

Идея о кооперативных, аллостерических свойствах актина и миозина высказывалась не раз.

Введем кооперативность в кинетику действия мостиков, предположив, что свободная энергия активации  $G$  сама является функцией числа работающих мостиков

$$G = G_0 - \omega G' = G_0 - [r + (1 - r) f/f_0] G'. \quad (5.69)$$

Характеристическое уравнение получается в виде ( $b$  имеет прежнее значение с  $G$ , замененным на  $G_0$ )

$$(a + f) v = b \exp\left(\frac{rG'}{k_B T}\right) \exp\left[\frac{(1-r)fG'}{f_0 k_B T}\right] (f_0 - f). \quad (5.70)$$

При заметных значениях  $G'/k_B T$  кривая  $v(f)$  оказывается выпуклой, а не вогнутой. Для согласования с опытом следует предположить, что  $G' \ll k_B T$ . В этом случае

$$(a + f) v \approx b \left[1 + \frac{1-r}{f_0} (a + f) \frac{G'}{k_B T}\right] (f_0 - f), \quad (5.71)$$

т. е. кооперативность рассматриваемого типа вносит лишь незначительную поправку в уравнение Хилла, что не представляет особого интереса.

Исходная идея изложенной теории состоит во влиянии внешней силы  $f$  на активационный процесс замыкания мостика и конформационного превращения белка. В свое время Полиссар предполагал экспоненциальную зависимость скорости некоей неизвестной реакции, определяющей сокращение, от внешней силы [127] (см. также [53]). Т. Хилл также вводил сходную экспоненциальную зависимость в своей теории фазового перехода в мышце [119]. Эти работы, однако, не давали возможности получить характеристическое уравнение и истолковать его константы. Нельзя считать изложенную теорию молекулярной в истинном смысле слова, так как она не дает реальной молекулярной модели работы мышцы. Построение молекулярной теории невозможно на современном уровне знаний о строении и взаимодействии мышечных сократительных и регуляторных белков и об их конформационных превращениях. Соответственно задачи исследования структуры и свойств этих белков, исследования их поведения в надмолекулярной мышечной системе особенно актуальны.

## § 5.7. ТЕОРИЯ ТЕРМОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МЫШЦЫ

В мышце, рассматриваемой как изолированная система, работа и тепло, выделяемые в элементарном акте, выражаются через уменьшение химической энергии

$$f_0 L + q_0 = - \sum_i \mu_i \Delta n_i, \quad (5.72)$$

или, согласно закону сохранения энергии,

$$\Delta E = T \Delta S + f_0 L + \sum_i \mu_i \Delta n_i = 0, \quad (5.73)$$

причем  $T \Delta S = q_0$ . Изменение свободной энергии в рассмотренном элементарном акте составляет, как мы видели,  $f_0 l \cos \theta$  (см. стр. 249). Имеем

$$\Delta G = \Delta E - T \Delta S = f_0 L + \sum_i \mu_i \Delta n_i = f_0 l \cos \theta,$$

откуда

$$f_0 = - \frac{\sum_i \mu_i \Delta n_i}{L - l \cos \theta}. \quad (5.74)$$

Максимальная сила  $f_0$  (и, следовательно,  $P_0$ ) должна слабо расти с температурой как химический потенциал, т. е. пропорционально абсолютной температуре. Это согласуется с опытом.

Коэффициент полезного действия мышцы, согласно изложенной теории, равен

$$\eta' = \frac{f_0 L}{f_0 L + q_0} = - \frac{f_0 L}{\sum_i \mu_i \Delta n_i}. \quad (5.75)$$

Если бы выполнялся закон сохранения энергии (5.73), то

$$q_0 = T \Delta S = - f_0 l \cos \theta, \quad \eta' = \frac{1}{1 - (l/L) \cos \theta}.$$

При  $\cos \theta > 0$  получаем  $\eta' > 1$ , т. е. мы приходим к противоречию.

Как мы видели, проблема теплопродукции мышцы не проста (см. § 5.4). Она не может быть решена на основе столь простых соображений. Необходимо учесть запасание энергии и различные способы ее выделения. Соответствующая модельная теория предложена в работе [66]. Авторы этой работы считают, что энергия, освобождаемая при сокращении мышцы, должна слагаться из запасенной энергии, диссипируемой в центрах одного типа, и энергии, получаемой за счет распада АТФ в центрах другого типа. Теплота укорочения получается из диссипированной энергии. Предполагается, тем самым, что в двух типах центров действуют две различные актомиозиновые АТФ-азы. Факты, свидетельствующие в пользу такого предположения, состоят в следующем.

1. Центры Р и S, связывающие две молекулы АТФ (или АДФ), находятся в головках миозина [128]; в Р-центре лимитирующая стадия для Mg-зависимой АТФ-азы есть отделение

продукта, т. е. АДФ и  $\Phi_n$  от миозина [129], в S-центре лимитирующая стадия есть гидролиз АТФ [55].

2. Актин активирует гидролиз АТФ в S-центре миозина.

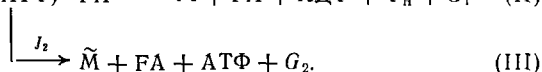
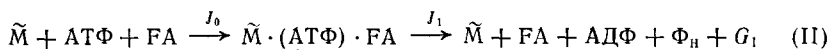
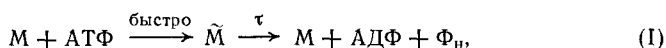
3. Реакция Р-центра с АТФ необходима для сокращения.

4. Актин ускоряет освобождение продукта Р-центрами [129].

5. Энергия запасается в комплексе миозин — продукт. Факты, свидетельствующие об этом, приведены в работе [66]. И, наконец,

6. При контакте с актином в присутствии АТФ миозин не образует «комплекса окоченения» (rigor complex) с актином, т. е. миозин всегда нагружен продуктом и (или) субстратом.

Из этих шести положений и из предположений, приведенных на стр. 237, следует модель работы актомиозиновой АТФ-азы [66]:



Здесь  $M$  — миозин,  $\tilde{M}$  — комплекс миозин — продукт, т. е. комплекс  $M \cdot \text{АДФ} \cdot \Phi_n$ , запасующий энергию,  $\text{ФА}$  — F-актин,  $G_1$  — свободная энергия, выделяющаяся при гидролизе одной молекулы АТФ,  $G_2$  — энергия, выделяемая  $\tilde{M}$ ,  $\tau$  — время жизни запасенной энергии,  $J_0, J_1, J_2$  — реакционные потоки (скорости реакций).

Процесс (I) представляет реакции в Р-центре. Энергия, запасенная в комплексе  $\tilde{M}$ , выделяется в процессах (II) или (III). При исчерпании запасенной энергии комплекс  $\tilde{M}$  освобождает АДФ и  $\Phi_n$  и затем вновь реагирует с АТФ и запасает энергию. Процессы (II) и (III) происходят при сокращении мышцы, в Р-центре. АТФ-аза катализирует гидролиз АТФ в S-центре, используя часть запасенной энергии, генерируемой в Р-центре. Это — своеобразная аллостерическая система.

Изменение свободной энергии в единицу времени в процессах (II) и (III) равно

$$-\dot{G} = J_1 G_1 + J_2 G_2. \quad (5.76)$$

В стационарном режиме

$$J_0 = J_1 + J_2. \quad (5.77)$$

Поток  $J_1$  выражает скорость гидролиза АТФ в S-центре. Он равен произведению числа комбинаций актин — миозин, создающих напряжение (числа работающих мостиков), на число оборотов реакции (II). Первый множитель пропорционален нагрузке

$P$ , второй линейно зависит от скорости укорочения  $V$ . Поэтому

$$J_1 = P(K_1V + K_2) \equiv K_1PV + K_2P, \quad (5.78)$$

где  $K_1$  и  $K_2$  — константы. Перепишем (5.76) в виде

$$-\dot{G} = J_0G_1 - J_2(G_1 - G_2) \quad (5.79)$$

и предположим, что поток  $J_2$  линейно зависит от «средства»  $\tilde{A} = G_1 - G_2$  и нагрузки

$$-J_2 = c_1\tilde{A} + c_2P. \quad (5.80)$$

Наконец, пусть скорость укорочения линейно зависит от тех же величин

$$-V = c_3\tilde{A} + c_4P. \quad (5.81)$$

Из соотношений (5.77), (5.78), (5.80) и (5.81) следует уравнение Хилла в форме

$$\left(P + \frac{c_1}{K_1c_3}\right)V = \frac{J_0}{K_1} - \left(\frac{K_2}{K_1} + \frac{c_1c_4 - c_2c_3}{c_3K_1}\right)P. \quad (5.82)$$

Определим коэффициенты  $c_i$ . При  $P = 0$  имеем  $V = V_{\max}$ ,  $\tilde{A} = \tilde{A}_m$ ,  $J_2 = J_0$  и

$$c_3 = -\frac{V_{\max}}{\tilde{A}_m}, \quad c_1 = -\frac{J_0}{\tilde{A}_m}. \quad (5.83)$$

При  $P = P_0$  имеем  $V = 0$ ,  $\tilde{A} = \tilde{A}_0$  и

$$c_4 = -c_3 \frac{\tilde{A}_0}{P_0} = \frac{\tilde{A}_0}{\tilde{A}_m} \frac{V_{\max}}{P_0}, \quad (5.84)$$

$$c_2 = K_2 + \frac{\tilde{A}_0 - \tilde{A}_m}{\tilde{A}_m} \frac{J_0}{P_0}. \quad (5.85)$$

Подставляя эти значения  $c_i$  в (5.82), находим

$$\left(P + \frac{J_0}{V_{\max}K_1}\right)V = \frac{J_0}{K_1P_0}(P_0 - P), \quad (5.86)$$

т. е. снова получаем уравнение Хилла, в котором

$$a = J_0/K_1V_{\max}, \quad b = J_0/K_1P_0. \quad (5.87)$$

Одновременно имеем

$$\tilde{A} = \frac{P}{P_0}\tilde{A}_0 + \frac{V}{V_{\max}}\tilde{A}_m. \quad (5.88)$$

При выводе уравнения Хилла сократились все члены, содержащие  $K_2$  и значения «средства»  $\tilde{A}_0$  и  $\tilde{A}_m$  при нулевой и максимальной

ной скорости укорочения. Сопоставление с теорией, изложенной в § 5.6, показывает, что в расчете на один мостик

$$J_0 = \frac{b}{L} = \frac{f_0 l \cos \theta}{h} \frac{r}{1-r} \exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right) \quad (5.89)$$

и

$$K_1 = (f_0 L)^{-1}, \quad (5.90)$$

т. е. уравнение (5.78) имеет вид

$$J_1 = \frac{fv}{f_0 L} + K_2 f. \quad (5.91)$$

Считая, что энтальпия гидролиза АТФ примерно равна соответствующей свободной энергии [58], находим количество тепла, выделяемое в единицу времени

$$\dot{Q} = -\dot{G} - PV = J_1 G_1 + J_2 G_2 - PV. \quad (5.92)$$

При  $P = P_0$  и  $V = 0$  имеем

$$\dot{Q}_0 = K_1 b P_0 [G_1 - \tilde{A}_0 (1 - K_2/K_1 b)]. \quad (5.93)$$

По определению скорость выделения тепла укорочения равна

$$\dot{Q} - \dot{Q}_0 = \alpha V. \quad (5.94)$$

Из приведенных формул и уравнения Хилла получим

$$\begin{aligned} \frac{\alpha}{P_0} = & -\frac{K_1 \tilde{A}_m b}{V_{\max}} \left( \frac{x^2 + a/P_0}{x + a/P_0} \right) + x^2 K_1 \tilde{A}_0 \left( 1 - \frac{K_2}{K_1 b} \right) + \\ & + x K_1 \left\{ \tilde{A}_0 \left[ 1 - \frac{K_2}{K_1 b} (1 + a/P_0) \right] + \frac{\tilde{A}_m K_2}{K_1 V_{\max}} - \frac{1}{K_1} \right\} + \\ & + \frac{a K_1 \tilde{A}_0}{P_0} \left( 1 - \frac{K_2}{K_1 b} \right), \quad (5.95) \end{aligned}$$

где  $x = P/P_0$ .

Для нахождения  $\tilde{A}_m$  и  $\tilde{A}_0$  это сложное уравнение приравнивается выражению (5.27)  $\alpha/P_0 = 0,16 + 0,18x$  при  $x = 0$  и  $x = 0,5$ . В области  $0 < x < 0,5$  получается хорошее согласие с результатами Хилла. То же относится к полной скорости выделения энергии. Эффективность мышцы (как функции  $x$ )

$$\eta'(x) = \frac{PV}{\dot{E}} = \frac{b}{\dot{E}/P_0} \frac{x(1-x)}{x + a/P_0}, \quad (5.96)$$

вычисленная на основании излагаемой теории, хорошо согласуется с найденной Хиллом (рис. 5.23).

Из экспериментальных данных следует, что  $G_1$ , т. е. изменение свободной энергии при гидролизе одной молекулы АТФ есть величина порядка 10 ккал/моль.

Скорость выделения энергии

$$\dot{E} = -\dot{G} = J_0 G_1 + J_2 G_2. \quad (5.79)$$

За время  $\Delta t$  выделяется энергия

$$\begin{aligned} \Delta E &= \int_0^{\Delta t} G_1 (K_1 P V + K_2 P) dt + \int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt = \\ &= G_1 K_1 \int_0^{\Delta t} P V dt + G_1 K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + \int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt \approx \\ &\approx \Delta \text{ работы} + \Delta \text{ тепла}. \quad (5.97) \end{aligned}$$

Процессу (III) отвечает последний интеграл в правой части. Тепло выделяется как в процессе (II), так и в (III). При  $P = 0$  остается лишь последний член — диссипирует запасенная энергия. При изометрическом сокращении  $V = 0$ , т. е. за выделенное тепло ответственны два интеграла. Чем больше скорость укорочения, тем больше энергии превращается в тепло и тем меньше вклад процесса (II). Не имеет смысла разделять теплоту на теплоту укорочения и теплоту поддержания.

Химические изменения за то же время выражаются формулой

$$\begin{aligned} -\Delta[\text{АТФ}] &= K_1 \Delta \text{ работы} + \\ &+ K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + \int_0^{\Delta t} j dt, \quad (5.98) \end{aligned}$$

где  $j \approx 0$  при  $\Delta t < \tau$ , так как предполагается, что энергия запасена в комплексе  $\bar{M}$  до начала сокращения. Этим изменениям соответствует энергия

$$G_1 (-\Delta \text{АТФ}) = G_1 K_1 \Delta \text{ работы} + G_1 K_2 \int_0^{\Delta t} P dt + G_1 \int_0^{\Delta t} j dt. \quad (5.99)$$

Кажущееся нарушение баланса между выделившимся теплом и химическим превращением определяется тем, что

$$\int_0^{\Delta t} J_2 G_2 dt > G_1 \int_0^{\Delta t} j dt.$$

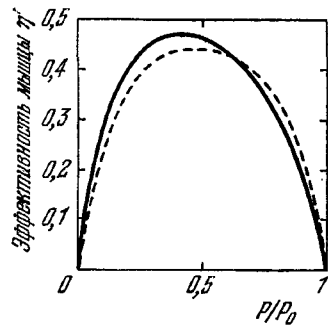


Рис. 5.23. Зависимость эффективности мышцы от нагрузки. Сплошная линия получена теоретически [66], пунктирная найдена на опыте [45].

Разность этих двух интегралов равна заранее запасенной энергии. Время жизни запасенной энергии

$$\tau = \frac{\text{запасенная энергия}}{J_2 G_2},$$

так как  $J_2 G_2$  есть скорость освобождения запасенной энергии. Численные оценки дают  $0,2 \text{ с} \leq \tau \leq 0,9 \text{ с}$  в интервале  $V_{\max} \geq V \geq 0$ , т. е.  $0 \leq P \leq P_0$ .

В опытах, проводимых за время, меньшее  $0,2 \text{ с}$ ,  $j \approx 0$  и не наблюдается соответствия между химическим превращением и выделившимся теплом.

Теория, предложенная в работе [66], хорошо объясняет основные факты, относящиеся к теплопродукции мышцы. Однако эта теория основана на модели, хотя и хорошо аргументированной, но все же содержащей ряд постулативных положений. Подлинный молекулярный механизм процесса остается неизвестным. Путь к его познанию идет через детальное изучение строения и свойств мышечных белков.

### § 5.8. ИНИЦИАЦИЯ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

Предшествующее изложение ограничивалось стационарным сокращением мышцы. Не меньший, если не больший интерес представляют нестационарные кинетические процессы в мышечном волокне.

Первая стадия сокращения — его инициация ионами  $\text{Ca}^{++}$ , выходящими из саркоплазматического ретикулума под влиянием электрического импульса. Импульс передается либо по аксонам нервных клеток, либо путем прямого электрического стимулирования мембраны мышечного волокна. При стимуляции мышечного волокна коротким электрическим импульсом возникает напряжение, развитие которого во времени выражается кривой с максимумом и перегибом [130]. При стимуляции серией коротких импульсов напряжение выражается совокупностью пикообразных кривых, причем каждый последующий максимум лежит выше предыдущего, пока не достигается стационарный режим. При больших частотах пики сливаются, образуя экспоненциальную кривую гладкого тетануса [131]. В этих условиях потенциал на мембране волокна меняется в течение опыта. В работе [132] были проведены измерения изометрического напряжения при фиксированном потенциале. Развитие напряжения во времени описывалось суммой двух экспонент. Из температурной зависимости скорости процесса получают барьеры  $G_1 \approx 19-20$  и  $G_2 \approx 15-16$  ккал/моль. Вместе с тем высота барьера для диффузии  $\text{Ca}^{++}$  из ретикулума, определяемая по скорости насыщения ретикулума ионами  $\text{Ca}^{++}$  [133], составляет  $18-20$  ккал/моль.