

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО  
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ  
УЗБЕКИСТАНА**

**ГУЛИСТАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**



**КАФЕДРА БИОЛОГИИ**

**УЧЕБНЫЙ МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО**

**БИОФИЗИКИ**

<b>Область знаний:</b>	<b>100 000 -</b>	<b>Гуманитарная</b>
<b>Область образования:</b>	<b>140 000 -</b>	<b>Естественные науки</b>
<b>Направления образования:</b>	<b>5140100 -</b>	<b>Биология</b>

Данный учебный методический комплекс предназначен студентам обучающимся по направлению биология – 5140100. Учебный методический комплекс подготовлен согласно требованиям типовой программы по Биофизике утвержденной 29.08.2020 года (№ BD-5140100-2.11) министерством высшего и средне специального образования республики Узбекистан.

**Составители:**

**А.Т.Каримкулов** – ГулДУ, доцент кафедры “Биологии”, кандидат биологических наук.

**Рецензент:**

**Х.Х.Кушиев** – ГулДУ, профессор кафедры “Биологии”, доктор биологических наук.

Учебный методический комплекс одобрен Учебно-методическим советом Гулстанского государственного университета (протоколом № \_\_\_\_ от “\_\_\_\_” августа 2022 года).

## С О Д Е Р Ж А Н И Е

<b>ПРЕДИСЛОВИЕ.....</b>	<b>4</b>
<b>ЛЕКЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ.....</b>	<b>5</b>
<b>ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ.....</b>	<b>167</b>
<b>САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА.....</b>	<b>226</b>
<b>ГЛОССАРИЙ.....</b>	<b>227</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ.....</b>	<b>239</b>
<b>Типовая программа.....</b>	<b>240</b>
<b>Рабочая учебная программа.....</b>	<b>250</b>
<b>Тесты.....</b>	<b>259</b>
<b>Вопросы итогового контроля.....</b>	<b>264</b>

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Как самостоятельная наука биофизика возникла в 1966 году, когда был организован международный научный союз биофизиков, и появилось следующее определение этой науки: *«Биофизика представляет собой особую ориентацию мысли»*. Тем не менее, дискуссия о сути биофизики, как науки, продолжается и до сегодняшнего дня.

Биофизика возникла на стыке биологии и физики и, в силу этого, состав биофизиков всегда был неоднороден. До сих пор просматриваются два направления в развитии биофизики, и их ассимиляция происходит не всегда гладко. Так, с одной стороны, физические явления жизнедеятельности принимаются за самостоятельный предмет изучения в отрыве от их биологического значения, и нередко все проявления жизни сводятся к физическим закономерностям. С другой стороны, наоборот, предполагается, что наряду с физическими закономерностями живым системам присущи особые свойства, в принципе необъяснимые с точки зрения физики. По этим причинам определения биофизики несут нередко диаметрально противоположный характер. Например:

«Биофизика – это физическая химия и химическая физика биологических процессов» (П.О.Макаров, 1968).

«Биофизика – физика явлений жизни, изучаемых на всех уровнях» (Волькенштейн, 1981).

«Биофизика – часть биологии, имеющая дело с физическими принципами построения и функционирования некоторых сравнительно простых биологических систем» (Л.А.Блюменфельд, 1977).

Приведенные формулировки определяют по сути два подхода к биофизике, основанных на противоположных методологиях этих подходов.

Аргументы «физиков» чаще всего сводятся к тому, что многие сложные биологические процессы хорошо укладываются в рамки сравнительно простых математических моделей (ферментативный катализ, фотоинактивация ферментов, популяционная модель «хищник-жертва»).

Сторонники «биологического» подхода утверждают, что в живых системах можно найти множество явлений, не присущих неживой природе. Основным предметом этой затянувшейся дискуссии является вопрос «Сводятся ли все проявления жизни к физико-химическим закономерностям?»

Методологической основой решения данного вопроса стал принцип качественной несводимости. Он предполагает, что по мере накопления научных знаний будут предлагаться физико-химические объяснения биологических проблем и, в то же время, обнаруживаться новые знания о живой природе, не объяснимые на данном этапе с точки зрения физики. Главное практическое следствие из принципа качественной несводимости – лишь «качественный сплав» методов физики и биологии может обеспечить биофизике продвижение вперед. Отсюда наиболее рациональным, на наш взгляд, является определение биофизики, предложенное Н.И. Рыбиным (1990):

*«Биофизика – естественнонаучное направление, целью которого является рациональное объяснение связи физического и биологического аспектов живой материи».*

## ЛЕКЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

### 1-ТЕМА. ВВЕДЕНИЕ В БИОФИЗИКУ

#### План

1. Предмет биофизики
2. История развития биофизики
3. Что изучает биофизика?
4. Особенности биофизических методов

**Ключевые слова:** биофизика, физика, физиология, термодинамика, биологическое электричество, гальванометр, кинетика биологических процессов, фотобиология, молекулярная биофизика, биофизика клетки, биофизика сложных систем

#### Предмет биофизики

Как самостоятельная наука биофизика возникла в 1966 году, когда был организован международный научный союз биофизиков, и появилось следующее определение этой науки: *«Биофизика представляет собой особую ориентацию мысли»*. Тем не менее, дискуссия о сути биофизики, как науки, продолжается и до сегодняшнего дня.

Биофизика возникла на стыке биологии и физики и, в силу этого, состав биофизиков всегда был неоднороден. До сих пор просматриваются два направления в развитии биофизики, и их ассимиляция происходит не всегда гладко. Так, с одной стороны, физические явления жизнедеятельности принимаются за самостоятельный предмет изучения в отрыве от их биологического значения, и нередко все проявления жизни сводятся к физическим закономерностям. С другой стороны, наоборот, предполагается, что наряду с физическими закономерностями живым системам присущи особые свойства, в принципе необъяснимые с точки зрения физики. По этим причинам определения биофизики несут нередко диаметрально противоположный характер. Например:

«Биофизика – это физическая химия и химическая физика биологических процессов» (П.О.Макаров, 1968).

«Биофизика – физика явлений жизни, изучаемых на всех уровнях» (Волькенштейн, 1981).

И в то же время:

«Биофизика – часть биологии, имеющая дело с физическими принципами построения и функционирования некоторых сравнительно простых биологических систем» (Л.А.Блюменфельд, 1977).

Приведенные формулировки определяют по сути два подхода к биофизике, основанных на противоположных методологиях этих подходов.

Аргументы «физиков» чаще всего сводятся к тому, что многие сложные биологические процессы хорошо укладываются в рамки сравнительно простых математических моделей (ферментативный катализ, фотоинаktivация ферментов, популяционная модель «хищник-жертва»).

Сторонники «биологического» подхода утверждают, что в живых системах можно найти множество явлений, не присущих неживой природе. Основным предметом этой затянувшейся дискуссии является вопрос «Сводятся ли всепроявления жизни к физико-химическим закономерностям?»

Методологической основой решения данного вопроса стал принцип качественной несводимости. Он предполагает, что по мере накопления научных знаний будут предлагаться физико-химические объяснения биологических проблем и, в то же время, обнаруживаться новые знания о живой природе, не объяснимые на данном этапе с точки зрения физики. Главное практическое следствие из принципа качественной несводимости – лишь «качественный сплав» методов физики и биологии может обеспечить биофизике продвижение вперед. Отсюда наиболее рациональным, на наш взгляд, является определение биофизики, предложенное Н.И. Рыбиным (1990):

*«Биофизика – естественнонаучное направление, целью которого является рациональное объяснение связи физического и биологического аспектов живой материи».*

### **История развития биофизики**

Можно утверждать, что свою историю биофизика начинает вести с фундаментального трактата Цицерона (II-III век н.э.) «Физиология». Это название происходит от слова физика – так тогда называли науку о природе. Науку же о живой природе Цицерон назвал физиологией. Такое название уже свидетельствует о большой роли физики в формировании науки о жизни.

Изучение физических свойств биологических объектов началось в XVII веке – с тех пор, когда были заложены основы первого раздела физики – механики. В биологии в то время наиболее интенсивное развитие получила анатомия. В этот период опубликованы работы У. Гарвея (1628) «Кровообращение»; Р. Декарта (1637) «Диоптика»; Дж. Борелли (1680) «О движении животных», в которых были представлены основы биомеханики. В 1660 году А. Левенгук изобрел микроскоп, который сразу же нашел широчайшее применение в биологических исследованиях, став, по сути, первым истинно биофизическим методом изучения живой природы.

В XVIII веке в физике происходит развитие разделов гидродинамики, теории газовых состояний, термодинамики, закладываются основы учения об электричестве. В математике формируются методы дифференциального и интегрального исчисления. Ф. Лейбниц предложил понятие «живой силы» –  $mV^2$  в противовес количеству движения  $mV$ . В это время описаны основные принципы гемодинамики, которые позже относят к биофизике (Л. Эйлер).

Классические эксперименты А. Лавуазье и П. Лапласа, позволившие установить аналогичную природу процессов дыхания и горения, указать на кислород как источник теплоты, опубликованы в трактате «О теплоте» (1783). А. Лавуазье и Ж. Сегэн в «Мемуарах о дыхании животных» описали связь потребления кислорода с совершаемой механической работой.

Следующий серьезный шаг в развитии биофизики связан с открытием Л. Гальвани биологического электричества (1791). Он обнаружил феномен подергивания лягушачьих лапок в ответ на электрический разряд и предположил главную роль электричества в нервно-мышечной передаче. Л. Гальвани установил количественную зависимость раздражения и возбуждения, ввел понятие «порога». В 1837 году Маттеучи, используя гальванометр, впервые зарегистрировал электрический потенциал живых клеток.

В XIX веке классическая физика сформировалась уже в том виде, как мы знаем ее сегодня. На границе XIX – XX веков шло формирование и биофизики как комплексной и целостной системы знаний о живой природе. Сегодня биофизика включает целый ряд разделов, каждый из которых сформировался в самостоятельное научное направление. И если в 1930 – 40-е годы еще можно было считать себя специалистом в биофизике «вообще», то сегодня одному человеку явно не под силу охватить все ее направления.

### **Что изучает биофизика?**

*Раздел 1. Общая биофизика.* Включает в себя термодинамику биологических систем, кинетику биологических процессов, фотобиологию и молекулярную биофизику.

*Биологическая термодинамика, или термодинамика биологических систем,* изучает процессы превращения вещества и энергии в живых организмах. Этот раздел биофизики до сих пор создает почву для дискуссий о том, выполняются ли законы термодинамики в живых организмах. Основу этому разделу положили уже упомянутые выше работы А. Лавуазье и П. Лапласа, доказавшие применимость первого закона термодинамики к живым системам. Дальнейшее развитие этого направления привело к описанию Гельмгольцем тепловых эквивалентов пищи. Наибольший вклад в этот процесс внес австрийский биофизик И. Пригожин, доказавший применимость второго закона термодинамики к биологическим системам и положивший начало учению о термодинамике открытых неравновесных систем.

*Кинетика биологических процессов* – пожалуй, наиболее близкая к физике и химии область биофизики. Скорость и закономерности протекания реакций в живых системах мало отличаются от остальных. Эксклюзивным предметом является – учение о ферментах, о кинетике ферментативных реакций и способах регуляции ферментативной активности, описанная Михаэлисом и Ментен.

*Фотобиология, или квантовая биофизика* – изучает взаимодействие излучений с живыми организмами. Видимый свет играет исключительно важную роль в биологии как источник энергии (фотосинтез) и информации

(зрение). Здесь нужно отметить большой вклад русского ученого М. Ломоносова, предложившего трехкомпонентную теорию цветного зрения, нашедшую затем свое развитие в работах Юнга и Гельмгольца («Физиологическая оптика», 1867). Они описали оптическую систему глаза, явление аккомодации и изобрели «глазное зеркало» – офтальмоскоп, до сегодняшнего дня используемый при исследовании сетчатки.

*Молекулярная биофизика* – раздел, тесно прилегающий к физической химии и изучающий закономерности образования и функционирования биомакромолекул. Этот раздел начал бурно развиваться лишь во второй половине XX века, так как требует сложного оборудования для проведения исследований. Здесь следует отметить работы Поллинга и Кори по изучению структуры молекул белка, Уотсона и Крика – по изучению молекулы ДНК.

*Раздел II. Биофизика клетки.* Предметом данного раздела являются принципы организации и функционирования живой клетки и ее фрагментов, биологических мембран.

Этот раздел биофизики стал развиваться после появления клеточной теории Шванна. Были описаны структура и функция клеточных мембран (Робертсон, Синджер и Николсон), сформулированы представления об избирательной проницаемости мембран (В. Пфедфер и Х. де Фриз, Овертон), учение об ионных каналах (Эйзенман, Муллинз, Хилле).

Эксперименты Э. Дюбуа-Реймона и теория В. Оствальда о трансмембранной разности потенциалов положили начало учению о биологическом электричестве, о возбудимых тканях и привели к пониманию закономерностей функционирования нервных и мышечных клеток.

Механизмы передачи информации в клетках, учение о первичных и вторичных посредниках и внутриклеточных сигнальных системах – одно из активно развивающихся направлений современной биофизики. Ионы кальция, циклические нуклеотиды, продукты гидролиза мембранных фосфоинозитидов, простагландины, оксид азота – перечень молекул, передающих информацию от мембраны внутрь клетки и между клетками, постоянно пополняется.

*Раздел III. Биофизика сложных систем.* Естественным этапом в развитии биофизики явился переход к описанию сложных биологических систем. Начав с исследования отдельных тканей и органов, сегодня биофизика анализирует процессы, протекающие на уровне целого организма, надорганизменных систем (популяций и экологических сообществ), биосферы в целом. Делаются попытки использовать биофизические подходы к анализу социальных процессов.

Биофизика все глубже внедряется в медицину. Новые биофизические подходы находят применение в диагностике и лечении различных заболеваний. В качестве примеров можно назвать магниторезонансную томографию, воздействие электромагнитными волнами высокочастотного диапазона, методы клеточной терапии и т.д.

### **Особенности биофизических методов**

Как упоминалось выше, принцип качественной несводимости в



биофизике обуславливает необходимость «качественного сплава» методов физики и биологии. Биофизические методы исследования характеризуются рядом общих свойств.

*Во-первых*, биофизика оперирует количественными методами, позволяющими измерить и объективно оценить исследуемое явление. Этот методологический принцип привнесен из физики.

*Во-вторых*, биофизика рассматривает изучаемый объект в целом, не расчленяя его. Естественно, что любое измерение неизбежно вносит в изучаемую систему некоторые возмущения, но биофизические методы стремятся свести это возмущение к минимуму. По этой причине в настоящее время широкое распространение в биофизике получают такие методы, как инфракрасная спектроскопия, исследование отраженного света, флуоресцентные методы исследований.

*В-третьих*, важным методологическим принципом биофизики является «стратегия системного подхода». Биофизические методы основываются на неразрывности структуры и функции, рассматривая структурно-функциональные взаимосвязи в живых системах как основной принцип их организации.

Названные особенности определяют биофизику как самостоятельное научное направление, имеющее собственный предмет исследований и методологические подходы. В следующих лекциях будут рассмотрены отдельные разделы биофизики, описаны достижения этой важной науки на современном этапе. Особое внимание будет уделено применению биофизических методов в биологии и медицине.

## 2-ТЕМА. ТЕРМОДИНАМИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

### План

1. Основные понятия термодинамики
2. Законы термодинамики
3. *Термодинамические потенциалы*
4. *Закон Вант – Гоффа*

**Ключевые слова:** термодинамика равновесных систем, термодинамика неравновесных систем, изолированная система, замкнутая система, открытая система, экстенсивные и интенсивные параметры, обратимые и необратимые процессы, первый закон термодинамики, второй закон термодинамики, термодинамические потенциалы.

### Основные понятия термодинамики.

*Термодинамика* (ТД) – наука, изучающая наиболее общие законы превращения различных видов энергии в системе.

Различают *термодинамику равновесных систем* (классическую, равновесную) и *термодинамику неравновесных систем* (линейную и нелинейную).

Под *термодинамической* , *системой* понимают часть

пространства, ограниченную условно) поверхностью оболочкой.

Обязательными характеристиками термодинамической системы (М) является большое количество микрочастиц (m), размеры которых много меньше самой системы:

$$m \ll M.$$

Различают 3 типа систем:

*Изолированная* – не обменивается с окружающей средой ни веществом, ни энергией.

*Замкнутая* (закрытая) – обменивается с окружающей средой только энергией.

*Открытая* – обменивается с окружающей средой энергией и веществом.

Термодинамическая система характеризуется определенными параметрами функциями, которые количественно описывают их состояние и подразделяются на:

*Экстенсивные*, которые зависят от общего количества вещества в системе (масса, объем).

*Интенсивные*, которые не зависят от общего количества вещества в системе (давление, температура).

Термодинамические процессы – это процессы обмена энергией и веществом или переход энергии из одной формы в другую. Они бывают *обратимые и необратимые*.

При *обратимом* процессе переход от начального к конечному состоянию, и наоборот, не требует дополнительных затрат энергии. Энергия переходит из одного вида к другому без потерь. Характеризует идеальные процессы.

При *необратимом* процессе переход от конечного состояния к начальному требует дополнительных затрат энергии, так как процессы идут с частичными потерями энергии в виде тепла. Характеризует реальные процессы.

Основная задача термодинамики – однозначное описание изменений в термодинамической системе при её переходе из одного состояния в другое. Различают *равновесное и неравновесное* состояние термодинамической системы:

*Равновесным* называется такое состояние системы, когда ее параметры не меняются с течением времени. Интенсивные параметры одинаковы во всех точках системы, т.е. градиенты этих параметров отсутствуют. Параметры системы не меняются с течением времени.

*Неравновесное* называется такое состояние системы, когда ее параметры меняются с течением времени. Интенсивные параметры различны в разных точках системы, т.е. имеются *градиенты* этих параметров.

*Градиент* – изменение параметра в пространстве. Существуют градиенты: температуры  $-\Delta T / \Delta x$ , концентрации  $-\Delta c / \Delta x$ , давления  $-\Delta p / \Delta x$  и т.д..

Связи между параметрами системы называют уравнениями состояния. Изменение любого из параметров приводит к изменению состояния системы.

Переход системы от одного состояния к другому происходит в результате различных процессов, которые подчиняются законам ТД.

### Законы термодинамики

#### *Первый закон термодинамики – закон сохранения энергии*

В качестве функции состояния наиболее показательна *внутренняя энергия системы*. Являясь суммой кинетической и потенциальной энергии всех атомов и молекул данной системы, она зависит от термодинамических параметров.

$$U = f(m, p, V, T).$$

Ее производная  $\Delta U$  не зависит от пути перехода и является отражением I-го закона ТД:

$$\Delta U = U_2 - U_1 = Q \pm W,$$

где  $Q$  и  $W$  – сообщенное тепло и совершаемая работа, над системой (+), а (-) – самой системой, соответственно.

В дифференциальной форме I-ый закон ТД выглядит так:

$$dU = \delta Q \pm \delta W$$

где  $Q$  и  $W$  – сообщенное тепло и совершаемая работа, соответственно, не являются функциями состояния, так как это функции процесса, которые не могут быть выражены разностью начального и конечного значения и поэтому не имеют полного дифференциала.

Следствием I-го закона термодинамики является закон Гесса, утверждающий, что тепловой эффект реакции не зависит от пути реакции, а только от начального и конечного состояния:

$$Q = \Delta U + P \Delta V = \Delta(U + PV) = \sum_i H_{ik} - \sum_j H_{ju} = \Delta H,$$

где  $H$  – энтальпия, а  $\Delta H$  – разница между энтальпией продуктов реакции ( $\sum H_{ik}$ ) и исходными продуктами ( $\sum H_{ju}$ ),  $P \Delta V$  – работа по изменению объема.

Доказательства применимости I-го закона ТД к живым системам были приведены с помощью методов прямой и непрямой калориметрии.

*Прямая калориметрия* связана с непосредственным определением количества энергии в системе при полном сжигании ее в замкнутом пространстве (калориметрическая бомба).

*Непрямая калориметрия* основана на знании тепловых эквивалентов используемых с пищей веществ. В 1904 г. Этуотер сконструировал дыхательный калориметр, измеряющий поток теплоты между его стенками, и поместил туда человека, измеряя количество калорий, выделяемых и потребляемых им с пищей в течение суток. В итоге измерений при минимальной работе, совершаемой человеком, оказалось, что эти величины (7784,1 кДж – потреблено с пищей и 7771 кДж – выделено) друг от друга отличались незначительно.

Табл.1 Значение дыхательных коэффициентов  $\delta$  и энергетических эквивалентов Q (энергия на 1 л O<sub>2</sub>) при окислении органических веществ

Наименование вещества	$\delta$	Q, кДж/л
Углеводы	1	21,0
Белки	0,8	18,8
Жиры	0,71	19,6

Оба метода убедительно подтвердили применимость I-го закона ТД к биологическим системам.

***Второй закон термодинамики определяет направление протекания процесса.***

Для обратимых процессов отношение:

$\frac{\delta Q}{T} = \text{const.} = \Delta S$ ;  
S Дж/Кельвин – функция состояния системы, названная *энтропией*, равна:

$$dS = \frac{\delta Q}{T},$$

*Второй закон термодинамики в дифференциальной форме:*

$dS = \frac{\delta Q}{T} \geq 0$ , так как в изолированной системе:  $\frac{\delta Q}{T} = 0$ .

*Энтропия имеет вероятностную природу:*

$$S = K_0 \ln W,$$

где  $K_0$  – постоянная Больцмана,  $K_0 = 1,38 \cdot 10^{-23}$  Дж К<sup>-1</sup>, а  
 $W = \frac{N!}{N_1! \cdot N_2! \cdot N_n!},$

причем  $N = N_1 + N_2 + \dots + N_n$  - число вероятных состояний системы.

Таким образом, I-й закон ТД определяет энергетический баланс в закрытой системе, а II-й – дает возможность установить направленность термодинамического процесса.

### **Термодинамические потенциалы**

По изменению  $\Delta U$  и  $\Delta S$  нельзя оценить величину производимой работы, их начальных и конечных значений. Для этого и вводят термодинамические потенциалы, которые выводятся из объединенной записи I-го и II-го законов термодинамики.

### **Объединённая запись I и II законов ТД**

$$\begin{aligned}\delta Q &= TdS, \\ TdS &= dU + \delta W, \\ dU &= \delta W - TdS.\end{aligned}$$

Видно, что изменение внутренней энергии складывается из двух компонентов:

$\delta W$  – совершаемая работа – это свободная энергия,

$TdS$  – рассеянная в виде тепла – связанная энергия.

Для количественной оценки свободной энергии необходимо наложить ограничения:

1. При постоянном давлении  $P$ , работа по изменению объёма будет равна  $PdV$ , а количество теплоты, согласно I-му закону ТД:

$$Q = \Delta U + P\Delta V = \Delta(U + PV) = \Delta H$$

будет отражать изменение энтальпии – теплосодержание системы.

$$dH = dU + PdV$$

$$H = U + PV$$

Т.е. энтальпия равна количеству теплоты, выделяемой системой.

Зная энтальпию исходных веществ и продуктов реакции и основываясь на законе Гесса, можно определить её тепловой эффект (см. стр.12)

2. При постоянных  $V$  и  $T$  рассчитывается свободная энергия Гельмгольца.

Совершаемая работа условно состоит из 2-х компонент:

$$\begin{aligned}W &= W_{\text{ПОЛЕЗНОЕ}} + P\Delta V, \\ TdS &= dU + \delta W_{\text{ПОЛЕЗНОЕ}} + PdV, \\ -\delta W_{\text{ПОЛЕЗНОЕ}} &= dU + PdV - TdS,\end{aligned}$$

так как  $P\Delta V = 0$ ,

$-\delta W_{\text{ПОЛЕЗНОЕ}} = dU - TdS = dF$  – свободная энергия Гельмгольца.

$$\begin{aligned}F &= U - TS, \\ dF &= dU - TdS.\end{aligned}$$

3. При постоянных  $P$  и  $T$  рассчитывается свободная энергия Гиббса:

$$-\delta W_{\text{ПОЛЕЗНОЕ}} = dU + PdV - TdS = dH - TdS = dG \text{ – свободная энергия}$$

Гиббса, и она равна:

$$\begin{aligned}G &= H - TS, \\ dG &= dH - TdS,\end{aligned}$$

Так как в биологических системах  $p = \text{Гиббса}$ .

### Следствия I и II –го законов ТД

const., чаще используют энергию

1. Необратимый процесс всегда сопровождается рассеянием энергии в тепло  $TdS$ ;
2. Если  $dF < 0$  или  $dG < 0$ , то процесс самопроизвольный и необратим, если  $dF > 0$  и  $dG > 0$ , то процесс не самопроизвольный и обратимый.
3. При достижении равновесия  $F$  и  $G \rightarrow \min.$ , а  $dF$  и  $dG = 0$

### Закон Вант – Гоффа

Для идеального газа с учетом того, что свободная энергия Гиббса при полном дифференцировании:  $dG = dU + pdV + VdP - TdS - SdT = VdP - SdT$ , где:

$$dG = VdP - SdT$$

и постоянной температуре, получим:

$$pV = RT, \quad V = \frac{RT}{P} \Rightarrow dG = RT \frac{dP}{P}, \quad G = RT \int_{P_1}^{P_2} \frac{dP}{P} = RT(\ln P_2 - \ln P_1).$$

Если первое состояние – в стандартных условиях и имеет стандартную величину  $G^0$ , то итоговое значение свободной энергии Гиббса будет равно:

$$G = G^0 + RT \ln P.$$

Для разбавленных растворов  $P \approx C$  (концентрация) и тогда:

$$G = G^0 + RT \ln C.$$

Для простого процесса  $A \leftrightarrow B$  В состоянии равновесия  $\Delta G = 0$ , тогда,

$$\Delta G^0 = -RT \ln \frac{A}{B}$$

а так как  $\frac{B}{A} = K_P$  (константа равновесия), получаем:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_P - \text{закон Вант – Гоффа}$$

( $\Delta G^0$  – изменение  $\Delta G$  при протекании процесса в стандартных условиях).

В биологических системах процессы обычно сопровождаются еще изменением количества вещества и в таком случае:

$$dU = TdS - pdV + \mu dN,$$

где  $dN$  – изменение числа частиц,

$\mu$  – химический потенциал (градиент).

$$dG = -SdT + Vdp + \mu dN.$$

Химический потенциал равен изменению термодинамического потенциала, приходящегося на одну частицу вещества в соответствующем процессе. Он не является термодинамическим потенциалом и служит

$$\mu = RT \ln \frac{N_1}{N_2}$$

параметром системы.

Все выше изложенное разработано для закрытых и изолированных систем, находящихся в состоянии *термодинамического равновесия*. При этом состоянии, когда:  $S = \max$ ,  $F=0$ ,  $G=0$ ,  $\Delta S=0$ ,  $\Delta F=0$ ,  $\Delta G=0$ , процессы не протекают, материя мертва, так как система не может самопроизвольно выйти из этого состояния.

*Живые системы находятся в стационарном состоянии*. При этом скорость протекания процессов остается постоянной, то есть:  $\Delta S$ ,  $\Delta F$ ,  $\Delta G \approx 0$ , но  $F$  и  $G > 0$ , а  $S < \max$ . (здесь  $F$  и  $G$  становятся функциями от времени).

Равновесие в живой системе поддерживается за счет баланса протекающих процессов.

### 3-ТЕМА. НЕРАВНОВЕСНАЯ ТЕРМОДИНАМИКА

#### План

1. Линейная термодинамика
2. Нелинейная термодинамика

1. Выше изложенные положения *классической (равновесной)* ТД верны для *изолированных и закрытых систем* и описывают системы, находящиеся в состоянии *термодинамического равновесия*.

*Неравновесная термодинамика* подразделяется на *линейную и нелинейную*.

*Линейная* рассматривает процессы, протекающие вблизи равновесия.

*Нелинейная* – вдали от него.

***Уравнение Пригожина и его анализ***

*Уравнение Пригожина* позволяет решить вопрос применимости второго закона термодинамики к открытым системам.

Согласно II-му закону ТД:

$$dS \geq 0$$

Пригожин предложил разбить общее изменение энтропии на дваслагаемых:

$$dS = d_e S + d_i S,$$

где  $d_e S$  – изменение энтропии за счет обмена энергией и веществом с

внешней средой,

$d_i S$  – изменение энтропии за счет протекающих в системе необратимых процессов, и оно всегда больше нуля:  $d_i S > 0$ .

В стационарном состоянии, если  $dS = 0$ , то  $d_e S = -d_i S$ .

Если изменение энтропии за счет необратимых процессов всегда больше нуля, то свободная энергия Гиббса связана с выражением:



$$\frac{d_i S}{dt} = \frac{1}{T} \cdot -\frac{dG}{dt} > 0$$

В результате возможно осуществление нескольких вариантов:

- 1) Если  $d_e S > 0$ , то и  $dS > 0$ ;
- 2) Если  $d_e S < 0$ , а  $|d_e S| < |d_i S|$ , то  $dS > 0$ ,
- 3) Если  $d_e S < 0$ , а  $|d_e S| > |d_i S|$ , то  $dS < 0$ .

Последний вариант является лишь кажущимся отклонением от II-го закона термодинамики, так как процесс обмена:  $d_e S < 0$  идет заведомо против градиента и осуществляется за счет внешних сил, т.е. работа совершается над системой. Это просто следствие некорректной формулировки – открытую систему в этом случае с точки зрения термодинамики нельзя изолировать от среды, необходимо раздвинуть границы и тогда с соблюдением параметров новой открытой системы - общее изменение энтропии сменит знак:  $dS > 0$ .

### ***Неравновесная линейная термодинамика необратимых процессов***

Основы *неравновесной линейной термодинамики* заложены Онзагером и развиты Пригожиным. Согласно ее положениям допускается, что, даже если система в целом не равновесна, каждая из подсистем может находиться в состоянии равновесия (принцип локального равновесия).

Таким образом, *неравновесная линейная термодинамика* рассматривает процессы вблизи термодинамического равновесия, когда между потоками и силами существует линейная зависимость.

### ***Изменение энтропии в открытых системах***

Для анализа изменений энтропии в открытых системах вводится понятие локальная скорость энтропии  $\sigma$  в элементарном объеме  $dV$ .

На основании этого допущения, в неравновесной термодинамике можно использовать основные положения равновесной и тогда изменение энтропии можно считать равным:

$$\frac{dS_i}{dt} = \int_V \sigma \cdot dV, \text{ а так как } \frac{dS_i}{dt} \geq 0, \text{ - то и } \sigma \geq 0.$$

Эта функция универсальна для всех термодинамических процессов.

Например, для химической реакции она равна:  $T \cdot \frac{dS_i}{dt} = A \cdot v$ , где

$A$  – сродство химической реакции,

$v$  – скорость реакции.

Таким образом, эта функция, отражающая в общем случае произведение силы –  $X$  на поток –  $J$ , получила название диссипативная функция:

$$JX = T \cdot \frac{dS_i}{dt} = T \cdot \sigma,$$

Если в открытой системе протекает  $K$  процессов, она равна:

$$T_{\sigma} = \sum_K X_K \cdot J_K .$$

Таким образом, и в открытой системе протекание термодинамических процессов всегда сопровождаются диссипацией (рассеянием энергии).

### **Принцип Онзагера**

Поток  $J$  всегда зависит от силы  $X$ .

Отражая функциональную зависимость, предположим, что:

$$J = f(x) \text{ или } J(x) .$$

Функцию всегда можно разложить в ряд Маклорена вблизи равновесия (когда  $x=0$ ),

$$J(x) = J(0) + \frac{J'(0)}{1!} \cdot x + \frac{J''(0)}{2!} \cdot x^2 + \dots + \frac{J^N(0)}{N!} \cdot x^N$$

Ограничиваясь вторым слагаемым ряда (членами высшего порядка можно пренебречь) и считая, что  $x=0$  – отражает точку равновесия в ней, с учетом того, что вблизи равновесия  $J(0)=0$  и, обозначив  $J'(0)=L$ , получим:

$$J(x) = LX .$$

Таким образом вблизи равновесия, возможна линейная связь между потоком и силой (поэтому эту термодинамику называют линейной), а коэффициент  $L$  – феноменологическим коэффициентом.

В любой биологической системе постоянно протекают множество процессов, каждый под действием своей силы  $X$ .

Для простоты рассмотрим два процесса:

$$J_1 = L_{11}X_1, \text{ и } J_2 = L_{22}X_2 ,$$

Естественно, что они влияют друг на друга:

$$J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2 ,$$

$$J_2 = L_{22}X_2 + L_{21}X_1 .$$

Онзагер применил принцип взаимности, который в линейной термодинамике гласит, что  $L_{12} = L_{21}$ , а так как  $J_k = \sum_n L_{kn}X_n$ , тогда и  $L_{kn} = L_{nk}$ .

Если подставить это уравнение в формулу диссипативной функции, получим основное феноменологическое уравнение линейной неравновесной термодинамики.

$$T_{\sigma} = \sum_{k,n} L_{kn} X_k X_n$$

### **Теорема Пригожина**

В теореме рассматривается основное свойство стационарного состояния, основной критерий его установления, связанный с состоянием энтропии.

Пусть в системе протекают два необратимых процесса:

$$J_1 \text{ и } J_2.$$

Локальная скорость продукция энтропии для этих процессов складывается из них:

$$\frac{dS_i}{dt} = \sigma = J_1 X_1 + J_2 X_2 > 0.$$

Два сопряженных потока (пусть теплоты и вещества) взаимодействуют через коэффициенты:

$$J_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2 \quad \text{— поток теплоты,}$$

$$J_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2 \quad \text{— поток вещества.}$$

Тогда с учетом принципа энтропии

$$\begin{aligned} \frac{dS_i}{dt} = \sigma &= L_{11}X_1 + L_{12}X_2 \cdot X_1 + L_{21}X_1 + L_{22}X_2 \cdot X_2 = L_{11}X_1^2 + L_{12}X_2X_1 + L_{21}X_1X_2 + \\ &+ L_{22}X_2^2 = L_{11}X_1^2 + 2L_{12}X_1X_2 + L_{22}X_2^2 > 0 \end{aligned}$$

Теперь исследуем на экстремум величину  $\sigma$  в стационарном состоянии (поток вещества  $J_2 = 0$ ). Для этого находим частную производную от  $\sigma$  по  $X_2$  при  $X_1 = \text{const}$ :

$$\frac{\partial \sigma}{\partial X_2} = 2L_{22}X_2 + 2L_{21}X_1 = 2L_{22}X_2 + 2L_{21}X_1 = 2J_2 = 0.$$

Так как в стационарном состоянии все потоки равны нулю, исследуемая функция имеет экстремум.

Для проверки ее на знак берем вторую производную от  $\sigma$  по  $X_2$  при  $X_1 = \text{const}$  и она равна  $\frac{\partial^2 \sigma}{\partial X_2^2} = 2L_{22}$ ,

а с учетом того, что все коэффициенты  $L$  больше нуля, то это минимум.

Таким образом, функция, которая всегда  $\frac{dS_i}{dt} \geq 0$ , имеет минимум.

*Теорема Пригожина утверждает, что скорость продукции энтропии внутри открытой системы в стационарном состоянии положительна и минимальна.*

Она характеризует эволюцию открытой системы вблизи равновесия.

### **Следствие теоремы Пригожина**

*Принцип Ле-Шателье.* Если термодинамическую систему вывести из состояния равновесия, в ней возникнут силы и потоки, стремящиеся вернуть систему в исходное состояние равновесия.

### ***Нелинейная термодинамика необратимых процессов***

Многие процессы протекают вдали от состояния равновесия, когда отсутствуют линейные связи между скоростями и силами.

Пригожин и Виам создали общую термодинамическую теорию роста и развития организмов.

Основное её положение заключается в следующем:

Развитие и рост организмов всегда происходит в направлении достижения стационарного состояния, что сопровождается уменьшением скорости продукции энтропии. То есть в *линейной термодинамике* основным всё же является утверждение:  ~~$\sigma \rightarrow 0$~~ , что определяет состояние системы

В *нелинейной термодинамике* продукция энтропии состоит из двух составляющих:

$$\frac{d\sigma}{dt} = \frac{d}{dt} \left( \sum_k J_k X_k \right) = \sum_k J_k \frac{dX_k}{dt} + \sum_k X_k \frac{dJ_k}{dt} = \frac{d_X \sigma}{dt} + \frac{d_J \sigma}{dt},$$

при постоянстве потоков  $\frac{dJ_k}{dt} = 0$  и  $\frac{d\sigma}{dt} = \frac{d_X \sigma}{dt}$ .

Таким образом, основное неравенство нелинейной термодинамики:  $\frac{d_X \sigma}{dt} \leq 0$  отражает универсальный эволюционный критерий открытой системы вдали от равновесия. Условие устойчивости отражают флуктуации системы.

Флуктуации  $\partial_X \sigma$  могут быть как положительными:  $\left( \partial_X \sigma = \sum_k \partial J_k \partial X_k > 0 \right)$ , так и отрицательными:  $\partial_X \sigma < 0$ .

В стационарном состоянии положительные флуктуации быстро исчезают за счет стремления скорости продукции энтропии к минимуму.

Отрицательные флуктуации являются следствием неустойчивости стационарного состояния системы и приведут к стационарному состоянию с уменьшенной энтропией (это эволюция).

В индивидуальном развитии организма есть три такие стадии:

- оогенез;
- регенерация;
- злокачественный рост.

### **Задачи**

1. Количество теплоты, поглощаемой при образовании одной бактериальной клетки *Escherichia coli* составляет  $16,8 \cdot 10^{10}$  Дж при температуре  $37,5^\circ\text{C}$ . Чему равно изменение энтропии клетки?
2. Величина изменения энтропии при образовании бактериальной клетки *Bacillus pumilus* равна  $3,9 \cdot 10^{-11}$  Дж/К, а количество теплоты, поглощенное при этом, составило  $12,6 \cdot 10^{-12}$  Дж. При какой температуре проводилось культивирование бактерий?

3. Определить изменение энтропии 1 кг воды, если ее нагреть от 0 до  $50^{\circ}\text{C}$ ?
4. Чему равно изменение энтропии при таянии 1 кг льда, имеющего температуру  $0^{\circ}\text{C}$ ?
5. 1 моль пара конденсируется при  $100^{\circ}\text{C}$ , вода охлаждается до  $0^{\circ}\text{C}$  и замерзает при этой же температуре. Найти изменение энтропии воды.
6. Для поддержания нормальной температуры в деревянном доме приходится сжигать ежедневно  $0,1\text{ м}^3$  дров в печке с КПД, равным 15 %. Определить разность температур наружной и внутренней поверхности стенки дома, если общая его поверхность, проводящая теплоту,  $200\text{ м}^2$ . Толщина стенки 30 см. Считать, что за счет теплопроводности теряется 80 % теплоты.
7. Какое количество теплоты за сутки теряет человек путем теплопроводности через кожу, если считать коэффициент теплопроводности кожи равным  $0,25\text{ Вт}/(\text{м} \cdot \text{К})$ ? Поверхность тела  $1,8\text{ м}^2$ , толщина кожи 2 мм, разность температур на наружной и внутренней поверхностях  $0,1^{\circ}\text{C}$ .
8. Определить потери теплоты с  $1\text{ м}^2$  кирпичной стены палаты в час, если температура в палате  $+18^{\circ}\text{C}$ , а на улице  $-2^{\circ}\text{C}$ . Толщина стены 80 см.
9. Площадь дна латунного стерилизатора равна  $34 \times 16$  см. Определить разность температур между его поверхностями, если за 30с через дно толщиной 1 мм проходит  $20,7\text{ кДж}$  теплоты.
10. Определить количество воды, испаряющейся за 1 мин в стальном стерилизаторе, если его дно имеет площадь  $40 \times 19$  см и толщину 1 мм, а разность температур поверхностей дна достигает  $0,5^{\circ}\text{C}$ . Потерями теплоты через боковые стенки стерилизатора пренебречь.

#### Ответы на задачи

- |  |                                  |
|--|----------------------------------|
| 1. $\sim 5,4 \cdot 10^{-12}\text{ Дж/К}$ .           | 6. $\sim 10,4^{\circ}\text{C}$ . |
| 2. $37^{\circ}\text{C}$ .                            | 7. $1944\text{ кДж}$ .           |
| 3. $\sim 7,1 \cdot 10^2\text{ Дж/К}$ .               | 8. $\sim 73\text{ кДж}$ .        |
| 4. $1,2 \cdot 10^3\text{ Дж/К}$ .                    | 9. $\sim 0,1^{\circ}\text{C}$ .  |
| 5. $\Delta S \sim 1,5 \cdot 10^2\text{ Дж/моль К}$ . | 10. $\sim 64\text{ г}$ .         |

#### Тест–задания

1. Термодинамическая система, которая обменивается с окружающей средой и веществом, и энергией, называется:
  - А. Изолированной
  - В. Закрытой
  - С. Открытой
2. Закон Гесса указывает на то, что:

- А. Энергетический итог процесса не зависит от пути, а определяется начальным и конечным энергетическим состоянием системы
  - В. Энергетический итог процесса определяется путем развития процесса, а не зависит от температуры окружающей среды
  - С. Энергетический итог процесса определяется температурой окружающей среды, а не зависит от пути развития процесса
- 3. Чем сходны параметры термодинамического равновесия и стационарного состояния?
  - А. Соотношением величин свободной энергии и энтропии
  - В. Динамическими характеристиками термодинамических функций
  - С. Возможностью системы самостоятельно совершать работу
- 4. Какая энергия может быть использована для совершения работы?
  - А. Свободная энергия
  - В. Связанная энергия
  - С. Энергия, рассеянная в виде тепла
- 5. Чем различаются термодинамическое равновесие и стационарное состояние?
  - А. Величинами свободной энергии и энтропии
  - В. Динамическими характеристиками термодинамических функций
  - С. Возможностью системы самостоятельно совершать работу
- 6. Функция состояния - это термодинамическая функция, для которой верно следующее утверждение:
  - А. Ее изменение зависит только от начального и конечного состояний системы.
  - В. Она полностью характеризует состояние системы.
  - С. От нее возможно вычислить полный дифференциал.
- 7. Функцией состояния системы является:
  - А. Теплота
  - В. +Внутренняя энергия
  - С. Работа
- 8. В экспериментах Лавуазье по прямой калориметрии поток теплоты определялся:
  - А. По нагреванию наружной стенки калориметра
  - В. По скорости испарения воды.
  - С. По скорости таяния льда.
- 9. Метод непрямой калориметрии основан:
  - А. На учете тепловых эквивалентов поглощенных пищевых продуктов
  - В. На измерении температуры организма
  - С. На измерении теплоемкости организма
- 10. Энтропия системы связана с термодинамической вероятностью состояния системы следующей формулой:
  - А.  $S = RT \ln w$
  - В.  $S = k \ln w$
  - С.  $S = k (1 + w)$
- 11. Энтропия системы при протекании необратимого процесса:

- А. Увеличивается
  - В. Не изменяется
  - С. Уменьшается
12. Объединенная запись 1 и 2 законов термодинамики выглядит следующим образом:
- А.  $dU = dQ - TdS$
  - В.  $dU = dA - TdS$
  - С.  $dU = dF - TdS$
13. Свободная энергия системы - это часть внутренней энергии, которая:
- А. Рассеивается в виде тепла.
  - В. Затрачивается на совершение работы.
  - С. Затрачивается на поддержание стабильности системы.
14. Связанная энергия системы - это часть внутренней энергии, которая:
- А. Рассеивается в виде тепла.
  - В. Затрачивается на совершение работы.
  - С. Затрачивается на поддержание стабильности системы.
15. Энтальпия отражает:
- А. Скорость продукции энтропии
  - В. Теплосодержание системы
  - С. Теплоемкость системы
16. Энтальпия определяется при постоянном:
- А. Давлении
  - В. Температуре
  - С. Объеме
17. Укажите правильную запись уравнения для энтальпии:
- А.  $dH = dQ + PdV$
  - В.  $dH = dU + VdP$
  - С.  $dH = dU + PdV$
18. Свободная энергия Гельмгольца определяется при постоянных:
- А. Давлении и объеме
  - В. Температуре и объеме
  - С. Температуре и давлении
19. Укажите правильную запись уравнения для свободной энергии Гельмгольца:
- А.  $dF = dQ - TdS$
  - В.  $dF = dU - PdS$
  - С.  $dF = dU - TdS$
20. Свободная энергия Гиббса определяется при постоянных:
- А. Давлении и объеме
  - В. Температуре и объеме
  - С. Температуре и давлении

## 4-ТЕМА. КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

### План

1. Введение
2. Молекулярность и порядок реакции
3. Сложные реакции
4. Зависимость скорости реакции от температуры
5. Кинетика ферментативного катализа

**Ключевы слова:** молекулярность реакции, порядок реакции, сложные реакции, катализатор, ферменты, уравнение Михаэлиса-Ментена, ингибирование ферментов, конкурентное ингибирование, неконкурентное ингибирование.

### Введение

**Кинетика биологических процессов** – это раздел биофизики, изучающий протекание во времени различных процессов, протекающих в живых системах – химических и биохимических превращений, транспорта веществ через клеточные мембраны, и так далее. Основное внимание будет уделено кинетике химических превращений, поскольку на данном примере удобно рассмотреть основные закономерности, присущие всем биологическим процессам. Особенности тех или иных видов превращений будут рассмотрены далее в соответствующих разделах настоящей книги.

Основой математического описания кинетики химических превращений является составление кинетических уравнений. В левой части уравнения расположена *скорость изменения параметра по времени, то есть дифференциал (производная) по времени*:  $\frac{dc}{dt}$

В химических и биохимических превращениях анализируемый параметр представлен концентрацией реагирующего вещества. Правая часть уравнения составлена на основе закона действующих масс, согласно которому скорость элементарного акта химической реакции пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ (с) в степенях, соответствующих их стехиометрическим коэффициентам:

$$\frac{dc}{dt} = kc^n$$

### Молекулярность и порядок реакции

*Молекулярность реакции* определяется числом молекул, участвующих в ее элементарном акте. Реакция может быть мономолекулярной:  $A \rightarrow B$ ; бимолекулярной:  $A+B \rightarrow C$  или  $2A \rightarrow B$ ; тримолекулярной:  $A+2B \rightarrow C$ .

Реакции с молекулярностью выше трех встречаются крайне редко, так как вероятность одновременного столкновения четырех и более молекул крайне мала. Реакции, протекающие с участием 4 и более молекул, как правило, включают несколько последовательных стадий.

*Порядок реакции* определяется суммой показателей степеней, в которых концентрации реагирующих веществ входят в левую часть кинетического



уравнения. В большинстве случаев порядок реакции совпадает с молекулярностью. Расхождение возможно в том случае, если одно из реагирующих веществ находится в избытке. В этом случае изменение концентрации одного из реагентов не влияет на скорость реакции, и ее порядок оказывается меньше молекулярности. Как следствие, возможна реакция нулевого порядка.

### Кинетика реакции нулевого порядка

В живых системах нередко встречается ситуация, когда запасы реагирующего вещества в клетке постоянно пополняются и скорость реакции фактически не зависит от концентрации реагента А. Такая реакция, будучи по сути мономолекулярной, подчиняется закономерности нулевого порядка и не зависит от концентрации:

$$\frac{da}{dt} = -k_0$$

После взятия определенного интеграла в пределах от 0 до t и от  $a_0$  до a получаем:

$$a = -a_0 - k_0 \cdot t$$

Графически это уравнение прямой линии с тангенсом угла наклона t. Скорость реакции остается постоянной на всем ее протяжении, пока не прекратиться поступление реагирующего вещества в систему.

### Кинетика прямой реакции первого порядка

Реакция первого порядка:  $A \rightarrow B$  с коэффициентом скорости  $k_1$  подчиняется следующему кинетическому уравнению:

$$\frac{da}{dt} = -k_1 \cdot a \lim_{x \rightarrow \infty}$$

Это дифференциальное уравнение с разделяющимися переменными, после интегрирования которого, мы получаем:

$$\ln a \quad \text{или} \quad a = -k_1 \cdot t \cdot C_1$$

Константу интегрирования  $k_1 \cdot t \cdot C_1$  можно определить как начальную концентрацию реагента  $A_0$  при  $t=0$ , задав граничные условия аналогично предыдущему случаю и тогда:

$$a = a_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

### Кинетика обратимой реакции первого порядка

В биологических системах большая часть реакций является обратимыми, то есть одновременно протекают в обоих направлениях:  $A \rightleftharpoons B$ . Кинетика такой реакции рассматривается как две одновременно протекающие реакции – прямую и обратную с константами скоростей  $k_1$  и  $k_{-1}$ .

Кинетическое уравнение выглядит следующим образом:

$$\frac{da}{dt} = -k_1 \cdot a + k_{-1} \cdot b$$

Кроме начальных условий  $t=0$ ,  $a=a_0$ ,  $b=0$ , мы можем наложить ограничение замкнутости системы, следовательно:  $a+b=a_0$  в любой момент времени.

Тогда кинетическое уравнение будет выглядеть следующим образом:

$$\frac{da}{dt} = -(k_1 + k_{-1}) \cdot a + k_{-1} a_0$$

Дифференциальные уравнения такого типа решаются в два этапа. Сначала находим решение однородного уравнения:

$$\begin{aligned} \frac{da}{dt} + (k_1 + k_{-1}) \cdot a &= 0 \\ a &= C_1 \cdot e^{-(k_1 + k_{-1}) \cdot t} \end{aligned}$$

Частное решение неоднородного уравнения с постоянной правой частью находим в виде константы  $a = C$  и тогда

$$\frac{da}{dt} = 0, \quad a = C = \frac{k_{-1} a_0}{(k_1 + k_{-1})}$$

Константу интегрирования можно определить из начальных условий  $t=0$ ,  $a=a_0$ , тогда общее решение дифференциального уравнения запишется следующим образом:

$$a = C_1 \cdot e^{-(k_1 + k_{-1}) \cdot t} + C$$

В результате вычислений подставляя значения  $C$ :

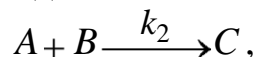
$$a = \frac{k_{-1} a_0}{k_1 + k_{-1}} \left[ k_{-1} + k_1 e^{-(k_1 + k_{-1})t} \right]$$

Учитывая, что  $b=a_0-a$ , получим:

$$b = \frac{k_1 a_0}{k_1 + k_{-1}} \left[ 1 - e^{-(k_1 + k_{-1})t} \right]$$

### Кинетика реакции второго порядка

Реакция 2-го порядка имеет вид:



и с учетом того, что при  $t = 0$ , исходные концентрации равны  $a_0$  и  $b_0$ , в любой момент времени на основании эквимольного взаимодействия  $a$  и  $b$ :

$$\frac{dx}{dt} = k_2 \cdot (a_0 - x)(b_0 - x)$$

Проведя разделение, переменных получим:

пользуя тождество:

$$(a_0 - x)(b_0 - x) \frac{dx}{dt} = k_2 \cdot x^2$$

$$\frac{1}{(a_0 - x)(b_0 - x)} = \frac{1}{a_0 - b_0} \left( \frac{1}{b_0 - x} - \frac{1}{a_0 - x} \right)$$

получим стандартное дифференциальное уравнение:

$$\frac{1}{a_0 - b_0} \left( \frac{1}{b_0 - x} - \frac{1}{a_0 - x} \right) dx = k_2 \cdot dt$$

Его решение:

$$k_2 \cdot dt = \frac{1}{a_0 - b_0} \ln \frac{b_0(a_0 - x)}{a_0(b_0 - x)}$$

При избытке одного из веществ это выражение превращается в уравнение 1-го порядка.

### Сложные реакции

В биологических процессах химические и биохимические реакции часто образуют сложные каскады, включающие целый ряд элементарных актов реакций, протекающих последовательно или одновременно. Кинетика таких многокомпонентных (многостадийных) процессов основывается на уже знакомых закономерностях.

Несколько последовательно протекающих элементарных реакций образуют *линейные* цепи реакций:  $A \xrightarrow{k_1} B \xrightarrow{k_1^x} C$ , каждая стадия характеризуется своей константой скорости ( $k_1$  и  $k_1^x$ , соответственно).

Рассмотрение данного примера так же начнем с установления граничных условий: в момент времени  $t = 0$   $a = a_0$ ,  $b = c = 0$ ; в любой момент времени  $a + b + c = a_0$ .

Кинетическое описание данной цепи реакций можно представить в виде системы уравнений:

$$\begin{cases} \frac{da}{dt} = -k_1 \cdot a \\ \frac{db}{dt} = k_1 \cdot a - k_1^x \cdot b \\ \frac{dc}{dt} = k_1^x \cdot b \end{cases}$$

Первая формула представляет собой уравнение скорости реакции первого порядка, решение которого имеет вид

$$a = a_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

Тогда, с учетом  $b = a_0 - a - c$

$$\frac{db}{dt} = k_1 \cdot a - k_1^x \cdot b$$

$$k_1 \cdot c = k_1 \cdot a_0 - k_1^x \cdot a_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

Общее решение этого уравнения складывается из решения однородного уравнения с правой частью, равной нулю, и частного решения неоднородного уравнения:

$$c = \frac{k_1 a_0}{k_1^x - k_1} e^{-k_1^x t} - \frac{k_1^x a_0}{k_1^x - k_1} e^{-k_1 t} + a_0$$

Используя заданные граничные условия, можно получить формулу и для кинетики вещества В:

$$b = \frac{k_1 a_0}{k_1^x - k_1} (-e^{-k_1^x t} + e^{-k_1 t}).$$

В первую фазу процесса происходит накопление вещества В, а во вторую – вещества С.

Если скорость первой реакции существенно выше, чем второй, в системе образуется избыток вещества В и вторая реакция начинает подчиняться кинетическому уравнению нулевого порядка. Тогда накопление вещества С в системе перестанет зависеть от скорости первой реакции и будет подчиняться уравнению:

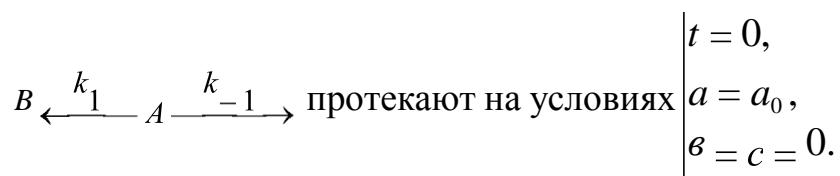
$$c = k_0 \cdot t$$

В результате скорость линейной цепи реакций полностью определяется ее второй стадией, которую в этом случае называют *лимитирующей стадией* процесса.

Если цепь последовательных реакций замыкается, то есть конечный продукт цепи является субстратом для ее первой стадии, такую реакцию называют *циклической*.

*Циклические* реакции нередко встречаются в биохимических системах, играя важную роль в процессах метаболизма, широко известен цикл Кребса. Скорость цикла всегда определяется скоростью лимитирующей (то есть самой медленной) стадии.

*Разветвленные (параллельные) цепи реакций*



В результате, необходимо решить систему уравнений:

$$\frac{da}{dt} = -(k_1 + k_{-1}) \cdot a$$

$$\frac{db}{dt} = k_1 a$$

$$\frac{dc}{dt} = k_{-1} a$$

Решая эти уравнения, получим:

$$a = a_0 \cdot e^{-(k_1 + k_{-1}) \cdot t}$$

$$b = \frac{k_1 a_0}{k_1 + k_{-1}} \left[ 1 - e^{-(k_1 + k_{-1})t} \right] \text{ и } c = \frac{k_{-1} a_0}{k_1 + k_{-1}} \left[ 1 - e^{-(k_1 + k_{-1})t} \right]$$

Нетрудно увидеть, что  $b/c = k_1/k_{-1}$ , т.е. соотношение образующегося вещества при параллельных реакциях пропорционально отношениям констант скоростей реакций.

### **Зависимость скорости реакции от температуры**

До сих пор мы рассматривали зависимость скорости от констант реагентов, однако очевидно, что большое влияние на скорость реакции оказывает изменение температуры.

Вант-Гоффу принадлежит утверждение, что скорость химической реакции ( $v$ ) при увеличении температуры на  $10^\circ\text{C}$  увеличивается в 2-4 раза.

$$Q_{10} = \frac{v_{T+10^\circ}}{v_T}$$

Позднее установили, что для:

химической реакции  $Q_{10} = 2-4$ ,

физической реакции  $Q_{10} = 1,1-1,2$ ,

ферментативной реакции  $Q_{10} \sim 1,7$ .

Вант-Гофф установил, что константа равновесия  $K$  подчиняется уравнению:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H^0}{RT^2}.$$

Аррениус подставил в это уравнение вместо  $K$  константу скорости  $k$ . Хотя этот переход строго математически не доказан, но на практике он всегда оказывается верен:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{E_A}{RT^2}, \text{ где:}$$

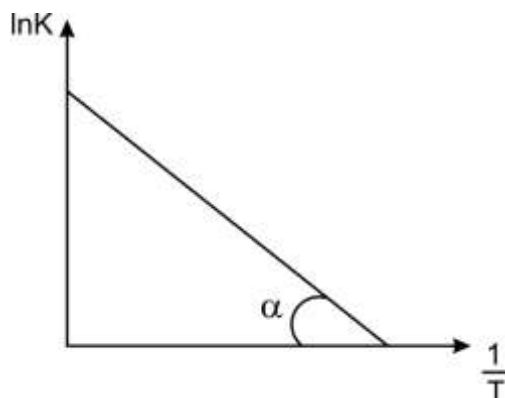
$E_A$  – энергия активации реакции, то есть та энергия, которой молекулы должны обладать, чтобы преодолеть силы отталкивания.

Решая это уравнение, получим:  $\ln K = \ln A - E_A/RT$ , где:

$\ln A$  – константа интегрирования,

Графически это уравнение, называют диаграмма Аррениуса, из которой легко определить  $E_A$  реакции как тангенс угла  $\alpha$  наклона (Рис. 1)

Рис. 1. Диаграмма Аррениуса



По оси  $x$  – величина обратная температуре  $1/T$ ;  
по оси  $y$  –  $\ln K$  реакции

Энергия активации реакции определяется так же с помощью  $Q_{10}$ :

$$E_A = 0,46 T_1 T_2 \lg Q_{10}.$$

В уравнении Аррениуса:

$\frac{n_E}{n} \cdot e^{-E_A/RT}$  – множитель Больцмана, который отражает долю молекул, обладающих энергией  $E \geq E_A$ , где:  $(n_E)$  относительно всех молекул  $(n)$ .

Тогда константа интегрирования  $A$  складывается из двух составляющих:

$Z$ -вероятность столкновения молекул,

$p$ -вероятность столкновения активными центрами – стерический коэффициент.

Для малых молекул он стремится к единице, а для макромолекул:  $\ll 1$ .

Таким образом, в окончательном виде уравнение Аррениуса:

$$k = p \cdot z \cdot e^{-E_A / RT}$$

### Кинетика ферментативного катализа

Катализатор – вещество, увеличивающее скорость реакции, но не участвующее в образовании конечных продуктов.

Ферменты – биологические катализаторы, высокомолекулярные белки.

Математическая модель ферментативного катализа была разработана Л. Михаэлисом и М. Ментен в 1913 году и представляет собой решение системы уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = -k_2 es + k_{-1}(es); (1) \\ \frac{de}{dt} = -k_2 es + k_{-1}(es) - k_1(es); (2) \\ \frac{dP}{dt} = k_1(es) = -\frac{dS}{dt}; (3) \\ \frac{d(es)}{dt} = k_2 es - k_{-1}(es) - k_1(es); (4) \end{cases}$$

Опять же будем исходить из условия закрытости системы:

1) Весь продукт реакции образуется из субстрата:  $P+S=\text{const}$ ;

2) Существует начальная концентрация фермента:  $e_0=\text{const}=e+(es)$ .

Из первого условия следует:

$$-\frac{dP}{dt} = \frac{dS}{dt}, \quad \text{а из второго: } \frac{de}{dt} = -\frac{d(es)}{dt}.$$

Подставим  $e+(es)=e_0=\text{const}$  в уравнение (4), получим:

$$\frac{d(es)}{dt} = k_2 S[e_0 - (es)] - k_{-1}(es) - k_1(es)$$

$$\text{или: } \frac{d(es)}{dt} = k_2 e_0 S - (es)[k_2 S + k_{-1} + k_1]$$

В начальный момент времени  $t=0, (es)=0$  и при  $t \rightarrow \infty, (es) \rightarrow 0$ , следовательно, функция  $es$  (от  $t$ ) имеет экстремум – максимальное значение, где ее производная равна нулю:

$$\frac{d(es)}{dt} = 0$$

Это область стационарного состояния, когда скорость реакции максимальна, а концентрация [S] не лимитирует течение процесса, то есть  $S=S_0+P \gg e_0$ .

При этом условии стационарности можно записать, что:

$$(es) = \frac{k_2 e_0 S}{k_{-1} + k_1 + k_2 S}, \text{ или: } (es) = \frac{e_0 S}{\left[ k_{-1} + \frac{k_1}{k_2} \right] + S} = \frac{e_0 S}{K_m + S}, \text{ где}$$

$$K_m = \frac{k_1 k_2}{k_{-1}} - \text{концентрация субстрата, при котором } (es) = e_0/2, \text{ то есть}$$

**половина энергии задействовано и: } v = \frac{1}{2} v\_{\max}.**

Для стационарного состояния:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{dP}{dt} = -k_1 (es) = -\frac{k_1 e_0 S}{K_m + S}$$

Совмещая 3-е уравнение системы с полученным выражением:

$$\text{Так как } v = \frac{dS}{dt} = -\frac{dP}{dt} = \frac{k_1 e_0 S}{K_m + S}.$$

$k_1 e_0$  - это произведение отражает максимальную скорость реакции, когда S находится в большом избытке, и тогда реакция подчиняется уравнению 1-го порядка:

$$v = v_{\max} \frac{S}{K_m + S}.$$

### **Линейные преобразования уравнения Михаэлиса-Ментен**

Линеанизацию уравнения Михаэлиса-Ментена можно производить тремя способами:

1. Способ Ленгмюра:

$$\frac{S}{v} = \frac{K_m}{V} + \frac{S}{V}, V - v_{\max}, \text{ tg} = 1/V$$

2. Способ Эди-Хофети:



$$v = V - \frac{K_m v}{S}, \text{tg} = -K_m$$

3. Способ Лайнувера-Бэрка (Рис. 2, (1))

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} + \frac{K_m}{VS}, \text{tg} = K_m/V$$

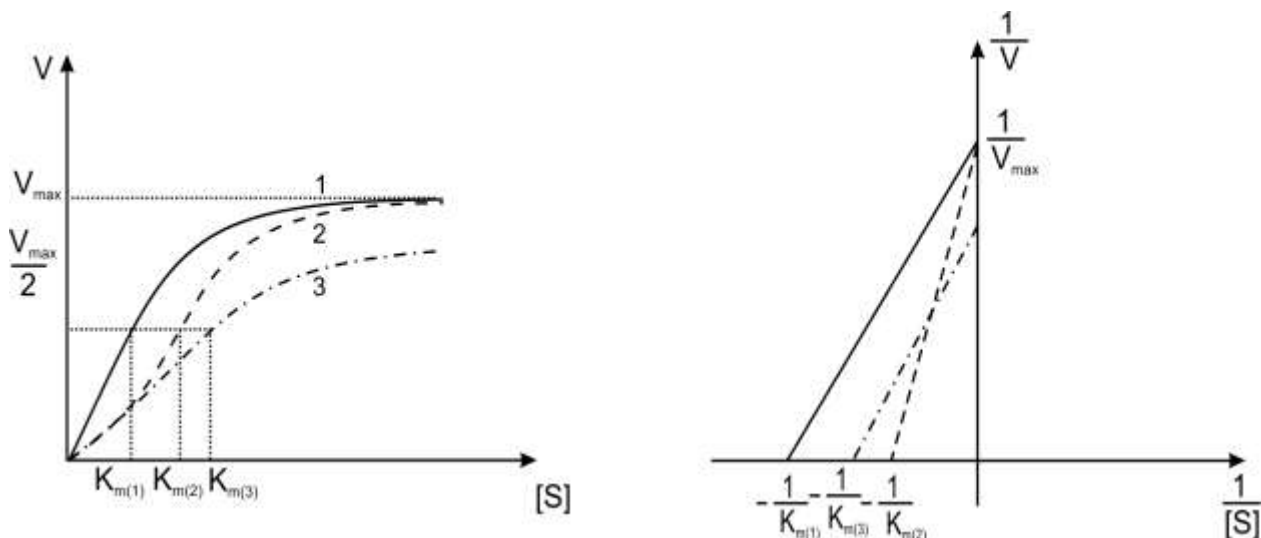


Рис. 2. Графическое отражение зависимости скорости ферментативной реакции ( $V$ ) от концентрации субстрата ( $S$ ) в прямых (правый рисунок) и обратных (левый рисунок) координатах.

**Сплошная линия (1) -исходная кривая; пунктирная (2)-конкурентное ингибирование; штрих-пунктирная (3)-неконкурентное ингибирование.**

### **Ингибирование ферментов**

Существует много веществ, ингибирующих протекание ферментативных реакций, как обратимо, так и необратимо:

*Конкурентное ингибирование (Рис. 2) - это когда ингибитор  $I$  занимает активный центр фермента, образуя  $EI$ , и не дает образовывать  $ES$ .*

Так как это случай разветвлённой цепи реакции:

$$K_i = \frac{e \cdot i}{(ei)}.$$

Из выше изложенного можно записать, что

$$\frac{K_m}{s} = \frac{e}{(es)} \text{ или } K_m = \frac{e \cdot s}{(es)},$$

но в нашем случае  $e = e_0 - (es) - (ei)$

и тогда

$$\frac{K_m}{s} = \frac{e_0}{es} - 1 - \frac{(ei)}{(es)}$$

Из закона действующих масс:

$$\begin{aligned} \frac{e_0}{(es)} &= \frac{v_{\max}}{v}, \\ \frac{K_m}{K_i} &= \frac{(ei) \cdot s}{(es) \cdot i}, \\ \frac{(ei)}{(es)} &= \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{i}{s}, \end{aligned}$$

тогда, подставляя:

$$\frac{K_m}{s} = \frac{v_{\max}}{v} - 1 - \frac{K_m}{K_i} \cdot \frac{i}{s},$$

можно преобразовать по Лайнуверу-Бэрку:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{v_{\max}} \cdot \left( 1 + \frac{i}{K_i} \right) \cdot \frac{1}{s} + \frac{1}{v_{\max}}$$

*Неконкурентное ингибирование (Рис. 2).*

Это более редкий случай, когда у фермента, кроме активного центра, существует ещё и регуляторный (аллостерический) центр, с которым и взаимодействует ингибитор.

Как и в предыдущем случае  $K_i = \frac{e \cdot i}{(ei)}$ , а при  $e = e_0 - (ei)$

$$K_i = \frac{e_0 - (ei) \cdot i}{(ei)} \quad \text{и} \quad (ei) = \frac{e_0 i}{K_i + i},$$

Если снижение скорости ферментативного катализа при действии ингибитора определяется соотношением:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{e_0}{e_0 - (ei)}, \text{ то, используя предыдущее уравнение, получим:}$$

$$\frac{v_i}{v} = \frac{K_i}{K_i + i},$$

$$\frac{1}{v_i} = \left(1 + \frac{i}{K_i}\right) \cdot \left(\frac{K_m}{v_{\max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{v_{\max}}\right)$$

При этом изменяется  $v_{\max}$  и  $K'_m = K_m$ , тогда:

$$v'_{\max} = v_{\max} \left( \frac{1}{1 + i / K_i} \right).$$

Чисто неконкурентное ингибирование встречается крайне редко, так как связывание ингибитора с аллостерическим центром практически неизбежно влияет на сродство активного центра к субстрату. Поэтому, как правило, выделяют смешанное ингибирование, когда изменяются и  $K_m$ , и  $v_{\max}$ .

$$v'_{\max} = v_{\max} \cdot \left( \frac{1}{1 + i / K_i} \right),$$

$$K'_m = K_m \cdot \left( \frac{1 + i / K_i}{1 + i / K'_i} \right).$$

$K'_i$  - и  $K_i$  - константы диссоциации комплекса.

где

В таком случае прямая 1 на рис.2 сместится и по углу, и по осям.

*Бесконкурентное ингибирование.*

Можно отметить, что в случае, когда  $K_{ip} \rightarrow \infty$ , смешанное ингибирование превращается в конкурентное. Противоположностью ему является неконкурентное ингибирование, которое оказывается где-то в стороне, а ещё один вид, когда  $K_i \rightarrow \infty$ ,

$$v'_{\max} = v_{\max} \cdot \frac{1}{1 + i / K_i},$$

$$K'_m = K_m \cdot \frac{1 + i / K_i}{1 + i / K_{ip}},$$

$$\frac{v'_{\max}}{K'_m} = \frac{v_{\max}}{K_m}.$$

Этот тип осуществляется в той ситуации, когда:



, – то есть, чтобы осуществить ингибирование, сначала должен образоваться EI комплекс.

*Влияние температуры на скорость ферментативных реакций*

Причина влияния не в законе Аррениуса, а преимущественно в обратимой денатурации белка. Денатурация – образование неактивной формы фермента.

Понятие температурного оптимума необходимо применять осторожно, так как денатурация процесс медленный, и результат будет зависеть от времени инкубации.

*Влияние pH на скорость ферментативных реакций*

Молекула фермента содержит значительное число кислых и основных групп. При  $pH \approx 7$  они либо полностью депротонированы (аспартат, глутамат), либо полностью протонированы (аргинин, лизин). Однако группы гистидина (имдазольная) и цистеина (сульфгидрильная) имеют  $pK$  в диапазоне от 5 до 9.

Максимум активности фермента достигается при:

$$pH = \frac{pK_1 + pK_2}{2},$$

а ширина оптимума зависит от:

Чем он больше, тем больше оптимум.  $\Delta = |pK_2 - pK_1|$  (диапазон pH, в котором активность больше 50%).

при  $\Delta=0,5$  оптимум 1,5 единиц pH

при  $\Delta=1$  оптимум 1,7 единиц pH

при  $\Delta=2$  оптимум 2,3 единиц pH

при  $\Delta=3$  оптимум 3,1 единиц pH

Кроме того, важно отметить, что от pH зависит в основном  $V_{max}$ ,  $K_m$  - почти не зависит, так как это константа равновесия процесса, pH не влияет на взаимодействие субстрата с ферментом (неконкурентный характер ингибирования).

### Задачи

1. Химическую реакцию изучают при двух температурах, 27 и 37°C. Константы скорости прямой реакции при двух температурах равны соответственно 3,4 и 8,5 мин<sup>-1</sup>. Рассчитайте энергию активации для этой реакции. Константы равновесия при этих температурах равны  $K_{27} =$

- $2,3 \cdot 10^{-6}$  и  $K_{37} = 5,1 \cdot 10^{-6}$ . Рассчитайте из этих данных теплоту реакции и в заключение нарисуйте кривую потенциальной энергии для этой реакции.
2. Реакция имеет энергию активации 15500 кал и константу скорости реакции, при 20°C равную  $1,2 \text{ мин}^{-1}$ . Рассчитайте, чему будет равна эта константа скорости при 0°C.
3. Некоторая химическая реакция относится к типу  $A + B \rightarrow C + D$ . При одинаковых начальных концентрациях A и B для времени полупревращения получаются следующие данные:

Начальная концентрация, M	$t_{1/2}$ , мин
0,005	304
0,010	154
0,050	30,6
0,100	15,2

Докажите, что реакция следует кинетике второго порядка.

4. Напишите уравнение Михаэлиса – Ментен и покажите, что при низких концентрациях S оно превращается в выражение для скорости реакции первого порядка, а при высоких концентрациях – в выражение для скорости реакции нулевого порядка. Докажите, что  $K_m = S$ , если  $V = 1/2 \cdot V_{\max}$ .
5. Приведенные ниже данные для аспартазы иллюстрируют преимущество, которым обладает одна форма уравнения Лайнувера-Берка по сравнению с другой. Постройте график результатов в соответствии с уравнениями. Из какого графика легче всего найти  $K_m$ ?

[S], M	V, ΔA/мин
0,002	0,045
0,005	0,115
0,020	0,285
0,040	0,380
0,060	0,460
0,080	0,475
0,100	0,505

6. Если в реакции нулевого порядка за 1 сек прореагировало 0,01 Моля вещества, то какое количество вещества прореагирует за 30 сек?
7. Если в реакцию первого порядка вступает 1000 молекул, и за 1 сек 500 из них распадается, то сколько молекул распадается за 2 сек?
8. Рассчитайте период полупревращения для реакции омыления метилацетата в растворе гидроокиси натрия, если начальная концентрация

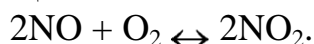
каждого реагента равна 0,03 М. Реакция протекает при 25°C и константа скорости прямой реакции при этой температуре равна 11,5(моль мин)<sup>-1</sup>.

9. Реакция имеет общую стехиометрию  $2A + B \rightarrow$  продукты. Механизм реакции изучали, следя за исчезновением А и В при трех разных начальных концентрациях (в молях/л). Определите механизм реакции, найдите стадию, лимитирующую ее скорость и вычислите константу скорости для этой стадии.

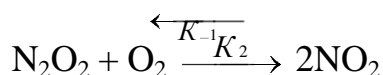
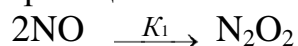
Время, мин	Эксперимент 1		Эксперимент 2		Эксперимент 3	
	А	В	А	В	А	В
0	0,100	0,100	0,100	0,200	0,05	0,100
1	0,050	0,075	0,050	0,175	0,033	0,092
3	0,025	0,0625	0,025	0,162	0,020	0,085
9	0,010	0,055	0,010	0,155	0,009	0,080

*Реакция не подчиняется уравнениям скорости реакции 0-го, 1-го и 2-го порядков.*

10. Суммарное уравнение реакции окисления NO имеет вид



Как полагают, механизм реакции включает две стадии:



Напишите, воспользовавшись равновесным методом, выражение скорости для всей реакции, исходя из предположения, что вторая стадия определяет скорость процесса.

### Тест–задания

- Предметом изучения кинетики является:
  - Характер изменения параметров системы в пространстве
  - Характер изменения параметров системы во времени
  - Характер изменения параметров системы при изменении внешних условий
- Левая часть кинетического уравнения составляется на основе:
  - Второго закона термодинамики
  - Критерия стационарности системы
  - Закона действующих масс
- В левой части кинетического уравнения стехиометрические коэффициенты помещаются как:
  - Показатель степени
  - Множитель
  - Основание логарифма
- Бимолекулярной реакцией из приведенных примеров является:
  - $A+B \rightarrow C$

- В.  $2A + B \rightarrow C$   
 С.  $A \rightarrow B$
5. Что является критерием определения порядка реакции?  
 А. константа скорости реакции  
 В. температура реакции  
 С. показатели степени в правой части уравнения
6. Константа скорости реакции - это:  
 А. скорость реакции при единичных концентрациях реагирующих веществ  
 В. скорость реакции при стандартной температуре  
 С. скорость реакции при стандартном давлении
7. Кинетика реакции нулевого порядка описывается уравнением:  
 А.  $C = C_0 \exp[-kt]$   
 В.  $C = C_0 - kt$   
 С.  $C = C_0 \ln(-kt)$
8. Кинетика реакции первого порядка описывается уравнением:  
 А.  $C = C_0 \exp[-kt]$   
 В.  $C = C_0 - k$   
 С.  $C = C_0 \ln(-kt)$
9. Обратимая реакция в закрытой системе завершается:  
 А. Истощением запаса субстрата реакции  
 В. Установлением стационарного состояния  
 С. Накоплением "критической массы" продукта реакции
10. Скорость последовательных реакций определяется:  
 А. скоростью самой медленной стадии  
 В. скоростью самой быстрой стадии  
 С. соотношением скоростей всех стадий реакции
11. Скорость параллельных реакций зависит от:  
 А. наименьшей константы скорости реакции  
 В. наибольшей константы скорости реакции  
 С. соотношения констант скоростей протекающих стадий
12. Отметьте схему параллельных реакций:  
 А.  $A \rightarrow B \rightarrow C$   
 В.  $B \leftarrow A \rightarrow C$   
 С.  $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$
13. Отметьте схему последовательных реакций:  
 А.  $A \rightarrow B \rightarrow C$   
 В.  $B \leftarrow A \rightarrow C$   
 С.  $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$
14. Отметьте схему циклических реакций:  
 А.  $A \rightarrow B \rightarrow C$   
 В.  $B \leftarrow A \rightarrow C$   
 С.  $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow A$
15. Обратимая реакция, протекающая в открытой системе, приводит к установлению стационарного состояния, если:

- A. Скорость поступления субстрата в систему постоянна
  - B. Скорость удаления продукта реакции из системы постоянна
  - C. Скорости поступления субстрата в систему и удаления продукта реакции из системы постоянны
16. Автоколебательный характер реакции возможен в том случае, если:
- A. Убыль субстрата реакции постоянно восполняется
  - B. Продукт реакции постоянно удаляется из системы
  - C. Продукт реакции влияет на скорость реакции
17. Модель Лотки (1925) описывает:
- A. Автоколебательный химический процесс
  - B. Периодические колебания в системе "хищник - жертва"
  - C. Колебания скорости синтеза белка в клетке
18. Модель Вольтерры (1930) описывает:
- A. Автоколебательный химический процесс
  - B. Периодические колебания в системе "хищник - жертва"
  - C. Колебания скорости синтеза белка в клетке
19. Модель Гудвина (1966) описывает:
- A. Автоколебательный химический процесс
  - B. Периодические колебания в системе "хищник - жертва"
  - C. Колебания скорости синтеза белка в клетке
20. Автоколебательный процесс может быть незатухающим:
- A. в открытой системе
  - B. в закрытой системе
  - C. в любой системе

## 5-ТЕМА. ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОФИЗИКИ

### План

1. Предмет и методы молекулярной биофизики
2. Силы внутримолекулярного взаимодействия биомакромолекул
3. Пространственная структура белка

**Ключевые слова:** биомакромолекулы, нуклеиновые кислоты, диффузии макромолекул, квазиупругое рассеяние света, седиментация молекул, формула Сведберга, электрофорез макромолекул, дифференциальная сканирующая микрокалориметрия, оптические (спектральные) методы, Ван-дер-Ваальсовы силы, водородные связи.

### Предмет молекулярной биофизики

**Молекулярная биофизика** изучает структуру и физические закономерности организации *биомакромолекул*, силы и связи, обеспечивающие их функции в биологических системах. К *биомакромолекулам* относят *белки и нуклеиновые кислоты*. Их молекулярная масса и размеры весьма вариабельны 1-1000 кD. Состоят *биомакромолекулы* из множества (десятки и сотни тысяч) соединенных ковалентными связями атомных групп. Такая сложность строения требует особых



методов исследования.

### Методы исследования биомакромолекул

1. **Методы, связанные с оценкой подвижности макромолекул в растворе**, что позволяет судить об их форме и молекулярной массе. Например, оценка поступательной и вращательной диффузии макромолекул. Первая используется для молекул преимущественно сферической формы, вторая – эллипсоидной.

Известно, что при движении молекул в растворе возникает сила трения:

$$F = f v, \text{ где}$$

$f$  – коэффициент внутреннего трения (фракционный коэффициент),  $v$  – скорость.

Для сферической макромолекулы эта сила будет равна (формула Стокса):

$$F = 6 \pi \eta r, \text{ где}$$

$\eta$  – вязкость среды,  $r$  – радиус молекулы

Для определения величины  $f$  можно использовать коэффициент диффузии:

$$D = - \frac{k_0 T}{f}$$

и тогда:

$$f = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r = \frac{k_0 T}{D},$$

$$r = \frac{k_0 T}{6 \cdot \pi \cdot \eta} \cdot \frac{1}{D},$$

а так как масса молекулы равна:

$$m = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \cdot \rho = \frac{\rho}{162 \cdot \pi^2} \cdot \left( \frac{k_0 T}{\eta} \right) \cdot \frac{1}{D^3},$$

то есть масса молекулы обратно пропорциональна коэффициенту диффузии в третьей степени.

Для макромолекул вытянутой формы используется коэффициент вращательной диффузии  $Q = \frac{k_0 T}{f}$ ; для оценки которого используют метод двойного лучепреломления в потоке.

**Способ определения коэффициента диффузии лежит в основе методов:**

**Квазиупругое рассеяние света.** Этот метод основан на свойстве рассеянного света изменять  $\lambda$ .

Изменение при движении молекул приводит к возникновению эффекта Доплера. Получается информация о динамических свойствах молекул (поступательная и вращательная диффузия, внутримолекулярное время

релаксации).

При спонтанной диффузии молекул, обусловленной тепловым движением молекул, спектр рассеянного света подчиняется распределению Лоренца:

$$I(q, w) = \frac{N}{\pi} \cdot \alpha^2 \cdot \left[ \frac{q^2 D}{w^2 + (qD)^2} \right], \text{ где:}$$

**I** – интенсивность рассеянного света, **w** – круговая частота ( $2\pi\nu$ ) света,

**N** – число макромолекул в исследуемом объеме,

$$q = \frac{4 \cdot \pi \sin \frac{\varphi}{2}}{\lambda} \cdot \alpha^2 - \text{фактор рассеяния,}$$

**D** – коэффициент поступательной диффузии,  $\varphi$  – угол рассеяния света,  
 $\alpha$  – молекулярная поляризуемость.

Полуширина спектра:

$$\Delta w_{1/2} = q^2 D = D \left( \frac{4 \cdot \pi}{\lambda} \right)^2 \cdot \sin^2 \frac{\varphi}{2}.$$

Измеряя полуширину как функцию  $\sin^2 \varphi / 2$ , можно получить коэффициент диффузии **D**.

*Сидементация молекул* – осаждение веществ в жидкости под действием силы тяжести.

Допустим, в пробирке имеются молекулы с молекулярной массой  $10^5$ , высота столба жидкости  $10^{-2}$  м, тогда:

$$E = mgh, m = \frac{10^5}{6} \cdot 10^{-26} = 0,16 \cdot 10^{-21} \text{ кг},$$

$$E_{\text{СЕДИМ}} = 0,16 \cdot 10^{-21} \cdot 10 \cdot 10^2 = 1,6 \cdot 10^{-23} \text{ Дж},$$

$$E_{\text{ТЕПЛ ДВИЖЕНИЯ}} = 1,38 \cdot 10^{-23} \cdot 2,93 \cdot 10^2 = 4 \cdot 10^{-21} \text{ Дж}.$$

Следовательно, тепловая энергия в 200 раз больше энергии седиментации.

Для регистрации седиментации нужно увеличить уровень энергии на 4 – 5 порядков, что делают с помощью центрифуги. Обычно используют 350000 g (60-70 тыс.об./мин).

$$v = \frac{dx}{dt} - \text{скорость седиментации.}$$

Определяя положение шпирен – пик в различные моменты времени, вычисляют скорость седиментации.

На молекулу действуют силы относительно оси вращения ротора:

$F_c$  – сила сопротивления,

$F_B$  – сила выталкивания,

$F_{\text{ц}}$  – центробежная сила.

Седиментация заканчивается, когда

$$F_{\text{ц}} = F_B + F_c,$$

$$F_{\text{ц}} = m \omega^2 x = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \cdot \rho \cdot \omega^2 x,$$

где  $m$  – масса,  $\omega$  – угловая скорость,  $r$  – радиус молекулы, а  $F_c = \frac{\pi \cdot m \cdot v}{30}$ ,  $n$  – об/мин.

$$F_B = m_0 \omega^2 x = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \cdot \rho_0 \cdot \omega^2 x,$$

где  $m_0$  ( $\rho$ ) – масса (плотность) вытолкнутой жидкости

$$\frac{F_{\text{ц}}}{F_B} = \frac{\rho}{\rho_0}, F_B = F_{\text{ц}} \cdot \frac{\rho_0}{\rho},$$

$$F_c = f \cdot v,$$

$f$  – коэффициент внутреннего трения,  $v$  – скорость седиментации.

$F_{\text{ц}} - F_B = F_c$  и выразим  $F_B$  через  $F_{\text{ц}}$  и  $F_c$ :

$$F_{ц} - F_{ц} \cdot \frac{\rho_0}{\rho} = f \cdot v,$$

$$F_{ц} \cdot \left(1 - \frac{\rho_0}{\rho}\right) = f \cdot v,$$

$$m \cdot \left(1 - \frac{\rho_0}{\rho}\right) \cdot w^2 x = f \cdot v,$$

или:

$$m = \frac{f}{\left(1 - \frac{\rho_0}{\rho}\right)} \cdot \frac{v}{w^2 x}.$$

Введем:

$$S = \frac{v}{w^2 x} = \frac{dx}{dt} \cdot \frac{1}{w^2 x} = \frac{1}{w^2} \cdot \frac{d(\ln x)}{dt},$$

где S – коэффициент седиментации (1 сведберг =  $10^{-3}$ с).

Парциальный удельный объем:

$$\bar{V} = \frac{1}{\rho} = \left[ \frac{l}{\kappa^2} \right] \approx 0,6 - 0,75$$

для макромолекул это возрастание объема растворителя при растворении 1 кг сухого вещества в фиксированном объеме растворителя.

$$m = \frac{K_0 T s}{D \cdot (1 - \rho_0 \cdot \bar{V})}$$

$$MM = \frac{RTs}{D \cdot (1 - \rho_0 \cdot \bar{V})} - \text{формула Сведберга.}$$

Следовательно, нужно заранее определить D и  $\bar{V}$  и измерить на центрифуге S и получим MM. Необходимо определить S и D в одинаковых растворителях, при одной температуре.

*Электрофорез макромолекул* – движение частиц в жидкой фазе под действием электрического поля.

$$F_э = q E,$$

где q – заряд молекулы, E – напряжённость поля,  $F_э$  – действующая сила.

$$F_с = f v,$$

где f – коэффициент трения (для сферы  $6\pi\eta r$ ),  $F_с$  – сила сопротивления, v – скорость движения.

После установления стационарного состояния:

$q E = f v$  при этом скорость движения постоянна ( $v = \text{const.}$ )

$$U = \frac{v}{E} = \frac{q}{f} = \left[ \frac{m^2}{B \cdot \text{сек}} \right] - \text{электрофоретическая подвижность.}$$

Для сферы:

$$U = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r}$$

Если исследуют белки (молекулярную массу), то электрофорез проводят в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) в полиакриламидном геле (Вебер, Осборн, 1969). Исследования проводят после обработки 1% раствором ДСН, который является детергентом, обладающим денатурирующим действием, и добавления – меркаптоэтанола для разрыва дисульфидных связей. ДСН одинаково связывается со всеми белками (1,4 кг ДСН на 1 кг белка). Каждая молекула ДСН несёт один отрицательный заряд и общая плотность зарядов одинакова для разных белков.

Таким образом, поверхностная «шуба» из молекул ДСН устраняет зарядовые значения между белками. После денатурации белок приобретает форму стержня Ø8 нм. Длина пропорциональна молекулярной массе.

В качестве носителя используется полиакриламидный гель в концентрации 5 – 15%.

$$U = v - a \lg M$$

где **a** и **v** – константы, зависящие от свойств геля.

## **2. Термодинамические исследования**

*Дифференциальная сканирующая микрокалориметрия.* Измеряется количество теплоты, необходимое для повышения температуры объекта на заданную малую величину –  $\Delta T$  (то есть  $\Delta H$ ). Если в этот момент происходит «разворачивание» глобулы –  $\Delta H$  в камере с белком много больше, чем  $\Delta H$  в контрольной камере (буферный раствор) – этот контроль позволяет внести поправку на величину теплоёмкости.

Чувствительность микрокалориметрии –  $16 \cdot 10^{-6}$  Дж/моль.град

Кривые представляют в виде температурной зависимости теплоёмкости  $C_p$ .

При переходе из нативного в денатурированное состояние максимальная  $C_p$  соответствует температуре плавления  $T_m$ . Если в белке есть домены с разной термоустойчивостью, кривая имеет два пика.

## **3. Оптические (спектральные) методы**

*Рентгеноструктурный анализ.*

Этот метод основан на явлении дифракции рентгеновских лучей.

Дифракция – огибание волной препятствия – происходит, когда  $\lambda$  сравнима с размером объекта. Поэтому для исследования молекул

используются рентгеновские лучи,  $\lambda$  которого сопоставима с размерами атома. Получая дифракционную решётку, можно по картине судить о структуре макромолекул.

*Оптическое вращение и круговой дихроизм.*

Оба метода основаны на пропускании через образец монохроматического поляризованного света.

*Дисперсия оптического вращения (ДОВ)* оценивается по углу поворота плоскости поляризации вышедшего света по сравнению с падающим. Основной вклад в неё вносят– спирали белков и по величине дисперсии можно оценить содержание  $\alpha$  спиралей в белках (зависимость угла поворота от  $\lambda$ ).

*Круговой дихроизм (КД):*

Его величина определяется в разнице поглощения образцом право – и лево – поляризованного света. Разница объясняется различными коэффициентами молярной экстинкции для право – и лево – поляризованного света и позволяет определить направление, в котором «закручена» спираль – зависит [Q] от  $\lambda$ .

Для каждой хромофорной группы аминокислот, существует точка пика поглощения, преимущественно в УФ области (230 – 310 нм)

Простой абсорбционный спектр, таким образом, может позволить исследовать аминокислотный состав белка.

$$\begin{array}{l}
 \alpha \text{ – спираль} \left\{ \begin{array}{l} \lambda = 190 \cdot \text{нм} \cdot Q = +71000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}} \\ \lambda = 206 \cdot \text{нм} \cdot Q = -36000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}} \\ \lambda = 222 \cdot \text{нм} \cdot Q = -38000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}} \end{array} \right. \\
 \beta \text{ – спираль} \left\{ \begin{array}{l} \lambda = 195 \cdot \text{нм} \cdot Q = +35000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}} \\ \lambda = 215 \cdot \text{нм} \cdot Q = -20000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}} \end{array} \right. \\
 \text{клубок} \quad \lambda = 197 \cdot \text{нм} \cdot Q = -25000 \frac{\text{град} \cdot \text{см}^2}{\text{д} \cdot \text{моль}}
 \end{array}$$

По структуре КД можно определить доли глобулярных и фибриллярных участков и неупорядоченных структур.

Флуоресцентная спектроскопия белков.

а) Собственная флуоресценция белков, имеющих в составе аминокислоты: Trp, Tyr, Phe, и по спектру флуоресценции можно судить о положении этих остатков в белке, и взаимодействие его с окружающими группами.

$\lambda_{\text{ф}}$  чистого Trp равна 323 нм, в его вариации в белках от 320-342 нм.

б) «Тушение флуоресценции» введёнными хромофорами (то есть миграция энергии с молекулы белка на ионы  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{I}^-$ , акриламид) позволяет оценить доступность хромофорных групп для внешних реагентов.

в) Более удобным в ряде случаев оказывается двухволновой флуоресцентный метод, то есть регистрация одновременно  $J_{\lambda_1}$  и  $J_{\lambda_2}$ , что позволяет оценить динамику смещения спектра, так как положение максимальной флуоресценции более чувствительно к конформационным перестройкам

$B'' = \frac{J_{\lambda_1}}{J_{\lambda_2}}$  – двухволновой флуоресцентный параметр, он заметно уменьшается при разворачивании глобулы.

г) Флуоресцентная спектроскопия с временным (наносекундным) разрешением (флаш – фотолиз).

Флуоресценция возбуждается наносекундными вспышками лазера, и по повороту угла поляризации измеряется степень поворота хромофорной группы за указанное время. Метод позволяет регистрировать быстрые процессы.

### **Силы внутримолекулярного взаимодействия биомакромолекул**

Относительно энергии теплового движения молекул воды при нормальных условиях ( $\sim 2,5$  к Дж/моль) их можно подразделить на *сильные*, к которым относятся ковалентные (200 – 800 к Дж/моль) и ионные взаимодействия (40 – 400 к Дж/моль), величина энергии которых рассчитывается по закону Кулона:

$$W_i = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{q_1 q_2}{\epsilon \cdot r},$$

где  $q_1$  и  $q_2$  – электрические заряды групп,  $\epsilon$  и  $\epsilon_0$  – диэлектрические постоянные в среде и вакууме ( $\epsilon_0 = 8,85 \cdot 10^{-23}$  Кл В<sup>-1</sup> м<sup>-1</sup>).

и *слабые* – все остальные.

К ним относятся:

**I. Ван-дер-Ваальсовы силы**  $\sim 4 - 8$  кДж/моль.

Эти силы играют роль в образовании конденсированных жидких и твёрдых состояний, во взаимодействиях на поверхности раздела фаз. Они имеют электромагнитную природу и определяются взаимодействием электрических диполей в соседних молекулах

$(P + a/v^2) \cdot (v - b) = nRT$  – это уравнение Ван-дер-Ваальса.

где  $a$  и  $b$  – постоянные притяжения и отталкивания. Уравнение Ван-дер-Ваальса описывает отклонения реального газа от идеального.

### 1. Ориентационные силы (диполь–дипольные).

Когда обе молекулы обладают постоянными дипольными моментами  $M_1$  и  $M_2$ .

$$W_{op} = -\frac{1}{6\pi\epsilon_0 k_0 T} \cdot \frac{M_1^2 M_2^2}{r^6},$$

где:  $k_0$  – постоянная Больцмана,  $T$  – абсолютная температура.

### 2. Индукционные взаимодействия (диполь–индуцированный диполь)

В том случае, когда первая молекула обладает постоянным дипольным моментом  $M$ , а вторая нет, но характеризуется определённой поляризуемостью  $\alpha$ , то за счёт создаваемого диполем во второй молекуле 2 электрического поля напряжённостью  $E_1$ , которое равно:  $E = \frac{2M_1}{R^3}$ , наводится диполь:

$$W_{ind} = -\frac{1}{2\pi\epsilon_0} \cdot \frac{\alpha \cdot M^2}{r^6}$$

### 3. Дисперсионные (поляризационные) взаимодействия

Обе молекулы не обладают постоянными дипольными моментами, но обладают поляризуемостью ( $\alpha_1$  и  $\alpha_2$ ) и наведенным потенциалами ионизации  $I_1$  и  $I_2$ .

Взаимодействие обусловлено внешними, наиболее слабо связанными электронами. Природа их носит квантово – механический характер и является результатом появления так называемых «мгновенных диполей» при движении электронов:

$$W_{dis} = -\frac{3}{2} \frac{I_1 \cdot I_2}{I_1 + I_2} \cdot \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{r^6}$$

## II. Водородные связи (заряд – дипольные взаимодействия)

Это взаимодействия между атомом Н одной молекулы и N, O, S, F, Cl, – другой.

Основной вклад в энергию вносит электростатическое притяжение. Но так же по уравнению Ван-дер-Ваальсова сила и энергия деполяризации двух электронов связи О–Н.

Для воды:

$$U_{\text{ВОДОРОД}} = U_{\text{ЭЛ.СТАТ}} + U_{\text{ДИСП}} + U + U_{\text{ОТТАЛ}} =$$



$$= -25,2 - 12,6 - 33,6 + 35,28 = 36,12 \text{ кДж/моль.}$$

В разных точках протон испытывает различные воздействия со стороны электроотрицательных атомов – имеется 2 минимума.

### III. Гидрофобные взаимодействия с энергией 4-8,5 кДж/моль.

Основано на силах отталкивания воды гидрофобными (неполярными) молекулами. Более корректно их можно определить, основываясь на термодинамике.

Вода представляет собой довольно сложную структуру, ассиметрична и имеет большой дипольный момент (~1,82 дебая (Д)).

#### *Тетраэдрическая структура полностью координированной воды*

Молекулы воды ассоциированы с координаторным числом 4, то есть атомы кислорода четырех молекул образуют тетраэдр, в центре которого атом кислорода пятой молекулы. Структура жидкой воды до конца не ясна. Существуют две группы гипотез:

##### *1. Модель непрерывной структуры воды*

Вода представляет собой непрерывную структуру, связанная водородными связями, и при изменении температуры, давления и других факторов они лишь растягиваются и деформируются. Но по расчетам, тогда при  $t=25^\circ\text{C}$   $\rho = 1,8 \text{ г/см}^3$  (а не 1,0).

##### *2. Модели мерцающих кластеров. Франк, Уэн (1957)*

Водородные связи формируют короткоживущие ( $10^{-10}$  -  $10^{-11}$  сек) кластеры, размер которых зависит от температуры. При  $t=20^\circ\text{C}$  в кластеры входит 29,5% молекул воды.

Вода как полярная молекула может конкурировать с другими полярными молекулами за места образования водородных связей. Но неполярное вещество, попав в водную среду, будет подчиняться другим закономерностям, описанным Каузмано.

Если помните, свободная энергия  $\Delta G = \Delta H - T \Delta S$ . При растворении неполярных веществ  $\Delta G$  увеличится, но  $\Delta H$  почти не изменится, следовательно,  $\Delta S < 0$ .

Понижение энтропии связано с изменением структуры воды. Вблизи неполярных участков снижается конкуренция за водородные связи, следовательно, повышается вероятность формирования упорядоченных кластеров.

Согласно второму началу термодинамики в неравновесной области система стремится увеличить энтропию. Для этого есть один путь – неполярным молекулам в растворе «установить контакты», вытеснив воду и тем самым разрушить кластеры и снизить упорядоченность системы.

Исходя из этого, была количественно оценена гидрофобность аминокислот в белках. Мерой гидрофобности служит  $\Delta G$  при переносе их из 100% этанола в воду:

Try  $\Delta G=14$  к Дж/моль,  
Phe  $\Delta G=10,5$  к Дж/моль,  
Ala  $\Delta G=2,1$  к Дж/моль,  
Ser  $\Delta G=1,25$  к Дж/моль.  
Ala и Ser – гидрофильные остатки.

### Пространственная структура белка

**Первичная структура белка** – последовательность аминокислот (АК).  
Пептидная связь между аминокислотами (Рис. 5) отличается от обычной ковалентной связи перераспределением электронной плотности и, потому, является жёсткой и вокруг неё вращение затруднено. Расстояния в ней соответствуют:

C – N-0,132 нм  
N – C $_{\alpha}$ -0,147 нм  
C – C $_{\alpha}$ -0,153 нм

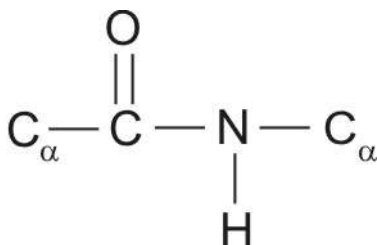


Рис. 5. Пептидная связь между аминокислотами

Зато оно возможно вокруг связей C – C (угол  $\phi$ ) и N – C (угол  $\psi$ ), за счёт чего и возникают конформации белковых молекул. Число возможных конформаций ограничено, так как согласно расчётам Рамачандрана  $\phi$  и  $\psi$  могут принимать лишь определённые значения. Конформации стабилизируются слабыми взаимодействиями между пептидными группами (вторичная структура) и боковыми остатками АК (третичная структура).

**Вторичная структура** – упорядоченное расположение полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями между пептидными группами.

Чаще всего встречается и наиболее термодинамически выгодна правая  $\alpha$ -спираль, постулированная Поллингом и Кори (Рис. 6).

1. на один шаг спирали – 3,6 остатка,
2. шаг спирали  $d = 0,54$  нм,
3. трансляция на 1 остаток вдоль спирали  $\Delta d = 0,15$  нм,
4. радиус спирали  $r = 0,23$  нм,
5. водородные связи параллельны оси спирали и образуются между 1 – 4 аминокислотными остатками,
6.  $\phi = -57^{\circ}$ ,  $\psi = -47^{\circ}$ .

Но возможны и другие виды спиралей. Она обнаруживается в отдельных участках белка,  $r = 0,19$  нм, то есть она более скручена. На 1 шаг три АК,

водородные связи между 1 – 10 АК. Это  $\pi$  – спираль. Она теоретически рассчитана, но пока не обнаружена в белках,  $r = 0,28$  нм, длина шага 4, 4 АМК.

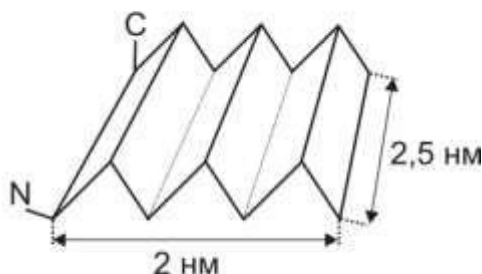
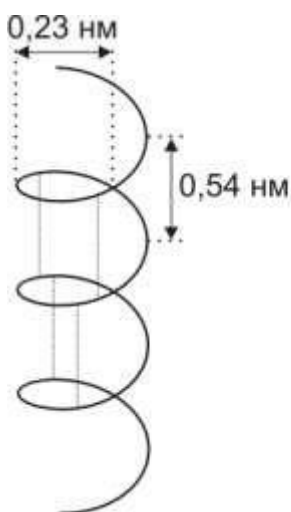


Рис. 6.  
**Вторичная структура белка**  
Слева –  $\alpha$ -спираль  
Справа –  $\beta$ -сладчатая структура

*Другой тип вторичных структур:  $\beta$  – складчатые структуры.*

Водородные связи расположены параллельно оси спирали. Они могут быть параллельными –  $\psi = +113^\circ$ ,  $\phi = -119^\circ$  и антипараллельными –  $\psi = +113^\circ$ ,  $\phi = -119^\circ$ , имеют фиксированные значения  $\psi$  и  $\phi$ , включают до 6 белковых цепей, состоящих из 6 остатков, размеры  $\beta$  – складчатого листа  $2 \times 2,5$  нм. Они могут быть скручены перпендикулярно цепям.

В некоторых случаях выделяют сверхвторичные структуры – суперспирали (например миозин – 2  $\alpha$  – спирали и фибриноген – 3  $\alpha$  – спирали), скрученные относительно друг друга. К третичным структурам их отнести нельзя, так как связи опять же между пептидными группами. Сюда же относятся структуры типа  $\alpha\beta$ .

**Третичная структура белка** – конформации, стабилизированные слабыми связями между боковыми остатками АК. В основном это Ван-дер-Ваальсовы и электростатические взаимодействия. Переход в растворе от неупорядоченного клубка в наиболее удобную упаковку третичной структуры происходит от  $10^{-6}$  до  $10$  сек у разных белков. Сегменты белка образуют  $\alpha$  – спирали и  $\beta$ - структуры, которые затем укладываются в глобулы – домены. Домены относительно автономны, могут самостоятельно раскручиваться и, как правило, являются носителями определённых функций.

#### **Четвертичная структура белка**

Наиболее сложные белки, особенно ферменты, имеют ещё более высокую структурную организацию, включающую несколько белковых глобул, объединённых гидрофобными взаимодействиями.

Согласно модели Бреслера–Тилмуда.

$$v_s = \frac{3d}{r_0 - d},$$

где  $v$  – отношение числа полярных остатков к неполярным остаткам,

если  $v \approx v_s$  – то глобула в растворе будет сферической формы,

если  $v > v_s$  – то глобула в растворе будет эллипсоидной формы.

если  $v < v_s$ , то неполярные структуры не могут быть полностью закрыты полярными и тогда и образуются олигомерные структуры, стабилизированы гидрофобными взаимодействиями.

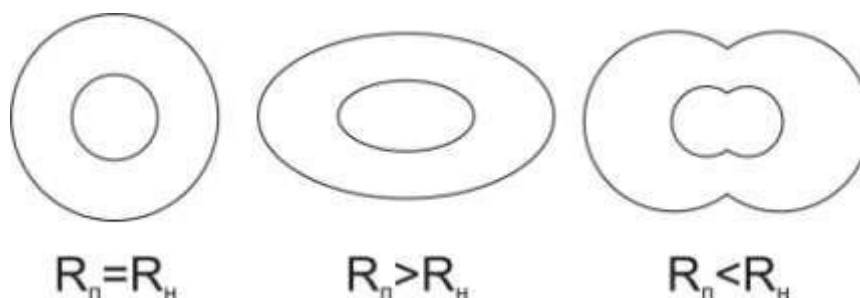


Рис. 7. Виды четвертичной структуры белка согласно отношению числа полярных остатков ( $R_p$ ) к неполярным остаткам ( $R_n$ )

### Тест–задания

1. Предметом исследования молекулярной биофизики является:
  - А. Молекулярный состав биомакромолекул
  - В. Пространственная организация биомакромолекул
  - С. Химические реакции с участием биомакромолекул
2. К сильным взаимодействиям относятся:
  - А. Ковалентные связи
  - В. Водородные связи
  - С. Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия
  - Д. Гидрофобные взаимодействия
3. К слабым взаимодействиям относятся:
  - А. Ковалентные связи
  - В. Водородные связи
  - С. Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия
  - Д. Гидрофобные взаимодействия
4. Ориентационные взаимодействия возможны в том случае, если:
  - А. Обе молекулы обладают постоянным дипольным моментом
  - В. Одна из молекул обладает постоянным дипольным моментом
  - С. Ни одна из молекул не обладает постоянным дипольным моментом
5. Индукционные взаимодействия возможны в том случае, если:

- A. Обе молекулы обладают постоянным дипольным моментом
  - B. Одна из молекул обладает постоянным дипольным моментом
  - C. Ни одна из молекул не обладает постоянным дипольным моментом
6. Дисперсионные взаимодействия возможны в том случае, если:
- A. Обе молекулы обладают постоянным дипольным моментом
  - B. Одна из молекул обладает постоянным дипольным моментом
  - C. Ни одна из молекул не обладает постоянным дипольным моментом
7. Ван-дерВаальсовы взаимодействия являются:
- A. взаимодействиями электрических зарядов
  - B. взаимодействиями электрических диполей
  - C. гидрофобными взаимодействиями
8. Водородные связи имеют природу:
- A. Диполь-дипольных взаимодействий
  - B. Заряд-дипольных взаимодействий
  - C. Заряд-зарядных взаимодействий
9. Водородные связи образуются между атомом водорода и:
- A. Кислорода
  - B. Азота
  - C. Углерода
  - D. Фтора
  - E. Железа
10. Природа гидрофобных взаимодействий связана:
- A. С взаимным притяжением неполярных групп
  - B. С отталкиванием полярных и неполярных групп
  - C. С отталкиванием молекул воды неполярными группами
11. Молекула воды является:
- A. Неполярным соединением
  - B. Сильнополярным соединением
  - C. Амфифильным соединением
12. Молекулы воды связаны друг с другом:
- A. Электростатическими взаимодействиями
  - B. Водородными связями
  - C. Гидрофобными связями
13. Мерой гидрофобности аминокислот служит:
- A. Изменение свободной энергии при переносе из спирта в воду
  - B. Изменение энтропии при переносе из спирта в воду
  - C. Изменение свободной энергии при переносе из масла в воду
14. Гидрофобные взаимодействия возможны при следующих условиях:
- A. полярный растворитель
  - B. амфифильность растворенных веществ
  - C. неполярный растворитель
15. Что такое Дебаевский радиус макромолекулы:
- A. Радиус глобулы в полярном растворителе
  - B. Расстояние, на котором заряд уменьшается в 0,37 раз
  - C. Минимальное расстояние, на которое могут сблизиться молекулы
16. Вискозиметрическим методом можно оценить:
- A. Форму макромолекул

- В. Размеры макромолекул
- С. Заряд макромолекул
- 17. Метод квазиупругого рассеяния света для исследования макромолекул основан:
  - А. На изменении длины волны рассеянного света
  - В. На изменении направления рассеянного света
  - С. На изменении интенсивности рассеянного света
- 18. Седиментационный метод позволяет определить:
  - А. Форму макромолекул
  - В. Заряд макромолекул
  - С. Массу макромолекул
- 19. Метод дифференциальной сканирующей микрокалориметрии позволяет оценить:
  - А. Кооперативность структурных перестроек в глобуле
  - В. Размер глобулы
  - С. Электрический заряд глобулы
- 20. Метод рентгеноструктурного анализа основан на явлении:
  - А. Поглощения рентгеновского излучения
  - В. Дифракции рентгеновских лучей
  - С. Рассеяния рентгеновских лучей

## 6-ТЕМА. ЭЛЕМЕНТЫ КВАНТОВОЙ БИОФИЗИКИ

### План

1. Классификация и стадии фотобиологических процессов
2. Пути размена энергии возбужденного состояния молекулы

**Ключевы слова:** квантовая биофизика, фотобиологические процессы, энергетический уровень, энергией кванта, спиновый момент, возбужденный синглетный уровень, триплетный уровень, спектр поглощения, закон Бугера – Ламберта – Бера, люминесценция, флюоресценция и фосфоресценция, законы флюоресценции.

### Классификация и стадии фотобиологических процессов

**Квантовая биофизика** изучает электронную структуру биомacroмолекул (белков и нуклеиновых кислот), электронные переходы в этих молекулах и пути превращения энергии возбужденного состояния молекул и их продуктов.

Относительно изменения уровня свободной энергии ( $E_0$ ) системы *фотобиологические процессы можно подразделить на:*

1. Процесс повышения  $E_0$ , который происходит при фотосинтетических процессах (синтез биологических соединений под влиянием света, фотосинтез).
2. Информационные процессы, которые не связаны со значительным изменением  $E_0$  (фотопериодизм, фототаксис, зрение животных).

3. Процесс понижения  $E_0$  может вызывать:

а) повреждающее действие света

- Летальные реакции
- Мутации
- Патологические процессы (временное нарушение процессов жизнедеятельности).

б) физиологический процесс.

**Природа света и его физические характеристики. Понятие кванта.**

**Орбитальная структура атомов и молекул и энергетические уровни.**

*Свет имеет двойственную природу: с одной стороны свет – это поток квантов, с другой стороны, свет имеет волновую природу. В связи с этим свет характеризуется частотой ( $\nu$ ) и длиной волны ( $\lambda$ ), а также энергией кванта:*

$$E = h \cdot \nu$$

Чем выше частота света (а значит меньше длина волны), тем больше энергия кванта, так как их произведение дает скорость света ( $c$ ):

$$c = \nu \cdot \lambda$$

Каждый электрон занимает в молекуле определенный *энергетический уровень*, характеризующийся определенной энергией. В невозбужденной молекуле электроны занимают уровни с наименьшей энергией. Это *электронные уровни*. На каждом заполненном уровне может находиться два электрона с противоположными (антипараллельными) *спинами*  $+1/2$  и  $-1/2$ . Суммарный *спиновый момент* в этом случае равен 0. Такие уровни называют *синглетными*. Состояние молекулы, в которой электроны находятся на низших *синглетных* уровнях в *невозбужденном* состоянии, называется *основным*.

Под воздействием света электроны могут переходить с *основного синглетного* на другой *возбужденный синглетный* уровень, с более высокой энергией. Такие переходы не сопровождаются изменением спина.

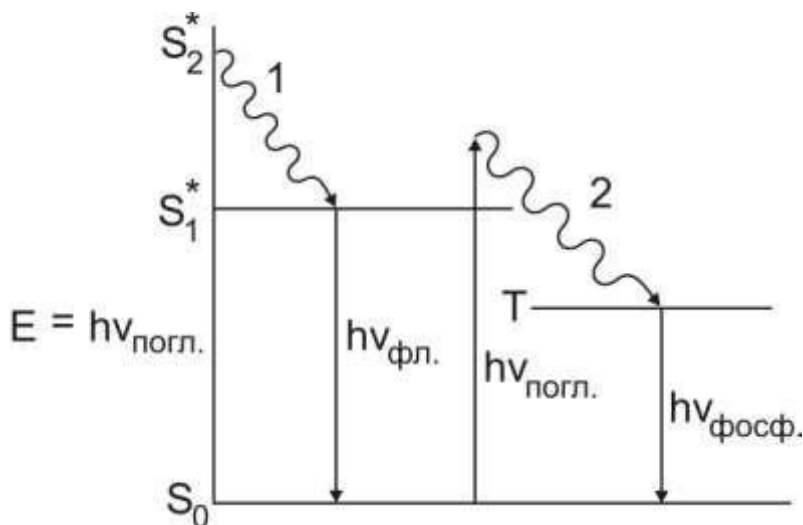


Рис. 3. Образование возбужденных энергетических уровней, характеризующихся определенной энергией.  
1 – синглетного;  
2 – триплетного.

Время жизни электрона в *возбужденном синглетном* состоянии очень мало и равно  $10^{-8} - 10^{-9}$  с. Следует помнить, что электронный переход осуществляется при поглощении 1 кванта света.

Ряд молекул обладает так называемыми *триплетными уровнями*, на которых находятся *неспаренные* электроны, особенностью которых является проявление возможности однонаправленного спинового момента. Суммарный *спиновый момент* в этом случае может быть равен трем значениям:  $-1$ ,  $0$  или  $+1$ .

Переход из *основного синглетного* состояния в *триплетное* запрещен, т.к. этот переход должен сопровождаться обращением спина электрона, а для этого необходима энергия. На *триплетный уровень* электрон попадает из *возбужденного синглетного состояния*.

Время жизни электрона в *триплетном состоянии* на много дольше, чем в *синглетном*, и составляет:  $10^{-4} - 10$  сек.

Многоатомные макромолекулы кроме *электронных энергетических уровней* имеют *вращательные и колебательные подуровни*. Их существование и энергетические характеристики связаны с внутримолекулярными движениями, например, ядер атомов.

В зависимости от величины энергии состояния они представляют следующую последовательность: электронный > колебательный > вращательный уровни.

### Взаимодействие света с веществом

*Спектр поглощения* Способность молекулы поглощать свет зависит от ее электронной конфигурации. При поглощении света происходит переход электронов в возбужденное состояние. Данным веществом поглощается свет определенной длины волны. Поглощательную способность вещества отражает *спектр поглощения*.



*Спектр поглощения* представляет собой сумму индивидуальных полос поглощения, каждая из которых соответствует переходу между двумя электронными уровнями. Так как сложные молекулы обладают не только электронными, но и вращательными и колебательными подуровнями, их *спектр поглощения* представляет собой сплошную линию – *зависимость интенсивности поглощения света от его длины волны*.

Обычно *спектр поглощения* имеет вид кривой с одним или несколькими *максимумами*, которые отражают наибольшую способность поглощать свет именно этой длины волны и являющейся одной из главных спектральных характеристик.

### ***Закон поглощения света Бугера – Ламберта – Бера***

Мерой интенсивности поглощения служит оптическая плотность  $D$ . Эта величина вводится через закон поглощения Бугера – Ламберта – Бера: интенсивность поглощенного света ( $I_0 - I$ ) уменьшается по экспоненциальному закону в зависимости от концентрации растворенного вещества ( $c$ ) и длины оптического пути ( $l$ ):

В дифференциальной форме изменение интенсивности равно:  $dI = -kIcdl$

Решение уравнения с учетом константы интегрирования  $I = I_0$  при  $l = 0$ :

$$I = I_0 e^{-kcl} \quad \text{или} \quad \ln \frac{I_0}{I} = k \cdot c \cdot l$$

При переходе к десятичному логарифму:

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot l, \text{ где:}$$

$I_0$ - интенсивность падающего света,  $I$ - интенсивность света, прошедшего через объект,  $k$  и  $\varepsilon$  -константы пропускания света веществом. Их соотношение друг с другом определяется тем, что:

$$2,303 \cdot \ln = \lg \text{ и тогда: } 2,303 \cdot k \cdot \ln = \varepsilon \cdot \lg$$

***Закон Бугера – Ламберта – Бера*** выполняется при условиях:

- Свет монохроматический –одной длины волны (частоты).
- Отсутствие взаимодействия между молекулами
- Беспорядочная ориентация молекул

Последние два условия выполняются в случае *разбавленных растворов*.

***Закон Бугера – Ламберта – Бера*** является основой для абсорбционной спектрометрии, позволяющей определять количество (концентрацию) веществ, основываясь на линейной зависимости их содержания в растворе от степени поглощения – оптической плотности. Фотоэлектроколориметр и спектрофотометр – приборы абсорбционной спектрофотометрии. Последний отличается способностью устанавливать постоянную волну возбуждающего света монохроматором.

### Пути размена энергии возбужденного состояния молекулы

При поглощении кванта света молекула переходит в возбужденное состояние. Так как долго находиться в этом состоянии молекула не может, она возвращается в основное состояние. Энергия *возбужденного состояния* может тратиться (*размениваться*) на разные процессы при:

- переходе в основное состояние с выделением энергии в виде тепла;
- высвечивании квантов света: *люминесценция (флюоресценция и фосфоресценция)*;
- миграции энергии;
- *фотохимической реакции*.

По своей сути все фотобиологические процессы – это пути размена энергии возбужденного состояния молекул.

### Люминесценция (флюоресценция и фосфоресценция), ее механизмы, законы и методы исследования

Высвечивание кванта света при переходе с возбужденного состояния в основное называется *люминесценцией*. Она подразделяется на *флюоресценцию и фосфоресценцию*.

*Флюоресценция* – высвечивание кванта света при переходе с нижнего возбужденного *синглетного* состояния в основное. Переход с *высшего* возбужденного *синглетного* уровня на *нижний синглетный* возбужденный уровень сопровождается выделением тепла и называется *внутренней конверсией*.

*Характеристики флюоресценции:*

- *Спектр флюоресценции:* зависимость интенсивности флюоресценции от длины волны.
- *Квантовый выход флюоресценции:* отношение числа квантоввысветившихся к числу квантов поглощенных.
- *Время жизни кванта флюоресценции*  $10^{-8} - 10^{-9}$  сек.

*Законы флюоресценции:*

- *Закон Стокса:* спектр флюоресценции сдвинут в длинноволновую область по сравнению со спектром поглощения.
- *Правило Левина:* коротковолновая часть спектра флюоресценции симметрична длинноволновой области спектра поглощения.
- *Закон Вавилова:* квантовый выход флюоресценции не зависит от длины волны возбуждающего света.

*Методы изучения: флюорометрические* исследования отличаются от *спектрофотометрических* необходимостью применения особого светофильтра после объекта, не пропускающего длину волны возбуждающего света, но позволяющего регистрировать длину волны флюоресценции образца.

*Фосфоресценция* – высвечивание кванта света при переходе с триплетного уровня в основное состояние. Переход с высшего синглетного возбужденного

уровня на триплетный уровень сопровождается выделением тепла и называется *интеркомбинационной конверсией* (Рис. 3).

Характеристики и законы *фосфоресценции* – те же, что и для *флюоресценции*.

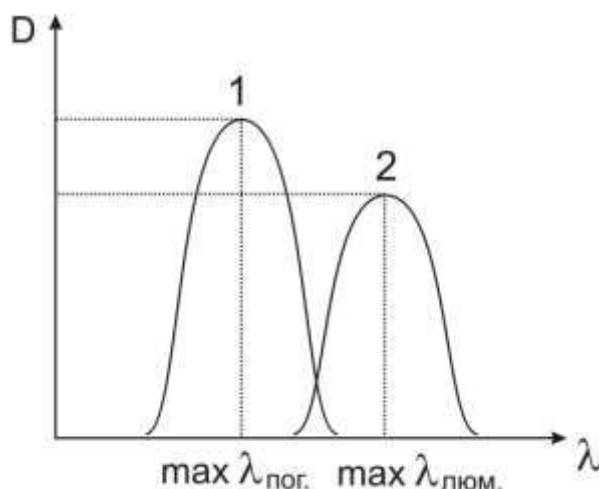


Рис. 4. Спектральные характеристики при поглощении света (1) и его люминесценции (2).

По оси абсцисс – длина волны  
По оси ординат – оптическая плотность.

### **Миграция энергии. Виды и условия миграции. Правила Ферстера**

*Миграция энергии* – безизлучательный обмен энергией между возбужденной молекулой (*донором*) и молекулой в основном состоянии (*акцептор*) без кинетических соударений донора и акцептора и на расстояния, превышающие межатомные.

*Виды миграции:*

1. *Индуктивно-резонансная миграция.* Для этого необходимо, чтобы донор и акцептор имели одинаковые разности энергии между определенными энергетическими уровнями, взаимодействие должно быть достаточно интенсивным.

*Выполняется при 3-х правилах Ферстера:*

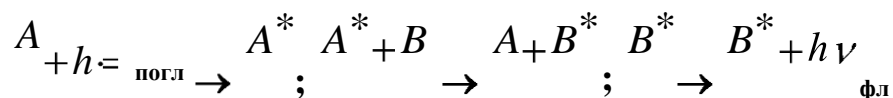
- Донор должен обладать способностью к *флюоресценции*.
  - Длинноволновая часть *спектра флюоресценции донора* должен перекрываться с коротковолновой частью *спектра поглощения акцептора*.
  - Донор и акцептор должны располагаться на определенном (не далее 2 нм) расстоянии друг от друга.
2. *Обменно-резонансный тип миграции* происходит в результате переноса энергии с *триплетного уровня донора* на *триплетный уровень акцептора*, происходит при перекрывании триплетных уровней на расстоянии 1-2 нм.
  3. *Полупроводниковая миграция энергии.* Полупроводники характеризуются наличием валентной зоны, зоны проводимости, которые разделены

запрещенной зоной. Переход из валентной зоны в зону проводимости может произойти вследствие влияния кванта света (фотопроводимость).

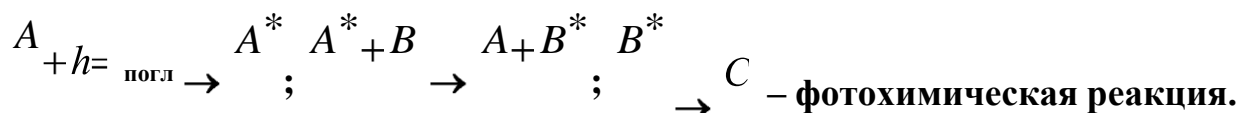
4. *Экситонная миграция* наблюдается в кристаллах. Пара «электрон – дырка» называется экситоном. Переноса заряда нет.

*Методы исследования миграции энергии* основаны на том, что при этом процессе поглощает свет одно вещество, а люминесцирует - другое.

*Сенсибилизированная люминесценция:*



*Сенсибилизированная фотохимическая реакция:*



### Фотохимические реакции. Законы фотохимии

*Фотохимическими реакциями* называют реакции, идущие под действием света. В этом случае энергия поглощенного кванта трансформируется в энергию химической связи.

Виды фотохимических реакций:

- Фотоокисление (в фотосинтезе)
- Фотовосстановление
- Фотоизомеризация (реакции превращения фотопигмента в палочках)
- Фотодиссоциация

*Законы фотохимии:*

1. *Гротгуса – Дрейпера*: фотохимическое действие оказывает поглощенный свет.
2. *Эквивалентности*: один квант вызывает один фотохимический акт.
3. *Правило Бунзена – Роско*: количество фотопродукта зависит от дозы облучения  $P = I \cdot t$ .

$$I_1 \cdot t_1 = I_2 \cdot t_2 = \dots = I_n \cdot t_n, \text{ то } P_1 = P_2 = \dots = P_n$$

*Скорость фотохимических реакций* пропорциональна количеству квантов, поглощенных в единицу времени:

$$\frac{dc}{dt} \approx \frac{dN}{dt}$$

Но следует учесть, что не все поглощенные кванты вызывают фотохимическую реакцию, поэтому следует учесть *квантовый выход реакции* –

$\varphi$ , определяющий отношение числа квантов участвующих в химической реакции к общему числу поглощенных квантов.

В результате скорость будет равна:

$$\frac{dc}{dt} = \varphi \frac{dN}{dt}$$

Скорость поглощения квантов пропорциональна интенсивности падающего света ( $I_0$ ), концентрации вещества ( $c$ ), участвующего в поглощении и *эффективному поперечному сечению молекулы* – площади ( $S$ ):, при попадании в которую, квант поглощается:

$$\frac{dN}{dt} = S \cdot I_0 \cdot c$$

С учетом квантового выхода реакции, уравнение примет вид:

$$\frac{dc}{dt} = -\varphi \cdot S \cdot I_0 \cdot c$$

Решая дифференциальное уравнения имеем:

$$\frac{dc}{c} = -\varphi \cdot S \cdot I_0 \cdot dt; \text{ и далее, интегрируя, имеем: } \int \frac{dc}{c} = -\int \varphi \cdot S \cdot I_0 \cdot dt$$

В итоге с учетом константы интегрирования:

$$c = c_0 e^{-\varphi S I_0 t}$$

$\varphi S = \sigma$  – *поперечное сечение фотореакции*, это площадь, при попадании в которую, квант не только поглощается, но и вызывает реакцию.

Можно заключить, что *концентрация реагирующего вещества убывает экспоненциально в зависимости от интенсивности действующего света.*

### Задачи

1. Через пластинку из прозрачного вещества толщиной  $l = 4,2$  см проходит половина падающего на нее светового потока. Определите натуральный показатель поглощения данного вещества. Рассеянием света в пластинке пренебечь; считать, что 10% падающей энергии отражается на поверхности пластинки.
2. В 4%-ном растворе вещества в прозрачном растворителе интенсивность света на глубине  $l_1 = 20$  мм ослабляется в 2 раза. Во сколько раз ослабляется интенсивность света на глубине  $l_2 = 30$  мм в 8%-ном растворе того же вещества?

3. Какова концентрация раствора, если одинаковая освещенность фотометрических полей была получена при толщине  $l_1 = 8\text{мм}$  у эталонного 3%-ного раствора и  $l_2 = 24\text{мм}$  – у исследуемого раствора?
4. Коэффициент пропускания раствора  $\tau = 0,3$ . Чему равна его оптическая плотность?
5. Оптическая плотность раствора  $D = 0,08$ . Найдите его коэффициент пропускания.
6. При прохождении света через слой раствора поглощается  $1/3$  первоначальной световой энергии. Определите коэффициент пропускания и оптическую плотность раствора.
7. При прохождении монохроматического света через слой вещества толщиной  $l = 15\text{см}$  его интенсивность убывает в 4 раза. Определите показатель рассеяния, если показатель поглощения равен  $0,025\text{ см}^{-1}$ .
8. Вычислите толщину слоя половинного ослабления параллельного пучка  $\gamma$ -излучения для воды, если натуральный показатель ослабления  $\mu' = 0,053\text{ см}^{-1}$ .
9. Интенсивность света, прошедшего через раствор, уменьшилась в 10 раз. Известно, что данное вещество имеет молярный показатель поглощения на данной длине волны, равный 500. Длина кюветы с раствором 1 см. Найдите концентрацию вещества в растворе.
10. Чему равен молярный показатель поглощения вещества, на длине волны 400 нм, если при прохождении света через раствор с концентрацией 0,5М интенсивность света уменьшилась в 10 раз? Длина кюветы 0,3 см.

#### Ответы на задачи

- |                            |                             |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1. $0,14\text{ см}^{-1}$ . | 6. $0,67; 0,18$ .           |
| 2. $N = 8$ .               | 7. $0,015\text{ см}^{-1}$ . |
| 3. 1%.                     | 8. $13,1\text{ см}$ .       |
| 4. 0,52.                   | 9. $0,46\text{ М}$ .        |
| 5. 0,83.                   | 10. $1500\text{ л/(М.м)}$ . |

#### Тест–задания

1. Предметом фотобиологии является воздействие на биологические системы:
  - А. Гамма - излучения
  - В. ультрафиолетового и видимого излучения
  - С. рентгеновских лучей
  - Д. медленных нейтронов
2. Физиологические фотохимические процессы подразделяются на следующие группы:
  - А. Энергетические
  - В. Двигательные

- C. Информационные
  - D. Фотосинтетические
  - E. Дегидратационные
3. Деструктивно - модификационные фотохимические процессы подразделяются на следующие группы:
- A. Патофизиологические
  - B. Мутационные
  - C. Аллергические
  - D. Летальные
4. Поглощение энергии квантов видимого света происходит на уровне:
- A. Нейтронов и протонов
  - B. Ядра атома
  - C. Электронов
  - D. Ковалентных связей
5. "Разрешенные" электронные уровни это:
- A. Величина энергии, которой может обладать электрон
  - B. Расстояние от ядра, на котором может находиться электрон
  - C. Расстояние от соседнего атома до электрона на внешней орбитали
6. Основной электронный уровень:
- A. Это уровень с максимальной энергией
  - B. Это уровень с минимальной энергией
  - C. Это уровень, максимально удаленный от ядра
  - D. Это уровень, максимально приближенный к ядру
7. Электронный уровень расщепляется на подуровни:
- A. Индукционные
  - B. Колебательные
  - C. Вращательные
8. Если спины электронов ориентированы параллельно и не компенсируют друг друга, уровень является:
- A. Синглетным
  - B. Триплетным
  - C. Неравновесным
9. Переход электрона на триплетный уровень возможен:
- A. С нижележащего синглетного
  - B. С нижележащего триплетного
  - C. С вышележащего синглетного
10. Необходимыми условиями для отражения света являются следующие:
- A. Одна из сред должна быть прозрачна
  - B. Среды должны находиться в различных фазовых состояниях
  - C. Среды должны иметь различные коэффициенты преломления.
11. Явление полного внутреннего отражения наблюдается:
- A. Когда длина волны падающего света лежит вне области поглощения
  - B. Когда угол падения света менее критической величины
  - C. Если поверхность является оптически гладкой

12. Принцип используемой в медицине оптоволоконной техники основан на:
- А. Явлении преломления света
  - В. Явлении поглощения света
  - С. Явлении полного внутреннего отражения света
13. Метод молекулярной спектроскопии основан на :
- А. Явлении преломления света
  - В. Явлении поглощения света
  - С. Явлении полного внутреннего отражения света
14. Молекулярные механизмы преломления света связаны:
- А. С частичным поглощением квантов света
  - В. С излучением возбужденных атомов
  - С. Со смещением электронов на внешних орбиталях
15. Коэффициент преломления зависит от:
- А. Молекулярной массы молекул
  - В. Поляризуемости молекул
  - С. Межмолекулярных связей
16. Рефрактометрическая дисперсия - это:
- А. Зависимость оптической плотности от длины волны света
  - В. Зависимость поляризации молекул от длины волны света
  - С. Зависимость показателя преломления от длины волны света
17. Для определения величины показателя преломления могут быть использованы следующие приборы:
- А. Гониометр
  - В. Рефрактометр
  - С. Колориметр
  - Д. Нефелометр
  - Е. Иммерсионный микроскоп
18. Спектр поглощения - это:
- А. Зависимость оптической плотности от длины волны света
  - В. Зависимость оптической плотности от длины оптического пути
  - С. Зависимость оптического пути от длины волны света
19. Закон Ламберта-Бэра выполняется для:
- А. любых растворов
  - В. разбавленных растворов
  - С. монохроматического света
20. Виды размена энергии возбужденного состояния атома включают:
- А. рассеяние в виде тепла
  - В. люминесценцию
  - С. фотохимические процессы
  - Д. радиоактивный распад
  - Е. миграцию энергии
  - Ф. фосфорилирование белков



## 7-ТЕМА. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

### План

1. Введение. Функции биологических мембран
2. Химический состав мембран
3. Белки мембраны и их функции
4. Модель биологических мембран
5. Сигнальная функция биологических мембран

**Ключевы слова:** биологические мембраны, компартментализация, химический состав мембран, глицерофосфолипиды, гликолипиды, стероиды, липид–липидные взаимодействия.

### Введение

Еще в 30-х годах XX века наличие дифференцированной мембранной структуры на поверхности клеток представлялось далеко не бесспорным. Прямые морфологические доказательства наличия мембраны были немногочисленны или отсутствовали. Первые указания на свойства клеточной поверхности, лимитирующей диффузию красителя внутрь клетки, сделал в середине XIX века К. В. Нагели. Он также показал, что клетки проявляют осмотические свойства: набухают в разбавленных растворах и сжимаются в концентрированных. Морфологические данные о существовании клеточной мембраны были получены только после разработки методов приготовления ультратонких срезов тканей.

В настоящее время не вызывает сомнений, что биологические мембраны образуют наружную оболочку всех живых клеток, а также участвуют в формировании многочисленных внутриклеточных органелл.

Мембраны выполняют многочисленные функции, обеспечивая целостность клеток и тканей и их активность.

### Функции биологических мембран

**Основные функции (выполняются всеми без исключения мембранами):**

1. Компартментализация – участие мембран в образовании изолированных отсеков (компартментов). Мембраны всегда образуют замкнутые структуры, самая крупная из них – цитоплазматическая мембрана.
2. Барьерная функция – препятствие свободной диффузии различных веществ. В результате мембрана регулирует перенос веществ и их содержание в клеточных и субклеточных компартментах.
3. Рецепторная (сигнальная) функция – связывание мембранными рецепторами внеклеточных эффикторов – биологически (физиологически) активных веществ, что приводит к изменению активности регуляторных белков клетки.
4. Ферментативная функция обеспечивается мембранно-связанными белками-ферментами, которые образуют своеобразные конвейеры.
5. Факультативные функции, присущие не всем мембранам:

Транспорт электронов и фосфорилирование в дыхательной цепи

(способны выполнять мембраны митохондрий, хлоропластов).  
Преобразование внешних стимулов в электрические импульсы.  
Проведение биоэлектрических импульсов (характерны для мембран электровозбудимых клеток: нервной и мышечной ткани).  
Высвобождение синаптических нейромедиаторов и пиноцитоз.

### Химический состав мембран

Исследования показали, что основными химическими компонентами мембран являются липиды ( $\approx 30\%$ ), белки ( $\approx 60\%$ ) и углеводы ( $\approx 10\%$ ). Минорными компонентами мембран являются нуклеиновые кислоты, полиамины, неорганические ионы.

**Липиды**, входящие в состав мембран, принадлежат к трем классам. Это *фосфолипиды, гликолипиды и стероиды*.

*Фосфолипиды* построены по единому плану, их молекула имеет полярную головку и два неполярных хвоста.

В состав головки *фосфолипида* обязательно входят:

- А) остаток спирта (реже аминокислоты);
- Б) остаток фосфорной кислоты;
- В) по вариантам, либо:
  - глицерин (глицерофосфолипиды),
  - многоатомный спирт сфингозин (сфингофосфолипиды).

Неполярные хвосты всех молекул фосфолипидов образуются жирными кислотами, определяющими разнообразие их представительства.

*Глицерофосфолипиды мембран растительных клеток* содержат в основном пальмитиновую ( $C_{16:1(9)}$ ), олеиновую ( $C_{18:1(9)}$ ), линолеовую ( $C_{18:2(9,12)}$ ) жирные кислоты. Жирные кислоты с количеством атомов углерода более 20 – 24 в растительных клетках встречаются редко.

*Глицерофосфолипиды мембран животных клеток* содержат пальмитиновую, олеиновую, стеариновую ( $C_{18:0}$ ) жирные кислоты, а также кислоты (арахидоновая и др.) с числом атомов углерода, превышающим 20.

Обычно из двух жирных кислот, образующих гидрофобный хвост глицерофосфолипида, одна ненасыщенная. Она образует связь со вторым атомом углерода глицерина и одна из ее двойных связей обязательно находится на уровне 9 атома углерода, считая от головки.

Остаток спирта (аминокислоты) головки глицерофосфолипида связан сложноэфирной связью с фосфорной кислотой. Глицерофосфолипид, лишенный спирта (аминокислоты), называется фосфатидной кислотой, которая является промежуточным продуктом в биосинтезе фосфолипидов и в свободном виде практически не встречается.

В зависимости от того, какой именно спирт (аминокислота) входит в состав головки молекулы, различают несколько классов глицерофосфолипидов. Самые распространенные:

- фосфатидилхолин, содержащий спирт холин;
- фосфатидилэтаноламин, содержащий спирт этаноламин;

фосфатидилинозитол, содержащий циклический спирт инозитол; фосфатидилсерин, содержащий остаток гидроксиаминокислоты – серина.

Примерами сфингофосфолипидов могут служить сфингомиелины, которые в составе полярной головки содержат фосфохолин или фосфоэтаноламин. В составе сфингофосфолипидов одна жирная кислота. Роль второго неполярного хвоста выполняют углеродные структуры многоатомного спирта сфингозина.

Таким образом, фосфолипиды содержат группировки двух видов – полярные гидрофильные головки и неполярные гидрофобные хвосты. Вследствие этого фосфолипиды обладают амфипатическими свойствами. При  $pH = 7$  остаток фосфорной кислоты в полярной головке заряжен отрицательно.

*Гликолипиды* – липиды, содержащие 2 остатка жирных кислот, спирт сфингозин и остатки моно- (*цереброзиды*) или олигосахаров (*ганглиозиды*).

*Стероиды* содержат стероидное ядро, образованное тремя гексагональными полностью насыщенными кольцами и одним цикlopentanовым кольцом. Стероиды представлены в основном холестерином (в животных клетках) или ситостерином и стигмастерином (в растительных клетках).

### ***Физиологическая роль различных классов липидов***

*Фосфолипиды* выполняют структурную функцию, образуя липидный бислой мембраны. Кроме этого, они могут выполнять и важные физиологические функции. Так, арахидоновая кислота, состоящая из цепи с 20 атомами углерода и с 4 двойными связями, входящая в состав фосфолипидов, служит предшественником таких биологически активных веществ, как простагландины.

*Гликолипиды* широко представлены в различных тканях, в частности, в нервной. Они локализованы преимущественно на наружной поверхности цитоплазматической мембраны, где их углеводные компоненты входят в число других углеводов клеточной поверхности. *Ганглиозиды* участвуют в дифференцировке нейрональной ткани. Ганглиозиды других клеток определяют видоспецифичность и регулируют межклеточные контакты. В иммунокомпетентных клетках они участвуют в формировании иммунной реакции. *Холестерин* выполняет важную роль в модификации бислоя: он, в частности, регулирует упаковку и подвижность фосфолипидов мембраны. Кроме того, холестерин служит предшественником в образовании половых гормонов, гормонов коры надпочечников, а также желчных кислот.

### ***Липид–липидные взаимодействия. Динамика липидов в мембране***

Длина растянутой углеводородной цепи жирной кислоты, состоящей из 18 атомов углерода, составляет 2 нм, на полярную головку приходится еще 0,5 – 0,7 нм, следовательно, толщина бислоя липидов должна превышать 4 нм, но в действительности толщина двойного слоя липидов оказывается равной 3,5 – 4 нм. Причиной обнаруженного феномена является рыхлое, а не упорядоченное расположения остатков жирных кислот. Раз одна из двух жирных кислот, образующих гидрофобный хвост, ненасыщенная, как

правило, увеличивается вероятность образования цис-конформации.

Наличие цис-изомеров жирных кислот в составе фосфолипидов, а также высокая скорость вращения вокруг С-С связей жирно-кислотных радикалов (например, частота вращения вокруг единичной С-С связи составляет  $10^{10}$ , а вокруг двойной С=С связи –  $10^8$  с<sup>-1</sup>) обеспечивают неупорядоченное расположение гидрофобных хвостов. Различные конфигурации молекул жирных кислот, возникающие при поворотах вокруг С-С связей, называют ротамерами или конформерами. Процесс изменения конформации молекул за счет таких поворотов называется транс-гош-изомеризацией. Гош-конформация (–гош|| – скошенный) аналогична цис-конформации. Вероятность транс-гош-перехода весьма велика и еще более возрастает при увеличении температуры. При переходе из транс- в гош-конформацию образуются складки или кинки (от англ. kink – петля). Такого рода изменения способны захватывать целые кластеры мембранных липидов. Считается, что именно с образованием кинков связан транспорт воды и других веществ через мембраны.

Липиды способны совершать вращательные движения вокруг оси молекулы (вращательная диффузия), перемещаться вдоль одного слоя (латеральная диффузия), а также перемещаться из одного слоя в другой (трансмембранный переход или флип-флоп). Наибольшую скорость имеют вращательная и латеральная диффузия. Например, коэффициент латеральной диффузии составляет  $1,8 \times 10^{-8}$  см<sup>2</sup> с<sup>-1</sup>. Это соответствует частоте парных перестановок соседних молекул  $10^7$  с<sup>-1</sup>. Наиболее медленным процессом является флип-флоп, что связано с высоким уровнем энергии, необходимой для проталкивания заряженных полярных головок через средний углеводородный слой мембраны. Поперечная диффузия молекул фосфолипидов на расстояние 5 нм занимает в  $10^9$  раз больше времени, чем диффузия на то же расстояние в латеральном направлении.

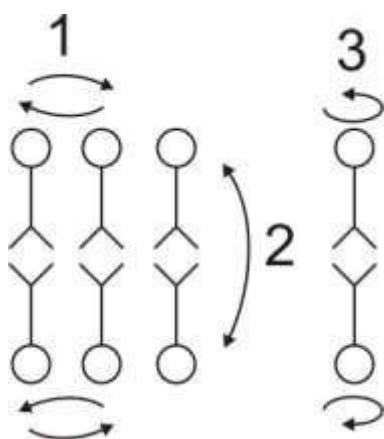


Рис. 8. Виды диффузии липидов в мембране

- 1 – латеральная диффузия;
- 2 – трансмембранный переход или флип-флоп;
- 3 – вращательная диффузия.

Сочетание быстрой диффузии молекул липидов вдоль мембраны и медленной диффузии поперек мембраны имеет большое значение для функционирования мембран. Благодаря этому поддерживается упорядоченность в молекулярной структуре мембраны, определенная ориентация белков поперек мембраны, что имеет значение для направленного переноса веществ через мембрану, кроме того,

обеспечивается асимметрия бислоя липидов. Функциональная асимметрия мембраны – один из важнейших аспектов, характеризующих липид – липидные взаимодействия. Асимметрия бислоя означает, что состав липидов каждого из слоев неодинаков.

### **Фазовые переходы липидов**

В водной среде липидные структуры часто ведут себя как жидкие кристаллы – обладают анизотропией и некоторыми признаками упорядоченности. Это связано с тем, что они в качестве двуцепочечных амфифильных (амфипатических) молекул способны образовывать двойные слои в водной среде. Полярные головки при этом обращены в водную среду, а неполярные хвосты создают гидрофобную среду.

Бислой обладает свойствами лиотропного мезоморфизма (зависимость состояния от гидратации) и термотропного мезоморфизма (зависимость состояния от температуры). Эти свойства связаны друг с другом – температура фазового перехода зависит от степени гидратации, а так же от pH, электрического заряда и от ионного состава раствора.

При достижении критической температуры в липидном бислое происходит фазовый переход из состояния жидкого кристалла в гель и обратно. В полностью однородном бислое (состоящем из одного типа липидных молекул) фазовые переходы являются кооперативными. То есть в узком температурном интервале им охватывается весь бислой.

В момент фазового перехода возрастает подвижность полярных головок и гидрофобных хвостов, меняется геометрия бислоя – увеличивается его площадь и возрастает гидрофобный объем мембраны.

Фазовые переходы в мембране, обладают склонностью к кооперативности, то есть к генерализации с помощью так называемых конформационно–чувствительных сигналов.

### **Белки мембраны и их функции**

Доля белка в общей массе мембраны может колебаться в очень широких пределах – от 18% в миелине до 75% в митохондриальной мембране.

По расположению в мембране белки можно разделить на: *интегральные* и *периферические*.

*Интегральные* белки являются, как правило, гидрофобными и легко встраиваются в липидный бислой.

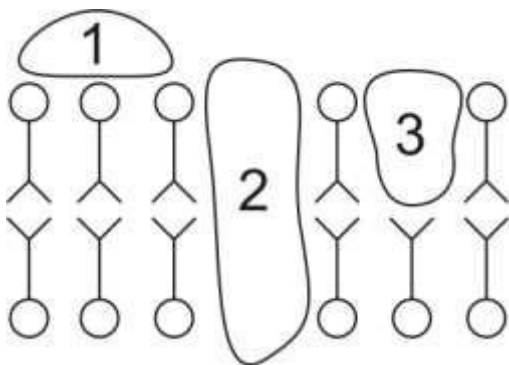


Рис. 9. Классификация белков по месту их расположения в мембране

- 1 – периферические
- 2 – интегральные
- 3 – полуинтегральные

Взаимодействие такого белка с мембраной происходит в несколько стадий. Сначала белок *адсорбируется* на поверхности бислоя, *изменяет свою конформацию*, устанавливая гидрофобный контакт с мембраной. Затем происходит *внедрение белка в бислой*. Глубина внедрения зависит от силы гидрофобного взаимодействия и соотношения гидрофобных и гидрофильных участков на поверхности белковой глобулы. Гидрофильные участки белка взаимодействуют с примембранными слоями по одну или обе стороны мембраны. Фиксация белковой глобулы в мембране происходит благодаря *электростатическим и гидрофобным* взаимодействиям. Углеводная часть белковых молекул (если она имеется) выступает наружу. Интегральные белки в силу тесной связи с бислоем оказывают на него существенное воздействие: конформационные перестройки белка приводят к изменению состояния липидов, так называемой деформации бислоя.

*Периферические* белки обладают меньшей глубиной проникновения в липидный бислой, и, соответственно, более слабо взаимодействуют с липидами мембраны, оказывая, на них гораздо меньшее воздействие, чем интегральные.

По характеру взаимодействия с мембраной белки делятся на ***монотопические, битопические, политопические***:

*монотопические белки* взаимодействуют с поверхностью мембраны (моно – одним из слоев липидов);

*битопические* пронизывают мембрану насквозь (би – двумя слоями липидов);

*политопические* пронизывают мембрану несколько раз (поли-многократное взаимодействие с липидами).

Понятно, что первые относятся к периферическим белкам, а вторые и третьи к интегральным.

Белки мембран можно так же классифицировать по выполняемой ими функции. В связи с этим выделяют структурные белки:

- белки – ферменты;
- белки – рецепторы;
- транспортные белки.

Особую группу составляют белки цитоскелета клетки. Строго говоря, эти белки не являются компонентами мембраны, примыкая к ней с цитоплазматической стороны. Белки цитоскелета входят в состав всех его компонентов: миофиламенты содержат молекулы белка актина; в состав микротрубочек входит белок тубулин, промежуточные филаменты также содержат более полиморфный белковый комплекс. Цитоскелет не только обеспечивает эластичность мембраны, противостоят изменениям объема клетки, но, по-видимому, участвует в и различных внутри- и внеклеточных механизмах регуляции.

## **Модель биологических мембран**

Первоначальные представления о существовании мембран опирались на физиологические исследования. Первые указания на лимитирующие диффузию свойства клеточной поверхности были получены в середине XIX века К.В.Нагели. Он отметил, что клеточная поверхность является барьером для свободной диффузии красителей внутрь клетки из внеклеточной жидкости. Кроме того, Нагели обнаружил, что клетки проявляют осмотические свойства. На основании этих наблюдений К.В.Нагели предположил, что существует некая плазматическая мембрана.

Используя эритроциты в качестве осмометра, Э.Овертон в конце XIX века выявил тесную взаимосвязь между растворимостью вещества в липидах и его способностью проникать в клетку: чем больше эта растворимость, тем меньший осмотический эффект оказывает вещество. Эти данные явились первым свидетельством того, что мембраны содержат большое количество липидов.

Морфологические данные о существовании клеточной мембраны были получены только после разработки методов приготовления ультратонких срезов тканей, фиксированных химическими методами для проведения электронно-микроскопических исследований. Тонкая структура мембран была исследована с помощью метода замораживания – скалывания.

Первыми авторами, которые предложили модель структурной организации мембраны, были Э. Гортер и Ф. Грендель (1925).

Они экстрагировали липиды из теней эритроцитов и готовили из них мономолекулярную плёнку на поверхности воды. Амфифильные молекулы липидов распределялись таким образом, что их полярные головки были погружены в воду, а неполярные хвосты торчали наружу. Пленку диспергированных молекул на поверхности воды аккуратно сжимали в латеральном направлении и измеряли силу сжатия. Резкое возрастание этой силы происходило в момент формирования компактного монослоя.

Оказалось, что площадь, занимаемая монослоем, в 2 раза превышала поверхность эритроцитов, взятых для экстракции. Именно это послужило основанием для создания Э. Гортером и Ф. Гренделем концепции липидного бислоя, которая впоследствии легла в основу всех дальнейших представлений о структуре мембран.

Измерение поверхностного натяжения липидного бислоя показало, что оно гораздо больше, чем в мембране эритроцитов, и снижается при добавлении в бислой белков. На основании этих данных в 1931 году Дж. Ф. Даниэлли предложил модель «сэндвича» или унитарную мембранную модель. По его представлениям, белки покрывают обе поверхности липидного бислоя, связываясь с ним электростатическими силами. Из расчётов выходило, что белки находятся на мембране в фибриллярной форме. Этой модели неплохо соответствует миелин – мембрана леммоцитов.

Робертсон несколько модифицировал модель Даниэлли (1964), предположив, что глобулярные белки находятся на внешней стороне мембраны, а фибриллярные белки на внутренней.

Однако с термодинамической точки зрения маловероятно, что белок может успешно конкурировать с водой за полярные головки липидных молекул и что слой белка смог бы экранировать их от водного окружения.

Современные методы исследования окончательно опровергли «бутербродную модель» мембраны.

На сегодняшний день общепризнанной является «мозаичная» модель мембраны, предложенная в 1972 году С. Сингером и Г. Николсоном. Основанием для создания жидкостно-мозаичной модели мембраны послужили данные следующих исследований. Оптические наблюдения показали, что мембранные белки имеют глобулярную структуру. Было установлено, что некоторые белковые молекулы свободно диффундируют в латеральном направлении, т.е. в плоскости мембраны. Исследования с использованием изотопов и др. показали, что белковые молекулы или их части, экспонированные с одной стороны мембраны, отличаются от других, выходящих на другую сторону мембраны.

Согласно этой модели, глобулярные белки интегрированы в липидный бислой; при этом одни из них пронизывают его насквозь, другие лишь частично погружены в бислой. Мембрана является лабильной структурой, все её компоненты имеют возможность осуществлять различные формы подвижности – латеральную диффузию, вращательные движения, «флип–флоп» переходы и другие.

Жидкостно-мозаичная модель, по-видимому, дает наиболее адекватные представления о структурной организации поверхностной мембраны и многих внутриклеточных мембран.

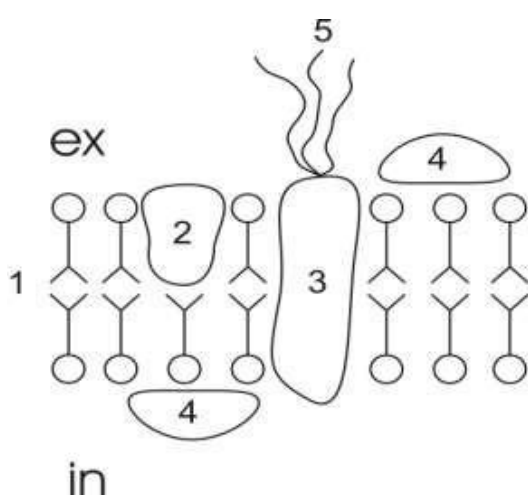


Рис. 10. Жидкостно-мозаичная модель биологической мембраны.

- 1 – липидный бислой;
- 2 – полуинтегральные белки;
- 3 – интегральные белки;
- 4 – периферические белки;
- 5 – углеводы.



## Сигнальная функция биологических мембран

Межклеточная коммуникация (взаимодействие) посредством внеклеточных сигнальных молекул–лигандов включает несколько основных этапов:

- Биосинтез сигнальных молекул
- Секреция сигнальных молекул
- Транспорт сигнальных молекул к клеткам – мишеням
- Восприятие сигнала специфическим рецептором
- Изменение клеточного метаболизма или экспрессии генов, запускаемое лиганд – рецепторным комплексом
- Устранение действия сигнального механизма и прекращение клеточного ответа на сигнал

*Межклеточные сигнальные молекулы*, в отличие от вторичных посредников, часто называют первичными посредниками. Рассмотрим классификацию, которая учитывает химическую структуру сигнальной молекулы и способ ее действия.

- 1) Небольшие липофильные молекулы, которые диффундируют через мембрану и связываются с внутриклеточными рецепторами.
- 2) Липофильные молекулы, которые взаимодействуют с рецепторами клеточной мембраны.
- 3) Гидрофильные молекулы, которые взаимодействуют с рецепторами клеточной мембраны.

К *первой группе* относятся стероидные гормоны, вырабатываемые половыми железами и корой надпочечников, а также тиреоидные гормоны. Рецепторы стероидных гормонов обладают высокой избирательностью к лиганду.

В неактивном состоянии рецептор стероидного гормона присутствует в клетке в виде комплекса с белком – ингибитором. Связывание гормона с рецептором вызывает конформационные изменения в молекуле рецептора, что приводит к уменьшению его сродства к белку – ингибитору и диссоциации комплекса. Затем происходит димеризация рецепторов, что повышает его сродство к ДНК. Итогом является инициация транскрипции определенных генов.

Ко *второй группе* сигнальных молекул относятся производные арахидоновой кислоты – *эйкозаноиды* (от греческого слова eikosi – 20, C<sub>20</sub> – количество атомов углерода в этой жирной кислоте). Их представителями являются простагландины, лейкотриены, простациклины и тромбоксаны. Эйкозаноиды образуются практически во всех клетках, их биосинтез инициируется фосфолипазой A<sub>2</sub>. Эйкозаноиды регулируют многие физиологические процессы: стимуляцию сокращения гладкомышечных клеток, болевые и воспалительные реакции, секрецию желудочного сока, агрегацию тромбоцитов и др. Наиболее хорошо из этой группы сигнальных молекул изучены простагландины. В отличие от классических гормонов простагландины синтезируются во всех типах тканей, а не в

специализированных эндокринных клетках. Секреция простагландинов идет конститутивно с невысокой скоростью. При поступлении регуляторных сигналов скорость секреции возрастает. В отличие от других липофильных сигнальных молекул простагландины действуют через мембранные рецепторы. Их регуляторное действие распространяется как на синтезирующие их клетки (аутокринное действие), так и на близлежащие клетки (паракринное действие).

*Третью группу* сигнальных молекул составляют гидрофильные гормоны, факторы роста, лимфокины (цитокины), нейротрансмиттеры. Гормоны вырабатываются специализированными эндокринными железами или клетками, транспортируются к клеткам – мишеням посредством кровотока. Иногда факторы роста и цитокины объединяют в группу гистогормонов. Общим для них является следующее.

- вырабатываются обычными неэндокринными клетками
- распространяются путем диффузии в межклеточное пространство
- оказывают паракринное или аутокринное действие

*Факторы роста* представляют собой белки, которые стимулируют (ингибируют) деление и развитие определенных клеток. Примеры факторов роста:

- эпидермальный фактор роста
- фактор роста нейронов
- фактор роста фибробластов и др.

*Цитокины* участвуют в воспалительных, иммунных и других защитных реакциях организма. В связи с этим они вырабатываются клетками иммунной системы. Примерами цитокинов могут служить интерлейкины и интерфероны.

Общим механизмом действия гидрофильных сигнальных молекул является запуск каскадов внутриклеточных сигналов, приводящих к определенным физиологическим эффектам.

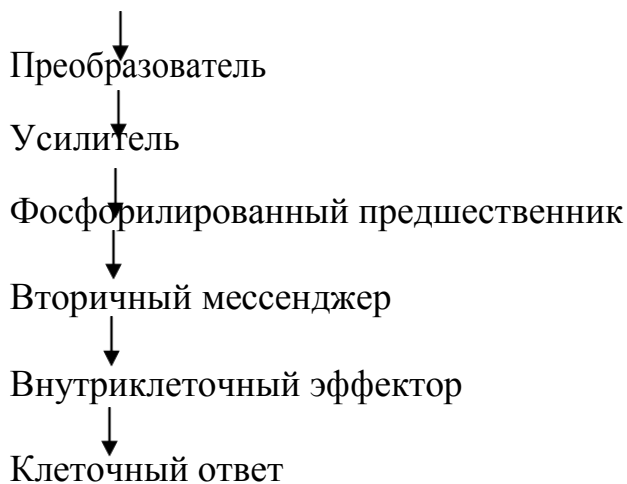
Сигнальная система, возбуждающаяся посредством гидрофильных сигнальных молекул, включает три основных компонента.

- 1) Рецептор, специфически узнающий и взаимодействующий с сигнальной молекулой.
- 2) Трансдуктор сигнала – гетеротримерный ГТФ – связывающий белок (G – белок).
- 3) Эффектор, воспринимающий и усиливающий сигнал.

Взаимодействие лиганда с рецептором вызывает запуск каскадного механизма, усиливающего исходный сигнал, что сопровождается образованием *вторичного посредника*, и он в качестве внутриклеточного медиатора вызывает активацию соответствующей протеинкиназы, фосфорилирующей определенные белки, что, в конечном счете, ведет к физиологическому эффекту:

Сигнальная молекула

↓  
Рецептор



*Мембранные рецепторы* представляют собой интегральные белки, которые связывают сигнальные вещества на внешней поверхности мембраны. За счет изменения пространственной структуры они генерируют новый сигнал на внутренней стороне мембраны. Этим сигналом определяются дальнейшие события, приводящие к физиологическому ответу. Рецепторы находятся в двух состояниях – активном и неактивном. Равновесие между этими двумя состояниями зависит от природы лиганда, связывающегося с рецептором. Агент, который переводит рецептор в активное состояние, называется *агонистом*., в неактивное – *антагонистом*.

Все рецепторы обладают рядом общих характеристик:

Характеристики	Объяснение
Селективность	Это свойство основано на строгой структурной специфичности. Данный лиганд должен быть либо единственным веществом, связывающимся с рецептором, либо эффективно конкурировать с другими за места связывания
Насыщаемость	Число мест связывания должно быть конечным
Сродство к лиганду	Насыщение происходит при физиологических концентрациях агониста
Тканевая специфичность	Связывание агониста происходит в той ткани, где наблюдается его биологическое действие
Обратимость действия	Блокада связывания агониста с рецептором должна приводить к обратимости биологического эффекта

Один из подходов к классификации рецепторов учитывает агонисты, с которыми взаимодействует рецептор. В этой связи выделяют холинэргические, адренэргические, допаминэргические, серотониновые и др. рецепторы.

Другой принцип классификации основан на механизме передачи внеклеточного сигнала. Согласно этому подходу выделяют 4 типа рецепторов.

1) *Рецепторы – каналы*. Связывание с лигандом приводит к изменению конформации рецептора, что позволяет определенным ионам проходить через канал. Результатом активации таких рецепторов является изменение мембранного потенциала или внутриклеточного уровня вторичного посредника.

Примеры: никотиновый ацетилхолиновый рецептор в нервно – мышечном соединении;  $\text{Ca}^{2+}$  -каналы саркоплазматического ретикулума.

2) *Рецепторы, сопряженные с G – белками*. В результате связывания лиганда с рецептором активируется G – белок, который стимулирует или ингибирует ферменты, производящие вторичные посредники.

Примеры: холинэргические, адренэргические и др.

3) *Каталитические рецепторы, проявляющие ферментативную активность*. Этот класс рецепторов включает несколько подтипов:

- рецепторы, проявляющие гуанилатциклазную активность
- рецепторы, проявляющие фосфатазную активность
- рецепторы, проявляющие тирозинкиназную активность

К последней подгруппе принадлежат рецепторы инсулина, многих ростовых факторов.

4) *Рецепторы, не проявляющие каталитической активности, но сопряженные с тирозинкиназой*. Связывание с лигандом приводит к димеризации мономерных рецепторов, которые активируют тирозинкиназу. Это рецепторы цитокинов, интерферонов, некоторых ростовых факторов.

### Тест–задания

1. Клеточные мембраны выполняют следующие функции:
  - A. Компартиментация
  - B. Рецепторная
  - C. Транспортная
  - D. Проведение нервного импульса
  - E. Мышечное сокращение
  - F. Межклеточные взаимодействия
2. В состав биомембран входят:
  - A. белки
  - B. липиды
  - C. гликопротеиды
  - D. вода
3. Мембранные липиды представлены следующими классами:
  - A. Фосфолипиды
  - B. Гликопротеиды
  - C. Гликолипиды
  - D. Стероиды
4. К группе фосфолипидов относятся:
  - A. фосфатидилхолин

- В. фосфотидилинозит
  - С. холестерин
  - Д. сфингомиелин
  - Е. гликофорин
  - Ф. фосфоламбан
  - Г. фосфатидилсерин
5. Наибольшее влияние на микровязкость мембран оказывают:
- А. Холестерин
  - В. Фосфолипиды
  - С. Цереброзиды
  - Д. Сфингомиелин
6. Свойство амфифильности липидных молекул заключается в следующем:
- А. Вокруг них формируется гидратная оболочка
  - В. Они способны образовывать конгломераты
  - С. Они содержат полярные и неполярные группировки
7. Липидные молекулы являются:
- А. Гидрофобными соединениями
  - В. Гидрофильными соединениями
  - С. Амфифильными соединениями
8. Липиды в водной среде образуют следующие виды структур:
- А. Ламеллярные
  - В. Везикулярные
  - С. Мицеллярные
  - Д. Капиллярные
9. Жидкокристаллическое состояние мембранных липидов характеризуется следующими свойствами:
- А. Лиотропный мезоморфизм
  - В. Термотропный мезоморфизм
  - С. Анизотропия
  - Д. Изотропия
10. Фазовые переходы в мембране осуществляются между следующими состояниями:
- А. Гель - золь
  - В. Гель - жидкая фаза
  - С. Жидкий кристалл - гель
11. Кооперативность фазовых переходов наблюдается:
- А. В однородных мембранах
  - В. В неоднородных мембранах
  - С. В везикулах
12. Выделяют следующие механизмы генерализации фазовых переходов в мембране:
- А. Энтальпийно - энтропийная волна
  - В. Активная волна преобразований
  - С. Первично-диффузионная генерализация
  - Д. Вторично-диффузионная генерализация
13. К мембранным белкам относятся:
- А. ферментативные

- В. структурные
  - С. сократительные
  - Д. рецепторные
14. По расположению в мембране белки делятся на:
- А. периферические
  - В. интегральные
  - С. ферментативные
  - Д. полуинтегральные
  - Е. монопические
15. Белки мембран составляют следующие функциональные группы (укажите неправильный ответ):
- А. Ферментативные
  - В. Белки цитоскелета
  - С. Сократительные
  - Д. Рецепторы
16. Липиды могут модифицировать структуру мембранных белков:
- А. Вторичную
  - В. Третичную
  - С. Четвертичную
17. Углеводы в мембранах присутствуют в виде:
- А. Гликопротеинов
  - В. Протеогликанов
  - С. Гликолипидов
  - Д. Полисахаридов
18. Углеводы в мембране выполняют следующие функции:
- А. Транспортная
  - В. Рецепторная
  - С. Окислительная
  - Д. Межклеточные контакты
19. Мозаичную модель мембраны предложили:
- А. Синжер и Николсон
  - В. Даниэли и Девсон
  - С. Варбург и Нигилейн
  - Д. Гортер и Грендель
20. Современным представлениям о структуре мембран соответствует:
- А. Модель липидного бислоя
  - В. Мозаичная модель
  - С. Унитарная модель

## **8-9-ТЕМЫ. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ**

### **План**

1. Введение. Классификация видов транспорта
2. Методы изучения транспорта
3. Пассивный транспорт и его виды
4. Активный транспорт

**Ключевы слова:** активный и пассивный транспорт, унипорт, котранспорт, симпорт и антипорт, простая диффузия, облегченную диффузия, ионофоры, ионные каналы, первично-активный и вторично-активный транспорт.

### **Введение**

Биологические структуры относятся к открытым термодинамическим системам, постоянно обменивающимся в течение жизни с окружающей средой не только энергией, но и веществом. Роль биологических мембран – сопряжение и регуляция потоков энергии, вызывающих и сопровождающих процесс транспорта. Поэтому, транспорт веществ через биологические мембраны – необходимое условие для существования жизни. С ним связаны:

- метаболизм клетки;
- биоэнергитические процессы;
- биоэлектрические потенциалы.

Нарушение мембранного транспорта ведет к возникновению различного типа клеточных дисфункций и патологий.

### **Классификация видов транспорта**

Различают несколько классификаций видов транспорта:

**1. Относительно изменения энергии в процессе переноса веществ транспорт подразделяется на *активный и пассивный*.**

*Активный транспорт* осуществляется с затратой энергии (локальное увеличение свободной энергии, за счёт гидролиза АТФ) и против градиента концентрации. Более того, он сам создает и поддерживает этот градиент – *первично – активный транспорт*.

Если же перенос веществ обеспечивает энергия, обусловленная градиентом ионов, созданным в ходе *первично – активного транспорта* – *вторично – активный транспорт*.

*Пассивный транспорт* осуществляется без затраты энергии, протекает самопроизвольно и по градиенту концентрации. Градиент в процессе *пассивного транспорта* снижается и сопровождается локальным уменьшением свободной энергии.

**2. Относительно количества переноса веществ через мембрану выделяют:**

*Унипорт* – перенос данного вещества (иона) не зависит от наличия и переноса других веществ и *котранспорт* – перенос данного вещества (иона) зависит от наличия и переноса других веществ. В этом случае скорость суммарного процесса контролируется наличием и доступностью для систем переноса обоих партнеров транспортного процесса.

*Котранспорт* относительно направления подразделяют на *симпорт* и *антипорт*. При симпорте осуществляется *однонаправленный* и

одновременный транспорт, а при антипорте – одновременный, но разнонаправленный перенос веществ.

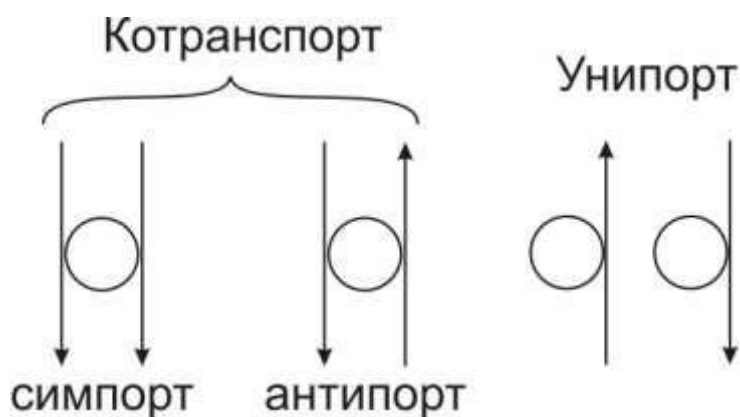


Рис. 11. Виды транспорта

**3. Специфические механизмы переноса веществ, связанные с нарушением структурной целостности мембраны:**

*эндоцитоз и экзоцитоз* – важнейшие процессы жизнедеятельности клетки, механизмы высвобождения медиатора в синаптическую щель, фагоцитоз лейкоцитов и др.

#### Методы изучения транспорта

1. *Осмотический* – изменение объема клетки при транспорте воды.
2. *Химический (цитохимический)* – проникновение красителей, постановка цветных реакций.
3. *Биохимический* – функция ферментов – участников транспорта,
4. *Изотопных меток:* углерода ( $C^{14}$ ), натрия ( $Na^{22}$ ), рубидия ( $Rb^{86}$ ) и др.
5. *Спектро- и флуорометрический* – изменение параметров поглощения и флуоресценции специфических веществ–меток, меняющих свои характеристики после взаимодействия с внутриклеточными структурами,
6. *Опосредованные методы* – измерение pH, вольтамперных характеристик.

#### Пассивный транспорт и его виды

Подчиняется закону *Фика*:

$$\frac{dm}{dc} = -DS \frac{dc}{dx}$$

Скорость переноса вещества зависит от градиента концентрации –  $dc/dx$ , площади (S) и коэффициента (D) диффузии.

Подразделяется на:

1. *Простую диффузия.*
2. *Облегченную диффузия.*



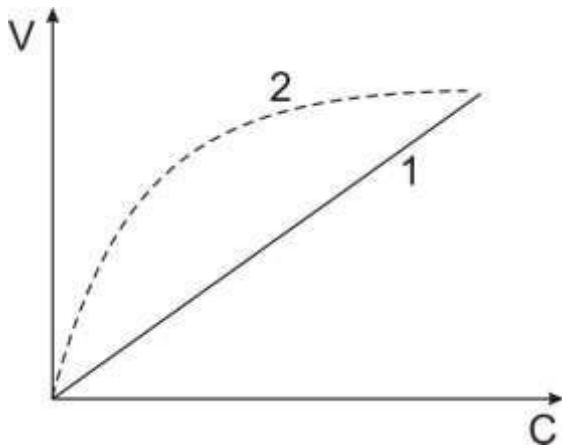


Рис. 12. Зависимость скорости пассивного транспорта от концентрационного градиента:  
1 – простая диффузия;  
2 – облегченная диффузия.

*Простая* диффузия отличается отсутствием специальных систем для переноса веществ. *Подчиняется правилам Овертона*: Скорость проникновения через мембрану прямо пропорциональна липотропности вещества и обратно пропорциональна – его размерам.

Позднее Колландер из уравнения Фика вывел более удобно выражение для расчета потока (J) поступления веществ в клетку:

$$J = \frac{P(c_1 - c_2)}{1 + \frac{c_1}{K_T}}, \text{ где:}$$

$c_1$  и  $c_2$  – разность концентраций по обе стороны мембраны

*Облегченную диффузия* отличает наличие специфических структур, способствующих транспорту через мембрану:

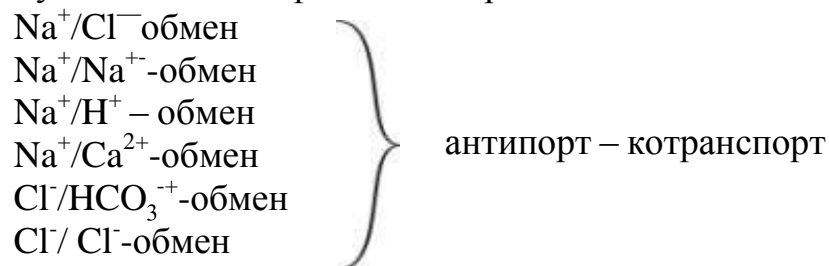
- а) переносчики;
- б) ионные каналы.

Наличие переносчиков изменяет кинетику транспорта, и она становится сходной с уравнениями ферментативного катализа, только в роли фермента выступает переносчик, в роли субстрата переносимое вещество (S):

$$J_s = \frac{J_{\max} S}{K_T + S},$$

где  $K_T$  – константа транспорта соответствует константе Михаэлиса и равна концентрации S при  $J_s = J_{\max}/2$ .

Представители систем облегченной диффузии ионов (симпорт, антипорт) с участием специфических переносчиков:



$\text{K}^+/\text{Cl}^-$  и  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  – симпорт – котранспорт

### **Унипорт**

**Ионофоры** – небольшие гидрофобные молекулы, которые растворяются в липидном слое мембран и увеличивают проницаемость мембран для ионов. Большинство ионофоров синтезируется бактериями (в качестве оружия против своих конкурентов), некоторые являются антибиотиками. Широко используются в клеточной биологии.

*Ионофоры делятся на:*

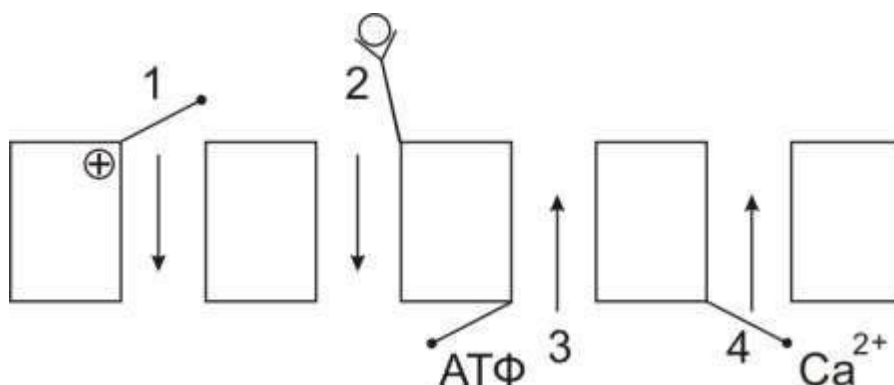
1. *Подвижные переносчики.* Имеют кольцообразную структуру: наружная часть – гидрофобная и контактирует с липидным слоем; внутренняя часть – гидрофильная содержит карбоксильные атомы кислорода.
2. *Каналообразующие.* Состоят из линейных полипептидов, которые имеют гидрофобные боковые цепи. Две таких молекулы образуют канал

*Ионные каналы (унипорт) классифицируют:*

А) по типу ионов: натриевые, калиевые, кальциевые и хлорные каналы;

Б) по способу регуляции (Рис. 13):

1. потенциал-чувствительные
2. хемочувствительные (рецептор-управляемые)
3. внутриклеточными веществами (ионами, ФАВ).



**Рис. 13. Классификация ионных каналов по способу регуляции**

1-потенциал-чувствительные; 2-хемочувствительные (рецептор-управляемые); 3-АТФ-чувствительные; 4-кальций-зависимые.

### **Натриевые и калиевые каналы**

Размеры ионных каналов меньше одного нм (0,2-0,4 нм). Эти структуры обеспечивают важнейшие электрофизиологические свойства клеток и тканей, обеспечивая прохождение в 1с  $10^6$ - $10^9$  ионов, регулируются мембранным потенциалом и БАВ. Через ионные каналы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  следуют совместно с одной молекулой воды – гидратной оболочкой, хотя в растворе у иона таких оболочек может быть несколько (до 10). Таким образом, при прохождении через ионный канал происходит дегидратация катиона, на что требуется энергия. Роль этой энергии выполняет градиент ионов, так как ионный транспорт относится к пассивному виду переноса веществ через мембрану. В

процессе переноса катионов должны выполняться два основных условия (фактора):

1. *Стерический* – совпадение размеров катиона+гидратная оболочка с размерами канала.

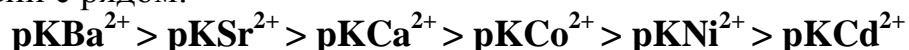
2. *Энергетический* – взаимодействие катиона с карбоксильными (отрицательно заряженными группировками самого канала).

### **Кальциевые каналы**

Кальциевые каналы делятся на *потенциал-зависимые* и *рецептор-управляемые*. Они находятся в плазматической мембране всех электровозбудимых клеток: сердечная и гладкая мышца, мышечные волокна членистоногих, нервная клетка (соматическая, дендрита), эндокринные и иммунные клетки и т.д.

В нормальных условиях внутри клетки  $[Ca^{2+}]_{in} = 10^{-7} - 10^{-6} \text{ М}$

Через кальциевый канал проникают только двух валентные катионы в соответствии с рядом:



Из этого ряда следует, что эти катионы в отношении их взаимодействия с кальциевым каналом образуют непрерывный ряд и этот ряд совпадает с рядом их связывания с карбоксильной группой. Предполагают, что *селективный фильтр* кальциевого канала содержит карбоксильную группу. Все двух валентные катионы, которые связываются с этой группой слабее, чем кальций, проникают лучше ( $Ba^{+}$  и  $Sr^{+}$ ). Катионы, которые связываются с этой группой сильнее, чем кальций являются блокаторами кальциевых каналов ( $Co^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}$ ).

*Регулирующий центр* кальциевого канала, как считают, располагается у устья, где есть связывающая структура, которая взаимодействует с двухвалентными катионами.

В бескальциевом растворе (с добавлением хелаторов  $Ca^{2+}$  ЭГТА, ЭДТА) происходит модификация кальциевого канала: они сохраняют потенциал-зависимость, но теряют селективность и пропускают ионы натрия. По-видимому, в отсутствие ионов кальция устраняется селективный фильтр у устья канала. В нормальных условиях с этой структурой связан кальций, и в этих условиях канал сохраняет обычную избирательность по отношению к двухвалентным катионам. Если же ионы кальция удаляются из этого центра, то наступает конформационная перестройка канала, что ведет к потере его избирательности, и он начинает работать как обычный натриевый канал.

Модель  $X_1$  и  $X_1$  для натриевых и калиевых каналов применяются и к кальциевым каналам (перемещением заряженной частицы)

Проводимость (g) для кальциевого канала также зависит от активационной (m) и инактивационной частиц (h):

$$g_{Ca} = g_{Ca} m^2 h \text{ (для натрия } m^3)$$

Ионный ток по закону Ома:

$$I_{Ca} = g_{Ca} m^2 h (E - E_{Ca})$$

Если натриевый ток – быстрый входящий ток, то активация кальциевых каналов происходит медленнее, чем натриевых каналов. Кальциевый ток во многих электровозбудимых клетках недостаточно велик для того, чтобы самостоятельно (без натриевого тока) обеспечить регенеративный потенциал действия. Поэтому имеются мембраны, где именно кальциевые каналы обеспечивают входящий кальциевый ток, а передний фронт потенциала действия создает мощный натриевый ток, который обеспечивает деполяризацию мембраны. Эта деполяризация и активирует кальциевые каналы во многих клетках.

Процесс инактивации кальциевых каналов более сложный, чем натриевых каналов. У натриевых каналов происходит инактивация вследствие деполяризации мембраны, у кальциевых инактивация зависит от силы кальциевого тока. Чем выше  $I_{Ca}$ , тем быстрее инактивация, которая развивается в результате увеличения внутриклеточной концентрации ионов кальция  $[Ca^{2+}]_{in}$ . Если  $[Ca^{2+}]_{in}$  приблизительно достигает  $10^{-7}$  -  $10^{-6}$  М, то проводимость кальциевого канала обратимо подавлена.

Регуляция и модуляция активности кальциевых каналов может производиться многочисленными способами (факторами). На их активность могут влиять циклические нуклеотиды (цАМФ и цГМФ) и другие продукты метаболизма клетки.

**Условно кальциевые каналы подразделяют на:**

**медленные:**

1. порог активации – 30мВ
2. двухфазная инактивация
3. блокирование производными 1,4-дигидропиридина

**быстрые:**

1. порог активации – 70 – 60 мВ
2. быстрая инактивация
3. отсутствие чувствительности к 1,4дигидропиридинам

### **Активный транспорт**

Перенос иона в процессе *активного транспорта* осуществляется транспортными АТФ–фазами, энергозависимой лимитирующей стадией которого, является гидролиз АТФ. Так происходит *первично-активный* транспорта.

Если же перенос веществ обеспечивает энергия, обусловленная градиентом ионов, созданным в ходе *первично-активного* транспорта, то это – *вторично-активный* транспорт. С его помощью осуществляется перенос сахаров и аминокислот за счет энергии, обусловленной градиентом ионов, чаще натрия, созданного первично – активным транспортом.

Функциональное значение активного транспорта определяется тем, что он осуществляет неравномерное распределение ионов между клеткой и средой – для большинства тканей концентрация внутриклеточного калия

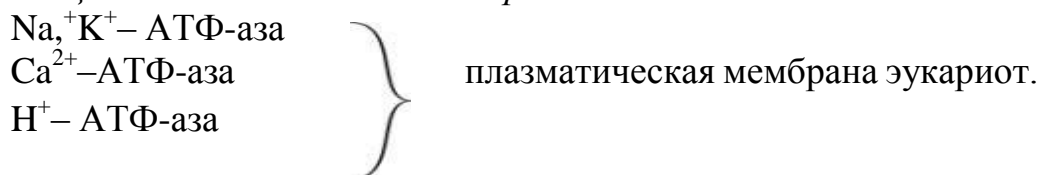
больше, чем внеклеточного, а концентрация внутриклеточного натрия меньше, чем внеклеточного. Поддержание постоянного ионного состава клетки обеспечивает ионный гомеостаз, необходимый для осуществления жизненно важных градиентзатратных процессов.

*Первично-активный транспорт* отличается одновременное использование источника энергии – АТФ и транспорт ионов. Поэтому все ионные насосы (транспортные АТФ-азы) являются одновременно ферментами, гидролизующими АТФ – АТФ-азами.

Все транспортные АТФ-азы прокариотических и эукариотических клеток делятся на 3 типа: Р-тип, V-тип, F-тип.

*АТФ-азы Р-типа* являются примером осуществления обязательной стадии фосфорилирования и дефосфорилирования, сопряженной со структурными переходами белков, то есть образования ковалентного фосфорилированного промежуточного продукта (фосфомедиата).

*К АТФ-зам цитоплазматической мембраны этого типа относятся:*



*Внутриклеточные АТФ-азы Р-типа:*

$\text{Ca}^{2+} - \text{АТФ-аза}$  эндо-(сарко) плазматического ретикулума эукариот.

$\text{K}^+ - \text{АТФ-аза}$  наружных мембран прокариот. Устроены довольно просто, действуют как насос.

Ранее АТФ-азы Р – типа называли ферментами  $\text{E}_1/\text{E}_2$  типа. Переименовали их потому, что есть АТФ-азы, не имеющие отношения к транспорту ионов, но они функционируют, находясь в  $\text{E}_1$  и  $\text{E}_2$  конформациях (ЗВ миозиновая АТФ-аза).

*АТФ-азы V-типа* находятся в мембранах в вакуолях дрожжей, в лизосомах, эндосомах, секреторных гранулах животных клеток ( $\text{H}^+ - \text{АТФ-азы}$ ). Они наименее изучены.

*АТФ-азы F-типа* находятся в мембранах бактерий, в хлоропластах, митохондриях. Образованы:

1. Водорастворимой частью –  $\text{F}_1$ , которая состоит из нескольких субъединиц и обладает каталитической активностью.
2. Гидрофобная часть  $\text{F}_0$ , участвующей в транслокации водорода.

Особенностью *АТФ-азы F-типа* является способность производить энергию АТФ в ответ на перенос протонов водорода.

### Задачи по IV – VI разделам

1. Чему равен поток формамида через плазматическую мембрану *Chara ceratophylla* толщиной 8 нм, если коэффициент диффузии его составляет

- $1,4 \cdot 10^{-8} \text{ см}^2 \cdot \text{с}^{-1}$ , концентрация формамида в начальный момент времени снаружи была равна  $2 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ , а внутри в 10 раз меньше.
- Бислойная липидная мембрана (БЛМ) толщиной 10 нм разделяет камеру на две части. Поток метиленового синего через БЛМ постоянен и равен  $3 \cdot 10^{-4} \text{ М см/с}$ , причем концентрация его с одной стороны мембраны равна  $10^{-3} \text{ М}$ , а с другой –  $2 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ . Чему равен коэффициент диффузии этого вещества через БЛМ?
  - Определите коэффициент диффузии в воде эритрола, если среднее смещение его молекулы составляет 40 мкм.
  - Найдите коэффициент проницаемости плазматической мембраны *Mycoplasma* для формамида, если при разнице концентраций этого вещества внутри и снаружи мембраны, равной  $0,5 \cdot 10^{-4} \text{ М}$  плотность потока его через мембрану равна  $8 \cdot 10^{-4} \text{ М} \cdot \text{см/с}$ .
  - Толщину двойного слоя на границе мембрана-электролит характеризует дебаевский радиус экранирования  $\sigma$ . Определите  $\sigma$  для случая, когда в растворе электролита, окружающем мембрану, есть только ионы калия в концентрации: 1)  $10^{-5} \text{ М}$ ; 2)  $10^{-2} \text{ М}$ .
  - Найдите дебаевский радиус экранирования, создаваемого присутствующими в растворе ионами кальция с концентрацией  $10^{-5} \text{ М}$  и натрия с концентрацией  $10^{-4} \text{ М}$ . Как изменится  $\sigma$ , если в растворе будут только ионы кальция в концентрации  $10^{-4} \text{ М}$ ?
  - Какова связь электродиффузии и электрофореза? Проанализируйте связь, исходя из основного уравнения электродиффузии.
  - Потенциал покоя нервного волокна кальмара равен  $-60 \text{ мВ}$ , а потенциал действия  $+35 \text{ мВ}$ . Вследствие чего происходит такое изменение мембранного потенциала?
  - Какое из соединений, приведенных ниже, имеет наименьшую проницаемость через липидный бислой и почему: толуол, этанол, ионы кальция, калия? Приведите необходимые уравнения.
  - Определите равновесный мембранный потенциал митохондрий, если при  $37^\circ\text{C}$  внутри митохондрий  $\text{pH} = 9$ , а в окружающей среде 7? Температура окружающей среды равна  $20^\circ\text{C}$ .

### Тест–задания

- Пути проникновения веществ в клетку:
  - растворение в липидном бислое
  - разрыв связей между молекулами липидов
  - посредством специальных мембранных белков
- Правила Овертона связывают проницаемость мембран для органических молекул
  - с их молекулярной массой

- В. с их подвижностью в липидной фазе
  - С. с количеством полярных и неполярных группировок в молекуле
3. Полярные вещества проникают в клетку:
    - А. путем растворения в липидном бислое
    - В. путем разрыва связей между молекулами липидов
    - С. посредством специальных мембранных белков - пор
  4. Энергетический фактор проницаемости связан:
    - А. С соотношением диаметра поры и кристаллического радиуса иона
    - В. С жесткостью стенок поры
    - С. С энергией гидратации иона
  5. Соотношение энергии гидратации для одновалентных катионов:
    - А.  $\text{Li} > \text{Na} > \text{K} > \text{Rb} > \text{Cs}$
    - В.  $\text{Li} < \text{Na} < \text{K} < \text{Rb} < \text{Cs}$
    - С.  $\text{Li} = \text{Na} = \text{K} > \text{Rb} = \text{Cs}$
  6. Локусы с малой силой поля обеспечивают прохождение иона через пору:
    - А. В гидратированном виде
    - В. В дегидратированном виде
    - С. В виде соли
  7. Локусы с большой силой поля обеспечивают прохождение иона через пору:
    - А. В гидратированном виде
    - В. В дегидратированном виде
    - С. В виде соли
  8. Методы исследования проницаемости мембран:
    - А. Осмотический метод
    - В. Калориметрический метод
    - С. Индикаторный метод
    - Д. Электронно - микроскопический метод
    - Е. Радиоизотопный метод
    - Ф. Метод измерения электропроводности
  9. Понятие транспорта включает:
    - А. Способность мембраны пропускать данное вещество
    - В. Способ проникновения вещества через мембрану
    - С. Кинетику проникновения вещества через мембрану
  10. Транспорт, осуществляемый против градиента с затратой энергии макроэргов, называется:
    - А. Активный
    - В. Пассивный
    - С. Электрогенный
  11. Активный от пассивного вида транспорта отличается:
    - А. направлением относительно градиента концентрации
    - В. использованием энергии
    - С. видом переносимых ионов
  12. Перенос ион-транспортующей системой двух ионов в противоположных направлениях называется:
    - А. Унипорт
    - В. Симпорт

- С. Антипорт
13. Простая диффузия - это:
- А. Процесс самопроизвольного проникновения вещества через мембрану по градиенту концентрации
  - В. Процесс самопроизвольного проникновения вещества через мембрану против градиента концентрации
  - С. Процесс проникновения вещества через мембрану по градиенту концентрации с участием белка - переносчика
14. Облегченная диффузия - это:
- А. Процесс самопроизвольного проникновения вещества через мембрану по градиенту концентрации
  - В. Процесс самопроизвольного проникновения вещества через мембрану против градиента концентрации
  - С. Процесс проникновения вещества через мембрану по градиенту концентрации с участием белка - переносчика
15. Кинетика процесса диффузии вещества через клеточную мембрану описывается:
- А. Уравнением Коллендера - Берлунда
  - В. Уравнением Фика
  - С. Уравнением Бернулли
16. Кинетика процесса облегченной диффузии описывается уравнением:
- А. Фика
  - В. Коллендера - Берлунда
  - С. Михаэлиса - Ментен
17. Механизмы проникновения воды через клеточную мембрану:
- А. Через поры, сформированные интегральными белками
  - В. Через структурные дефекты в мембране - кинки
  - С. Посредством растворения в липидном бислое
18. Осмос - это движение воды через мембрану:
- А. В область меньшего гидростатического давления
  - В. В область меньшей концентрации растворенных веществ
  - С. В область большей концентрации растворенных веществ
19. Онкотическое давление - это:
- А. Осмотическое давление внутри клетки
  - В. Компонент осмотического давления, обусловленный белками
  - С. Осмотическое давление в клетках злокачественной опухоли
20. Фильтрация - это движение воды через мембрану:
- А. В область меньшего гидростатического давления
  - В. В область меньшей концентрации растворенных веществ
  - С. В область большей концентрации растворенных веществ

Правильные варианты ответов

- |         |               |          |
|---------|---------------|----------|
| 1. А, С | 8. А, С, Е, F | 15. А    |
| 2. С    | 9. В          | 16. С    |
| 3. С    | 10. А         | 17. А, В |
| 4. С    | 11. А, В      | 18. С    |
| 5. А    | 12. С         | 19. В    |
| 6. А    | 13. А         | 20. А    |
| 7. В    | 14. С         |          |



## 10-ТЕМА. БИОЭЛЕКТРОГЕНЕЗ

### План

1. Общие положения. Электродный и диффузионный потенциал.
2. Доннановское равновесие.
3. Ионная теория электрогенеза Бернштейна
4. Теория постоянного поля и потенциал покоя (ПП)

**Ключевы слова:** Электродный потенциал, электрогенез, диффузионный потенциал, доннановское равновесие, ионная теория электрогенеза, теория постоянного поля и потенциал покоя, потенциал действия.

### Общие положения

*Электровозбудимыми* называются ткани, которые в ответ на действие электрического стимула пороговой амплитуды отвечают физиологическим способом. К ним относят нервную, мышечную и железистую ткани. *Порогом* называют минимальную амплитуду раздражения, способную вызвать физиологический ответ: сокращение мышцы, нервный стимул или секрецию у желез. С XVII-XVIII века проявление этих ответов по своей природе связывают с продукцией «животного электричества», первые исследования которого были проведены Л. Гальвани. Его знаменитый научный спор с Вольтом о существовании «животного электричества» закончился двумя великими открытиями: элемента Вольта и биопотенциалов. *Электрогенез* является тем разделом, который изучает механизмы образования биопотенциалов.

### Электродный потенциал

Процессы *электрогенеза* проще всего воспроизвести на примере физико-химические механизмов возникновения потенциалов в электролитно-коллоидных системах. Начать можно с *электродного потенциала*, возникающего в системе электрод-электролит.

Представим, что серебряный (Ag) электрод погружен в раствор хлористого серебра (AgCl). На границе металла и раствора возникнет двойной электрический слой, напряженность которого определяется величиной химического потенциала:

$$z_i F \psi = \mu^{i(p-p)} - \mu^{i(эл)}, \text{ где:}$$

$\mu_{i(p-p)}$  – химический потенциал  $i$ -го иона в растворе,  
 $\mu_{i(эл)}$  – химический потенциал  $i$ -го иона в электроде  
 $z_i$  – заряд иона,

$F$  – число Фарадея,

$\Psi$  – потенциал электрода по отношению к раствору.

Если  $\mu_{i(p-p)} > \mu_{i(эл)}$ , то для установления равновесия часть ионов серебра ( $Ag^+$ ) перейдет из раствора в металл, заряжая его положительно.

Если  $\mu_{i(p-p)} < \mu_{i(эл)}$ , то для установления равновесия часть ионов серебра перейдет из металла в раствор, заряжая электрод отрицательно.

При  $\mu_{i(p-p)} = \mu_{i(эл)}$  заряд электрода будет равен нулю.

Нернст вывел уравнение зависимости величины потенциала электрода от концентрации вещества в растворе и электроде:

$$\psi = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{C_{эл}}{C_{p-p}}$$

где  $R$  – универсальная газовая постоянная,  $T$  – абсолютная температура

При погружении в раствор двух различных металлических электродов металл, у которого электрохимическое равновесие между электродом и раствором устанавливается при более высоких разностях потенциалов между электродом и раствором, будет иметь более отрицательный потенциал. Разность потенциалов возникнет и в том случае, если два электрода из одного и того же металла погрузить в растворы солей этого металла с различной концентрацией ( $C_1 > C_2$ ). Разность потенциалов такой *концентрационной цепи* будет равна:

$$\psi = \psi_1 - \psi_2 = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{C_{эл}}{C_1} - \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{C_{эл}}{C_2} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{C_2}{C_1}$$

Таким образом, разность потенциалов будет определяться разницей концентраций солей этого металла в растворах, контактирующих с металлом.

### Диффузионный потенциал

Диффузионный потенциал возникает при существовании различной подвижности ионов, проходящих через полупроницаемую мембрану. Гендерсон вывел уравнение:

$$\psi = \frac{U - V}{U + V} \cdot \frac{RT}{z_i F} \cdot \ln \frac{C_2}{C_1},$$

где  $U$  – подвижность катионов,  $V$  – подвижность анионов.

### Доннановское равновесие

Условием установления данного равновесия будет существование фаз, изолированных друг от друга так, что один или несколько ионных компонентов не могут перейти из одной фазы в другую. Что, например, и возникает при существовании мембраны, проницаемой для растворителя и малых ионов, но не ионов с размерами коллоидных частиц. Три основных аспекта Доннановское равновесия включают:

1. неравномерное распределение ионов,
2. осмотическое давление,
3. разность потенциалов между фазами.

Представим себе внутриклеточную коллоидную систему, содержащую белок альбумин, способный нести отрицательный заряд ( $P^-$ ), но не способных проходить через мембрану. Этот белок может связывать положительные ионы, например, калия ( $K^+$ ), оставаясь в цитоплазме. Допустим, что внутриклеточная концентрация ( $C_1$ )  $KCl$  ниже внеклеточной концентрации ( $C_2$ ). Ионы  $K^+$  и  $Cl^-$  в количестве  $X$  начнут поступать в клетку, однако итог этого процесса будет различным для этих ионов. Наличие непроницаемого аниона  $P^-$ , связывающего катионы калия, приведет к превосходству в клетке количества положительных ионов  $K^+(C_1+X)$ , над отрицательными ионами  $Cl^- (X)$ . Наступившее концентрационное равновесие:

$$K^+_{in} \times Cl^-_{in} = K^+_{ex} \times Cl^-_{ex},$$

где  $[K^+]_i$  и  $[Cl^-]_i$  -концентрации внутриклеточных ионов,  $[K^+]_e$  и  $[Cl^-]_e$  - концентрации внеклеточных ионов, в итоге будет выражать дисбаланс:

$$X \times (C_1 + X) = (C_2 - X)^2$$

Величина этого дисбаланса будет итогом решения уравнения:

$$X = \frac{C_2}{C_1 + 2C_2}$$

Таким образом, на границе раздела фаз осуществляется возможность образования двойного электрического слоя, за счет избирательного связывания отдельных ионов гелем цитоплазмы. В результате такой гелем окружен областью ионов противоположного заряда – двойным электрическим слоем.

### **Ионная теория электрогенеза Бернштейна**

Современная теория электрогенеза вытекает исторически из положений Бернштейна (1940), связавшему впервые ионную проницаемость мембран с природой биопотенциалов.

Ее основные положения:

1. В состоянии покоя мембрана проницаема только для ионов калия.
2. Ионы калия, выходя из клетки, создают потенциал, величина которого рассчитывается по уравнению Нернста:

$$\psi_{K^+} = \frac{RT}{F} \ln \frac{K^+_{in}}{K^+_{ex}}$$

где  $[K^+]_i$  и  $[K^+]_e$  – концентрации внутриклеточных – i и внеклеточных ионов – e, соответственно.

3. Этот потенциал равновесный, так как различие концентраций  $[K^+]_i$  и  $[K^+]_e$  присутствует в клетках постоянно.

В качестве доказательства своей теории Бернштейн указывал на зависимость мембранного потенциала от температуры, изменений внеклеточной концентрации ионов калия  $[K^+]_e$ , т.е. от расчетных показателей уравнения Нернста.

### **Теория постоянного поля и потенциал покоя (ПП)**

Современные представления об электрогенезе основаны на положениях теории постоянного поля. Ее основные создатели: Ходжкин, Хаксли и Катц (1949) разработали ряд упрощений для возможного анализа протекания электрических процессов на мембране:

1. Ионы движутся в мембране по градиенту концентрации и электрического поля, как в растворе.
2. Напряженность электрического поля в мембране постоянна и потенциал падает линейно ее толщины по мере удаления от источника электрического поля.
3. Мембрана гомогенна, имея постоянную диэлектрическую проницаемость по всей толщине.
4. Концентрация ионов в мембране на границе с раствором пропорциональна концентрации ионов в самом растворе.

$z_i$  – валентность  $i$ -го иона,  $V$  – потенциал в точке,  $x$  – расстояние по толщине мембраны от наружной ее границы. Т.е. плотность ионного тока определяется разностью между диффузионным потоком  $i$ -го иона по концентрационному градиенту (1-ое слагаемое) и противоположно направленным потоком этого иона, обусловленным электрическим полем, возникшем при его диффузии (2-ое слагаемое).

При постоянстве электрического поля  $dV/dx = \text{const} = V/a$ , где  $a$  – толщина мембраны константа проницаемости мембраны ( $P_i$ ) определяется относительной подвижностью и растворимостью в мембране:

$$P_i = u_i \cdot \beta_i \cdot \frac{RT}{aF}, \text{ где:}$$

$\beta_i$  – коэффициент распределения  $i$ -го иона между водным раствором и мембраной,  $u_i$  – подвижность этого иона в электрическом поле.

На основании представленных положений теории постоянного поля Ходжкин, Гольдман и Катц вывели уравнение зависимости плотности ионных токов от мембранного потенциала и ионной проницаемости:

$$I_K = P_K u_i \cdot \beta_i \cdot \frac{F^2 E}{RT} \cdot \frac{K^+_{\text{вн}} - K^+_{\text{вн}} \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}{1 - \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}$$

$$I_{Na} = P_{Na} u_i \cdot \beta_i \cdot \frac{F^2 E}{RT} \cdot \frac{Na^+_{\text{вн}} - Na^+_{\text{вн}} \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}{1 - \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}$$

$$I_{Cl} = P_{Cl} u_i \cdot \beta_i \cdot \frac{F^2 E}{RT} \cdot \frac{Cl^-_{\text{вн}} - Cl^-_{\text{вн}} \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}{1 - \exp \left( \frac{F}{RT} \psi \right)}$$

Предполагая, что при *потенциале покоя (ПП)* суммарный ионный ток равен нулю Ходжкин, Гольдман и Катц вывели уравнение:

$$ПП = \psi_n = \frac{RT}{F} \left( \frac{P_K [K^+]_e + P_{Na} [Na^+]_e + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_e} \right), \text{ где:}$$

$[K^+]_i, [Na^+]_i, [Cl^-]_i$  и  $[K^+]_e, [Na^+]_e, [Cl^-]_e$  – концентрации внутриклеточных – intra и внеклеточных ионов – extra соответственно,

$P_K, P_{Na}$  и  $P_{Cl}$  – проницаемость соответствующих ионов.

Для ПП гигантского аксона кальмара соотношение:

$$P_K : P_{Na} : P_{Cl} = 1 : 0,04 : 0,45$$

Таким образом, ПП имеет в основном калиевую природу, что и определяет его вклад в изменения мембранного потенциала при модуляции концентрации ионов калия. Распределение ионов между клеткой и средой при ПП устанавливается на постоянном уровне, и суммарный ионный ток равняется

нулю:

$$I_{Na} + I_K - I_{Cl} = 0$$

Постоянно существующий градиент, поддерживающий пассивный поток ионов через клеточную мембрану, требует процессов, его восстанавливающих. Их выполняет система активного транспорта –  $Mg^{2+}$ -зависимая  $Na^+/K^+$ -АТФ-аза, которая осуществляет противогradientный транспорт ионов  $Na^+$  и  $K^+$ . Энергозависимый процесс происходит в режиме одновременного выброса 3-х ионов  $Na^+$  из клетки и закачивания 2-х ионов  $K^+$  внутрь. Создание дополнительного дефицита внутриклеточного содержимого в положительном заряде позволило режим работы данной системы, кроме энергозависимого, считать еще и электрогенным.

## 11-ТЕМА. ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ (ПД)

### План

1. Потенциал действия (ПД)
2. Современные методы регистрации биопотенциалов
3. Ионная природа потенциала действия (ПД). Формальное описание ионных токов
4. Проведение возбуждения по нервным волокнам

Раздражение, как уже упоминалось, лишь при достижении порога возбуждения вызывает самоподдерживающийся процесс изменения значений биопотенциалов в клетке – потенциал действия. Пороговые условия начала развития ПД определяются многочисленными условиями (законами), подробно рассмотренными в соответствующих электрофизиологических литературных разделах. Например, они включают в себя силу (амплитуду) и длительность раздражающего стимула. Взаимосвязь этих параметров представляет собой известную гиперболическую зависимость "сила – длительность" (Рис. 19).

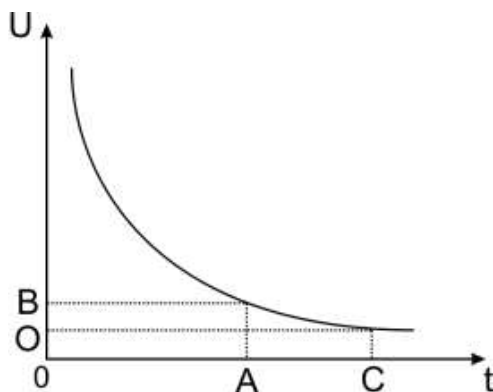


Рис. 19. Зависимость сила – длительность  
по оси абсцисс – длительность стимула;  
по оси ординат – амплитуда стимула.  
C – полное время;  
A – хроноксия;  
O – реобазис

Такие характеристики, как полезное время, реобазис, хронаксия являются общими для электровозбудимых тканей (там же).

*Электротонический потенциал и локальный ответ.* Изменения, проходящие на мембране при действии раздражения до порогового уровня, проявляются в виде электротонического потенциала и локального ответа.

*Электротонический потенциал* представляет собой изменения пассивных (омических и емкостных) электрических характеристик мембран в ответ на раздражение, амплитуда которого меньше 50 – 70% пороговых (100%) значений.

*Локальный ответ* представляет собой изменения подпороговых активных (ионная проницаемость) электрических характеристик мембран в ответ на раздражение, амплитуда которого ниже пороговых значений.

Таким образом, основной причиной инициации процесса развития ПД является достижение критического (порогового) уровня смещения мембранного потенциала.

### Современные методы регистрации биопотенциалов

Регистрация биопотенциалов осуществляется с помощью специальных методов исследования *электровозбудимых* мембран, различающиеся *вне- и внутриклеточными* способами отведения мембранного потенциала.

Исследования ПД методами *внеклеточного отведения* в настоящее время производятся редко, так как они имеют один существенный недостаток, мешающий регистрировать электрические параметры одной клетки. Он проявляется в значительном внеклеточном шунтировании параметров потенциала из-за недостаточно плотного контакта регистрирующего устройства с биологической мембраной. С другой стороны, простота и доступность этого способа регистрации электрических параметров позволило его широко использовать в диагностической практике для регистрации суммарного потенциала *электровозбудимых* тканей (ЭКГ, ЭМГ, ЭЭГ и т.д.).

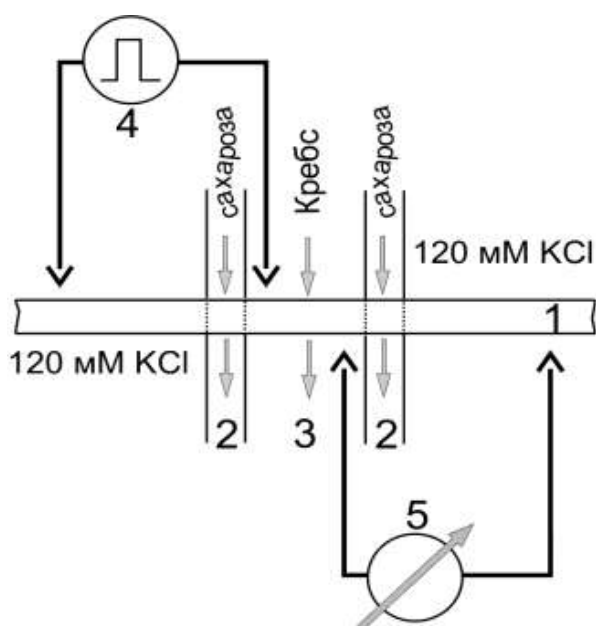


Рис. 20. Схема метода двойного сахарозного мостика

- 1 – биологический объект;
- 2 – изолирующие межклеточные участки сахарозных протоков (мостиков)
- 3 – рабочая камера (поток раствора Кребса);
- 4 – регистрирующие электроды;
- 5 – раздражающие электроды.

Метод сахарозного мостика является внеклеточным способом регистрации параметров ПД. Использование изолирующих межклеточные участки сахарозных протоков (мостиков) позволяет ограничить внеклеточное шунтирование и достаточно уверенно регистрировать параметры биопотенциалов (Рис. 20).

Основное развитие в настоящее время получила техника *внутриклеточного отведения* параметров биопотенциалов. С помощью микроэлектродов, много меньших, чем гигантские одиночные клетки по размерам (0,5-1 мкм против 100 мкм), прокалывалась биологическая мембрана, и регистрировались электрические параметры внутриклеточного содержимого (Рис.8).

Изменение материалов, из которых изготавливались микроэлектроды, происходило одновременно с техническим прогрессом по пути использования металлов, стекла, полимеров и снова стекла. Применимость и точность этого способа регистрации мембранных потенциалов подтверждают уникальные эксперименты многократного введения микроэлектродов внутрь одной клетки при незначительном изменении значений биопотенциалов.

Возможности микроэлектродной техники позволили регистрировать ионный ток, протекающий через мембрану в момент развития ПД. Для этого использовался метод фиксации потенциала (clamp-voltage), представляющий электронную схему поддержания постоянного уровня мембранного потенциала за счет источника обратной Э.Д.С., включенной через усилитель с обратной связью. На Рис. 21 представлен один из вариантов такой схемы с соответствующими блоками и объектом – биологической мембраной.



Рис. 21. Метод фиксации потенциала (объяснения в тексте)

Точные измерения значений ионных токов из-за своих малых величин при методе clamp-voltage осложнялись возможностью их шунтирования на границе микроэлектрод-мембрана, существующей даже при достаточно высоком мегаомном ( $10^6$  Ом·см) удельном сопротивлении контакта с клеткой.

Настоящий прорыв в данной области был совершен при достижении контакта с клеткой гигаомных ( $10^9$  Ом·см) значений удельного сопротивления контакта микроэлектрода и объекта. Особые материалы и способы заточки микроэлектродов позволили регистрировать на целой клетке (whole cell) и на участках мембраны (patch clamp) динамику одиночных ионных токов. Возможные модификации этого метода представлены на Рис. 22.





Рис. 22. Модификации метода patch clamp на целой клетке

- 1 – whole cell
- 2 – patch clamp inside
- 3 – patch clamp outside

### Ионная природа потенциала действия (ПД). Формальное описание ионных токов

ПД, регистрируемый впервые на гигантском (до 500 мкм в диаметре) аксоне кальмара, состоит из нескольких фаз (Рис. 23).

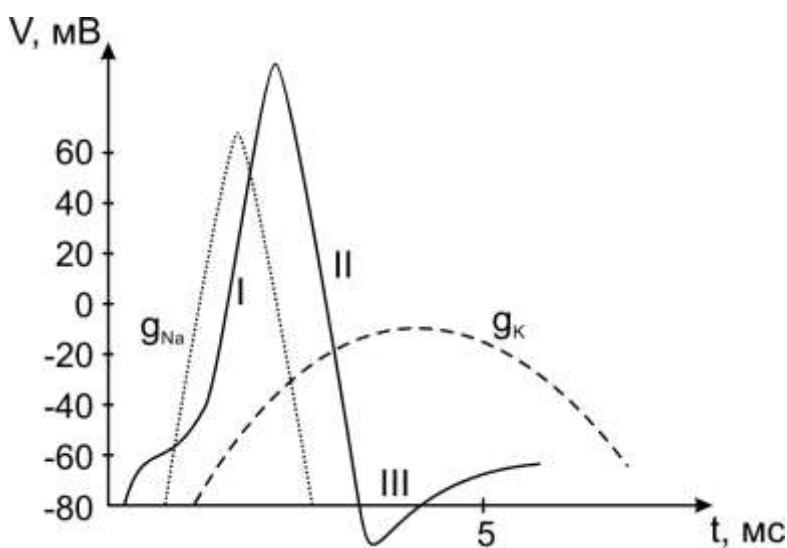


Рис. 23. Фазы потенциал действия и ионные токи аксона кальмара

Исходно от уровня потенциала покоя (-90 мВ) начинается I-я фаза деполяризации, сменяющаяся на уровне нулевого (0 мВ) мембранного потенциала противоположным знаком овершотом (+ 40 мВ) и затем переходящая в II-ю фазу реполяризации по пути возвращения значений мембранного потенциала к потенциалу покоя. Отклонения от пути возвращения называют III-й фазой – следовым потенциалом:

- а) положительным – при продолжающейся реполяризации.
- б) отрицательный – при развитии деполяризации.

Метод фиксации потенциала и модификации ионного состава растворов позволили вскрыть ионные механизмы каждой фазы ПД.

Основное участие в развитии фазы деполяризации принимает входящий в клетку поток положительных ионов натрия ( $\text{Na}^+$ ), перезаряжающих внутреннюю поверхность мембраны. На смену быстрой активации натриевой проницаемости пороговым раздражителем приходят процессы инактивации входа  $\text{Na}^+$  и активации выхода из клетки ионов калия ( $\text{K}^+$ ), что проявляется фазой реполяризации – возвращения зарядов на внутренней поверхности мембраны к отрицательным значениям.

С помощью ряда упрощений Ходжкину и Хаксли (1950) в виде уравнений удалось произвести <sup>9</sup>формальное (математическое) описание

кинетики ионных токов электровозбудимой мембраны. По их мнению, ионный ток ( $I$ ) складывается из суммы натриевого ( $I_{Na}$ ) калиевого ( $I_K$ ) и тока утечки ( $I_L$ ):

$$I = I_{Na} + I_K + I_L,$$

В отличие от натриевого и калиевого тока, ток утечки не подчиняется потенциал-зависимым механизмам активации и инактивации.

Каждый из токов рассчитывается по закону Ома:

$$I_{Na} = g_{Na} \cdot (V - V_{Na}),$$

$$I_K = g_K \cdot (V - V_K),$$

$$I_L = g_L \cdot (V - V_L),$$

где:  $g_{Na}$ ,  $g_K$  и  $g_l$  – проводимость для ионов натрия, калия и ионов утечки соответственно.  $(V - V_{(Na,K,L)})$  – величины электрохимических потенциалов для соответствующих ионов, где  $V$  – является отклонением от абсолютных значений мембранного потенциала  $E$ , а  $V_{(Na,K,L)}$  – равновесные потенциалы, рассчитанные по уравнению Нернста.

С помощью выражений:

$$V = E - E_m$$

**и соответственно:**

$$V_{(Na,K,L)} = E_{(Na,K,L)} - E_m,$$

**откуда:**

$$E - E_{(Na,K,L)} = V - V_{(Na,K,L)},$$

Для гигантского аксона кальмара:

$$E_{Na} = +55 \text{ мВ}, E_K = -72 \text{ мВ}, E_L = -50 \text{ мВ}.$$

**В свою очередь, величины ионных проводимостей мембраны равны:**

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} \cdot m^3 h,$$

$$g_K = \bar{g}_K \cdot n^4,$$

где:  $g_{Na}$  и  $g_K$  – максимальные проводимости мембраны (при сильной деполяризации  $\hat{g}_{Na} = 120 \text{ мСм/см}^2$ ,  $\hat{g}_K = 36 \text{ мСм/см}^2$ ,  $g_l = 0,3 \text{ мСм/см}^2$ ) для ионов натрия и калия соответственно. Величины  $m$  и  $n$  – переменные процесса активации,  $h$  – переменная инактивации.

Их значения в зависимости от мембранного потенциала изменяются в пределах от 0 до 1 и рассчитываются из системы дифференциальных уравнений:

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m \cdot (1 - m) - \beta_m m,$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n \cdot (1 - n) - \beta_n n,$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h \cdot (1-h) - \beta_h h,$$

где  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $\alpha_n$ ,  $\beta_n$ ,  $\alpha_h$ ,  $\beta_h$  – константы скоростей, зависящие от мембранного потенциала, температуры и концентрации двухвалентных ионов в наружном растворе, но не от времени. При деполяризации мембраны значения  $\alpha_m$ ,  $\alpha_n$  и  $\beta_h$  увеличиваются, а  $\beta_m$ ,  $\beta_n$  и  $\alpha_h$  – уменьшаются. Решения этих уравнений проще представить в виде экспоненциальных характеристик – постоянных времени изменения  $m$ ,  $n$  и  $h$ :

$$\tau_m = \frac{1}{\alpha_m + \beta_m}, \quad \tau_n = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}, \quad \tau_h = \frac{1}{\alpha_h + \beta_h}$$

Стационарные значения переменных  $m$ ,  $n$  и  $h$  будут равны:

$$m_\infty = \frac{\alpha_m}{\alpha_m + \beta_m}, \quad n_\infty = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}, \quad h_\infty = \frac{\alpha_h}{\alpha_h + \beta_h}$$

Графики зависимости стационарных значений  $m$ ,  $n$  и  $h$  ( $m_\infty$ ,  $n_\infty$  и  $h_\infty$ ) и постоянных времени  $\tau_m$ ,  $\tau_n$  и  $\tau_h$  от мембранного потенциала представлены на Рис. 24.

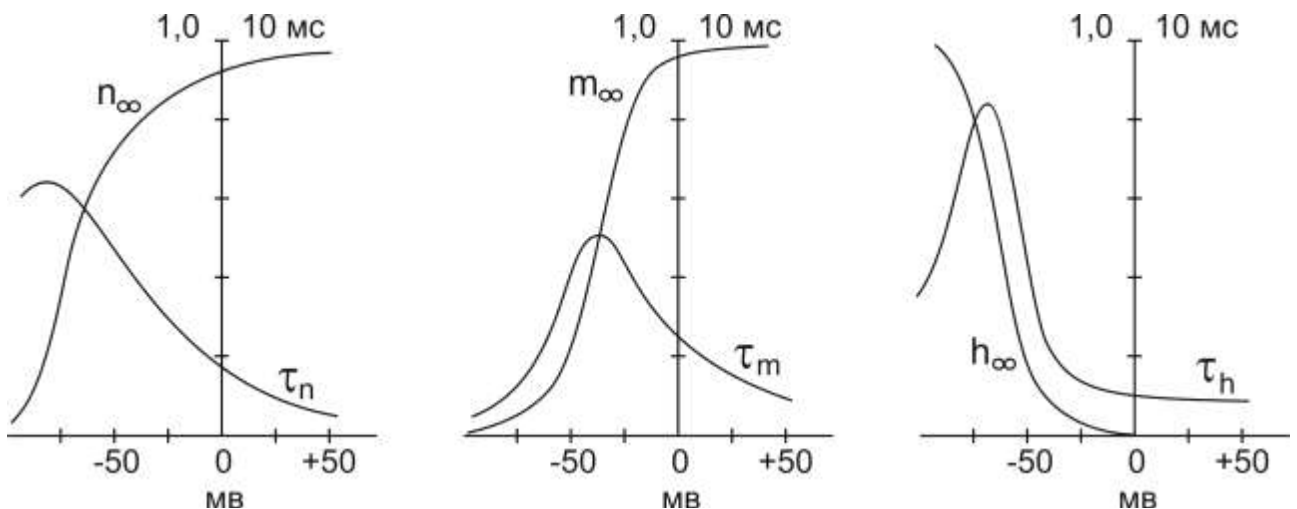


Рис. 24. Зависимости стационарных значений  $m$ ,  $n$  и  $h$  ( $m_\infty$ ,  $n_\infty$  и  $h_\infty$ ) и постоянных времени  $\tau_m$ ,  $\tau_n$  и  $\tau_h$  от мембранного потенциала

На основании представленных выше теоретических выкладок Ходжкиным и Хаксли были рассчитаны параметры потенциала действия, которые сравнивались с экспериментальными.

В состав мембранного тока ( $I_m$ ) кроме ионной компоненты входит и емкостная составляющая:  $I_c = C \frac{dV}{dt}$  и тогда:

$$I_m = C \frac{dV}{dt} + I_{Na} + I_K$$

При поддержании потенциала на постоянном уровне (метод clamp-voltage) емкостная составляющая исчезает, и мембранный ток удается зарегистрировать как сумму натриевого и калиевого ионных токов (Рис. 23)

Использование блокаторов ионных каналов позволило получить отдельные вольтамперные характеристики для натриевого и калиевого ионных токов и вскрыть ионные механизмы развития потенциала действия. На Рис. видно, что отличия рассчитанных и экспериментальных параметров незначительны.

Показанные изменения ионных проницаемостей (а) и ионных токов (б), рассчитанные с помощью уравнений Ходжкина–Хаксли при возникновении ПД в гигантском аксоне кальмара в ответ на очень короткий стимул позволили избежать емкостной составляющей мембранного тока. Видно, что первый нуль  $I_i$  соответствует моменту, когда входящий натриевый ток становится равным выходящему ионному току  $I_i + I_K$ . Это момент критической деполяризации, когда локальный ответ начинает переходить в ПД. В начале этого периода  $P_{Na}$  и  $I_{Na}$  совпадают с началом развития ПД, однако, затем ход изменений их становится разным:

1. Изменения  $P_{Na}$  имеют одну вершину, совпадающую в максимальной точке с вершиной ПД.

2. Кривая изменений  $I_{Na}$  характеризуется двумя максимумами, из которых один приходится на примерно на середину восходящего ПД, а второй – на первую треть фазы реполяризации. Вершине ПД соответствует точка наибольшего падения кривой  $I_{Na}$  в области «седла» между двумя ее вершинами.

Различия в динамике изменения между  $P_{Na}$  и  $I_{Na}$  обусловлены тем,  $P_{Na}$  является прямым следствием деполяризации в момент ПД, а  $I_{Na}$  зависит также от электрохимического потенциала ( $V - V_{Na}$ ), величина которого по мере деполяризации снижается. В результате продолжающего компенсаторного возрастания  $P_{Na}$ ,  $I_{Na}$  продолжает нарастать до момента выравнивания  $V$  и  $V_{Na}$ , когда суммарный ионный ток ( $I_i$ ) и изменения ПД достигают максимума. Наличие емкостных свойств мембраны позволяет ПД нарастать еще некоторое время, даже в отсутствии усиления  $I_i$ . Остановка в нарастании ПД будет происходить при равенстве плотностей выходящих и входящих ионных токов, что соответствует максимальной величине ПД.

Преобладание выходящей компоненты ионных токов будет приводить развитию фазы реполяризации, которая будет замедляться вторичным повышением  $I_{Na}$ , связанным с увеличением электрохимического потенциала ( $V - V_{Na}$ ) при еще достаточно высоком  $P_{Na}$ . В фазу реполяризации  $P_{Na}$  падает сначала круто, а затем, более полого из-за усиления инактивации деполяризованной мембраны.

Расчеты, проведенные позже на миелиновых нервных волокнах в области перехвата Ранвье показали, что кинетика изменений ионных

проницаемостей в момент развития ПД качественно не отличается от таковой в гигантском аксоне кальмара (см. выше). Следует отметить характерную для перехватов Ранвье более высокую (3 раза) скорость нарастания ПД. Известные же отличия в скорости проведения по мягкотным и безмякотным нервным волокнам определяются, как показывают дальнейшие расчеты, параметрами сопротивления и емкости мембраны с таковыми в перехватах Ранвье. При высоких сопротивлениях миелиновой оболочки (до  $\Gamma \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$ ), в области перехватов низко сопротивление мембраны (см. ниже).

### **Проведение возбуждения по нервным волокнам**

В основе развития процесса проведения возбуждения по нервным волокнам наряду с ПД участвуют пассивные электрические свойства мембраны нервных волокон, которые определяются на эквивалентной схеме нервного волокна, погруженного в проводящую среду (Рис. 14):

Сопротивление мембраны ( $r_m$ ) рассчитывается через удельное сопротивление ( $R_m$ ):

$$r_m = \frac{R_m}{2\pi r},$$

где:  $R_m = 1-100 \text{ кОм} \cdot \text{см}^2$ , в перехватах Ранвье:  $30-40 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$

Сопротивление аксоплазмы ( $r_i$ ) рассчитывается через удельное сопротивление ( $R_i$ ):

$$r_i = \frac{R_i}{\pi r^2},$$

где:  $R_i = 40 \text{ Ом} \cdot \text{см}$ .

Емкость мембраны ( $c_m$ ) рассчитывается через удельную емкость мембраны ( $C_m$ ):

$$c_m = C_m \cdot \pi r^2,$$

где:  $C_m = 1 \text{ мкФ/см}^2$ , в перехватах Ранвье:  $3-4 \text{ мкФ/см}^2$ ,  $r$  – радиус нервного волокна,  $R, C$  – удельные и  $r, c$  – относительные значения сопротивления и емкости мембраны (m) и аксоплазмы (i) в расчете на единицу длины или площади мембраны.

Возвращаясь к выше представленному выражению для расчета мембранного тока:

$$I_m = C \frac{dV}{dt} + I^i$$

следует определить согласно эквивалентной электрической схеме, что мембранный ток аксиального направления будет равен согласно закону Кирхгофа:

$$-I_m = \frac{dI}{dx},$$

В свою очередь согласно закону Ома ток, текущий через аксоплазму равен:

$$-r_i i = \frac{dV}{dx}_i, \text{ а } I_m = \frac{1}{r_i} \frac{d^2 V}{dx^2}.$$

ИТОГОВЫЙ:

В окончательном виде:

$$\frac{1}{r_i} \frac{d^2 V}{dx^2} = C_m \frac{dV}{dt} + \frac{V}{r_m}; \quad \frac{r_m}{r_i} \frac{d^2 V}{dx^2} = C_m r_m \frac{dV}{dt} + V.$$

С учетом того, что

$$\frac{r_m}{r_i} = \lambda^2 \quad \text{и} \quad C_m r_m = \tau,$$

окончательное выражение принимает вид:

$$\lambda^2 \frac{d^2 V}{dx^2} = \tau \frac{dV}{dt} + V.$$

Решение этого уравнения требует ряд упрощений:

1. При аксиальном введении регистрирующего электрода мембранный ток становится равным нулю и тогда:

$$-\tau \frac{dV}{dt} = V,$$

решением этого уравнения является экспоненциальная зависимость:

$$V_t = V_0 \cdot \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right),$$

где  $\tau$  – постоянная времени, показывающая через сколько времени амплитуда мембранного потенциала падает в  $e$  раз.

2. При коротком стимуле емкостная составляющая будет равна нулю и тогда:

$$\lambda^2 \frac{d^2 V}{dx^2} = V,$$

где решение:  $V_x = V_0 \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}}$  и  $\lambda$  – постоянная длины, показывающая через какое расстояние амплитуда мембранного потенциала падает в  $e$  раз. С учетом сопротивлений мембраны и аксоплазмы ( $R_m$  и  $R_i$ ):

$$\lambda = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{R_m D}{R_i}},$$

где:  $D$  – диаметр нервного волокна ( $D = 2r$ ).

Таким образом, определяющая скорость проведения возбуждения постоянная длины ( $\lambda$ ) прямо пропорциональна параметрам нервного волокна.

В итоге, скорость проведения возбуждения:

$\approx \sqrt{D}$  для безмиелинового и  $\approx D$  для миелиновых волокон.

Из уравнения:

$$V_x = V_0 \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}} = I_0 R_x \cdot e^{-\frac{x}{\lambda}}, \text{ где:}$$

**$I_0$  – начальный ионный ток,  $R_x$  – входное сопротивление, важное значение для дальнейшей судьбы распространяющегося ПД имеет последняя компонента.**

$$R_x = \frac{1}{2} \sqrt{r_m \cdot r_i}$$

и с учетом удельных значений:

$$R_x = \frac{1}{\pi} \sqrt{\frac{R_m \cdot R_i}{D}},$$

где:  $D$  – диаметр нервного волокна.

Таким образом, входное сопротивление нервного волокна, от которого зависит скорость распространения нервного импульса, также связана с диаметром этого волокна. Это означает, что с уменьшением диаметра нервного волокна входное сопротивление мембраны значительно возрастает, а при уменьшении – падает. Это явление определяет зависимость скорости проведения возбуждения от геометрических и функциональных неоднородностей нервных волокон. Резкое падение входного сопротивления мембраны будет подобно феномену «перегрузка генератора» в электрической цепи и замедлять проведение возбуждения вплоть до выпадения отдельных нервных импульсов и наоборот – «облегчать» проведение возбуждения при



росте входного сопротивления в случае уменьшения диаметра нервного волокна.

Распространение потенциала действия вдоль мембраны нервного волокна будет неодинаково, и из-за этого возникают локальные токи, посредством чего и происходит распространение возбуждения. В каждой точке генерируется новый ПД, однако, проводится не он, а возбуждение в виде локальных токов – пусковых механизмов для новых ПД.

Представим, что в точке  $V_j$  мембранный ток ( $I_m$ ) складывается из притекающего и оттекающего токов:

$$I_m = \frac{V_{j-1} - V_j}{r_i \cdot \Delta x} - \frac{V_j - V_{j+1}}{r_i \cdot \Delta x} = \frac{D}{2R_i} \cdot \frac{V_{j-1} - 2V_j + V_{j+1}}{\Delta x^2},$$

где:  $D$  – диаметр аксона,  $R_i$  – сопротивление аксоплазмы.

Как видно из выражения роль локального тока играет мембранный ток и его характеристики относительно ионных проницаемостей и ПД можно увидеть на Рис.

1. В начале доминирует ток из  $V_{j-1}$  в  $V_j$ , так как первый участок заряжен относительно второго положительно. Этот процесс приводит к деполяризации в точке  $V_j$ .

2. В следующей фазе преобладает ток  $V_j$  в  $V_{j+1}$ , по выше описанной схеме, так как уже этот участок ( $V_j$ ) становится положительно заряженным относительно второго.

3. Наконец от возбужденного участка  $V_{j+1}$  ток течет назад к  $V_j$ , вызывая дополнительную деполяризацию мембраны.

На пике первой фазы открываются натриевые каналы, и они забивают мембранный ток, в результате чего он не может внести заметных изменений в  $I_m$ , и его падение в отрицательную фазу  $I_{Na}$  замедлено. В результате условием развития ПД будет равенство входящего ( $I_{Na}$ ) и выходящего суммарных токов:

$$I_{Na} = I_i + I_K$$

К моменту развития ПД суммарный ионный ток приобретает входящее направление и из уравнения:

$$I_m = C \frac{dV}{dt} + I_i,$$

где в момент развития ПД емкостная составляющая равна нулю и:

$$I_m = I_i.$$

Эта величина ионного тока получила название  $\xi$ -потенциал.

К моменту развития ПД суммарный ионный ток приобретает входящее направление, совпадающее по максимуму с точкой максимальной скорости нарастания ПД. Этот процесс обеспечивает развитие ПД, хотя в точке максимума ПД ионный ток равен нулю. В фазу реполяризации мембраны вновь появляется ионный ток противоположного направления, соответствующий максимальной амплитуде точке максимального снижения ПД.

### Задачи по разделам VII - VIII

1. Вязкость липидного бислоя в 100 раз больше, чем вязкость воды. Толщина примембранных слоев воды приблизительно в 100 раз больше толщины липидного бислоя. Коэффициент распределения кислорода в системе липид – вода близок к единице. Что является основным барьером для молекулярного кислорода при его диффузии через мембрану: липидный бислой или примембранный слой воды? Приведите необходимые уравнения.
2. Определите равновесный мембранный потенциал, создаваемый на бислойной липидной мембране ионами калия при температуре  $20^{\circ}\text{C}$ , если концентрация калия с одной стороны мембраны равна  $10^{-3}\text{ M}$ , а с другой –  $10^{-5}\text{ M}$ .
3. Рассчитайте потенциал покоя гигантского аксона кальмара, если известно, что концентрация ионов натрия снаружи равна 440 мМ, а внутри его 49 мМ (Температура равна  $20^{\circ}\text{C}$ ).
4. Потенциал покоя нерва конечности краба равен 89 мВ. Чему равна концентрация ионов калия внутри нерва, если снаружи она составляет 12 мМ? Принять температуру равной  $20^{\circ}\text{C}$ .
5. Определите время, в течение которого устанавливается равновесная концентрация эритрола в клетке, если объем клетки  $70\text{ мкм}^3$ , коэффициент проницаемости  $13\text{ мкм/с}$ , а площадь поверхности мембраны клетки  $43\text{ мкм}^2$ .
6. В клетках фагоцитов равновесная концентрация вещества устанавливается за 0,2 с. Чему равен коэффициент проницаемости этого вещества через мембрану фагоцитов, если считать клетку телом сферической формы диаметром 8 мкм?
7. Как изменится мембранный потенциал, если поток натрия внутрь клетки увеличится вдвое, а количество калия останется прежним?
8. Как изменится мембранный потенциал нервного волокна, если закрыть 30% калиевых каналов?
9. Как изменится мембранный потенциал, если заблокировать работу Na-K – зависимой АТФ-азы?

10. Порог раздражающего тока 0,3 мА. Ткань раздражается током в 1,0 мА., но возбуждения не возникает. В каком случае это может наблюдаться?

### Тест–задания

1. К пассивным электрическим свойствам мембраны относятся:
  - A. Микровязкость мембраны
  - B. Сопротивление
  - C. Емкость
  - D. Амплитуда локального ответа
2. Электрохимический градиент зависит от:
  - A. Концентрации ионов
  - B. Толщины мембраны
  - C. Заряда мембраны
  - D. Температуры
3. Константа длины нервного волокна – это расстояние:
  - A. На которое распространяется потенциал действия
  - B. На которое распространяется возбуждение от точки нанесения раздражения
  - C. Между двумя соседними перехватами Ранвье
4. Аутостабилизация амплитуды потенциала действия связана:
  - A. С изменением электрохимического градиента
  - B. С изменением концентрации ионов натрия
  - C. С изменением проницаемости мембраны
5. Вклад локального ответа в генерацию потенциала действия существенен:
  - A. При нанесении короткого стимула
  - B. При нанесении длительного стимула
  - C. В обоих случаях
6. Укажите пороговые условия возникновения потенциала действия:
  - A. Превышение входящего тока над выходящим
  - B. Возникновение локального тока
  - C. Изменение заряда мембраны
7. Вторая фаза локального тока в данной точке мембраны:
  - A. Способствует развитию потенциала действия
  - B. Препятствует развитию потенциала действия
  - C. Не влияет на потенциал действия
8. При увеличении входного сопротивления мембраны нервного волокна надежность проведения импульса:
  - A. Уменьшается
  - B. Увеличивается
  - C. Не изменяется
9. Скорость проведения импульса по безмякотному нервному волокну зависит от:
  - A. Диаметра волокна
  - B. Корня квадратного из диаметра волокна
  - C. Квадрата диаметра волокна

10. Скорость проведения импульса по мягкотному нервному волокну зависит от:
- А. Диаметра волокна
  - В. Корня квадратного из диаметра волокна
  - С. Квадрата диаметра волокна
11. При проведении импульса через зону расширения волокна задержка проведения обусловлена:
- А. Уменьшением входного сопротивления
  - В. Уменьшением удельного сопротивления
  - С. Увеличением емкости мембраны
12. При проведении импульса через зону расширения волокна задержка проведения обусловлена:
- А. Уменьшением 1 фазы локального тока
  - В. Увеличением 2 фазы локального тока
  - С. Уменьшением 3 фазы локального тока
13. При приходе в точку 7-кратного суммарного расширения 2-х волокон двух импульсов с интервалом 1 мсек:
- А. Будут проведены оба импульса
  - В. Будет проведен один импульс
  - С. Проведение будет заблокировано
14. При проведении нервного импульса из мягкотной части волокна в безмякотную терминаль задержка проведения обусловлена:
- А. Увеличением сопротивления мембраны
  - В. Увеличением площади мембраны
  - С. Затратой энергии на выброс медиатора
15. Функциональные неоднородности обусловлены:
- А. Изменением удельного сопротивления мембраны
  - В. Изменением удельной емкости мембраны
  - С. Изменением свойств белков внешней поверхности мембраны
16. Парабиоз Введенского проявляется:
- А. Снижением частоты импульсов
  - В. Периодическим выпадением импульсов
  - С. Непериодическим выпадением импульсов
17. Основная ошибка модели парабиоза Беркенблита заключается в следующем:
- А. Она не учитывает кинетику инактивации натриевого тока
  - В. Она не учитывает явления абсолютной рефрактерности
  - С. Она не учитывает влияние на мембрану импульса, пришедшего в фазу рефрактерности
18. Константы, входящие в кабельное уравнение, зависят от:
- А. Амплитуды потенциала действия
  - В. Ионной проницаемости мембраны
  - С. Пассивных электрических свойств мембраны
19. Воротный ток – это:
- А. Ток, протекающий через канал при закрытых воротах:
  - В. Ток, протекающий через канал в процессе открывания ворот

- С. Ток смещения, регистрируемый в толще мембраны во время открывания ворот
20. Метод фиксации потенциала используется для:
- А. Измерения ионных токов
  - В. Измерения сопротивления мембраны
  - С. Измерения мембранного потенциала

## 12-ТЕМА. ЭЛЕКТРОПРОВОДИМОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

### План

1. Общие положения
2. Действие постоянного электрического тока на биологические объекты. ЭДС поляризации
3. Статическая и поляризационная емкость
4. Виды поляризации в биологических тканях
5. Проводимость биологических объектов для переменного тока

**Ключевы слова:** закон Ома, ЭДС поляризации, статическая и поляризационная емкость, проводимость биологических объектов, переменный ток, дисперсия электропроводности, метод измерения импеданса.

### Общие положения

Пассивные электрические свойства биологических объектов определяются, в основном, омическими и емкостными характеристиками биологических мембран. Индуктивность не рассматривается в связи с ее ничтожным вкладом в сравнении с представленными характеристиками, в свойства биологических объектов. Принятые в виде эквивалентных электрических схем и обладая их основными характеристиками (Рис. 14), биологические объекты могут подчиняться основным законам действия постоянного электрического тока.

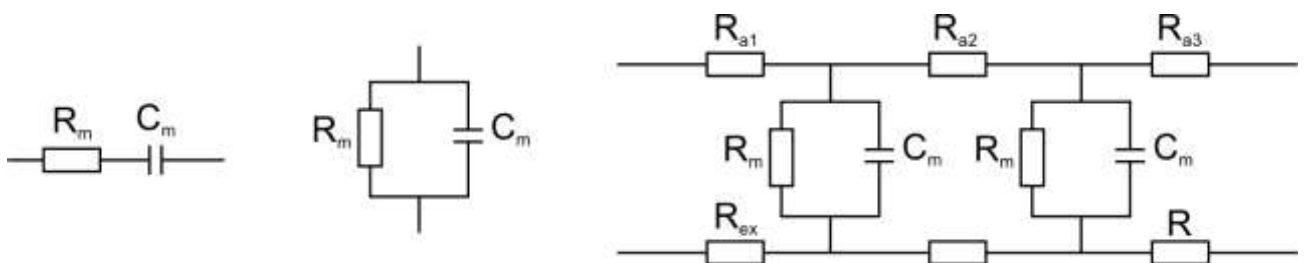


Рис. 14. Эквивалентные электрические схемы биологических объектов

Согласно закону Ома величина электрического тока ( $I$ ) в проводнике прямо пропорциональна напряжению ( $U$ ) и обратно пропорциональна сопротивлению ( $R$ ):

$$I_0 = \frac{U}{R}$$

В свою очередь, величина сопротивления рассчитывается по формуле:

$$R = \rho \times \frac{L}{S},$$

где:  $\rho$  – удельное сопротивление;  $L$  – длина и  $S$  – площадь сечения проводника.

Исходя из величины удельного сопротивления (в Ом см), объекты можно подразделить на:

- А. проводники –  $10^3 > \rho$ ;
- Б. полупроводники –  $10^4 < \rho < 10^{10}$ ;
- В. диэлектрики –  $\rho > 10^{10}$ .

Несмотря на наличие большого числа структур с высокой удельной проводимостью, биологические объекты, согласно обнаруженным величинам удельного сопротивления ( $10^6$ - $10^7$  Ом·см), относятся к полупроводникам. Основной причиной этого противоречия является неоднородность биологических объектов, что затрудняет измерение их электропроводности. Например, для определения сопротивления взвесей клеток Максвелл предложил следующую формулу:

$$\frac{\frac{r_1}{r} - 1}{\frac{r_1}{r} + 2} = \rho \times \frac{\frac{r_1}{r_2} - 1}{\frac{r_1}{r_2} + 2},$$

где:

$r$ -удельное сопротивление всей суспензии,

$r_1$ -удельное сопротивление дисперсионной среды,

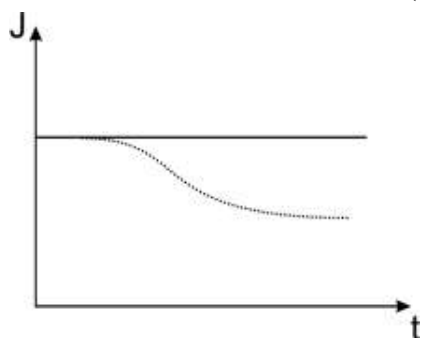
$r_2$ -удельное сопротивление клеток,

$\rho$  – относительный объем, занимаемый дисперсионной фазой.

Удельное сопротивление эритроцитов при измерениях достигало  $10^{12}$  Ом см, что характерно уже для диэлектриков.

### **Действие постоянного электрического тока на биологические объекты. ЭДС поляризации**

При пропускании постоянного электрического тока через биологические объекты его величина с течением времени уменьшается, достигая уровень намного ниже исходного (Рис. 15).



**Рис. 15. Действие  
постоянного электрического тока  
на биологические объекты**  
По оси абсцисс – время действия  
По оси ординат – сила тока

Этот процесс связан с тем, что возникает электродвижущая сила /ЭДС/ поляризации обратного направления. Она будет источником тока, который можно измерить, отключив действующую ЭДС, и поменяв полярность амперметра. Величина этого тока падает с течением времени до нуля. Закон Ома в этом случае принимает вид:

$$I = \frac{U - P(t)}{R},$$

где:  $P(t)$  – ЭДС поляризации, как функция, зависящая от времени.

Механизм развития поляризации биологических объектов на постоянном токе напоминает подобные явления в растворах электролитов, где она развивается за счет перераспределения зарядов к противоположным по знаку электродам и возникновения противоположного действующему электрическому поля. Это так называемая поверхностная поляризация. Кроме нее в тканях может развиваться структурная поляризация, для которой характерно перераспределение зарядов по всему объему.

### Статическая и поляризационная емкость

Существование гетерогенных с точки зрения электропроводности клеточных структур определяет существование статической и поляризационной емкости.

*Статическая емкость* ( $C$ ) рассчитывается по формуле емкости конденсатора:

$$C = \frac{\epsilon S}{4\pi d},$$

где:

$\epsilon$  – диэлектрическая постоянная,

$S$  – площадь поверхности пластин конденсатора,

$d$  – расстояние между пластинами конденсатора.

Наличие *поляризационной емкости* ( $C_p$ ) связано с зависимостью ее величины от напряжения и времени протекания электрического тока:

$$C_p = \frac{\int_0^T Idt}{R(I_0 - I_T)},$$

где:

$R$  – сопротивление,

$I$  – сила тока

$I_0$  – начальная сила тока,

$I_T$  – конечные значения силы тока,

Из общеизвестного

$$C = \frac{Q}{U} \Big|_U, \text{ т.е. } Q = \int_0^T Idt \quad U = R(I_0 - I_T)$$

а,

$$0 \quad , \quad - I_T ) ,$$

где  $Q$  – количество электричества, накапливаемое за время  $T$ ,  $U$  – напряжение электрического поля (разница потенциалов) в разные моменты времени.



### Виды поляризации в биологических тканях

Поляризация в биологических тканях подразделяется на различные виды согласно времени релаксации ( $\tau$ ), которое характеризует время развития поляризации:

А. электронная поляризация –  $\tau = 10^{-16} - 10^{-14}$  сек.

Б. ионная поляризация –  $\tau = 10^{-14} - 10^{-12}$  сек.

В. дипольная поляризация –  $\tau = 10^{-12} - 10^{-8}$  сек.

Г. макроструктурная поляризация –  $\tau = 10^{-8} - 10^{-3}$  сек.

Проявление каждого из выше названных видов поляризации соответствует смещению под действием внешнего поля:

А – электронных орбиталей относительно атомного ядра;

Б – ионов относительно кристаллической решетки;

В – дипольных молекул, согласно формулы Стокса:

$$\tau = \frac{4\pi\eta\alpha^3}{k_0T},$$

где:  $\alpha$  – радиус молекулы,  $\eta$  – вязкость,  $k_0$  – постоянная Больцмана,  $T$  – температура.

$\Gamma$  – положительных и отрицательных зарядов в макроструктурах с различной для них проводимостью.

### Проводимость биологических объектов для переменного тока

Таким образом, действие постоянного электрического тока на биологические объекты всегда сопровождается явлением поляризации. Это, с одной стороны, вносит дополнительные трудности при определении их сопротивления, а с другой – повышает вероятность повреждающего действия тока на клетки. Эти недостатки менее выражены при действии переменного тока. Используемый впервые Кольраушем (Kohlrausch) для измерения сопротивления электролитов, переменный ток широко используется в настоящее время для изучения омических и емкостных свойств тканей. Было установлено, что:

А. Сопротивление биологических объектов переменному току ниже, чем постоянному.

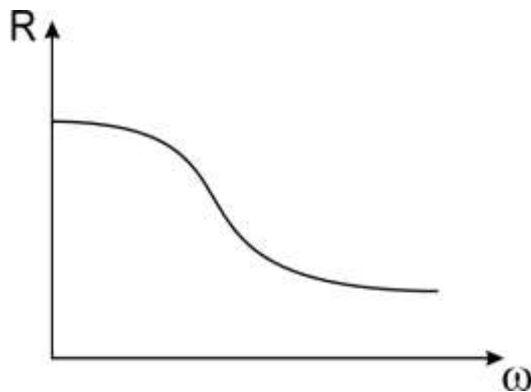
Б. Сопротивление не зависит от величины тока, если эта величина ниже физиологической нормы.

В. Сопротивление биологических объектов при данной частоте постоянно, если не меняется их физиологическое состояние.

Г. Сопротивление биологических объектов при данной частоте падает, если изменяется физиологическое состояние в сторону отмирания тканей.

*Дисперсия электропроводности.* При исследовании биологических объектов было установлено, что с увеличением частоты тока их электропроводность растет. Зависимость электропроводности от частоты переменного тока получила название дисперсии электропроводности.

Диапазон частот проявляющейся дисперсии располагается в интервале  $10^2 - 10^8$  Гц, и характерна эта зависимость для всех тканей (Рис. 16).



**Рис. 16. Зависимость электропроводности от частоты переменного тока**  
По оси абсцисс – круговая частота переменного тока;  
По оси ординат – сопротивление биологического объекта

Рост электропроводности связан с тем, что при малых частотах проявляются эффекты поляризации, которые по мере увеличения частот переменного тока сказываются меньше.

*Коэффициент жизнеспособности (поляризации) Б.Н. Тарусова.* Дисперсия электропроводности характерна только для живых объектов (она отсутствует у растворов электролитов). По мере отмирания тканей резко увеличивается низкочастотная (при той же высокочастотной) компонента. Для оценки жизнеспособности тканей Б.Н. Тарусовым был предложен коэффициент:

$K$   $R$

$$= 10^4 \left| \frac{R_{10^6}}{R_{10^4}} \right|, \text{ где:}$$

$R_{10^4}$  – сопротивление при частоте тока  $10^4$  Гц

$R_{10^6}$  – сопротивление при частоте тока  $10^6$  Гц.

При отмирании тканей  $K$  стремится к 1.

*Импеданс – суммарное сопротивление тканей.* Сопротивление биологических объектов определяется прохождением тока через активную (омическую) и реактивную (емкостную) составляющие. Эквивалентные электрические схемы биологических объектов (последовательное и параллельное соединение и т.д.) были представлены ранее (см. Рис. 14). Для оценки представленных значений требуется знать суммарное сопротивление тканей, которое получило название *импеданса* ( $Z$ ). Под *импедансом* биологических объектов понимают геометрическую сумму омического и емкостного сопротивлений.

*При последовательном соединении емкостного и омического сопротивления ток, идущий через емкость, равен току, идущему через омическое сопротивление:*

$$I_C = I_R,$$

а падение напряжения различно:

$$U_R = I_R \cdot R, \quad U_C = I_C \cdot R_C, \quad \text{тогда как}$$

где: R – омическое сопротивление, а

$$R_C = \frac{1}{\omega \cdot C},$$

где:  $\omega$  – круговая частота переменного тока в Гц,  $\omega = 2\pi\nu$  ( $\nu$  – частота переменного тока), C – емкость

Общее приложенное напряжение будет векторной суммой емкостного и омической составляющей сопротивления:

$$\vec{U} = \vec{U}_R + \vec{U}_C$$

По правилу сложения векторов:  $U^2 = U_R^2 + U_C^2$ , а в этом случае импеданс (Z) будет равен:

$$Z = \sqrt{R^2 + \frac{1}{\omega^2 C^2}},$$

При параллельном соединении емкостного и омического сопротивления падение напряжения, прилагаемое к омическому сопротивлению и емкости, одинаково:

$$U_R = U_C,$$

а ток складывается из суммы векторов:

$$\vec{I} = \vec{I}_C + \vec{I}_R$$

В этом случае импеданс будет равен:

$$Z = \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{R^2} + \omega^2 C^2}}$$

Как видно из представленных расчетов импеданса емкостная составляющая обратно пропорциональна частоте тока. Поэтому явление дисперсии электропроводности клеток и тканей есть результат уменьшения емкостного сопротивления при увеличении частоты переменного тока.

*Метод измерения импеданса.* Общепринятым методом измерения импеданса является мостовая схема (Рис. 17).

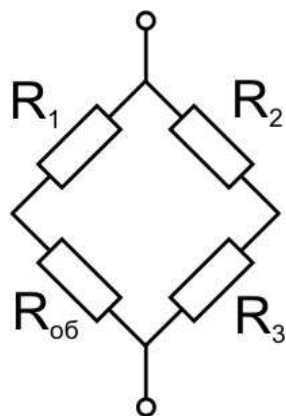


Рис. 17. Мостовая схема измерения сопротивления объекта ( $R_{об}$ )

Параллельное включение в компенсирующее плечо переменного сопротивления и емкости достаточно хорошо моделирует живые клетки. Это позволяет, при всей приближительности, получать достаточно хорошую компенсацию значений импеданса биологических.

*Диэлектрическая проницаемость /ДЭП/ биологических объектов.* ДЭП ( $\epsilon$ ) показывает во сколько раз взаимодействие между зарядами в неограниченной однородной среде ( $\epsilon^1$ ) меньше, чем в вакууме ( $\epsilon_0$ ):

$$\xi = \frac{\xi^1}{\xi_0}$$

Дисперсия ДЭП. Дисперсией ДЭП называется ее зависимость от частоты переменного тока. С увеличением частоты тока ДЭП биологических объектов снижается (Рис. 18).

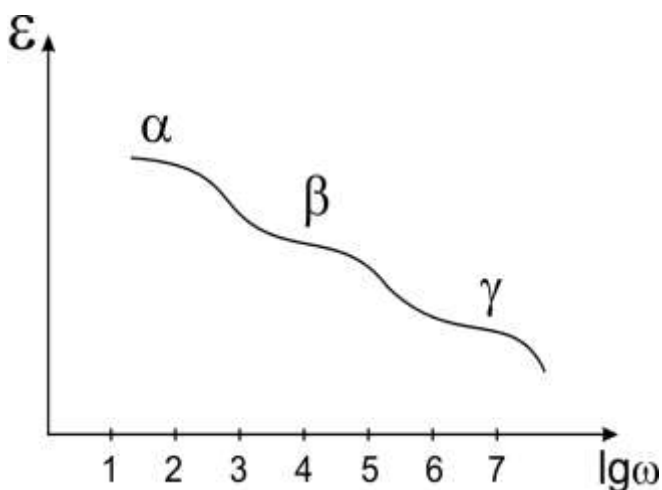


Рис. 18. Дисперсия диэлектрической проницаемости биологических объектов по оси абсцисс логарифм круговой частоты переменного тока; по оси ординат – диэлектрическая проницаемости биологических объектов

Можно выделить следующие области дисперсии ДЭП:

$\alpha$  – дисперсия занимает область низких частот звукового диапазона. В этой области происходит сильная поляризация электродов и начинает проявляться поверхностная поляризация клеток, их органоидов, макромолекул.

$\beta$  – дисперсия занимает область частот  $10^6$  -  $10^8$  Гц. Она в большей степени зависит от вида объекта и наряду с развитием поверхностной

поляризации высокополимерных соединений (макромолекул) и поляризуются молекулы и с меньшими размерами.

$\gamma$ – дисперсия занимает область частот выше  $10^9$  Гц. В этой области ДЭП зависит главным образом от содержания воды в тканях. Показана зависимость характера дисперсии в этой области от полярных свойств молекул воды.

Снижение ДЭП при увеличении частоты тока происходит по общим механизмам. Так, если время релаксации  $\tau$  (см. стр.) меньше значений  $1/\omega$  то молекулы успевают за изменением знака и ДЭП остается неизменной. При более высоких частотах тока, когда  $\tau$  становится больше значений  $1/\omega$ , молекулы не успевают за изменением знака и ДЭП снижается.

### Тест–задания

1. Постоянное электрическое поле вызывает:
  - А. Ток проводимости
  - В. Ток смещения
  - С. Конвекционный ток
2. Переменное электрическое поле вызывает:
  - А. Ток проводимости
  - В. Ток смещения
  - С. Конвекционный ток
3. Пассивные электрические свойства присущи следующим биологическим тканям:
  - А. Нервная
  - В. Мышечная
  - С. Соединительная
  - Д. Железистая
  - Е. Костная
4. Активные электрические свойства присущи следующим биологическим тканям:
  - А. Нервная
  - В. Мышечная
  - С. Соединительная
  - Д. Железистая
  - Е. Костная
5. Процесс перемещения связанных зарядов во внешнем электрическом поле образует:
  - А. ток смещения
  - В. ток проводимости
  - С. Э.Д.С. поляризации
6. К пассивным электрическим свойствам мембраны относятся:
  - А. сопротивление
  - В. амплитуда локального ответа
  - С. емкость
7. Падение импеданса тканей при увеличении частоты переменного тока связано с:

- A. увеличением омической составляющей
  - B. снижением емкостной составляющей
  - C. увеличением емкостной составляющей
  - D. снижением омической составляющей
8. Степень поляризации тканей зависит от:
- A. частоты переменного тока
  - B. времени релаксации
  - C. омического сопротивления
  - D. жизнеспособности
9. Причиной поляризации являются:
- A. Свободные заряды
  - B. Связанные заряды
  - C. Ионы кальция
10. Отметьте виды поляризации, присущие живым тканям:
- A. Ионная
  - B. Макроструктурная
  - C. Ориентационная
  - D. Полупроводниковая
  - E. Поверхностная
  - F. Макроструктурная
  - G. Электролитическая
  - H. Емкостная
11. Явление поляризации наблюдается при пропускании через объект:
- A. Постоянного тока
  - B. Переменного тока
  - C. Постоянного и переменного тока
12. Дисперсия электропроводности - это:
- A. Зависимость электропроводности от силы тока
  - B. Зависимость электропроводности от частоты тока
  - C. Зависимость электропроводности от температуры
13. Коэффициент поляризации Тарусова вычисляется:
- A. Как отношения сопротивлений объекта на частотах 1МГц и 10 кГц и
  - B. Как отношения сопротивлений объекта на частотах 1 кГц и 10МГц
  - C. Как отношения сопротивлений объекта на частотах 10 кГц и 1МГц
14. Коэффициент поляризации Тарусова характеризует:
- A. Жизнеспособность тканей
  - B. Возбудимость тканей
  - C. Электропроводность тканей
15. Сопротивление биологических объектов включает следующие компоненты:
- A. Омическое
  - B. Емкостное
  - C. Индуктивное
16. Разница между активным и реактивным сопротивлением заключается:
- A. В зависимости (независимости) от частоты тока
  - B. В зависимости (независимости) от угла сдвига фаз между током и напряжением

- C. В величине угла сдвига фаз между током и напряжением
  - D. В зависимости (независимости) от силы тока
17. С увеличением частоты тока изменяется:
- A. Емкость
  - B. Емкостное сопротивление
  - C. Импеданс
18. Импеданс - это:
- A. Алгебраическая сумма активного и реактивного сопротивления
  - B. Векторная сумма активного и реактивного сопротивления
  - C. Произведение активного и реактивного сопротивления
19. Выделяют следующие зоны дисперсии диэлектрической проницаемости живой ткани:
- A. Альфа
  - B. Бета
  - C. Гамма
  - D. Дельта
  - E. Сигма
  - F. Омега
20. Укажите разновидности электрохимических потенциалов:
- A. Электродный
  - B. Катодный
  - C. Диффузионный
  - D. Мембранный
  - E. Осмотический
  - F. Гидростатический
  - G. Фазовый

### **13-ТЕМА. МЫШЕЧНЫЕ И БЕЗМЫШЕЧНЫЕ ФОРМЫ ДВИЖЕНИЯ**

#### **План**

1. Введение. Скелетные мышцы
2. Молекулярные механизмы мышечного сокращения
3. Биомеханика скелетной мышцы
4. Миокард
5. Гладкая мускулатура
6. Немышечные формы движения

**Ключевы слова:** белки актина и миозина, поперечно-полосатые и гладкие мышцы, саркомер скелетных мышц, триада скелетных мышц, теория скользящих нитей Хилла, биомеханика скелетной мышцы

#### **Введение**

Подвижность и перемещение живых структур имеет много общих черт. В их основе лежат сходные по своей структуре и функции сократительные

белки актина и миозина, взаимодействие которых, в принципе, осуществляют необходимые перемещения в пространстве. Существуют специализированные структуры, выполняющие сократительные функции – мышечная ткань, хотя сократительные белки (актин) являются обязательным компонентом цитоскелета любой клетки.

Виды мышечного сокращения:

*Изометрическое* – при неизменных размерах

*Изотоническое* – при неизменной силе.

*Ауксотоническое* – при изменении длины и силы.

*Мышечная ткань подразделяется на:*

**1. Поперечно-полосатую** (скелетная и сердечная) мускулатуру.

**2. Гладкие мышцы.**

Их отличия касаются структуры, функции и эмбриогенеза.

### **Скелетные мышцы**

*Структурно-функциональной единицей* скелетной мышцы является *мышечное волокно* – многоядерная клетка, образовавшаяся из мезодермы слиянием нескольких сотен, а иногда и тысяч клеток. Длина мышечного волокна достигает 100-1000 мкм., толщина 20-80 мкм. Покрыто мышечное волокно двухслойной мембраной – *сарколеммой*. Непосредственно к цитоплазме прилежит плазмалемма – обычная плазматическая мембрана толщиной 7,5 нм. Через некоторое пространство, заполненное соединительно-тканными волокнами, располагается базальная мембрана (5,5 нм), которая является общей для пучка из 20-40 мышечных волокон.

Основное внутриклеточное пространство мышечного волокна заполнено миофибриллами диаметром 1-2 мкм. Их около 2000 и они тянутся вдоль всего мышечного волокна и сформированы в *саркомеры*.

*Саркомер скелетных мышц.* Особенностью скелетной, как и всех поперечно-полосатых мышц, является поперечная исчерченность внутреннего содержимого цитоплазмы характерными структурами саркомерами (Рис. 28).



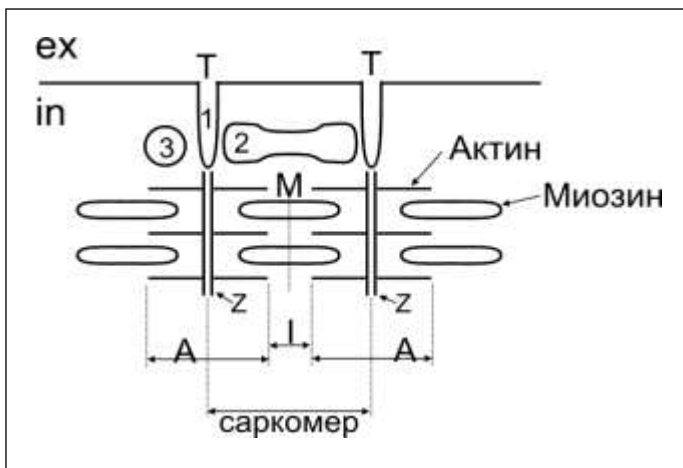


Рис. 28. Саркомер скелетных мышц

Длина саркомера (от Z- пластины до Z-пластины) в скелетных мышцах составляет 2,2мкм. В этих структурах располагаются основные сократительные белки актин и миозин. Строгая упорядоченность их в саркомерах приводит к чередованию оптически более плотных и менее плотных структур.

К Z-пластинам саркомера симметрично по обе стороны прикрепляются нити актина. Между ними в оптически менее плотной (изотропной) зоне I-дисков расположены нити миозина. Посредине каждого I-диска имеется М-полоса – особая мембрана, на которой фиксируются нити миозина. Частично нити актина и миозина перекрываются, образуя оптически более плотную (анизотропную) зону или А-диск. Светлую часть А-диска Н-полосу, содержащую только нити актина, посредине пересекает Z-пластина.

*Триада скелетных мышц* представляет собой совокупность структур, обеспечивающих запуск сокращения в ответ на раздражение сарколеммы. Она образована тремя структурами (см.Рис):

1. Т-системой – впячивания плазматической мембраны внутрь мышечного волокна диаметром около 0,03 мкм.
2. Концевыми цистернами *саркоплазматического ретикулума* (СПР).
3. Продольными каналами СПР.

Обычно триада располагается вблизи Z-пластин саркомера.

*Структура и функция сократительных белков*

Основную сократительную функцию во всех видах мышц осуществляют тонкие и толстые нити-миофиламенты (миофибриллы) актин и миозин.

Вспомогательную – регуляторную осуществляют тропомиозин (TrM, ММ:68 кD) и комплекс тропонина (Tr, ММ:70 кD), который состоит из субединиц (Рис. 29)

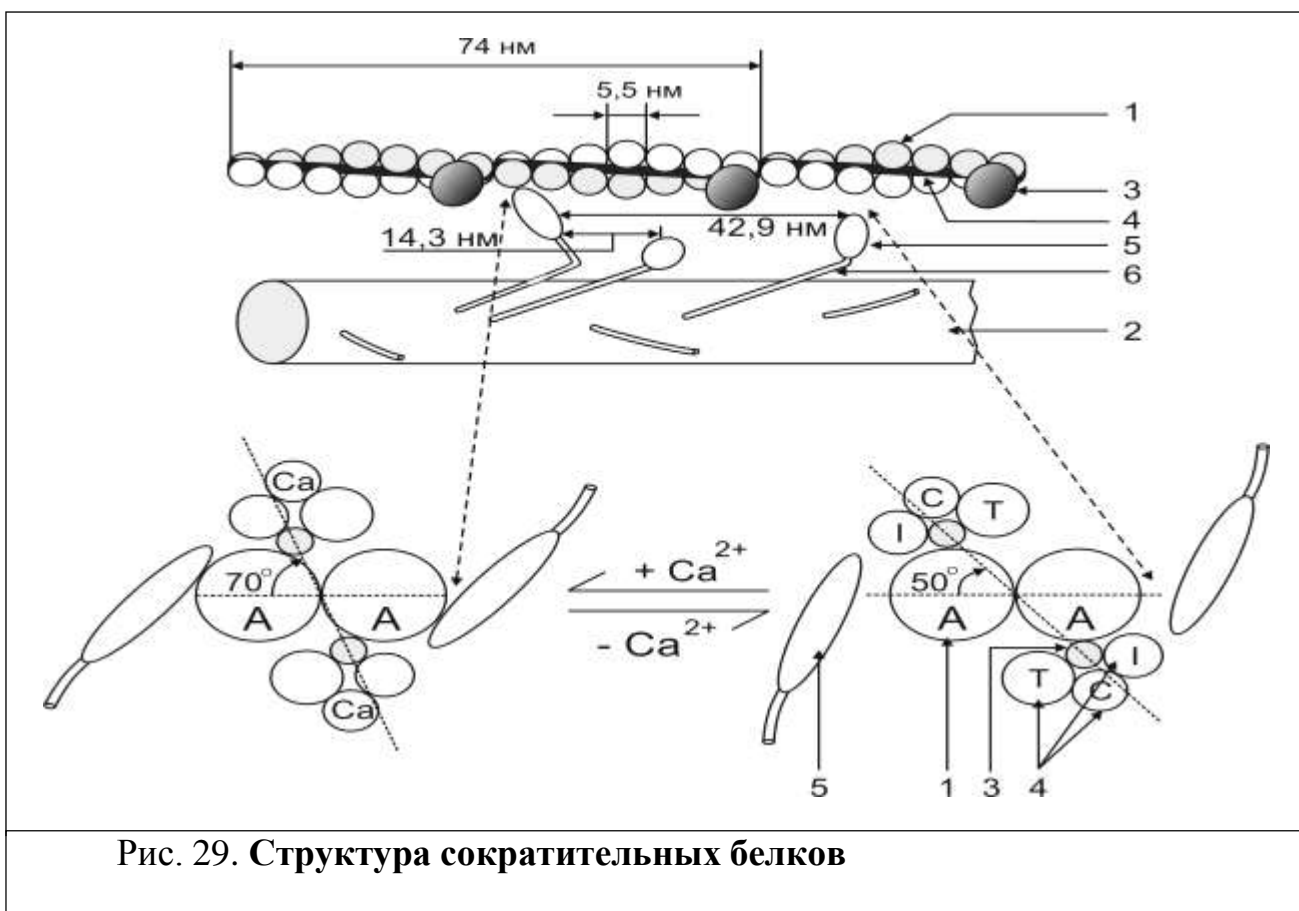


Рис. 29. Структура сократительных белков

1. Ингибиторный тропонин – TrI, MM:21 kD;
2. Тропонинсвязывающий тропонин – TrT MM:31 kD;
3. Кальций-связывающий тропонин – TrC, MM:18 kD.

Молекула актина встречается в двух формах: глобулярной (G) и фибриллярной (F). Переход из G- в F-форму происходит в присутствии АТФ и ионов кальция непосредственно перед сокращением. G-форма представляет собой глобулу MM 48 kD. Полимеризованная F-форма собирается на тропомиозине вместе с тропониновым комплексом: на одной молекуле TrM+Tr(I,T,C) обнаруживается 7 G-глобул актина. Кроме того, в окончательном варианте две таких структуры закручиваются относительно друг друга, образуя суперспираль – миофибриллу актина, непосредственного участника сокращения.

Молекула миозина (MM:480 kD) состоит из 2-х тяжелых (2x200 kD) и 4-х легких цепей. Две из них (18,5 kD) –отщепляются при обработке миозина 5,5-дителиобис-2-нитрбензойной кислотой (ДТНБ цепи). Две другие (20,7 kD и 16,5 kD) диссоциируют в щелочной среде и названы щелочными. Легкие цепи формируют головку молекулы миозина, обладающей способностью к АТФ-азной активности (щелочные цепи) и изменению конформации под воздействием ионов кальция (ДТНБ-цепи). Толстая миофибрилла содержит около сотни молекул миозина, закрученных относительно друг друга тяжелыми цепями от центра к краям. В результате, центральная область

толстых нитей миозина не содержит головок легких цепей, обладающих АТФ-азной активностью.

### Молекулярные механизмы мышечного сокращения

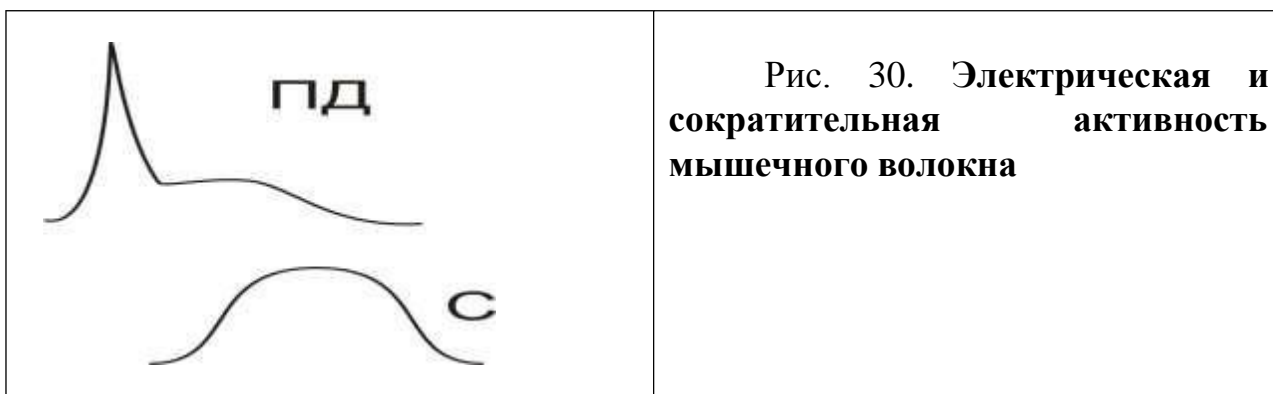
Для осуществления сокращения мышечного волокна требуется ряд условий:

1. Развитие потенциала действия на сарколемме.
2. Повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция выше  $0,1$  мкМ.

3. Наличие в цитозоле молекул АТФ.

Потенциал действия (ПД) скелетного волокна имеет  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ю природу (

Рис. 30).



Его амплитуда достигает 120-130 мВ, овершут  $+30$ - $+50$  мВ, продолжительность 3-5 мс. Особенностью является длительная следовая деполяризация (около 10 мс), обусловленная аккумуляцией ионов  $\text{K}^+$  в Т-трубочках. Их разрушение при действии глицерина удаляет не только следовый потенциал, но и делает невозможным развитие сокращения на фоне ПД.

Повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция происходит в результате его высвобождения из концевых цистерн СПР после развития ПД.

Взаимодействие электрических процессов на сарколемме (ПД) и непосредственно сократительных белков осуществляется с помощью процесса электромеханического сопряжения (ЭМС). В настоящее время существует несколько гипотез развития ЭМС:

1. Морфологическая, которая предполагает наличие структур, связывающих Т-систему и СПР.
2. Электрическая, которая предполагает перераспределение электрического поля с Т-системы на СПР.
3. Химическая, которая предполагает, что в процессе развития ПД внутрь волокна выделяется вещество-посредник запуска сокращения, например, инозитолтрифосфат.

После повышения внутриклеточного уровня выше критического ( $0,1$  мкМ) ионы кальция соединяются с ТгС, в результате чего весь тропониновый

комплекс изменяет конформацию и снимается ингибиторное влияние TrI на молекулу актина. К открывающимся на молекуле актина участкам прикрепляются легкие цепи головки миозина. Формирующийся актин-миозиновый комплекс в присутствии АТФ осуществляет перемещение тонких и толстых миофиламентов относительно друг друга – *теория скользящих нитей Хилла*.

*АТФ-азная активность миозина* не подчиняется простой кинетике ферментативного катализа (В.А. Энгельгард, 1939), так как протекает через ряд стадий, скорость которых зависит от структурных перестроек молекулы в присутствии актина и ионов кальция.

*Лимитирующей стадией* процесса становится распад фосфорилированной формы миозина в отсутствие актина (диссоциация актин-миозинового комплекса). Наоборот, после взаимодействия актина с миозином фосфорилированный миозин распадается очень быстро (скорость реакции увеличивается на несколько порядков). В результате распада молекула миозина становится свободной для очередного фосфорилирования, необходимого для перемещения нитей актина относительно миозина – собственно процесса сокращения.

Процесс расслабления начинается со снижения уровня внеклеточного кальция за счет работы системы активного транспорта СПР –  $Mg^{2+}$ -зависимой  $Ca^{2+}$ -АТФазы. Считается что этот процесс закачки внутрь СПР, в большей мере, происходит в его продольных трубочках.

### Биомеханика скелетной мышцы

Согласно основным принципам (Хилл) мышца состоит из (

Рис. 31):

1. Сократительного элемента (1);
2. Недемпфированного упругого элемента (2).

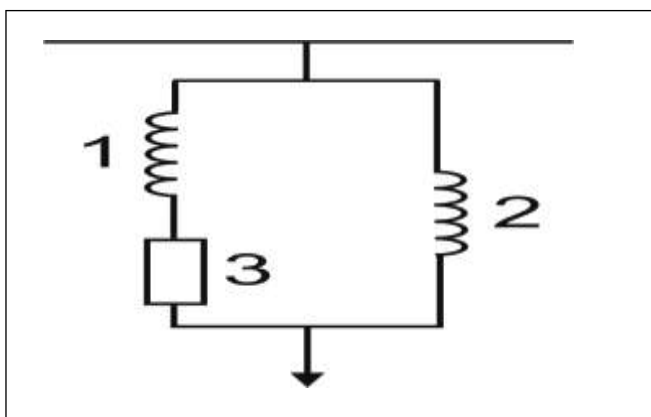


Рис. 31. Модель скелетной мышцы

В состоянии покоя и сократительный и упругий элемент растяжимы и не создают напряжения покоя. В состоянии сокращения элемент 1 укорачивается и в итоге либо развивается напряжение (фиксированные концы), либо укорочение (нефиксированные концы).

Основной параметр биомеханических свойств мышцы является соотношение между скоростью укорочения и нагрузкой (зависимость «сила-скорость») – *уравнение Хилла*.

Теплота в фазу одиночного *изотонического* сокращения состоит из теплоты укорочения и теплоты активации. Теплота активации – теплота момента нанесения раздражения до появления механической реакции:

$A$  – теплота активации – тепловой эквивалент всех реакций, включая ПД до момента начала укорочения.

$Q$  – теплота укорочения – линейно зависит только о степени укорочения и не зависит от нагрузки.

Общая теплота:

$$H = A + Q,$$

где:  $Q = ax$ ,  $A$  – теплота активации;  $x$  – степень укорочения;  $a$  – коэффициент укорочения ( $a=0,038 \text{ Вт.сек/см}^3 = \text{Дж/см}^2$ ).

При тетаническом сокращении отдельные теплоты активации будут суммироваться:

$$H = ftA + a \cdot l/3,$$

где:  $ftA$  – теплота поддержания;  $f$  – частота раздражения;  $t$  – его длительность;  $l/3$  – берется потому, что при тах тетанусе мышца сокращается на  $1/3$  исходной длины.

В рабочую фазу мышца способна производить работу и общая энергия сокращения:

$$E = H + W = A + ax + W,$$

где:  $W$  – затрата на подъем груза и  $W = Px$

Кинетический компонент  $W_k \approx 0$ .

$$E = A + ax + Px$$

$$\frac{dE}{dt} = P + a \frac{dx}{dt} = P + a v$$

$$\frac{dx}{dt} = v - \text{скорость сокращения}$$

Хилл экспериментально установил, что  $v = \frac{dE}{dt}$  – линейно зависит от  $(P_0 - P)$  с каким-то коэффициентом  $b$ , где  $P_0$  – тах при тетанусе;  $P$  – нагрузка при данном исследовании.

$$\frac{dE}{dt} = b P_0 - P \quad \text{или} \quad P + a v = b P_0 - P$$

или:

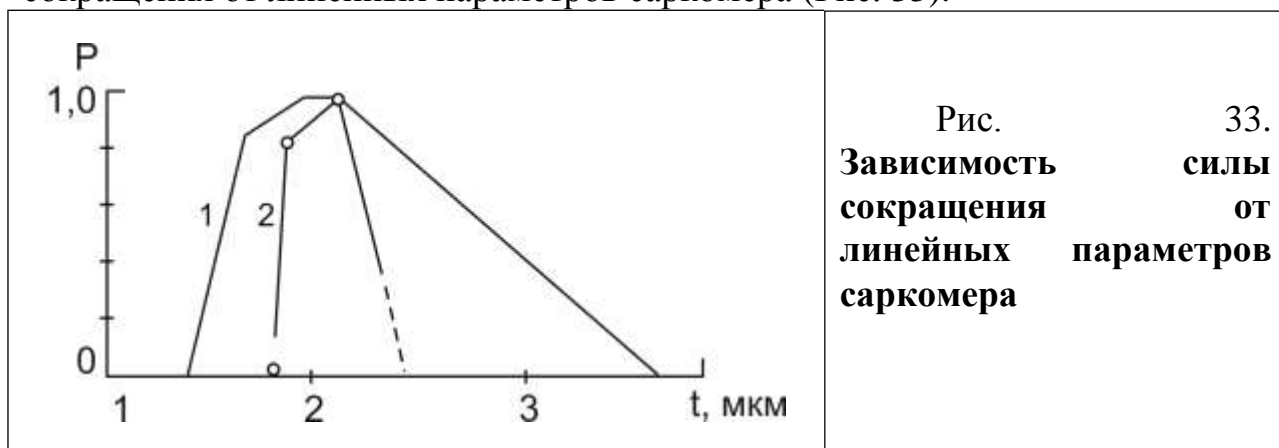
$$\frac{1}{V} + \frac{b}{P} + \frac{a}{V} = \frac{b}{P_0} + \frac{a}{V}, \quad P_0 - \text{const.}$$

График этой зависимости: гипербола с асимптотами  $a$  и  $b$ , где  $P \rightarrow 0$  и  $G = V_{\max}$  (

Рис. 32).



График изометрического сокращения определяет зависимость силы сокращения от линейных параметров саркомера (Рис. 33).



### Миокард

Миокард по своей структуре более гетерогенен, чем скелетная мускулатура. Кроме клеток рабочего миокарда, которые относятся к поперечно-полосатой мускулатуре, имеются проводящая система, состоящая из атипичных Т-клеток. Их отличает наличие отростков, кластерная форма, отсутствие вставочных дисков и саркомера.

*Структурно-функциональной единицей* клеток рабочего миокарда является кардиомиоцит—одоядерная клетка цилиндрической формы, длиной 10–100 мкм, диаметром 7-50 мкм. Покрывает кардиомиоцит, как и скелетное волокно, двухслойной мембраной — *сарколеммой*. Саркомер кардиомиоцита несколько короче, чем у скелетной мышцы (1,5-1,7мкм)

*Особенности:*

1. Наличие вставочных дисков, на которых обрывается саркомер, общих для нескольких кардиомиоцитов.
2. Т-система контактирует только с продольными трубочками СПР, образуя диадy.

*Потенциал покоя (ПП) кардиомиоцитов*

Распределение концентраций (в mM) ионов снаружи ( $e_x$ ) и внутри ( $i_n$ ) кардиомиоцита при потенциале покоя (ПП) представлена в таблице ниже:

	$Na^+$	$Cl^-$	$K^+$	$Ca^{2+}$
$e_x$	145	120	4	2
$i_n$	15	6	150	$10^{-7}$ м/л

Равновесные электро-химические потенциалы, участвующие в образовании ПП кардиомиоцитов равны для ионов:

Калия  $E_m - E_k = -80 - (-100) = 20\text{мВ}$ ,

Натрия  $E_m - E_{Na} = -80 - (+50) = -130\text{мВ}$

Хлора  $E_m - E_{Cl} = -80 - (+80) = 0\text{мВ}$  – пассивное распределение

Кальция  $E_m - E_{Ca} = 2[-80 - (+45)] = 450\text{мВ}$

Транспортные системы, которые поддерживают ПП на уровне  $-80 / -90$  мВ:

1.  $Na^+/K^+$  –АТФаза, удаляющая из клеток 3 иона натрия в обмен на 2 иона калия -электрогенна и уменьшает  $E_m$ .

2.  $Ca^{2+}$  – АТФаза поддерживает очень высокий градиент для ионов кальция, удаляя их наружу.

3.  $Na^+/Ca^{2+}$  – обмен выносит ионы кальция, используя градиент к ионам натрия. При деполяризации мембраны – работает в обратном режиме, оставляя ионы кальция внутри.

*Потенциал действия (ПД) рабочего миокарда имеет сложную структуру (Рис. 34).*

1. Фаза быстрой регенеративной деполяризации
2. Фаза быстрой регенеративной реполяризации
3. Фаза медленной реполяризации
4. Конечная реполяризация
5. Межимпульсный потенциал.

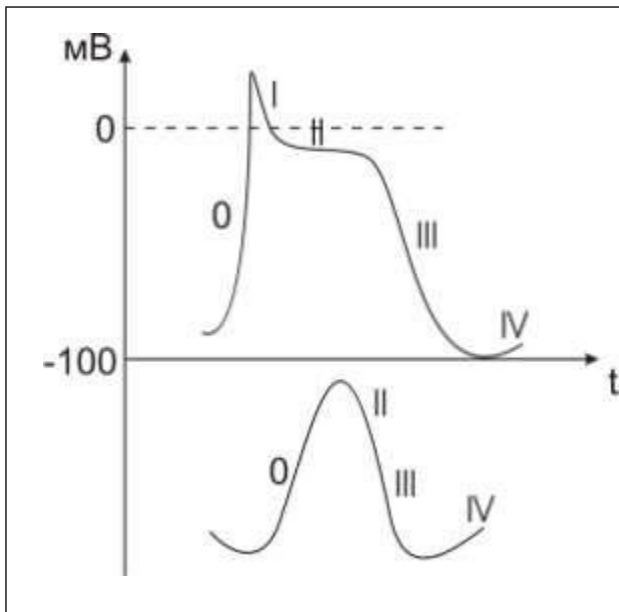


Рис. 34. Фазы потенциала действия

Фаза быстрой регенеративной деполяризации (О-фаза) обеспечивается входящим ионным током ( $I_{вх}$ ), который линейно зависит от  $Na_{ext}$  и чувствителен к действию блокатора натриевых каналов ТТХ.

Вывод: входящий ток натриевой природы:  $I_{Na} = (\tau = 1-2 \text{ мсек, амплитуда} = 1 \text{ мкА/см}^2)$  связан с открыванием быстрых потенциал-зависимых натриевых каналов.

Фаза быстрой регенеративной реполяризации и медленной реполяризации

Представляют совокупность:

1. овершут
  2. плато
- чувствительны к  $Na_{ex}$  и  $Ca_{ex}$ .

Один из компонент входящего ионного тока – медленный входящий ток  $I_{II}$  (порог – 35-10мВ max при 0мВ; 10-20мс.) не чувствителен к блокатору натриевых каналов ТТХ и не зависит от  $Na_{ex}$ . Зато он чувствителен к внеклеточному кальцию и действию блокаторов кальциевых каналов.

Вывод: Совместно с ионами натрия за генерацию ПД кардиомиоцитов отвечают ионы кальция.

Особенности  $I_{II}$  : зависимость от метаболизма цАМФ, ионов кальция и рН.

Фосфорилирование канала приводит к увеличению его времени жизни и количеству активированных представителей. Мишенью для фосфорилирования является  $\alpha$ субъединица (150кД) кальциевого канала-кальцидуктин. Фермент, отвечающий за фосфорилирование - каталитическая субъединица (29кД) цАМФ-зависимой протеинкиназы.



Кальций-зависимая регуляция кальцевых каналов осуществляется с помощью кальций-связывающего белка кальмодулина (CaM), располагающегося в их устье.

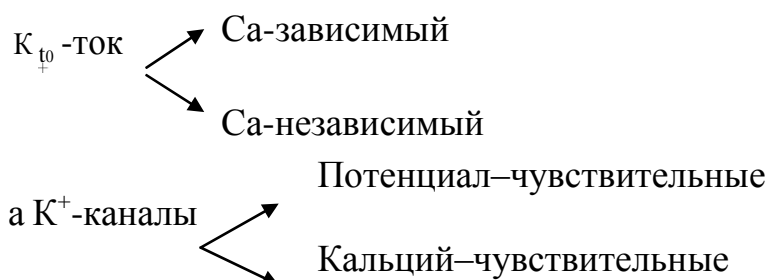
*РН-зависимая регуляция кальцевых каналов:* связана с тем, что при  $pH_e$  ниже 7,0 снижается кальцевый ток, а при  $pH_e = 6,1$  он вообще равен 0.

*Фазы реполяризации ПД кардиомиоцитов обусловлены:*

1. Инактивацией натриевых каналов;
2. Активация выходящего ионного тока –  $I_{вых}$ .

Природа  $I_{вых}$  транзиторный калиевый ток ( $K_{t0}, \tau - 50$  мсек). Он чувствителен к блокаторам калиевых каналов: ТЭА, 4-аминопиридину, ионам цезия.

Подразделяют транзиторный ток в зависимости от механизмов регуляции на:



Калиевые каналы, через который идет калиевый ток в зависимости от порога ( $\phi_{акт.}$ ) и времени активации ( $\tau$ ) разделяют на:

	$\phi_{акт.}$	$\tau$
$K_{t0}^-$	-50мВ	50мсек
аномального выпрямления	ПП	0-20мсек
задержанного выпрямления	-90-50мВ	$I_{x1} I_{x2}$
		500мсек; 5сек

*Фаза плато (Фаза 2) ПД кардиомиоцитов* обусловлена тем, что в этот период изменение мембранного потенциала не происходит:

$$\frac{dV}{dt} = 0$$

, тогда общий ионный ток равен нулю ( $I=0$ ), за счет того, что выходящая компонента становится равной входящей:

$$I_{вх} = I_{вых}$$

$I_{вх}$  обусловлена  $I_{Si}$ , тогда как,

$$I_{вых} = I_K + I_I$$

*Фаза плато* сменяется вновь реполяризацией (3), которая обеспечивается продолжающейся активацией  $I_K$  и наступлением инактивации  $I_{Si}$ .

Нобл (1962) предполагал, что  $I_{вых}$  обеспечивают  $K^+$ -каналы аномального выпрямления, так как при  $E -60$ мВ они открыты, но закрываются при

деполяризации, что снижает  $I_{\text{вых}}$ . Ходоров такие каналы нашёл в нейроне ( $I_{K_2}$ ).

*Фаза конечной реполяризации (Фаза 3) ПД кардиомиоцитов* обеспечивается нарастанием процесса инактивации  $I_{s_i}$  и активации  $I_K$ . В результате  $I_0$ -выходящий становится больше входящего. По природе  $I_{K_1}$  протекает по каналам задержанного выпрямления ( $I_{K_1} - \tau = 500\text{мсек}$ ;  $I_{K_2} - \tau = 5\text{сек}$ ).

*Электромеханическое сопряжение в миокарде* отличается от скелетного волокна тем, что в регуляции сокращения, наряду с кальцием СПР, в нем участвует внеклеточный кальций. Подтверждает эту точку зрения то, что  $I_{s_i}$  соотносится с силой сокращения на разных уровнях мембранного потенциала:

1.  $-60$ - $50\text{мВ}$ —активация сокращения пороговый уровень  $I_{s_i}$  и сокращения не совпадают,

2.  $-20$ - $+20\text{мВ}$  – пик  $I_{s_i}$  и сокращение тесно коррелируют,

3.  $> 20\text{мВ}$  величина  $I_{s_i}$  снижается более круто, чем сила сокращения.

Транзиторное изменение концентрации ионов кальция в цитоплазме обеспечивает:

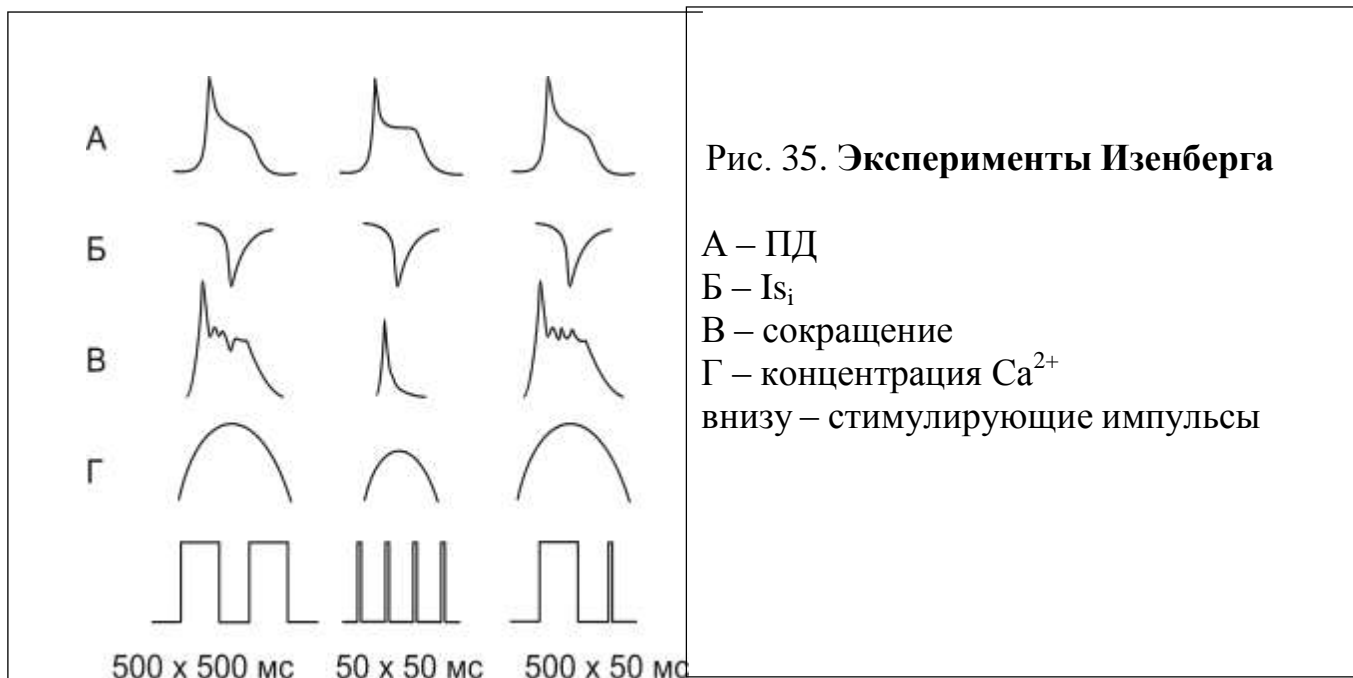
1. Передачу возбуждения с сарколеммы на сократительный аппарат.

2. Насыщение ионами кальция приводит к генерации максимального сокращения.

3. Удаление ионов кальция из цитоплазмы – фактор расслабления.

Зависимость силы сокращения от частоты стимуляции говорит о том, что чем больше частота стимуляции, тем меньше пауза между двумя стимулами, меньше период покоя и ионы кальция не успевают закачиваться в СПР и выходить из клетки. Накопление ионов кальция в СПР приводит к повышению сокращения в последнем стимуле. Таким образом,  $I_{s_i}$  непосредственно не обеспечивает сокращение, а лишь стимулирует высвобождение ионов кальция из СПР.  $I_{s_i}$  подпитывает СПР ионами кальция (быстрая фаза  $I_{s_i}$  -ПД, медленная – подпитка).

Данная точка зрения подтвердилась в экспериментах Изенберга – одиночный кардиомиоцит + фиксация напряжения + регистрация сокращения + определение внутриклеточного кальция (Рис. 35).



1. При чередовании импульсов 500 мс через 500 мс регистрировался ПД,  $I_{s_i}$ ,  $Z_1$  и  $Z_2$  – быстрая и медленная компонента увеличения внутриклеточного кальция и сокращение.

2. При сокращении длительности импульсов до 50 мс ПД развивался, но  $Z_2$  и  $I_{s_i}$  – укорачивались, амплитуда сокращения снижалась.

3. Если первый стимул был короткий 50 мс, а второй нормальный -500 мс, то отсутствовала фаза  $Z_2$ , величина  $I_{s_i}$  была нормальной, амплитуда сокращения снижалась.

4. Если первый стимул был нормальный 500 мс, а второй короткий 50мс, то на фоне ПД были выражены обе фазы  $Z_1$  и  $Z_2$ , и, хотя  $I_{s_i}$  укорачивался, амплитуда сокращения была как в контрольном случае.

Вывод:

1. Фаза  $Z_1$  совпадает с  $I_{s_i}$  и им обусловлена.

2. Фаза  $Z_2$  – связана с выбросом кальция из СПР и определяет амплитуду сокращения.

*Автоматию сердца обеспечивают Р-клетки (N-клетки) – пейсмекеры, которые подразделяют на истинные и латентные. Они располагаются в синатриальном узле, атриовентрикулярном узле, пучках Бахмана, Гисса*

Р-клетки объединены в пучки (гроздь) с общей базальной мембраной и у каждой своя плазматическая мембрана. Структура синатриального узла сочетается в центральной части Р-клетки; ближе к периферии – промежуточные клетки и рабочий миокард.

*Электрофизиологические параметры Р-клеток*

1. плавный переход межимпульсного периода в фазу О ПД;

2. нет периода стабилизации фазы 4, т.е. нет как такового ПП.

Существует медленная диастолическая деполяризация (МДД - max -50-60мВ);

3. медленная  $\frac{dV}{dt}$  в фазу 0 ( $\sim 10$  в/с);
4. закругленная вершина;
5. отсутствие плато;
6. отсутствие или низкий овершут;
7. ПД не чувствителен к ТТХ, но угнетается блокаторами кальциевых каналов

8. Латентные пейсмекеры имеют большую скорость  $dV/dt$  в фазу 0 и меньшую скорость МДД, имеют плато с горбом.

*Механизмы автоматии* основаны на том, что состоянии покоя сумма входящих и выходящих ионных токов равна:  $\sum I_{\text{вх}} = \sum I_{\text{вых}}$

Для возникновения МДД необходимо, чтобы  $\sum I_{\text{вх}} > \sum I_{\text{вых}}$  достаточного для достижения уровня порога и возникновения ПД.

Согласно гипотезе Бабского смещение  $\varphi_c$  в сторону более отрицательного  $E_m$ , например, до  $-70$  мВ, при ПП в  $-55$ - $60$  мВ будет приводить к усилению  $I_{\text{вх}}$ .

Согласно гипотезе Ходорова этого же эффекта можно достичь при снижении выходящего калиевого тока  $K$ .

Согласно гипотезе Noble, Tsien (1980) в этом процессе задействованы  $k_2$  – каналы аномального выпрямления, которые кратковременно активируются при гиперполяризации мембраны, а затем их инактивация может привести к развитию МДД.

*Хроноинотропия – сила сокращения зависит от частоты стимуляции.*

Если она возрастает – это лестница Боудича, если снижается – Вудвордса.

Оценка хроноинотропии проводится сравнением амплитуд тестируемого сокращения ( $A_x$ ) к фоновому ( $A_\phi$ ):

$$P = \frac{A_x}{A_\phi} - 1 \quad - \text{ формула Изакова}$$

Если  $P > 0$  – лестница Боудича; Если  $P < 0$  – Вудвордса.

Гипотеза Кохвезера: при возбуждении мышцы выделяются 2 фактора, которые действуют на сократительный аппарат:

1. NIEA – негативный инотропный эффект активации – вызывает снижение сокращения.

2. PIEA – позитивный инотропный эффект активации – усиливает сокращения.

В текущем режиме величина тестирующего сокращения равна:

$$A_T = A_\phi + \text{PIEA} - \text{NIEA}.$$

Если  $A_T > A_\phi$  – лестница Боудича; если  $A_T < A_\phi$  – Вудвордса.

Предположительные (гипотетические) факторы, влияющие на хроноионотропию:

1. Параметры ПД (увеличивается амплитуда и длительность ПД) -не соответствует экспериментальным данным, так как все наоборот.

2. Влияние нейрогуморальных факторов, но изопротеринол, резерпин (истощение кальциевого депо катехоламинами), атропин – все не действуют на хроноионотропию.

3. Турпаев предположил участи метаболитов в хроноионотропном эффекте.

4. Участие ионов калия, которые ингибируют образование актомиозинового комплекса. При частой стимуляции теряется  $K_{int}$ , за счёт активации  $Na/K$ -АТФ-азы и увеличивается амплитуда сокращения. Но после эстрасистолы – эффект облегчения, хотя  $[K]_{int}$  – та же.

5. Чем больше ионов кальция, тем больше амплитуда сокращения. Кальций может поступать либо извне, либо из депо. Предпочтительней второй путь. Чем меньше потеря кальция в среду, тем больше его выйдет из СПР при втором стимуле и усилит второе сокращение.

6.Изаков отмечает роль  $Na^+/K^+$ -АТФазы. При ПД входит много  $Na^+$ , который скапливается в примембранных слоях и активирует  $Na/K$ -АТФазу. Это тормозит  $I_{вых}$ . К и наступает поздняя реполяризация, которая увеличивает поступление кальция в клетку и сокращение.

7.  $Na^+/Ca^{2+}$ -обмен. При увеличении  $Na_i$  за счёт ПД создаётся локальный  $grad Na_i - Na_e$  и усиливает работу  $Na^+/Ca^{2+}$  -обмена в обратном режиме, что увеличивает поступление кальция в клетку и сокращение.

*Особенности биомеханики миокарда* заключается в том, что он не способен к тетанусу и обладает большим напряжением покоя. Сокращение зависит от длины мышцы и частоты стимуляции. Скорость сокращения сердечной мышцы; меньше, чем скелетной мышцы.

В миокарде резко выражена зависимость силы сокращения от длины мышцы – *Закон Франка-Старлинга* (Энергия, выделяемая мышцей при переходе от покоя к сокращению, пропорциональна площади исходной активной поверхности) и, чтобы построить кривую «сила-длительность», надо делать опыты при данной мгновенной длине мышцы.

### **Гладкая мускулатура**

*Особенности структуры.* Гладкая мускулатура представлена практически во всех тканях и органах: сосуды, воздухоносные пути, желудочно-кишечный тракт, мочеполовая система и т.д.

Основной структурной единицей гладких мышц является гладкомышечная клетка (ГМК), имеющая обычно удлинённую веретенообразную форму. ГМК располагаются параллельно и последовательно, образуя мышечные пучки или тяжи, и мышечные слои. Их размеры зависят от вида и функционального состояния гладкой мышцы: 20-500 мкм в длину и 5 – 20 мкм в толщину в средней части клетки.

Снаружи ГМК покрыта сарколеммой, состоящей, как и у других мышц, из плазматической и базальной мембраны. Под электронным микроскопом в плазматической мембране видны своеобразные впячивания, колбовидной формы, так называемые кавеолы и электронноплотные участки. Некоторые исследователи считают, что эти тяжи являются местом прикрепления актиновых протофибрилл.

Хотя большая часть поверхности одной мышечной клетки отделена от соседних мышечных клеток пространством в 100 нм и более (межклеточное пространство), которое заполнено коллагеновыми и эластиновыми волокнами, фибробластами, капиллярами и др., для ГМК характерны и другие виды взаимодействия:

1. Нексусы: щель между контактирующими мембранами соседних клеток очень узка – 2 – 3 нм, в мембранах нексусов контактирующих клеток обнаруживаются кластерные образования и внутримембранные частицы размером 9 нм. Полагают, что эти частицы представляют собой межклеточные ионные каналы.

2. Десмосомоподобная связь. В областях этих контактов обнаруживается наличие участков электронно-плотного вещества. В висцеральных мышцах ширина щели между контактирующими мембранами при этом типе контактов может достигать 20 – 60 нм. Полагают, что этот вид контактов служит в основном для механического соединения клеток.

3. Третий тип связи между клетками – это связь с помощью отростков, которыми одна клетка входит в соответствующее углубление другой. Ширина щели между мембранами соседних клеток в этом случае 10 – 20 нм. Полагают, что эти связи важны для передачи механической силы между клетками.

#### *Пассивные электрические свойства гладких мышц*

Гладкомышечная ткань, несмотря на дискретность с морфологической точки зрения, является функциональным синцитием, в котором плазматические мембраны многих мышечных клеток представляют собой как бы единую непрерывную мембрану одной большой мышечной клетки. Поэтому, основные показатели ГМК можно сравнить с кабельным свойствами аксона:

1. постоянная времени ( $\lambda$ ) 100-300 мс и постоянная длины ( $\tau$ ) 1-3 мм;
2. сопротивление и емкость мембраны 0,6-2,9 ГОм и 30 – 40 пкФ, соответственно;
3. удельное сопротивление и емкость мембраны 10–50 кОм/см<sup>2</sup> и 1,3-3 мкФ/см<sup>2</sup>, соответственно;
4. удельное сопротивление миоплазмы порядка 250 Ом/см.

*Потенциал покоя (ПП)* различных ГМК находится в пределах от –50 до –60 мВ. В его образовании участвуют главным образом ионы K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup>. Особенностью ионного состава ГМК является большая внутриклеточная концентрация ионов хлора и натрия.

Тот факт, что величина ПП ГМК значительно отличается от равновесного калиевого потенциала (-55 мВ для ГМК *taenia coli*, тогда как  $E_K = -90$  мВ), объясняется в первую очередь тем, что мембрана ГМК обладает так же относительно высокой проницаемостью для ионов натрия и хлора. Соотношение проницаемости мембраны ГМК для этих ионов равно:  $P_K:P_{Na}:P_{Cl}=1:0,16:0,61$ . Расчеты величины ПП по формуле Гольдмана-Ходжкина-Катца с учетом этих проницаемостей и потенциалов равновесия для соответствующих ионов ( $E_K = -89$  мВ;  $E_{Na} = +62$  мВ;  $E_{Cl} = -22$  мВ) дали величину потенциала покоя равную только -37 мВ. Таким образом, измеренная величина ПП оказалась почти на 20 мВ выше расчетной.

Роль ионов кальция в этом мала, так как они обладают низкой проницаемостью через мембрану ГМК, однако они существенно влияют на проницаемость мембраны к другим ионам и, в частности к ионам  $Na^+$ . Удаление ионов кальция из омывающего раствора сопровождается деполяризацией клеток и существенным уменьшением сопротивления мембраны.

Другой причиной этого расхождения может быть участие в образовании ПП электрогенного компонента натриевого насоса, однако ток, генерируемый натриевым насосом, может создавать потенциал лишь около 5 мВ. Еще одной причиной расхождения между расчетными и теоретическими значениями ПП может быть высокая внутриклеточная концентрации ионов хлора.

*Потенциал действия (ПД)* гладких мышц позволяет разделить их по способности его генерировать в ответ на пороговую и сверхпороговую стимуляцию:

1. *Фазные* – быстро сокращающиеся мышцы, способны генерировать ПД, имеют относительно высокую скорость укорочения и часто обладают спонтанной электрической и сократительной активностью. Их ответ на деполяризацию мембраны является относительно быстрым, но носит транзиторный характер. Примером является: ГМК пищеварительного тракта, матки, мочевыводящих путей, воротной вены.

2. *Тонические* гладкие мышцы, как правило, отвечают на стимуляцию агонистом градуальной деполяризацией, не генерируют ПД и спонтанную сократительную активности, имеют низкую скорость укорочения, но могут эффективно поддерживать сокращенное (тоническое) состояние в течение продолжительного времени.

ПД различных ГМК имеют форму от простых спайковых потенциалов длительностью 20 – 50 мс (миометрий, воротная вена, кишка), до сложных – с плато и осцилляциями на них, длительностью до 1 сек и больше (мочеточник, антральная часть желудка).

*Особенностью электрогенеза ГМК является то, что главную роль в генерации ПД играют ионы  $Ca^{2+}$ .* Эти ионы ответственны за генерацию деполяризующего входящего тока, который состоит из двух компонентов:

1. *начального инактивирующегося* – достигнув своего максимума, он не держится на постоянном уровне, а медленно уменьшается;
2. *последующего неинактивирующегося*, который не инактивируется при больших деполяризующих смещениях мембранного потенциала.

*Инактивация входящего кальциевого тока* зависит не столько от величины мембранного потенциала, сколько от концентрации ионов кальция внутри гладкомышечной клетки. Функциональное значение этого явления состоит, по-видимому, в том, что ионы кальция, входящие в ГМК, через отрицательную обратную связь регулируют интенсивность их возбуждения, а следовательно, и поступление в клетку самих ионов кальция.

*Ионы калия, ответственные за генерацию выходящего гиперполяризующего тока*, так же оказывают влияние на амплитуду и продолжительность ПД в зависимости от концентрации ионов кальция внутри ГМК. Хотя калиевый ток продолжает увеличиваться и при всех возрастающих положительных смещениях мембранного потенциала.

Все воздействия, ведущие к угнетению калиевой проводимости, способствуют возникновению ПД в тех ГМК, которые в исходном состоянии не способны генерировать ПД. Это объясняет отсутствие ПД в тонических мышцах. В нормальных условиях мембрана этих ГМК обладает большой калиевой проводимостью мембраны, препятствующая развитию регенеративной деполяризации.

ПД ГМК, состоящие из начального быстрого пикового компонента и последующего плато, имеют более сложную ионную природу. Например, в ГМК мочеочника начальный пиковый компонент имеет преимущественно кальциевую природу, тогда как последующий медленный компонент плато – преимущественно натриевую.

*Спонтанная активность гладких мышц*, имеющая миогенную природу, имеет два основных типа:

1. *Повторно возникающие ПД различной частоты и степени регулярности*, не сопровождающиеся длительной стойкой деполяризацией ГМК. В основе лежит способность определенной группы ГМК генерировать так называемые генераторные потенциалы (предпотенциалы). Они обнаруживаются при внутриклеточном микроэлектродном отведении в виде небольшой медленной деполяризации, которая достигнув порога возбуждения переходит в быстро нарастающую фазу деполяризации ПД.

2. *Медленные волны деполяризации* могут быть различными по форме, амплитуде (10 – 30 мВ), продолжительности (2 – 10 с), частоте (1 – 18 колебаний в минуту), скорости распространения (до 8 см/сек). Предполагается, что эти волны первично возникают в особых пейсмекерных мышечных клетках. Когда медленная волна достигает порога возбуждения, могут возникать потенциалы действия, частота которых зависит от амплитуды волны.

*Особенности сократительного аппарата ГМК обусловлена следующим:*



1. *Отсутствием Т-системы;*
2. *Незначительным объемом СПР (2 – 7 % объема цитоплазмы).*

Сократительный аппарат ГМК представлен миозиновыми и актиновыми протофибриллами, а так же рядом регуляторных белков: киназой легких цепей миозина, фосфатазой легких цепей миозина, тропомиозином, кальдесмоном, кальпонином. Соотношение актиновых и миозиновых нитей в ГМК колеблется от 1:5 до 1:27, что заметно больше чем в скелетных.

Молекула гладкомышечного миозина состоит из двух тяжелых цепей и двух пар легких цепей – регуляторных с массой 20 кДа (РЛЦ) и существенных с массой 17 кДа (ЛЦ).

Миозин ГМК отличается от миозина скелетных мышц размером (толщина 12–15 нм, длина 2,2 мкм), формой, аминокислотным составом, растворимостью, чувствительностью к ферментам, солям и денатурации, более низкой (в 10 раз) АТФ-азной активностью.

Актиновые протофибриллы ГМ почти не отличаются от исчерченных. Они имеют простую удлинённую форму, диаметр их 6 – 8 нм. На поперечном срезе актиновые протофибриллы имеют круглую форму. Иногда обнаруживается гексагональное расположение тонких протофибрилл относительно толстых, как и в исчерченных мышечных волокнах.

В состав актиновых протофибрилл ГМК входят актин, тропомиозин и кальдесмон. Из тропомиозина ГМК выделен белок леотонин, который, по-видимому, выполняет функции аналогичные тропонину С скелетных мышц. Актиновые протофибриллы содержат так же ряд дополнительных минорных и модулирующих белков: филамин и винкулин, которые участвуют в прикреплении тонких протофибрилл к плотным тельцам мембраны, а, кроме того, участвуют в активации актомиозиновой АТФазы и в ряде других процессов.

В ГМК, помимо миозиновых и актиновых протофибрилл имеются так называемые промежуточные протофибриллы, которые образуют своеобразную внутриклеточную сеть и связывают между собой плотные тельца плазматической мембраны и миоплазмы.

Предполагается, что актиновые и миозиновые протофибриллы объединены в миофибриллы, простирающиеся на относительно небольшое расстояние под углом к длинной оси мышечной клетки. Своими концами миофибриллы прикреплены к плотным тельцам плазматической мембраны (в состав которых входит белок  $\alpha$ -актин), являющимися аналогами Z-пластинок скелетных мышечных волокон.

*Киназа легких цепей миозина – фермент, содержащий:*

а) каталитический домен, в котором находятся участки связывания АТФ и регуляторных легких цепей миозина.

б) регуляторный домен, содержащий участок связывания комплекса кальций-кальмодулин.

в) автоингибиторную псевдосубстратную последовательность, которая в отсутствие комплекса кальций-кальмодулин взаимодействует с каталитическим центром и блокирует фосфотрансферную реакцию.

*Фосфатаза легких цепей миозина* – это фермент, относящийся к фосфатазам 1 типа, состоит из каталитической и регуляторной субъединиц.

*Тропомиозин* в ГМК содержится в количестве 1:14 по отношению к актомиозину, он препятствует взаимодействию миозина с актином.

*Кальдесмон* – регуляторный белок, связан с филаментами актина, расположен непосредственно вдоль тропомиозина в канавке, формируемой гантелеобразными молекулами актина. Функция кальдесмона заключается в удержании тропомиозина в положении, препятствующем взаимодействию миозина с активным центром актина, а так же препятствии продвижения филаментов актина по миозину.

*Кальпонин* – актин- и кальмодулин-связывающий белок, относительно специфичный для гладкой мускулатуры. Предполагается, что кальпонин участвует в кальций-зависимой регуляции сокращения, а его прямое фосфорилирование протеинкиназой С вносит вклад в повышение кальциевой чувствительности ГМ. Он расположен на актиновых филаментах, ингибирует АТФ-азу актомиозина и подвижность актиновых филаментов вдоль миозина.

*Электромеханическое сопряжение в ГМК* представляет цепь событий, ведущих к активации сокращения. Как и в скелетных мышцах, запускается увеличением концентрации ионизированного кальция в миоплазме выше  $10^{-7}$  М. Максимальное сокращение ГМК наблюдается при концентрации  $10^{-5}$  М.

*Особенности.* Так как при удалении ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из внешней среды или добавлении блокаторов кальциевого тока угнеталась как электрическая так и сократительная активность ГМК, значит развитие сопряжения возбуждения-сокращения обеспечивается внеклеточными ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , участвующими в генерации ПД.

#### ***Основные пути поступления ионов кальция в ГМК:***

##### ***1. Кальциевые каналы плазматической мембраны:***

- А. *Потенциал-зависимые инактивирующиеся* кальциевые каналы, ответственные за генерацию потенциалов действия.
- Б. *Потенциал-зависимые неинактивирующиеся* кальциевые каналы, обеспечивающие стационарный ток ионов кальция через деполяризованную мембрану.
- В. *Хемочувствительные (рецептор-управляемые)* кальциевые каналы, открывающиеся при активации мембранных рецепторов.

##### ***2. Немитохондриальное депо:***

- А. *Саркоплазматических ретикулум (СПР).*
- Б. *Примембранные слои.*
- В. *Внутриклеточные везикулы-кальцисомы.*

#### ***Основные пути удаления ионов кальция из ГМК:***

1. Кальциевые насосы плазматической мембраны и СПР.

2. Натрий-кальцевый обмен.

*Молекулярные механизмы сокращения ГМК.*

Основным акцептором  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме ГМК является кальмодулин, который после связывания 4 ионов кальция взаимодействует с регуляторными белками – киназой легких цепей миозина и кальдесмоном. Активированная таким образом киназа легких цепей миозина фосфорилирует регуляторные легкие цепи миозина и тем самым активирует  $\text{Mg}^{2+}$ -зависимую АТФ-азу миозина, тем самым, осуществляя сокращение *актин-зависимым способом*.

Однако в покое мышце участки взаимодействия с миозином экранированы лежащим вдоль актинового тяжа комплексом тропомиозина с кальдесмоном. Поэтому вторым необходимым условием активации актомиозина является такое изменение конформации кальдесмона, которое, по все видимости, освобождает тропомиозин, следствием чего является экспонирование миозин-связывающих участков на актине. Это происходит при взаимодействии кальдесмона с комплексом кальций-кальмодулин, или сходным с ним другим кальций-связывающим белком.

Таким образом, развитие сокращения гладких мышц требует одновременной активации как миозина путем его прямого фосфорилирования, так и актина путем устранения ингибирующего действия кальдесмона. То есть при высокой степени активации миозина кальдесмон может лишь тормозить, но не способен полностью заблокировать его кооперативное связывание с актином.

Снижение внутриклеточной концентрации кальция сопровождается диссоциацией комплексов кальмодулина с киназой легких цепей миозина и кальдесмоном, ее инактивацией и восстановлением ингибирующего действия кальдесмона. Последующее дефосфорилирование легких цепей миозина специфичной, кальций-независимой фосфатазой легких цепей миозина и переход тонких филаментов в неактивное состояние определяет расслабление ГМК. Как и в случае активации сокращения, основным условием релаксации является дефосфорилирование миозина, тогда как кальдесмон-зависимая инактивация тонких филаментов может ускорять расслабление.

Однако хорошо известно, что сила сокращения ГМК не всегда прямо пропорциональна внутриклеточной концентрации ионов кальция. Изменяя чувствительность сократительного аппарата ГМК к ионам кальция при его фактическом постоянстве, можно как бы модулировать изменения внутриклеточного уровня кальция. В настоящее время рассматриваются несколько механизмов, обеспечивающих увеличение кальциевой чувствительности сократительного аппарата.

1. Механизм связанный с активацией протеинкиназы С диацилглицеролом. Мишенями протеинкиназы С могут быть все основные

белки регуляторы гладкомышечного сокращения – киназу и фосфорилазу легких цепей миозина, кальдесмон и регуляторные цепи миозина:

2. Активация мономерных G-белков семейства Rho и ингибирующим фосфорилированием фосфорилазы легких цепей миозина Rho-протеинкиназой.

3. Феномен защелки. Этот механизм постулирует специфичное для ГМК образование нециклирующих дефосфорилированных актомиозиновых мостиков. Причем миозин дефосфорилируется в составе уже сформированных и находящихся в состоянии сильного связывания мостиков, что приводит к существенному уменьшению константы скорости диссоциации головок миозина и образованию так называемых защелкнутых мостиков.

Однако *in vivo*, тонический сократительный ответ ГМК достигается при комбинации всех механизмов.

*Сократительная и электрическая активность ГМК регулируется* множеством физиологически и биологически активных веществ. Реализация их эффектов на гладкомышечные клетки осуществляется с участием систем вторичных посредников.

*Активация цАМФ-зависимой сигнальной системы* угнетает сокращения ГМК из-за:

1. Повышения калиевой проводимости мембраны – ее гиперполяризация.
2. Стимуляции работы кальциевых насосов плазматической мембраны и СПР.
3. Снижения сродства фосфорилированной киназы легких цепей миозина к кальмодулину.
4. Снижения чувствительности сократительного аппарата ГМК к ионам кальция.
5. Активации работы натрий-калиевой АТФ-азы.

*Активация кальциевой сигнальной системы:*

1. Стимулирует работу кальциевого насоса плазматической мембраны и СПР.
2. Комплекс кальций-кальмодулин способен потенцировать кальций-зависимую калиевую проводимость мембраны ГМК
3. Комплекс кальций-кальмодулин участвует в кальций-зависимой инактивации кальциевых каналов.

*Сигнальная система, связанная с метаболизмом мембранных фосфоинозитидов*

1. Инозитол-1,4,5,-трифосфат индуцирует освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из СПР.
2. Стимулирует деятельность кальциевого насоса, обеспечивая реабсорбцию кальция.

3. Активация протеинкиназы C оказывает угнетающее влияние на кальциевые каналы, метаболизм мембранных фосфоинозитидов, снижает сродство рецепторов к агонистам рецепторов.

4. Активация протеинкиназы C повышает калиевую проводимость мембраны из-за активации натрий-протонного обмена.

*Активация цГМФ-зависимой сигнальной системы связана с метаболизмом оксида азота*

*и вызывает:*

1. Модулирующее влияние на кальциевую проводимость мембраны
2. Снижает сродство киназы легких цепей миозина к кальмодулину.
3. Увеличивает калиевую проводимость мембраны
4. Ингибирует активность некоторых изоформ протеинкиназы C
5. Снижает активность фосфолипазы C
6. модулирует активность натрий-калиевого насоса

*Особенности биомеханики сокращения ГМК.*

Потребление АТФ гладкомышечными клетками (у теплокровных) животных в сокращенном состоянии почти в 1000 раз меньше чем в скелетных мышцах.

Сила, развиваемая гладкой мышцей, определяется следующими факторами

1. агентом, вызывающим активность
2. концентрацией этого агента
3. начальной длиной мышцы.

Имеется оптимальная длина  $L_0$  мышцы, при которой развиваемая ей сила, достигает максимума при действии агониста в данной концентрации.

В отличие от скелетной мышцы, при длинах меньших  $L_0$  ГМ генерирует большую силу, чем скелетная, а при длинах больших, чем  $L_0$ , активная сила ГМ падает более полого, чем скелетной.

### **Немышечные формы двигательной активности**

Помимо рассматриваемых выше мышечных сокращений в организмах животных и человека существует множество других форм двигательной активности. Здесь кроме свойственных практически всем нормальным эукариотным клеткам внутриклеточных перемещений (сокращений митохондрий, движение рибосом, перемещений хромосом при митозе и мейозе) могут быть названы более мощные движения, перемещающие клетки в их среде или воздействующие на эту среду. Таковы амeboидные движения, т.е. движения с помощью псевдоподий, жгутиков и ресничек. Эти формы движений наблюдаются у простейших (одноклеточных) организмов и у специализированных клеток многоклеточных животных.

Например, амeboидные движения, формирование ложноножки и

перетекание протоплазмы в нее присущи как амебам, так и лейкоцитам высших животных. Жгутиковые движения, т.е. движения специального выроста клетки – жгутика, служат для перемещения в пространстве у простейших (жгутиконосцев) и у сперматозоидов высших животных и человека.

Ресничные движения, т.е. движения специальных выростов клетки – ресничек, наблюдаются у инфузорий как средство их перемещения в среде, но оно имеет место и у клеток мерцательного эпителия пищевода лягушки, трахеи, бронхов и фаллопиевых труб млекопитающих. Здесь это движение обеспечивает перемещение жидкости и твердых частиц в соответствующем направлении.

Амебоидные, жгутиковые и ресничные движения – это достаточно сложные и мало изученные процессы. По-видимому, их молекулярная основа подобна молекулярной основе мышечных сокращений. При всех этих движениях энергия извлекается из АТФ. Во всех случаях действуют специальные сократительные белки с АТФазной активностью, играют роль ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ .

При амебоидной локомоции лейкоцитов, видимо, работает примембранная сеть актомиозиноподобных микрофиламентов. Она обеспечивает изменения формы мембранного футляра клетки и перетекание ее протоплазмы в определенном направлении. Тот же механизм действует и при эндоцитозе, обеспечивая впячивание мембраны.

При движениях жгутиков и ресничек работает их внутренний сократительный аппарат, представленный девятью парами периферических фибрилл и одной парой центральных. У периферических фибрилл имеются «ручки». Предполагают, что эти ручки, построенные из белка динеина (подобно миозину), играют ту же роль, что и миозиновые мостики в мышечном сокращении: они периодически прикрепляются к соседней фибрилле (ее актиноподобным участкам) и тянут ее, обеспечивая скольжение данной фибриллы относительно соседних. Энергию для этого движения дает АТФ. Без АТФ ни жгутики, ни реснички не работают. Но АТФ здесь, как и в мышце, играет, кроме того, роль пластификатора. Без АТФ реснички застывают в одном положении.

Существенную роль в этих движениях, например в движениях ресничек, играют ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . Показано, что у простейших концентрации АТФ<sub>вн</sub> и  $Mg^{2+}_{вн}$  определяют частоту биения ресничек, тогда как концентрация  $Ca^{2+}_{вн}$  определяет направление эффективного удара реснички. Если  $Ca^{2+}_{вн} \leq 10^{-7}$  моль/л, то реснички гребут к заднему концу тела, перемещая клетку вперед. Однако при воздействии неблагоприятных факторов среды, снижающих МПП и увеличивающих вход  $Ca^{2+}$  в клетку, ситуация изменяется. При  $Ca^{2+}_{вн} > 10^{-6}$  моль/л направление эффективного удара ресничек (удара выпрямленной ресничкой) извращается и клетка производит попятное движение («бегство»). При попадании в нормальную среду и откачивании избытка  $Ca^{2+}$  насосом мембраны возобновляется движение вперед.

У клеток мерцательных эпителиев многоклеточных организмов реверсии направления эффективного удара нет, но при росте концентрации  $Ca^{2+}$

происходит остановка движения ресничек.

Важной чертой работы мерцательных эпителиев является согласованность, координированность движения ресничек в пласте клеток – метакрональные волны, что делает гребные движения ресничек высокоэффективными. Механизм этой координации остается неясным. По-видимому, она основывается на клеточных взаимодействиях в пласте мерцательного эпителия. Есть также данные о том, что на мерцательную активность влияют нейромедиаторы (ацетилхолин и др.). Их действие осуществляется, вероятно, через изменения кальциевой проницаемости клеток эпителия.

### Тест–задания

1. Поперечная исчерченность скелетной мышцы обусловлена:
  - A. Оптической активностью сократительных белков
  - B. Упорядоченным расположением миофибрилл
  - C. Размером саркомеров
2. В генезе потенциала действия скелетного мышечного волокна принимают участие ионы:
  - A. Калия
  - B. Кальция
  - C. Натрия
  - D. Хлора
3. К сократительным белкам относятся:
  - A. Актин
  - B. Тропонин C
  - C. Тропомиозин
  - D. Миозин
  - E. Филамин
4. К регуляторным белкам относятся:
  - A. Актин
  - B. Тропонин C
  - C. Тропомиозин
  - D. Миозин
  - E. Филамин
5. Глобулярный актин (g – актин) – это:
  - A. Пространственная структура фибриллярного актина
  - B. Мономеры, из которых построен фибриллярный актин
  - C. Суперспираль тонкой протофибриллы
6. Фибриллярный актин (f – актин) – это:
  - A. Вторичная структура актина
  - B. Мономеры, из которых построен глобулярный актин
  - C. Суперспираль тонкой протофибриллы
7. Ионы кальция взаимодействуют:
  - A. С миозином
  - B. С тропонином C
  - C. С тропомиозином
8. Укорочение саркомера происходит за счет:

- A. Укорочения толстых протофибрилл
  - B. Укорочения тонких протофибрилл
  - C. Взаимного скольжения протофибрилл
9. Источником энергии для сокращения мышцы может являться:
- A. АТФ
  - B. АДФ
  - C. Креатинфосфат
10. В отсутствие кальция взаимодействию актина и миозина препятствуют:
- A. Тропонин Т
  - B. Тропонин С
  - C. Тропомиозин
11. Основная роль Т-трубочек:
- A. Аккумуляция ионов кальция
  - B. Передача возбуждения к ретикулуму
  - C. Увеличение емкости мембраны
12. Высвобождение кальция из ретикулума в скелетных мышцах стимулируют:
- A. Продукты метаболизма фосфоинозитидов
  - B. Ионы кальция
  - C. Катехоламины
13. В скелетной мышце кальций, активирующий сокращение:
- A. Поступает из внеклеточного пространства
  - B. Высвобождается из ретикулума
  - C. Высвобождается из связанного с белками состояния
14. Реабсорбцию кальция в ретикулум обеспечивают:
- A. Na – Ca обмен
  - B. Ca – Mg – АТФ-аза
  - C. Кальциевые каналы
15. Сокращение, при котором изменяется только длина мышцы, называется:
- A. Изометрическое
  - B. Изотоническое
  - C. Ауксотоническое
16. Сокращение, при котором изменяются длина и тонус мышцы, называется:
- A. Изометрическое
  - B. Изотоническое
  - C. Ауксотоническое
17. Уравнение Хилла устанавливает зависимость между:
- A. Длинной мышцы и скоростью сокращения
  - B. Длинной мышцы и силой сокращения
  - C. Силой и скоростью сокращения
18. Двигательная единица включает:
- A. Расположенные рядом мышечные волокна
  - B. Нейрон, аксон и мышечное волокно
  - C. Нейрон, аксон и группу мышечных волокон



19. Под «активным состоянием» мышцы подразумевают:
- А. Замыкание актомиозиновых мостиков
  - В. Гидролиз АТФ
  - С. Генерацию механического напряжения
20. Волокна миокарда представляют собой:
- А. Одну многоядерную клетку
  - В. Выстроенные в цепочку одноядерные клетки
  - С. Беспорядочно расположенные клетки

## **14-ТЕМА. ПРОБЛЕМЫ ФОТОБИОЛОГИИ**

### **План**

1. Типы фотобиологических процессов
2. Пигменты биологических систем
3. Общие закономерности фотобиологических процессов
4. Механизмы миграции энергии электронного возбуждения
5. Общая характеристика фотохимических процессов
6. Фотосинтез

**Ключевы слова:** Фотобиологические процессы, фототоксическими и фотоаллергические эффекты, пигменты, миграция энергии, законы фотохимии, элементарные фотохимические реакции, фотосенсибилизация, фотосинтез.

Фотобиологическими называют процессы которые протекают в живых организмах под действием поглощенных фотонов, ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областей спектра. Они свойственны организмам всех царств живой природы от прокариот, низших и высших растений до высших животных и человека.

Фотобиологические процессы начинаются поглощением фотонов света. В ходе биохимической эволюции сформировались специальные поглощающие свет вещества — пигменты, роль которых связана с выполнением полезных для жизнедеятельности организмов светозависимых функций. Вместе с тем белки и нуклеиновые кислоты также поглощают свет ультрафиолетовой области спектра. При этом могут развиваться фотобиологические процессы отрицательного для жизнедеятельности организма характера, что проявляется фотоинактивацией клеток, обусловленной повреждением биомакромолекул ультрафиолетовыми лучами. В ходе эволюции возникли пигментные системы, тем или иным способом защищающие клетки или сложный многоклеточный организм от фотоинактивации.

### **Типы фотобиологических процессов.**

Фотобиологические процессы по их биологическому значению разделяют на фотофизиологические и фотодеструктивные.

Фотофизиологические процессы обеспечивают протекание связанных со световым воздействием физиологических функций организма. Их можно разделить на процессы энергозапасания, при которых энергия поглощенных фотонов превращается в иные формы свободной энергии (например, энергию химических связей восстановленных соединений, градиента концентрации ионов), и на процессы регуляции, при которых свет определяет напряженность ряда физиологических функций. Выделяют также фотобиосинтетические процессы, вызывающие образование на свету ряда биологически важных веществ.

В фотобиологических процессах энергозапасания поглощается и подвергается превращениям значительное количество энергии света. В фотобиологических информационных процессах, напротив, обычно физиологически значимыми оказываются весьма небольшие количества поглощаемой энергии.

Среди фотобиологических процессов, происходящих на нашей планете, безусловно, ведущее место принадлежит фотосинтезу. Запасаемая в ходе фотосинтеза энергия солнечных лучей служит главнейшим источником энергии для всего гетеротрофного мира. Принимающие участие в фотобиологических процессах ультраструктурные элементы клеток и их метаболические системы в ходе эволюции приобрели настолько специализированную организацию, что в норме при поглощении фотонов не происходит каких-либо повреждений макромолекул.

Фотодеструктивные процессы, состоящие в возникновении под влиянием света повреждений биомacroмолекул (белков, нуклеиновых кислот, других соединений, обладающих хромофорными группами), относятся к патологическим явлениям. Они могут сопровождаться гибелью клеток, возникновением мутаций, нарушением физиологических функций организма. Выделяют фототоксические и фотоаллергические эффекты.

*Фототоксическими эффектами* называют световые повреждения кожи или глаз, не сопровождающиеся аллергическими реакциями. Клинически они проявляются в форме эритемы, отека, пигментации, помутнения хрусталика и т. д.

*Фотоаллергические эффекты* включают в себя первичный иммунологический механизм аллергической сенсибилизации.

Для защиты от отрицательных последствий фотодеструкции биологически важных веществ многие организмы обладают специальными приспособлениями — экранированием светочувствительных компонентов клетки особыми пигментами, дезактивацией возникающих фотопродуктов, восстановлением поврежденных молекул.

### **Пигменты биологических систем.**

Пигменты можно классифицировать по функциональному значению:

1. Пигменты, принимающие участие в фотобиологических процессах, являющихся функционально значимыми в жизнедеятельности организма. К этой группе относятся фотосинтетические пигменты — хлорофилл зеленых растений, бактериохлорофиллы фотосинтетических бактерий, вспомогательные

фотосинтетические пигменты — каротиноиды, ксантофиллы, фикобилины, зрительный пигмент — родопсин, регуляторные пигменты — фитохром и криптохромы.

2. Пигменты, биохимическая функция которых связана с функционально значимыми фотобиологическими процессами не непосредственно, а благодаря наличию в их молекулах хромофорных групп, избирательно поглощающих свет в видимой области спектра. К этой группе относятся пигменты, окрашенные в красный цвет (пигмент крови — гемоглобин, хромопротеид мышц — миоглобин, окислительно-восстановительные ферменты (каталаза, пероксидаза, цитохромы растительных и животных тканей), темно-голубые или зеленовато-синие гемоцианины и зеленый хлорокриарин (осуществляют у беспозвоночных функцию дыхательных пигментов), продукты распада гемоглобина (желчные пигменты) и др.

3. Пигменты, выполняющие функцию экранирования светочувствительных клеток и тканей. Наиболее распространенными пигментами этой группы у животных являются вещества ароматического строения — меланины. У растений во многих случаях экранирующую функцию выполняют каротиноиды и флавоноиды.

4. Пигменты морфолого-приспособительного значения. Придавая определенную окраску тем или иным частям организма, обеспечивают для животных маскировку, а для растений — привлечение насекомых-опылителей. К этой группе пигментов относятся флавины, птеридины, цианидины, меланины, встречающиеся в животном мире, антоцианы — у растений.

Для многих пигментов характерно близкое химическое строение пигментов. Например, основу фотосинтетических пигментов, дыхательных цитохромов, окислительно-восстановительных ферментов составляет порфирин — замкнутый цикл из четырех пиррольных колец. В филогенетическом плане многие пигменты являются очень древними компонентами клеток, в связи с чем одни и те же пигменты часто можно обнаружить у отдаленных друг от друга видов. Например, каротиноиды имеются у бактерий и высших растений, хлорофилл а — у высших растений и цианобактерий.

### **Общие закономерности фотобиологических процессов.**

Фотобиологические процессы в основном сходны по своей общей схеме и состоят из нескольких этапов. Процесс начинается с поглощения кванта света веществами. Далее следует внутримолекулярный размен энергии — миграция электронно-возбужденного состояния по молекуле и локализация этого состояния в определенных участках молекулы. Этот процесс происходит очень быстро, и одновременно с ним осуществляется межмолекулярный перенос энергии электронно-возбужденного состояния — миграция от молекулы к молекуле. Этапы поглощения кванта света и миграции энергии электронного возбуждения составляют фотофизическую стадию фотобиологического процесса.

Фотофизическая стадия в соответствующих условиях может сопровождаться фотохимическими реакциями, химическими превращениями веществ, приводящими к возникновению первичных фотопродуктов. Эти

фотопродукты обычно бывают нестабильными, в связи с чем продолжаются их превращения, завершающиеся образованием относительно стабильных молекул. Химические превращения, индуцированные фотофизической стадией процесса, составляют фотохимическую стадию.

Фотопродукты, принимая участие в биохимических или молекулярно-биологических явлениях, определяют биологическую реакцию клетки или многоклеточного организма на действие света.

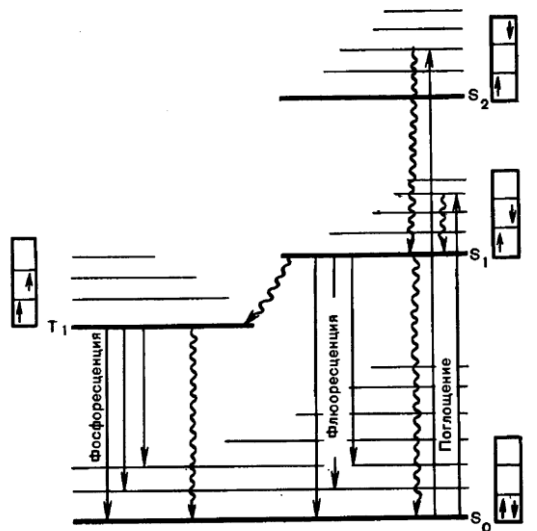
Хотя фотобиологические процессы очень разнообразны, но любой из них можно разбить на ряд стадий:

1. Поглощение кванта света.
2. Внутримолекулярные процессы размена энергии.
3. Межмолекулярный перенос энергии возбужденного состояния (миграция энергии).
4. Первичный фотохимический акт.
5. Темновые превращения первичных фотохимических продуктов, заканчивающиеся образованием стабильных продуктов.
6. Биохимические реакции с участием фотопродуктов.
7. Общефизиологический ответ на действие света.

Фотобиологические процессы могут вызываться только такими квантами, энергия которых соизмерима с энергией связи электронов в молекуле, но не превышает ее. Такие кванты принадлежат сравнительно узкому участку спектра электромагнитных волн видимого света. При больших энергиях квантов может происходить ионизация и распад молекул, при меньших — не возникают электронно-возбужденные состояния.

В многоатомных молекулах электроны локализованы возле отдельных ядер, другие делокализованы между ядрами.

В поглощении молекулами света большое значение имеют  $\pi$ -электроны  $\pi$ -орбиталей. Если при поглощении кванта света возбуждению подвергается электрон  $\pi$ -орбитали, то говорят о  $(\pi, \pi^*)$ -переходе, где  $\pi^*$  обозначает орбиталь возбужденного электрона.



На каждом заполненном энергетическом уровне могут находиться только два электрона, имеющие противоположные собственные магнитные моменты (спины). Если молекуле сообщить энергию, например, в форме кванта света, то произойдет переход одного электрона с заполненного уровня ( $S_0$ ) на один из незаполненных уровней. Молекула при этом оказывается в электронно-возбужденном состоянии. Уровни  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ , называются синглетными, при переходах между ними спин электрона не меняется. Время жизни молекул в состоянии  $S_1$  составляет  $10^{-8} - 10^{-10}$  с. Именно на уровне  $S_1$  решается дальнейшая судьба всех возбужденных молекул. С определенной вероятностью могут реализоваться следующие пути превращения энергии состояния  $S_1$ :

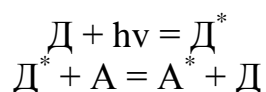
- 1) в тепло;
- 2) испускание кванта флюоресценции;
- 3) фотохимическая реакция;
- 4) передача энергии возбуждения другой молекуле;
- 5) обращение спина электрона и переход молекулы в триплетное возбужденное состояние  $T_1$ .

Переход из триплетного состояния в основное запрещен, так как спины электронов одинаковы. Поэтому в состоянии  $T_1$  молекула находится значительно дольше ( $10^{-4} - 10$  с).

Существует несколько путей растраты энергии из триплетного ( $T_1$ ) состояния молекулы: 1) безизлучательный переход в  $S_0$  с обращением спина; 2) испускание кванта фосфоресценции; 3) фотохимическая реакция; 4) передача энергии возбуждения другой молекуле.

### **Механизмы миграции энергии электронного возбуждения.**

Энергия электронно-возбужденного состояния может передаваться от поглотившей свет молекулы к другой молекуле того же или иного вещества. Этот процесс называют миграцией энергии электронного возбуждения. Передающая энергию молекула является донором (Д), а воспринимающая — акцептором (А). Миграцию энергии электронного возбуждения можно описать таким образом:



Отличают межмолекулярную миграцию энергии электронного возбуждения от внутримолекулярной миграции энергии, при которой происходит перенос энергии в пределах одной молекулы внутри ее хромофорной группы, двумя сопряженными либо несопряженными хромофорными группами.

Известно несколько механизмов межмолекулярной миграции энергии электронного возбуждения. Простейший случай переноса энергии состоит в повторном поглощении квантов света, излучаемых возбужденными молекулами. Называют его реабсорбцией. Реабсорбционная передача энергии может происходить на предельно больших расстояниях.

В фотобиологических процессах более важными являются безизлучательные механизмы переноса энергии электронного возбуждения: обменно-резонансный, индуктивно-резонансный и экситонный.

Обменно-резонансная миграция энергии электронно-возбужденного состояния осуществляется при прямом перекрывании электронных орбиталей молекул донора и акцептора. При этом донор и акцептор могут обмениваться своими электронами, различающимися энергией. Для того чтобы этот механизм миграции мог осуществляться, необходимо весьма сильное сближение молекул. По обменно-резонансному механизму происходит триплет-триплетный перенос энергии электронного возбуждения.

Индуктивно-резонансная миграция энергии электронного возбуждения осуществляется при больших расстояниях между молекулами донора и акцептора — порядка 2,0—10,0 нм и обусловлена резонансным взаимодействием между возбужденной молекулой донора и молекулой акцептора. При этом молекулы рассматриваются как электрические диполи. Поэтому резонансный механизм миграции энергии электронно-возбужденного состояния описывают как диполь-дипольные взаимодействия.

Для эффективной миграции энергии по индуктивно-резонансному механизму необходимо, чтобы донор  $D^*$  был способен к флуоресценции, и его спектр флуоресценции должен перекрываться со спектром поглощения акцептора А. Наиболее сильным диполь-дипольное взаимодействие бывает в случае разрешенности переходов в молекуле  $D^*$ , а этому соответствуют синглет-синглетные и триплет-триплетные переходы.

Экситонная миграция энергии электронного возбуждения наблюдается в кристаллических структурах. Вследствие делокализации возбужденных электронных уровней в кристалле возникает возбуждение коллективных состояний, одновременно охватывающее тысячи молекул. Коллективное возбуждение целого ансамбля молекул возможно за счет быстрого движения квазичастицы экситона. Время «скачка» экситона ( $10^{-13}$  с) от одной молекулы к другой значительно меньше времени жизни возбужденного состояния молекулы ( $10^{-9}$  с). Поэтому экситон осуществляет более  $10^4$  «скачков», в результате чего энергия возбуждения передается на расстояние, значительно превышающее расстояние между молекулами.

В биологических системах наиболее частой является миграция энергии электронно-возбужденного состояния по индуктивно-резонансному механизму.

### **Общая характеристика фотохимических процессов.**

Поглощая квант света, молекула приобретает дополнительную энергию, и на ее орбиталях появляются одиночные электроны, что придает молекуле повышенную химическую активность. Благодаря этому свет может индуцировать реакции, которые в темноте не происходят. Такие реакции называют фотохимическими.

Фотохимическая активация отличается высокой селективностью, так как квант света активирует отдельную связь или группу атомов в молекулах, поглощающих свет данной длины волны.

### *Законы фотохимии.*

Основные законы фотохимии таковы:

1. Фотохимические изменения происходят только под влиянием света, поглощаемого химической системой. Этот закон называют законом Гротгуса-

Дрепера.

2. Каждый поглощенный в первичном акте квант света способен активировать только одну молекулу. Этот закон, сформулированный А. Эйнштейном, называется законом фотохимической эквивалентности.

3. При поглощении кванта света молекулой органического вещества имеется определенная вероятность возникновения самого нижнего возбужденного синглетного состояния либо самого нижнего триплетного состояния.

4. В преобладающей части реакций органических соединений в растворах фотохимические процессы происходят с участием самого нижнего возбужденного синглетного или самого нижнего триплетного состояния.

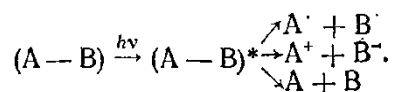
Удобно в качестве единицы энергии света использовать количество энергии, присущее числу квантов, равному числу молекул в одном моле, т. е.  $6,02 \cdot 10^{23}$ . Эта единица энергии названа Эйнштейном.

*Квантовый выход фотохимической реакции.* Эффективность фотохимических реакций характеризуют квантовым выходом фотохимической реакции  $\Phi$ , показывающим, сколько молекул подвергалось превращению на один поглощенный квант света. Численно  $\Phi$  совпадает с числом молей вещества, подвергшихся превращению при поглощении одного эйнштейна света. Если в реакционной системе имеются процессы, конкурирующие с фотохимическими, квантовый выход меньше единицы. Квантовый выход обычно рассчитывают для первичного фотохимического процесса, хотя такой расчет имеет смысл и для конечных продуктов фотохимической реакции.

Величиной, обратной квантовому выходу фотохимической реакции, является квантовый расход, показывающий, сколько квантов света в данной фотохимической реакции расходуется на превращение одной молекулы. Квантовый расход выражает также число эйнштейнов, израсходованных на превращение в фотохимическом процессе одного моля вещества.

*Элементарные фотохимические реакции.* Скорость дезактивации электронно-возбужденного состояния молекул велика в сравнении со скоростями обычных химических реакций. Поэтому химические реакции возбужденных молекул должны осуществляться с достаточно высокими скоростями, чтобы конкурировать с дезактивацией их возбужденных состояний.

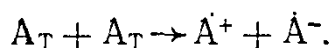
Известно весьма широкое разнообразие типов фотохимических реакций. Простейшими из них являются структурные перестройки в молекуле, поглотившей квант света, в результате чего происходят фотодиссоциация и фотоионизация:



Свет индуцирует перегруппировки в электронно-возбужденной молекуле. К этому типу фотохимических реакций относят фотостереоизомеризацию и фототаутомеризацию. При стереоизомеризации энергия возбуждения расходуется на поворот связей в молекуле, а при таутомеризации — на

внутримолекулярное перемещение водорода.

Первичными фотохимическими реакциями являются также реакции фотоприсоединения и фотопереноса электрона. Перенос на фотовозбужденную молекулу электрона составляет фотовосстановление. При переносе электрона от фотовозбужденной молекулы происходит фотоокисление. Обе эти элементарные фотохимические реакции имеют очень большое значение в фотобиологических процессах. Перенос электрона может иметь место между двумя молекулами в триплетном состоянии, что сопровождается образованием первичновосстановленной и первичноокисленной молекул:



Первичновосстановленная молекула присоединяет водород, в конечном счете образуя обесцвеченную лейкоформу фотоактивной молекулы  $АН_2$ .

Фотоокисление — это реакция возбужденных при поглощении света молекул с акцепторами (катионами, кислородом), приводящая к образованию первично окисленного продукта и восстановленного акцептора. Например, под влиянием квантов света в присутствии бензохинона, выступающего в качестве акцептора электрона, хлорофилл претерпевает обратимое фотоокисление.

При фотоприсоединении электрона может происходить фотодимеризация — присоединение к возбужденной молекуле другой невозбужденной молекулы, что приводит к образованию димера. Если в реакции фотоприсоединения объединяются две разные молекулы, то говорят о возникновении эксимера, а при образовании связи между возбужденной молекулой и молекулой растворителя — об эксиплексе.

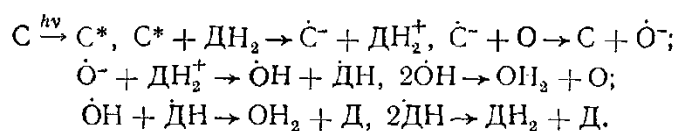
Фотоокислительное представляет собой присоединение молекулярного кислорода к фотовозбужденной молекуле. В результате этой реакции образуется лабильный продукт — мольоксид или стабильный продукт — оксид.

При взаимодействии фотовозбужденных молекул с водой может происходить фотогидролиз. Например, под влиянием ультрафиолетового света многие аминокислоты, подвергаясь дезаминированию, превращаются в оксикислоты.

*Фотосенсибилизация.* В химических системах, содержащих поглощающие свет вещества и способных к обратимому фотовосстановлению или фотоокислению, могут осуществляться окислительно-восстановительные процессы с участием фотоактивных молекул, которые при этом выступают в роли агентов, передающих электрон от окисляемого нефотоактивного донора к восстанавливаемому, нефотоактивному акцептору, в конечном счете оставаясь неизменными. Такой процесс называют фотосенсибилизацией, а участвующее в нем фотоактивное вещество — фотосенсибилизатором.

В реакции фотосенсибилизации в зависимости от условий среды и от окислительно-восстановительных потенциалов доноров и акцепторов возбужденный фотосенсибилизатор  $S$  может вступать в реакции с молекулами либо восстановителей  $ДН_2$ , либо окислителей  $O$ :





Если  $C^*$  взаимодействует с  $O$ , то протекает реакция  $C^* + O \rightarrow \dot{C}^+ + \dot{O}^-$ ,  $\dot{C}^+ + DN_2 \rightarrow \dot{D}N_2^+ + \dot{C}$  и далее взаимодействуют ион-радикалы  $\dot{O}^-$  и  $\dot{D}N_2^+$ .

В медицине фотосенсибилизаторами называют вещества, повышающие чувствительность организма к ультрафиолетовому или видимому свету, часто используют для них термины «фототоксические» и «фотоаллергические» вещества в зависимости от того, какие процессы они индуцируют.

Фотосенсибилизаторы по механизму их действия делятся на два типа.

Фотосенсибилизаторы I типа под действием света сами химически изменяются. Характерной особенностью реакций I типа часто является их независимость от присутствия кислорода. Например, в терапии псориаза широко используются фотосенсибилизаторы I типа, называемые псораленами. При совместном действии псораленов и УФА-излучения псориаз излечивается. В основе терапевтического эффекта псораленов лежит реакция ковалентного фотоприсоединения псораленов к ДНК, не нуждающаяся в присутствии кислорода.

Другим примером сенсибилизаторов I типа являются фотоаллергены. Обычно эти соединения используются как антибактериальные, антигрибковые препараты и транквилизаторы (хлорпромазин, битионол, сульфаниламид, прометазин и др.). Однако они поглощают в УФА-области спектра и при УФ-облучении способны фотохимически присоединяться к белкам; эта реакция приводит к образованию аллергена. Аллерген взаимодействует с макрофагами или Т-лимфоцитами, вызывая их сенсибилизацию. При повторных воздействиях Т-лимфоциты «узнают» аллерген и возникает ответная реакция кожи (уртикария или экзема); часто наблюдается анафилактический шок или астма



Фотосенсибилизаторы II типа называются также фотодинамическими соединениями. Поглотив квант света, эти соединения переходят в триплетное возбужденное состояние, а затем взаимодействуют с молекулярным кислородом. При этом кислород может переходить в возбужденное синглетное состояние в котором он примерно в 100 раз более эффективно, чем невозбужденный кислород, окисляет липиды, белки и другие биомолекулы. В некоторых случаях сенсибилизаторы этого типа образуют супероксид-анионрадикал путем переноса на  $O_2$  электрона.

Типичный представитель сенсибилизаторов II типа — протопорфирин. Он накапливается в аномально высоких концентрациях в организме человека при некоторых нарушениях биосинтеза порфиринов. Протопорфирин

переходит в возбужденное состояние под действием синего света и с высокой эффективностью генерирует синглетный кислород. Последний окисляет ненасыщенные липиды, вызывая резкое увеличение ионной проницаемости биомембран. Одновременно инактивируются многие белки (АТФ-аза эритроцитов, ацетилхолинэстераза и др.), происходят полимеризация мембранного белка спектрина и другие явления. Если больные находятся на дневном свете, то у них развивается эритема. Поэтому по необходимости этим больным приходится находиться на желтом свете, не поглощаемом протопорфирином. После того, как было выяснено, что сенсibilизированная протопорфирином эритема возникает с участием синглетного кислорода, был предложен терапевтический метод, основанный на приеме внутрь  $\beta$ -каротина, способного инактивировать (тушить) синглетный кислород.

Не все светочувствительные вещества являются фотосенсibilизаторами. Например, билирубин — продукт разрушения гемоглобина, очень фотолабилен, но продукты его фотолиза не вызывают заметных фототоксических или фотоаллергических эффектов. Поэтому в родильных домах применяется фототерапия желтухи новорожденных, основанная на разрушении билирубина при освещении новорожденных синим светом. Это бывает необходимо потому, что если у взрослых нормальное содержание билирубина в крови 1 мг%, то у новорожденных — около 20 мг% (в первые дни жизни печень еще не обеспечивает устранение билирубина из крови). Таким образом, путем фотохимического разрушения билирубина устраняются возможные патологические последствия гипербилирубинемии.

### **Фотосинтез**

Фотосинтез состоит в том, что пигменты растений, поглощая кванты солнечных лучей, преобразуют их энергию в энергию разделенных электрических зарядов, что, в конечном счете, приводит к формированию химических связей высокоэнергетических органических соединений. Помимо того, что в ходе фотосинтеза запасается свободная энергия, процесс этот сопровождается выделением в атмосферу молекулярного кислорода, образующегося при фоторазложении воды. Мир гетеротрофных организмов — преобладающая часть бактерий, животные и человек — потребляют для своей жизнедеятельности свободную энергию, запасаемую фотоавтотрофными организмами, способными осуществлять фотосинтетический процесс.

Масштабы фотосинтеза на Земле грандиозны: за один год растения суши из  $\text{CO}_2$  атмосферы создают до  $2,4 \cdot 10^{10}$  т органического углерода. Еще выше продуктивность фотоавтотрофов Мирового океана, синтезирующих до  $1,55 \cdot 10^{11}$  т углерода в составе органических веществ. Для сравнения укажем, что современный земной расход энергии человеком, который для этой цели использует пока преимущественно продукты фотосинтеза отдаленных геологических эпох — нефть и каменный уголь, существенно ниже —  $3,4 \cdot 10^9$  т органического углерода.

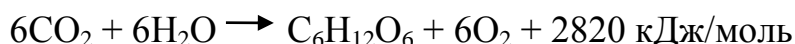
Попадающая на Землю энергия солнечных лучей огромна —  $5 \cdot 10^{20}$  ккал/мин). Зеленые растения усваивают до 2 % энергии солнечных лучей, достигающих земной поверхности.

Фотосинтез — процесс сложный, многостадийный. Для его осуществления необходима структурная организация молекулярных и клеточных структур, наличие специальных биохимических систем.

Суммарная реакция фотосинтеза. Фотосинтез зеленых растений описывается такой итоговой реакцией:



где  $\Delta G$  — запасаемая свободная энергия, равная для этого процесса 470,0 кДж/моль;  $(\text{CH}_2\text{O})$ —соединение (восстановленный атом углерода  $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$ ), являющееся элементом более сложных молекул углеводов, возникающих при фотосинтезе. Так, синтез стабильных продуктов фотосинтеза шестиуглеродных соединений — гексоз описывается уравнением:



За этим общим выражением скрываются многие элементарные реакции, которые можно сгруппировать в три этапа:

а) собственно фотохимический этап фотосинтеза, охватывающий поглощение кванта света пигментом, миграцию энергии электронного возбуждения к веществам-«ловушкам», способным к обратимым окислительно-восстановительным реакциям;

б) этап переноса (транспорта) электрона и сопряженный с этим переносом синтез высоковосстановленных соединений, а также формирование лабильных химических связей, отличающихся большим значением свободной энергии, вследствие чего называемых макроэргическими. Наличие этих двух типов продуктов — восстановителей и макроэргических соединений необходимо для осуществления процессов, составляющих третий этап фотосинтеза;

в) этап биохимических темновых реакций восстановление  $\text{CO}_2$  до  $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$  и ряд других процессов дальнейшего превращения возникших первичных продуктов фотосинтеза и восстановления компонентов биохимической системы, ответственной за вовлечение  $\text{CO}_2$  в сферу фотосинтетических превращений.

*Фотосинтетические пигменты.* У высших растений основными пигментами, поглощающими свет и принимающими участие в фотосинтезе, являются хлорофиллы а и b и каротиноиды. Хлорофилл а — основной пигмент растений эукариот и прокариот, способных к фотосинтетическому разложению воды. Хлорофиллы относятся к порфиринам, d центре тетрапиррола которых включен атом магния. Помимо тетрапиррольного кольца хлорофиллы имеют высокомолекулярный спирт фитол. Благодаря липофильным свойствам фитола хлорофилл может встраиваться в липидный слой мембран.

Молекулярное соотношение хлорофилла а к хлорофиллу b у высших растений обычно близко к 1:3, хотя варьирует в зависимости от условий освещения. Известны мутанты, лишенные хлорофилла b, но сохраняющие способность к фотосинтезу при повышенных интенсивностях света. Две полосы поглощения хлорофилла соответствуют переходам  $S_0 - S^*_2$  и  $S_0 - S^*_1$ . Первый переход наблюдается в синей области, и ему соответствует так называемая полоса Core, второй происходит в красной области спектра.

Кроме наиболее широко распространенных хлорофиллов а и b, известны и другие фотосинтетические пигменты: хлорофилл с (хлорофуцин, или хлорофилл-гамма), извлеченный из диатомовых и бурых водорослей, характеризуется максимумом поглощения при 447 нм; из красных водорослей выделен хлорофилл d, поглощающий синий свет при 447 нм; из золотистой водоросли *Tribonema bombicum* получен хлорофилл e.

У цианобактерий и красных водорослей, не имеющих хлорофилла b, содержатся особые пигменты фикоцианины и фикоэритрины. Эти пигменты придают организмам специфическую свойственную им окраску, по которой они и получили свои названия.

К более простому фотосинтезу, не связанному с фоторазложением воды, способны бактерии, получившие название фототрофных. Фотосинтетическим пигментом фототрофных бактерий является бактериохлорофилл. Различают четыре группы бактериохлорофилла. У пурпурных фотобактерий имеется бактериохлорофилл а, сходный по своему строению с хлорофиллом а высших растений. Бактериохлорофилл b встречается реже. Бактериохлорофилл поглощает свет преимущественно в красной области спектра. Фотосинтез у фотобактерий идет с участием энергетически менее ценных квантов, чем у высших зеленых растений. Бактериохлорофиллы с и d содержатся в зеленых серобактериях.

Кроме основных фотосинтетических пигментов в этом процессе принимают участие каротиноиды — 40-углеродные терпеноиды или изопреноиды. К этим пигментам относятся  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротин, ксантофиллы (лютеин, перидинин, зеаксантин, фукоксантин). Каротиноиды поглощают свет, в синей области спектра и способны передавать энергию электронно-возбужденного состояния хлорофиллу а. Таким образом, эти пигменты выполняют функцию светосборщиков. Обратный процесс — передача энергии от хлорофилла каротиноидам — невозможен. Кроме поглощения света и его передачи хлорофиллу каротиноиды защищают фотосинтетический аппарат от повреждения действием сильного света. Как видим, каротиноиды играют как бы вспомогательную роль в фотосинтезе, в связи с чем их называют дополнительными пигментами.

У цианобактерий функцию дополнительных пигментов выполняют фикобилины.

*Организация фотосинтетического аппарата.* Фотосинтетические пигменты сосредоточены в специальных мембранных образованиях тилакоидах. У прокариот-фототрофов фотосинтетический аппарат организован самым простым образом, ограничиваясь индивидуальными тилакоидами или их скоплениями. У эукариотических фототрофов фотосинтетический аппарат организован более сложным образом: тилакоиды объединены в сложную систему, включенную в специальную органеллу клетки — хлоропласт.

*Фотофизическая и фотохимическая стадии фотосинтеза.*

В фотосинтезирующей системе происходит миграция энергии электронно-возбужденного состояния от дополнительных пигментов, хлорофилла b к хлорофиллу а и между молекулами хлорофилла а, что, в

конечном счете, завершается попаданием энергии электронно-возбужденного состояния в «ловушку», где происходит ее реализация в реакции окисления-восстановления соответственно доноров и акцепторов электрона. При этом возникают более долгоживущие продукты фотохимических превращений.

В качестве ловушки выступает тот же хлорофилл, что было показано советским ученым А. А. Красновским, открывшим фотообратимое восстановление хлорофилла. В результате возбуждения возникает бирадикал хлорофилла:  $Хл + h\nu \rightarrow \dot{Хл}^* \rightarrow \dot{Хл}$ , который, взаимодействуя с донором электрона, присоединяет электрон и превращается в анион-радикал:  $\dot{Хл} + ДН \rightarrow Хл^- + ДН^+$ .

Присоединяя протон, анион-радикал образует полувосстановленную форму  $Хл^- + H^+ \rightarrow ХлН$ . При полном восстановлении радикала возникает восстановленный хлорофилл, имеющий красную окраску. Реакция, получившая название реакции Красновского, требует строго анаэробных условий, так как при наличии кислорода может происходить необратимое фотоокисление пигмента.

Хлорофилл как фотосенсибилизатор может явиться центром утечки энергии электронно-возбужденного состояния по пути образования восстановленных и окисленных веществ, принимающих в последующем участие в транспорте электрона от высоковосстановленных к глубоководным соединениям. Такую функцию хлорофилла связывают с реакционным центром, локализованным в группе молекул пигментов, улавливающих кванты света и передающих энергию электронного возбуждения к реакционному центру. Собирающие свет молекулы пигментов представляют собой антенноидный хлорофилл, который в объединении с реакционным центром образует фотосинтетическую единицу.

*Фотохимические системы фотосинтеза.* В фотосинтезе функционирует не одна, а не менее двух фотохимических систем. Фотосистема I с реакционным центром, поглощающим более длинноволновое излучение в области 700 нм (что послужило основанием назвать пигмент реакционного центра фотосистемы I P700), и фотосистема II, реакционный центр которой представлен пигментом, поглощающим в области 680 нм (и вследствие этого названным P680).

Схема взаимодействия фотосистем I и II. Получила название Z-схемы фотосинтеза.

Суть описываемых Z-схемой процессов состоит в следующем.

Поглощение кванта света в системе антенноидного хлорофилла фотосистемы II сопровождается миграцией энергии электронного возбуждения к реакционному центру. Фотовосстановление реакционного центра происходит за счет электрона, отрываемого от молекулы воды. Вода является донором электрона в реакционном центре фотосистемы II.

При возбуждении пигмента реакционного центра фотосистемы I электрон, находящийся в возбужденном состоянии, через соответствующие акцепторно-донорные связи передается ферредоксину Фд, а затем — НАДФ. Образованием восстановленной формы НАДФН<sub>2</sub> завершается

функционирование фотосистемы I.

Первый акцептор электрона, находящегося в возбужденном состоянии реакционного центра фотосистемы II, связан с ближайшим донором электрона, используемого при фотовосстановлении реакционного центра фотосистемы I рядом переносчиков, в совокупности представляющих фотосинтетическую электронтранспортную цепь.

Переносчики электронов в электронтранспортной цепи, расположенные по уменьшению электроотрицательности редокс-потенциала, таковы: первый акцептор (феофитин) — цитохром  $b_{559}$  — пластохинон A — цитохром f — пластоцианин — вакансия реакционного центра фотосистемы I.

Как можно видеть из схемы фотосистем и электронтранспортной цепи, транспорт отнятого от воды электрона имеет путь, направленный против термодинамического потенциала: от большого положительного значения редокс-потенциала молекулы воды до существенно электроотрицательного значения редокс-потенциала ферредоксина и НАДФН<sub>2</sub>. Именно в этом и заключается основной смысл фотосинтеза, в ходе которого запасается свободная энергия поглощенных квантов света.

Путь электрона от воды к НАДФН<sub>2</sub> называется нециклическим: в ходе его необратимо расходуется первичный донор электронов — вода и необратимо накапливается конечный продукт фотореакций — восстановленные ферредоксин и НАДФН<sub>2</sub>. Кроме нециклического пути может происходить и циклический путь электрона, когда электрон в состоянии возбуждения в реакционном центре фотосистемы I передается ферредоксину, а от последнего через цитохром b, пластохинону A и далее через соответствующие переносчики электронтранспортной цепи к вакансии пигмента реакционного центра фотосистемы I, совершая при этом циклический путь. Восстановления НАДФ при этом не происходит.

Выделяют также псевдоциклический путь электрона, когда в результате передачи электрона на кислород последний восстанавливается, образуя молекулу воды, и маскирует тем самым фотолиз воды в фотосистеме II.

#### *Фотосинтетическое фосфорилирование.*

С уменьшением энергии электронов в процессе их переноса сопряжено формирование макроэргической связи при фосфорилировании АДФ. Следовательно, теряемая электроном энергия запасается в форме макроэргов АТФ.

Фосфорилирование, сопряженное с фотоиндуцированным транспортом электронов, называют фотосинтетическим фосфорилированием. В соответствии с тем, с каким из путей электронного транспорта сопряжено фосфорилирование, различают нециклическое и циклическое фотосинтетическое фосфорилирование. Фосфорилирование происходит в определенных участках электронтранспортной цепи. Эти участки называют пунктами сопряжения фотосинтетического фосфорилирования.

В пунктах сопряжения энергия окисления должна превышать энергию макроэргической связи (34,54 кДж/моль). Этому значению соответствует разность редокс-потенциалов донорно-акцепторной пары, равная 0,18 В. Очевидно, термодинамическая возможность образования макроэргической связи возникает в случае перепада редокс-потенциалов в донорно-акцепторной

паре, равного или превышающего указанные выше значения. В ряду переносчиков электронтранспортной цепи такому условию удовлетворяют следующие донорно-акцепторные пары:

пластохинон  $A$  (0,36 В) и цитохром  $f$  (0,11 В),  $\Delta E_0 = 0,25$  В;  
цитохром  $b_{559}$  (0,06 В) и  $P700$  (0,43 В),  $\Delta E_0 = 0,37$  В;

$H_2O \rightleftharpoons \frac{1}{2} O_2 + H_2$  (0,82 В) и  $P\ 680^+$  (–0,05 В),  $\Delta E_0 = 0,87$  В.

С этими участками электронтранспортной цепи и связывают пункты сопряжения фосфорилирования.

Экспериментально установлено, что на каждые 2 электрона, переносимых от  $H_2O$  к НАДФ, образуется 2 молекулы АТФ. Для восстановления  $CO_2$  до  $[HCOH]$  требуются 3 молекулы АТФ и 2 НАДФ  $H_2$ . По 2 молекулы АТФ и НАДФ $H_2$  возникает на 4 электрона, прошедших нециклическим путем. Поскольку для переноса каждого электрона требуется возбуждение каждой фотосистемы, то процесс фотосинтеза должен быть 8-квантовым.

8-квантовость следует рассматривать как предельно малый квантовый расход фотосинтеза. В действительности, при экспериментальном определении квантовых расходов фотосинтетического образования кислорода при оптимальных условиях этого процесса у растений получены значения 12—20 квантов на 1 молекулу  $O_2$ , образующуюся при фотолизе воды.

Скооперированность функций фотосистем II и I в осуществлении Z-схемы фотосинтеза требует соблюдения численного соотношения между этими системами как 1 : 1 и объединения их в общую структуру, которая обеспечивает достаточно близкое размещение реакционных центров. Такая ситуация названа спилловером – переливанием, распределением энергетического потока между фотосистемами II и I. Оказалось, что ожидаемый баланс между фотосистемами не соблюдается, и численное соотношение реакционных центров обеих систем может варьировать в весьма широких пределах, в чем проявляется адаптация фотосинтетического аппарата к условиям освещения и другим факторам.

#### *Гипотезы энергетического сопряжения.*

Мембраны тилакоидов, содержащие компоненты фотосистем I и II, называют энергопреобразующими, так как они способны конвертировать энергию поглощаемых квантов света в энергию макроэргических связей АТФ и высоковосстановленных соединений. С транспортом электронов в мембране сопряжено образование АТФ, в связи с чем мембрану тилакоидов называют также сопрягающей мембраной. В этом отношении мембраны тилакоидов сходны с сопрягающими внутренними мембранами митохондрий, где также с переносом электронов сопряжено формирование макроэргической связи АТФ.

В энергопреобразующих биомембранах потоку электронов сопутствует формирование разности электрохимического потенциала протонов между разделяемыми мембраной пространствами — внутритилакоидным и стромальным. Эта разность электрохимического потенциала  $\Delta\mu$ , зависит от разности электрических потенциалов  $\Delta\phi$  и разности концентраций водородных ионов  $\Delta pH$ .

Прямыми измерениями показано, что в стационарном состоянии  $\Delta\phi$  для тилакоидов не превышает 50 мВ. При таком значении  $\Delta\phi$  Разность  $\Delta pH$ , необходимая для синтеза АТФ, составляет 3,2. В митохондриях  $\Delta\phi$  значительно

выше — до 200 мВ и, следовательно,  $\Delta pH$ , обеспечивающая синтез макроэргической связи, здесь меньше.

Имеются многочисленные экспериментальные доказательства правомерности хемиосмотического механизма сопряжения. Например, вследствие того, что тилакоидная мембрана слабо проницаема для пассивной диффузии протонов, при помещении изолированных хлоропластов в раствор со значением  $pH = 4$  в темноте можно искусственно создать достаточный градиент  $pH$ , что сопровождается синтезом АТФ без действия света.

Естественно, в случае действия хемиосмотического механизма сопряжения теряет свой первоначальный смысл понятие пунктов сопряжения, так как сопряжение обеспечивается целостностью мембранного процесса — переносом электронов вдоль мембраны, а протонов — поперек ее.

*Фотосинтетический цикл углерода.* С участием возникающих в фотохимических реакциях АТФ и высоковосстановленных соединений происходят темновые реакции фотосинтеза, состоящие в восстановлении  $CO_2$  до уровня сахаров. Этот процесс состоит из последовательности реакций акцептирования  $CO_2$ , последующего восстановления карбоксильной группы и превращений ряда трех-, четырех-, пяти- и семиуглеродных углеводов, завершающихся восстановлением акцептора углекислоты — рибулезобисфосфата и синтезом шестиуглеродного углевода и, далее, сахарозы как основного продукта фотосинтеза. Полный цикл ферментативных реакций, начинающихся с акцептирования  $CO_2$  и заканчивающихся образованием шестиуглеродного углевода, называется циклом Кальвина. Цикл Кальвина поставляет все исходные продукты для биосинтеза веществ в растении.

Имеется ряд дополнительных биохимических реакций, которые позволяют осуществляться фотосинтетическому углеводному метаболизму в экологически сложных условиях существования растений. Например, первичное акцептирование  $CO_2$  может происходить путем присоединения карбоксильной группы к фосфоенолпирувату, в результате чего первичным продуктом усвоения углекислоты являются четырехуглеродные органические кислоты — щавелево-уксусная или яблочная. Эти вещества являются поставщиками карбоксильных групп для цикла Кальвина.

АТФ и НАДФ  $H_2$  фотосинтетического происхождения могут извлекаться из фотосинтетического аппарата для использования в клеточном метаболизме. Такое извлечение производится путем выноса макроэргических и восстановительных эквивалентов из хлоропластов в цитоплазму. При этом происходит не непосредственный транспорт этих веществ через оболочку хлоропластов, а вынос легко проникающих через нее триозофосфатов, которые в сопряженных реакциях окисления-восстановления обеспечивают возникновение АТФ и НАДФ  $H_2$ . Экспорт восстановительных эквивалентов возможен также посредством циклического переноса из хлоропласта в цитоплазму малата и щавелевоуксусной кислоты.



## 15-ТЕМА. ОСНОВНЫЕ СВЕДЕНИЯ О СИСТЕМЕ СИГНАЛЬНОЙ ТРАНСДУКЦИИ В КЛЕТКУ

### План

1. Понятия о первичных и вторичных мессенджерах.
2. Рецепторы, их типы. G-белки.
3. Протеинкиназы, фосфатазы. Аденилатциклазная система.
4. Передача сигнала посредством фосфотидилинозитидной системы.
5. Участие ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в управлении физиологическими процессами.

**Ключевы слова:** первичные и вторичные мессенджеры, нервный импульс, механо-, термо-, хемо- и фоторецепторы, G-белки, протеинкиназы, фосфатазы, аденилатциклазная система, кальмодулин.

### Первичные и вторичные мессенджеры.

Процессы рецепции непосредственно связаны с механизмами преобразования внешнего сигнала во внутриклеточный, который и обеспечивает необходимую ответную реакцию клетки. Многие гидрофильные гормоны, нейромедиаторы и локальные посредники активируют белковые рецепторы на поверхности клетки-мишени. Гидрофобные сигнальные молекулы, например стероидные гормоны, проходят через плазматическую мембрану и активируют рецепторный белок в цитоплазме клетки.

Первичны звеном в деятельности любой сенсорной системы является трансформация энергии раздражения в распространяющийся сигнал-нервный импульс. Во всех рецепторах внешняя энергия трансформируется в электрический процесс, который обозначается как рецепторный потенциал. В небольшой части рецепторов такая трансформация происходит непосредственно в мембране нервных окончаний. Такие рецепторы обозначаются как **первичные мессенджеры**. В плазматической мембране клетки находятся механизмы, преобразующие внешние сигналы во внутриклеточные. Рецепторы распознают сигнальные молекулы и приводят в действие внутриклеточные пути передачи информации, которые в конечном счете ведут к регуляции клеточных процессов, например, секреции, сокращения, метаболизма или роста. Внутриклеточные сигналы передаются молекулами-посредниками - **вторичными мессенджерами**.

На молекулярном уровне процесс передачи информации обеспечивается цепочкой мембранных белков, последовательно взаимодействующих друг с другом. Каждый раз взаимодействие вызывает конформационную перестройку следующего в цепочке белка - изменение его структуры, а следовательно, и функции. На определенной стадии дальнейшая передача информации поручается находящимся в цитоплазме малым молекулам или даже ионам. Они-то и являются вторичными посредниками. Их диффузия обеспечивает быстрое распространения сигнала по всей клетки. Число различных вторичных посредников оказалось удивительно небольшим. Иными словами, пути передачи внутриклеточных сигналов универсальны и способны регулировать

множество разнообразных физиологических процессов.

Сейчас известны два основных пути передачи сигналов. В одном из них вторичным посредником служит циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). В другом - действует комбинация трех вторичных посредников: **ионов кальция, инозитолтрифосфата и диацилглицерола**. Последние два вещества образуются в самой плазматической мембране. Два пути передачи сигналов имеют много общего. И в том, и в другом случае элементы, получающие информацию от первого звена - рецептора и передающие ее через мембрану внутрь клетки, представляют собой G-белки. Это мембранные клетки, активирующиеся при связывании гуанозинтрифосфата.

### **Рецепторы, их типы. G-белки.**

В рецепции внешних сигналов органами чувств участвуют специфические для каждого органа рецепторные клетки и системы клеток, в которых происходит трансформация сигнала - химического, зрительного, звукового, вкусового, обонятельного, осязательного - в нервные импульсы. По энергии все рецепторы могут быть разделены механо-, термо-, хемо- и фоторецепторы. Различные рецепторные клетки имеют выросты - антенны, плазматические мембраны которых содержат белки, специфические для данного вида рецепции. Антенны могут состоять из микровилл и их производных - ресничек, жгутиков, сюда же входят фибриллярные белки.

Обонятельная рецепция имеет важное значение для ряда организмов позвоночных и беспозвоночных. Насекомые пользуются языком запахов - выделяемые ими феромоны служат для сигнализации. Монкрифф (1951) предположил, что рецепция запаха основана на стерическом соответствии между структурой молекулы пахучего вещества и структурой некоторой полости в рецепторной клетке. Исходя из этой идеи, Эймур (1962) установил 7 первичных запахов: камфорный (камфара), мускусный (пентадеканолактон), цветочный (фенилметилэтикарбинол), мятный (ментол), эфирный (дихлорэтилен), едкий, острый (муравьиная кислота), гнилостный (бутилмеркаптан).

Сопоставление структур, обладающих этими запахами показало, что запах определяется не химическим составом, а формой и размерами молекул. Едкий и гнилостный запахи определяются уже не структурой, а зарядом - электрофильные вещества с малыми молекулами имеют едкий запах ( $\text{SO}_2$ ,  $\text{Cl}_2$ ), нуклеофильные - гнилостный ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Сложные запахи возникают, если различные группы одного и того же вещества размещаются в полостях разного типа. Кислый вкус определяется наличием  $\text{H}^+$ , соленый - анионами  $\text{Cl}^-$ . Горький и сладкий вкус возникает при воздействии на рецепторы веществ разного строения: хинин и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  - горький, сахар и сахарин - сладкий.

Открыты специфические белки, обладающие вкусовой активностью. Два из них - монеллин и тауматин, обладающие интенсивно сладким вкусом, являются хемостимуляторами. Гликопротеид миракулин является модификатором вкуса - после его воздействия на язык кислота воспринимается как сладкое вещество.

Зрение - это вид фоторецепции, имеющий место у позвоночных и членистоногих. Световое излучение характеризуется спектральными свойствами и несет значительное количество информации, необходимой для жизнедеятельности. Молекулярными ловушками световой энергии являются зрительные пигменты (родопсин). Их способность переходить в электронно-возбужденные состояния при поглощении света определяет триггерные свойства, обеспечивающих прохождение цепи событий, которые приводят к возникновению зрительного сигнала. В наиболее общем виде итоговая реакция фоторецепции имеет вид:

*зрительный пигмент + свет → нервный импульс.*

### G-белки

G-белки активируют усилительный фермент, находящийся на внутренней стороне мембраны. Фермент превращает молекулы вещества-предшественника в молекулы вторичного посредника. Так аденилатциклазы превращают аденозинтрифосфат (АТФ) в цАМФ, а фермент фосфолипаза C расщепляет мембранный липид фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат на диацилглицерол (ДАГ) и инозитолтрифосфат (IP<sub>3</sub>). В обоих путях передачи сигналов сходны конечные стадии: они состоят в том, что вторичные посредники вызывают изменения структуры клеточных белков. Известны два основных способа действия вторичных посредников. Один из них - прямой - состоит в том, что посредник связывается с белком, а точнее с регуляторным компонентом белка, и вызывает конформационную перестройку. Классическим примером такого механизма является регуляция сокращения скелетных мышц. В этом случае вторичный посредник кальций связывается с белком тропонином C, что вызывает конформационное изменение, ведущее к сокращению мышцы.

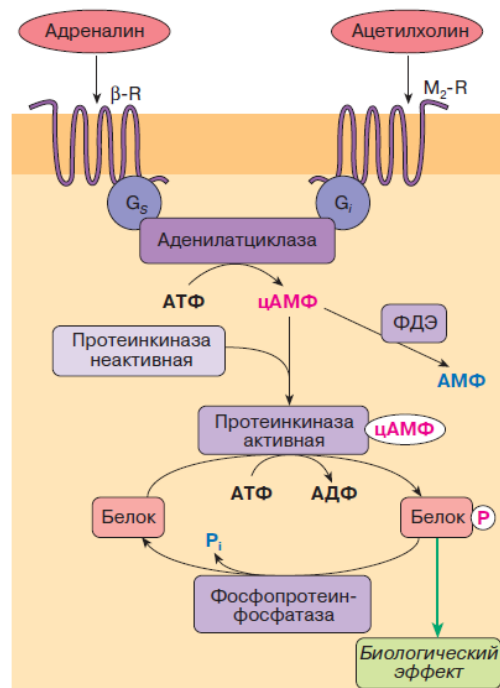
G-белки бывают двух типов: **стимулирующие** ( $G_s$ -белок) и **ингибирующие** ( $G_i$  - белок). Стимулирующий  $G_s$ -белок связан с рецептором соответствующего типа ( $R_s$ ). Взаимодействие внешней сигнальной молекулы с рецептором вызывает изменение его конформации. Конформационная перестройка передается через мембрану  $G_s$ -белку, в результате чего тот приобретает способность связывать внутриклеточный ГТФ. Вследствие связывания ГТФ конформация  $G_s$ -белка изменяется, причем так, что он теперь может активировать аденилатциклазу и тем самым вызывать образование цАМФ. Таким образом, в момент образования комплекса  $G_s$  и ГТФ включается канал передачи информации. Активность комплекса  $G_s$ -белок - ГТФ подавляется путем гидролиза ГТФ до ГДФ. После гидролиза ГТФ  $G_s$ -белок теряет способность активировать аденилатциклазу. Гидролиз катализируется ферментом гуанозинтрифосфатазой (ГТФазой). Токсин, выделяемый холерным вибрионом, подавляет функцию ГТФазы. Это приводит к увеличению времени жизни комплекса  $G_s$ -белка с ГТФ, вследствие чего клетка производит цАМФ постоянно, независимо от побуждающего к этому внешнего сигнала. В клетках кишечника цАМФ вызывает сильную секрецию жидкости, чем и объясняется тяжелая диарея, которой страдают больные холерой.

$G$ -белки другого типа ( $G_i$ -белки) участвуют в передаче информации, подавляющей образование цАМФ. Взаимодействие внешней, сигнальной молекулы с рецептором, обозначаемым символом  $R_i$ , приводит к изменению конформации  $G_i$ -белка, после чего тот связывает ГТФ, еще раз меняет конформацию и ингибирует аденилатциклазу. В этом случае также известен бактериальный токсин, блокирующий передачу информации. Он продуцируется возбудителем коклюша. Показано, что коклюшный токсин препятствует ингибированию аденилатциклазы. Бактериальные токсины послужили ценным инструментом для изучения функции  $G$ -белков.

### **Протеинкиназы, фосфатазы. Аденилатциклазная система.**

Наиболее распространен непрямой механизм действия вторичного посредника. В этом случае он активирует фермент протеинкиназу, который затем фосфорилирует белок (т.е. присоединяет к нему фосфатную группу). Фосфорилирование приводит к конформационной перестройки белка и активированию его функции.

При взаимодействии молекулы-сигнала с рецептором активируется фермент аденилатциклаза, которая катализирует превращение АТФ в цАМФ. Этим этапом управляет  $G_s$ -белок. Конечные стадии и пути передачи сигнала с помощью цАМФ осуществляются при участии протеинкиназы, которая фосфорилирует определенный белок только тогда, когда она специфически активирована цАМФ. Молекула фермента состоит из двух субъединиц: регуляторной и каталитической. Циклический АМФ связывается с регуляторной субъединицей, в результате чего каталитическая субъединица отделяется. В свободном состоянии она может фосфорилировать белок. В жировых клетках таким образом регулируется активность липазы - фермента, начинающего последовательность реакций, в которых извлекается энергия, заключенная в молекулах липидов.



Поступивший извне сигнал достигает внутриклеточных резервуаров кальция через ряд промежуточных звеньев: сигнал стимулирует гидролиз одного из липидов - **фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата**, входящих в состав плазматической мембраны. Каким же образом гидролиз одного мембранного липида может вызвать увеличение внутриклеточной концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ?

Фосфолипиды в водной среде самопроизвольно образуют упорядоченные двухслойные плоские структуры, которые составляют основу биологических мембран. Согласно традиционной точке зрения, липидный бислой функционирует как инертный барьер. Открытие того, что фосфолипиды участвуют в передаче внутриклеточных сигналов послужило началом пересмотра традиционных представлений о их функциях. Фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат - это типичный фосфолипид, располагающийся преимущественно в обращенном к цитоплазме слое двухслойной клеточной мембраны. В ответ на внешний сигнал это вещество гидролизуется с образованием диацилглицерола и инозитолтрифосфата. При посредстве *G*-белка фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат расщепляется на инозитол-1,4,5-трифосфат и диацилглицерол. Конечная стадия в цикле инозитолфосфатов - это превращение инозитолмонофосфата в свободный инозитол.

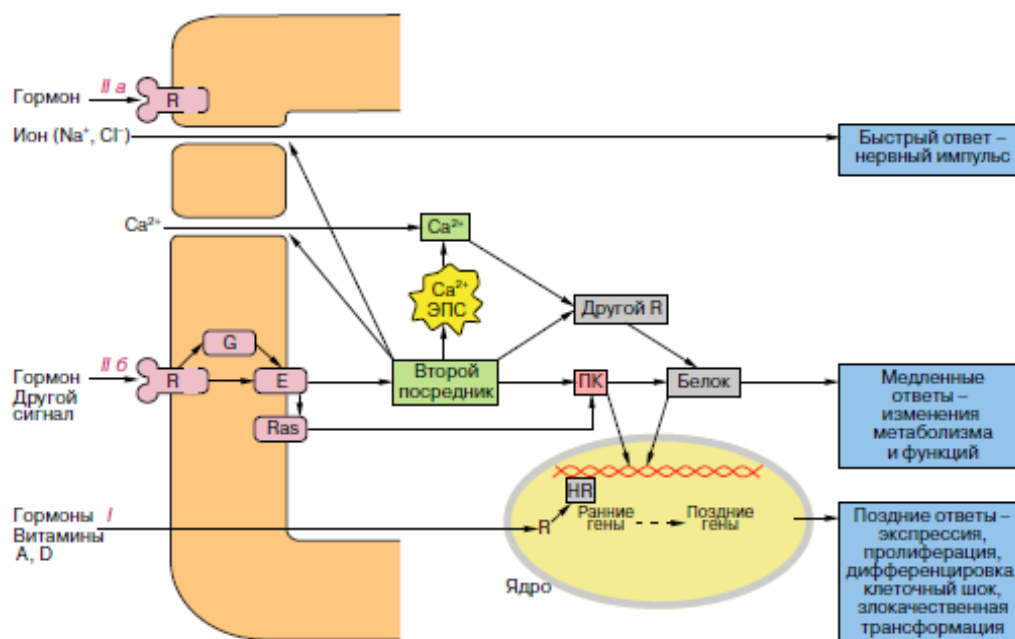
### Участие ионов $\text{Ca}^{2+}$ в управлении физиологическими процессами.

В организме растений и животных  $\text{Ca}^{2+}$  является одним из важнейших вторичных посредников. Он передает внутриклеточным биохимическим системам сигналы, которые в форме электрических импульсов или химических соединений поступают к клетке извне на ее мембрану. Чтобы  $\text{Ca}^{2+}$  эффективно управлял клеточными процессами, его функционирование, должно подвергаться регуляции. В клетке в ходе эволюции возникла сложная система

белков, которые взаимодействуют с ионами кальция, тем самым управляя передачей и приемом внутриклеточных сообщений.

Белки, которые связывают  $\text{Ca}^{2+}$ , делятся на два класса: 1) мембранные белки, управляющие передвижением  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану внутрь клетки или клеточных органелл; 2) растворимые белки, находящиеся в цитоплазме или внутри органелл.

Белки второго класса играют некоторую роль в регуляции концентрации кальция в клетке. Одним из важнейших связывающих  $\text{Ca}^{2+}$  белков является **кальмодулин**. Кальмодулин присутствует во всех клетках млекопитающих и, по-видимому, является самым распространенным «переводчиком» внутриклеточных кальциевых сигналов. Он действует на ферменты, такие как протеинкиназы, которые фосфолируют другие белки. Фосфорилирование может вызвать как активацию, так и ингибирование ферментов. Кальмодулин регулирует множество клеточных функций. Недавно было показано, что он участвует в секреции гормонов из желез эндокринной системы. Он влияет на



форму клетки и на процесс ее деления. Хорошо изучена регуляторная роль кальмодулина в скелетных мышцах. Повышение внутриклеточной концентрации кальция инициирует при участии тропонина сокращение мышцы. Однако кальций вызывает также долговременное изменение метаболизма, зависящее от кальмодулина. Активируемый кальцием кальмодулин стимулирует протеинкиназу. Она фосфорилирует фермент, который расщепляет гликоген.

Большинство кальций регулируемых процессов в клетке осуществляется при внутриклеточных концентрациях кальция в пределах  $10^{-7}$  -  $10^{-5}$  М. Для предотвращения излишнего накопления кальция внутри клетки необходимы

механизмы, выводящие ионы  $\text{Ca}^{2+}$  наружу. Таким механизмом является  $\text{Ca}^{2+}$  активируемая АТФаза.

### **Использованная литература**

1. Рубин А.Б. Биофизика. Учебник в 2 х книгах. М.: Высшая школа, 2000. 1т. – 448 б., 2т. - 467 б.
2. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И., Вознесенский С.А., Козлова Е.К. Биофизика, Владос, 2000. - 287 б.
3. Ревин И.И., Максимов Г.А., Кольс О.Р. Физиология и биофизика мембранных процессов. Изд-во Мордовского университета, 1995.
4. Ковалев И.В. и др. Лекции по биофизике: Учебно-методическое пособие. Томск, 2007. -175 с.
5. Ноздрачев А.Д. и др. Общий курс физиологии человека и животных. В 2 кн. Кн.1. Физиология нервной, мышечной и сенсорной систем. М.: Высшая школа, 1991. – 512 с.

## **ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ**

### **1 - ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

#### **ТЕМА: ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ**

Изучение процессов, протекающих в биологических системах, начинают с изучения ее компонентов. Для этого компоненты выделяют, исследуют, чтобы понять их функционирующую роль в составе организма. Процессы, характерные для целой клетки, протекают в отдельных клеточных частицах и органеллах, которые для анализа выделяют, из клетки с помощью методов фракционирования. Этот процесс состоит из двух этапов: сначала клетки разрушают, затем из образовавшейся суспензии методом дифференциального центрифугирования выделяют нужные органеллы. Выбор ткани для фракционирования определяется конкретными условиями эксперимента и объектом исследования. Ткани и клетки различных органов различаются по составу, хрупкости и плотности, что и определяет выбор того или иного метода выделения. Идеальным объектом для изучения функционирования митохондрий является печень, поскольку именно в клетках печени митохондрии содержатся в больших количествах. Ткани тимуса используются для выделения ядер. Плазматические мембраны выделяют из мозга, почек. Саркоплазматический ретикулум выделяют из мышечной ткани. Дальнейшее разделение индивидуальных компонентов клеточных органелл и изучение их свойств проводят методом центрифугирования, хроматографии,

электрофореза и т.д.

Центрифугирование подразделяется на препаративное, зонально-скоростное, аналитическое. При дифференциальном центрифугировании фракции разделяются по скорости седиментации частиц, отличающихся по размеру и плотности. Дифференциальное центрифугирование подразделяется на высокоскоростное ультрацентрифугирование (требует вакуумную установку, холодильник, охлаждение корпуса), на скоростное (требует вакуумную установку, холодильник), настольное (например, разделение эритроцитов крови). Зонально-скоростное центрифугирование основано на сахарозных градиентах, аналитическое – на скорости седиментации относительно чистых препаратов для изучения конформационных перестроек нуклеиновых кислот, рибосом с помощью оптических методов.

Для определения состава, механизма действия и функций клеточных компонентов пользуются сложными количественными и качественными аналитическими методами. На атомном и молекулярном уровнях применяют целый ряд спектральных методов, а также методы потенциометрии, полярографии. Не следует забывать о том, что клеточные органеллы обладают весьма большой чувствительностью к рН и сильно реагируют на изменения рН среды, поэтому в процессах выделения белковых препаратов необходимо строго соблюдать рН белка и пользоваться для этого буферными растворами. Большинство внутриклеточных процессов протекает при нейтральных значениях рН, когда их скорость максимальна. Гидролазы лизосом например, обладают максимальной активностью при рН 5,0, желудочный сок имеет рН около 1. В биологических системах постоянная величина рН поддерживается с помощью эффективных буферных систем, включающих фосфаты, бикарбонат, трис- HCl, фуру, квин.

Изменение свойств окружающей среды (температуры, ионного состава, рН, конформации малых молекул) - может изменить баланс сил, определяющих исходную конформацию белка и вызвать переход белка в новую конформацию, стабильную в новых условиях. Для изучения структуры макромолекул, конформационных переходов используются различные современные физико-химические методы. Например, при использовании метода флуоресцентных зондов органический краситель "пришивается" к какому-либо белку, и в зависимости от места расположения зонда (например, переход в гидрофобное ядро молекулы) его свечение изменяется. Для этих же целей может быть использована регистрация флуоресценции эндогенных хромофорных групп (триптофана, тирозина, фенилаланина).

Метод кругового дихроизма основан на двуцветности анизотропных кристаллов (т.е. обладающих неодинаковыми физическими свойствами - теплопроводностью, температурой, плотностью и пр. по всей своей протяженности). Так, в фоторецепторных мембранах палочек есть белок родопсин. Палочки, адаптированные к темноте, обладают дихроизмом - свет, поляризованный перпендикулярный длинной оси палочки, поглощается в несколько раз сильнее, чем свет, поляризованный параллельно этой оси. Это и есть явление фотодихроизма. Спектры КД различны для  $\alpha$ -спиралей,  $\beta$ -



структур белков и неупорядоченных областей.

Теоретическое предсказание пространственной структуры белков — одна из наиболее актуальных задач структурной биологии, поскольку её получение в прямом эксперименте далеко не всегда возможно. Пространственная структура белков — ключ к пониманию их биологической функции и механизма работы. Знание строения «молекулярных машин» может дать учёным незаменимую подсказку для направленного дизайна новых, эффективных и безопасных лекарственных соединений. Наиболее часто используемый метод определения трёхмерной структуры белка — рентгеновская кристаллография, позволяющая по дифракционной картине, получающейся от рассеяния рентгеновских лучей на кристаллах белка, восстановить трёхмерную карту электронной плотности и пространственную структуру молекулы. В последние годы с увеличением возможностей вычислительной техники продолжают совершенствоваться и методы предсказания структуры белка, причём наибольшее внимание уделяется тем подходам, которые способны предсказать требуемую структуру не используя никаких дополнительных «вводных» данных, кроме аминокислотной последовательности моделируемого белка. В случае же, если у интересующего белка есть близкий «родственник», структура которого уже известна, задача сильно упрощается: из-за схожести структур близкородственных белков модель можно построить как бы «по шаблону» с уже известным белком.

#### **Методы, используемые для изучения биологических макромолекул**

1. Дифракция рентгеновских лучей. Позволяет изучать пространственную структуру молекул, ориентацию элементов вторичной структуры, формы и размер макромолекул.
2. Дифракция нейтронов. Изучается пространственное расположение доменов и субъединиц в молекулярных ассоциатах.
3. Электронная микроскопия. Изучается форма и размеры макромолекул, упаковка субъединиц.
4. Дифференциальная спектрофотометрия. Изучается поглощение света хромофорными группами для молекул растворителя, конформационные состояния макромолекулы.
5. Спектрофотометрия. Позволяет изучать вторичную структура макромолекул, ионизацию отдельных групп.
6. ИК-спектроскопия. Изучается вторичная структура и колебательная динамика макромолекул.
7. Раман-спектроскопия. Позволяет изучать конформационные изменения макромолекул в растворе, вторичную структуру макромолекул.
8. Флуоресценция. Изучает конформационные состояния макромолекул, подвижность хромофорных групп и динамика макромолекул.
9. Миграция энергии возбуждения. Изучает расстояние между хромофорными группировками в макромолекуле.

10. Ядерный магнитный резонанс (ЯМР). Позволяет изучать конформацию макромолекул и отдельных групп, динамические свойства, степень связывания лигандов, боковые группы и их окружение.
11. Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР). Изучает конформацию макромолекул, локальную подвижность структуры, обменные и диполь-дипольные взаимодействия.
12. Квазиупругое рассеяние света. Позволяет изучать коэффициент диффузии, молекулярную массу и размеры макромолекул.
13. КД и дисперсия оптического вращения (ДОВ). Изучает вторичную структуру макромолекул, степень связывания с лигандами.
14. Новый компьютерный метод анализа биомолекул. Позволит проводить экспресс-анализ биомолекул, основанный на сопоставлении трехмерных структур изучаемых белковых молекул.

### Использованная литература

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## 2 - ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

### ТЕМА: ЭНТРОПИЯ СТАЦИОНАРНОГО СОСТОЯНИЯ ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЫ

#### Теоретическая часть

Классическая термодинамика разработана для закрытых и изолированных систем и имеет дело с равновесными состояниями. Открытая система обменивается с окружающей средой и веществом и энергией. Как следует из определения открытых систем, открытая система не может находиться в состоянии термодинамического равновесия, поскольку последнее характеризуется полным отсутствием каких-либо процессов, что очевидно противоречит самому определению открытой системы. В открытой системе вместо термодинамического равновесия устанавливается *стационарное состояние*. Поведение открытой системы в условиях, близких к равновесию, описывается в рамках линейной термодинамики. Открытые системы не линейны и характеризуются способностью к установлению макроскопического порядка. Устойчивость стационарных состояний представляет собой способность системы возвращаться в стационарное состояние после внесения в нее возмущений.

В изолированной системе эволюция идет в направлении достижения термодинамического равновесия, при котором энтропия стремится к максимуму:  $S \rightarrow \max$ , а  $\Delta G = 0$ , что ведет в конечном счете к деградации системы.

В условиях равновесия  $dS = 0$ .

Открытая система обменивается с окружающей средой, веществом и энергией, поэтому изменение энтропии в такой системе состоит из двух частей: из потоков энтропии, обусловленного взаимодействием системы с окружающей средой  $deS$  и доли энтропии, обусловленной изменениями внутри системы  $diS$ . Поскольку живые организмы относятся к открытым системам, то общее изменение энтропии в таких системах  $dS$  может происходить независимо либо за счет процессов обмена (exchange - обмен) с окружающей средой ( $deS$ ), либо вследствие внутренних необратимых процессов ( $diS$ ):

$$dS = deS + diS$$

Приращение энтропии  $diS$ , обусловленной изменениями внутри системы, в силу второго закона термодинамики, может иметь только положительное значение или равняться нулю. Значение  $diS$  равно нулю тогда, когда в системе происходят обратимые процессы, и оно всегда положительно, если в системе идут необратимые процессы.

Величина  $deS$  может принимать любые значения: положительные, нулевые, отрицательные. В изолированной системе обмена с окружающей средой нет и поэтому  $deS = 0$  и тогда  $dS = diS = 0$ . Когда  $deS$  отрицательно и по величине равно  $diS$ , тогда общее изменение энтропии системы будет равно нулю, что и соответствует стационарному состоянию системы. Таким образом, теория открытых систем предполагает, что энтропия открытых систем уменьшается за счет взаимодействия с окружающей средой, остается постоянной или даже может увеличиваться.

В стационарном состоянии организма скорость изменения энтропии внутри организма равна скорости обмена энтропии с окружающей средой и  $dS = diS$ , т.е. отлична от нуля, что становится одной из важных величин, характеризующих стационарное состояние открытой системы. В зависимости от соотношения скоростей изменения  $deS$  и  $diS$  общая энтропия  $dS$  открытой системы может либо увеличиваться, либо уменьшаться:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{deS}{dt} + \frac{diS}{dt}$$

Таким образом, в стационарном состоянии скорость прямой реакции может превышать скорость обратной реакции, но разность скоростей должна поддерживаться постоянной во времени, что и обуславливает важное свойство стационарной системы, которое проявляется в стремлении свести к минимуму ежесекундный прирост энтропии и установлению внутренней стабильности.

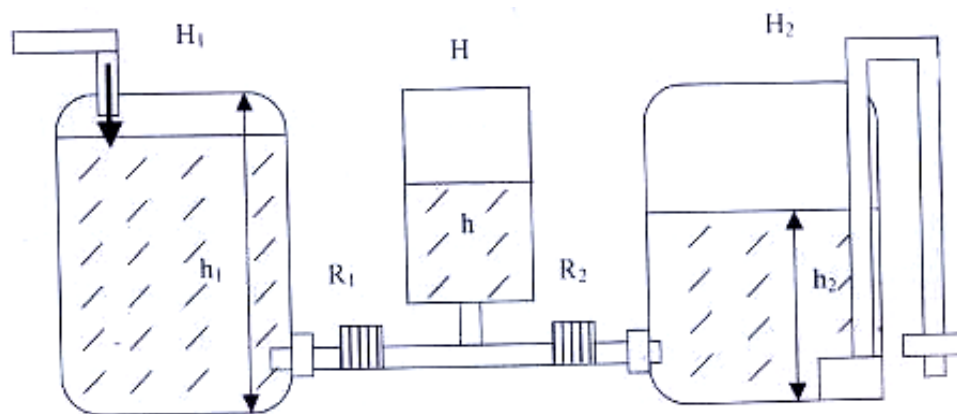
В целом, организм стремится работать на наиболее выгодном энергетическом уровне, если система по какой-либо причине вышла из своего стационарного состояния. Способность системы к восстановлению нарушенного стационарного состояния зависит от силы стремления системы перейти к исходному состоянию, при этом в ней наступают такие изменения, которые приблизят систему к стационарному состоянию. Способность системы к восстановлению нарушенного стационарного состояния называется аутостабилизацией. В основе механизма аутостабилизации лежат принципы

обратной связи. Механизм аутостабилизации имеет большое значение в поддержании устойчивости стационарного состояния. Хорошо известна работа таких механизмов у млекопитающих. Так, например, вдыхание воздуха, содержащего повышенное количество углекислого, не приводит к устойчивому увеличению его концентрации в крови. Углекислый газ, действуя на хеморецепторы, усиливает возбуждение дыхательного центра и интенсивность газообмена, что и приводит к снижению концентрации углекислого газа в крови до нормы. Таким образом, для устойчивого стационарного состояния характерна отрицательная обратная связь.

Для возбудимой системы характерно неустойчивое стационарное состояние. Например, деполяризация возбудимой мембраны под действием раздражителей приводит к усилению диффузии ионов натрия, что в свою очередь еще больше деполяризует мембрану. Процесс развивается самоускорением до достижения равновесного потенциала по натрию, т.е., по принципу положительной обратной связи. Для восстановления исходного стационарного состояния требуется значительное изменение свободной энергии или приток отрицательной энтропии извне, чтобы компенсировать возникшую в системе положительную энтропию. В целом, в том и в другом случае, система сохраняет свои свойства на постоянном уровне во времени. Однако, если устойчивому стационарному состоянию характерен минимум прироста энтропии, то неустойчивому стационарному состоянию - максимум.

#### Гидродинамическая модель открытой системы. (Модель Теорелла)

Проверить устойчивость стационарного состояния системы можно с помощью гидродинамической модели Теорелла.



Гидродинамическая модель Теорелла.

Модель включает в себя три сосуда:  $H_1$ ,  $H$ ,  $H_2$ , имеющих сообщения между собой трубками  $R_1$  и  $R_2$  как показано на рисунке. Обязательным условием работы данной модели, как открытой системы является постоянство уровней жидкостей в сосудах  $H_1$  и  $H_2$ . Сосуды  $H_1$ ,  $H_2$  моделируют внешнюю среду как «источник» и «сток» вместе взятые с соединительными трубками - открытую систему. Стационарное состояние в нем возникает при определенном уровне жидкости в зависимости от скорости течения жидкости в трубках, что в свою очередь, определяется параметрами трубочек, а также разностью

давлений в сосудах  $H_1$  и  $H_2$ . Скорость течения жидкости в трубочках пропорциональна разности уровней в сосудах:

В результате непрерывного течения жидкости в системе происходит возрастание энтропии, величина которой возрастает из-за того, что трение жидкости о стенки трубочек является необратимым процессом. Скорость создания энтропии будет равно произведению скорости потока на силу его вызывающую, т.е. на разность уровней в сосудах. Для  $R_1$  скорость потока  $V_1 = k_1 (h_1 - h)$ , для  $R_2$  скорость потока  $V_2 = k_2 (h - h_2)$  (1), где  $k_1$  и  $k_2$  – коэффициенты, имеющие размерность проводимости и обратно пропорциональны сопротивлению.

Для трубочки  $R_1$  скорость изменение энтропии определяется как:

$T dS_1/dt = dS_1/dt = V_1 (h_1 - h)$ , для трубочки  $R_2$  скорость изменение энтропии определяется как:  $T dS_2/dt = dS_2/dt = V_2 (h - h_2)$ , (2), где  $T$  – температура среды.

Таким образом, скорость изменение энтропии всей системы будет равно:

$T dS/dt = T dS_1/dt + T dS_2/dt = V_1 (h_1 - h) + V_2 (h - h_2)$ , (3).

Из формулы (3) и (1) получаем:  $T dS/dt = k_1 (h_1 - h)^2 + k_2 (h - h_2)^2$  (4)

В формуле (2) выражения слева и справа имеют размерность мощности, т.е. показывают количество энергии выделяемой в единицу времени: слева тепловой энергии ( $TdS=dQ$ ) справа – механической энергии. Таким образом, эти формулы показывают какое количество механической энергии в трубочках  $R_1$  и  $R_2$  превращаются в тепловую энергию, эквивалентную необратимости процесса трения.

Обозначив  $TdS/dt$  как  $TS$  можно построить графики зависимости  $TS$  от  $h$ , как показатель стационарности системы. Поскольку в правой части (4)  $h$  в квадрате, то зависимости  $TS$  от  $h$  будет иметь вид параболы. Направление ветвей параболы зависит от знака справа. Если  $k_1$  и  $k_2$  положительным, то ветви параболы направлены вверх. Данный случай соответствует устойчивому стационарному состоянию, которое характеризуется минимальной скоростью прироста энтропии.

Если изменить скорость течения жидкости в трубочках, то уровень в сосуде  $H$  также изменится, т.е., система переходят в новое стационарное состояние. Поскольку скорость протекания жидкости зависит от гидростатического давления, создаваемого столбом жидкости при установлении нового стационарного состояния, уровень в сосуде  $H$  принимает сначала некоторое максимальное или минимальное значение, а затем стабилизируется на некоторой высоте близкой к исходному уровню.

Таким образом, можно заключить, что любое смещение уровня жидкости в сосуде  $H$  в устойчивом стационарном состоянии сопровождается его быстрым возвращением к прежнему уровню, что связано с минимальным приращением энтропии системы.

### Выполнение лабораторной работы

Ход работы. Пускают в систему воду с водопровода. После установления устойчивых уровней в сосудах, при полностью открытых кранах (состояние кранов в положении 1) записывают высоты уровней жидкости в сосудах  $H_1$ ,  $H$ ,

$H_2$  в таблицу, меняя положения кранов  $k_1$  и  $k_2$  при их различных сочетаниях, например  $k_1-2$ , а  $k_2-1$ ,  $k_1-3$ , а  $k_2-2$  и т.д. следят за изменениями уровней жидкости в сосудах  $H_1$ ,  $H$  и  $H_2$  и записывают их высоту.

Вычисляют скорость течения жидкости через трубочки в соответствии с положением кранов  $k_1$  и  $k_2$ , с соответствующей высотами уровней в сосудах  $H_1$ ,  $H$ ,  $H_2$ , для каждого сочетания кранов в отдельности, по следующим формулам:

$$V_1 = k_1 \Delta h_1 \text{ и } V_2 = k_2 \Delta h_2$$

$$\text{С учетом, что } k_1 = \pi r^4 / 8 \eta l \text{ и } k_2 = \pi r^4 / 8 \eta l \text{ ,}$$

где  $\pi = 3,14$ ,  $r$  – радиус трубочки в см,  $\eta$  – вязкость жидкости в пуазах,  $l$  – длина трубочек,  $t$  – время в секундах.

Далее для каждого положения краников вычисляют приращения энтропии согласно формуле:  $T dS/dt = TS = k_1(h_1-h)^2 + k_2(h-h_2)^2$

Найденные величины вносят, также в таблицу. Затем на основании данных  $TS-h$ , откладывая при этом на оси абсцисс величины  $h$ , а на оси ординат значения  $TS$ . Находят на графике значение  $h$  соответствующее минимальному приращению энтропии.

Форма записи, полученных результатов.

Положение краников		Высоты уровней в сосудах ( $H_1$ , $H$ , $H_2$ )			Объемная скорость		Приращение энтропии
$k_1$	$k_2$	$h_1$	$h$	$h_2$	$V_1$	$V_2$	$TS$

### Использованная литература

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## 3-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

### ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОВЕРХНОСТНОГО НАТЯЖЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ

Под поверхностным натяжением понимают избыток свободной энергии на границе раздела жидкости и её пара. В отличии от молекул находящихся в толще жидкости, силы притяжения между которыми взаимно уравновешены, молекулы, расположенные на поверхности, испытывают притяжение только со стороны молекул, находящихся под поверхностью. Вследствие этого из-за межмолекулярных сил притяжения возникает избыток свободной энергии на поверхности раздела жидкости.

Величину свободной энергии  $F$  выражают формулой:

$$\nabla F = \sigma \cdot \nabla S \quad (1),$$

где  $\sigma$  - коэффициент поверхностного натяжения,  $S$  - площадь поверхности.

Коэффициент поверхностного натяжения можно представить как работу, необходимую для увеличения площади на один квадратный сантиметр, т.е.

$$\sigma = \frac{A}{S} \quad (2)$$

Если работу  $A$  выразить в эргах, а площадь поверхности в  $\text{см}^2$ , то коэффициент поверхностного натяжения будет равен  $\text{эрг} \cdot \text{см}^{-2}$ .

Поскольку  $\text{эрг} = \text{дин} \cdot \text{см}$ , то  $\text{эрг} \cdot \text{см}^{-2} = \text{дин} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Коэффициент поверхностного натяжения также можно представить и как силу, которую нужно приложить к периметру поверхности раздела для увеличения длины периметров на 1 см. Исходя из того, что  $\text{эрг} \cdot \text{см}^{-2} = \text{дин} \cdot \text{см}^{-1}$ , можно считать, что оба эти измерения численно равны друг другу.

Величина поверхностного натяжения жидкости зависит от температуры и давления пара над жидкостью. При повышении температуры поверхностное натяжение уменьшается. При повышении температуры поверхностное натяжение уменьшается. При обычном давлении молекулы поверхностного слоя не подвергаются силам притяжения со стороны газообразной фазы. Однако величина поверхностного натяжения жидкости будет уменьшаться, когда давление пара над жидкостью будет увеличиваться.

Поверхностное натяжение жидкостей сильно падает при добавлении к ним гомологов одноатомных спиртов, эфиров, жирных кислот и других веществ. Такие вещества называются поверхностно-активными веществами. Под действием других веществ, например, сахаров, поверхностно-активное натяжение не подвергается изменениям, а под действием минеральных солей ( $\text{Na}^+$ ) несколько повышается. Как показал Гиббс, вследствие стремления поверхностной энергии к минимуму, растворённые поверхностно-активные вещества должны накапливаться в поверхностном слое раствора. Изменение концентрации веществ в поверхностном слое по сравнению с его концентрацией в толще раствора получило название адсорбции. Растворенное вещество адсорбируется тем сильнее, чем больше его поверхностное натяжение.

Адсорбция требует определённого времени. Поэтому в растворах поверхностно-активных веществ поверхностное натяжение вновь образовавшейся поверхности всегда выше, чем поверхности после окончания в ней адсорбции. В таких растворах измерения дают совершенно разные цифры, в зависимости от того, производится ли они на свежее образовавшейся или покоящейся поверхности. Поверхностное натяжение соответствующее первому случаю называется динамическим поверхностным натяжением ( $\sigma_{\text{дин.}}$ ) и характеризует поверхностное натяжение поверхностного слоя имеющего одинаковый состав с толщей жидкости. Поверхностное натяжение соответствующее второму случаю называется статическим поверхностным натяжением ( $\sigma_{\text{стат.}}$ ) и отражает поверхностное натяжение поверхности после наступления адсорбционного равновесия.

У абсолютно чистых жидкостей (вода, абсолютный спирт, ацетон, и др.) величины ( $\sigma_{\text{дин.}}$ ) ( $\sigma_{\text{стат.}}$ ) совпадают, т.к. толща жидкости и её поверхность

имеют совершенно одинаковый состав, но при наличии в растворе поверхностно-активных веществ статическое поверхностное натяжение раствора всегда ниже его динамического поверхностного натяжения.

Из различных биологических жидкостей наиболее изученными являются сыворотка и плазма крови. Например, динамическое поверхностное натяжение плазмы крови колеблется между 74 и 77  $\text{дин}\cdot\text{см}^{-1}$ , чем добавленные антикоагулянты (цитрат, оксалат и др.) не оказывают на него заметного влияния. Однако, самый незначительный гемолиз эритроцитов вызывает снижение поверхностного натяжения. Например, добавление 0,1% раствора гемоглобина снижает его на 12  $\text{дин}\cdot\text{см}^{-1}$ . Динамическое поверхностное натяжение плазмы крови значительно меняется при различных заболеваниях. Наиболее сильное его уменьшение отмечалось при анафилактическом шоке.

Сыворотка крови имеет меньшее динамическое поверхностное натяжение, чем плазма. Статическое поверхностное натяжение сыворотки крови обладает стойкостью по отношению к поверхностно-активным веществам. Если к чистой воде добавить небольшое количество олеинового кислого натрия поверхностное натяжение воды сильно падает. Если же такое количество данного вещества добавить к сыворотке, то её поверхностное натяжение также резко падает в течение первых нескольких секунд. Затем оно очень быстро начинает расти и вскоре достигает первоначального значения.

Способность восстанавливать исходную величину поверхностного натяжения, уменьшившуюся при добавлении поверхностно-активных веществ, носит название поверхностной буферности. По мнению Д.Л. Рубинштейна, Ю.Д. Кузьминой поверхностная буферность сыворотки обусловлена присутствием в ней ионов кальция, которые реагируя с поверхностно-активными веществами переводят их в связанное состояние, вследствие чего они становятся не способными изменять поверхностное натяжение.

Известную роль в поддержании поверхностной буферности плазмы крови играют также растворенные в ней белки, адсорбирующие поверхностно-активные вещества. Таким образом, благодаря наличию ионов кальция, белков, плазма крови сохраняет относительное постоянство поверхностного натяжения, изменяющееся лишь при некоторых тяжелых заболеваниях. Изучение поверхностного натяжения сыворотки плазмы и других биологических жидкостей имеет существенное значение в клинической диагностике.

### **Измерение поверхностного натяжения биологических жидкостей.**

При измерении поверхностного натяжения жидкостей широкое применение нашёл метод отрыва кольца Дю Нуи, основанный на измерениях силы, необходимой для отрыва твёрдого контура от поверхностного слоя жидкости. Несмотря на удобство и простоту данный метод обладает рядом недостатков, связанных главным образом с невозможностью учесть влияние на результаты экспериментов процесс смачивания кольца при его соприкосновении с различными растворами.



## Метод Ребиндра

Метод определения поверхностного натяжения жидкости по методу Ребиндера основан на измерении давления воздушных пузырьков, образующихся на поверхности раздела жидкости. Капиллярную трубку погружают в жидкость так, чтобы её торец касался поверхности жидкости. Если давление в трубке наращивать постепенно, то на конце капилляра образуется пузырёк воздуха, который по мере увеличения давления в пузырьке будет расти до некоторого предела. Когда внутри пузырька создаётся избыток давления достаточного для преодоления межмолекулярных сил сцепления, пузырёк лопнет. Установлено, что избыточное давление внутри пузырька прямо пропорционально поверхностному натяжению и обратно пропорционально радиусу кончика капилляра.

$$P = \kappa \frac{\sigma}{r} \quad (3),$$

где  $\kappa$  - константа прибора,  $r$  - радиус кончика капилляра.

Для двух жидкостей с различным поверхностным натяжением и при использовании одного и того же капилляра справедливо соотношение:

$$\frac{\sigma}{\sigma_0} = \frac{P}{P_0} \quad (4)$$

Тогда поверхностное натяжение исследуемой жидкости также будет определяться соотношением (4), где  $\sigma$  - коэффициент поверхностного натяжения неизвестной жидкости,  $\sigma_0$  - коэффициент поверхностного натяжения контроля, в качестве которого берут дистиллированную воду.

Если считать, что соотношение величины поверхностного натяжения данной жидкости к давлению, необходимому для преодоления межмолекулярных сил на её поверхности, величина постоянная, т.е.

$$\frac{\sigma_0}{P_0} = \kappa \quad (5)$$

то формула (5) упрощается и приобретает свой конечный вид:

$$\sigma = \kappa P \quad (6)$$

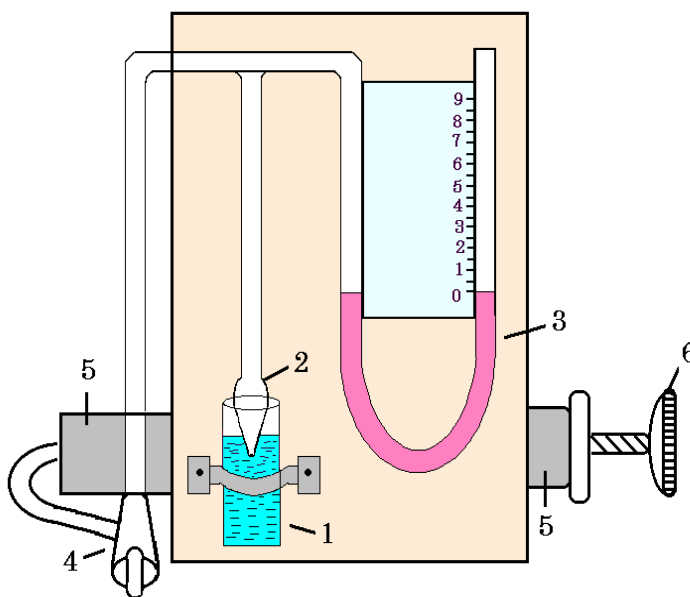
## Устройство модифицированного прибора Ребиндера.

Прибор состоит из стеклянного сосуда (отрезка пробирки) 1, куда наливают испытуемую жидкость. На поверхность жидкости в сосудике 1 опущена стеклянная трубка с оттянутым капиллярным кончиком. Второй конец этой трубки через резиновый переходник соединяется со стеклянной трубкой, имеющей сообщения, с одной стороны- с водным манометром, с другой стороны через 3-х ходовой краник с воздухонапорной системой. Воздухонапорная система включает в себя шприц и винтик, дающий возможность плавно повышать давление в шприце.

### Работа на приборе:

Трёхходовый кран 4 ставят так, чтобы вся полость внутри системы сообщалась с атмосферой. Откручивая винтик 6 назад, набирают воздух в

шприц. В сосуд 1 наливают столько дистиллированной воды, чтобы кончик капилляра только касался её поверхности. Затем краник ставят так, чтобы вся внутренняя полость системы сообщалась только со шприцем. При этом уровень воды в манометре должен находиться на нулевой отметке. Медленно поворачивая винтик 6 вперёд в системе создают всё возрастающее давление. Нарастив давление до тех пор, пока на кончике капиллярной трубки 2 не появится пузырёк воздуха. Записывают то давление, которое соответствует максимальному подъёму, вводят среднюю величину давления  $P$ .



**Рис.3. Схема модифицированного прибора Ребиндера**

1-сосудик для испытуемой жидкости, 2-стеклянная трубка с оттянутым капиллярным кончиком, 3-водяной манометр, 4-трёхходовой краник, 5-шприц, 6-винт.

### **Выполнение лабораторной работы**

#### **Определение поверхностного натяжения различных жидкостей.**

*Необходимые принадлежности:* модифицированный прибор Ребиндера; пипетки на 1 мл; сосудики 10 шт; пробирки 6 шт; физиологический раствор; раствор Рингера для хладнокровных и теплокровных животных; раствор олеата натрия (0,1%), этиловый спирт; эфир; молоко; сыворотка или плазма крови; дистиллированная вода; фильтровальная бумага; штатив для пробирок.

#### **Упражнение 1. Вычисление константы прибора.**

Для вычисления  $k$ , в качестве стандартной жидкости используют дистиллированную воду и определяют максимальное давление  $P_0$  в момент отрыва пузырька с кончика капиллярной трубки. Поделив величину поверхностного натяжения воды  $\sigma_0$  (найденную в таблице при заданной температуре, см. приложение) на  $P_0$  находят коэффициент  $k$  по формуле (6).

#### **Упражнение 2. Определение поверхностного натяжения молока.**

Сначала определяют константу прибора по дистиллированной воде. Затем измеряют величину  $P$  для спирта, эфира, молока, записывают

полученные величины и по формуле (6) вычисляют поверхностное натяжение исследуемых жидкостей.

### **Исследование поверхностной буферности плазмы крови.**

Работу проводят также как и в упражнении 2 лабораторной работы. После 3-х фоновых определений значений максимального давления для плазмы, к ней добавляют две капли 0,1% раствора олеата натрия, предварительно разбавленного для теплокровных животных. Определяют максимальное давление сразу же после добавления олеата натрия, а затем через 1, 3, 5, 10, 15, 20 и 30 мин. Аналогичные опыты проводят и с физиологическим раствором для хладнокровных животных. Оформляют результаты опытов как в предыдущей работе.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **4-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ПОЯВЛЕНИЯ МИЦЕЛЛЫ В РАСТВОРАХ ПОВЕРХНОСТНО АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Мицеллы – организованные агрегаты большого числа молекул ПАВ (поверхностно-активных веществ). Для того чтобы ПАВ могло образовывать мицеллы в растворах, оно должно удовлетворять следующим требованиям: с одной стороны, иметь достаточно большой углеводородный радикал, а с другой – обладать достаточно сильной полярной группой. Любая молекула ПАВ «живет» в мицелле короткий промежуток времени. Между мицеллами происходит постоянный обмен молекулами. Переход молекул из одной мицеллы в другую может происходить только через неассоциированное состояние. Мицеллы, образуемые ПАВ, делятся на прямые и обратные.

Микрофаза прямых мицелл отделена от дисперсионной среды (воды) слоем, содержащим полярные головные группы ПАВ, и оболочкой из сильно удерживаемых молекул воды. Мицеллообразование является самопроизвольным процессом, т. е. изменение потенциала Гиббса  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S < 0$ . Основной вклад в образование прямых мицелл ПАВ в водной среде вносит не энтальпийный ( $\Delta H$ ), а энтропийный ( $T\Delta S$ ) фактор. Это связано с тем, что при образовании ансамбля молекул ПАВ изменяется не только их состояние, но и состояние воды. Термодинамической движущей силой образования прямых мицелл ПАВ является гидрофобное взаимодействие

(гидрофобный эффект). Он выражается в выталкивании неполярных углеводородных радикалов молекул (ионов) из воды и объединении в ядре мицеллярной системы. В результате устраняется их контакт с водой и уменьшается структурированность воды. Чем длиннее углеводородный радикал, тем больше выигрыш энергии и тем меньшая концентрация молекул (ионов) ПАВ требуется для их объединения. В органических растворителях лиофобными становятся полярные группы дифильных молекул ПАВ. Поэтому в растворе формируются обратные мицеллы, ядра которых образуют полярные группы, а углеводородные радикалы направлены в сторону неводного растворителя. Механизм образования обратных мицелл в неполярных растворителях отличается от прямых мицелл, образующихся в воде. Число агрегации также меньше (20–80). В аналитической химии в последнее время широко используется понятие мицеллярных систем, которое по отношению к мицеллам является более широким.

Мицеллярные системы представляют собой лиофильные коллоидного размера ансамбли нескольких десятков дифильных молекул или ионов мицеллообразующих ПАВ (дисперсная фаза), распределенных в общей массе водного или неводного растворителя (дисперсионная среда). На форму мицеллярных систем оказывают влияние концентрация ПАВ, присутствие в растворе посторонних веществ и электролитов. Примерами мицеллярных систем являются прямые и обратные мицеллы, микроэмульсии, липосомы, пленки Ленгмюра–Блоджетт), везикулы. Пленки Ленгмюра–Блоджетт получают последовательным переносом организованных монослоев дифильных молекул с поверхности раздела вода/воздух при многократном опускании и поднимании твердой подложки в раствор в специальной ванне Ленгмюра. Данный тип самоорганизующихся систем используется в химических сенсорах. В везикулах роль поверхности раздела с водой выполняет замкнутый бислой молекул ПАВ, содержащих, как правило, два углеводородных радикала. Внутри везикулы также находится вода. Липосомы – это везикулы, в которых роль ПАВ выполняют дифильные молекулы липидов. Везикулы и липосомы относительно редко используются в анализе, поэтому далее рассмотрим только прямые и обратные мицеллы. Мицеллы характеризуются числом агрегации, т. е. числом молекул или ионов ПАВ, образующих мицеллу. Число агрегации прямых. Пленки Ленгмюра–Блоджетт. Везикулы 20 мицелл может изменяться от 40 до 150. Однако наиболее важной характеристикой ПАВ, используемой при рассмотрении всех вопросов их практического применения, является критическая концентрация мицеллообразования (ККМ).

Критической концентрацией мицеллообразования называют концентрацию, при которой начинают образовываться мицеллы.

Мицелла - агрегат из молекул и (или) ионов, образующихся в растворах ПАВ при превышении определенной критической концентрации.

Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) - характерная для ПАВ в растворе концентрация (на практике узкий интервал концентраций), при превышении которой появляются и развиваются мицеллы, что приводит к резкому изменению зависимости ряда физико-химических свойств от

концентрации.

Температура Крафта - температура (практически узкий температурный интервал), при которой растворимость ионногенных ПАВ резко увеличивается. При этой температуре растворимость достигает значения критической концентрации мицеллообразования.

Поверхностное натяжение - натяжение в поверхностном слое жидкости, выражаемое силой, отнесенной к единице длины. Поверхностное натяжение - проявление взаимного притяжения молекул. В действительности существует не эластичный "поверхностный слой", а заметное притяжение между молекулами поверхности и молекулами, находящимися под этой поверхностью, направленное к внутреннему объему жидкости. Поверхностное натяжение выражают в ньютонах на метр (Н/м). На практике используют миллиньютон (мН/м) ( $1 \text{ мН/м} = 1 \text{ дин/см}$ ).

Метод основан на измерении поверхностного натяжения серии растворов ПАВ концентрациями ниже и выше критической концентрации мицеллообразования и последующем построении графика зависимости поверхностного натяжения от логарифма концентрации ПАВ. ККМ соответствует область пересечения двух кривых.

Кондуктометрическое определение ККМ основано на измерении концентрационной зависимости электропроводности растворов ионногенных ПАВ. В области концентраций до ККМ зависимости удельной и эквивалентной электропроводности от концентрации ПАВ соответствуют аналогичным зависимостям для растворов средних по силе электролитов. При концентрации, соответствующей ККМ, на графиках зависимостей наблюдается излом, обусловленный образованием сферических ионных мицелл. Подвижность ионных мицелл меньше подвижности ионов и, кроме того, значительная часть противоионов находится в плотном слое Гельмгольца, что существенно уменьшает электропроводность раствора ПАВ. Поэтому при увеличении концентрации ПАВ больше ККМ эквивалентная электропроводность более резко уменьшается, а возрастание удельной электропроводности значительно ослабляется.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

### **5-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

#### **ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ**

Если растворитель отделить от раствора полупроницаемой мембраной, проницаемой для молекул растворителя и непроницаемой для молекулы растворенного вещества, то происходит односторонняя диффузия молекул растворителя через эту мембрану в раствор. Такого рода диффузия обуславливается тем, что молекулы растворителя в единице объема больше, чем в таком же объеме раствора, так как в растворе часть объема занимают молекулы растворенного вещества. В результате перемещения молекул растворителя через мембрану из растворителя в раствор, преобладают над перемещением их в обратном направлении. Односторонняя диффузия растворителя к раствору называется осмосом, и сила обуславливающая осмос, отнесенная к единице поверхности полупроницаемой мембраны, называется осмотическим давлением.

Согласно закону Вант-Гоффа, под осмотическим давлением раствора неэлектролита принято понимать такое давление, которое производили бы частицы растворенного вещества в том случае, если бы она находясь в газообразном состоянии, занимало бы такой объем, какой занимает сам раствор. Другими словами к разбавленным растворам неэлектролитов применимо уравнение состояния идеального газа:

$$pV = nRT \quad \text{или} \quad p = \frac{n}{v} \cdot RT \quad \text{или} \quad p = cRT \quad (1)$$

где  $p$  - осмотическое давление раствора;  $n$ -число молей вещества, растворенного в  $v$  л раствора;  $c = n/v$ - молярная концентрация раствора, взятая в моль/л;  $R$ - универсальная газовая постоянная;  $T$ - температура,  $K^\circ$ . Таким образом, осмотическое давление раствора неэлектролита прямо пропорционально молярной концентрации раствора и абсолютной температуре.

Заменив в уравнении (1) молярную концентрацию  $c$  (в молях на 1 л раствора) на молярную концентрацию  $C$ , взятую в молях на 1000 г растворителя, получим более точное уравнение для вычисления осмотического давления разбавленных растворов:  $p = CTR$  (2)

Для электролита, каждая молекула которого распадается на ионы и степень диссоциации которого при данной молярной концентрации  $C$  равна  $\alpha$ , суммарная концентрация ионов и недиссоциированных молекул ( $C_{осм}$  - осмотической концентрации) будет равна:

$$C_{осм} = Cn\alpha + C(I + \alpha), \\ C_{осм} = C[I + (n - I)\alpha] \quad (3)$$

Число, показывающее во сколько раз наблюдаемое осмотическое давление раствора электролита больше теоретически вычисленного по уравнению (2), называется изотоническим коэффициентом и обозначается  $i$ , следовательно:

$$i = P_{эксп}/P_{теор} = CPT/CRT \quad (4), \quad \text{отсюда} \quad C_{осм} = Ci \quad (5)$$

$$\text{Из уравнения (3и 5) получим} \quad i = I + (n - I)\alpha \quad (6).$$

Для бинарных электролитов (например, NaCl)  $n=2$ , тогда уравнение (6) принимает более простой вид:  $i = I + \alpha$  (7).

Из уравнения (6) можно определить степень диссоциации:

$$\alpha = i - I/n - I \quad (8)$$

Для бинарных электролитов степень диссоциации равна:  $\alpha = i - I$  (9)

Для вычисления осмотического давления раствора электролитов уравнение (2) принимает следующий вид:  $p = iCRT$  (10).

Однако, наблюдаемое осмотическое давление растворов электролитов всегда меньше вычисленного по уравнению (10). Это объясняется уменьшением кинетической энергии ионов вследствие их электростатического взаимодействия, которое тем больше, чем выше концентрация раствора электролита.

По теории Дебая-Гюккеля сильные электролиты бывают полностью диссоциированы в растворе, т.е.  $\alpha = 1$ , тогда из уравнения (6) следовало бы, что  $i = \alpha$ , из уравнения (10)

$$p = nCRT \quad (11)$$

В любом живом организме, в каждой клетке животного и растения вода является одной из необходимых компонентов без которой не могут протекать жизненные процессы. Поэтому проницаемость клеточной мембраны для молекул воды играет весьма важную роль. В качестве движущей силы проникновения воды в клетки выступает ее осмотический градиент и скорость проницаемости описывается уравнением Фика. Однако, в норме разность осмотического давления между клетками и тканевыми жидкостями небольшая из-за свободного проникновения ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и др., через капиллярный эндотелий. Основная роль в переносе воды из лимфы и соединительной ткани в плазму крови и обратно, принадлежит белкам плазмы, несмотря на их низкую растворимость в плазме. Величина осмотического давления белков плазмы составляет всего лишь 40 см водяного столба. Тогда как осмотическое давление, создаваемое ионами и низкомолекулярными соединениями, растворенными в плазме крови человека и млекопитающих, достигает 7-8 атмосфер. Несмотря на это осмотическое давление белков (коллоидно-осмотическое давление) плазмы играет определяющую роль в перераспределении воды между плазмой крови и межклеточной жидкостью. Одновременно с коллоидно-осмотическим градиентом между кровью и тканевой жидкостью, существует градиент гидростатического давления, создаваемый работой сердца. В соответствии с гидростатическим градиентом, вода из крови поступает в межклеточник, и обратно коллоидно-осмотическим градиентом – из межклеточного пространства в кровь. В начальной части капилляра гидростатическое давление доминирует над коллоидно-осмотическим и в результате этого вода как бы просачивается в межклеточник. В конечной части капилляра коллоидно-осмотическое давление превышает гидростатическое давление и вода из межклеточника поступает обратно в кровь. Взаимная компенсация этих двух градиентов имеет место только в

середине капилляров, конечно при нормальной проницаемости эндотелия. При отклонении любого из этих двух факторов от нормы нарушается нормальное распределение воды, что отмечается при ряде патологических процессов в организме.

### **Определение осмотического давления растворов и тканевых жидкостей.**

Определение осмотического давления растворов, тканевых жидкостей с помощью прямых осмотических методов довольно трудоемко и не отличается достаточной точностью, так как применяемые для этих целей мембраны в действительности не являются строго проницаемыми, т.к. они пропускают не только ионы или молекулы растворителя, но частично пропускают ионы или молекулы растворенного вещества. Поэтому для определения осмотического давления растворов или биологических жидкостей часто прибегают к более простым и точным методам, основанным на определении других физических свойств растворов, связанных с осмотической концентрацией, например, давление пара над раствором или температуры замерзания от их концентрации.

Ниже приводятся теоретические предпосылки двух таких методов:

#### **1. Метод, основанный на изменении упругости (давления) пара над раствором.**

Согласно закону Рауля, относительно понижение упругости (давления) пара разбавленного раствора неэлектролита прямо пропорционально молярной доле растворенного вещества.

$$P_0 - P/P_0 = n/N + n$$

где  $P_0$  – давление пара над чистым растворителем;

$P$  – давление пара над раствором;

$N$  – число молей чистого растворителя;

$n$  – число молей растворенного вещества.

Если  $N \gg n$ , то в знаменателе величиной  $n$  можно пренебречь, тогда:

$$P_0 - P/P_0 = n/N.$$

Это уравнение показывает, что относительное понижение давление пара растворителя равно молекулярной доле растворенного вещества, и что давление пара растворителя над раствором пропорционально молекулярной доле растворителя. Давление пара над растворителем всегда больше, чем давление пара над раствором. Одним из таких методов, определения осмотического давления жидкости, основанном на изменении упругости пара раствора по отношению к чистому растворителю является метод Берджера-Раста. По данному методу осмотическое давление исследуемого раствора определяется путем сравнения с заранее известной концентрацией раствора. Затем по найденной концентрации вычисляют осмотическое давление исследуемого раствора, по уравнению Вант-Гоффа. С помощью метода Барджера-Раста



можно определить осмотическое давление в очень малых объемах жидкостей, при обычных температурах, не изменяющих свойства биологических жидкостей.

## **2. Метод основанный на изменении температуры замерзания:**

Температура замерзания - это температура, при которой давление пара растворителя в жидком состоянии или раствора равно давлению пара растворителя в твердом состоянии. Согласно Благдену понижение температуры замерзания (депрессия) пропорционально концентрации раствора, т.е.,

$$\Delta T = K_3 C, \quad \text{откуда } C = \Delta T / K_3 \quad \text{и } K_3 = \Delta T / C \quad (12)$$

где  $\Delta T$  – понижение температуры:

$K_3$ - криоскопическая постоянная растворителя:

$C$  – концентрация.

Криоскопическая постоянная растворителя равна депрессии одномольного раствора неэлектролита и зависит только от природы растворителя, а не от природы растворенного вещества. Как показал Рауль, температура замерзания не зависит от природы растворенного вещества и определяется исключительно числом растворенных частиц.

Для определения осмотической концентрации по данному методу измеряют понижение температуры замерзания раствора  $\Delta T$ . Подставляя значение  $K_3$  для водных растворов ( $K_3$  для воды равна 1.86) в уравнении (12) получим:

$$\Delta T = 1,86C \quad \text{и} \quad C = \Delta T / 1,86 \quad (13)$$

Для биологических жидкостей и растворов неэлектролитов вводят осмотическую концентрацию:

$$\Delta T = 1,86 C_{\text{осм}} \quad \text{и} \quad C_{\text{осм}} = \Delta T / 1,86 \quad (14).$$

Из уравнения (14 и 5) получим уравнение для неэлектролитов:

$$T = 1,86C_i \quad \text{и} \quad C_i = \Delta T / 1,86 \quad (15)$$

Подставив значение осмотической концентрации раствора из уравнения (14) и уравнение (2), получим выражение для вычисления осмотического давления по депрессии:

$$P = \Delta T / 1,86RT$$

Где  $p$ -осмотическое давление:  $R$ -газовая постоянная. Отсюда осмотическое давление исследуемого раствора выражение или биологической жидкости будет равно:

$$P = \Delta T / 1,8622,4 \text{ атм} \quad (16)$$

Для определения депрессии растворов применяют специальный прибор

криоскоп.

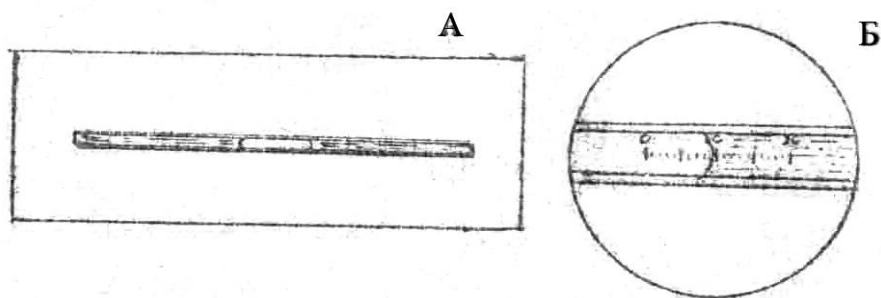
### **Определение осмотического давления по методу Барджера-Раста**

Односторонняя диффузия растворителя к раствору - это осмос, а сила, отнесенная к единице поверхности полупроницаемой мембраны - это осмотическое давление. Для определения осмотического давления по методу Барджера-Раста, пользуются наблюдением движения мениска в капилляре. Готовят стеклянные капилляры диаметром около 1 мм и длиной 6-7 см. Капилляры можно изготавливать из стеклянных трубочек, диаметром около 5 мм и толщиной стенки порядка 1 мм. Для этого трубки нагревают, вращая в пламени газовой горелки до тех пор, пока трубка не станет мягкой и гибкой. Для получения широкого пламени и нагрева большого участка трубки на горелку желательно надеть специальную насадку, так называемый «ласточкин хвост». Нагретую трубку вынимают из пламени и быстро растягивают.

Подбирают набор контрольных растворов хлористого натрия таких концентраций, которые позволяют определять осмотическое давление большинства биологических жидкостей беспозвоночных и хладнокровных и теплокровных позвоночных. Исследуемый и один из контрольных растворов наливают на часовые стекла. Затем погружают один из концов капилляра в раствор и дают жидкости подняться до середины. Переворачивают капилляры. После того, как между мениском и краем капилляра остается промежуток длиной в несколько миллиметров, погружают капилляр первым концом в другой раствор и наклоняют так, чтобы первый раствор перемещался ко второму концу и затягивая за собой исследуемый раствор. Последний перемещается по капилляру так, что пузырек воздуха окажется приблизительно на его середине. Для удобства последующего запаивания капилляра желательно на обоих концах оставлять небольшие участки, незаполненные жидкостью. Концы капилляра быстро и тщательно вытирают ватой и быстро запаивают с обоих концов пластилином.

Капилляр помещают на предметное стекло. Стекло с капилляром располагают на предметном столике микроскопа, снабженного окуляр-микрометром (увеличение: окуляр 7х, объектив 8х), наводят фокус на один мениск (или на оба, если пузырек воздуха настолько мал, что целиком уместается в поле зрения).

*Наблюдение за движением мениска.* В капилляр наливают два раствора, разной концентрации (А). Под микроскопом ведут наблюдения за движением мениска в капилляре (Б). Капилляр располагают в поле зрения таким образом, чтобы один мениск совпадал с одним из делений шкалы окуляр-микрометра. Ведут наблюдение за мениском в течении нескольких минут. Исходя из направления, в котором движется мениск, устанавливают, какой из двух растворов имеет большую концентрацию.



Последовательно сравнивают исследуемый раствор с рядом контрольных и находят такой раствор, при котором объем капель остается без изменения, т.е. мениск не движется. В этом случае осмотическое давление исследуемого и контрольного растворов равны друг другу.

Определив концентрации разных растворов по соответствующей формуле вычисляют осмотическое давление  $P$  жидкостей. Результаты наблюдений оформляют в виде таблицы, как показано ниже.

Таблица

Контрольный раствор концентрации даны в % )	Исследуемый раствор	Направление движения мениска
0,5% NaCl	х	----->
0,6% NaCl	х	0
0,7% NaCl	х	<-----
0,8% NaCl	х	<-----

Приготовленные растворы необходимо держать в закрытой посуде, во избежания испарения. Установив концентрации исследуемого раствора вычисляют его осмотическое давление по формуле (11), предварительно переводя процентную концентрацию в молярную.

Пример: Пусть производятся измерения с раствором NaCl разных концентраций. При этом температура во время эксперимента соответствует  $17^{\circ}\text{C}$ . Вычисления проведем на 0,6% растворе NaCl. Молярный раствор NaCl содержит 58,5 г соли в 1л раствора. Следовательно 0,6% раствор NaCl соответствует  $6 / 58,5 = 0,102$  молярного раствора. Подставив, вычисленное значение  $C$  в формулу (11) и помня, что каждая молекула NaCl диссоциирует на два иона, получаем:  $p = 2,0 \cdot 0,102 \cdot 0,82 \cdot (273 + 17) = 4,756 = 4,8 \text{ атм.}$

### Выполнение лабораторной работы

#### Определение осмотического давления по методу Барджера-Раста

Принадлежности: микроскоп, стеклянные трубочки, предметное стекло, пластилин, напильник, марля, растворы NaCl разных концентраций.

Необходимо подготовить контрольные растворы NaCl, концентрации от 0,5 до 2,5 % с интервалом 0,1%. Проведя определение концентрации

исследуемого биологический раствора описанным выше способом, вычисляют ее осмотическое давление по формуле (11).

$$p = nCRT \quad (11)$$

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **6-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА КИНЕТИКУ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО КОЭФФИЦИЕНТА СЕРДЦА ЛЯГУШКИ**

Скорость протекания химических превращений в клетках и тканях играет основную роль в регулировании жизненно важных процессов. Если химическая кинетика изучает закономерности протекания химических реакций во времени, в зависимости от концентраций веществ и внешних факторов как давление, рН, температуры, то биологическая кинетика изучает скорости биологических процессов, в зависимости от концентраций веществ, участвующих в биохимических реакциях, ферментов, субстратов, а также от температуры. Следует учесть, что не каждое столкновение приводят к реакции, поэтому необходимо установить характер зависимости биологических процессов от изменения температуры среды.

Температурная зависимость химических процессов, очевидна, если учесть, что любая химическая реакция происходит при условии соударения молекул, находящихся в беспорядочном тепловом движении. По мере повышения температуры увеличивается скорость движения молекул, что увеличивает вероятность их столкновения друг с другом.

Однако расчеты показали, что бы каждое столкновение реагирующих молекул приводило к реакции, то скорость реакции была бы в  $10^2$ - $10^6$  выше реально существующей. И поэтому возникло представление о том, что лишь часть столкновений приводит к реакции. Для протекания реакции необходимо, чтобы сталкивающиеся молекулы обладали некоторым избытком кинетической энергии, не меньше, чем ( $E_0$ ), называемого энергией активации. Относительно количество молекул, обладающих избытком энергии, т.е., «активных молекул», с повышением температуры увеличивается, что способствует возрастанию скорости химических реакций.

Как известно из кинетической теории, кинетическая энергия молекул зависит только от абсолютной температуры. Величину, показывающую, во

сколько раз увеличивается скорость реакции, а также количество «активных молекул», при повышении температуры на 10° С, называют температурным коэффициентом Вант-Гоффа и обозначают буквой  $Q_{10}$ . Таким образом, температурный коэффициент - это отношение скорости реакции при двух температурах, отличающихся на 10° С:  $Q_{10} = K_T + 10/K_T$ , (1)

где  $K_T$  – скорость реакции при данной температуре;

$K_T + 10$  – скорость реакции при повышении температуры на 10° С.

Величина данного коэффициента для многих химических реакций составляет в среднем 3. В отличие от химических реакций, большинство биологических процессов имеют температурный оптимум, в котором реакции протекают с максимальной скоростью. Это объясняется ферментативным характером большинства биологических процессов.

В зависимости от природы протекающих реакций, величина температурного коэффициента также может быть разной. Например, для физических процессов он немногим отличается от единицы – 1,1 и 1,2. А для ферментативных процессов - 1,7 и так далее. Таким образом, по найденному значению температурного коэффициента можно судить о природе протекающих реакций и об их механизме.

### **Влияние температуры на кинетику биологических процессов.**

Тем не менее оценка зависимости скорости биологических процессов по температурному коэффициенту, носит весьма приближенный характер. Более обоснованную зависимость скорости реакции от температуры можно получить с помощью уравнения Аррениуса.

Возрастание скорости химических реакций с повышением температуры описывается уравнением Аррениуса:

$$K = p \cdot z \cdot \exp(-E/R \cdot T) \quad (2),$$

где  $K$  - константа скорости реакции,  $z$  - частота столкновений между молекулами,  $E$  - энергия активации,  $p$  - стерический фактор, зависящий от конфигурации молекул,  $R$ - газовая постоянная,  $T$  –температура по Кельвину.

Для вычисления константа скорости реакции необходимо провести несколько опытов при температурах  $T_1$  и  $T_2$ . Константа скорости реакции при температуре  $T_1$  равна:

$$K_1 = p \cdot z \cdot \exp(-E/RT_1) \quad (3); \quad \text{при } T_2 \text{ равна } K_2 = p \cdot z \cdot \exp(-E/RT_2) \quad (4).$$

Если  $T_2 = T_1$ , то и  $Z_2 = Z_1$ , но разница между последними величинами будет небольшой. Если разница между  $T_2$  и  $T_1$  составляет 10° С, то разницей между  $Z_2$  и  $Z_1$  можно пренебречь, то тогда и  $Z_2$  и  $Z_1$  сокращается. Стерический фактор при такой разнице температур также не меняется, поэтому его можно также сократить:

$$k_1/k_2 = pZe^{-E/RT_1} / pZe^{-E/RT_2} = e^{-E/RT_1} / e^{-E/RT_2} \quad (5).$$

Если  $k_1/k_2 = Q_{10}$ , тогда  $Q_{10} = e^{-E/RT_1}/e^{-E/RT_2}$

Прологарифмировав уравнение получим:  $\ln Q_{10} = \ln e^{-E/RT_1} - \ln e^{-E/RT_2}$ .

Проведя все расчеты получаем:  $\ln Q_{10} = E/RT_2 + E/RT_1 = E(T_2 - T_1)/E(T_2 - T_1)$ .

Если разница между  $T_2$  и  $T_1$  составит  $10^\circ\text{C}$ , то  $\ln Q_{10} = 10 E/ R(T_2 - T_1)$ , отсюда выводим формулу для энергии активации:  $E = R(T_2 - T_1) \ln Q_{10}/ 10$  (6).

После перехода от натурального логарифма  $\ln$  к десятичному  $\lg$  и подставляя значения  $R$  (1,987 кал/моль), и проведя соответствующие упрощения, уравнение приобретает вид:

$$E = 1.987 \cdot 2.303(T_2 - T_1) \lg Q_{10}/ 10 .$$

Величина, показывающая, во сколько раз увеличивается скорость реакции при повышении температуры на  $10^\circ\text{C}$ , называется температурным коэффициентом  $Q_{10}$ . Между температурным коэффициентом и энергией активации существует зависимость:

$$E = 0,46 (T_2 - T_1) \lg Q_{10} \quad (7),$$

где  $T_2 = T_1 + 10$ , и эти величины выражены в значениях абсолютной шкалы. Из этого уравнения следует, что энергия активации и логарифмы температурного коэффициента связаны линейной зависимостью. Следовательно, реакции имеющие более высокую энергию активации, будут иметь более выраженную температурную зависимость.

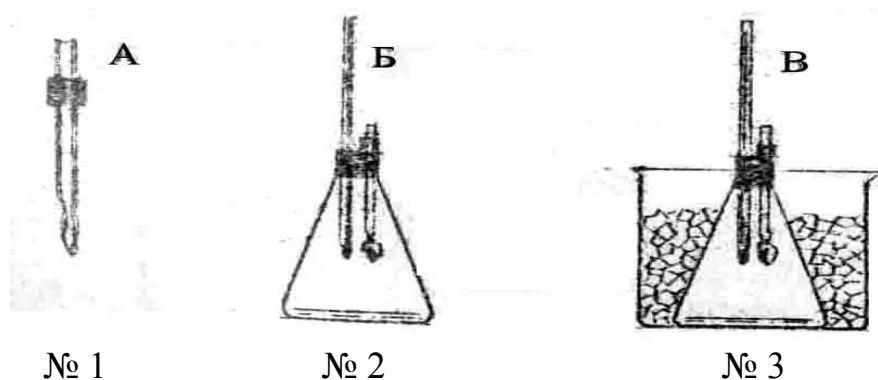
Этой зависимостью пользуются и для вычисления энергии активации биологических процессов. Часто при повышении температуры выше оптимальной происходит уменьшение скорости биологических реакций. Поэтому для оценки биологических процессов вместо  $E$  вводится величина кажущаяся энергии активации.

Величина энергии активации большинства биологических процессов имеет тот же порядок, что и для химических реакций. Основные биологические процессы имеют энергию активации вблизи 8,12 или 18 ккал/моль.

### **Определение температурного коэффициента и энергии активации сердца лягушки.**

Возрастание скорости химических реакций с повышением температуры описывается уравнением Аррениуса:  $K = p \cdot z \cdot \exp(-E/R \cdot T)$ , где  $K$  - константа скорости реакции,  $z$  - частота столкновений между молекулами,  $E$  - энергия активации,  $p$  - стерический фактор, зависящий от конфигурации молекул.

*Приборы и принадлежности:* изолированное сердце лягушки, выделенное по методу Штраубэ, три большие колбы, секундомер, мл, 0,1 н соляную, раствор Рингера для теплокровных, канюли, спирт, вата, пипетки на 2 и 1 мл.



Величина, показывающая, во сколько раз увеличивается скорость реакции при повышении температуры на  $10^{\circ}\text{C}$ , называется температурным коэффициентом  $Q_{10}$ . Между температурным коэффициентом и энергией активации существует зависимость:  $E = 0,46 (T_2 - T_1) \lg Q_{10}$ , где  $T_2 = T_1 + 10$ , и эти величины выражены в значениях абсолютной шкалы. Для работы необходимо измерить скорость сокращения изолированного сердца лягушки при комнатной температуре; при повышении температуры на 10 градусов; при понижении температуры 10 градусов. Затем вычисляется температурный коэффициент и энергию активации приведенной формуле.

**Ход работы.** Предварительно готовят три влажные камеры, которыми могут служить колбы. В каждой камере устанавливается термометр и канюля. Первую камеру устанавливают на столе с комнатной температурой. Вторую камеру помещают в стакан с горячей водой. Третью камеру погружают в стакан воды со льдом.

Изготовленный препарат изолированного сердца лягушки, выделенного по методу Штраубэ, помещают в канюлю, где находится раствор Рингера. Канюлю с сердцем помещают во влажную камеру № 1 и приступают к подсчету ритма сокращения сердца. Для этого включают секундомер одновременно с началом подсчета ритма и выключают его в момент 20-госокращения сердца. Канюлю с сердцем переносят во влажную камеру № 2, где температура на 10 градусов выше комнатной и также повторяем процедуру подсчета ритма сокращения сердца. В следующем эксперименте канюлю с сердцем переносят во влажную камеру № 3, где температура на 10 градусов ниже комнатной и также повторяем процедуру подсчета ритма сокращения сердца после 20-го сокращения.

Далее вычисляют температурный коэффициент при повышении температуры на 10 градусов и на основании его определяют энергию активации. Приведем пример: при подсчете ритма сокращения сердца при комнатной температуре  $18^{\circ}\text{C}$  ( $T = 273 + 18 = 291$ ) установлено, что сердце совершило 20 сокращений за 38 сек., то в 1 минуту оно совершает  $20/38 \cdot 60 = 31$  сокращений. При повышении температура на 10 градусов, т.е. при  $28^{\circ}\text{C}$  ( $T = 273 + 28 = 301$ ) сердце совершило 20 сокращений за 20 сек., то в 1 минуту оно совершает  $20/20 \cdot 60 = 60$  сокращений. На основании полученных данных вычисляют температурный коэффициент по формуле  $Q_{10} = K_T + 10/K_T$ .

В нашем случае  $Q_{10} = K_T + 10/K_T = 60/31 = 1,9$ . Подставляя в формулу  $E = 0,46 (T_2 - T_1) \lg Q_{10}$  значения  $T_1$  и  $T_2$  т.е. 291 и 301 соответственно, а также значения десятичного логарифма  $Q_{10}$ , которое в данном случае составляет  $\lg 1,9 = 0,2785$ , рассчитываем энергию активации:

$$E = 0,46 (T_2 - T_1) \lg Q_{10} \quad E = 0,46 \cdot 10 \cdot 0,2785 \text{ кал} \cdot \text{моль}^{-1}$$

### **Приготовление препарата сердца лягушки по методу Штраубе**

**Необходимые материалы:** зонд для разрушения спинного мозга, медицинские ножницы (средние), глазные ножницы с изогнутыми концами, глазной пинцет с изогнутыми концами, глазной пинцет с прямыми концами, пинцет анатомический, шелковые нитки, канюля Штраубе, шприц с длинной иглой, раствор Рингера для хладнокровных животных, препаровальная доска, лягушка.

**Ход работы.** Обездвиживают лягушку, разрушив спинной мозг и прикалывают ее на препаровальную доску брюшком кверху. Приподнимая пинцетом кожу на грудной части делают крестообразный разрез ножницами и удаляют лоскутки кожи. При помощи глазного пинцета захватывают за мечевидный отросток хряща грудной кости и делают разрезы до ключицы, удаляют всю переднюю часть грудной клетки, все время приподнимая захваченный пинцетом хрящ, не задевая при этом кровеносных сосудов вокруг сердца. Отодвигая и приподнимая сердце при помощи глазного пинцета, захваченную лигатуру подводят за уздечку и завязывают ее ниткой и дистально отрезают уздечку. Это необходимо для манипуляции во время восстановления канюли в сердце. Затем под правую и левую ветви аорты проводят лигатуру в отдельности. Оба конца лигатуры, подведенные под левую аорту, берут левой рукой, приподнимая аорту делают над ней разрез и тут же через него вводят кончик канюли в аорту в направлении луковички аорты, предварительно заполненной раствором Рингера, манипулируя при этом лигатурой наложенной на уздечку. Протолкнуть кончик канюли в сторону желудка нужно тогда, когда желудок находится на стадии систолы, т.е. когда двустворчатый клапан расположенный между полостями желудочка сердца и луковичей аорты открыты. Момент правильного попадания канюли в желудок свидетельствует окрашивание в красный цвет и пульсация жидкости в канюле. Тут же, при помощи лигатуры, подложенной под левую ветвь завязывают данный сосуд на шее канюли и отрезают сосуд дистально. Набрав в шприц раствор Рингера промывают и удаляют образовавшийся сгусток крови внутри кончика канюли. Затем завязывают и правую ветвь аорты, ее также отрезают дистально. Приподнимая сердце на нитку завязанную за уздечку, проводят на венозный синус последнюю лигатуру и завязывают венозный синус на границе, где к синусу подходят верхние и нижние вены, а также отрезают сосуды, отступая от



места завязывания.

Промывают канюли свежей порцией раствора Рингера и оставляют раствор в канюле на 1/3 ее высоты.

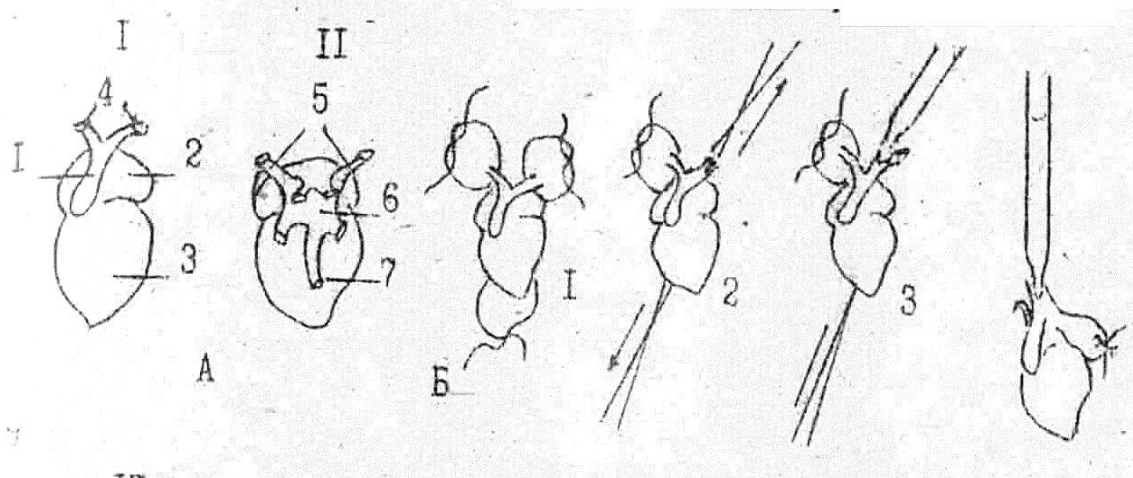


Рис. Сердце лягушки.

А – I. вид спереди, II – вид сзади: 1-луковицы аорты, 2- предсердие, 3-желудочек, 4 -ветки аорты, 5- передние полые вены, 6-венозный синус, 7-задняя полая вена. Б – этапы вставления канюли: 1- подвидение лигатур под левой, правой аорты и за уздечкой сердца; 2- натягивание левой аорты для нанесения насечки на ее стенки, стрелки указывают направление натягивания; 3-введение канюли в левую аорту; 4- готовый препарат сердца.

### Использованная литература

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## 7-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

### ТЕМА: ВЫЧИСЛЕНИЕ РАЗНИЦЫ ДИФфуЗИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ВОЗНИКАЮЩЕГО МЕЖДУ РАСТВОРАМИ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

Движущей силой диффузии через мембрану является разность химических потенциалов ( $\mu$ ) этого вещества между областями, разделенными мембраной. Напомним, что химический потенциал равен:  $\mu = \mu_0 + RT \ln C$ , где  $\mu_0$  - стандартный химический потенциал,  $C$  - концентрация вещества. Если происходит перенос ионов, то их движение зависит не только от концентрации, но и от электрического потенциала ( $\phi$ ) на мембране. В этом случае пользуются понятием электрохимического потенциала ( $\bar{\mu}$ ):

$$\bar{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF\phi,$$

где  $Z$  - валентность иона,  $F$  - число Фарадея (96500 Дж/вольт).

Непосредственно движущей силой переноса ионов является градиент электрохимического потенциала  $d\bar{\mu}/dx$ . Рассмотрим распределение электролита  $A^+ B^-$  между липидной и водной фазами, у которого анион  $B^-$  и катион  $A^+$  обладают разной липофильностью (пусть липофильность аниона  $B^-$  будет выше). Вблизи границы раздела концентрации анионов  $B^-$  в липидной фазе несколько превысит содержание анионов  $A^+$ . Поэтому около границы раздела неполярная липидная фаза несет отрицательный заряд и имеет более низкий потенциал, чем водная фаза.

Величина разности потенциалов  $\Delta\varphi = \varphi_1 - \varphi_2$  между фазами зависит от разности электрохимических потенциалов обоих видов ионов. Межфазная разность потенциалов возникает только если коэффициенты распределения катионов и анионов различны.

Диффузионные потенциалы возникают при наличии жидкостного контакта между двумя растворами, содержащими один и тот же растворитель, но отличающимися друг от друга различной подвижностью ионов. Разность потенциалов обусловлена в этом случае различием скорости диффузии катиона и аниона. Так, в частности, при соприкосновении концентрированного раствора  $HCl$  с её более разбавленными растворами, ион  $H^+$  и ион  $Cl^-$  диффундирует с неодинаковой скоростью.

Поскольку ион  $H^+$  обладает большей подвижностью, чем ион  $Cl^-$  он будет обгонять последний. Вследствие этого разбавленный раствор приобретает более положительный заряд по сравнению с концентрированным раствором. В итоге, между более концентрированными и более разбавленными растворами возникает разность потенциалов. Возникшая разность потенциалов замедляет диффузию. Действительно, ионы  $H^+$ , избыток которых имеется в более разбавленном растворе, будут притягивать противоположно заряженных ионы  $Cl^-$  и одновременно будут отталкивать одноимённые ионы, данном случае, ионы  $H^+$ . Таким образом происходит более или менее полное выравнивание концентраций аниона и катиона. Величину диффузионного потенциала  $E$  можно вычислить по формуле Гендерсона:

$$E_{diff} = \frac{U - V}{U + V} \cdot \frac{RT}{nF} \lg \frac{C_1}{C_2} \quad (1)$$

где  $E$ - диффузионный потенциал в вольтах,  $U$ - подвижность катиона,  $V$ - подвижность аниона,  $T$ - абсолютная температура в град. К,  $R$ - газовая постоянная,  $F$ - число Фарадея,  $C_1$  и  $C_2$ - соответственно концентрации электролита в двух соприкасающихся растворах.

Заменяя натуральный логарифм десятичным, получаем для 290 К:

$$E = \frac{U - V}{U + V} \cdot 0,058 \lg \frac{C_1}{C_2} \quad (\text{Вольт}) \quad (1a)$$

Из формул (1) и (1a) следует, что диффузионная разность потенциалов тем больше, чем больше различие в подвижности катиона и аниона, т.е. чем

больше разность  $U-V$ . Иначе говоря, разность потенциалов велика в том случае, если ион одного знака обладает высокой, либо напротив, очень малой подвижностью по сравнению с ионом противоположного знака. Поскольку особенно большими подвижностями характеризуются  $H^+$  и  $OH^-$  ионы, то диффузионные разности потенциалов в растворах, содержащих указанные ионы, особо велики. При наличии в растворе крупных малоподвижных органических ионов, величины диффузионных потенциалов значительны.

Весьма вероятно, что диффузионная разность потенциалов входит в качестве одной из составляющих так называемых «потенциалов повреждения». Значительная величина последнего может быть обусловлена различиями в подвижности ионов калия (или водорода), освобождаемых при повреждении из связанного состояния, и белкового аниона. Поскольку подвижность последнего крайне мала, то соответственно и величина разности потенциалов оказывается большой. В пользу сделанного предложения о природе потенциала повреждения говорят и модельные опыты, обнаруживающие высокие значения диффузионной разности потенциалов при диффузии неорганических ионов через желатиновый гель.

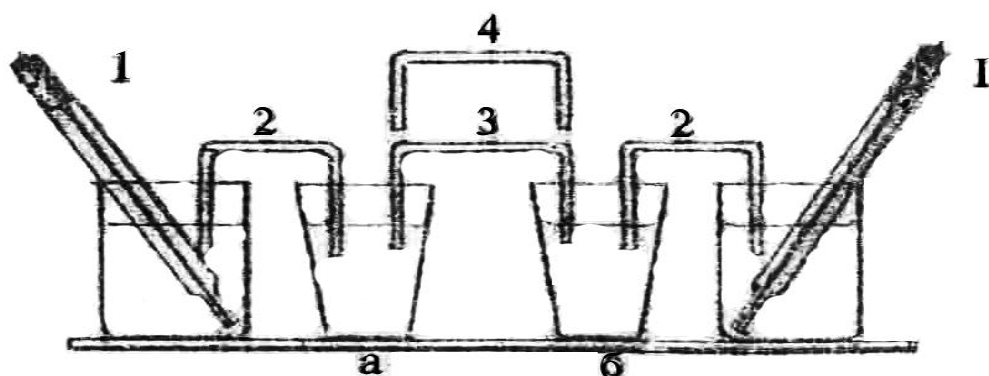
В том случае, когда подвижность катиона и аниона одинаковы или разница между их подвижностью незначительна, то диффузионная разность потенциалов приобретает минимальное значение. Подобное равенство подвижности катиона и аниона имеет место в растворе  $KCl$ . Вот почему раствором этого электролита пользуются в качестве жидкостного контакта при измерении биоэлектрических потенциалов с целью устранения (или по крайней мере свести к минимуму) диффузионную разность потенциалов.

### **Выполнение лабораторной работы**

#### **Измерение диффузионной разности потенциалов между двумя растворами соляной кислоты**

**Необходимые принадлежности:** милливольтметр, штатив с неполяризующимися электродами, агаровые сифоны (3 шт.), пустой сифон, основной 0,1 н раствор  $HCl$ , стаканы на 50 мл (5 шт.), фильтровальная бумага.

**Ход работы.** После ознакомления с милливольтметром включают прибор в сеть и, пока он нагревается, из 0,1 н основного раствора готовят следующие её концентрации: 0,01; 0,001; 0,0001 н. Собирают схему измерения как показано на рис. 5, т.е. в положение «а» ставят стакан с раствором 0,1 н, а в положение «б»- стакан с раствором 0,01 н  $HCl$ . Посредством агаровых сифонов (2) эти стаканы соединяют с контактными растворами электродов. Далее замыкают эти же стаканы между собой при помощи агарового сифона (3). Клеммы электродов подключают к милливольтметру, соблюдая при этом полярность растворов.



**Рис.5. Схема установки для измерения диффузионной**

**разности потенциалов между двумя растворами соляной кислоты**

«а» и «б»- положения стаканов с растворами  $\text{HCl}$  разной концентрации, 1- неполяризуемые электроды, опущенные в контактные растворы  $\text{KCl}$ , 2- контактные агаровые сифоны; 3- промежуточный агаровый сифон; 4- промежуточный пустой сифон.

Производят измерение диффузионной разности потенциалов и записывают показания прибора. Убирают промежуточный агаровый сифон (3) и на место него ставят сифон (4), заполненный одним из растворов, используемых для измерения, в данном сочетании, и снова производят измерения диффузионной разности потенциалов, записывают показания прибора.

Далее, вместо стакана с раствором 0,01 н  $\text{HCl}$ , ставят стакан с 0,001 н, оставляя при этом стакан с раствором 0,1н  $\text{HCl}$  на месте. Оба раствора соединяют снова агаровым сифоном. Производят измерения и записывают показания милливольтметра. Затем производят измерение диффузионной разности потенциалов между двумя этими растворами с помощью промежуточного сифона, заполненного одним из растворов данного сочетания и записывают показания милливольтметра и т.д.

В работе используют всего четыре сочетания, использующие комбинации растворов  $\text{HCl}$  разных концентраций:

Варианты	Растворы соляной кислоты	
	стакан в “а” положении	стакан в “б” положении
1	0,1 н	0,01 н
2	0,1 н	0,001 н
3	0,1 н	0,0001 н
4	0,01 н	0,001 н

После окончания всех измерений, по всем сочетаниям растворов, вычисляют теоретические величины диффузионной разности потенциалов для каждого сочетания в отдельности по уравнению:

$$E_{\text{дт}} = \frac{U - V}{U + V} \cdot 58 \lg \frac{C_1}{C_2} \quad (\text{мВ}) \quad (16)$$

где  $E_{\text{дт}}$  – величина диффузионной разности потенциалов в мВ,  $U$  – подвижность катиона, что для ионов  $\text{H}^+$  равна  $315 \text{ см}^2 \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{г. экв.}$ ,  $V$  – подвижность аниона, что для ионов  $\text{Cl}^-$  равна  $65,5 \text{ см}^2 \cdot \text{см}^{-1}$ ,  $C_1$  и  $C_2$  – концентрация использованных растворов. Полученные данные записывают в таблицу.

Таблица

Форма записи полученных результатов по измерению  
диффузионной разности потенциалов:

Е и ΔЕ		Е, в мВ		ΔЕ, в мВ	
концентр ации растворов (НСІ) С <sub>1</sub> С <sub>2</sub>	Е <sub>ДА</sub> - измере ния агаров ым сифон ом	Е <sub>ДЖ</sub> - измере ния жидки м сифон ом	Е <sub>ДТ</sub> - по уравне нию (16)	Е ДТ - Е ДА	Е ДТ - Е ДЖ
0,1-0,01					
0,1-0,001					
0,1-0,0001					
0,01-0,001					

$E_{\text{д}}$  – величина диффузионной разности потенциалов в мВ

$E_{\text{ДА}}$  – величина диффузионного потенциала, полученного при использовании агарового промежуточного сифона.

$E_{\text{ДЖ}}$  – величина диффузионного потенциала, полученного при использовании жидкостного промежуточного сифона.

$E_{\text{ДТ}}$  – величина диффузионного потенциала, вычисленного по уравнению.

$\Delta E$  – разность между  $E_{\text{ДТ}}$  и  $E_{\text{ДА}}$ , также  $E_{\text{ДТ}}$  и  $E_{\text{ДЖ}}$ .

После завершения работы убирают контактные, промежуточные сифоны в кристаллизатор с насыщенным раствором  $\text{KCl}$ , закрывают кристаллизатор крышкой. Концы промежуточного сифона, каждый раз перед погружением в растворы следующего сочетания, необходимо сполоснуть дистиллированной водой и обсушить фильтровальной бумагой.

### Использованная литература

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.

3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **8-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: ИЗМЕРЕНИЕ ФАЗОВОЙ РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ КОЖУРЫ ЯБЛОКА**

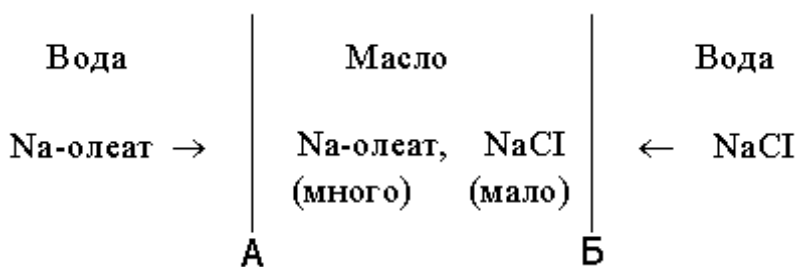
Движущей силой переноса ионов является градиент электрохимического потенциала  $d\mu/dx$ . Электрохимический потенциал вычисляют по формуле

$$\mu = \bar{\mu}_0 + RT \ln C + ZF\phi,$$

где  $Z$  - валентность иона,  $F$  - число Фарадея.

Нернст впервые указал, что распределение электролитов (ионов) между двумя несмешивающимися жидкостями может создать на их границе разность потенциалов. Дело в том, что каждый ион распределяется между двумя фазами соответственно своей растворимости в них. Как правило, коэффициенты распределения различных ионов отличаются: в одной фазе более растворимыми оказываются катионы, в другой анионы. В результате пограничная поверхность первой приобретает положительный, второй - отрицательный заряд, и на границе фаз возникает двойной электрический слой, обуславливающий в свою очередь, появление пограничного потенциала. Возникший, таким образом, пограничный потенциал препятствует дальнейшему распределению противоположно заряженных ионов. Действительно, если в неводной фазе, вследствие накопления катионов возникает положительный заряд, электростатические силы будут препятствовать дальнейшему растворению катионов и, наоборот, благоприятствовать дополнительному растворению анионов. Благодаря этому в толще каждой фазы общее количество катионов оказывается равным сумме анионов. Только вблизи поверхности раздела фаз возникает концентрированный градиент противоположно заряженных частиц - ионов, создающий разность потенциалов тем более значительную, чем больше различие в распределении ионов. Такие концентрационные цепи, как вода-масло, вода-гваякол, вода-амиловый спирт и т.д., могут генерировать значительные разности потенциалов.

При подходящем сочетании двух типичных фаз можно получить систему, которая не будет, находится в равновесии и при замыкании будет генерировать электрический ток. Такие системы подробно изучены Бейтнером (1920). Пусть неводная фаза, которую Бейтнер для краткости назвал «маслом» граничит с обеих сторон водными растворами. Если концентрация и состав электролитов в них одинаковы, то разности потенциалов такой системы будет равняться нулю. Если обе водные фазы содержат различные электролиты, например, как в системе: водный раствор олеата натрия - масло - водный раствор хлористого натрия, то при этом происходит перераспределение ионов по следующей схеме:



Поскольку олеат натрия растворяется в «масле» лучше, чем хлористый натрий, то на границах А между водой и маслом и на границе Б между маслом и водой возникают разности потенциалов, которые достаточны для измерения. Если пренебречь незначительной диффузионной разностью потенциалов внутри масляной фазы, то электродвижущая сила подобной системы будет равна:

$$E_{\varphi} = \frac{RT}{\gamma F} \ln \frac{C_1}{C_2}$$

где в данном случае  $C_1$  и  $C_2$  соответственно концентрации ионов, общих для одной и другой фазы, т.е. концентрации их в водной и неводных фазах.

Исходя из того, что в состав мембран живых клеток входят липиды, Бейтнер предложил, что последние способствуют растворению ионов в иных условиях, чем окружающая водная среда. За счёт неравномерного распределения ионов в этих несмешивающихся фазах и возникает поляризация клеточной поверхности. Так как протоплазма клеток представляет собой многофазовую гетерогенную систему, то естественно было предположить, что биоэлектрические потенциалы по самой своей природе являются фазовыми и обуславливаются, в первую очередь, неодинаковой растворимостью катиона аниона в каждой из фаз.

Известно, что органические жидкости не смешиваются с водой и являются в большинстве случаев плохими растворителями для сильных неорганических электролитов. Причина этой плохой растворимости электролитов в органических жидкостях заключается в низкой диэлектрической проницаемости последних, препятствующей диссоциации электролитов, т.е. образованию свободных ионов. Однако подобными свойствами обладают только химически нейтральные растворители, например, углеводороды. В противоположность последним существуют и другие органические жидкости, имеющие свойства либо кислот, либо оснований. К таким жидкостям относятся, в частности, анилин, фенол, гваякол, толуидин, салициловый альдегид и другие. Перечисленные вещества ведут себя аналогично слабым электролитам и, подобно им, растворяют сильные электролиты.

В основе растворения сильных неорганических электролитов лежит процесс ионного обмена. Как было установлено методом измерения электропроводности, при взбалтывании водных растворов щелочных солей с органическими растворителями, сильные электролиты переходят в неводную фазу в определённом количестве, характерном для каждого данного вида растворителя. Представим себе, что по обе стороны от какого-либо

органического растворителя, со слабо выраженными кислотными или основными свойствами, находятся водные растворы, содержащие один и тот же электролит, но отличающиеся друг от друга по концентрации. В такой гетерогенной системе, как показывают потенциометрические измерения, возникает электродвижущая сила. Для системы, состоящей из двух водных растворов хлористого калия, отличающихся друг от друга по концентрации в отношении 1:100, и расположенного между ними слоя бензальдегида или гваякола, с добавкой олеиновой кислоты, величина электродвижущей силы может быть порядка 100 и более милливольт. Напротив, если между двумя водными растворами электролита расположен слой нейтрального не электролита, то величина разности потенциалов составляет всего 2-3 мВ. Положительный полюс гальванической цепи соответствует при этом водному раствору, характеризующемуся более низкой концентрацией растворённого вещества. При замене неводной фазы, обладающей кислотными свойствами, органическим растворителем, имеющим свойства основания, знаки полюсов изменяются на обратные.

При объяснении подобного явления необходимо учитывать, что на границе водного раствора и неводного растворителя возникает пограничный межфазовый потенциал (обусловленный, как уже было указано, неравномерным распределением ионов каждого знака на самой границе раздела). В системе же, составленной из двух водных фаз, расположенных по обе стороны от неводной (так называемой масляной) фазы, возникают два таких пограничных потенциала, отличающихся друг от друга по величине. Разность этих потенциалов определяется различием в способности анионов и катионов диффундировать через границу фаз в «масляную» фазу. В конкретном случае ион калия быстрее проникает из водного раствора в бензальдегид, чем ион хлора. Объясняется это тем, что ион калия обменивается на ион водорода, содержащийся в бензальдегиде (хотя и в значительной концентрации).

Несмотря на различие концентраций иона калия в одной и в другой фазах и, соответственно, на каждой из пограничных поверхностей, через обе поверхности раздела диффундируют одно и то же количество ионов калия. Количество протифундированных катионов определяется исключительно количеством ионов водорода, которые содержатся в «масляной» фазе и на которые обмениваются ионы калия.

Физико-химический механизм перехода ионов водной среды в липидную был уточнён Девинсом (1950), который показал наличие между ними промежуточной зоны. В этой зоне мигрирующие частицы преодолевают виды гидратации и, в конце концов, запас их свободной энергии будет зависеть от разности перехода из воды в липид и обратно. За счёт такого энергетического барьера создаётся избирательная проницаемость ионов и высокое электрическое сопротивление мембраны клеток. Однако теория липидных плёнок оказалась не в состоянии преодолеть все трудности, возникающие перед мембранной теорией происхождения биопотенциалов Бернштейна.

Поскольку межфазовые потенциалы достигают особенно значительной величины в тех случаях, когда органические растворители обладают



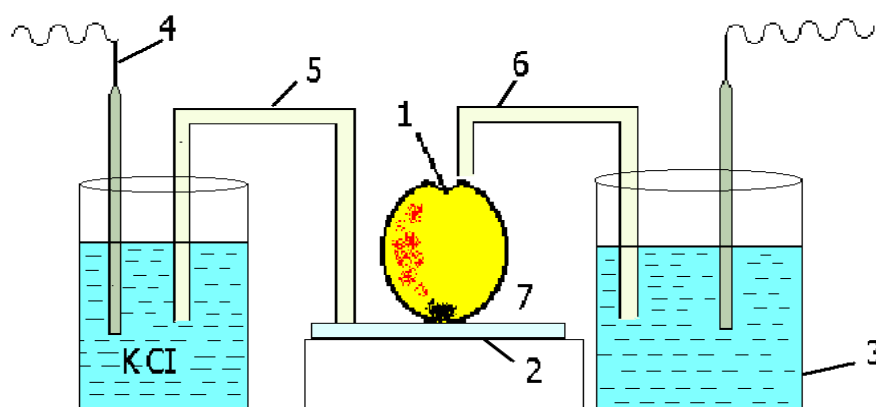
свойствами кислот или оснований, постольку использование соответствующих моделей для интерпретации биологических явлений представляет специальный интерес. В связи с этим в последнее время изучению подвергаются потенциалы, возникающие в липидно-белковых системах, которые содержат в качестве одной из фаз фосфатиды. В последних, вследствие их лёгкого самопроизвольного расщепления, образуются свободные фосфатные группы, т.е. группы кислотной природы. Разность потенциалов в таких системах, по данным Бейтнера и Р.Бейрнса, может быть быстро изменена под влиянием химических медиаторов нервного возбуждения, например, фармакодинамических агентов, которые по своей природе являются слабыми органическими основаниями.

### **Лабораторная работа**

#### **Измерение фазовой разности потенциалов кожуры яблока**

*Необходимые принадлежности.* Чашки Петри (2 шт), П и Г-образные агаровые сифончики, растворы хлористого калия- 0,01 н и 0,001н, пипетки, фильтровальная бумага, ксилол, яблоко.

Собирают установку для измерения потенциалов. Прodelав маленькое отверстие на кожуре яблока, обнажают его мякоть. Ставят яблоко в чашку Петри так, чтобы прорез обращался кверху. Для того чтобы яблоко не перемещалось во время измерения его фиксируют с помощью заранее приготовленной картоновой или плексигласовой крышки, имеющей прорез размера яблока и отверстия одно для спуска кончика П-образного сифончика, другое для смены растворов в чашке Петри. В чашку Петри наливают 0,01 Н раствор хлористого калия. С помощью П-образного сифончика соединительный стаканчик замыкают с раствором налитым в чашку Петри. Г-образным сифончиком соединяют другой соединительный стаканчик.



**Рис. 6. Схема установки для измерения фазовой разности потенциалов кожуры яблока.**

1-яблоко, 2-чашки Петри, 3-соединительные стаканы, 4-хлорсеребрянные электроды, 5-П-образный агаровый сифончик, 6-Г-образный агаровый сифончик, 7-крышка для фиксации яблока.

Для обеспечения надёжного контакта Г-образного сифончика с мякотью яблока, к короткому кончику сифона осторожно втыкают смоченный насыщенным раствором хлористого калия фитилёк из фильтровальной бумаги. Заранее отмечая расположение полюсов, приступают к измерениям разности потенциалов и продолжают измерение до тех пор, пока не будут получены стабильные величины разности потенциалов с интервалом времени 5 мин. Далее, раствор (0,01 Н) в чашке Петри заменяют на 0,001н раствор КСІ, и измеряют разности потенциалов—сначала сразу после замены раствора, затем через каждые 5 мин., до тех пор, пока не будут получены стабильные результаты.

Снимают яблоко с чашки Петри, после промокания его контактированной поверхности с раствором КСІ фильтровальной бумагой, обрабатывают поверхность тампончиком, смоченным ксилолом. Однако можно также снимать кожуру с данной поверхности яблока. Вновь устанавливает яблоко в чашку Петри и измеряют разности потенциалов, как и прежде, сначала в 0,01н, а затем в 0,001 н растворах хлористого калия.

Результаты измерения заносят на график, откладывая по оси абсцисс время, а по оси ординат-величину разности потенциалов в милливольты при смены растворов при целом яблоке, а на другом графике отмечают величину разности потенциалов в милливольты при смены растворов при снятии кожуры с яблока.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **9-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ И ДЕЙСТВИЯ ВОЗНИКАЮЩЕГО НА НЕРВЕ И МЫШЦЕ ЛЯГУШКИ**

Многие процессы, протекающие как в животных, так и в растительных организмах сопровождаются возникновением электродвижущих сил в клетках и тканях и появлением биоэлектрических потенциалов.

Различают три основные группы биоэлектрических потенциалов: метаболические потенциалы; мембранные потенциалы и потенциалы повреждения (демаркационные потенциалы); потенциалы действия.

Каждой из этих групп потенциалов присуща определенная связь с конкретными биологическими процессами.

К группе метаболических потенциалов относятся стационарные, постоянные во времени разности потенциалов, которые устанавливаются

между участками тканей, характеризующимися различными уровнями (интенсивностью) обмена веществ. Примерами метаболических потенциалов могут служить разности потенциалов между наружной и внутренней поверхностью кожи лягушки, между стеблем и листом, кончиками корней и стволом и т.д.

К демаркационным относятся потенциалы, возникающие между интактным (то есть, целым) и поврежденным участками клетки или ткани (потенциалы повреждения), а также разность потенциалов между наружной и внутренней поверхностью мембраны клетки (мембранные потенциалы). При этом, поврежденный участок и внутренняя среда клетки оказываются электроотрицательными по отношению к неповрежденному участку или наружной поверхности клеток. Мембранные потенциалы присущи всем живым клеткам. Мембранные потенциалы, которые имеются в возбудимых клетках, называют также потенциалами покоя. Величина мембранного потенциала в разных клетках колеблется от -50 до -85 мВ.

При раздражении возбудимых клеток заряд на их мембране меняется на противоположный и возникает потенциал действия (ПД), амплитуда которого может достигать 110 – 150 мВ. Между возбужденным и не возбужденным участками органа или ткани возникает разность потенциалов, причем возбужденный участок оказывается электроотрицательным по отношению к невозбужденному и, в результате, ПД получает способность распространяться на значительные расстояния без каких-либо изменений амплитуды.

По физико-химическим основам возникновения биоэлектрические потенциалы разделяются на потенциалы ионной природы (собственно биоэлектрические потенциалы) и окислительно-восстановительные потенциалы. Первые обусловлены неравномерным распределением ионов между цитоплазмой и внеклеточной средой, т.е. асимметрией распределения ионов (в основном, ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ). Вторые – неравномерным распределением электронов между участками тканей, отличающихся друг от друга, в основном, интенсивностью дыхательных и гликолитических процессов, при которых происходит присоединение и отдача электронов молекулами биосубстрата.

Биоэлектрические потенциалы могут служить чувствительными показателями, характеризующими нормальные физиологические процессы в организме, а также патологические явления.

#### Регистрация биопотенциалов

Величина биопотенциалов, в зависимости от объекта и способа отведения, может составлять сотни микровольт или единицы и десятки милливольт, но обычно не превышает 100-150 мВ. Для усиления и измерения постоянных потенциалов используются милливольтметры постоянного тока (при измерении значительных по величине потенциалов могут быть использованы лабораторные рН-метры). Для усиления и регистрации потенциалов действия используют специальные усилители биопотенциалов (УБП) и осциллографы.

Существует два способа отведения биопотенциалов: а) внеклеточный с

помощью наружных электродов, б) внутриклеточный с помощью микроэлектродов.

Метод внутриклеточных отведений, с помощью специальных микроэлектродов, позволяет регистрировать разность потенциалов, существующих между внутренним содержимым клетки и окружающей средой. Микроэлектрод представляет собой тонкую стеклянную пипетку с диаметром кончика до 0.5 мкм, заполненную 2,5 М раствором KCl. Раствор электролита является проводящим электрический ток "стержнем", сама же пипетка служит изолятором этого проводника. "Стержень" – это электролитический мостик между цитоплазмой и системой отведения.

Сопротивление таких электродов, вследствие незначительности диаметра кончика, может достигать 10-30 МОм (чем меньше диаметр кончика микроэлектрода, тем выше сопротивление электрода, но тем меньше повреждение клетки). Микроэлектрод, который связан с усилителем через хлорированную серебряную проволочку, вводится в клетку с помощью специального микроманипулятора.

Второй электрод (электрод сравнения) помещается в наружный раствор, который является хорошим проводником. Разность потенциалов, существующая между наружным раствором и внутренним содержимым клетки, называется мембранным потенциалом. Он регистрируется в момент прокола микроэлектродом мембраны клетки. Следует учесть, что при микроэлектродных исследованиях измеряется потенциал внутренней части клетки, а потенциал наружной среды принимается за нуль.

Если микроэлектрод не повредил клетку, то мембранный потенциал (потенциал покоя) может регистрироваться длительное время (рис.1).

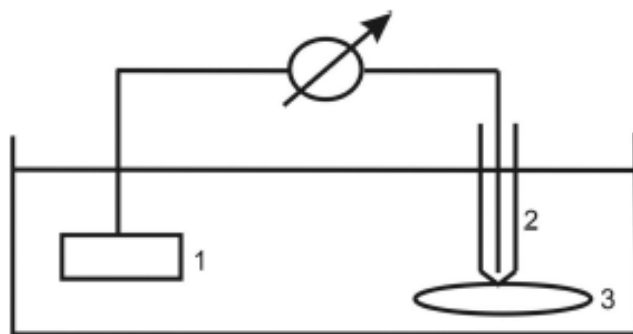


Рис. 1. Схема микроэлектродного отведения  
1- электрод сравнения; 2- микроэлектрод; 3 - клетка

При внеклеточном отведении производится измерение разности потенциалов, которая возникает при повреждении или при возбуждении между различными частями клетки или между отдельными группами клеток.

При внеклеточном отведении, измеряемая величина потенциалов всегда меньше, чем при микроэлектродном исследовании. Так, потенциал покоя волокон портняжной мышцы лягушки при микроэлектродном отведении составляет -90 мВ, а при внеклеточном -30 мВ и меньше. Величина потенциала

покою при внеклеточном отведении зависит от условий отведения, степени повреждения и т.д.

С помощью наружных электродов фактически регистрируется падение напряжения, создаваемое током, текущим между неповрежденным и поврежденным участками ткани, на сопротивлении проводящей среды  $R_1$  (рис.2)

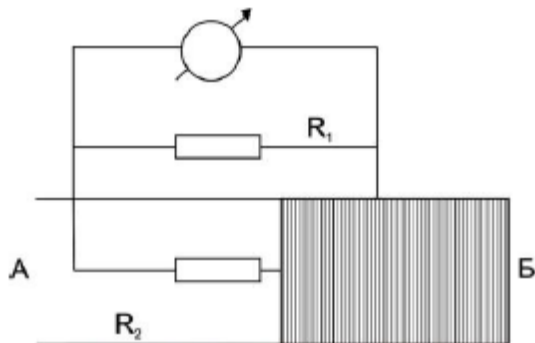


Рис. 2. Схема внеклеточного отведения потенциалов.

А - неповрежденный участок ткани:

Б - поврежденный участок ткани:

$R_1$  - сопротивление проводящей среды:

$R_2$  - сопротивление мембраны клетки и ее цитоплазмы.

Регистрируемый потенциал равен:

$$V = V_{\text{кл.}} \cdot \frac{R_1}{R_1 + R_2} = V_{\text{кл.}} \cdot \frac{1}{1 + R_2/R_1}$$

Таким образом, при внеклеточном отведении регистрируется та доля потенциала клетки ( $V_{\text{кл.}}$ ) которая определяется отношением  $R_2$  (сопротивление мембраны клетки и ее цитоплазмы) и  $R_1$  (сопротивление наружного раствора). Из приведенной формулы видно, что  $V$  тогда приближается к  $V_{\text{кл.}}$ , когда  $R_2/R_1$  стремится к нулю, т.е. когда  $R_1$  больше  $R_2$ .

Для увеличения сопротивления наружного раствора следует удалить его избыток с межэлектродного участка ткани (с помощью фильтровальной бумаги) и покрыть этот участок вазелиновым маслом (метод вазелинового мостика). Иногда для увеличения внешнего сопротивления применяют раствор сахарозы (метод сахарозного мостика), с помощью которого удается зарегистрировать до 95% величины исследуемого потенциала.

При регистрации постоянных биоэлектрических потенциалов отводящие электроды должны быть неполяризующимися, т.е. не должны изменять свой потенциал при прохождении через них электрического тока. Для биологических измерений обычно применяют электроды, покрытые слоем трудно растворимой соли этого же металла. К таким электродам относятся серебряные, покрытые слоем хлористого серебра (хлорсеребряные электроды), хлорированные платиновые электроды. Широко используются также цинковые ( $\text{Zn} - \text{ZnSO}_4$ ) и каломельные ( $\text{Hg} - \text{Hg}_2\text{Cl}_2$ ) электроды.

**Работа 1. Измерение потенциала покоя нерва лягушки. Зависимость величины потенциала покоя от концентрации ионов калия в среде.**

**Ход работы:** Приготовить препарат изолированного седалищного нерва лягушки. После непродолжительного (10-15 мин) выдерживания в нормальном растворе Рингера, нерв поместить в камеру (Рис. 3), предварительно обсушив его на фильтровальной бумаге. Участок нерва между отделениями камеры А и Б покрыть смесью вазелина и вазелинового масла (вазелиновый мостик) для повышения межэлектродного сопротивления. Затем в отделения А и Б налить нормальный раствор Рингера и опустить в них отводящие электроды, закрепленные в держателях. К электродам подключить цифровой милливольтметр.

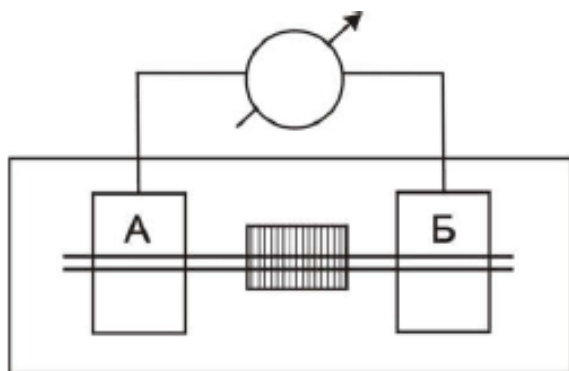


Рис. 3. Схема регистрации потенциала покоя нерва. Объяснения в тексте.

**Задание 1.** Измерить разность потенциалов между двумя интактными участками нерва. Эта разность обычно не превышает 3-5 мВ и связана с разностью потенциалов самих неполяризующихся электродов (асимметрией электродов).

Затем нормальный раствор Рингера в отделении Б заменить на изотонический раствор хлористого калия или подвергнуть этот участок механическому повреждению (с помощью пинцета).

После стабилизации показаний записать величину потенциала покоя нерва.

**Задание 2.** Определить влияние повышенной концентрации ионов калия на величину потенциала покоя нерва.

Для этого нормальный раствор Рингера в отделении А заменить на раствор, в котором концентрация  $K^+$  увеличена в 4 раза. Записывать изменения величины потенциала покоя каждую минуту в течение 10-15 мин.

Затем вновь заменить раствор в отделении А на нормальный раствор Рингера и подождать восстановления потенциала.

Повторить то же самое с изотоническим раствором KCl. Построить соответствующие графики изменения потенциала покоя нерва.

**Работа 2. Регистрация потенциала действия нерва лягушки.**

Установка для регистрации потенциала действия нерва состоит из осциллографа (1), усилителя биопотенциалов (2), и стимулятора (3) (Рис. 4).

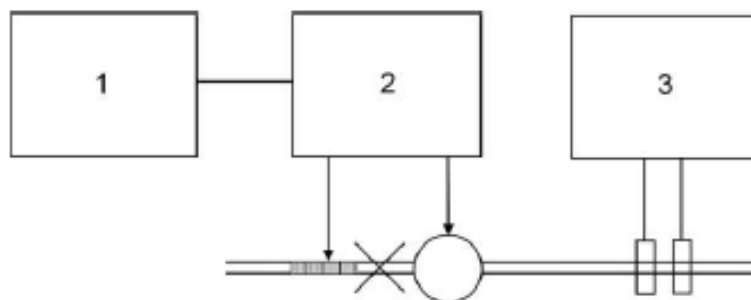


Рис. 4. Схема установки для регистрации потенциала действия нерва.  
Объяснения в тексте.

*Ход работы:* Отпрепарованный седалищный нерв лягушки обсушить на фильтровальной бумаге и поместить в камеру с "воздушным мостиком" между отводящими электродами. Заполнить отделения камеры нормальным раствором Рингера и опустить в них отводящие и раздражающие электроды.

*Задание 1.* Зарегистрировать потенциал действия между двумя интактными участками нерва (двухфазный ПД).

Включить стимулятор (частота раздражения 10-30 имп/с) и увеличивать постепенно амплитуду стимула, для того, чтобы определить пороговую силу раздражения (минимальная сила, при которой на экране осциллографа появляется ПД). Затем определить максимальную силу раздражения, при достижении которой амплитуда ПД перестает увеличиваться, поскольку все нервные волокна вовлечены в активность.

Зарисовать потенциал действия и определить его амплитуду в милливольтх с помощью калибровочного сигнала.

*Задание 2.* Зарегистрировать потенциал действия между интактным и поврежденным (альтерированным) участками нерва (монофазный ПД).

Нанести механическое повреждение (с помощью пинцета) участку нерва, находящемуся под дистальным отводящим электродом (на рис. 4 заштрихован).

Включить стимулятор и зарисовать регистрируемый потенциал действия. Отметить его отличие от двухфазного потенциала.

*Задание 3.* Влияние на потенциал действия хлористого калия.

Заменить нормальный раствор Рингера в отделении камеры под проксимальным электродом (на рис. 4 обозначена кружком) на изотонический раствор хлористого калия. Зарегистрировать изменения амплитуды ПД во времени и показать эти изменения графически. Проверить обратимость действия избытка ионов калия, вновь заменив раствор на нормальный.

### ***Работа 3. Измерение потенциала повреждения (потенциала покоя) мышцы лягушки.***

В работе используется измерительная установка, состоящая из цифрового милливольтметра и неполяризующихся электродов.

*Ход работы:* Отпрепаровать икроножную мышцу лягушки и поместить ее во влажную камеру. К мышце прикладывают электроды (межэлектродное

расстояние 1,0 – 1,5 см) и измеряют разность потенциалов между двумя неповрежденными участками поверхности мышцы. Измеренная разность обычно не превышает 3-5 мВ и обусловлена асимметрией электродов.

Затем под одним из электродов ножницами повредить мышцу и определить разность потенциалов между неповрежденной и поврежденной поверхностью (потенциал покоя). Измерять разность потенциалов в течение 30 мин (каждые 5 мин). Затем на неповрежденный участок мышцы (под вторым электродом) поместить ватку, смоченную изотоническим раствором хлористого калия. Измерения проводить до тех пор, пока разность потенциалов не упадет до нескольких мВ. По полученным результатам построить графики изменения потенциала покоя во времени и влияния на него раствора KCl.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **10-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ, ВОЗНИКАЮЩИЕ НА КОЛЛОДИЕВЫХ МЕМБРАНАХ**

Ионные потенциалы возникают там, где имеет место неравномерное распределение анионов и катионов по две стороны какой-либо границы раздела, т.е. двойные электрические слои приурочены не к границе электрода со средой, а к самой среде. Движущей силой переноса заряженных веществ и ионов является градиент электрохимического потенциала.

Мембранные потенциалы возникают при наличии мембраны, обладающей различной проницаемостью для разных ионов. Если мембрана, разделяющая растворы электролита различных концентраций, проницаема только для одного из ионов, то возникающий мембранный потенциал описывается уравнением Нернста. Если мембрана проницаема для обоих ионов, то мембранный потенциал описывается частным случаем уравнения Гольдмана:

$$E = \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{P_k [K^+]_0 + P_a [A^-]_0}{P_k [K^+]_j + P_a [A^-]_j}, \quad (1)$$

где  $P_a$  и  $P_k$  - коэффициенты проницаемости для аниона и катиона;  $[A^-]$  и  $[K^+]$  - концентрации аниона и катиона по разные стороны мембраны.

Потенциалы, возникающие в живых системах (в клетках и тканях), являются ионными. Учитывая связь биопотенциалов с определенными физиологическими процессами, различают следующие их группы:



а) потенциалы покоя неповрежденных клеток. Разность потенциалов регистрируется между наружной поверхностью и внутренним содержимым клетки;

б) демаркационные, или потенциалы повреждения, регистрируемые между поврежденным и неповрежденным участками ткани;

в) потенциалы действия регистрируются в момент возбуждения между возбужденным и невозбужденным участком;

г) метаболические потенциалы, регистрируемые между участками с различной скоростью метаболических процессов.

*Доннановское равновесие*-это вид ионного равновесия между фазами, когда одна из фаз несет заряженные частицы крупных размеров, например белки, неспособные перейти в другую фазу. Однако подобного рода мембраны свободно пропускают неорганические катионы, ионы натрия, калия.

**Потенциал покоя** представляет разность потенциалов между цитоплазмой покоящихся клеток и окружающей средой, который обеспечивает возбудимость клеток, проведение нервного импульса, мышечное сокращение и др. В 1902 г. Бернштейн выдвинул гипотезу о происхождении потенциала покоя в нервных и мышечных волокнах, согласно которой потенциал покоя возникает в результате неравномерного распределения ионов калия. Потенциал покоя возникает в результате неравномерного распределения  $K^+$  по обе стороны мембраны и описывается уравнением Нернста:

$$E_M = E_K = \frac{RT}{nF} \cdot \frac{[K^+]_i}{[K^+]_o} \quad (2)$$

где  $E_K$  - калиевый равновесный потенциал, т.е. такой трансмембранный потенциал, при котором электрохимический потенциал калия снаружи и внутри клетки одинаков, т.е. равен нулю. Из приведенного уравнения следует, что 10-кратному градиенту калия на плазматической мембране (100 мМ - внутри, 10 мМ - снаружи клетки) соответствует потенциал покоя величиной 60 мВ.

Обычно величина потенциала покоя равна -50-70 мВ, а доннановского потенциала - порядка 2-3 мВ. У сильно **поврежденных клеток** потенциал покоя может снизиться до уровня доннановского потенциала, когда происходит перераспределение ионов, определяемое уже не работой ионных насосов, а содержанием полианионов в клетке.

Потенциал покоя определяется не абсолютными, а относительными величинами проницаемости для ионов. Поток ионов, создаваемых  $Na^+$ ,  $K^+$ -насосом ( $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФазой) также может участвовать в формировании стационарного потенциала. Это происходит потому, что при каждом цикле работы этого фермента в большинстве клеток ионов  $Na^+$  выводится больше, чем  $K^+$ . Суммарный поток положительных зарядов, направленный из клетки в среду, приводит к увеличению отрицательного потенциала внутри клетки (потенциал среды принят за 0). Таким образом, для неповрежденных нервных клеток характерны высокие значения потенциала покоя, обусловленные низкой общей проницаемостью мембран и значительным различием проницаемости

для  $Na^+$  и  $K^+$ . Нарушение биоэнергетических процессов в клетке, сопровождающееся падением внутриклеточного уровня макроэргических соединений, приводит к неспецифическому повышению проницаемости клеточных мембран, различие в коэффициентах проницаемости для  $K^+$  и  $Na^+$  при этом уменьшается.

При оценке величины *мембранного потенциала* следует принимать в расчет вклад в него не только ионов  $K^+$ , но и других присутствующих ионов. Величины мембранного потенциала у разных тканей колеблется в пределах от 60 до 90 мВ. В этом случае необходимо использовать уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца:

$$E_M = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+] + P_{Na} [Na^+] + P_{Cl} [Cl^-]}{P_K [K^+] + P_{Na} [Na^+] + P_{Cl} [Cl^-]} \quad (3)$$

Это уравнение составлено для условий стационарного состояния или состояния покоя, когда через мембрану непрерывно идут встречные потоки ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$  и др. Всякое равновесие можно рассматривать как частный случай стационарного состояния.

Работами Ходжкина и др. были установлены существенные факты о связи потенциала покоя и потенциала действия. При возбуждении нервных, мышечных клеток и даже клеток харовых водорослей между внутриклеточной средой и окружающим раствором возникает изменение мембранного потенциала, напоминающее затухающее колебание и называемое потенциалом действия. В состоянии покоя внутреннее содержимое нервного волокна имеет отрицательный потенциал по отношению к внешней поверхности. При этом нервное волокно становится значительно проницаемым для ионов калия и меньше для ионов натрия. При возбуждении проницаемость для ионов натрия резко возрастает и ионы натрия поступают из окружающей среды внутрь волокна по электрохимическому градиенту. В связи с этим внутрь волокна вносятся положительные заряды, которые вначале уменьшают мембранный потенциал, а затем, вызывают перезарядку мембраны, т.е. внутренняя сторона мембраны заряжается положительно по отношению к ее внешней поверхности. Расчеты показали, что мембранный потенциал при перезарядке достигает 60 мВ, если принять, что внутренняя концентрация ионов натрия составляет 1/10 от концентрации ионов во внешней среде. Возбужденная мембрана ведет себя как натриевый электрод, для которого равновесный потенциал равен:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[Na^+]_0}{[Na^+]_i} = 58 \lg \frac{[Na^+]_0}{[Na^+]_i} \quad (4)$$

Изменение знака потенциала вызывает в свою очередь вход ионов калия из нервного волокна. Удаление положительно заряженных ионов из нервного волокна продолжается до тех пор, пока потенциал на внутренней стороне

мембраны не будет восстановлен до первоначальной величины.

Дальнейшее восстановление мембранного потенциала, по Ходжкину, осуществляется путем активного удаления ионов натрия за счет работы ионного натриевого насоса, что одновременно идет с накоплением ионов калия из окружающей среды.

В опытах с внутриканальной перфузией гигантских аксонов кальмара показано, что повышение концентрации ионов натрия внутри аксона приводит к обратимому уменьшению «овершута» потенциала действия. Значение мембранного потенциала на вершине спайка вычислялось по редуцированному уравнению:

$$E_D = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_0 + b[Na^+]_0}{[K^+]_i + b[Na^+]_i} \quad (5), \quad \text{где} \quad b = \frac{P_{Na}}{P_K}$$

Здесь наблюдается удовлетворительное совпадение экспериментальных и теоретических данных. Из уравнения (5) следует, что когда  $[Na^+]_i$  меньше  $[K^+]_0$ , то «овершут» потенциала действия лимитируется только внутриклеточной концентрацией ионов калия.

В случае, когда  $[Na^+]_i = 0$  и  $[Na^+]_0 \gg [K^+]_i$  уравнение (5) редуцируется до:

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{b[Na^+]_0}{[K^+]_0} \quad (6)$$

Отсюда следует, что в отсутствие ионов натрия во внутренней среде уменьшение  $[K^+]_i$  должно приводить к увеличению «овершута». Опыты подтвердили и это предсказание теории. Замена половины  $K_2SO_4$  во внутренней среде глюкозой, увеличивает «овершут» примерно на 10мВ. При разведении  $K_2SO_4$  глюкозой в 6 раз «овершут» повышался на 30мВ. Показано, что на нисходящей фазе потенциала действия происходит существенное повышение калиевой проницаемости мембраны и усиление входящего тока ускоряет реполяризацию мембраны.

Таким образом, данные полученные в опытах с изменением концентрации внутриклеточного натрия и калия, привели к выводу, что различие в концентрациях этих ионов по обе стороны мембраны являются непосредственным источником энергии для нервного импульса и, что потенциал действия возникает в результате тех же изменений ионной проницаемости, которые отмечены на интактных аксонах.

### 3. Равновесные мембранные разности потенциалов.

Диффузионные потенциалы обязаны своим возникновением

неодинаковой подвижности катиона и аниона, свободно диффундирующих через раствор. Различие в подвижности противоположно заряженных ионов может быть, однако, значительно увеличено в тех случаях, когда вместо свободной диффузии ионов, происходит их проникновение через некоторые виды мембран. К подобного рода мембранам относятся в первую очередь такие, которые в силу незначительного диаметра их пор, задерживают ионы крупных размеров (например, аниона белка), но зато свободно пропускают неорганические катионы, в частности ион натрия.

Мембраны описанного типа и характерные для них формы распределения ионов впервые изучил Ф. Доннан (1911). В одной из рассмотренных им простейших систем фигурирует мембрана, проницаемая для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , но непроницаемая для анионов белка –  $\text{P}^-$ . Если по одну сторону такой мембраны находятся ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , а по другую сторону – ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{P}^-$ , то по достижению равновесия, в системе возникает разность потенциалов, которую можно вычислить по формуле :

$$E = \frac{RT}{F} \cdot \ln = \frac{\left[ \text{Cl}^- \right]_i}{\left[ \text{Cl}^- \right]_o} = \frac{RT}{F} \cdot \frac{\left[ \text{Na}^+ \right]_o}{\left[ \text{Na}^+ \right]_i} \quad (1)$$

где  $[\text{Cl}^-]_i$  и  $[\text{Cl}^-]_o$  – концентрации ионов хлора, а также  $[\text{Na}^+]_i$  и  $[\text{Na}^+]_o$  – концентрации ионов натрия, находящихся по одну сторону и, соответственно по другую сторону мембраны.

Одним из наиболее удачных случаев приложения доннанова равновесия к биологическим системам оказалось распределение ионов между эритроцитами и плазмой крови. В тоже время использование теории Доннана для объяснения биоэлектрических явлений встретило с одного начала ряд серьезных возражений. Основное из них заключается в невозможности объяснить доннановским потенциалом непрерывное генерирование электрической энергии, поскольку по самой своей природе доннановский потенциал является равновесным, а не стационарным. Поэтому, кроме некоторых специальных случаев доннаново мембранное равновесие к живым системам не применимо. Отведение доннановского потенциала представляет значительные методические трудности. В частности, это отведение оказывается невозможным при равновесии в тех случаях, когда электроды, служащие для отведения отдают в раствор ионы, участвующие в создании мембранного потенциала. Существуют однако мембраны, обладающие избирательной проницаемостью для ионов с зарядом одного знака, и непроницаемые – для ионов с зарядом противоположного знака. Примером таких мембран может служить высушенная коллоидная мембрана, проницаемая для катионов и задерживающая анионы.

Поскольку подвижность анионов в такой мембране равна нулю, то разность потенциалов по обе стороны (так называемый мембранный потенциал), в соответствии с формулой Гендерсона составляет величину:

$$E = \frac{\bar{u} - 0}{u + 0} \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1}{C_2} = + \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1}{C_2} \quad (2)$$

и, соответственно, для мембраны, избирательно проницаемой для анионов (для случая, когда  $U=0$ ) имеем:

$$E = \frac{0 - \bar{v}}{0 + v} \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1}{C_2} = - \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1}{C_2} \quad (3)$$

и в общем виде:

$$E = \pm \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{C_1}{C_2} \quad (4)$$

Согласно общепринятым представлениям, избирательная ионная проницаемость связана с наличием у мембран заряда определенного знака. Последний, в свою очередь зависит от химической природы мембраны и от адсорбции на составляющих ее мицеллах ионов, перешедших из раствора. В результате адсорбции на границе раздела между мицеллой и мицеллярной жидкостью образуется двойной электрический слой. Такая мембрана проницаема для ионов того и другого знака только в том случае, если размеры ее пор достаточно велики. В противном случае мембрана оказывается проницаемой только для ионов, знак которых противоположен знаку заряда самой мембраны. Иначе говоря, мембрана притягивает к себе противоположно заряженные ионы и наоборот, одноименно заряженные ионы мембраной отталкиваются и не пропускаются. Очевидно, мембранный потенциал достигает максимального значения только при условии, что мембрана отделяющая друг от друга два раствора одного и того же химического состава, но различной константой проницаемости, проницаема для ионов одного знака и абсолютно непроницаема для ионов другого знака. Если же мембрана хотя бы в какой-то мере обладает проницаемостью и для одноименно с ней заряженных ионов, то мембранный потенциал окажется меньше своей теоретически предельной величины. Тем не менее и в этом случае величина мембранного потенциала оказывается при прочих равных условиях больше величины диффузионного потенциала, связанного со свободной диффузией ионов.

Причина подобного несовпадения величин мембранного и диффузионного потенциала кроется в большом различии подвижности катиона и аниона внутри самой мембраны, нежели при свободной диффузии в растворе. Проникновение ионов через узкие поры мембраны сильно зависит от степени гидратации иона, следовательно размеры гидратированного иона оказывают гораздо большее тормозящее влияние, чем при свободной диффузии того же иона в растворе. Знак заряда мембраны, а следовательно и характер ее избирательной проницаемости для ионов определенного знака, отнюдь не является постоянной величиной и может быть изменен. В частности, при помощи некоторых красителей, например родамина Е, можно изменить отрицательный заряд коллоидной мембраны на положительный. Таким путем

коллоидную мембрану можно сделать проницаемой для анионов, причем знак мембранного потенциала соответственно изменяется на обратный.

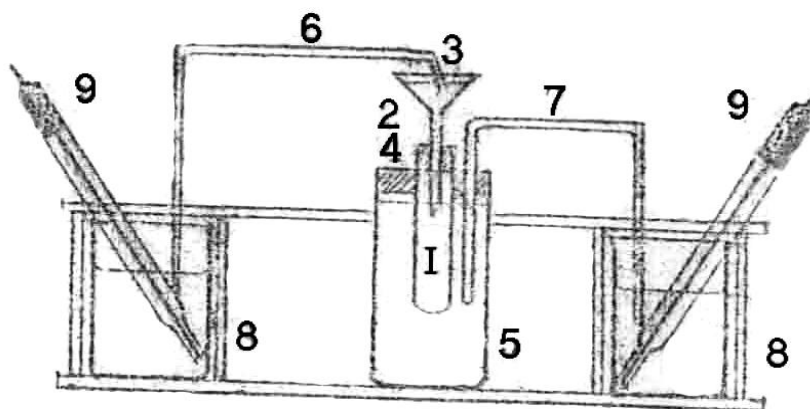
### Лабораторная работа

#### Измерение разности потенциалов на коллодиевой мембране.

*Необходимые принадлежности:* Штатив для электродной системы; хлорсеребряные электроды; химический стакан на 200мл.; стеклянная воронка (маленькая); резиновая пробка диаметром соответствующая диаметру стакана; коллодий аптечный; Г-и П- образные агаровые сифончики; 1% раствор желатины в растворе 5/1000 н.

Собирают установку как показано на рисунке 7. Главной частью этой установки является коллодийный мешочек.

При проведении данной работы необходима маленькая пробка диаметром, соответствующей диаметру коллодийного мешочка (1.5-2см). Через эту пробку просверливают отверстие, в которое вставляют воронку. Надевают на маленькую пробку коллодийный мешочек и плотно завязывают его на пробку. Через воронку в мешочек наливают 1% раствор желатины, приготовленный на 5/10000 н. HCl. В таком виде мешочек опускают через отверстие, просверленное в большой пробке, в стакан с раствором 5/10000 н. HCl. В воронку доливают раствор желатины на соляной кислоте и выгоняют пузырьки воздуха из мешочка в горловой части воронки. С помощью Г – образного агарового сифончика раствор внутри коллодийного мешочка контактирует с одним из соединительных стаканов через отверстия небольшой пробки, а посредством П – образного агарового сифончика раствор KCl, соединяют с другим, соединительным стаканом.



**Рис.7. Схема для измерения разницы потенциала на коллодиевой мембране**

- 1- коллодийный мешочек, 2- маленькая пробка, 3- воронка, 4- большая пробка, 5- стакан с раствором KCl, 6- Г- образный агаровый сифончик, 7- П- образный агаровый сифончик, 8- соединительные стаканчики, 9- хлорсеребряные электроды.

Отмечают расположение полюсов и измеряют разности потенциалов исследуемой системы. Затем прослеживают изменения величины разности потенциалов в течении одного часа, проводя измерения каждые 10 минут. В связи с тем, что для установления осмотического равновесия в такой системе требуется довольно много времени - порядка нескольких часов, систему сохраняют в течении суток, после чего вновь производят 3 измерения с интервалом 5-10 минут. Во избежание испарения растворов во время суточного перерыва стакан с коллоидным мешочком закрывают стеклянным колпачком, убирая при этом агаровые сифончики.

Результаты вносят в таблицу:

Время от начала измерения в мин.	Величина разности потенциалов в мВ.

### Использованная литература

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## 11-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

### ТЕМА: ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ СКОРОСТИ И $\zeta$ -ПОТЕНЦИАЛА ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

Коллоидные системы – это высокодисперсные (микрогетерогенные) системы вещества с размером частиц  $10^{-9} - 10^{-7}$  м. Главная черта коллоидного состояния вещества - ведущая роль поверхностных явлений. Дробя, измельчая любое твердое тело, мы непрерывно увеличиваем его суммарную поверхность, сохраняя неизменными суммарный объем и массу. По мере роста дисперсности увеличивается удельная поверхность, приходящаяся на единицу массы, достигая в коллоидной области весьма больших значений – сотен  $\text{м}^2/\text{г}$ . Вещество в коллоидном состоянии по многим физико-химическим свойствам отличается от вещества в более крупных частицах. Суспензии клеток также имеют многие свойства, характерные только для коллоидов. Электрокинетические явления имеют место при диспергировании одной фазы в другую и отражают существующую связь между относительным движением двух фаз и электрическими свойствами границы их раздела.

Если на границе раздела между подвижной и неподвижной фазами имеется двойной электрический слой, то приложенное извне электрическое поле может вызывать движение одной фазы относительно другой, и наоборот, если имеет место движение одной из фаз относительно другой, то возникает разность потенциалов между этими фазами. Таким образом, электрокинетические

явления возникают в гетерогенной системе при движении одной фазы относительно другой и проявляются в виде электрической разности потенциалов между двумя фазами.

Различают четыре вида электрокинетических явлений: электрофорез, электроосмос, потенциал течения и потенциал осаждения.

Электрофорез - движение дисперсной фазы по отношению к дисперсионной среде, под действием внешнего электрического поля.

Электроосмос – движение дисперсионной среды по отношению к неподвижной дисперсной фазе, под влиянием приложенного электрического поля.

Потенциал течения (эффект Квинке) - потенциалы, возникающие в результате движения жидкости через капилляр или поры пористой перегородки, возникающие под влиянием гидростатического давления.

Потенциал осаждения (седиментации- эффект Дорна) - потенциалы, возникающие в гетерогенной системе под влиянием гравитационной или центробежной силы между верхними и нижними слоями системы.

Само существование электрофореза, электроосмоса свидетельствуют о том, что между дисперсной фазой и дисперсионной средой существует двойной электрический слой и дисперсная фаза как и дисперсионная среда имеют разный электрический заряд. Поэтому, движение взвешенных частиц в толще жидкости, наблюдаемое при приложении электрического поля, может произойти только в случае, когда частицы распределены в жидкости обладают зарядом. Точно также движение дисперсионной среды при электроосмосе, было бы невозможным при отсутствии у жидкости заряда, на которое влияет электрическое поле.

Возникновение потенциала течения и потенциала осаждения в жидкости является следствием влияния гидростатического и гравитационного градиентов. Поэтому невозможно представить возникновение двойного электрического слоя между жидкой (подвижной, в случае потенциала течения, и неподвижной, в случае потенциала седиментации) фазой и твердой (неподвижной, в случае потенциала течения, и подвижной, в случае потенциала седиментации) фазой, при отсутствии действующих сил извне.

Таким образом, все перечисленные электрокинетические явления обусловлены разностью потенциалов на границе раздела между подвижной и неподвижной фазами. Эти разности потенциалов называются электрокинетическими или  $\zeta$  (дзета) потенциалами. Под термином  $\zeta$  (дзета) потенциал принято понимать такие потенциалы, которые возникают между тончайшей водной пленкой, адсорбированной на поверхности частицы, и всей остальной массой раствора.

## **ЭЛЕКТРОФОРЕЗ**

На наружной поверхности плазматических мембран клеток имеются заряженные группы мембранных белков и липидов, которые формируют водную пленку на поверхности клеток. Изучение электрокинетических явлений, связанных с биологическими объектами представляет большой



интерес, несмотря на то, что клетка представляет сложную гетерогенную систему со множеством границ раздела фаз.

Между поверхностью клетки и всей остальной массой раствора возникает разность потенциалов, называемая дзета ( $\zeta$ ) потенциалом. Дзета-потенциал зависит от многих причин, включая и функциональное состояние клетки. Определить дзета потенциал можно путем измерения электрофоретической подвижности клеток методом микроэлектрофореза. Измеряя дзета-потенциал можно наблюдать за динамикой изменения функционального состояния в клетке. В частности, при развитии в клетке апоптотических явлений, на ранних их этапах, изменяется дзета потенциал, и измеряя его можно наблюдать за динамикой развития апоптоза.

В электрическом поле на гетерогенную систему действует сила  $F_1$ , которая вызывает движение сферических частиц дисперсной фазы:

$$F_1 = q \cdot E, \quad (1)$$

где  $q$  – заряд частицы,  $E$  – напряженность электрического поля. При движении сферические частицы дисперсной фазы испытывают сопротивление среды с силой  $F_2$ , препятствующей их движению:  $F_2 = 6\pi \eta v r$  (2). При равенстве действующих на частицу сил:  $F_1 = F_2 = q \cdot E = 6\pi \eta v r$ . (3). Преобразовав формулу (3) можно выйти на определение дзета-потенциала сферических частиц, а для цилиндрических частиц – нужно умножить еще на 300.

Таким образом дзета-потенциал клеток можно определить измерив скорость движения клеток в электрическом поле при заданном градиенте потенциала электрического поля по формуле Эйнштейна-Смолуховского

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{D} \cdot \frac{v}{E} \cdot 300 \quad (4)$$

где  $\eta$  – вязкость среды (для воды при  $+20^\circ \text{C}$  равна 0,01 пуаз),  $D$  – диэлектрическая постоянная (для воды 81);  $v$  – скорость движения клеток, которую можно измерить определяя расстояние ( $S$ ), пройденное клетками за единицу времени ( $t$ ),  $v = \frac{S}{t}$  (см/с);  $E$  – градиент потенциала электрического поля равный частному от деления разности потенциалов, приложенных к электродам ( $V$  в абс.электрост. ед.) к расстоянию  $l$  между ними:  $E = \frac{V}{l}$ .

Учитывая, что  $1\text{В} = 300^{-1}$  абс.электрост. ед. величину дзета ( $\zeta$ ) потенциала увеличиваем в 360000 раз и получаем первый множитель:  $\frac{4\pi\eta}{D} = 140$ .

Подставив значение  $D$  и  $\eta$  воды, получаем:  $\zeta = 140 \frac{S \cdot l}{t \cdot V}$  (5), где разность потенциалов  $V$  дается в вольтах. Величина  $\frac{S \cdot l}{t \cdot V}$ , т.е. отношение линейной скорости движения клеток к градиенту потенциала называется электрофоретической подвижностью ( $U$ ).

Тогда формула (4) примет конечный вид:

$$\zeta = 140 U, (6)$$

где напряжение выражено в вольтах, расстояние в см и время в сек.

### **Лабораторная работа**

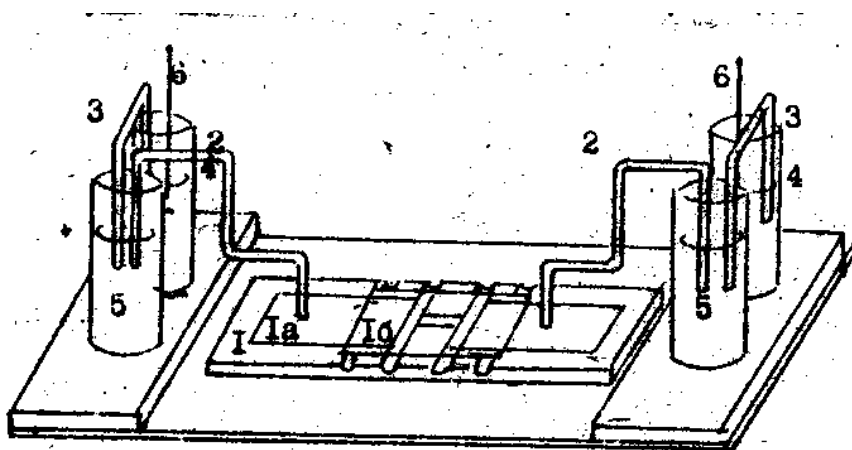
#### **Определение электрофоретической подвижности и дзетта-потенциала дрожжевых клеток**

Методом изучается движение дрожжевых клеток в электрическом поле и влияние его величины на скорость их перемещения.

*Принадлежности:* микроскоп, окуляр-микрометр (камера Горяева), камера для микроэлектрофореза, сосудики для неполяризующихся электродов, сифоны и U-образные трубки. источник напряжения на 80 – 100 В, миллиамперметр постоянного тока на 10 – 20 мА, вольтметр на 100 – 150 В, реостат, ключ двухклеммный, 3% - ный раствор агар-агара на растворе хлористого натрия, насыщенный раствор  $\text{CuSO}_4$ , насыщенный раствор  $\text{KCl}$ , 8% раствор сахарозы, 15% раствор сахарозы, цитратный буфер по Мак-Ильвену рН 8,0, гликолевый буфер, дрожжи, секундомер.

Для измерения скорости движения клеток собирают установку, где измерительная камера, соединяется с источником постоянного напряжения 80 – 100 В через неполяризующиеся электроды (nPE) через коммутатор меняющий полярность. Камера представляет собой пластинку из органического стекла (1) с углублением в виде канавки шириной 3мм и глубиной 1 мм. В оба конца канавки опущены U-образные стеклянные трубочки (2), заполненные агар-агаром с  $\text{KCl}$ . Другие концы агаровых мостиков погружены в стаканчики (3) с насыщенным  $\text{KCl}$ , куда погружены также электроды в виде хлор-серебрянных проволочек.

Камера устанавливается на предметный столик микроскопа с окуляром – микрометром. В канавку камеры помещается суспензия дрожжевых клеток в 8% растворе сахарозы, на цитратном буферном растворе рН 8,0. В окуляре микрометра определяется цена деления сетки с помощью объект-микрометра. Через камеру пропускается ток 3-4 мА, в окуляре выбирается одна из клеток и с помощью секундомера определяется время, за которое она проходит расстояние между делениями сетки. Измерения проводят еще на 5 – 6 клетках. Затем меняют полярность источника тока и проводят измерения еще на 6 клетках. Вычисляют среднюю скорость движения клеток при заданном напряжении и по формуле (6) вычисляют дзета потенциал клеток.



### Внешний вид установки для измерения электрофоретической скорости клеток

1 – камера, 1а – полоска из фильтровальной бумаги. 1б – покровное стекло, 2 – фигурный стеклянный сифон, заполненный агаром, 3 – П-образные сифоны, заполненные агаром, 4 – стаканчики, заполненные хлоридом калия, 5 – стаканчики, заполненные сульфатом меди, 6 – электроды

### Ход работы:

Приготовить смесь из 9 мл 8%-ного раствора сахарозы и 1 мл цитратного буферного раствора pH 8,0. В приготовленный раствор поместить небольшой кусочек дрожжей и тщательно размешать. Полученную суспензию поместить в камеру для микроэлектрофореза. Электроды должны контактировать с суспензией через агаровый мостик. Визуально проверить отсутствие разрывов в электрической цепи. Поставить камеру под микроскоп и найти в фокусе дрожжевые клетки (объектив 8). Включить источник питания и выставить по его стрелочному прибору напряжение около 100 В. Замкнуть ключ в одно из двух положений и ползунком реостата установить ток в цепи 2-8 мА. Зафиксировать при этом величину напряжения между электродами. Отсутствие тока будет указывать на разрыв в цепи. Определить направление и скорость движения дрожжевых клеток.

Цена деления шкалы окуляр-микрометра равна 0,1 мм (при увеличении 8×15). Скорость движения дрожжевых клеток определить для пяти различных значений напряжения 15; 30; 45; 60; 75 В - для каждого из них не менее пяти раз. Изменение напряжения достигается перемещением движка реостата. Определить знак заряда дрожжевой клетки.

Для определения скорости движения частиц необходимо определить количество делений сетки камеры Горяева, пройденных частицами за определенный промежуток времени.

Расчеты проводятся по формуле  $\zeta = 140U$ , где  $U = \frac{S \cdot l}{t \cdot V}$

При проведении эксперимента следует учитывать, что ширина сетки камеры Горяева равна  $S = 0,005$  см, время составляет  $t = 10$  сек, длина электрофоретической камеры (расстояние между электродами)  $l = 3,3$  см,

электрофоретическая скорость  $V$ , определяемая из разности потенциалов

$$E = 10 (V/z) \text{ равна } 10.$$

Отсюда вычисляем:

$$U = ((s \cdot l) / (t \cdot V)) = ((5 \cdot 10^{-3} \cdot 3,3) / (10 \cdot 10)) = 1,3 \cdot 10^{-4} \text{ см.сек.}^{-1}$$

Найденное значение умножаем на 140 и находим величину  $\zeta$ -потенциала в вольтах. Умножая эту величину на 1000 получаем значение  $\zeta$ -потенциала в милливольтмах.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

## **12-ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА**

### **ТЕМА: ИЗМЕРЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ**

Методы анализа, основанные на поглощении электромагнитного излучения анализируемыми веществами, составляют обширную группу абсорбционных оптических методов. При поглощении света атомы и молекулы анализируемых веществ переходят в новое возбужденное состояние.

Фотометрические методы анализа относятся к спектроскопическим методам. Они подразделяются на фотоколориметрию и спектрофотометрию, основанных на взаимодействии излучения с однородными системами. В фотометрических методах используют избирательное поглощение света молекулами анализируемого вещества.

Согласно квантовой механике свет представляет собой поток частиц, называемых квантами или фотонами. Энергия каждого кванта определяется длиной волны излучения. В результате поглощения излучения молекула поглощающего вещества переходит из основного состояния с минимальной энергией  $E_1$  в более высокое энергетическое состояние  $E_2$ . Электронные переходы, вызванные поглощением строго определенных квантов световой энергии, характеризуются наличием строго определенных полос поглощения в электронных спектрах поглощающих молекул. Поглощение света происходит только в том случае, когда энергия поглощаемого кванта совпадает с разностью энергий  $\Delta E$  между квантовыми энергетическими уровнями в конечном  $E_2$  и начальном  $E_1$  состояниях поглощающей молекулы:  $\Delta E = E_2 - E_1$ . Энергия фотона связана с длиной волны света соотношением Планка:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad ()$$

где  $h$  – постоянная Планка ( $h = 6,625 \cdot 10^{-34}$  Дж · с);  $\nu$  – частота поглощаемого излучения, которая определяется энергией поглощенного кванта и выражается отношением скорости распространения излучения  $c$  (скорости световой волны в вакууме  $c = 3 \cdot 10^{10}$  см/с) к длине волны  $\lambda$ ;  $\nu = c/\lambda$ .

Частота излучения  $\nu$  измеряется в герцах (Гц). Длина волны  $\lambda$  измеряется в ангстремах ( $1 \text{ \AA} = 1 \cdot 10^{-8}$  см), нанометрах ( $1 \cdot 10^{-9}$  м). Природа полос поглощения в ультрафиолетовой (10–400 нм) и видимой (400–760 нм) областях спектра одинакова и связана главным образом с числом и расположением электронов в поглощающих молекулах и ионах. В фотометрическом анализе различают спектрофотометрический метод – анализ по поглощению монохроматического света и фотоколориметрический – анализ по поглощению полихроматического (немонохроматического) света в видимой области спектра. Оба метода основаны на пропорциональной зависимости между светопоглощением и концентрацией поглощающего вещества.

**Спектр поглощения**, представляет собой зависимость количества поглощенного света от длины волны. Длина волны, при которой наблюдается максимальное поглощение света, обозначается через  $\lambda_{\text{макс}}$ . Положение максимума спектра поглощения является важной оптической характеристикой вещества, а характер и вид спектра поглощения характеризуют его качественную индивидуальность. Группа в молекуле, которая дает вклад в спектр ее поглощения, называется *хромофором*. В молекуле альбумина находится триптофан с полосой поглощения при 280 нм.

При прохождении через слой вещества (раствора) светового потока с интенсивностью  $I_0$  его интенсивность в результате поглощения в слое, отражения и рассеяния уменьшается до значения  $I$ . Интенсивности падающего светового потока  $I_0$  и светового потока  $I$ , прошедшего через раствор, можно определить экспериментально. Связь между интенсивностями световых потоков  $I_0$  и  $I$  устанавливается законом Бугера-Ламберта, согласно которому однородные слои одного и того же вещества одинаковой толщины поглощают одну и ту же долю падающей на них световой энергии (при постоянной концентрации растворенного вещества).

Отношение  $T = I/I_0$  называют *пропусканием*, где  $T$  – коэффициентом пропускания, выражают в процентах.

Поглощение излучения характеризуют *оптической плотностью*:

$$D = \lg(I_0/I) = -\lg T, \quad (2)$$

Связь между концентрацией поглощающего раствора и его оптической плотностью  $\lg(I_0/I)$  выражается законом Бера, согласно которому оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации растворенного вещества ( $C$ ) при постоянной толщине слоя и равна  $\lg(I_0/I) = kC$ , (3)

Зависимость интенсивности монохроматического светового потока, прошедшего через слой окрашенного раствора, от интенсивности падающего потока света, концентрации окрашенного вещества и толщины слоя раствора определяется объединенным *законом Бугера-Ламберта-Бера*, который является

основным законом светопоглощения и лежит в основе большинства фотометрических методов анализа:

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon C l}, \quad (4),$$

где  $\varepsilon$  – *молярный* коэффициент светопоглощения, зависящий от природы растворенного вещества, температуры, растворителя и длины волны света; концентрация  $C$  выражена в молях на литр.

При соблюдении основного закона светопоглощения оптическая плотность раствора прямо пропорциональна молярному коэффициенту светопоглощения, концентрации поглощающего вещества и толщине слоя раствора:

$$D = \varepsilon \cdot C \cdot l, \quad (5).$$

При графическом изображении зависимости оптической плотности от концентрации (при постоянном значении  $l$ ) получается прямая линия, которая проходит через начало координат.

Для фотометрических измерений используют две большие группы приборов – фотокolorиметры и спектрофотометры.

### **Спектрофотометры.**

Современные спектрофотометры позволяют работать с высокомонохроматизированным потоком излучения. Они применяются для концентрационного анализа и при изучении спектров поглощения веществ.

**Устройство и принцип действия спектрофотометра.** Структурную схему спектрофотометра можно представить в виде следующих основных блоков: источник света, монохроматор, кюветное отделение, фотоэлемент, регистрирующее устройство. Световой пучок от источника света попадает в монохроматор через входную щель и разлагается дифракционной решеткой или призмой в спектр. Поток излучения, поступает из выходной щели в кюветное отделение, куда поочередно вводятся контрольный и исследуемый образцы. Излучение, прошедшее через кювету, попадает на фотоэлемент, который преобразует световую энергию в электрическую.

**Монохроматоры.** Монохроматор – это оптическая система, выделяющая из всего спектра источника света излучение определенной длины волны. Это обычно призмы, по-разному преломляющие свет разных длин волн, или дифракционные решетки.

**Кюветы.** Исследуемое вещество растворяют в соответствующем растворе и помещают в оптически прозрачный сосуд для измерений – *кювету*. Поскольку стекло поглощает ультрафиолетовый свет, для проведения измерений в ультрафиолетовой области спектра используют кварцевые кюветы. Для измерений в видимой области можно использовать пластиковые или стеклянные кюветы. При работе с летучими или химически-активными веществами кюветы закрывают крышками. Содержимое кюветы должно быть однородным – это необходимое условие для получения воспроизводимых данных. Нужно следить за тем, чтобы раствор не был мутным. Если кюветы загрязнены посторонними примесями, их следует промыть дистиллированной водой или растворителем, в котором растворено исследуемое вещество. Кюветы нужно заполнять до такого уровня, чтобы поток излучения проходил

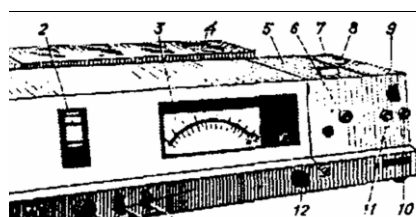
целиком через слой раствора. Чаще всего используются кюветы с оптическим путем 1 см, в которые обычно заливают 2,5–3 мл раствора.

**Фотоэлементы.** Фотоэлементы преобразовывают световую энергию в электрическую. Электрический сигнал затем усиливается и регистрируется.

**Ширина щели.** От размера щели зависит диапазон длин волн света, падающего на образец. Поэтому для получения надежных результатов необходимо работать при минимально узкой для данных условий эксперимента щели.

### Спектрофотометр СФ-26

Спектрофотометр СФ-26 предназначен для измерения пропускания и оптической плотности жидких и твердых веществ в области 186–1100 нм. Основная абсолютная погрешность измерения не более 1%.



**Рис. 16. Внешний вид спектрофотометра СФ-26**

1- монохроматор, 2- шкала длин волн, 3 - измерительный прибор, 4 - осветитель с источником излучения и стабилизатором, 5- кюветное отделение, 6- рукоятка перемещения каретки с кюветами, 7- камера с фотоприемниками и усилителем, 8 -рукоятка переключения фотоэлементов, 9 - рукоятка установки чувствительности, 10- рукоятка установки на «0», 11- рукоятка шторки, 12 - рукоятка регулировки ширины щели, 13 - рукоятка «Отсчет», 14 - рукоятка компенсации, 15 – рукоятка шкалы длин волн.

### Фотоэлектроколориметры.

Фотоэлектроколориметр – это оптический прибор, в котором спектральные диапазоны выделяются при помощи светофильтров, ограничивающих участки спектра, в которых могут проводиться измерения.

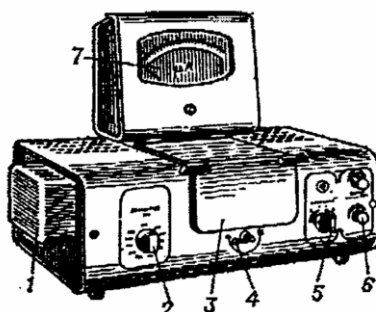
#### Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2.

Однолучевой фотоколориметр КФК-2 предназначен для измерения пропускания, оптической плотности и концентрации окрашенных растворов, рассеивающих взвесей, эмульсий и коллоидных растворов в области спектра 315–980 нм. Весь спектральный диапазон разбит на спектральные интервалы, выделяемые с помощью светофильтров. Основная абсолютная погрешность измерения пропускания не более 1%.

**Светофильтры.** Для того чтобы из всей видимой области спектра выделить лучи определенных длин волн в фотоколориметрах на пути световых потоков перед поглощающими растворами устанавливают избирательные поглотители света –светофильтры. При выборе светофильтра следует

ориентироваться на интервал длин волн поглощенного излучения (нм) и на цвет поглощенного излучения:

- 400-450 нм - фиолетовый желто-зеленый;
- 450-480нм - синий желтый;
- 400-550нм - сине-зеленый оранжевый;
- 500-560нм - зеленый красно-пурпурный;
- 400-610нм - сине-зелено-желтый красный;
- 450-650 нм - зелено-желто-красный пурпурный;
- 625-750нм - красный сине-зеленый



**Рис.17. Общий вид КФК-2.**

1- осветитель, 2- рукоятка ввода цветных светофильтров, 3- кюветное отделение, 4- рукоятка перемещения кювет, 5- рукоятка (ввода фотоприемников в световой поток) «Чувствительность», 6- рукоятка настройки прибора на 100%-е пропускание, 7 - микроамперметр.

### **Фотометрические методы**

Фотометрические методы определения концентрации растворов основаны на сравнении поглощения при пропускании света стандартными и исследуемыми растворами. Степень поглощения света фотометрируемым раствором измеряют с помощью фотоколориметров и спектрофотометров. Измерение оптической плотности стандартного и исследуемого окрашенных растворов всегда производят по отношению к раствору сравнения (контрольному раствору). В качестве раствора сравнения можно использовать аликвотную часть исследуемого раствора, содержащего все добавленные компоненты, кроме реагента, образующего с определяемым веществом окрашенное соединение. Если добавляемый реагент и все остальные компоненты раствора сравнения бесцветны то в качестве раствора сравнения можно использовать дистиллированную воду.

### **Метод градуировочного графика**

Для определения содержания вещества методом калибровочного графика готовят серию из 5–8 стандартных растворов разных концентраций, не менее 3



параллельных растворов для каждой точки. Измеряют оптические плотности стандартных растворов относительно растворителя и строят график зависимости  $D = f(C)$ . Полученная калибровочная кривая имеет вид прямой выходящей из начала координат. Экстраполировать калибровочную прямую к значениям оптических плотностей, лежащим выше последней экспериментально полученной точки, не рекомендуется. Периодически (раз в неделю или реже) калибровочную кривую проверяют по 2–3 свежеприготовленным стандартным растворам. Калибровочные графики, построенные с реактивами разных партий, как правило, не совпадают. Поэтому при смене реактивов график необходимо построить заново. График, построенный при работе на одном приборе, нельзя использовать для расчетов результатов, полученных на другом.

Определив оптическую плотность опытного раствора  $D_x$ , находят ее значение на оси ординат, а затем на оси абсцисс – соответствующее ей значение концентрации  $C_x$ . Данный метод применяют при выполнении серийных фотометрических анализов. Он дает хорошие результаты при соблюдении основного закона светопоглощения.

### **Лабораторная работа**

#### **Измерение белка биуретовым реактивом.**

Сульфат меди ( $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$ ) 1,5г и Na-K виннокислый ( $\text{Na}_2\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ) 6г растворяют в 500мл дистиллированной воды. Раствор хорошо перемешивают и сюда добавляют 200мл 10% -го раствора NaOH (свободного от углекислого газа) и 2г KJ – для предотвращения самопроизвольного окисления. Раствор доводят до двух литров и хранят в полиэтиленовой посуде. Пептидная связь взаимодействуя с ионами меди в щелочной среде, образует определенный комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации белка в пробе.

Ход работы. К 0,1 мл суспензии белкового препарата (2-3 мг/мл) добавляют 0,9 мл 2н KOH и 10мг (на кончике пинцета) дезоксихолата натрия для разрушения мембран. После полного растворения белка, добавляют 4 мл биуретового реактива и оставляют при комнатной температуре на 30 минут. В качестве раствора сравнения можно использовать аликвотную часть исследуемого раствора, содержащего все добавленные компоненты, кроме реагента, образующего с определяемым веществом окрашенное соединение. В контрольную пробу добавляли 1мл 2 н KOH +10 мг дезоксихолата + 4 мл биуретового реактива. Колориметрировали при 540 нм в кюветах толщиной 10 мм.

Содержание белка определяли по калибровочной кривой, построенной на основании колориметрирования стандартов бычьего сывороточного альбумина.

#### **Калибровочная кривая.**

Для определения содержания белка методом калибровочного графика готовят серию из 5–8 стандартных растворов разных концентраций, не менее 3 параллельных растворов для каждой точки. Из бычьего сывороточного

альбумина, концентрации 10мг/мл, готовят в стеклянных пробирках 8 стандартных растворов разных концентраций: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7мг/мл. В каждый раствор добавляют 2 н КОН в количестве 0,95; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3 мл соответственно и по 10 мг дезоксихолата натрия. Затем в каждую пробирку добавляют по 4 мл биуретового реактива и оставляют при комнатной температуре на 30 минут. В контрольную пробу добавляют 1мл 2 н КОН + 10 мг дезоксихолата + 4 мл биуретового реактива.

Колориметрируют на фотокolorиметре при 540 нм в стеклянных кюветах толщиной 10 мм. Измеряют оптические плотности стандартных растворов относительно контрольной пробы строят график зависимости  $D = f(C)$ . Полученная калибровочная кривая имеет вид прямой выходящей из начала координат. Периодически (раз в неделю или реже) калибровочную кривую проверяют по 2–3 свежеприготовленным стандартным растворам. Калибровочные графики, построенные с реактивами разных партий, как правило, не совпадают. Поэтому при смене реактивов график необходимо построить заново. График, построенный при работе на одном приборе, нельзя использовать для расчетов результатов, полученных на другом.

Определив оптическую плотность опытного раствора ( $D_x$ ), находят ее значение на оси ординат, а затем на оси абсцисс – соответствующее ей значение концентрации ( $C_x$ ). Данный метод применяют при выполнении серийных фотометрических анализов. Он дает хорошие результаты при соблюдении основного закона светопоглощения.

### **Использованная литература**

1. Биофизика (практикум). Под редакцией Н.Г.Богача. - Киев, Высшая школа, 1983.
2. Биофизические методы исследования. Под редакцией Ф.Юбера. -М, 1956.
3. Бурлакова Б.В., Вепренцев Б.Н., Коле О.Р., Крюгер Ю.А. Практикум по общей биофизике. -М., Высшая школа, 1961.

### **САМОСТОЯТЕЛЬНЫЕ РАБОТЫ**

Студентам рекомендуется следующие формы изучения при подготовке самостоятельной работы на основе специфики предмета.

- \* изучить предмет из учебников и учебных пособий;
- \* разработка раздаточных отчетов;
- \* работа с компьютерными технологиями систем;
- \* подготовка рефератов и рефератов по специальной литературе;
- \* литература, связанная с исследовательской работой студентов, углубленное изучение монографий и научных сборников;
- \* активное участие в интерактивном и проблемном обучении;
- \* участие в организации дистанционного обучения.

### Предлагаемые темы для самостоятельного обучения:

1. Кинетика простых ферментативных процессов. Уравнение Михаэлиса и его модифицированные формы.
2. Математические модели в экологии.
3. Синергетика, автовибрационные процессы.
4. Термодинамика нелинейных процессов.
5. Неактивные и контрактные процессы.
6. Мышечные сокращения аппаратных белков.
7. Процесс сокращения поперечных мышц позвонков у позвоночных. Модель скользящих ниток.
8. Двухслойные липидные мембраны. Одно- и двухслойные искусственные мембраны, индуцированные ионы.
9. Движущиеся носители, ионофоры и каналные генераторы.
10. Рецепторные клетки, их строение и функции. Прием внешних органов чувств.
11. Фотосинтез, строение клеток зрения.
12. Фоторецептор - это молекулярная структура клеточных мембран.
13. Химиотерапия.
14. Назначение гормонов и медиаторов.
15. Фармакологические процессы.
16. Загрязнение. Воздействие пестицидов, тяжелых металлов, отработанных газов и лекарств на организм.

### ГЛОССАРИЙ

1	<b>Биофизика</b>	наука о наиболее простых и фундаментальных взаимодействиях, лежащих в основе биологических процессов.
2	<b>Термодинамика биологических процессов</b>	это раздел биофизики, изучающий общие закономерности превращения энергии.
3	<b>Термодинамическая система</b>	часть пространства с материальным содержимым, ограниченная поверхностью раздела (стенка сосуда, где идет реакция, или мембрана клетки).
4	<b>Изолированные системы</b>	системы, не обменивающиеся с окружающей средой ни веществом, ни энергией.
5	<b>Сосуд Дьюара</b>	колба с двойными посеребренными стенками, из пространства между которыми выкачан воздух
6	<b>Закрытые системы</b>	системы, обменивающиеся через свои границы энергией с окружающей средой, но непроницаемые для веществ
7	<b>Открытые системы</b>	системы, в которых осуществляется обмен, как

		веществом, так и энергией
8	<b>Интенсивные параметры</b>	параметры, которые не зависят от массы (температура, давление)
9	<b>Экстенсивные параметры</b>	параметры, зависящие от общего количества вещества в системе и изменяющиеся пропорционально массе отдельных компонентов системы (объем, число молей в системе)
10	<b>Термодинамический процесс</b>	совокупность изменяющихся состояний в системе называется. Обратимые термодинамические процессы – процессы, при которых возвращение системы в первоначальное состояние не требует затрат энергии извне и связанных с этим изменений в окружающей среде. При обратимых процессах не происходит рассеивания энергии в виде теплоты.
11	<b>Необратимые термодинамические процессы</b>	– процессы, при которых возвращение системы в исходное состояние возможно лишь при условии затрат внешней энергии, что влечет за собой определенные изменения в окружающей среде
12	<b>Энергия</b>	количественная мера определенного вида движения материи при ее превращениях (Дж).
13	<b>Внутренняя энергия системы</b>	ее общий запас, обусловленный всеми видами движений и взаимодействий составляющих ее молекул, атомов, ионов, элементарных частиц
14	<b>Работа</b>	любая макрофизическая форма передачи энергии
15	<b>Термодинамическое равновесие</b>	это состояние системы, при котором ее параметры не изменяются и она не обменивается с окружающей средой ни веществом, ни энергией.
16	<b>Первичная теплота (основная)</b>	это результат неизбежного рассеивания энергии в ходе реакций диссимиляции из-за необратимо протекающих биохимических реакций. Первичная теплота выделяется сразу же после поглощения организмом кислорода и продуктов питания независимо от того, совершает он работу или нет.
17	<b>Вторичная теплота (активная)</b>	выделение наблюдается лишь при реализации энергии макроэргических соединений (АТФ, ГТФ) в ходе обменных реакций или процессов жизнедеятельности (мышечное сокращение).
18	<b>Удельная</b>	количество теплоты, выделяемое единицей

	<b>теплопродукция</b>	массы животного в единицу времени: $g=QT//\mu_T$
19	<b>Энтальпия</b>	это сумма внутренней энергии системы и произведения объема и давления: $H = U + P \cdot V$
20	<b>Первое начало термодинамики</b>	Количество теплоты, полученное системой, идет на изменение ее внутренней энергии и совершение работы против внешних сил
21	<b>Второе начало термодинамики</b>	С.Карно: "Коэффициент полезного действия всех обратимых тепловых машин одинаков и не зависит от рода работающего тела, а только от интервала предельных температур, в котором работает машина". Р.Клаузиус: "Теплота не может переходить сама собой от более холодного тела к более теплему"
22	<b>Энтропия</b>	это мера неупорядоченности или вероятности состояния системы (Дж/моль* К).
23	<b>Стационарное состояние системы</b>	такое состояние системы, при котором ее параметры не изменяются в течение длительного времени, но происходит обмен веществом и энергией с окружающей средой. В стационарном состоянии открытой системы концентрация промежуточных продуктов не изменяется со временем, что достигается определенным соотношением различных физико-химических процессов, ответственных за распад и образование промежуточных соединений.
24	<b>Гомогенные химические реакции</b>	реакции, протекающие с одинаковой скоростью в любом элементарном объеме данной фазы
25	<b>Гетерогенные химические реакции</b>	реакции, протекающие на границе раздела фаз, и скорость их определяется скоростью подачи реагирующих веществ на поверхности раздела фаз.
26	<b>Гомогенные катализаторы</b>	ферменты, растворенные в реакционной смеси и осуществляющие биохимические реакции
27	<b>Кинетика реакции</b>	зависимость скорости реакции от концентрации реагирующих веществ, температуры и других параметров
28	<b>Молекулярность реакции</b>	число молекул, реагирующих друг с другом в данной реакции
29	<b>Простейшая реакция</b>	реакция первого порядка; ее скорость пропорциональна концентрации только одного вещества

30	<b>Реакции нулевого порядка</b>	характеризуются тем, что скорость в пределах времени наблюдения остается постоянной и не зависит от концентрации реагента
31	<b>Последовательные реакции</b>	реакции, при которых продукт одной из реакций является исходным веществом для другой
32	<b>Сопряженная реакция</b>	реакция происходящая при одновременном протекании другой реакции
33	<b>Тандемная реакция</b>	реакция сопряженная с одновременно протекающими другими реакциями, характеризующимися отрицательными изменениями свободной энергии
34	<b>Цепная реакция</b>	это самоподдерживающаяся химическая реакция, при которой первоначально появляющиеся продукты принимают участие в образовании новых. Эти реакции протекают с большой скоростью и нередко имеют характер взрыва. Цепные реакции проходят три главных стадии: зарождения, развития и обрыва цепи.
35	<b>Циклическая реакция</b>	простейшей формой циклической системы служит ферментативная реакция, в которой фермент многократно проходит через свободную и связанную формы.
36	<b>Аутокаталитические процессы</b>	химические процессы, в которых роль катализатора выполняют конечные продукты реакции
37	<b>Параллельные реакции</b>	совместно протекающие реакции, в которых, по крайней мере, одно исходное вещество этих реакций является общим
38	<b>Правило Вант-Гоффа</b>	при повышении температуры на 10°C скорость гомогенной химической реакции увеличивается в 2-4 раза
39	<b>Энергия активации</b>	это энергетический барьер, который преодолевают молекулы для осуществления реакции
40	<b>Катализ</b>	изменение скорости химической реакции в присутствии веществ (катализаторов), которые, будучи введенными в реакционную систему, взаимодействуют с участниками реакций, оставаясь при этом в химически неизменном виде
41	<b>Гомогенный катализ</b>	катализатор и реагирующее вещество образуют одну однородную систему
42	<b>Гетерогенный катализ</b>	катализатор и реагирующие вещества находятся в разных фазах

43	<b>Микрогетерогенный катализ</b>	катализатор находится в высококоллоидном или высокомолекулярном состоянии
44	<b>Кинетика ферментативного катализа</b>	это учение о скоростях и механизмах ферментативных реакций
45	<b>Необратимые ингибиторы</b>	ингибиторы, химически модифицирующие важные для проявления активности функциональные группы молекулы фермента
46	<b>Конкурентный ингибитор</b>	первый тип обратимого ингибитора. Ингибитор конкурирует с субстратом за связывание с активным центром, по своей структуре напоминает субстрат данного фермента. Но Неконкурентный ингибитор – как правило, не имеет сходства с субстратом и может обратимо связываться как со свободным ферментом, так и с фермент-субстратным комплексом
47	<b>Активаторы</b>	вещества, которые способны увеличивать скорость ферментативной реакции. Активаторы делят на конкурентные, неконкурентные, бесконкурентные, смешанные
48	<b>Либераторы</b>	вещества, взаимодействующие с ферментом, способные подавлять действие ингибиторов или активаторов путем освобождения фермента от ингибитора и активатора
49	<b>Ингибиторы</b>	соединения, уменьшающие скорость ферментативной реакции
50	<b>Молекулярная биофизика</b>	наука, изучающая структуру биологически важных макромолекул и физические процессы, лежащие в основе их функционирования
51	<b>Первичная структура макромолекулы</b>	последовательность звеньев в цепи биополимера, связанных прочными ковалентными связями
52	<b>Вторичная структура макромолекулы</b>	локальное упорядочивание отдельных участков полимерной цепи
53	<b>Третичная структура макромолекулы</b>	пространственная укладка всей цепи
54	<b>Четвертичная структура макромолекул</b>	пространственное расположение нескольких компактно организованных полимерных цепей с образованием надмолекулярного комплекса
55	<b>Конформация макромолекулы</b>	это способ укладки полимерной цепи (без разрыва ковалентных связей) за счет образования большого количества слабых

		связей, в результате чего создается наиболее термодинамически выгодная и стабильная пространственная структура макромолекулы.
56	<b>Ван-дер-ваальсовы взаимодействия</b>	очень короткодействующие взаимодействия между группами, которые включают дисперсионные и дипольные взаимодействия.
57	<b>Дисперсионные взаимодействия</b>	взаимодействия, проявляющиеся между нейтральными или неполярными группами
58	<b>Взаимодействия диполь-дипольного типа</b>	происходят между полярными группами с постоянными дипольными моментами $\mu_1$ и $\mu_2$ .
59	<b>Диффузия</b>	это перемещение молекул из области с высокой концентрацией в область с низкой концентрацией при отсутствии движущей силы, т. е. в результате беспорядочного, хаотического движения.
60	<b>Седиментация</b>	это осаждение частиц в жидкости под действием силы тяжести
61	<b>Электрофорез</b>	движение частиц в жидкой фазе под действием электрического поля
62	<b>Спектрополяриметр</b>	спектральный прибор, с высокой точностью регистрирующий спектры ДОВ
63	<b>Дихрограф</b>	прибор, регистрирующий спектры кругового дихроизма
64	<b>Домены</b>	глобулярные, слабо связанные между собой области, составляющие белок
65	<b>Экзоны</b>	это геномные эквиваленты белковых доменов. Кодируют отдельные участки аминокислотных последовательностей
66	<b>Ишпроны</b>	некодирующие участки гена
67	<b>Спектр флуоресценции</b>	зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны испускаемого свет
68	<b>Спектр возбуждения</b>	зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны возбуждающего света. Спектр возбуждения по форме часто совпадает со спектром поглощения вещества
69	<b>Закон Стокса</b>	спектр флуоресценции вещества всегда расположен в более длинноволновой области, чем спектр поглощения
70	<b>Квантовый выход флуоресценции</b>	отношение количества испускаемых квантов к количеству поглощенных квантов
71	<b>Аллостерические центры</b>	центры связывания эффекторов



72	<b>Аллостерические ферменты</b>	ферменты, имеющие аллостерические центры
73	<b>Гиперхромный эффект</b>	явление, связанное с увеличением оптической плотности нуклеиновых кислот
74	<b>Гипохромный эффект</b>	уменьшенное поглощение нативных препаратов ДНК
75	<b>Искусственные мембраны</b>	мембраны, получаемые в эксперименте из смеси липидов.
76	<b>Модифицированные мембраны</b>	мембраны с включением различных веществ, изменяющих их структуру и функции. Для этой цели чаще всего используют белки (антибиотики, ферменты и др.).
77	<b>Матрикс</b>	цитоплазма, внутриклеточное содержимое, за исключением органоидов
78	<b>Биоэлектрогенез мембран</b>	способность мембран реализовывать процессы, приводящие к возникновению разности электрических потенциалов по обе ее стороны, чаще всего между наружной средой и содержимым мембраны.
79	<b>Проницаемость мембран</b>	способность мембран пропускать атомы, ионы, молекулы, как в прямом, так и в обратном направлениях.
80	<b>Полупроницаемость мембран</b>	способность мембран пропускать в прямом и обратном направлениях одни ионы, молекулы, частицы и не пропускать другие.
81	<b>Селективные мембраны</b>	мембраны, избирательно переносящие одни ионы, молекулы и не пропускающие другие
82	<b>Транспорт веществ активный</b>	перенос веществ через мембрану против градиентов с затратой энергии АТФ при участии специальных молекулярных структур - приводит к возрастанию величины локальной свободной энергии за счет расходования энергии АТФ.
83	<b>Транспорт веществ пассивный</b>	перенос через мембрану веществ по градиенту, главным образом за счет механизма диффузии и осмоса; идет за счет уменьшения свободной локальной энергии.
84	<b>Унипорт</b>	транспорт ионов или молекул через мембрану независимо от транспорта других соединений, например молекул газов, воды.
85	<b>Симпорт</b>	одновременный и однонаправленный перенос ионов или молекул двух различных веществ, например перенос ионов натрия и глюкозы через мембрану клеток эпителия тонкой кишки
86	<b>Антипорт</b>	одновременный транспорт ионов или молекул

		вещества через мембрану в противоположных направлениях
87	<b>Котранспорт</b>	взаимозависимый транспорт ионов или молекул веществ через мембрану. К котранспорту относят симпорт и анти-порт.
88	<b>Каналы</b>	образования белковой природы (чаще всего крупные молекулы белка), имеющие центральную полость для прохождения преимущественно ионов одного вида ( $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{H}^+$ ) и механизмов, обеспечивающих их открытие и закрытие.
89	<b>Переносчики</b>	молекулы веществ, осуществляющие транспорт ионов или молекул в результате временного взаимодействия их с веществом. На роль переносчиков претендуют ионофоры, сialовые кислоты, белки.
90	<b>Насосы</b>	мембранные АТФазы, специализирующиеся на противогradientном переносе ионов $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{H}^+$ за счет энергии гидролиза АТФ. Активный транспорт требует специальных ферментов-АТФаз, утилизирующих энергию гидролиза АТФ для совершения работы по переносу атомов или молекул веществ чаще всего против электрохимического gradientа.
91	<b>Электропроводность биологических систем</b>	это количественная характеристика способности биомембран, клеток, тканей проводить электрический ток. Электропроводность обратно пропорциональна величине электрического сопротивления системы.
92	<b>Электронная поляризация</b>	смещение электронных орбит атомов относительно положительно заряженных ядер под действием приложенного электрического поля
93	<b>Ионная поляризация</b>	смещение иона в кристаллической решетке с возникновением ЭДС обратного приложенному направления.
94	<b>Дипольная (ориентационная) поляризация</b>	<b>Дипольная (ориентационная) поляризация</b> свойственна полярным молекулам
95	<b>Макроструктурная поляризация</b>	<b>Макроструктурная поляризация</b> зависит от неоднородности электрических свойств проводящей среды и связана с чередованием слоев высокой и низкой проводимости и

		накоплением свободных зарядов на границе слоев с низкой проводимостью
96	<b>Поверхностная поляризация</b>	<b>Поверхностная поляризация</b> свойственна поверхности с двойным электрическим слоем.
97	<b>Электролитическая поляризация</b>	<b>Электролитическая поляризация</b> означает изменение концентрации зарядов в приэлектродном слое
98	<b>Дисперсия электропроводности</b>	зависимость импеданса или емкостного сопротивления от частоты.
100	<b>Квантовая биофизика</b>	раздел биофизики, изучающий электронную структуру биологически важных молекул (преимущественно макромолекул), электронные переходы в этих молекулах и пути превращения энергии возбужденного состояния молекул в энергию их продуктов.
101	<b>Биофизика фотобиологических процессов</b>	раздел биофизики, изучающий закономерности и механизмы действия оптического излучения на биологические системы различной сложности организации. Под оптическим понимают ультрафиолетовое, видимое и инфракрасное излучения
102	<b>Внутренняя конверсия</b>	физическое явление, заключающееся в том, что переход атомного ядра из возбуждённого изомерного состояния в состояние с меньшей энергией (или основное состояние) осуществляется путём передачи высвобождаемой при переходе энергии непосредственно одному из электронов этого атома
103	<b>Люминесценция</b>	излучательные переходы в молекуле (флуоресценция и фосфоресценция).
104	<b>Люминофоры</b>	твёрдые и жидкие вещества, которые люминесцируют под действием различного рода возбуждений
105	<b>Поляризационные спектры флуоресценции</b>	зависимость степени поляризации флуоресценции объекта от длины волны возбуждающего света
106	<b>Фосфоресценция</b>	высвечивание кванта света молекулами, находящимися в триплетном возбужденном состоянии
107	<b>Хемилюминесценция</b>	разновидность люминесценции, в случае которой, кванты света испускают продукты

		реакции или другие компоненты, возбуждаемые вследствие переноса энергии к ним от продуктов реакции
108	<b>Биолюминесценция</b>	холодное свечение ряда живых организмов, начиная с бактерий и кончая рыбами
109	<b>Фотофоры</b>	специальные органы для биолюминесценции
110	<b>Миграция энергии</b>	это самопроизвольная безызлучательная передача энергии от одной частицы (атома, молекулы) к другой на расстояния, значительно превышающие межатомные, происходящая без растраты на тепловые колебания и без кинетических соударений донора и акцептора энергии
111	<b>Экситон</b>	квазичастица, представляющая собой электронное возбуждение в диэлектрике или полупроводнике, мигрирующее по кристаллу и не связанное с переносом электрического заряда и массы.
112	<b>Спектр отражения</b>	кривые зависимости отражательной способности тел от длины волны измерения
113	<b>Свободные радикалы</b>	кинетически независимые частицы, характеризующиеся наличием неспаренных электронов
114	<b>Импульсный фотолиз (флеш-фотолиз)</b>	один из спектральных методов исследования биосистем, который наряду с методами электронного парамагнитного резонанса и ядерного магнитного резонанса дает непосредственную информацию о сущности первичных быстропротекающих фото процессов.
115	<b>Лазерная спектроскопия</b>	раздел оптической спектроскопии, методы которой основаны на использовании лазерного излучения
116	<b>Гамма-резонансная (мессбауэровская) спектроскопия</b>	раздел спектроскопии, основанный на эффекте Мессбауэра, состоящем в резонансном поглощении атомным ядром монохроматического $\gamma$ -излучения, испускаемого радиоактивным атомом
117	<b>Дихроизм</b>	различная окраска одноосных кристаллов, обладающих двойным лучепреломлением, в проходящем свете при взаимноперпендикулярных направлениях наблюдения: вдоль оптической оси и перпендикулярной к ней.
118	<b>Дихроизм</b>	неодинаковость поглощения обыкновенного и

	<b>линейный</b>	необыкновенного лучей в кристаллах
119	<b>Дихроизм круговой (эффект Коттона)</b>	различие поглощения для света правой и левой круговых поляризаций
120	<b>Радиобиология</b>	наука, изучающая закономерности и механизмы действия ионизирующих излучений на биологические системы различной сложности организации
121	<b>Ионизирующее излучение</b>	излучение, способное вызывать ионизацию атомов и молекул в облучаемом веществе.
122	<b>Ионизация</b>	поглощение энергии атомом или молекулой при взаимодействии излучения с веществом, при этом электрон покидает электронную орбиту
123	<b>Радиоактивные изотопы (радионуклиды)</b>	одна из форм существования элементов, различающихся по атомному весу и содержащих нестабильное ядро, испускающее ионизирующее излучение
124	<b>Естественная радиоактивность</b>	самопроизвольный распад ядер элементов, встречающихся в природе
125	<b>Искусственная радиоактивность</b>	самопроизвольный распад ядер элементов, полученных искусственным путем через соответствующие ядерные реакции
126	<b>Экспозиционная доза</b>	количество падающей на объект энергии излучения за некоторое время облучения.
127	<b>Поглощенная доза</b>	средняя энергия (dE), переданная излучением веществу в некотором элементарном объеме, деленную на массу вещества (dm) в этом объеме.
128	<b>Эквивалентная доза</b>	средняя величина поглощённой дозы в том или ином органе или ткани с учетом фактора качества излучения, отражает биологический эффект облучения.
129	<b>Рентгеновское излучение</b>	электромагнитные волны, энергия фотонов которых лежит на энергетической шкале между ультрафиолетовым излучением и гамма-излучением
130	<b>Тормозное излучение</b>	электромагнитное излучение, испускаемое заряженной частицей при её рассеянии (торможении) в электрическом поле.
131	<b>Упругое рассеяние</b>	изменение направления движения, но не энергии частиц
132	<b>Радиорезистентные ткани</b>	ткани с дифференцированными и слабо или вообще не делящимися клетками
133	<b>Радиочувствительн</b>	ткани с малодифференцированными и активно

	<b>ые ткани</b>	делящимися клетками
134	<b>Радиопротекторы</b>	вещества, повышающие устойчивость организма к воздействию ионизирующих излучений. К ним относятся соединения, оказывающие противолучевое действие при введении за несколько минут или часов до облучения
135	<b>Кислородный эффект</b>	явление зависимости тяжести лучевого поражения от содержания кислорода в окружающей клетки среде

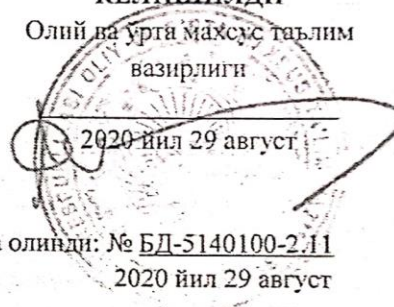
# ПРИЛОЖЕНИЯ

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ  
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ



“КЕЛИШИЛДИ”  
Олий ва ўрта махсус таълим  
вазирлиги



Рўйхатга олинди: № БД-5140100-2.11  
2020 йил 29 август

БИОФИЗИКА

ФАН ДАСТУРИ

Билим соҳаси:	100000 – Гуманитар соҳа
Таълим соҳаси:	140000 – Табiiй фанлар
Таълим йўналиши:	5140100 – Биология (турларни бўйича)

Тошкент-2020



Фан/модуль коди BIFB308		Ўқув йили 2022-2023	Семестр 6	ECTS - Кредитлар 8	
Фан/модуль тури Мажбурий		Таълим тили Ўзбек/рус		Хафтадаги дарс соатлари 8	
1.	Фаннинг номи	Аудитория машгулотлари (соат)		Мустақил таълим (соат)	Жами юклама (соат)
	Биофизика	90		150	240
2.	<b>I. Фаннинг мазмуни</b>  Фанни ўқитишдан мақсад – Биофизиканинг асосий назарий таълими ва замонавий биофизик таълимнинг усуллари ва асослари билан таълимни ўзлаштиришдан иборат. Фаннинг вазифаси – Хужайра биомолекулаларининг кимёвий табиати, функцияларини, биомолекулаларни метаболизмдаги ўрни, хужайрада энергияни ҳосил бўлиши ҳамда сарфланишини, биологик молекулалар миқдорини ўрганишнинг фундаментал усуллари ҳақида билимларга эга бўлиш.  <b>II. Асосий назарий қисм (маъруза машгулотлари)</b> <b>II.1. Фан таркибига қўйилган мавзулар қиради:</b> <b>1-мавзу. “Биофизика” фанига муқаддимма.</b> Биофизиканинг предмети, вазифалари. Биофизиканинг биологик фанлар орасида тутган ўрни ва бошқа фан соҳалари билан алоқаси, Биофизиканинг методлари, Ўзбекистонда биофизик таълимнинг ривожланиши. <b>2-мавзу. Биологик жараёнлар термодинамикаси.</b> Кимёвий термодинамика асослари, термодинамиканинг қонунлари. Термодинамик потенциаллари. Чизикли жараёнлар термодинамикаси. Чизикли жараёнлар. Онзагер коэффициенти бирлиги. Очиқ системанинг энтропиясининг Пригожин теоремаси. <b>3-мавзу. Чизикли эмас жараёнлар термодинамикаси, мувозанатдан узоқдаги системалар стационар ҳолати.</b> Чизикли эмас жараёнлар термодинамикаси, мувозанатдан узоқдаги системалар стационар ҳолати. Синергетика концепцияси.				

#### **4-мавзу. Биологик жараёнлар кинетикаси.**

Кимёвий кинетика асослари. Биологик жараёнларни математик моделлаш. Динамик тизимларнинг дифференциал тенгламалари. Динамик тизимлардаги математик моделларнинг геометрик ечими – динамик тизимнинг фазовий кўриниши. Ферхюлст ва Волтерра моделлари. Биологик тригерлар. Биологиядаги тебранма жараёнлар. Автотебранмали жараёнлар.

#### **5-мавзу. Молекуляр биофизика асослари.**

Макромолекулаларнинг фазовий структураси ва структура шаклланишида ишти-рок этувчи боғлар ва улардаги таъсирланувчи кучлар. (Вандервалс кучлар, электростатик, гидрофоб таъсирланиш, водород боғлар). Макромолекулалар фаолияти, лигандлар, кооперативлик хоссаси ва Хилл графиги (миоглобин, гемоглобин мисолида). Молекуляр биофизика усуллари: хроматография, электрофорез, осмометрия, вискозиметрия, доиравий диҳоризм, рентгеноструктур анализ, ЯМР, электронмикроскопия, флуориметрия.

#### **6-мавзу. Квант биофизикаси элементлари.**

Биополимерларнинг электрон қобиғи, молекуляр қобиғи, биополимерларнинг электрон хусусиятлари. Ютиш ва таъсир спектрлари. Молекулаларнинг синглет ва триплет ҳолатлари. Энергиянинг узатилиши ва миграцияланиш (индуктив резонанс, алмашиш резонанс, экситон, туннел эффекти) механизмлари. Эркин радикаллар, хоссалари ва жараёнлар.

#### **7-мавзу. Биологик мембраналарнинг тузилиши ва функцияси.**

Хужайра мем-бранасининг тузилишининг тузилиш асослари. Мембрана липидлари ва оксиллари. Биологик мембраналар тузилишига доир ҳозирги замон тасаввурлари. Табiiй мембрананинг физик хоссаси – агрегат тузилиши, фазсвий ўтишлар, кавушқоклик ва электр заряди. Модел мембраналар.

#### **8-мавзу. Моддаларнинг мембрана оркали ташилиши.**

##### **Ионларнинг пассив транспорти.**

Нозлектролитлар транспорти. Оддий ва енгиллашган диффузия. Электролитларнинг ионларнинг мембрана оркали ташилиши. Электрокимёвий потенциал.

#### **9-мавзу. Моддаларнинг мембрана оркали ташилиши.**

##### **Ионларнинг актив транспорти.**

Ионларнинг актив транспорти. Аминокислоталар ва кандлар. Моддалар транспортининг регуляцияси.

#### **10-мавзу. Биозлектрогенез. Мембрана (тинчлик) потенциалли.**

Модел системалардаги юзага келадиган электр потенциаллар фарқи -диффузион, фазалараро ва Доннан потенциаллари. Мембрана (тинчлик) потенциалли. Мембрана потенциаллини тасвирловчи Голдман-Ходжкин тенгламаси..

### 11-мавзу. Ҳаракат потенциал. Синапслар ва синаптик жараёнлари.

Ҳаракат потенциаллари. Ион каналлари. Ионофорлар ва каналоформерлар асосида таъсирланиши. Ҳаракат потенциалининг узатилиши. Нерв толасининг кабел хоссалари. Нерв импульсининг миёнлисини ва миёнлини толалар орқали ташилиши. Синапслар ва синаптик жараёнлари.

### 12-мавзу. Электрўтказувчанлик.

Мембрана сирт юзасидаги электростатик потенциал. Қутбланиш ҳодисаси. Электрўтказувчанлик ва унинг дисперсияланиши. Электрўтказувчанлик структура асослари. Хужайра ва тўқималар электрўтказувчанлиги. Хужайра импеданси.

### 13-мавзу. Ҳаракатнинг мускулли ва мускулсиз формалари.

Мускулли қисқариш биофизикаси. Кальций ионларининг электромеханик жараёнларга боғлиқлиги.  $\text{Ca}^{2+}$  каналларининг хужайра ичидаги структураси. Са-АТФазанинг структураси ва функцияси. Ҳаракатнинг мускулсиз формалари.

### 14-мавзу. Фотобиология муаммолари.

Фотобиология жараёнларининг классификацияси. Бирламчи фотофизикавий ва фотохимий реакциялар. Фотобиология жараёнлар ва энергия трансформацияланиши механизми. Фотодеструктив жараёнлар ва биологик системаларнинг молекуляр механизмлари.

### 15-мавзу. Хужайрага сигнал трансдукция тизимлари ҳақида асосий маълумотлар.

Бирламчи ва иккиламчи мессенжерлар ҳақида тушунча. Рецепторлар, уларнинг типлари. G-оқсиллар. Фосфорилланиш - етук оқсиллар фаоллиги модификацияланиши сифатида. Протеинкиназалар. Фосфатазалар. Хужайра ичида сигналлаштиришда аденилатциклаза тизими. Хужайра ичида сигнал узатилишида фосфатидилинозитид тизими. Физиологик жараёнларини бошқарилишида Са ионларининг иштироки.

### III. Лаборатория ишлари бўйича кўрсатма ва тавсиялар

Лаборатория ишлари учун қуйидаги мавзулар тавсия этилади:

1. Лаборатория тадқиқотларининг умумий қонуниятлари.
2. Очiq система барқарор стационар ҳолатининг энтропияси. Стационар ҳолатни Теоретик моделда аниқлаш.
3. Биологик суюкликларнинг баъзи бир физик хоссалари. Биологик суюкликларнинг сирт таъсирини ўлчаш.
4. Биологик суюкликларнинг баъзи бир физик хоссалари. Сирт актив моддалар ритмларида миқдор ҳосил бўлиши.

#### **4-мавзу. Биологик жараёнлар кинетикаси.**

Кимёвий кинетика асослари. Биологик жараёнларни математик моделлаш. Динамик тизимларнинг дифференциал тенгламалари. Динамик тизимлардаги математик моделларнинг геометрик ечими – динамик тизимнинг фазовий кўриниши. Ферхюлст ва Волтерра моделлари. Биологик триггерлар. Биологиядаги тебранма жараёнлар. Автотетранмали жараёнлар.

#### **5-мавзу. Молекуллар биофизика асослари.**

Макромолекулаларнинг фазовий структураси ва структура шаклланишида иштирок этувчи боғлар ва улардаги таъсирланувчи кучлар. (Вандервалс кучлар, электростатик, гидрофоб таъсирланиш, водород боғлар). Макромолекулалар фаолияти, лигандлар, кооперативлик хоссаи ва Хилл графиги (миоглобин, гемоглобин мисолида). Молекуллар биофизика усуллари: хроматография, электрофорез, осмометрия, вискозиметрия, доиравий дихроизм, рентгеноструктур анализ, ЯМР, электронмикроскопия, флуориметрия.

#### **6-мавзу. Квант биофизикаси элементлари.**

Биополимерларнинг электрон қобиғи, молекуллар қобиғи, биополимерларнинг электрон хусусиятлари. Ютиш ва таъсир спектрлари. Молекулаларнинг синглет ва триплет ҳолатлари. Энергиянинг узатилиши ва миграцияланиш (индуктив резонанс, алмашиш резонанс, экситон, туннел эффекти) механизмлари. Эркин радикаллар, хоссалари ва жараёнлар.

#### **7-мавзу. Биологик мембраналарнинг тузилиши ва функцияси.**

Хужайра мем-бранасининг тузилишининг тузилиш асослари. Мембрана липидлари ва оксиллари. Биологик мембраналар тузилишига доир ҳозирги замон тасаввурлари. Табiiй мембрананинг физик хоссаи – агрегат тузилиши, фазовий ўтишлар, қавушқоқлик ва электр заряди. Модел мембраналар.

#### **8-мавзу. Моддаларнинг мембрана орқали ташилиши.**

##### **Ионларнинг пассив транспорти.**

Нозлектролитлар транспорти. Оддий ва енгиллашган диффузия. Электрлитларнинг ионларнинг мембрана орқали ташилиши. Электрокимёвий потенциал.

#### **9-мавзу. Моддаларнинг мембрана орқали ташилиши.**

##### **Ионларнинг актив транспорти.**

Ионларнинг актив транспорти. Аминокислоталар ва қандлар. Моддалар транспортининг регуляцияси.

#### **10-мавзу. Биоэлектрогенез. Мембрана (тинчлик) потенциалли.**

Модел системалардаги юзага келадиган электр потенциаллар фарқи -диффузион, фазалараро ва Доннан потенциаллари. Мембрана (тинчлик) потенциалли. Мембрана потенциаллини тасвирловчи Голдман-Ходжкин тенгламаси..

**11-мавзу. Ҳаракат потенциал. Синапслар ва синаптик жараёнлари.**

Ҳаракат потенциали. Ион каналлари. Ионофорлар ва каналоформер-лар асосида тасвирланиши. Ҳаракат потенциалининг узатилиши. Нерв толасининг кабел хоссалари. Нерв импульсининг миенлинсиз ва миенлинли толалар орқали ташилиши. Синапслар ва синаптик жараёнлари.

**12-мавзу. Электрўтказувчанлик.**

Мембрана сирт юзасидаги электростатик потенциал. Кутбланиш ҳодисаси. Электрўтказувчанлик ва унинг дисперсияланиши. Электрўт-казувчанлик структура асослари. Хужайра ва тўкималар электрўтка-зувчанлиги. Хужайра импеданси.

**13-мавзу. Ҳаракатнинг мускулли ва мускулсиз формалари.**

Мускулли қисқариш биофизикаси. Кальций ионларининг электромеханик жараёнларга боғлиқлиги.  $\text{Ca}^{2+}$  каналларининг хужайра ичидаги структураси. Са-АТФазанинг структураси ва функцияси. Ҳаракатнинг мускулсиз формалари.

**14-мавзу. Фотобиология муаммолари.**

Фотобиология жараёнларини классификацияси. Бирламчи фото-физикавий ва фотохимёвий реакциялар. Фотобиология жараёнлар ва энергия трансформацияланиши механизми. Фотодеструктив жараёнлар ва биологик системаларнинг молекуляр механизмлари.

**15-мавзу. Хужайрага сигнал трансдукция тизимлари ҳақида асосий маълумотлар.**

Бирламчи ва иккиламчи мессенжерлар ҳақида тушунча. Ресепторлар, уларнинг типлари. G-оксиллар. Фосфорилланиш - етук оксиллар фаоллиги модификацияланиши сифатида. Протеинкиназалар. Фосфатазалар. Хужайраи чи сигналлаштиришда аденилатциклаза тизими. Хужайра ичи га сигнал узатилиши да фосфатидилинозитид тизими. Физиологик жараёнларни бошқарилиши да Са ионларининг иштироки.

**III. Лаборатория ишлари буйича кўрсатма ва тавсиялар**

Лаборатория ишлари учун қуйидаги мавзулар тавсия этилади:

1. Лаборатория тадқиқоларининг умумий қонуниятлари.
2. Очиқ система барқарор стационар ҳолатининг энтропияси. Стационар ҳолатни Теорелл моделида аниқлаш.
3. Биологик суюқликларнинг баъзи бир физик хоссалари. Биологик суюқликларнинг сирт таранглигини ўлчаш.
4. Биологик суюқликларнинг баъзи бир физик хоссалари. Сирт актив моддалар эритмаларида мицелла ҳосил бўлиши.

5. Биологик жараёнлар кинетикасига ҳаво ҳарорати таъсири. Ҳарорат коэффиценти топиш.
6. Эритмалар ва тўқима суюқликларининг осмотик босимини Барджер Раст усулида аниқлаш.
7. Модель системаларнинг потенциаллар фарқи. Потенциал, кучланиш. Диффузион потенциаллар.
8. Хлорид кислота эритмалараро юзага келадиган потенциаллар фарқини ўлчаш ва ҳисоблаш.
9. Модель системаларнинг потенциаллар фарқи. Электр кимёвий потенциаллар фарқи. Фазовий потенциаллар фарқи.
10. Олма пўстида ёки алоҳ баргида юзага келадиган потенциаллар фарқини ўлчаш.
11. Мембранавий потенциаллар. Табиий тўқималарда шикастланиш потенциаллари.
12. Тинчлик потенциаллари. Калий ион потенциаллар фарқи.
13. Электрокинетик ҳодисалар.
14. Ачиткидаги электрофоретик ва  $\zeta$ - потенциаллари аниқлаш.
15. Қўринувчан ва УБ соҳаларида спектрофотометрия. Биологик суюқликларда оптик зичликни ўлчаш.

Лаборатория ишлари мультимедиа қурулмалари билан жиҳозланган аудиторияда бир академик гуруҳга бир профессор-ўқитувчи томонидан ўтказилиши зарур. Машғулотлар фаол ва интерфактив усуллар ёрдамида ўтилиши, мос равишда муносиб педагогик ва ахборот технологиялар қўлланилиши мақсадга мувофиқ.

#### **IV. Мустақил таълим ва мустақил ишлар**

Мустақил таълим учун тавсия этиладиган мавзулар:

1. Оддий ферментатив жараёнлар кинетикаси. Михаэлис тенгламаси ва унинг модификацияланган шакллари.
2. Ҳаракатчан ва қисқарувчи жараёнлар. Мускул қисқариш аппарат оксиллари.
3. Икки қаватли липид мембраналари. Бир ва икки қаватли сунъий мембраналар.
4. Рецепция, рецептор ҳужайралар, тузилиши ва фаолиятлари. Ташқи сигналларни сезиш органлари рецепцияси.

Мустақил ўзлаштириладиган мавзулар бўйича талабалар томонидан рефератлар тайёрлаш ва уни тақдимот қилиш тавсия этилади.



3.	<p><b>V. Фан ўқитилишининг натижалари (шаклландирилган компетенциялар)</b>  Фанни ўзлаштириш натижасида талаба:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• биологик жараёнлар кинетикаси ва термодинамикаси асослари, биологик жараёнларни математик моделлаштириш асослари, квант биофизикаси элементлари ва ёруғлик ютилиш қонунилари, фотобиология асослари, биологик мембраналарнинг тузилиши ва функциялари, мембрана орқали ташиш жараёнлари, тинчлик потенциалли ва ҳаракат потенциалли, электр ўтказувчанлиги, энергия алмашинувининг молекуляр механизмлари, мушак ва номушак ҳаракатчанлик механизмлари, ҳужайра ичидаги сигнал узатиш тизимлари ҳақида асосий маълумотлари ҳақида <i>масаввур ва билимга эга бўлиши</i>;</li> <li>• ҳужайра ва тўқималарни ўрганишда асбоблардан фойдаланиш ва препаратлар тайёрлаш; потенциометрик усулида ишлай олиш; фотокалориметрларда ишлай олиш; липидларнинг оксидланиш-кайтарилишидан аниқлай олиш; спектроскопия усулида маҳсулотлар таъсирини ўрганиш; микроэлектродлар техникаси усуллари амалда қўлай олишни <i>билиши ва улардан фойдалана олиши</i>;</li> <li>• замонавий биофизик усуллардан фойдаланиш, эритмалар тайёрлашдаги масалаларни еча олишади, компютер технологияларидан фойдаланиб, маълумотларни қайта ишлашнинг математик усуллари қўллаш қуникмаларини ўзлаштиришади, тадқиқот автоматизациясидан фойдаланиш <i>малакалари эга бўлиши керак</i>.</li> </ul>
4.	<p><b>VI. Таълим технологиялари ва методлари:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• маърузалар;</li> <li>• семинарлар (манتيкий фиклаш, тезкор савол-жавоблар);</li> <li>• гуруҳларда ишлаш;</li> <li>• тақдиротларни қилиш;</li> <li>• жамоа бўлиб ишлаш ва ҳимоя қилиш учун лойиҳалар.</li> </ul>
5.	<p><b>VII. Кредитларни олиш учун талаблар:</b>  Фанга оид назарий ва услубий тушунчаларни тўла ўзлаштириш, таҳлил натижаларини тўғри ақс эттира олиш, ўрганилаётган жараёнлар ҳақида мустақил мушоҳада қилиш ва жорий, оралик назорат шаклларида берилган вазифа ва топшириқларни бажариш, якуний назорат бўйича ёзма ишни топшириш.</p>

6.	<p><b>Асосий адабиётлар</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Қосимов М.М. Назарий биофизика асослари. Тошкент, Университет, 2006, 220 б.</li> <li>2. Remizov A.N. Tibbiy va biologik fizika. Toshkent. Ibn-Sino nashriyoti, 2006.</li> <li>3. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И., Вознесенский С.А., Козлова Е.К. Биофизика, Владос, 2000. 287 б.</li> </ol> <p><b>Қўшимча адабиётлар</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4. Roland Glaser, "Biophysics", Second Edition, издательство: Berlin, Germany, 2012, P. 428.</li> <li>5. Раджабова Г.Г., Левицкая Ю.В., Умарова Ф.Т., Комилова Н.Р. Биофизика фанидан лабораториялари машгулотлари. Услубий қўлланма. Тошкент.: Университет, 2016й., 80 б.</li> <li>6. Умарова Ф.Т., Раджабова Г.Г., Н.Р.Атамуратова, М.М.Қасымов Методическое указание к лабораторным занятиям по биофизике. Ташкент, Университет, 2020, 112 с.</li> <li>7. Қосимов М.М. Биофизикадан амалий машгулотлар. Тошкент, Университет, 1992.</li> <li>8. Раджабова Г.Г. Биофизика. Ўқув услубий мажмуа. Тошкент, Университет, 2018 й.</li> </ol> <p><b>Ахборот манбаалари</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <a href="http://www.ziyounet.uz">www.ziyounet.uz</a></li> <li>2. <a href="http://www.referat.ru">www.referat.ru</a></li> <li>3. <a href="http://www.bankreferatov.ru">www.bankreferatov.ru</a></li> <li>4. <a href="http://www.nature.uz">www.nature.uz</a></li> <li>5. <a href="http://www.pedagog.uz">www.pedagog.uz</a></li> <li>6. <a href="http://biophys.narod.ru/">http://biophys.narod.ru/</a></li> <li>7. <a href="http://www.library.biophys.msu.ru/rubin/">http://www.library.biophys.msu.ru/rubin/</a></li> <li>8. <a href="http://biophys.narod.ru/">http://biophys.narod.ru/</a></li> <li>9. <a href="http://www.ionization.ru/issueg/4314">http://www.ionization.ru/issueg/4314</a></li> <li>10. <a href="http://elkin52.narod.ru/biofizika.htm">http://elkin52.narod.ru/biofizika.htm</a></li> <li>11. <a href="http://www.krugosvet.ru/articles/02/1000293/1000293a1.htm">http://www.krugosvet.ru/articles/02/1000293/1000293a1.htm</a></li> <li>12. <a href="http://www.rubin-center.ru/podnod.htm">http://www.rubin-center.ru/podnod.htm</a></li> <li>13. <a href="http://www.rl7.bmstu.ru/rus/Library/Biophys/">http://www.rl7.bmstu.ru/rus/Library/Biophys/</a></li> </ol>
7.	<p>Фан дастури Олий ва ўрта махсус, касб-хунар таълими йўналишлари бўйича Ўқув-услубий бирлашмалар фаолиятини Мувофиқлаштирувчи Кенгашининг 2020 йил 29 августдаги 4-сонли баённомаси билан маъқулланган.</p>



	Ўзбекистон Республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг 2020 йил 29 августдаги 452-сонли буйруғи билан маъқулланган фан дастурларини таянч олий таълим муассасаси томонидан тасдиқлашга розилик берилган.
8.	<b>Фан/модуль учун маъсуллар:</b> Г.Ғ Раджабова - ЎзМУ, Биофизика кафедраси мудири, биология фанлари номзоди, доцент. Ю.В. Левицкая - ЎзМУ, Биофизика кафедраси доцент в.б., биология фанлари номзоди
9.	<b>Такризчилар:</b> Чулиев И.К. - ҚарДУ, Биология факультети Табиий фанлар кафедраси доценти, биология фанлари номзоди. С.Н.Далимова - ЎзМУ, Биология факультети, Биокимё кафедраси мудири, профессор, биология фанлари доктори.

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA MAXSUS  
TA‘LIM VAZIRLIGI**

**GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI**

**«TASDIQLAYMAN»**

O‘quv ishlari bo‘yicha prorektor

\_\_\_\_\_ J.H.Qarshiboyev

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 yil

*BIOFIZIKA*

*fanining ishchi o`quv dasturi*

**Bilim sohasi:** 100000 – Gumanitar soha  
**Ta’lim sohasi:** 140000 – Tabiiy fanlar  
**Ta’lim yo‘nalishi:** 5140100 – Biologiya (turlari bo‘yicha)

**O‘quv soatlari hajmi:** 240 soat  
**Ma`ruza** 30 (6 semestr – 30 soat)  
**Laboratoriya** 60 (6 semestr – 60 soat)  
**Mustaqil ta`lim** 150 (6 semestr – 150 soat)

Mazkur fanning ishchi o'quv dasturi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 2020 yil 29 avgustdagi 452-sonli buyrug'i bilan tasdiqlangan "Biofizika" fani dasturi asosida tayyorlangan.

Mazkur ishchi fan dasturi "Biologiya" kafedrasining 2022 yil "24" avgustdagi yig'ilishida muhokama qilinib, tasdiqlash uchun tavsiya etilgan. (№1-sonli bayonnoma).

Mazkur ishchi fan dasturi "Tabbiy fanlar" fakulteti Kengashining 2022 yil "27" avgustdagi yig'ilishida muhokama qilinib, tasdiqlash uchun tavsiya etilgan. (№1-sonli bayonnoma).

Mazkur ishchi fan dasturi Guliston davlat universiteti Kengashining 2022 yil "28" avgustdagi yig'ilishida muhokama qilinib, tasdiqlash uchun tavsiya etilgan. (№1-sonli bayonnoma).

**Tuzuvchi:**

**Karimqulov A.T.** GulDU "Biologiya" kafedrası dotsenti, biologiya fanlari  
nomzodi

**Taqrizchi:**

**Qo'shiyev H.H.** GulDU "Biologiya" kafedrası professori, biologiya fanlari  
doktori

**"Biologiya" kafedrası mudiri:** \_\_\_\_\_ **Z.U.Abdikulov**

**Tabbiy fanlar fakulteti**

**dekani:** \_\_\_\_\_ **M.M.Ergashev**

**O'quv-uslubiy boshqarma**

**boshlig'i** \_\_\_\_\_ **I.Xudoyberdiev**

<b>Fan/modul kodi</b> BIFB308		<b>O'quv yili</b> 2022-2023	<b>Semestr</b> 6	<b>ECTS - Kreditlar</b> 8	
<b>Fan/modul turi</b> Majburiy		<b>Ta'lim tili</b> O'zbek/rus		<b>Haftadagi dars soatlari</b> 8	
<b>1.</b>	<b>Fanning nomi</b>	<b>Auditoriya mashg'ulotlari (soat)</b>	<b>Mustaqil ta'lim (soat)</b>	<b>Jami yuklama (soat)</b>	
	<b>Biokimyo va molekulyar biologiya</b>	90	150	240	

### **I. Fanning mazmuni**

Fanni o'qitishdan maqsad – Biofizikaning asosiy nazariy tamoyillarini mustaqil chegara fani sifatida va zamonaviy biofizik tadqiqot usullarining arsenalini o'zlashtirishdan iborat.

Fanning vazifasi – Hujayra biomolekulalarining kumyoviy tabiati, funksiyalarini, biomolekulalarni metabolizmdagi o'rni, hujayrada energiya hosil bo'lishi hamda sarflanishini, biologik molekular miqdorini o'rganishning fundamental usullari haqida bilimlarga ega bo'lishadi.

### **II. Asosiy nazariy qism (ma'ruza mashg'ulotlari)**

#### **II.I. Fan tarkibiga quyidagi mavzular kiradi:**

##### **1-mavzu. "Biofizika" faniga muqaddima.**

Biofizikaning predmeti, vazifalari. Biofizikaning biologik fanlar orasida tutgan o'rni va boshqa fan soxalari bilan aloqasi, Biofizikaning metodlari, O'zbekistonda biofizik tadqiqotlarning rivojlanishi.

##### **2-mavzu. Biologik jarayonlar termodinamikasi.**

Kimyoviy termodinamika asoslari, termodinamikaning qonunlari. Chiziqli jarayonlar termodinamikasi. Chiziqli jarayonlar. Onzager koeffitsiyenti birligi. Ochiq sistema entropiyasining Prigojin teoremasi.

##### **3-mavzu. Chiziqli emas jarayonlar termodinamikasi, muvozanatdan uzoqdagi sistemalar statsionar holati.**

Chiziqli emas jarayonlar termodinamikasi, muvozanatdan uzoqdagi sistemalar statsionar holati. Sinergetika konstepstiyasi.

##### **4-mavzu. Biologik jarayonlar kinetikasi.**

Kimyoviy kinetika asoslari. Biologik jarayonlarni matematik modellash. Dinamik tizimlarning differentsial tenglamalari. Dinamik tizimlardagi matematik modellarning geometrik yechimi – dinamik tizimning fazoviy ko'rinishi. Ferxyulst va Volterra modellari. Biologik triggerlar. Biologiyadagi tebranma jarayonlar. Avtotebranmali jarayonlar.

##### **5-mavzu. Molekulyar biofizika asoslari.**

Makromolekulalarning fazoviy strukturasi va struktura shakllanishida ishtirok etuvchi bog'lar va ulrdagi ta'sirlanuvchi kuchlar (Banderbals kuchlar, elektrostatik, gidrofob ta'sirlanish, bodorad bog'lar). Makromolekulalar faoliyati, ligandlar va

kooperativlik xossasi va Xill grafigi (myoglobin, gemoglobin misolida). Molekulyar biofizikaviy usullari: xromatografiya, elektroforez, osmometriya, viskozometriya, doiraviy dixromizm, roentgen struktur analiz, YaMR, electron mikroskopiya, fluorometriya.

#### **6-mavzu. Kvant biofizikasi elementlari.**

Biopolimerlarning elektron qobigi, molekulyar qobig'i, biopolimerlarning elektron xususiyatlari. Yutish va ta'sir etish spektrlari. Molekulalarning singlaet va triplet xolatlari. Energiyaning uzatilishi va migratsiyalanish (induktiv rezonans, almashish rezonans, eksiton, tunnel effekti) mexanizmlari. Erkin radikallar, xossalari va jarayonlar.

#### **7-mavzu. Biologik membranalarning tuzilishi va funksiyasi.**

Hujayra membranasining tuzilish asoslari. Membrana lipidlari va oqsillari. Biologik membranalarning tuzilishiga doir hozirgi zamon tasavvurlari. Tabiiy membrananing fizik xossalari – agregat tuzilishi, fazoviy o'tishlar, qovushqoqlik va elektr zaryadi. Model membranalarning tuzilishi.

#### **8-mavzu. Moddalarning membrana orqali tashilishi.**

##### **Ionlarning passiv transporti.**

Noelektrolitlar transporti. Oddiy va yengillashgan diffuziya. Elektrolitlar va ionlarning membrana orqali tashilishi. Elektrokimyoviy potensial.

#### **9-mavzu. Moddalarning membrana orqali tashilishi.**

##### **Ionlarning aktiv transporti.**

Ionlarning aktiv transporti. Aminokislotalar va qandlar. Moddalar tashilishining boshqarilishi.

#### **10-mavzu. Bioelektroenez. Membrana (tinchlik) potentsiali**

Model sistemalardagi yuzaga keladigan elektr potentsiallar farqi – diffusion, fazalararo va Donnan potentsiallari. Membrana (tinchlik) potentsiali. Membrana potentsialini tasvirlovchi Goldman-Hodgkin tenglamasi.

#### **11-mavzu. Harakat potentsiali. Sinapslar va sinaptik jarayonlar.**

Harakat potentsiali. Ion kanallari. Ionoforlar va kanaloforlar. Harakat potentsialining uzatilishi. Nerv tolalarning kabel xossalari. Nerv impulsining miyelinsiz va miyelinli tolalar orqali tashilishi. Sinapslar va sinaptik jarayonlar.

#### **12-mavzu. Elektro'tkazuvchanlik.**

Membrana sirt yuzasidagi elektrostatik potentsial. Qutblanish hodisasi. Elektro'tkazuvchanlik va uning dispersiyalanishi. Elektro'tkazuvchanlik struktura asoslari. Hujayra va to'qimalar elektr o'tkazuvchanligi. Hujayra impedansi.

#### **13-mavzu. Harakatning muskulli va muskulsiz formalari.**

Muskulli qisqarish biofizikasi. Kaltsiy ionlarining elektromexanik jarayonlarga bog'liqligi. Ca kanallarining hujayra ichidagi strukturalari. Ca-ATFazaning strukturalari va funktsiyasi. Harakatning muskulsiz formalari.

#### **14-mavzu. Fotobiologiya muammolari.**

Fotobiologiya jarayonlari klassifikatsiyasi. Birlamchi fotofizikaviy va fotokimyoviy reaksiyalar. Fotobiologiya jarayonlari va energiya transformatsiyalanishi mexanizmi. Fotodestruktiv jarayonlar va biologik sistemalarning molekulyar mexanizmlari.

#### **15-mavzu. Hujayraga signal transduktsiya tizimlari haqida asosiy**

**ma'lumotlar.**

Birlamchi va ikkilamchi messenjerlar haqida tushuncha. Resteptorlar, ularning tiplari. G-oqsillar. Fosforillanish – yetuk oqsillar faolligi modifikatsiyalanishi sifatida. Proteinkinazalar. Fosfotazalar. Hujayraichi signallashtirishda adenilatstiklaza tizimi. Hujayra ichiga signal uzatilishida fosfatidilinozotid tizimi. Fiziologik jarayonlarni boshqarilishida Ca ionlarining ishtiroki.

<b>№</b>	<b>Ma'ruza mavzulari</b>	<b>Dars soatlari hajmi</b>
1	Biofizika faniga muqaddima	2
2	Biologik jarayonlar termodinamikasi	2
3	Chiziqli emas jarayonlar termodinamikasi, muvozanatdan uzoqdagi sistemalar statsionar holati	2
4	Biologik jarayonlar kinetikasi	2
5	Molekulyar biofizika asoslari	2
6	Kvant biofizikasi elementlari	2
7	Biologik membranalarining tuzilishi va funksiyasi	2
8	Moddalarning membrana orqali tashilishi. Ionlarning passiv transporti.	2
9	Moddalarning membrana orqali tashilishi. Ionlarning aktiv transporti.	2
10	Bioelektroenez. Membrana (tinchlik) potentsiali	2
11	Harakat potentsiali. Sinapslar va sinaptik jarayonlar.	2
12	Elektro'tkazuvchanlik	2
13	Harakatning muskulli va muskulsiz formalari	2
14	Fotobiologiya muammolari	2
15	Hujayraga signal transduktsiya sistemasi haqida asosiy ma'lumotlar	2
Jami		30

**III. Laboratoriya ishlari bo'yicha ko'rsatma va tavsiyalar**

Laboratoriya mashg'ulotlari uchun quyidagi mavzular tavsiya etiladi:

<b>№</b>	<b>Laboratoriya mashg'ulotlari mavzulari</b>	<b>Dars soatlari hajmi</b>
1	Laboratoriya tadqiqotlarining umumiy qonuniyatlari	2
2	Ochiq sistema barqaror statsionar holatining entropiyasi	6
3	Biologik suyuqliklarning sirt tarangligini o'lchash.	4
4	Sirt aktiv moddalar eritmalarida mitsella hosil bo'lishining kritik kontsentratsiyasini aniqlash	6
5	Biologik suyuqliklarning osmotik bosimini aniqlash	4
6	Haroratning biologik jarayonlar kinetikasiga ta'siri. Baqa	6

	yuragining harorat koeffitsiyenti va aktivlanish energiyasini aniqlash.	
7	Xlorid kislota eritmariaro yuzaga keladigan diffuzion potentsiallar farqini o'lchash va hisoblash	6
8	Olma po'stida yuzaga keladigan potentsiallar farqini o'lchash.	4
9	Qurbaqa ko'ndalang-targ'il muskulida yuzaga keladigan shikastlanish potensialini o'lchash	4
10	Kollodiy membranaorqali vuzudga keladigan potentsiallar farqi.	6
11	Achitqi zamburug'ining elektroforetik tezligi va $\zeta$ - potentsialini aniqlash	6
12	Biologik suyuqliklarning optik zichligini o'lchash.	6
Jami		60

Laboratoriya ishlari multimediya qurilmalari bilan jihozlangan auditoriyada bir akademik guruhga bir professor-o'qituvchi tomonidan o'tkazilishi zarur. Mashg'ulotlar faol va interaktiv usullar yordamida o'tilishi, mos ravishda munosib pedagogik va axborot texnologiyalar qo'llanilishi maqsadga muvofiq.

#### IV. Mustaqil ta'lim va mustaqil ishlar

Mustaqil ta'lim uchun tavsiya etiladigan mavzular:

№	Mustaqil ta'lim mavzulari	Soat hajmi
1	Iddiy fermentativ jarayonlar kinetikasi. Mixaelis tenglamasi va uning modifikatsiyalangan shakllari.	10
2	Energetika, avtotebranmali jarayonlar.	10
3	Chiziqli emas jarayonlar termodinamikasi	20
4	Harakatchan va qisqaruvchan jarayonlar.	20
5	Muskul qisqarish apparat oqsillari.	10
6	Umurtqalilarda ko'dalang-targ'il muskullari qisqarish jarayoni. Sirpanuvchi ipchalar modeli.	10
7	Ikki qavatli lipid membranalar	10
8	Bir va ikki qavatli sun'iy membranalar, ionlarning induktsiyalangan transporti	20
9	Harakatchan tashuvchilar, ionoforlar va kanal hosil qiluvchilar.	10
10	Retseptsiya, retseptor hujayralar, tuzilishi va faoliyati.	20
11	Foretseptsiya, ko'rish hujayralarining tuzilishi. Foretseptsiya hujayra membranalarining molekulyar tuzilishi.	10
	<b>Jami</b>	<b>150</b>

Mustaqil o'zlashtiriladigan mavzular bo'yicha talabalar tomonidan referatlar tayyorlash va uni taqdimot qilish tavsiya etiladi.

## **V. Fan o'qitilishining natijalari (shakllanadigan kompetentsiyalar)**

Fanni o'zlashtirish natijasida talaba:

- biologik jarayonlar kinetikasi va termodinamikasi asoslari, biologik jarayonlarni matematik modellashtirish asoslari, kvant biofizikasi elementlari va yorug'lik yutulish qonunlari, fotobiologiya asoslari, biologik membranalarning tuzilishi va funksiyasi, membrana orqali tashish jarayonlari, tinchlik potentsiali va harakat potentsiali, elektr o'tkazuvchanligi, energiya almashinuvining molekulyar mexanizmlari, mushak va nomushak harakatchanlik mexanizmlari, hujayra ichida signal uzatish tizimlari haqida asosiy ma'lumotlari haqida *tasavvur va bilimga ega bo'lishi*;
- hujayra va to'qimalarni o'rganishda asboblardan foydalanish va preparatlar tayyorlash; potentsiometrik usulida ishlay olish; fotokalorimetrlarda ishlay olish; lipidlarning oksidlanish-qaytarilishidan aniqlay olish; spektroskopiya usulida maxsulorlar ta'sirini o'rganish; mikroelektrodlar texnikasi usullarini amalda qo'llay olishni *bilishi va ulardan foydalana olishi*;
- zamonaviy biofizik usullardan foydalanish, eritmalar tayyorlashdagi masalalarni yecha olishadi, kompyuter texnologiyalaridan foydalanib, ma'lumotlarni qayta ishlashning matematik usullarini qo'llash ko'nikmalarini o'zlashtirishadi, tadqiqot avtomatizatsiyasidan foydalanish *malakalariga ega bo'lishi kerak*.

## **VI. Ta'lim texnologiyalari va metodlari:**

- ma'ruzalar;
- seminarlar (mantiqiy fiklash, tezkor savol-javoblar);
- guruhlarda ishlash;
- taqdimotlarni qilish;
- jamoa bo'lib ishlash va himoya qilish uchun loyihalar.

## **VII. Kreditlarni olish uchun talablar:**

Fanga oid nazariy va uslubiy tushunchalarni to'la o'zlashtirish, tahlil natijalarini to'g'ri aks ettira olish, o'rganilayotgan jarayonlar haqida mustaqil mushohada yuritish va iy, oraliq nazorat shakllarida berilgan vazifa va topshiriqlarni bajarish, yakuniy nazorat bo'yicha yozma ishni topshirish.

## **VIII. Asosiy va qo'shimcha axborot manbalari**

### **Asosiy adabiyotlar**

1. Қосимов М.М. Назарий биофизика асослари. Ўқув қуланма. Тошкент, Университет, 2006, 220 б.
2. Remizov A.N. Tibbiy va biologik fizika. Toshkent. Ibn-Sino nashriyoti, 2006.
3. Антонов В.Ф., Черныш А.М., Пасечник В.И., Вознесенский С.А., Козлова Е.К. Биофизика, Владос, 2000. - 287 б.

### **Qo'shimcha adabiyotlar**

4. Roland Glaser. Biophysics, Second Edition, Berlin, Germany, 2012, P. 428.



5. Раджабова Г.Ғ., Левицкая Ю.В., Умарова Ф.Т., Комилова Н.Р. Биофизика фанидан лаборатория машғулоти. Услубий қўлланма. Тошкент: Университет, 2016. - 80 б.
6. Умарова Ф.Т., Раджабова Г.Ғ., Атамуратова Н.Р., Касимов М.М. Методическое указание к лабораторным занятиям по биофизике. Ташкент: Университет, 2020. – 112 с.
7. Қосимов М.М. Биофизикадан амалий машғулоти. Тошкент: Университет, 1992. – 91 б.
8. Раджабова Г.Ғ. Биофизика. Ўқув услубий мажмуа. Тошкент: Университет, 2018.

### Axborot manbaalari

1. [www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)
2. [www.referat.ru](http://www.referat.ru)
3. [www.bankreferatov.ru](http://www.bankreferatov.ru)
4. [www.nature.uz](http://www.nature.uz)
5. [www.pedagog.uz](http://www.pedagog.uz)
6. <http://biophys.narod.ru/>
7. <http://www.library.biophys.msu.ru/rubin/>
8. <http://www.ionization.ru/issueg/4314>
9. <http://elkin52.narod.ru/biophyzika.htm>
10. <http://www.krugosvet.ru/articles/02/1000293/1000293ai.htm>
11. <http://www.rubin-center.ru/podhod.htm>
12. <http://www.r17.brnstu.ru/Library/Biophys/>

### Talaba bilimni baholash

Talaba bilimni baholash kredit-modul tizimiga muvofiq ishlab chiqilgan Nizom asosida amalga oshiriladi.

Nazorat turi	1-OB	2-OB	YaB
O'tkazilish vaqti	8- hafta	16-hafta	17-18 hafta
Nazorat shakli	Yozma*	Yozma*	Yozma

**Oraliq baholash:** fanning ma'ruza qismiga tegishli teng yarmi o'tib bo'lingandan so'ng so'ng OB olinadi. Bunda o'tilgan mavzularga doir 3 ta nazariy yozma savollari varianti tarqatiladi. Oldindan tuzilgan 3 ta yozma variantlarini to'la echgan talabaga har bir to'g'ri javob uchun maksimal 5 baho beriladi.

**Yakuniy baholash** o'tilgan barcha mavzular bo'yicha tuzilgan variantlari asosida o'tkaziladi. Bunda har bir talabaga semestr davomida o'tilgan mavzular bo'yicha 3 ta nazariy va 1 tadan laboratoriya ishi bo'yicha og'zaki savol variantlari tarqatiladi. Talaba og'zaki javobning har biridan maksimal 5 baho to'plash imkoniyatiga ega. Umumiy baxo o'rtacha arifmetika asosida chiqariladi.

\*Izoh. Nazoratlardagi har bir savol va topshiriqlar quyidagi baholash mezonlari bo'yicha baholanadi.

### Talabalar bilimni baholash mezonlari

a) **“5” (a’lo)** baho uchun talabanning bilim darajasi quyidagilarga javob berishi lozim:

- Hulosa va qaror qabul qilish;
- Ijodiy fikrlay olish;
- Mustaqil mushohada yurita olish;
- Olgan bilimlarini amalda qo’llay olish;
- Mohiyatini tushunish;
- Bilish, aytib berish;
- Tasavvurga ega bo’lish;

b) **“4” (yaxshi)** baho uchun talabanning bilim darajasi quyidagilarga javob berishi lozim:

- Mustaqil mushohada yurita olish;
- Olgan bilimlarini amalda qo’llay olish;
- Mohiyatini tushunish;
- Bilish, aytib berish;
- Tasavvurga ega bo’lish;

v) **“3” (qoniqarli)** baho uchun talabanning bilim darajasi quyidagilarga javob berishi lozim:

- Mohiyatini tushunish;
- Bilish, aytib berish;
- Tasavvurga ega bo’lish;

g) talabanning bilim darajasi **“2” (qoniqarsiz)** deb quyidagi hollarda baholanadi:

- Aniq tasavvurga ega bo’lmaslik;
- Javoblarda xatoliklarga yo’l qo’yilganlik;
- Bilmaslik.

## Тесты

<b>Что представляет собой внутренняя энергия?</b>
сумму кинетической и потенциальной энергий всех атомов и молекул в системе
способность системы совершать работу
термодинамический потенциал Гиббса
теплосодержание системы
<b>Соотношение взаимности Онзагера отражает:</b>
если 1-ый поток испытывает действие силы 2-го потока, то 2-ой поток также испытывает действие силы 1-го потока
зависимость сил от потоков соответственно зависимости потоков от сил
если первый поток зависит от движущей его силы, то вторая сила тоже зависит от первого потока
первый поток зависит от второго потока, поэтому они равны
<b>Направление эволюции неравновесных открытых систем (теорема Пригожина)</b>
минимальное значение диссипативной функции
максимальное значение энтропии
минимум свободной энергии
постоянство энтропии
<b>Что такое термодинамическая вероятность?</b>
количество микросостояний, реализующих данное макросостояние
количество макросостояний данной системы
суммарное изменение энтропии в открытой системе
количество макросостояний, реализующих данное микросостояние
<b>Что представляет собой константа Михаэлиса?</b>
концентрацию субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной
максимальную скорость реакции
концентрацию субстрата, при которой скорость реакции равна максимальной
порядок ферментативной реакции
<b>Что представляет собой оптическая плотность раствора? <math>I_0</math> – интенсивность падающего на объект излучения <math>I</math> - интенсивность прошедшего через раствор излучения</b>
$\lg I_0 / I$
$\lg I / I_0$
концентрацию окрашенного вещества
$I_0 / I$
<b>Определение свободных радикалов можно осуществить при помощи:</b>
регистрации хемилюминесценции
измерения электропроводности

определения светопропускания
измерения дзета-потенциала
<b>Какова величина градиента протонного электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрий?</b>
0,23 вольт
0,31 вольт
потенциала нет
0,12 вольт
<b>Укажите правильную последовательность в редокс-цепи:</b>
$HADH \rightarrow \Phi\Pi \rightarrow \text{цит.}b + KoQ \rightarrow \text{цит.}c_1 \rightarrow \text{цит.}c \rightarrow \text{цит.}aa_3 \rightarrow O_2$
$HADH \rightarrow KoQ \rightarrow \Phi\Pi \rightarrow \text{цит.}b \rightarrow \text{цит.}c_1 \rightarrow \text{цит.}a \rightarrow \text{цит.}c \rightarrow \text{цит.}a_3 \rightarrow O_2$
$HADH \rightarrow \Phi\Pi \rightarrow \text{цит.}b \rightarrow \text{цит.}c_1 \rightarrow \text{цит.}c \rightarrow \text{цит.}aa_3 \rightarrow O_2$
$HADH \rightarrow \Phi\Pi \rightarrow \text{цит.}c_1 \rightarrow \text{цит.}b \rightarrow KoQ \rightarrow \text{цит.}c \rightarrow \text{цит.}aa_3 \rightarrow O_2$
<b>Чему равно изменение энтальпии (dH)?</b>
$dH = dU + pdV$
$dH = dU - TdS$
$dH = TdS$
$dH = dU - pdV + TdS$
<b>Что характеризует закон Стокса?</b>
$\lambda$ флуоресценции $> \lambda$ возбуждающего света
$\lambda$ флуоресценции $< \lambda$ фосфоресценции
$\lambda$ флуоресценции $= \lambda$ возбуждающего света
$\lambda$ фосфоресценции $> \lambda$ флуоресценции
<b>Укажите механизм действия разобщителей окислительного фосфорилирования типа 2,4-динитрофенола</b>
снижение градиента электрохимического потенциала $H^+$
ингибирование Н-АТФазы
ингибирование редокс-цепи
вызывает диссоциацию фактора $F_0$
<b>Какие явления соответствуют миграции энергии:</b>
фотодинамический эффект, обменно-резонансный механизм, индуктивно-резонансный механизм, экситонный механизм.
перенос заряда между молекулами, обменно-резонансный механизм, трансформация электрохимического потенциала $H^+$ в АТФ, экситонный механизм.
фотодинамический эффект, диффузия АТФ в клетке, трансформация электрохимического потенциала $H^+$ в АТФ, индуктивно-резонансный механизм
перенос заряда между молекулами, диффузия АТФ в клетке, трансформация электрохимического потенциала $H^+$ в АТФ, индуктивно-резонансный механизм
<b>Укажите, что не характерно для внутренней мембраны митохондрий животных тканей</b>

наличие системы гликолиза
наличие дыхательной цепи
низкая протонная проницаемость
наличие комплекса $F_1F_0$
<b>Природа потенциала покоя:</b>
равновесный потенциал калия на плазматической мембране
доннановский потенциал
поток ионов натрия через плазматическую мембрану
поток электронов через мембрану
<b>Что такое дисперсия электропроводности ?</b>
зависимость сопротивления биологического объекта от частоты
зависимость тока от потенциала
проводимость объекта при постоянном напряжении
полное сопротивление биологического объекта
<b>Механизм генерации потенциала действия:</b>
увеличение входящего натриевого тока
активация Na,K-насоса
увеличение входящего калиевого тока
перенос электронов через мембрану
<b>Механизм передачи нервного импульса вдоль аксона</b>
распространение вдоль мембраны аксона локальных токов
увеличение активности Na,K-АТФазы
электрофорез ионов вдоль мембраны аксона
электронная проводимость аксона
<b>Термодинамические критерии активного транспорта ионов</b>
перенос против электрохимического градиента
перенос ионов по электрохимическому градиенту
транспорт ионов происходит по селективному каналу
суммарное повышение свободной энергии в сопряженных процессах транспорта ионов и гидролиза АТФ
<b>Признаки облегченной диффузии веществ:</b>
перенос через мембрану с помощью подвижного ионофора или по каналу
перенос против градиента концентрации
перенос по принципу пиноцитоза
перенос через мембрану с помощью транспортных АТФаз
<b>Укажите верный признак триггерной системы:</b>
наличие 1 неустойчивой и 2 (или более) устойчивых особых точек на фазовом портрете
наличие 2 неустойчивых (или более) и 1 неустойчивой особых точек на фазовом портрете
наличие 1 неустойчивой и 1 устойчивой особых точек на фазовом портрете
колебательная кинетика процесса

<b>Какой признак соответствует силовому переключению триггерной системы?</b>
изменение концентрации вещества или численности особей
изменение такого параметра как температура среды
изменение такого параметра как pH среды
изменение числа особых точек на фазовом портрете
<b>Какой признак соответствует параметрическому переключению триггерной системы?</b>
изменение такого параметра как pH среды
изменение концентрации вещества или численности особей
сохранение числа особых точек на фазовом портрете
смена управляющего параметра
<b>Электропроводность мембраны осуществляется за счет:</b>
ионов
экситонов
электронов
переносчиков
<b>Эквивалентная электрическая схема клеточной мембраны включает:</b>
параллельно соединенных омического и емкостного сопротивлений и подключенного к ним последовательно омического сопротивления среды и цитоплазмы.
параллельно соединенные сопротивления
параллельно соединенных омического и емкостного, также соединенных параллельно к ним сопротивлений среды и цитоплазмы
параллельно и последовательно соединенных омического и емкостного, а также индуктивного сопротивлений
<b>Дисперсия электропроводности биообъекта это:</b>
уменьшение сопротивления с увеличением частоты
увеличение сопротивления с частотой
независимость от частоты
уменьшение сопротивления
<b>Электропроводность мембран по переменному току зависит:</b>
от частоты тока
от омического сопротивления
от емкостного сопротивления
от напряжения тока
<b>Коэффициент поляризации отражает физиологическое состояние ткани и при <math>\kappa=1</math> означает:</b>
ткань мертва
ткань жива
повреждена
повреждена, однако жива
<b>Импеданс мембраны:</b>

$Z_0 = R_0 + X^2$
$Z = R - 1/wc$
$wcR = X_w/R$
$R = R/1 + CR$
<b>Электропроводность это:</b>
1/R
1/G
1/e
1/c
<b>Сопротивление мембраны состоит из:</b>
емкостного и омического
омического и индуктивного
переменного и постоянного
омического, индуктивного и емкостного
<b>Коэффициент поляризации это:</b>
$K = R_1 / R_0$
$K = K_1 / K_2$
$K = 1/c$
$K_m = 1/V_m$
<b>Электропроводность мембраны зависит от:</b>
частоты тока
мощности тока
емкости тока
напряжения тока
<b>Электрическое сопротивление мембраны определяется:</b>
геометрической суммой омического и емкостного сопротивления
только омическим сопротивлением
только емкостным сопротивлением
суммой индуктивного и емкостного сопротивления
<b>Структурная компоненты биологических мембран это:</b>
липиды, белки и присоединенные к белкам олигосахариды
витамины, гормоны и др. органические соединения
циклические аминокислоты, дисахариды
нуклеиновые кислоты и нуклеотиды
<b>Основные соединения, входящие в состав биологических мембран:</b>
фосфатидилхолин, фосфатидилинозит, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, кардиолипин
глицериды, кетоны, альдегиды и спирты
эфир, диэфиры, циклические углеводороды, бензол, толуол
аденозинтрифосфат, аденозиндифосфат, аденозинмонофосфат
<b>По расположению в мембране белки делятся на:</b>
периферические и интегральные
бислойные и монослойные

последовательные и параллельно расположенные
горизонтальные, вертикальные
<b>В физиологических условиях клеточная мембрана представляет собой:</b>
трехмерную конденсированную жидкую фазу
твердую, гидрофобную пленку
двухмерный жидкий кристалл
трехмерную пористую пленку
<b>Пассивный перенос веществ через клеточную мембрану осуществляется путем:</b>
простой диффузии, облегченной диффузии (посредством переносчиков и через каналы)
ультрафильтрации и фильтрации
адсорбции, конденсации, дистилляции
ионизации
<b>Облегченная диффузия это - диффузия:</b>
осуществляемая посредством переносчиков и каналов
осуществляемая за счет энергии
требующая АТФ
простая диффузия
<b>Скорость пассивного переноса веществ через мембраны зависит от:</b>
химического или электрохимического градиента переносимого вещества
концентрации продуктов
концентрации переносимого вещества и требует энергии
от числа оборотов переносимого вещества, требует энергии,
<b>Скорость активного переноса веществ через мембраны зависит от:</b>
электрохимического или химического градиента и требует энергии,
только от химического градиента вещества
требует энергии и осуществляется по концентрационному градиенту
только от электрохимического градиента
<b>Ионные каналы состоят из</b>
интегральных белков, включают селективные фильтры, ворота и сенсоры
фосфолипидов и включают в себя ситовидные трубочки
асимметрично расположенных липидных кластеров, включают капиллярные перегородки
сложной комбинации периферических белков, имеют вид спирали
<b>Факторы, влияющие на мембранный перенос веществ:</b>
коэффициент распределения, подвижность, рН-среды, характер заряда, заряд мембраны, концентрация, электрический градиент
флюоресценция, фосфоресценция, термолюминесценция, электролюминесценция
текучесть, трение, степень гигроскопичности и тиксотропичности
вязкость, поверхностное натяжение, атмосферное давление, температура, агрегатное состояние



<b>Концентрационный градиент вещества это:</b>
отношение концентрации вещества к единице расстояния.
отношение концентрации вещества к его плотности,
отношение плотности вещества к его коэффициенту диффузии
отношение концентраций вещества в двух фазах
<b>Унипорт - это:</b>
вид транспорта, не зависящий от транспорта других веществ, зависит от градиента концентрации и коэффициента диффузии
состоит из произведения симпорта и антипорта, не зависит от концентрации
вид миграции энергии, зависит от направления, свойственного незаряженным частицам
вид потенциала седиментации, зависит от напряженности поля
<b>Симпорт – это:</b>
способ транспорта веществ, при котором вход одного вещества сопряжен с входом другого вещества
способ миграции симбиотических организмов
способ транспорта веществ, при котором транспорт осуществляется самостоятельно
один из способов транспорта веществ через мембраны, при котором вещества переносятся в противоположных направлениях
<b>Антипорт - это:</b>
способ взаимозависимого транспорта веществ через мембраны в противоположных направлениях
способ независимого транспорта веществ через мембраны в виде комплексов
способ переноса веществ через мембраны независимо в разных направлениях
способ переноса веществ через мембраны в одном направлении, двумя способами
<b>Натриевый насос - это:</b>
транспортная система, расположенная в цитоплазматической мембране, осуществляет антипорт ионов натрия и калия, работает против концентрационного градиента
система перекачивания ионов натрия изнутри наружу, находится в цитоплазме, не требует энергии
система, состоящая из периферических белков, осуществляет симпорт ионов натрия и калия
транспортная система, расположенная в цитоплазме и осуществляет унипорт ионов натрия по градиенту концентрации
<b>Критерий устойчивости стационарного состояния открытых систем это:</b>
постоянство параметров системы во времени и пространстве
постоянство параметров системы во время наблюдения;

максимальная энтропия и максимум свободной энергии;
максимальное сопряжение процессов

### Вопросы итогового контроля

1. Предмет и задачи биофизики.
2. Разделы и методы биофизики.
3. История развития биофизики в Узбекистане.
4. Термодинамическая система и её типы.
5. Первый закон термодинамики.
6. Закон Гесса и энтальпия.
7. Второй закон термодинамики.
8. Термодинамические потенциалы
9. Закон Вант-Гоффа.
10. Неравновесная термодинамика
11. Молекулярность и порядок реакций
12. Кинетика реакций нулевого порядка
13. Кинетика прямой реакции первого порядка
14. Кинетика обратимой реакции первого порядка
15. Кинетика реакции второго порядка
16. Сложные реакции
17. Зависимость скорости реакции от температуры
18. Кинетика ферментативного катализа
19. Управление ферментативной активности.
20. Механизмы индукции и репрессии синтеза ферментов.
21. Силы внутримолекулярного взаимодействия биомакромолекул
22. Пептидная связь и её природа.
23. Пространственная структура белка
24. Классификация и стадии фотобиологических процессов
25. Природа света и её физические характеристики
26. Взаимодействие света с веществом
27. Пути размена энергии возбужденного состояния молекулы
28. Люминесценция и её механизмы
29. Миграция энергии
30. Фотохимические реакции. Законы фотохимии.
31. Строение и химический состав клеточной мембраны
32. Липид-липидные взаимодействия. Динамика липидов в мембране.
33. Белки мембраны и их функции
34. Модель биологических мембран
35. Классификация и механизм транспорта веществ и ионов внутрь клетки.
36. Пассивный транспорт.
37. Активный транспорт.
38. Электродный потенциал
39. Диффузионный потенциал

- 40.Ионная теория электрогенеза Бернштейна
- 41.Теория постоянного поля и потенциала покоя
- 42.Потенциал действия.
- 43.Современные методы регистрации биопотенциалов
- 44.Ионная природа потенциала действия
- 45.Распространение импульса по нервному волокну.
- 46.Действие постоянного электрического тока на биологические объекты
- 47.Статическая и поляризационная ёмкость
- 48.Виды поляризации в биологических тканях
- 49.Проводимость биологических объектов для переменного тока
- 50.Биофизика мышечного сокращения
- 51.Роль ионов Са в процессе мышечного сокращения
- 52.Структура и функция Са-АТФазы
- 53.Немышечные формы подвижности
- 54.Типы фотобиологических процессов
- 55.Пигменты биологических систем
- 56.Общие закономерности фотобиологических процессов
- 57.Механизмы миграции энергии электронного возбуждения
- 58.Общая характеристика фотохимических процессов
- 59.Фотосинтез
- 60.Первичные и вторичные мессенжеры
- 61.G-белки и их значение
- 62.Аденилатциклазная система
- 63.Участие ионов Са<sup>2+</sup> в управлении физиологическими процессами

# **УЧЕБНЫЙ МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО БИОФИЗИКИ**

**А.Т.Каримкулов**

**Гулистан – 2022**

**Рецензент: Х.Х.Кушиев** – профессор, доктор биологических наук.

707000, г. Гулистан, 4-микрорайон,  
Гулистанский государственный университет  
Тел.: + 998672254042  
Факс: +998672250275  
[www.guldu.uz](http://www.guldu.uz)