

§ 10.3. Конформационные свойства мембран

Рассмотрим динамические свойства мембран. Ряд фактов свидетельствует о высокой подвижности билипидного слоя. Липиды в мембране ведут себя подобно *жидким кристаллам*. Именно в жидком кристалле реализуется сочетание высокой упорядоченности с текучестью и лабильностью. Это сочетание обеспечивает выполнение мембранами их важных функций.

Жидкокристаллические (жидкостные) свойства мембран определяются тем, что липиды в них находятся при физиологической температуре в расплавленном состоянии. Температура плавления углеводорода тем ниже, чем больше двойных связей он содержит (этим определяется различие между животными и растительными маслами). Липиды, содержащие в углеводородных цепях двойные связи, плавятся при температурах ниже физиологических. В плазматических мембранах млекопитающих доля таких липидов велика.

Жидкостные свойства мембран доказываются многими фактами. Подвижность мембранной структуры обнаруживается с помощью парамагнитных и флуоресцентных меток, а также методом ЯМР. На рис. 10.3 показан спектр ЭПР мембраны, меченой нитроксильными метками, присоединенными к липидным «хвостам». При низкой температуре липид заморожен, при высокой спектр обостряется и становится богаче, так как липид расплавлен и нитроксил приобретает быстрое анизотропное движение.

Особенно детально изучены жидкокристаллические свойства фоторецепторных мембран, содержащих белок родопсин (§ 14.7). Одна молекула родопсина в мембране приходится на 60—90 молекул липидов, из которых 80% содержат ненасыщенную жирную кислоту. Методом вспышечной фотометрии установлено, что молекула родопсина быстро вращается вокруг оси, перпендикулярной к плоскости мембраны. Время такой вращательной диффузии 20 мкс при 20 °С. Изучение выцветания родопсина на свету методом микроспектрофотометрии показало, что в мембране происходит трансляционная латеральная диффузия родопсина. Коэффициент диффузии равен $(3,5 \pm 1,5) \cdot 10^{-9} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$, что соответствует вязкости от 0,1 до 0,4 П. Близкое значение имеет вязкость мембран клеток млекопитающих, определенная по трансляционной диффузии, и мембран митохондрий и нервных аксонов. Таким образом, вязкость мембран на два или три порядка выше вязкости воды и соответствует вязкости растительного масла. Известны и более вязкие мембраны.

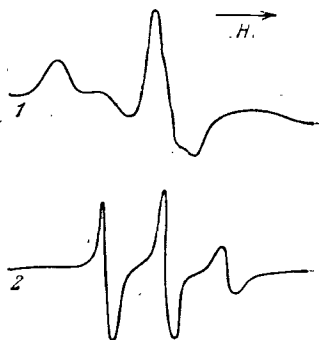


Рис. 10.3. Спектры ЭПР спин-меченой молекулы липида в мембране: 1 — 77 К, 2 — 300 К

Устройство мембраны, показанное на рис. 10.2, таково, что белки как бы плавают в «липидном море». Их молекулы погружены с двух сторон мембраны на разную глубину в двойной слой подвижных углеводородных «хвостов» липидов. Имеются белки, проходящие через всю мембрану. Значительная часть поверхности мембраны свободна от белков: так, белки занимают 70% поверхности мембраны эритроцита и 80% поверхности мембраны микросомы. Транспорт малых ионов и молекул происходит по *каналам* в мембранах. В устройстве и функционировании каналов особенно существенна роль белков. Природа каналов — важная проблема физики мембран (см. § 11.4).

Ряд фактов свидетельствует о конформационных переходах в мембранах. Структурные изменения обнаруживаются при помощи флуоресцентных и парамагнитных меток, при измерении двойного лучепреломления и рассеяния света, методом кругового дихроизма. В мембранах наблюдаются фазовые переходы — плавление липидов. Такой переход происходит вблизи 0 °С при нагревании мембран митохондрий и микросом от -40 °С. С помощью спин-меток в суспензии плазматических мембран, выделенных из фибробластов мыши, найдены температуры латерального разделения фаз в липидах. Для внешнего монослоя липидов такие переходы наблюдаются при 15 и 31 °С, для внутреннего — при 21 и 37 °С.

Подвижность мембранных липидов и фазовые переходы в них определяются их конформационными свойствами. Плавление липидов происходит путем поворотной изомеризации углеводородных цепей — это конформационное плавление. Насыщенные углеводороды, парафины, кристаллизуются в форме сплошных *транс*-ротамеров (ср. с. 65). При плавлении наряду с *транс*- появляются свернутые, или *гош*-, ротамеры. В жидких парафинах их доля составляет около 10%. Это относится к углеводородным «хвостам» в липидах.

На рис. 10.4 показаны изменения с температурой теплоемкости и энтальпии раствора липида — дипальмитойл- α -лецитина. Наблюдаются два фазовых перехода — при 34 °С и особенно резкий при 41 °С. Рентгенограмма при температуре ниже перехода содержит резкие дифракционные кольца, отвечающие расстоянию между цепями 0,48 нм. При температуре выше температуры перехода наблюдается диффузное кольцо, отвечающее межцепному расстоянию 0,53 нм.

Построена статистическая механика двуслойных фосфолипидных мембран, учитывающая ротамеризацию и межцепные стерические ограничения. Если принять разность энергий ротамеров $\Delta E \approx 2,5$ кДж/моль (ср. с. 66), получаются согласные с опытом изменения энтальпии и энтропии при плавлении двуслойного липида.

Трейбле (1971) предложил теорию транспорта молекул через липидную мембрану, основанную на тех же представлениях о ротамеризации углеводородных цепей. Свернутые (*гош*-) рота-

меры трактуются как подвижные структурные дефекты — «кин-ки», определяющие наличие свободных объемов в углеводородной фазе мембраны. Коэффициент диффузии «кинков» оценивается в 10^{-5} см²·с⁻¹ — это быстрая диффузия. Транспорт малых молекул происходит в результате их попадания в свободные объемы

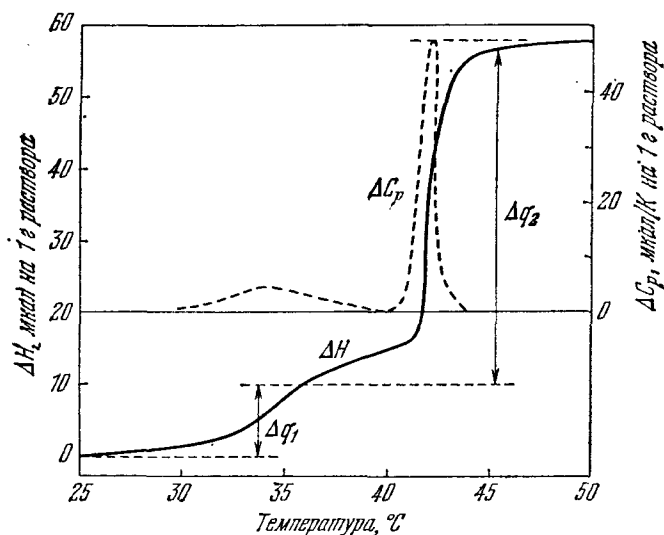


Рис. 10.4. Температурная зависимость энтальпии и теплоемкости раствора дипальмитойл- α -лецитина; Δq_1 , Δq_2 — теплоты фазовых переходов

и миграции вместе с ними. Эта идея дает модель «кинетических каналов» в мембране и позволяет вычислить ее проницаемость для воды в согласии с опытом.

Конформационные изменения играют важную роль во взаимодействиях мембран с различными лигандами, что существенно для физиологии и фармакологии.

Во многих случаях реакции клеточных мембран на присоединение специфических лигандов имеют кооперативный характер. Кривые ответов мембраны и клетки на возрастающую концентрацию лиганда зачастую имеют перегибы (ср. с. 199).

Так называемые колициногенные штаммы бактерий *Escherichia coli* продуцируют макромолекулярные антибиотики — колицины, способные убивать бактерии других, «чувствительных» штаммов *E. coli*. При этом число молекул колицинов, нужное для убийства одной бактерии, может быть очень малым, оно может даже равняться единице. По-видимому, мембрана чувствительной клетки обладает усилительными свойствами — рецепция одной молекулы служит триггером, вызывая макроскопические события в масштабе клетки.

В принципе сходные триггерные процессы, надо думать, реализуются в мембранах рецепторных клеток (см. § 11.7).

Установлено, что многие лекарственные вещества влияют на конформации мембран и мембранных липидов. Шанжэ и соавторы рассматривали мембрану как упорядоченную кооперативную систему, построенную из взаимодействующих субъединиц. В этих работах триггерные свойства мембраны трактуются на основе теории, аналогичной теории косвенной кооперативности ферментов, развитой Моно, Уайменом и Шанжэ (см. § 6.7). Каждая субъединица имеет рецепторный центр для данного специфического лиганда, сродство к которому меняется при изменении ее конформации. В упорядоченной «решетке» мембраны субъединицы (протомеры) взаимодействуют со своими соседями, чем и определяются кооперативные свойства. В зависимости от активности лиганда и энергии взаимодействия протомеров ответ мембраны на присоединение лиганда может быть постепенным или S-образным, становясь в пределе переходом «все или ничего» — фазовым переходом. Формальная модель описывает действие колицинов, дает качественное объяснение ряду фактов, в частности, тому, что различные родственные лекарственные вещества вызывают различные максимальные ответы мембраны. Первичное действие многих лекарств локализовано в мембранах и имеет кооперативный характер. Многие лекарства действуют в очень малых концентрациях (вплоть до 10^{-11} М) и обладают высокой специфичностью. Воздействие лекарства на мембранный рецептор определяется молекулярным узнаванием, но о природе этих рецепторов мы еще мало знаем (см. § 11.7).

Главная трудность при построении молекулярной теории мембранного транспорта и рецепции состоит в анализе динамического взаимодействия белков и липидов. Мембранные рецепторы — по-видимому, белки (родопсин в фоторецепторах), — связавшись с лигандом, меняют свою конформацию, что приводит к изменению глубины погружения и подвижности белков в «липидном море». Причина кооперативности может лежать во взаимодействии «плавающих» белков при их столкновениях. Динамическая мозаичная модель может послужить основой молекулярной физики мембран.

Можно думать, что свойства мембран во многом определяются электронно-конформационными взаимодействиями (ЭКВ, см. § 6.6, 13.4). Локальный сдвиг электронной плотности, возникающий при взаимодействии рецептора мембраны с лигандом, влечет за собой конформационные перестройки биологических молекул. Перенос через мембрану электронов и ионов можно трактовать как распространение *конформонов* — условных квазичастиц, состоящих из носителей электронного заряда, или сдвига электронной плотности, и конформационных смещений окружающей среды (см. с. 198, 439).