

## Молекулярная біялогія движення

А. А. Чиркин, профессор кафедры химии и естественнонаучного образования факультета химико-биологических и географических наук Витебского государственного университета имени П. М. Машерова, доктор биологических наук, профессор

(Продолжение. Начало в № 3 за 2021 год.)

**Аннотация.** В статье изложены современные представления о поддержке структуры клеток, об обеспечении внутриклеточного транспорта и биосигналинга, процессов сократимости и подвижности и пространственной организации клетки.

**Энергетика** мышечного сокращения обеспечивается несколькими процессами:

1. Гидролиз АТФ (истощается за доли секунды).

2. Креатинфосфат + АДФ → АТФ + креатин (креатинфосфокиназа).

3.  $2 \text{ АДФ} \leftrightarrow \text{АТФ} + \text{АМФ}$  (аденилаткиназа).

4. Накопление АДФ и АМФ → стимуляция гликолиза, окислительного фосфорилирования → восстановление АТФ.

5. Дипептиды карнозин ( $\beta$ -ала-гис) и ансерин (N-метилкарнозин) активируют  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -АТФазу и увеличивают амплитуду мышечных сокращений.

**Источники энергии для работы мышц:**

1. Резервы: гликоген (краткосрочный), липиды (долгосрочный), белки (истощающий).

2. Транспортные формы энергии: глюкоза, жирные кислоты, кетоновые тела.

При работе мышц выделяют три основных типа метаболизма: лактатный (гликолиз), алактатный (окислительное фосфорилирование), смешанный.

**Выделяют три основных типа мышц:**

1. Медленные (красные) — I тип. Содержат много миоглобина и митохондрий, работа которых на длинных дистанциях обеспечивает воспроизводство АТФ путём окислительного фосфорилирования.

2. Быстрые (белые) — II тип. Содержат мало митохондрий, используют фосфоролитический распад гликогена и гликолитический распад глюкозы для обеспечения непродолжительной, но интенсивной, например, спринтерской работы.

3. Смешанные имеют признаки красных и белых мышц и обеспечивают работу мышц, например, на средних дистанциях.

Наиболее доступный текущий биохимический контроль заключается в определении соотношения лактата и глюкозы средствами сухой химии (тест-полоски).

Кроме *поперечнополосатых мышц* скелета (до 40 % от массы тела), выделяют группу *гладких мышц* внутренних органов и *синтиций мышечных клеток сердечной мышцы*. Гладкие мышцы отличаются так называемым автоматизмом, т. е. способностью приходить в состояние возбуждения при отсутствии внешних раздражителей. И если сокращение скелетных мышц продолжается около 0,1 с, то более медленные сокращения гладких мышц продолжаются от 3 до 180 с. В пищевом тракте, половых органах и мочевом пузыре возбуждение передаётся от одной мышечной клетки к следующей. Что касается сокращения гладких мышц, находящихся в стенках кровеносных сосудов и в радужной оболочке глаза, то оно не переносится с клетки на клетку. Гладкие мышцы иннервируются симпатическими и парасимпатическими нервами автономной нервной системы. Сердечная мышца (миокард) при нормальной работе затрачивает на сокращение около 0,2–0,4 с, а при увеличении нагрузки скорость сокращений увеличивается. Уникальная особенность сердечной мышцы — её способность ритмично сокращаться в течение всей жизни, а в экспериментах и при трансплантации — после извлечения сердца из организма.

### Везикулярный транспорт и внутриклеточная логистика перемещения грузов

В 2013 году Нобелевская премия по физиологии и медицине была присуждена Рэнди Шекману, Джеймсу Ротману и Томасу

Зюдхофу за раскрытие механизмов везикулярного транспорта — главной транспортной системы в клетках эукариот. Разнообразные

молекулы, упакованные в пузырьки-везикулы размером около 0,1 мкм, постоянно пересылаются из одного отдела клетки в другой, а также секретируются наружу. Точная доставка возможна благодаря комплексу белков, которые выступают как в качестве «адреса», так и в качестве «почтового отделения» в каждом клеточном компартменте. Были идентифицированы 23 гена, которые разделены на три группы, в зависимости от того, откуда и куда должны были направляться везикулы, — транспорт, ассоциированный с эндоплазматическим ретикулумом, с комплексом Гольджи или с поверхностью клетки. Д. Ротман объединил кодируемые ими белки в группу SNARE (soluble NSF-attachment protein receptors). Белок синаптобrevин был ассоциирован с везикулами, а белки SNAP-25 и синтаксин — с клеточными мембранами. Это открытие позволило Д. Ротману сформулировать SNARE-гипотезу — ключевую гипотезу, объясняющую принцип внутри- и межклеточного транспорта. Согласно ей, в процессе формирования и доставки везикул участвуют белки, принадлежащие к двум группам — v-SNARE (v — от vesicle «везикула») и t-SNARE (t — от target «мишень»), которые специфически узнают друг друга. Благодаря специфическому узнаванию доставка осуществляется точно в нужное место (рис. 5).

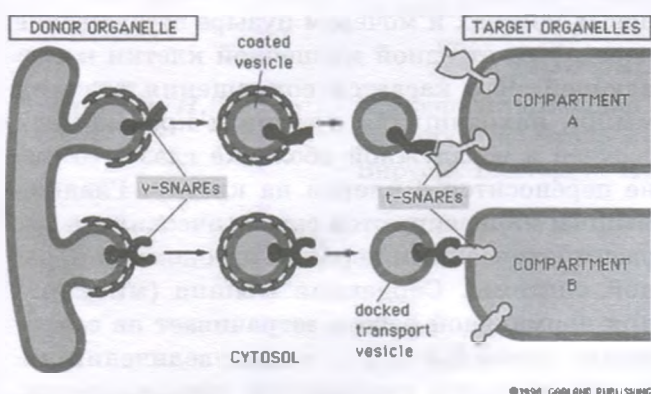


Рисунок 5 — SNARE-гипотеза: А) пузырьки (везикулы) отпочковываются от мембраны одной из органелл (например, эндоплазматического ретикулума) и получают «ключ» — один из белков семейства v-SNARE; В) точная доставка осуществляется благодаря тому, что на целевой органелле есть специфический белок семейства t-SNARE, выступающий в роли «замка» (изображение с сайта [www.zoology.ubc.ca](http://www.zoology.ubc.ca); <https://scientifically.info/news/2013-10-19-2372>)

Однако в SNARE-гипотезе не хватает механизма, отвечающего за перемещение везикул. В 2012 году была присуждена американским учёным престижная премия Ласкера за разработку механизмов внутриклеточного транспорта везикул вдоль структур цитоскелета клетки с помощью специальных моторных белков — динеина и кинезина. А в конце 2015 года А. В. Бураков из НИИФХБ МГУ выложил в Интернете презентацию «Внутриклеточная логистика: транспортные сети для молекулярных моторов» (<https://present5.com/vnutrikletochnaya-logistika-transportnye-seti-dlya-molekulyarnykh/>), удачный термин из которой позаимствовал автор в названии раздела статьи.

Обычно под везикулярным транспортом понимают ряд процессов.

1. При *эндоцитозе* поглощённое вещество окружается небольшим участком мембраны, который вначале впячивается, а затем отщепляется, образуя внутриклеточный пузырёк, содержащий захваченный клеткой материал. Большинство частиц, поглощённых при эндоцитозе, попадает затем в лизосомы, где они подвергаются деградации.

1.1. *Фагоцитоз* (от греч. *фагос* — есть, *цитос* — клетка) наблюдается в специальных клетках (макрофагах и гранулоцитах). При фагоцитозе происходит захват крупных молекул (вирусы, бактерии, клетки).

1.2. *Пиноцитоз* (от греч. *пинос* — пить) характерен для всех клеток. Происходит захват жидкости или растворённых компонентов. Пиноцитоз бывает неизбирательный и селективный рецепторно-посредованный.

2. Вещества, высвобождаемые путём *экзоцитоза*, делят на 3 группы:

2.1. Вещества, связывающиеся с клеточной поверхностью как периферические белки — антигены.

2.2. Вещества, включающиеся во внеклеточный матрикс — коллаген, гликозаминогликаны.

2.3. Вещества, входящие во внеклеточную среду, как сигнальные молекулы (инсулин, катехоламины, паратгормон) или ферменты (экзокринные железы, эктоферменты).

3. Типы окаймлённых везикул (COP — акроним «покрывающий белок»), которые участвуют в экзоцитозе и эндоцитозе:

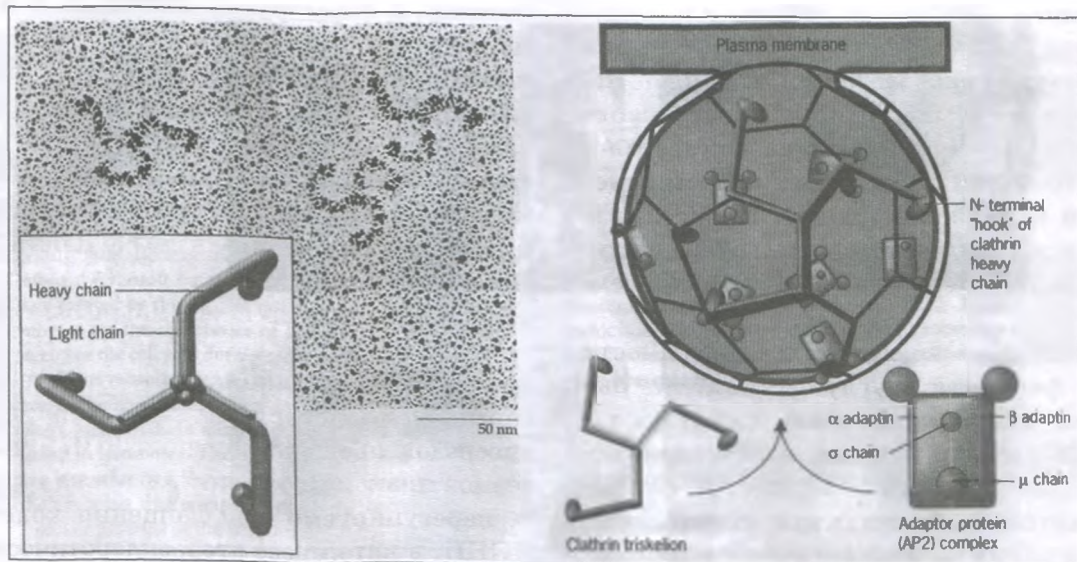


Рисунок 6 — Структура и роль клатрина: слева модель клатрина (трискелионовая структура) и его электронно-микроскопическое изображение. Справа — формирование из молекул клатрина транспортной везикулы [4]

3.1. COPII перемещают материал из эндоплазматического ретикулума «вперёд» через область ERGIC и комплекс Гольджи.

3.2. COPI перемещают материал в обратном направлении из ERGIC и комплекса Гольджи в эндоплазматический ретикулум, а также из транс-Гольджи в цис-Гольджи.

Покрытые клатрином везикулы перемещают материал от транс-Гольджи (TGN) к эндосомам, лизосомам, растительным вакуолям; транспортируют материал от плазматической мембраны в цитоплазматические компартменты в процессе эндоцитоза.

На рисунке 6 представлена структура белка клатрина, создающего условия и формирующего транспортные везикулы с грузом.

Три молекулы клатрина ассоциированы друг с другом на С-терминальном конце таким образом, что тример клатрина имеет форму трискелиона (древний символ в виде трёх лучей, выходящих из одной точки). В результате полимеризации клатрин формирует замкнутую трёхмерную сеть, напоминающую футбольный мяч (полигедральная латексная структура). Размер клатриновых везикул — около 100 нм. С помощью адапторных белков клатрин прикрепляется к определённому участку клеточной мембраны (AP2-комплекс). Происходят полимеризация клатрина и образование сетки на фосфолипидном бислое мембраны. Белок эпсин

обеспечивает полимеризацию клатрина, ведущую к её деформации в виде полусферического углубления внутрь клетки. После образования везикулы и отрыва везикулы от мембраны

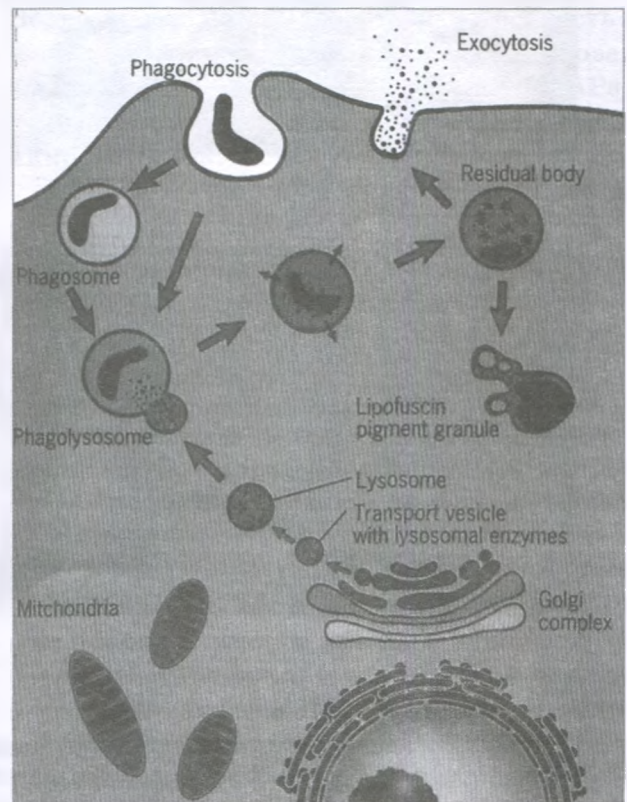


Рисунок 7 — Везикулярный транспорт при фагоцитозе [4]

(под действием ГТФазы динамина) клатриновая оболочка быстро диссоциирует, и клатрин может повторно использоваться для эндоцитоза. Этот процесс, как правило, длится около 1 мин. Транспортная везикула сливается с внутриклеточными эндосомами и доставляет внутренний материал в клетку. Процесс стимулируется в результате взаимодействия лиганда со специфическим рецептором на мембране.

При фагоцитозе рецепторы на поверхности мембраны фагоцита в углублениях, покрытых белком *клатрином*, взаимодействуют с молекулами частиц, которые необходимо поглотить и уничтожить, и включают фосфатидилинозитольный механизм фагоцитоза. Образуются выросты плазматической мембраны макрофага, окружающие поглощаемую

частицу, и формируется *фагосома*. В цитозоле макрофага фагосома сливается с первичными лизосомами. Благодаря низким значениям pH внутри *фаголизосомы* происходит гидролиз органических молекул поглощаемой частицы гидролазами лизосом. Непереваренные молекулы в виде *остаточных телец* методом экзоцитоза возвращаются на поверхность клеток. Продукты гидролиза поступают в цитозоль и утилизируются для нужд макрофага (рис. 7).

Роль везикулярного транспорта в снабжении клеток, производящих стероидные гормоны холестерином в виде рецепторно-опосредованного поглощения ЛПНП (липопротеинов низкой плотности), а также в патогенезе нерегулируемого поглощения холестерина ЛПНП, в патогенезе атеросклеротического поражения сосудов показана на рисунке 8.

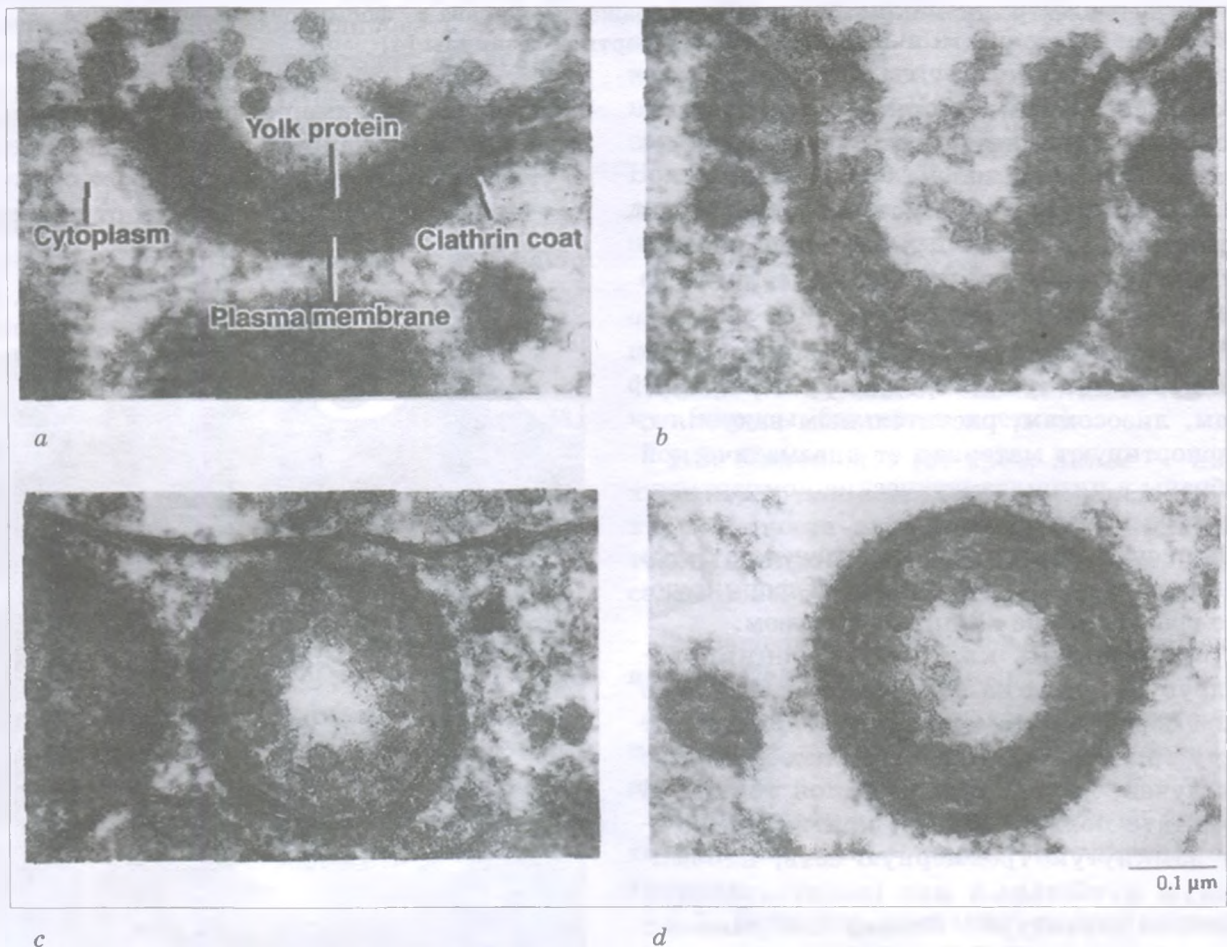


Рисунок 8 — Рецепторно-опосредованный эндоцитоз липопротеинов. Рисунок из материалов Нобелевской премии М. Брауна и Д. Голдштейна 1985 года: *a* — углубление плазматической мембраны, снаружи — рецептор и захватываемые молекулы, изнутри — окаймление клатрином; *b* — впячивание участка плазматической мембраны; *c* — отщуровывание везикулы от плазматической мембраны; *d* — окаймлённая везикула в цитозоле [4]

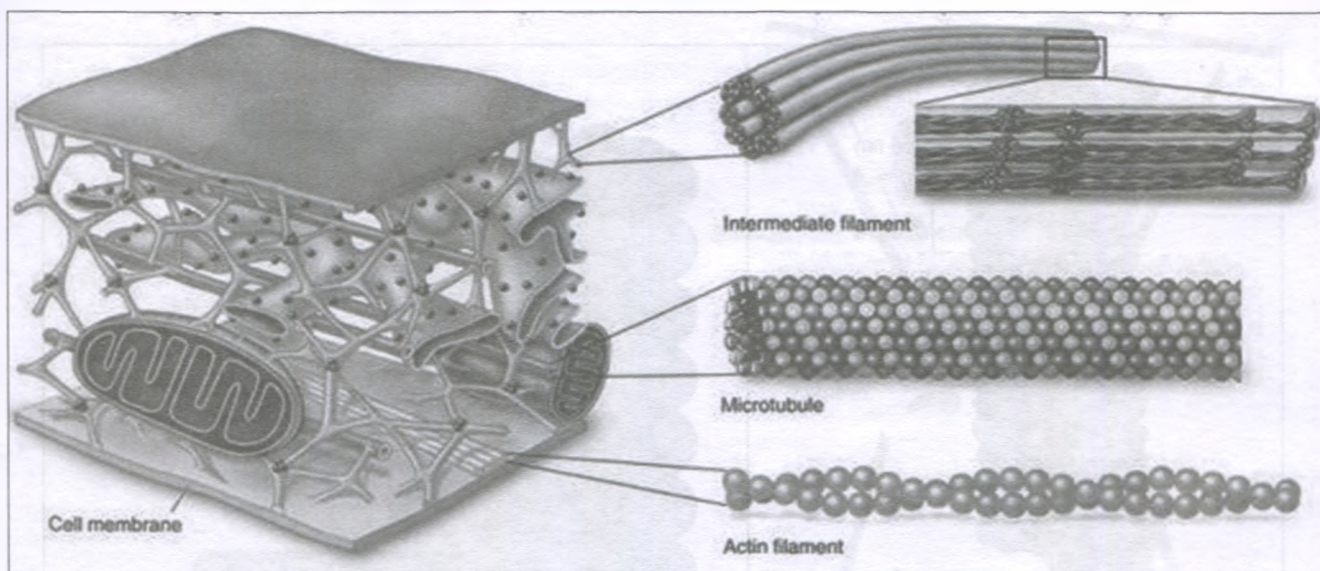


Рисунок 9 — Три типа филаментов в клетке: сверху — промежуточные филаменты, в середине — микротрубочки, внизу — актиновые филаменты (Wikipedia)

Итак, рассмотрены механизмы образования везикул для транспорта грузов внутри клетки. Теперь следует рассмотреть логистику транспорта, т. е. наличие «дорог», по которым перемещаются везикулы. Такую функцию выполняют структуры цитоскелета клетки.

**Цитоскелет** — это клеточный каркас или скелет, находящийся в цитоплазме живой клетки. Цитоскелет — динамичная, изменяющаяся структура, в функции которой входят:

- 1) поддержание и адаптация формы клетки к внешним воздействиям;
- 2) экзо- и эндоцитоз;
- 3) обеспечение движения клетки как целого;
- 4) активный внутриклеточный транспорт;
- 5) клеточное деление.

Цитоскелет клетки включает три основных типа фибрилл:

- 1) микротрубочки;
- 2) средние филаменты;
- 3) микрофиламенты (актиновые филаменты).

Клетки эукариот содержат эти три типа так называемых филаментов, которые являются супрамолекулярными протяжёнными структурами, состоящими из белков одного типа, сходных с полимерами. Разница заключается в том, что в полимерах связь между мономерами ковалентная, а в филаментах связь составных субъединиц обеспечивается за счёт слабых нековалентных взаимодействий. На

рисунке 9 представлены эти три типа филаментов в клетке.

Наиболее крупными филаментами являются **микротрубочки** диаметром 25 нм и состоящие из белков  $\alpha, \beta$ -тубулиновых гетеродимеров, которые собраны в протофиламенты. Подвижность, стабильность и способность к взаимодействию определяется ассоциированными с микротрубочками белками — MAPs.

Выделяют следующие основные функции микротрубочек:

1. Формирование части митотического веретена, центриолей.
2. Образование сердцевинной части ресничек и флагелл.
3. Определение расположения целлюлозы в стенках растительных клеток.
4. Поддержание мембран аппарата Гольджи и эндоплазматического ретикулума.

5. Обеспечение подвижности везикул и других молекул между клеточным телом и окончаниями аксонов.

Микротрубочки состоят из глобулярных субъединиц —  $\alpha, \beta$ -тубулиновых гетеродимеров; в каждой микротрубочке в одном слое собраны 13 субъединиц (рис. 10). Известно, что  $\alpha$ -тубулин связан с ГТФ, которая не гидролизуется, а  $\beta$ -тубулин связан с ГДФ, которая заменяется на ГТФ перед полимеризацией. На рисунке слева представлена микротрубочка, у которой сверху — плюс-конец, а снизу — минус-конец.

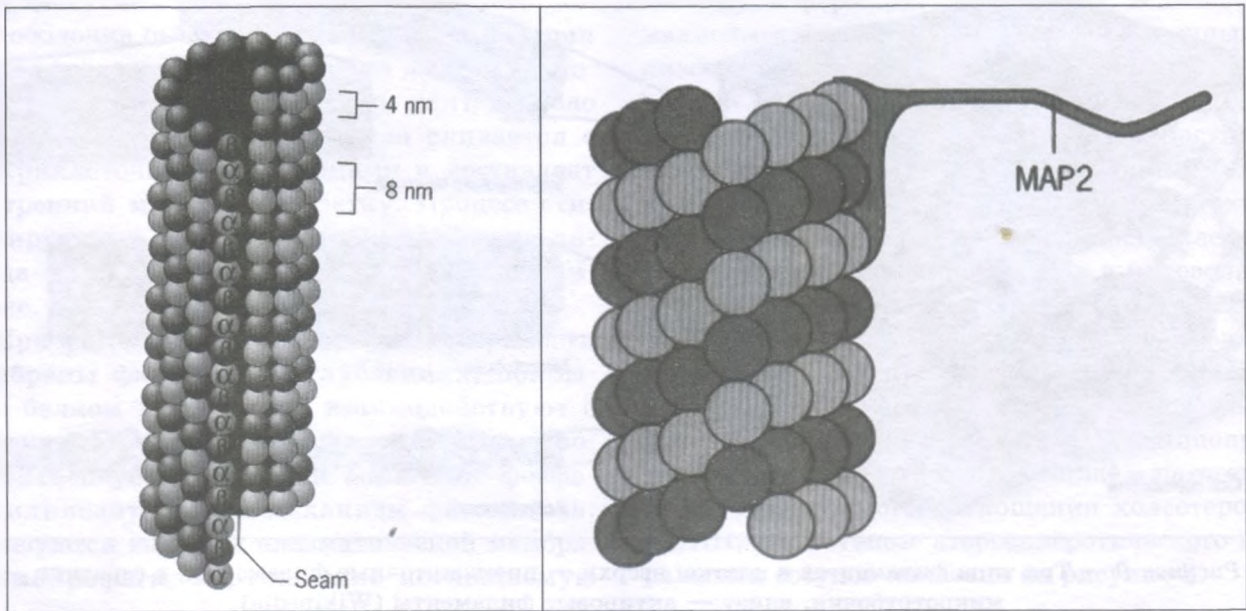


Рисунок 10 — Структура микротрубочек: слева — образование микротрубочки из глобул тубулина; сверху — 13 глобул  $\beta$ -субъединиц, сшиваются  $\alpha$  и  $\beta$ , образуя шов (seam); полярность — плюс-конец, где  $\beta$ -субъединицы, минус-конец, где  $\alpha$ -субъединицы (полярность важна для роста и взаимодействий); справа — ассоциированный с микротрубочкой белок [4]

В цитоплазме клеток микротрубочки образуют сеть «дорог», по которым перемещаются грузы в везикулах (рис. 11).

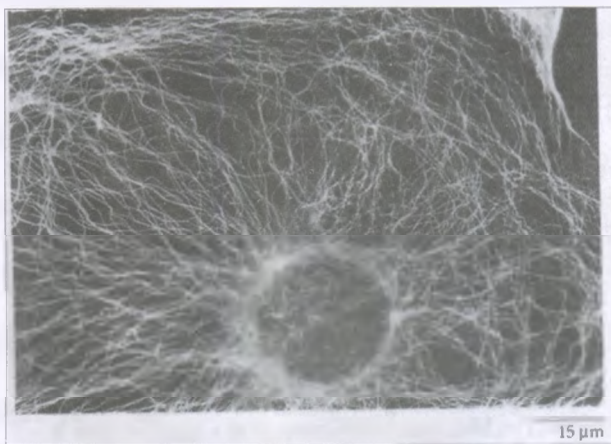


Рисунок 11 — Локализация микротрубочек в клетке [4]

Скорость транспорта везикул с нейромедиаторами в аксоне нервной клетки вдоль микротрубочек достигает 5 мкм/с. Переносчиками везикул вдоль внутриклеточных «дорог» — микротрубочек являются *биохимические моторы динеины и кинезины*. Кинезины и цитоплазматические динеины перемещают материалы вдоль микротрубочек в противоположных

направлениях. Кинезины движут материалы в направлении плюс-конца микротрубочек, а цитоплазматические динеины — минус-конца

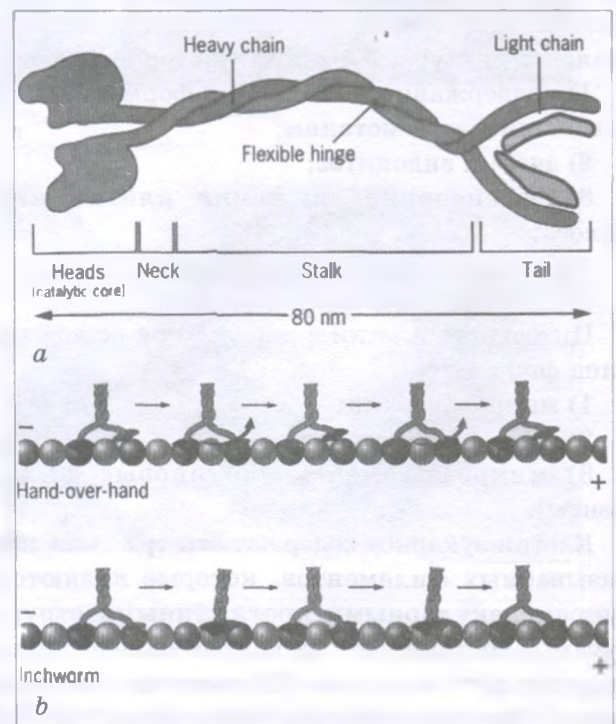


Рисунок 12 — Биохимический мотор кинезин: а — строение белка-мотора; б — перемещение и перенос груза к плюс-концу микротрубочки [4]

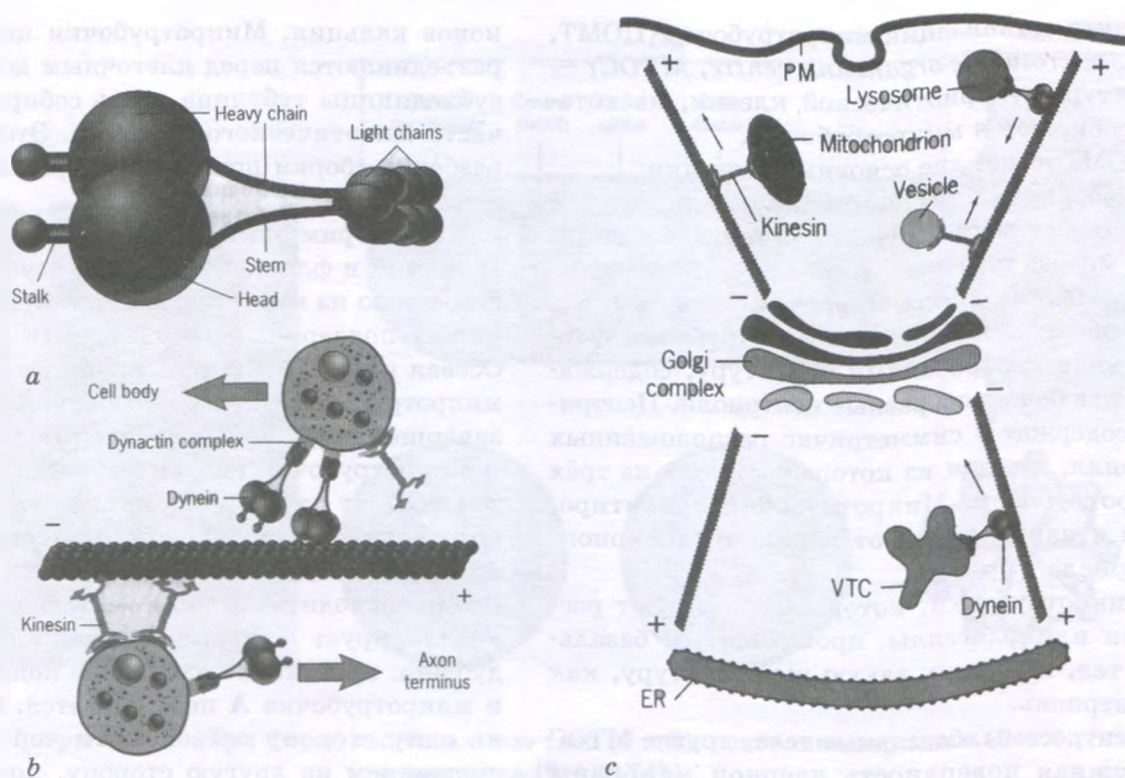


Рисунок 13 — *a* — Строение динеина; *b* — динеин (сверху) перемещает груз к минус-концу микротрубочки; кинезин (внизу) перемещает груз к плюс-концу микротрубочки; *c* — работа биохимических моторов по транспорту везикул (грузов) в системе «шероховатый эндоплазматический ретикулум — аппарат Гольджи — плазматическая мембрана клетки» [4]

микротрубочек. Кинезины обычно перемещают груз от центра клетки к периферии, а также вдоль аксона от клеточного тела к нервному окончанию.

На рисунке 12 представлены схема строения кинезина и механизм перемещения «шагами» по микротрубочке, а на рисунке 13 представлены данные о биохимическом моторе динеине.

Кинезин перемещает вдоль микротрубочек мембранные пузырьки (везикулы) и другие органеллы (например, митохондрии). На каждый «шаг» головки при этом затрачивается энергия гидролиза одной молекулы АТФ. Ранее считалось, что энергия АТФ обеспечивает перемещение головки в нужном направлении. Теперь предполагается, что головка болтается случайным образом за счёт диффузии, а энергия АТФ затрачивается на связывание с тубулином.

Максимальная скорость переноса грузов по микротрубочкам, которую могут развивать биохимические моторы: динеины около 14 мкм/с; кинезины только около 2–3 мкм/с.

Динеины делятся на две группы — цитоплазматические и аксонемные:

- цитоплазматические — растворимые белки цитоплазмы;
- аксонемные входят в состав аксонемы эукариотических жгутиков и ресничек.

Динеины бывают задействованы в движении хромосом и влияют на месторасположение веретена деления при делении клетки. В эукариотических клетках цитоплазматический динеин (1,5 МДа) активируется соединением с динактином, белком, необходимым для митоза.

Благодаря аксонемному динеину реснички и жгутики подвижны. Такой динеин находится только в клетках, имеющих эти структуры. *Аксонемные динеины* — гетеродимеры или гетеротримеры, имеющие две или три моторные головки. Предполагается, что группы молекул динеина, отвечающих за движение в противоположных направлениях, активируются и инактивируются согласованным образом, и поэтому реснички и жгутики могут двигаться как вперёд, так и назад.

Центр организации микротрубочек (ЦОМТ, англ. *microtubule-organising centre, МТОС*) — структура эукариотической клетки, на которой собираются микротрубочки.

ЦОМТ имеет две основные функции:

- 1) сборка жгутиков и ресничек;
- 2) образование нитей веретена деления в ходе митоза и мейоза.

**Нуклеация микротрубочек.**

В животных клетках микротрубочки формируют с centrosомами структуру, содержащую две бочонкообразные центриоли. Центриоли содержат 9 симметрично расположенных фибрилл, каждая из которых состоит из трёх микротрубочек. Микротрубочки ориентованы в направлении от перичентриолярного материала.

Микротрубочки, которые формируют реснички или флагеллы, происходят от базальных тел, имеющих такую же структуру, как и центриоль.

Centrosомы, базальные тела, другие МТОС (наружная поверхность ядерной мембраны растительных клеток) содержат  $\gamma$ -тубулин, необходимый для нуклеации микротрубочек.

В большинстве клеток животных в течение интерфазы присутствует одна centrosома, обычно располагающаяся возле ядра. В ней до S-периода содержится одна центриоль. В ходе S-периода достраивается вторая центриоль. Микротрубочки закорены своими (-) концами на centrosоме, что предотвращает их полный распад. Отходящие от centrosомы микротрубочки медленно растут, а затем быстро распадаются почти целиком начиная с (+) конца. Полярность микротрубочек важна для везикулярного транспорта.

В эпителиальных клетках животных, клетках сетчатки глаза и других нервных клетках-рецепторах, а также в клетках многих протистов ЦОМТы, содержащие центриоли, служат базальными тельцами ресничек и жгутиков. На базальных тельцах происходит нуклеация микротрубочек, а закоривание (-) концов обеспечивает их стабилизацию. Базальные тельца обеспечивают рост ресничек и жгутиков.

Микротрубочки цитоскелета являются динамическими полимерами, которые могут укорачиваться, удлиняться, разъединяться и собираться. Разборка микротубулярного цитоскелета индуцируется колхицином, низкой температурой, повышенной концентрацией

ионов кальция. Микротрубочки цитоскелета разъединяются перед клеточным делением, и субъединицы тубулина вновь собираются как часть митотического веретена. Этот процесс разборки-сборки повторяется при каждом делении.

Рассмотрим движение ресничек и флагелл. Реснички и флагеллы имеют осевую нить, построенную из микротрубочек, которая обеспечивает поддержание структуры и движение. Осевая нить состоит из 9 внешних сдвоенных микротрубочек (А — завершенная и В — незавершенная). Два ответвления тянутся от А-микротрубочки каждого дублета. Ответвления состоят из цилиарного динеина — моторного белка, превращающего энергию гидролиза АТФ в движение ресничек и флагелл. Это происходит, когда динеин одного дублета контактирует с В-микротрубочкой соседнего дублета: происходит изменение конформации, и микротрубочка А перемещается. Смещение на одну сторону осевой нити чередуется со смещением на другую сторону, поэтому реснички и флагеллы наклоняются в одну и затем в другую стороны (рис. 14).

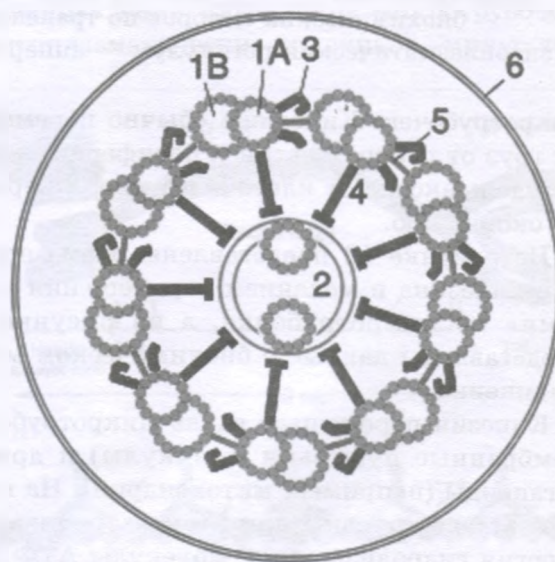


Рисунок 14 — Схема строения аксонемы жгутика. 1А и 1В — А- и В-микротрубочки периферического дублета; 2 — центральная пара микротрубочек и центральная капсула; 3 — динеиновые ручки; 4 — радиальная спица; 5 — нексиновый мостик; 6 — клеточная мембрана (Wikipedia)

Рассмотрим компоненты аксонемы (рис. 15). Для нормально функционирующих



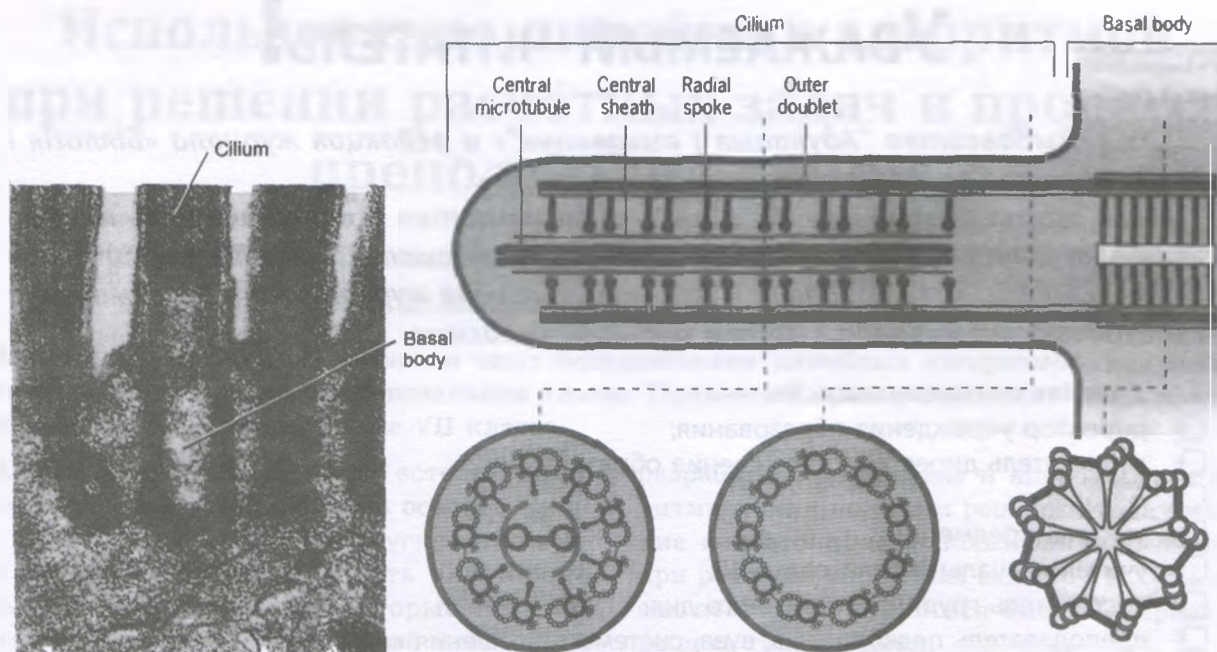


Рисунок 15 — Три формулы: базальное тело (9 × 3), основание ворсинки (9 + 0) и ворсинка (9 + 2) [4]

жгутиков большинства эукариот характерна так называемая структура 9 + 2 (девять периферических дублетов микротрубочек, расположенных по кругу, и две микротрубочки в центре).

Базальное тельце (кинетосома). Лежащее в цитоплазме клетки основание аксонемы — кинетосома, или базальное тельце, — нередко связанное с клеточным центром, отличается от дистальной части аксонемы тем, что в ней отсутствуют центральные микротрубочки, а на периферии располагаются девять *триплетов*, а не *дублетов*.

В центре аксонемы проходят две микротрубочки, заключённые в центральную капсулу. В ряде случаев, например в неподвижных сенсорных ресничках, центральные микротрубочки не развиты. Такой вариант строения аксонемы (с имеющимися периферийными дублетами, но без центральных микротрубочек) получил краткое обозначение «9 + 0».

Динеиновые ручки образованы двигательным белком динеином. Они крепятся к А-микротрубочкам периферических дублетов и направлены к В-микротрубочкам. Молекулы динеина способны к обратимому изменению конформации при гидролизе АТФ. За счёт этих изменений обращённый к В-микротрубочке конец ручки может перемещаться, обеспечивая *скользящее движение* периферических дублетов аксонемы друг относительно друга.

Радиальные спицы, отходящие от периферических микротрубочек к центральной паре, представляют собой Т-образные структуры, крепящиеся к А-микротрубочкам периферических дублетов и обращённые расширенным концом к центру аксонемы. Состав радиальных спиц высококонсервативен.

Несократимые мостики, связывающие между собой периферические дублеты, и капсула вокруг центральной пары микротрубочек образованы белками, получившими название *нексинов*.

(Продолжение следует.)