходима высокая концентрация молекул на единицу объема. В синтезе белков и нуклеиновых кислот большое значение приобретает скорость теплового движения молекул, обеспечивающая высокую степень их беспорядочного столкновения (*random collision*) и специфического отбора (*specific selection*). Как было показано теоретическими работами того же Э. Полларда, ведущую роль в этих процессах играет диффузия.

Остановимся на работах этого автора подробнее и приведем его расчеты для обоснования закономерностей распределения молекул в гипотетической (идеальной) клетке. С этой целью Э. Поллард использовал известное в статистической механике уравнение Пирри, описывающее закономерности распределения молекул в газовой среде:

$$n/n_0 = e^{-mgh/kT} = e^{-\nu(\rho-1)gh/kT}$$

где h - высота (или длина) клетки, n/n_0 - отношение числа молекул в определенном объеме при высоте h к числу молекул, при высоте равной нулю, m - масса, T - абсолютная температура, k - константа Больцмана, ($1,38 \cdot 10^{-16}$ эрг/град), ρ - плотность содержимого клетки (цитоплазмы), g - ускорение силы тяжести ($9,81$ м/сек²), V - объем.

Используя эту формулу, можно показать, что наибольшее значение для скоростей движения частиц в процессе диффузии или конвекции будет иметь высота (длина) h , точнее разница высот (или длин), соответствующая длине свободного пробега молекулы. Чем больше будет эта разница, тем больше расстояние свободного пробега молекулы тем, большее значение для внутриклеточных процессов будет иметь конвекция. Но при значениях h , близких к нулю, главенствующую роль в распределении молекул в клетке будет иметь диффузия.

Скорость диффузии в клетках, размером до 1 мкм, несравненно выше скорости конвективного потока. Чтобы убедиться в этом, последуем за Э. Поллардом в его теоретических расчетах, используя следующее уравнение:

$$\delta^2 = 2 D t$$

где δ - расстояние эффективной диффузии, D - константа диффузии -10^{-6} см/с², t - время.

Пользуясь приведенным уравнением, можно доказать, что расстояние, равное 10^{-4} см или 1 мкм, такая относительно крупная частица как рибосома, пройдет за $5 \cdot 10^{-3}$ сек., т. е. будет диффундировать в клетке с очень большой скоростью (1,2 м/с).

Теперь определим время передвижения для этой частицы (рибосомы) в клетке, имеющей те же размеры, но уже под действием конвективного потока. Для этого используем уравнение:

$$\frac{4}{3} \pi R^3 (\rho - 1) g = 6 \pi \eta r V$$

где r - радиус рибосомы, ρ - ее плотность, g - ускорение силы тяжести, η - вязкость, 1 - плотность воды.

Подставляя значения этих параметров, мы найдем, что время пробега расстояния в 1 мкм для рибосом в этом случае составит 2 мин, т. е. в 2000 раз медленнее.

Таким образом, в клетках, размер которых не превышает 1 мкм, процессы конвекции не выдерживают конкуренции с диффузией. Однако с увеличением размеров клетки картина постепенно становится диаметрально противоположной, и конвективные потоки начинают преобладать над процессами диффузии в переносе веществ в клетке.

Так как биологическая мембрана в различной степени и в разной мере проницаема для различных катионов и анионов, то две стороны этой мембраны должны быть заряжены неодинаково. Поддержание разницы электрических потенциалов по обе стороны мембраны также требует затрат энергии. Безусловно, работа по созданию и поддержанию концентрационных и химических градиентов, включая и разность электрических потенциалов, - одна из энергоемких работ и значительно превышает затраты энергии на поддержание механической целостности клетки. Тем не менее очевидна необходимость затрат энергии и на достижение конструкционной стабильности клетки. Клетка затрачивает много энергии на биосинтез сложных высокоорганизованных макромолекул, а также на регуляцию многочисленных взаимодействий, в которые вступают эти макромолекулы с образованием более сложных биологических комплексов в процессе синтеза внутриклеточных структур. Другими словами, структурная упорядоченность внутриклеточного пространства также требует затрат определенного количества энергии. Следовательно, энергия необходима клетке, как для сохранения термодинамического равновесия, так и для поддержания ее механической (структурной) целостности.

Клетка как биомеханическая конструкция

В той же работе Э. Полларда, на основании теоретических расчетов было высказано предположение о возможности «гидростатического стресса» на нижнюю (базальную)

мембрану гипотетической при двух различных положениях клетки: при ориентации клетки перпендикулярно к вектору силы тяжести и продольно к нему. Автор считает, что, когда направление вектора силы тяжести совпадает с продольной осью клетки, давление, производимое массой клетки, может привести к ее деформации. Такая ситуация вполне реальна, если клетки крупные. Кроме того, очевидна и необходимость определенных энергозатрат клетки для достижения ею стабильного положения в пространстве - позиционного гомеостаза. Термин «позиционный гомеостаз» означает сохранение стабильного положения и оптимальной ориентации клетки в условиях действия сил, вызывающих механические деформации, в частности сила тяжести. Как известно, в поле силы тяжести клетка находится в напряженном состоянии. Это обусловлено двумя противоположно направленными тенденциями: с одной стороны, внутриклеточные компоненты сильно различаются между собой по массе и поэтому их пространственное распределение во внутриклеточном объеме неравномерно (асимметрично), с другой - эластичного каркаса клетки - цитоскелет создает противодействие в клетке рандомизации, что приводит к возникновению механических напряжений.

Так, например, известно, что нормальная билатерализация - появление у большинства зародышевых клеток противоположных полюсов в процессе их развития (деления), сопровождается такими механическими явлениями, как скручивание при вращении, сдвиг напряжения и давления, действующими на клетку. В момент установления билатеральности клетка определенным образом ориентируется по отношению к вектору силы тяжести, в то время как гравитационные силы, индуцируя, и в дальнейшем, определяя пространственную ориентацию клетки, могут привести к ее деформации и изменению положения в пространстве. Поэтому энергия для поддержания позиционного гомеостаза используется прежде всего на синтез структур, придающих клетке прочность и подвижность (сократительных элементов цитоскелета). Это позволяет клетке сохранять как структурную целостность, так и «позиционный гомеостаз»; т. е. ориентироваться в поле силы тяжести в единственно нужной позиции для оптимального взаимодействия с окружающей средой. Таким образом, механические напряжения, возникающие в клетке, в поле силы тяжести, есть результат двух противоположно направленных процессов: пространственной рандомизации внутриклеточных включений и стремления их к седиментации (осаждению).

Степень напряженности в поле силы тяжести сильно варьирует в зависимости от размеров клетки и количества, содержащихся в ней неоднородных по массе внутриклеточных компонентов. Удалось количественно оценить степень этой напряженности в зависимости от размеров клеток. Так, в клетках, имеющих размеры от 6,4 мкм до 30 мм, эти значения колеблются от $2,5 \cdot 10^{-13}$ до $8 \cdot 10^{-1}$ дин/см². Следовательно, с увеличением размеров клетки механическая напряженность ее конструкций в поле силы тяжести растет. Одновременно повышаются и энергозатраты. Эффективность энергозатрат можно оценить, поместив клетку в поле измененной силы тяжести, например, на борт космического летательного аппарата.

Изучение термодинамических и механических свойств клетки, безусловно, требует привлечения ряда теоретических положений и экспериментальных методов, используемых в пограничных дисциплинах: биофизике, биомеханике, молекулярной биологии и представляет собой отдельную определенную и очень важную область исследований.

Общие энергозатраты живой системы, в частности клетки, складываются из следующих «расходных статей»: затрат на поддержание структуры, усложнение этой структуры, включая прирост биомассы, и производство работы (химической, осмотической, механической, электрической, регуляторной). Очевидно, для эффективной утилизации энергии клетка должна обладать механизмами, способными запасать энергию и преобразовывать ее в работу с наименьшими потерями. Универсальным источником энергии в клетке служит молекула аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), синтезируемая в клетке как результат трех основных процессов: анаэробного (без участия кислорода)

гликолиза и двух аэробных, протекающих с участием кислорода; фотосинтетического фосфорилирования (в случае с растительной клеткой) и окислительного фосфорилирования (в случае с животной клеткой).

Энергия высококалорийного топлива - АТФ используется для осуществления большинства процессов, протекающих с затратой энергии. Во всех этих процессах обычно происходит переход одного вида энергии в другой, или, в более общем виде, преобразование одного термодинамического параметра в другой. Подобного рода процессы принято рассматривать как определенную форму работы, выполняемую специализированными машинами. Таким образом, клетка использует ряд механизмов - преобразователей энергии для выполнения различных форм работы. В клетке работает множество таких машин. Во всех случаях, когда в клетке используется энергия для синтеза веществ, содержащих большее количество энергии (G), обладающих более высокой энтальпией (H) или меньшей энтропией (S), чем исходные строительные блоки, в ней выполняется работа. В частности, клетка содержит механизмы для биосинтеза нуклеиновых кислот, белков, жиров, полисахаридов, и каждый из этих механизмов должен быть снабжен какими-либо химическими «узлами» для преобразования содержащейся в АТФ энергии в химическую или иного рода работу.

Как уже отмечалось выше, рост и развитие живых организмов, в том числе и клетки, сопровождается возрастанием степени организации (упорядоченности), за которую клетка должна «расплачиваться» уменьшением количества свободной энергии. Важно уяснить, что в понятие нормального функционирования клетки входит не только создание упорядоченной организации, но сохранение и поддержание этой организации, а также передача принципа этой организации следующим поколениям (например, от клетки к клетке). Это осуществляется благодаря наличию в клетке особого наследственного материала - макромолекул дезоксирибо-нуклеиновой кислоты (ДНК). Образно говоря, этот генетический (наследственный) материал есть не что иное, как материализованная эволюционная «мудрость», накопившаяся в живой системе за миллиарды лет развития органического мира. В современных живых системах наследственный материал - это исходный пункт потока информации в клетке. Воспроизведение себе подобных - самое замечательное свойство живых систем.

Основными критериями процесса воспроизводства являются стабильность и надежность хранения и передачи наследственной информации.

Таким образом, биологические системы в процессе своего функционирования не нарушают законов физики и химии, но и не исчерпываются ими. Живые системы, будучи энергозависимыми являются также и информационно-зависимыми, что в принципе и отличает их от неживых систем.

6. Общий принцип структурно-функциональной организации клетки

Огромное разнообразие клеточных форм, возникших и развившихся в ходе эволюции, основывается на двух, значительно различающихся типах: прокариотах и эукариотах. Клетки, относящиеся к первому типу, представлены лишь бактериями и сине-зелеными водорослями. В этих клетках отсутствуют ядро и высокоорганизованные внутриклеточные структуры. Тем не менее, они имеют достаточно четкий механизм передачи наследственной информации. Материал, содержащий генетический код, свободно распределен в клетке и представлен гигантской молекулой ДНК. Размеры подавляющего большинства прокариотических клеток не превышают в диаметре 1 мкм. Все остальные клетки, от простейших одноклеточных организмов до различных клеток животных и растений, относятся к эукариотам. Эукариотические клетки имеют высокую степень организации, четко обособленное ядро, в котором сосредоточен генетический материал, и «стандартный» набор всех необходимых внутриклеточных органелл: различные типы пластид, митохондрии, аппарат Гольджи, рибосомы и др. Остановимся на некоторых отличительных признаках клеток животных, растительных организмов. Так, например, особенностью

растительных клеток является наличие в них различных пластид - специализированных и высокоорганизованных органелл, среди которых особое место занимают хлоропласты. Эти органеллы ответственны за осуществление фотосинтеза - уникального процесса, в ходе которого за счет поглощенной солнечной энергии из неорганических соединений окружающей среды (воды и двуокиси углерода) синтезируются молекулы органического вещества (углеводы - простые сахара).

Кроме того, растительная клетка, помимо основной мембраны, отделяющей любую клетку от внешней среды, окружена жесткой и прочной клеточной стенкой, состоящей, главным образом из целлюлозы и выполняющей, в основном, опорные функции. Животные клетки, в отличие от растительных, как правило, имеют в своем составе центриоль - специализированную клеточную органеллу, играющую роль осциллятора.

Как животные, так и растительные клетки различным образом дифференцированы, причем каждая из специализированных форм клеток выполняет в организме определенную функцию. Из сообщества таких специализированных клеток состоят различные органы многоклеточного организма. Наряду со специализированными клетками в многоклеточном организме содержится большое количество простых (соматических) клеток, представляющих собой основной строительный материал. Наконец, необходимо упомянуть о колоссальном разнообразии одноклеточных организмов, составляющих основную часть биосферы нашей планеты. Очевидно, этим кратким перечнем отнюдь не исчерпывается огромное разнообразие клеток, обнаруживаемых в природе. Но в нашу задачу не входит систематизация клеточных форм с целью изучения их специализированных функций. Цель этого краткого экскурса: составить мнение о некоей обобщенной (идеальной) модели клетки.

Разумеется, никакой идеальной клетки со «стандартным набором внутриклеточных компонентов в природе не существует. Тем не менее для решения фундаментальных проблем в биологии весьма плодотворным представляется попытка создать умозрительную модель клетки, охватывающей большинство определенных функций.

Обсуждение свойств такой «обобщенной» клетки основывается на постулате, согласно которому биологические явления допустимо анализировать исходя из их общих физических и химических принципов. Как и всякий постулат, он, конечно, принимается на веру без доказательств, но с нашей точки зрения это весьма плодотворный путь познания кардинальных процессов в живой клетке. Познакомимся со структурным «портретом» и характерными функциями основных клеточных органелл и комплексов. Схематическое изображение обобщенной эукариотической клетки представлено на рис. 4.

Биологическая мембрана

Предполагается, что самая простая прокариотическая клетка появилась около 3, 5 млрд. лет назад, и только через 2 млрд. лет после этого сформировалась эукариотическая клетка - основа всех многоклеточных организмов. Как уже было сказано, для окончательного формирования клетки необходимо было пространственное обособление клеточного содержимого от окружающей среды. Основным инструментом и материальной структурой этого процесса служила биологическая мембрана.

Биологическая мембрана современных клеток и внутриклеточных органелл, в принципе, представляет собой гликофосфолипидный димер, в который включены агрегаты белковых молекул (кластеров), определяющих основные свойства мембраны. Биомембрана находится в квазикристаллическом состоянии и по своим механическим свойствам является вязкоупругим телом, что придает ей динамизм, прочность и эластичность. Исходя из молекулярной организации биомембраны можно сделать ряд предположений относительно ее характеристик, главная из которых заключается в том, что хорошо работая на изгиб, мембрана чрезвычайно чувствительна к растяжению. Биологическая мембрана по своим свойствам больше напоминает стальную пластину, чем резиновый шнур - диапазон упругости биологической мембраны, оцениваемый модулем Юнга, колеблется в

зависимости от ее функций от 10^6 до 10^8 дин/см².

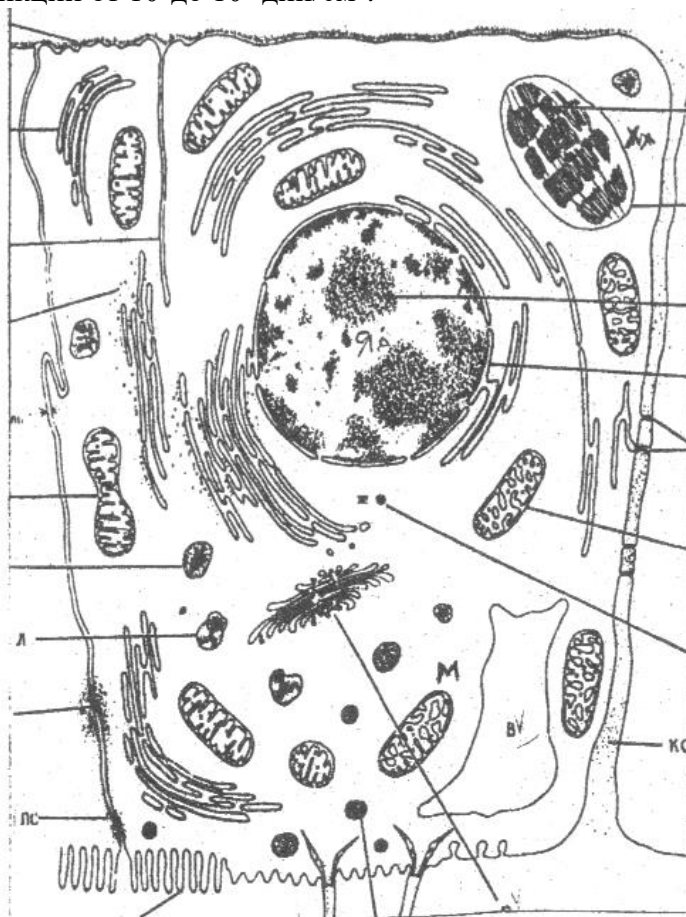


Рис. 4. Схематическое изображение эукариотической клетки.

Механохимические характеристики и функциональная активность мембраны в значительной степени определяются ее липидной фазой, точнее количественным соотношением жирных кислот, входящих в ее состав. Белковая составляющая мембраны, в основном, ответственна за метаболическую активность, так как почти весь набор ферментов, катализирующих (ускоряющих) метаболические реакции, представляет собой белки, различающиеся по степени сложности структурной организации. Таким образом, механические свойства, проявляемые мембраной, характеризуют ее как непрерывную структуру. Значит, для того чтобы флуктуации в структуре биологической мембраны, происходящие вследствие подвижности отдельных молекул, были незначительными, она должна быть составлена из довольно большого числа молекул. Функциональные параметры мембран в значительной степени будут зависеть от количества молекул, расположенных внутри и на поверхности мембраны. Поэтому поверхностные свойства мембраны, а следовательно, и эффекты внешних сил на мембрану в значительной степени обусловлены состоянием самих мембран, их химическим составом и молекулярной организацией.

Биологические мембраны являются главным инструментом регуляции клеточного метаболизма. Благодаря наличию биомембран, пронизывающих все внутриклеточное пространство, осуществляется транспорт веществ и доставка необходимых химических соединений в нужное время в необходимый участок внутриклеточного пространства. Кроме того, основная роль клеточной (ограничивающей клетку) мембраны - диспетчерская. Именно клеточная мембрана определяет, каким молекулам можно и должно проникать в клетку, и каким оставаться за пределами клетки; она (мембрана) определяет также, какие молекулы останутся в клетке и какие будут выведены наружу. Именно эта функция - функция барьера проницаемости - послужила причиной того, что биологи пришли к выводу о существовании клеточной мембраны еще задолго до обнаружения ее с помощью

электронного микроскопа. Клеточная мембрана тесно связана с образованием особых структур, ответственных за контакт между клетками в многоклеточных организмах, - десмосом, представляющих собой местные утолщения оболочек соседних клеток, от которых в цитоплазму отходят тонкие нити.

Часто между десмосомами видны участки менее тесного контакта и даже подлинные межклеточные пространства для свободной циркуляции жидкостей. Десмосомы найдены во многих эпителиальных клетках животных и во всех растительных клетках.

Цитоплазма - основное содержимое клетки представляет собой многофазную смесь с удельной плотностью $1,1 \text{ г/см}^3$. Основное вещество цитоплазмы необычно в том отношении, что ведет себя одновременно и как жидкость, и как твердое тело, то есть проявляет способность к вязкому течению и к упругой деформации. Более того, необычные физико-химические свойства цитоплазмы, способность быть жидкостью и твердым телом одновременно, меняется в зависимости от физиологического состояния, как самой клетки, так и условий окружающей среды. При большом увеличении под электронным микроскопом в цитоплазме видны многочисленные образования, имеющие различные формы. Эти образования, состоящие из мембран в целом, представляют собой ее структурированную часть, так называемый эндоплазматический ретикулум. Другая, бесструктурная часть цитоплазмы - цитозоль, представляющая собой жидкую фазу, состоит, главным образом, из белковых молекул на разных стадиях агрегации, погруженных в воду. Большинство из этих молекул служит основным строительным материалом, используемым для синтеза внутриклеточных органелл: ядра, пластид, митохондрий, рибосом и др. Кроме того, более структурированная часть цитоплазмы включает сократительные элементы цитоскелета.

Цитоскелет - совокупность трех основных типов сократительных элементов: микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных филаментов, различающихся между собой по толщине и содержащих, главным образом, сократительные белки; актин, миозин и тубулин.

Миозин - единственный белок, способный генерировать механическую работу за счет гидролиза АТФ в клетке. Эта реакция универсальна для всех видов биологической активности - от различных типов подвижности у самых примитивных форм живых организмов до сложного акта мышечного сокращения. Цитоскелет является чрезвычайно динамичной системой. Структура цитоскелета способна перестраиваться и менять свою пространственную картину в течение долей секунды. Даже в стационарном состоянии в клетке происходит непрерывный обмен между полимерным комплексом цитоскелета и пулом свободных мономеров - сократительных белков. Динамика перестроек цитоскелета может регулироваться как эндогенными, так и экзогенными, факторами, способными изменить ход метаболических процессов в клетке.

Эндоплазматическая сеть (ЭС)

Элементы эндоплазматического ретикула или сети также очень динамичны и представлены мембранным материалом в виде пузырьков, цистерн и колечек, имеющих диаметр от 2,5 до 5 мкм. Такие профили встречаются во всех частях цитоплазмы, за исключением тех областей, которые заняты диктиосомами и центриолью. Эндоплазматическая сеть существует в двух формах: шероховатая, содержащая на своей поверхности гранулы, и гладкая - агранулярная. Гранулы, расположенные на поверхности шероховатых мембран, состоят из молекул РНК, которые непосредственно связаны с синтезом белков в клетке. Другая - гладкая (агранулярная) форма ЭС включает ряд различных ферментов. Эндоплазматическая сеть имеет широкое распространение в клетке и занимает большую часть цитоплазмы. Благодаря эндоплазматической сети в клетке создается непрерывный и сложный комплекс транспортных путей, объединяющих содержимое клетки в единое целое.

Ядро является неперенным морфологическим элементом эукариотической клетки.

Хотя ядра различных типов клеток отличаются друг от друга по форме и размерам и эти различия нередко весьма существенны, тем не менее, все ядра имеют одну и ту же основу. Предназначение ядра - хранение наследственного материала. Некоторые ядра половых клеток содержат только наследственный (генетический) материал. Другие, в частности соматические клетки, наряду с наследственным материалом, содержат белки.

Обязательный компонент наследственного материала ядер - дезоксирибонуклеиновая кислота. В ядрах половых клеток концентрация этого вещества может достигать 60 %, в соматических клетках его содержание не превышает 15-20 %. Значение различий концентраций ДНК в ядрах различных типов клеток можно понять, если учесть, что ядро выполняет две отдельные, хотя и тесно связанные между собой функции. Одна из них состоит в передаче наследственного материала от одной генерации клеток к другой, а другая связана с влиянием этого материала на метаболическую активность клетки.

Содержимое ядра отделено от внешней среды (цитоплазмы) оболочкой (двойной ядерной мембраной), благодаря которой сохраняется постоянство внутренней среды ядра. В мембранах имеются поры диаметром от 40 до 100 нм. Ядерная мембрана вследствие своей селективности позволяет в известной степени контролировать деятельность ядра и хромосом. Ядерная мембрана входит в общую систему эндоплазматической сети, благодаря чему в клетке существует надежная связь между всеми внутриклеточными компонентами и органеллами, что позволяет ядру выполнять командные функции в клетке.

Кроме того, в ядре возможен синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), который отличается от синтеза этого соединения в митохондриях и цитоплазме.

Основное содержимое ядра - ядрышко (иногда их несколько) и хроматин. В делящихся ядрах хроматин организуется в хромосомы, содержащие ДНК (15 %), РНК (10 %) и белок (75 %). Если ядрышко (или ядрышки) является главным образом хранилищем РНК, то материальный носитель наследственной информации - ДНК - размещается в хромосомах. Изменчивость хромосом - одна из главных особенностей ядер. Хромосомы в покоящемся ядре не просматриваются, они становятся видимыми только в период клеточного деления. Процессу клеточного деления с неизменным расхождением хромосом в клетке (пространственным перемещением) предшествует период, в течение которого происходит активация ДНК. Этот клеточный цикл состоит из четырех дискретных фаз: G₁ - периода, S-фазы, G₂-периода и М-фазы. В S-фазе спонтанно происходит репликация (удвоение) количества ДНК. Этой фазе предшествует G₁ - период, а после S-фазы наступает G₂-период. Эти два периода являются промежуточными, в них происходит активация ДНК. Затем наступает М-фаза. В результате деления соматической клетки происходит удвоение количества хромосом, а, следовательно, и количества наследственного материала. В сущности, во время митоза, происходит равномерное распределение ДНК в клетке.

Митохондрии и хлоропласты

Живая клетка - преобразователь энергии. Без этого свойства она не могла бы существовать, так как энергия необходима клетке для выполнения разнообразных задач. Значительная часть энергии, в среднем около 1/3, расходуется клеткой для поддержания ионного баланса. Остальная энергия распределяется в клетке между такими «статьями расхода», как движение, рост, деление, поглощение питательных веществ и удаление продуктов жизнедеятельности, растяжение и сокращение.

Другими словами, любая форма активности клетки (механическая, химическая или осмотическая работа) требует затрат энергии. Каковы же способы и пути пополнения клеткой энергетических запасов?

Основными и единственными поставщиками энергии в животной клетке являются митохондрии, а в растительной клетке митохондрии и хлоропласты. В митохондриях, энергия аккумулируется за счет окисления различных органических соединений - питательных веществ, в хлоропластах, благодаря наличию в них зеленого пигмента - хлорофилла, используется энергия солнечного излучения. Необходимо отметить, что

способность накапливать энергию в процессе фотосинтеза является уникальной и присуща только зеленым растениям.

Что же представляют собой эти внутриклеточные органеллы? Каково их строение и функции? Митохондрии - это особые структуры овально-удлиненной формы, окруженные ограничивающей мембраной. Средний размер митохондрий обычно не превышает 1 мкм. Митохондрии обнаружены во всех животных клетках (за исключением зрелых эритроцитов), у высших растений, водорослей и простейших одноклеточных организмах; отсутствуют они только у бактерий. Митохондрии, выделенные из разных источников, имеют очень много общего: их наружная мембрана гладкая, а внутренняя, образует складки, или «впячивания» (называемые *кристами*), которые вдаются в тело митохондрии столь глубоко, что зачастую достигают противоположной стенки. Структура митохондрий весьма характерна, и поэтому эту клеточную органеллу очень легко распознать по ее морфологии (внешнему виду). Строение митохондриальных крист - великолепный пример функциональной архитектуры. Показано, что «дыхательные ансамбли» расположены не на наружных мембранах, а на внутренних - кристах.

Энергия вырабатывается в митохондриях в процессе окислительного фосфорилирования. В растительных клетках наряду с митохондриями часто встречаются пластиды, имеющие различные размеры, форму и функциональное предназначение. Наиболее распространенной разновидностью пластид являются хлоропласты, содержащиеся в клетках зеленых тканей растений и выполняющие важнейшую функцию в процессе фотосинтеза. Внутреннее строение хлоропластов сложнее, чем митохондрий. Вместе с тем, структурная организация мембран и система переноса энергии в хлоропластах весьма сходны с митохондриальной системой. Хлоропласты, как правило, имеют овальную форму. Средние размеры этих органелл колеблются от 2 до 4 мкм в зависимости от возраста и степени функциональной активности.

Система переноса электронов в процессе фотосинтеза в хлоропластах, как и митохондриях, локализована в мембранных структурах. Однако у хлоропластов, внутренние мембраны, или *ламеллы*, имеют более сложное и дифференцированное строение. Зачастую они образуют особые ансамбли, называемые *гранами*. *Граны* напоминают большие шары (диаметром около 0,3 мкм), скрепленные тяжами.

Хлорофилл находится в гранах, и здесь же протекают фотохимические реакции. Граны и одиночные мембраны погружены в основное содержимое хлоропласта (*строму*). В строме плавают многочисленные мелкие тельца, по своим размерам и плотности напоминающие рибо-сомы. Присутствуют в *строме* и другие структуры: крахмальные зерна, жировые капли.

Перенос электронов составляет лишь первый этап процесса фотосинтеза - «световой». Вторая часть процесса - фотосинтетическое фосфорилирование - «темновая».

То обстоятельство, что мембраны в гранах упакованы стопками, служит ключом к пониманию природы фотохимических реакций.

Итак, поглощение кванта света хлорофиллом - первый этап процесса фотосинтеза. События, которые следуют за этим этапом, можно разбить на три группы: 1 - передача поглощенной световой энергии к «активному центру», т. е. месту локализации химических реакций фотосинтеза, 2 - запасание энергии в форме макроэргических связей (АТФ) и 3 - фиксация или восстановление двуокиси углерода (СО₂) с последующим образованием углеводов - конечных продуктов фотосинтеза и первичного источника всех органических соединений. Здесь уместно еще раз отметить, что энергия как в процессе окислительного фосфорилирования в митохондриях, так и фотосинтетического фосфорилирования в хлоропластах аккумулируется в клетке в виде универсального химического соединения - АТФ.

Рибосомы

Синтез белка в клетке осуществляется благодаря наличию в ней особых

внутриклеточных органелл - рибосом - материальных носителей РНК. Рибосомы ответственны в клетке за передачу информации от ядерной ДНК к участкам синтеза белка. Локализация рибосом в клетке не имеет особого функционального значения.

В одних случаях рибосомы жестко фиксированы и «сидят» на поверхности мембран (шероховатые мембраны эндоплазматической сети), а в других, свободно «плавают» в цитоплазме. Например, бактериальные рибосомы, по всей вероятности, свободные, но тем не менее синтез белка происходит так же успешно, как и случае их расположения на мембране. Размеры рибосом сильно варьируют: в бактериальной клетке они едва достигают 150 \AA , а в некоторых клетках животных и растений превышают 200 \AA . Состав рибосом во всех клетках примерно одинаков: они содержат от 40 до 60 % РНК, а все остальное практически приходится на долю белковых молекул с молекулярной массой приблизительно $20\,000 \text{ D}$ (дальтон). В то же время молекулярная масса рибосомальной РНК очень велика $\sim 2\,000\,000 \text{ D}$. Рибосома является материальной основой для синтеза белка в клетке. После того как аминокислоты размещаются в правильном порядке, т. е. «кодируются», в соответствии с кодом данного белка, наступает черед активации специфического фермента, катализирующего образование пептидных связей, в результате чего помещенная в нужное место аминокислота соединяется с соседними аминокислотами. Затем синтезированный белок отделяется от матрицы с помощью специфического механизма и переходит к самостоятельному существованию.

Бесспорно, первичная структура белка - наиболее важная ее характеристика и последовательность аминокислот, определяющая эту структуру - главный признак белка. Однако в действительности белок имеет специфическую трехмерную конфигурацию. Эта конфигурация не является важной характеристикой, т. к. некоторые свойства белков-ферментов зависят не только и не столько от последовательности аминокислот в белке, сколько от типа свертывания белковой цепи.

Наиболее существенными силами, стабилизирующими трехмерную конфигурацию белка, являются гидрофобные связи аминокислот. Боковые связи гидрофобных аминокислот, стремясь уйти от контакта с водой, свертываются в клубок, и это придает молекуле определенную трехмерную структуру.

Какие факторы необходимы для синтеза белка? Чтобы ответить на этот вопрос, необходимо рассмотреть механизм этого процесса. Прежде всего, аминокислоты, из которых синтезируются все без исключения белки, должны быть подвержены активации - приведены в высокоэнергетическое состояние. Этот энергоемкий процесс возможен только при наличии АТФ и определенного набора ферментов.

В присутствии таких ферментов АТФ взаимодействует с определенными аминокислотами, в результате чего отщепляется неорганический фосфат и образуется аминоацетил-аденилат. На этой стадии аминокислота активируется. Следующая стадия синтеза белка связана с переносчиками активированной аминокислоты, способной «узнавать» РНК рибосомы. К рибосомам, на этом этапе, аминокислота переносится от адениловой части аминоацетиладенилата к концу определенной молекулы РНК - растворимой или транспортной РНК (тРНК). Каждой аминокислоте соответствует своя, особая, тРНК. Значительно более трудной для расшифровки оказалась следующая стадия (или стадии) синтеза белка. Известно, что белок может синтезироваться и в «бесклеточной» системе, которая содержала бы рибосомы, некоторые факторы и «меченую» аминокислоту, присоединенную к специфической тРНК. Образующийся в этой системе белок оказывается связанным с поверхностью рибосом.

Что же такое генетическая информация, которую несет в себе ДНК и которая необходима для синтеза специфического белка. Можно утверждать, что ДНК имеющая группу нуклеотидов, кодирующих определенные аминокислоты, т. е. обозначающие, что данные аминокислоты должны занять определенное место в белке в процессе его синтеза.

Иными словами, можно утверждать, что нуклеотидная последовательность ДНК служит кодом для «настройки» определенной последовательности аминокислот в белке.

В настоящее время наиболее точным и четким признан код, разработанный Уотсоном и Криком, в котором «слово» из трех букв, т. е. из трех нуклеотидов, расположенное в определенной последовательности, означает определенную аминокислоту.

При этом трехбуквенный код может кодировать любую аминокислоту. Как известно, в группу основных аминокислот, т. е. тех, из которых построены все известные на сегодняшний день белки, входят всего 20 аминокислот.

Разумеется, кроме перечисленных основных клеточных органелл - ядра, митохондрий, пластид и рибосом - клетка для полноценной жизнедеятельности нуждается во многих специальных комплексах - эндоплазматической сети, цитоскелете или различных внутриклеточных органеллах - «сомах»: диктиосомах, лизосомах, липосомах. Эти образования, будучи очень важными, зачастую выполняют специфические функции в различных типах клеток, и их деятельность в клетке не всегда носит обязательный универсальный характер.

7. Пути преобразования энергии в клетке

Основным субстратом (сырьем) для получения энергии в клетке является глюкоза. В природе глюкоза образуется главным образом в процессе фотосинтеза в зеленых растениях. Что же происходит в клетке с молекулой глюкозы? Каким образом в процессе «сгорания» этой молекулы ее энергия аккумулируется в виде молекулы аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ)?

Если сжечь глюкозу в пробирке в лабораторных условиях, то каждая ее молекула даст 690 000 калорий (или около 700 ккал) теплоты. В этом случае, ее использование будет крайне неэффективным. При расщеплении (сгорании) молекулы глюкозы в клетке в виде тепла выделяется лишь очень незначительная часть энергии. Основная же энергия, высвобождаемая в процессе окисления с последующим фосфорилированием, аккумулируется в форме макроэргических связей в молекуле АТФ в качестве единственно доступной энергии для клетки.

Макроэргическими они называются потому, что при их гидролизе высвобождается необычно большое количество энергии. К макроэргическим фосфатным связям наряду с аденозинтрифосфатом (АТФ) относятся также трифосфаты уридина (УТФ), цитидина (ЦТФ) и гуанина (ГТФ), креатинфосфат и др. Изменение энтальпии (ΔH) при гидролизе АТФ достигает, например, почти 9 000 кал/моль. Наибольшее значение среди всех макроэргических соединений имеет АТФ. В клетке АТФ выступает главным образом как фосфорилирующий агент всякий раз, когда для осуществления какой-либо реакции требуется энергия. АТФ играет роль посредника между реакциями, поставляющими энергию (*экзергоническими*), и реакциями, идущими с поглощением энергии (*эндергоническими*), поскольку АТФ способна участвовать в реакциях обоих типов. В конечном счете, именно АТФ поставляет всю энергию, расходуемую на процессы синтеза в клетке. При гликолизе, как и при окислительном или фотосинтетическом фосфорилировании образуется только АТФ.

Рассмотрим, каким же образом энергия АТФ расходуется на нужды синтеза? Как неорганический фосфат или пирофосфат переходят в свободное состояние, и вся реакция в целом, берущая начало от АТФ, идет в направлении образования фосфорилированного промежуточного продукта с последующим синтезом гликогена, белка или какого-либо другого соединения?

Окисление глюкозы в клетке начинается с серии реакций брожения, протекающих без участия кислорода - анаэробного гликолиза (путь Эмдена-Мейергофа). На определенных этапах этого пути происходит фосфорилирование глюкозы, на что затрачивается энергия. В результате реакций, протекающих с затратой 1 моля АТФ и при участии фермента гексокиназы, глюкоза расщепляется до глюкозо-1-фосфата. На образовавшийся глюкозо-1-фосфат могут действовать четыре различных фермента, т. е. превращение этого промежуточного продукта может идти по четырем альтернативным путям. Он может

расходовать на поддержание уровня глюкозы в крови, синтез гликогена в печени, образование промежуточных продуктов синтеза жиров, белков и нуклеиновых кислот и, наконец, на образование энергии (синтез АТФ). Однако классический гликолитический путь расщепления глюкозы предусматривает превращение глюкозо-1-фосфата в фруктозо-1-фосфат. Последний при затрате еще одной молекулы АТФ фосфорилируется до фруктозо-1-6-фосфата. Таким образом, первые этапы метаболического пути являются *энд-ергоническими*, т. е. идут с поглощением энергии. Затем в результате нескольких последовательных реакций из одной молекулы фруктозо-1-6-фосфата образуются две молекулы глицеринальдегид-3-фосфата. Каждая из вновь образованных молекул окисляется за счет фермента никотинамид-динуклеотида (НАД) с образованием 3-глицериновой кислоты. При этом происходит восстановление никотинамидди-нуклеотида (НАД-Н). Эта реакция, идущая в присутствии (АДФ) и неорганического фосфата, сопровождается синтезом 1 молекулы АТФ. Таким образом, на начальных этапах окисления глюкозы, протекающих пока еще вне митохондрий, происходит фосфорилирование.

Все перечисленные выше реакции катализируются немитохондриальными ферментами. На этих этапах гликолиза две молекулы АТФ потребляются, но взамен образуются также две молекулы. Следовательно, энергетический баланс системы (клетки) остается неизменным.

Окисление

Все дальнейшие этапы превращения (окисления) химических соединений протекают в митохондриях.

Восстановленный никотинамиддинуклеотид (НАД-Н), образовавшийся из глицеральдегид-3-фосфата окисляется в цепи переноса электронов, встроенной в «архитектуру» внутренних митохондриальных мембран, с синтезом еще трех молекул АТФ. Происходит это с одновременным образованием двух молекул пировиноградной кислоты. С этого момента внутри митохондриального матрикса протекает последовательная цепь превращений, известная как цикл трикарбоновых кислот или цикл Кребса, названный по имени ученого, открывшего этот цикл реакций. Ключевой исходный продукт этого цикла - пировиноградная кислота, окисляясь с помощью НАД, дает в конечном счете три молекулы АТФ. Образовавшиеся при этом двууглеродные соединения в форме ацетил-кофермента А вступают в реакции конденсации с реакцией лимонной кислоты. Затем следует еще одна реакция - окисление изолимонной кислоты до щавелевоуксусной за счет того же НАД. Следующий этап - окисление α -кетоглутаровой кислоты до сукцинат-кофермента А, а затем до янтарной кислоты, приводящее к синтезу еще одной молекулы АТФ. Образовавшийся при этом НАД-Н, снова окисляясь в цепи переноса электронов, дает еще три молекулы АТФ. Конечными продуктами цикла трикарбоновых кислот являются двуокись углерода (CO_2) и вода.

В общей сложности, при окислении пировиноградной кислоты через цикл Кребса с помощью ферментного комплекса, сосредоточенного в митохондриях, до CO_2 и H_2O , синтезируется 19 молекул АТФ. Но поскольку из каждой молекулы глюкозы образуются 2 молекулы пировиноградной кислоты, общий (суммарный) выход АТФ в реакциях гликолиза и окислительного фосфорилирования составляет 38 молекул. Как же было сказано выше, АТФ - макроэргическое соединение, содержащее большое количество потенциальной энергии.

При гидролизе АТФ на каждый моль отщепленного концевой фосфата высвобождается около 10 000 калорий (10 ккал). Большая часть высвобождаемой энергии при расщеплении молекулы глюкозы или какого-либо другого соединения приходится на последние этапы метаболизма, связанные с окислением промежуточных продуктов в цикле трикарбоновых кислот. В ходе этого процесса запасается больше половины (около 55 %) всей энергии клетки.

Таким образом, КПД этого процесса очень велик. Можно, по-видимому, утверждать, что около 90 % всей энергии, извлекаемой из питательных веществ, высвобождается в процессе переноса электронов в окислительной цепи - внутри митохондрии.

Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) служит ключевым процессом не только окисления углеводов, но и жиров. Известно, что α -кетоглутаровая, щавелево-уксусная и пировиноградная кислоты могут легко образовываться из аминокислот: глутаминовой, аспарагиновой и аланиновой. Отсюда следует, что цикл трикарбоновых кислот служит, по-видимому, также и для окисления некоторых промежуточных продуктов белкового обмена. Таким образом, окисление углеродных атомов большинства поглощенных клеткой субстратов (органических соединений) осуществляется именно в цикле трикарбоновых кислот. Сказанное относится ко всем типам клеток: растительным, животным, дрожжевым и бактериальным.

Цикл трикарбоновых кислот - основной путь окисления субстратов в клетке - представляет собой цепь последовательных биохимических превращений, осуществляемых с помощью специфического ферментного комплекса, пространственно распределенного, главным образом, в митохондриях.

Фотосинтез

Процесс фотосинтеза можно четко разделить на две последовательные стадии: «световую» или фотохимическую и «темновую», или биохимическую. Чтобы охарактеризовать последовательность фотохимических реакций в энергетическом плане, нужно знать, что электроны в цепи переноса «перекачиваются» из области с низким потенциалом (кислородный электрод) в область с высоким потенциалом (водородный электрод).

Разность потенциалов при этом составляет 1, 2 Вт. Процесс фотосинтеза, точнее, его световая (фотохимическая) стадия, представляет собой «двухквантовую систему усиления», т. е. электрон передается на более высокий уровень посредством двух последовательных толчков. Как известно, при фотосинтезе происходит разложение (фотокатализ) воды на кислород и водород. Свободный кислород выделяется в атмосферу, а водород моментально восстанавливается в результате связывания с никотинамидом до НАД-Н. Это соединение составляет основу электронпереносящего комплекса - *фотосинтетической единицы*. Фотосинтетическую единицу можно представить как своего рода «молекулярную линзу», фокусирующую энергию, которая поступает «широким потоком» от всей массы хлорофилла, и направляющую ее «ловушкам», встроенным в систему переноса электронов.

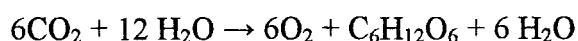
Пигментная система фотосинтетического аппарата состоит из двух хлорофиллов «а» и «b». Хлорофилл «а» поглощает дальний красный свет 700 мкм, а хлорофилл «b» ближний - 650 мкм. Считается, что механизм синтеза АТФ в цепи переноса электронов в хлоропластах сходен с таковым в митохондриях. Однако в отличие от окислительного фосфорилирования в митохондриях при фотосинтезе в хлоропластах имеет место так называемое циклическое фосфорилирование.

Если добавить к системе какой-либо экзогенный акцептор электронов, то электроны будут циркулировать по цепи переноса за счет квантов световой энергии. При этом будет непрерывно генерироваться АТФ. Такой процесс имеет место только в растительной клетке и обеспечивает потребность клетки в энергии от 50 до 100 % в зависимости от типа клеток.

Разложение воды, в котором принимает участие хлорофилл, называется реакцией Хилла. При фотосинтезе на каждую молекулу выделенного O_2 или на каждую молекулу восстановленного CO_2 ; потребляется восемь квантов световой энергии, при этом образуются две молекулы НАДФ-Н. Эффективность этого процесса или его КПД составляет 25 %. Кроме того, в процессе переноса электрона синтезируются молекулы АТФ и запасается энергия. Итак, только два соединения, НАДФ-Н и АТФ образуются в световых реакциях, и только они требуются для восстановления CO_2 ; и образования промежуточного продукта

СН₂О.

Перенос электронов, это только часть процесса фотосинтеза, которая связана со световыми реакциями. Вторая часть - «темновые» реакции, не зависит от света. На этой стадии атмосферный кислород восстанавливается до двуокиси углерода и, наконец, до углеводов. В суммарном виде эта реакция известна как конечный результат фотосинтеза:



При этом на каждую молекулу синтезированного углевода запасается 672 000 кал или 700 ккал. Разумеется, синтез молекулы углевода это многоступенчатый процесс.

Было показано, что в мембранной системе хлоропласта сосредоточены реакции световой стадии фотосинтеза, а «темновые» реакции протекают в строме хлоропласта. Следует отметить, что интенсивность образования энергии при фотосинтетическом фосфорилировании в хлоропластах в 10-15 раз превышает интенсивность образования энергии при окислительном фосфорилировании в митохондриях. Происходит это как за счет более четкой организации реакций в хлоропластах по сравнению с митохондриями, так и большей площади мембранной системы хлоропластов.

Биосинтез

Расходуя питательные вещества для получения энергии, клетки в то же самое время непрерывно создают новый биоматериал. Вещества в клетке создаются и разрушаются одновременно благодаря наличию различных метаболических путей. Метаболические пути - это сложная сеть разветвленных и взаимозависимых последовательно осуществляемых биохимических превращений в клетке. Единственная функция наиболее активных метаболических путей состоит в обеспечении клетки энергией. Однако для синтеза необходима АТФ как источник энергии. Кроме того, например, при окислении жирных кислот в качестве одного из окислителей требуется никотинамид-динуклеотид (НАД), который при этом восстанавливается и превращается в НАД-Н. В других процессах биосинтеза часто участвует родственник переносчик водорода никотинамид - дифосфопиридиннуклеотид восстановленный (НАДФ-Н). Ситуация, наблюдаемая в биосинтезе жирных кислот, типична и для метаболизма других соединений. Реакции синтеза напоминают последовательности катаболических реакций, протекающих в обратном направлении.

Определенные, принципиальные различия между реакциями синтеза и распада очевидны и связаны в первую очередь с потребностью в энергии и механизмами контроля. Для фотосинтетического восстановления СО₂ требуется также АТФ, генерирование которой осуществляется в результате обратного транспорта некоторых электронов по цепи переноса электронов в мембранах хлоропластов.

Генерирование АТФ при фотосинтетическом фосфорилировании, несомненно, протекает тем же путем, как и в цепи переноса электронов в митохондриях. Электроны, высвобождающиеся из хлорофилла в реакции, индуцированной светом, расходуются (в зеленых растениях) на расщепление воды с выделением кислорода (О₂) и генерированием ионов водорода (Н) и электронов. Другие аминокислоты, а также пурины и прочие соединения, необходимые для построения клеток, образуются в метаболических путях, большая часть которых берет начало от некоторых соединений, показанных на том же рисунке. Фактически биосинтез всегда зависит от наличия энергии, высвобождающейся при расщеплении АТФ. Во многих случаях требуется наличие одного из переносчиков водорода в восстановленной форме. При обсуждении путей преобразования энергии в клетке возникают следующие вопросы: 1) какие существуют возможности у живой клетки, чтобы связать реакции, производящие энергию, с реакциями, потребляющими энергию? 2) насколько эффективно использование свободной энтальпии при сопряженных реакциях?

Точный ответ на вопрос об эффективности биохимических сопряженных реакций дать

не всегда легко. Известные для расчета термодинамические величины, которые применяются в большинстве случаев в качестве стандартных, в живой клетке могут благодаря существующим условиям (концентрации и растворимости) в действительности существенно отличаться от используемых в конкретных вычислениях. Что же касается вопроса о степени сопряженности реакций, то на него также можно ответить лишь приблизительно, так как этот показатель целиком и полностью зависит от равновесия между реакциями синтеза, потребляющими энергию, и реакциями распада, поставляющими энергию.

8. Хранение и передача информации в клетке

До сих пор мы говорили о процессах превращения энергии в клетке, происходящих в цитоплазме. Обратимся теперь к проблеме хранения и передачи информации - второй, но не менее важной «ипостаси» клетки. Остановимся лишь на принципиальных моментах данного вопроса и рассмотрим наиболее фундаментальные проблемы, возникающие в связи с генетической «непрерывностью» и эволюцией живых организмов.

Какова молекулярная природа генетического материала и его функциональных элементов - хромосом, генов, кодирующих знаков? Как достигается высокая точность воспроизведения генетической информации? Каким образом генетическая информация считывается и используется в клетке? Какие методы сыграли решающую роль в изучении генетических структур в клетке?

Из классической генетики известны два понятия - генотип и фенотип. Первый отражает наследственную совокупность структур и процессов, сосредоточенных в клетке, а второй - внешние проявления генотипических признаков организма в целом. Носителями наследственных свойств являются гены - молекулярные комплексы, участвующие в воспроизведении, хранении и передаче наследственной информации.

Фенотип проявляется как результат взаимодействия наследственного аппарата и окружающей среды.

Классическая генетика не могла дать ответ на вопрос о химической природе наследственного материала; она также не была в состоянии объяснить связь между генотипом, с одной стороны, и внешними признаками организма фенотипом, с другой. Для этого необходимы были совместные усилия представителей ряда естественных наук.

Прогресс в области генетики существенно ускорился благодаря использованию мутагенов (т. е. химических и физических агентов, повышающих частоту мутаций), а также переходу к исследованию организмов с очень коротким жизненным циклом - бактерий и вирусов. Но ключевыми достижениями, с которых, собственно, и началось слияние генетики и биохимии, оказались предположение о существовании принципа «один ген - один фермент», известного как гипотеза Бидла и Татума, и открытие Эвери, согласно которому генетическая информация содержится в молекуле ДНК.

По представлениям классической генетики, наследственный материал характеризуется следующими свойствами: локализуется преимущественно в хромосомах, обладает способностью к реализации признаков, способен реплицироваться (удваиваться), подвержен мутациям (изменениям) и вместе с тем обнаруживает высокую степень стабильности по сравнению с другими компонентами клетки.

Имеется ли в природе вещество, которое удовлетворяет этим требованиям и которое можно рассматривать как «материальный носитель наследственности»? Со временем были получены убедительные доказательства, что таким веществом является ДНК.

Открытие дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) датируется 1869 г., когда Ф. Мишер выделил новое химическое соединение из лейкоцитов, а затем и из сперматозоидов. Спустя некоторое время выяснилось, что ДНК содержится во всех без исключения клетках растений и животных. По мере развития новых методов исследования была выяснена как молекулярная организация ДНК, так и ее основные функциональные характеристики.

Вещество ДНК должно обладать двумя свойствами, или функциями: во-первых,

содержать информацию, определяющую программу развития клетки, и, во-вторых, обладать способностью воспроизводиться в точных копиях для того, чтобы эта информация могла быть передана будущим поколениям клеток. Обе эти функции ДНК определяются ее нуклеотидной последовательностью; в одном случае ДНК выступает как матрица для точного воспроизведения своей собственной нуклеотидной последовательности, в другом - служит матрицей для синтеза информационной РНК (рибонуклеиновой кислоты), которая в свою очередь обуславливает синтез специфических клеточных белков.

Количество ДНК постоянно, т. е. во всех клетках животного или растения определенного вида количество этого вещества, приходящегося на один набор хромосом одинаково, причем в соматических клетках количество ДНК в два раза больше чем в половых. Можно пойти еще дальше и сказать, что количество ДНК в отдельной хромосоме также постоянно и характерно для данного вида животного или растения. Другая важная характеристика ДНК - ее метаболическая стабильность. В настоящее время считается доказанным, что ДНК, содержащаяся в хромосоме, будучи однажды синтезированной, более уже не распадается до конца жизни клетки или организма. Она стабильна, и эта ее особенность как раз то, чего, собственно, и следует ожидать от молекулы, несущей информацию о свойствах клетки.

Еще до того как были разработаны количественные хроматографические методы, полагали, что четыре основания, обычно обнаруживаемые в ДНК: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц), и тимин (Т), содержатся в ней в равных (эквимоллярных) количествах. Экспериментальные исследования, выполненные позже, подтвердили это предположение и дали основание, что для молекул ДНК характерна структурная организация, совместимая со строго определенными соотношениями числа различных оснований.

Еще раньше были высказаны предположения, что ДНК имеет весьма специфическую трехмерную структуру, о чем свидетельствовала высокая вязкость растворов ДНК. Это предположение было подтверждено работами при исследовании препаратов высокоочищенной ДНК методом рентгенструктурного анализа.

Важнейшим событием, обусловившим развитие молекулярной генетики, было применение рентгенструктурного анализа для выяснения трехмерной структуры ДНК. В 1953 г. Уотсоном и Криком была выдвинута гипотеза о том, что ДНК имеет двухспиральную структуру, которая позволяла предложить довольно простой механизм точного переноса генетической информации от родительских клеток к дочерним клеткам. Гипотеза Уотсона - Крика позволила сформулировать общий принцип *{центральный постулат* - по обозначению самих авторов) молекулярной генетики: **поток информации направлен от ДНК через РНК к белку (ДНК → РНК → белок)**. Согласно модели Уотсона-Крика, молекула ДНК состоит из двух правозакрученных полинуклеотидных спиралей, имеющих общую ось и образующих двойную спираль. Структура двойной спирали такова, что две полинуклеотидные цепи могут быть разделены только в результате раскручивания спиралей; спирализация такого типа называется *плектонометической*. Пуриновые и пиримидиновые основания нуклеотидов в молекуле ДНК обращены внутрь двойной спирали и расположены «стопкой», причем плоскости оснований параллельны друг другу и перпендикулярны к длинной оси спирали.

Генетический код

Модель Уотсона - Крика позволяет объяснить механизм точного воспроизведения (репликации) генетической информации. Поскольку вследствие комплементарности двух цепей последовательность оснований в одной из цепей однозначно определяет последовательность оснований в другой цепи, было постулировано, что репликация ДНК в клетке происходит в результате разделения двух цепей и последующего синтеза двух новых (дочерних) цепей на старых (родительских) цепях как на матрицах. В результате образуются две дочерние двуспиральные молекулы ДНК, идентичные родительской молекуле и содержащие по одной цепи из родительской молекулы. Этот механизм

репликации ДНК получил название *полуконсервативного*. На рис. 5 приведены фотография модели и схема и строения ДНК.

Несмотря на то, что прямые экспериментальные доказательства антипараллельности двух цепей ДНК и полуконсервативного характера описанного выше процесса репликации были получены лишь через несколько лет после опубликования гипотезы Уотсона-Крика, она сразу же определила направление экспериментальных исследований молекулярных аспектов переноса генетической информации.

За время, прошедшее с момента открытия двойной спирали ДНК, был исследован ряд характерных физико-химических свойств ее структуры: молекулярная масса, вязкость, скорость седиментации, температура плавления, параметры и стадии денатурации и др.

Двухспиральная (двухцепочечная) структура ДНК подтверждается многочисленными данными самого различного характера. В частности, длина «нативной» (двухцепочечной) молекулы с молекулярной массой, может быть измерена очень точно при помощи метода электронной микроскопии. В этом случае, наблюдаемая длина отдельных молекул ДНК хорошо совпадает с длиной, вычисленной на основе двухспиральной модели исходя из их молекулярного веса.

Согласно центральному постулату, имеется три основных процесса, участвующих в хранении и передаче генетической информации: 1) *репликация* - копирование (удвоение) ДНК с образованием идентичных дочерних молекул;

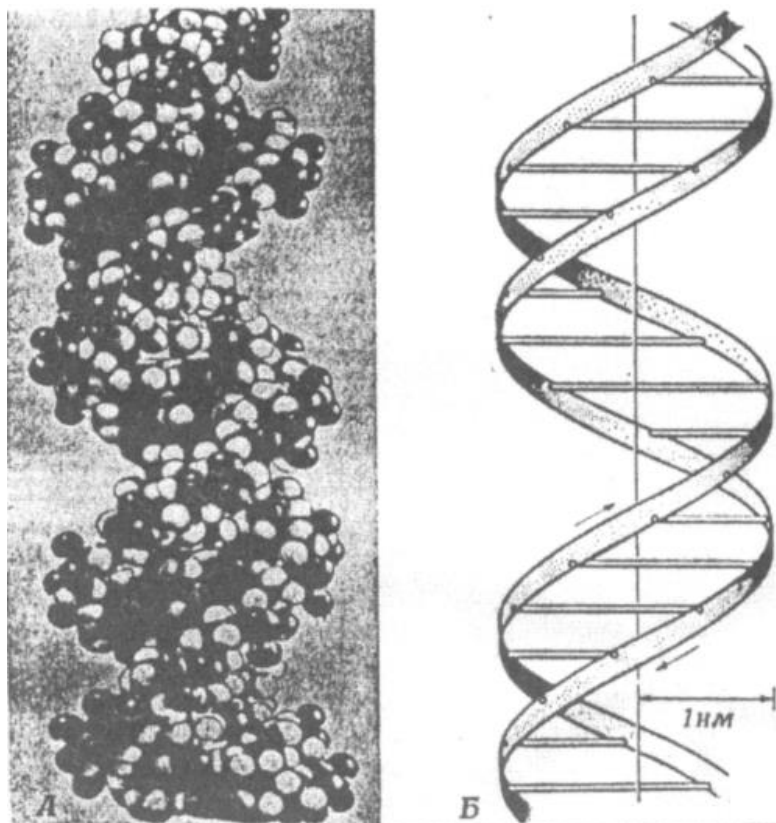


Рис. 5. Фотография модели ДНК (А) и схема ее структуры (Б)

2) *транскрипция* - считывание, в результате которого генетическая информация, заключенная в ДНК, «переписывается» на РНК с последующим переносом РНК к рибосомам; 3) *трансляция* - перенос информации на «язык» белковой структуры, в котором используется двадцатibuквенный «алфавит».

Хотя основные механизмы репликации, транскрипции и трансляции, по-видимому, универсальны, для эукариотических организмов характерны многочисленные усложнения и отклонения от общей «схемы», ибо эукариоты содержат значительно больше генетической информации, чем прокариоты. Причем эта информация распределена между

несколькими или многими хромосомами. Таким образом, у эукариотов каждый ген существует в двух формах, или *аллелях*, одна из которых в генетическом отношении доминантна (устойчиво сохраняется), другая рецессивна (постепенно исчезает).

Центральный постулат подтверждается не только информационной (матричной) РНК, переносящей генетическую информацию от ДНК к рибосомам (внутриклеточным органеллам, где происходит синтез белка), но также данными, согласно которым наблюдается линейное соответствие между последовательностью нуклеотидов в гене и последовательностью аминокислот в соответствующем белке. Одно из наиболее значительных достижений современной науки - расшифровка генетического кода, т. е. составление «словаря», в котором каждому тринуклеотидному «словарю» (триплету) соответствует определенная аминокислота.

Большинство наиболее важных исследований молекулярных основ переноса генетической информации было выполнено на прокариотических организмах, главным образом на бактериях и вирусах. Объясняется это тем, что генетический аппарат прокариот гораздо проще организован по сравнению с эукариотической клеткой, содержит только одну хромосому, представляющую собой единственную молекулу двухцепочечной ДНК. Клетки прокариотов на протяжении всего жизненного цикла находятся в гаплоидном состоянии (имеют одинарный набор хромосом).

Поэтому при изучении генетики бактерий удается избежать осложнений, связанных с явлениями доминантности и рецессивности, характерными для диплоидных (имеющих двойной набор хромосом) эукариотических организмов. Еще более простой объект для генетических исследований - хромосома вируса, содержащая от трех до двухсот генов (в зависимости от типа вируса). Именно сравнительная простота «устройства» вирусов и бактерий, а также эффективность и быстрота генетических экспериментов с этими организмами позволили расшифровать (в некоторых случаях - до мельчайших деталей) основные молекулярные механизмы, ответственные за перенос генетической информации в прокариотической клетке.

Есть веские основания полагать, что обнаруженные у прокариотов механизмы воспроизведения и передачи генетической информации имеют универсальный характер, т. е. характерны для всех клеток. Однако клетки эукариотов, как известно, резко отличаются от бактериальных клеток по размерам, степени сложности, способности к дифференцировке и эволюции. Эукариотические организмы размножаются путем половой конъюгации, в результате которой гены обоих родителей обмениваются и включаются в геном потомства в процессе *рекомбинации*. Кроме того, известно, что клетки эукариотов содержат ДНК не только в ядре, но и в других цитоплазматических структурах: пластидах и митохондриях.

Все это дает основание считать, что наиболее удобным и подходящим объектом исследования в молекулярной генетике является бактериальная клетка. Вместе с тем в области молекулярной генетики наиболее важные открытия стали возможными благодаря использованию физических и химических методов: рентгенструктурного и хроматографического анализа.

В частности, благодаря усовершенствованию хроматографических методов был установлен аминокислотный состав и расшифрована последовательность аминокислотных остатков в молекулах многих белков. Применение метода рентгенструктурного анализа дало возможность сформулировать концепцию, согласно которой белковая молекула каждого типа имеет специфическую, строго определенную структуру (конформацию), соответствующую ее функциям. Более того, как уже было сказано выше, именно с помощью рентгенструктурного анализа впервые была выявлена трехмерная структура ДНК.

Теперь, когда центральный постулат молекулярной генетики полностью подтвержден, может показаться, что самая важная часть исследований, направленных на выяснение центральной «загадки жизни», уже проделана. Это и есть основы молекулярной биологии. Но такое заключение было бы неверным. Ибо в науке обычно бывает так, что стоит открыть

одну дверь, и за ней оказывается другая (или другие!), а ряд этих дверей в молекулярной биологии практически бесконечен, как и в любой другой области науки.

До сих пор приведенные данные о механизмах воспроизведения и передачи информации касались лишь генетических аспектов жизнедеятельности клетки.

Наряду с системами генетической информации, управляющими процессами репликации и синтеза структурных компонентов, существуют системы внутриклеточной сигнализации и межклеточных контактов, которые играют ключевую роль в жизнедеятельности клетки. Эти системы выполняют функции передачи сигнала от внешней мембраны клетки к внутриклеточным структурам, или от клетки к соседним клеткам в ответ на изменение параметров среды.

Система внутриклеточной сигнализации

По современным данным система внутриклеточной сигнализации представляет собой комплекс веществ белковой природы, ионов кальция Са и протона водорода (H). Основную роль в передаче сигналов во внутриклеточном пространстве играют системы **G-белков** и ионы **Са**.

Под термином «С-белки» понимают семейство гетеродимерных белков, связанных с АТФ и непосредственно взаимодействующих с рецепторами. Рецепторы подразделяются на два типа: связанные с G-белками и связанные с ферментами – тирозинкиназами. Механизмы передачи сигнала от рецепторов через G-белки и через тирозинкиназы различны, но не альтернативны. Некоторые агенты (внешние или внутренние факторы) могут действовать через обе системы синергично (усиливая суммарный эффект) и одновременно.

Увеличение активности тирозинкиназы при воздействии различного рода физических или химических агентов в клетке было давно известно. Однако сами мишени до последнего времени оставались не установленными. В последнее время некоторые из них идентифицированы. В основном это белки, обладающие регуляторной функцией; такие как фосфатидил-инозит-киназа, серин-треонин киназа, фосфоинозид-фосфо-рилаза. Возможно, именно они играют ключевую роль в передаче сигнала от рецептора во внутриклеточный континуум. По-видимому, некоторые киназы могут служить субстратом для рецептор – активируемой тирокиназы.

Однако отмеченные нами ферменты-киназы активируются еще и G-белками и являются, таким образом, объектами синергического действия двух типов активируемых рецепторов.

Одновременно в клетке, на поверхности плазматической мембраны, локализованы рецепторы, связанные только с G-белками. Через эти рецепторы действуют многие гормоны. Недавно удалось выделить некоторые гены, кодирующие эти рецепторы.

Предполагается, что связывание такого рецептора с лигандом (воспринимающей субстанцией) индуцирует в белке обмен ГДФ на ГТФ (гуанозиндифосфат на гуанозинтрифосфат), повышая тем самым свободную энергию системы.

Вся система сигналов, хотя и весьма сложная, срабатывает за несколько минут после связывания с нею на поверхности клетки соответствующего лиганда. Результатом этого события является активация «ранних» генов, реагирующих на стимуляцию клетки. Ферменты, активируемые рецепторами, катализируют реакции, дающие начало соединениям, называемым вторичными «мессенджерами» (посредниками). Реакция носит быстротечный, последовательно каскадный характер.

Одним из основных вторичных мессенджеров является циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). Было показано, что при увеличении концентрации цАМФ происходит снижение пролиферативной активности клетки.

Другим вторичным мессенджером в системе внутриклеточной сигнализации служит Са. Химически – это простой и, возможно, наиболее универсальный мессенджер. Было установлено, что взаимодействие рецептор-гормон или деполяризация мембраны клетки ведет к увеличению содержания Са⁺⁺, либо цАМФ. Таким образом, было обнаружено

наличие взаимосвязи между генерацией цАМФ и Ca^{++} , что само по себе свидетельствует о сложности системы внутриклеточной сигнализации.

Еще одним ионом, который выполняет в клетке функцию вторичного мессенджера, является протон водорода (H^+). Его сигнальная роль в клетке менее изучена, чем роль Ca^{++} . Гомеостаз протонов в клетке поддерживается системой антипортеров, главным образом, Na^+/H^+ антипортер. Таким образом, очевидно, что концентрация протона (рН), другими словами значение рН, является существенным фактором для успешного функционирования систем передачи информации как внутри клетки, так и вне ее.

В последнее время выявлен ряд существенных стадий каскада реакций в клетке, который начинается со связывания фактора на поверхности клеточной мембраны рецептором и заканчивается активацией синтеза ДНК в ядре.

Межклеточные взаимодействия. Главным условием функционирования многоклеточных организмов является координация работы всех их клеток, как в составе ткани, так и отдельного органа или организма в целом. Для большинства клеток существуют две основные формы межклеточных взаимодействий (МВ), которые хотя и имеют разный функциональный смысл, но естественным образом дополняют друг друга в обмене информацией между клетками.

Первая форма МВ, преимущественно межтканевая, не требующая прямого контакта между клетками (дистантное взаимодействие), осуществляется с помощью гуморальных факторов (гормонов или иных активных биохимических веществ) и обеспечивается *лиганд-рецепторным механизмом*. *Лиганд-рецепторные* взаимодействия являются односторонними – информация передается в одном направлении от клетки-донора к клетке-мишени, и сигнальными – события, происходящие в клетке-мишени, определяются механизмами только самой этой клетки.

Кроме того, система *лиганд-рецепторных* взаимодействий не осуществляет пространственную или позиционную информацию в широком смысле этого слова, т.к. «функциональными соседями» клетки-донора являются не ее геометрические соседи, а только клетки, «компетентные» к действию данного *лиганда*, независимо от их месторасположения.

Этот способ передачи информации обслуживает широкий круг важных физиологических процессов, таких, как гормональная регуляция, взаимодействие нервных клеток на основе химических синапсов, регуляция пролиферативной активности клеток с помощью стимуляторов роста, участие различных морфогенов в процессах эмбриогенеза. Факторы, локализованные вне клетки посредством которых осуществляется данный тип межклеточных взаимодействий (гормоны, факторы роста, нейромедиаторы, морфогены), сравнительно легко поддаются идентификации. К настоящему времени выяснены многие тонкие механизмы процессов «дистантного» межклеточного взаимодействия.

Вторая форма межклеточных взаимодействий, преимущественно внутритканевая, осуществляется на локальном уровне при непосредственном контакте соседних клеток друг с другом. Существенная роль такого взаимодействия для регуляции роста и поведения клеток была показана еще в начале XX столетия при изучении процессов регенерации, морфогенеза и дифференцировки, а позднее при выяснении феномена торможения процессов роста и движения клеток в культуре (*in vitro*).

В середине 1950-х годов был выявлен принципиально новый механизм локальных контактов для передачи информации – взаимодействие при помощи высокопроницаемых межклеточных контактов (ВПК), т.е. существование каналов для прямой диффузии веществ между клетками. Так, например, при изучении проводящей системы сердечной мышцы, центральной нервной системы, было показано, что многие возбудимые ткани, благодаря наличию в них ВПК, представляют собой непрерывные информационно связанные среды. Было доказано, что ВПК является главным элементом в системе организации кооперативного поведения клеток. Существование между клетками каналов информации,

отличных от нервной и гормональной систем, изменило наши представления о функциональной модели ткани.

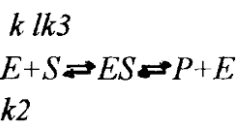
Главными свойствами, отличающими систему регуляции на основе ВПК от *лиганд-рецепторной* системы и в тоже время дополняющую последнюю являются: а) возможность осуществлять не только сигнальные функции, но и передавать непосредственно от клетки к клетке строительный и энергетический материалы, б) совпадение функционального и геометрического соседа, что позволяет передавать пространственную или позиционную информацию, в) двустороннее (симметричное) влияние клеток друг на друга.

К настоящему времени убедительно доказано, что осуществление межклеточных взаимодействий через систему высокопроницаемых контактов (ВПК) является фундаментальным свойством всех живых систем.

9. Химические реакции в клетке и механизмы их регуляции

Феномен функционирования клетки состоит в том, что все процессы, протекающие одновременно в ее микроскопическом объеме, взаимно согласованы и осуществляются благодаря наличию в клетке функционального аппарата, представляющего собой различные варианты многочисленных фермент-субстратных комплексов. Все ферменты являются белками. Большинство из них представляют собой растворимые глобулярные белки.

Рассмотрим условия, необходимые для протекания химических реакций в клетке. Каждая химическая реакция должна быть, прежде всего, термодинамически возможной, а именно реакция будет происходить только тогда, когда конечные продукты по своему энергосодержанию меньше, или, по крайней мере, равны исходным веществам. Однако даже при соблюдении этих условий, т.е. при существенном различии в энергосодержании исходных компонентов и конечных продуктов, реакция может не идти, так как для ее начала необходимо преодолеть энергетический барьер. Энергия, необходимая для запуска химической реакции, без которой реакция не начинается, несмотря на ее термодинамическую вероятность, называется энергией активации. Вещества, способные снижать энергию активации в химических реакциях, называются катализаторами. Только немногие молекулы обладают запасом энергии, обеспечивающей такую скорость движения, которая необходима для запуска химической реакции. Когда мы говорим, что катализатор снижает энергию активации, это означает, что реакционно-способных молекул в системе в присутствии катализатора находится больше, чем без него. Это ведет к увеличению скорости реакции.



Роль биологических катализаторов выполняют ферменты. Каким образом фермент вызывает уменьшение энергии активации? Решающим моментом здесь является то, что фермент соединяется с субстратом и образует фермент-субстратный комплекс. Это приводит одновременно к активированию субстрата и повышению его реакционной способности. Фермент-субстратные комплексы – короткоживущие соединения. Ферменты высоко специфичны. Изучение специфичности ферментов привело к созданию **теории замка и ключа**, согласно которой для протекания любой ферментативной реакции необходимо точное структурное соответствие между субстратом и активным центром фермента. Считается, что если фермент это «замок», а субстрат – «ключ», то введение ключа в замок индуцирует конформационные изменения в молекуле белка-фермента. Под субстратом понимаются химические соединения, представляющие собой тот или иной промежуточный комплекс метаболизма клетки. Вместе с тем ферменты зачастую катализируют реакции с участием двух, трех и даже большего числа субстратов и приводящие к образованию двух, трех и большего числа продуктов. В этих случаях все молекулы

субстрата должны быть одновременно связаны с активным центром фермента и располагаться таким образом, чтобы быть способными реагировать с активным центром в определенной последовательности. В общем виде ферментативные реакции могут быть записаны следующим образом:

Фермент E связывается с субстратом S в обратимой реакции (константы скоростей k_1 и k_2) с образованием фермент-субстратного комплекса ES . Последний распадается в реакции с константой скоростей k_3 на фермент и продукт реакции. Впервые представление о возникновении короткоживущих комплексов было развито в теории Михаэлиса – Ментена.

Процессы регуляции в клетке осуществляются на двух уровнях: биохимическом и генетическом. Под биохимическим уровнем регуляции подразумевается контроль степени активности фермента, тогда как контроль количества синтезируемого фермента осуществляется на генетическом уровне. Регуляция первого типа, т.е. контроль степени ферментативной активности, осуществляемый за счет механизмов, действующих непосредственно на фермент, обеспечивает более быструю и чувствительную корректировку направления и интенсивности метаболических процессов в клетке, чем регуляция второго типа, основанная на генетических механизмах, способных изменять количество синтезируемого в клетке фермента.

Следует учесть и тот факт, что ферменты при объединении друг с другом образуют метаболические ансамбли или комплексы (такие, как цепь переноса электронов у эукариотов), пространственно локализующиеся на мембранах митохондрий и хлоропластов. Эти сложные комплексы представляют собой еще одну вероятную точку приложения регуляторных воздействий.

Регуляция на ферментном уровне. О наличии координации клеточной активности на ферментном уровне свидетельствует и тот факт, что клетка лишь в редких случаях синтезирует или разрушает больше веществ, чем ей необходимо при нормальном функционировании (росте, делении). Другое доказательство существования координации – это способность клетки к сохранению гомеостаза. Природа данного феномена будет раскрыта нами ниже. Кроме того, нормально функционирующая клетка проявляет способность к репарации и регенерации поврежденных участков в результате действия неблагоприятных факторов, например ДНК, РНК и рибосом.

В регуляции ферментативной активности важную роль играет сама структура фермента. Скорость ферментативной реакции определяется количеством активных молекул фермента и характером кинетической реакции. Первое условие связано с работой аппарата, ответственного за синтез фермента – от упомянутой выше триады ДНК, РНК, рибосомы. Второе условие зависит от субстратов, наличия или отсутствия кофакторов, а также активаторов и ингибиторов. Субстраты и продукты жизнедеятельности клетки оказывают заметное влияние на скорость ферментативных реакций.

С увеличением концентрации субстратов возрастает и их активность. В то же время увеличение концентрации продуктов реакции приводит к замедлению скорости и, следовательно, к понижению интенсивности их образования в клетке.

В большинстве реакций, протекающих в определенной последовательности, продукт одной реакции может служить субстратом для следующего этапа и связывается уже с другим ферментом. Часто обнаруживается, что в какой-либо последовательности ферментативной реакции, например $A \rightarrow B \rightarrow D$, продукт реакции $C \rightarrow D$ ингибирует (подавляет) реакцию $A \rightarrow B$. Это означает наличие механизма обратной связи, а именно, когда концентрация продукта "D" достигает определенного уровня, реакция прекращается. Такая координация по типу обратной связи называется аллостерическим взаимодействием, а тип ферментативной реакции – аллостерическим.

Другой аспект ингибирования по типу обратной связи хорошо иллюстрируется синтезом трех аминокислот – лизина, треонина и метионина в бактериальной клетке (эффект Стэдмена). Эти три аминокислоты синтезируются из одного общего предшественника –

аспарагиновой кислоты. Показано, что треонин и лизин ингибируют активность первого фермента в цепи реакций, т.е. аспартаткиназу. Однако избыточное количество одного из двух продуктов реакции (лизина или треонина) может затормозить синтез обоих. Эта дилемма неспецифического ингибирования, очевидно, решается клеткой благодаря наличию двух различных модификаций фермента аспартаткиназы: один из них, вероятно, аллостерически ингибируется избыточным количеством лизина, а другой – треонина.

Совершенно иной принцип регуляции вытекает из того факта, что одно и то же вещество может быть субстратом для нескольких ферментов. Две последовательно идущие реакции могут в какой-либо точке пересекаться: в этом случае направление, по которому в дальнейшем пойдет процесс, будет определяться относительными скоростями самых медленных «ключевых» реакций. Любое ускорение «ключевой» реакции будет ускорять всю данную цепь реакций.

Если сродство субстрата к какому-либо одному ферменту выше, чем к другому, то это тоже должно влиять на направление метаболизма, ибо при низкой концентрации субстрат будет реагировать только с тем ферментом, к которому сродство больше. При повышении концентрации субстрат начинает реагировать с другим ферментом, к которому сродство выше.

Еще один тип регуляции для аналогичного случая: если данный субстрат сопряжен за счет ферментативной реакции с каким-либо другим веществом и если это вещество присутствует в клетке в высокой концентрации, то субстрат будет поглощен этим веществом.

Имеется и много других возможных путей регуляции. Ясно одно – на скорость ферментативной реакции по мере ее развития могут влиять любые растворимые клеточные компоненты: субстраты и продукты. В опытах с культурами клеток *in vitro* показано, что большая часть этих теоретических возможностей реализуется.

Показано, что дыхание, сопряженное с фосфорилированием, регулируется таким образом, чтобы обеспечить клетку достаточным количеством АТФ. Доказано также, что такие коферменты, как НАД и НАДФ встречаются в клетке в больших количествах по сравнению с числом ферментативных реакций, в которых они участвуют. Это наводит на мысль, что концентрация этих веществ, а также форма, в которой они присутствуют (восстановленная или окисленная), могут определить направление метаболизма при наличии нескольких альтернативных путей.

Известно также, что для синтеза жирных кислот и стероидов необходимо наличие в клетке НАД и НАДФ. Отсюда, степень восстановленности этих коферментов вполне может влиять на дальнейшую судьбу жирных кислот.

Таким образом, условия среды, в которых действует фермент, в значительной степени определяют его активность. Несомненно, клетки используют многие из описанных способов регуляции ферментативной активности. Следует, однако, напомнить, что многие ферменты нерастворимы, и связаны с различными структурами, например, с мембранами митохондрий или хлоропластов. Это обстоятельство также влияет на их активность. Любое ослабление или изменение связи между ферментом и мембраной приведет к изменению активности фермента. В то же время, поскольку некоторые ферменты находятся внутри клеточных структур, их субстраты не имеют к ним свободного доступа. Субстрат может быть «атакован» одним ферментом, а не другим, не вследствие каких-либо специфических свойств соответствующего фермент-субстратного комплекса, а просто потому, что этот субстрат имеет более легкий доступ к первому ферменту, хотя его сродство выше к другому ферменту.

Вероятно в этом кроется разгадка феномена («эффекта Пастера»), подавления гликолиза в аэробных условиях. Долгое время считалось, что глюкоза должна быть предварительно фосфорилирована за счет АТФ и что именно гексокиназная реакция выступает в качестве регулятора этого процесса.

Возможно, что при аэробном окислении митохондрии используют весь имеющийся неорганический фосфат клетки, а количество АТФ, синтезируемое за счет гликолиза оказывается недостаточным. В этом случае гликолиз должен замедляться.

Регуляция на генетическом уровне. Помимо механизмов регулирования активности ферментов, существуют еще механизмы регуляции количества ферментов в системе. Эта регуляция осуществляется генетическими механизмами, а именно экспрессией генов. Эти эффекты первоначально были вскрыты и изучены у микроорганизмов и получили название индукции или репрессии ферментов. В частности, стало известно, что концентрация некоторых бактериальных ферментов зависит от условий роста клеток, обусловленных, в первую очередь, содержанием различных веществ в среде культивирования. Было также обнаружено, что в ряде случаев добавление того или иного субстрата побуждает белокобразующий аппарат бактерий – к увеличению синтеза фермента, атакующего данный субстрат. Однако когда весь субстрат перерабатывается и исчезает из среды, синтез фермента прекращается. На этом основании было выдвинуто предположение о последовательности ферментативных реакций, в частности о том, что продукт деятельности первого фермента, являющийся субстратом второго фермента, инициирует синтез второго фермента. Такой механизм был предложен также для объяснения синтеза новых ферментов. Ситуация может быть и обратной – присутствие некоторых веществ может вызывать репрессию синтеза ферментов, т.е. репрессирующее действие может оказывать продукт соответствующего фермента.

Как при индукции (экспрессии), так и репрессии малые молекулы не вызывают увеличения или подавления ферментативной активности непосредственно, а действуют на генетический «локус», контролирующей синтез данного белка. Из генетико-биохимических исследований было сделано заключение, что в клетках, в частности бактериальных, способных к индукции или репрессии соответствующих ферментов, имеются не только структурные гены, в которых закодирован синтез специфического белка, но и ген-регулятор, способный подавлять или активировать деятельность структурных генов. Эта концепция оперона, сформулированная Жакобом и Моно, оказалась очень плодотворной. Структурные гены, служащие матрицей для образования мРНК, ответственны за первые стадии синтеза белков в клетке. В настоящее время считается, что некоторые гены связаны друг с другом операционно, т.е. если активируется один ген, то активируются и все остальные гены связанные с ним, и наоборот, если деятельность этого гена подавлена (репрессирована), то подавляется активность и остальных генов.

Таким образом, существуют ген-регулятор и ген-оператор. Они являются антагонистами. Продукт первого – специфический репрессор, ингибирующий активность гена-оператора. Другими словами, если ген-регулятор (ответственный за синтез репрессора) активен, то ген-оператор и структурные гены ингибированы. Очевидно, что схема, предложенная Жакобом и Моно, в основном правильная: белок (ген)-репрессор может связываться с геном-оператором и тем самым лишать его возможности «включать» транскрипцию структурных генов оперона, а индуктор способен соединяться с репрессором, после чего репрессор уже не может вступать в связь с геном-оператором. В этом случае транскрипция (считывание) структурных генов будет происходить беспрепятственно.

Гораздо меньше работ посвящено регуляции синтеза ферментов на уровне трансляции, т.е. на уровне синтеза белка. Известно, что на каждую рибосому в клетке приходится от 20 до 50 молекул тРНК. Если принять в расчет, что имеется по меньшей мере 20 разных видов тРНК, то число молекул данного вида составит не более 1-3. В итоге можно сделать вывод: если в какой либо момент все рибосомы будут участвовать в синтезе белка, то будет ощущаться нехватка специфических молекул тРНК.

Другой путь регуляции на рибосомальном уровне – это изменение числа и активности рибосом. В самом деле, имеются данные, свидетельствующие о том, что на ранних фазах

клеточной активности могут меняться как число, так и активность определенной популяции рибосом, ответственных за регуляцию синтеза того или иного фермента клетки.

Ферменты и клеточная структура. Как концентрации малых молекул могут контролировать ферментативную активность клетки? На разных стадиях отдельных метаболических процессов образуются промежуточные продукты – метаболиты. Скорость всего процесса в целом зависит от скорости самой медленной реакции, которая в свою очередь определяется кинетикой фермент-субстратного взаимодействия. Если тот же субстрат участвует и в какой-либо другой последовательности реакций, то, очевидно, что-то должно определять направление метаболических превращений. Регуляция может, например, осуществляться за счет того, что продукт одного метаболического пути служит ингибитором другого. Это может быть либо ингибирование по типу обратной связи, когда синтезируемый продукт подавляет активность фермента, либо репрессия синтеза фермента, который «атакует» субстрат.

Таким образом, совершенно ясно, что продукты ферментативных реакций влияют на скорость этих реакций и тем самым регулируют свой собственный синтез. Конечно, соответствующее пространственное распределение метаболитов в различных участках клетки сразу же после их образования может частично смягчить жесткую взаимозависимость между количеством накопившегося продукта и активностью фермента. Так, например, перемещение синтезированного продукта в другую часть клетки снимет эффект торможения. В бактериальных клетках, не имеющих ярко выраженных мембран эндоплазматического ретикулума (ЭР), это обстоятельство, по-видимому, не играет особой роли, однако в других клетках несомненно модифицирует уровень ферментативной активности.

Регуляция сборки клеточных структур. Как же происходит синтез белков в клетке? Сообщение о синтезе специфического белка переводится с четырехбуквенного «алфавита» ДНК на гораздо более сложный двадцатибуквенный «алфавит» белков, а затем в результате некоторых пространственных преобразований синтезируются трехмерные белковые молекулы, способные к высокоспецифичным преобразованиям. Некоторые из таких белковых молекул будучи ферментами взаимодействуют с определенными субстратами и вызывают специфические изменения в их структуре. Это так называемые глобулярные белки, в подавляющем большинстве своем представленные различного рода ферментами.

Существует и другой обширный класс белков, обладающих высокой специфичностью – это структурные белки, которые взаимодействуют с другими белками, а также с липидами, углеводами и нуклеиновыми кислотами.

Итак, мы знаем, как большие молекулы строятся из более мелких клеточных компонентов. В свою очередь макромолекулы, будь это белки, нуклеиновые кислоты или липиды, соединяются друг с другом или с малыми молекулами, образуя в одном случае сложную белковую систему, действующую как один фермент или как полиферментный комплекс, в другом случае – комплексы ДНК, РНК или строительные блоки будущих элементов клетки. Эти большие агрегаты взаимодействуют друг с другом, в результате чего возникают такие структуры, как мембраны, состоящие в основном из белков и липидов, хромосомы, рибосомы. Подобные крупные структуры могут либо существовать самостоятельно в форме отдельных единиц, либо, взаимодействуя друг с другом, образовывать более крупные специфические агрегаты, в построении которых должны принимать участие и другие молекулы.

Таким образом, в клетке обнаруживается строгая иерархия структурных состояний, каждое из которых определяет функции соответствующих химических агрегатов, описывается конкретными химическими и физическими параметрами и привносит в функцию больше того, что можно было бы ожидать, исходя из природы отдельных компонентов.

Общий взгляд на клеточный метаболизм. Итак, сложный процесс клеточного метаболизма есть результат действия нескольких тысяч ферментов, ускоряющих

специфические реакции субстратов. Реакции, катализируемые ферментами, в принципе могут протекать и без ферментов, поскольку в их основе лежит способность субстратов вступать в такие реакции. Роль ферментов состоит лишь в том, что они ускоряют реакции и, главное, направляют эти реакции по специфическим метаболическим путям, которые зачастую организованы в клетке в виде циклов. Главная роль клеточного метаболизма состоит в синтезе сложных молекул, которые весьма специфическим образом самопроизвольно взаимодействуют друг с другом, образуя требуемые структуры.

В клетке нет ничего статичного. Структуры постоянно создаются и снова разрушаются, все с большей или меньшей скоростью подвергаются взаимопревращению. Гидролитические ферменты «атакуют» все полимеры, из которых состоят клетки, а активные катаболические реакции разрушают образующиеся в результате таких «атак» мономеры. Мембранные структуры также подвергаются изменениям в результате гидроксирования и гликолизирования. Эти реакции являются источником движущей силы, обеспечивающей перемещение материала, образующегося в результате распада мембран, на наружную поверхность клетки. В то же время другие процессы, катализируемые иными ферментами, дают возможность материалу, из которого строятся мембраны, вновь проникать в клетку.

Любой фактор, влияющий на скорость реакции, участвующей в процессах биосинтеза или распада любого компонента клетки, оказывает прямое или опосредованное воздействие на общую картину метаболизма. Таким образом, можно утверждать, что любая химическая реакция, которая вносит хотя бы незначительный вклад в клеточный метаболизм, может играть роль регулятора.

Ферменты взаимодействуют не только с субстратами, но и друг с другом, следствием чего может явиться их расщепление, окисление, а также образование агрегатов.

Ферменты – трансферазы, например, присоединяют фосфатную группу и другие группы к разным активным участкам белков, причем каталитическая активность таких модифицированных белков может довольно сильно меняться. Число такого рода взаимодействий, которые могли бы оказывать заметное влияние на регуляцию метаболизма в клетке, может достигать миллиона. Однако, несмотря на такую сложность, наличие некоторых регуляторных механизмов четко доказано.

Как уже было сказано выше, существуют два типа регуляции, в основе которых лежит принцип обратной связи. Один из них используется при синтезе ферментов и состоит в репрессии этого синтеза избытком фермента, а другой обеспечивает быстрый контроль активности фермента путем его ингибирования.

Когда имеет место постоянная скорость роста клеток, регуляция по типу обратной связи может оказаться достаточной, чтобы обеспечить гармоничное и пропорциональное увеличение концентрации всех составных частей реакции. Такая ситуация наблюдается на начальных стадиях развития живых систем, например на стадии логарифмического роста бактерий или в случае быстро растущих эмбрионов животных.

Совершенно иная ситуация имеет место у взрослых организмов, которые практически не растут. В этих случаях метаболизм и, прежде всего, его интенсивность может существенно меняться, что зависит от физиологического состояния. В то же время метаболизм при сильных нагрузках на организм отличается от метаболизма в норме. Необходимые механизмы регуляции в этих случаях должны быстро и легко реагировать на такие изменения.

Гомеостаз. Понятие гомеостаза (от греческого «гомейо» – похожий и «стазис» – состояние) было введено У.Кенноном в 1920-х годах в развитие идей, высказанных К.Бернаром о существовании «внутренней среды» у живых организмов и ее постоянстве. В современной биологии и медицине концепция гомеостаза занимает прочное место среди фундаментальных понятий. Гомеостаз – это относительное постоянство внутренней среды организма (живой системы) в процессе его жизнедеятельности (функционирования) при наличии внешних и внутренних возмущений. Разумеется, что поддержание гомеостаза

системы требует затрат энергии. Однако именно это состояние внутренней среды, ее относительное постоянство, позволяет системе осуществлять жизненные процессы с меньшими затратами энергии.

Итак, гомеостаз – это способность живой системы сохранять относительное постоянство внутренней среды в непрерывно меняющихся условиях внешней окружающей среды. На каждом уровне организации биосистем гомеостаз имеет свои особенности. В живой природе существует целая пирамида гомеостатических биосистем, в основании которой находится клетка. Жизненные процессы в клетке, представляют собой совокупность биофизических и биохимических реакций, в результате которых осуществляется транспорт веществ и энергии, химические преобразования, синтез и сборка биологических веществ и их распад.

Поддержание гомеостаза в клетке осуществляется при помощи многочисленных и разнообразных механизмов и обеспечивается четкой работой всей регуляторной системы. В частности, в клетке существует хорошо отлаженный механизм поддержания динамического равновесия между частотой повреждения и репарации молекул ДНК и других соединений. Смысл существования системы регуляции количества ДНК состоит в сохранении и поддержании целостности генетических структур, в исправлении «ошибок» в ДНК, возникающих в процессе редупликации и транскрипции. Получены доказательства того, что генетическая стабильность есть состояние динамическое, и ген сохраняет целостность вследствие не только и не столько стабильности химических связей, сколько способности молекулы ДНК к репарации.

Гомеостаз клетки, как и любой другой биологической системы, характеризуется колебательными изменениями ее структурно-метаболических параметров в определенном диапазоне. Колебательный способ поддержания средних уровней и темпов регуляции внутриклеточных параметров, в противоположность жесткому методу сохранения их постоянных значений, объясняется двумя причинами: инерционностью обратных связей в контуре саморегулирования, энергетической зависимостью и взаимосвязью внутриклеточных процессов.

Колебательные формы гомеостаза энергетически более экономичны, а следовательно, выгодны. Колебательный режим является необходимым и универсальным проявлением гомеостаза. Клетке свойствен биоэнергетический принцип регуляции метаболизма, согласно которому уменьшение энергетического ресурса стимулирует катаболические реакции, ведущие к повышению энергообразования и запасов энергии, тогда как повышение энергоресурсов активизирует анаболические энергозависимые реакции.

Таким образом, в клетке автоматически поддерживается определенное соотношение АТФ, АДФ и АМФ.

Энергетические механизмы регуляции гомеостаза клетки включают различные метаболические приспособления к разным (по силе, скорости и длительности) функциональным нагрузкам. Цитологическим выражением энергетического механизма гомеостаза в клетке является, например, агрегация и дезагрегация митохондрий, изменение размеров и числа этих органелл. Дезинтеграция митохондрий, увеличение их суммарной, свободной поверхности, а также изменение скорости транспорта субстратов в них способствуют активации процессов окислительного фосфорилирования.

Разные по скорости и мощности гомеостатические механизмы включаются, а точнее проявляются последовательно, в соответствии с интенсивностью и длительностью возмущающего фактора. Временную иерархию энергетических механизмов гомеостаза клетки можно продемонстрировать на примере регуляции дыхания (потребления кислорода).

Уровень напряженности кислорода в месте локализации каждой из митохондрий регулируется его градиентом и темпом пассивной диффузии. Способы регуляции градиента напряжения кислорода между наружной средой и митохондриями разнообразны. Они соответствуют эволюционно закрепленной временной иерархии регуляторных процессов.

Местные защитно-приспособительные реакции органов и тканей организма, обеспечивающие постоянство их функций, сформировались в процессе эволюции на стадии развития простейших многоклеточных организмов. Эти реакции включают в себя работу трех механизмов регуляции: клеточной адаптации, перемежающейся активности клеток и защиты их от повреждающего внедрения чужеродных тел (механизм фагоцитоза).

На уровне целого организма гомеостатическое состояние тканей, их устойчивость достигаются за счет появления и развития дополнительной цепи регулирующих сигналов, которая не просто мобилизует энергетические и структурные ресурсы организма, но и обеспечивает направленную передачу их из неактивных тканевых систем в активную (доминирующую) тканевую область организма.

Механизм формирования клеточного гомеостаза. При воздействии на клетку различных факторов слабой или умеренной силы (не превышающих повреждающую пороговую величину) в клетке возникают структурно-функциональные сдвиги и формируется комплекс стереотипных реакций, который известен как неспецифический адаптационный синдром. В отличие от функциональных изменений, возникающих при этом и являющихся строго специфическими для разных клеток, развитие и проявления адаптационного синдрома (морфологическое, физико-химическое и биохимическое состояние клетки) является неспецифическим и наблюдается у любых клеток при действии на них разнообразных факторов. При этом адаптационный синдром в своем развитии проходит четыре стадии: мобилизационную, формирования устойчивой адаптации, устойчивой адаптации и дезадаптации (необратимого повреждения).

В основе адаптационного синдрома лежит медико-биологическая концепция, впервые сформулированная Г.Селье – известным канадским физиологом в 1936 г. История этого учения восходит к началу 30-х годов, когда молодой неизвестный еще врач, практикующий в одной из клиник Монреаля и длительное время экспериментирующий с традиционными лабораторными животными – морскими свинками, заметил одну часто повторяющуюся особенность.

У животных, которые подвергались воздействию совершенно разных по своей природе факторов, характер и этапы ответных реакций организма были очень сходными и однотипными. Г.Селье выделил четыре последовательно развивающихся этапа: увеличение массы и объема надпочечников, активацию их функций, увеличение количества гормонов, вырабатываемых в корковой части этих органов, уменьшение лимфатических узлов, сопровождающееся постепенным подавлением их функциональной активности. Результаты этих исследований впервые были опубликованы в 1936 году в журнале *Nature* в статье "Синдром, вызванный различными повреждающими факторами".

Примерно в это же время (1934) советский ученый Д.Н.Насонов показал, что содержимое живых клеток – протоплазма (или цитоплазма) поразительно однотипно реагирует на воздействие различных по природе факторов: температуры, механических раздражений, химических агентов, радиации и т.д., происходит увеличение вязкости протоплазмы, уменьшение дисперсности и увеличение объема клетки.

Этот комплекс последовательно развивающихся в протоплазме клеток однотипных изменений, происходящих под действием различных по своей природе физических, химических и механических факторов, был назван Насоновым **паранекрозом**.

Таким образом, эти почти одновременные открытия специалистов, экспериментирующих на разных континентах не только с различными биологическими объектами, но и на разных уровнях организации живых систем, привели к созданию общей теории адаптации.

В настоящее время хорошо известен комплекс адаптационных реакций клеток, развивающийся на ультраструктурном уровне.

Многочисленными работами показано, что при воздействии на клетки различных факторов, отличающихся по своим физическим и химическим свойствам, в клеточных органеллах наблюдается комплекс последовательно развивающихся структурных

изменений: сокращение количества и упорядоченности мембран, увеличение доли матрикса и набухание органелл, связанное с увеличением количества воды в них.

Изменения структурной организации сопровождаются сдвигами их функциональных характеристик, в первую очередь снижением метаболической активности.

При более глубоком анализе были выявлены существенные изменения в молекулярной организации мембран, сопровождающиеся изменением их проницаемости.

Важно отметить, что изменения, происходящие на первых стадиях развития адаптационного синдрома, являются обратимыми, не оставляют «структурного следа» и не приводят к патологии. Однако если интенсивность и длительность действующего неблагоприятного фактора превышает защитные ресурсы (компенсаторные возможности) системы (клетки или организма в целом), то происходит срыв и система переходит в состояние, которое можно охарактеризовать как необратимое. В этом случае развиваются признаки патологии.

Изучение патогенеза, вызванного повреждающими факторами в различных органах, тканях и клетках организма, невозможно без анализа структурных и метаболических изменений, лежащих в основе приспособительно-компенсаторных процессов и направленных на восстановление и поддержание постоянства внутренней среды организма – гомеостаза. Следует подчеркнуть, что многие изменения в поврежденной клетке, органе или ткани до настоящего времени рассматриваются только как проявления патологического процесса без анализа их возможного участия в адаптивных реакциях. Вместе с тем известно, что приспособительно-компенсаторные процессы оказывают существенное влияние на течение и исход патологического процесса. В подавляющем большинстве случаев, структурные и функциональные изменения, происходящие в рамках гомеостаза, даже при наличии необратимых морфологических сдвигов следует рассматривать как последнюю стадию стресс-реакции, в контексте, развития адаптационного синдрома. В условиях патологии, при повреждающих дозах того или иного фактора среды зачастую отмечается высокая регенераторная активность.

Предположение о том, что процессы деструкции и восстановления клеток и их структур протекают одновременно, впервые было высказано еще в конце прошлого века, но только последующие исследования смогли четко обосновать эту концепцию.

В настоящее время биология и медицина имеют на вооружении четкую и стройную концепцию адаптационного синдрома. Современное состояние биологической науки дает возможность сформулировать и обосновать последовательность и ведущие механизмы триады основных состояний живых организмов, находящихся в условиях постоянного влияния факторов окружающей среды при сохранении гомеостаза: эти стадии характеризуются как стресс-ответная реакция и адаптация.

10. Биологическое действие ионизирующих излучений

Действие ионизирующих излучений вызывает существенные изменения в биологических системах на молекулярном уровне. Атомы, входящие в молекулу любого биологически активного соединения, состоят из положительно заряженного ядра, окруженного отрицательными электронами; каждый атом в целом электрически нейтрален. Прохождение ионизирующего излучения через вещество сопровождается выбиванием электронов из атомов. Этот процесс называется *ионизацией*.

К ионизирующим излучениям относятся α -, β -, γ -излучения радиоактивных веществ, рентгеновские лучи, протоны и нейтроны. Атомы, подвергшиеся ионизации, называются *ионами* и имеют положительный заряд. Биологическое действие излучения главным образом заключается в разделении электрических зарядов. Однако в большинстве случаев представляется более вероятным приписать эти действия химическим изменениям, сопровождающим ионизацию, ибо каждая молекула, один из атомов которой оказывается ионизированным, испытывает химическое превращение. Так как атомы, входящие в состав молекулы, удерживаются вместе химическими связями электронов этих атомов, то

удаление такого связывающего электрона из молекулы приведет к ее диссоциации или другим химическим изменениям.

Следует ожидать, что удаление из молекулы других электронов, не участвующих в образовании химических связей, также должно привести к химическим изменениям, так как энергия ионизации (10 эВ или выше, в зависимости от рода ионизирующего атома и энергетического уровня) превышает энергию, необходимую для удаления атома из молекулы.

Потеря энергии излучением при прохождении его через ткани может происходить и в результате другого процесса – *возбуждения*, состоящего в том, что электрон не покидает атома или молекулы под действием излучения, а переходит в состояние с более высоким значением энергии. Очевидно, при возбуждении атом претерпевает менее глубокие изменения, чем при ионизации. Возбуждение может вызываться не только ионизирующими излучениями, но и ультрафиолетовым светом. В реакциях с простыми неорганическими соединениями возбуждение, вызываемое ультрафиолетовым светом, лишь немногим менее эффективно по сравнению с ионизацией. При разложении больших органических молекул эффективность возбуждения снижается. Биологическое действие возбуждения, в частности при инактивации вирусов или бактерий, вызываемое ультрафиолетовым светом, во много раз менее эффективно, чем ионизация. Поэтому, имея дело с ионизирующим излучением, специалисты зачастую пренебрегают возбуждением как причиной биологических эффектов по сравнению с ионизацией.

Электроны, выбитые из атомов в процессе ионизации, впоследствии присоединяются к другим атомам, превращая их в отрицательные ионы. Для физических измерений ионизации положительные и отрицательные ионы имеют одинаковое значение, поэтому обычно говорят о возникновении пар ионов. Но поскольку энергия связи электрона в атомах, образующих отрицательный ион, меньше даже энергии возбуждения, то образование отрицательных ионов можно рассматривать как процесс, не представляющий биологической важности. Поэтому, говоря о биологическом эффекте ионизации, имеют в виду только образование положительных ионов, т.к. они обладают энергией, достаточной чтобы вызвать заметный радиобиологический эффект. При этом практически вся энергия, в конечном счете, превращается в тепловую.

Так, например, доза в 10^5 Р оказывается достаточной для повышения температуры ткани на $\sim 0,25$ °С. Столь незначительное повышение температуры, вызываемое относительно большой дозой излучения, указывает, что биологические эффекты ионизирующих излучений нельзя объяснить температурными изменениями. Кроме того, локальный характер элементарных процессов поглощения энергии указывает на то, что энергия, определяющая в дальнейшем повышение температуры ткани в целом на $0,25$ °С, первоначально сосредоточена в пределах небольших групп атомов и повышает температуру в очень малом объеме ткани. Процесс перехода энергии ионизации и возбуждения в тепловую энергию может сопровождаться химическими изменениями молекул, находящихся вблизи области высокой ионизации, если даже эти молекулы не подвергались ионизации.

Рентгеновские лучи представляют собой электромагнитные излучения длиной волны от $0,05$ до 10 Å⁰. Коэффициент поглощения рентгеновских лучей зависит только от атомного номера поглощенных атомов; характер химических соединений, в состав которых входят эти атомы, не играют никакой роли. Рентгеновские лучи обладают очень высокой проникающей способностью, поэтому в биологических экспериментах правильнее измерять вместо энергии, *падающей* на поверхность ткани, энергию, *поглощенную* в данном объеме. Принятой единицей дозы является *рентген* Р. Один Р соответствует образованию $2,082 \cdot 10^9$ пар ионов в 1 см³ воздуха. Величина поглощенной при этом энергии равна 1083 эрг/см³ воздуха. При интерпретации биологических экспериментов обычно рассчитывают количество поглощенной энергии на единицу объема ткани. Эта величина при одной и той

же интенсивности падающего излучения примерно в 1000 раз больше, чем в воздухе, вследствие большей плотности ткани.

Рассеяние энергии в ткани, облучаемой рентгеновскими лучами большой длины, происходит следующим образом: при прохождении потока рентгеновских фотонов через ткань некоторые из них поглощаются атомами. Энергия фотона поглощается полностью; каждый элементарный акт поглощения сопровождается ионизацией, т.е. выбиванием электрона из атома (фотоэлектрический эффект). Внутренние электроны атома, ближайшие к его ядру, играют наибольшую роль при поглощении. Пробег электрона в ткани составляет примерно 1,5 мкм; на протяжении этого пути электрон, теряя постепенно энергию, производит около 230 ионизации. Таким образом, ионы, облучаемые рентгеновскими лучами распределяются не случайно, а локализуются вдоль путей первичных фотоэлектронов. Существование такой локализации чрезвычайно важно для теории биологического действия излучения и в значительной мере определяет применяемые методы вычисления.

γ-лучи. В биологических экспериментах обычно используют γ-лучи, испускаемые радием или родоном. Поглощение γ-излучения в тканях совершается практически полностью; образующиеся при этом электроны обладают энергиями от 0 до 2 МэВ.

β-частицы, т.е. быстрые электроны, испускаемые радиоактивными веществами, представляют собой электроны, ускоренные электрическим полем. Следует отметить, что приходящееся на долю β-электронов количество энергии, рассеянной в ткани, очень резко изменяется в зависимости от толщины слоя облучаемой ткани.

α-частицы представляют собой ядра атомов гелия, испускаемые радиоактивными веществами. Эти частицы можно получить и искусственным путем при помощи циклотрона. Они имеют очень малую длину пробега в веществе, поэтому их используют для облучения только таких тканей, которые могут быть получены в виде тонких пленок. При прохождении сквозь ткани α-частицы производят значительно больше ионизации на 1 мкм пути, чем электроны. Сравнение относительной эффективности на одну ионизацию электронов и α-частиц представляет исключительную важность для проверки теорий биологического действия излучений.

Протоны, представляющие собой ядра водорода, движущиеся с большой скоростью, не испускаются радиоактивными веществами, но могут быть получены в виде пучков на циклотроне. Протоны дают число ионизации на 1 мкм пути среднее между числом ионизации электронов и α-частиц. В настоящее время протоны широко используются в радиобиологии.

Биологические эффекты ионизирующих излучений связаны с химическими изменениями. Заметные биологические эффекты в различных объектах возникают при воздействии доз от 50 до $5 \cdot 10^5$ рентген. Число ионизации, создаваемых в 1 мкм^3 ткани дозой $5 \cdot 10^5$ рентген, равно приблизительно 10^6 и, судя по результатам экспериментов, число реагирующих молекул должно быть того же порядка.

Интерпретация биологических эффектов излучения известна как *теория мишени*. В этой теории принято говорить о молекуле или структуре, в которых должна произойти ионизация, как о «мишени», а об акте ионизации – как о «попадании». Классическим примером таких структур могут служить хромосомы.

11. Морфогенез. Процессы роста, развития и дифференциации

Рост любого живого организма происходит в результате деления и размножения клеток. У одноклеточных организмов клеточное деление представляет собой по существу процесс размножения, при помощи которого из исходной (материнской) клетки образуются две дочерние клетки. Многоклеточные организмы развиваются также из одной начальной клетки – зиготы. Многократное размножение этой клетки и ее потомков определяет развитие и рост индивида. Изучение роста многоклеточного организма значительно усложняется вследствие того, что рост обусловлен не только размножением клеток,

увеличением разнообразия и числа внутриклеточных органелл, но и дифференциацией самих клеток в процессе развития. В основе развития организма (одноклеточного или многоклеточного) лежит процесс морфогенеза.

Молекулярные основы морфогенеза. Исследования, выполненные в последние десятилетия, убедительно доказали, что большинство макромолекулярных комплексов и структур клетки представляют собой самоорганизующиеся системы. Изучение таких систем составляет основу молекулярного подхода к процессам, обуславливающим генетически запрограммированное пространственно – временное развитие характерных структур; внутриклеточных органелл, самой клетки, тканей, органов и организма в целом. Совокупность таких процессов называется морфогенезом.

Центральная проблема, связанная с молекулярным механизмом морфогенеза, сводится к вопросу о том, каким образом заключенная в ДНК генетическая информация, закодированная в «одномерной» форме (линейная последовательность мононуклеотидов), «переводится» в специфические объемные трехмерные биологические структуры (ферментные комплексы, рибосомы, мембраны и другие сложноорганизованные структуры клетки). Ключ к пониманию этой проблемы следует, вероятно, искать в свойствах полипептидных цепей, позволяющих им самим превращать одномерную информацию в трехмерную. Полипептидная цепь может самопроизвольно сворачиваться в специфическую трехмерную структуру, определяющую последовательность аминокислот в цепи. Одно из основных положений молекулярной биологии состоит в том, что линейная последовательность кодирующих триплетов в гене однозначно определяет последовательность аминокислот в полипептидной цепи. Полипептидные цепи аминокислот и полинуклеотидные цепи ДНК могут рассматриваться как линейные молекулы. Однако в отличие от сравнительно «гибких» полипептидных цепей двойная спираль ДНК обладает высокой степенью жесткости и значительно менее богатым набором возможных конформационных перестроек.

Специфическая трехмерная конформация полипептидной цепи в обычных условиях определяется двумя факторами: «внутренними» свойствами самой полипептидной цепи и свойствами окружающей ее водной среды. Наиболее существенными в определении трехмерной конформации полипептидной цепи являются следующие ее свойства: жесткость пептидной связи и транс-конфигурация (переходные формы) пептидных групп, полярность и наличие электрически заряженных R-групп аминокислотных остатков. Из свойств окружающей молекулу белка, в водной среде наиболее существенны рН (концентрация водородных ионов), ионная сила, природа растворенных веществ, а также способность молекул воды образовывать водородные связи.

Поскольку равновесие в термодинамике определяется как состояние, при котором система (полипептидная цепь) и ее окружение (водная среда), составляющие в совокупности строго термодинамически замкнутую молекулярную «вселенную», характеризуются максимальной энтропией, ясно, что устойчивая трехмерная конформация полипептидной цепи будет определяться взаимодействием самой полипептидной цепи и окружающей ее водной среды.

Таким образом, именно стремление водного окружения полипептидной цепи перейти в состояние, соответствующее максимальной энтропии, обуславливает возможность образования трехмерных упорядоченных структур, наделенных биологической активностью.

Рассмотрим теперь характерные особенности самоорганизующихся надмолекулярных белковых систем. Одной из наиболее детально изученных систем такого рода является система синтаз, состоящая из семи различных ферментов, образующих надмолекулярный комплекс, контролирующей синтез жирных кислот в дрожжевой клетке. Каждый из этих ферментов содержит три (по-видимому, идентичные) полипептидные цепи; таким образом, общее число их в комплексе равно 21. Аминокислотные последовательности каждой из этих цепей в этом комплексе определяют уже не два, а три уровня информации. Первый –

это трехмерная структура каждой субъединицы, второй – специфические взаимоотношения между тремя субъединицами в каждой молекуле фермента, третий – характер взаимоотношений между семью молекулами ферментов, входящих в состав ферментного комплекса.

Свойства данного мультиферментного комплекса иллюстрирует также и другой, не менее важный, аспект самоорганизующихся систем. Было показано, что если разделить семь индивидуальных ферментов, входящих в этот комплекс, то каждый из них в отдельности будет неактивен. Если же снова смешать их, ферментативная активность восстанавливается. Не исключено, что эти изолированные субъединицы утрачивают активность из-за нарушения конформации полипептидных цепей, которая «корректируется» при образовании мультиферментного комплекса, когда каждый из семи ферментов претерпевает структурные изменения, обретая каталитически активную форму. Таким образом, ассоциация субъединиц и белковых молекул в надмолекулярные системы существенна не только с точки зрения их морфогенеза, но часто является также необходимым условием их биологической активности. Этот пример свидетельствует о том, что *целое может быть чем-то большим, чем простая сумма его частей*. Недавно было показано, что рибосомы также представляют собой самоорганизующиеся структуры.

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что липидные и белковые компоненты биологических мембран, связанные друг с другом слабыми (нековалентными) связями, способны к самоорганизации. «Самоорганизационные» свойства природных мембран следуют и из других наблюдений. Например, экстракция митохондрий ацетоном приводит к удалению из мембран более 90 % липидов, что сопровождается подавлением функций этих органелл. Если же экстрагированные липиды снова добавить к мембранам, то они, связываясь с ней, одновременно в значительной степени восстанавливают способность митохондрий к переносу электронов.

Выдающимся успехом в области исследования молекулярных основ морфогенеза считаются эксперименты, продемонстрировавшие генетическую детерминацию процесса самосборки структурных компонентов бактериофага. В результате этих замечательных экспериментов удалось впервые наблюдать не только процесс формирования сложной трехмерной структуры на основе «одномерной» информации, но и конкретную последовательность событий, в которой каждая субъединица «подгоняется» к уже собранной части общей структуры.

Может ли процесс самосборки приводить к образованию структур более сложных, чем вирус; таких, как сократительные системы жгутиков у одноклеточных, митохондрий и хлоропластов? Насколько велика роль самосборки в морфогенезе эукариотической клетки?

Исследователи не находят принципиальных причин, по которым упорядоченные клеточные структуры не могли возникать путем самосборки, поскольку большинство таких структур построено из нековалентно связанных белковых субъединиц, липидов и нуклеиновых кислот, которые сами по себе явно обладают способностью к самоорганизации.

Молекулярные основы морфогенеза клеток, образования специализированных тканей и органов, таких, например, как мышцы и почки у животных, или листья и цветки у растений составляют одну из наиболее глубоких и интересных проблем современной биологии.

Цитологические и цитогенетические аспекты клеточного деления. Деление клетки чрезвычайно сложный процесс, с помощью которого клеточный материал исходной (материнской) клетки равномерно распределяется между двумя вновь образованными (дочерними) клетками. Этот процесс, однако, представляет собой, лишь видимый в микроскоп результат биохимических и генетических изменений, происходящих на молекулярном уровне.

В настоящее время хорошо известны и тщательно изучены два типа клеточного деления: *митоз и мейоз*. В результате митоза происходит удвоение генетического материала клетки (дупликация) и этот тип деления свойствен всем соматическим клеткам. Клетки, из которых

состоит тело или *сома* многоклеточного организма, размножаются путем митоза. Поэтому процесс можно назвать также *соматическим клеточным делением*. В отличие от митоза, при мейозе не происходит удвоения генетического материала и этот процесс присущ только половым клеткам.

Процесс деления соматических клеток (митоз) включает четыре последовательных стадии. Их следует рассматривать как фазы цикла деления ядра с образованием дочерних ядер.

Вслед за делением ядра, называемым *кариокинезом* (от греческого «карион» – ядро и «кинез» – движение), наступает деление самой клетки – *цитокинез* («питое» – клетка). Основные стадии цикла носят название *профаза, метафаза, анафаза и телофаза*.

Профаза характеризуется изменениями физико-химического состояния цитоплазмы. Клетка при этом стремится принять сферическую форму. Одновременно повышается способность клетки к преломлению света. Эти изменения сопровождаются увеличением поверхностного натяжения и повышением вязкости цитоплазмы. Но самое главное событие на этой стадии происходит в ядре. В этот период «визуализируются» хромосомы. *Профазные* хромосомы имеют вид тонких спиральных нитей, тянущихся через все ядро или закрученных в нем. Вся группа хромосомных нитей имеет вид клубка шерсти, небрежно скатанного внутри полости ядра. Каждая «*профазная*» хромосома состоит из двух спиральных нитей, называемых *хроматидами*, которые тесно связаны друг с другом по всей своей длине, но по-настоящему не сливаются. Хотя на протяжении всей *профазы* хромосомы довольно близко расположены, однако, по мере развития этой стадии расстояние между ними увеличивается, и из центральной части ядра они перемещаются к ядерной оболочке. Центробежное движение хромосом приводит к распаду ядерной оболочки. Одновременно происходит укорочение и утолщение хромосомных нитей.

Метафаза начинается после того, как хромосомы достигают плоскости экватора, где они располагаются радиально, как бы расталкивая друг друга. При рассмотрении хромосом с полюса можно относительно легко определить их число, форму и размер. Равновесие сил, характерное для стадии *метафазы*, нарушается делением *центромеры*, которая до этого объединяла *хроматиды*. В результате дочерние *центромеры* расходятся и *хроматиды* отделяются друг от друга, начиная передвигаться к полюсам. Этот процесс означает начало *анафазы* – третьей стадии митоза, в течение которой хроматиды полностью отделяются друг от друга. Завершение перемещения обеих дочерних групп хромосом к полюсам знаменует начало стадии *телофазы*.

Вслед за этим наступает *цитокинез* – процесс разделения и расхождения цитоплазмы, а затем и самой *клетки*; *пластинка*, сохраняется между дочерними клетками, образуя новую клеточную оболочку.

Поскольку соматические клетки большинства организмов происходят от оплодотворенного яйца – *зиготы*, то все они содержат двойной (диплоидный) набор хромосом. Зигота образуется в результате слияния двух половых клеток – *гамет* (яйца и сперматозоида). В этом случае *зигота* содержала бы удвоенное (диплоидное) число хромосом. Для того чтобы этого не было, в *гаметах* происходит особый вид клеточного деления, называемый *мейозом*, во время которого нормальный диплоидный набор хромосом превращается в одинарный (*гаплоидный*). *Зигота* же, образующаяся при слиянии этих *гамет*, оказывается диплоидной. Процесс *мейоза* характерен для всех растений и животных, которые размножаются половым путем. В основном *мейоз* состоит из двух ядерных делений, которые быстро следуют одно за другим, тогда как хромосомы при этом делятся только один раз. В результате этого процесса образуется четыре ядра, каждое из которых содержит простой, или гаплоидный набор хромосом. Эти деления носят название **первого и второго мейотических делений**, или, просто, *деление I* и *деление II*.

Первое *мейотическое* деление характеризуется длительной профазой, во время которой гомологичные хромосомы сближаются с образованием *конъюгантов* и между клетками

происходит взаимный обмен наследственным материалом. В результате *конъюгации* пары гомологичных хромосом становятся двойными, или *бивалентными*.

Первое мейотическое деление приводит к разделению спаренных гомологичных хромосом, а второе – к разделению их продольных половинок. В результате двух мейотических делений образуются четыре клетки, каждая из которых содержит одинарный (гаплоидный) набор хромосом.

Процесс мейоза – деления половых клеток характеризуется сложным набором цитогенетических параметров. Очевидно, эти проблемы выходят за рамки нашей темы и являются предметом специального исследования.

Биология развития. (Физиологические, биохимические и генетические аспекты).

Дифференцировка. Процесс развития живого организма из оплодотворенного яйца (яйцеклетки) – одно из наиболее замечательных биологических явлений. Из первых, очень сходных между собой эмбриональных клеток, в ходе всего нескольких клеточных делений возникают дифференцированные органы и ткани. Дифференцированные клетки характеризуются, как правило, высокоспециализированными биохимическими свойствами.

Хотя в химических основах механизма дифференцировки клеток остается еще много неясного, все же известно, что в этом процессе исключительно важную роль играют химические сигналы, поступающие из внешней среды и от прилегающих клеток. Эти сигналы запускают внутреннюю генетически детерминированную **программу развития**, определяющую путь дифференцировки отдельных клеток.

Эмбриональное развитие простейших. Прежде чем обсуждать вопрос о дифференцировке сложных многоклеточных организмов, полезно рассмотреть более примитивные формы – одноклеточные и колониальные.

В благоприятных условиях бактериальные клетки и простейшие одноклеточные организмы вступают в фазу «роста и деления», которая составляет основу экспоненциального роста. Однако изменение внешних условий быстро приводит к изменению характера жизнедеятельности клеток. Так, например, недостаточность питательного субстрата не только снижает скорость роста бактерий, но и влияет на их генетические свойства (транскрипцию генов). Еще более удивителен тот факт, что под влиянием факторов внешней среды в клетке может быть запущена иная программа развития, связанная с активацией дополнительных генов и существенной перестройкой всей структуры клетки. Примером может служить образование спор у некоторых простейших одноклеточных организмов в неблагоприятных условиях.

Эмбриональное развитие растений. Относительно простое строение некоторых тканей растений является удобным объектом изучения процесса дифференцировки. Исходный слой ткани – *камбий*, представляющий основу для развития наземного органа растений – стебля, постоянно дифференцируется с образованием *флоэмы* из наружно расположенных клеток и *ксилемы* – из клеток, расположенных в сердцевине стебля. В то же время часть *камбиальных клеток* сохраняется недифференцированной. Фактически при каждом акте клеточного деления одна дочерняя клетка подвергается дифференцировке, тогда как другая остается недифференцированной камбиальной клеткой. Направление дифференцировки камбиальных клеток зависит от химической природы сигналов, поступающих из окружающей среды.

Обычно в основе вегетативного размножения растений лежит способность эмбриональной ткани *меристемы*, состоящей из первичных, изначально недифференцированных клеток, дифференцироваться в корни и побеги.

С другой стороны, при культивировании изолированных клеток *флоэмы* или других дифференцированных тканей, как правило, формируется так называемый **каллус**, т.е. масса претерпевших дифференцировку клеток, напоминающих эмбриональные. При создании благоприятных условий, в частности при культивировании (*in vitro*) в среде, содержащей

необходимые питательные вещества, удается индуцировать реверсию, т.е. превращение клеток, например, *флоэмы* корня снова в эмбриональные клетки, из которых затем развивается целое растение. Эти эксперименты, впервые успешно проведенные на клетках корня моркови, имели принципиальное значение, т.к. убедительно доказали, что дифференцированные клетки моркови содержат полный набор генов, необходимых для развития растения. Однако с большинством видов растений такого рода эксперименты воспроизвести довольно трудно или вовсе не удается. Процесс дифференцировки не всегда происходит автоматически. Все же это происходит в достаточном числе случаев, чтобы установить факт **тотипотентности**, т.е. одинаковости ядра дифференцированных клеток.

Эмбриональное развитие животных. Рассматривая процесс дифференцировки клеток эмбриона животного организма, следует, прежде всего, иметь в виду, что практически шарообразное яйцо (яйцеклетка) имеет сильно выраженную полярность.

Ядро расположено ближе к одному концу, называемому **анимальным полюсом**, тогда как противоположный конец клетки, называемый **вегетативным полюсом**, содержит много гранул желтка. Имеются убедительные доводы, что многие вещества в зрелой яйцеклетке распределены неравномерно, но с соблюдением билатеральности.

Процесс оплодотворения яйцеклетки с биохимической точки зрения очень сложен.

Оплодотворенное (активированное) яйцо (яйцеклетка) претерпевает несколько митотических делений, не сопровождающихся общим увеличением объема. Этот процесс носит название **дробления**. Число клеток при этом увеличивается, количество ДНК удваивается при каждом делении, но общий объем образовавшегося скопления клеток остается равным исходному объему яйцеклетки до дробления. Вскоре процесс достигает стадии, при которой образуется внутренняя полость, окруженная одним слоем клеток – **бластомерами**. Это так называемая **бластула**. У млекопитающих прежде всего формируется плотная масса клеток (**морула**), которая далее превращается в **бластоцит**, т.е. в сферическое образование с внутренней полостью.

На следующей стадии эмбрионального развития, свойственной многим беспозвоночным и амфибиям, на вегетативном полюсе бластулы появляется «вдавление», которое постепенно углубляется; таким образом, формируется **гаструла**. На этой стадии у эмбрионов четко различаются слои клеток *эктодермы* и *эндодермы*. Полость, образовавшаяся в процессе гастрюляции и открывающаяся наружу, называется **гастроцелем**.

У животных, кроме самых примитивных, между *экто-* и *эндодермой* формируется третий слой **мезосомальных** клеток. Впоследствии эти три **зародышевых слоя** дифференцируются следующим образом: из *эктодермы* образуются кожа и нервная система; из *мезодермы* – скелет(кости, мышцы), соединительная ткань и система кровообращения; из *эндодермы* – пищеварительный тракт, легкие и другие органы.

Программы развития у многоклеточных организмов. Современная теория развития предусматривает существование определенных генетических программ и рассматривает весь процесс развития как результат сочетания реакций клетки на воздействие гормонов и индукторов.

Были предложены очень разумные схемы, согласно которым «часы» развития просчитывают даже число клеточных делений и в соответствующий момент включают одни гены и выключают другие. Были высказаны также конкретные предположения относительно механизма таких часов. Так, указывается, что вопреки представлению о высокой стабильности ДНК, это соединение легко мутирует (изменяется) под влиянием химических факторов. Можно допустить существование особых ферментов, способных направленно изменять (модифицировать) ДНК. В самом деле, известно, что в ДНК содержится определенное количество дополнительных групп, которыми могут быть маркированы отдельные участки ее молекулы.

Вполне возможно предположить следующую цепь событий. Под действием соответствующего фермента аденин в паре оснований АТ (аденин-тимин) может быть

дезами-нирован в инозин. В результате после деления клетки одна из дочерних клеток получит неизмененную молекулу ДНК, а в другой вместо пары оснований АТ окажется пара УС. При следующей репликации возникнет пара ГС. Таким образом, в части дочерних клеток в специфическом участке ДНК происходит замена оснований АТ на ГС. Такая простая, на первый взгляд, замена может изменить выражение (активность) отдельных генов и тем самым «пересмотреть» генетическую программу развития.

Биофизические и биомеханические модели морфогенеза. В биологии в настоящее время установилась точка зрения, что процесс индивидуального развития организма (онтогенез) не предопределен непосредственно и во всех деталях генетическим кодом, а происходит при заметном участии физических и физико-химических механизмов.

Представление о наличии законов и механизмов, управляющих общим планом развития, неоднократно формулировалось в биологии в виде качественных утверждений общего характера. Так, например, в эмбриологии уже давно известен закон Г.Дриша, гласящий, что путь развития части зародыша есть функция положения этой части относительно целого.

В начале XX столетия Л.Чайлд сформулировал теорию физиологических градиентов, согласно которой морфогенезу и клеточной дифференцировке предшествует возникновение градиентов различных химических веществ. Такие градиенты, по мнению автора, возникают в результате неоднородности внешней среды, окружающей зародышевую клетку.

Другая, очень популярная теория, сформулированная Л.Вольпертом – это концепция позиционной информации. Она предусматривает наличие у клетки, в силу присутствия некоторого физического поля, информации о своем положении относительно целого. Способ восприятия этой информации конкретной клеткой зависит от ее генетических свойств. В большинстве случаев считается, что информацию о своем положении в целом объекте (организме) клетка получает в форме данных о ее пространственных координатах относительно некоторых материальных точек зародыша; другой вариант – восприятие клеткой своего положения, отсчитываемого с геометрически характерных меток, которые не обязательно сохраняют индивидуальную материальную природу.

В биологической, в частности биофизической, литературе, неоднократно указывалось на возможность участия механических, в первую очередь динамических полей в процессе морфогенеза. В исследованиях, посвященных взаимодействиям клеток между собой и с окружающей средой, безусловно, учитывается присутствие механических сил.

Геометрические формы в процессе жизни организма, в том числе и одноклеточного, находятся в перманентных качественном и количественном изменениях.

Простейшим среди таких изменений является рост, который включает в себя увеличение линейных размеров объекта (клетки или организма в целом). Необходимым элементом развития, в том числе и клетки, является собственно морфогенез – количественное усложнение формы, которое можно интерпретировать как образование ранее отсутствующих геометрических параметров. Простым примером морфогенеза может служить уже упомянутое нами, «впячивание» одного из участков ранее образованной сферической бластулы (начало гастрюляции). Наряду с геометрическими изменениями происходят образование, миграция, деформация и разрушение структурных элементов, рождение, перемещение и гибель клетки.

Рост клеток происходит ритмически в геометрической прогрессии и сопровождается соответствующим увеличением общего объема (принцип Якоби).

Процесс формообразования происходит в условиях совместного действия механических и физико-химических полей. Одним из простых примеров такого взаимодействия являются напряжения, возникающие в среде из-за способности клеток к хемотаксическому движению.

Все микроскопические ростовые процессы обусловлены деятельностью клеток, которые, в свою очередь, до известной степени контролируются макроскопическими физическими полями. Двигательная активность, присущая всем типам клеток, обеспечивается за счет

преобразования химической энергии клетки в механическую. Клеточные движения вызывают возникновение как активных сил в самой клетке, так и сил взаимодействия с окружающей средой. При этом в напряженном состоянии находятся мембраны, цитоскелет и другие элементы клетки. Прямое измерение этих сил и напряженности, как правило, затруднительно.

Двигательная активность одной (единичной) клетки неизбежно создает напряжение и (или) деформации в среде (субстрате, межклеточном веществе или соседних клетках). Так, например, популяция соединительно-тканых клеток (фибробластов), помещенных на коллагеновую подложку с незакрепленными краями, вызывает ее постоянное втягивание со значительным (в десятки раз) уменьшением площади поверхности подложки.

Если же края коллагеновой подложки закрепить, то удастся наблюдать возникновение пространств периодических структур с повышенной концентрацией клеток. Это бесспорный пример самоорганизации живого материала. В этом процессе главенствующая роль принадлежит адгезии (прочности сцепления клетки с субстратом). Мера адгезивности – это энергия, определяющая прочность контакта клетки с субстратом, едва ли может быть количественно оценена при помощи рецепторных систем клетки. Тем не менее допускается, что некоторые другие физические свойства контакта, определяющие, в конечном счете, его энергию, воспринимаются рецепторами. Такие свойства клеток проявляются на анизотропном, растущем в одном направлении, субстрате. Некоторые физические факторы, например гравитационные силы, способны модифицировать степень адгезии клеток к субстрату.

Таким образом, процесс возникновения, формирования и роста живых организмов (морфогенез) является в высшей степени сложным процессом, обусловленным как реализацией внутренней генетической программы, так и действием факторов окружающей среды – физических, химических, механических.

12. Принципы и основные этапы биологической эволюции

Жизнь на Земле возникла около 4,5 миллиардов лет назад. Зародилась ли она спонтанно (традиционный взгляд) или была занесена на Землю в виде спор (гипотеза панспермии), мы точно не знаем. Условно, эволюцию органического мира принято делить на два этапа: химическую и биологическую. Принципиальное отличие первого этапа развития органического мира – химической эволюции, от второго – эволюции биологической заключается в том, что на первом этапе природа из огромного набора химических соединений создала лишь несколько макромолекул, способных к самоорганизации и совершенствованию своей структуры, тогда как в процессе биологической эволюции из незначительного количества отобранных макромолекул появилось колоссальное разнообразие современных живых организмов. Дальнейшее развитие жизненных форм имеет длительный исторический путь, называемый собственно биологической эволюцией.

В основе учения о биологической эволюции лежит концепция А.Н.Опарина о спонтанном возникновении *коацерватных капель* или микросфер из первичного бульона на дне реликтовых водоемов, дальнейшая полимеризация и конденсация, которые привели к появлению *эобионтов* – предтече живых организмов. Образования, возникшие в «первичном бульоне», должны были «научиться» обмениваться с окружающей средой веществом и энергией и расти. Но продолжать свое существование и распространяться они могли лишь «научившись» делиться.

Таким образом, основным условием неизбежности начала биологической эволюции и ее успешного продолжения становится существование механизмов матричного, «конвариантного» воспроизведения с последующим осуществлением естественного отбора перспективных форм. Для этого природа, по-видимому, уже располагала первичными информационными макромолекулами – нуклеотидами и каталитическими структурами – белками. Что возникло раньше: белки или нуклеиновые кислоты – до настоящего времени остается неизвестным. Одни специалисты придерживаются мнения «белки сначала» и

считают, что на первых этапах эволюционного процесса в отсутствие нуклеотидов информационные функции выполняли белки. Другие считают, что белки никогда не могли воспроизводить себя, а информационными свойствами обладали только нуклеиновые кислоты, для чего необходима была их пространственная организация, так как скорость и точность синтеза матричных копий зависит от природы и последовательности мономеров.

Появление белков и нуклеотидов позволило существенно ускорить и, в значительной степени, канализировать эволюционный процесс. Возникшие в результате слияния новые соединения уже были способны к самосборке и дальнейшей самоорганизации в структуры более высокого порядка. Отсюда недалеко было и до появления примитивной клетки (протоклетки). Но способность к самосборке, очевидно, была лишь началом появления клетки; для ее окончательного формирования необходим был еще один шаг – вычленение (обособление) этой структуры из открытой среды. Главный инструмент и материальная основа для реализации этого механизма – биологическая мембрана.

Необходимость возникновения на самых ранних этапах биологической эволюции мембраны, ограничивающей содержимое клетки от внешнего окружения, диктовалась, прежде всего, тем обстоятельством, что хотя живые системы и должны быть открытыми относительно окружающей среды для обмена с ней веществом и энергией, но эта «открытость» должна была быть дифференцированной.

Другими словами, мембрана, ограничивающая объем клетки, должна была обладать селективными свойствами, позволяющими ей свободно пропускать одни вещества как во внутрь клетки, так и во внешнюю среду, но быть закрытой для других.

Для поддержания стационарного состояния в живой системе необходим постоянный приток энергии. Но это, как уже было сказано выше, только одно из двух обязательных условий. Второе условие – наличие структуры, использующей эту энергию. Смысл биологической эволюции как раз и состоит в формировании структурного механизма, способного воспринимать и реализовывать с высокой эффективностью эту энергию. На всем протяжении эволюционного процесса происходило постепенное и постоянное формирование разнообразных типов структурных приспособлений, способных эффективно извлекать свободную энергию из окружающей среды.

Предполагается, что самая простая прокариотическая клетка как самостоятельный одноклеточный организм возникла около 3,5 миллиардов лет назад, и только через 2 миллиарда лет после этого события сформировалась эукариотическая клетка, лежащая в основе всех многоклеточных организмов.

В силу разных причин, одна из которых заключалась в необходимости нейтрализации воздействия гравитационного фактора, изначальный одноклеточный организм мог возникнуть и эволюционировать достаточно долгое время только в водной среде, обеспечивающей все необходимые условия для функционирования жизни, по крайней мере на клеточном уровне. В самом деле, иммерсионная среда, наряду с другими преимуществами, позволяет в значительной степени ослабить механический «стресс», обусловленный наличием силы тяжести.

В этом случае клетке, находясь в воде, во избежание гидростатического «стресса», достаточно было выработать хорошо отлаженный механизм осморегуляции, который давал возможность не только сохранять необходимый концентрационный градиент основных минеральных элементов (ионов K, Na, Mg, Ca), но и поддерживать свою структурную стационарность.

Главные трудности, с которыми столкнулись живые организмы на гораздо поздних стадиях эволюции при смене водной среды обитания на сухопутную, состояли в решении ряда проблем, основными из которых были: противостояние гравитационному фактору (нейтрализация воздействия силы тяжести), необходимость наличия механизмов термо- и гидрорегуляции, и размножение и сохранение потомства в новых условиях обитания.

В процессе эволюции происходили изменения в морфологии, архитектуре и биомеханических свойствах живых организмов.

На самых ранних этапах эволюции основным способом использования энергии в живых системах был гликолитический путь, где глюкоза использовалась в качестве непосредственного источника энергии («топливного сырья»). Осуществление этой реакции в живой системе обходилось без участия кислорода, так как этот элемент присутствовал в атмосфере Земли в ничтожных количествах, а живые системы не имели еще четких механизмов, приспособленных для утилизации кислорода.

Как полагают, первые клетки были анаэробными гетеротрофами, использовавшими в качестве строительного материала и топливного сырья растворенные в воде органические соединения. По мере роста и размножения этих первых клеток запасы органических веществ в «древних» водоемах постепенно истощались.

В этих условиях выжить могли лишь те клетки, которые приобрели способность использовать в качестве строительного материала простейшие органические соединения, в частности двуокись углерода, а в качестве источника энергии – солнечный свет.

Около 3 миллиардов лет назад на Земле появилась новая форма организации живой материи, обладающей уникальными свойствами усваивать солнечную энергию в процессе, который получил название фотосинтеза. Это были аутоотрофные организмы. Отличительной особенностью аутоотрофов было наличие в их клетках зеленого пигмента хлорофилла, способного с использованием кванта солнечной энергии расщеплять молекулу воды на кислород и водород («световая» реакция фотосинтеза), а затем, с использованием CO_2 атмосферы, синтезировать первичный органический субстрат-глюкозо-1-6-фосфат с освобождением кислорода («темновая» реакция).

Таковы были магистральные пути совершенствования энергетических механизмов в живых системах по мере развития органического мира. Какова же была стратегическая линия развития живой природы? Несомненно, в основе биологической эволюции лежит механизм естественного отбора, открытый и четко сформулированный Ч.Дарвиным. Существуют два основных существенно различающихся между собой механизма отбора.

К первому классу относятся «адаптационные» механизмы. Подобные механизмы встречаются в физике, химии и технике. Основная их особенность состоит в том, что они позволяют в принципе предвидеть развитие событий – прогнозировать их. Адаптационные механизмы, это самонастройка, обеспечивающая развивающейся живой системе устойчивость (стабильность) в данных конкретных условиях внешней среды.

Второй класс механизмов – это пороговые или бифуркационные механизмы. Их проявление и роль в биологии значительно сложнее, а реализация происходит путем катастроф (катаклизмов). Главная особенность бифуркационных процессов – непредсказуемость путей дальнейшего развития, т.к. невозможно, в принципе, предсказать, по какому пути пойдет эволюция, ибо окончательный выбор пути обусловлен влиянием случайных возмущений как в самой системе, так и в окружающей среде.

Вместе с тем важное место в эволюции живых систем занимают переходные процессы, отличающиеся различными квазистабильными состояниями, т.е. отсутствием четких границ, что в значительной степени способствует формированию обратной связи между двумя устойчивыми системами. При этом следует иметь в виду, что любые более или менее устойчивые структуры и любой процесс самоорганизации это всегда результат компромисса между противоположными тенденциями.

Возникновение и развитие органического мира на Земле неразрывно связано с эволюцией нашей планеты. Существенная роль в этом процессе принадлежит гравитации.

Участие гравитационных сил изначально было одним из обязательных условий локализации и разделения «первичной материи» на три сферы: атмосферу, гидросферу и литосферу, что привело к образованию субстрата и появлению оси симметрии. Гравитационное поле на протяжении миллионов лет с момента появления клетки формировало функциональную морфологию организмов.

Огромное разнообразие организмов, растительных и животных, когда-либо населявших нашу планету и ныне существующих на Земле, имеют одного (гипотетического) прародителя – примитивный одноклеточный организм, возникший в водной среде.

В различные периоды биологической эволюции значение отдельных факторов, формирующих морфофункциональный статус организмов, было неодинаковым.

Если на первых этапах эволюционного процесса – в период развития в водной среде, происходило становление базовых процессов жизнедеятельности (поддержание постоянства концентрационных градиентов минеральных элементов между внутриклеточным объемом и внешней средой, извлечение питательных веществ из окружающей среды, нейтрализация и удаление отходов жизнедеятельности организма), то на более поздних стадиях эволюции, особенно в период развития и выхода живых организмов из воды на сушу, расселения их на поверхности Земли и освоения ими воздушного пространства, важнейшее значение приобретает формирование средств и механизмов, противостоящих возросшему влиянию гравитации.

Таким образом сила тяжести начинает оказывать все более существенное влияние на морфофункциональный статус и энергозатраты организмов всех типов.

Совершенствование структурных и энергетических механизмов адаптации живых систем (растений и животных) прослеживается довольно четко на всех этапах эволюции, от одноклеточных организмов до млекопитающих. Наиболее важным и принципиальным для эволюционной истории, с этой точки зрения, был период выхода организмов из воды на сушу. Этот период смены среды обитания даже в масштабах биологической эволюции был очень длительным – около 300 млн. лет.

Результатом выхода живых организмов на сушу было ускорение процесса эволюции, благодаря расширению жизненного пространства, увеличению разнообразия живых существ и изменению состава факторов среды.

Нейтрализация существенно возросшего влияния силы тяжести в структурном плане происходила довольно радикально, в основном за счет совершенствования опорно-двигательного аппарата, что дало возможность организмам не только эффективно противостоять силе тяжести, но и активно передвигаться в пространстве.

Гораздо более консервативной была эволюция при совершенствовании энергетических характеристик. Так, например, основные принципы метаболизма со времени появления аэробов не изменились и включают три главные позиции: синтез богатых энергией соединений аденозин-трифосфатов (АТФ), образование промежуточных продуктов (интермедиатов) для синтеза крупных молекул и генерирование биологических восстановителей (НАДФ). В результате сочетания трех перечисленных функций организм, в том числе и одноклеточный, создает на основе крупных молекул (нуклеиновых кислот, белков, углеводов и жиров) все необходимые компоненты жизни.

Существенно менялась и совершенствовалась лишь надстройка – система регуляции метаболизма. Именно регуляция метаболизма была и остается главным связующим звеном между клеткой и более высокими уровнями организации живых систем в цепи морфофункциональных перестроек, происходящих в живых системах в процессе их приспособления к новым условиям существования.