

Биологические мембраны

*А. А. Чиркин, заведующий кафедрой химии
Витебского государственного университета имени П. М. Машерова,
доктор биологических наук, профессор;
Е. О. Данченко, профессор кафедры химии
Витебского государственного университета имени П. М. Машерова,
доктор медицинских наук, доцент*

Возникновение мембран стало одним из ключевых этапов в развитии жизни на Земле. Большинство функций организма (движение, рост, размножение и метаболизм) прямо или косвенно зависят от мембран. Биологическим мембранам принадлежит важная роль в структурной организации и функционировании клеток.

Мембранология как самостоятельная наука, изучающая строение, свойства, механизмы функционирования биологических мембран, сформировалась сравнительно недавно (1950–1970 гг.). Однако сам термин «мембрана» используется почти 150 лет для обозначения клеточной границы, служащей, с одной стороны, барьером между содержимым клетки и внешней средой, а с другой — по-

лупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и растворённые в ней вещества.

1. Структура мембран.

Все биологические мембраны имеют общие признаки строения.

1. Мембраны являются *сложными структурами, построенными из липидов, белков и углеводов*. Основу мембран составляет липидный бислой, имеющий толщину 6–10 нм.

2. Соотношение белков и липидов в мембранах варьируется от 1:4 до 4:1 и зависит от типа клеток и органелл.

3. Мембраны являются *асимметричными* структурами с наружной и внутренней поверхностями.

4. Мембрана стабилизируется *нековалентными* связями и является *термодинамически стабильной и метаболически активной*.

5. Специфические белки встроены в мембраны и выполняют *специфические функции* рецепции управляющих сигналов, межклеточного взаимодействия, транспорта веществ и пр.

6. Мембраны — это жидкостные структуры. Липиды и белки способны диффундировать в плоскости мембраны до момента взаимодействия с целью выполнения определённой функции. Перенос молекул липидов и белков поперёк мембраны практически невозможен. Поэтому мембраны называют *двумерными* растворами ориентированных липидов и белков.

7. Большинство мембран способны к поляризации (для внутренней поверхности мембран типично 60 мВ). Мембраны играют ключевую роль в транспорте, преобразовании и хранении энергии.

Функции мембран чрезвычайно многообразны.

1. *Ограничение и обособление* клеток и органелл. Обособление клеток от межклеточной среды обеспечивается плазматической мембраной, защищающей клетки от механического и химического воздействия. Плазматическая мембрана обеспечивает также сохранение разности концентраций метаболитов и неорганических ионов между внутриклеточной и внешней средой.

2. *Контролируемый транспорт* метаболитов и ионов (избирательная проницаемость) определяет внутреннюю среду, что существенно для гомеостаза, т. е. поддержания постоянной концентрации метаболитов, неорганических ионов и других физиологических параметров. Регулируемый и избирательный транспорт метаболитов и неорганических ионов через поры становится возможным благодаря обособлению клеток и органелл с помощью мембранных систем.

3. *Восприятие* внеклеточных сигналов и их передача внутрь клетки, а также инициация сигналов.

4. *Ферментативный катализ*. В мембранах на границе между липидной и водной фазами локализованы ферменты, где происходят реакции с неполярными субстратами. В мембранах локализованы наиболее важные реакции энергетического обмена (окислительное фосфорилирование и фотосинтез).

5. *Контактное взаимодействие* с межклеточным матриксом и взаимодействие с другими клетками при слиянии клеток и образовании тканей.

6. *Заякоривание цитоскелета*, обеспечивающее поддержание формы клеток и органелл и клеточной подвижности.

Змест адукацыі

1.1. Липиды мембран.

Основными липидами мембран являются *фосфолипиды, гликолипиды и холестерин*.

1. В мембранах присутствуют два основных класса *фосфолипидов*:

1) *Глицерофосфолипиды* — основной компонент большинства мембран, состоят из спирта *глицерина*, двух *остатков жирных кислот*, остатка *фосфорной кислоты* и *спирта*: холина (фосфатидилхолин), этаноламина (фосфатидилэтаноламин), серина (фосфатидилсерин), глицерина (фосфатидилглицерин), глицеролфосфата, треонина или инозита (рис. 1, табл. 1).

Жирные кислоты содержат *чётное число атомов углерода* (чаще 16 и 18), имеют нераз-

ветвлённый углеродный скелет и могут быть *насыщенными* (чаще в первом положении) и *ненасыщенными* (чаще во втором положении) (см. рис. 1).

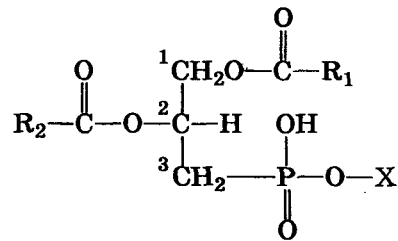
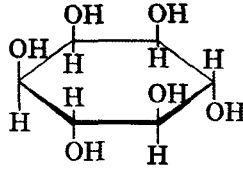


Рисунок 1 — Структура глицерофосфолипидов.
X — остаток спирта

Таблица 1 — Структура глицерофосфолипидов

Глицерофосфолипид	Спирт
Фосфатидилэтаноламин	HO—CH ₂ —CH ₂ —NH ₂
Фосфатидилхолин	HO—CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ (CH ₃) ₃
Фосфатидилсерин	HO—CH ₂ —CH(NH ₂)—COOH
Фосфатидилинозит	
Фосфатидилглицерин	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{HC—OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$

Жирные кислоты — это углеводородные цепи различной длины и степени насыщенности, заканчивающиеся карбоксильной группой. Системное наименование происходит от родительского углеводорода с окончанием *-овая*. Например, C₁₈ насыщенная жирная кислота называется *октадекановая кислота*, поскольку родительский углеводород — *октадекан*. C₁₈ ненасыщенная жирная кислота с одной двойной связью называется *октадеценовая кислота*, с двумя двойными связями — *октадекадиеновая кислота*, а с тремя двойными связями — *октадекатриеновая кислота*. Запись 18:0 означает C₁₈ жирную кислоту без двойных связей; запись 18:2 означает, что в жирной кислоте есть две двойные связи. Нумерация углеродных атомов начинается от карбоксильной группы. Углеродные атомы 2 и 3 часто обозначают как α- и β-углеродные атомы соответственно. Наиболее отдалённый от карбоксильной группы концевой атом углерода называют ω-углеродный атом. Положение двойной связи обозначают символом Δ. Например, *цис-Δ⁹* означает наличие двойной связи между 9-м и 10-м углеродными атомами. В медицинской литературе часто обозначают положение двойной связи по отношению к последнему (ω) атому углерода, которому в данном случае придаётся номер 1. Например, ω-3 жирная кислота (рис. 2).

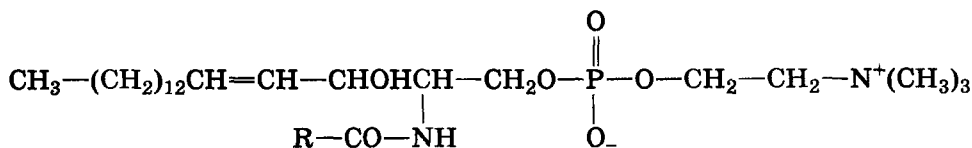
Жирные кислоты ионизированы при физиологическом значении pH, поэтому в биохимии они получают суффикс *-ат*. Например, *пальмитат, олеат*.



Рисунок 2 — ω-3 жирная кислота

2) Сфингомиелины содержат аминспирт сфингозин. Жирная кислота присоединяется амидной связью к аминогруппе сфингозина. Первичная гидроксильная группа сфингозина

этерифицируется фосфорилхолином. Сфингомиелины находятся преимущественно в миелиновых оболочках.



2. Гликолипиды являются сахаросодержащими липидами и делятся на ганглиозиды и цереброзиды. Цереброзиды вместо фосфорилированного спирта содержат остаток гексозы (глюкозу или галактозу). Ганглиозиды содержат цепь из трёх и более остатков углеводов (например, сиаловые кислоты), которые присоединяются к первичной спиртовой группе сфингозина.

3. Стероиды. Основным стероидом в мембранах является холестерин* (рис. 3), который находится преимущественно в плазматической мембране клеток.

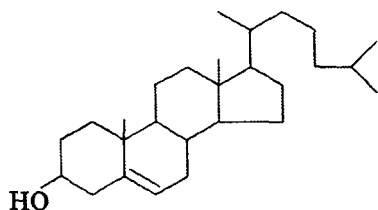


Рисунок 3 — Холестерин

Холестерин в основном встречается в наружном слое плазматической мембраны. Холестерол встроен между молекулами фосфоли-

пидов так, что его гидроксильная группа обращена к водной поверхности, а гидрофобное кольцо находится в толщине липидного слоя.

1.2. Мембрана как амфипатическая структура.

1. Все молекулы липидов, входящих в состав мембран, имеют гидрофильную и гидрофобную области и поэтому являются амфипатическими.

2. Амфипатические липиды мембран имеют полярную головку и неполярные гидрофобные хвосты (рис. 4). Полярные головки электронейтральны или имеют отрицательный заряд.

3. Насыщенные жирные кислоты имеют прямые хвосты, ненасыщенные жирные кислоты цис-конфигураций двойных связей имеют изогнутые хвосты, что делает мембрану менее жёсткой и более текучей.

4. Липиды формируют бислой, в котором гидрофобная область фосфолипидов защищена от воды, а гидрофильная область обращена к воде (рис. 5).

В таблице 2 приведено распределение липидов в наружной мембране эукариотических клеток.

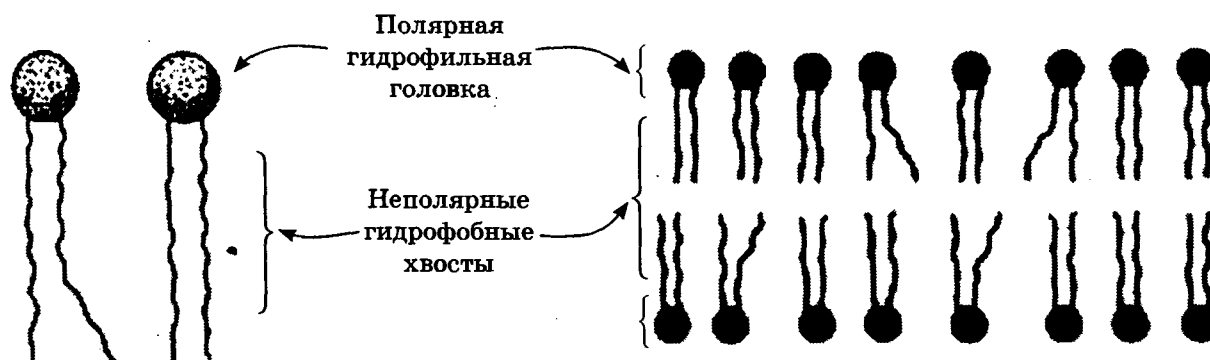


Рисунок 4 — Структура липидов мембран

Рисунок 5 — Строение липидного бислоя

* В русскоязычной биохимической литературе принято название «холестерол».

Змест адукацыі

Образование липидного бислоя из амфифильных молекул фосфолипидов в водной среде сыграло важнейшую роль в формировании живых организмов, поскольку возникла возможность отграничения биологически важных молекул от окружающей среды. В отличие от мицелл, размер которых менее 20 нм, из фосфолипидного бислоя можно формировать макроскопические образования размером 10^6 нм, т. е. мембраны. В основе их строения лежат липосомы (рис. 6).

Липосомы нашли применение в медицине и косметологии. В состав липосом вводят питательные и лекарственные вещества. Липосомы могут перемещаться через плазматические мембраны многих клеток и тем самым доставлять биоактивные вещества в клетку. При встраивании белка в бислой липосомы получают протеолипосомы. Протеолипосомы используют для направленного транспорта лекарств в определённые клетки, а также для осуществления гетерогенного катализа, когда субстрат и фермент имеют различную растворимость (фермент липаза водорастворим, а субстрат — триацилглицерол гидрофобен). Протеолипосомы — это модель мембран.

Для жизнедеятельности клетки важна проницаемость фосфолипидного слоя для различных веществ (рис. 7).

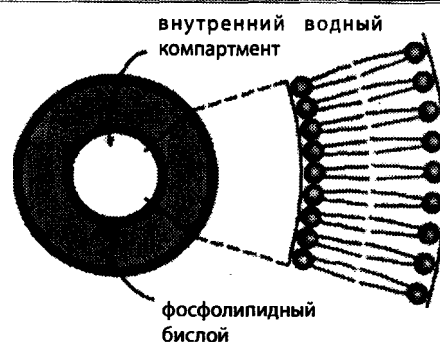


Рисунок 6 — Строение липосомы

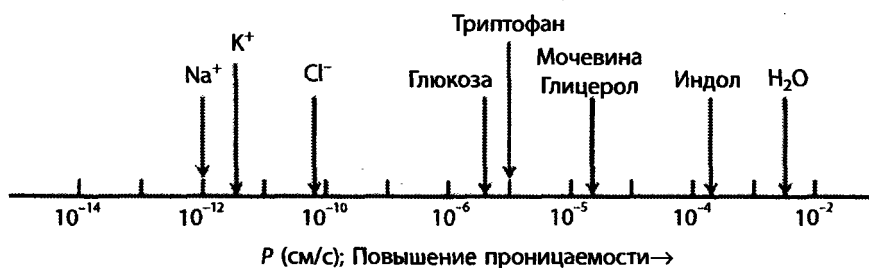


Рисунок 7 — Коэффициенты проницаемости липидного бислоя (P) для ионов, воды и органических веществ

Таблица 2 — Структура и распределение основных липидов в плазматической мембране эукариот

Классы липидов	Распределение в плазматической мембране	Локализация в слоях плазматической мембраны	Количество ненасыщенных связей в остатках жирных кислот
1. Фосфолипиды			
Полярные головки и их заряд			
Холин	46 % *	Наружный	1, 2, 5
Этаноламин	22 %	Внутренний	1, 4
Серин (-)	15 %	Внутренний	1, 2, 3
Инозитин (-)	7 %	Внутренний	1, 2, 4, 5, 6
Глицерин (-)	1 %	Внутренний	1
Сфингомиелины	9 %	Наружный	0, 1
	100 %		
2. Холестерин	30–40 % от общего количества липидов	Наружный и внутренний	
3. Гликолипиды	2–10 % от общего количества липидов мембраны	Наружный	0, 1

* — процент содержания к общему количеству фосфолипидов.

1.3. Белки мембран.

По расположению белков в мембране, способу их ассоциации с липидным бислоем белки можно разделить на поверхностные (пери-

ферические) мембранные белки, связанные с гидрофильной поверхностью липидного бислоя; интегральные мембранные белки, погружённые в гидрофобную область бислоя.

Прошивающие мембрану белки имеют конформацию α -спирали во внутренней части мембраны. В этой части белка преобладают гидрофобные аминокислотные остатки. Такая структура впервые была установлена при исследовании бактериородопсина (7 тесно упакованных α -спиралей, пересекающих мембрану размером 4,4 нм).

Поры, или каналы, в мембранах образуются β -структурами белков. Антипараллельные β -структуры связаны водородными связями и, извиваясь, формируют полый цилиндр, который выполняет функции поры. Важно, что остатки гидрофобных аминокислот взаимодействуют с гидрофобными группами внутримембранного окружения канала, а внутренняя поверхность канала образуется радикалами гидрофильных аминокислот (рис. 8).

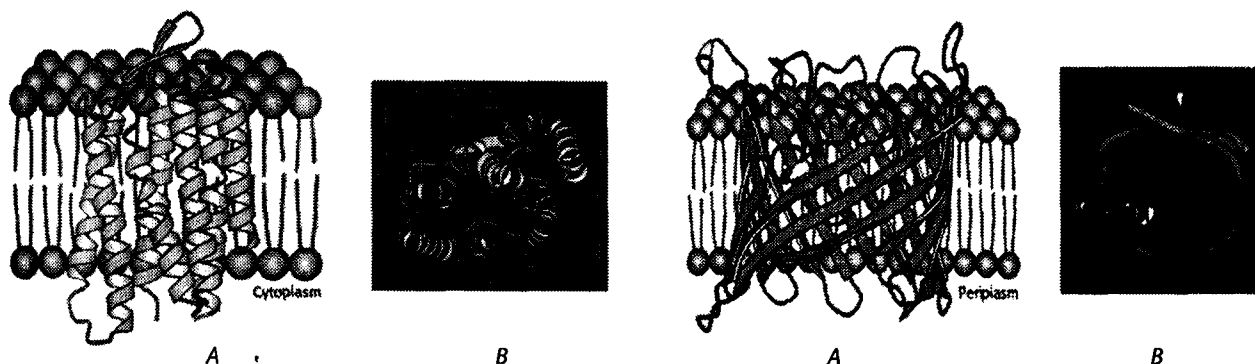


Рисунок 8 — Слева — бактериородопсин (энергопреобразующий фотозависимый белок мембран); справа — организация поры в мембране бактерии. А — вид сбоку, В — вид сверху

Бактерии регулируют жидкость своих мембран числом двойных связей в цепях жирных кислот фосфолипидов. Например, отношение насыщенных к ненасыщенным жирным кислотам *E.coli* снижается от 1,6 до 1,0 при снижении температуры инкубации от 42 до 27 °С. У животных и человека холестерин играет ключевую роль в жидкости мембран. Молекула холестерина встраивается в фосфолипидный бислой, причём гидроксиль-

ная группа в положении 3 образует водородные связи с полярными головками фосфолипидов, а сочленённые кольца палочкообразной формы располагаются в гидрофобной зоне ацильных остатков фосфолипидов бислоя.

Характеристика мембранных белков.

1. *Периферические белки* связаны с гидрофильной областью интегральных белков или с полярными головками липидного бислоя мембраны силами электростатического взаимодействия или водородными связями. Периферические белки могут быть выделены без разрушения мембраны концентрированными солевыми растворами или изменением рН. Многие рецепторы для гормонов являются периферическими белками.

2. *Интегральные белки* погружены в мембрану на определённую глубину или пронизывают мембрану насквозь (прошивающие). Такие белки могут быть экстрагированы только при разрушении мембраны органическими растворителями или детергентами.

Белки, необходимые для формирования субклеточных компартментов (митохондрии, пероксисомы, ядра и др.), имеют специфические последовательности аминокислот, определяющие «адрес» их перемещения. Например, белки, используемые для построения пероксисом, на С-конце имеют последовательность сер-лиз-лей-СОО⁻; при удалении этого фрагмента белок не будет встраиваться в структуру пероксисом. Белки, необходимые для образования митохондрий, содержат в N-концевой части молекулы 15–35 аминокислотных остатков, содержащих радикалы положительно заряженных аминокислот, а также серина и треонина. Белки, необходимые для формирования ядер, содержат внутреннюю последовательность лиз-лиз-лиз-арг-лиз. Существуют специальные последовательности, определяющие выход белка из ядра. Обнаружен ядерный белок α -кариоферин (α -импортин), обеспечивающий узнавание белков с такими последовательностями.

Трансмембранныя белкі ў выглядзе некалькіх α -спіралей або адзіночнай α -спіралі могуць перасекць мембрану. Пры гэтым большая (гідрофільная) частка такога белка экспанавана ў ваду. Некаторыя белкі могуць пранікаць толькі на адлегласць аднаго монослоя мембраны.

Інтегральныя белкі, падобна ліпідам, абладаюць амфипатычнымі ўласцівасцямі, і ў іх ёсць гідрофобныя абласці, узаемадзейнуючыя з гідрофобнымі радыкаламі ліпідных молекул унутры бислоя, і гідрофільныя, абрашчаныя з абодвух бакоў мембраны да вады.

Если основные структурные особенности биологических мембран определяются свойствами их липидного бислоя, то специфические функции мембран — белками.

На аснове ролі белкаў у мембране іх можна раздзяліць на дзве групы: *структурныя* і *дынамічныя белкі*. Структурныя белкі падтрымліваюць структуру ўсёй мембраны. Гэта, як правіла, перыферічныя белкі, выступаючыя ў ролі «молекулярнага бандажа». Дынамічныя белкі непасрэдна ўдзельнічаюць у працэсах, якія адбываюцца на мембране. Выдзяляюць тры класы такіх белкаў:

✓ *транспартныя*. Удзельнічаюць у трансмембранным пераносе рэчываў;

✓ *каталітычныя*. Гэта ферменты, інтэгріраваныя ў мембрану і каталізуючыя працэсы, якія адбываюцца там;

✓ *рэцэпторныя*. Гэта мембранныя рэцэптары, спецыфічна звязваючыя такія злучэнні, як гormоны, нейромедыятары, токсіны на знешняй баку мембраны, што служыць сігналам для змянення метабылічных працэсаў у мембране або ўнутры клеткі.

1.4. Углеводы мембран.

У складзе мембран углеводы знаходзяцца толькі ў злучэнні з белкамі (глікопротеіны і пратэогліканы) і ліпідамі (гліколипіды). У мембране глікозіліравана каля 10 % ўсіх белкаў і 5–25 % ліпідаў. Углеводныя ланцугі белкаў вагаюцца па складу ад двухчленных структур да разгалінаваных 18-членных полісахарыдаў.

Функцыі углеводов:

1) вызначаюць міжклетачнае ўзаемадзеянне;

2) удзельнічаюць у сістэме імунітэта (антыгенныя дэтэрмінанты груп крыві);

3) уваходзяць у склад рэцэптараў.

1.5. Свойства мембран.

1. *Тэкучасць (жыдкасць) мембраны*. Тэкучасць мембраны характарызуецца здольнасцю кампанентаў мембраны да руху. Яна вызначаецца ліпідным складам, працэнтам поліненасычаных жирных кіслот і халестеріна. Асаблівае ўплыванне на тэкучасць мембраны аказваюць малекулы халестеріна, пагружаныя ў ліпідны бислой. У эукарыотычных клетках пры тэмпературы 37 °С халестерін абмяжоўвае тэкучасць мембраны, а пры больш нізкіх тэмпературах ён, наадварот, спрыяе падтрыманню іх тэкучасці, перашкаджаючы зліпанню углеводнага ланцуга.

Тэкучасць уплывае на функцыю мембраны. Пры павышэнні тэкучасці павялічваецца працаздольнасць для вады і іншых гідрофільных молекул.

2. *Ізбіральная працаздольнасць*. Гэта ўласцівасць забяспечвае рэгуляцыю транспарта ў клетку неабходных молекул, а таксама выдалення з клеткі прадуктаў метабылізму, т. ё. актывны абмен клеткі і яе арганелаў з навакольнай асяродкам. Ізбіральны транспарт неабходны таксама для падтрымання трансмембраннага градыента іонаў, служыць асновай для ўсіх біоэнергетычных механізмаў, вызначае эфектыўнасць працэсаў рэцэпцыі, перадачы нервавага ўзбуджэння і т. п.

3. *Асіметрычнасць мембраны*. Па хімічнаму складу знешняя паверхня мембран адрозніваецца ад унутранай.

1) Мембраны асіметрычныя па ліпіднаму складу. Існуе асіметрыя размяшчэння фосфаліпідаў у мембране. Фосфатіділхалін і сфінгоміелін лакалізаваны ў знешнім слае мембран, фосфатіділсерін і фосфатіділэтаналамін — унутраным. Халестерін знаходзіцца пераважна ў знешнім бислое.

2) Белкі ў мембранах размяшчаны асіметрычна (размяшчэнне перыферічных белкаў, розная ступень пагружэння інтэгральных белкаў).

3) Найбольш асіметрычна размяшчаны ў плазматычнай мембране гліколипіды і глікопротеіны. Углеводныя часткі гліколипідаў і глікопротеінаў выходзяць на знешнюю паверхню, часам утвараючы шчыльнае пакрыццё на паверхні клеткі — глікокалікс.

4. *Дынамічнасць мембраны*. Адрозныя малекулы мембранных ліпідаў і белкаў здольны перамяшчацца ў мембране, т. ё. яны захоўваюць здольнасць да дыфузіі.

Молекулы белков и липидов с высокой скоростью двигаются в плоскости мембраны (*латеральная диффузия*). Они легко меняются местами со своими соседями в пределах одного монослоя примерно 10 раз в секунду. Перемещение мембранных белков в ла-

теральной плоскости может быть ограничено вследствие притяжения между функционально связанными белками и образования кластеров, что в конечном счёте приводит к их мозаичному распределению в липидном слое.

Быстрое перемещение мембранных белков визуализируют с помощью флуоресцентного микроскопа, используя технику возврата флуоресценции после фоторазрушения (*fluorescence recovery after photobleaching, FRAP*): 1) метят все компоненты поверхности клеток специфическими флуоресцентными хромофорами; 2) визуализируют малую область клеточной поверхности с помощью флуоресцентного микроскопа (~3 мкм²); 3) флуоресцентные молекулы этой области разрушают с помощью очень интенсивного лазерного импульса; 4) исследуют время восстановления флуоресценции обработанного лазерным импульсом участка мембраны (рис. 9).

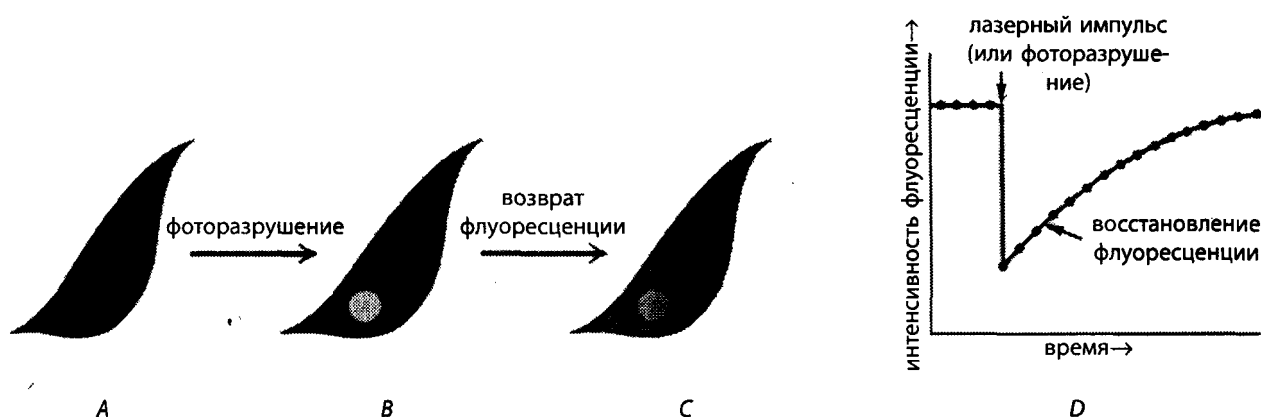


Рисунок 9 — Возвращение флуоресценции после фоторазрушения: А. Поверхность клетки флуоресцирует равномерно после мечения. В. Часть поверхности обработана интенсивным лазерным импульсом (разрушены меченые молекулы). С. Флуоресценция восстанавливается за счёт латеральной диффузии меченых молекул из соседних областей мембраны. D. Зависимость скорости восстановления флуоресценции от коэффициента диффузии мембраны

Коэффициент диффузии липидов в разных мембранах примерно 1 мкм²/с. Поэтому молекулы фосфолипидов могут перемещаться на расстояние 2 мкм/с. Следовательно, от одного конца бактерии к другому молекула фосфолипида перемещается за 1 секунду. Белки практически не диффундируют вдоль мембраны, например коэффициент диффузии для весьма лабильного фоторецепторного белка родопсина не превышает 0,4 мкм²/с, а для периферического мембранного белка фибронектина, взаимодействующего с внеклеточным матриксом, этот коэффициент меньше 10⁻⁴ мкм²/с.

Кроме того, молекулы белков и липидов очень быстро вращаются вокруг своих продольных осей (*вращательная диффузия*).

Перескок липидных молекул из одного монослоя в другой (*поперечная диффузия, flip-flop*) происходит редко, а белки к такому перескоку вообще не способны. Причина исключительно медленного flip-flop состоит в его энергетической невыгодности, поскольку необходимо перенести полярную головку молекулы липида через гидрофобную область бислоя.

II. Модели строения мембран.

С. Дж. Сингер и Л. Г. Никольсон в 1972 г. предложили «жидкостно-мозаичную модель» строения мембраны. Согласно этой модели мембрана представляет собой липидный бислой, в котором расположены глобулярные белки. Каждая молекула липидов расположена так, что её неполярная углеводородная часть направлена внутрь бислоя, а полярные головки находятся на поверхности, контактируя с водой. По этой модели мембрана представляет

собой динамічную сістэму, в якой молекулы белка адносна свабодна «плаваюць в ліпідным морэ в віде айсбергов».

Существует рэшэтка-мазаічная мадэль. Молекулы белков, якія звязаны з цытокаркасам, малоподвільны. Те белкі, якія звязаны з цытокаркасам не звязаны, могуць адносна свабодна перемешчацца в плоскаці мембраны (рис. 10).

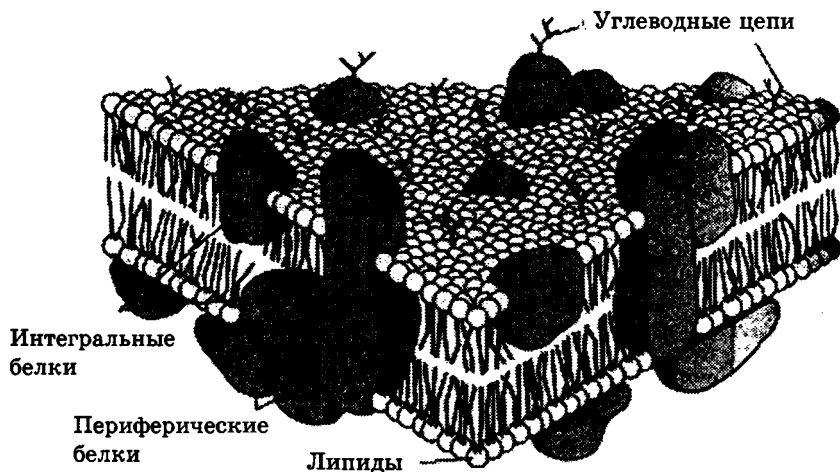


Рисунок 10 — Строење плазматической мембраны эукариотической клетки

III. Механізмы мембраннага транспарта.

Ліпідныя бислоі в значительной степени непроницаемы для подавляющего большинства веществ, и поэтому перенос через липидную фазу требует значительных энергетических затрат.

Различают активный транспорт и пассивный транспорт (диффузию).

3.1. Пассивный транспорт.

Пассивный транспорт — это перенос молекул по концентрационному или электрохимическому градиенту, т. е. он определяется только разностью концентраций переносимого вещества на противоположных сторонах мембраны или направлением электрического поля и осуществляется без затраты энергии АТФ. Возможны два типа диффузии: простая и облегчённая (рис. 11).

1. *Простая диффузия.* Происходит без участия мембранного белка. Скорость простой диффузии хорошо описывается обычными законами диффузии для веществ, растворимых в липидном бислое. Скорость движения молекулы определяется концентрационным градиентом и растворимостью молекулы в липидах. Механизм диффузии водорастворимых веществ менее изучен. Перенос вещества через липидный бислое, например таких соединений, как этанол, возможен через временные поры в мембране, образованные разрывами в липидном слое при движении мембранных липидов. В мембранах также существуют каналы, образованные белками, через которые могут двигаться молекулы. По механизму простой диффузии осуществляется трансмембранный перенос газов (например, O_2 , CO_2 , N_2 , CH_4), некоторых простых органических ионов и ряда низкомолекулярных жирорастворимых соединений. Простая диффузия происходит неизбирательно и отличается низкой скоростью.

Транспорт воды через мембрану простой диффузией происходит очень медленно. В тканях, где необходим быстрый перенос воды (почки), вода диффундирует через специфические интегральные белки (аквапорины) (см. ниже).

2. *Облегчённая диффузия* — движение молекул по градиенту концентрации с исполь-

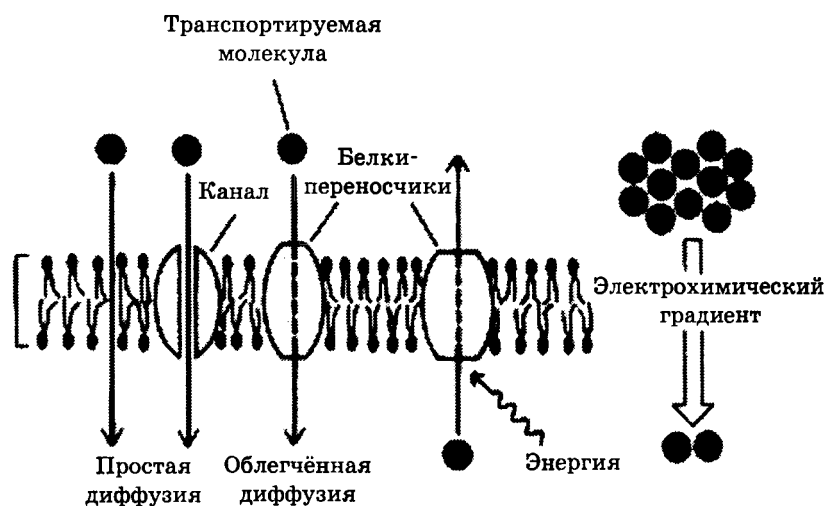


Рисунок 11 — Механізмы пассивного транспорта

зованием специфических мембранных белков-переносчиков. Следовательно, облегчённая диффузия — это диффузионный процесс, сопряжённый с химической реакцией взаимодействия транспортируемого вещества с белком-переносчиком. Этот процесс специфичен и протекает с более высокой скоростью, чем простая

диффузия. Скорость переноса определяется концентрационным градиентом через мембрану и количеством молекул переносчика.

Известны два типа мембранных транспортных белков: белки-переносчики, называемые *транслоказами*, или *пермеазами*, и *каналообразующие белки*.

Конкретный механизм функционирования транслоказ при облегчённой диффузии изучен недостаточно. Полагают, что после связывания переносимого вещества с белком-переносчиком происходит ряд конформационных изменений последнего, позволяющих связанное вещество с одной стороны мембраны транспортировать на другую. Другой возможный механизм переноса осуществляется по так называемому эстафетному типу, когда транспортный белок вообще не способен переходить через бислой. В этом случае транспортируемое вещество, возможно, само переходит от одного белка к другому до тех пор, пока не окажется на другой стороне.

Каналообразующие белки (или белки-каналы) формируют трансмембранные гидрофильные каналы, через которые молекулы растворённых веществ соответствующих размеров и заряда могут проходить путём облегчённой диффузии. В отличие от транспорта, осуществляемого транслоказами, перенос с помощью каналов не обладает высокой специфичностью, но может осуществляться с гораздо большей скоростью, не достигающей насыщения в широком диапазоне концентраций транспортирующего вещества. Некоторые каналы постоянно открыты, тогда как другие открываются лишь в ответ на связывание транспортируемого вещества. Это приводит к изменению конформации транспортного белка, в результате чего в мембране открывается гидрофильный канал и вещество освобождается с другой стороны мембраны.

Примером облегчённой диффузии является модель «пинг-понг». В этой модели переносчик существует в двух конформационных состояниях (рис. 12). В состоянии «понг» белок открыт на стороне высокой концентрации переносимого вещества и связывает это вещество. Затем происходит изменение конформации («пинг») и белок со связанным веществом открывается на сторону с низкой концентрацией переносимого вещества.

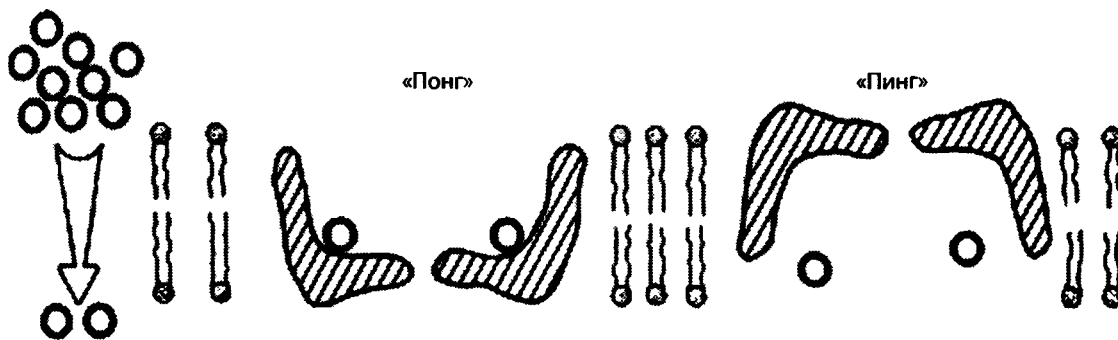


Рисунок 12 — Механизм «пинг-понг»

Транспортные белки имеют ряд свойств: обладают высокой специфичностью и имеют участки связывания для транспортируемой молекулы; насыщаются при высокой концентрации переносимого вещества; ингибируются конкурентными и неконкурентными ингибиторами.

Облегчённая диффузия обычно характерна для водорастворимых веществ: углеводов, аминокислот, метаболически важных органических кислот, некоторых ионов. Путём облегчённой диффузии осуществляется также транспорт стероидных гормонов, ряда жирорастворимых витаминов и других молекул этого класса. Направленные потоки веществ в клетку путём простой и облегчённой диффузии практически никогда не прекращаются, поскольку вещества, поступившие в клетку, вовлекаются в метаболические превращения, а их убыль постоянно восполняется путём трансмембранного переноса по градиенту концентрации.

3. Активный транспорт — это транспорт веществ против градиента концентрации с использованием переносчика и затратой энергии. Источником энергии могут быть АТФ, градиент концентрации или солнечная энер-

гия. Различают *первичный активный транспорт* и *вторичный активный транспорт*.

В первичном активном транспорте используется энергия гидролиза АТФ. Известны три основных типа первичного активного транспорта:

1) Натрий-калиевый насос — Na/K^+ -аденозинтрифосфатаза (Na/K^+ -АТФаза) переносит ионы натрия из клетки, а калия — в клетку.

2) Кальциевый насос — Ca^{2+} -АТФаза, который транспортирует Ca^{2+} из клетки или цитозоля в саркоплазматический ретикулум.

3) H^+ -АТФаза — протонный насос, функционирующий в сопрягающих мембранах, в том числе в митохондриальной мембране.

Для активного транспорта, как и для облегчённой диффузии, характерны высокая специфичность, эффект насыщения транспортных белков транспортируемыми молекулами, а также действие ингибиторов.

В качестве примера первичного активного транспорта можно привести транспорт, осуществляемый Na^+, K^+ -АТФазой, как одной из наиболее важных и широко распространённых активных транспортных систем в плазматической мембране клеток животных.

Клетка содержит низкую концентрацию Na^+ (в 10 раз ниже) и высокую концентрацию K^+ (в 30 раз выше), чем в окружающей среде. Na^+, K^+ -АТФаза была открыта в 1957 г. Й. Скоу во фракции плазматических мембран нервов краба, впоследствии она была обнаружена во всех исследованных клетках животных, особенно велико её содержание в органах, осуществляющих солевой обмен (почки) или выполняющих электрическую работу (мозг, нервы).

Na^+, K^+ -АТФазой является интегральным мембранным белком (м.м. 250 тыс.). Состоит из двух α - и двух β -субъединиц. α -субъединица пронизывает мембрану насквозь и имеет центры связывания для АТФ и Na^+ на цитоплазматической стороне мембраны и центры для связывания с K^+ на внешней стороне. β -субъединицы содержат углеводные группы, расположенные на наружной стороне плазматической мембраны. Она способствует правильной ориентации ферментов в липидном бислое. Перенос ионов происходит за счёт изменения конформации фермента при его фосфорилировании-дефосфорилировании за счёт АТФ.

По общепринятому представлению механизм действия АТФазы включает несколько стадий.

1. Присоединение 3Na^+ вызывает активацию АТФазы, происходит

гидролиз АТФ и фосфорилирование фермента.

2. Фосфорилирование фермента вызывает изменение конформации и открытие канала снаружи. АТФаза теряет сродство к ионам натрия и 3Na^+ выводятся через канал на наружную сторону.

3. Два иона K^+ присоединяются к ионсвязывающим центрам фосфорилированного белка.

4. Происходит (возможно, самопроизвольный) гидролиз фосфоэфирной связи и дефосфорилирование фермента, что вызывает его переход в исходную конформацию (открытие канала внутри).

5. Происходит снижение сродства к ионам K^+ и выход их в цитозоль и вновь 3Na^+ присоединяется АТФ.

Неравнозначный перенос заряженных ионов (частиц) через мембрану вызывает её поляризацию: появление «+» снаружи и «-» изнутри. Создаваемый градиент используется для вторичного активного транспорта, например, глюкозы в клетки. Переносчик глюкозы обеспечивает транспорт глюкозы в клетку кишечника за счёт входа в клетку ионов Na^+ под действием электрохимического градиента (концентрация Na^+ высокая в просвете кишечника и низкая в цитозоле клеток). Глюкоза из клетки переходит во внеклеточную жидкость по механизму облегчённой диффузии. Na^+, K^+ -АТФаза поддерживает эту концентрацию Na^+ за счёт его откачки в межклеточное пространство в обмен на ионы K^+ с затратой АТФ.

Ион-селективные каналы являются механизмом транспорта неорганических ионов через мембрану. Ионные каналы определяют проницаемость мембраны для специфических ионов и вместе с ионными насосами, такими как Na^+, K^+ -АТФаза, регулируют цитозольную концентрацию ионов и мембранный потенциал. В нейронах быстрое изменение активности ионных каналов вызывает изменение мембранного потенциала (потенциала действия), который передаёт сигнал от одного конца нейрона к другому. В миоцитах быстрое открытие Ca^{2+} каналов эндоплазматического ретикулума высвобождает Ca^{2+} , что вызывает сокращение мышц.

Ионные каналы отличаются от ионных переносчиков по меньшей мере тремя признаками. Во-первых, скорость потока через каналы значительно выше, чем перенос с помощью переносчика — 10^7 – 10^8 ионов на канал в секунду, что близко к теоретическому максимуму скорости для неограниченной диффузии. Во-вторых, ионные каналы ненасыщаемы, их скорость не достигает максимума при высокой концентрации субстрата. В-третьих, они являются «воротами», открывающимися или закрывающимися в ответ на некоторые внутриклеточные факторы.

IV. Виды переноса веществ через мембрану. Транспортные системы делятся в соответствии с количеством переносимых молекул и направлением движения (рис. 13).

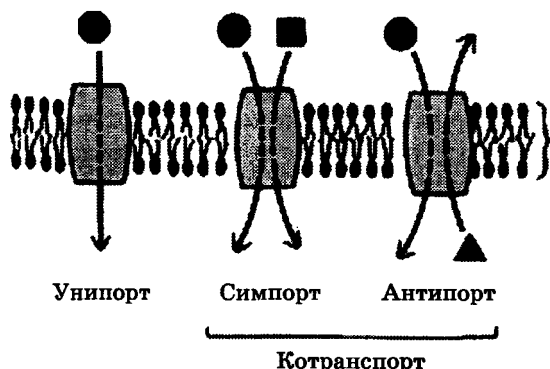


Рисунок 13 — Транспортные системы

Унипорт — движение одного типа молекул в одном направлении. Наиболее простой вид переноса какого-либо растворённого вещества с одной стороны мембраны на другую, осуществляемый по механизму простой или облегчённой диффузии.

Котранспорт — вид транспорта, при котором перенос одного вещества зависит от переноса другого. Осуществляется с помощью транспортных белков, которые имеют центры связывания для переноса обоих веществ.

Симпорт — перенос вещества зависит от одновременного (или последовательного) переноса другого вещества в том же направлении. Например, транспорт протонов и сахаров у бактерий, транспорт Na^+ и глюкозы у животных. При этом натрий транспортируется по градиенту концентрации (вторично-активный транспорт), а молекула глюкозы, присоединённая к тому же переносчику, — против градиента концентрации.

Антипорт — перенос одного вещества по градиенту концентрации приводит к перемещению другого вещества, присоединённого к этому переносчику с другой стороны мембраны в противоположном направлении против градиента концентрации.

Транспорт макромолекул (везикулярный транспорт). Макромолекулы (белки, полисахариды и полинуклеотиды) и даже крупные частицы могут как поглощаться, так и секретироваться. При их переносе происходит последовательное образование и слияние окружённых мембраной пузырьков (везикул),

т. е. перенос веществ вместе с частью плазматической мембраны.

Фагоцитоз (от греч. *фагос* — есть, *цитос* — клетка) наблюдается в специальных клетках (макрофагах и гранулоцитах). При фагоцитозе происходит захват крупных молекул или частиц (вирусы, бактерии, клетки). **Пиноцитоз** (от греч. *пинос* — пить) характерен для всех клеток. Происходит захват жидкости или растворённых компонентов. Пиноцитоз бывает неизбирательным и селективным рецепторно-опосредованным. При процессе **эндоцитоза** поглощённое вещество окружается небольшим участком мембраны, который вначале выпячивается, а затем отщепляется, образуя внутриклеточный пузырёк, содержащий захваченный клеткой материал. Большинство частиц, поглощённых при эндоцитозе, попадает затем в лизосомы, где они подвергаются деградации.

Вещества, высвобождаемые путём экзоцитоза, делят на 3 группы: вещества, связывающиеся с клеточной поверхностью как периферические белки — антигены; вещества, включающиеся во внеклеточный матрикс — коллаген, гликозаминогликаны; вещества, входящие во внеклеточную среду как сигнальные молекулы (инсулин, катехоламины, паратгормон) или ферменты (экзокринные железы, эктоферменты).

Приведём некоторые данные, демонстрирующие связь здоровья человека с состоянием мембран.

1. Мутации рецептора к инсулину или переносчиков глюкозы приводит к развитию диабета, мутации ионных каналов — к патологии сердца и нервной системы.

2. Некоторые токсины действуют на ионные каналы. **Тетродотоксин** и **сакситоксин** являются ядами нервно-паралитического действия, которые действуют на Na^+ -каналы мембран нейронов и нарушают образование потенциала. **Тетродотоксин** (tetradotoxin) продуцируется рыбами различных морей и океанов. Наиболее опасной является рыба-собака, или тетродон, из семейства иглобрюховых (*Tetraodontidae*) отряда иглобрюхообразных (*Tetraodontiformes*). Тетродотоксин содержится в органах и тканях рыбы — печень, икра, молоки. В отличие от прочих рыбных ядов, тетродотоксин не относится к белкам. В Японии эта рыба, называемая фугу (*род Spheroides*), высоко ценится за вкусовые ка-

чества, но ёё прыготовление разрешено только в специализированных ресторанах и только поварами, прошедшими особую подготовку. Действие тетродотоксина в 10 раз сильнее действия известного яда кураре, более чем в 400 раз — стрихнина, в 160 тыс. раз — кокаина. Благодаря своей способности избирательно блокировать передачу нервного импульса тетродотоксин является превосходным обезболивающим средством. В растворимой форме тетродотоксин применяется в медицине как анальгетик при невралгиях, артритах и ревматизме. В Японии уже сейчас продают тетродотоксин в качестве болеутоляющего. На Востоке давно применяют этот яд для лечения астмы, головных болей, кашля, столбнячных судорог и даже некоторых стадий проказы. Антидот против тетродотоксина неизвестен. *Сакситоксин* (saxitoxin) продуцируется морскими динофлагеллятами (*Gonyaulax*). Поступление с пищей устриц или крабов, которые питаются динофлагеллятами *Gonyaulax* может быть фатальным. Сами устрицы или крабы не чувствительны к сакситоксину, но они накапливают его в мышцах, которые становятся опасными для остальных звеньев пищевой цепи.

Яд зелёной азиатской кобры, содержащий *дендротоксин* (dendrotoxin), ингибирует K^+ -каналы. *Тубокурарин* (tubocurarine), активный компонент кураре (используется в качестве яда для стрел в Амазонке), и два токсина яда змей, *кобротоксин* (cobrotoxin, змеи *Naja naja atra*) и *бунгаротоксин* (bungarotoxin, змеи *Bungarus multicinctus*), блокируют рецепторы ацетилхолина и предотвращают открытие ионных каналов. Блокируя передачу

сигналов от нервной системы к мышцам, эти токсины вызывают паралич, при высокой концентрации возможна смерть. Тубокурарин используется при оперативных вмешательствах и в травматологии, при которых требуется релаксация скелетных мышц на период более одного часа.

Из наперстянки (*Digitalis purpurea*), ландыша, горицвета были получены стероидные гликозиды, способные в малых дозах усиливать работу сердца. Препараты дигиталиса впервые были применены в 1785 г. В. Витерингом. Они ингибируют Na^+, K^+ -АТФазу, что повышает концентрацию ионов натрия в цитозоле кардиомиоцитов. Ослабление натриевого градиента на мембране (натрий — внеклеточный катион) уменьшает выход кальция посредством натрий-кальциевого обмена. В результате повышается внутриклеточная концентрация ионов кальция, которые усиливают сокращение сердечной мышцы.

Натрий-кальциевый обменник в плазматических мембранах представляет собой антипорт, который использует электрохимический градиент Na^+ для выталкивания Ca^{2+} из клетки. Этот электрохимический градиент создаёт Na^+, K^+ -АТФаза. Концентрация ионов кальция внутри клетки строго контролируется, поскольку они являются вторичными посредниками ряда гормонов. Поэтому натрий-кальциевый обменник имеет более низкую аффинность к ионам кальция, чем Ca^{2+} -АТФаза, но мощность его намного выше (натрий-кальциевый обменник может удалить из цитозоля 2 тыс. ионов кальция за секунду, высокоспецифичная Ca^{2+} -АТФаза — только 30).

Список использованной литературы

1. Северин, Е. С. Биохимия / Е. С. Северин. — М. : «Гэотар-Мед», 2003. — 784 с.
2. Чиркин, А. А. Биохимия с основами молекулярной биологии. Учебно-методический комплекс для студентов биологического факультета / А. А. Чиркин, Е. О. Данченко. — Витебск : ВГУ, 2006. — 295 с.
3. Berg, J. M. Biochemistry / J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer. — N.-Y. : W. H. Freeman and Company, 2002. — 1514 p.
4. Ganten, D. Encyclopedic reference of genomics and proteomics in molecular medicine / D. Ganten, K. Ruckpaul. — N.-Y. : Springer, 2006. — 4378 p.