

тивный – значит, избирательный: одни вещества переносятся через биологическую мембрану, другие – нет; регулируемый – проницаемость мембраны для определенных веществ меняется в зависимости от генома и функционального состояния клетки);

матричная – обеспечивает определенное взаимное расположение и ориентацию мембранных белков, обеспечивает их оптимальное взаимодействие (например, оптимальное взаимодействие мембранных ферментов);

механическая – обеспечивает прочность и автономность клетки, внутриклеточных структур.

Кроме того, биологические мембранны выполняют и другие функции:

энергетическую – синтез АТФ на внутренних мембранах митохондрий и фотосинтез в мембранах хлоропластов;

генерацию и проведение биопотенциалов;

рецепторную (механическая, акустическая, обонятельная, зрительная, химическая, терморецепция – мембранные процессы) и многие другие функции.

Общая площадь всех биологических мембран в организме человека достигает десятков тысяч квадратных метров. Относительно большая совокупная площадь связана с огромной ролью мембран в жизненных процессах.

§ 2. Структура биологических мембран

Первая модель строения биологических мембран была предложена в 1902 г. Было замечено, что через мембранны лучше всего проникают вещества, хорошо растворимые в липидах, и на основании этого было сделано предположение, что биологические мембранны состоят из тонкого слоя фосфолипидов. На самом деле, на поверхности раздела полярной и неполярной среды (например, воды и воздуха) молекулы фосфолипидов образуют мономолекулярный (одномолекулярный) слой. Их полярные “головы” погружены в полярную среду, а неполярные “хвосты” ориентированы в сторону неполярной среды. Поэтому и можно было предположить, что биологические мембранны построены из монослоя липидов.

В 1925 г. Гортер и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в два раза больше суммарной площади эритроцитов. Гортер и Грендел экстрагировали липиды из гемолизированных эритроцитов ацетоном, затем выпаривали раствор на поверхности воды и изменили площадь образованной монослоя мономолекулярной пленки

липидов. На основании результатов этих исследований была высказана идея, что липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя (рис. 1.1).

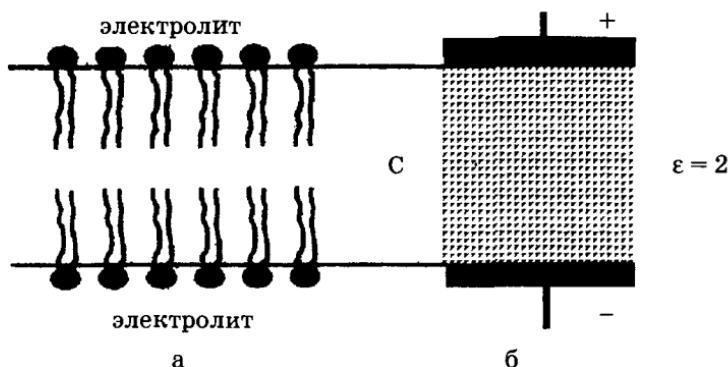


Рис. 1.1. Бимолекулярный слой липидов (а);
мембрана как конденсатор (б),

(С – электрическая емкость, ϵ – диэлектрическая проницаемость)

Эту гипотезу подтвердили исследования электрических параметров биологических мембран (Коул и Кертиз, 1935 г.): высокое электрическое сопротивление $\approx 10^7 \text{ Ом}\cdot\text{м}^2$ и большая емкость $\approx 0,5 \cdot 10^{-2} \Phi/\text{м}^2$.

Биологическую мембрану можно рассматривать как *электрический конденсатор* (рис. 1.1), в котором пластинами являются электролиты наружного и внутреннего растворов (внеклеточного и цитоплазмы) с погруженными в них головами липидных молекул. Проводники разделены диэлектрическим слоем, образованным неполярной частью липидных молекул – двойным слоем их хвостов. Липиды – диэлектрики с диэлектрической проницаемостью $\epsilon \approx 2$.

Емкость плоского конденсатора

$$C = \frac{\epsilon \epsilon_0 S}{d},$$

где электрическая постоянная $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{12} \Phi/\text{м}$, d – расстояние между пластинами конденсатора, S – площадь пластин.

Удельная емкость (на единицу площади)

$$C_{уд} = \frac{\epsilon \epsilon_0}{d}.$$

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

$$d = \frac{\varepsilon \varepsilon_0}{C_{уд}} = \frac{8,85 \cdot 10^{-12} \cdot 2}{0,5 \cdot 10^{-2}} \text{ м} \approx 3,5 \text{ нм.}$$

Это как раз соответствует по порядку величины толщине неполярной части бимолекулярного слоя липидов, сложенных определенным образом.

Однако мембрана – это не только липидный бислой. Имелись экспериментальные данные, которые свидетельствовали о том, что биологическая мембрана состоит и из белковых молекул. Например, при измерении поверхностного натяжения клеточных мембран было обнаружено, что измеренные значения коэффициента поверхностного натяжения значительно ближе к коэффициенту поверхностного натяжения на границе раздела белок-вода (около 10^{-4} Н/м), нежели на границе раздела липид-вода (около 10^{-2} Н/м). Эти противоречия экспериментальным результатам были устранены Даниелли и Девсоном, предложившими в 1935 г. так называемую бутербродную модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембраниологии в течение почти 40 лет. Согласно этой модели мембрана – трехслойная. Она образована двумя расположенными по краям слоями белковых молекул с липидным бислоем посередине; образуется нечто вроде бутерброда: липиды, наподобие масла, между двумя “ломтями” белка.

Однако по мере накопления экспериментальных данных пришлось в конце концов отказаться и от бутербродной модели строения биологических мембран.

Огромную роль в развитии представлений о строении биологических мембран сыграло все большее проникновение в биологию физических методов исследования.

Большую информацию о структуре мембран, о взаимном расположении атомов мембранных молекул дает рентгеноструктурный анализ, основанный на дифракции коротковолновых рентгеновских лучей на атомарных структурах. Рентгеноструктурный анализ позволяет обнаруживать упорядоченность в расположении атомов и определять параметры упорядоченных структур (например, расстояния между кристаллографическими плоскостями). Исследования дифракции рентгеновских лучей на мемbrane подтвердили относительно упорядоченное рас-

положение липидных молекул в мембране – двойной молекулярный слой с более или менее параллельно расположеными жирнокислыми хвостами, дали возможность точно определить расстояние между полярной головкой липидной молекулы и метильной группой в конце углеводородной цепи.

Наибольшие успехи в раскрытии особенностей строения биологических мембран были достигнуты в *электронно-микроскопических* исследованиях. Как известно, световой микроскоп не позволяет рассмотреть детали объекта, меньшие примерно половины длины световой волны (около 200 нм). В световом микроскопе можно разглядеть отдельные клетки, однако он совершенно не пригоден для изучения биологических мембран, толщина которых в 20 раз меньше предела разрешения светового микроскопа. Разрешающая способность микроскопа ограничена явлением дифракции. Поэтому, чем меньше длина волны по сравнению с деталями исследуемого объекта, тем меньше искажения. Предел разрешения пропорционален длине волны.

В электронном микроскопе вместо светового пучка на исследуемый объект направляется пучок электронов, разогнанных до больших скоростей.

Известно, что электронам с высокими скоростями тоже присущи волновые свойства, в том числе явление дифракции. Однако при достаточно больших скоростях, согласно формуле де Бройля, длина волны мала и соответственно мал предел разрешения. Так, если электроны ускоряются электрическим полем с напряжением 10^5 В, их скорость достигает 10^6 м/с, длина волны уменьшается и предел разрешения составляет порядка 0,1 нм, что позволяет рассмотреть отдельные детали строения биологических мембран.

В электронном микроскопе достигается увеличение в сотни тысяч раз, что дало возможность исследовать строение клетки, клеточных органелл и биологических мембран.

Недостатком электронной микроскопии является деформация живого объекта в процессе исследования. Перед началом электронномикроскопических исследований клетка проходит через многие стадии предварительной обработки: обезвоживание, закрепление, ультратонкий срез, обработка препаратов веществами, хорошо рассеивающими электроны (например, золотом, серебром, осмием, марганцем и т.п.). При этом изучаемый объект значительно изменяется. Несмотря на это, успехи в изучении клетки при помощи электронного микроскопа несомненны.

При помощи электронной микроскопии удалось получить изображение биологических мембран, на снимках видно трехслойное строение мембранны.

Новая информация о строении мембраны была получена с помощью метода “замораживание-скол-травление”. По этому методу клетку охлаждают до очень низкой температуры в жидком азоте. Охлаждение проводится с очень большой скоростью (около 1000 градусов в секунду). При этом вода, содержащаяся в препарате, переходит в твердое аморфное состояние. Затем клетки раскалываются специальным ножом и помещаются в вакуум. Замерзшая вода быстро возгоняется, освобождая поверхность скола (этот процесс и называют травлением). После травления получают реплику (отпечаток со сколотой поверхности) и фотографируют в электронном микроскопе. Замороженные мембранные могут при раскалывании расщепляться в разных направлениях, в том числе и вдоль границы двух липидных монослоев, и поэтому можно видеть их внутреннее строение.

Было обнаружено, что имеются белковые молекулы, погруженные в липидный бислой и даже прощающие его насквозь. Это привело к существенному изменению представлений о строении мембраны.

Современное представление о структуре мембраны. Совокупность результатов, полученных физическими и химическими методами исследования, дала возможность предложить новую *жидкостно-мозаичную* модель строения биологических мембран (Сингер и Никольсон, 1972 г.). Согласно Сингеру и Никольсону, структурную основу биологической мембраны образует двойной слой фосфолипидов, инкрустированный белками (рис. 1.2). Различают поверхностные (или периферические) и интегральные белки.

Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии. Это позволяет сравнить мембрану с фосфолипидным морем, по которому плавают белковые “айсберги”. Одним из подтверждений жидкостно-мозаичной модели является и тот факт, что, как установил химический анализ, в разных мембранах соотношение между содержанием белков и фосфолипидов сильно варьирует: в миелиновой мембране белков в 2,5 раза меньше, чем липидов, а в эритроцитах, напротив, белков в 2,5 раза больше, чем липидов. При этом, согласно современной модели, соотношение количества белков и липидов во всех мембранах должно быть примерно одинаково. Тот факт, что не вся поверхность биологической мембраны покрыта белками, показал и метод ядерного магнитного резонанса (см. § 3). Так, например, более чем половина поверхности мембраны кишечной палочки образована полярными головами липидов.

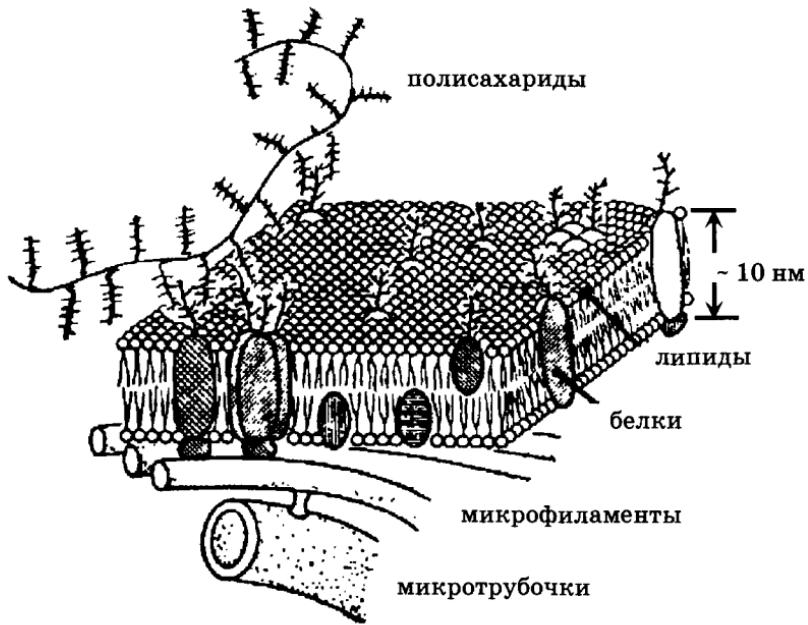


Рис. 1.2. Жидкостно-мозаичная модель плазматической мембраны (объяснения в тексте)

Кроме фосфолипидов и белков, в биологических мембранах содержатся и другие химические соединения. В мембранах животных клеток много холестерина (в сравнимом количестве с фосфолипидами и белками). Есть в мембранах и другие вещества, например гликолипиды, гликопротеиды.

Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны в настоящее время общепринята. Однако, как всякая модель, она дает довольно упрощенную картину строения мембраны. В частности, обнаружено, что белковые “айсберги” не всегда свободно плавают в липидном море, а могут быть “заякорены” на внутренне (цитоплазматические) структуры клетки. К таким структурам относятся микрофиламенты и микротрубочки (рис. 1.2). Микротрубочки – полые цилиндры диаметром около 300 нм из особого белка (тубулина) играют, по-видимому, важную роль в функционировании клетки.

Выяснилось также, что не все липиды в мембране расположены по принципу бислоя. Физические методы исследования показали, что липидная фаза мембран содержит также участки, где липидные молекулы не образуют двойной слой.

Изучением сложного химического состава мембран, мембранных белков и других веществ занимается биохимия. Основная область приложения биофизики – структурная основа мембраны, а именно двойной слой фосфолипидных молекул.

Молекула фосфолипида лецитина содержит полярную голову (производную фосфорной кислоты) и длинный неполярный хвост (остатки жирных кислот). В голове фосфолипидной молекулы лецитин имеются две заряженные группы, расположенные на некотором расстоянии друг от друга. Два разноименных заряды, равные по абсолютной величине, образуют электрический диполь.

В мембранах содержатся разные фосфолипиды. Например, в мемbrane эритроцитов их около 20 видов. Варьирует химическая формула полярной головы молекулы. У некоторых фосфолипидов головы кроме двух зарядов противоположного знака, создающих дипольный момент, но оставляющих молекулу в целом нейтральной, несут один некомпенсированный отрицательный заряд, вследствие чего молекула оказывается заряженной отрицательно. Углеводородные хвосты фосфолипидной молекулы содержат приблизительно 20 атомов углерода, в хвосте может быть 1 – 4 двойных ненасыщенных связей.

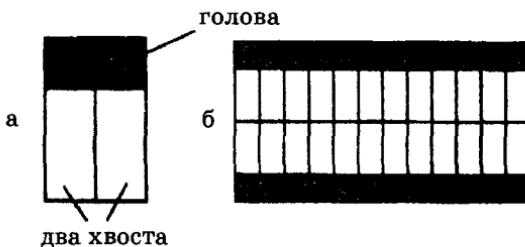


Рис. 1.3. Схематичное изображение “двухвостовой” фосфолипидной молекулы (а) и схема образования бислойной мембраны из таких молекул (б)

Полярные головы молекул фосфолипидов – гидрофильны, а их неполярные хвосты – гидрофобны. В смеси фосфолипидов с водой термодинамически выгодно, чтобы полярные головы были погружены в состоящую из полярных молекул воду, а их неполярные хвосты были бы расположены подальше от воды. Такое расположение амфифильных (имеющих и гидрофильную, и гидрофобную части) молекул соответствует наименьшему значению энергии Гиббса по сравнению с другими возможными расположениями молекул.

Очень существенным является то обстоятельство, что молекулы фосфолипидов имеют два хвоста. Такая молекула в пространстве имеет форму, близкую к цилиндру (рис. 1.3). Из молекул фосфолипидов в водной среде происходит самосборка бислойной мембраны. Присутствие молекул с одним хвостом (лизолецитин), имеющих в пространстве форму, близкую к конусу, разрушает клеточные мембранны (рис. 1.4). Фосфолипидные молекулы, лишенные одного из хвостов, образуют поры в бислойной мембране, нарушаясь барьераная функция мембран.

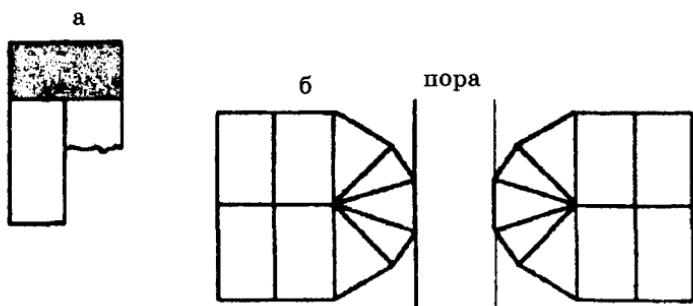


Рис. 1.4. Схематичное изображение “однохвостовой” фосфолипидной молекулы (а) и схема образования поры в мембране из “однохвостовых” молекул

§ 3. Динамика мембран. Подвижность фосфолипидных молекул в мембранах

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

Липидная фаза биологических мембран при физиологических условиях (температуре, давлении, химическом составе окружающей среды) находится в жидкок агрегатном состоянии. Это доказано методами флюоресцентного анализа (с использованием флюоресцентных зондов и меток), электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), с использованием спиновых зондов и меток, и ядерного магнитного резонанса (ЯМР).