

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ «КИЇВСЬКИЙ
ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ
імені ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО»

ПРИКЛАДНА БІОФІЗИКА

ВИБРАНІ РОЗДІЛИ

ЧАСТИНА 1

*Рекомендовано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського
як навчальний посібник для здобувачів ступеня бакалавр
за освітньою програмою «Електронні мікро- і наносистеми та технології»
спеціальності 153 мікро-та наносистемна техніка*

Київ
КПІ ім. Ігоря Сікорського
2021

Прикладна біофізика. Вибрані розділи. Частина 1. Навчальний посібник [Електронний ресурс] : навч. посіб. для студ. спеціальності 153 - «Мікро-та наносистемна техніка» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: М.О. Ніколов – Електронні текстові дані (1 файл: 5,5 Мбайт). – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. – 199 с.

Гриф надано Методичною радою КПІ ім. Ігоря Сікорського (протокол № 2 від 09.12.2021 р.)

за поданням Вченої ради факультету електроніки (протокол № 11/21 від 29.11.2021 р.)

Електронне мережне навчальне видання

ПРИКЛАДНА БІОФІЗИКА

ВИБРАНІ РОЗДІЛИ

ЧАСТИНА 1

Укладач *Ніколов Микола Олександрович, к.т.н. доц.*

Відповідальний редактор *В.І. Тимофєєв, д.т.н., проф.*

Рецензент *Є.А. Настенко, д.біол.н. проф.*

У навчальному посібнику розглядається три теми: термодинаміка біологічних систем, молекулярна біофізика, біофізика клітини. Основна увага фокусується на таких поняттях як ентропія та інформація, ланцюги Маркова, уявлення про дисипативні структури; особливості «хімії живого», структурні особливості білків та ферментів; структура клітинних мембран та транспорт через них. Посібник представляє собою розширений варіант лекцій за зазначеними темами, які є базисними для вивчення розділів біофізики: біоелектричні процеси, взаємодія фізичних факторів з біофізичними системами, математичне моделювання біофізичних процесів.

Видання орієнтоване на студентів 3-4 курсу, які навчаються за спеціальністю 153- «Мікро- та наносистемна техніка» з уклоном на біомедицину.

Зміст

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ТЕРМОДИНАМІКА БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ	8
1.1 Загальні поняття термодинаміки.....	8
1.2 Елементи теорії інформації.....	10
1.2.2 Формула Шеннона.....	11
1.2.3. Умовна ентропія	13
1.2.4. Властивості ентропії і інформації.....	15
1.2.5. Термодинамічна ентропія	16
1.3 Ентропія складних динамічних систем	19
1.4 Ланцюги Маркова	23
1.5. Організм як відкрита система.....	34
1.5.1 Проблеми термодинаміки та самоорганізації.....	35
1.5.2. Дисипативні структури	37
1.5.3. Стійкість і біфуркації	39
1.5.4. Флуктуації	40
1.5.6. Біологічні структури	41
1.5.6. Жива речовина біосфери за теорією Вернадського	42
Контрольні запитання до розділу 1	49
РОЗДІЛ 2. МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА	51
2.1. Особливості «хімії живого».....	51
2.2. Види взаємодії атомів у біологічних молекулах	52
2.2.1. Ковалентний зв'язок – сильний зв'язок	52
2.2.2. Слабкі зв'язки	54

2.3. Водневий зв'язок і структура води.....	58
2.4. Елементарний хімічний склад організму людини	63
2.5. Амінокислоти	64
2.6. Білки та їх основні властивості	66
2.7. Електрофоретична рухливість.....	72
2.8. Хіральність. Асиметрія біологічних молекул.....	78
2.9 Клубок і глобула	82
2.10. Будова білків	83
2.11. Білки гемоглобін та міоглобін.....	89
2.12. Білки-ферменти.....	93
2.13. Радіоімунний та імуноферментний методи аналізу.....	105
Контрольні запитання до розділу 2	114
РОЗДІЛ 3. БІОФІЗИКА КЛІТИНИ.....	117
3.1. Загальні уявлення про клітину	117
3.2. Методи дослідження клітин	119
3.3. Електронна мікроскопія.....	123
3.4. Загальна будова клітини.....	127
3.5. Біофізика мембран	129
3.5.1. Функції біомембран.....	129
3.5.2. Структура і склад біомембран.....	131
3.5.3. Самоорганізація ліпідів.....	142
3.5.4. Оптимальна площа поверхні, що припадає на молекулу ліпиду	148
3.3.5. Штучні бішарові мембрани	150
3.5.6. Механічні властивості мембран.....	156

3.5.7. Прості моделі руху мембранних компонентів.....	165
3.6. Обмін речовинами між клітиною і навколишнім середовищем	168
3.6.1. Дифузія	168
3.6.2. Осмос	174
3.6.3. Активний транспорт, натрієвий насос.....	177
3.6.4. Вплив Na / K-насоса на мембранний потенціал і об'єм клітини	181
3.6.5. Концентраційний градієнт Na ⁺ як рушійна сила мембранного транспорту	182
3.6.6. Ендо- та екзоцитоз.....	184
3.7. Клітинний цикл	190
Контрольні запитання до розділу 3	193
ЛІТЕРАТУРА	196

ВСТУП

Біофізика – це наука, що вивчає фізичні властивості біологічних об'єктів та фізичні явища в біологічних системах. Виявилось, що для вивчення принципів функціонування живої матерії та відповідних систем, а також розробки приладів та пристроїв для вимірювання їх характеристик та впливу на біологічні об'єкти необхідні знання та уявлення не тільки в галузях біології та медицини, а й в інженерно-технічних. Інтегрування методів дослідження та аналізу з різних галузей знань породило нову гілку на дереві науки – біофізику.

Термін «біофізика» своєю появою завдячує двом вченим: англійському математику та біологу Карлу Пірсону (1857-1936) та французькому фізику Жаку Арсену Д'Арсонвал (1851-1940). У 1892 році Пірсон організував кафедру в Коледжі де Франс, яку назвав «кафедрою біофізики», головною науковою темою якої було вивчення впливу змінних струмів на біологічні об'єкти.

Сучасна біофізика умовно поділяється на три області: молекулярна біофізика, біофізика клітини та біофізика складних систем. Неважко помітити ієрархічну структуру цих галузей.

Молекулярна біофізика, вивчає фізико-хімічні властивості біологічно функціональних молекул, насамперед біополімерів – білків та нуклеїнових кислот. Завдання молекулярної біофізики стоять у розкритті фізичних механізмів, відповідальних за біологічну функціональність, наприклад, за каталітичну активність білків-ферментів.

Теоретичний апарат молекулярної біофізики – рівноважна та нерівноважна термодинаміка, статистична та квантова механіка. Для експериментального дослідження біологічно функціональних молекул застосовується широкий арсенал фізичних методів: седиментація та ультрацентрифугування, розсіювання світла та рентгенівських променів, рентгеноструктурний аналіз, спектри поглинання в інфрачервоній та

ультрафіолетовій областях, ядерно та електронний парамагнітний резонанси та електронна мікроскопія.

Біофізика клітини вивчає надмолекулярні клітинні та субклітинні структури. Головні завдання пов'язані з вивченням фізики біологічних мембран та біоенергетичних процесів. Біофізика клітини вивчає генерацію та розповсюдження нервового імпульсу, м'язове скорочення, фотосинтез та зір. До методів біофізики клітини належать мікроелектродні методи дослідження електричних явищ у живій матерії, а також метод мічених атомів – радіоактивних та стабільних ізотопів.

Біофізика складних систем спрямована на вивчення надмолекулярної та клітинної організації життя, включаючи тканинний, органний, організмений рівні організації, у тому числі «соціальну» самоорганізацію.

В даному посібнику Основна увага фокусується на перших двох макроскопічних зазначених областях біофізики, де розглядаються такі поняття як ентропія та інформація, ланцюги Маркова, надається уявлення про дисипативні структури; особливості «хімії живого», структурні особливості білків та ферментів; структура клітинних мембран та транспорт через них. Крім того в посібнику акцентується увага, що на всіх рівнях організації живої матерії проявляються ефекти самоорганізації та динамічно-стійких структур.

РОЗДІЛ 1. ТЕРМОДИНАМІКА БІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМ

1.1 Загальні поняття термодинаміки

Під **термодинамікою** (ТД) розуміють розділ фізики, який розглядає системи, між якими відбувається обмін енергією. Під обміном енергією також розуміється перетворення одного виду енергії в інший.

Розрізняють наступні види ТД:

- **рівноважну** ТД (система, яка знаходилась у збудженому стані, прямує до врівноваженості; врівноваженість означає, що в будь якій точці системи не відбуваються зміни у часі);

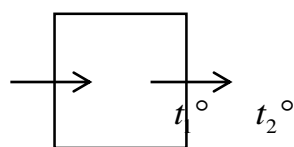
- **нерівноважну** ТД.

Одним з важливих понять в ТД є *стаціонарність/не стаціонарність системи*.

Стаціонарна система – система, основні процеси якої не змінюються в часі. Проте стаціонарність системи не означає однаковість того чи іншого параметра в середині системи. Наприклад, температура в різних точках організму різна.

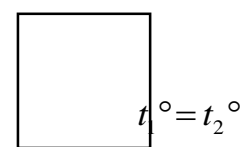
Також необхідно розглядати **наступні види систем** (рис.1.1):

- відкриті;
- ізольовані (замкнуті);
- закриті.



$$t_1 \neq t_2$$

a)



врівноважена система

б)

Рис. 1.1. Ілюстрація відкритої (a) та ізольованої (б) системи

Відкриті системи обмінюються з оточуючим середовищем інформацією, енергію та масою.

Система, яка не взаємодіє зі зовнішнім середовищем, називається ізольованою. Ізольована система не здійснює ні масообміну, ні теплообміну з іншими системами. У термодинаміці постулюється, що ізольована система поступово прямує до стану термодинамічної рівноваги, з якого самостійно вийти не в змозі.

Закрита система – система, яка не обмінюється своєю речовиною з навколишнім середовищем, але може обмінюватись енергією на відміну від ізольованої системи. Закрита термодинамічна система може отримувати енергію від зовнішніх тіл. Аналогічно, вона здатна віддавати енергію, виконуючи роботу над зовнішніми тілами, або віддаючи тепло.

В природі ізольованих систем у чистому вигляді не існують. Проте в тому чи іншому випадку з певними обмеженнями такі моделі використовуються в практиці. Наприклад, флакон з іонним розчином, що підігрівається за допомогою зовнішнього джерела електромагнітного випромінення, можна вважати відкритою системою, оскільки, поряд з накопиченням електромагнітної енергії і перетворенням її в тепло, велика частка енергії випромінюється рідиною в інфрачервоному діапазоні; крім того, велика частка тепла втрачається за рахунок її конвекції в оточуюче середовище (наприклад, у повітря). Втрати тепла можна суттєво зменшити, якщо флакон з розчином екранувати, наприклад, поролоном. В цьому випадку систему після закінчення опромінення в залежності від практичної задачі можна вважати ізольованою.

Головне завдання ТД полягає в тому, щоб визначити таку універсальну характеристику, яка б відображала зміни енергетичного стану при переході з одного стану в інший. Такою універсальною характеристикою є внутрішня енергія U . В класичній ТД:

$$U = f(m, v, p, t)$$

де m – маса, v – об'єм, p – тиск, t - час.

Перший закон ТД (закон збереження енергії). Для ізольованої системи повний запас енергії постійний: $U = const$, $\Delta U = 0$. Можливі лише перехід однієї енергії в іншу в еквівалентних співвідношеннях.

Також це справедливо і для циклічних процесів: $\oint du = 0$

Другий закон ТД. Перший закон ТД не показує напрямок протікання процесів, він статичний.

II закон ТД дає можливість оцінити здатність системи змінюватись в певному напрямку: *система здатна самостійно змінювати свій стан (рухатися) від більш високого рівня внутрішньої енергії до більш низького.*

Наприклад: падіння води в водопадах, рух тепла, електричний струм.

Ці приклади руху є необоротними. Рух відбувається до стану врівноваженості. Якщо в напрямку руху є перешкоди – виникає метастабільна врівноваженість.

1.2 Елементи теорії інформації

1.2.1 Кількість інформації

Відкриті та саморегульовані системи вимагають генерації і передачі інформації по каналах прямого і зворотного зв'язку. Теорія зв'язку застосовує кількісну міру вже наявної інформації. Така теорія досліджує способи кодування повідомлення, використання надмірності, оптимізації, подолання «шумів» і т. д.

Кількість інформації при виборі P_1 подій з P_0 рівноймовірних подій визначається як:

$$I = K \log P_0 / P_1 \quad (1.1)$$

де K – деякий коефіцієнт.

Якщо $P_1 = I$, то:

$$I = K \log P_0 \quad (1.2)$$

При такому визначенні виходить адитивність інформації. Так, результат кидання однієї гральної кістки дає кількість інформації $K \log 6$, результат кидання двох кісток дає вдвічі більшу кількість інформації $2K \log 6 = K \log 36$. Для кількісних розрахунків потрібно визначити основу логарифмів і значення K .

Користуючись основою 2 і приймаючи $K=1$, маємо:

$$I = K \log P_0 \quad (1.3)$$

Таке визначення кількості інформації відповідає задачам з деяким числом n різних незалежних виборів, кожен з яких зводиться до двійкової альтернативи. При цьому $P_0=2^n$ і, згідно (1.3):

$$I = \log_2 2^n = n \text{ біт} \quad (1.4)$$

Одиницею інформації служить один біт, що відповідає одному вибору з двох рівноймовірних можливостей, тобто $P_0=2$.

При киданні кістки:

$$I = \log_2 6 = 2,585 \text{ біт.}$$

Скільки біт інформації містить довільне тризначне число? Перша цифра має 9 різних значень – від 1 до 9, друга і третя – по 10 значень – від 0 до 9. Маємо:

$$I = \log_2 9 + 2 \log_2 10 = 2,64 + 2 \cdot 3,32 = 9,28 \text{ біт}$$

Прийняте визначення інформації відповідає двійковій системі числення, в якій будь-яке число записується у вигляді степенів числа 2 за допомогою цифр 0 і 1. Одна десяткова одиниця дає 3,32 біт, тобто двійковий запис числа вимагає в середньому в 3,32 рази більше цифр, ніж десяткова.

1.2.2 Формула Шеннона

Припустимо, що є повідомлення, яке містить G послідовних комірок – скажімо, текст з G послідовних літер. В кожній з G комірок може знаходитись одна з M букв (для української мови $M=33$). В повідомленні міститься N_1 літер А, N_2 літер Б і так далі. Маємо:

$$G = \sum_{j=1}^{j=M} N_j$$

Ймовірність появи даної літери дорівнює:

$$p_j = N_j / G$$

Причому

$$\sum_{j=1}^M p_j = 1.$$

Загальна кількість P повідомлень, тобто послідовностей з G літер M -літерної мови, дорівнює:

$$P = \frac{G!}{\prod_{j=1}^M N_j!}$$

Вводячи натуральні логарифми, отримуємо інформацію, що міститься в одному повідомленні:

$$I = K \ln P = K[\ln(G!) - \sum_{i=1}^M \ln(N_i!)] \approx K(G \ln G - \sum_{i=1}^M N_i \ln N_i)$$

Тут передбачається, що $G, N_i \geq 1$ і застосовано формулу Стірлінга (формула для наближеного розрахунку факторіалів при великих значеннях n).

Отже:

$$I \approx -KG \cdot \sum_{i=1}^M \frac{N_i}{G} \ln \frac{N_i}{G} = -KG \cdot \sum_{i=1}^M p_i \ln p_i$$

Ми отримали формулу Шеннона. Переходячи до двійкового визначення, приймемо що:

$$K = (\ln 2)^{-1}$$

Тоді:

$$I = -G \sum_{i=1}^M p_i \log_2 p_i$$

Кількість інформації, що приходить на одну літеру, дорівнює:

$$i = I / G = - \sum_{i=1}^M p_i \log_2 p_i$$

Кількість інформації можна вважати як міру невизначеності в тому сенсі, що система може перебувати в будь-якому стані в межах інформаційного «поля». Цю невизначеність в біофізиці зазвичай називають **ентропією**.

1.2.3. Умовна ентропія

Справжній мовний текст містить меншу кількість інформації, якщо її оцінювати тільки за кількістю знаків тому, що в ньому є додаткові обмеження. Ймовірності послідовної появи букв взаємопов'язані й утворюють **ланцюг Маркова**, тобто ймовірність появи даної літери залежить від того, які букви їй передували. Так, в російській мові поява голосної слідом за голосною набагато менше імовірно, ніж після приголосної. Будь яка кореляція подій зменшує кількість інформації, що міститься в повідомленні про них.

Якщо вихідні події не рівноймовірні і розподіл ймовірностей задано, то кількість інформації при виборі одного або декількох подій менше, ніж у випадку рівноймовірності. Завдання розподілу ймовірностей означає наявність деякої попередньої інформації про вихідне повідомлення. Ця попередня інформація віднімається з одержуваної.

Умовною ентропією першого порядку (аналогічно для Марковської моделі першого порядку) називається ентропія для алфавіту, де відомі ймовірності появи однієї літери після іншої (тобто ймовірності двохлітерних/двохсимвольних поєднань):

$$H_1(S) = - \sum_{i=1} p_i \sum_j p_i(j) \log_2 p_i(j)$$

де i - стан, залежний від попереднього символу, $p_i(j)$ - ймовірність j при умові, що i був попереднім символом.

Через умовні ентропії повністю описуються інформаційні втрати при передачі даних в каналі з перешкодами. Для цього застосовуються так звані каналні матриці. Для опису втрат з боку джерела (тобто відомого посланого сигналу) розглядають **умовну ймовірність** $p(b_j | a_i)$ отримання приймачем символу b_j за умови, що був відправлений символ. При цьому, канална матриця має наступний вигляд (рис.1.2):

	b_1	b_2	...	b_j	...	b_m
a_1	$p(b_1 a_1)$	$p(b_2 a_1)$...	$p(b_j a_1)$...	$p(b_m a_1)$
a_2	$p(b_1 a_2)$	$p(b_2 a_2)$...	$p(b_j a_2)$...	$p(b_m a_2)$
...
a_i	$p(b_1 a_i)$	$p(b_2 a_i)$...	$p(b_j a_i)$...	$p(b_m a_i)$
...
a_m	$p(b_1 a_m)$	$p(b_2 a_m)$...	$p(b_j a_m)$...	$p(b_m a_m)$

Рисунок 1.2 – Канальна матриця

Очевидно, ймовірності, розташовані по діагоналі, описують ймовірність правильного прийому, а сума всіх елементів стовпця дає ймовірність появи відповідного символу на стороні приймача — $p(b_j)$. Втрати, що припадають на переданий сигнал a_i , описуються через приватну умовну ентропію:

$$H(B | a_i) = - \sum_{j=1}^m p(b_j | a_i) \log_2 p(b_j | a_i)$$

Для обчислення втрат при передачі всіх сигналів використовується загальна умовна ентропія:

$$H(B|A) = \sum_i p(a_i) H(B|a_i)$$

де $H(B|A)$ означає ентропію з боку джерела.

Аналогічно розглядається $H(A|B)$ – ентропія з боку приймача: замість $p(b_j|a_i)$ всюди вказується $p(a_i|b_j)$ (підсумовуючи елементи рядка можна отримати $p(a_i)$, а елементи діагоналі означають ймовірність того, що був відправлений саме той символ, який отриманий, тобто ймовірність правильної передачі).

Таким чином, більш загальне визначення кількості інформації – це кількість інформації (ентропії/негентропії) в одному випадковому об'єкті щодо іншого.

Нехай x і y - випадкові величини, задані на відповідних множинах X і Y . Тоді кількість інформації x щодо y є:

$$I(x, y) = H(x) - H(x|y)$$

де $H(x) = -\sum_{x \in X} p(x) \log_2 p(x)$ – ентропія,

$H(x|y) = -\sum_{y \in Y} p(y) \sum_{x \in X} p(x|y) \log_2 p(x|y)$ – умовна ентропія. В теорії

передачі інформації вона характеризує шум у каналі, кореляцію, повторення, надлишковість.

1.2.4. Властивості ентропії і інформації

Для ентропії справедливі наступні властивості:

$$0 \leq H(x) \leq \ln(m),$$

де m кількість елементів множини X .

При цьому, $H(x) = 0$, якщо один з елементів множини реалізується з імовірністю 1 , а решта, відповідно, 0 , в силу того, що $1 \ln 1 = 0$ і $0 \ln 0 = 0$.

Максимум значення ентропії $H(x) = \ln(m)$ досягається, коли всі $p(x) = 1/m$, тобто всі результати рівноймовірні.

Для умовної ентропії справедливі властивості:

$$0 \leq H(x|y) \leq H(x).$$

При цьому, $H(x|y) = 0$, якщо відображення Y в X однозначне, тобто

$$\forall y \exists x: p(x|y) = 1$$

Максимум значення умовної ентропії $H(x|y) = H(x)$ досягається, коли x і y - незалежні випадкові величини.

Для кількості інформації справедливі властивості:

1. $I(x, y) = I(y, x)$, як наслідок теореми Байеса.
2. $I(x, y) \geq 0$;
3. $I(x, y) = 0$, якщо x і y - незалежні випадкові величини.
4. $I(x, x) = H(x)$.

Остання властивість показує, що кількість інформації збігається з ентропією, якщо компонента втрати інформації (шум) дорівнює нулю.

1.2.5. Термодинамічна ентропія

Все викладене істотно для теорії і практики зв'язку. Але теорія інформації має і прямий фізичний зміст. Подібно кількості інформації, ентропія виражається, як логарифм термодинамічної ймовірності W - числа мікростанів, що реалізують даний макростан, тобто:

$$S = k \ln W \quad (1.5)$$

де $k = 1,38 \cdot 10^{-16}$ ерг. град⁻¹ – **постійна Больцмана**.

Зіставимо формули (1.2) і (1.5). Подання кількості інформації у вигляді:

$$I = K \ln P$$

дозволяє висловлювати інформацію в ентропійних одиницях. Чи має це реальний сенс? Зменшення числа мікростанів системи означає збільшення

кількості інформації про систему і одночасно зменшення ентропії. Таким чином, інформація еквівалентна **негентропії** - ентропії зі знаком мінус.

Нехай число мікростанів спадає від P_0 до P_1 . Кількість одержуваної при цьому інформації складає:

$$I = K \ln\left(\frac{P_0}{P_1}\right) = S_0 - S_1$$

тобто I дорівнює зменшенню ентропії або збільшенню негентропії.

Негентропійне тлумачення інформації було запропоновано Сциллардом.

В термодинаміці ентропія визначається також як:

$$S = \frac{Q}{T}$$

де T – температура, Q – кількість тепла.

Для ідеального газу ентропія оцінюється за формулою:

$$S = \frac{Q}{T} = C_v \ln T + R \ln V + const; \quad \Delta S = R \ln \frac{V_2}{V_1}$$

де C_v – теплоємність системи при постійному об'ємі; V_1, V_2 – об'єм системи в момент часу t_1 та t_2 відповідно.

Безпосередньо ентропія не показує напрямку протікання процесу; про динаміку судять по зміні ентропії ΔS :

$$\Delta S = S_2 - S_1 = \frac{\Delta Q}{T},$$

де $T = const$.

Для систем, що надані самі до себе зміна ентропії завжди додатні $\Delta S \geq 0$, де; $\Delta S = 0$ - для ідеально оборотних процесів, $\Delta S > 0$ - для необоротних процесів (процесів з тертям).

Ентропію розглядають як міру хаосу. Розглянемо комірку із трьох мікрокомірок (рис.1.3):

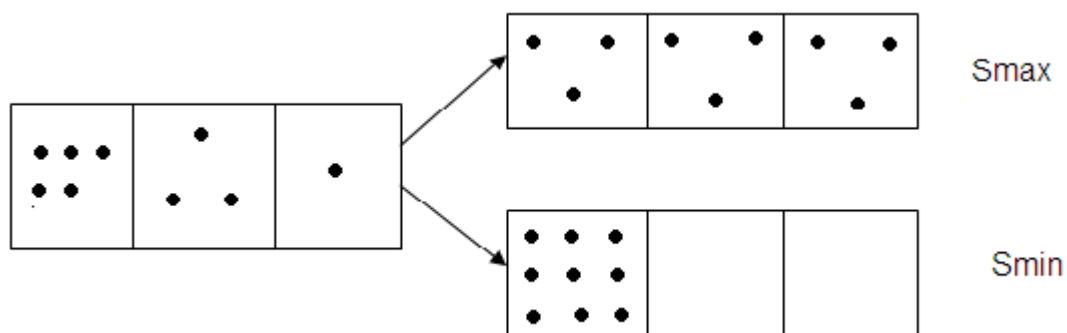


Рис. 1.3 – Ентропія як міра невизначеності/хаотичності

В стані S_{min} всі атоми чи елементи системи перебувають в одній комірці. Такий стан системи означає, що через деякий час один з атомів перескаче в іншу комірку. Ця подія неминуха, якщо комірки зв'язані, передбачаються відповідні переходи атомів, а самі атоми знаходяться в постійному броунівському русі. В стані S_{max} система знаходиться в рівновазі; цей стан може тривати нескінченно довго. Крім того, невідомо, як / в якому напрямі зміниться стан системи, якщо подія переходу відбудеться. Стан S_{max} відповідає максимальній ентропії – максимальній невизначеності (непорядкованості).

Кожний стан характеризується термодинамічною ймовірністю ω :

$$\omega = \frac{N!}{N_1!N_2!N_3!\dots N_n!}$$

де ω – кількість способів при яких N молекул можна розташувати в i -й мікрокомірці.

$$N = \sum N_i$$

$$S = k_0 \ln \omega$$

Чим більша упорядкованість, тим менша ентропія, чим більше система хаотична – тим більша ентропія.

При змішуванні N_1 молекул газу 1 і N_2 молекул газу 2 ентропія створеної суміші більше ентропії розділених газів S_0 на величину ентропії змішання:

$$\Delta S = S - S_0 = -KN(p_1 \ln p_1 + p_2 \ln p_2) > 0$$

де $N = N_1 + N_2$, $p_1 = N_1 / (N_1 + N_2)$, $p_2 = N_2 / (N_1 + N_2)$.

Це рівнозначно зменшенню кількості інформації на ту ж величину. Отже, вихідна інформація становила:

$$I_0 = -KN(p_1 \ln p_1 + p_2 \ln p_2)$$

Отриманий вираз збігається з формулою Шеннона. Один біт інформації еквівалентний $K \ln 2$, тобто $\sim 10^{-16}$ ерг/град (1 Дж = 10^7 ерг; град. – температура за Кельвіном; K – постійна Больцмана) - вельми малій величині.

Рідина має більшу ентропією, ніж кристал, так як її стан може бути реалізовано великим числом способів розподілу молекул, ніж стан кристала. При кристалізації рідини ми отримуємо інформацію про розташування молекул у вузлах кристалічної решітки. Рідину потрібно охолодити, що неможливо в адіабатичному процесі. Для її охолодження необхідний холодильник, температура і ентропія якого будуть зростати. Зростання ентропії холодильника перевищить отримувану інформацію про кристал, виражену в ентропійних одиницях.

1.3 Ентропія складних динамічних систем

Оцінити кількість інформації, що міститься у складних динамічних системах, наприклад, в клітині і в організмі, важко. Можна вважати, що інформація (тобто впорядкованість), що забезпечує біологічну функціональність, повністю визначається атомною структурою. Вчені Данков і Кастлер оцінили кількість інформації, необхідну для відбору одного атома з усього набору атомів в клітині для того, щоб визначити його положення з точністю, що визначається тепловими коливаннями при температурі тіла. За їх оцінкою на одну клітку *Esherichia coli* припадає порядку 10^{10} біт, на одну зиготу ссавця - близько 10^{15} біт, на людський організм - порядку 10^{25} біт (тобто 10^9 ерг/град ~ 24 кал / град в ентропійній мірі). Якщо вважати ці розрахунки

коректними, то $I_2 \equiv I_{\text{організма}} \gg I_{\text{зиготи}} \equiv I_1$. Ельзассер вважав недоступним у фізичному розумінні зростання кількості інформації/ентропії з I_1 до I_2 . Проте, насправді, тут немає труднощів.

Зміну кількості інформації у відкритій системі можна представити у вигляді:

$$\Delta I = \Delta_1 I + \Delta_e I$$

Член $\Delta_1 I < 0$ виражає зменшення I внаслідок внутрішніх процесів, для яких $\Delta_i S > 0$. В організмі, що розвивається $\Delta_e I > 0$. Маємо:

$$I_2 = I_1 + \Delta_e I + \Delta_1 I$$

Так як $I_2 \gg I_1$, очевидно, що $\Delta_e I \gg I_1 - |\Delta_1 I|$.

Тобто інформація отримується відкритою системою з навколишнього середовища. Організм, що росте з зиготи, нагадує у цьому сенсі кристал, зростаючий із зародка, поміщеного в насичений розчин. В обох випадках зростання впорядкованості, зростання кількості інформації, перебивається збільшенням ентропії навколишнього середовища.

Інформація в організмі передається молекулами та іонами, вона має хімічну природу. Рецепція інформації зводиться до впізнавання молекул молекулами, вона визначається їх взаємодіями. Саме в такому сенсі організм є хімічною машиною, і в цьому його відмінність від «роботів», створених руками людини. У сучасних кібернетичних пристроях сигнали мають електричну або магнітну природу, в організмі сигналами служать молекули. Кастлер ввів в розгляд молекулярної інформації принцип **сигнатури**. Взаємодія молекул означає передачу інформації. При цьому зазвичай передається не вся інформація, що міститься в молекулі, але лише деяка її частина, іменована сигнатурою. Сигнатурою молекули служать ті її особливості, завдяки яким вона бере участь в даній реакції. Поняття

однозначності і багатозначності молекулярних сигнатур, надійності їх дії мають реальний фізичний зміст.

Всяка передача інформації неідеальна – в ході передачі відбувається часткове руйнування інформації внаслідок перешкод або помилок.

Розглянемо передачу генетичної інформації.

Кількість інформації в генетичному повідомленні дорівнює:

$$I \leq I_0 - \ln$$

де I_0 – вихідна кількість інформації, \ln – «шумові» втрати внаслідок помилок у процесі подвоєння хромосом в зародковій або соматичній клітині, а також помилок у рецепції генетичної інформації, тобто в синтезі білка. \ln можна виразити через ймовірність прочитання або переходу від «букви» сорту 'Г' до «букви» сорту 'j' (кодування), яку ми позначимо через $p_i(j)$. Ймовірність появи «букви» 'i' позначимо через $p_i(i)$. Тоді:

$$I = I_0 + \sum_{i,j} p(i) p_i(j) \log_2 p_i(j)$$

Припустимо, що на генетичну систему виявляється деякий вплив, що характеризується мірою λ . Наприклад, λ є доза іонізуючого випромінювання. Маємо:

$$\frac{dI}{d\lambda} = \log_2 e \sum_{i,j} \left\{ \frac{dp_i(j)}{d\lambda} + p(i) \ln p_i(j) \frac{dp_i(j)}{d\lambda} + p_i(j) \ln p_i(j) \frac{dp(i)}{d\lambda} \right\}$$

Похідна $dI/d\lambda$ зростає до нескінченності за рахунок другого члена в правій частині рівняння, якщо $p(i)$ та $dp_i(j)/d\lambda$ відмінні від нуля, а одна з ймовірностей $dp_i(j)$ прагне до нуля. Так як:

$$\sum_i p_i(j) = 1$$

то в ідеальному випадку, коли одна з величини $p_i(j) = 1$, інші рівні нулю. Звідси випливає $dI/d\lambda \rightarrow \infty$, і система виявляється нестійкою, яка складається із сукупності організмів, що містять тотожні гени. У реальної сукупності повинен бути шум, тобто генетичні повідомлення в різних ізогенних організмах не тотожні один одному. У них повинні виникати мутації. Згідно з принципом Данкова, оптимум, який досягається природним відбором, зовсім не означає створення ідеальної системи без шумів. При передачі повідомлення боротьба з шумами проводиться за допомогою надлишкової інформації. Так, корабель, що зазнає аварії, багаторазово передає сигнал SOS, щоб збільшити ймовірність його рецесії.

Принцип Данкова стверджує, що *оптимальна кількість надлишкової інформації в еволюції виду і особини рівна не тій кількості, яка знищує всі помилки, але тій, яке мінімізує суму вартості помилок і вартості їх виправлення*. Допускається стільки помилок, скільки сумісно з подальшим існуванням, і використовується мінімальна кількість надлишкової інформації. Тим самим досягається деякий стаціонарний стан. Ці міркування можна, очевидно, сформулювати на мові термодинаміки, перейшовши до ентропійної міри інформації.

Сказаним, загалом, вичерпуються можливості теорії інформації, що оперує тільки поняттям про її кількості. Очевидно, з адекватності кількості інформації і негентропії випливає, що при поясненні біологічних процесів поняття кількості інформації не може дати більшого, ніж поняття ентропії. Тут не розглядається генерація інформації та її інструктує значення, що визначає ту чи іншу біологічну функцію носія інформації.

При дослідженні еволюціонуючої системи необхідно ввести поняття *цінності інформації* для реалізації конкретного процесу чи міру інструктуючого значення інформації. Цінність інформації висловлює її зміст, тоді як кількість інформації не має відношення до її змісту. Зміст можна оцінити лише стосовно до певних фізичним процесам.

Ейген вперше зробив спробу дати кількісне фізичне визначення цінності інформації, що міститься в біологічно функціональних макромолекулах в процесі їх природного відбору. **Селективна цінність** по Ейгену є безрозмірний кінетичний параметр, що характеризує автокаталітичний синтез макромолекулярних ланцюгів, який відбувається за рахунок ланцюгів з меншою цінністю, що піддаються деструкції. Процес протікає в стаціонарній відкритій системі, далекій від рівноваги. Теорія Ейгена узгоджується з теорією виникнення дисипативних структур Пригожина і Глансдорфа і описує деякий початковий етап добіологічної еволюції.

1.4 Ланцюги Маркова

Для багатьох випадкових процесів характерний деякий вплив попередніх подій на послідувачі. Такі процеси називають Марківськими по імені Маркова, в роботах якого вони були вперше описані. Марківський процес – це процес, для якого ймовірність знаходиться в даному стані в даний час можна вивести з попередньої події. Ланцюгом Маркова першого порядку називається одна із форм Марківських процесів, для якої кожний конкретний стан залежить тільки від безпосередньо попереднього. Для такого ланцюга кількість станів – кінцева, а ймовірності, які відповідають переходам з одного стану в інший, називають стаціонарними, маючи на увазі те, що вони не залежать від часу.

Ланцюгом Маркова другого і більш високих порядків називають процес, в якому поточні стани залежать від двох і більше попередніх. Математичні моделі, які використовують ланцюги Маркова, є перехідними між детермінованими і чисто випадковими моделями.

Розглянемо систему, яку можна в будь-який момент часу описати одним із N станів, S_1, S_2, \dots, S_N .

Через певний проміжок часу система може змінити свій стан або залишитись в попередньому стані згідно ймовірностям, які вказані для даних станів. Моменти часу, коли ми реєструємо стан системи ми позначимо як $t = 1, 2, \dots, N$, а стан в момент часу t ми позначимо S_t . Повний опис розглянутої вище системи повинен містити поточний стан (в момент часу t) і послідовність всіх попередніх станів, через які пройшла система. В окремих випадках опис системи зводиться до зазначення поточного і попереднього стану, тобто

$$P \cdot q_t = [S_j | q_t - 1 = S_i, q_t - 2 = S_k, \dots] = P[q_t = S_j | q_t - 1 = S_i].$$

Ще раз підкреслимо, що процеси, які протікають в системі, не залежать від часу, а тільки від попереднього стану. Таким чином, систему можна описати безліччю ймовірностями p_{ij} у вигляді:

$$p_{ij} = P[q_t = S_j | q_t - 1 = S_i], \quad 1 \leq i, j \leq N.$$

де p_{ij} — це ймовірність переходу із стану S_i в стан S_j в даний момент часу. Оскільки ці ймовірності характеризують випадковий процес, вони мають звичайні властивості, тобто

$$\begin{cases} p_{ij} \geq 0 \\ \sum_{j=1}^N p_{ij} = 1 \end{cases}.$$

Описаний вище випадковий процес — це послідовність станів, реєстрованих в часі. Кожний стан відповідає певній події, що спостерігається.

Для того, щоб краще зрозуміти все вищесказане, розглянемо просту Марківську модель зміни рівня води в річці, у якій буде всього три стани:

- стан S_1 : дощ (чи сніг);
- стан S_2 : похмуро;
- стан S_3 : ясно.

Припустимо, що є серія щотижневих спостережень за рівнем води в річці, який попадає в одну з трьох градацій – низький, нормальний, високий.

По цим даним складена таблиця (табл. 1.1) частот переходу від одного стану до іншого.

Таблиця 1.1

Від стану:	До стану			Сумма по рядку
	низький	нормальний	високий	
низький	12	6	0	18
нормальний	5	80	15	100
високий	0	14	16	30

Якщо поділити кожне число на суму по відповідному рядку, то отримаємо ймовірність переходу від одного стану до іншого. Це, безумовно, буде не істинне значення ймовірності, а її статистична оцінка. Ці оцінки приведені в табл. 1.2.

Таблиця 1.2

Від стану	До стану			Сума по рядку
	низький	нормальний	високий	
низький	0,67	0,33	0,00	1,00
нормальний	0,05	0,80	0,15	1,00
високий	0,00	0,47	0,53	1,00

Таким чином, матриця ймовірностей зміни погоди P має вигляд:

$$P = \{p_{ij}\} = \begin{pmatrix} 0,67 & 0,33 & 0,00 \\ 0,05 & 0,80 & 0,15 \\ 0,00 & 0,47 & 0,53 \end{pmatrix}$$

Виходячи з того, що рівень річки в перший день ($t = 1$) низький (стан S_1), ми можемо задати собі питання: яка ймовірність (згідно нашої моделі), що наступні 7 днів буде саме «низький — низький — нормальний — високий — високий — нормальний — низький» рівень води? Точніше сказати, для даної послідовності станів \mathbf{O} , де $\mathbf{O} = \{S_1, S_1, S_1, S_2, S_3, S_3, S_2, S_1\}$ відповідає $t = 1, 2, \dots, 8$, ми хочемо на основі даної моделі визначити ймовірність спостереження послідовності \mathbf{O} . Ця ймовірність може бути виражена (і обчислена) таким чином:

$$\begin{aligned}
P(O|Model) &= P(S_1, S_1, S_1, S_2, S_3, S_3, S_2, S_1 | Model) = \\
&= P[S_1] \cdot P[S_1|S_1] \cdot P[S_1|S_1] \cdot P[S_2|S_1] \cdot P[S_3|S_2] \cdot P[S_3|S_3] \cdot P[S_2|S_3] \times \\
&\times P[S_1|S_2] = 1 \cdot 0,67 \cdot 0,67 \cdot 0,33 \cdot 0,80 \cdot 0,53 \cdot 0,47 \cdot 0,05 = 1,48 \cdot 10^{-3},
\end{aligned}$$

де $\pi = P[q_1 = S_i]$ ($1 \leq i \leq N$) ймовірність того, що початковий стан системи буде S_i .

Є і інше цікаве питання, відповідь на яке нам дасть ця модель: яка ймовірність того, що модель збереже свій стан протягом рівно d днів? Ця ймовірність може бути обчислена як ймовірність спостереження наступної послідовності:

$$O = \left\{ \begin{array}{cccccc} S_i, & S_i, & S_i, & \dots, & S_i, & S_j \neq S_i \\ 1 & 2 & 3 & & d & d+1 \end{array} \right\}$$

дає модель, в якій:

$$P(O|Model, q_1 = S_i) = (p_{ii})^{d-1} (1 - p_{ii}) = a_i(d).$$

Величина $a_i(d)$ — це ймовірність того, що система буде знаходитись в стані i рівно d раз підряд. Відповідно є функція розподілу ймовірності для тривалості перебування системи в одному стані, яка є характеристикою збереження для Марківського ланцюга. Знаючи величини $a_i(d)$ ми можемо розрахувати найбільш ймовірний час, протягом якого система збереже свій стан:

$$\bar{d}_j = \sum_{d=1}^{\infty} d \cdot a_i(d) = \sum_{d=1}^{\infty} d (p_{ii})^{d-1} (1 - p_{ii}) = \frac{1}{1 - p_{ii}}$$

Очікується, що низький рівень річки протримається $\frac{1}{(1-0,67)} \approx 3$ дні, нормальний — приблизно 5 днів, а високий, згідно нашої моделі, найімовірніше протримається 1,8 днів.

При розгляданні Марківських процесів вводять також поняття «поглинаючий стан». В якості прикладу розглянемо графматриці переходу деякої частинки в один з трьох станів від 0 до 2 (рис. 1.4).

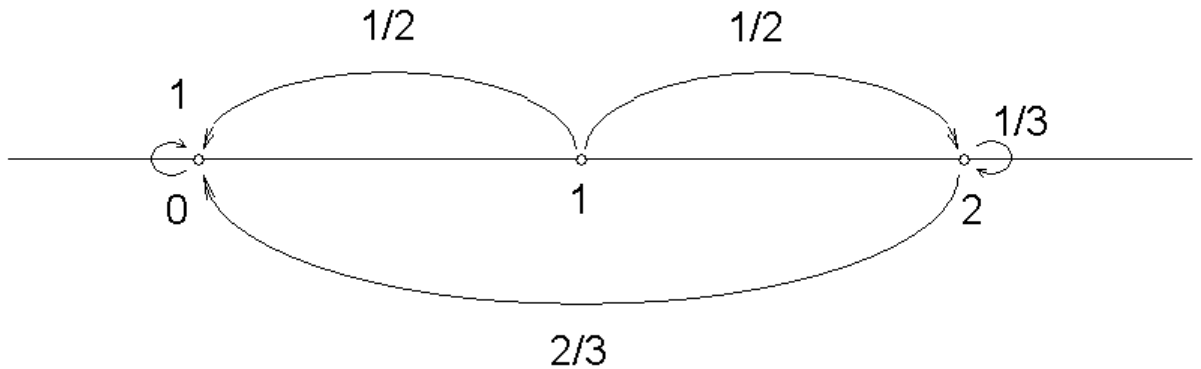


Рис. 1.4 - Граф матриці переходів щодо ілюстрації «поглинаючого» стану

У відповідності з рис. 1.4 стан 0 називається «поглинаючим»: якщо частка у нього потрапила, то вона в ньому і залишається, оскільки $p_{00} = 1$. Зі стану 1 частинка з рівними ймовірностями переходить до стану 0 і 2, стан 2 такий, що частка залишається в ньому з ймовірністю $1/3$ і переходить до стану 0 з ймовірністю $2/3$.

Матриці ймовірностей переходу типу, який приведений в табл. 1.1, описують однокроковий процес – перехід від одного стану до іншого, безпосередньо наступного за ним. Іноді представляє інтерес дослідження переходу більш, ніж в один крок. Розглянемо **багатокроковий процес**.

Нехай початкова матриця має вигляд:

$$P = \begin{pmatrix} S_1 & S_2 & S_3 \\ S_1 & 0 & 1 & 0 \\ S_2 & 0 & 1/3 & 2/3 \\ S_3 & 1/2 & 0 & 1/2 \end{pmatrix}, \quad (1.6)$$

де вихідний стан – S_1 .

Проаналізуємо можливі варіанти станів, які можуть наступити через три кроки. Стан 1 може змінитись тільки станом 2. Стан 2 може зберегтися або замінитися на 3. Можливі переходи зручно відобразити за допомогою графів, як показано на рис. 1.5.

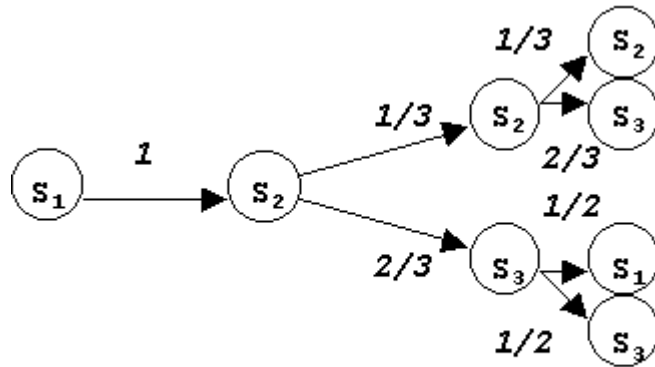


Рис. 1.5. Граф матриці (1.6)

Таким чином, стан S_3 можна досягти двома шляхами. По правилам теорії ймовірностей "послідовні" кроки слід перемножувати, а «паралельні» складати; ймовірність досягти стан S_3 через три кроки при вихідному стані S_1 :

$$P_{13} = (1) \cdot \left(\frac{1}{3}\right) \cdot \left(\frac{2}{3}\right) + (1) \cdot \left(\frac{2}{3}\right) \cdot \left(\frac{1}{2}\right) = \frac{5}{9}$$

Як і у випадку матриці, яка відповідає одному крокові, сума по рядках рівна 1.

До цих пір ми розглядали ланцюги першого порядку. Ланцюгом другого порядку називають такий, в якому ймовірність переходу в послідуєчий стан залежить як від двох попередніх, так і від тієї послідовності, в якій ці стани наступають(табл.1.3), попередні стани записані в першому стовпці:

Таблиця 1.3

	S	S
1		2

${}_1S_1$	p_{11}	p_{12}
${}_1S_2$	p_{21}	p_{22}
${}_2S_1$	p_{31}	p_{32}
${}_2S_2$	p_{41}	p_{42}

Дана матриця записана для двох можливих станів і ланцюга другого порядку. Для ланцюга другого порядку з трьома станами матриця міститиме 9 рядків, а для ланцюга третього порядку і трьох станів – 27 рядків. Спільне правило полягає в тому, що число рядків в матриці дорівнює числу станів, які піднесені в степінь, рівну порядку ланцюга. Зрозуміло, що ланцюги високих порядків з великим числом станів є виключно складними.

Таким чином дискретний Марківський ланцюг визначається:

1) множиною станів $S = \{s_1, \dots, s_k\}$,

2) матрицею ймовірностей переходів (перехідних ймовірностей), яка характеризує ймовірність переходу процесу з поточним станом s_j в наступний стан s :

$$P = [p_{ij}] = \begin{matrix} & S_1 & S_2 & \dots & S_k \\ \begin{matrix} S_1 \\ S_2 \\ \dots \\ S_k \end{matrix} & \begin{bmatrix} p_{11} & p_{12} & \dots & p_{1k} \\ p_{21} & p_{22} & \dots & p_{2k} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ p_{k1} & p_{k2} & \dots & p_{kk} \end{bmatrix} \end{matrix}$$

3) вектором початкових ймовірностей (початковим розподілом) $\pi_0 = p_1^{(0)}, \dots, p_k^{(0)}$ визначаючим ймовірності $p_i^{(0)}$ того, що в початковий момент часу $t = 0$ процес знаходиться в стані S_i .

Також, необхідно додати, що безпосередньо Марківський процес повинен задовольняти рівнянню Чемпена- Колмогорова, який в інтегральному виді має вигляд:

$$P_{11}(S_3, t_3 | S_1, t_1) = \int P_{11}(S_3, t_3 | S_2, t_2) P_{11}(S_2, t_2 | S_1, t_1) dS_2$$

Ця тотожність повинна задовольняти ймовірність переходу будь-якого Марківського процесу. При цьому упорядкованість по часу є суттєвою: t_2 знаходиться між t_1 та t_3 . Якщо події S_i дискретні, то інтеграл замінюється на суму.

Поглинаючий Марківський ланцюг містить поглинаючий стан, досягнувши якого, процес уже ніколи його не покине, тобто по суті припиняється. Поглинаючий стан будемо позначати S . Ймовірність переходу $p_{00} = 1$ і, отже, всі інші ймовірності $p_{0j} = 0, j = 1, \dots, k$. Матриця ймовірностей переходів поглинаючого ланцюга має наступний вигляд:

$$P = [p_{ij}] = \begin{matrix} & S_0 & S_1 & \dots & S_k \\ \begin{matrix} S_0 \\ S_1 \\ \dots \\ S_k \end{matrix} & \begin{bmatrix} 1 & 0 & \dots & 0 \\ p_{10} & p_{11} & \dots & p_{1k} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ p_{k0} & p_{k1} & \dots & p_{kk} \end{bmatrix} \end{matrix}$$

З якого б стану не почався процес, при $n \rightarrow \infty$ з ймовірністю 1 він опиниться в поглинаючому стані S_0 . Основна характеристика випадкового процесу, який породжується поглинаючим Марківським ланцюгом, - число перебувань процесу в станах S_1, \dots, S_k до моменту поглинання. Число перебувань в кожному із станів $S_i, i = 1, \dots, k$ і на множині незворотних станів $\{S_1, \dots, S_k\}$ - випадкові величини, які характеризуються середніми значеннями, дисперсіями і розподілами. Для визначення вказаних характеристик використовуються методи алгебраїчної теорії Марківських ланцюгів.

Ергодичний Марківський ланцюг - множина станів, які пов'язані матрицею перехідних ймовірностей таким чином, що з якого б стану процес не виходив, після деякої кількості кроків він може опинитися в будь-якому стані. Це означає, що в будь-який стан ергодичного ланцюга можна перейти з

будь-якого іншого стану за скільки-то кроків. З цієї причини стани ергодичного ланцюга називаються ергодичними (зворотними). Процес, який породжується ергодичним ланцюгом, почавшись в деякому стані, ніколи не завершується, а послідовно переходить із одного стану в інший, потрапляючи в різні стани з різною частотою, яка залежить від перехідних ймовірностей. Тому основна характеристика ергодичного ланцюга – ймовірність перебування процесу в станах $S_j, j=1, \dots, k$, – відносні частоти попадання процесу в стани S_j і одночасно доля часу, за який процес перебуває в кожному із станів. В якості додаткових характеристик ергодичних ланцюгів використовуються математичне очікування і дисперсія часу (кількість кроків) першого попадання в стан S_j з стану S_i і гранична кореляція числа попадань в стани S_i і S_j . Ці характеристики визначаються методами алгебраїчної теорії Марківських ланцюгів .

Марківський процес з дискретними станами S_1, \dots, S_k , переходи між якими дозволені в будь-який момент часу, називається безперервним Марківським ланцюгом. Однорідний безперервний Марківський ланцюг, поведінка якого в будь-який момент часу підпорядковується одному і тому ж закону, задається матрицею інтенсивностей переходів $Q = [q_{ij}], i, j = 1, \dots, k$.

Інтенсивність переходів визначається наступним чином:

$$q_{ij} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{p_{ij}(\Delta t) - 1}{\Delta t}; \quad q_{ij} = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{p_{ij}(\Delta t)}{\Delta t},$$

де $p_{ij}(\Delta t)$ – ймовірність переходу процесу із стану S_i в стан S_j , за час Δt .

Це означає, якщо процес знаходиться в стані S_i , то ймовірність переходу протягом проміжку часу Δt в стан S_j , який відмінний від S_i , рівна $-q_{ij}\Delta t$. Аналогічно ймовірність переходу процесу протягом проміжку часу Δt із стану S_i в стан S_j рівна $q_{ij}\Delta t$. Інтенсивність переходів повинна задовольняти умові

$$\sum_{j=1}^k q_{ij} = 0, \quad i = 1, \dots, k \quad (1.7)$$

Розглянемо граф неперервного Марківського ланцюга з трьома станами S_1, S_2, S_3 . Припустимо, що матриця інтенсивностей переходів має вигляд:

$$Q = [q_{ij}] = \begin{matrix} & S_1 & S_2 & S_3 \\ \begin{matrix} S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{matrix} & \begin{bmatrix} -\frac{3}{2}\lambda & \lambda & \lambda/2 \\ \mu & -(\mu + \lambda) & \lambda \\ 0 & \mu & -\mu \end{bmatrix} \end{matrix} \quad (1.8)$$

При побудові матриці значення $q_{ii}, i = 1, \dots, k$ у відповідності з (1.7) визначаються наступним чином:

$$q_{ii} = - \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^k q_{ij}.$$

Основна характеристика неперервного Марківського ланцюга – стаціонарний (фінальний) розподіл ймовірностей станів $a = \{a_1, \dots, a_k\}$, де a_1, \dots, a_k – ймовірності перебування процесу в станах S_1, \dots, S_k відповідно.

Розподіл задається ймовірністним рішенням системи лінійних рівнянь:

$$aQ = 0, \quad (1.9)$$

яка в розгорнутій формі має наступний вигляд:

$$\sum_{j=1}^k q_{ji} a_j = 0, \quad i = 1, \dots, k \quad (1.10)$$

Рішення системи, складеної із $(K-1)$ рівнянь (1.8) і нормуючого рівняння $a_1 + \dots + a_k = 1$, визначає значення ймовірностей $a = \{a_1, \dots, a_k\}$. Рівняння (1.9), (1.10) називаються рівняннями рівноваги. Вони легко складаються по графу марковського ланцюга з урахуванням того, що в кожному стані вхідний потік

повинен дорівнювати вихідному потоку. Так, для ланцюга (1.8) маємо (табл.1.4):

Таблиця 1.4

Стан	Інтенсивність вхідного потоку	Інтенсивність вихідного потоку
S_1	μa_2	$(\frac{\lambda}{2} + \lambda)a_1$
S_2	$\lambda a_1 + \mu a_3$	$(\mu + \lambda)a_2$
S_n	$\frac{\lambda}{2} a_1 + \lambda a_2$	μa_3

З урахуванням рівності інтенсивності вхідного та вихідного потоків

$$\begin{cases} \mu a_2 = (\frac{\lambda}{2} + \lambda)a_1; \\ \lambda a_1 + \mu a_3 = (\mu + \lambda)a_2; \\ \frac{\lambda}{2} a_1 + \lambda a_2 = \mu a_3; \end{cases}$$

У відповідності з Марківськими властивостями вся передісторія процесу позначається на його поведінці в майбутньому тільки через поточний стан, який і визначає подальший хід процесу. Таким чином, нема необхідності знати, як довго процес знаходиться в поточному стані. Звідси випливає, що розподіл часу перебування процесу в стані S_j , що залишився, повинен залежати тільки від самого стану, а не від часу перебування в ньому. Цією властивістю володіє тільки один розподіл – експоненційний, функція щільності ймовірності якого має наступний вигляд:

$$p(t) = \frac{1}{\tau \exp(-t/\tau)},$$

де τ – параметр розподілу, який визначає математичне очікування випадкової величини t . Таким чином, неодмінна властивість неперервного Марківського процесу – експоненційність розподілу часу перебування процесу в кожному із станів.

Якщо зняти вказане обмеження на час перебування процесу в станах S_1, \dots, S_k , тобто, допустити свавільний розподіл часу перебування, то процес стає напівмарківським. Напівмарківський процес веде себе відносно моментів зміни станів як звичайний дискретний Марківський ланцюг, і прийнято говорити, що в ці моменти часу має місце вкладений Марківський ланцюг. Властивості напівмарківського процесу визначаються значно складніше, ніж для Марківського процесу, оскільки ймовірності станів зв'язані з параметрами процесу системою диференційних рівнянь в часткових похідних. Тому обчислення стаціонарних ймовірностей в загальному випадку виливаються в складну математичну задачу.

1.5. Організм як відкрита система

Живий організм завжди знаходиться в термодинамічному збудженні. Це досягається тим, що він постійно обмінюється енергією і речовиною з навколишнім середовищем, тобто є **відкритою системою**. Організм людини не можна так само називати і стаціонарною системою. Тільки за відносно короткий відрізок часу його можна вважати таким.

Умовна/відносна стаціонарність організму досягається за рахунок обміну ентропії з навколишнім середовищем.

$$ds = ds_i + ds_l$$

$ds_i > 0$ - необоротній процес, $ds_l < 0$ – взаємодія з НС

Це означає, що більша ентропія повинна бути в продуктах виділення, а не в продуктах харчування. Тобто ентропія системи навколишнього середовища більша, а $S_{\text{орган.}} = \text{const}$

При патологічних станах організм стає більш хаотичний, а саме – ентропія росте (наприклад, злоякісний пухлинний процес).

Існує принцип Пригожина , який говорить , що $\frac{ds_i}{dt} > 0$ але $\frac{ds_i}{dt} \rightarrow min.$

Звідси слідкує, що швидкість зміни ентропії навколишнє середовище так само *min.*

Основа функціонування живого організму (клітини, органу, організму) – це підтримка стаціонарного стану при умовах протікання дифузійних процесів, біохімічних реакцій і т.ін.

1.5.1 Проблеми термодинаміки та самоорганізації

Класична фізика підкреслює стійкість, постійність навколишнього світу. Сьогодні очевидно, що це справедливо лише в деяких досить рідких випадках. Дійсно, ми всюди зіштовхуємося з еволюційними процесами, що призводять до зростання різноманітності і складності. Це приводить до необхідності розвитку таких областей фізики і математики, які могли б представляти інтерес у зв'язку з вивченням еволюційних процесів. З'явилися наукові напрямки, що пов'язані з проблемою *самоорганізації* у фізичних або біологічних системах.

Новим узагальненим напрямом в науці, що вивчає основні закони самоорганізації складних систем є синергетика. У неї входять такі області знань як нелінійна динаміка, хаос, фрактали, катастрофи, хвильові і польові ефекти і т.ін. Синергетика вивчає самоорганізацію та ускладнення форми, або в загальному випадку структури системи, які утворюються в результаті біфуркацій при сумісній дії декількох різних чинників, тоді як кожен чинник окремо подібного явища не визиває. Виникнення синергетики обумовлене необхідністю аналізувати складні процеси різної природи, використовуючи нові математичні методи, що пов'язані з вивченням як детерміністичної, так і

стохастичної динаміки у підпросторі залежних від часу управляючих параметрів.

Впорядкованість утворюється у відкритих системах, що знаходяться в неврівноваженому стані. Далеко від рівноважного стану система нестійка і повернення до початкового стану не є обов'язковим, крім того, в точках біфуркації поведінка системи стає неоднозначною. При цьому можуть виникати ефекти узгодження, коли кооперативна поведінка елементів системи корелює на макроскопічних відстанях через макроскопічні інтервали часу.

Лінійна неврівноважена термодинаміка охоплює всі випадки, коли потоки (чи швидкості незворотних процесів) є лінійними функціями «термодинамічних сил» (градієнтів температури чи концентрацій). Одним з випадків застосовності лінійної неврівноваженості термодинаміки є термодифузія. Так, якщо на суміш двох різних газів накласти градієнт температури, то один з газів концентрується поблизу гарячої стінки, а другий — поблизу холодної. У результаті ентропія суміші стає меншою, ніж у випадку, коли суміш була б однорідною. Таким чином, маємо ситуацію, *коли неврівноваженість може слугувати джерелом впорядкованості*.

Розглянемо судину з рідиною, що нагрівається знизу. Якщо градієнт температури залишається малим у порівнянні з деяким характерним значенням, тепло переноситься через рідину за рахунок процесу теплопровідності. Проте по мірі зростання інтенсивності нагрівання при певному градієнті температури спонтанно виникають конвективні осередки з регулярною течією.

Така течія відповідає високому ступеню молекулярної організації, причому вона можлива лише за рахунок перенесення енергії від теплового руху до макроскопічного конвективного руху. Цей ефект називається бенарівською нестійкістю. Істотно, що при деяких умовах може виникати новий тип організації, що пов'язує когерентну просторово-часову поведінку

системи з динамічними процесами усередині системи (наприклад, конвекцію з хімічною кінетикою).

Впорядкованість/самоорганізація/кооперативна поведінка виникають достатньо далеко від рівноваги лише за наявності в системі відповідного зворотного зв'язку. Нові структури, що з'являються при цьому, радикально відрізняються від «рівноважних структур», які вивчаються класичною термодинамікою, наприклад рідин або кристалів. Такі структури можуть існувати далеко від рівноваги лише за рахунок достатнього великого притоку енергії і речовини.

1.5.2. Дисипативні структури

Термін «дисипативні структури» вводиться для того, щоб підкреслити їхню відмінність від рівноважних структур. Дисипативні структури являють собою вражаючий приклад, що демонструє здатність неврівноваженості служити джерелом впорядкованості. Механізм утворення дисипативних структур слід чітко відрізнити від механізму формування рівноважних структур, заснованого на больцманівському принципі впорядкованості.

Больцман пов'язав ентропію з числом станів системи P за допомогою співвідношення:

$$S = k \log P$$

де k — універсальна постійна Больцмана.

З цього співвідношення слідує, що термодинамічна рівновага замкненої системи, яка характеризується максимальною ентропією S_{\max} , відповідає ситуації з максимальним числом станів системи. Для дисипативних систем, замкнутих стосовно масообміну, проте здатних обмінюватися із зовнішнім середовищем енергією при заданій температурі, положення залишається аналогічним, за винятком того, що замість ентропії S тепер слід розглядати вільну енергію U , визначену співвідношенням:

$$U = H - TS,$$

де H – ентальпія чи внутрішня енергія системи, а T – абсолютна температура (у градусах Кельвіна). При рівновазі вільна енергія досягає мінімального значення.

Структура рівняння $U=f(H,T,S)$ відображає конкуренцію між енергією H і ентропією S . При низьких температурах другий член настільки малий в порівнянні з першим, що їм можна знехтувати. Ентропія при цьому також мала. При низьких температурах речовина знаходиться в твердому стані, що характеризується впорядкованою структурою з низькою ентропією, тоді як при вищих температурах спостерігаються газоподібні стани з високою ентропією. Таким чином, можна зробити висновок, що рівноважні структури підпорядковуються больцманівському принципу впорядкованості.

Що стосується дисипативних структур, до них больцманівський принцип впорядкованості непридатний. Так, у разі бенарівської нестійкості (рис. 1.7), згідно принципу Больцмана, ймовірність виникнення когерентного руху більш ніж 10^{20} молекул практично рівна нулю. Тому бенарівську нестійкість можна пояснити лише в межах принципового нового підходу.

Наприклад, можна уявити, що конвективні потоки флуктуаційного походження нижче деякого критичного значення градієнта температури, що завжди мають місце, зменшуються по амплітуді і зникають. З іншого боку, при градієнтах температури, що перевищують критичне значення, деякі флуктуації посилюються і приводять до макроскопічного потоку. Таким чином, виникає новий молекулярний порядок, що, в принципі, відповідає макроскопічній флуктуації, стабілізованій за рахунок обміну енергією із зовнішнім середовищем.

Такий порядок характеризується виникненням дисипативної структури. Цей ефект називається «впорядкованістю через флуктуації», аби підкреслити його відмінність від больцманівського принципу впорядкованості, що грає фундаментальну роль в розумінні природи рівноважних структур.

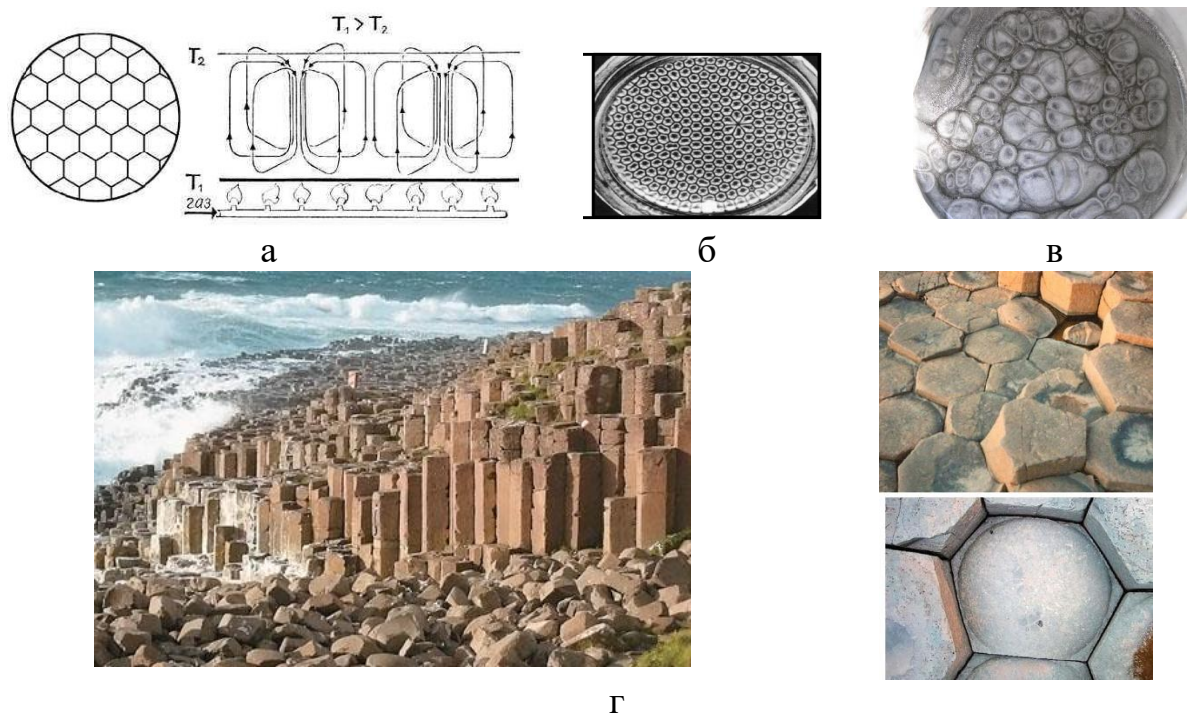


Рис. 1.7. Ілюстрації бенарівської нестійкості:

а – принцип утворення нестійкості. Якщо до середі з тертям (в'язкістю, з дисипацією енергії) прикласти градієнт температур, то при деякому критичному його значення виникають конвективні когерентні течії;

б – утворення нестійкості (структур) в маслі [7];

в – приклад утворення хаотичних структур в маслі [8];

г – стовпчастий базальт на північному узбережжі Ірландії [9]

1.5.3. Стійкість і біфуркації

При обговоренні виникнення нових типів станів/розв'язків природним параметром стає віддаленість системи від термодинамічної рівноваги. Проблема стійкості легко формулюється і аналізується в термінах термодинамічних потенціалів, таких, як ентропія або вільна енергія. Якщо відомо, що система знаходиться в стані з мінімальною вільною енергією, то можна зробити висновок, що цей стан стійкий.

Якби навіть в результаті флуктуації рівновага системи була порушена, вільна енергія системи зменшувалася б доти, доки рівновага не відновилася.

Ця ситуація радикально відрізняється від неврівноважених систем, оскільки в загальному випадку не існує такого потенціалу, за допомогою якого можна було б описати стан такої системи. Саме з цієї причини теорія стійкості грає важливу роль.

Природним підходом до проблеми появи нових розв'язків є використання теорії біфуркації. Мета цієї теорії – вивчення можливого розгалуження розв'язків, що виникає за певних умов. Множинність розв'язків в нелінійних системах можна розглядати як поступову появу автономності по відношенню до навколишнього середовища.

1.5.4. Флуктуації

Системи складаються з величезного числа елементів (наприклад, молекул в рідині, клітин в організмі чи нейронів в мозку). Очевидно, всі ці елементи не можуть знаходитися в однаковому стані. Отже, в макроскопічних системах виникає випадковий «шум», що відіграє в деякій мірі роль збурювання в теорії стійкості. Слід підкреслити, що в цьому випадку збурювання генеруються самою системою (окрім них є ще флуктуації, пов'язані із зовнішнім середовищем).

Флуктуації відіграють особливо важливу роль поблизу точок біфуркації, де система повинна «обирати» одну з можливих стійких гілок, що відповідають макроскопічним рівнянням. Проте з самих рівнянь не випливає перевага тієї або іншої гілки. Це приводить до неминучості врахування випадкових чинників, тобто виникає необхідність більш тонкого опису, що включає флуктуації.

В області малих масштабів виходить майже пуасонівський розподіл, але зі збільшенням масштабу розподіл відхиляється від пуасонівського. Це відхилення стає особливо цікавим поблизу точки біфуркації, де з'являються довгохвильові просторові кореляції. При цьому виникає вражаюча аналогія

між нестійкістю неврівноваженого походження та фазовими переходами. Поза областю стійкості випадкові флуктуації збільшуються в часі, внаслідок чого середні значення змінюються макроскопічно помітним чином. Можна вважати, що в таких процесах виявляється порушення «закону великих чисел». Справді, якщо цей закон виконується, то адекватний опис системи дається мовою середніх. Тут же, навпаки, флуктуації керують середніми значеннями.

Існують цілі класи нелінійних явищ, які не супроводжуються фазовими переходами, причому в цих явищах флуктуації можуть грати набагато важливішу роль, ніж це передбачалося до цих пір.

1.5.6. Біологічні структури

Навіть у випадку простої клітини в процес метаболізму залучені декілька тисяч спряжених хімічних реакцій, що, безумовно, вимагає тонких механізмів координації та регуляції. Іншими словами, тут потрібна надзвичайно складна функціональна організація. Далі, для протікання метаболічних реакцій необхідні спеціальні каталізатори, що називаються ферментами. Кожен фермент виконує своє конкретне завдання, і, якщо розглянути, як клітина виконує складну послідовність операцій, то можна помітити, що клітина працює за тими ж принципами, що і сучасний складальний конвеєр. Можна стверджувати, що між просторово-часовою структурою і функціонуванням даного об'єкту є певний зв'язок. Іншими словами, біологічна впорядкованість є одночасно структурною та функціональною.

Впорядкованість саме такого типу характерна для дисипативних структур, що виникають у результаті функціонування системи (тобто участі в хімічних процесах) в умовах, далеких від рівноваги.

Слід підкреслити, що між хімічним складом навіть найбільш простої клітини та складом її оточення є вражаюча відмінність (нагадаємо, що середня

молекулярна вага білка за порядком величини складає $\sim 10^5$, тоді як для води вона дорівнює 18).

Часто наголошувалося, що біологічна організація має на увазі послідовність структур і функцій зростаючої складності та ієрархічного характеру. У зв'язку з цим одною з основних цілей є зрозуміти, як пов'язані молекулярний і надмолекулярний рівні, клітинний рівень з надклітинним, а також як відбуваються переходи між різними рівнями.

Зазначимо, що в даний час деякі з найцікавіших аспектів біологічної активності, такі, як регуляція клітинного поділу або клітинне диференціювання і морфогенез, піддаються моделюванню за допомогою дисипативних структур. В даному випадку істотну роль відіграє нестійкість, пов'язана з дифузією, оскільки завдяки їй може виникнути виділена вісь симетрії системи, що знаходиться спочатку в ізотропному стані.

Між «хімією», що вивчається в молекулярній біології, і «просторово-часовою структурою», що визначається математичними властивостями кінетичних рівнянь при виконанні різних умов, існує глибокий і несподіваний зв'язок. Саме цей зв'язок між хімією, термодинамікою і математикою такий привабливий при вивченні проблеми самоорганізації.

Еволюцію можна розглядати як проблему структурної стійкості. Тут вже слід вивчати флуктуації не концентрацій або інших макроскопічних величин, а флуктуації механізмів хімічних процесів, що приводять до модифікації кінетичних рівнянь.

1.5.6. Жива речовина біосфери за теорією Вернадського

Під живою речовиною Вернадський розумів сукупність всіх живих організмів, виражену через масу, енергію або хімічний склад. Жива речовина

становить порядку 0.01 - 0.02% від маси всієї біосфери. Загальна вага живої речовини порядку $(2.4 - 3.6) \cdot 10^{12}$ т (в сухій вазі).

Речовини, утворені без участі живих організмів і не залучені у вир життя, Вернадський назвав кістковими речовинами. Це, наприклад, гірські породи, продукти виверження вулканів і т.п. "Неживих" речовин у природі не буває, практично будь-яка речовина може бути залучено в кругообіг життя.

Крім того, Вернадський виділяв в особливу групу біокостну речовину, яка на відміну від кісткової так чи інакше обумовлена впливом життя і залучена в її кругообіг. Це, наприклад, вода, ґрунт і т.ін. Вода, наприклад, по праву вважається речовиною, що дає життя. Деякі дослідники стверджують, що вона має здатність запам'ятовувати інформацію у своїх структурах. А так, як практично вся земна вода ґрунтово перероблена життям, то віднести її до кісткових речовин ми ніяк не можемо. Те ж саме можна сказати і про ґрунти, які деякі ґрунтознавці вважають "біологічним тілом". Тому подібні речовини винесені в особливу проміжну групу.

Можна також виділити групу біогенних речовин, що утворюються в результаті життєдіяльності живих організмів. Це багато корисних копалин, в першу чергу кам'яне вугілля, нафта, торф, а також вапняки, руди металів і т.ін. По суті справи, весь шар осадових порід можна віднести до біогенних речовин.

В даний час цю класифікацію доповнюють ще однією групою речовин, що утворюються в процесі діяльності людини. Це так звані антропогенні речовини. Частина з них бере участь у природному кругообігу речовини, але багато з'єднань практично не утилізуються живою речовиною, а тому представляють величезну небезпеку для біосфери. Це в першу чергу різного роду полімерні матеріали, типу целофану, капрону і т.ін. Особливу небезпеку для життя представляють радіоактивні речовини, що пройшли у виробництві стадію збагачення, тобто підвищення концентрації до таких розмірів, в яких в природі вони не зустрічаються.

Розглянемо основні властивості живої речовини.

1. Висока хімічна активність завдяки біологічним каталізаторам (ферментам).

У живих організмах при незначних температурах протікають реакції між речовинами, які в повітрі не з'єднуються, навіть у лабораторних печах при 1000-градусній температурі. Живі організми, наприклад, здатні фіксувати у своєму тілі молекулярний азот атмосфери при нормальних атмосферних умовах, що в промислових умовах вимагає температури порядку 500 град. і тиску 300-500 атмосфер.

2. Висока швидкість протікання реакцій.

Вона на кілька порядків вище, ніж в неживій речовині; наприклад, деякі гусениці споживають за день кількість їжі, котра у 100-200 разів більше ваги їх тіла; дощові черв'яки, сукупна маса яких в 10 разів більше біомаси всього людства, за 150-200 років пропускають через свої організми весь однометровий шар ґрунту; бабаки, ховрахи і т.п. в результаті своєї діяльності створюють своєрідний ландшафт місцевості; практично всі осадові породи (шар 3 і більше кілометрів) на 95-99% перероблені живими організмами; вся вуглекислота проходить через живі організми в процесі фотосинтезу за 6-7 років, вся вода Землі - за 5-6 млн років.

3. Висока швидкість оновлення живої речовини.

В середньому для біосфери вона становить 8 років, для суші - 14 років, а для океану - 33 дня (тут переважають організми з коротким періодом життя). За всю історію існування життя загальна маса живої речовини, що пройшла через біосферу, приблизно в 12 разів перевищує масу Землі.

4. Здатність швидко займати весь вільний простір.

Вернадський назвав це "всюдністю життя". За словами Вернадського, "жива речовина - сукупність організмів, - подібно масі газу, розтікається по земній поверхні і надає певний тиск у навколишньому середовищі, обходить перешкоди, що заважають його руху, або ними опановує, їх покриває. Цей рух досягається шляхом розмноження організмів ". Саме ця властивість дозволила

зробити висновок про сталість кількості живої речовини в усі епохи. Деякі мікроорганізми могли б освоїти всю земну кулю за кілька годин або днів, якщо б не було факторів, що стримують їх потенційні можливості. Так, наприклад, чисельність деяких бактерій подвоюється кожні 22 хвилини. Крім того, життя має здатність збільшувати поверхню свого тіла. Наприклад, площа листя рослин на 1 га, становить 8-10 га і більше. Те ж відноситься і до корневих систем.

5. Активність руху всупереч принципу зростання ентропії.

Вся історія життя є свідчення боротьби з ентропією, тобто з силами руйнування. Життя чинить опір природному ходу подій, спрямованому на встановлення рівноваги в природі. Найбільш показовими в цьому плані є такі приклади, як рух риб проти течії річки, рух птахів проти сили тяжіння і повітряних потоків і т.д.

6. Стійкість при житті і швидке розкладання після смерті.

У будь-якому живому організмі, у тому числі і в організмі біосфери, життя і смерть не можуть обходитися одне без одного. Ми живемо тому, що в нас безперервно щось вмирає і замінюється новим, а народившись через розвиток приходять до своєї загибелі. Будь-яка підсистема організму після смерті повинна повернути речовину в кругообіг життя. Це забезпечує нескінченність життєвого процесу.

7. Висока пристосувальна здатність (адаптація).

Наприклад, деякі організми виносять температури, близькі до абсолютного нуля, інші зустрічаються в термальних джерелах з температурою до 140 град., В жерлах вулканів, в надглибоких западинах океану, в водах атомних реакторів, безкисневому середовищі і т.п.

Функції живої речовини в біосфері.

1. Енергетична - акумулювання енергії та її перерозподіл по харчових ланцюгах.

Життя виникає відповідно до принципу Ле Шательє-Брауна, як відповідь на зростання ентропії, тобто на розсіювання енергії в навколишньому середовищі. Тому концентрація енергії - це найбільш природна функція життя. Наявність живої оболонки планети перешкоджає охолодженню її поверхні, акумулюючи в собі енергію, що випромінюється в космос. Правда, зараз життя біосфери розвивається в основному в потоці сонячної енергії, акумулюючи її в собі і перешкоджаючи прямому відображенню її в космос. Ця енергія передається по харчовому ланцюгу від однієї форми життя до іншої. У міру цього руху її ентропія значно зростає. Зрештою вона переходить в теплову форму і випромінюється за межі планети. Тому ентропія випромінювання, відбитого з поверхні планети, виявляється істотно більше ентропії випромінювання, що поглинається планетою. Саме за рахунок цієї різниці ентропій існує життя на планеті.

Таким чином, основним механізмом накопичення енергії в біосфері є реакція фотосинтезу. Є також досить незначний відсоток хемосинтезуючих живих істот, чий життєвий цикл спирається на енергію хімічних сполук. Це різного роду бактерії (залізобактерії, сіркобактерії, азотобактерії та ін.). Виявлені цілі екосистеми, функціонування яких базується на активності хемосинтезуючих бактерій і не залежать від продуктів фотосинтезу. Це глибоководні системи, де в абсолютній темряві поблизу виходів гарячої води, багаті мінеральними солями і сіркою, крім бактерій, існують і унікальні багатоклітинні тварини, типу двостулкових молюсків довжиною близько 30 см і триметрові черв'яки, які отримують енергію від хемосинтезуючих бактерій. Можливо, був час, коли такі форми життя були більш різноманітними і заповнювали всю поверхню Землі, до якої зважаючи на інтенсивність вулканічної діяльності не могли пробитися сонячні промені.

2. Окислювально-відновна - окислення речовини в процесі життєдіяльності і відновлення в процесі розкладання при дефіциті кисню.

Поряд з фотосинтезом в зелених рослинах на Землі відбувається майже рівне йому за масштабом окислення органічних речовин у процесі дихання, бродіння, гниття з виділенням води, вуглекислого газу та теплоти, яке після цього випромінюється в космічний простір. Істотно менша частина енергії Сонця консервується в земній корі, або, за словами Вернадського, "йдуть у геологію", формуючи поклади кам'яного вугілля, нафти, торфу і т.п. Ці процеси пов'язані з протіканням в безкисневому середовищі реакцій відновлення, що супроводжуються утворенням і накопиченням сірководню та метану.

3. Газова - здатність змінювати і підтримувати певний газовий склад середовища проживання і атмосфери в цілому.

Фотосинтез привів до поступового зменшення в атмосфері вуглекислоти і накопиченню кисню і озону. При цьому в розвитку біосфери спостерігалось принаймні два переломних моменти: перша точка Пастера (1.2 млрд років тому), коли кількість кисню досягло 1% від сучасного рівня і з'явилися перші аеробні організми (що живуть тільки в кисневій середовищі, на відміну від анаеробних, що живуть у безкисневому середовищі); друга точка Пастера, коли кількість кисню досягло 10% від сучасного рівня, створилися умови для синтезу озону і озонового шару, що захистило організми від ультрафіолетових променів. До цього цю функцію виконували густі водяні хмари.

4. Деструктивна - руйнування загиблої біоорганіки і кісткових речовин.

Це один з найважливіших елементів кругообігу речовин у біосфері, що забезпечує безперервність життя шляхом перетворення складних органічних сполук в мінеральні речовини, необхідні для рослин, що стоять в найперших ланках харчових ланцюгів. Практично всі живі організми біосфери за винятком рослин в тій чи іншій мірі є деструкторами (руйнівниками). Однак головна роль у цьому процесі належить грибам і бактеріям. Л. Пастер назвав бактерії "великими могильниками природи". Одночасно життя бере участь і в руйнуванні кісткових речовин (зокрема гірських порід), доводячи їх поступово

до стану, після якого вони можуть бути залучені в кругообіг життя (так подрібнені гірські породи є необхідним компонентом ґрунту).

5. Розсіююча - розсіювання живої речовини на великих просторах.

Наприклад, розсіювання гемоглобіну крові кровосмоктучими чи розсіювання органіки екскрементів або трупів різного роду деструкторами.

6. Концентраційна - здатність організмів концентрувати у своєму тілі розсіяні елементи навколишнього середовища.

Будь-яка жива істота в процесі своєї життєдіяльності буквально по молекулам збирає з навколишнього середовища необхідні для нього речовини і консервує їх у своїй структурі. Тому, наприклад, концентрація марганцю в тілі деяких організмів перевищує його концентрацію в навколишньому середовищі в мільйони разів. В умовах антропогенного забруднення навколишнього середовища побічним наслідком цього може бути накопичення рослинами, які ми споживаємо в їжу, речовин, які є токсичними для нашого організму. Результатом концентраційної діяльності живих організмів є поклади руд, вапняків, горючих копалин і т.д.

7. Транспортна - перенесення і перерозподіл речовини і енергії.

Це є одним з механізмів розсіюючої функції живої речовини. Часто таке перенесення здійснюється на величезні відстані, наприклад, при міграціях і кочівлях тварин. Це може також сприяти і концентрації елементів середовища, досить згадати пташині базари.

8. Середовище-утворююча - перетворення фізико-хімічних параметрів навколишнього середовища.

У широкому сенсі результатом даної функції є вся природне середовище. Вона створена живими організмами, вони ж і підтримують її в певному стабільному стані. Так складу атмосфери і гідросфери - це продукт життєдіяльності в біосфері. Живі організми створили особливий тип біокістних речовини - ґрунту. Коралові зарості створюють в океанах цілі острови. Прикладом можуть також служити ліси, в яких мікроклімат істотно

відрізняється від мікроклімату поля. Аналіз показує, що за відсутності життя на Землі, умови на ній були б такими, що за нашими поняттями життя на ній була б просто неможливою. Її атмосфера на 98% складалася б з вуглекислого газу (зараз близько 0.03%), на 1,9% - з азоту (зараз на Землі 79% азоту, що є всупереч своїй назві (азот - не підтримуючий життя) основним елементом при побудові амінокислот) , кисню практично не було б (зараз 21%), середня температура поверхні $290 \pm 50^{\circ}\text{C}$, яка не залишає жодних шансів на наявність води в рідкому стані. Словом, умови дуже схожі на умови планети Венера.

9. Інформаційна - накопичення інформації та закріплення її в спадкових структурах.

Ця функція поки ще мало вивчена, але її важливість перевершує всі інші функції живої речовини.

Контрольні запитання до розділу 1

- 1 Що вивчає термодинаміка?
- 2 В чому різниця між рівноважною і нерівноважною термодинамікою ?
- 3 В чому полягає головне завдання ТД?
- 4 Що таке кількість інформації, в яких одиницях її вимірюють?
- 5 Що визначає формула Шеннона? Дайте визначення ентропії.
- 6 Що характеризує умовна ентропія?
- 7 Назвіть основні властивості ентропії і інформації.
- 8 Чим відрізняються ентропія та негентропія?
- 9 Як можна представити зміну кількості інформації у відкритій системі?
- 10 Як здійснюється передача генетичної інформації?
- 11 Пояснить дію принципу Данкова.
- 12 В чому різниця між цінністю інформації та кількістю інформації?
- 13 Що описують Марківські процеси?

- 14 Від чого залежать та не залежать процеси, які протікають в системі?
- 15 Пояснить поняття «поглинаючий стан».
- 16 Чим визначається дискретний Марківський ланцюг?
- 17 Пояснить поняття «ергодичний Марківський ланцюг» і процес, який він породжує.
- 18 Пояснить поняття «безперервний Марківський ланцюг», назвіть основні його характеристики.
- 19 За рахунок чого досягається умовна/відносна стаціонарність організму?
- 20 Що вивчає наука «Синергетика»?
- 21 В яких випадках неврівноваженість може слугувати джерелом впорядкованості, назвіть приклади.
- 22 Що визначає термін «дисипативні структури»? Чим відрізняється механізм утворення дисипативних структур від механізму формування рівноважних структур?
- 23 Сформулюйте проблему стійкості системи.
- 24 Яку роль відіграють флуктуації поблизу точок біфуркації?
- 25 Як розглядається жива речовина біосфери за теорією Вернадського? Назвіть основні властивості живої речовини та її функції в біосфері.

РОЗДІЛ 2. МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

2.1. Особливості «хімії живого»

Відзначимо основні особливості «хімії життя».

1. Жива система обов'язково хімічно гетерогенна.

2. «Живі» молекули живуть тільки при наявності типового для них оточення, тобто при наявності інших «живих» молекул. Безглуздо говорити про живі молекули, а лише про систему молекул в цілому - окремо взяті біологічні молекули не «живуть».

3. Жива природа характеризується єдністю хімічної будови. Грандіозне різноманіття біологічних видів і особин не означає надзвичайного розмаїття біологічних молекул і біохімічних реакцій. Основні хімічні речовини та механізми перебігу реакцій єдині в усій природі.

4. Будова і властивості клітини й організму диктується нуклеїновими кислотами ДНК і РНК, що реалізують свої функції через білки.

5. Вивчаючи молекулярну біофізику, необхідно постійно мати на увазі біологічний розвиток і постійну безперервну молекулярну адаптацію до зовнішніх умов і до оточуючого середовища.

6. Біологічні молекули мають строго певну будову. Малі відхилення від цієї будови істотно змінюють їх біохімічну активність і функцію. Наприклад: етиловий спирт викликає сп'яніння, метиловий – сліпоту, хоча хімічно вони не мають істотних відмінностей.

7. Хімічні реакції організму суворо регулюються прямими та зворотними зв'язками в часі і просторі.

8. Переважно всі біохімічні реакції є ферментативними і велика частина з них – автокаталітичними.

9. У біохімічних реакціях кількість реагентів часто обчислюється одиницями молекул, а не нескінченністю, як у класичній хімічній кінетиці.

10. У біологічних системах необхідно вводити ймовірність знаходження молекули в потрібному стані.

11. Сутність біохімічних реакцій визначається не тільки хімічними компонентами, а і швидкістю протікання реакції, її масштабністю, часом і простором.

2.2. Види взаємодії атомів у біологічних молекулах

Енергія необхідна для розриву С-С-зв'язку дорівнює 348,6 кДж / моль. Сильна взаємодія визначає чіпке будова біополімерів.

Міжмолекулярна взаємодія здійснюється завдяки слабким зв'язкам, тому що сильна взаємодія створювало б відносно жорсткі структури.

2.2.1. Ковалентний зв'язок – сильний зв'язок

Ковалентний зв'язок (атомний зв'язок, гомеополлярний зв'язок) – хімічний зв'язок, утворений перекриттям (усупільненням) пари валентних електронних хмар. Електронні хмари (електрони), що забезпечують зв'язок, називаються загальною електронною парою.

Енергія електронного зв'язку – сотні кДж/моль.

Існують три види ковалентного хімічного зв'язку, що відрізняються механізмом.

Простий ковалентний зв'язок. Для його утворення кожен з атомів надає по одному неспареному електрону. При утворенні простого ковалентного зв'язку заряди атомів залишаються незмінними.

Якщо атоми, що утворюють простий ковалентний зв'язок, однакові, то справжні заряди атомів у молекулі також однакові, оскільки атоми, що утворюють зв'язок, в рівній мірі володіють усупільненою електронною

парою, такий зв'язок називається *неполярним ковалентним зв'язком*. Такий зв'язок мають прості речовини, наприклад O_2 ; N_2 ; Cl_2 .

Якщо атоми різні, то ступінь володіння усупільненої парою електронів визначається різницею в електронегативності атомів. Атом з більшою електронегативністю сильніше притягує до себе пару електронів зв'язку, і його істинний заряд стає негативним. Атом з меншою електронегативністю набуває, відповідно, такий же за величиною позитивний заряд. Такий ковалентний зв'язок називається полярним.

Донорно-акцепторний зв'язок. Для утворення цього виду ковалентного зв'язку обидва електрона надає один з атомів - донор. Другий з атомів, що бере участь в утворенні зв'язку, називається акцептором. У створеній молекулі формальний заряд донора збільшується на одиницю, а формальний заряд акцептора зменшується на одиницю.

Семіполярний зв'язок. Цей вид ковалентного зв'язку утворюється між атомом, що володіє неподіленою парою електронів (азот, фосфор, сірка, галогени і т. п.) і атомом з двома неспареними електронами (кисень, сірка). Семіполярний зв'язок протікає в два етапи:

- окислення (перенесення одного електрона) атома з неподіленою парою електронів атомом з двома неспареними електронами. У результаті атом з неподіленою парою електронів перетворюється на катіон-радикал (позитивно заряджена частинка з неспареним електроном), а атом з двома неспареними електронами – в аніон-радикал (негативно заряджена частинка з неспареним електроном).

- усупільнення неспарених електронів (як у випадку простого ковалентного зв'язку).

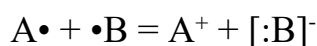
2.2.2. Слабкі зв'язки

Слабкі взаємодії відповідальні за молекулярну гнучкість, тобто конформаційні властивості біополімерів.

До слабких зв'язків відносять: іонний зв'язок, дипольну взаємодію, орієнтаційну силу, індукційні сили, дисперсійну силу (сила Ван-дер-Вальса), водневий зв'язок, гідрофобну взаємодію.

Іонний зв'язок. Іонний зв'язок – міцний хімічний зв'язок, що утворюється між атомами з великою різницею електронегативності, при якій загальна електронна пара повністю переходить до атома з більшою електронегативністю. Утворюється між типовими металом і неметалом. При цьому електрони у металі повністю переходять до неметалів. Утворюються іони.

Якщо хімічний зв'язок утворюється між атомами, які мають дуже велику різницю електронегативності ($EN > 1,7$), то загальна електронна пара повністю переходить до атома з більшою EN . Результатом цього є утворення з'єднання протилежно заряджених іонів:



A^+ , $[:B]^-$ — іони.

Нагадаємо, що EN – це кількісна характеристика здатності атома в молекулі зміщувати до себе загальні електронні пари, тобто здатність атомів відтягувати до себе електрони інших атомів.

Між утвореними іонами виникає електростатичне притягування, яке називається іонним зв'язком. Вірніше, такий погляд зручний. На справді іонний зв'язок між атомами в чистому вигляді не реалізується ніде, або майже ніде, зазвичай на справді зв'язок носить частково іонний, а частково ковалентний характер. У той же час зв'язок складних молекулярних іонів часто може вважатися суто іонним. Найважливіші відмінності іонного зв'язку від інших типів хімічного зв'язку полягають у відсутності направленості та

насичуваності. Саме тому кристали, утворені за рахунок іонного зв'язку, тяжіють до різних за щільністю упаковок відповідних іонів.

Енергія взаємодії між зарядами описується законом Кулона:

$$U_{\text{ион}} = \frac{q_1 q_2}{Er}$$

Дипольна взаємодія. Дипольна взаємодія – це взаємодія між іонами і полярними групами молекул.

При розгляданні дипольного зв'язку молекулярних систем виділяють орієнтаційну силу.

Орієнтаційна сила – електростатична взаємодія між диполями.

Диполі прагнуть встановитися антипаралельно або в хвіст один до одного.

Енергія орієнтаційної взаємодії двох диполів обернено пропорційна кубу відстані між ними:

$$U_{op} = \frac{1}{r^3} \left(\overline{P_1 P_2} - \frac{3(\overline{P_1 r})(\overline{P_2 r})}{r^2} \right),$$

де P – дипольний момент, $P = el$ (дебай) [D]; l – довжина хімічного зв'язку $\sim 10^{-8}$ см.

U_{op} енергія (диполь-дипольна взаємодія) може мати різний знак в залежності від орієнтації диполів. Мінімум енергії взаємодій при орієнтації молекул А і В є

$$U_{op}^{(1)} = -\frac{2P_1 P_2}{r^3}.$$

У газовій фазі (рідинах), де молекули майже вільно обертаються, але присутній тепловий рух середня енергія взаємодії дорівнює:

$$U_{op}^{(2)} = -\frac{2P_1^2 P_2^2}{3kTr^6}$$

Індукційні сили. Дипольний момент, індукований електричним полем Е:

$$P = \alpha E$$

Об'єм молекули $V \sim 10^{-24} \text{ см}^3$.

Якщо $\bar{P} \parallel \bar{r}$, то

$$U_{\text{инд}} = -\frac{1}{2} \alpha E^2 = -2ap^2 / r^6,$$

$U_{\text{инд}} \neq f(T)$ (не залежить від температури).

Дисперсійна сила (сила Ван-дер-Вальса). Ця взаємодія валентнонасичених електронних хмар. Наприклад між N_2 , O_2 , CO_2 .

$$U_d \sim \frac{1}{r^6}$$

Сили Ван-дер-Вальсу мають електростатичну природу. Складаються із сил тяжіння і відштовхування. Відштовхування визначається взаємодією електронних хмар різних молекул.

Сили тяжіння обумовлені трьома видами взаємодії:

- 1) постійний диполь - постійний диполь (орієнтаційна);
- 2) постійний диполь - індукований диполь (індукована);
- 3) миттєвий диполь - миттєвий диполь (дисперсійна).

Водневий зв'язок. Водневий зв'язок – різновид донорно-акцепторного зв'язку, невалентна взаємодія між атомом водню Н, ковалентно пов'язаного з атомом А групи АН молекули RA-H та електронегативним атомом В іншої молекули (або функціональної групи тієї ж молекули) BR'. Результатом таких взаємодій є комплекси RA-H ••• BR' різного ступеня стабільності, в яких атом водню виступає в ролі «моста», що зв'язує фрагменти RA і BR'.

Таким чином атом водню, з'єднаний з атомом сильно електронегативного елемента, здатний до утворення ще одного хімічного зв'язку з іншим сильно електронегативним атомом.

Виникнення водневого зв'язку можна в першому наближенні пояснити дією електростатичних сил. Атом з великою електронегативністю, наприклад, фтор в молекулі HF, зміщує на себе електронну хмару, набуваючи значний ефективний негативний заряд, а ядро атома водню (протон) майже позбавляється електронної хмари і набуває ефективний позитивний заряд. Між протоном атома водню і негативно зарядженим атомом фтору сусідньої молекули виникає електростатичне притягування, що і призводить до утворення водневого зв'язку.

Енергія водневого зв'язку значно менше енергії звичайного ковалентного зв'язку (не перевищує 40 кДж/моль). Однак цієї енергії достатньо, щоб викликати асоціацію молекул, тобто їх об'єднання в димери або полімери. Саме асоціація молекул служить причиною аномально високих температур плавлення і кипіння таких речовин, як фтороводень, вода, аміак. Водневий зв'язок в значній мірі визначає властивості і таких біологічно важливих речовин, як білки і нуклеїнові кислоти.

Гідрофобна взаємодія. Гідрофобність (від гідро ... і грец. phobos - страх, страх) - це фізична властивість молекули, яка «прагне» уникнути контакту з водою. Сама молекула в цьому випадку називається гідрофобною. Гідрофобні молекули зазвичай неполярні і «віддають» перевагу неполярним розчинникам. У воді такі молекули часто кластеризуються з утворенням міцел. Вода на гідрофобних поверхнях збирається в краплі з низькими значеннями кута змочування.

Слово «гідрофобний» часто використовується як синонім до слова «ліпофільний» - «жиролюбивий», хоча це не цілком коректне. Дійсно, гідрофобні речовини в цілому ліпофільні, але серед них є і виключення – наприклад, силікони.

Біополімери і нуклеїнові кислоти функціонують головним чином у водному оточенні. Таким чином, гідрофобні сили – сили специфічного відштовхування між неполярними атомними групами і молекулами води, як

конденсованої системи. Гідрофобна взаємодія відіграє найважливішу роль у формуванні структур білків і надмолекулярних систем (мембран).

2.3. Водневий зв'язок і структура води

Біополімери функціонують у водному оточенні. Особливі властивості води, завдяки яким вона є незамінною компонентою клітин і організмів, також визначаються водневими зв'язками. Розглянемо природу і властивості водневого зв'язку.

Наявність водневих зв'язків сильно позначається на фізичних і фізико-хімічних властивостях речовин. Міжмолекулярні водневі зв'язки визначають асоціацію молекул. Асоційовані речовини характеризуються порівняно великими значеннями теплоти випаровування, високими температурами плавлення і кипіння і великими їх різницями. Порівняємо чотири речовини, що складаються з ізоелектронних молекул, які наведені у табл. 2.1.

Метан – неасоційована речовина, інші речовини - асоційовані водневими зв'язками.

Таблиця 2.1. Властивості ізоелектронних речовин

Речовина	$T_{\text{плавлення}},$ К	$T_{\text{кипіння}},$ К	Молярна теплота випаровування, кДж/моль	Молярний об'єм, см ³ /моль
Фтористий водень HF	181	292	30,2	20,2
Вода H ₂ O	273	373	40,8	18,0
Аміак H ₃ N	195	240	23,4	20,8
Метан H ₄ C	89	112	9,3	34,0

Порівняємо властивості двох ізомерних речовин: етанолу та диметилефіра, які наведені у табл. 2.2. В етанол входить група OH, яка утворює водневий зв'язок. У диметилефіре таких зв'язків немає.

Таблиця 2.2. Властивості етанолу та диметилефіра

Речовина	$T_{\text{плавління}},$ К	$T_{\text{кипіння}},$ К	Молярна теплота випаровування, кДж/моль
Етанол C_2H_5OH	161	351	42,8
Диметилефір $(CH_3)_2O$	135	249	18,7

Речовини, асоційовані водневими зв'язками, мають великі значення діелектричної проникності. Так, при $20^\circ C$ ϵ води — 80, HCN — 95, формаміда $HCONH_2$ — 84, NH_3 — 15,5. В той же час ϵ для діетиленфіра $(C_2H_5)_2O$ дорівнює 4,3.

Структурні дослідження кристалів, що містять водневі зв'язки, показують, що при з'єднуванні атомом водню двох електронегативних атомів А і В (O, N, F, Cl) відстань між ними $r(AB)$ менше суми Ван-дер-Вальсових радіусів. Наприклад, радіуси між: OO — 0,28, ON — 0,30, NN — 0,33 нм. При наявності водневих зв'язків відстань зменшується в O-H ...O до 0,255, в O-H ... N до 0,280, в N-H ... O до 0,288, в N-H ... N до 0,310 нм.

Водневий зв'язок яскраво проявляється в оптичних спектрах і в спектрах ядерно магнітного резонансу. Характеристичні частоти коливань груп, що містять атом Н, наприклад, O-H-, N-H-груп, знижуються, якщо водень утворює водневий зв'язок. Так, в мономерній молекулі мурашиної кислоти H-CO-OH (рис. 2.1.) частота коливань групи O-H дорівнює 3682 ($1/cm$), а в димері, стабілізованого водневими зв'язками, вона дорівнює 3080 ($1/cm$). Можуть змінюватись й інші частоти мономера. Інфрачервоні смуги поглинання O-H-груп сильно розширюються при утворенні водневого зв'язку, їх інтенсивності зростають. Водневий зв'язок впливає на електронні спектри, зрушуючи переходи в короткохвильову сторону. У спектрах протонного магнітного резонансу (ПМР) спостерігаються хімічні зсуви, викликані водневим зв'язком.

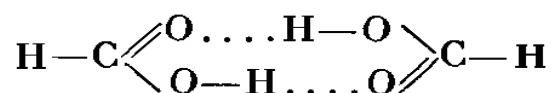


Рис. 2.1. Схема утворення водневого зв'язку мурашиної кислоти

Енергія водневих зв'язків визначається з термодинамічних властивостей відповідних речовин, з спектрів і т. д. Термодинамічні функції виражаються через константу рівноваги :

$$K = \frac{\text{Активність}_{\text{з'єднання}}}{\text{Добуток}_{\text{активностей}_{\text{реагентів}}}} \approx \frac{[\text{A}-\text{H}\dots\text{B}]}{[\text{AH}][\text{B}]}$$

Квадратні дужки позначають концентрації. Вільна енергія утворення водневого зв'язку

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K ,$$

Де ΔH — ентальпія, ΔS — ентропія утворення зв'язку. З цього рівняння випливає

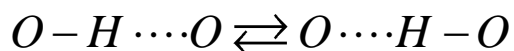
$$\Delta H = RT^2 \left(\frac{\partial \ln K}{\partial T} \right)_P .$$

Значення ΔH порядку 12—30 кДж/моль: для води 11,8, для льоду 25,6, для аміаку 15,5-18,5, для HF 28,1-29,4 кДж/моль.

Водневий зв'язок з вуглецем утворюється лише в деяких випадках (HCN, хлороформ CHCl₃ в суміші з піридином C₅H₅N та ін.).

Водневий зв'язок завжди з'єднує два електронегативних атома. Атом Н не узагальнюється повністю атомами А і В; позначення А-Н•••В, в якому суцільна риса означає ковалентний зв'язок, а пунктир - водневу, має реальний зміст. Рентгенографія не дозволяє безпосередньо визначити положення атома Н, воно встановлюється методом нейтронографії. У системі О- Н.. -О,

наприклад, ковалентний зв'язок істотно коротший і, значить, міцніший водневого. У системі відбуваються переходи



Структура води і льоду визначається водневими зв'язками. Кожна молекула води може утворити чотири водневих зв'язки з сусідніми молекулами (рис. 2.2), розташування цих зв'язків тетраедричне. Звичайний лід (лід I) має гексагональну кристалічну решітку, кожен атом кисню в решітці розташований в центрі тетраедра, в вершинах якого знаходяться сусідні атоми О. Відстані $O \cdots O$ рівні 0,276 нм. У елементарну комірку входять чотири молекули. Молекулярна решітка льоду дуже крихкотіла, з великими порожнечами, так як її координаційне число мале. Саме тому лід легше води. Ця властивість льоду не унікальна, її мають також кристали алмазу, кремнію, германію.

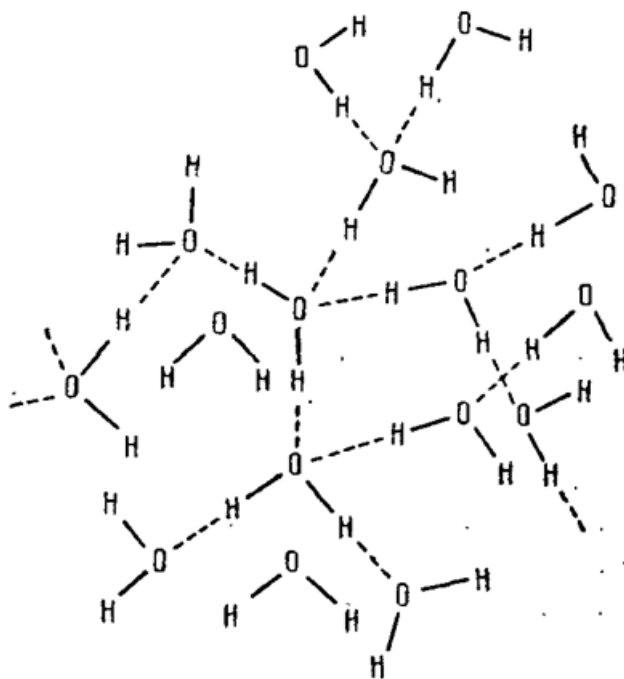


Рис. 2.2. Схема структури води

Льодоподібної структура зберігається і в рідкій воді, але з більшими порушеннями. При підвищенні температури кількість «дефектів» зростає. Кажучи про структуру води, слід мати на увазі масштаб часу, в якому ця

структура реєструється. У кристалі льоду молекули H_2O відчують коливання, повороти і рідкі трансляційні переміщення. На миттєвому знімку з часом експозиції τ з набагато меншим періоду коливань $\tau_{\text{кол}} \approx 2 \cdot 10^{-13}$ с, виходить миттєва або М-структура, що показана на рис. 2.3 а. За час τ , на багато більше $\tau_{\text{кол}}$, але значно менше часу обертальної дифузії $\tau_{\text{диф}} \sim 10^{-5}$ с, коливання усереднюються, і на знімку видно регулярно розташовані, але випадковим чином орієнтовані молекули - К-структуру (рис. 2.3 б). Нарешті, при $\tau > \tau_{\text{диф}}$, т. е. В звичайному досліді вийде дифузвано усереднена К-структура (Д-структура) (рис. 2.3 в). У рідкій воді М- і К-структури подібні кристалічній, але Д-структура розмита переміщеннями молекул. Якщо подумки помістити фотокамеру на молекулу H_2O і реєструвати навколишні молекули під час руху даної, то вийде Д-структура рідини, що є усередненням її К-структур. Застосовуючи різні методи дослідження з різним часом досвіду τ , отримуються відомості про різні типи структури (рис. 2.4). Термодинамічні властивості характеризують, природно, Д-структуру рідини. Зазначимо, що найбільші часи релаксації у воді мають порядок 10^{-5} с (для льоду).



Рис. 2.3. Миттєва (а), коливально-усереднена (б) і дифузійно-усереднена (в) структури води.

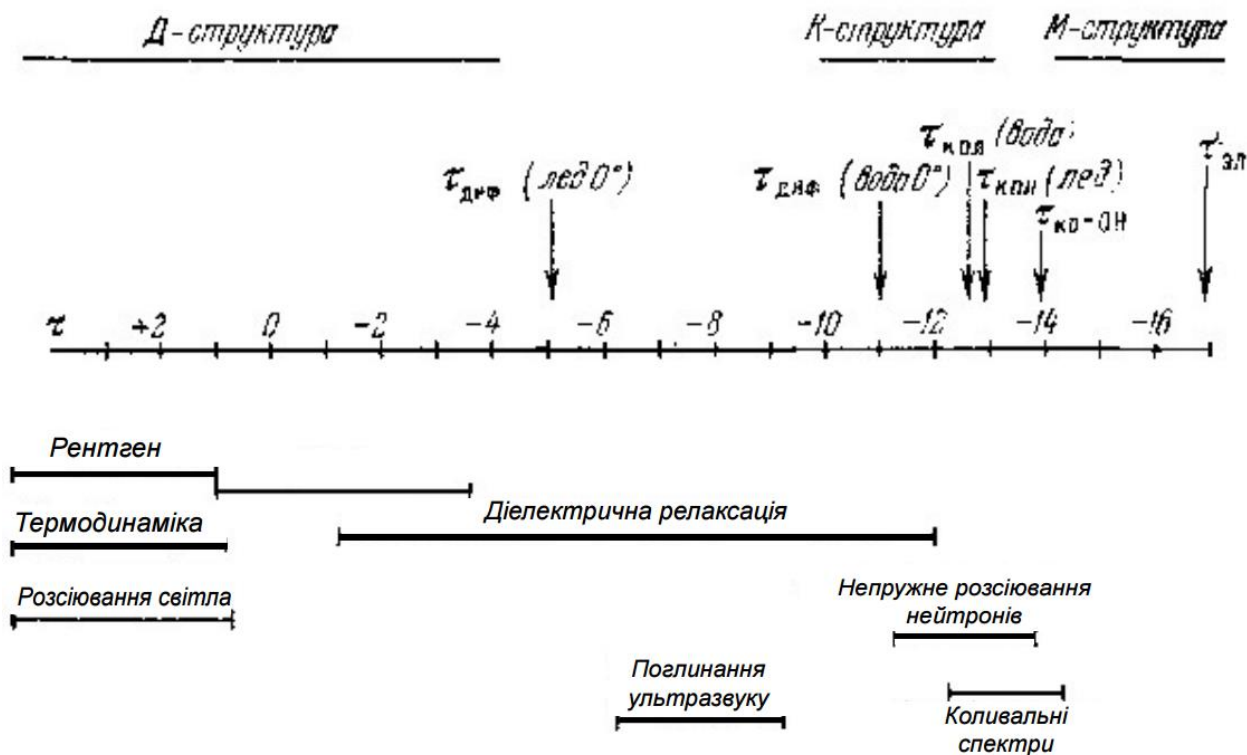


Рис. 2.4. Часові інтервали $\lg \tau$ (τ , с), які відповідають різним методам дослідження структури води і льоду

2.4. Елементарний хімічний склад організму людини

Приблизний елементарний склад організму людини наведено в табл. 2.3

Таблиця 2.3. Приблизний елементарний склад організму людини

Елемент	% до сухої речовини	% атомних співвідношень
C	50	10,68
O	20	25,7
H	10	60,5
N	8,5	2,44
Ca	4	0,23
P	2,5	0,13
K	1	0,04
S	0,8	0,13
Na	0,4	0,08
Cl	0,4	0,03
Mg	0,1	0,01

Надлишок Н і О визначається великою кількістю H_2O . Основними біомолекулами (біополімерами) в клітинах і тканинах вищих тварин є ДНК,

РНК, білки, полісахариди, ліпіди (хоча ліпіди не завжди є біополімерами і не завжди їх будівельними блоками служать жирні кислоти).

Таблиця 2.4. Будівельні блоки і функція основних біополімерів

Біомолекули	Будівельні блоки	Головна функція
ДНК	дизоксирибонуклеотид	гінетичний матеріал
РНК	рибонуклеотиди	гінетичний матеріал
Білки	амінокислоти	дуже різноманітна
Полісахариди (глікоген)	глюкоза	короткочасне запасання енергії
Ліпіди	жирні кислоти	компонент мембран, довготривале запасання енергії

2.5. Амінокислоти

Всі білки побудовані з 20 типів амінокислотних (АК) залишків. Мабуть, АК виникли на Землі на першому етапі хімічної еволюції. Найпростіші АК зустрічаються навіть у метеоритах.

Відомо більше 300 різних АК, але в природі вони існують у вільному стані або у вигляді коротких пептидів.

АК представляють собою похідні карбонових кислот, у яких один водневий атом заміщений на аміногрупу (-NH₂):



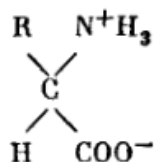
Слід підкреслити, що всі АК, що входять до складу природних білків, є α -АК, хоча аміногрупа у вільних АК може знаходитися і в β , γ , δ , ϵ положеннях.

АК відрізняються один від одного природою радикала (R).

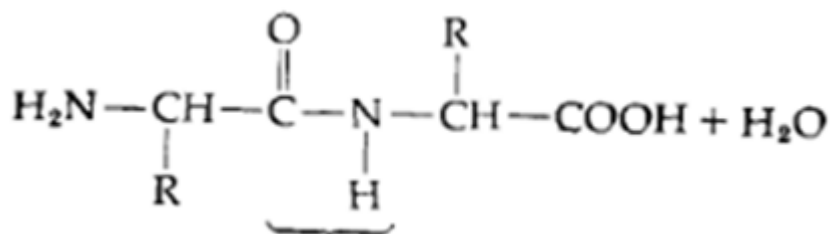
Всі існуючі в природі АК володіють загальною властивістю - амфотерністю (від грец. amphoteros - двосторонній), тобто кожна АК містить як мінімум одну кислотну і одну основну групу. У розчинах ці групи перебувають у двох формах: зарядженої і незарядженої, між якими підтримується рівновага.

Домінування кислих чи основних властивостей (зміщення рівноваги) залежить від властивостей середовища (pH).

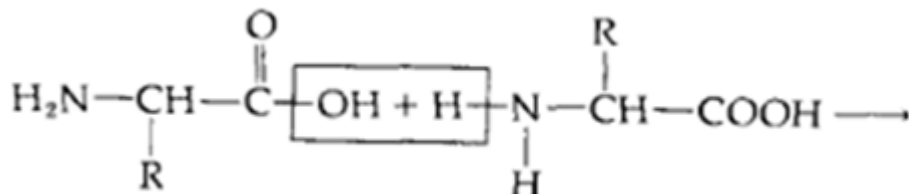
У сильно кислому середовищі (pH = 1) АК має позитивний заряд. У сильно лужній (pH > 11) - негативний. В залежності від pH АК можна розглядати як дипольний іон



Утворення білкового або поліпептидного ланцюга відбувається шляхом поліконденсації АК:



Пептидний зв'язок в дипептиді



α – Амінокислоти

З утворенням пептидного зв'язку NH-CO майже для кожної АК зустрічається властивість **амфотерності**. Властивості білків залежать від набору радикалів, присутніх в АК.

Сучасна загальноприйнята класифікація АК побудована на полярності R-груп, тобто на здатності взаємодіяти з водою при фізіологічних рН (рН → 7).

Розрізняють 5 класів АК:

- 1) неполярні гідрофобні,
- 2) полярні гідрофільні;
- 3) ароматичні (більшої частини неполярні),
- 4) негативно заряджені;
- 5) позитивно заряджені.

2.6. Білки та їх основні властивості

Білки - високомолекулярні азотовмісні органічні речовини, молекули яких побудовані із залишків АК. Міжнародна назва білків - протеїн (від грец. Protos - перший, найважливіший). Вітчизняна назва «білки» пов'язана з виявленням в тканинах тварин і рослин речовин, що мають схожість з білком курячого яйця.

Білки - високомолекулярні сполуки, до складу яких входять сотні і навіть тисячі АК - залишків. Молекулярна маса (м.м.) білків коливається від 6000 до 10^6 , в залежності від кількості поліпептидних ланцюгів (суб одиниць). У більшості м.м. білків складає близько 20000 (це 150-180 АК). Якщо в молекулі міститься менше 100 АК-залишків, то їх прийнято називати поліпептидами.

За допомогою білків реалізується генетична інформація ДНК. Без білків ДНК не може репліциватися, не може самовідтворюватися.

В даний час вважають, що в природі 10¹⁰-10¹² різних видів білків. Однак вивчено з них і визначено будову п'ятої частини.

Функції білків

1. Каталітична (ферментативна).

2. Транспортна. Дихальна функція крові, зокрема перенесення кисню здійснюється молекулами гемоглобіну - білка еритроцитів. Білки забезпечують транспорт міді, заліза, тироксинів, а також вітамінів в організмі.

3. Захисна функція. Основну функцію захисту виконує імунна система, яка забезпечує синтез специфічних білків-антитіл у відповідь на присутність антигенів (бактерій, токсинів, вірусів, білків і т.ін.). Захисна функція білків проявляється і в здібностях ряду білків плазми крові, зокрема, фібриногеном, до згортання. У результаті згортання фібриногени утворюють згусток крові, що оберігає від втрати крові при пораненнях.

4. Скорочувальна функція. Представлена білками м'язової тканини актину і міозину. Скорочувальна функція властива не тільки м'язовій тканині, а й, наприклад, білкам цитоскелету, які забезпечують розбіжність хромосом у процесі мітозу.

5. Структурна функція. Б. виконують структурну функцію (опорну), вони займають за кількістю перше місце. Серед них виділяють фібрилярні білки, такі, як колаген (у сполучних тканинах), кератин (у волоссі, кістках, шкірі), еластин (в судинній сітці) та ін

6. Гормональна функція.

7. Поживна функція. Цю функцію виконують так звані резервні білки, які є джерелом харчування для плоду, наприклад білок яйця (овальбумін), білок молока (казеїн). Ряд білків призначений для запасання АК.

8. Інші функції, наприклад, експресія генетичної інформації, генерування та передача нервових імпульсів, підтримка онкотичного тиску.

Склад білків в органах і тканинах. Найбільш багаті білковими речовинами тканини і органи тварин (табл. 2.5). Джерелом білка є також

мікроорганізми і рослини. Хоча для людини вони більше є джерелом амінокислот, ніж безпосередньо білків.

Таблиця 2.5. Вміст білків в органах і в рослинах

Орган тварини	Вміст Б. % від маси свіжої тканини	Органи рослин	Вміст Б. % від маси свіжої тканини
м'язи	18-23	зерна	10-13
печінка	18-19	стебло	1,5-3
селезінка	17-18	листя	1,2-3
нирки	16-18	корні	0,5-3
легкі	14-15	фрукти	0,3-1
мозок	7-9		

Елементарний склад білків у перерахунку на суху речовину представляє:

C – 50-54 %,

O – 21-23 %

H – 6,5-7,3 % ,

N – 15-17% ,

S – 0,5%.

Фізично-хімічні властивості білків

Найбільш характерними фізико-хімічними властивостями білків є:

- 1) висока в'язкість розчину;
- 2) незначна дифузія;
- 3) здатність до набухання у великих межах;
- 4) оптична активність;
- 5) електрофоретична рухливість;
- 6) низький осмотичний і високий онкотичний тиск;
- 7) здатність до поглинання променів ультрафіолетового випромінювання

за 280 нм (завдяки ароматичним амінокислотам).

Незначна дифузія, висока в'язкість та онкотичний тиск пов'язані, в першу чергу, з великою молекулярною масою білків, їхніми розмірами та розвиненою питомою поверхнею, яка сорбує у великій кількості молекули води.

Здатність до набухання. Набухання - збільшення маси і об'єму ВМС за рахунок поглинання низкомолекулярної рідини або її пара. Воно характеризується ступенем набухання:

$$\alpha = \frac{m - m_0}{m_0} = \frac{m_x}{m_0}$$

де m_0 и m – маса ВМС до та після набухання, m_x – маса поглиненої рідини.

Білки володіють явно вираженими гідрофільними властивостями і поглинають величезну кількість води. На рис. 2.5 наведені деякі типові криві абсорбції білками води.

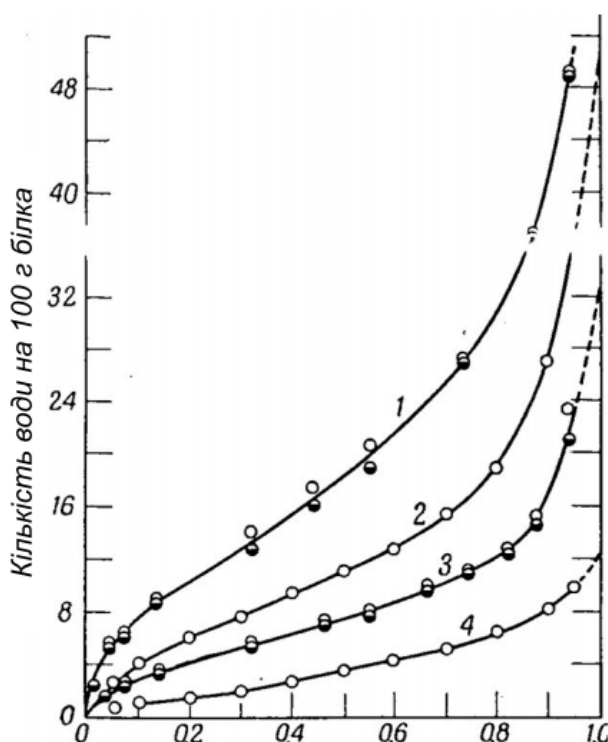


Рис. 2.5. Криві адсорбції води при 25 ° С: вологим (°) і сухим (•) колагеном - крива 1; яєчним альбуміном - крива 2; вологим (O) і сухим (θ) шовком - крива 3; нерозтягнутому нейлоном - крива 4

Для всіх вивчених білків спостерігається дуже швидке зростання поглинання води при підвищенні тиску пари чистої води від 0 до $\sim 0,1$ при тій же температурі. Потім є плоска ділянка, за якою слідує новий різкий підйом кривої в міру наближення до 100% -ної вологості. Кількість зв'язаної води на першій ділянці кривої для різних білків коливається від 4 до 10 г на 100 сухого білка. Це значно менше тієї кількості, яка потрібна для утворення моношару води на поверхні білкової молекули.

Зв'язування молекул води білком на стадії, що відповідає першій ділянці кривої, супроводжується значним виділенням тепла: 3-6 ккал на моль води. Це відповідає величині (негативною) ΔH ізотермічного перенесення 1 молю води від чистої рідини до її з'єднання з сухим білком. Енергія, що виділяється при зв'язуванні решти кількості води, значно менше. Зв'язування перших порцій води супроводжується також помітним зменшенням об'єму, порядку $0,05 \text{ см}^3$ на 1 г білку. Аналогічні дані були отримані також для ряду інших білків.

Вимірювання дифракції рентгенівських променів і вивчення складу висушених в вакуумі кристалів обох білків вказують на щільність, близьку до 1,17. Остання зростає до 1,27 в повітряно-сухих кристалах, що містять 8-10% вологи, причому поглинання такої кількості води практично не викликає зміни просторового осередку кристала. Мабуть, перші порції води, що входять до висушеної у вакуумі кристалу, розташовуються в проміжках між молекулами або всередині молекул білка і не викликають збільшення об'єму кристалу. Це проникнення, звичайно, не є просто геометричним заповненням вільного простору. Значна кількість теплоти, що виділяється при зв'язуванні води в цих системах, вказує на сильну взаємодію між водою і полярними групами білкових молекул

Доказом міцності зв'язку першої порції води з білками є висока енергія цього зв'язку і помітне зменшення об'єму, що супроводжує процес зв'язування. Теоретичний розрахунок показав, що зв'язування молекул води

білком на стадії, відповідної першої ділянки кривої, супроводжується виділенням значної кількості енергії - від 3 до 6 ккал на 1 моль зв'язаної води. Зв'язування води на цьому етапі супроводжується також помітним збільшенням щільності: так, щільність яєчного альбуміну після зв'язування 6,15% води зростає з 1,2655 до 1,2855. Питомий об'єм відповідно зменшується з 0,792 до 0,777 мл / г. В середньому це зменшення об'єму для різних білків становить приблизно 0,05-0,08 мл на 1 г сухого білка.

Кількість зв'язаної води на першій ділянці кривої для різних білків коливається від 4 до 10 г на 100 г сухого білка, тобто від 4 до 10%. Це значно менше тієї кількості, яка потрібна для утворення суцільного моношару води на поверхні білкової молекули і становить Ч' цієї величини. При підвищенні пружності водяної пари від 20 до 60% відносної вологості відбувається додаткове зв'язування води, близьке за величиною до кількості міцно зв'язаної води. Однак енергія, що виділяється при зв'язуванні цього шару води, значно менша і дорівнює приблизно 1,3-1,5 ккал / моль, а щільність білка і об'єм системи не змінюються. Все це говорить про те, що другий сольватаційний шар дуже крихкотілий і має слабкий зв'язок з макромолекулою білка, причому цей зв'язок, мабуть, не обумовлений безпосередньою взаємодією з полярними групами білкової молекули '. Нарешті, при ще більш високому тиску водяної пари кількість зв'язаної білком води різко збільшується, досягаючи 40-60 г на 100 г білка. Щільність білка при цьому зменшується і досягає, наприклад, для сироваткового альбуміну після зв'язування 56,28% води 1,1280.

Механізм зв'язування води білком при відносно високих тисках водяної пари в даний час неясний.

В більш загальному вигляді ступінь набухання речовин у низькомолекулярному середовищі може протікати у часі по закономірностям, які наведені на рис.2.6.

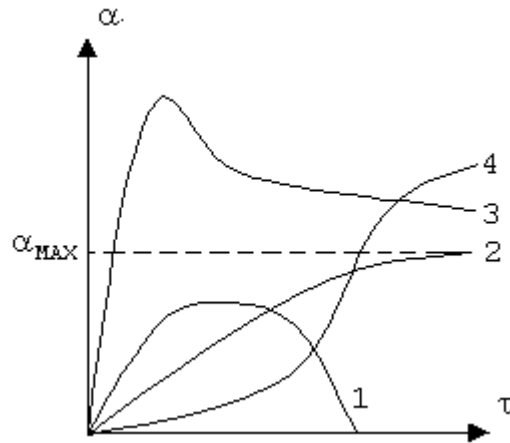


Рис. 2.6. Типи кривих кінетики набухання речовин (α - ступінь набухання, τ -час): 1 - необмежене набухання, що приводить до розчинення; 2 - швидке набухання ; 3 - набухання з виділенням деякої кількості низькомолекулярних фракцій; 4 - повільне набухання

2.7. Електрофоретична рухливість

Електрофорез - метод, що дозволяє розділити макромолекули, що розрізняються за такими найважливішими параметрами, як:

- розміри (молекулярна маса);
- просторова конфігурація;
- вторинна структура;
- електричний заряд.

Причому, параметри ці можуть виступати як порізно, так і разом.

Електрофоретична рухливість обумовлена амфотерністю білків завдяки вільним групам.

У ранніх варіантах методу біологічні суміші наносили на паперову смужку, просочену буферним розчином, і приєднували кінці смужки до катода і анода. Під дією електричного поля різні молекули рухалися в різних напрямках і з різними швидкостями. Напрямок руху молекул визначался знаком сумарного заряду молекули даної речовини при обраному рН буферного розчину, а швидкість руху - величиною цього заряду.

Поступово вихідний препарат, що складається з різних макромолекул, розділяється на зони однакових молекул, мігруючих з однією і тією ж швидкістю. Згодом ці зони розподіляються по довжині каналу.

Після того, як саме «швидка» речовина дійде до кінця смужки, електричний струм вимикали, і речовини з різним зарядом молекули виявлялися в різних ділянках паперової смужки.

Кількість суміші речовин, яку можна розділити за допомогою електрофорезу, зазвичай, буває невелика, саме тому, цей метод частіше використовують для аналізу, а не для препаративного виділення потрібної речовини.

Електрофорез на папері зараз не використовується, його замінив більш сучасний варіант - електрофорез в гелі. Гель - це тверда еластична речовина, що складається з довгих ниток полімеру, між якими вільно переміщається вода і невеликі іони. Досить чиста і гідрофільна сітка такого гелю утримує рідину від витікання і перешкоджає конвекції. Тим часом, за наявності сітки будь-які молекули при міграції стикаються з нитками полімеру, що збільшує ефективне тертя об середовище.

В даний час для поділу пептидів і нуклеїнових кислот майже завжди використовують поліакриламідні гелі (ПААГ) і гелі агарози. Варіюючи концентрацію цих полімерів, можна отримувати гелі з дуже широким діапазоном розмірів пор. Крім того, можна змінювати електричні заряди макромолекул шляхом варіації рН буфера, а також шляхом введення в буфер денатуруючих агентів.

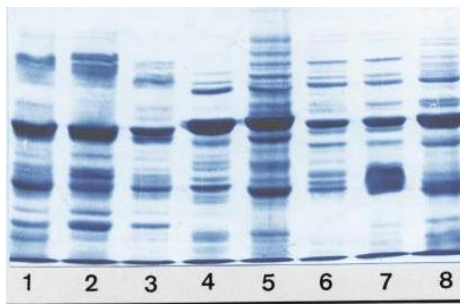
Агарозні гелі часто застосовують для поділу нуклеїнових кислот, а білки частіше поділяють в поліакриламідному гелі.

До країв пластинки з гелем приєднують катод і анод і включають електричний струм. Під дією електричного поля молекули будуть рухатися у відповідності зі своїм зарядом. Слід зазначити, що при електрофорезі в гелі відбувається поділ макромолекул не тільки по заряду, а й за розміром

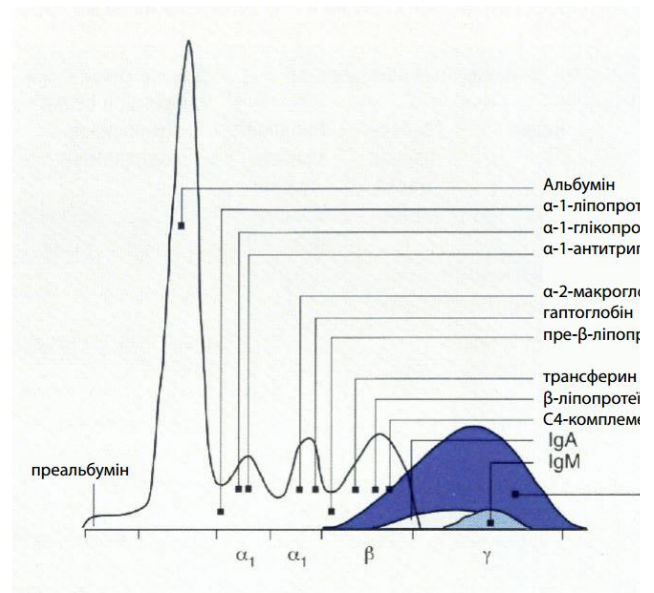
молекули. Полімерні ланцюжки гелю утворюють просторову решітку, через яку доводиться «протискуватися» білкам і нуклеїнових кислот. Великі молекули будуть часто битися об цю решітку, що сильно уповільнить їх рух, молекули середнього розміру будуть битися не так часто, і ефект уповільнення позначиться менше, а дрібні молекули майже не будуть битися в решітку.

При електрофоретичному розподілу в лужному середовищі білки сироватки крові здорової людини формують 5-6 фракцій (див. рис. 2.7.). До складу кожної такої фракції входять від одного до декількох білків з близьким електричним зарядом. Розрізняють такі фракції:

1. Преальбумін - представлений білком транстиретином.
2. Альбумін - найбільша фракція, представлена в основному альбуміном
3. α_1 - глобуліни - альфа-ліпопротеїди, альфа₁-антитрипсин, альфа₁ гликопротеїд, альфа-антихімотрипсин
4. α_2 - глобуліни - гаптоглобін, альфа₂-макроглобулін, церулоплазмін, Gc-глобулін, антитромбін III, інгібітор C1-естерази, альфа₂-HS-гликопротеїд, C-реактивний білок
5. β_1 -глобуліни - трансферин, β -ліпопротеїди, C3 і C4 компонент комплементу, гемопексин, β_2 -мікроглобуліну
6. γ -глобуліни - імуноглобуліни A, M, G, E, D, легкі ланцюги імуноглобулінів, лізоцим.
7. додаткові фракції (при патології)



а



б

Рис. 2.7. Результати електрофорезу сироватки крові людини: а – приклад розділення білків на фракції у восьми різних пробах; б – якісний розподіл білків на електрофореграмі

У разі необхідності більш детально дослідити ту чи іншу фракцію білків її виділяють з гелю та проводять новий електрофорез тільки цієї групи.

Існує варіант методу електрофорезу в гелі, що дозволяє розділяти білки безпосередньо за молекулярною масою, без будь-якого впливу ізоелектричної точки - це електрофорез в додецилсульфат натрію (ДДС). ДДС ($C_{12}H_{25}-O-SO_3Na$) складається з довгого гідрофобного хвоста і негативно зарядженої (у водному середовищі) головки. Гідрофобні хвости молекул ДДС зв'язуються з молекулами білка (з 1 г білка зв'язується близько 1,4 г ДДС), а негативно заряджені головки надають всій глобулі негативний заряд. Оскільки з кожною білковою молекулою зв'язується безліч молекул ДДС, то власний заряд амінокислотних залишків вже не має значення.

Після обробки ДДС білкова молекула набуває негативний заряд, причому, чим більше білок, тим заряд більше. Співвідношення заряду до маси у всіх білків стає однаковим, і тепер швидкість їх руху залежить тільки від тертя об просторову решітку гелю. Воно визначається розмірами білка: чим

більше білок, тим повільніше він буде рухатися в гелі. На жаль, обробка ДДС викликає денатурацію білкових молекул і необоротну втрату ферментативної активності.

Однією з фізичних величин, що характеризують властивості білкових сполук, є ізоелектрична точка. У ізоелектричній точці сумарний заряд білків, що володіють амфотерними властивостями, дорівнює нулю, і білки не переміщуються в електричному полі. pI - є характерною константою білків. pI більшості білків тваринних тканин лежить в межах від 5,5 до 7, що свідчить про часткове переважання кислих А.К. Однак у природі існують білки, у яких значення pI лежить в крайніх значеннях рН. Зокрема pI пепсину (фермент шлункового соку) дорівнює 1, а сальміна (основний білок з молочка сьомги) - майже 12.

На противагу електрофорезу з ДДС, ще один метод - ізоелектрофокусування - розщеплює білки тільки по їх ізоелектричним точкам. Принцип методу полягає в тому, що в гель додають особливі речовини - амфоліти. Це невеликі амфотерні молекули з начебто масою кілька сотень дальтон. У них є цінна для біохіміків властивість: під дією електричного поля ці речовини створюють градієнт рН - близько катода середовище буде лужним, близько анода - кислим, а по ходу гелю рН буде плавно змінюватися. Припустимо, молекула певного білка виявилася в зоні з рН вище його ізоелектричної точки. Вона отримає негативний заряд і буде рухатися до анода. У процесі руху вона буде потрапляти в області з все більш низьким рН і нарешті дійде до ділянки, де рН дорівнює ізоелектричній точці. Там молекула білка зупиниться, оскільки її сумарний заряд буде дорівнює нулю. Нехай інша молекула виявилася в зоні з рН нижче ізоелектричної точки. У неї буде позитивний заряд, вона стане рухатися до катода і теж дійде до зони з рН, що дорівнює ізоелектричній точці. У підсумку всі молекули даного білка сконцентруються в дуже вузькій області, що відповідає її ізоелектричній точці. Інший білок буде зосереджуватися в іншій зоні, третій - в третій і т. д. Для

проведення ізоелектрофокусування використовують самі великопористі гелі, щоб тертя об просторову ґратку не уповільнювало рух білків. Якщо хочуть зруйнувати четвертинну структуру білків і розділити їх на субоддиниці, то в гель додають сечовину. Ізоелектрофокусування розділяє білки по ізоелектричним точкам, а електрофорез, наприклад, в додецилсульфаті натрію - за молекулярною масою. Найкращий поділ виходить при поєднанні цих методів - двовимірному електрофорезі. Білкову суміш спершу піддають ізоелектрофокусуванню. Потім смужку гелю вимочують в розчині додецилсульфату натрію, накладають на пластину поліакріламідного гелю з ДДС і проводять електрофорез в напрямку, перпендикулярному напрямку ізоелектрофокусування. В результаті білки будуть знаходитися у вигляді маленьких цяток на платівці гелю - вийде як би двовимірна карта всіх білків даної суміші. При цьому «довжина» білкової плямочки визначається її ізоелектричної точкою, а «ширина» - її молекулярною масою (рис. 2.8)

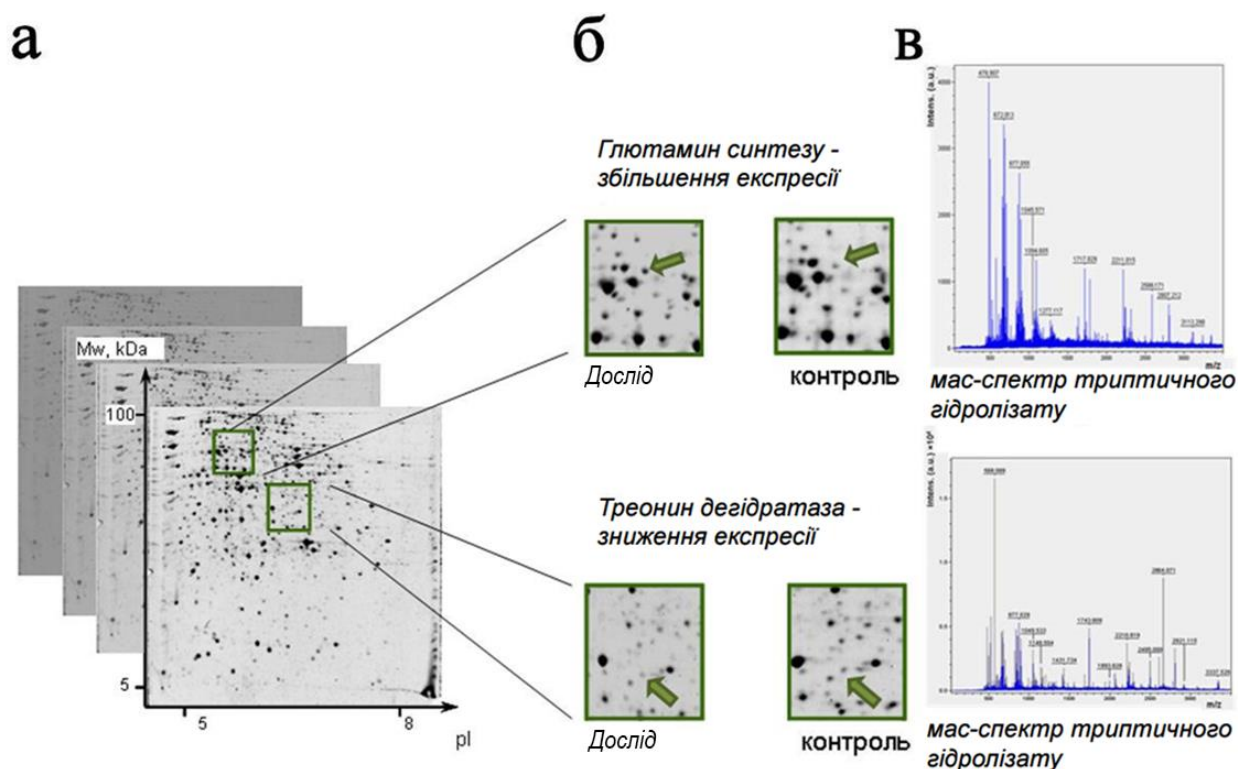


Рис. 2.8. Приклад 2D електрофорезу.

На рис.2.8 показана зміна рівня експресії генів *E. coli* у відповідь на опромінення терагерцового діапазону

Рис.2.8.а - зразки високовідтворюваного двовимірного електрофорезу білків *E. coli* (поділ білків проводили в двох напрямках - по осі X згідно їх ізоелектричним точкам (pI, вісь X) і молекулярним масам (Mw, вісь Y).

Рис.2.8.б - збільшені фрагменти двовимірного електрофорезу. Стрілками відмічені фракції білків, що змінили свою експресію в результаті впливу терагерцового випромінювання

Рис.2.8. с - ідентифікація білків проведена методом MALDI-TOF мас-спектрометрії з подальшим біоінформатичним аналізом

2.8. Хіральність. Асиметрія біологічних молекул

Переважає більшість скільки-небудь складних молекул, що містять більше ніж три атома, не має площини і центру симетрії. Такі молекули діссиметричні, хіральні. Термін «хіральність» (від давньогрецького Хейро - рука: хірургія, хіромантия) означає не співпадіння деякої структури з її дзеркальним відображенням. Ці дві конфігурації не можна поєднати простими поворотами, і ставляться один до одного як права і ліва руки (рис. 2.9)



Рис. 2.9. Права і ліва руки

У біологічних молекулах хіральність найчастіше визначається асиметричним атомом вуглецю (зазвичай його позначають зірочкою) (рис. 2.10).

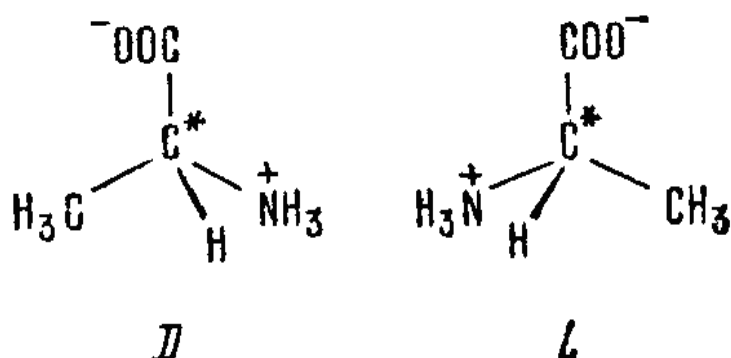


Рис. 2.10. Права і ліва конфігурації аланіна

Атом вуглецю асиметричний, якщо всі чотири групи, з якими він пов'язаний, різні.

Хіральність властива 19 канонічним АК (всім, крім гліцина).

У хімічному синтезі завжди результат являє собою рацемічну суміш, яка містить в середньому по 50% правого і лівого антипода. Це відповідає максимальній ентропії зсуву.

У БС функціонально значення відіграє строго певна конфігурація.

Амінокислотні біологічні залишки і більшість інших біологічних молекул є «лівшами», L-формами, хоча, наприклад, вуглеводи в ДНК-РНК є D-формами.

Права і ліва форми однаково реагують з симетричними молекулами. Вони відрізняються своєю взаємодією з поляризованим світлом. Хіральні речовини, на відміну від рацемічних сумішей, обертають площину поляризації світла і по-різному поглинають світло.

Клітка засвоює строго певні форми молекул. Відомі речовини, отруйні в одній формі і нешкідливі в іншій, навіть якісь є солодкими, а інші - позбавлені смаку.

Хіральність існує в живій природі як на молекулярному рівні, так і на більш високих рівнях організації. Вона визначається «хіральною» регуляцією ферментативних процесів. Зовнішнє середовище так само істотно впливає на домінування в популяції тієї чи іншої хіральної форми, наприклад, деякі черепашки закручуються за годинникову стрілку при $t^{\circ} < 7^{\circ}\text{C}$, при великих температурах - в зворотному напрямку (рис. 2.11).



Рис. 2.11. Зміна хіральності равлика *Lymnaea stagnalis* в залежності від зовнішніх температурних факторів

Колонії бактерій також нерідко утворюють певні хіральні структури.

Багато кристалів, побудовані з симетричних молекул, також мають властивості хіральності, наприклад SO_2 (кварц) \rightarrow еволюція.

Виникнення і фіксація хіральності в живій природі представляють винятковий інтерес. Спроби пояснити ці факти малої кругової поляризації світла, розсіяного земною атмосферою, або радіоактивним опроміненням (у зв'язку з не зберіганням парності в ядерних процесах) не увінчалися успіхом. Слід розглядати ці явища в світлі загальної теорії добіологічної еволюції, що моделює виникнення порядку з безладдя, виникнення інформації. Вибір антипода означає створення інформації, яка дорівнює 1 біт на молекулу мономеру. Є вагомими підстави вважати, що початкове виникнення хіральності було результатом флуктуації. Флуктуативне відхилення від рівномірного рацемічного розподілу може необмежено наростати, якщо система є автокаталітичною, тобто самовідтворювальною. Ілюструємо це модельним розрахунком. Нехай χ_1 і χ_2 - числа молекул полімеру (типу РНК),

побудованого відповідно з D і L-мономерів, кількості яких ми позначимо через m_1 і m_2 . Полімери будують свої копії з мономерів - мається матрична авторепродукція. Крім того, полімери здатні розкладатися. Кінетичні рівняння, що описують розвиток системи, мають вигляд

$$\dot{\chi}_1 = a\chi_1\omega_1 - b\chi_1, \dot{\chi}_2 = a\chi_2\omega_2 - b\chi_2 \quad (2.1)$$

де a та b — константи швидкостей полімеризації і розкладу,

$$\omega_1 = m_1 / (m_1 + m_2), \omega_2 = m_2 / (m_1 + m_2)$$

(2.2)

Імовірності зустрічі матриць 1 і 2 з мономерами m_1 і m_2 відповідно.

У стаціонарному стані $\dot{\chi}_1 = \dot{\chi}_2 = 0$, звідки $\omega_1 = \omega_2 = b/a$ і значить $m_1 = m_2$, тобто $\omega_1 = \omega_2 = 0,5$, $a = 2b$, і система рацемічна.

Нетривіальний розвиток системи можливий при нерівності $m_1 \neq m_2$ в результаті флуктуації. Припустимо, що

$$\omega_1 = 0,5 + \alpha, \omega_2 = 0,5 - \alpha, \quad (2.3)$$

якщо $\alpha > 0$. Тоді рішення системи (6.1) має вигляд

$$\chi_1 = \chi_1(0) \exp\left[\left(\frac{a}{2} - b\right)t\right] \exp(a\alpha t), \quad (2.4)$$

$$\chi_2 = \chi_2(0) \exp\left[\left(\frac{a}{2} - b\right)t\right] \exp(-a\alpha t).$$

З часом популяція χ_1 стане домінуючою:

$$\frac{\chi_1}{\chi_2} = \frac{\chi_1(0)}{\chi_2(0)} \exp(2a\alpha t). \quad (2.5)$$

Більш докладний аналіз проблеми вимагає залучення сучасної теорії нелінійних систем. Подальша біологічна еволюція означає подальше закріплення хіральності, так як хіральної системи мають переваги перед рацемічними - вони більш специфічно взаємодіють з навколишнім середовищем, відрізняючи праве від лівого.

2.9 Клубок і глобула

У макромолекулах сильні ковалентні зв'язки практично не залежать від T° . Слабкі зв'язки фактично відповідальні за конформаційні властивості ланцюга та взаємодії його ланок один з одним та істотним чином залежать від T° .

Полімерний клубок, що виникає внаслідок теплових флуктуацій - поворотів навколо одиничних зв'язків, є рихлим утворенням. Клубок як флуктуююча система характеризується кореляцією щільності, тобто зв'язком зміни щільності в одній області простору, зайнятої клубком, зі зміною щільності в іншій його області. Виявляється, що радіус кореляції дорівнює розмірам клубка. Звідси випливає, що розподілена щільність клубка не постійна. Клубок флуктує в макроскопічному масштабі. Має значення тільки середня щільність клубка.

Гнучкість клубка характеризується його розмірами - чим більше ці розміри при тому ж числі ланок, тим більше жорсткою є ця молекула.

Якщо між ланками ланцюга реалізується сильне тяжіння або на нього діє зовнішня сила, то він «схлопується» в компактну структуру - в глобулу (рис. 2.12 та 2.13).

На відміну від клубка в глобул визначаються різні певні стабільні структури (с $r_{\text{кор}} \ll R$ - радіуса глобули).

Було встановлено, що якщо ланцюг досить довгий і його гнучкість мала ($d^3 \gg r^3$, d - відстань між ланками, r - радіус взаємодії), то перехід від клубка

до глобул під дією зовнішнього чинника відбувається стрибкоподібно (перехід першого роду).

При $d^3 \approx r^3$ – перехід є поступовим (другого роду).

Для глобули при $d^3 \gg r^3$ - є двофазний: має щільне ядро і рихлу периферію.

Більшість білків - глобулярні.

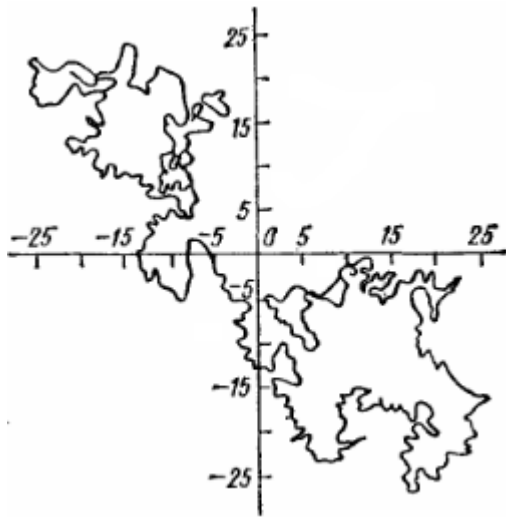


Рис. 2.12. Конформація клубка

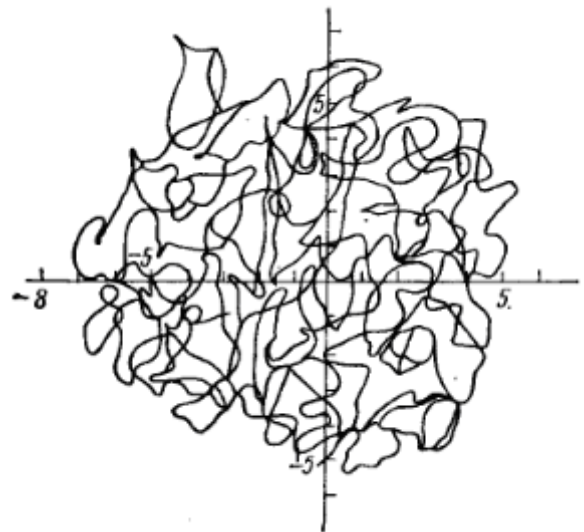


Рис. 2.13. Конформація глобули

2.10. Будова білків

Розрізняють 4 рівня організації білкової молекули (рис. 2.14):

- первинна;
- вторинна;
- третинна;
- четвертинна.

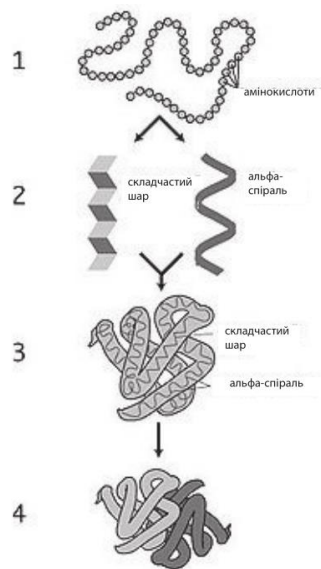
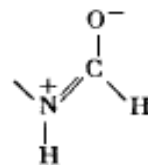


Рис. 2.14. Рівні структури білків: 1 - первинна, 2 - вторинна, 3 - третинна, 4 - четвертинна

Пептидний зв'язок - CO-N H-, з'єднує амінокислотні залишки в білках, має специфічну плоску будову, як це було встановлено методом рентгеноструктурного аналізу (Полінг і Кори). Всі чотири атома зв'язку лежать в одній площині.

Зв'язок N-C є скорочений у порівнянні з аліфатичним аміном R - NH₂, де її довжина дорівнює 0,147 нм. Це скорочення, так само як і плоске розташування зв'язків, свідчить про сполученні зв'язків C і C-O, про перекривання їх електронних оболонок, що супроводжується зсувом електронної щільності від N до C. Це можна зобразити внеском структури, тобто зв'язок N-C частково подвійний, зв'язок C = O частково одинарний



Послідовність амінокислотних залишків у білкового ланцюга називається її **первинною структурою**. Визначення первинної структури проводиться шляхом часткового гідролізу білка за допомогою протеаз, що каталізують розщеплення пептидного зв'язку лише між певними залишками.

Так, трипсин «ріже» лише зв'язки, утворені СО-групами залишків основних амінокислот-Арг або Ліз. У результаті утворюється суміш пептидів - коротких фрагментів білкового ланцюга. Їх ідентифікація проводиться за допомогою хімічних та фізико-хімічних методів (хроматографія, електрофорез). Впливаючи другим ферментом, можна «розрізати» інші зв'язки у білку і отримати суміш інших фрагментів (пептидів) і т. д.

Гідроліз відбувається при дії на білок лугів, кислот, а також протеолітичних ферментів (протеаз), що каталізують розрив пептидних зв'язків. Одержуваний гідролізат - розчин суміші амінокислот - аналізується методами хроматографії та електрофорезу. Зазначимо, що протеолітичний гідроліз виникає при травленні - білки їжі розщеплюються в травному тракті на амінокислоти, з яких будуються заново білки, необхідні організму.

Склад білків нерівномірний - різні амінокислотні залишки представлені в білках з різними частотами. Є рідкісні і часті залишки, подібно до того як у українських текстах є рідкі (наприклад, ф) і часті (наприклад, а) букви. До найбільш рідкісних залишків відносяться Трп, Мет, Цис, до найбільш частих - Ала, Сер, Гли. Це справедливо в середньому - деякі спеціалізовані білки мають специфічний склад, відмінний від середнього (наприклад, колаген).

В даний час встановлені первинні структури тисяч білків. Їх зведення систематично публікуються в атласі білкових структур. На рис. 2.15 та 2.16 зображені первинні структури рибонуклеази бика і міоглобіну кашалота. У першому випадку є чотири дисульфідні зв'язки, що з'єднують один з одним залишки Цис.

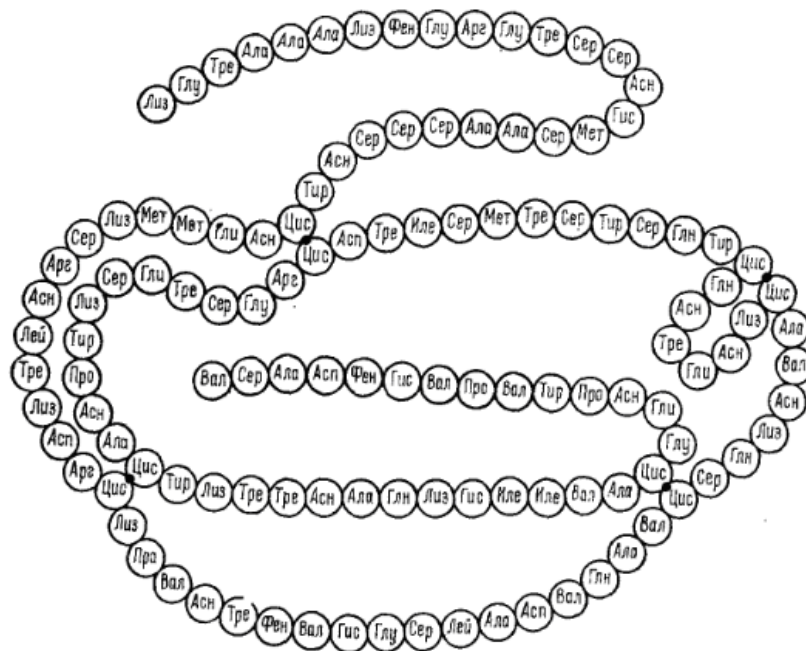


Рис. 2.15. Первинна структура рибонуклеази бика

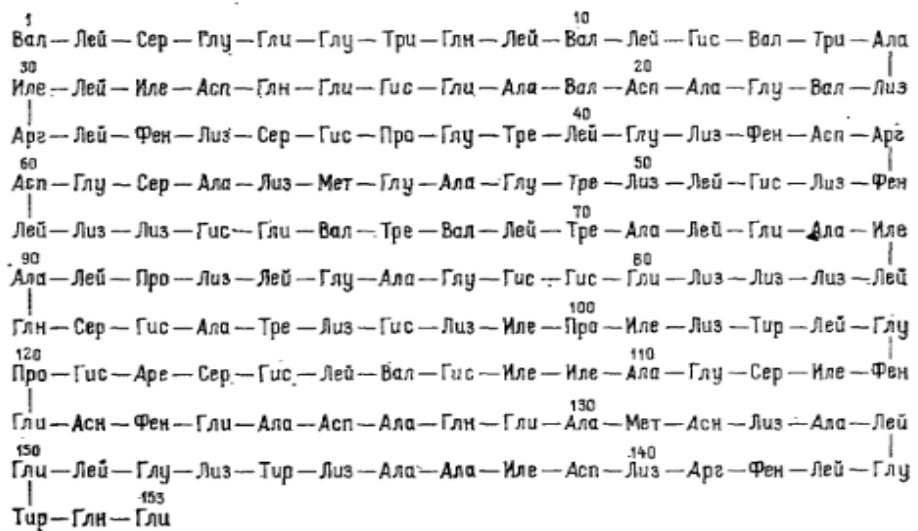


Рис. 2.16. Первинна структура міоглобіну кашалота

Первинна структура білка даного виду може змінюватися також в результаті мутацій. Виникають «помилки» у білковому тексті, що часто негативно позначаються на функції білка. Ряд спадкових захворювань крові пов'язаний з мутаціями гемоглобіну. Важке захворювання - серповидноклітинна анемія - викликається заміщенням залишку Гли на Вал в шостому місці β - ланцюгів гемоглобіну. Гемоглобін людини складається з

чотирьох ланцюгів - двох ланцюгів, що містять по 141 залишку α , і двох ланцюгів β , що містять по 146 залишків. Таким чином, заміна всього лише двох залишків з 574 призводить до дуже серйозних наслідків. У цьому випадку неполярні нейтральні залишки замінюються кислотними. Зараз відомо кілька сотень мутантних гемоглобінів людини.

Далеко не всі заміни амінокислотних залишків призводять до помітних змін будови і біологічних властивостей білків. Велика частина замін нейтральна і не схильна до тиску природного відбору.

Під **вторинною структурою білка** розуміють спосіб згортання, скручування, упаковки поліпептидного ланцюга у спіраль або яку-небудь іншу форму.

Виділяють α -спіраль і β -структуру.

Альфа-спіраль (α -спіраль) — типовий елемент вторинної структури білків, який має форму правозакрученої гвинтової лінії, в якій кожна аміногрупа (-NH₂) в каркасі утворює водневий зв'язок з карбонільною групою (-C=O) амінокислоти, що знаходиться на 4 амінокислоти раніше (водневий зв'язок). Цю структуру іноді називають класичною альфа-спіраллю Полінга-Кори-Бренсона за ім'ям авторів, які вперше описали цю структуру (рис.2.17).

Параметри ідеальної α -спіралі:

- число амінокислотних залишків на віток спіралі - 3,6-3,7
- діаметр спіралі - 1,5 нм
- шаг спіралі - 0,54 нм
- на один амінокислотний залишок приходить 0,15 нм

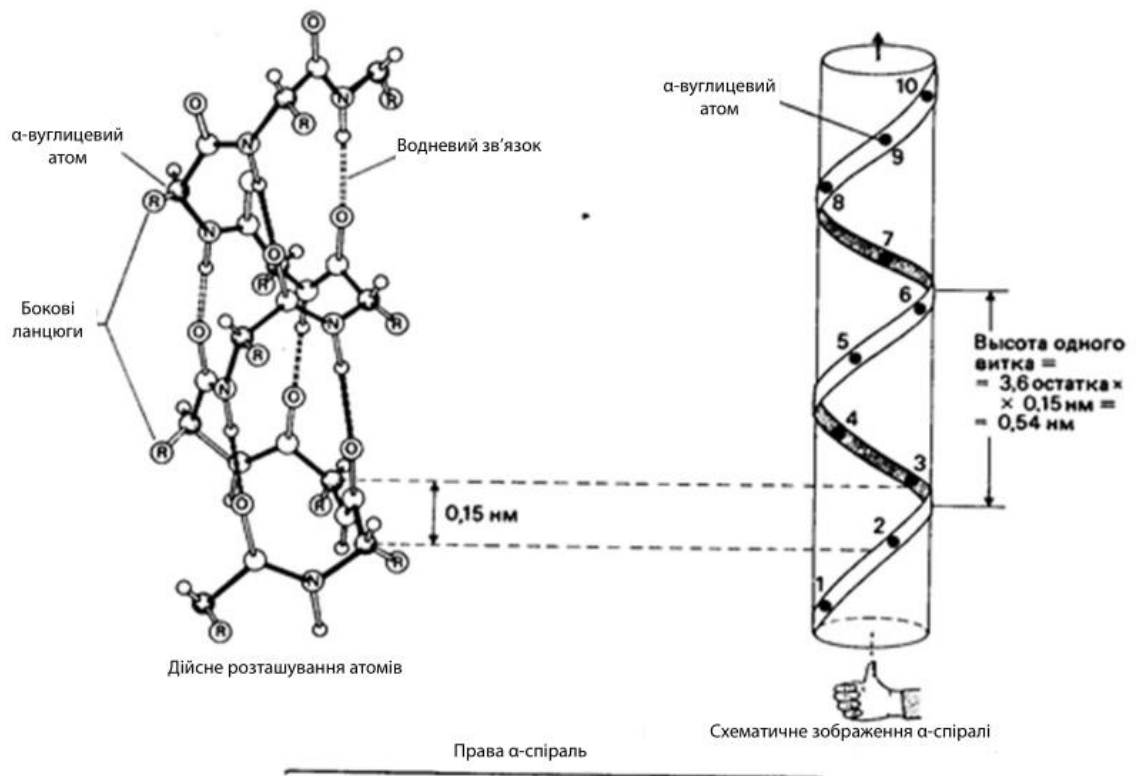


Рис. 2.17. Права α -спіраль

Такі параметри обчислені, виходячи з припущення, що конформація всіх амінокислотних залишків (кути ϕ і ψ), що входять до складу α -спіралі, однакові. Однак у реальних білках конформації окремих амінокислотних залишків трохи розрізняються, що може призводити до невеликого викривлення осі спіралі, до різної кількості амінокислотних залишків у витках спіралі і т. п.

Бета-лист (β -лист, бета-шар або складчастий шар) — типовий елемент вторинної структури білків, що складається з бета-ланцюгів, сполучених разом трьома або більше поперечних водневих зв'язків, утворюючи зазвичай завитий складчастий шар. Бета-ланцюг (або β -ланцюг), складова частина бета-листа, представляє собою ланцюжок амінокислот зазвичай 5-10 амінокислот у довжину, чиї пептидні ланцюги майже максимально розтягнуті (рис.2.18).

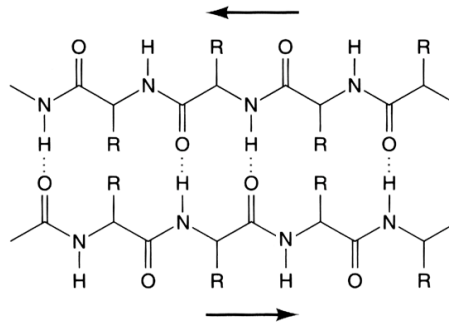


Рис. 2.18. Діаграма β -листа з водневими зв'язками між білковими ланцюгами.

Третинна структура – спосіб укладання поліпептидного ланцюга в певний об'єм.

Процес укладання – фолдінг. Відбувається ймовірно і процес відбору можливих стабільних і біологічно активних конформацій.

Четвертинна структура – спосіб укладання в просторі поліпептидних ланцюгів, що володіють однаковою (або різною) первинною, вторинною або третинною структурою та формування у структурному і функціональному плані молекулярного рівня.

Багато функціональні білки складаються з декількох поліпептидних полімерних ланцюгів, з'єднаних нековалентними зв'язками. Кожен, окремо взятий, поліпептидний ланцюг (протомера / мономер / субодиниця) частіше за все не володіє біологічною активністю.

Цю здатність білки отримують тільки при певному об'єднанні полімерів. Утворену молекулу називають *олігомером*. Так молекула гемоглобіну складається з двох α і двох β поліпептидних ланцюгів.

2.11. Білки гемоглобін та міоглобін

До групи гемопротеїнів відносяться гемоглобін і його похідні, міоглобін, хлорофілскладові білки і ферменти (вся цитохромна система,

каталаза і пероксидаза) (рис. 2.19). Всі вони містять активні центри з небілковими компонентами, які структурно подібні залізу (або магнію) у порфірині. Але різні за складом і структурою білки, забезпечуючи різноманітність їх біологічних функцій.

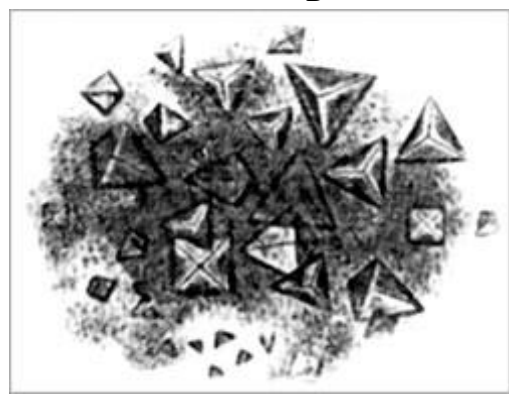
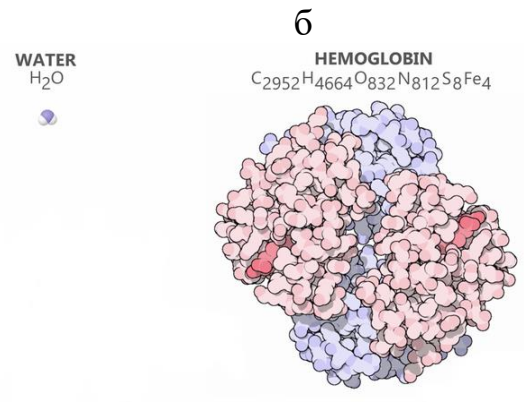
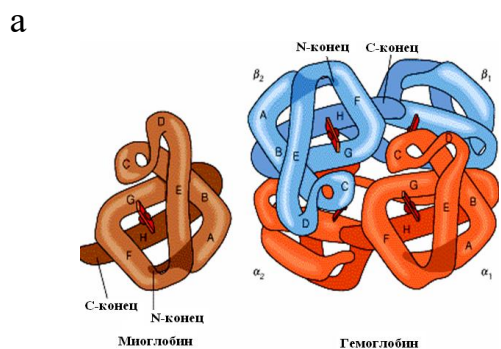
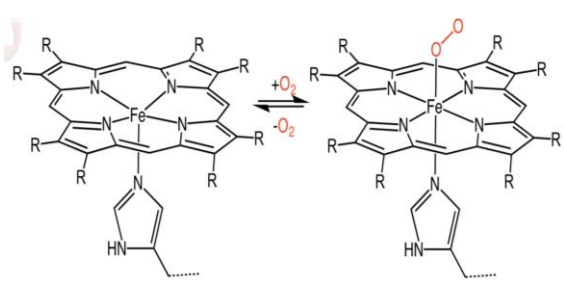
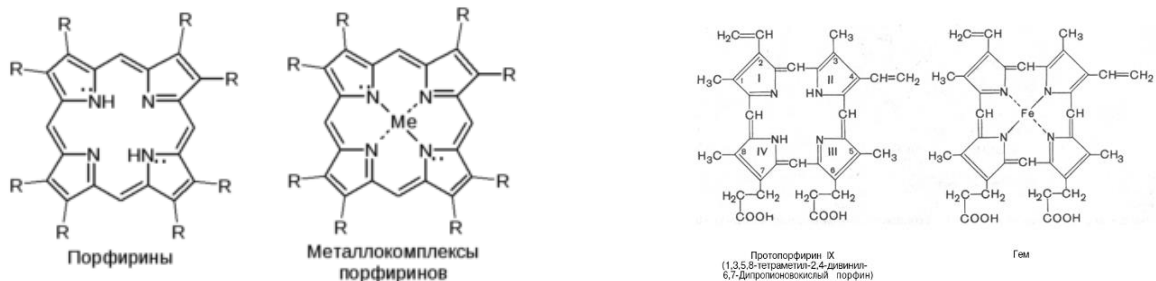


Рис. 2.19. Гем та 3D модель гемо- и міоглобіна: а – типова хімічна будова порфіринів та гему (Me – метал); б – зв'язування кисню з гемом; в - 3D модель гемо- и міоглобіна; г – модель насичення порожнин гемоглобіну водою; д – кристали гемоглобіну

б – з інтернет ресурсу:

[https://chem.libretexts.org/Courses/Saint_Marys_College_Notre_Dame_IN/CHEM_342%3A_Bioinorganic_Chemistry/Readings/Metals_in_Biological_Systems_\(Saint_Mary's_College\)/Oxygen_transport_and_Storage/Red_Blood_\(Mammals\)/Hemoglobin%3A_Oxygen_transport_in_mammals](https://chem.libretexts.org/Courses/Saint_Marys_College_Notre_Dame_IN/CHEM_342%3A_Bioinorganic_Chemistry/Readings/Metals_in_Biological_Systems_(Saint_Mary's_College)/Oxygen_transport_and_Storage/Red_Blood_(Mammals)/Hemoglobin%3A_Oxygen_transport_in_mammals)

г – з інтернет ресурсу:

https://studopedia.ru/12_99498_dihatelnie-belki-predstavleni-gemoglobinom-nb-i-mioglobinom-Mgb.html;

д - за рисунком К.Б.Рейхарта з «Archiv fur Anatomie,Physiologie und wissenschaftliche Medizin», 1849 - 197 с.

Гемоглобін в якості білкового компонента містить глобін, небілкового - гем. Видові відмінності гемоглобіну обумовлені глобіном, в той час як гем однаковий у всіх видів гемоглобіну. Основу структури протетичної групи більшості гемоскладових білків становить порфіроване кільце, яке є, в свою чергу, похідним тетрапірральних з'єднань - порфірину. Незаміщений порфірин називається порфін. У молекулі гема порфін представлений у вигляді протопорфірина IX, що містить чотири метильні групи (-CH₃), дві вінільні групи (-CH = CH₂) і два залишка пропіонової кислоти. Протопорфірин, приєднуючи залізо, перетворюється в гем.

В організмі людини міститься близько 4,5-5,0 г заліза. На частку гемоглобіну крові з цієї кількості (якщо прийняти за 100% все залізо в організмі) припадає 60-70%, міоглобіну - 3-5%, феритину - 20% (від 17 до 23%), трансферину - близько 0,18% , функціонального заліза тканин - до 5%. Вміст заліза в організмі регулюється головним чином інтенсивністю всмоктування в кишечнику заліза, що надходить з їжею. Надлишок його не всмоктується. Потреба в залізі різко зростає при анеміях різного походження. Залізо всмоктується в кишечнику у вигляді неорганічного двовалентного іона Fe₂⁺ після звільнення його з комплексів з білками. У клітинах слизової оболонки кишечника залізо вже в трьохвалентній формі Fe₃⁺ з'єднується з білком апоферітином з утворенням стабільного комплексу феритину. У людини в 1 мкл крові міститься 5 • 10⁶ еритроцитів (червоні кров'яні клітини), які утворюються в кістковому мозку. Зрілі еритроцити людини та інших ссавців позбавлені ядра і майже цілком заповнені гемоглобіном. Середня тривалість життя цих клітин 125 днів. Руйнуються еритроцити в селезінці і

печінці. Концентрація гемоглобіну в крові залежить від загальної кількості еритроцитів і вмісту в кожному з них гемоглобіну. Участь гемоглобіну в регуляції рН крові пов'язано з його роллю в транспорті кисню і вуглекислого газу. Константа дисоціації кислотних груп гемоглобіну змінюється в залежності від його насичення киснем. При насиченні киснем гемоглобін стає сильнішою кислотою (H₂NbO₂). Гемоглобін, віддаючи кисень, перетворюється в дуже слабку органічну кислоту (H₂Nb).

Кінетика оксигенації гемоглобіну та міоглобіну. Гемоглобін пов'язує чотири молекули кисню на тетрамер (по одній на гем в кожній субодиниці); особливо важливою відмінністю його від міоглобіну є характерна крива насичення киснем, яка має сигмоїдну форму. Здатність гемоглобіну зв'язувати O₂ залежить від того, чи містяться в даному тетрамері інші молекули O₂. Якщо так, то наступні молекули O₂ приєднуються легше. Отже, для гемоглобіну характерна кінетика кооперативного зв'язування, завдяки якій він пов'язує максимальну кількість O₂ в легенях і віддає максимальну кількість O₂ при тих P_0 (P – парціальний тиск кисню), які мають місце в периферичних тканинах.

Було встановлено, що гем набуває здатності переносити кисень лише за умови, якщо його оточує і захищає специфічний білок - глобін (сам по собі гем не пов'язує кисень).

Спорідненість гемоглобіну до O₂ характеризується величиною P_{50} – значенням P_0 , при якому спостерігається напівнасищення гемоглобіну киснем. Значення P_{50} у різних організмів істотно розрізняються, але в усіх випадках воно перевищує значення P_0 у периферичних тканинах розглянутого організму (рис. 2.20).

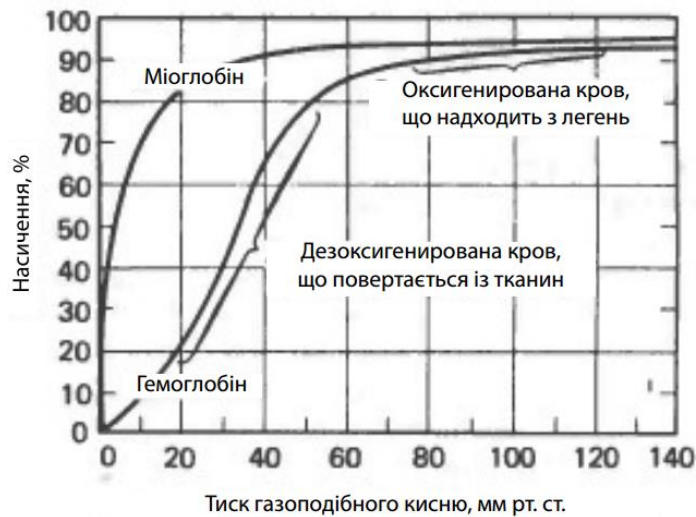


Рис. 2.20. Кінетика зв'язування кисню гемоглобіном та міоглобіном.

Парціальний тиск кисню в артеріальній крові прямує до 100 мм.рт.ст., у венозній крові – близько 40 мм.рт.ст., у кровоносних капілярах активного м'яза – 20 мм.рт.ст. Аналіз рисунка 2.20 показує, що тетрамерна структура гемоглобіну суттєво збільшує ефективність забезпечення тканин киснем в порівнянні з мономерними білками (міоглобіном).

2.12. Білки-ферменти

Ферменти або ензими - органічні каталізатори білкової або РНК природи.

Каталізатори - це речовини, що прискорюють хімічні реакції; в ході реакції вони зазнають фізичної зміни, але по її завершенні повертаються в початковий стан. Ферменти є білковими каталізаторами біохімічних реакцій, велика частина яких у відсутність ферментів протікала б вкрай повільно. На відміну від небілкових каталізаторів (H^+ , OH^- , іони металів) кожен фермент здатний каталізувати лише дуже невелике число реакцій, часто тільки одну. Таким чином, ферменти представляють собою реакційно-специфічні каталізатори. Практично всі біохімічні реакції каталізуються ферментами.

Ферменти каталізують більшість хімічних реакцій, які відбуваються у живих організмах. Вони можуть мати від одного до кількох поліпептидних ланцюгів — субодиниць. Кожен із ферментів має один або більше активних центрів, які визначають специфічність хімічної реакції, що каталізується даним ферментом. Крім активного центру деякі ферменти мають алостеричний центр, який регулює роботу активного центру. Ферментативна реакція також може регулюватися іншими молекулами, як білкової природи, так й іншими — активаторами та інгібіторами.

Ферменти РНК-природи називаються рибозимами і вважаються первісною формою ферментів, які були замінені білковими ферментами в процесі еволюції.

Подібно до всіх каталізаторів, ферменти прискорюють як пряму, так і зворотну реакцію, знижуючи енергію активації процесу.

Класифікація ферментів. Спочатку ферментам давали назви, утворені шляхом додавання закінчення -аза до назви субстрату, на який даний фермент діє. Так, ферменти, що гідролізують крохмаль (амілон), були названі амілазами; ферменти, що гідролізують жири (ліпос) – ліпазами; ферменти, що гідролізують білки(протеїни) – протеїназами. Пізніше ферментам, що каталізують схожі за типом реакції, почали давати назву, вказуючи на тип відповідної реакції – дегідрогенази, оксидази, декарбоксилази, ацилази і т.ін. Багато із цих назв використовуються і тепер. На сьогодні при класифікації ферментів намагаються дотримуватись номенклатури, яка була введена Міжнародним біохімічним союзом (IUB).

Основні риси системи, введеної IUB, полягають в наступному:

1. Реакції і ферменти, які їх каталізують, підрозділяють на 6 класів, в кожному із яких є декілька підкласів (від 4 до 13):
 - Клас 1: Оксидоредуктази — ферменти, що каталізують окиснення або відновлення. Приклад: каталаза, алкогольдегідрогеназа

- Клас 2: Трансферази — ферменти, що каталізують перенесення хімічних груп з однієї молекули субстрата на іншу. Серед трансфераз особливо виділяють кінази, що переносять фосфатну групу, як правило, з молекули АТФ.
 - Клас 3: Гідролази — ферменти, що каталізують гідроліз хімічних зв'язків. Приклад: естерази, пепсин, трипсин, амілаза, ліпопротеїнліпаза.
 - Клас 4: Ліази — ферменти, що каталізують розрив хімічних зв'язків без гідролізу з утворенням подвійного зв'язку в одному з продуктів.
 - Клас 5: Ізомерази — ферменти, що каталізують структурні або геометричні зміни в молекулі субстрату.
 - Клас 6: Лігази — ферменти, що каталізують утворення хімічних зв'язків між субстратами за рахунок гідролізу АТФ. Приклад: ДНК-полімераза.
 - Клас 7: Транслокази ферменти що переносять молекули
2. Назва ферменту складається з двох частин: перша частина – назва субстрату (субстратів); друга вказує на тип каталізованої реакції і закінчується на –аза.
 3. Додаткова інформація, якщо вона необхідна для уточнення, береться в дужки. Наприклад, фермент, що каталізує реакцію $L\text{-малат} + \text{NAD}^+ = \text{Пируват} + \text{CO}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+$, має номер 1.1.1.37 і називається L-малат: NAD^+ оксидоредуктаза(декарбоксилуюча).
 4. Кожен фермент має кодовий номер за класифікацією ферментів: перша цифра характеризує клас реакції, друга – підклас, третя – підпідклас. Четверта цифра вказує порядковий номер ферменту в його підпідкласі. Таким чином, 2.7.1.1 означає, що фермент відноситься до класу 2 (трансфераза), підкласу 7 (перенос фосфату), підпідкласу 1

(акцептором фосфату є спирт). Остання цифра позначає фермент гексокиназу або АТР: D-гексозо-6-фосфотрансферазу.

Кофактори ферментів. Деякі ферменти виконують каталітичну функцію самі собою, без додаткових компонентів. Проте є ферменти, яким для здійснення каталізу необхідні компоненти небілкової природи. Кофактори можуть бути як неорганічними молекулами (іони металів, залізо-сірчані кластери та інші), так і органічними (наприклад, флавін або гем). Органічні кофактори, які постійно (назавжди) зв'язані з ферментом, називають також простетичними групами. Кофактори органічної природи, що здатні відділятися від ферменту, називають коферментами.

Фермент, який вимагає наявності кофактора для здійснення каталітичної активності, але не зв'язаний з ним, називається апоферментом. Апофермент в комплексі з кофактором носить назву голоферменту. Більшість кофакторів зв'язані з ферментом нековалентно, але досить міцними взаємодіями. Є і такі простетичні групи, що зв'язані з ферментом ковалентно, наприклад, тіамінірофосфат в складі ферменту піруватдегідрогенази.

Специфічність ферментів. Здатність ферменту каталізувати одну і тільки одну специфічну реакцію є, мабуть, найбільш важливою його властивістю. Завдяки цьому швидкості специфічних метаболічних процесів можуть регулюватися шляхом зміни каталітичної активності специфічних ферментів. Правда, багато ферментів каталізують реакції одного типу (перенесення фосфату, окисно-відновні реакції і т.ін.). Субстратами при цьому є невелике число структурно подібних з'єднань. Реакції з альтернативними субстратами відбуваються в тих випадках, коли ці субстрати присутні у високих концентраціях.

Літичні ферменти діють на специфічні хімічні угруповання: глікозидази - на глікозидні зв'язки, пепсин і трипсин - на пептидні зв'язки, естерази - на складноєфірні зв'язки. Дія цих ферментів поширюється на велике число

субстратів, що дозволяє організму обійтися невеликим числом травних ферментів - інакше їх було б потрібно набагато більше.

Активність ферментів визначається їхньою тривимірною структурою.

Як і всі білки, ферменти синтезуються у вигляді лінійного ланцюжка амінокислот, який згортається певним чином. Кожна послідовність амінокислот згортається особливим чином, і молекула (білкова глобула), що виходить, володіє унікальними властивостями. Кілька білкових ланцюжків можуть об'єднуватися у білковий комплекс. Найбільші рівні структури білків — третинна та четвєртинна структури — руйнуються при нагріванні або під дією деяких хімічних речовин.

Щоб каталізувати реакцію, фермент повинен зв'язатися з одним або кількома субстратами. Білковий ланцюжок ферменту згортається таким чином, що на поверхні глобули утворюється щілина або западина, до якої приєднуються молекули субстрату. Ця область називається ділянкою (сайтом) зв'язування субстрата. Зазвичай вона збігається з активним центром ферменту або знаходиться поблизу від нього. Деякі ферменти містять також ділянки зв'язування кофакторів або іонів металів.

У деяких ферментів присутні також ділянки зв'язування малих молекул, що не беруть безпосередньої участі в реакції і часто, але не обов'язково, є субстратами або продуктами метаболічного шляху, в який входить фермент. Вони зменшують або збільшують активність ферменту, що створює можливість для зворотного зв'язку або регуляції роботи ферменту.

Для активних центрів деяких ферментів характерне явище кооперативності.

Ферменти зазвичай проявляють високу специфічність по відношенню до своїх субстратів. Це досягається частковою комплементарністю форми, розподілу зарядів і гідрофобних областей на молекулі субстрата і в ділянці зв'язування субстрата на ферменті. Ферменти демонструють високий рівень стереоспецифічності (просторової специфічності), регіоселективності

(специфічності орієнтації) і хемоселективності (специфічності до хімічних груп).

Модель «ключ-замок». У 1890 році [Еміль Фішер](#) припустив, що специфічність ферментів визначається точною відповідністю форми ферменту і субстрату. Таке припущення називається моделлю «ключ-замок». Фермент з'єднується з субстратом з утворенням короткоживучого фермент-субстратного комплексу. Проте, хоча ця модель пояснює високу специфічність ферментів, вона не пояснює явища стабілізації [перехідного стану](#), який спостерігається на практиці.

Більшість субстратів утворює щонайменше три зв'язку з ферментом. Завдяки такій «трьохточковій фіксації» симетрична молекула може проявляти асиметрію. Щоб це пояснити, представимо область ферменту, що зв'язує субстрат, як ділянку плоскої поверхні (хоча, субстрато-зв'язуюча «поверхня» ферменту рідко буває плоскою, а можливо, і не буває зовсім). На рис. 2.21 молекула субстрату представлена у вигляді атома вуглецю з заміниками, три з яких взаємодіють з трьома точками на плоскій ділянці поверхні ферменту. Якщо молекула субстрату може підійти до цієї ділянки тільки з одного боку і взаємодіяти можуть тільки комплементарні структури субстрату і ферменту (у реальних ферментах обидві ці умови дотримуються), то молекула субстрату може зв'язуватись з ферментом єдиним способом, навіть якщо групи 1 і 3 ідентичні. Перебираючи подумки всі можливі просторові орієнтації молекули субстрату, ми можемо переконатися, що з трьома точками плоскої поверхні (з однієї і тієї ж сторони) молекула може зв'язатися тільки в одній орієнтації. Звідси випливає, що групи 1 і 3, хоча вони і ідентичні, при зв'язуванні з ферментом стають нееквівалентними через відмінності в їх оточенні. Хімічні зміни будуть відбуватися тільки з групою 1, але не з групою 3 (або навпаки).

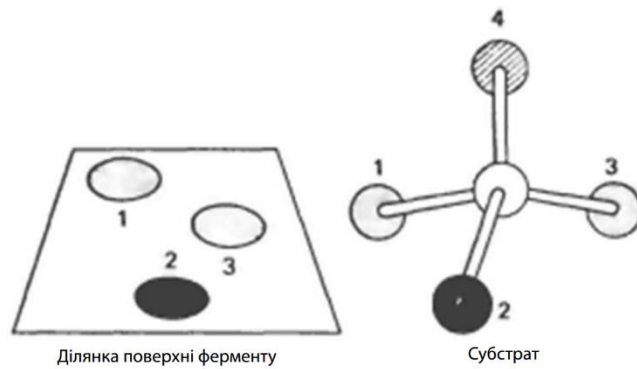


Рис. 2.21. «Трьохточкова фіксація» субстрата на плоскому активному центрі фермента

Модель індукованої відповідності. У 1958 році американський дослідник Деніел Кошланд запропонував модифікацію моделі «ключ-замок». Ферменти, в основному, — не жорсткі, а гнучкі молекули. Активний центр ферменту може змінити конформацію після зв'язування з ним субстрата (рис.2.22). Бічні групи амінокислот активного центру займають таке положення, яке дозволяє ферменту виконувати свою каталітичну функцію. В деяких випадках молекула субстрата також міняє конформацію після скріплення в активному центрі. На відміну від моделі «ключ-замок», модель індукованої відповідності пояснює не тільки специфічність ферментів, але і стабілізацію перехідного стану (рис.2.23).

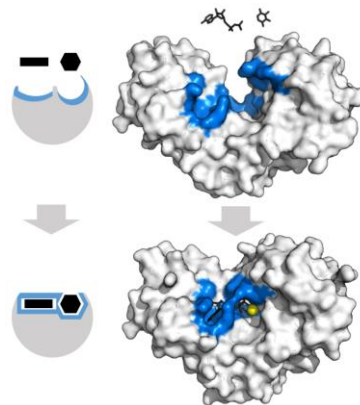


Рис. 2.22. Зміна конфірмаційного стану фермента при утворенні комплексу субстрат-фермент



Рис. 2.23. Схема регулювання активності ферменту. Лібільність поверхні активного центру

Модифікації. Багато ферментів після синтезу білкового ланцюга зазнають модифікацій, без яких фермент не проявляє свою активність повною мірою; такі модифікації називаються посттрансляційними. Один з найпоширеніших типів посттрансляційних модифікацій — приєднання хімічних груп до бічних залишків поліпептидного ланцюжка. Наприклад, приєднання фосфатної групи називається фосфорилуванням, воно каталізується ферментом-кіназою. Багато ферментів еукаріот глікозовані, тобто модифіковані олігомерами вуглеводної природи.

Ще один поширений тип посттрансляційних модифікацій — розщеплення поліпептидного ланцюжка. Наприклад, хімотрипсин (протеаза, що бере участь в травленні), утворюється при відщепленні поліпептидної ділянки з хімотрипсиногена. Хімотрипсиноген є неактивним попередником хімотрипсина і синтезується в підшлунковій залозі. Неактивна форма транспортується до шлунку, де перетворюється на хімотрипсин. Такий механізм необхідний для того, щоб уникнути пошкодження підшлункової залози та інших тканин до надходження ферменту в шлунок. Неактивний попередник ферменту називають також «зімогеном».

Коферменти. Багато ферментів мають каталітичну дію на субстрати тільки в присутності специфічної термостабільної низькомолекулярної органічної сполуки - коферменту. У таких випадках холофермент (каталітично

активний комплекс) складається з апофермента (білкова частина) і пов'язаних з ним коферменту. Кoferмент може бути пов'язаний з апоферментом ковалентними або нековалентними зв'язками. Термін «простетична група» відноситься до ковалентно-пов'язаного коферменту. До числа реакцій, потребуючих присутності коферментів, відносяться окисно-відновлювальні реакції, реакції перенесення груп і ізомеризації, а також реакції конденсації (за системою IUB це класи 1, 2, 5 і 6). Реакції розщеплення, наприклад, гідролітичні реакції, що каталізуються травними ферментами, протікають у відсутності коферменту (по системі IUB це класи 3 і 4).

Кoferмент можна розглядати як другий субстрат, або косубстрат з двох причин. По-перше, в ході реакції кофермент зазнає хімічних змін, в точності протилежних трансформаційних змін, які відбуваються в субстраті. Наприклад, в окисно-відновних дегідрогеназних реакціях молекула субстрату окислюється, а молекула коферменту відновлюється.

Друга причина, по якій кофермент можна вважати рівноправним учасником реакції, полягає в тому, що саме його участь може мати фундаментальне фізіологічне значення.

Кількісне визначення ферментативної активності. Ферменти на відміну від органічних або неорганічних речовин присутні в клітинах в надзвичайно малих кількостях, і визначення їх вмісту в тканинних екстрактах або рідинах являє особливу проблему. З другого боку, якщо в результаті фізіологічних процесів змінюється активність ферменту, то часто не можна сказати, чим це обумовлено - зміною кількості ферменту або ефективності його функціонування. Будемо називати всі зміни активності ферменту, що відбуваються при постійній кількості присутнього ферменту, зміною його каталітичної ефективності.

На щастя, досить чуттєві і специфічні методи виявилось можливим створити на основі визначення каталітичної активності ферментів

Щоб оцінити кількість ферменту в пробі тканинного екстракту або біологічної рідини, вимірюють швидкість реакції, що каталізується присутнім в цій пробі ферментом. За певних умов вимірювана швидкість пропорційна кількості присутнього ферменту. Оскільки при цьому важко визначити число молекул ферменту в пробі або їх загальну масу, результати виражають в умовних одиницях активності ферменту. Далі порівнюють відносні кількості ферменту в різних екстрактах. Одиниці активності зручніше всього виражати в мікромолях (мкмоль), наномолях (нмоль) або пікомолях (пмоль) витраченого субстрату або утвореного продукту за одиницю часу (за хвилину). Відповідні міжнародні одиниці активності ферментів позначаються μU , nU або pU (рис.2.24).

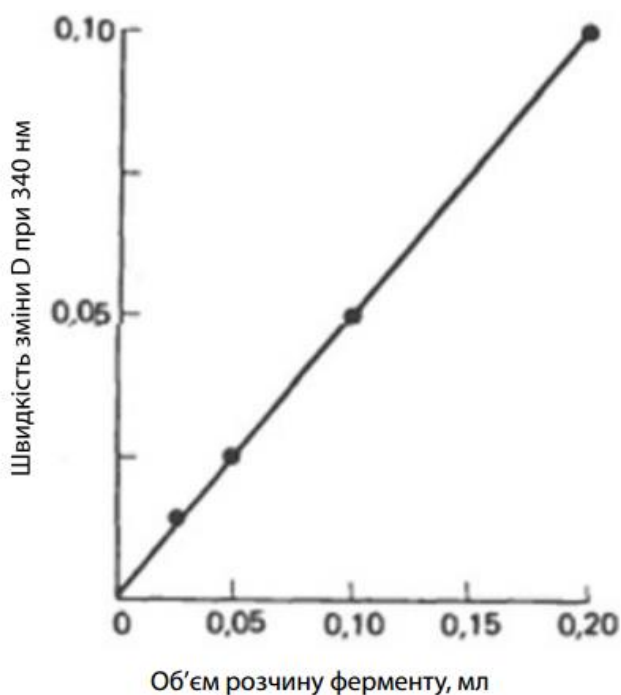


Рис. 2.24. Калібрувальна крива для визначення кількості ферменту

Ізоферменти (ізозими). Коли говорять «малатдегідрогеназа» або «глюкозо-6-фосфатаза», то зазвичай мається на увазі конкретний білок, що володіє ферментативною активністю, проте насправді ці найменування охоплюють всі білки, що каталізують окислення малату в оксалоацетаті або гідроліз глюкозо-6-фосфату з утворенням глюкози і P. Зокрема, після

виділення малатдегндрогенази з різних джерел (печінки щура, E-coli) виявилось, що ферменти з печінки і фермент з E coli, що каталізують одну і ту ж реакцію, розрізняються у багатьох відношеннях за своїми фізичними і хімічними властивостями. Фізично помітні форми ферментів, що володіють одним і тим же видом каталітичної активності, можуть бути присутніми в різних тканинах одного організму, у різних типах клітин однієї тканини і навіть в прокариотів, наприклад у E-coli. Це відкриття було зроблено завдяки застосуванню електрофоретичних методів розділення білків, в результаті чого були виявлені електрофоретичної різні форми певної ферментативної активності.

Термін «ізофермент» («ізозим») охоплює всі вищезазначені фізично помітні білки з даною каталітичною активністю, однак на практиці, і особливо в клінічній медицині, його вживають у вузькому сенсі, маючи на увазі форми даного ферменту, які фізично розрізняються і піддаються розділенню, присутні в різних типах клітин даного еукаріотичного організму, наприклад людини. Ізозими незмінно виявляються в сироватці і в тканинах всіх хребетних, комах і в одноклітинних організмах. При цьому число ферментів та їх зміст сильно варіюють. Відомі ізоферментні форми дегідрогеназа, оксидаза, трансаміназа, фосфатаза, трансфосфорілаза і протеолітичних ферментів. У різних тканинах можуть знаходитися різні ізоферменти, і ці ізоферменти можуть мати неоднакову спорідненість до субстрату.

Олігомерні ферменти. Олігомерні ферменти, утворені різними протомерами, можуть бути представлені декількома формами. Часто певна тканина продукує переважно один з протомерів. Якщо активний олігомерний фермент (наприклад, тетрамер) може бути побудований з таких протомерів в різних комбінаціях, то утворюються ізозими.

Ізозими лактатдегідрогенази розрізняються на рівні четвертинної структури. Олігомерна молекула лактатдегідрогенази (м.м. 130000) складається з чотирьох протомерів двох типів, Н і М (обидва з м.м. близько 34

000). Каталітичною активністю володіє тільки тетрамерна молекула. Якщо порядок з'єднання протомерів не має значення, то протомери можуть бути скомпоновані п'ятьма способами:

НННН
НННМ
ННММ
НМММ
ММММ

Синтез Н- і М-субодиниць детермінується різними генетичними локусами, і вони по-різному експресуються в різних тканинах (наприклад, у серцевому і скелетних м'язах).

Різні ізоформи ЛДГ виконують фактично одну й ту ж функцію. Відмінність у фізичному сенсі полягає в умовах функціонування. В залежності від температури, рН, інших фізико-хімічних умов ЛДГ спроможне розпадатися на протомери й утворювати більш вигідну конформацію олігомера. Так, на рис. 2.25 представлені середні значення відсотку ізоферментного складу ЛДГ у сироватці крові людини в нормі і при вірусному гепатиті. Якщо сироватку крові пацієнта опромінити вкрай високочастотним шумовим полем нетеплової інтенсивності, відсотковий розподіл буде змінюватись (рис. 2.26).

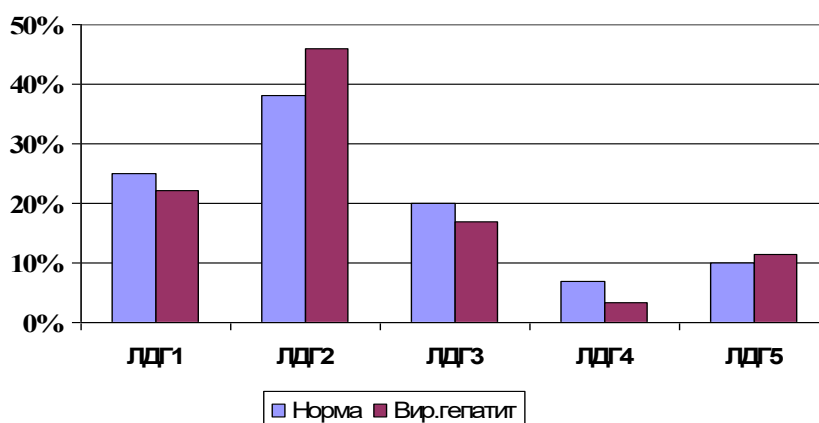


Рис. 2.25. Середній відсоток ізоферментного складу ЛДГ у людини в нормі і при вірусному гепатиті

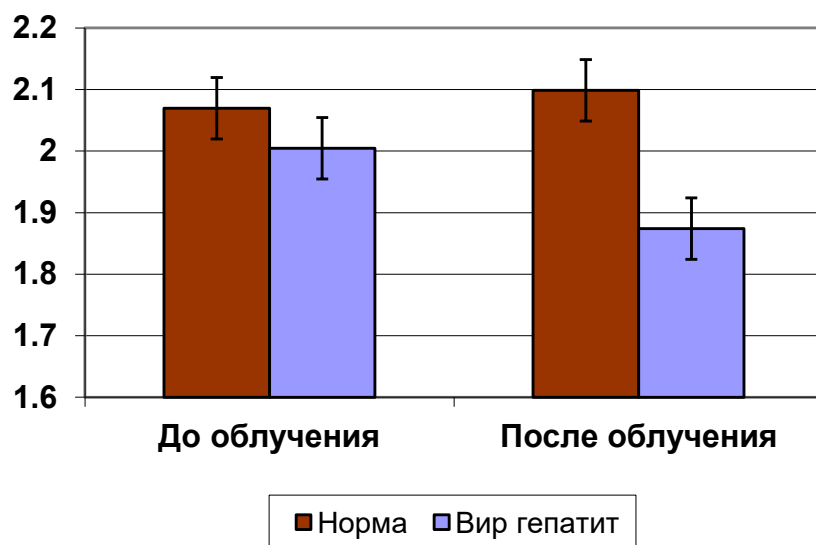


Рис. 2.26. Ентропія розподілу ізоферментного складу ЛДГ в нормі і вірусному гепатиті

2.13. Радіоімунний та імуоферментний методи аналізу

Радіоімунний аналіз (PIA), також радіоімунологічний або ізотопний імунологічний аналіз, (англ. Radioimmunoassay, RIA) - високочутливий метод, заснований на реакції антиген-антитіло, один з компонентів якої несе радіоактивну мітку. Метод дозволяє виявляти як антигени, так і антитіла і визначати їх концентрацію в досліджуваній пробі. Метод кількісного визначення біологічно активних речовин в біологічних рідинах, заснований на конкурентному зв'язуванні шуканих стабільних і аналогічних їм мічених радіонуклідом речовин зі специфічними зв'язуючими системами, з подальшою детекцією на спеціальних лічильниках - радіоспектрометрах.

Для радіоімунного аналізу (PIA) використовують комерційні набори, до складу яких входять: антиген радіоактивний (аналог того, що необхідно визначати), 5-6 флаконів зі стандартними відомими концентраціями антигену для одержання калібруючої кривої та порядку 100 спеціальних пробірок.

В перші пробірки вносять певні об'єми стандартних проб, в інші – біологічну рідину пацієнтів. Також до всіх пробірок додають радіоактивний антиген. Після додавання всіх компонентів проводять інкубацію. В загальному випадку час інкубації 4-12 годин при постійному струшуванні та при сталій температурі.

Після інкубації проводять процедуру розділення зв'язаних компонентів (антитіло-антиген) та вільних компонентів. Розділення проводять за допомогою центрифугування чи, якщо реакція іде на поверхні пробірці (хемосорбція), простим відбором рідини з пробірки відсмоктувачем. В останньому випадку нерідко пробірки додатково промивають водою. Після процедури розділення проводять радіометрію пробірок. Якщо у пробі пацієнта високий вміст антигену, концентрацію якого необхідно визначити, то осадок буде менш радіоактивний. А якщо антигену у сироватці мало, то з антитілами зв'яжеться більше радіоактивних антигенів і осад буде більш радіоактивним.

Для кількісного визначення концентрації речовини, що досліджується, будують колібровочну криву, за допомогою стандартів (реактивів/проб), де чітко визначена концентрація. В загальному випадку в наборі знаходиться 5-6 стандартних проб. Інкубування стандартів проводиться одночасно з пробами пацієнтів за тих же самим умов. За результатами радіометрії будується графік залежності радіоактивності від концентрації, тобто отримується калібровочна крива.

Загальна схема проведення конкурентного РІА наведена на рис. 2.27.

Області, в яких найбільш поширений РІА:

1. Ендокринологія (інсулін, T_3 , T_4 , ТТГ).
2. Онкологія (раково-ембріональний антиген (РЕА), альфа-фетопротеїн, хоріонічний гонадотропін (ХГТ).
3. Кардіологія (міоглобін).
4. Педіатрія (соматотропний гормон (СТГ), ТТГ).

5. Акушерство і гінекологія (лутеїнізуючий гормон (ЛГ), фолікулостимулюючий гормон (ФСГ)).
6. Алергологія (Ig E).
7. Токсикологія (лікарські препарати).

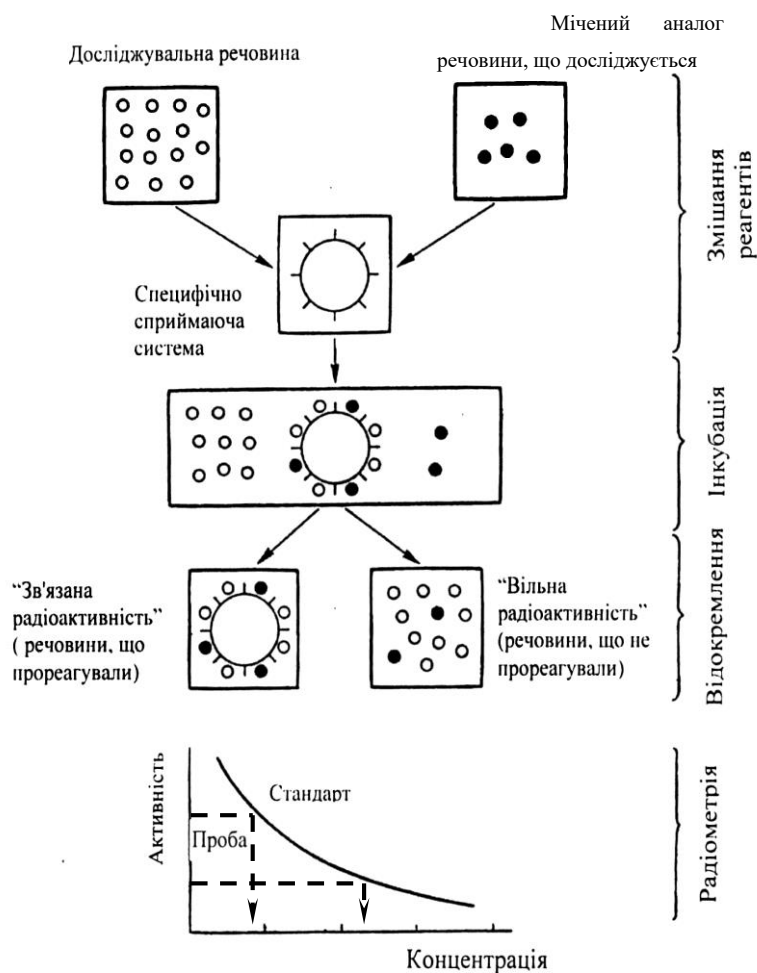


Рис. 2.27. Схема радіоімунного (радіоконкурентного) аналізу *in vitro*

Імуноферментний аналіз. В даний час ІФА-діагностика є найбільш часто використовуваним імунологічним методом у міських і районних лікарнях, поліклініках, пологових будинках, установах санепіднагляду та інших медустановах.

Сутність ІФА полягає в специфічній взаємодії антитіла та антигену з наступним приєднанням до отриманого комплексу кон'югата (антивидового імуноглобуліну, міченого ферментом). Фермент викликає розкладання

хромогенного субстрату з утворенням забарвленого продукту, який виявляється або візуально, або фотометрично. Реєстрацію результатів реакції проводять на спеціальних фотометрах з вертикальним променем при певній довжині хвилі. Результат виражають в одиницях оптичної щільності.

Існує безліч варіантів постановки ІФА, з яких найбільше практичне значення отримав гетерогенний твердофазний імуноферментний аналіз (Сендвіч-ІФА). В якості твердої фази у більшості комерційних діагностичних наборів використовують полістиролові 96-ти луночні планшети. Схема проведення аналізу представлена на рис. 2.28.

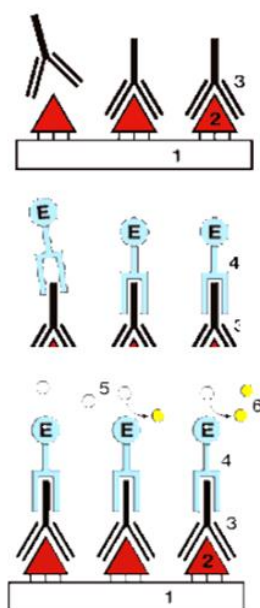


Рис. 2.28. Схема виявлення антигенів і антитіл за допомогою імуноферментного аналізу

I. У даній схемі специфічні **антигени** (2) адсорбовані до **лунок пластика** (1) планшета. У лунку додається досліджувана сироватка, і, якщо в ній є **антитіла** (3) (ці антитіла називаються першими), до даних **антигенів** (2), то під час інкубації відбувається взаємопізнання, в результаті якого утворюється принципово значущий зв'язок **антиген / антитіло** (2/3).

II. Після відмивання лунок від не пов'язаних (а значить неспецифічних) субстанцій в кожену лунку додаються так звані **другі антитіла** (4). Вони впізнають людські антитіла певного типу (IgA, IgG, IgM). До цих других

антитіл хімічно пришитий активний фермент (E). Таке комплексне з'єднання називається кон'югат. Під час інкубації відбувається взаємопізнання перших і других антитіл, в результаті чого в лунці утворюється структура типу "сендвіч" (2 \ 3 \ 4).

III. Після відмивання не зв'язавшогося кон'югата в лунку додається безбарвний субстрат (5), на який діє фермент (E), в результаті чого субстрат перетворюється на пофарбований продукт (6).

IV. Кількість пофарбованого продукту вимірюється на фотометрі при певній довжині хвилі. Таким чином, кількість кольорового продукту прямо пропорційно кількості ферменту в лунці, а значить і кількості кон'югата в "сендвічі". Час проведення аналізу від 1-го до 3-х годин.

Слід звернути увагу на те, що виявлення імуноглобулінів (IgM, IgG, IgA) вказує тільки на наявність збудника. Тому в деяких випадках імуноферментний аналіз може давати неправильні результати - як неправдиві позитивні, так і неправдиві негативні. Проте, специфічність кращих тест-систем ІФА рекомбінованого типу в наш час наближається до 100%.

Разом з ферментами в якості міток для антигенів використовують флуоресціюючі з'єднання метод називають флуоресцентно-імуний аналіз (ФІА).

Методи математичної обробки даних в імуноферментному та радіо імуному аналізі. Дані методи аналізу досить прості у виконанні. Проте, в їх основі лежать складні біологічні і фізико-хімічні процеси, які впливають на характер отримуваних даних і накладають певні обмеження на застосовність методів математичної обробки результатів.

В ідеальному випадку калібрувальна крива повинна мати пряму лінійну залежність «величина сигналу – концентрація аналіта в пробі». Проте, із-за обмежених кількостей антитіл, субстрату ферментативної реакції, а також із-за обмеженого робочого діапазону вимірювальної апаратури можуть мати

різної міри спотворений вигляд (рис. 2.29). Залежність величини реєстрованого сигналу від концентрації аналіта при проведенні РІА і ІФА практично завжди має в тій або іншій мірі нелінійний характер. Причини цього ховаються в природі аналізу.

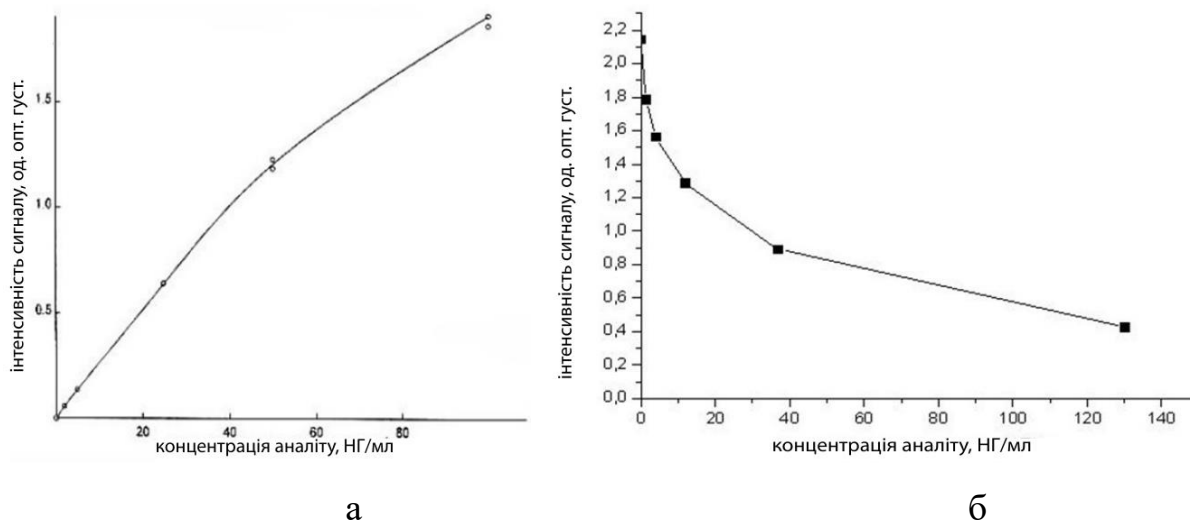


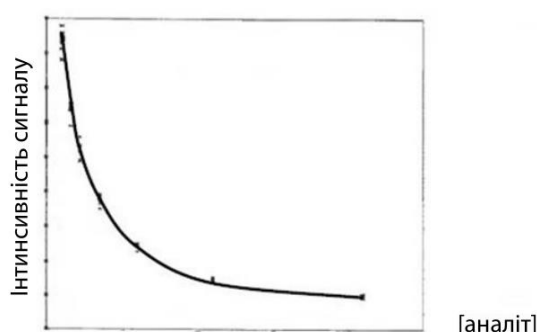
Рис. 2.29. Графік залежності інтенсивності сигналу від концентрації аналіта в наборі калібрувальних проб для типового сендвіч-ІФА (а) і типового конкурентного ІФА (б)

Процес побудови КК є завданням апроксимації залежності оптичної щільності або радіоактивного рахунку від концентрації аналіта в пробі. Припустимо, що відома залежність реєстрованого сигналу від концентрації аналіта при відсутності всіх неконтрольованих чинників і помилок - ідеальна теоретична КК. У реальному експерименті КК завжди відрізняється від "істинної" внаслідок прямих помилок і впливу чинників оточення, які змінюються, на калібрувальні проби і проби пацієнтів. З екстраполяцією ми маємо справу у разі, коли треба визначити концентрацію аналіта в пробі, яка виходить за межі мінімальної або максимальної концентрації калібрувальних проб.

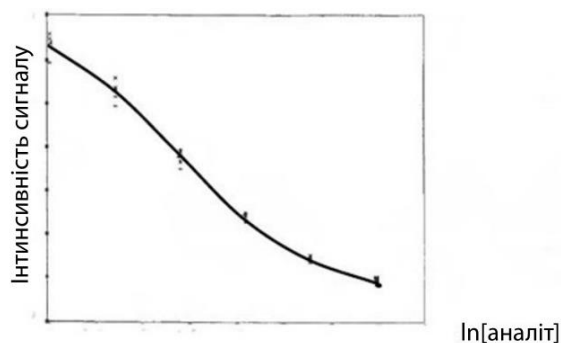
При апроксимації/інтерполяції/екстраполяції значення концентрації аналіта, отримані по КК, побудовані різними методами, можуть розрізнятися

дуже істотно. Екстраполяції вище за значення останньої калібрувальної проби можна уникнути, якщо аналізовану сироватку розводити так, щоб її значення потрапляло в динамічний діапазон аналізу. Проте цим способом можна користуватися тільки за умови, що в інструкції до набору дозволяється розводити сироватки, тобто виконується лінійність визначених при серійному розведенні концентрацій аналіта. Екстраполяція нижче за першу калібрувальну точку зазвичай вважається помилкою, навіть якщо програмне забезпечення дозволяє її здійснювати, і виключатися з аналізу. На практиці зустрічаються випадки, коли програма видає негативні значення концентрації аналіта, що суперечить природі речей і здоровому глузду.

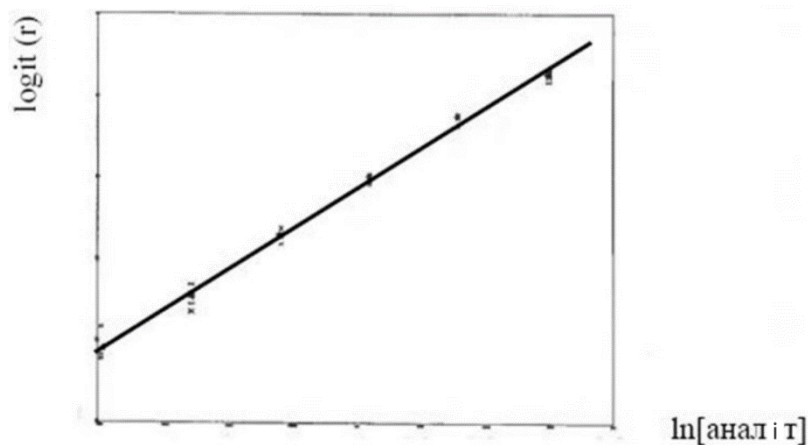
Якби в РІА і ІФА існувала лінійна залежність величини сигналу від концентрації в усьому діапазоні вимірювання, то це дозволило б позбавитися від багатьох проблем, у тому числі і від суб'єктивності при побудові КК. Для візуального розширення лінійної області графіку і наступного спрощення процедури "малювання" графіку застосовують різні *перетворення осей*. Подібні перетворення називаються *линеаризуючими*. Форму кривої можна модифікувати, міняючи масштаб концентрацій антигена, абсцис, що відкладаються по осі. Масштаб може бути лінійним або логарифмічним (рис. 2.30 а, б). Лінійний масштаб використовується зазвичай при визначенні концентрації вимірюваної речовини у вузькому діапазоні. У широкому діапазоні, при зміні концентрації антигена в калібрувальних пробах більш ніж на один порядок, краще використовувати логарифмічну шкалу.



а



б



В

Рис. 2.30. Форма калібрувального графіку в конкурентному аналізі. Для кожної калібрувальної проби нанесені як значення сигналу в окремих реплікатах, так і середнє значення сигналу: а і б: по осі Y відкладена інтенсивність сигналу. а - по осі X - концентрація аналіту, б - по осі X - натуральні логарифми концентрацій аналіту. В - по осі X - натуральний логарифм концентрації, по осі Y - Logit

По осі ординат також можуть відкладатися різні величини: безпосередньо реєстрований сигнал (оптична щільність розчину після зупинки ферментативної реакції або радіоактивний рахунок), його логарифм, відношення концентрації вільного аналіту до концентрації пов'язаного в арифметичній або логарифмічній формах або результати спеціальних складних перетворень. Прикладом такого спеціального лінеаризуючого перетворення служить запропоноване Родбардом перетворення Logit.

$$\text{Logit } r' = \ln \frac{r}{1-r}$$

Інтенсивність сигналу, як правило, відлічують у відносних одиницях або у відсотках по відношенню до аналіту з нульовою концентрацією (B_0). Тобто роблять нормування B/B_0 :

$$r = B / B_0.$$

Якщо r виражають в процентному співвідношенні, то logit перетворення виглядає так:

$$\text{Logit } r' = \ln \frac{r}{100 - r}$$

При цьому перетворенні калібрувальний графік часто, хоча і не завжди, перетворюється практично в пряму лінію. На такому графіку можливі похибки окремих калібрувальних проб, які виявляються при візуальній оцінці якості КК значно легше.

У разі конкурентного аналізу графіком без всяких математичних перетворень змінних (рис. 2.30 а) складно користуватися із-за великої "крутизни", що ускладнює точне геометричне визначення низьких концентрацій аналіта. Якщо використовувати для побудови оригінальні значення сигналу і натуральні (чи десяткові) логарифми концентрацій, часто вдається добитися істотної лінеаризації калібрувального графіку (рис. 2.30б). Збільшується точність визначення низьких концентрацій аналіта, оскільки ця область графіку як би "розтягується". Проте, на кінцях кривої все ще може спостерігатися відхилення від лінійності. Такий спосіб (як і усі способи, де на графік наноситься логарифм концентрації) має істотний недолік: в точці B_0 (нульова концентрація аналіту) логарифмічна функція не визначена, тому використовувати калібрувальну пробу з нульовою концентрацією для побудови калібрувальної кривої неможливо. Отже, при необхідності визначати концентрації в нижній частині динамічного діапазону, в наборі калібраторів має бути присутньою калібрувальна проба з концентрацією, близькою до нуля. Для подолання цієї проблеми в алгоритмі ПО може бути закладене штучне присвоєння КП з нульовою концентрацією аналіту надмалого номінала, наприклад 10^{-6} .

Використання **інтерполяційних** сплайнів при обробці результатів доцільне тільки у разі високої точності проведення експерименту. Проте розкид експериментальних значень зазвичай виходить досить великим. У цих умовах інтерполяційні сплайни відтворюють усі химерні осциляції,

обумовлені випадковими похибками. В результаті спотворюється вид залежності, яка вивчається, і утруднюється інтерпретація результатів експерименту. Доцільнішим видається підхід, заснований на процедурі згладжування, щоб зменшити елемент випадковості в результатах вимірів. Для цієї мети використовуються *згладжуючі* сплайни.

Слід уникати застосування сплайн-інтерполяції в тих випадках, коли характер зміни сигналу в конкретному аналізі має тенденцію до нерегулярності або немонотонності. Усі теоретичні методи побудови КК засновані на тому, що природа залежності сигналу від концентрації аналіта вважається відомою і може бути виражена в математичній формі. За рахунок цього можна частково відкорегувати помилки в початкових даних конкретного аналізу, оскільки математичне представлення кривої різко обмежує число можливих конфігурацій, які ця крива може приймати. Недоліком методу є те, що математичні моделі засновані на спрощених молекулярно-кінетичних схемах імуноаналіза.

Найбільш поширеними функціями апроксимації калібрувальних точок для побудови калібрувальної кривої є: лінійна апроксимація, квадратична і кубічна поліноміальна апроксимація, апроксимація і інтерполяція кубічним сплайном. Істотно рідше використовують кусочно-лінійну інтерполяцію.

Контрольні запитання до розділу 2

- 1 Чим «хімія життя» відрізняється від «хімії неживого»?
- 2 Як утворюється ковалентний зв'язок? Назвіть види ковалентного зв'язку та принципи їх утворення.
- 3 Чим відрізняється іонний зв'язок від ковалентного?
- 4 Що таке дипольна взаємодія? Чим вона відрізняється від гідрофобної взаємодії?
- 5 Як можна пояснити виникнення водневого зв'язку?

6 Чим визначається структура води і льоду? Чи може льодоподібна структура зберігатися в рідкій воді?

7 Назвіть основні будівельні блоки і їх функції в клітинах і тканинах вищих тварин.

8 Що представляють собою амінокислоти, на які класи вони поділяються?

9 Що входить до складу білків? Назвіть їх основні функції.

10 Назвіть найбільш характерні фізико-хімічні властивості білків.

11 Що таке електрофорез, де він застосовується? Поясніть принцип його дії?

12 Дайте пояснення терміну «хіральність», приведіть приклади.

13 Як виникає хіральність в живій природі?

14 Поясніть, як виникає полімерний клубок. Чим характеризується його гнучкість?

15 Чим відрізняється глобула від клубка? Як відбувається перехід від клубка до глобул?

16 Які рівні організації білкової молекули розрізняють? Охарактеризуйте кожен рівень.

17 Що відносять до групи гемопротеїнів?

18 Чим обумовлені видові відмінності гемоглобіну?

19 Що таке гем і як у молекулі гема представлений порфін?

20 Від чого залежить здатність гемоглобіну зв'язувати O_2 , чим характеризується спорідненість гемоглобіну до O_2 ?

21 Що представляють собою каталізатори?

22 Назвіть основні риси системи, введеної IUB.

23 Що таке кофактори та коферменти?

24 У чому полягає специфічність ферментів? Чим визначається їх активність?

25 Що визначає модель «ключ-замок»? Чим ця модель відрізняється від моделі індукованої відповідності?

26 Як визначається ферментативна активність? В яких одиницях визначається активність?

27 Що охоплює термін «ізофермент»?

28 Як утворюються і якими формами можуть бути представлені олігомерні ферменти?

29 В чому полягає сутність радіоімунного аналізу? В яких сферах він застосовується?

30 В чому полягає сутність імуноферментного аналізу?

31 Охарактеризуйте методи математичної обробки даних в імуноферментному та радіо імунному аналізі.

РОЗДІЛ 3. БІОФІЗИКА КЛІТИНИ

3.1. Загальні уявлення про клітину

Сучасна клітинна теорія стверджує, що всі живі істоти – тварини, рослини і найпростіші організми – складаються з клітин і їхніх похідних. Клітина є найменшою структурною і функціональною одиницею живого. За незначним виключенням, клітина має всі властивості живої системи: здійснює обмін речовин і енергії, росте, розмножується і передає в спадщину свої ознаки, реагує на подразнення і спроможна рухатися. Вона може жити окремо: ізольовані клітини багатоклітинних організмів продовжують жити і розмножуватися у відповідному поживному середовищі.

Кліті́на (від лат. *cellula* — комірка) — структурно-функціональна одиниця всіх живих організмів, для якої характерний власний метаболізм та здатність до відтворення. Від середовища, яке її оточує, клітина відмежована плазматичною мембраною (плазмалемою). Розрізняють два основні типи клітин: **прокаріотичні**, що не мають сформованого ядра, характерні для бактерій та архей, та **еукаріотичні**, в яких наявне ядро, властиві для всіх інших клітинних форм життя, зокрема рослин, грибів та тварин. До неклітинних форм життя належать лише віруси, але вони не мають власного метаболізму і не можуть розмножуватись поза межами клітин-хазяїв.

Усі організми поділяються на **одноклітинні**, **колоніальні** та **багатоклітинні**. До одноклітинних належать бактерії, археї, деякі водорості і гриби, а також найпростіші. Колоніальні та багатоклітинні організми складаються з великої кількості клітин. Різниця між ними полягає в тому, що колоніальні організми складаються з недиференційованих або слабо диференційованих клітин, які можуть виживати одна без одної. Клітини багатоклітинних організмів більш-менш спеціалізовані на виконанні певних функцій і залежні одна від одної в процесах життєдіяльності. До

багатоклітинних організмів належить зокрема і людина, тіло якої складається приблизно з 10^{13} клітин.

Більшість еукаріотичних клітин мають розміри до 100 мкм, а прокаріотичні ще на порядок менші. Відкриття та дослідження клітин стало можливим тільки після винайдення Янсенем оптичного мікроскопа (1590 року).

Клітинну теорію сформульовано у 1838—1839 роках ботаником Матіасом Шлейденем і зоологом Теодором Шванном. Ці вчені довели принципову подібність між собою тваринних та рослинних клітин, і на основі всіх накопичених до того часу знань постулювали, що клітина є структурною та функціональною одиницею всіх живих організмів. 1855 року Рудольф Вірхов доповнив клітинну теорію твердженням лат. «*Omnis cellula ex cellula*» — «Кожна клітина — з клітини».

Клітинна теорія є однією із основоположних ідей сучасної біології, вона стала незаперечним доказом єдності всього живого та фундаментом для розвитку таких дисциплін як ембріологія, гістологія та фізіологія. Основні положення клітинної теорії не втратили своєї актуальності й містить такі твердження:

1. Клітина — елементарна одиниця будови, функціонування, розмноження і розвитку всіх живих організмів, поза межами клітини немає життя.
2. Клітина — цілісна система, що містить велику кількість пов'язаних один з одним елементів — органел.
3. Клітини різних організмів схожі (гомологічні) за будовою та основними властивостями і мають спільне походження.
4. Збільшення кількості клітин відбувається шляхом їх поділу, після реплікації її ДНК: клітина — від клітини.
5. Багатоклітинний організм — це нова система, складний ансамбль із великої кількості клітин, об'єднаних та інтегрованих у системи тканин і

органів, пов'язаних між собою за допомогою хімічних факторів: гуморальних і нервових.

б. Клітини багатоклітинних організмів мають однаковий набір генетичної інформації, але відрізняються за рівнем експресії (роботи) окремих генів, що призводить до їх морфологічної та функціональної різноманітності — диференціації.

Слід зазначити, що в різних джерелах кількість та формулювання окремих положень сучасної клітинної теорії можуть відрізнятися.

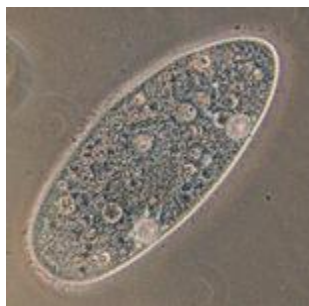
3.2. Методи дослідження клітин

Вперше клітини вдалось побачити тільки після створення світлових мікроскопів, з того часу і досі мікроскопія залишається одним із найважливіших методів дослідження клітин. Використовується світлова (оптична) мікроскопія, що попри свою порівняно невелику роздільну здатність має ту перевагу, що дозволяє спостерігати за живими клітинами. У ХХ столітті була винайдена електронна мікроскопія, що дала можливість вивчити ультраструктуру клітин.

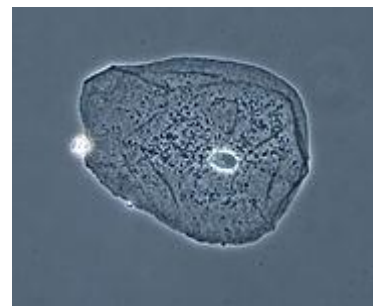
Для вивчення функцій клітин та їх частин використовують різноманітні біохімічні методи як препаративні, наприклад фракціонування методом диференційного центрифугування, так і аналітичні. Для експериментальних та практичних цілей використовують методи клітинної інженерії. Всі згадані методичні підходи можуть використовуватись у поєднанні із методами культури клітин.

Оптична мікроскопія. У оптичному мікроскопі збільшення об'єкта досягається завдяки набору лінз, через які проходить світло. Максимальне збільшення, яке можна досягнути завдяки оптичному мікроскопу становить близько $\times 1000$. Ще однією важливою характеристикою є роздільна здатність — відстань між двома точками, які ще розпізнаються окремо, іншими словами роздільна здатність характеризує чіткість зображення. Ця величина

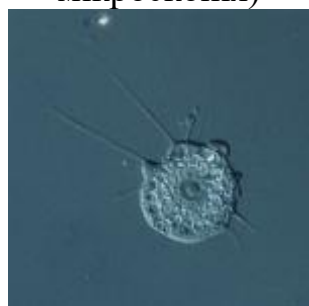
обмежується довжиною світлової хвилі, навіть при використанні найбільш короткохвильового світла — ультрафіолетового — можна досягнути тільки роздільної здатності близько 200 нм, таку роздільність було отримано ще в кінці XIX століття. Таким чином найменші структури, які можна спостерігати під оптичним мікроскопом це мітохондрії і невеликі бактерії, лінійний розмір яких становить приблизно 500 нм. Проте об'єкти, менші за 200 нм, видні у світловому мікроскопі, якщо вони самі випромінюють світло. Ця особливість використовується у флуоресцентній мікроскопії, за якої клітинні структури чи окремі білки зв'язуються зі спеціальними флуоресцентними білками або антитілами із флуоресцентними мітками. На якість зображення, отриманого за допомогою оптичного мікроскопа, впливає також контрастність, її можна збільшити використовуючи різні методи забарвлення клітин. Для вивчення живих клітин використовують фазовоконтрастну та диференційну інтерференційно-контрастну і темнопольну мікроскопію. Конфокальні мікроскопи дозволяють покращити якість флуоресцентних зображень (рис. 3.1).



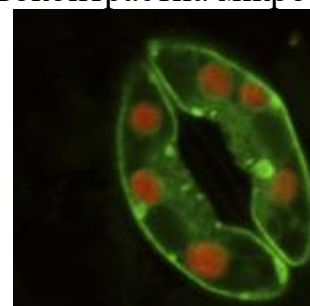
Paramecium aurelia (світлопольна мікроскопія)



Клітина епітелію щоки (фазовоконтрастна мікроскопія)



Nuclearia thermophila (диференційна інтерференційно-контрастна мікроскопія)

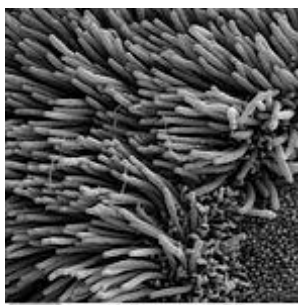


Замикаючі клітини [продиху](#) (флуоресцентна конфокальна мікроскопія)

Рис. 3.1. Зображення отримані за допомогою оптичної мікроскопії

Електронна мікроскопія. У 30-их роках ХХ століття був сконструйований електронний мікроскоп, в якому замість світла через об'єкт пропускається пучок електронів. Теоретична межа роздільності для сучасних електронних мікроскопів становить близько **0,002 нм**, проте із практичних причин для біологічних об'єктів досягається роздільність тільки близько 2 нм. За допомогою електронного мікроскопа можливо вивчати ультраструктуру клітин. Розрізняють два основні типи електронної мікроскопії: *скануючу* та *трансмісійну*. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ) використовується для вивчення поверхні об'єкта. Зразки найчастіше покривають тонкою плівкою золота. СЕМ дозволяє отримувати об'ємні зображення. Трансмісійна електронна мікроскопія (ТЕМ) — використовується для вивчення внутрішньої будови клітини. Пучок електронів пропускається через об'єкт, що попередньо обробляється важкими металами, які накопичуються у певних структурах, збільшуючи їхню електронну густину. Електрони розсіюються на ділянках клітини з більшою електронною густиною, внаслідок чого на зображеннях ці області виглядають темнішими (рис. 3.2).

Дещо більше про електронну мікроскопію дивись в підрозділі «Електронна мікроскопія».



Епітелій трахеї (СЕМ)



Поперечний переріз через
джгутики хламідомонади (ТЕМ)

Рис. 3.2. Зображення отримані за допомогою електронної мікроскопії

Фракціонування клітин. Для встановлення функцій окремих компонентів клітини важливо виділити їх у чистому вигляді. Найчастіше це робиться за допомогою методу диференційного центрифугування. Розроблені методики, що дозволяють отримати чисті фракції будь-яких клітинних органел. Отримання фракцій починається із руйнування плазмалеми і утворення гомогенату клітин. Гомогенат послідовно центрифугується при різних швидкостях. На першому етапі можна отримати чотири фракції: (1) ядер і великих уламків клітин, (2) мітохондрій, пластид, лізосом і пероксисом, (3) міркосом — пухирців апарату Гольджі та ендоплазматичного ретикулуму, (4) рибосом, в супернатанті залишаються білки та дрібніші молекули. Подальше диференційне центрифугування кожної із змішаних фракцій дозволяє отримати чисті препарати органел, до яких можна застосовувати різноманітні біохімічні та мікроскопічні методи.

Метод авторадіографії. Метод побудований на виявленні в тканинах речовин, помічених радіоактивними ізотопами. Помічена речовина вводиться в організм піддослідної тварини чи в інкубаційне середовище, в яке поміщають свіжовидалений кусочок тканини. В якості ізотопів найчастіше використовують ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{127}I , ^{131}I . Зрізи матеріалу з поміченою речовиною в темноті покривають фотоемульсією, яка після деякої експозиції виявляється засвіченою в ділянках знаходження радіоактивного ізотопу. При прояві емульсії срібла, яке випало в таких ділянках, має вид зерна. Отриманий препарат – радіоавтограф. Його фарбують, а зерна срібла виявляють локалізацію поміченої речовини.

Імуноцитохімічні і імуногістохімічні методи дослідження. Імуноцито- і імуногістохімічні методи забезпечують найбільш специфічне виявлення речовин в клітинах і тканинах. При цьому мазки і зрізи обробляються маркованими специфічними антитілами до речовини, що виявляється, - воно є антигеном. За допомогою цих методів здійснюється

ідентифікація клітин різних типів за їх маркерними ознаками, вивчаються синтетичні і секреторні процеси, виявляються гормони і їх рецептори.

Метод гібридизації in situ. Даний метод дозволяє виявити деяку послідовність нуклеотидів в молекулі РНК або ДНК і завдяки цьому вивчити локалізацію генів і продуктів їх транскрипції. При цьому вводяться зонди - марковані фрагменти РНК або ДНК, які містять послідовності нуклеотидів, комплементарні шуканим.

Цитохімічні і гістохімічні методи дослідження. Методи цито- і гістохімії спрямовані на виявлення в клітинах і тканинах конкретних хімічних речовин (наприклад, заліза, кальцію, білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, глікогену, ферментів) або хімічних груп (наприклад, альдегідних, сульфгідрильних, аміногруп). Ці методи засновані на специфічному зв'язуванні барвників з певними хімічними сполуками (наприклад, РНК і ДНК) або створенні забарвлених продуктів із незабарвлених. Методами цито- і гістохімії вивчають розподіл і оцінюють склад в клітинах і неклітинних компонентах тканин речовини, що відносяться до різних груп - ДНК або РНК, білків, амінокислот, ліпідів, вуглеводів, мінеральних речовин, оцінюють активність ферментів. Найбільш використовуваний гістохімічний метод - ШИК- або PAS-реакція. Назва методу походить від скорочення термінів Шиффа (реактив) - Йодна Кислота (по англ. Periodic Acid Schiff). Цей метод використовується для виявлення сполук, багатих вуглеводними групами - глікогену, глікопротеїнів, мукопротеїнов, протеогліканів. Він заснований на окисненні йодною кислотою гідроксильних груп цукрів до альдегідних, з якими зв'язується безбарвний реактив Шиффа (містить фуксин), перетворюючись в стабільне з'єднання червоного кольору.

3.3. Електронна мікроскопія

Просвічуюча електронна мікроскопія (трансмісійна електронна мікроскопія – TEM) тонких зрізів мієліну, а фактично і всіх інших мембран,

виявляє характерну тришарову структуру, що складається з двох електронноплотних смуг, розділених проміжком близько 80 \AA . Така картина виходить значною мірою в результаті обробки препаратів чотириокисом осмію, що зазвичай застосовується в цьому методі. Робертсон назвав спостережувальну структуру «унітарною», щоб підкреслити її універсальність, і хоча молекулярні механізми фарбування мембран осмієм невідомі, ця структура розглядалася як підтвердження справедливості біслойної моделі мембрани. Однак, при підготовці препаратів для просвічувальної електронної мікроскопії мембрани можуть піддаватися несприятливим впливам. Зокрема, відомо, що обробка чотириокисом осмію призводить до значної втрати білка з еритроцитарної мембрани. І хоча дані, що отримуються в деякій мірі відображають організацію бішарових мембран, більш детальні відомості щодо локалізації білків цим методом отримати не вдається.

Деяку інформацію про розташування мембранних білків дали нові методи, що стали тепер уже «класичними», - методи заморожування-сколювання і заморожування-травлення. У цих випадках препарати швидко заморожують, не піддаючи їх при цьому будь-яким пошкоджуючим впливам, як при отриманні тонких зрізів. Процес підготовки препарату включає наступні операції (рис. 3.3).

1. Після заморожування зразок, що представляє собою суспензію клітин або мембран, сколюють за допомогою ножа при низькій температурі ($-100 \text{ }^\circ\text{C}$) в глибокому вакуумі. Виникаючі при сколюванні зусилля призводять до утворення зрізу, що проходить через зразок. Виявилося, що коли площина зрізу проходить через мембрану, остання розколюється переважно за своєю серединної області і розщеплюється на дві половинки. В результаті на площинах відколу, що утворилися, оголюється внутрішня область мембрани.

2. При необхідності зразок піддають травленню - проводять звичайну сублімацію льоду в вакуумі. Це дозволяє краще візуалізувати поверхневі

структури клітинних мембран.

3. Після цього отримують так звану репліку з оголеною поверхні. Саме цю репліку і вивчають під електронним мікроскопія. Для отримання репліки спочатку напилюють на зразок платину під кутом близько 45° , щоб виявити топологічні характеристики препарату. Потім платиновій репліці надають механічну міцність, напиляючи на неї шар вуглецю. Після цього препарат розморожують, репліка спливає і її виловлюють за допомогою спеціальної сіточки.

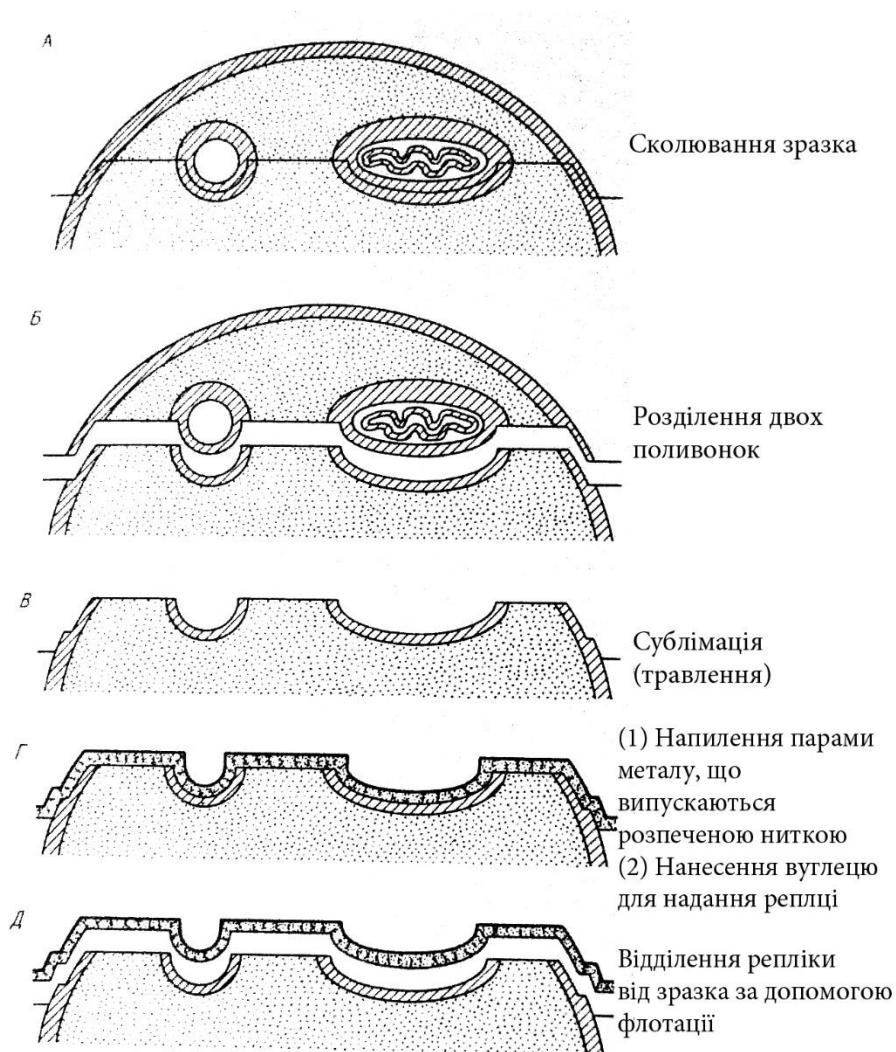


Рис. 3.3. Дослідження мембран методом заморожування-сколювання. А. Площина відколу замороженої клітини частково проходить через центральну частину різних мембран. Б. Роз'єднання двох половинок відколу. В. Зразок піддають травленню для виявлення деталей поверхні шару. Г. На зразок

напилюють шар плати, а потім шар вуглецю; таким чином виходить репліка з поверхні зразка. Д. Цю репліку відокремлюють від препарату і досліджують з допомогою електронної мікроскопії

Найбільш характерні структури, які спостерігаються при вивченні мембран методом заморожування-сколювання, - це численні внутрішньомембранні частинки діаметром від 80 до 100 Å, що лежать в площині мембранних відколів. Зазвичай вони розташовані хаотично, але іноді утворюють групи. Численні дослідження показали, що ці частинки, можливо, є мембранними білками. Цікаво, що при електронній мікроскопії тонких зрізів подібні структури не виявляються. Репліки, отримані від двох половинок розщепленої мембрани, не завжди бувають топологічно комплементарними. Це означає, що деякі частинки пов'язані тільки з однією з половин мембрани. Дані, отримані методом заморожування-сколювання, широко використовувалися Сінгером і Ніколсоном при створенні рідинно-мозаїчної моделі мембран, оскільки вони переконливо показували, що глобулярні білки знаходяться не тільки на поверхні мембрани, а й всередині бішару.

На рис. 3.4 приведена електронна мікрофотографія препарату протеоліпосоми, яка реконструйована з яєчного фосфатидилхоліну і нефракціонованого препарату білка смуги 3 з мембрани еритроцитів людини; препарат отриманий методом замороження-сколювання. Білок смуги 3 є основним білковим компонентом мембрани еритроцитів і, як відомо, здійснює перенесення аніонів. Якщо фосфоліпідні везикули не містять цього білка, то отримані препарати заморожених відколів мають гладку поверхню. При встановленні білка смуги 3 в фосфоліпідні везикули на сколах з'являються внутрішньомембранні частинки, які практично неможливо відрізнити від частинок, що спостерігаються в мембранах еритроцитів. Більш того, при рН 5,5 частинки, які спостерігаються в мембрані еритроцитів, агрегують, причому ця агрегація здійснюється в результаті взаємодії білка смуги 3 з двома іншими

білками, спектрином і актином. Останні є компонентами цитоскелету, що знаходяться на внутрішній поверхні еритроцитарної мембрани.

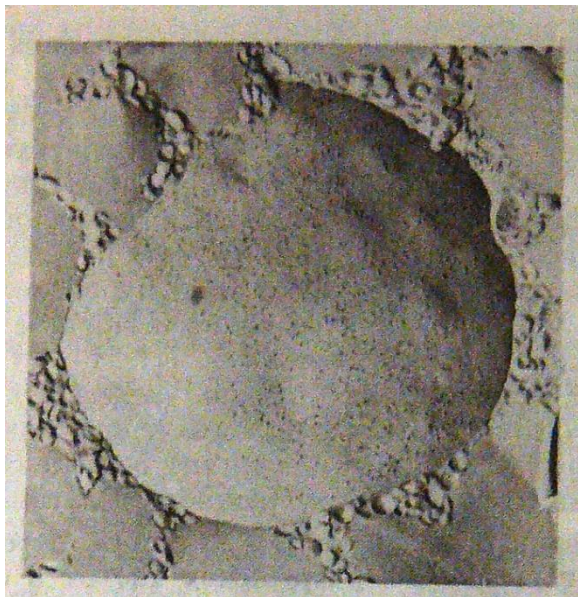


Рис. 3.4. Електронна мікрофотографія заморожених відколів везикул, реконструйованих з яєчного фосфатидилхоліну і білка смуги 3 з еритроцитів людини. Видимі на фотографії частинки нагадують частинки, які спостерігаються в заморожених сколах мембрани еритроцитів

Ці дані ще більш зміцнили уявлення про мембранні білки як про глобулярні частинки, що вільно переміщаються в площині мембрани. Але деякі білки не можуть вільно плавати в «ліпідному морі».

3.4. Загальна будова клітини

Розглядання будови клітини потребує окремого детального розгляду, що не є задачею цього посібника. Даний підрозділ переважно необхідний тільки для перелічення основних елементів клітини як довідник.

Клітина складається з ядра і цитоплазми, яка відокремлена від зовнішнього середовища плазмалею (зовнішня клітинна мембрана, плазматична мембрана, цитолемма) (рис. 3.5).

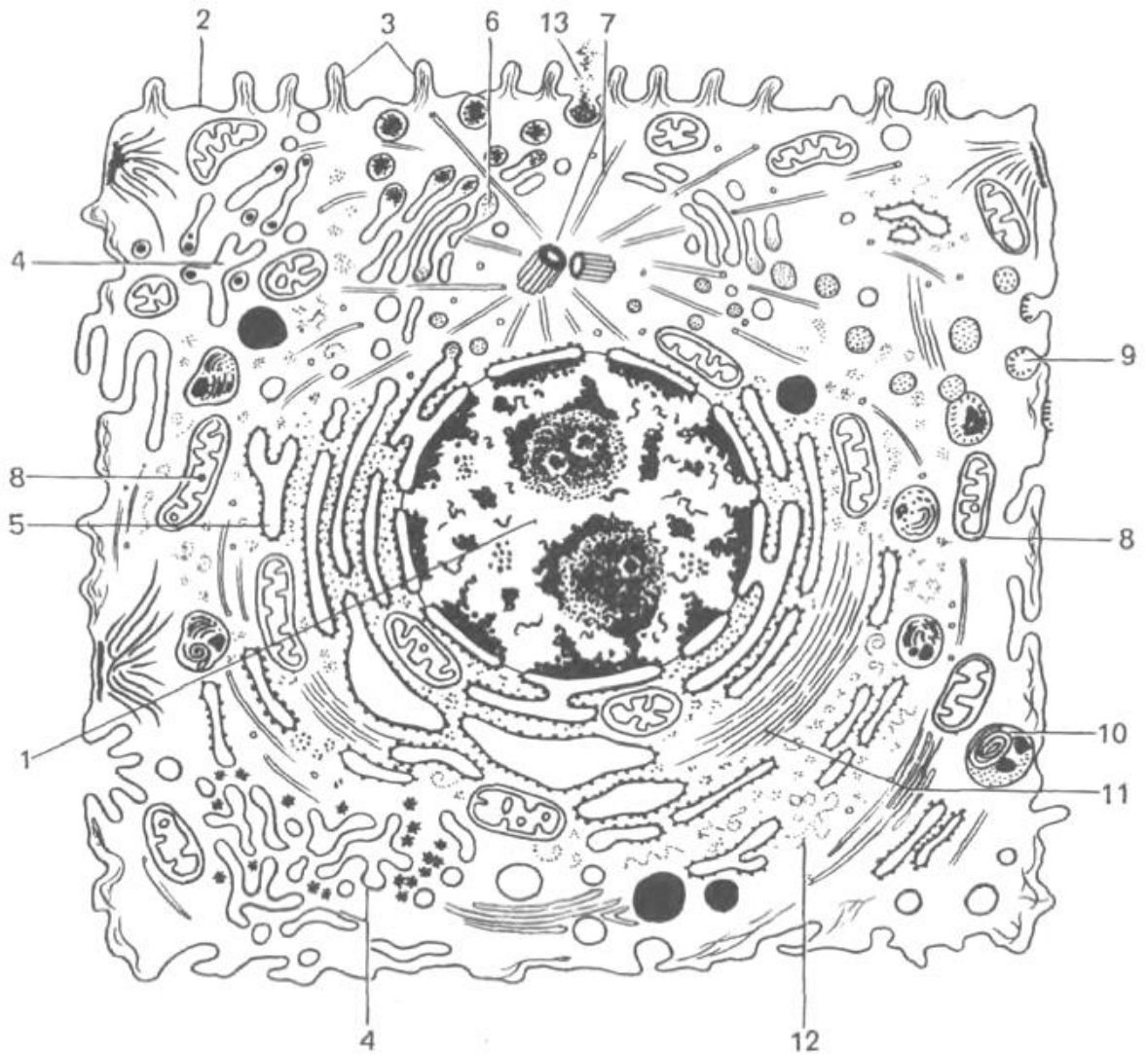


Рис. 3.5. Ультрамiкроскопiчна будова тваринної клiтини: 1 - ядро; 2 - плазмолема; 3 - мiкроворсинки; 4 - гладка ендоплазматична мережа; 5 - гранулярна ендоплазматична сiтка; 6 - апарат Гольджi; 7 - центріолi і мiкротрубочки клiтинного центру; 8 - мiтохондрії; 9 - цитоплазматические бульбашки; 10 - лiзосоми; 11 - мiкрофiламенти; 12 - рибосоми; 13 – видiлення гранул секрету

Клітинна мембрана (або цитолема, або плазмалема, або плазматична мембрана) відокремлює вміст будь-якої клітини від зовнішнього середовища, забезпечуючи її цілісність; регулює обмін між клітиною і середовищем; внутрішньоклітинні мембрани поділяють клітину на спеціалізовані замкнуті

відсіки - компартменти або органели, в яких підтримуються певні умови середовища.

3.5. Біофізика мембран

3.5.1. Функції біомембран

До основних функцій мембран належать:

Бар'єрна - забезпечує регульований, виборчий, пасивний та активний обмін речовин з навколишнім середовищем. Наприклад, мембрана з пероксидом захищає цитоплазму від небезпечних для клітини пероксидів. Виборча проникність означає, що проникність мембрани для різних атомів або молекул залежить від їх розмірів, електричного заряду і хімічних властивостей. Виборча проникність забезпечує відділення клітини і клітинних компартментів від навколишнього середовища і постачання їх необхідними речовинами;

Транспортна - через мембрану відбувається транспорт речовин у клітину і з неї. Транспорт через мембрани забезпечує: доставку поживних речовин, видалення кінцевих продуктів обміну, секрецію різних речовин, створення іонних градієнтів, підтримання в клітці відповідного рН і іонної концентрації, які потрібні для роботи клітинних ферментів.

Частинки, з якої-небудь причини не здатні перетнути фосфоліпідний бішар (наприклад, через гідрофільні властивості, так як мембрана всередині гідрофобна і не пропускає гідрофільні речовини, або через великі розміри), але необхідні для клітини, можуть проникнути крізь мембрану через спеціальні білки-переносники (транспортери) і білки-канали або шляхом ендоцитозу.

При пасивному транспорті речовини перетинають ліпідний бішар без витрат енергії, шляхом дифузії. Варіантом цього механізму є полегшена дифузія, при якій речовини допомагає пройти через мембрану яка-небудь

специфічна молекула. У цієї молекули може бути канал, що пропускає речовини тільки одного типу.

Активний транспорт вимагає витрат енергії, так як відбувається проти градієнта концентрації. На мембрані існують спеціальні білки-насоси, в тому числі АТФаза, яка активно закачує в клітку іони калію (K^+) і викачують з неї іони натрію (Na^+).

Матрична - забезпечує певне взаєморозташування і орієнтацію мембранних білків, їх оптимальну взаємодію.

Механічна - забезпечує автономність клітини, її внутрішньоклітинних структур, також з'єднання з іншими клітинами (в тканинах). Велику роль у забезпеченні механічної функції мають клітинні стінки, а у тварин - міжклітинна речовина.

Енергетична - при фотосинтезі в хлоропластах і клітинному диханні в мітохондріях в їх мембранах діють системи перенесення енергії, в яких також беруть участь білки;

Рецепторна - деякі білки, що знаходяться в мембрані, є рецепторами (молекулами, за допомогою яких клітина сприймає ті чи інші сигнали). Наприклад, гормони, що циркулюють в крові, діють тільки на такі клітини-мішені, у яких є відповідні цим гормонам рецептори. Нейромедіатори (хімічні речовини, що забезпечують проведення нервових імпульсів) теж зв'язуються з особливими рецепторними білками клітин-мішеней.

Ферментативна - мембранні білки нерідко є ферментами. Наприклад, плазматичні мембрани епітеліальних клітин кишечника містять травні ферменти.

Здійснення генерації та проведення біопотенціалів. За допомогою мембрани в клітині підтримується постійна концентрація іонів: концентрація іона K^+ всередині клітини значно вище, ніж зовні, а концентрація Na^+ значно нижче, що важливо, оскільки це забезпечує підтримання різниці потенціалів на мембрані і генерацію нервового імпульсу.

Маркування клітини. На мембрані є антигени, що діють як маркери - "ярлики", що дозволяють розпізнати клітину. Це глікопротеїни (тобто білки з приєднаними до них розгалуженими олігосахаридними бічними ланцюгами), які відіграють роль "антен". Через незліченну безліч конфігурацій бічних ланцюгів можливо зробити для кожного типу клітин свій особливий маркер. За допомогою маркерів клітини можуть розпізнавати інші клітини і діяти узгоджено з ними, наприклад, при формуванні органів і тканин. Це ж дозволяє імунній системі розпізнавати чужорідні антигени.

3.5.2. Структура і склад біомембран

Мембрани складаються з ліпідів трьох класів: фосфоліпіди, гліколіпіди і холестерол. Фосфоліпіди і гліколіпіди (ліпіди з приєднаними до них вуглеводами) складаються з двох довгих гідрофобних вуглеводневих "хвостів", які пов'язані із зарядженою гідрофільною "головою". У складі клітинної мембрани фосфоліпіди утворюють бішар, в якому гідрофільні голови повернуто назовні — у полярний водний розчин, а гідрофобні хвости — всередину. Крім фосфоліпідів до складу мембран входять також інші типи ліпідів, такі як гліколіпіди, сфінголіпіди та холестерол.

Холестерол надає мембрані жорсткість, займаючи вільний простір між гідрофобними хвостами ліпідів і не дозволяючи їм згинатися. Тому мембрани з малим вмістом холестеролу більш гнучкі, а з більшим - більш жорсткі й тендітні. Також холестерол служить "стопором", що перешкоджає переміщенню полярних молекул з клітини і в клітину.

Мембрани - структури інваріабельні, дуже подібні у різних організмів. Певний виняток становлять, мабуть, археї, у яких мембрани утворені гліцерином і терпеноїдними спиртами. Товщина мембран складає 7-8 нм.

Ряд структурних особливостей біологічних мембран ілюструють рис. 3.6 – 3.9.

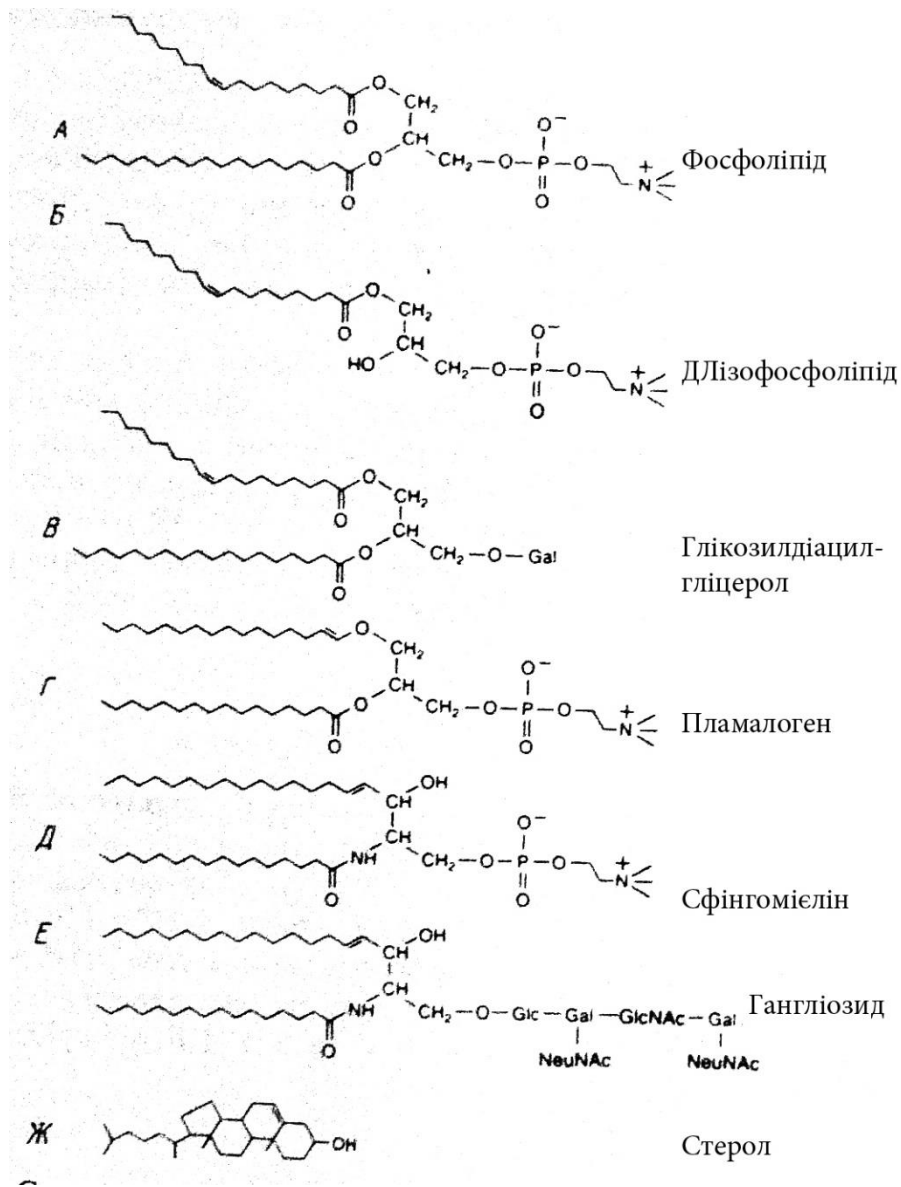


Рис. 3.6. Структурні формули деяких класів мембранних ліпідів. Структури представлені так, щоб підкреслити амфіфільних природу ліпідів, при цьому неполярні групи розташовані зліва, а полярні головки - праворуч. Позначення: Gal - галактоза, Glc - глюкоза, NeuNAc - N-ацетілнейраміновая кислота (сіалова кислота), GlcNAc - N-ацетилглюкозамін

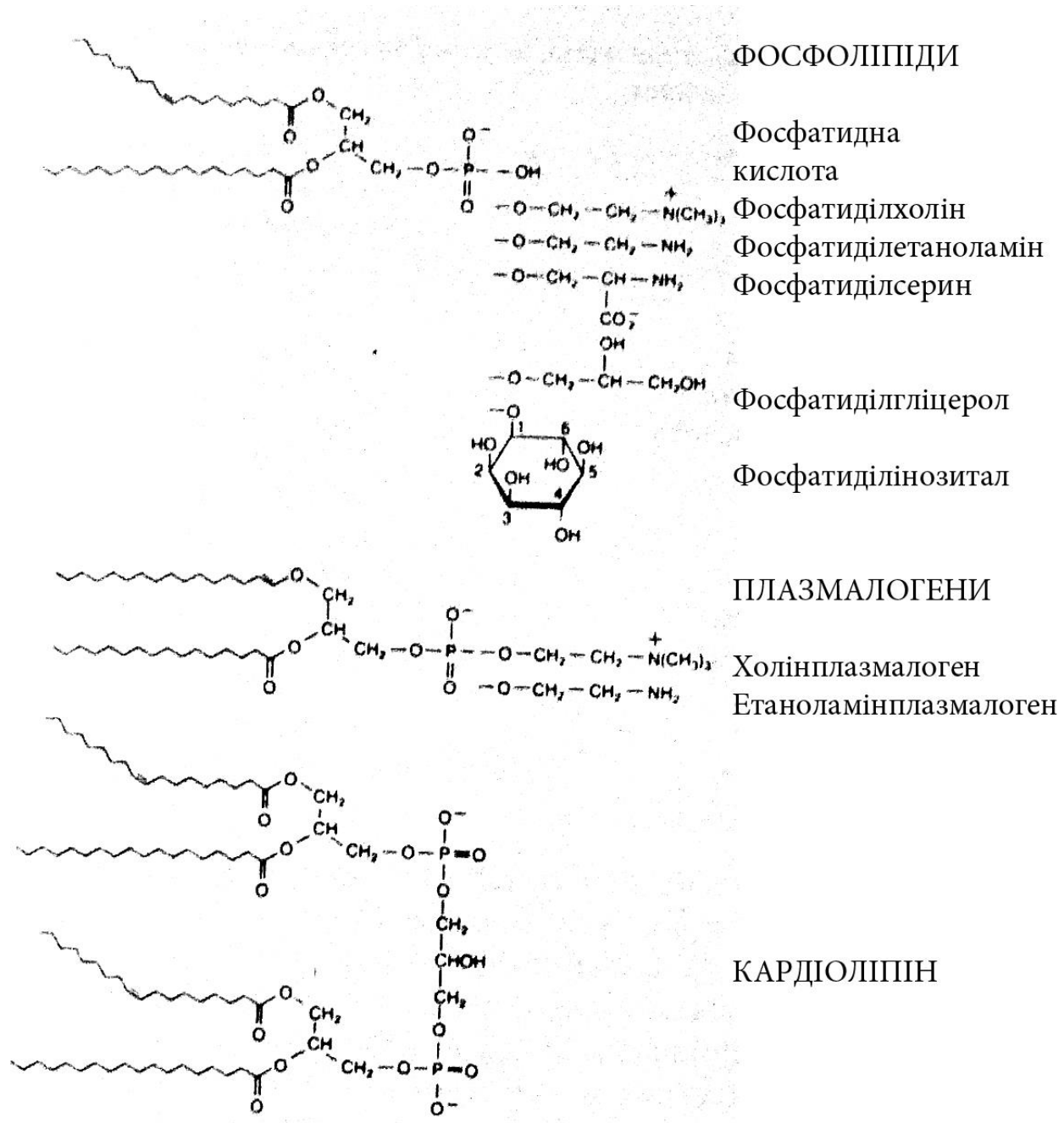


Рис. 3.7. Структурні формули мембранних ліпідів, що ілюструють різноманітність полярних головок. При нейтральних рН аміногрупа залишку етаноламіну протонувана.

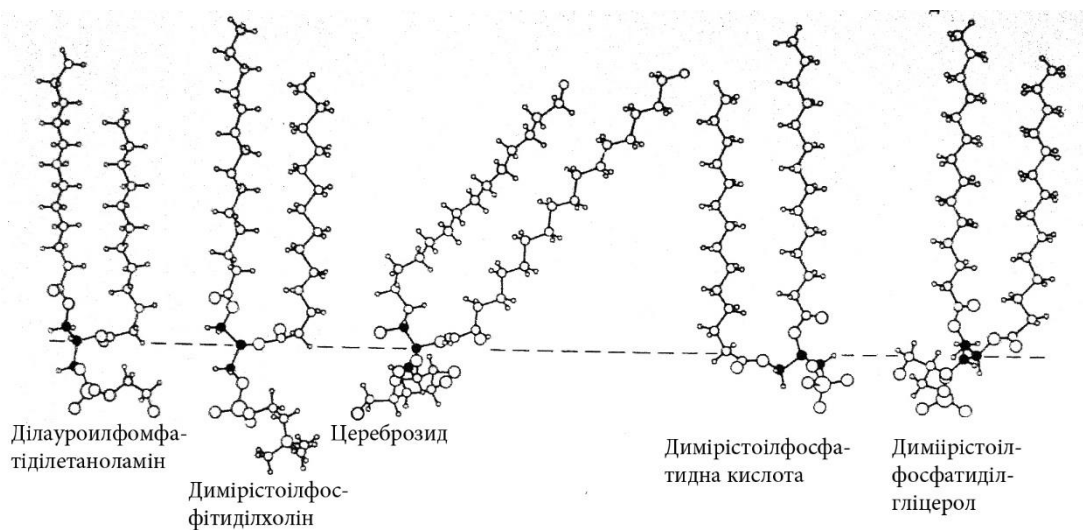


Рис. 3.8. Структура п'яти мембранних ліпідів, встановлена за допомогою рентгеноструктурного аналізу. Чорні крапки - три атоми вуглецевого скелета гліцеролу і сфінгозина. Зверніть увагу, що в структурах А, Б і В гліцерольний і сфінгозиновий залишки мають однакову конформацію, а в структурах Г і Д – різну

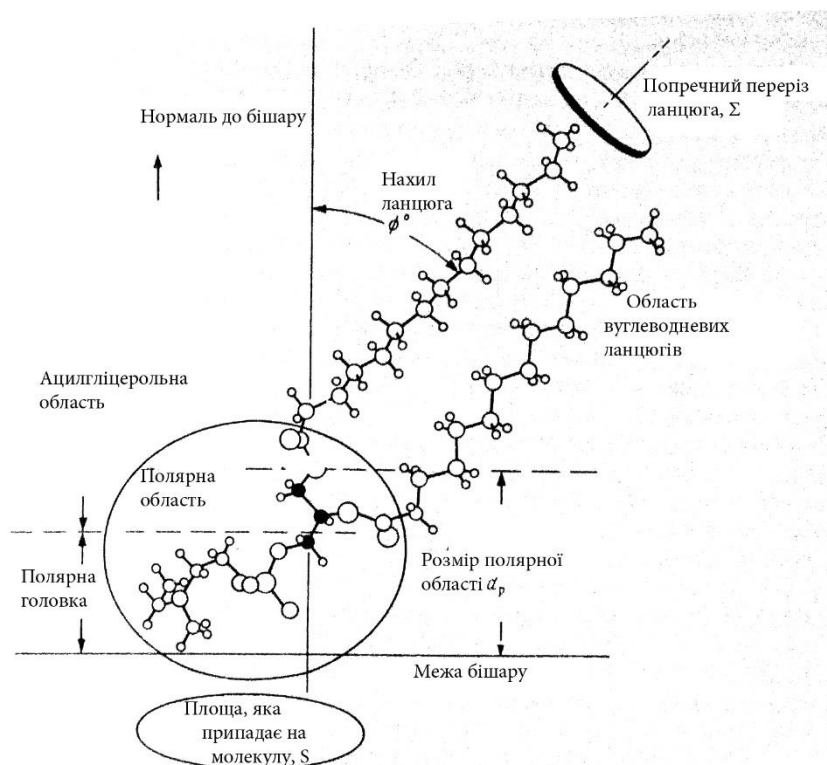


Рис. 3.9. Схематичне зображення молекули фосфатидилхоліну із зазначенням різних ділянок молекули. Зверніть увагу, що поперечний переріз вуглеводневого ланцюга Σ перпендикулярний осі ланцюга. Поперечний

переріз, паралельний площині мембрани, буде значно більший, оскільки ланцюг нахилений.

Жирні кислоти, що входять до складу ліпідів біологічних мембран, зазвичай мають від 14 до 22 вуглецевих атомів. Вуглеводневі ланцюги можуть бути повністю насиченими або містити 1-6 ненасичених подвійних зв'язків. Подвійні зв'язки практично всіх жирних кислот знаходяться в цисконформації. Численні експериментальні дані вказують, що в природних мембранах ліпідний склад внутрішнього і зовнішнього шарів може різнитися за якісним і жирокислотним складом (табл. 3.1).

Таблиця 3.1. Ліпідний склад мембран клітин ссавців, % від маси всіх ліпідів

Ліпіди	Плазматичні мембрани	Мітохондрії	Лізосоми	Ядра	Ендоплазматичний ретикулум	Апарат Гольджи
Фосфатидилхолін	18,5	37,5	23,0	44,0	48,0	24,5
Сфінгомелін	12,0	0	23,0	3,0	5,0	6,5
Фосфатидилетаноламін	11,5	28,5	12,5	16,5	19,0	9,0
Фосфатидилсерин	7,0	0	6,0	3,5	4,0	2,5
Фосфатидилінозитол	3,0	2,5	6,0	6,0	7,5	5,0
Лізофосфатидилхолін	2,5	0	0	1,0	1,5	3,0
Дифосфатидилгліцерин	0	14,0	5,0	1,0	0	0
Інші фосfolіпіди	2,5	-	-	-	-	-
Холестерин	19,5		14,0	10,0	5,5	7,5
Ефіри холестерину	2,5	2,5	8,0	1,0	1,0	4,5
Вільні жирні кислоти	6,0	-	-	9,0	3,5	18,0
Інші ліпіди	15,0	15,0	2,5	5,5	5,0	16,0

Іншим важливим компонентом клітинної мембрани є білки, їх вміст може коливатись від 18% (у мембрані аксона) до 75% (у мембранах тилакоїдів) (рис. 3.10).

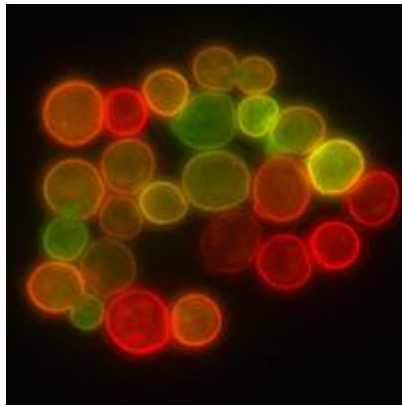


Рис. 3.10. Мембрани клітин дріжджів, які візуалізовані шляхом злиття деяких мембранних білків із червоним та зеленим флуоресцентними білками

Усі мембранні білки можна поділити на три основні групи (рис. 3.11):

- Інтегральні мембранні білки, що мають у своєму складі гідрофобний домен, який повністю або частково пронизує ліпідний бішар, до цього класу належать усі іонні канали та більшість клітинних рецепторів;

- Білки, закорені в мембрані ковалентно, з'єднані із певною неполярною сполукою, найчастіше — глікозилфосфатидилінозитолом (англ. GPI), яка входить у гідрофобну частину ліпідного бішару, і таким чином утримує білок на поверхні мембрани. Представниками цієї групи є G-білки;

- Периферійні білки, що нековалентно взаємодіють з іншими білками або гідрофільними головами фосфоліпідів і утримуються поблизу поверхні мембрани тільки тимчасово. Прикладом цієї групи білків можуть бути деякі ферменти.

Білковий склад мембран також дуже різноманітний. Більшість мембран, за рідкісним винятком, містить велику кількість різних білків, молекулярна маса яких коливається від 10000 до 240 000. У залежності від ступеня гідрофобності, числа і локалізації гідрофобних амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі білки або частково, або цілком занурені в ліпідний шар мембран, або пронизують його наскрізь. Найбільш слабо зв'язані з мембраною так звані периферичні білки, які утримуються в мембрані за рахунок слабких, в основному неелектростатичних, взаємодій. Білки, які сильно пов'язані з ліпідами мембран і глибоко занурені в ліпідний шар

мембран, так звані інтегральні білки, складають основну масу мембранних білків. Зазвичай поліпептидні ланцюги цих білків включають велике число неполярних амінокислотних залишків.

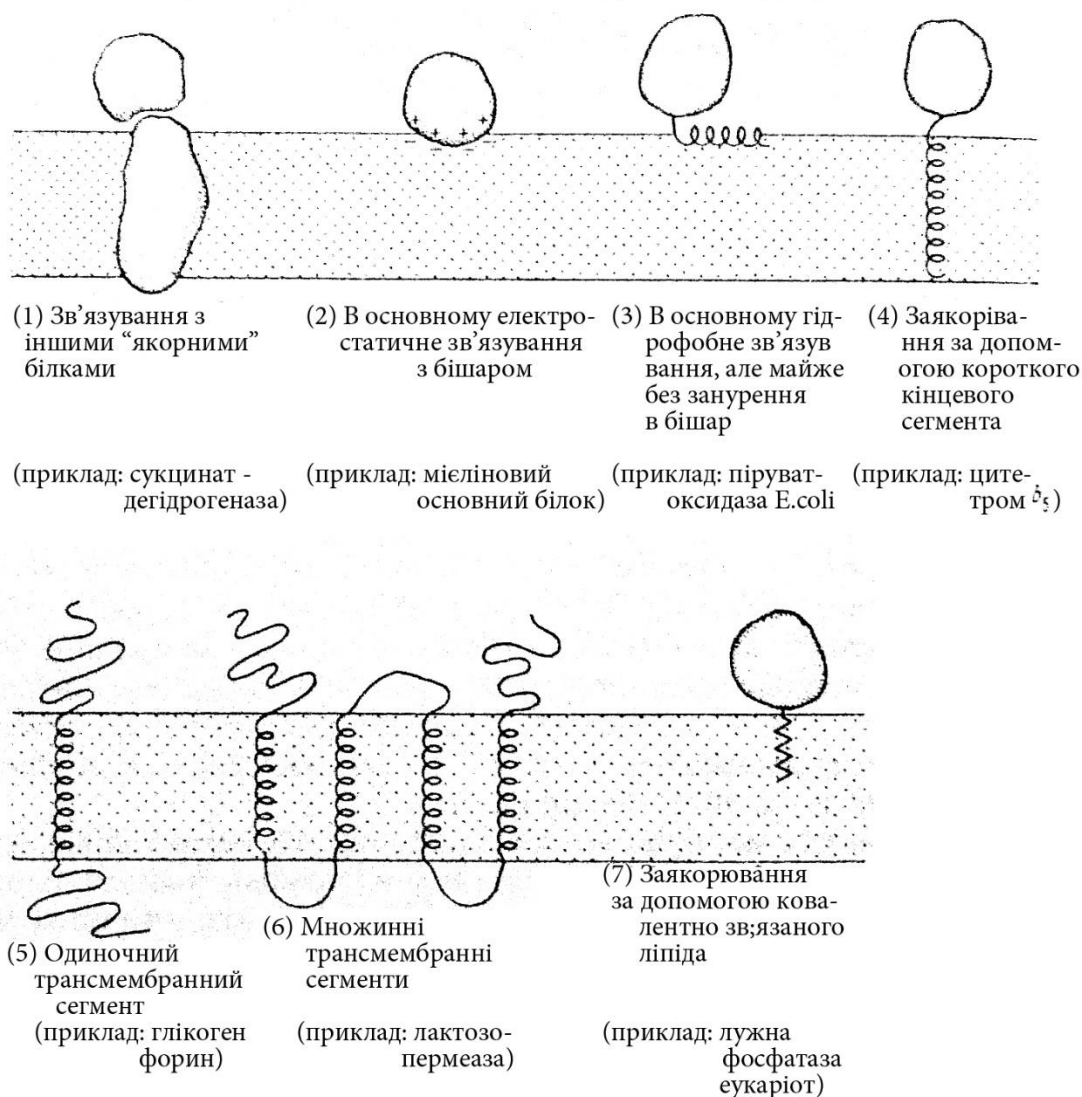


Рис. 3.11. Різні способи приєднання мембранних білків до мембрани.

Пептидний якор (4) може перебувати або на N-, або на C-кінці молекули. N- і C-кінці трансмембранних білків (5 і 6) можуть знаходитися як біля зовнішньої так і біля внутрішньої поверхні мембрани

У функціональному відношенні мембранні білки поділяються на ферментативні, транспортні та регуляторні. Виділяють також структурні білки, які виконують в основному «опорно-будівельні» функції. Важливим структурним компонентом мембран є вода. Особливості взаємодії основних

молекулярних компонентів мембран з водою визначають не тільки багато структурно-функціональних властивостей мембран, але є вирішальними в процесі формування самих мембран і стабілізації мембранних систем. Воду, що входить до складу мембран, підрозділяють на зв'язану, вільну і захоплену. Найменшою рухливістю відрізняється так звана внутрішня зв'язана вода, яка присутня у вигляді одиночних молекул у вуглеводневій зоні мембран. Ця фракція води, за даними ЯМР-спектроскопії, характеризується часом кореляції $t_c \sim 10^{-7}$ с. Основна частина зв'язаної води - вода гідратних оболонок. Рухливість цієї води в мембранах вища, що призводить до менших значень: $t_c \leq (8 - 10) \cdot 10^{-10}$ с. Гідратні оболонки утворюються головним чином навколо полярних частин молекул ліпідів і білків. Гідратні оболонки основних структуроутворюючих ліпідів складаються зазвичай з 10-12 молекул води. Ця вода осмотично неактивна, вона не здатна розчиняти будь-які речовини.

Слабкозв'язанна вода по рухливості і деяким іншим властивостям займає проміжне положення між водою гідратних оболонок і рідкою вільною водою.

Вільна вода входить до складу мембран у вигляді самотійної фази і володіє ізотропним рухом, характерним для рідкої води. Захоплена вода, яку іноді знаходять в центральній частині мембран між ліпідними біслоями, за параметрами рухливості відповідає рідкій вільній воді, але повільно обмінюється з зовнішньою водою через фізичну роз'єднаність.

У 1935 р. Ф. Даніелла і Г. Давсон висунули першу гіпотезу про будову біологічних мембран, згідно з якою мембрана складається з подвійного ліпідного шару, покритого з двох сторін шарами глобулярних білків.

У 50-х роках ХХ ст. методом електронної мікроскопії були отримані знімки мембран у вигляді тришарових структур товщиною близько 10 нм для плазматичних і дещо меншою - для субклітинних мембран. У 1964 р. Дж. Робертсон запропонував унітарну схему асиметричної будови мембрани. Відповідно до цієї схеми білки можуть розгортатися на поверхні подвійного

ліпідного шару під дією сил електростатичної взаємодії з зарядженими головками фосфоліпідів мембран; на зовнішній поверхні мембрани розташовуються ще й молекули глікопротеїнів. Однак під впливом нових фактів, і, в першу чергу, виявлення зернистої структури мембран, яка проглядалася на знімках, отриманих при великому збільшенні, початкові уявлення про тришаровості мембран були переглянуті.

В даний час вважають, що білки не вистилають поверхню ліпідного шару, мембран, а "плавають" на поверхні у вигляді окремих глобулярних молекул або частинок, більшою, чи меншою мірою занурених у мембрану. Ця рідинномозаїчна модель, запропонована Дж. Ленардом і С. Сінгером (1966-1972), дозволяє пояснити цілий ряд фактів, зокрема залежність багатьох фізіологічних функцій мембран і активності окремих мембранних ферментів від фазового стану ліпідів у мембрані, її текучості (в'язкості). Більш пізня білково-кристалічна модель (G. Vanderkooi, D. Green, 1970) відрізняється від рідинномозаїчної моделі фактично лише постулюванням існування в мембрані жорсткої білкової структури, що виникає в результаті дальнодіючих білок-білкових зв'язків.

Рідинно-мозаїчна модель будови мембрани є сьогодні загальноприйнятою. Проте, не всі білки вільно дифундують у рідкому ліпідному бішарі. Деякі ділянки мембран відрізняються за своєю структурою від класичного ліпідного бішару внаслідок ліпідного поліморфізму. В межах однієї мембрани можуть знаходитися ділянки з різним ліпідним складом і функціями. Вважають, що така складна динамічна структура біомембран, для якої характерні викривлення, фазові переходи, різна товщина, утворення небішарових структур, визначається взаємодією мембранних білків з ліпідами. Ці взаємодії багато в чому забезпечують ефективне виконання мембранами різноманітних клітинних функцій. Як наслідок, існують різні моделі організації мембрани.

Рідинно-мозаїчна модель не дозволила пояснити дані, отримані у результаті вивчення ролі ліпідів у передачі сигналів біорегуляторних речовин, зв'язування лікувальних і токсичних сполук, співвідношення між плазматичною мембраною, цитоскелетом, глікокаліксом і позаклітинним простором. У зв'язку з цим на основі нових експериментальних даних було запропоновано миготливу модель молекулярної організації біомембран, яка є модифікацією рідинно-мозаїчної моделі. Основна її особливість полягає у тому, що ліпідний матрикс мембрани є не двовимірним, а тривимірним «розчинником» для мембранних білків. Поверхня мембрани має вигляд не мозаїки, коли всі білки локалізовані на поверхні, а наче «ряботіння», коли одні і ті ж молекули білків частково (або повністю) поперемінно локалізовані то на рівні усередненої поверхні ліпідного матриксу, то вище чи нижче цього рівня.

Характер взаємодії полярних і неполярних груп білка і ліпідного бішару призводить до того, що пептид має бути розташований так, щоб максимально можлива кількість неполярних амінокислотних залишків була занурена в бішар. Це очевидна вимога визначає характер трьох основних типів білково-мембранних комплексів, які включають β -складчасті і α -спіральні структури з різним співвідношенням полярних і неполярних груп (рис. 3.12). Допускається, що амфіфільні β -складчасті структури (тип 1) згортаються з утворенням пор для пасивної дифузії речовин через мембрани. У середині такої пори розташовані полярні, а зовні в контакті з бішаром - неполярні групи.

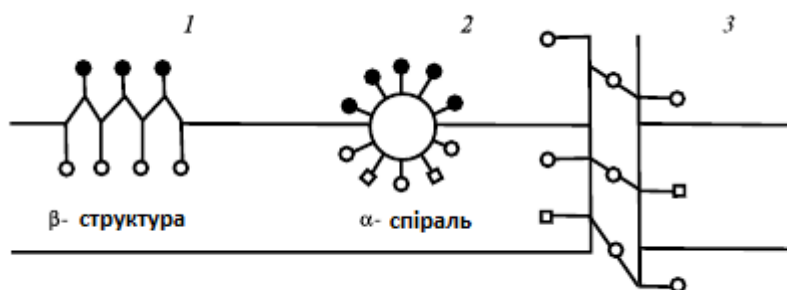


Рис. 3.12. Три типи білково-мембранних взаємодій: 1 – амфіфільна β -структура; 2 – α -спіраль амфіфільна; 3 – α -спіраль рівномірно гідрофобна.

Чорні кола відповідають зарядженим бічним ланцюгам; квадрати - полярним, але незарядженим; білі кола - неполярним бічним ланцюгам.

Пептидні гормони можуть утворювати комплекси (тип 2) з мембранами. Структури типу 3 характерні для інтегральних мембранних білків, які пронизують мембрани своїми α -спіралями.

Наявність у біологічних мембранах інших молекулярних елементів, в першу чергу білків, робить її асиметричною, просторово-розподіленою за складом та деформаціями системою (рис. 3.13).

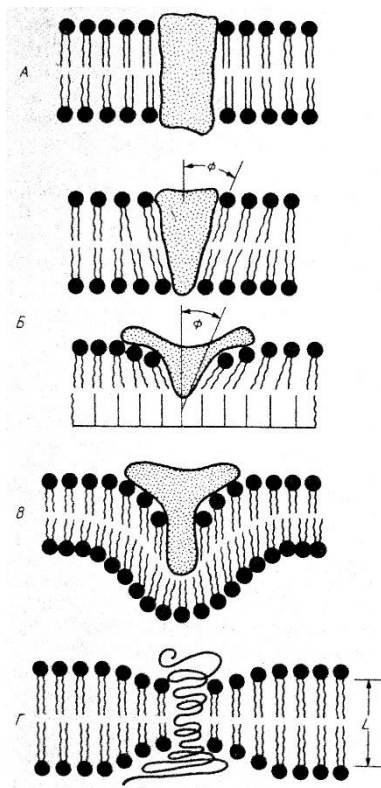


Рис. 3.13. Деформації ліпідного бішару при встановленні в нього білків. А. Локальна зміна впорядкованості. Б. Пружна деформація при встановленні клиновидного білка або білка, частково проникаючого в мембрану. В. Зміна локальної кривизни бішару. Г. Зменшення (збільшення) товщини бішару, обумовлене розбіжністю довжин гідрофобних ділянок ліпідних молекул і встановленого білка.

3.5.3. Самоорганізація ліпідів

Основні мембраноутворюючі ліпіди являють собою з'єднання з поєднанням гідрофобних і гідрофільних властивостей. Вони порівняно погано розчинні у воді у мономерному вигляді, а прагнення їх полярних головок максимально контактувати з водою надає їм унікальні здібності утворювати різноманітні порівняно стійкі структури при агрегації цих молекул.

Нерозчинні моношари на границі вода-повітря. Більшість мембраноутворюючих ліпідів при нанесенні їх на поверхню води практично не розчиняється в об'ємній фазі, а швидко розтікається по поверхні, утворюючи мономолекулярний шар. При стисненні моношару починає проявлятися міжмолекулярна взаємодія, що порушує стан ідеального двовимірного газу (рис. 3.14 А).

Подальше зростання тиску призводить до формування так званої розтягнутої рідкої плівки. Молекули в цьому стані володіють усіма ступенями свободи, як і у звичайній рідині, проте їх полярні головки фіксовані на поверхні розділу фаз (рис. 3.14 В). Вуглеводневі ланцюги молекул в цьому стані схильні до агрегації і взаємопроникнення.

При подальшому зростанні тиску в моношарі буде реалізовуватися більш щільна упаковка молекул, тобто їх вертикальна орієнтація. Спочатку рухливість вуглеводневих ланцюгів буде вище, ніж у полярних головок, так як останні сильно гідратовані. У цьому стані зберігається можливість руху молекул в площині поверхні (латеральна рухливість) і його можна розглядати як конденсовану рідку плівку (рис. 3.14 С). Подальше ущільнення шару при зростанні тиску може відбутися лише за рахунок руйнування гідратних оболонок полярних головок, після чого шар стає практично нестислюваним і знаходиться в твердоконденсованому стані (рис. 3.14 D), де площа поперечного перерізу молекул не залежить від довжини вуглеводневого ланцюга. Площа поперечного перерізу вуглеводневої ланцюга становить $\sim 0,2 \text{ нм}^2$, гранична площа молекул насиченого фосфатидилхоліну - $0,44 \text{ нм}^2$, а фосфотиділетаноламіна $\sim 0,4 \text{ нм}^2$.

Після перевищення деякого граничного тиску моношари починають руйнуватися - стан колапсу (рис. 3.14 E).

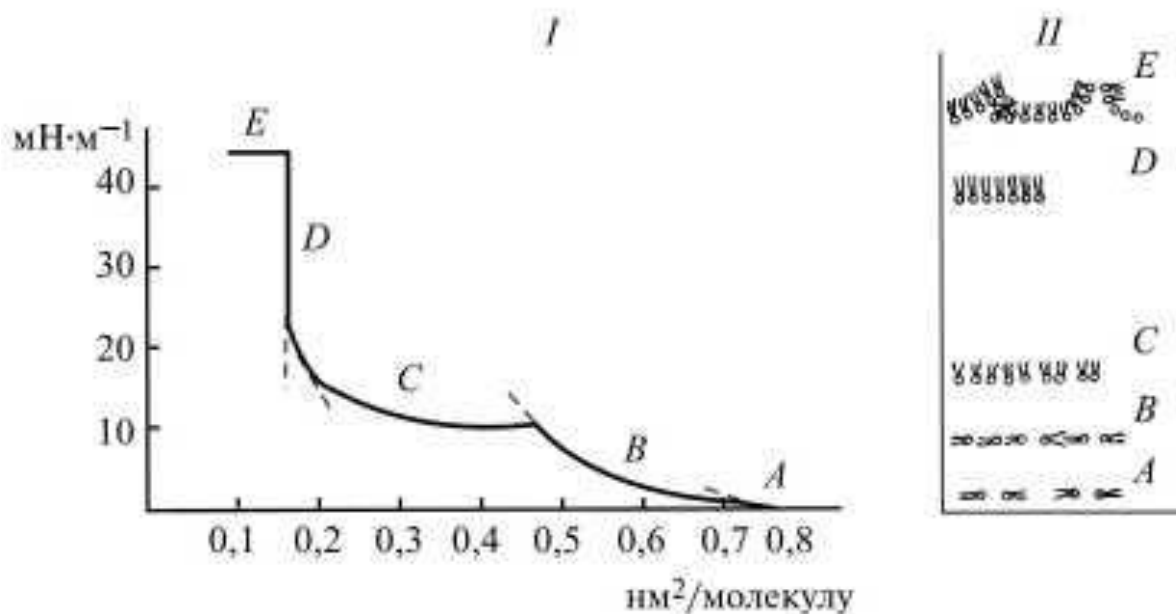


Рис. 3.14. Крива (ізотерма) площа-тиск для моношару ліпідів (I) та схема розташування ліпідних молекул на границі розділу фаз вода-повітря (II):

A — стан двомірного газу, *B* — розтягнута рідинна плівка, *C* — конденсована рідинна плівка, *D*—твердоконденсований стан, *E* — стан колапсу

Структурні динамічні конформаційні зміни ліпідів та мембрани в цілому під впливом зовнішніх факторів, зокрема, тиску, досліджують за допомогою епілюмінесценції (рис. 3.15).

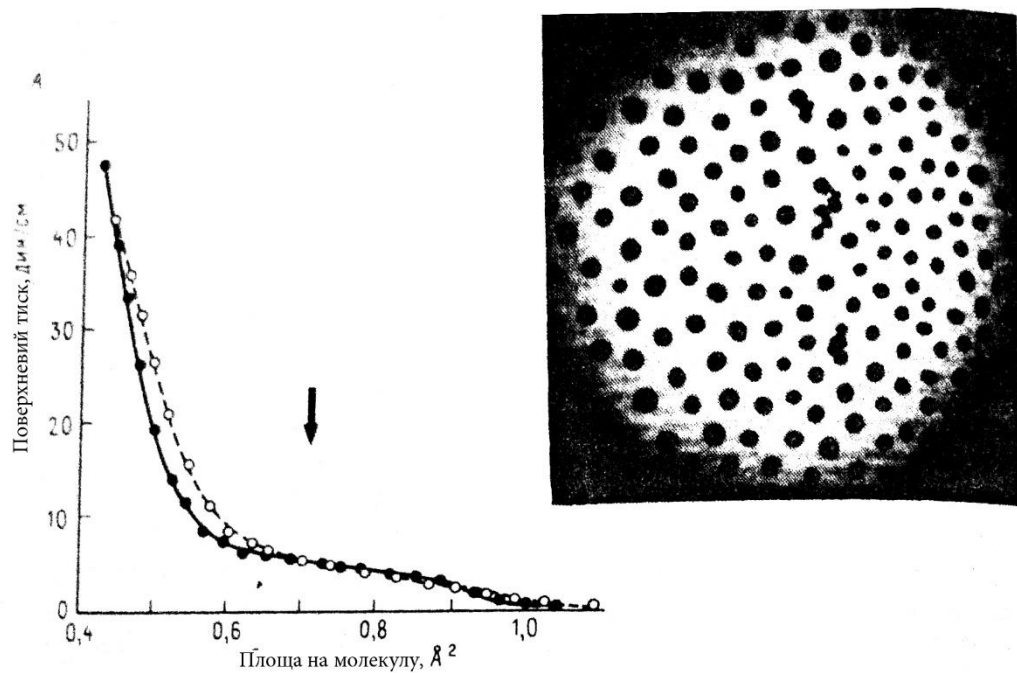


Рис. 3.15. А. Криві «тиск-площа» для моношару дипальмітоїлфосфатидилхоліну на поверхні дистильованої води при 20 °С. Зразок містить 2 мол.% флуоресцентного фосфоліпиду NBD-фосфатидилетаноламін. В точці, поміченій стрілкою, була зроблена фотографія флуоресцентного моношару (Б). Темні плями - «твердоподібні» домени, а сильно флуоресціюючі області - «рідкоподібні» домени, в яких накопичується флуоресцентна мітка. Регулярність в розташуванні доменів, мабуть, визначається електростатичними силами. Розмір поля зору дорівнює приблизно 200 мкм (в діаметрі).

Полярні частини мембраноутворюючих ліпідів сильно взаємодіють з водою, при цьому ці сполуки можуть змішуватися з водою у різноманітних співвідношеннях. Однак ці суміші не являють собою істинні розчини, а утворюють багату кількість впорядкованих фаз з періодичною структурою. В залежності від кількості присутньої в системі води ці фази закономірно (для конкретних ліпідів) переходять один в одного (рис. 3.16, 3.18; ліотропний поліморфізм). Зміна структурної організації системи ліпід - вода в залежності від температури отримало назву термотропного поліморфізму.

Стійкість того чи іншого типу мезофаз і діапазон їх існування визначається гідрофобним ефектом, а також ефективною геометричною формою ліпідних молекул.

Розглянемо основні мезофазні ансамблі ліпідів (рис. 3.16).

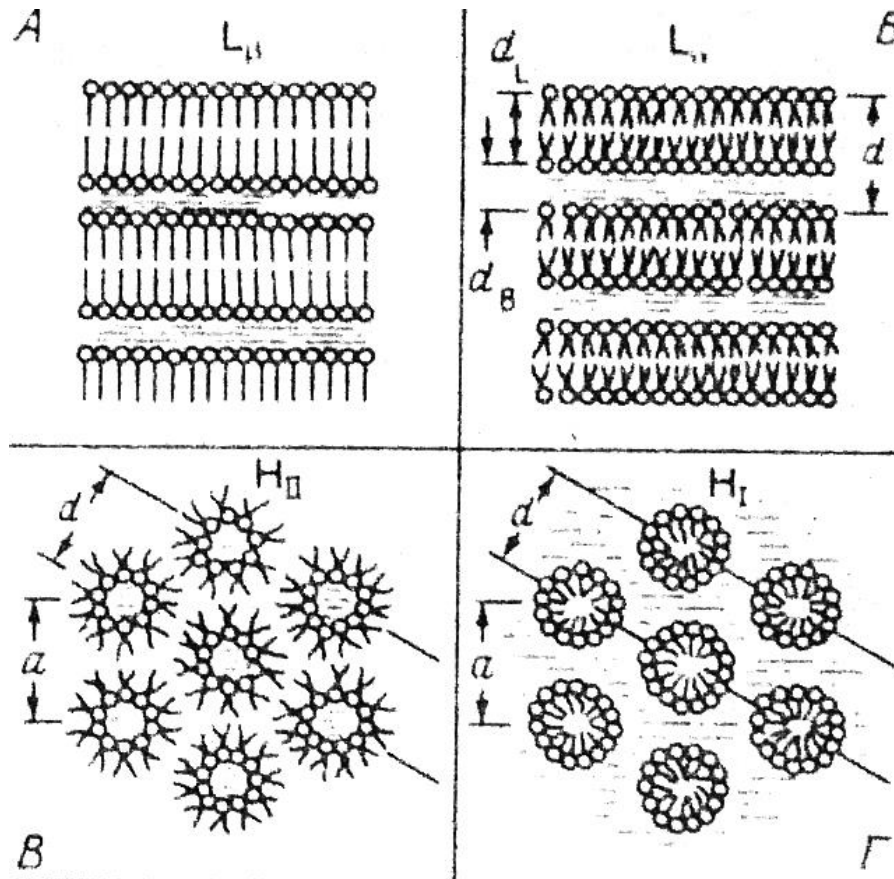


Рис. 3.16. Будова (поперечний переріз) мезофаз: L — ламелярна фаза; α — рідиноподібна фаза (А), β — кристалічні фази з різним вуглом нахилу ланцюгів до поверхні розділу фаз (Б), H_I — гексагональна (Г); H_{II} — інвертована гексагональна фаза (вода у ліпідах) (В).

Ламелярний тип (рідинно-кристалічна фаза) L_α організації бішарної структур найбільш відповідає характеру молекулярної організації ліпідів у біологічних мембранах. Для цієї фази характерно впорядковане розташування шарових структур при значній неупорядкованості ацильних залишків.

Ламелярна гелева фаза L_β утворюється при низьких температурах. В цій фазі молекули впорядковані більш щільніше, тобто на молекулу припадає

менша ефективна площа на поверхні мембрани. Оскільки ацильні ланцюги максимально витягнуті, товщина біслоя збільшується. У випадку ліпідів, що мають об'ємні полярні голівки, ацильні ланцюги нахилені відносно поверхні бішару. Нахил ланцюгів/ацильних залишків зазвичай позначають штрихом (L_{β}'). В деяких випадках, коли розчин містить спирти, наприклад, гліцерол, може утворюватися фаза гелю, в якій ацильні ланцюги протилежні шари проникають один в інший. Біологічна роль цієї фази не з'ясована.

У гексагональній фазі I чи H_1 ліпідні молекули утворюють циліндричні структури, поверхню яких утворюють полярні голівки, що контактують з водою. Самі циліндри упаковуються з утворення гексагональної решітки.

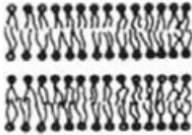

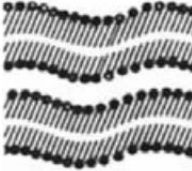
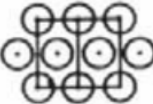
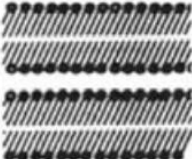
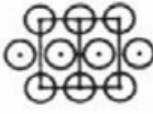
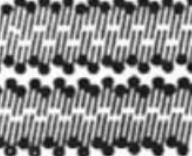
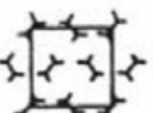
	Структура шару	Упаковка вуглицевих хвостів
Рідиннокристалічна фаза L_{α}		
Рипл-фаза (рефлена фаза) P_{β}'		
Гель фаза L_{β}'		
Кристалічна фаза L_c'		

Рис. 3.17 Типи ламелярних ліпідних фаз

У гексагональній фізі II чи III ліпіди також утворюють циліндри, але в цьому випадку полярні групи спрямовані всередину циліндра та формують водневий канал.

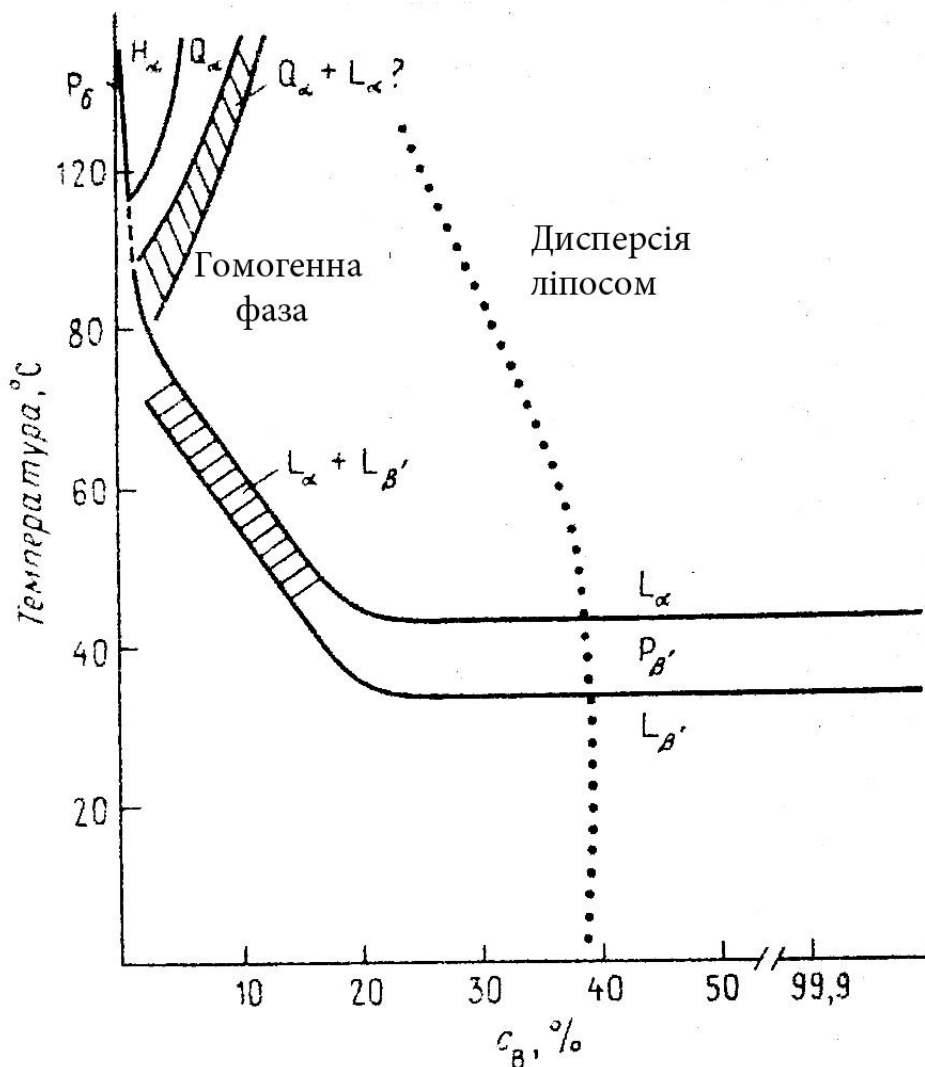


Рис. 3.18. Фазова діаграма для дипальмітоїлфосфатидилхоліна у воді. Вміст води вказано на осі абсцис; у лівій частині діаграми представлені суміші з високим вмістом ліпиду, праворуч - розбавлені дисперсії ліпосом. Вказані ламелярна гелієва фаза (L_β), ламелярна рідкокристалічна фаза (L_α) і проміжна рифлена фаза (P_β). При високій температурі і низькій гідратації можуть утворюватися інші фази - Q_α (кубічна фаза) і H_α (гексагональна фаза). Пунктирна лінія - межа максимальної адсорбції води з утворенням гомогенної водно-ліпідної суміші.

Наявність некомпенсованого заряду на полярній голівці молекул ліпиду, наприклад, фосфатдилсерину, ускладнює формування плоских структур цими молекулами внаслідок ефекту електростатичного відштовхування. Такі молекули виявляють підвищену схильність утворювати радіально орієнтовані структури з великою кривизною поверхні.

Складні ліпідні структури характеризуються анізотропією механічних, електричних, магнітних та оптичних властивостей. Ці структури володіють проміжними властивостями між рідинами і твердими кристалами.

3.5.4. Оптимальна площа поверхні, що припадає на молекулу ліпиду

Теоретично розподіл ліпідів між різними агрегованими структурами (наприклад, сферичними міцелами, бішарами, циліндричними міцелами і т. п.) визначається хімічним потенціалом стандартного стану (або середньою вільною енергією) молекул в кожній структурі, μ_N^0 . Щоб продовжити розгляд, необхідно розкрити зміст параметра μ_N^0 з урахуванням геометрії міцел. Слідуючи уявленню Ізраєлашвілі та ін., прийmemo, що величина хімічного потенціалу молекули, що має середню площу поверхні S і перебуває у складі міцели з параметром агрегації N , має три складові. Саме залежність μ_N^0 від середньої площі, що припадає на молекулу, дозволяє пояснити геометричну форму міцел:

$$\mu_N^0 = \gamma S + C/S + H_N.$$

Перші два доданки відображають внесок сил притягання і відштовхування на поверхні міцели, а останній доданок являє собою сумарну енергетичну складову, яка відноситься до об'ємної фази міцели. H_N - це вільна енергія, пов'язана з алкільними ланцюгами. У першому наближенні вона однакова для всіх міцел, в яких алкільні ланцюги ізольовані від води і утворюють вуглеводневоподібну фазу. Цей член, а точніше величина $(H_N - H_1)$, залежить від довжини ланцюга неполярної частини молекули і тим самим визначає ККМ. Таким чином, величина $(H_N - H_1)$ є мірою гідрофобності.

Перші два доданки відображають енергетичний внесок міжмолекулярних взаємодій на межі розділу вода-вуглеводень. Їх величина залежить від щільності розміщення ліпідних молекул в міцели, а отже, від форми міцели. Найбільш сприятлива така форма, яка мінімізує вільну енергію системи. Спробуємо зрозуміти це, виходячи з таких простих термодинамічних уявлень.

Доданок γS - поверхневий натяг на межі розділу фаз. Цей член, що відображає сили тяжіння, еквівалентний поверхневому натягу, стабілізуючому межу розділу рідина-рідина в системах вода-вуглеводень, γ - це коефіцієнт поверхневого натягу; він має розмірність енергії в розрахунку на 1 см^2 і звичайно дорівнює приблизно 50 ерг/см^2 . Ця величина еквівалентна роботі, яку здійснюють при зміні площі поверхні на 1 см^2 при поверхневому тиску 50 дин / см . Поверхневий натяг можна також розглядати як «негативний тиск», що виникає за рахунок різних сил міжмолекулярного тяжіння на межі розділу фаз. У цьому випадку воно має розмірність дина / см і становить близько 50 дин / см .

Доданок C/S - сили міжмолекулярного відштовхування. У першому наближенні їх можна представити як суму всіх сил відштовхування на межі розділу фаз, включаючи електростатичні і стеричні. Головною особливістю цього члена є те, що всі вхідні в нього сили відштовхування обернено пропорційні середній площі, що припадає на молекулу на гідрофобній поверхні міцел. Іншими словами, чим щільніше розміщені молекули (мала площа на молекулу), тим сильнішими стають ці взаємодії і тим несприятливіший їх вплив. Ці два доданків лежать в основі запропонованого Тенфордом принципу дії протилежних сил. Прагненню молекул до асоціації протидіють сили відштовхування, об'єднані константою C , що в кінцевому результаті визначає оптимальне розміщення молекул у бішарі. Величину S , що відповідає оптимальній упаковці, можна отримати, поклавши $d\mu_N^0/dS = 0$, тобто мінімізувавши вільну енергію за площею поверхні, що припадає на молекулу. Це дає:

$$S_0 = \sqrt{\gamma / C}$$

Навіть при такому спрощеному розгляді видно, що S_0 задається молекулярною константою C . Наприклад, можна очікувати, що для додецилсульфату буде мати місце сильне електростатичне відштовхування між зарядженими сульфатними групами на поверхні міцели (що відповідає високим значенням S_0). Це призводить до більших значень S_0 , особливо при низькій іонній силі. І справді, полярна головка цієї молекули займає велику площу на поверхні міцели, утримуючи групи на достатньому віддаленні один від одного. Ця взаємодія і визначає сферичну форму міцел.

Як правило, стан клітинних мембран, що забезпечує їх оптимальну функціональну активність, відноситься до рідкокристалічного типу. Внутрішня будова ліпідного бішару в рідких кристалах відрізняється від стану вуглеводнів в розчині, хоча в обох випадках ці структури гідрофобні. Велика частина анізотропного бішару в рідкому кристалі високоупорядкована і тільки відносно невеликі ділянки в середині бішару рідинноподобні. З усього розмаїття зареєстрованих мезофаз з біологічної точки зору найбільш цікаві однопросторова ламелярна і двопросторова циліндрична, або гексагональна. Підвищений інтерес до небішарових, зокрема гексагональних (або міцелярних), структур зумовлений здатністю цих структур формувати наскрізні пори, які різко збільшують проникність мембран для води і розчинених речовин.

3.3.5. Штучні бішарові мембрани

При проведенні експериментальних біофізичних досліджень щодо властивостей мембран, створення нових препаратів не тільки медичного призначення тощо, вкрай доцільно мати уявлення про загальні особливості штучних мембран. Досить часто штучні мембрани представляють у вигляді ліпосом. Розглянемо їх.

Мультиламелярні ліпосоми. Плоскі ламелярні структури виявляють схильність (при енергійному струшуванні) утворювати замкнуті сферичні частинки. Цей процес енергетично вигідний, так як в цьому випадку досягається мінімум площі контакту гідрофобних поверхонь з водою. При простих

механічних впливах утворюються в основному багат шарові частинки (діаметром в декілька мікрометрів) з концентричною організацією шарів - мультіламельярні ліпосоми або везикули (мішечки). У цих частках ліпідного бішару відокремлюють внутрішню водну фазу від зовнішнього розчину. Така організація дозволяє використовувати мультіламельярні ліпосоми для дослідження бар'єрних властивостей ліпідного бішару та деяких інших спеціальних завдань. Мультіламельярні ліпосоми осмотично активні: вони змінюються в об'ємі при зміні осмотичних властивостей зовнішнього середовища.

Моноламельярні ліпосоми. Більш енергійний вплив на грубі фосфоліпідні дисперсії, наприклад, за допомогою ультразвукового випромінювання, викликає утворення моноламельярних (одношарових) везикул (діаметр 20,0-40,0 нм). В залежності від ефективної конфігурації ліпідних молекул (критичний параметр упаковки і заряд) розміри моноламельярних ліпосом можуть дещо варіюватися (табл. 3.2). Моноламельярні ліпосоми широко і ефективно використовують у різноманітних дослідженнях біологічного та медико-біологічного характеру. Тим не менш, малий внутрішній об'єм і осмотична неактивність ліпосом істотно звужують коло цих досліджень. Останнім часом розроблені методики отримання великих (100 нм в діаметрі і більше) моноламельярних ліпосом, які позбавлені цих недоліків.

Таблиця 3.2. Параметри мембран моноламельярних ліпосом з яйцевого фосфатидилхоліну та дипальмітоїлфосфатидилхоліну (ДМФХ) (бішар в «рідкому» стані).

Параметр	Яйцевий лецитин	ДМФХ
Радіуси (r_v, r_c, r_z), нм ^{1*}	6,2; 7,8; 9,9; 3,7	7,4; 8,9; 10,9; 3,5
Товщина зовнішнього моношару ($r_c - r_z$), нм	2.1	1.98
Товщина внутрішнього моношару ($r_c - r_v$), нм	1.6	1.52
Кількість молекул n_z	1658	1370
Кількість молекул n_v	730	1030
n_z / n_v	2.1	1.9
Об'єм на молекулу ліпіда, нм ³	1.25	1.20
Поверхнева площа на молекулу, нм ² :		
в зовнішньому моношарі	0.74	0,76
во внутрішньому моношарі	0.61	0.63

^{1*} Індокси «в», «с», «з» позначають внутрішній, зовнішній моношари та середину вуглеводневої зони мембран.

Протеоліпосоми. Багато мембранних білків і дрібних фрагментів біологічних мембран порівняно легко можуть бути включені до складу штучних везикулярних мембран. Такі комбіновані системи називаються протеоліпосомами. Ефективність включення більшості білкових компонентів в штучні мембранні системи різко залежить від ліпідного складу мембран, рН, сольового складу, температури і т. п. Як правило, ефективність включення білкових молекул або ліпопротеїнових фрагментів мембрани зростає у присутності невеликих кількостей детергентів. Вважають, що порівняно дрібні молекули детергентів заповнюють дефекти на границі білкової молекули в мембрані, екрануючи гідрофобні ділянки мембрани від води.

Виняткова цінність протеоліпосом як штучних мембранних систем в першу чергу визначається широкими можливостями, які ці системи надають для дослідження функціонування багатьох важливих компонентів біологічних

мембран. По суті, отримання протеоліпосом можна розглядати як останній етап перед повною реконструкцією функціонуючих мембранних систем зі складових їх компонентів.

Слід зазначити, що здатність утворювати замкнуті везикулярні частинки властива не тільки штучним ліпідним системам. Вона широко проявляється при різних способах фрагментації біологічних мембран (ультразвук, детергенти, механічне диспергування та ін.). Замкнуті мембранні пухирці утворюють фрагменти мембран саркоплазматичного та ендоплазматичного ретикулуму внутрішньої мембрани мітохондрій. У деяких випадках вдається отримати везикули з вивернутою орієнтацією мембран, що надзвичайно важливо для вивчення структурно-функціональної організації цих мембран.

Плоскі бішарові ліпідні мембрани. Ліпіди, що спонтанно утворюють ламелярні шари, зазвичай здатні формувати бішарові структури (БЛМ або "чорні" плівки) на невеликих отворах в тонких гідрофобних матеріалах. Це явище вперше було описане О. Мюллером і співавторами (1962), які отримали БЛМ з фосfolіпідів мозку на невеликих отворах (0,5-5,0 мм²) у тефлоновій перегородці, що розділяє дві водні фази. Довівши бішаровість сформованих мембран, автори за допомогою простої електровимірювальної техніки охарактеризували найважливіші електричні параметри цих мембран. Відносна простота отримання БЛМ, широкий спектр застосування різноманітних електровимірювальних методів дослідження, можливість вимірювати в широких межах ліпідний склад БЛМ і склад омиваючих розчинів, включати в БЛМ різноманітні модифікатори бар'єрних властивостей мембран, функціонально активні елементи біологічних мембран - все це швидко забезпечило цим штучним мембранним системам центральне місце в сучасній експериментальній мембранології.

Процес утворення БЛМ починається з нанесення невеликої кількості підходящого ліпиду, розчиненого зазвичай в рідких вуглеводнях (гексан, октан, декан та ін), на отвір в тефлоновому стаканчику. Далі ця товста плівка

мимовільно стоншується аж до утворення бішарової структури. Головними силами, що визначають поведінку плівки, є міжфазний (поверхневий) натяг σ і ван-дер-вальсові сили тяжіння водних фаз по обидві сторони плівки, що стискають плівку в поперечному напрямку.

Процес утоншення плівки та формування БЛМ можна спостерігати візуально у відбитому світлі. Поки плівка товста, вона виглядає як звичайне макротіло. Коли товщина плівки стає сумірною з довжиною хвилі падаючого світла, починає проявлятися інтерференція променів, відбитих від передньої і задньої поверхонь плівки; на поверхні мембрани виникають кольорові візерунки, відомі в оптиці під назвою кілець Ньютона. Такі небіслойні плівки, що містять лінзоподібні потовщення, отримали назву кольорових плівок. Біслойні ліпідні структури у відбитому світлі виглядають чорними на світлому фоні, у зв'язку з чим їх називаються «чорними». Низька здатність відображення таких плівок обумовлена тим, що різниця фаз між променями, відбитими від передньої і задньої поверхонь плівки, близька, тобто ці промені знаходяться в протифазі і гасять один одного. Формування чорної бішарової мембрани не означає повного завершення всіх процесів формування БЛМ. Паралельно з почорнінням йдуть більш повільні і тривалі процеси: розтікання ліпідного розчину по поверхні перегородки, на якій сформована мембрана, вихід розчинника з мембрани в об'єм тора і водну фазу, а також ущільнення упаковки молекул ліпиду в моношарі та на поверхні тора. Всі ці процеси приводять до поступового (протягом 10-20 хв після почорніння) зниження поверхневого натягу і збільшення електричної ємності БЛМ аж до деяких стаціонарних значень.

В цілому за своїми електричними характеристиками і ряду інших фізико-хімічних властивостей бішарові ліпідні плівки, утворенні з природних ліпідів, близькі до біологічних мембран (табл. 3.3). Немодифіковані штучні БЛМ відрізняються низькою провідністю. Вони позбавлені метаболічної активності і не володіють такою високою селективністю, як біологічні

мембрани. Однак багато з цих властивостей можуть бути додані штучним мембранам шляхом введення до їх складу різноманітних мембранно-активних сполук і окремих функціонально важливих елементів біологічних мембран. У присутності всіх цих модифікаторів провідність БЛМ зазвичай зростає. Все це свідчить про те, що бішарова ліпідна структура виконує роль природної матриці для багатьох молекулярних компонентів біологічних мембран і що ліпідний бішар в тій чи іншій мірі властивий природним мембранам. Тому теорія ліпідного бішару, яка розглядає основні термодинамічні закономірності його формування, міжмолекулярні взаємодії в бішарі, його фізичні властивості, стійкість, відіграє важливу роль в розумінні загальної структурної організації та функціонування біологічних мембран.

Таблиця 3.3. Порівняння властивостей штучних ліпідних та біологічних мембран

Властивість	Біомембрани	БЛМ
Електронно-микроскопічний знімок поперечного перерізу	Трьохшарова структура	Трьохшарова структура
Товщина, нм	6,0 – 10,0	2,5-8,0
Міжфазний натяг, Н /см	$(0,03-3,0) \times 10^{-5}$	0,2—6,0
Опір, Ом /см ²	10^2-10^5	10^6-10^9
Електрична ємність, мкф/см ²	0,5—1,3	0,2-1,0
Напруга пробою. мВ	100	150—300
Показник заломлення	1.6	1,56— 1,66
Проникність для води, мкм /с	0,5-400	31,7
Енергія активації водної проникності, кДж/моль	40,3	53,3
Іонна вибірковість, P_{K^+} / P_{Na^+}	1-25	5,4-9,0

Проблема формування в клітинах організмів замкнених везикул, що складаються з ліпідного бішару, заслуговує особливої уваги. Мабуть цей процес в клітинах, також як і в модельних системах, носить характер *спонтанної самоорганізації*. Він очевидно не пов'язаний безпосередньо з транспортом ліпідів з місця їх біосинтезу і спрямованим впровадженням в

формування мембрани. У всякому разі, самоорганізація бішару триває в клітині, де були пригнічені процеси біосинтезу білка. Однак до кінця не зрозуміло, наскільки подібні механізми самоорганізації бішару в клітині і в модельних системах. Передбачається, що в обох випадках загальним етапом є самоорганізація моношару і формування на цій основі великих моноламельярних везикул, які потім перетворюються в мультіламельярні ліпосоми. Існує критична температура (для розчину димиристоїлфосфатидилхоліна $T_{кр} = 23$ °C), при якій з розчину ліпідів утворюються моноламілярні везикули. При подальшому підвищенні температури починається формування міцел. У самій критичній точці щільність моношару наближається до щільності бішару, хоча фазового переходу з утворенням типової бішарової структури не відбувається (Гершфельд Н.. 1989). Мова йде, таким чином, про особливий критичний стан поверхневого бішару з підвищеним поверхневим тиском, який утворюється на границі поверхневого і дисперсійного станів. Виявилося, що в зростаючих клітинах критичні температури утворення моноламельярних везикул екстрагованими ліпідами збігаються з температурою росту вихідних клітин. Отже, в клітинах цей проміжний моноламельярний критичний стан досягається при температурах росту організму, яка, таким чином, визначає умови спонтанного формування біомембрани з пулу вільних клітинних ліпідів. Зауважимо, що досягнення рівноваги в системі бішар - розчин і самоорганізація бішару досягаються за часи в 100-1000 разів коротше характерних часів сполучених процесів біосинтезу фосфоліпідів (~20 хв) в клітинах.

3.5.6. Механічні властивості мембран

Рухливість молекулярних компонентів в мембрані. Гідрофобний ефект, який об'єднує молекулярні компоненти в мембранах, перешкоджає їх виходу в водну фазу за межі мембрани. У той же час сили молекулярної

взаємодії зазвичай не заважають молекулам в мембранах обмінюватися один з одним місцями, оскільки площа контакту між водою і гідрофобними ділянками молекул при цьому практично не змінюється. Внаслідок цього молекулярні компоненти в мембранних системах зберігають індивідуальну рухливість і можуть дифузійним шляхом пересуватися в межах мембран. Молекули ліпідів найлегше здійснюють обертальний рух навколо своєї довгої осі. Час кореляції обертального руху τ_c молекул (час повороту на кут, рівний 1 рад) спін-мічених фосфоліпідних молекул, стеринів і жирних кислот в різних модельних і природних мембранах, що знаходяться в рідкому стані, становить $\sim 10^{-9}$ с. Обертальна рухливість зберігається порівняно високою ($\tau_c \sim 10^{-8}$ с) і при температурі нижче точки плавлення жирнокислотних ланцюгів ліпідів в мембранах.

Дифузійне переміщення молекул ліпідів уздовж шару, зазвичай називають латеральною дифузією, також відбувається досить швидко. Коефіцієнт латеральної дифузії D спін-мічених і флуоресцентних фосфоліпідних зондів у багатьох штучних і біологічних мембранах становить 10^{-7} - 10^{-8} см²/с (табл. 3.4). Середньоквадратична відстань, яку молекула проходить уздовж мембрани за час t , рівна

$$\bar{l} = \sqrt{4Dt}$$

Таблиця 3.4. Константи латеральної дифузії ліпідів в штучних і природних мембранах

Мембрани	D , см ² с ⁻¹ 10 ⁸	Температура, °С	Метод
Яєчний лецитин (везикули)	1,8	30	ЯМР
	1,8	25	ЕПР
Яєчний лецитин + холестерин (везикули), 4 : 1	5	25	ЕПР
	10	40	ЕПР
<i>E. coli</i>	1,8	31	ЯМР
Сідничний нерв	0,5	31	ЯМР

Ліпіди мембран сідничного нерва	0,8	31	ЯМР
Саркоплазматичний ретикулум	1,8	25	ЯМР
Ліпіди саркоплазматичного ретикулуму	0,4	31	ЯМР
Мікросоми печінки	11	30	ЭПР

Легко обчислити, що при $D = 6 \times 10^{-8} \text{ см}^2/\text{с}$ молекула ліпиду за 1 с переміщається по мембрані на відстань близько 5000 нм, тобто може «оббігти» всю плазматичну мембрану таких клітин, як еритроцит, *E. coli* та ін. Швидкість латеральної дифузії істотно залежить від ліпідного складу мембран і температури. Так, холестерин, доданий до яєчного лецитину в кількості 30-50 моль, знижує швидкість латеральної дифузії більш ніж в два рази. Енергія активації латеральної дифузії в ліпосоми з яєчного лецитину і мембранах саркоплазматичного ретикулума при кімнатних температурах становить 29-46 кДж / моль. При температурах нижче точки плавлення вуглеводневих ланцюгів ліпиду константа латеральної дифузії знижується приблизно на порядок і більше.

Інший тип руху молекул ліпідів в мембранних системах - це трансбішаровий рух (**фліп-флоп-перехід**). Він здійснюється в мембранах з відносно малою швидкістю внаслідок високого бар'єру для перетину полярної головкою молекули ліпиду вуглеводневої зони мембран. У модельних везикулярних мембранах швидкість фліп-флоп-переходу, що оцінена за часом перенесення половини кількості молекул міток з одного шару в інший, становить 10-20 год і більше. У природних мембранах цей процес може йти значно швидше. У мембранах електричних органів вугра цей час становить 3-7 хв, в мембранах еритроцитів - 20-30 хв. Відзначено, що при додаванні до мембран клиновидних молекул, які індукують появу викривлених структур, а також при порушенні рівноважного розподілу молекул між шарами (наприклад, при дії фосфоліпаз) швидкість фліп-флоп переходу різко зростає. Очевидно, що збереження асиметричного розподілу молекулярних

компонентів в штучних і природних мембранах можливо тільки при відносно повільній швидкості фліп-флоп переходів в цих системах.

Молекули білків в мембранах також проявляють дифузну рухливість. Однак, внаслідок більшої масі рухаються значний повільніше. Так, час кореляції родопсина в мембрані фоторецептора $\sim 10^{-6}$ с; для цитохромів цей час $\sim 10^{-4}$ с.

Латеральна рухливість білків також істотно нижче, ніж ліпідів. Коефіцієнти латеральної дифузії білків в природних мембранах при кімнатних температурах зазвичай знаходяться в межах 10^{-10} - 10^{-12} см²/с (табл. 3.5).

Наведені вище константи латеральної і обертальної дифузії пептидних і білкових молекул в мембранах свідчать, що при фізіологічних умовах мембранні системи виявляють властивості двовимірної рідини. В'язкість η цих середовищ формально можна визначити, виходячи з рівняння Стокса-Ейнштейна:

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi D r}$$

де r — радіус дифундуєчої молекули. Однак, оскільки мембрани неоднорідні і асиметричні, швидкість обертання або латеральної дифузії зондів в мембранах визначається мікроструктурою їх безпосереднього оточення.

Таблиця 3.5. Константи латеральної дифузії мембранних білків

Клітина	Білки	D , см ² с ⁻¹	Температура, °С	Метод
Гетерокаріонти	Поверхневі антигени	$2 \cdot 10^{-10}$	37	Злиття мембран
(Миша - людина) М'язове волокно	Поверхневі антигени	$(1 - 3) \cdot 10^{-9}$	25	Флуоресцентна мітка
«Тіні» еритроцитів	Інтегральні білки	$4 \cdot 10^{-11}$	37	Злиття
М'яз ембріонів	Рецептори конканавалін А	$(4 - 7) \cdot 10^{-10}$	22	Електрофорез
Зовнішні сегменти	Родопсин	$(2 - 6) \cdot 10^{-9}$	20	ЕПР

паличок сітківки				
Міобласти	Ацетилхолінові рецептори	$(4-5)10^{-11}$	22	ЕПР
Фібробласти	Рецептори гормонів	$(3-5) \cdot 10^{-10}$	23	ЕПР

Внаслідок цього в'язкість, формально обчислену з параметрів рухливості того чи іншого зонда в мембрані, розглядають як «мікрів'язкість». Під цим розуміють в'язкість однорідного еквівалента мембрани, в якому зонд виявляє аналогічну рухливість. Звідси зрозуміло, що в залежності від методу вимірювання рухливості, характеру зонда і глибини його локалізації в мембрані, значення мікрів'язкості можуть варіювати. Для порівняння в табл. 3.6 наведені значення мікрів'язкості для ряду природних мембран, вуглеводневих областей модельних мембран і в'язкості деяких простих середовищ. У природних мембранах зазвичай спостерігається деяке зростання в'язкості ліпідів, що утворюють найближче оточення мембранних білків, обумовлене обмеженням рухливості ліпідів за рахунок так званих білок-ліпідних взаємодій і деяких інших ефектів.

Таблиця 3.6. Мікрів'язкість вуглеводневої області ліпідного бішару в штучних і природних мембранах, деяких маслах і інших рідинах

Об'єкт	В'язкість, П	Температура, °С	Метод вимірювання
Еритроцити людини	2,5	37	Флуоресцентний зонд
«Тіні» еритроцитів	3,8	37	
Ліпіди, екстраговані з «тіней» еритроцитів	3,4	37	
Мембрани <i>E.coli</i>	2,5	Температура зростання	ЕПР-спіновий зонд

Ліпіди, екстраговані з мембран <i>E. coli</i>	1,8-1,9	те ж	
Яєчний лецитин	0,73	37	Деполаризація флуоресценції перельоту
Те ж + холестерин (з : 2)	6,4	37	Те ж
Дипальмітоїлецитин	3,9	37	
Те ж + холестерин (6:1)	11	37	
Ляна олія	0,331	30	
Оливкова олія	0,84	30	
Касторове масло	9,86	30	
Гліцерин	8,3	30	
Вода	0,0106	30	

Сукупність усіх отриманих до теперішнього часу результатів за оцінкою в'язкості мембран дозволяє зробити висновок, що для нормального функціонування більшості природних мембран вугливодородна зона повинна знаходитися в рідкому стані, причому її в'язкість приблизно дорівнює в'язкості оливкового масла.

Пружні властивості мембран. Під пружністю мембран (плівки) розуміють їх здатність змінювати своє натяг при розтягуванні (стисканні). У загальному випадку реакція мембран на зовнішні дії виявляється складною і описується лише емпіричними рівняннями. Однак при малих амплітудах і низьких швидкостях деформації мембран під дією зовнішніх сил процес з достатнім ступенем точності можна розглядати як термодинамічно оборотний.

У рівноважних умовах при постійній температурі пружна потенційна енергія мембран збігається з вільною енергією Гельмгольца:

$$F = U - TS.$$

Пружний потенціал F при постійній температурі дорівнює роботі W над системою:

$$(dF)_T = dU - TdS = dW$$

Допущення, що мембрана ізотропна уздовж поверхні, дозволяє уявити щільність потенційної енергії пружності як функцію двох незалежних змінних, що характеризують два типи деформації: відносного зміни площі поверхні α за рахунок ізотропного розтягування (стиснення) і параметра β , що відображає деформаційне розтягнення поверхні при постійній площі (наприклад, розтягнення круглої області в еліпсоїдну). Звідси пружний потенціал можна представити через приватні похідні по кожному з цих параметрів:

$$(dF)_T = \left(\frac{\partial F}{\partial \alpha} \right)_{\beta, T} d\alpha + \left(\frac{\partial F}{\partial \beta} \right)_{\alpha, T} d\beta$$

Протидія ізотропному розтягуванню (стисненню) є властивістю, характерним для твердого та рідкого станів. У мембранах ізотропне розтягнення (стиснення) площі поверхні відбувається при відносно рівноважному стані. Цей початковий ізотропний натяг в мембрані \tilde{T}_0 можна визначити через часткову похідну вільної енергії в початковому стані ($\alpha = 0$):

$$\tilde{T}_0 = \left(\frac{dF}{d\alpha} \right)_{\beta, T} \Big|_{\alpha=0}.$$

Зв'язок зміни ізотропного натягу з малими відносними змінами площі (в порівнянні з початковим станом) задається модулем поверхневого ізотермічного стиснення (модуль Юнга):

$$E_{||} = \left(\frac{\partial T}{\partial \alpha} \right)_{\beta, T} \Big|_{\alpha=0} = \left(\frac{\partial^2 F}{\partial \alpha^2} \right) \Big|_{\alpha=0}$$

При деформаційному розтягуванні (при сталості площі) накопичення енергії і опір деформації характеризуються поверхневим модулем пружності мембран при зсуві μ . Цей модуль визначається як часткова похідна пружної енергії по параметру деформації β при постійній площі і температурі:

$$\mu = \left(\frac{\partial F}{\partial \beta} \right)_{\alpha, T}$$

Ці два модуля - найважливіші характеристики мембран при механічних впливах.

У природних мембранах пружні властивості можуть істотно змінюватися за рахунок структурних білків. Так, в мембрані еритроцитів ліпідний бішар підтримується мережею гнучких молекул структурного білка спектрина. Модельні розрахунки і безпосередні механічні вимірювання на мембранах еритроцитів вказують, що поверхневий модуль пружного стиснення цих мембран дорівнює $(3-4) \cdot 10^{-3}$ Н/см, а поверхневий модуль зсуву $\sim 10^{-5}$ Н/см. Звідси випливає, що значення модуля зсуву приблизно на чотири порядки нижче порівняно з поверхневим модулем пружного стиснення природних мембран. Це означає, що клітинні мембрани мають значний опір зміні поверхневої густини або площі, але легко деформуються без зміни площі мембрани.

При нагріванні мембран еритроцитів до 50°C , коли спектринова сітка руйнується, поверхневий модуль пружного стиснення знижується приблизно в 2-3 рази. Звідси внесок ліпідного бішару в загальний модуль поверхневого пружного стиснення мембран еритроцитів оцінюють величиною порядку 10^{-3} Н/см, а внесок спектринової сітки $\sim 2 \cdot 10^{-3}$ Н/см.

Спектрин - це білок цитоскелету, який вистилає внутрішню сторону плазматичної мембрани багатьох типів клітин. Спектрин формує довгі молекули структурної сітки і грає важливу роль в підтримці цілісності клітинної мембрани і структури цитоскелету. Як показала *кріоелектронна томографія*, спектринна сітка має гетерогенну структуру, яка змінюється при розтягуванні клітинної мембрани.

Оцінка пружності БЛМ на основі явища електрострикції. Зважаючи на складність будови і малі геометричні розміри природних мембран виключно важлива роль у вивченні пружних властивостей мембранних систем належить штучним мембранним системам і, головним чином, БЛМ. Ці

мембрани, сформовані на отворах в перегородках, мають порівняно великі площі. Крім того, експериментальне вивчення механічних властивостей систем можливо при використанні в якості механічної сили тиску ефектів на основі явища електрострикції.

У найпростішому наближенні БЛМ розглядають як однорідне ізотропне двовимірне рідке тіло з віссю симетрії пружних властивостей, перпендикулярній його поверхні (рис. 3.19). Для таких систем модуль поперечної пружності (модуль Юнга) можна представити у вигляді

$$E'_{\perp} = (-h / \Delta h) \Delta p$$

модуль продольного ізотропного розтягнення

$$E'_{\parallel} = (S / \Delta S) \Delta f$$

де p — сила, що здавлює мембрану в напрямку, нормальному до поверхні Z ; f - сила ізотропного стиснення. Модулі пружності мембран розраховуються з урахуванням або без урахування її товщини; зв'язок цих модулів задається виразом $E = E' h$, де h -товщина мембрани.

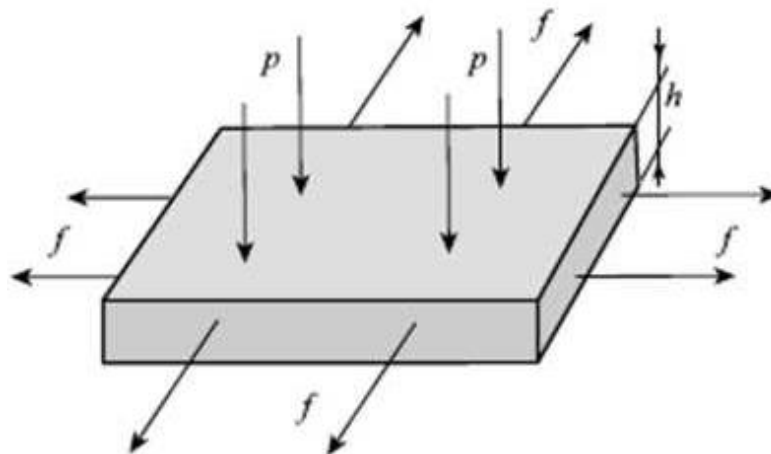


Рис. 3.19. Діючі на мембрану сили p , f : p —стискаючі, f —растягуючі;
 h — товщина мембрани

При створенні різниці електричних потенціалів на мембрані стискаюча механічна сила дорівнює

$$F_{\perp} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0\epsilon} \frac{\varphi^2}{h^2},$$

де φ — різниця потенціалів, h — товщина мембрани, ε — діелектрична проникність мембрани.

Таким чином, здавлюючу силу F_{\perp} можна легко змінювати в широких межах за допомогою прикладеної різниці потенціалів. Прирівнюючи знайдене значення F_{\perp} до величини Δp з $E'_{\perp} = (-h/\Delta h)\Delta p$, отримаємо вираз

$$|E'_{\perp}\Delta h/h| = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon} \frac{\varphi^2}{h^2}$$

з якого на підставі експериментальних оцінок вимірювання товщини мембрани Δh під дією прикладеної різниці потенціалів обчислюють модуль E'_{\perp} пружної деформації БЛМ.

Однак, ця методика не враховує важливих властивостей мембран.

Основна складність обчислення $\Delta h/h$ за величиною $\Delta C/C$ (C — ємність мембрани) обумовлена не постійністю ε і площі S бішарової частини БЛМ при накладенні різниці потенціалів. Крім того, пружність бішарових ліпідних мембран, що містять розчинник, змінюється з часом, так як розчинник витісняється з бішару. Тому БЛМ, взагалі кажучи, слід характеризувати модулем Юнга, залежним від часу.

3.5.7. Прості моделі руху мембранних компонентів

На рис. 3.20 представлені деякі моделі, що використовуються для аналізу поступального руху молекул усередині мембранного бішару. Такі моделі необхідні для інтерпретації експериментальних даних з точки зору молекулярного руху.

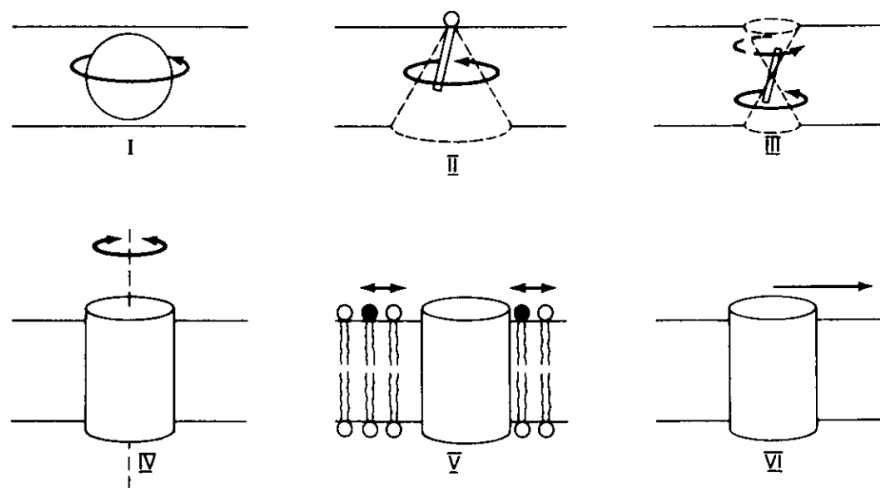


Рис. 3.20. Деякі моделі, що використовуються при аналізі обертального і поступального руху в мембранах. I. Модель ізотропного обертання сферичної молекули в гідрофобній серцевині мембрани. II. Модель обертання в конусі. Один кінець молекули закріплений на поверхні мембрани. III. Модель обертання в конусі для молекули, що має форму стрижня. Молекула обертається усередині гідрофобної серцевини. IV. Модель обертання трансмембранного білка, що має форму циліндра. V. Латеральне рух ліпідів, що знаходяться в основній ліпідної фазі (зліва), і обмін ліпідів, що знаходяться в основній фазі і пов'язаних з мембранними білками (праворуч). VI. Латеральне переміщення трансмембранного білка, що має форму циліндра

Модель ізотропного обертання передбачає, що молекула обертається з однаковою ймовірністю у всіх напрямках і виділена вісь обертання відсутня. Подібне обертання буде здійснювати сферична частка в безперервному рідкому середовищі. Ця концепція застосовувалася при аналізі руху малих розчинних в мембрані гідрофобних міток, таких, як ТЕМРО. Ізотропна тривимірна дифузія сферичної частинки розглядається як випадкове блукання і характеризується коефіцієнтом обертальної дифузії $D_{вр}$. Цей параметр визначається як середньоквадратичне кутове відхилення $\langle \theta^2 \rangle$ за час t :

$$D_{\text{вр}} = \frac{\langle \theta^2 \rangle}{4t}$$

$D_{\text{вр}}$ вимірюється в с^{-1} . Часто для характеристики обертальної дифузії молекули використовують час обертальної кореляції ($\tau_k = 1/(6D_{\text{вр}})$) або час релаксації ($\phi = 1/(2D_{\text{вр}})$).

Модель обертання в конусі описує рух амфифільних міток, наприклад похідних жирних кислот. Ці молекули можна представити у вигляді жорстких стержнів, один кінець яких закріплений на поверхні мембрани. Їх рух обмежується конусом, який вони описують щодо певної осі, перпендикулярної площині мембрани.

Модель обертання в конусі використовується в деяких роботах для опису руху ДФГ (рис. 3.21) - гідрофобного флуоресцентного зонда, який представляють у вигляді жорсткого стержня. В даному випадку ця модель, яка постулює існування кращої орієнтації для ДФГ, є, безумовно, занадто спрощеною, тому були запропоновані альтернативні моделі.

Дифенілгексатриен
(ДФГ)

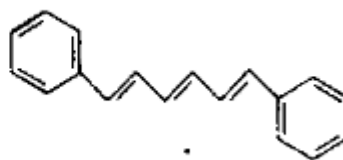


Рис. 3.21. Флуоресцентний зонд ДФГ

У найпростішій моделі обертання білків білкова молекула представляється у вигляді циліндра, закріпленого в мембрані і здатного обертатися лише навколо осі, перпендикулярної площині мембрани. Таке обертання анізотропно. Час релаксації, що характеризує цей рух, зазвичай представляється у $\phi_{\parallel} = [D_{\text{вр}}]$. Знак « \parallel » вказує на те, що обертання відбувається паралельно осі циліндра.

Поступальний рух пептидних і білкових молекул описується як двовимірна дифузія. Особливий інтерес представляє швидкість обміну ліпідів,

пов'язаних з мембранними білками, і які знаходяться в основному об'ємі мембрани. Ізотропна двовимірна дифузія характеризується середньоквадратичним переміщенням $\langle l^2 \rangle$, що відбувається за час t :

$$D_{\text{пост}} = \frac{\langle l^2 \rangle}{4t}$$

В цьому випадку $D_{\text{пост}}$ вимірюється в $\text{см}^2/\text{с}$. Частинка з $D_{\text{пост}} = 10^{-8} \text{см}^2/\text{с}$ переміщається за 1 с на відстань 2 мкм

3.6. Обмін речовинами між клітиною і навколишнім середовищем

Клітину ні в якому разі не можна вважати статичним утворенням, оскільки тут відбувається постійний обмін речовинами між різними внутрішньоклітинними компартментами, а також між компартментами і навколишнім середовищем. Структури клітини знаходяться в динамічній рівновазі, і взаємодії клітин між собою та із зовнішнім середовищем є необхідною умовою для підтримання життя функціонуючого організму. Розглянемо фундаментальні механізми такого обміну.

3.6.1. Дифузія

Найпростішим процесом переміщення речовини є дифузія. У розчинах (або газах) атоми і молекули переміщуються вільно, а різниця концентрацій врівноважується завдяки дифузії. Розглянемо два об'єму, заповнені рідиною або газом (рис. 3.22), в яких речовини мають концентрації C_1 і C_2 й розділені шаром з площею поверхні A і товщиною d . Потік речовини m за час t описується першим законом дифузії Фіка:

$$\frac{dm}{dt} = D \frac{A}{d} (C_1 - C_2) = D \frac{A}{d} \Delta C$$

де D -коефіцієнт дифузії, постійний для даної речовини, розчинника і температури. У більш загальному вигляді для різниці концентрацій ΔC на відстані dx

$$\frac{dm}{dt} = -DA \frac{dC}{dx}$$

потік через переріз A пропорційний градієнту концентрації dC/dx . Знак «мінус» виникає в рівнянні тому, що зміна концентрації у напрямку x -негативна.

Безліч речовин можуть вільно дифундувати через ліпідні мембрани, особливо вода і розчинені гази, такі, як O_2 і CO_2 .

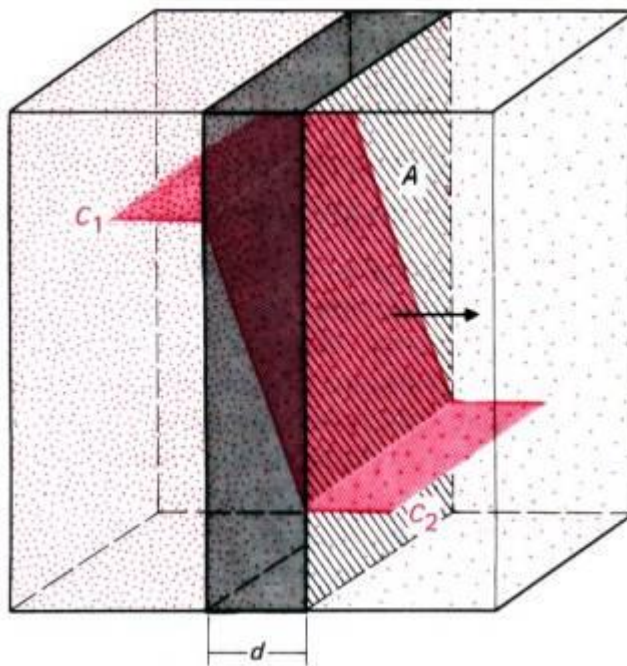


Рис. 3.22. Кількісна схема дифузії.

Жиророзчинні речовини також добре дифундують через мембрани; це стосується і полярних молекул досить малого розміру, таких, як етанол і сечовина, тоді як цукри проходять через ліпідний шар повільно. Разом з тим ліпідні шари практично непроникні для заряджених молекул, в тому числі навіть для неорганічних іонів. Для неелектролітів рівняння дифузії зазвичай перетворюють, поєднуючи характеристики мембрани і дифундируючої речовини в один параметр - проникність (P):

$$\frac{dm}{dt} = PA\Delta C$$

На рис. 3.23 порівнюються проникності (P) ліпідної мембрани для різних молекул.

Дифузія через мембранні пори. Плазматична мембрана (і інші клітинні мембрани) проникні не тільки для речовин, що дифундують через ліпідний шар, а й для багатьох іонів, цукрів, амінокислот і нуклеотидів. Ці речовини долають мембрану через пори, утворені транспортними білками, зануреними в мембрану. Усередині таких білків є заповнений водою канал діаметром менше 1 нм, через який можуть дифундувати малі молекули. Вони рухаються по градієнту концентрації, і, якщо вони несуть заряд, то їх рух по каналах регулюється також мембранним потенціалом. Мембранні канали мають відносну вибіркковість

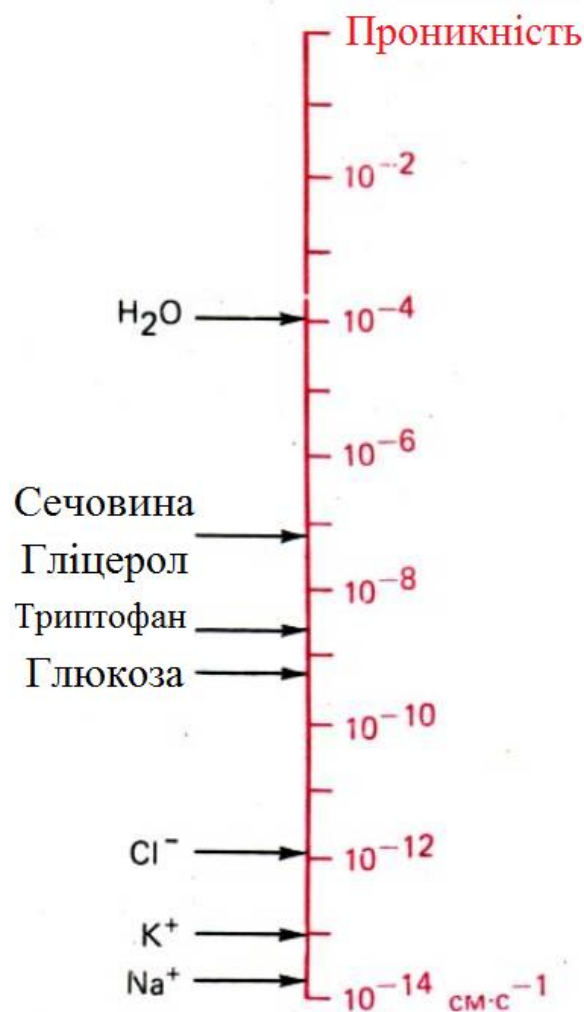


Рис. 3.23. Проникність штучних ліпідних бішарів для різних речовин по відношенню до типу молекул, які можуть через них проходити

Існують, наприклад, калієві, натрієві та кальцієві канали, кожен з яких непроникний практично для будь-якого іона, крім специфічного. Така вибірковість обумовлена зарядом або структурою місць зв'язування в стінках каналу, що полегшує транспорт специфічної молекули і запобігає проникненню через канал інших речовин (рис. 3.24, А). За поведінкою мембранних іонних каналів легко спостерігати, оскільки при русі іонів виникає струм, який можна виміряти, причому навіть для одиночного каналу. Для калієвого каналу характерні імпульси струму амплітудою близько 2 пА ($2 \cdot 10^{-12}$ А) і тривалістю в кілька мілісекунд. За цей період через нього проходять десятки тисяч іонів. Перехід білків з однієї конформації в іншу вивчають методами *рентгенівської дифракції*, *месбауерівської спектроскопії* і *ядерно-магнітного резонансу* (ЯМР). Білки, таким чином, є дуже динамічними рухомими структурами, а канал, що проходить через білок, не просто жорстка, наповнена водою трубка (рис. 3.24 А), але лабіринт швидко рухливих молекулярних груп і зарядів. Ця динамічна характеристика каналу відбивається в енергетичному профілі каналу, показаному на рис. 3.24 Б. Тут по осі абсцис представлена довжина каналу від зовнішнього розчину з концентрацією іонів C_0 і потенціалом 0 до внутрішнього розчину з концентрацією C_1 і потенціалом E . По осі ординат представлені рівні енергії іона в місцях зв'язування каналу; пік на графіку представляє бар'єр проникності, який енергія іона повинна перевищувати для проникнення через канал, а «провал» графіка – порівняно стабільний стан (зв'язування). Незважаючи на перешкоду у вигляді енергетичного піку, іон може проникнути через канал, якщо енергетичний профіль спонтанно циклічно змінюється; іон, таким чином, може раптово виявитися «по той бік» енергетичного піку і може продовжити рух в клітину. Залежно від заряду, розмірів і ступеня гідратації іона і його здатності зв'язуватися зі структурами стінок каналу енергетичний профіль каналу варіює для різних іонів. Це може пояснювати вибірковість окремих типів каналів.

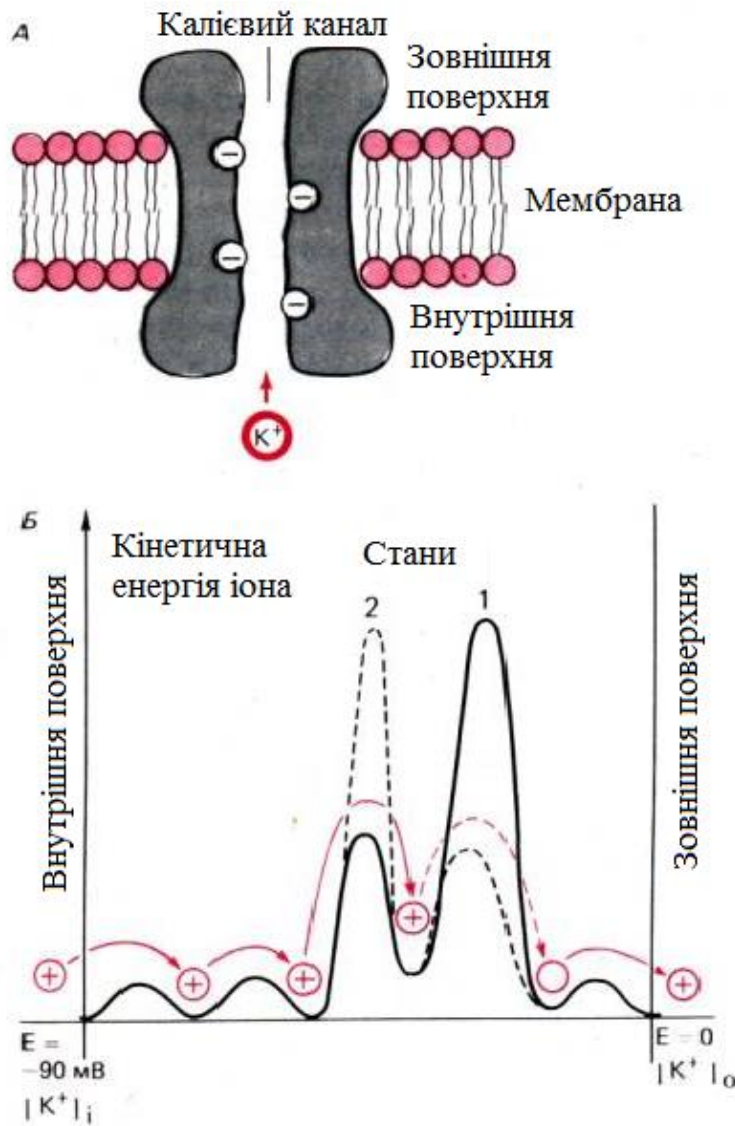


Рис. 3.24. А. Схема білка, що утворює калієвий канал, занурені в ліпідний бішар плазматичної мембрани. Б. Схематичний енергетичний профіль каналу на А

Дифузійна рівновага іонів. Дифузія різних іонів через мембранні канали мала б привести до усунення розходжень у концентраціях між поза- і внутрішньоклітинним середовищами. Але такі відмінності зберігаються. У разі іонів на дифузійну рівновагу впливає їх заряд. Дифузія незаряджених молекул забезпечується різницею концентрацій dC , і, коли концентрації зрівнюються, власне транспорт припиняється. На заряджені частинки додатково впливає електричне поле. Наприклад, коли іон калію виходить з клітини по градієнту своєї концентрації, він несе один позитивний заряд.

Таким чином, внутрішньоклітинне середовище стає більш негативно зарядженим, в результаті чого на мембрані виникає різниця потенціалів. Внутрішньоклітинний негативний заряд перешкоджає виходу з клітини нових іонів калію, а ті іони, які все ж вийдуть з клітки, ще більше збільшать заряд на мембрані. Потік іонів калію припиняється, коли дія електричного поля компенсує дифузійний тиск внаслідок різниці концентрацій. Іони продовжують проходити через мембрану, але в рівних кількостях в обох напрямках. Отже, для даної різниці концентрацій іонів на мембрані існує рівноважний потенціал E_{ion} при якому потік іонів через мембрану припиняється. Рівноважний потенціал може бути легко визначений за допомогою рівняння Нернста:

$$E_{ion} = \frac{R T}{z F} \ln \frac{C_{out}}{C_{in}}$$

де R-газова стала, T-абсолютна температура, z - валентність іона (негативна для аніонів), C_{out} - позаклітинна концентрація іона, C_{in} - внутрішньоклітинна концентрація іона, F число Фарадея. Якщо підставити в рівняння константи, то при температурі тіла ($T = 310$ K) рівноважний потенціал для іонів калію E_K дорівнює:

$$E_K = -61 \text{ мВ} \log [K^+_{out}]/[K^+_{in}];$$

якщо $[K^+_{out}]/[K^+_{in}] = 39$, тоді

$$E_K = -61 \text{ мВ} \log 39 = -97 \text{ мВ}.$$

Дійсно, було виявлено, що всі клітини мають мембранний потенціал; в м'язових клітинах ссавців його рівень становить близько -90 мВ. Залежно від умов і відносних концентрацій іонів клітини можуть мати мембранний потенціал в межах від -40 до -120 мВ. Для клітини в наведеному вище прикладі потенціал спокою, рівний приблизно -90 мВ, показує, що потоки іонів калію через мембранні канали перебувають приблизно в рівновазі.

Мембранний потенціал, однак, визначається потоками й інших іонів.

Проникність для заряджених частинок описується рівнянням:

$$P = \frac{\mu R T}{dF} ,$$

де μ -рухливість іона в мембрані, d -товщина мембрани, а R , T і F -відомі термодинамічні постійні.

Визначені таким чином значення проникності для різних іонів можуть бути використані для розрахунку мембранного потенціалу E_m , коли іони калію, натрію і хлору проходять через мембрану одночасно (з проникністю P_K , P_{Na} і P_{Cl} відповідно). При цьому передбачається, що потенціал падає в мембрані рівномірно, так що напруженість поля постійна. У цьому випадку застосовується рівняння Голдмана, або рівняння постійного поля :

$$E_m = \frac{R T}{F} \ln \left(\frac{P_K [K^+]_0 + P_{Na} [Na^+]_0 + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_0} \right)$$

Для більшості клітинних мембран P_K приблизно в 30 разів вище, ніж P_{Na} . Відносна величина P_{Cl} сильно варіює; для багатьох мембран P_{Cl} мала в порівнянні з P_K , однак для інших (наприклад, в скелетних м'язах) P_{Cl} , значно вище, ніж P_K .

3.6.2. Осмос

Розглядаючи дифузію речовин в клітинах, необхідно також згадати й про інше явище – осмос. В загальному випадку дифузія та осмос відносяться до колігативних властивостей розчинів.

Колігативні властивості - це властивості розчинів, обумовлені тільки самовільним рухом молекул, тобто вони визначаються не хімічним складом, а числом кінетичних одиниць - молекул в одиниці об'єму або маси. До таких властивостей відносять:

- зниження пружності розчинника над розчином;
- підвищення температури кипіння розчинів (в порівнянні чистими розчинниками);

- зниження температури замерзання розчинів (в порівнянні з чистими розчинниками);

- виникнення осмотичного тиску,

- дифузія.

Осмоз - дифузія розчинника (води) через напівпроникну мембрану в більш концентрований розчин.

Через те, що більш концентрований розчин містить меншу концентрацію молекул розчинника, в нього шляхом дифузії проникає розчинник з менш концентрованого розчину і розбавляє його до тих пір, поки концентрація не стане рівною по обидві сторони мембрани.

Розглянемо штучну напівпроникну мембрану - проникну для розчинника, наприклад, води і непроникну для розчинених речовин, наприклад, цукру. Пори мембрани, пропускаючи маленькі молекули розчинника, одночасно блокують доступ великих молекул цукру.

Якщо напівпроникна мембрана відокремлює розчин цукру від ємності з чистою водою, то спочатку концентрація молекул води в розчині цукру нижче, ніж в чистій воді. Тому кількість молекул води, що проникають з чистої води в розчин цукру, більше, ніж кількість молекул води, що проникають в зворотному напрямку.

Через деякий час молекули води перейдуть через мембрану, поширюючись по судині з розчином цукру, і, так як пори занадто малі для того, щоб пропускати цукровий розчин через мембрану, рівень рідини в тій частині, де знаходиться цукровий розчин, підвищується. Якщо над розчином помістити поршень, то можна виміряти який чиниться на нього тиск, який в цьому випадку називається осмотичним тиском. Осмотичний тиск розчину тим більше, чим більше сумарна концентрація осмотично активних (гідрофільних) речовин в цьому розчині (рис. 3.25).

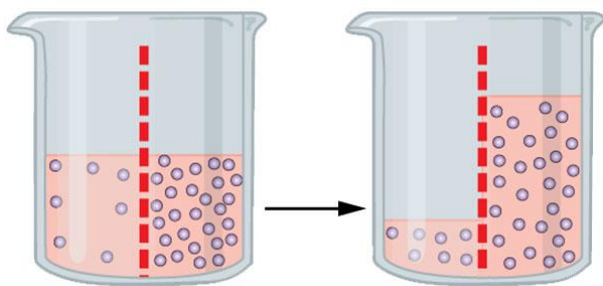


Рис. 3.25. Утворення осмотичного тиску. Червона лінія- напівпроникна мембрана; молекули у колбі праворіч – розчинені у воді сполуки.

Середовище, осмотичний тиск якого дорівнює осмотичному тиску всередині клітини, називається ізотонічною. В такому середовищі вода не надходить в клітину і не виводиться з неї.

Середовище, осмотичний тиск якого менше осмотичного тиску всередині клітини, називається гіпотонічною. В такому середовищі вода надходить через мембрану всередину клітини. Клітина без стінки в такому середовищі роздувається і може лопнути. Якщо у клітини є стінка, то клітина тисне на стінку, але не лопається.

Середовище, осмотичний тиск якого більше осмотичного тиску всередині клітини, називається гіпертонічною. В такому середовищі вода виходить через мембрану із клітки, і клітина стискається.

Якщо ввести в людський організм гіпотонічний розчин, то клітини крові будуть лопатися, а якщо ввести гіпертонічний розчин, то клітини крові будуть стискатися. Тому для внутрішньовенних вливань великих об'ємів речовин їх розбавляють фізіологічним розчином, наприклад, 0.9% NaCl.

Наведемо приклад клітини, яка занурена в гіпертонічний розчин (рис. 3.26). Клітина рослин складається з стінки і протопласта (клітини без стінки). Клітини рослин в гіпертонічному розчині зазнають плазмоліз - явище, коли протопласт стискається і відходить від стінки. Плазмоліз може бути оборотним і необоротним (якщо клітина внаслідок різкого плазмолізу гине). Зворотний плазмолізу процес називається деплазмолізу.

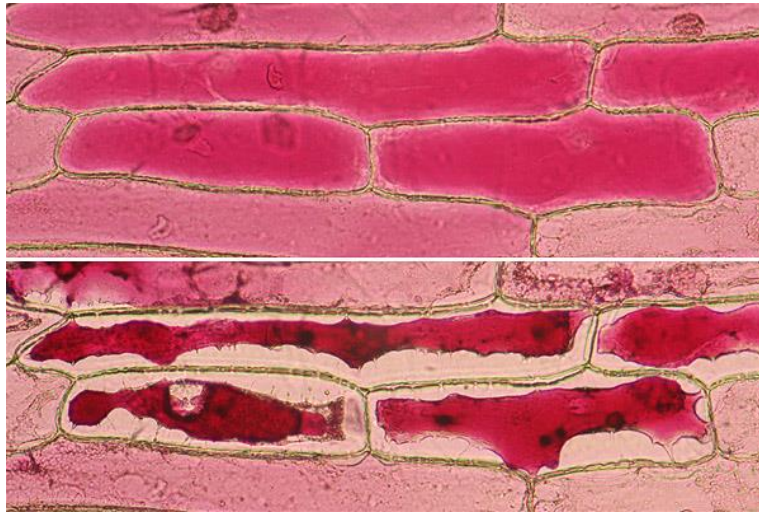


Рис. 3.26. Плазмоліз в клітинах шкірки пурпурного лука. Зверху - клітини у воді, знизу - в гіпертонічному розчині.

Осморегуляція у організмі людини переважно виконується нирками та легенями. Нирки відіграють дуже велику роль в осморегуляції людини, регулюючи кількість води. Вона реабсорбується з клубочкового фільтрату в ниркових канальцях, які контролюються такими гормонами, як антидіуретичний гормон (АДГ), альдостерон і ангіотензин II. Наприклад, зниження водного потенціалу виявляється осморецепторами в гіпоталамусі, що стимулює вивільнення АДГ з гіпофіза для збільшення проникності стінок збірних протоків в нирках. Таким чином, більша частина води поглинається з рідини в нирках, щоб запобігти виходу води з організму.

В загальному випадку механізми осморегуляції в різних видах живих організмах різноманітні.

3.6.3. Активний транспорт, натрієвий насос

У попередньому підрозділі описані пасивна дифузія іонів і утворюється внаслідок цього мембранний потенціал при заданих внутрішньо- і позаклітинних концентраціях іонів. Однак в результаті цього процесу концентрація іонів всередині клітини стабілізується не автоматично, оскільки мембранний потенціал дещо більш електровід'ємний, ніж E_K , і набагато - в

порівнянні з E_{Na} (близько +60 мВ). Завдяки дифузії внутрішньоклітинні концентрації іонів, принаймні калію і натрію, повинні врівноважуватися з позаклітинними. Стабільність градієнта іонів досягається за допомогою активного транспорту: мембранні білки переносять іони через мембрану проти електричного і (або) концентраційного градієнтів, споживаючи для цього метаболічну енергію. Найбільш важливий процес активного транспорту - це робота Na / K-насоса, існуючого практично у всіх клітинах; насос викачує іони натрію з клітини, одночасно накачуючи іони калію всередину клітини. Таким чином забезпечується низька внутрішньоклітинна концентрація іонів натрію і висока - калію. Градієнт концентрації іонів натрію на мембрані має специфічні функції, пов'язані з передачею інформації у вигляді електричних імпульсів, а також з підтримкою інших активних транспортних механізмів і регулювання об'єму клітини. Тому не дивно, що більше 1/3 енергії, яка споживається клітиною, витрачається на Na / K-насоси, а в деяких найбільш активних клітинах на його роботу витрачається до 70% енергії.

Na / K-транспортний білок являє собою АТФазу. На внутрішній поверхні мембрани вона розщеплює АТФ на АДФ і фосфат (рис. 3.27). На транспортування трьох іонів натрію з клітини і одночасно двох іонів калію в клітину використовується енергія однієї молекули АТФ, тобто сумарно за один цикл з клітини видаляється один позитивний заряд. Таким чином, Na/K-насос є електрогенним (створює електричний струм через мембрану), що призводить до збільшення електронегативності мембранного потенціалу приблизно на 10 мВ. Транспортний білок виконує цю операцію з високою швидкістю: від 150 до 600 іонів натрію в секунду. Амінокислотна послідовність транспортного білка відома, проте ще не зрозумілий механізм цього складного обмінного транспорту. Даний процес описують з використанням енергетичних профілів перенесення білками іонів натрію або калію.

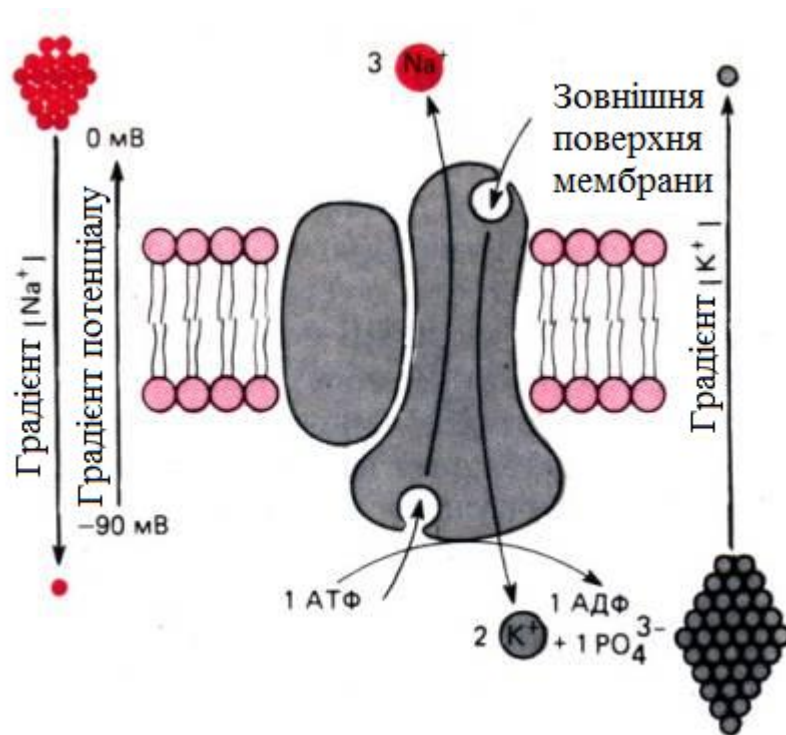


Рис. 3.27. Схема Na / K-насоса-АТФази (зануреної в ліпідний бішар плазматичної мембрани), яка за один цикл виносить з клітки три іона Na^+ проти градієнтів потенціалу та концентрації і приносить в клітку два іона K^+

Na / K-насос, як і ізольована Na^+ / K^+ -залежна мембранна АТФаза, специфічно пригнічується серцевим глікозидом убаїном (строфантином). Оскільки робота Na / K-насоса являє собою багатоступеневу хімічну реакцію, вона, подібно до всіх хімічних реакцій, в значній мірі залежить від температури, що продемонстровано на рис. 3.28. Тут потік іонів натрію з м'язових клітин показаний щодо часу; практично це еквівалентно потоку іонів натрію, опосередкованого роботою Na / K-насоса, тому що пасивний потік іонів натрію проти градієнтів концентрації і потенціалу вкрай малий. Якщо препарат охолодити приблизно на 18°C , то потік іонів натрію з клітини швидко зменшиться в 15 разів, а відразу після нагрівання відновиться до вихідного рівня. Таке зменшення потоку іонів натрію з клітини в кілька разів більше, ніж те, яке б відповідало температурної залежності процесу дифузії або простої хімічної реакції. Подібний ефект спостерігається, коли запас

метаболической энергии высвобождается в результате отравления динитрофенолом (ДНФ) (рис. 3.28 Б). Отже, потік іонів натрію з клітини забезпечується енергозалежною реакцією - активним насосом. Іншою характеристикою насоса поряд зі значною температурною і енергетичною залежністю є наявність рівня насичення (як і у всіх інших хімічних реакцій); це означає, що швидкість роботи насоса не може зростати нескінченно при підвищенні концентрації іонів, що транспортуються. На відміну від цього потік пасивно дифундуючої речовини зростає пропорційно різниці концентрацій відповідно до закону дифузії.

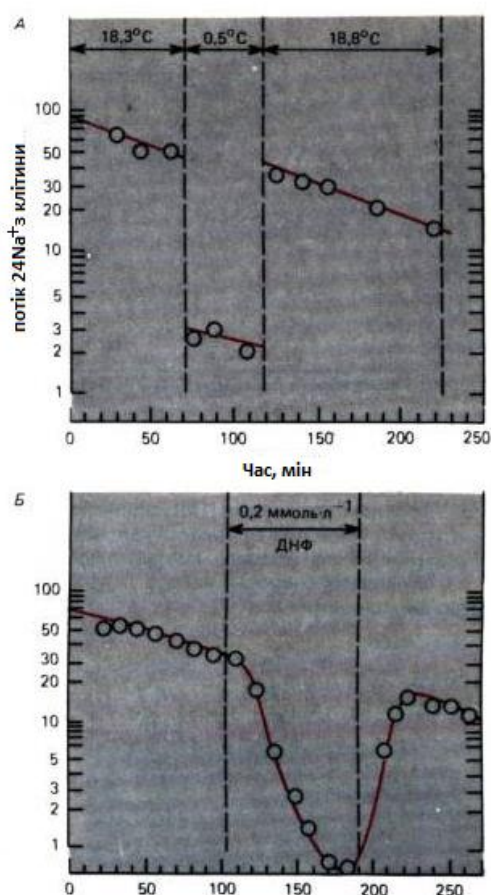


Рис. 3.28. Активний транспорт Na^+ . Вісь ординат: потік радіоактивного $^{24}\text{Na}^+$ з клітини (імп./Хв). Вісь абсцис : час з початку експерименту. А. Клітка охолоджена з $18,3^\circ\text{C}$ до 05°C ; потік Na^+ з клітини в цей період загальмований. Б. Придушення потоку Na^+ з клітини Динітрофенолом (ДНФ) в концентрації $0,2$ ммоль / л

Крім Na / K-насоса плазматична мембрана містить принаймні ще один насос - кальцієвий; цей насос відкачує іони кальцію (Ca^{2+}) з клітини і бере участь в підтримці їх внутрішньоклітинної концентрації на вкрай низькому рівні. Кальцієвий насос присутній з дуже високою щільністю в саркоплазматичному ретикулумі м'язових клітин, які накопичують іони кальцію в результаті розщеплення молекул АТФ.

3.6.4. Вплив Na / K-насоса на мембранний потенціал і об'єм клітини

Щоб підтримувати рівновагу між насосним і пасивними мембранними струмами, необхідно набагато більше молекул Na / K-насоса, ніж каналних білків для іонів калію і натрію. При відкритому стані каналу через нього проходять десятки тисяч іонів за кілька мілісекунд, а оскільки канал зазвичай відкривається кілька разів на секунду, всього за цей час через нього проходить більше 10⁵ іонів.

Одиночний насосний білок переміщує кілька сотень іонів натрію в секунду, отже, плазматична мембрана повинна містити приблизно в 1000 разів більше насосних молекул, ніж каналних. Вимірювання каналних струмів в спокої показало наявність в середньому одного калієвого і одного натрієвого відкритого каналу на 1 мкм² мембрани; з цього випливає, що на тому ж просторі повинно бути присутнім близько 1000 молекул Na/K-насоса, тобто відстань між ними складає в середньому 34 нм; діаметр насосного білка, як каналного, становить 8-10 нм. Таким чином, мембрана досить щільно насичена насосними молекулами.

Той факт, що потік іонів натрію всередині клітини, а іонів калію з клітини компенсується роботою насоса, має й інший наслідок, що полягає в збереженні стабільного осмотичного тиску і постійного об'єму. Усередині клітини існує висока концентрація великих аніонів, головним чином білків, які не здатні проникати через мембрану (або проникають через неї дуже повільно) і тому є фіксованим компонентом всередині клітини. Щоб врівноважити заряд

цих аніонів, необхідно рівну кількість катіонів. Завдяки дії Na / K-насоса цими катіонами в основному виявляються іони калію. Істотне підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів могло б відбуватися тільки за умов зростання концентрації аніонів внаслідок потоку Cl^- за градієнтом концентрації в клітину, але мембранний потенціал протидіє цьому. Вхідний струм Cl^- спостерігається тільки до тих пір, поки не буде досягнуто рівноважний потенціал для іонів хлору; це спостерігається, коли градієнт іонів хлору практично протилежний градієнту іонів калію, так як іони хлору заряджені негативно. Таким чином, встановлюється низька внутрішньоклітинна концентрація іонів хлору, що відповідає низькій позаклітинній концентрації іонів калію. Результатом є обмеження загальної кількості іонів в клітині. Якщо мембранний потенціал падає при блокаді Na / K-насоса, наприклад, при аноксії, то рівноважний потенціал для іонів хлору знижується, а внутрішньоклітинна концентрація іонів хлору відповідно підвищується. Відновлюючи рівновагу зарядів, іони калію також входять в клітину; сумарна концентрація іонів в клітині зростає, що підвищує осмотичний тиск; це змушує воду надходити в клітину. Клітка набухає. Таке набухання спостерігається *in vivo* в умовах нестачі енергії.

3.6.5. Концентраційний градієнт Na^+ як рушійна сила мембранного транспорту

Значення Na/K-насоса для клітини не обмежується стабілізацією нормальних градієнтів K^+ і Na^+ на мембрані. Енергія, збережена в мембранному градієнті Na^+ , часто використовується для забезпечення мембранного транспорту інших речовин. Наприклад, «симпорт» Na^+ і молекули цукру в клітку.

Симпорт - парний транспорт двох різних органічних молекул або іонів через мембрану клітини завдяки активному транспорту, що здійснюється

специфічними білками, розташованими всередині мембрани. Такі білки називаються котранспортерами.

Здійснення симпорта обумовлюється градієнтом деяких неорганічних іонів, зокрема, іонів натрію і протонів (іонів водню). Ці іони прагнуть потрапити в клітку за електрохімічним градієнтом, так як їх концентрація в клітині підтримується на досить низькому рівні по відношенню до зовнішнього середовища (плазми крові). Цей рух відбувається через котранспортери, які дозволяють іншим молекулам, зазвичай органічним, рухатися проти градієнта концентрації всередину клітини (рис. 3.29). Зворотний рух цих іонів здійснюється за допомогою залежних АТФаз, які працюють проти електрохімічного градієнта з використанням енергії розщеплення АТФ.

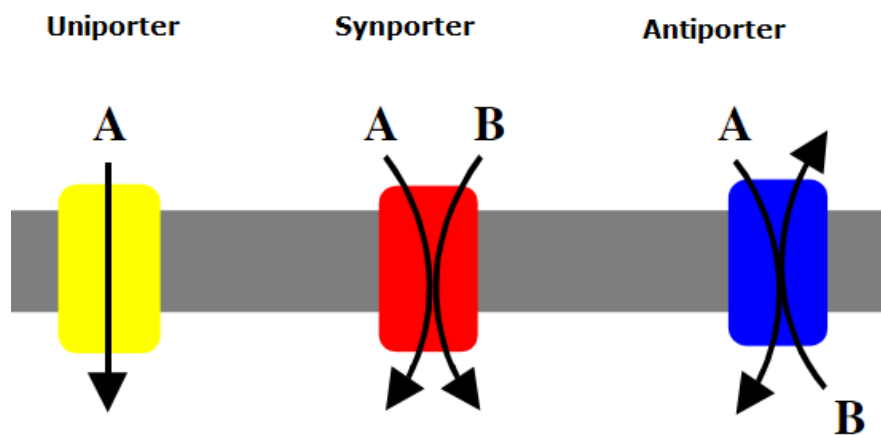


Рис. 3.29. Схема роботи транспортних белків, які функціонують за різними принципами: юніпорт – білок обумовлює транспорт тільки одного компонента; симпорт та антипорт – двох елементів, де транспорт обумовлений («керується») тільки одним з компонентів А чи В. Керуючий елемент – низькомолекулярний, наприклад, Na^+

Якщо внутрішньоклітинна концентрація Na^+ значно зростає, то транспорт цукрів припиняється. Для різних цукрів існують різні сімпортні системи. Транспорт амінокислот в клітку схожий з транспортом цукру; існує

принаймні п'ять різних систем сімпорта, кожна з яких спеціалізована для будь-якої однієї групи родинних амінокислот.

3.6.6. Эндо- та екзоцитоз

Для деяких речовин, які надходять в клітину або мають бути виведені з неї, транспортні канали відсутні. До таких речовин відносяться, наприклад, білки і холестерол. Вони можуть проходити через плазматичну мембрану в везикулах, або бульбашках, за допомогою ендо- та екзоцитозу. На рис. 3.30 показані основні механізми цих процесів. При **екзоцитозу** певні органели формують везикули, заповнені речовиною, яку необхідно вивести із клітини, наприклад, гормонами або ферментами позаклітинного дії. Коли такі везикули досягають плазматичної мембрани, їх ліпідна мембрана зливається з нею, даючи таким чином можливість вмісту вийти у зовнішнє середовище. При протилежному процесі **ендоцитозі** – плазматична мембрана інвагінірує, утворюючи ямку, яка потім поглиблюється і замикається, формуючи внутрішньоклітинну везикулу, заповнену позаклітинної рідиною і деякими макромолекулами. Щоб забезпечити це злиття мембран і замикання везикули, елементи цитоскелету, що скорочуються, діють спільно з самими мембранами. При ендоцитозі не завжди відбувається просто захоплення позаклітинної середовища в клітину. У клітинній мембрані містяться часто організовані в спеціалізовані групи специфічні рецептори до макромолекул. Після того, як ці макромолекули зв'яжуться зі своїми рецепторами, у прилеглій до рецептору ділянці мембрани відбувається ендоцитоз, й макромолекула вибірково транспортується в клітину (рис. 3.30).

Ендо-і екзоцитоз відбуваються в клітинах безперервно. Кількість мембранного матеріалу, який вчиняє оборот, значна. Так, наприклад, протягом 1 години макрофаг поглинає у вигляді везикул подвійну площу поверхні своєї цитоплазматичної мембрани. У більшості клітин оборот мембранного матеріалу відбувається не так інтенсивне, але все ж повинен бути значним.

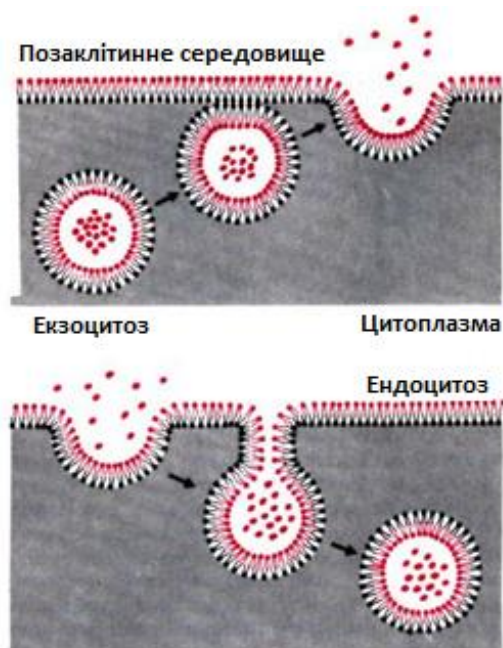


Рис. 3.30. Екзоцитоз і ендоцитоз. *Вгорі*: внутрішньоклітинна везикула зливається з ліпідним бішаром плазматичної мембрани і відкривається в позаклітинний простір. Цей процес називається екзоцитозом. *Знизу*: плазматична мембрана інвагінує на невеликій ділянці й утворює везикулу, заповнену позаклітинним матеріалом. Цей процес називають ендоцитозом

Ендо- та екзоцитоз – це не тільки процеси транспорту речовин через клітинну мембрану, але і процеси обміну мембран - структурних компонентів самої клітини.

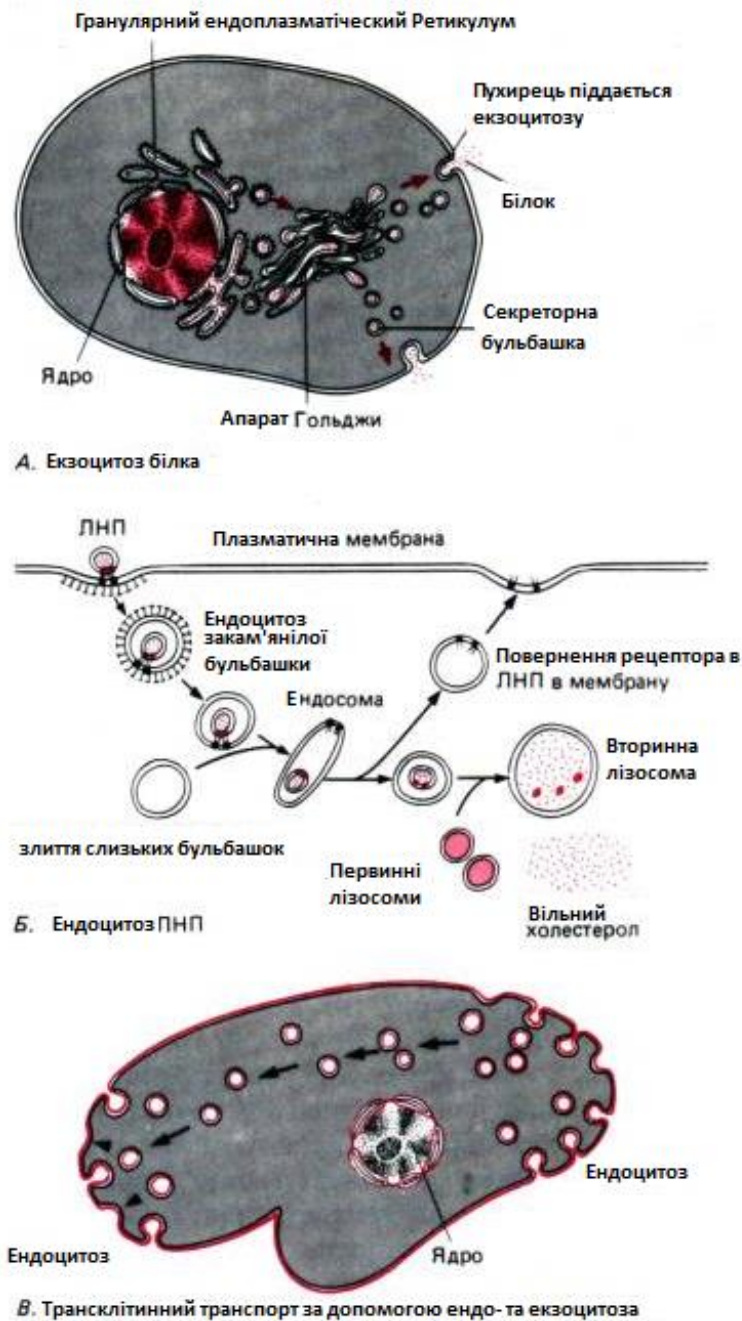
3.6.7. Перенесення речовин всередині клітини

Активний транспорт в мембранах органел. Процеси активного транспорту, які відіграють життєве важливу роль у функціонуванні плазматичної мембрани, протікають також і всередині клітини - в мембранах органел. Специфічний вміст різних органел створюється іноді завдяки внутрішньому синтезу, а іноді за рахунок активного транспорту з цитозоллю. Одним із прикладів останнього є Ca^{2+} -насос в саркоплазматическому ретикуліумі м'язових клітин. Особливо цікаво, що в разі синтезу АТФ в

мітохондріях діє принцип, протилежний тому, що має місце в АТФазних насосах плазматичної мембрани. При синтезі АТФ окислювальний метаболізм призводить до утворення крутого градієнта H^+ на внутрішніх мембранах. Цей градієнт є рушійною силою для процесу, зворотного насосного циклу активного транспорту молекул: іони H^+ рухаються через мембрану по градієнту, а вивільняється в результаті цього енергія, що забезпечує синтез АТФ з АДФ і фосфату. Новоутворена АТФ в свою чергу забезпечує енергією клітку, в тому числі, і для активного транспорту.

Транспорт в везикулах. У клітці є велика кількість органел і пов'язаних з ними везикул. Ці органели, а везикули особливо, знаходяться в постійному русі, транспортуючи свій вміст до інших органел або до плазматичної мембрани. Везикули можуть також мігрувати з клітинної мембрани до органел, як при ендоцитозу.

Процес секреції білка представлений на рис.3.31, А. Білок синтезується поблизу ядра клітини на рибосомах, пов'язаних з ендоплазматичним ретикулумом (так званий гранулярний, або шорсткий, ендоплазматичний ретикулум); потрапивши в ендоплазматичний ретикулум, білок упаковується в транспортні везикули, які відділяються від органели і мігрують до апарату Гольджі. Тут вони зливаються з цистернами апарату Гольджі, де білок модифікується (тобто перетворюється в глікопротеїн). На кінцях цистерн везикули знову відокремлюються. Несучі модифікований білок секреторні везикули рухаються до плазматичної мембрани і виділяють вміст шляхом екзоцитозу.



А. Екзоцитоз білка

Б. Ендоцитоз ЛНП

В. Трансклітинний транспорт за допомогою ендо- та екзоцитоза

Рис.3.31. Схема процесів, що включають екзо- та ендоцитоз. А. Білок, синтезований в гранулярному ендоплазматичному ретикулумі, транспортується за допомогою апарату Гольджі до плазматичної мембрани, де секретується шляхом екзоцитозу. Б. Холестерол, пов'язаний з частками ЛНП (ліпопротеїну низької щільності), приєднується до плазматичної мембрани і індукує утворення ендоцитозної бульбашки в цій ділянці мембрани і транспортується до лізосомам, де вивільняється. В. Позаклітинний матеріал,

захоплений в процесі ендоцитозу (на рисунку праворуч), транспортується через клітку в везикулах, або бульбашках, виділяється за допомогою екзоцитозу (на рисунку ліворуч).

Інший приклад транспортного шляху в клітині показан на рис. 3.31,Б; це - поглинання холестеролу клітиною. Транспортується в крові холестерол пов'язаний в основному з білками, наприклад, частинками «ліпопротеїну низької щільності» (ЛНП). Такі частинки приєднуються до специфічних, що містять рецептори до ЛНП, ділянок мембрани, де відбувається ендоцитоз і ЛНП переноситься всередину клітини в «облямованих» везикулах. Ці везикули зливаються, утворюючи ендосоми й втрачаючи в ході цього процесу «облямівка». Ендосоми в свою чергу зливаються з первинними лізосомами, що містять переважно гідролітичні ферменти, і утворюють вторинні, більші лізосоми. У них холестерол вивільняється з частинок ЛНП і дифундує в цитозоль, де стає доступним, наприклад, для синтезу ліпідних мембран. Від ендосом також відокремлюються везикули, що не містять ЛНП, які особливим шляхом пішли до плазматичної мембрани і зливаються з нею, повертаючи мембранний матеріал і, ймовірно, рецептори до ЛНП. З моменту зв'язування частки ЛНП з мембраною до вивільнення холестеролу з вторинної лізосоми проходить 10-15 хв. Порушення в зв'язуванні і поглинанні ЛНП, тобто постачанні клітини холестеролом, відіграють вирішальну роль у розвитку широко поширеного захворювання-атеросклерозу («затвердіння» артерій).

Існує безліч інших транспортних шляхів, схожих з показаними на рис.3.31, за допомогою яких рухаються в клітці специфічні везикули. Невідомо, як саме вони пересуваються, але в цей процес, ймовірно, залучені елементи цитоскелету. Везикули можуть ковзати по мікротрубочкам, в цьому випадку енергія для руху, мабуть, забезпечується пов'язаним з везикулами білком - АТФазой. Залишається зовсім незрозумілим, як безліч різних везикул, рухаючись одна за одною у всіх напрямках, потрапляють за призначенням.

Вони, очевидно, повинні бути «помічені» таким чином, щоб це розпізнавалося транспортною системою і перетворювалося в цілеспрямований рух.

Транспорт шляхом утворення і руйнування органел. До сих пір вище розглядалися ендо- та екзоцитоз як процеси транспортування вмісту везикул. Існує й інший аспект цих процесів, якій полягає в тому, що спрямоване видалення плазматичної мембрани на одній ділянці клітинної поверхні шляхом ендоцитозу і, навпаки, додавання її на іншому шляхом екзоцитозу переміщує значні ділянки мембрани (рис. 3.31,В), даючи клітці можливість, наприклад, сформувати виріст або рухатися.

Подібні перебудови типові також і для цитоскелета, особливо для мікрофіламентов і мікротрубочок. Мікрофіламенти складаються в першу чергу з білка F-актину, який здатний до утворення волокнистих пучків в результаті полімеризації мономера з цитозоллю. Пучки поляризовані, тобто вони часто наростають тільки з одного кінця, акумулюючи нові молекули актину, тоді як інший кінець інертний або на ньому відбувається розбирання. За рахунок такого поляризованого зростання мікрофіламенти ефективно переміщуються, і може змінюватися структура їх мережі. Перехід актину з деполімеризованого стану (золлю) в організований (гель) може відбуватися дуже швидко під дією інших білків або змін концентрації іонів

Мікротрубочки також часто зазнають подібні переміщення. Механізм цих переміщень схожий - полімеризація тубуліну з цитозоллю таким чином, що один з кінців мікротрубочки зростає, тоді як інший або не змінюється, або там відбувається розбирання. Так мікротрубочка шляхом відповідного додавання або усунення матеріалу може переміщатися по цитоплазмі.

Активні рухи цитоскелета. Зміни цитоскелетних структур можуть відбуватися в результаті як активних рухів, так і перебудов, описаних вище. У багатьох випадках рух мікротрубочок та актинових філаментів обумовлено скоротливими білками, які пов'язують філаменти або трубочки і можуть переміщати їх відносно один одного. Білки міозин і динеїн присутні в

цитоплазмі всіх клітин в порівняно високих концентраціях; вони є тими елементами, які перетворюють енергію в рух в спеціалізованих клітинах (м'язових) і органелах (реснички). Переміщення такого роду, в ході яких енергія АТФ перетворюється в механічну роботу, можуть змінювати форму цитоскелета і, отже, клітини, а також забезпечувати транспорт пов'язаних з цитоскелетом органел.

Таким чином, клітина ні в якому разі не є статичними структурами, якими вони здаються, наприклад, на електронно-мікроскопічних фотографіях. Плазматична мембрана і особливо органели перебувають у постійному швидкому русі і постійної перебудови; тільки тому вони здатні функціонувати. Клітини, це не прості камери, в яких протікають хімічні реакції, а високоорганізовані конгломерати мембран і волокон, в яких реакції протікають в оптимально організованій послідовності.

3.7. Клітинний цикл

Клітинний цикл — це серія подій, що відбувається у період від утворення еукаріотичної клітини до завершення її поділу. Клітинні поділи необхідні як утворення тіла багатоклітинних організмів, так і для відтворення собі подібних. Перед поділом генетичний матеріал має бути репліковано, щоб кожна з нових клітин отримала його копію, ідентичну до материнської.

Середня тривалість клітинного циклу еукаріотичної клітини за сприятливих умов і наявності стимулів до поділу може становити 24 год. Він складається із наступних фаз (рис. 3.32-3.34):

Інтерфаза — період, коли клітина не ділиться; триває 90% часу клітинного циклу і в свою чергу поділяється на три фази:

Фаза G1 (англ. first gap) — пресинтетичний період, клітина росте, накопичує поживні речовини, виконує свої основні функції (5—6 год. або більше залежно від типу клітин та умов).

Фаза S — синтетичний період, відбувається реплікація ДНК, продовжується ріст клітини (10—12 год. для людської клітини).

Фаза G2 (англ. second gap) — постсинтетичний період, клітина готується до поділу — перевіряє, чи добре скопійовано ДНК, накопичує білки необхідні для утворення веретена поділу, подвоюються деякі органели (4—6 год. для типової людської клітини).

Клітинний поділ — триває не більше години і поділяється на два етапи.

Мітоз — поділ ядра, під час якого відбувається рівномірний розподіл генетичної інформації. Відбувається у кілька етапів: профаза, прометафаза, метафаза, анафаза і телофаза. Під час мітозу спіралозвані хромосоми, що складаються із двох ідентичних хроматид вишиковуються по екватору веретена поділу, а потім окремі хроматиди, за допомогою мікротрубочок, розходяться до його полюсів. На кожному полюсі формується нове ядро.

Цитокінез — поділ цитоплазми клітини, у тварин відбувається за участі скоротливого кільця із актинових та міозинових філаментів, а у вищих рослин — за допомогою спеціальної структури — фрагмопласту, що складається із мікротрубочок веретена поділу і везикул апарату Гольджі, які, зливаючись між собою, відокремлюють дві дочірні клітини.

Окрім мітозу існує ще один спосіб поділу ядра еукаріотичної клітини — мейоз, це серія із двох поділів, між якими часто відсутня інтерфаза. На противагу мітозу, після завершенню мейозу кожна дочірня клітина отримує лише половину генетичної інформації батьківської клітини. Мейоз обов'язково відбувається на певному етапі життєвого циклу всіх організмів, здатних до статевого розмноження. Він необхідний для підтримання сталої кількості хромосом у всіх особин виду і для здійснення генетичної рекомбінації — перегрупування та перерозподілу генів.

У багатоклітинних організмів частина диференційованих клітин виходять із клітинного циклу: після стадії G1 вони переходять у стадію спокою

— G₀, більшість таких клітин за певних умов можуть відновлювати проліферацію.

Усі події у клітинному циклі чітко регулюються системою спеціальних білків циклінів та циклін-залежних кіназ, яка тісно пов'язана з іншими сигнальними шляхами клітини. Якщо один або кілька елементів цієї системи виходять із ладу, це може призвести до неконтрольованого поділу клітин і утворення пухлин, зокрема, злоякісних.

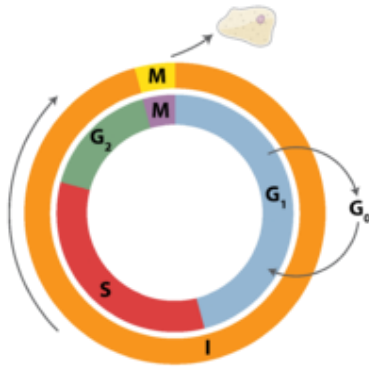


Рис.3.32. Схематичне зображення клітинного циклу

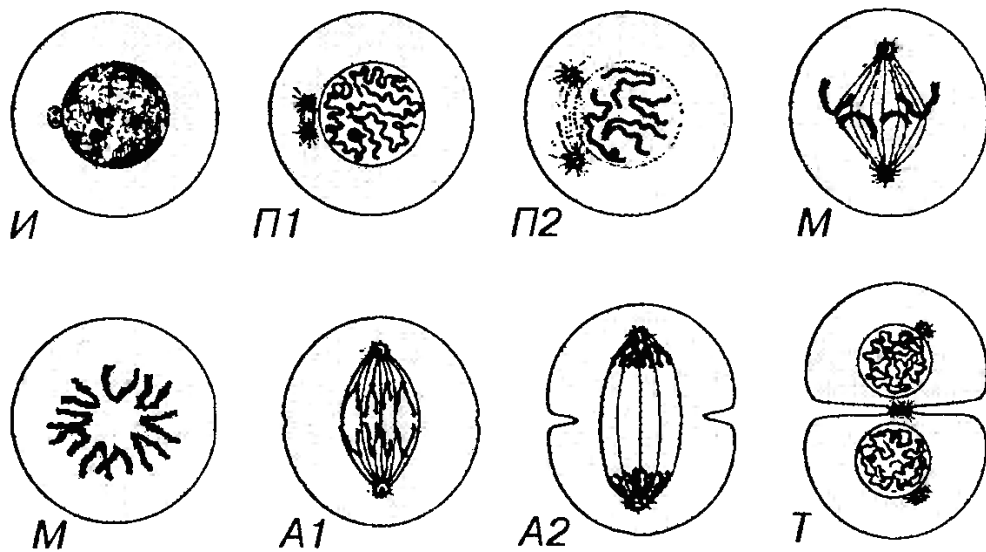


Рис.3.33. Мітоз клітини (схема): I - інтерфаза; П1 - рання профіза;
П2 - пізня профізи; М - метафаза; А1 - рання анафаза; А2 - пізня анафаза; Т – телофаза

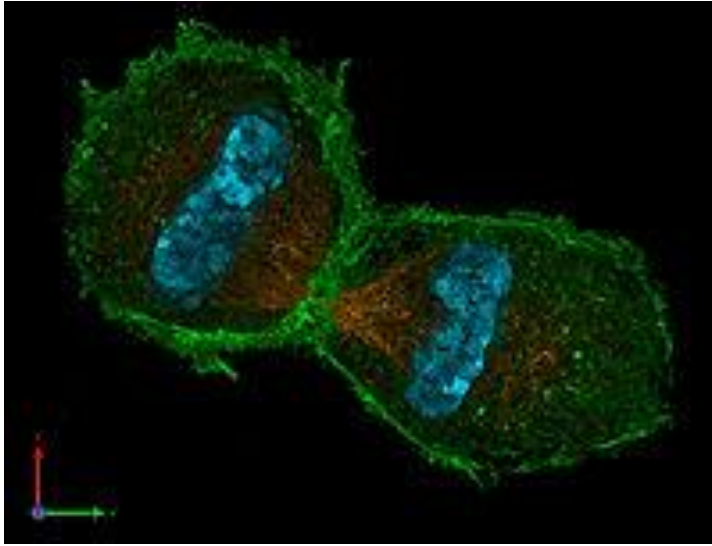


Рис. 3.34. Мітоз клітини миші на стадії телофази: веретено поділу (мікротрубочки) зафарбовані оранжевим, актинові філаменти — зеленим, хроматин — блакитним.

Контрольні запитання до розділу 3

1. Дайте визначення клітини
2. Чим клітини прокаріотичного типу відрізняються від клітин еукаріотичного типу?
3. Чим між собою відрізняються одноклітинні, колоніальні та багатоклітинні організми?
4. Наведіть основні твердження клітинної теорії.
5. Наведіть методи дослідження клітин та основні відмінності між ними, їх недоліки та переваги.
6. Які операції включає процес підготовки препарату при електронній мікроскопії?
7. З чого складається клітина?
8. Наведіть основні функції мембран, поясніть, що вони забезпечують.
9. Що таке антигени, як вони діють і що дозволяють пізнати?
10. Наведіть класи ліпідів та структурні особливості біологічних мембран.
11. Проаналізуйте ліпідний склад мембран клітин.
12. На які основні групи можна поділити мембранні білки?

13. Наведіть основні способи приєднання мембранних білків до мембрани.
14. Які моделі будови мембрани відомі, яка модель є сьогодні загальноприйнятою?
15. Які властивості поєднують основні мембраноутворюючі ліпіди?
16. Що відбувається при стисненні моношару?
17. Що таке епілюмінесценція, коли вона застосовується?
18. Перерахуйте та проаналізуйте основні мезофази ансамблів ліпідів.
19. Що визначає хімічний потенціал стандартного стану молекул?
20. При яких дослідженнях використовуються мультіламелярні та моноламелярні ліпосоми?
21. В чому полягає цінність протеоліпосом?
22. Як здійснюється процес утворення плоских бішарових ліпідних мембран?
23. Проаналізуйте відмінності властивостей штучних ліпідних та біологічних мембран.
24. Внаслідок чого молекулярні компоненти в мембранних системах зберігають індивідуальну рухливість?
25. Що таке латеральна дифузія?
26. Порівняйте константи латеральної дифузії ліпідів в штучних і природних мембранах.
27. Що таке трансбішаровий рух, де він здійснюється?
28. Що визначає рівняння Стокса-Ейнштейна?
29. Що розуміється під поняттям «мікров'язкість»? Порівняйте мікров'язкість вуглеводневої області ліпідного бішару в штучних і природних мембранах.
30. Наведіть пружні властивості мембран.
31. Наведіть найважливіші характеристики мембран при механічних впливах.

32. Яку роль грає спектрин в підтримці цілісності клітинної мембрани і структури цитоскелету.
33. Охарактеризуйте явище електрострикції. Як це явище використовується при оцінці пружності БЛМ?
34. Наведіть моделі руху мембранних компонентів. Дайте їх коротку характеристику.
35. Охарактеризуйте процес дифузії. Що описується першим законом дифузії Фіка?
36. Якими методами вивчають перехід білків з однієї конформації в іншу?
37. Що визначається за допомогою рівняння Нернста?
38. В яких випадках застосовується рівняння Голдмана?
39. Що розуміється під поняттям «осмос» та «осмотичний тиск»?
40. Наведіть колігативні властивості розчинів.
41. Чим відрізняються ізотонічне, гіпотонічне та гіпертонічне середовище?
42. Завдяки чому досягається стабільність градієнта іонів?
43. Проаналізуйте схему Na / K-насоса-АТФази.
44. Яким чином Na / K-насос впливає на мембранний потенціал і об'єм клітини?
45. Що таке симпорт?
46. Які білки називаються котранспортерами?
47. Поясніть процеси екзоцитозу та ендоцитозу.
48. Що відбувається при синтезі АТФ в мітохондріях?
49. Проаналізуйте процес секреції білка.
50. Як відбуваються зміни цитоскелетних структур?
51. Що таке клітинний цикл, наведіть його фази.
52. Поясніть різницю між поняттями «мітоз» і «цитокінез».

ЛІТЕРАТУРА

Література до розділу 1

1. Волькинштейн М.В. Биофизика. – М.: «Наука». - 1988. – 592 с.
2. Волькинштейн М.В. Молекулярная биофизика. – М.: «Наука». - 1975. – 616 с.
3. Лошицький П.П. Моделювання біофізичних процесів. Вступ до синергетики: навч. посібн. / Лошицький П.П., М.О. Ніколов. – К.: НТУУ «КПІ», 2014. – 412 с.
4. Вернадський В.И. Биосфера и ноосфера. – М.: Наука, 1989. – 1989. – 261 с.
5. Рубин А.Б. Термодинамика биологических процессов. - М.: МГУ, 1984. – 290 с.
6. Рубин А.Б. Лекции по биофизике / А.Б. Рубин. – М.: МГУ, 1994. – 160 с.
7. Терехов С. В. Введение в синергетику. – Донецк: “Цифровая типография”, 2009. – 187 с. Режим доступа - <http://www.donfti.ru/main/wp-content/uploads/2011/03/SinergDonFTITerehovEnd4.pdf>
8. Скосарь В.Ю. Диссипативные структуры: ячейки бенаара и живые организмы. Режим доступа - http://samlib.ru/s/skosarx_wjacheslaw_jurxewich/dissipatiwnyestruktury.shtml
9. Чудов С. Столбчатые базальты и конвекция Рэлея — Бенара. Режим доступа - https://elementy.ru/nauchno-populyarnaya_biblioteka/434352/Stolbchatye_bazalty_i_konveksiya_Releya_Benara
10. Краткий курс лекций по биофизике. / Сост.: И. К. Миронова, М.В. Каневский. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2017. – 44 с.

Література до розділу 2

11. Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия: Учебник.— 3-е изд.— М.: Медицина, 1998.— 704 с.
12. Химия белка: Часть I: Общая химия белка / И.П.Ашмарин, А.А.Мюльберг, Н.В.Садикова, И.А.Сытинский. Л.: Из-во ЛГУ, 1968. - 196 с.
13. Волькинштейн М.В. Биофизика. – М.: «Наука». - 1988. – 592 с.
14. Волькинштейн М.В. Молекулярная биофизика. – М.: «Наука». - 1975. – 616 с.
15. Адамсон А. Физическая химия поверхностей. Изд. 7. – М.: Химия, 1979. – 568 с.
16. Медведев П.И. Физическая и коллоидная химия (краткий курс). – М.: Гос. Изд. сельскохозяйственной литературы. – 1954.
17. Метод двумерного гель-электрофореза. – 2008. http://www.ibmc.msk.ru/content/Education/w-o_pass/ММОВ/4.pdf
18. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук. <http://www.bionet.nsc.ru/nauka/vajneishie-rezultaty/2010-god.html>.
19. Зайцева Е.А. Установление третичной структуры белка и конфигураций гемоглобина и миоглобина // Химия. – 2004. - № 9. <https://him.1september.ru/2004/09/8.htm>;
20. Dacey J. Snail shell spiral switched // Physicsworld. - 26 Nov 2009. [http://physicsworld.com/cws/article/news/2009/nov/26/snail-shell-spiral-switched]
21. Хиральность как проблема биохимической физики / В.А. Твердислов, Л.В. Яковенко, А.А. Жаворонков // Рос. Хим. Ж. – 2007. – Т. LI, № 1. – С. 13-22 [<http://www.chem.msu.su/rus/jvho/2007-1/13.pdf>.]

22. Каплан И. Г. Введение в теорию межмолекулярных взаимодействий. – М.: Наука, 1982. – 312 с.

Література до розділу 3

23. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции: пер. С англ. – М.: Мир, 1997. – 642 с.
24. Волькинштейн М.В. Молекулярная биофизика. – М.: «Наука». - 1975. – 616 с.
25. Филиппов А.В., Скирда В.Д., Рудакова М.А. Латеральная диффузия в липидных мембранах в присутствии холестерина.- Казань: 2010. - 227 с.
https://kpfu.ru/portal/docs/F1130337677/A.V..Filippov_.V..D..Skirda_.M.A..Rudakova.LATERALNAYa.DIFFUZIYa.V.LIPIDNYH.MEMBRANAH.V.PRISUTSTVII.HOLESTERINA. Kazan.2010_.2.pdf
26. Рубин А.Б. Биофизика в 2-х томах. Том 2. – М.: Издательство Московского университета, 2000. — 468 с.
27. Генина Э.А. Методы биофотоники: Фототерапия. – Саратов: Новый ветер, 2012. – 119 с.:
<http://optics.sgu.ru/ media/library/education/photomed.pdf>
28. Конспект лекцій з дисципліни «Біологія клітини» для студентів очної форми навчання та після дипломної освіти зі спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія першого (бакалаврського) рівня /Укладач: Корнієнко І. М., Головей О.П. – Кам'янське: ДДТУ, 2017. – 72 с.
<http://www.dstu.dp.ua/Portal/Data/5/8/5-8-kl11.pdf>
29. Грузинов А. Ю. Фазовые переходы модельных липидных мембран верхнего слоя кожи: синхротронные исследования. Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук. – Москва, 2014. <http://www.nrcki.ru/files/pdf/1455537056.pdf>

30. Буслаев П. И. Применение метода главных компонент для анализа конформаций молекул липидов, полученных методом молекулярной динамики. Диссертация на соискание ученой степени кандидата физико-математических наук. – Москва – 2018
31. https://mipt.ru/education/post-graduate/D212-156-06/13/Thesis_Buslaev.pdf
32. Степанова И.П. Коллигативные свойства растворов. Осмос. Осмотическое давление. Слайд-лекция. <https://en.ppt-online.org/81431>
33. Осмос и осморегуляция. <https://foxford.ru/wiki/biologiya/osmos-i-osmoregulyatsiya>