

§ 5.1. ТЕРМОДИНАМИКА МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Как показано в гл. 3 и 4, химическая энергия, запасенная прежде всего в АТФ, трансформируется в осмотическую и электрическую работу в процессах мембранного транспорта. Это — биоэнергетические процессы. К биоэнергетическим относятся и механохимические процессы, в которых химическая энергия трансформируется в механическую работу.

Жизнь невозможна без механического движения. Будучи «химическими машинами», клетки и организмы выполняют механическую работу, перемещаясь как целое или совершая перемещение своих функциональных частей в поле силы тяжести, преодолевая сопротивление воздушной или водной среды и т. д. Механическая работа производится в изотермических и изобарических условиях. Ее источником поэтому не может быть тепловая энергия. Естественно думать, что механическая работа живой системы совершается за счет химической или (и) электрической энергии.

Конформационные превращения белков — изменения высших уровней их структуры — означают пространственное перемещение атомов и групп атомов, входящих в состав макромолекул. Если такое перемещение происходит в поле внешних сил, то совершается механическая работа. Ее источником может быть свободная энергия, выделяемая в ходе ферментативной реакции. Можно, следовательно, трактовать конформационное превращение белка как механохимический процесс, т. е. процесс прямого превращения химической энергии в механическую работу. Частным случаем такого процесса, реализуемого на микроскопическом уровне, является создание напряженного состояния субстрата в фермент-субстратном комплексе (см. [1]). В свою очередь, механическая энергия, запасенная в деформированной молекуле субстрата, используется для его химического превращения.

Пока дело ограничивается ферментативной реакцией в растворе, такое толкование дает мало нового. В любой химической реакции происходит перемещение атомов, но это не дает оснований называть реакцию механохимическим процессом.

Фермент — очень большая молекула, но говорить о механохимических ее свойствах не имеет смысла. Это всего лишь замена термина «конформационный» на термин «механический».

Говоря о механической работе, мы имеем в виду движение в поле внешних сил макроскопической, надмолекулярной системы. Очевидно, что если молекулы фермента входят в состав такой системы, то при надлежащей ее организации она может в целом осуществлять механическое движение и производить работу за счет свободной энергии химической ферментативной реакции. Следовательно, рабочие вещества механохимических систем в живых организмах или часть таких веществ могут быть белками — ферментами. Более того, они должны ими быть. Источник механической работы — химическая энергия. Но любые биохимические реакции протекают с непрямым участием ферментов. Механохимия живых систем есть ферментативная механохимия. Как мы увидим, трудно представить себе какую-либо иную причину механохимического процесса в клетке и в организме, кроме конформационных превращений белков в надмолекулярных системах, в результате которых развиваются тянущие или толкающие усилия.

Прежде чем обратиться к непосредственному рассмотрению биологических механохимических процессов, необходимо ознакомиться с их термодинамическими основами.

Превращение химической энергии в механическую работу и обратно может выполняться циклически работающей «машиной», возвращающейся после каждого цикла в исходное состояние. Изменения, состоящие в переходе рабочих веществ от одного химического потенциала к другому с одновременным производством работы, происходят во внешней по отношению к «машине» среде. Такой «машиной» может быть, например, полимерное полиэлектролитное волокно, длина которого изменяется при изменении pH среды. Термодинамическое исследование механохимических циклов было проведено в работах [2—4].

Общее изменение внутренней энергии системы («машины») равно

$$dE = T dS - dW + \sum_i \mu_i dn_i + \psi de + \dots, \quad (5.1)$$

где dW — механическая работа, производимая системой, dn_i — количество i -го вещества, введенного из резервуара в систему при химическом потенциале μ_i , ψde — электрическая работа и т. д. Ограничимся термическими, механическими и химическими процессами и отвлечемся от ψde и последующих членов уравнения.

Механическую работу можно в соответствии с теорией упругости выразить через тензоры напряжений p_{jk} и деформации σ_{jk} [5]

$$dW = V \sum_{j, k=1}^3 p_{jk} d\sigma_{jk}, \quad (5.2)$$

где V — объем твердого тела. Для однородных твердых тел удобнее выразить работу через силы и смещения

$$dW = \sum_{j=1}^3 f_j dl_j. \quad (5.3)$$

Будем рассматривать однородные волокна длины l , растягиваемые силой f . Имеем

$$dE = T dS - p dV + f dl + \sum_i \mu_i dn_i. \quad (5.4)$$

Интегральная форма этого уравнения записывается в виде

$$E = TS - pV + fl + \sum_{i=1}^s \mu_i n_i + \mu_q n_q, \quad (5.5)$$

где n_q — число молекул, образующих волокно. Число независимых переменных равно $s + 4$. Можно переписать (5.5) в форме

$$E = \sum_{j=1}^{s+4} P_j K_j, \quad (5.6)$$

где P_j — интенсивные величины T , p , f , μ_i , μ_q , а K_j — экстенсивные переменные S , V , l , n_i и n_q . Термодинамические потенциалы имеют вид

$$\Psi^{(r)} = E - \sum_{j=1}^r P_j K_j; \quad (5.7)$$

P_j и K_j выражаются через частные производные $\Psi^{(r)}$:

$$\frac{\partial \Psi^{(r)}}{\partial P_j} = -K_j, \quad 1 \leq j \leq r, \quad (5.8)$$

$$\frac{\partial \Psi^{(r)}}{\partial K_k} = P_k, \quad r + 1 \leq k \leq s + 4, \quad (5.9)$$

причем все переменные, кроме той, по которой производится дифференцирование, принимаются постоянными. С помощью таких выражений находят обычные перекрестные соотношения

между производными, например

$$\left. \begin{aligned} \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{l, n_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{\mu_i, n_j}; & \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{l, \mu_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{\mu_i, \mu_j}; \\ \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{n_i, n_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{f, n_j}; & \left(\frac{\partial f}{\partial \mu_i}\right)_{n_i, \mu_j} &= -\left(\frac{\partial n_i}{\partial l}\right)_{f, \mu_j}. \end{aligned} \right\} (5.10)$$

Допустим, что имеется лишь один реагирующий химический компонент. Тем самым, при постоянных p и T система имеет две степени свободы, скажем f и μ . Можно изобразить рабочий цикл «механохимической машины» на плоскости f, l . Каждому значению μ будет отвечать кривая $l(f)$, которую можно назвать *изопотенциалом* (подобно изотерме на плоскости p, V для теплового двигателя). Все точки такой кривой можно получить из механического опыта, проводимого при постоянном значении μ .

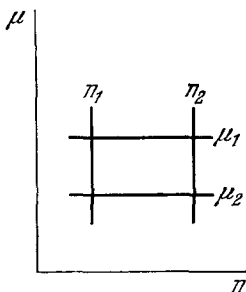


Рис. 5.1. Механохимический цикл на плоскости μ, n .

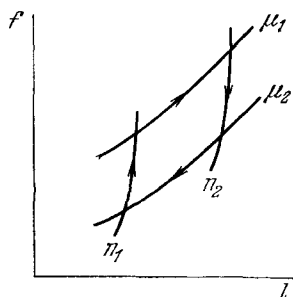


Рис. 5.2. Механохимический цикл на плоскости f, l .

Наоборот, кривая $l(f)$ при постоянном значении n подобна адиабате. Такая кривая именуется *изофорой*. На плоскости μ, n изопотенциалы и изофоры представляются прямыми линиями, параллельными осям координат (рис. 5.1). Кривые $\mu(n)$ на этой плоскости называются *изотоническими* при постоянной силе и *изометрическими* при постоянной длине образца.

Цикл на плоскости f, l изображен на рис. 5.2. Работа представится выражением

$$W = - \oint f dl = \int_1^2 \mu dn + \int_2^1 \mu dn = (\mu_1 - \mu_2) \Delta n, \quad (5.11)$$

сходным с выражением для работы в цикле Карно

$$W = \oint p dV = (T_1 - T_2) \Delta S.$$

Существенное различие этих двух случаев состоит в том, что

механохимическую машину нельзя охарактеризовать коэффициентом полезного действия, подобным

$$\eta_{\text{терм}} = \frac{T_1 - T_2}{T_1},$$

так как химический потенциал не имеет абсолютного нуля. К. п. д. механохимического процесса удобно представить в виде отношения работы, полученной в реальном цикле, к работе идеального обратимого цикла

$$\eta' = - \oint f dl / \oint \mu dn. \quad (5.12)$$

Перейдем теперь к неравновесной термодинамике. При растяжении полимерного механохимического волокна в изобарическом и изотермическом процессе происходит изменение свободной энергии [6]

$$(dG)_{T, p} = f dl - \mathcal{A} d\xi, \quad (5.13)$$

где \mathcal{A} — средство, ξ — химическая координата. Уравнение (5.13) определяет внутреннюю механическую силу и средство

$$f = \left(\frac{\partial G}{\partial l} \right)_{\xi, p, T}, \quad (5.14)$$

$$\mathcal{A} = - \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{l, p, T}. \quad (5.15)$$

В равновесном состоянии эти первые производные от G равны нулю. Имеем

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial G}{\partial l} \right)_{\xi} = f &= \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l^2} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta \xi = \left(\frac{\partial f}{\partial l} \right)_{\xi} \delta l + \left(\frac{\partial f}{\partial \xi} \right)_l \delta \xi, \\ \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_l = - \mathcal{A} &= \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} \delta l + \left(\frac{\partial^2 G}{\partial \xi^2} \right)_l^{\text{eq}} \delta \xi = - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l} \right)_{\xi} \delta l - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial \xi} \right)_l \delta \xi. \end{aligned}$$

Здесь индекс eq относится к равновесному состоянию, δl , $\delta \xi$ — отклонения l и ξ от равновесных значений. Из написанных соотношений следует

$$\left(\frac{\partial f}{\partial \xi} \right)_l = \left(\frac{\partial^2 G}{\partial l \partial \xi} \right)_{\xi}^{\text{eq}} = - \left(\frac{\partial \mathcal{A}}{\partial l} \right)_{\xi}. \quad (5.16)$$

Значит, если $(\partial f / \partial \xi)_l$ отлично от нуля, то средство \mathcal{A} зависит от длины l .

Сейчас реализованы модельные полиэлектролитные механохимические системы ([1], стр. 171). Поликислотное волокно сильно сокращается при понижении рН, скажем, при добавлении HCl. При увеличении n_{HCl} уменьшается l при постоянной

силе f . Следовательно,

$$\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f < 0.$$

Напротив, в изометрических условиях добавление HCl увеличивает силу

$$\left(\frac{\partial f}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_l > 0.$$

Из дифференциальных термодинамических соотношений следует, что

$$\left(\frac{\partial f}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_l = -\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f \left(\frac{\partial f}{\partial l}\right)_{n_{\text{HCl}}}.$$

Для механической устойчивости необходимо, чтобы $\partial f/\partial l$ было положительным. Значит, действительно, если $(\partial l/\partial n_{\text{HCl}})_f < 0$, то $(\partial f/\partial n_{\text{HCl}})_l > 0$. Обратный эффект состоит в уменьшении рН среды, окружающей поликислотное волокно при его растяжении [7]. Таким образом,

$$-\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f = \left(\frac{\partial \mu_{\text{HCl}}}{\partial f}\right)_{n_{\text{HCl}}}$$

и, так как

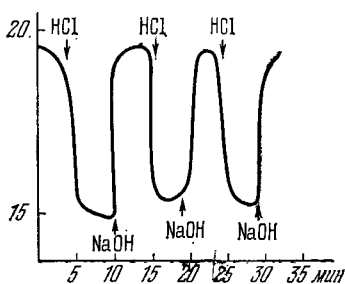
$$-\left(\frac{\partial l}{\partial n_{\text{HCl}}}\right)_f > 0,$$

то

$$\left(\frac{\partial \mu_{\text{HCl}}}{\partial f}\right)_{n_{\text{HCl}}} > 0.$$

Рис. 5.3. Циклическая деформация нуклеогистонового волокна при периодическом изменении рН.

По оси ординат отложена длина волокна в условных единицах.



Механохимическая природа биологической сократительной системы была впервые открыта в классических работах Энгельгардта и Любимовой, изучавших миозин — белок, выделенный из мышечного волокна [8]. При добавлении АТФ наступает сокращение миозиновых волокон, имеющее обратимый характер. Естественно, что происходит и обратный процесс превращения механической работы в химическую энергию сократительного белка. Наблюдалось смещение изоэлектрической точки белка — кератина — при его деформации [9]. В работе [10] было исследовано изменение рН среды при механическом растяжении находящегося в ней нуклеогистонового волокна. На рис. 5.3 показана циклическая деформация нити нуклеогистона при периодическом изменении рН среды.

Механохимия полиэлектролитных волокон, очевидно, определяется конформационными превращениями макромолекул. Превращения эти кооперативны. Константы диссоциации ионизуемых групп в полимере иные, чем для мономера вследствие электростатического отталкивания соседних заряженных групп. Степень отталкивания зависит от конформаций цепи [11, 12]. Эти явления находят свое выражение в кривых потенциометрического титрования полиэлектролитов.

При не очень малых силах f , достаточных для ориентации полиэлектролитной цепи как целого, длина цепи выражается уравнением (см. [1], § 3.3)

$$h = \frac{f}{3k_B T} \bar{h}_0^2. \quad (5.17)$$

Средний квадрат расстояния между концами цепи \bar{h}_0^2 зависит от степени ионизации α , т. е. от рН среды. Если $d\bar{h}_0^2/d\alpha > 0$, то под действием постоянной силы полиэлектролитные цепи растягиваются при ионизации и сокращаются при уменьшении степени ионизации. Если знак производной отрицателен, то эффект рН противоположен. Второй случай реализуется у синтетических полипептидов — размеры клубка уменьшаются с ростом α , так как увеличение степени ионизации разрушает спиральную структуру. Напротив, у синтетических атактических полианионитов длина растет с ростом α . В общем случае [13]

$$\bar{h}_0^2 \approx (\bar{h}_0^2)_{\alpha=0} \exp\left(-\frac{\alpha^2 \Delta E}{k_B T}\right), \quad (5.18)$$

где ΔE — разность энергий взаимодействия свободных зарядов в свернутой и вытянутой конформациях цепи. ΔE есть мера кооперативности системы; если $\Delta E \approx 0$, то цепь некооперативна, \bar{h}_0^2 не зависит от α . Знак производной $d\bar{h}_0^2/d\alpha$ определяется знаком ΔE . Та же теория, основанная на учете кооперативного взаимодействия зарядов, позволяет определить, как должно измениться рН среды при растяжении цепи.

Описанный кооперативный механизм не единственный — возможны также полиэлектролитные механохимические процессы, определяемые изменениями степени связывания ионов.

Таким образом, изменения конформаций цепи, вызванные изменением химического окружения, при воздействии постоянной силы производят механическую работу. Напротив, действующая сила должна менять конформации цепи. В работах Флори [12] и Бирштейн [14] теоретически рассмотрено влияние внешней силы на переходы спираль — клубок в полипептидных цепях. Показано, что если приложенная сила не очень велика, то она стабилизирует спиральную конформацию цепи. Напротив, большая

сила стабилизирует конформацию сильно вытянутого клубка. Смещение температуры перехода может достигь 20—30°C, резкость перехода от силы практически не зависит. В заряженных цепях не очень большая внешняя сила приводит к увеличению степени диссоциации, вызывающей переход при фиксированной температуре. При большой силе степень диссоциации, вызывающая переход, может быть меньше, чем в отсутствие силы. В зависимости от величины приложенной силы при переходе спираль — вытянутый клубок может наблюдаться как увеличение, так и уменьшение размеров цепи в направлении силы.

Ряд положений, следующий из статистического рассмотрения механохимии полиэлектролитных цепей, подлежит дальнейшему экспериментальному исследованию.

Биологические сократительные системы, выполняющие механохимические процессы, далеки от простых полиэлектролитных моделей. Эти процессы непосредственно связаны с ферментативной активностью. Тем не менее, описанные свойства полиэлектролитов весьма существенны для биофизики механохимических явлений.

Очевидно, однако, что рассмотрение равновесных явлений — равновесная термодинамика и статистическая механика — недостаточно для понимания биологической механохимии. Мы имеем здесь дело с кинетическими явлениями в открытых системах. Необходимо теоретическое и экспериментальное исследования кинетики сократительных процессов.

В биологии мы встречаемся с разнообразными механохимическими процессами. Перечислим важнейшие из них:

- 1) Движения животных и их органов — работа мышц;
- 2) движения растений;
- 3) движения клеток — работа жгутиков и ресничек;
- 4) вся совокупность движений в процессах митоза и мейоза;
- 5) движение протоплазмы внутри неделивающейся клетки;
- 6) сократительные процессы в хвостах фаговых частиц;
- 7) механохимические процессы в мембранах;
- 8) движение мРНК относительно рибосом в полисомах;
- 9) механорецепция.

Этот перечень нельзя считать исчерпывающим. Все названные явления происходят в надмолекулярных системах. Соответственно их изучение относится к биофизике клетки. Имеются веские основания считать, что во всех механохимических биологических процессах источником необходимой химической энергии являются макроэргические вещества, прежде всего АТФ. Гидролитическое расщепление АТФ происходит с участием АТФ-азы — фермента или группы ферментов. Рабочими веществами механохимических процессов служат сократительные белки. Открытие АТФ-азной активности одного из них — миозина мышцы, сделанное Энгельгардтом и Любимовой [8], является ключевым. Сократительный белок есть одновременно АТФ-аза.

Энгельгардт сформулировал общий принцип биологической механохимии: «Фермент, катализирующий завершающую биохимическую реакцию функционального обмена, должен являться интегральной частью самого механизма, осуществляющего данную функцию» [15].

Из всех перечисленных явлений лучше всего изучено мышечное сокращение — процесс, представляющий первостепенный интерес для физиологии и биофизики.

§ 5.2. СТРУКТУРА МЫШЦЫ И МЫШЕЧНЫХ БЕЛКОВ

Позвоночные животные имеют три вида мышц — гладкие мышцы в стенках полых органов, поперечно-полосатые мышцы сердца и поперечно-полосатые скелетные мышцы. Последующее изложение относится преимущественно к последнему виду мышц.

Мышцы имеют волокнистое строение. Под обычным микроскопом без труда наблюдается поперечно-полосатая структура мышечных волокон. Отдельное мышечное волокно имеет диаметр 0,02—0,08 мм. Оно окружено мембраной, толщина которой около 100 Å. Волокно состоит из 1000—2000 более тонких волокон — *миофибрилл* диаметром 1—2 мкм. Фибриллы имеют оболочку, образованную трубочками и пузырьками саркоплазматического ретикулула, о роли которых сказано дальше. Мышца содержит также митохондрии, расположенные между фибриллами. Микроскопическое строение миофибриллы показано на рис. 5.4. Миофибрилла в свою очередь состоит из ряда белковых нитей — толстых и тонких. Симметрия их расположения в поперечном сечении гексагональна (рис. 5.5). На рис. 5.6 показано продольное сечение миофибриллы, а на рис. 5.7 — ее схематическое строение. Черные линии на рис. 5.6 (они отчетливо видны и на рис. 5.4) — это так называемые Z-линии (Z-диски, имеющие вид линий в продольном сечении). Участок миофибриллы между двумя Z-линиями называется *саркомером*. Он разделяется на несколько зон, хорошо наблюдаемых с помощью фазово-контрастной микроскопии. Центральная A-полоса анизотропна и обладает двойным лучепреломлением. К ней примыкают с двух сторон изотропные I-полосы. При растяжении покоящейся мышцы в середине A-полосы появляется зона H меньшей плотности. Эти детали структуры изображены схематически на рис. 5.6 и 5.7.

Электронно-микроскопические исследования, проведенные Хаксли и Хансон [16, 17], позволили установить расположение толстых и тонких белковых нитей в саркомере (см. рис. 5.5 и 5.7). Толстые нити образованы белком *миозином*, тонкие — в основном белком *актином*. Каждая толстая нить состоит из