Билет № 1

1. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Методы определения К_м и V_{тах}. Конкурентное и неконкурентное ингибирование.

$$E + S \xrightarrow{k_1} ES \xrightarrow{k_2} E + P.$$

Здесь S — субстрат; Р — продукт; Е — фермент; ES —

субстрат-ферментный комплекс; к1, к-1—константы прямой и обратной реакций образования фермент- субстратного комплекса; к2 — константа скорости образования продукта.

$$d[S]/dt = -k_1[S][E] + k_{-1}[ES],$$

$$d[E]/dt = -k_1[S][E] + k_{-1}[ES] + k_2[ES],$$

$$d[ES]/dt = k_1[S][E] - k_{-1}[ES] - k_2[ES],$$

$$d[P]/dt = k_2[ES].$$

$$[E] + [ES] = [E_0] = \text{const.}$$

ЕО-общая конц. фермента (в любой момент)

Характерное время изменения субстрата, очевидно, равно $\tau_s=[S_0]/v_p$, где v_p —скорость ферментативной реакции. Максимальное значение v_p составляет $\mu_0-k_2[E_0]$. Следовательно, минимальное значение τ_s равно $\tau_s^{\min}=[S_0]/k_2[E_0]$. Характерное время оборота фермента определяется в основном реакцией распада [ES] и константой k_2 $(k_2\gg k_1)$. Оно равно $\tau_E=1/k_2$.

тау(s)>>

тау(Е) это означает, что скорость изменения субстрата мала по сравнению со скоростью изменения фермент-субстратного комплекса.

Следовательно, при рассмотрении поведения системы на достаточно больших отрезках времени концентрацию фермент-субстратного комплекса [ES] во втором уравнении можно полагать квазистационарной, а само второе уравнение этой системы может быть заменено алгебраическим. Более строго этот результат можно получить путем замены переменных в и введением безразмерных величин:

$$x = [ES]/[E_0], \quad y = [S]/[S_0], \quad z = [P]/[S_0], \quad \tau_E = k_2[E_0]t/[S_0], \quad k_{-1}/k_2 = n.$$

$$dy/dt = nx - my(1-x), \quad \frac{[E_0]}{[S_0]} \frac{dx}{d\tau} = my(1-x) - (n+1)x.$$

переменная х

является быстрой по сравнению с переменной y, т.е. $dx/d\tau=0$ или my(1-x)-(n+1)x=0. Отсюда

$$x = \frac{y}{y + (n+1)/m}$$
, или $x = \frac{y}{y + (k_{-1} + k_2)/[S_0]k_1}$.

Величина $K_m = (k_{-1} + k_2)/k_1$ является характеристической константой в химии ферментов и носит название константы Михаэлиса.

 K_m имеет размерность концентрации $t^{-1}/(c^{-1}t^{-1}) = [c].$

Скорость реакции $\mu=-rac{dS}{dt}=rac{dP}{dt}=rac{k_2E_0S}{K_m+S}=rac{\mu_0S}{K_m+S}.$ - уравнение

Михаэлиса. Из уравнения видно, что при увеличении концентрации субстрата S от 0 до бесконечности скорость реакции (тангенс угла наклона начальных участков кинетических кривых S(t)) возрастает от нуля до своего максимального значения

 $v=k_2E_0$.Таким образом, ферментативные процессы — это процессы с

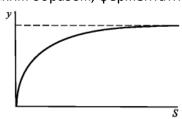


Рис. III.1 Стационарная скорость простей-

шей ферментативной реакции как насыщением. $^{ ext{функция}}$ концентрации субстрата

При Km = S скорость реакции равна v/2. Таким образом, константа Михаэлиса по физическому смыслу и числовому значению равна концентрации субстрата, при которой стационарная скорость реакции достигает половины своего максимального значения, или, другими словами, когда половина молекул фермента находится в состоянии комплекса с субстратом.

Конкурентное и неконкурентное ингибирование.

В клетке каждая отдельная реакция представляет собой открытую систему, обл. механизмами саморегуляции. Одним из мощных способов регуляции ферментативного процесса является изменение активности фермента с помощью ингибиторов (вещества).

Конкурентные: занимают места субстрата в активном центре фермента с образованием неактивного комплекса.

Неконкурентные: ингибитор не имеет структурного сходства с субстратом и присоединяется не к активному центру субстрата, а к определенным местам белковой глобулы, вызывая деформацию фермента.

2. Прямое и непрямое действие ионизирующих излучений. Радиолиз воды. Антиокислительные системы, участвующие в регуляции активных форм кислорода.

<u>Ионизирующим излучением</u> называют излучение, взаимодействие которого с веществом приводит к образованию положительно или отрицательно заряженных ионов. Ионизация обычно происходит путем отрыва электрона с внешних электронных оболочек атома.

<u>При прямом действии</u> излучения с ростом концентрации растворенных молекул <u>число пораженных молекул</u> (мишеней) должно возрастать вследствие повышения вероятности попадания в них кванта излучения.

При этом доля пораженных молекул (от исходной концентрации) должна оставаться неизменной.

При непрямом действии излучения лимитирующим параметром для появления поврежденных молекул в некотором концентрационном диапазоне является не исходная концентрация растворенного вещества, а количество образовавшихся при данной дозе облучения активных продуктов радиолиза воды. Поэтому, начиная с какой-то концентрации растворенного вещества, дальнейшее увеличение концентрации не приводит к росту числа пораженных молекул.

Доля пораженных молекул при непрямом действии излучения снижается с увеличением исходной концентрации этих молекул.

Иными словами отсутствие зависимости числа поврежденных молекул от концентрации растворенных молекул объясняется тем, что, начиная с какой-то концентрации, не всем растворенным молекулам «достаются» активные продукты радиолиза воды, образующиеся в определенном количестве при данной дозе облучения.

<u>Таким образом, что непрямое действие излучения преобладает только в</u> разбавленных растворах.

В качестве критерия для оценки вклада прямого и непрямого действия излучения на какие-либо органические соединения и макромолекулы используют сравнение эффективности облучения этих объектов в растворенном и сухом состоянии. Если в растворенном состоянии эти объекты становятся значительно более чувствительными к облучению, то считают, что существенный вклад в их повреждение вносят продукты радиолиза воды.

В настоящее время считается, что *на уровне клетки* во многих радиобиологических эффектах <u>непрямое действие радиации играет столь же существенную роль, как и</u> прямое действие.

И даже более того, вклад <u>непрямого действия</u> ионизирующего излучения в отношении появления <u>радиационных повреждений таких критических клеточных структур, как молекулы ДНК, достигает 70-90%.</u>

Радиолиз воды

- I. Если энергия кванта ионизирующего излучения составляет более 12,56 эВ, происходит ионизация молекулы воды: $H_2O \xrightarrow{h\nu>12,56$ эВ $} H_2O^+ + e^-$
- т.е. из молекулы воды выбивается электрон.

Образовавшийся положительный ион воды взаимодействует с молекулой воды с образованием иона гидроксония и гидроксильного радикала: $H_2O^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH^\bullet$ а электрон взаимодействует с молекулой воды с образованием гидроксильного иона и радикала водорода: $e^- + H_2O \rightarrow OH^- + H^\bullet$

II. Если энергия кванта ионизирующего излучения менее 12,56эВ, но более 7 эВ, молекула воды переходит в возбужденное состояние и распадается непосредственно с образованием двух радикалов — радикала водорода и гидроксильного радикала: При рекомбинации радикалов H^{\bullet} и H^{\bullet} возникалов H^{\bullet} о H^{\bullet} но H^{\bullet} возникалов H^{\bullet} о H^{\bullet} о H^{\bullet} но H^{\bullet} о H^{\bullet} о H^{\bullet} но H^{\bullet} о H^{\bullet} о H^{\bullet} но H^{\bullet} о H^{\bullet}

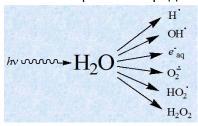
В области рН от 3 до 10 радиационно-химический выход *G* (т.е. колво радикалов или др. продуктов, образовавшихся на 100 эВ поглощенной энергии ионизирующего электромагнитного излучения) для основных продуктов радиолиза воды имеет следующие значения:

 $G_{\mathrm{H}^{ullet}}=0,6$ $G_{\mathrm{OH}^{ullet}}=2,3$ $G_{\hat{e_{\mathrm{aq}}}}=2,3$ $G_{\mathrm{H}_2}=0,45$ $G_{\mathrm{H},\mathrm{O}_1}=0,75$

При наличии в воде растворенного кислорода O_2 количество возможных продуктов, образующихся в результате радиолиза воды возрастает.

Так, например, могут возникать:

- супероксиданионрадикал по реакции: $e_{\mathrm{aq}}^- + \mathrm{O}_2 o \mathrm{O}_2^{ullet}$
- перекисный радикал H-O-O ullet по реакции: $\mathrm{H}^{ullet}+\mathrm{O}_{2}
 ightarrow \mathrm{HO}_{2}^{ullet}$



Как видно из вышеприведенной схемы, среди основных продуктов радиолиза воды есть и радикалы, и нерадикальные продукты <u>Гидроксильный радикалявляется мощным окислителем и считается наиболее активным продуктом радиолиза воды</u>.

Гидратированный электрон также обладает высокой реакционной способностью, однако, уже в качестве восстановителя.

Перекись водорода представляет собой очень неустойчивое соединение и распадается с образованием различных радикальных продуктов (в первую очередь, гидроксильного радикала). В присутствии ионов Fe^{2+} скорость распада перекиси водорода с образованием гидроксильного радикала (реакция Фентона) значительно возрастает (примерно на 3 порядка): $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{3+}$

<u>В результате этих изменений биомолекулы могут изменить свои физико-химические свойства и потерять функциональную активность</u>.

Продукты радиолиза воды не являются чем-то необычным для клетки!

И радикальные, и нерадикальные продукты, образующиеся при радиолизе воды, не являются какими-либо специфическими соединениями, возникающими только в процессе радиолиза. Такие же продукты образуются и в различных метаболических процессах, протекающих в клетке в норме в отсутствие облучения. В нормальных условиях, однако, их уровень существенно ниже.

Большинство из этих радикальных продуктов имеют в своем составе кислород и поэтому получили название <u>активных форм кислорода</u> (АФК).

Повышенный уровень АФК может наблюдаться и при многих других патологических состояниях, а не только при облучении.

Антиокислительные системы



Для предотвращения избыточного накопления АФК и интенсификации деструктивных окислительных процессов в организме имеется сложный комплекс защитных антиоксидантных (антиокислительных) систем ферментативной

и неферментативной природы, которые могут предотвращать образование АФК или осуществлять детоксикацию АФК.

В связи с тем, что гидроксильный радикал ОН* является наиболее сильной АФК, действие антиокислительных защитных систем фактически направлено (либо непосредственно, либо косвенно) на предотвращение его образование или на его удаление.

В свете вышесказанного понятна исключительно важная роль эндогенных антиоксидантных систем как в нормальном клеточном метаболизме, так и при

различных патологиях, сопровождающихся накоплением АФК.

В клетках можно выделить 3 уровня эндогенных защитных ресурсов,

предназначенных для обеспечения сохранности нативного состояния клеток в организме в условиях радиационного воздействия: 1-й уровень защиты – антиоксидантные системы и факторы, обеспечивающие инактивацию активных форм кислорода (АФК), а также других продуктов радиолиза

важные молекулы и структуры клетки; 2-й уровень защиты – системы репарации молекул ДНК, осуществляющие репарацию (восстановление) поврежденных молекул ДНК;

воды и радикалов и предотвращающие их деструктивное действие на жизненно

3-й уровень защиты – системы клеточного апоптоза, обеспечивающие удаление из популяции клеток, в которых не удалось осуществить репарацию поврежденных молекул ДНК.

Билет № 2

1. Поверхностный заряд мембраны. Двойной электрический слой; происхождение электрокинетического потенциала. Влияние рН и ионного состава среды на поверхностный потенциал.

Двойной электрический слой.

Значения потенциала в мембранах малой толщины, сформированных из неполярного растворителя, при отсутствии внешнего поля не отличаются от уровня потенциала в окружающих растворах. На рис. схематично показано, что для таких незаряженных мембран электрический потенциал одинаков на любом удалении от мембраны. Этот вывод не распространяется на мембраны, в структуре которых находятся фиксированные заряды.

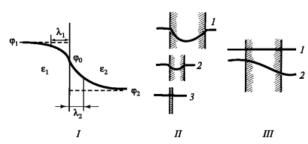


Рис. XVIII.4. Профили распределение потенциала на границе раздела фаз (I), в мембранах разной толщины (II), в тонкой мембране в отсутствие внешнего поля (III, 1) и при наложении разности электрических потенциалов (III, 2):

 ϕ_1,ϕ_2 — электрические потенциалы в объеме фаз; ϕ_0 — электрический потенциал на границе раздела, ϵ_1,ϵ_2 — диэлектрическая проницаемость двух фаз, λ_1,λ_2 — длина экранирования для первой и второй фаз

Наличие фиксированных поверхностных зарядов клеточных мембран приводит к образованию около мембраны двойного электрического слоя, который является важным фактором в протекании многих биоэлектрохимических процессов. Распределение ионов в области заряженной поверхности определяется двумя факторами: электростатическим притяжением, удерживающим противоионы у поверхности, и тепловым движением этих ионов, стремящимся, наоборот, к выравниванию их концентраций в поверхностном слое и объеме.

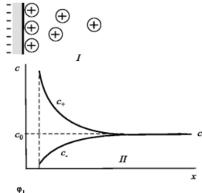


Рис. XVIII.5.

Распределение ионов в двойном электрическом слое:

I — избыточные катионы; II — концентрация ионов на разных расстояниях от поверхности; c_0 — концентрация электролита в объеме, c_+ и c_- — концентрации катионов и анионов; по оси абсцисс отложено расстояние от границы раздела, по оси ординат — концентрация электролита

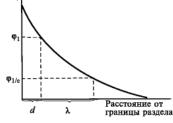


Рис. XVIII.6.

Распределение потенциала φ в двойном электрическом слое:

d — толщина плотного слоя, λ — длина экранирования; φ_1 — потенциал в плоскости максимального приближения свободных катионов

потенциал убывает с увеличением расстояния от мембраны в соответствии с уравнением:

$$\varphi(x) = \frac{2RT}{F} \ln \frac{1 + \alpha \exp(-\varkappa x)}{1 - \alpha \exp(-\varkappa x)}, \qquad \alpha = \frac{\exp \frac{F\varphi_s}{2RT} - 1}{\exp \frac{F\varphi_s}{2RT} + 1},$$

где x — расстояние от границы раздела, х — обратная дебаевская длина а φ_s — поверхностный потенциал, т.е. потенциал на границе раздела

Измеряя с помощью различных методов поверхностный потенциал, удается определить плотность поверхностных зарядов в мембранах.

Поверхностный потенциал мембраны не может быть экспериментально измерен прямыми методами. Можно, однако, измерить другую, близкую величину— электрокинетический потенциал. Дзета- потенциал определяют как потенциал границы скольжения, также отсчитываемый от уровня потенциала в объеме раствора. Граница скольжения определяется первым слоем ионов с их гидратными оболочками и первым слоем молекул воды, смачивающих твердую фазу. Этот слой не перемещается относительно заряженной поверхности и увлекается вместе с мембранной частицей при ее движении относительно жидкости. Полагают дзета<=фи1(из графика). Величину дзета-потенциала можно рассчитать, измеряя скорость движения заряженных мембранных частиц в электрическом поле по

 $\zeta = \frac{\eta v}{\varepsilon \varepsilon_0 E},$ формуле Смолуховского: перемещения частиц, Е — градиент потенциала внешнего электрического поля. Отношение v/E называют электрофоретической подвижностью.

Наличие на поверхности фиксированных электрических зарядов лежит в основе электрокинетических явлений. Было обнаружено явление переноса жидкости под действием внешнего электрического поля, возникающее как в капиллярно-пористых телах, так и в одиночных капиллярах. (электроосмос). Позже было обнаружено возникновение разности потенциалов на пористой мембране при фильтрации через нее воды: разность потенциалов была пропорциональна давлению, под которым протекала жидкость. Это явление, обратное электроосмосу, называется потенциалом течения. Явление, обратное электрофорезу, называется потенциалом оседания и состоит в том, что при оседании заряженных частиц регистрируется разность потенциалов между двумя электродами, расположенными на разной высоте.

Влияние рН и ионного состава среды на поверхностный потенциал.

Катионы щелочных металлов и двухвалентные катионы оказывают влияние на поверхностный потенциал в основном посредством экранирования фиксированных зарядов мембраны. В отличие от этого ионы H+ оказывают свое действие преимущетвенно путем связывания — протонирования соответствующих группировок, т. е. путем влияния на плотность фиксированных зарядов. По этой причине H+ и другие ионы, способные к специфической адсорбции на мембранах, называют потенциалопределяющими ионами в отличие от индифферентных, которые участвуют лишь в экранировании фиксированных зарядов.

2. Свободно радикальные состояния в биологических системах.(это и есть АФК) Активные формы кислорода.

Активные формы кислорода— соединения кислорода с высокой реакционной способностью, окисляющие практически все классы биомолекул — белки, липиды, нуклеиновые кислоты и углеводы. Большинство АФК — продукты неполного (одно-, двухили трёхэлектронного) восстановления молекулярного кислорода.

Наиболее реакционоспособна АФК: Наиболее вредным является гидроксил радикал OH[•].

ИСТОЧНИКИ АФК В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ: МИТОХОНДРИАЛЬНОЕ ДЫХАНИЕ, ЭЛЕКТРОНТРАНСПОРТНЫЕ ЦЕПИ ФОТОСИНТЕЗА,

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ АФК: Ксантиноксидаза , Гликолатоксидаза, Циклооксигеназа , Флавиновые оксидазы, Цитохром P_{450} -зависимые монооксигеназы, Гваяколовая пероксидаза, НАДФН-оксидазы плазматической мембраны.

Образуется: O_2^- , H_2O_2

Оксигеназы - это ферменты, катализирующие активирование O_2 и последующее включение 1 или 2 его атомов в молекулы различных субстратов. Если субстратом (акцептором O_2) служит водород, фермент называют оксидазой. В этом смысле оксидазы можно рассматривать как специализированный класс оксигеназ.

Цитохром Р450-зависимые монооксигеназы — семейство мембранных ферментов, катализирующих расщепление (гидроксилирование) ряда эндогенных и экзогенных соединений с помощью донора электронов НАДФН и молекулярного кислорода:

RH + HAДФH + H
$$^{+}$$
 + O₂ \rightarrow ROH + HAДФ $^{+}$ +H₂O

РОЛЬ АФК В ЗАЩИТЕ ОТ ПАТОГЕНОВ Роберт Эллен с сотрудниками (1971 г.) открыл свечение (хемилюминесценцию) при активации макрофагов и нейтрофилов патогенами

Супероксиддисмутаза: $20_{2}^{-} + 2H^{+} \rightarrow H_{2}O_{2} + O_{2}$

Миелопероксидаза: $H_2O_2 + Cl^-$ → $H_2O + OCl^-$

Реакция Фентона $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^- + HO \cdot + Fe^{3+}$

Реакция Осипова $OCl^{-} + Fe^{2+} \rightarrow Cl^{-} + HO \cdot + Fe^{3+}$

ОБРАЗОВАНИЕ АФК ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Радиолиз воды (разложение воды под действием ионизирующих излучений)

1. Ионизация воды (при поглощении энергии 12,56 эВ и более)

$$H_2O \rightarrow \cdot H_2O^+ + e^-$$

$$\cdot H_2O^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + HO \cdot$$

$$e^{-} + H_2O \rightarrow OH^{-} + H_{-}$$

В присутствии кислорода:

$$O_2 + e^- \rightarrow \cdot O_2$$

 $O_2 + H \rightarrow H - O - O \cdot$ (перекисный радикал)

2. Гомолитический распад (при поглощении энергии 7 эВ и более)

$$H_2O \rightarrow H_2O^* \rightarrow HO \cdot + H \cdot$$

$$HO \cdot + HO \cdot \rightarrow H_2O_2$$

Поглощение ионизирующих излучений молекулами воды приводит к образованию АФК.

АФК повреждают биомолекулы клетки (непрямое действие ионизирующих излучений).

ОБРАЗОВАНИЕ АФК НА СВЕТУ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) — метод лечения онкологических, инфекционных и кожных заболеваний, основанный на применении ФС и света поглощаемого ФС.

Этапы ФДТ

- 1. Введение ФС пациенту.
- 2. Накопление ФС в пораженных клетках (опухоли).
- 3. Облучение пораженного участка лазером (генерация АФК в пораженных клетках).
- 4. Восстановление пораженных участков.
- 5. Направленная ФДТ злокачественных опухолей
- 6. Цели: повышение селективности ФС к раковым клеткам, доставка ФС в главную мишень клетки ядро

Требования к ФС для ФДТ

- 1. Селективность к пораженным клеткам.
- 2. Низкая токсичность.
- 3. Высокая скорость выведения из организма.
- 4. Слабое накопление в коже.
- 5. Высокая люминесценция (диагностика).
- 6. Высокий квантовый выход триплетного состояния.
- 7. Высокое поглощение при 700 900 нм.

критическими мишенями АФК в клетке являются: ДНК, липиды, ключевые белки.

ПОВРЕЖДЕНИЕ БИОМОЛЕКУЛ АФК

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ БИОМЕМБРАН

- 1) Инициирование цепи $X \cdot + LH \rightarrow XH + L \cdot (липидный радикал)$
- 2) Продолжение цепи $L \cdot + O_2 \rightarrow LOO \cdot$ (перекисный радикал липида)

LOO \cdot + LH \rightarrow L \cdot + LOOH (гидроперекись липида)

- 3) Разветвление цепи LOOH + Fe $^{2+}$ (Cu $^+$) → OH $^-$ + Fe $^{3+}$ (Cu $^{2+}$) + LO· (алкоксильный радикал)
- 4) Обрыв цепи $L \cdot + L \cdot \rightarrow LL$

L· + LOO· → LOOL

 $LOO \cdot + LOO \cdot \rightarrow LOH + L=O^* + O_2$

 $L=O^* \rightarrow L=O + hv$ (хемилюминесценция)

получается: Окислительная модификация мембранных белков; Нарушение барьерных свойств липидного бислоя; Уменьшение стабильности бислоя (эл. пробой)

ПОВРЕЖДЕНИЕ БЕЛКОВ

• Окисление аминокислотных остатков

(Cys, Met, His, Pro, Arg, Trp, Phe, Tyr)

- Окисление белкового скелета
- Фрагментация полипептидной цепи
- Образование внутри- и межмолекулярных сшивок

получается ИНАКТИВАЦИЯ БЕЛКА ИЛИ СНИЖЕНИЕ АКТИВНОСТИ

ПОВРЕЖДЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

- Окисление азотистых оснований
- Окисление углевода
- Образование сшивок ДНК-ДНК и ДНК-белок

в итоге: МУТАЦИИ

Физиологическая роль АФК

- 1. АФК образуются в результате естественного метаболизма клеток фагоцитарного звена иммунной системы
- 2. АФК являются побочным продуктом митохондриального дыхания
- 3. Регуляция синтеза медиаторов липидной природы: простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов
- 4. Окислительное разрушение ксенобиотиков, деструкция собственных поврежденных или аномальных клеток
- 5. В качестве сигнальных молекул для регуляция роста, пролиферации и дифференцировки клеток
- 6. Участие в обновлении и модификации клеточных мембран
- 7. Регуляция апоптоза
- 8. Побочный продукт при окислении гемового железа и образовании метгемоглобина

Билет № 3

1. Пассивный транспорт; движущие силы переноса ионов. Электродиффузионное уравнение Нернста-Планка. Уравнения постоянного поля для потенциала и ионного тока. Проницаемость и проводимость. Соотношение односторонних потоков (соотношение Уссинга).

Пассивный транспорт Скорость продуцирования энтропии для потока воды одиночного электролита S и электрического тока I имеет вид

$$\beta = J_{H_2O}\Delta\mu_{H_2O} + J_S\Delta\mu_S + I\Delta\varphi,$$

 $\Delta \mu_{\mathrm{H}_2O},\ \Delta \mu_S,\ \Delta \phi$ разности потенциалов для воды, электролита и электрических зарядов. В этом примере перенос заряженных частиц осуществляется пассивно под действием разности электрических потенциалов и концентраций вещества по обе стороны мембраны. Состояние вещества в фазе определяется электрохимическим потенциалом, который складывается из химического потенциала вещества

и электрического потенциала фазы: $\bar{\mu}=\mu+nF\phi$, F — число Фарадея; n— число электронов, переносимых в элементарном акте окислительно-восстановительной реакции. При равновесии I и II фаз имеет место равенство

$$\bar{\mu}_{\rm I} = \bar{\mu}_{\rm II},$$
 или $\mu_{0\rm I} + RT \ln[c]_{\rm I} + nF \varphi_{\rm I} = \mu_{0\rm II} + RT \ln[c]_{\rm II} + nF \varphi_{\rm II}.$

$$I = -D \frac{dC}{dx}$$
, $D = RTu$.

, I-поток в-ва, u-проводимость в Транспорт неэлектролитов: среде. В случае тонкой мембраны, когда градиент концентрации постоянен:

$$I = P(C_1 - C_2), P = \frac{D\gamma}{h} = \frac{RTu\gamma}{h}$$

реде. в случае голост $I = P(C_1 - C_2)$, $P = \frac{D\gamma}{h} = \frac{RTu\gamma}{h}$ h-толщина мембраны, гамма-распределение в-ва между водной и липидной фазами.

Другим видом пассивного транспорта является облегченная диффузия аминокислот и сахаров. Отличается от простой высокой специфичностью по отношению к транспортируемому в-ву, насыщением скорости диффузии при увеличении концентрации в-ва, чувствительностью к действию определенных ингибиторов.

$$I = Cu \left(-\frac{d\overline{\mu}}{dx} \right)$$

Транспорт ионов.

поток проп-н градиенту э-х потенциала.

$$\overline{\mu} = \mu_0 + RT \ln C + ZF \varphi$$
, $\frac{d \ln C}{dx} = \frac{1}{C} \frac{dC}{dx}$

$$I = -uRT \, rac{dC}{dx} - uCZF rac{d\phi}{dx}$$
 - уравнение Нернста-Планка

$$\Delta \varphi = \frac{u_+ - u_-}{u_+ + u} \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{C_2}{C_1}.$$

 $\Delta \phi = \frac{u_+ - u_-}{u_+ + u_-} \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{C_2}{C_1}.$ -уравнение Гендерсона, когда концентрации анионов и

Когда потенциал меняется линейно, зависимость суммарного пассивного потока иона от р-ти потенциалов на мембране и концентрации этого иона С1 и С2 в фазе самой мембраны на ее краях

$$I = \vec{i} - \vec{i} = \frac{ZF\Delta\phi u}{h} \cdot \frac{C_1 - C_2 \exp(ZF\Delta\phi / RT)}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)}.$$

 $\vec{i} = \frac{ZF\Delta\phi u}{h} \cdot \frac{C_1}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)} \qquad \vec{i} = \frac{ZF\Delta\phi u}{h} \cdot \frac{C_2 \exp(ZF\Delta\phi / RT)}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)}$

$$\vec{i} = \frac{ZF\Delta\phi u}{h} \cdot \frac{C_1}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)} \quad \vec{i} = \frac{1}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)}$$

уравнение для пассивного потока принимает вид:

равнение для пассивного потока принимает вид:
$$ZF\Delta \omega = C_0 = C_1 \exp(ZF\Delta \omega / RT)$$

 $I = \frac{ZF\Delta\phi}{RT} \rho \, \frac{C_0 - C_i \exp(ZF\Delta\phi \, / \, RT \,)}{1 - \exp(ZF\Delta\phi \, / \, RT \,)}, \\ \rho = uRT \, \gamma / h$ к-т проницаемости.

Отношение независимых односторонних токов будет равно:

$$\dfrac{ar{t}}{ar{t}} = \dfrac{C_0}{C_i \exp(ZF\Delta\phi \, / \, RT)}$$
 -соотношение Уиссинга. Критерий независимости одностор. токов. Используется для доказательства пассивного характера транспорта ионов.

токов. Используется для доказательства пассивного характера транспорта ионов.

2. Принцип Франка-Кондона. Флуоресценция. Квантовый выход и время жизни возбужденного состояния.

Как известно, поглощение кванта света молекулами переводит их в возбужденное состояние в результате переброски одного электрона на более высокий энергетический уровень. Обратный переход из возбужденного в основное состояние может сопровождаться испусканием кванта света люминесценции.

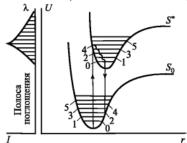


Рис. X.4 Кривые потенциальной энергии основного (S_0) и синглетного возбужденного (S^*) состояний двухатомной молекулы:

U — потенциальная энергия; r — межъядерное расстояние; I — интенсивность поглощения; λ — длина волны; θ –5 — колебательные подуровни ядерных состояний

Разделение внутримолекулярных движений на быстрые электронные и медленные ядерные обусловливает один из фундаментальных законов спектроскопии, связанный с так называемым принципом Франка - Кондона. Каждое электронное состояние So и S* характеризуется своей потенциальной кривой U°(R), U*(R). Движение (колебание) самих ядер происходит в поле, создаваемом быстро движущимися электронами, и U(R) есть потенциальная энергия для движения ядер. Решение квантово-механической задачи для движения ядер показывает, что энергия ядерных колебаний принимает дискретные значение, т. е. квантуется так же, как и энергия электронов. Поглощение света и переход So -> S* происходят практически мгновенно, так что тяжелые ядра не успевают изменить своих положений и скоростей (принцип Франка-Кондона). При этом переходе, изображенном вертикальной стрелкой, повышается запас внутренней колебательной и потенциальной электронной энергии. Причина этого состоит в том, что кривые U°(R) и U*(R) не идентичны.

Таким образом, в силу принципа Франка - Кондона «вертикальные» переходы между электронными состояниями происходят при практически неподвижных ядрах и сопровождаются кратковременным (на 10~12-10~11 с) повышением колебательной энергии молекулы. «Невертикальные» переходы гораздо менее вероятны. Положение максимума спектральной полосы флуоресценции определяется наиболее вероятным переходом S* —- So, а сама величина квантов флуоресценции — потерями энергии электронного возбуждения при переходе на колебательные подуровни состояния So.

Время жизни состояния. Время жизни тау состояния S1 определяется суммарной вероятностью его дезактивации:

$$au=1/(p+q_1+r);$$
 $p+q_1+r=1/ au=10^8\div 10^9\mathrm{c}^{-1}.$ $N_1=N_0\exp[-t(p+q_1+r)]=N_0\exp(-t/ au),$ где N1 — количество

возбужденных молекул в состоянии S1; No — общее число молекул хромофора; затухание флуоресценции в простейшем случае носит также экспоненциальный характер и происходит за время тау $\sim 10^{(-9)} \%10^{8}$ с.

Квантовый выход флуоресценции. Величина квантового выхода (В) определяется как отношение количества квантов флуоресценции, испущенных с уровня S1, к поглощенным квантам и зависит от вероятности дезактивации синглетного

возбужденного состояния по излучательному пути. В отсутствие каких-либо

процессов тушения:

 $B = p/(p + q_1 + r)$ $B = p\tau$.

Если в течение времени жизни возбужденного состояния в среде происходят и другие процессы тушения помимо внутримолекулярной тепловой дезактивации, то

они сокращают выход и длительность флуоресценции: $\tau' = 1/(p - q_1 + r + Q), \quad \tau' < \tau;$ $B' = p/(p + q_1 + r + Q), \quad B' < B, \ \mathbf{Q}$ — вероятность дополнительной дезактивации состояния

Билет № 4

1. <u>Линейные и нелинейные уравнения в математических моделях биологических</u> процессов.

Применимость принципов химической кинетики к анализу метаболических процессов открывает широкие возможности математического моделирования с помощью обыкновенных дифференциальных уравнений

Однако если число переменных велико, а уравнения включают нелинейные члены, как это и имеет место в моделях биологических процессов, то поиски точных аналитических решений исходной системы дифференциальных уравнений встречают серьезные математические трудности. Ясно и то, что далеко не всегда сами по себе решения уравнений дают ответ на вопрос об общих динамических свойствах и механизмах регуляции сложных систем. В этом отношении принципиальное значение в развитии математического моделирования сложных биологических процессов имел отказ от идеи обязательного нахождения точных аналитических решений соответствующих уравнений. Вместо этого на первый план выступают качественные методы анализа дифференциальных уравнений, которые позволяют раскрыть общие динамические особенности биологических систем. Сюда относятся прежде всего свойства стационарных состояний, их число, устойчивость, возможность переключения из одного режима в другой, наличие автоколебательных режимов.

Найти общее решение в аналитическом виде сравнительно легко удается лишь для небольшого класса систем дифференциальных уравнений, обычно линейных. Однако процессы, происходящие в биологических системах, как правило, существенно нелинейны, соответственно нелинейны и модели этих процессов. Так, уже скорость простейшего бимолекулярного взаимодействия описывается математически в виде произведения концентраций реагентов. В модели таких реакций правые части уравнений содержат нелинейные члены, что может создать математические трудности в их решении. В ряде случаев в биологических системах осуществляется известный **принцип узкого места**, согласно которому общая скорость превращения вещества во всей цепи реакции определяется наиболее медленной стадией. Так, если отдельные стадии общего процесса обладают характерными временами Т_i, и наиболее медленная стадия имеет время Т_k такое, что Т_k≫остальных времён, то определяющим звеном будет к-е, а общее время процесса практически совпадает со значением Т_k этого узкого места.

Наличие такой временной иерархии процессов, являющееся объективным свойством системы, позволяет существенно упростить исходную модель, по существу сведя задачу ее кинетического описания к изучению поведения наиболее

медленной стадии. В этом смысле самое медленное звено — управляющее, поскольку воздействие именно на него, а не на более быстрые стадии, может повлиять на скорость протекания всего процесса. Таким образом, хотя биологические процессы и включают огромное число промежуточных стадий, динамические свойства этих систем регулируются сравнительно небольшим числом отдельных звеньев, а следовательно, их кинетическая модель может содержать и существенно меньшее число уравнений.

Одним из важнейших свойств открытых систем является установление в них стационарных состояний в отличие от термодинамического равновесия, свойственного изолированным системам. В связи с этим при рассмотрении общих динамических характеристик модели биологической системы в первую очередь будут изучаться свойства ее стационарных состояний. При этом будут обсуждаться следующие вопросы: существуют ли в системе

стационарные состояния, сколько их, устойчивы ли они, как зависит характер устойчивости от параметров системы,

переходы? По определению, в стационарном состоянии все производные по времени обращаются в

как ведет себя система вблизи стационарных состояний, возможны ли между ними

- нуль
- Устойчивость: особые точки (получаем из характеристического уравнения)
- 1) устойчивый узел (корни действительны и отрицательны); 2) неустойчивый узел (корни действительны и положительны);
- 3) седло (корни действительны и разных знаков); 4) устойчивый фокус (корни комплексны и Re< 0);
- 5) неустойчивый фокус (корни комплексны и ReX=> 0);
- 6) центр (корни—мнимые).

2. <u>Разделение зарядов и перенос электрона в первичных стадиях процессах фотосинтеза. Роль электронно-конформационных взаимодействий.</u>

Первичные процессы фотосинтеза (ППФ) включают несколько этапов: поглощение света хлорофиллом, миграцию энергии поглощенных квантов к реакционным центрам(РЦ) фотосистем, фотохимическое разделение зарядов, процессы переноса электронов пофотосинтетической цепи, сопряженные с запасанием энергии в виде химических связей конечного восстановленного продукта –восстановленного NADP, а также АТР. Весь комплекс ППФ полностьюосуществляется во внутренних мембранах хроматофоров (у бактерий) или хлоропластов (у высших растений и водорослей), содержащихвесь хлорофилл клетки. Для эффективного поглощения энергии квантов света молекулы хлорофилла сгруппированы по несколькосотен и связаны с молекулами мембранных белков, образуя специальные «антенные» комплексы. Существование разных форм, перекрывающих спектрыпоглощения друг друга, обеспечивают эффективную миграцию энергии поглощенных квантов света к РЦ. Передача энергии осуществляется согласно физическим законам от коротковолновых форм пигментов к более длинноволновым, поэтому антенный комплексявляется как бы «воронкой», обеспечивающей эффективную передачу энергии, поглощенной любой молекулой пигмента, на специальные молекулы хлорофилла, являющиеся РЦ фотосистем, каждый из которых функционально тесно связан с донором и акцепторомэлектронов. Возбужденный электрон РЦ передается акцептору электронов, образующийся в РЦ дефицит электрона восполняется переносом электрона от донора. Таким образом, энергия возбужденногоэлектрона не рассеивается в виде тепла или флуоресценции, а используется на образование восстановителя. У высших растений свет возбуждает две фотосистемы (ФС), локализованные в мембране так, чтодонорная сторона ФС находится у внутренней поверхности мембраны, а акцепторная – у наружной. Таким образом, энергия кванта, возбуждая электроны в молекулах хлорофилла, запускает электронныйтранспорт через цепь переносчиков фотосинтетической цепи. Вконечном итоге поток электронов восстанавливает NADP+ доNADPH. Источником электронов в этих реакциях служит у высшихрастений и водорослей окисление воды, сопровождающееся выделением молекулярного кислорода. Освобождающаяся при переносеэлектронов энергия используется для транслокации протонов через мембрану, возникающая в результате разность электрохимическихпотенциалов запускает синтез АТР в реакциях фосфорилирования. Главная особенность самых начальных стадий – высокая скорость переноса электронов, необходимая для обеспечения эффективного первичного разделения зарядов. Начальный акт разделения зарядов в реакционном центре завершается за несколько пикосекунд. Локализация нескольких последовательных переносчиков в пределах одного макромолекулярного комплекса (на расстоянии 5-10 А) облегчает туннелирование электрона, которое является основным механизмом переноса электронов в ЭТЦ фотосинтеза. Трудность в сопряжении разных реакций, составляющих единую ЭТЦ фотосинтеза связана с тем, что разделение зарядов в реакционном центре процесс одноэлектронный, в то время как значительная часть переносчиков ЭТЦ двухэлектронные. Донором электронов в ФС 2 является система разложения воды, выделяющая кислород в четырехэлектронном процессе. Это указывает на необходимость существования механизмов, осуществляющих сопряжение последовательных процессов электронного транспорта

Результаты комплексных исследований конформационной подвижности ПБК с использованием спектральных методов, ЭПР и мессбауеровской спектроскопии, спиновых меток для препаратов в суспензиях, порошках и пленках при различной степени гидратации составили основу теоретических представлений о роли электронно-конформационных

взаимодействий в первичных процессах фотосинтеза. Полученное при идентификации математических моделей различие эффективных значений констант скоростей переноса электронов между отдельными компонентами РЦ на свету и в темноте (масштаб различий 1-2 порядка) подтвердило наличие разных конформационных состояний. Эти состояния, повидимому, отличаются взаимным расположением активных групп донорных и акцепторных компонентов и, как следствие, реакционной способностью и кинетическими характеристиками. В основе молекулярных механизмов ППФ лежат электронноконформационные взаимодействия, обеспечивающие направленные изменения конфигурации переносчиков при приеме или отдаче электрона. Такого рода конформационные изменения регулируют эффективность превращения энергии в фотосинтезе. Скорости реакций переноса электрона зависят от того, в каком конформационном состоянии находится соответствующий переносчик. Конформация переносчиков меняется на свету, значит, и константы скоростей реакций в цепи фотосинтеза будут зависеть от условий предварительного освещения. Например, оказалось, что в бактериальном фотосинтезе константы реакций возврата электрона от первичного и вторичного хинонного акцепторов на пигмент в темноте после выключения света примерно на порядок больше, чем те же константы при условиях постоянного освещения. Это означает, что конформация цепи в области первичного и вторичного хинонного переносчиков принимает на свету такой характер, при котором электрон передается эффективно дальше по фотосинтетической цепи. При выключении света, в условиях, когда электроны не идут вдоль цепи, а возвращаются обратно, меняется и конформация, так что константа возврата становится больше.

Таким образом, константы скорости переноса в цепи меняются в зависимости от условий протекания реакций, тем самым может меняться характер переноса электрона. В определенный момент происходит перенос электрона от донора на акцептор, что означает изменение их электронного состояния. Следовательно, предыдущее конформационное состояние становится неравновесным и в системе развиваются силы, которые стремятся привести ее в другое равновесное состояние.

Когда происходит уход электрона, система вновь переходит в неравновесное конформационное состояние и вновь ищет новое равновесие. Движение по этому конформационному пути носит особый характер. Как известно, плотность белка в нативном состоянии практически равна плотности кристаллического обезвоженного белка. В то же время смещения, которые сопровождают движение молекулярных групп вдоль конформационной координаты, достаточно велики и составляют 1-1,5 Б. Следовательно, они могут осуществляться, если для движения фрагмента белка рядом с ним имеется свободное место, куда может двинуться эта белковая группа. Такого рода свободное место, вакантная "дырка" в белковой глобуле, может перемещаться внутрь белка и достичь окрестности переносчика. Это упрощенная схема движения, которое можно уподобить движению человека в толпе. Если толпа плотная, то рядом с ним нет свободного места и человек не двигается, но когда в толпе появляется свободное место, люди постепенно перемещаются и становится возможным появление свободного места уже непосредственно рядом с этим человеком.

Билет № 5

Фотосенсибилизаторы - вещество, способное к фотосенсибилизации биологических тканей, то есть увеличению их чувствительности к воздействию света

Длинноволновое УФ излучение и видимый свет практически не поглощается НК и белками, для реализации их деструктивного действия большую роль играют фотосенсибилизаторы.

- 1) Фотосенсибилизация с участием O₂. Фотодинамические процессы. Фотовозбуждённый сенсибилизатор вступает в RedOx реакцию с макромолекулами, в результате образуются реакционноспособные радикалы сенсибилизатора и молекулы биологического субстрата. Радикалы вступают в реакцию с кислородом.В другом случае происходит перенос энергии от фотосенсибилизатора на кислород с образованием синглетного кислорода или супероксид-иона. АФК реагируют с биологическими молекулами и повреждают их.
- 2) Фотосенсибилизация без участия O_2 . Фотостатические процессы. Возбуждённый фотосенсибилизатор взаимодействует с субстратом, вызывая его изменение, но не образует с субстратом постоянного соединения.

Возбуждённый фотосенсибилизатор образует устойчивое соединение с субстратом, нарушая его свойства.

Действие УФ излучения на мембраны складывается из действия на мембранные белки и действия на липиды мембран. Свободнорадикальное окисление липидов связано с образованием радикалов жирных кислот под действием активных форм кислорода и перекиси. Образование активных форм кислорода начинается с присоединения электрона к молекуле кислорода.

$$O_2 \xrightarrow{+\overline{e}} O_2^- \xrightarrow{+\overline{e}} H_2O_2 \xrightarrow{+\overline{e}} H\dot{O} + H_2O$$

При этом может образовываться супероксид-ион, перекись и гидроксильный радикал.Эти формы являются очень реакционноспособными и вступают во взаимодействие практически с любыми веществами.Возможно присоединение перекиси по двойной связи жирных кислот липидов. Это приводит к образованию липидных перекисей, которые в свою очередь также являются высокоактивными соединениями. В результате они взаимодействуют друг с другом с образованием поперечных сшивок между липидными молекулами. Этот процесс приводит к увеличению количества упорядоченных молекул с ограниченной подвижностью, повышается проницаемость мембраны. Для ликвидации действия АФК в клетке работают антиоксидантные системы: Супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза и системы, направленные на дезактивацию синглетного кислорода: α-токоферол, β-каротин.Действие на мембранные белки может протекать по фотодинамическому механизму, через образование АФК, а также без участия кислорода при поглощении излучения самими белками. Основные эффекты повреждения связаны с изменением конформации белков.

Фотодинамическое действие.

в основе фотодинамического действия лежит фотосенсибилизированное красителями окисление компонентов клеток кислородом. При этом краситель практически не расходуется, его главная роль состоит в том, что он делает реакции окисления

чувствительными к освещению. В общем случае роль фотосенсибилизатора может играть сам субстрат окисления. Примерами таких эффектов может служить фотоокисление ароматических углеводородов, порфиринов и аминокислот. Фотосенсибилизатором может быть также молекулярный кислород, который, поглощая свет, образует реакционноспособное синглетное состояние. В итоге процессы фотоокисления органических субстратов кислородом соответствуют приведенной ниже схеме, где показано, что такие реакции могут осуществляться за счет

фотовозбуждения красителя (что является наиболее распространенным механизмом и собственно фотодинамическим действием), субстрата или кислорода (рис. 1).

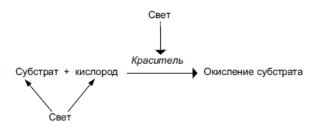


Рис. 1. Фотодинамическое регулирование биологических процессов

Фотодинамическое действие играет важную роль в регуляции метаболизма содержащих пигменты клеток и организмов, как например, фотосинтезирующие растения и зрительные фоторецепторы. В фотосинтетическом аппарате обусловленное собственным хлорофиллом фотодинамическое окисление приводит к фотоингибированию фотосинтеза, которое выполняет защитную функцию, так как снижает эффективность фотосинтеза при избыточной освещенности и помогает диссипировать в тепло избыток поглощенной энергии. При более высоких интенсивностях света

возможно полное подавление активности хлоропластов в результате повреждения фотосинтетических мембран. Однако устойчивость фотосинтетического аппарата к фотодинамическому действию исключительно высока в результате действия выработанных в процессе эволюции и закрепленных генетически эффективных защитных систем

Первый и второй законы термодинамики в биологии.

Характеристические функции и их использование в анализе биологических процессов. Расчеты энергетических эффектов реакций в биологических системах.

Первый и второй законы термодинамики в биохимии

Напомним вначале содержание основных законов классической термодинамики и результаты их применения в биологии. Согласно первому закону количество теплоты δQ , поглощенной системой из внешней среды, идет на увеличение ее внутренней энергии d U и совершение общей работы δA , которая включает работу против сил внешнего давления P по изменению объема d V системы и максимально полезную работу $\delta A'_{max}$, сопровождающую химические превращения: $\delta Q = dU + \delta A$, где работа $\delta A = p dV + \delta A_{max}$ или $\delta Q = dU + p dV + A'_{max}$. Опытная проверка первого закона проводилась в специальных калориметрах, где измеряется теплота, выделенная организмом в процессах метаболизма, при испарениях, а также вместе с продуктами выделения. Поступающие в организм питательные вещества распадаютсяс освобождением заключенной в них свободной энергии, которая и используется для жизнедеятельности. Опыты проводились для реакций основного обмена на сравнительно коротком промежутке времени, когда не происходит накопления биомассы в результате роста и не совершается значительной работы. Оказалось, что выделенная организмом теплота полностью соответствует энергии, поглощенной вместе с питательными веществами. Справедливость первого закона

означает, что сами по себе организмы не являются независимым источником какой-либо новой энергии.

Второй закон термодинамики дает критерий направленности самопроизвольных необратимых процессов. Всякое изменение состояния системы описывается соответствующим изменением особой функции состояния энтропии S, которая определяется суммарной величиной поглощенных системой приведенных теплотQ/T,

Малое изменение энтропии dS равно для равновесных или больше для неравновесных процессов, чем поглощенная системой элементарная приведенная теплота $\delta Q/T$: dS> δQ /T

В изолированных системах $\delta Q = 0$ и, следовательно, dS > 0.

В этом и состоит эволюционный критерий направленности необратимых изменений в изолированных системах, которые всегда идут с увеличением энтропии до ее максимальных значений при окончании процесса и установлении термодинамического равновесия. Увеличение энтропии означает падение степени упорядоченности и организованности в системе, ее хаотизацию.

Нас будет интересовать связь между термодинамическими параметрами и величиной максимально полезной работы $\delta A'_{max}$, которая характеризует внутренние необратимые химические превращения в системе. Из выражения для первого закона определитьприпереходе из одного состояния в другое однозначно нельзя, так как величина δQ зависит от пути перехода. Однако, удается найти особые характеристические функции, изменение которых при определенных условиях равно $\delta A'_{max}$ Вбиохимических процессах наибольшее значение имеют свободная энергия F

F = U - TSи полный термодинамический потенциал G, или энергия Гиббса,G = U + pV - TS.

Если процессы идут при постоянныхT, V=const, то $\delta A'_{max} \le d(U-TS) = TdS-dU = - (dF)_{T,v}$, а при $T_v p$ = const

 $\delta A'_{max}$ ≤-d(U+pV-TS)=TdS-dU-PdV=-(dG)_{Т.Р.}, где знак неравенства соответствует необратимым процессам. Таким образом, совершение полезной работы $\delta A'_{max}$, сопровождается убылью свободной энергии и энергии Гиббса в необратимых процессах. Заметим, что обычно в биохимических превращениях изменением объема системы можно пренебречь, $dV \approx 0$ и поэтому величины dFи dGпрактически совпадают. Классическая термодинамика позволяет вычислять энергетические эффекты и соответственно определять направление и воможность сопряжения различных биологических процессов. Зная константу равновесия (К) какой-либо химической реакции, можно найти значение ΔG_o , которое соответствует убыли ΔG при переходе от начального неравновесного состояния смеси, где все концентрации были равны единице, до конечного равновесного состояния ΔG_0 = -RTInK,где R-газовая постоянная (1,987 кал/К/моль или 8,314 Дж/К/моль). Например, в реакции(глюкозо-1-фосфат ↔глюкозо-6фосфат) константа равновесияK = 17, откуда следует, что $\Delta G_0 = -1700$ кал/моль < 0. Отрицательная величина $\Delta G_0 < 0$ показывает, что эта реакция в стандартных условиях протекает самопроизвольно и сильно сдвинута вправо, на что указывает и большая величина K = 17 »1. Аналогично гидролиз АТФ, протекающий с отщеплением остатка фосфорной кислоты и переносом его на воду (аденозин - Ф ~ Ф + Н₂О ↔аденозин Ф ~ Ф + H_3PO_4) , характеризуется отрицательной величиной $\Delta G_0 = 7$ ккал/моль. Освобождение относительно большой порции энергии при гидролизе АТФ и делает связь Ф~Ф в АТФ макроэргической по сравнению с другими реакциями переноса групп. Сравнивая значения

 ΔG_{o} для разных процессов, можно определить, возможно ли их сопряжение, когда один процесс (сопряженный) идет с увеличением ΔG_0 за счёт уменьшения ΔG_0 в другом процессе (сопрягающем). Так, окисление молекулы глюкозы в процессе дыхания сопровождается

уменьшением $\Delta G_o = -678$ ккал/моль. Это равно увеличению ΔG_o в процесс фотосинтеза при образовании молекулы глюкозы из воды и СО2. Таким образом, с термодинамической точки

простых процессов. Образование ацетилфосфата в реакции фосфорилирования(ацетил КОА + фосфат \leftrightarrow ацетилфосфат + KOA)проходит с увеличением $\Delta G_0^{=}$ 3 ккал/моль > 0 и может быть легко обеспечено при сопряжении с гидролизом АТФ или с реакцией (глюкозо-1-фосфат +

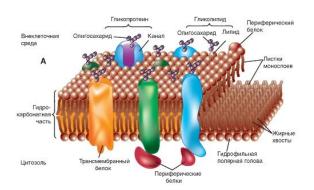
зрения сопряжение фотосинтеза и дыхания является возможным. Этот же подход применяется, когда ставится задача определить возможность сопряжения и других более

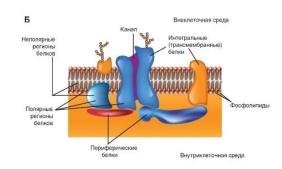
 H_2O ← глюкоза + фосфат), где $\Delta G_0^=$ - 4,8 ккал/мол

Билет № 6

1. Структурная организация биологической

мембраны. Биологическую мембрану можно рассматривать как электрический конденсатор (рис. 1.1), в котором пластинами являются электролиты наружного и внутреннего растворов (внеклеточного и цитоплазмы) с погруженными в них головамилипидных молекул. Проводники разделены диэлектрическимслоем, образованным неполярной частью липидных молекул -двойным слоем их хвостов. Липиды -диэлектрики с диэлектрической проницаемостью $e^{\sim} 2$. Емкость плоского конденсатора С= $\frac{arepsilon arepsilon S}{d}$, где электрическая постоянная eo= 8,85 • 1012 Ф/м, d - расстояние между пластинами конденсатора, S - площадь пластины. Отсюда можно найти расстояние между пластинами конденсатора, соответствующее в нашем случае толщине липидной части мембраны≈3,5 нм. Это как раз соответствует по порядку величины толщине неполярной части бимолекулярного слоя липидов, сложенных определенным образом.





Современное представление о структуре мембраны. Совокупность результатов, полученных физическими и химическими методами исследования, дала возможность предложить новую жидкостно-мозаичную модель строения биологических мембран. Структурную основу биологической мембраны образует двойной слой фосфолипидов, инкрустированный белками. Различают поверхностные (или периферические) и интегральные белки. Липиды находятся при физиологических условиях в жидком агрегатном состоянии. Это позволяет сравнить мембрану с фосфолипидным морем, по которому плавают белковые "айсберги". Одним из подтверждений жидкостно-мозаичной модели является и тот факт, что в разных мембранах соотношение между содержанием белков и фосфолипидов сильно варьирует: в миелиновой мембране белков в 2,5 раза меньше, чем липидов, а в эритроцитах, напротив, белков в 2,5 раза больше, чем липидов. При этом, согласно современной модели, соотношение количества белков и липидов во всех мембранах должно быть примерно одинаково. Тот факт, что не вся поверхность биологической мембраны покрыта белками, показал и метод ЯМР. Так, например, более чем половина поверхности мембраны кишечной палочки образована полярными головами липидов.

Кроме фосфолипидов и белков, в биологических мембранах содержатся и другие химические соединения. В мембранах животных клеток много холестерина (в сравнимом количестве с фосфолипидами и белками). Есть в мембранах и другие вещества, например гликолипиды, гликопротеиды. Жидкостно-мозаичная модель строения мембраны в настоящее время общепринята. Однако, как всякая модель, она дает довольно упрощенную картину строения мембраны. В частности, обнаружено, что белковые "айсберги" не всегда свободно плавают в липидном море, а могут быть "заякорены" на внутренние (цитоплазматические) структуры клетки. К таким структурам относятся микрофиламенты и микротрубочки . Микротрубочки - полые цилиндры диаметром около 300 нм из особого белка (тубулина) играют, по-видимому, важную роль в функционировании клетки. Выяснилось также, что не все липиды в мембране расположены по принципу бислоя.

Физические методы исследования показали, что липидная фаза мембран содержит также участки, где липидные молекулы не образуют двойной слой.

Основная область приложения биофизики - структурная основа мембраны, а именно двойной слой фосфолипидных молекул. Молекула фосфолипида лецитина содержит полярную голову (производную фосфорной кислоты) и длинный неполярный хвост (остатки жирных кислот). В голове фосфолипидной молекулы

лецитин имеются две заряженные группы, расположенные на некотором расстоянии друг от друга. Два разноименных заряды, равные по абсолютной величине, образуют электрический диполь. В мембранах содержатся разные фосфолипиды. Например, в мембране эритроцитов их около 20 видов. Варьирует химическая формула полярной головы молекулы. У некоторых фосфолипидов головы кроме двух зарядов противоположного знака, создающих дипольный момент, но оставляющих молекулу в целом нейтральной, несут один некомпенсированный отрицательный заряд, вследствие чего молекула оказывается заряженной отрицательно. Углеводородные хвосты фосфолипидной молекулы содержат приблизительно 20 атомов углерода, в хвосте может быть 1-4 двойных ненасыщенных связей.

Полярные головы молекул фосфолипидов - гидрофильны, а их неполярные хвосты - гидрофобны. В смеси фосфолипидов с водой термодинамически выгодно, чтобы полярные головы были погружены в состоящую из полярных молекул воду, а их неполярные хвосты были бы расположены подальше от воды. Такое расположение амфифильных (имеющих и гидрофильную, и гидрофобную части) молекул соответствует наименьшему значению энергии Гиббса по сравнению с другими возможными расположениями молекул. Очень существенным является то обстоятельство, что молекулы фосфолипидов имеют два хвоста. Такая молекула в пространстве имеет форму, близкую к цилиндру . Из молекул фосфолипидов в водной среде происходит самосборкабислойной мембраны. Присутствие молекул с одним хвостом (лизолецитин), имеющих в пространстве форму, близкую к конусу, разрушает клеточные мембраны. Фосфолипидные молекулы, лишенные одного из хвостов, образуют поры в бислойной мембране, нарушается барьерная функция мембран.

Характеристика мембранных белков и липидов.

Характеристика мембранных белков Интегральные белки

Периферические белки

Глубоко внедрены в мембранную структуру и не могут быть удалены из мембраны без её разрушения.

Локализованы на поверхности бислоя и экстрагируются растворами солей или просто водой.

Амфифильные глобулярные структуры, центральная погружённая часть — гидрофобна, концевые участки — гидрофильны.

Глобулярные гидрофильные структуры.

Удерживаются в липидномбислое за счёт гидрофобных взаимодействий с углеводородными цепочками жирных кислот.

Удерживаются на поверхности бислоя за счёт ионных взаимодействий с полярными участками фосфолипидов и интегральных белков.

По выполняемым функциям белки в составе мембран делятся на:структурные;каталитические;рецепторные;транспортные.

Большинство липидов в мембранах млекопитающих представлены фосфолипидами, гликосфинголипидами и холестеролом.

Фосфолипиды в составе мембран подразделяются на две

группы: глицерофосфолипиды и сфингомиелины.

Глицерофосфолипиды – представляют собой сложные эфиры трёхатомного спирта глицерола, двух остатков жирных кислот и

фосфорилированногоаминоспирта. Сфингофосфолипиды (сфингомиелины) являются производными аминоспиртасфингозина

Холестерол — одноатомный циклический спирт. Это один из главных компонентов плазматической мембраны клеток млекопитающих, в меньшем количестве может присутствовать также в митохондриях, мембранах комплекса Гольджи, ядерных мембранах. Особенно много его в нервной ткани.

Характерной особенностью мембранных липидов является их амфифильность — наличие в молекуле одновременно гидрофобных и гидрофильных участков.

Амфифильностьхолестерола выражена слабо – циклическая структура и боковой радикал гидрофобны, и только гидроксильная группа гидрофильна.

Фазовый переход.

Фазовый переход – это переход липидов мембраны из кристаллического в жидкокристаллическое состояние. Уменьшает длину жирной кислоты (на 0,13 нм), отодвигает ее (на 0,15 нм) и увеличивает свободный объем липида (на 0,05 нм³), образуя «кинк»;

$$D_k = 0.5v (dL)^2$$

 D_k — коэффициент диффузии «кинка»; v - частота перескока «кинка» dL - шаг скачка «кинка»; при v = 10^{10} c $^{-1}$ D= 10^{-5} cm 2 / c

Доля жидкой фазы равна
$$\alpha = \frac{m_l}{m_l + m_s}$$

Бислойная липидная фаза биологических мембран соответствует смектическому жидкокристаллическому состоянию (молекулы параллельны друг другу и располагаются слоями). Жидкокристаллические структуры очень чувствительны кизменению температуры, давления, химического состава, электрическому полю. Это определяет динамичность липидных бислойных мембран - изменение их структуры при различных, даже небольших изменениях внешних условий или химического состава. При изменении условий вещество может перейтив другое фазовое состояние

Латеральная подвижность и флип-флоп переходы.

Высокая подвижность липидных молекул обусловливает латеральную (боковую) диффузию. **Латеральная диффузия** — это хаотическое тепловое перемещение молекул липидов и белков в плоскости мембраны. При латеральной диффузии рядом расположенные молекулы липидов скачком меняются местами и

вследствие таких последовательных перескоков из одного места в другое молекула перемещается вдоль поверхности мембраны. Среднее квадратичное перемещение SKB

молекул при диффузии за время t можно оценить по формуле Эйнштейна: SKB= $2\sqrt{Dt}$. Зная SKB, можно найти значение коэффициента латеральной

диффузии D. Перемещение молекул по поверхности мембраны клетки за время t определено экспериментально методом флюоресцентных меток - флюоресцирующих молекулярных групп. Флюоресцентные метки делают флюоресцирующими молекулы, движение которых по поверхности клетки можно изучать, например, исследуя под микроскопом скорость расплывания по поверхности клетки флюоресцирующего пятна, созданного такими молекулами. Остроумный прием, используемый с целью определения скорости перемещения флюоресцирующих молекул - фотообесцвечивание. В клетку вводят молекулы, меченые флюоресцентными метками, а затем небольшой участок клеточной поверхности (несколько квадратных микрометров) облучают лазерным лучом. Под действием лазерного излучения молекулы теряют способность флюоресцировать. Измеряя скорость восстановления флюоресценции в обесцвеченной области по скорости уменьшения радиуса обесцвеченного пятна, получают оценку скорости латеральной диффузии. Оказалось, что среднее квадратичное перемещение за секунду фосфолипидной молекулы по поверхности мембраны эритроцита составило около 5 мкм, что сравнимо с размерами клеток. Таким образом, за секунду молекула может обежать всю поверхность небольшой клетки. Обнаруженное среднее квадратичное перемещение белковых молекул составило около 0,2мкм за секунду.

Рассчитанные по формуле Эйнштейна коэффициенты латеральной диффузии для липидов D = $6 \cdot 10^{-12} \,\mathrm{m}^2$ / с, для белков D≈ $10^{-14} \,\mathrm{m}^2$ / с.

Частота перескоков (число перескоков в секунду) молекулы с одного места на другое вследствие латеральной диффузии может быть найдена по формуле: $v=2\sqrt{3}\frac{D}{f}$, где f -

площадь, занимаемая одной молекулой на мембране.

Для молекул фосфолипидов Djmn= $6 \cdot 10^{-12} \, \text{m}^2 / \text{c}$, $f \sim 7 \cdot 10^{-19} \, \text{m}^2$. Для этих значений частота перескоков $v = 3 \cdot 10^7 \, \text{c}^{-1}$. Каждая молекула, таким образом, в среднем претерпевает десятки миллионов перестановок в плоскости мембраны за секунду, то есть характерное время одного перескока $\tau = 10^{-7} - 10^{-8} \, \text{c}$.

Флип-флоп- это диффузия молекул мембранных фосфолипидов поперек мембраны. Скорость перескоков молекул с одной поверхности мембраны на другую (флип-флоп) определена методом спиновых меток в опытах на модельных липидных мембранах - липосомах

Частьфосфолипидныхмолекул, изкоторыхформировались

липосомы, метилисьприсоединенными к ним спиновыми метками. Липосомы подвергались воздействию аскорбиновой кислоты, вследствие чего неспаренные электроны на молекулахпропадали: парамагнитные молекулы становились диамагнитными, что можно было обнаружить по уменьшению площадипод кривой спектра ЭПР.Сначала "нейтрализовались" неспаренные электроны молекул, расположенных на внешних поверхностях липосом, что приводило к уменьшению числа неспаренных электронов в два раза. ЭПР затем определялся спин-метками на внутренних, не доступных действию аскорбиновой кислоты поверхностях липосом. Однако площадь под спектрами ЭПР продолжала понижаться, что свидетельствовало об уменьшении числа неспаренных электро-нов. Это объяснялось перескоками меченных спин-метками молекул с внутренней поверхности бислойной мембраны липосомына внешнюю - флип-флопом. По скорости уменьшения интенсивности сигнала ЭПР установлено, что половина меченых молекул претерпевает флип-флоп примерно за 6,5 часов, поскольку примерно через это время площадь под кривой спектра ЭПР (а следовательно, число неспаренных электронов) уменьшалась в два раза. Таким образом, перескоки молекул с одной поверхности бислоя на другую (флип-флоп) совершаются значительно медленнее, чем перескоки при латеральной

молекулы из одного места в соседнее в плоскости мембраны.Сочетание быстрой диффузии молекул вдоль мембраны и очень медленной диффузии поперек мембраны имеет большое значение для функционирования мембран, а именно для матричной функции мембраны. Благодаря затрудненному переходу поперек мембраны поддерживается упорядоченность в молекулярной структуре мембраны, ее анизотропия, асимметрия (относительно плоскости

мембраны) расположения липидных ибелковых молекул, определенная ориентация белков-

ферментовпоперек мембраны. Этоимеетбольшоезначение, например, для

направленного переноса веществ через мембрану.

диффузии. Среднее время, через которое фосфолипидная молекула совершает флип-флоп (Т ≈1 час), в десятки миллиардов раз больше среднего времени, характерного для перескока

2. Виды ионизирующих излучений. Общая физическая характеристика. Граница между ионизирующим и неионизирующим электромагнитным излучением.

<u>Ионизирующим излучением</u> называют излучение, взаимодействие которого с веществом приводит к образованию положительно или отрицательно заряженных ионов. Ионизация обычно происходит путем отрыва электрона с внешних электронных оболочек атома. Для большинства химических элементов, входящих в состав биологического материала, для их ионизации необходима энергия от 10 до 70 эВ.

<u>Ионизирующие излучения</u>

А) Корпускулярные излучения (β , α , Протонное излучение; Нейтронное; Электронное)

<u>В-излучение</u>: возникает при β -распаде радионуклида.

<u>Нуклид</u> – это разновидность атомов со строго определенным числом протонов и нейтронов в ядре.

<u>Радионуклид</u> (т.е. радиоактивный нуклид) — это нуклид, ядро которого нестабильно, т.е. распадается, превращаясь в ядро атома другого элемента. Различают β^- -излучение и β^+ -излучение.

При β -распаде испускаемый из ядра электрон e^- (т.н. β -частица) возникает при превращении нейтрона в протон, что сопровождается образованием еще одной частицы — антинейтры н ϕ : $e^- + \widetilde{\nu}$

Поэтому при β -распаде заряд атомного ядра (т.е. атомный номер) увеличивается на 1 ед. (Z' = Z + 1), а массовое число не изменяется

При β^{+} -распаде испускаемый из ядра позитрон e^{+} (т.н. β^{+} -частица) возникает при превращении протона в нейтрон, что сопровождается образованием еще одной частицы — нейтрино: $p \to n + e^{+} + v$

Поэтому при β^+ -распаде заряд атомного ядра (т.е. атомный номер) уменьшается на 1 ед. (Z' = Z - 1), а массовое число не изменяется

 β -Излучение характеризуется <u>непрерывным энергетическим спектром</u>: энергии испускаемых β -частиц, а варьируют почти от 0 до некоторого максимального значения $E_{\text{макс}}$. Это объясняется тем, что не вся энергия, высвобождающаяся при β -распаде достается β -частицам.

При β -распаде высвобождающаяся энергия распределяется между электроном и антинейтрино, а при β +распаде — между позитроном и нейтрино. Максимальная энергия ($E_{\text{макс}}$) β -частиц обычно лежит в диапазоне от 10 кэВ до 3 МэВ.

α-излучение

lpha-Излучение представляет собой поток lpha-частиц, образующихся при lpha-распаде радионуклидов.

 α -Распад заключается в том, что из ядра радионуклида выбрасывается частица (называемая α -частицей), которая состоит из двух протонов и двух нейтронов, т.е. представляет собой ядро атома гелияПри α -распаде атомный номер уменьшается на 2 единицы (Z' = Z - 2), массовое число A — на 4 единицы (A' = A - 4). α -Частицы — это высокоэнергетичные частицы. При выходе из ядра α —частицы имеют начальную кинетическую энергию в основном в диапазоне от 2 МэВ до 11 МэВ. Спектр α -излучения (т.е. энергетическая зависимость частоты встречаемости α -частиц) является <u>линейчатым</u> (дискретным). Часто при α -распаде испускается не одна, а несколько групп α -частиц, каждая из которых обладает определенной энергией, и следовательно энергетический спектр состоит из нескольких дискретных линий.

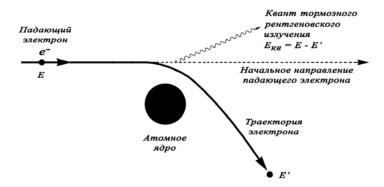
Б)Электромагнитныеизлучения (ЭМИ): у-излучение, Рентгеновское излучение

ү-излучение и рентгеновское излучение являются ионизирующими <u>электромагнитными</u> излучениями.

Основное отличие ү- и рентгеновского излучений заключается В ИХ ПРОИСХОЖДЕНИИ!!!

у-ИЗЛУЧЕНИЕ — это электромагнитное излучение, возникающее: 1) при ядерных превращениях (в частности, при радиоактивном распаде) — т.е. имеет ядерное происхождение 2) при аннигиляции частицы и античастицы (например, электрона и позитрона). Энергия у-квантов различных у-излучателей варьирует в основном от 10 кэВ до 3 МэВ, но при некоторых ядерных реакциях может достигать 20 МэВ. Спектр у-излучения (т.е. зависимость частоты встречаемости квантов от их энергии) является линейчатым (дискретным), т.е. состоит из дискретных линий. Объясняется это тем, что ядра могут находится только в определенных энергетических состояниях, и переход из одного состояния в другое происходит скачкообразно. Например при аннигиляции пары электрон— позитрон образуются обычно 2 у-кванта (разлетающихся в противоположных направлениях), энергия каждого из которых составляет 0,511 МэВ, что является энергетическим эквивалентом массы позитрона и электрона.

<u>Рентгеновское излучение</u> — электромагнитное излучение, возникающее:при торможении быстрых электронов в поле ядра атома вещества (это т.н. тормозное рентгеновское излучение; оно имеет непрерывный спектр);



при переходах электронов с внешней оболочки (т.е. с более высокой по энергии оболочки) на имеющуюся вакансию на внутренней оболочке. Это т.н. характеристическое рентгеновское излучение; оно имеет линейчатый спектр. Энергия кванта характеристического рентгеновского излучения равна разности между энергиями, характерными для этих двух электронных оболочек.

Если на внутренней электронной орбите (оболочке) имеется вакансия, то электрон, находящийся на более высокой электронной орбите (оболочке), переходит на эту вакансию. Его избыточная энергия сбрасывается в виде кванта ЭМИ, получившего название "характеристическое рентгеновское излучение".

Вакансия на внутренней оболочке появляется:

1) при действии проходящего через вещество электрона, когда он выбивает орбитальный электрон с одной из внутренних электронных оболочек атома; 2) при действии проходящего через вещество гамма-кванта, когда он выбивает орбитальный электрон с одной из внутренних электронных оболочек атома; 3) при одном из видов β-распада — т.н. электронном захвате, когда ядром атома захватывается орбитальный электрон (чаще всего с *К*-оболочки, реже с *L*-оболочки).

Энергия рентгеновского излучения обычно лежит в пределах от 0,12 кэВ до нескольких сотен кэВ .В медицинских рентгеновских трубках обычно не превышает 250 кэВ. Но на

современных ускорителях может генерироваться тормозное рентгеновское излучение с энергией до нескольких сотен и даже тысяч Мэв.

В качестве границы между ионизирующим и неионизирующим ЭМИ принимают значение энергии кванта, равное 12,5 эВ (что соответствует энергии кванта, необходимой для

ионизации молекулы
$$H_2O$$
)
$$E = hv = \frac{hc}{r^2}$$

где c — скорость света (3 · 10^8 м/c), h — постоянная Планка (6,626 · 10^{-34} Дж · c),1 Дж = 6,24 · 10^{18} эВ,получаем, что значению энергии кванта 12,5 эВ соответствует длина волны $\lambda \approx 100$ нм: $\lambda = \frac{hc}{E} = \frac{6,626 \cdot 10^{-34} \, \text{Дж} \cdot \text{c} \times 6,24 \cdot 10^{18} \, \frac{\text{эВ}}{\text{Дж}} \times 3 \cdot 10^8 \, \text{м/c}}{12.5 \, \text{sP}} \approx 10^{-7} \, \text{м} = 100 \, \text{нм}$

IM:
$$\lambda = \frac{hc}{10^{-34} \text{ J/m} \cdot \text{c} \times 6,24 \cdot 10^{16} \frac{32}{10^{-3}} \times 3 \cdot 10^{6} \text{ M/c}}{20^{-7} \text{ M}} = 100 \text{ HM}$$

M:
$$\lambda = \frac{hc}{\lambda} = \frac{6,626 \cdot 10^{-34} \, \text{Дж} \cdot \text{c} \times 6,24 \cdot 10^{18} \, \frac{\text{JB}}{\text{Дж}} \times 3 \cdot 10^{8} \, \text{M/c}}{\text{Дж}} \approx 10^{-7} \, \text{M} = 100 \, \text{HM}$$

Билет 7

1. Типы объемных взаимодействий. Критерии устойчивости макромолекул

Все взаимодействия между атомами независимо от их конкретной физической природы при формировании различных макромолекулярных структур и переходов между ними можно разделить на два типа: взаимодействия ближнего порядка между атомами соседних звеньев и дальние взаимодействия или <u>объемные эффекты</u> между атомами, которые хотя и отстоят по цепи далеко друг от друга, но случайно сблизились в пространстве в результате изгибания цепи. Если в макромолекуле полностью отсутствуют всякие объемные взаимодействия, то она не имеет достоверной пространственной структуры. Соответственно, конформация реальной макромолекулы существенно зависит от характера объёмных взаимодействий. Если объемные взаимодействия сводятся к взаимному отталкиванию сближающихся звеньев (или эффекту исключённого объёма - запрету для др. звеньев попадать внутрь данного звена), то макромолекула оказывается в состоянии набухшего клубок В том случае, когда объёмные взаимодействия определяются в основном притяжением между звеньями, макромолекула "конденсируется сама на себя" и принимает конформацию так называемой глобулы В глобуле флуктуации плотности малы по сравнению с самой плотностью а радиус корреляции флуктуаций плотности много меньше размеров всей макромолекулы. Как правило, такое образовани обладает высокой биохимической активностью.

При нагревании глобул происходит денатурация, плотное образование разрушается и биохимическая активность исчезает. Говорят, что глобула превращается в клубок. Существует температура, при которой отталкивание мономеров полностью компенсируется их взаимным притяжением - «тета» точка, в ней отсутствуют объемные взаимодействия. (отсюда видно, что на самом деле задача о устойчивости — это термодинамическая задача) Внутреняя структура полимерной глобулы может быть аналогична структуре любой конденсированой системы - жидкости, кристаллич. или аморфного твёрдого тела, жидкого или пластического кристалла, однородного или расслоенного раствора, стекла и т. п. Фундаментальный пример П. в глобулярном состоянии - глобулярные белки.(см 29 билет) При изменении внеш. условий конформация полимерной цепи может меняться от клубковой к глобулярной и обратно, соответствующий переход клубок - глобула является фазовым переходом типа конденсации.

О критериях:

Общим критерием стабильности молекулярной структуры является наличие минимума на кривой U(r) зависимости энергии взаимодействия от растояния между взаимодействующими частями.

С термодинамической точки зрения:

Основной смысл рассуждений при нахождении термодинамических критериев устойчивости стационарных состояний, далеких от равновесия, состоит в том, что при отклонении системы от устойчивого стационарного состояния в ней должны возникнуть силы, стремящиеся вернуть ее в первоначальное положение. Допустим, что в устойчивом стационарном состоянии значения скоростей и химического сродства были равны

$$v = \bar{v}, \quad A = \bar{A}.$$

При небольшом возмущении значения у и А станут равными

$$v^* = \bar{v} + \delta v$$
, $A^* = \bar{A} + \delta A$,

где v^* , A^* —значения в возмущенном состоянии; dv, dA величины отклонения от стационарной точки по переменным v и A.

Строгое рассмотрение показывает, что в том случае, если начальное стационарное состояние было устойчивым, произведение величин dr> и dA должно быть положительным. Это обозначается как

$$\beta[\delta S] = \delta v \, \delta A > 0. \tag{VI.1.3}$$

Величина в (VI. 1.3) называется величиной избыточной продукции энтропии в возмущенном состоянии. Ее положительный характер соответствует тому, что система самопроизвольно возвращается из возмущенного состояния назад к первоначальному устойчивому стационарному положению.

Нарушение критерия (VI.1.3) означает, что исходное состояние не было устойчивым и поэтому, покинув его, система не вернется назад. Иными словами, если величина избыточной продукции энтропии отрицательна.

2. Транспорт электролитов. Электрохимический потенциал. Ионное равновесие на границе мембрана-раствор. Профили потенциала и концентрации ионов в двойном электрическом слое.

Существует несколько возможных механизмов прохождения ионов через мембрану: 1) растворение иона в липидной фазе мембраны, диффузия и последующий переход из мембраны в раствор; 2) движение по ионным каналам, являющимся структурными компонентами мембран; 3) транспорт с участием переносчиков.

Тут, речь идет о первом способе т. к. электролит это такое вещ-во которое диссоциирует на ионы.

Движущей силой диффузии служит разность химических потенциалов данного вещества в двух областях, между которыми происходит диффузия. Химический потенциал растворенного вещества мю для условий, при которых вкладом гидростатического давления можно пренебречь, равен

$$\mu = \mu_0 + RT \ln c$$
,

где мю_о — стандартный химический потенциал, зависящий от природы растворителя, а с — концентрация. При больших значениях концентраций с заменяется активностью. Для ионов, движение которых зависит не только от концентрации, но и от электрического потенциала, соответствующим понятием является электрохимический потенциал.

Ионное равновесие между двумя водными растворами, разделенными мембраной, описывается наиболее просто. В случае равновесия по ионам одного типа электрохимические потенциалы иона в обоих растворах одинаковы:

$$RT \ln c_1 + zF\varphi_1 = RT \ln c_2 + zF\varphi_2,$$

$$\Delta \phi = \phi_2 - \phi_1 = \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_1}{c_2}.$$

В условиях электрохимического равновесия суммарные ионные потоки в системе отсутствуют, в противном случае возникает пассивное движение ионов по градиенту электрохимического потенциала. При неодинаковых подвижностях ионов разного вида в жидкости (или в мембране) возникает диффузионная разность потенциалов, которая в отличие от разностей потенциалов в равновесных системах зависит не только от ионных концентраций в соприкасающихся растворах, но и от кинетического параметра — подвижности ионов.

В биологических системах распределение К+ между цитоплазмой животных клеток и средой достаточно хорошо соответствует уравнению Нернста. Однако распределение Na+ в большинстве клеток резко отличается от равновесного. Рассмотрим ионное равновесие на границе вода-неполярный растворитель. Такая система может рассматриваться как модель границы раздела вода-липидная мембрана с диэлектрической проницаемостью 2-3.

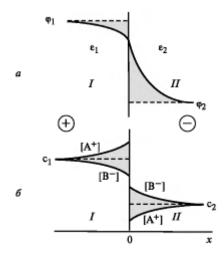


Рис. XVIII.2.

Профили распределения потенциала и концентрации ионов (A^+ и B^-) на границе раздела фаз (I и II):

I — водный раствор ($\varepsilon_1 = 80$), II — масло ($\varepsilon_2 = 2 \div 3$); a — распределение потенциала (ϕ), δ — распределение концентраций (c) катионов и анионов; c_1 , c_2 — концентрации электролитов в объеме фаз I и II; графики относятся к случаю, когда анионы лучше растворимы в неполярной фазе, чем катионы

Возникновение межфазной разности потенциалов связано с разделением зарядов в окрестностях границы раздела и с образованием двойного электрического слоя. Вопрос о характере распределения электрического потенциала в двойном слое, в частности вблизи границы раздела вода-неполярный растворитель, решается на основании одного из основных уравнений электростатики — уравнения Пуассона. Для рассматриваемого одномерного случая (одна пространственная координата — x) это уравнение имеет вид:

$$\frac{d^2\varphi}{dx^2} = -\frac{\rho(x)}{\varepsilon \varepsilon_0},$$

здес ро — это плотность зарядов

Наличие фиксированных поверхностных зарядов клеточных мембран приводит к образованию около мембраны двойного электрического слоя, который является важным фактором в протекании многих биоэлектрохимических процессов.



Рис. XVIII.6.

Распределение потенциала φ в двойном электрическом слое:

d — толщина плотного слоя, λ — длина экранирования; φ_1 — потенциал в плоскости максимального приближения свободных катионов

Ещё немного о транспорте (как мне кажется, дополнительно):

В электродиффузионной модели мембрану рассматривают как непрерывную гомогенную среду, в которой происходит диффузия точечных невзаимодействующих частиц. Суммарный поток произвольного вида ионов ј, движущихся пассивно и независимо в такой гомогенной среде в направлении оси х, пропорционален концентрации ионов, их подвижности и действующей на ион силе. Общее транспортное уравнение имеет вид: поток = концентрация х действующая сила х подвижность.

$$J = -uRT\frac{dc}{dx} - uczF\frac{d\varphi}{dx},$$

где z — валентность иона, Γ — абсолютная температура, R — газовая постоянная, F — число Фарадея. Уравнение называется уравнением электродиффузии или уравнением Нернста—Планка: и описывает диффузию ионов в растворе или в гомогенной незаряженной мембране.

(вроде вывод этого ур-я тут не нужен, смотрите в Зем билете)

Задача описания диффузии заряженных частиц предполагает решение системы двух уравнений, одно из которых — уравнение Нернста—Планка, второе— уравнение Пуассона. Затраты энергии, необходимые для проникновения иона в неполярную фазу, можно оценить по формуле Борна, согласно которой энергия, затрачиваемая на перемещение иона из воды в мембрану, зависит от его радиуса г и диэлектрических проницаемостей воды sB и мембраны е м:

$$W = \frac{z^2 e^2}{2r} (1/\varepsilon_{\text{\tiny M}} - 1/\varepsilon_{\text{\tiny B}}),$$

Билет 8

1. Ионные каналы; теория однорядного транспорта. Ионофоры: переносчики и каналообразующие агенты. Ионная селективность мембран.

Существует несколько возможных механизмов прохождения ионов через мембрану: 1) растворение иона в липидной фазе мембраны, диффузия и последующий переход из мембраны в раствор; 2) движение по ионным каналам, являющимся структурными компонентами мембран; 3) транспорт с участием переносчиков.

Тут, ясен пень, речь идет о втором и третьем.

Каналы. Биологическая мембрана содержит ионные каналы, представляющие собой липопротеиновые комплексы сложной структуры. В узких каналах (натриевый 3,1х5,1 А, калиевый 4,5х4,5 А) возможно однорядное движение ионов, которые могут взаимодействовать друг с другом и с молекулярными группами канала. При поступлении иона в канал происходит замещение молекул воды гидратной оболочки иона на полярные группы полости канала. Увеличение свободной энергии иона при дегитрации с избытком компенсируется энергией его взаимодействия с полярными группами канала. В результате общая энергия иона снижается, что и облегчает его прохождение через канал. Наличие полярных групп, а также фиксированных анионных центров в канале приводит за счет их кулоновских взаимодействий с ионом к снижению энергетического барьера перехода иона из раствора в канал. Лучше всего проходят через канал ионы, которые прочно связываются электростатическими силами с анионным центром. Например, с небольшим отрицательным анионным центром более прочно после потери гидратной оболочки будет связываться меньший по размеру катион Na+ по сравнению с катионом К+. В то же время радиус гидратированного иона Na+ больше, чем K+, и без потери гидратной оболочки ион Na+ хуже проходит через относительно широкие поры в мембране. Наличие в канале фиксированных анионных центров, притягивающих катионы, облегчает их прохождение через канал, снижая энергию иона. На рис. 15.1 и 15.2 приведены энергетические профили Na+- и K+- каналов. Скорость проведения Na+ -канала достигает 10^7 ион/час. Через Na+- канал могут проходить и различные органические катионы размером не больше 3х5 А. В качестве анионного центра могут выступать атомы кислорода группы СОО. Калиевые каналы имеют широкое устье (> 8 А) со стороны цитоплазмы, которое может блокироваться тетраэтиламмонием.

Однорядный транспорт ионов через канал обладает характерными особенностями. Ион относительно долго задерживается в каждой потенциальной яме. Это значит, что второй нон не может попасть в занятую потенциальную яму из-за электростатического взаимодействия (отталкивания) с уже находяннмся там ионом. Перескоки между ямами совершаются иод действием тепловых флуктуаций. Приложенное внешнее электрическое пазе изменяет энергию нона и тем самым влияет на вероятность перескока. Выход из канала иона, связанною анионным центром, облегчается при появлении на входе канала друзою нона вследствие их ион-ионною электростатического отталкивания. Проводимость канала зависит от того, насколько заполнены участки "входа" и "выхода" канала, связывающие ноны. При высоких концентрациях электролита оба участка связывания могуг быть заполнены ионами, что приведет к блокировке канала и насыщению его проводимости. Ясно, что изменение числа частиц в канале изменяет и энергетический профиль канала вследствие кулоновских взаимодействий. Однако конформационные перестройки белка, формирующего ионный канал, могут также изменять высоту энергетического барьера в результате переориентации полярных групп.

Переносчики. Перенос иона через мембрану осуществляется также с помощью транспорта ионофоров (переносчиков). Ионофоры могут образовывать комплексы с ионом либо формировать поры в мембране, заноженные водой (каналы). Закономерности этих процессов изучены на бислойных липидных мембранах. Энергия комплекса ион-переносчик значительно ниже энергии дегидратированного иона. Комплекс ионофора с ионом образуется на одной стороне мембраны, а затем перемещается на другую, где происходит освобождение иона и возвраисние ионофора. Типичным подвижным переносчиком является валиномицин, который транспортирует К+. Катион калия входит во внутреннюю полость валиномицина, причем образовавнияся структура стабилизируется за счет взаимодействия нона с 6-8 полярными группами СО (рис. 15.3), которые заменяют гидратную оболочку иона. Ион Na+, обладающий менышм радиусом, не в состоянии эффективно взаимодействовать екнелородами карбонильных групп. Молекула, валиномицина переносит через БЛМ - 104 ионов/с. Друзой переносчик: нигерицин-образует с ионами комплексы, в которых молекула находится в свернутой конформации. Нигерицпн может переносить и ионы Н+. яаляясь слабой кислотой. Он индуцирует в БЛМ и биологических мембранах обмен Н+ на К+. Молекула ионофора может образовывать комплекс, имеющий водную пору. Внепняя часть молекул в поре гидрофобна, а внутрь канала обращены хорошо поляризуемые группы. Наиболее известен как каналообразующий ионофор — грамицидин

Ионные каналы обладают характерными флуктуациями проводимости вследствие их открывания и закрывания, что отличает канальную проводимость от транспорта при помощи переносчиков. Анализ этих флуктуаций позволяет измерить среднее время открытия канала.

Каналы селективны — это и есть ионная селективность мембран.

Подробнее:

Ионные каналы также можно классифицировать **по селективности** в зависимости от проходящих через них ионов: : натриевые, калиевые, кальциевые, хлорные,протонные (водородные).

Такая избирательность определяется селективным фильтром — самым узким местом канальной поры. Фильтр, кроме узких размеров, может иметь также локальный электрический заряд.

2. Основные положения теории Митчела; электрохимический градиент протонов; энергизированное состояние мембран; мембранный потенциал митохондрий, хлоропластов и хроматофоров бактерий; роль Н⁺-АТФазы.

Одна нз важнейших функций биологических мембран состоит в обеспечении трансформации энергии, сопряженной с преобразованием ее нз одного вида в другой. Это, собственно, и составляет основу биоэнергетических процессов в клетке. Как известно, энергия, необходимая для различных видов жизнедеятельности клетки, утилизируется в виде энергии химических связей молекулы АТФ, синтез которой в живой природе осуществляется главным образом в биологических мембранах митохондрий и хлоропластов (хроматофоров). Во всех этих системах движущей силой является электронный поток, который генерируется в митохондриях за счет окисления субстрата и в хлоропластах - за счет энергии свела. Здесь перенос электрона сопряжен с транслокацией протонов и синтезом АТФ в АТФ-синтезе.

Возможны различные механизмы переноса протона через мембрану при транспорте электрона по цепи переносчиков, которые асимметрично расположены в мембране. Возможно образование в белковой части переносчика протонного канала, проводимость которою зависит от окислительно-восстановительного состояния самого переносчика. Таким образом, переносчик электронов одновременно выполняет функции протонного насоса. Перенос протона может происходить и в результате работы подвижных переносчиков, которые диффундируют через мембрану от одной ее стороны на другую. Они восстанавливаются в ЭТЦ на одной стороне мембраны и одновременно с электроном присоединяют протон, затем, диффундируя на другую сторону мембраны, окисляются и выбрасывают протон в примембранную область. Именно так осуществляются эти функции в мембранах тилаконда в хлороиластах, где таким образом он передает электроны и протоны с наружной (отрицательной) к внутренней (положительной) поверхности. Отметим, что в митохондриях полярность мембраны обратна полярности тилаконда (плюс на наружной, минус на внутренней стороне). В тнлаконде протоны иотреб-ляются нз наружной фазы и переносятся во внутреннюю, которая таким образом подкисляется при работе ЭТЦ. Эго приводит к появлению трансмембранного градиента концентрации прогонов (дельта рН) между наружной и внутренней фазами тилаконда. Одновременно создается и трансмембранная разность электрических потенциалов (дельта ф) за счет увеличения положительного заряда внутри тилаконда при накоплении там положительно заряженных прогонов. Свой вклад в разность электрических иогенциалов на мембране вносит и собственно фогохимнческий перенос электрона на наружную сторону при работе фотосистем ФС І и ФС П. Образуюиесся таким образом электрическое поле (дельта ф) влияет в свою очередь на перенос других проникающих через мембрану ионов, которые в свою очередьнзменяют Дф и влияют на перенос прогонов. В результате наблюдается сложная картина взаимного влияния двух составляющих ДрН и Дф лрансмембранного электрохимического потенциала. В стационарных условиях величина электрохимического градиента на мембране будет зависеть от соотношения скоростей лрансмембранного переноса электрогсн ных ионов, транслокации протонов и потока электронов но ЭТЦ. Хемкосметический принцип сопряжения Митчелла предполагает, что перенос электронов связан с синтезом АТФ именно через образование этой трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода

$$\Delta \bar{q}H^{+} = F\Delta \varphi + 2.3 RT\Delta pH,$$

где дельта фи — разность электрических потенциалов, дельта мю Н — разность концентраций водородных ионов по обе стороны мембраны, F — число Фарадея. Энертя дельта мю используется для синтеза АТФ в специальном ферменте - мембранной АТФ-синтетазе. Надо ясно понимать, что сама по себе величина электрохимического потенциала характеризуел термодинамическую движущую силу синтеза АТФ, но ничего не говорит о молекулярных механизмах этого процесса.

АТФазный комплекс включает растворимую А ГФазу (фактор F1), где происходит синтез АТФ, и мембранную часть (фактор F0, где формируется протонный канал. По этому каналу протоны поступают в гидрофобную область к активному центру, а затем оттуда в воду по др>лую сторону мембраны. Конкретный механизм переноса протонов до конца неясен, но, вероятно, он представляет собой эстафетную передачу протона по донорно-акцепторным группам аминокислот (арг, тир, ту).

Фактор F1 является полуфункциональным белком, включает несколько субъединиц и обладает сложной четвертичной структурой. Работа АТ-Фазы сопровождается кооперативными к он формационным и перестройками, затрагивающими четвертичную структуру. Каким же образом

энергия дельта мю н+ может использоваться в этом макромолекулярном устройстве для синтеза АТФ? Прежде всего отметим, что величина дельта мю н+ определяет лишь вероятность или среднее число переноса протонов между поверхностями мембраны, но ничего не говорит о "судьбе" каждого протона в АТФазе. В одном из вариантов хемиосматической гипотезы говорилось о том, что в активный центр АТФазы нагнетаются "горячие" протоны, которые разгоняются электрическим полем в протонном канале. Предполагалось, что за счет кинетической энергии этих протонов и происходит передача энергии, нужной для преодоления активационного барьера в элементарном акте синтеза АТФ. Однако в конденсированной белково-липидной фазе, где диссипация избыточной кинетической энергии "горячих" частиц в результате столкновений происходит быстро (10'(-11)с - 10'(-12) с), такой механизм невозможен . По-видимому, в решении этой проблемы следует отказаться от упрощенных физикохимических подходов, заимствованных из теории активных соударений свободных частиц в растворах.

В последние годы появились биохимические результаты, подтверждающие плодотворность такого подхода и к проблеме механизмов сопряжения в Н -АТФазе. Протонирование и депротонирование аминокислотных остатков в центрах приводят к образованию локальных электрических полей, которые в свою очередь также влияют на движение положительно заряженного комплекса АТФ с лигандами. Таким образом, узким местом является перенос исходных веществ и промежуточных и конечных продуктов реакции синтеза АТФ, что обеспечивается и за счет влияния компонентов электрохимического потенциала на процессы внугримолекулярной диффузии в фермент-субстратном комплексе Н*-АТФазы. Конечно, все стадии требуют строгой координации во времени и пространстве и сбалансированности по зарядам этих процессов, что отражает направленный кооперативный характер функционирования Н*-АТФазы в сопрягающих мембранах.

$$\Delta \bar{\mu} H^+ \xrightarrow{AT\Phi\text{-синтетаза}} AT\Phi$$

Билет 11

1. Транспорт неэлектролитов. Простая и ограниченная диффузия. Законы Фика. Связь проницаемости мембран с растворимостью проникающих веществ в липидах. Облегченная диффузия.

Различают <u>простую диффузию</u> — свободное перемещение молекул и ионов в направлении градиента их химического (электрохимического) потенциала (так могут перемещаться лишь вещества с малыми размерами молекул, например вода, метиловый спирт);

<u>ограниченную диффузию</u>, когда мембрана клетки заряжена и ограничивает **диффузию** заряженных частиц даже малого размера (например, слабое проникновение в клетку анионов);

<u>облегчённую диффузию</u>— перенос молекул и ионов, самостоятельно не проникающих или очень слабо проникающих через мембрану, др. молекулами («переносчиками»); так, повидимому, проникают в клетку <u>сахара</u> и аминокислоты.

Перенос вещества, определяемый градиентом концентрации переносчика, называется обменной **диффузией**; такая диффузия отчётливо проявляется в экспериментах с изотопными индикаторами. Различную концентрацию веществ в клетке и окружающей её среде нельзя объяснить только диффузией их через мембраны за счёт имеющихся электрохимических и осмотических градиентов. На распределение ионов влияют также процессы, которые могут вызывать перераспределение веществ против их электрохимического градиента с затратой энергии, — так называемый активный транспорт ионов . (но об этом в ином билете)

Простая диффузия. Простая диффузия неэлектролитов не требует наличия какихлибо специализированных структур, зависит только от липофильности (это и есть растворимость в-ва в липидах) и градиента концентрации.

Прохождение многих незаряженных веществ через мембраны подчиняется законам диффузии. Процесс диффузии был впервые количественно описан Фиком. **Первый закон Фика** отражает тот простой факт, что поток вещества J в направлении оси х

$$J = -D dc/dx$$
,

пропорционален движущей силе, т. е. градиенту концентрации dc/dx: где D — коэффициент диффузии, см2 • с^(-1); размерность потока — моль • см~2с-1. Уравнение диффузии представляет собой частный случай более общего электродиффузионного уравнения Нернста—Планка (см билет 3) при условии, что транспортируемые частицы не заряжены.

Вывод второго закона Фика:

- 1. D = RTu, где R газовая постоянная, T— абсолютная температура, U подвижность вещества в рассматриваемой среде. В случае стационарной диффузии через тонкие мембраны dc/dx = const.
- 2. Если на краях мембраны толщиной h поддерживаются постоянные концентрации (с'1 и

c'2), связанные с концентрациями в омывающих растворах (c1 и c2) соотношениями c'1 = гамма *c1 и c'2 = гамма *c2 оэффициент гамма отражает липофильность вещества, то поток равен

 $J = -D dc/dx = D^*(c2 - c1)^*ramma/h = p(c2 - c1).$

3десь p = D*гамма/h = uRT*гамма/h — проницаемость мембраны для данного вещества, см

с^(-1); и — подвижность вещества

в мембране.

3. Уравнение непрерывности

-dJ/dx = dc/dt.

Из этих 2х уравнений получаем выражение для второго закона Фика:

$$\frac{d C}{d t} = D \frac{d^2 C}{d \dot{x}}$$

Облегченная диффузия — это быстрое движение молекул через мембрану с помощью специфических мембранных белков, называемых пермеазами. Этот процесс специфичен, он протекает быстрее простой диффузии, но имеет ограничение скорости транспорта. Облегченная диффузия обычно характерна для водорастворимых веществ. Большинство (если не все) мембранных переносчиков являются белками. Конкретный механизм функционирования переносчиков при облегченной диффузии исследован недостаточно. Они могут, например, обеспечивать перенос путем вращательного движения в мембране. Облегченная диффузия отличается от обычной не только скоростью, но и способностью к насыщению. Увеличение скорости переноса веществ происходит пропорционально росту градиента концентрации только до определенных пределов. Последний определяется "мощностью" переносчика.

Пассивный транспорт веществ при участии переносчиков характеризуется некоторыми чертами, отличающими его от простой диффузии.

- 1. Высокая специфичность, которая связана со способностью переносчиков различать близкие по структуре соединения (например, L- и D-изомеры Сахаров и аминокислот).
- 2. С ростом концентрации субстраста скорость транспорта увеличивается только до некоторой предельной величины (насыщение).
- 3. Наблюдается чувствительность к низким концентрациям ингибиторов, взаимодействующих с переносчиками.

Начальная скорость переноса вещества, когда s 0 = 0 (концентрация вещ-ва в наружном р-

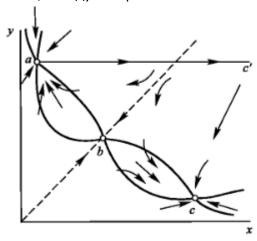
$$J = \frac{J_{\text{max}} s_o}{K_m + s_o}.$$

ре), описывается выражением, аналогичным уравнению Михаэлиса-Ментен:

По мере роста s_0 все переносчики оказываются связанными и роста скорости не посисходит.

2 Биологические триггеры. Силовое и параметрическое переключение триггера. Гистерезисные явления. Примеры.

Важной особенностью биологических систем является их способность переключаться из одного режима функционирования в другой, что соответствует нескольким устойчивым стационарным состояниям системы. На фазовой плоскости такая система обладает двумя (и более) устойчивыми особыми точками. Области влияния устойчивых особых точек разделяются сепаратрисами, которые обычно проходят через неустойчивую особую точку типа «седло» Система, обладающая двумя или несколькими устойчивыми стационарными состояниями, между которыми возможны переходы, называется триггерной.



В отличие от систем, имеющих единственное стационарное состояние, в триггерных системах стационарные значения переменных зависят от начальных условий. Если система функционирует в одном из своих устойчивых режимов, малыми отклонениями ее нельзя вывести из этого режима. Однако в реальных биологических системах существуют способы переключения устойчивых стационарных состояний. Допустим, что система функционирует в устойчивом режиме а и ее необходимо перевести в другой устойчивый режим с. Это можно сделать двумя способами.

За счет внешнего воздействия можно так изменить значения переменных х и у, например резко увеличив х, что это переведет систему в некую точку с' находящуюся по правую сторону сепаратрисы седла в области притяжения устойчивого узла с. После этого система уже сама по фазовой траектории перейдет в точку с и окажется в требуемом режиме. Это так называемый силовой способ переключения триггера, он называется также специфическим. В случае химической реакции для такого переключения в систему необходимо добавить некоторое количество определенного химического вещества (в данном случае вещества х).

Другим, более тонким, является способ параметрического неспецифического переключения. Здесь непосредственному воздействию подвергаются не переменные, а параметры системы, что может быть достигнуто разными способами, например изменением температуры, рН или скорости поступления субстрата. Сущность процесса параметрического переключения состоит в использовании характерной зависимости фазового портрета от некоторого управляющего параметра системы При изменении фазового портрета сами координаты особой точки с, конечно, также несколько изменятся, поскольку они зависят от параметров системы. При возвращении к прежним значениям управляющего параметра исходный фазовый портрет системы восстановится, но она уже будет работать в требуемом режиме с.

ПРИМЕР:

Простейшая модель процесса отбора одного из двух равноправных биологических объектов представляет собой систему двух дифференциальных уравнений:

$$\frac{dx}{dt} = a_0 \frac{S}{k_S + S} x - \beta x - \gamma xy, \quad \frac{dy}{dt} = a_0 \frac{S}{k_S + S} y - \beta y - \gamma xy,$$

где х — концентрация объектов первого типа; у — концентрация объектов второго типа; S — концентрация субстрата, общего для обоих типов объектов; a_o, k_s, P, гамма — константы. В модели предполагается, что объекты обоих типов при взаимо- действии погибают (члены вида — гамма*ху). В таком виде она содержит два дифференциальных уравнения и представляет собой триггер, две устойчивые особые точки которого расположены на координатных осях фазового портрета системы

Картинка к параметрическому переключению:

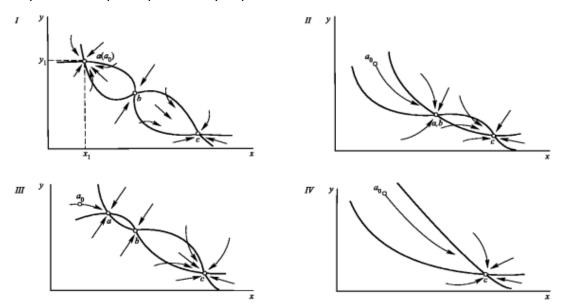


Рис. II.2 Процесс параметрического переключения триггерной системы на фазовой плоскости

При изменении управляющего параметра система, находившаяся в начале процесса переключения в точке $a(a_0)$ с соответствующими координатами x и y на фазовой плоскости (I), окажется вследствие изменения фазового портрета в области притяжения устойчивого узла c (IV), куда она самопроизвольно перейдет (через стадии, изображенные на рис. II и III)

Картинка к примеру:

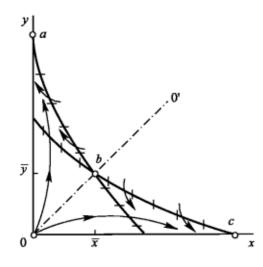


Рис. II.3 Фазовый портрет системы антагонистических видов

В зависимости от начальных условий траектории системы устремляются либо к одной, либо к другой устойчивой стационарной точке, лежащим симметрично по обе стороны сепаратрисы 00' седла $b\ (a\ \text{либо}\ c)$

Какое из двух возможных устойчивых состояний реализуется в системе и какое направление имеют скачкообразные переходы, зависит от того, происходит увеличение или уменьшение параметра. Указанное свойство системы — совершать переход из одного состояния в другое различными путями в зависимости от направления изменения значений параметра — называется гистерезисом

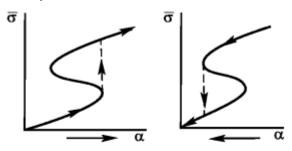


Рис. III.7 Явление гистерезиса в системе с субстратным угнетением и обратимой реакцией притока субстрата

При наличии гистерезисных свойств поведение системы в ответ на изменение параметров, отражающее изменение внешних условий, будет зависеть от ее предыстории. Таким образом, свойственный ферментативным системам гистерезис может являться основой динамической памяти, присущей всем биологическим объектам.

Билет № 12

1. Потенциал действия. Роль ионов Na, Ca и K в генерации потенциала действия в нервных и мышечных клетках; роль ионов Ca и Cl в генерации потенциала действия в клетках водоросли. Кинетика изменений потоков ионов при потенциале действия. Описание ионных потоков в модели Ходжкина-Хаксли.

Посредством электрических нервных импульсов (потенциалов действия) в живом организме передается информация от рецепторов к нейронам мозга и от нейронов мозга к мышцам.

Потенциалом действия (ПД) называется электрический импульс, обусловленный изменением ионной проницаемости мембраны и связанный с распространением по нервам и мышцам волны возбуждения.

В опытах по исследованию потенциала действия использовали два микроэлектрода , введенных в аксон . На первый микроэлектро д подается импульс с амплитудой V от генератора Г прямоугольных импульсов , меняющий мембранный потенциал . Мембранный потенциал измеряется при помощи второго микроэлектрода высокоомным регистратором напряжения P.

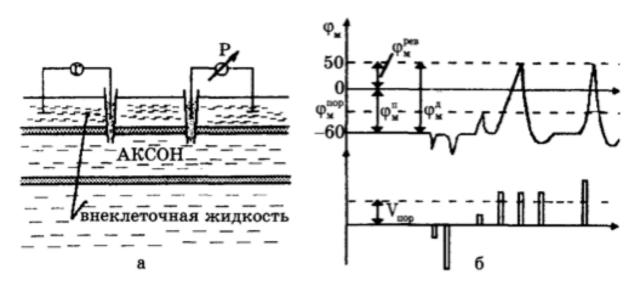


Рис. 3.2. Исследование потенциала действия: а – схема опыта (Γ – генератор импульсов, P – регистратор напряжения); б – потенциал действия ($\phi_{_{\rm M}}^{^{\rm n}}$ – потенциал покоя, $\phi_{_{\rm M}}^{^{{\rm pes}}}$ – потенциал реверсии, $\phi_{_{\rm M}}^{^{\rm n}}$ – амплитуда потенциала действия, $\phi_{_{\rm M}}^{^{{\rm nop}}}$ – пороговый потенциал)

Возбуждающий импульс вызывает лишь на короткое время смещение мембранного потенциала, который быстро пропадает и восстанавливается потенциал покоя .В том случае, когда возбуждающий импульс смещается еще дальше в отрицательную сторону , он сопровождается гиперполяризацией мембраны .Также не формируется потенциал действия, когда возбуждающий импульс положительный (деполяризующий), но его амплитуда меньше порогового значения $V_{\mbox{no}}$.Однако, если амплитуда положительного, деполяризующего

импульса окажется больше значения V^{nop} , φ_{M} становится больше $\varphi^{\mathsf{nop}}{}_{\mathsf{M}}$ и в мембране

развивается процесс , в результате которого происходит резкое повышение мембранного потенциала и мембранный потенциал ϕ_{M} даже меняет свой знак — становится положительным (ϕ_{BH} > ϕ_{Hap}), (рис. 3.26).

Достигнув некоторого положительного значения $\phi^{\text{рев}}_{M}$ - потенциала реверсии, мембранный потенциал возвращается к значению потенциала покоя $\phi^{\text{п}}_{M}$, совершив нечто вроде затухающего колебания.В нервных волокнах и скелетных мышцах длительность потенциала действия около 1 мс, а в сердечной мышце ок оло 300 мс.После снятия возбуждения еще в течение 1 — 3 мс в мембране наблюдаются некоторые остаточные явления, во время которых мембрана рефрактерна (невозбудима).

$$\phi_{\mathbf{m}}^{\pi} = \left| \phi_{\mathbf{m}}^{\pi} \right| + \phi_{\mathbf{m}}^{\mathrm{peb}}$$

не зависит от амплитуды деполяризующего потенциала (если только V > V nop). Если в покое мембрана поляризована (потенциал цитоплазмы отрицателен по отношению к внеклеточной среде), то при возбуждении происходит деполяризация мембраны (потенциал внутри клетки положителен) и после снятия возбуждения происходит реполяризация мембраны.

Характерные свойства потенциала действия:

- 1) наличие порогового значения деполяризующего потенциала;
- 2) закон"все или ничего ", то есть, если деполяризующий потенциал больше порогового , развивается потенциал действия , амплитуда которого не зависит от амплитуды возбуждающего импульса и нет потенциала действия , если амплитуда деполяризующего потенциала меньше пороговой;
- 3) есть период рефрактерности, невозбудимости мембраны во время развития потенциала действия и остаточных явлений после снятия возбуждения;
- 4) в момент возбуждения резко уменьшается сопротивление мембраны (у аксона кальмара от 0,1 Ом 2 в покое до 0,0025 Ом 2 при возбуждении).

Положительный потенциал реверсии имеет натриевую природу , поскольку именно диффузия натрия создает положительную разность потенциалов между внутренней и наружной поверхностями мембраны.

Можно менять амплитуду импульса потенциала действия , изменяя концентрацию натрия в наружной среде .При уменьшении наружной концентрации натрия амплитуда потенциала действия уменьшается, так как меняется потенциал реверсии .Если из окружающей к летку среды полностью удалить натрий, потенциал действия вообще не возникает.

При возбуждении проницаемость для натрия резко возрастает.

Возбуждение мембраны описывается **уравнениями Ходжкина-Хаксли.**Одно из уравнений Ходжкина-Хаксли имеет вид:

$$I_{M} = C_{M} \frac{d\phi_{M}}{dt} + \sum I_{i}, \qquad (3.5)$$

где $I_{_{\rm M}}$ – ток через мембрану, $C_{_{\rm M}}$ – емкость мембраны, $\sum I_{_{\rm i}}$ – сумма ионных токов через мембрану.

Электрический ток через мембрану складывается из ионных токов : ионов калия - I_{K+} , натрия - I_{Na+} и других ионов, в том числе CI, так называемого тока утечки $I_{y\tau}$, а также емкостного тока. Емкостной ток обусловлен перезарядкой конденсатора , который предст авляет собой мембрана, перетеканием зарядов с одной ее поверхности на другую .Его величина определяется количеством заряда, перетекающего с одной обкладки на другую за единицу $\mathbf{C} = \mathbf{C}$

времени dq/dt, а поскольку заряд конденсатора ${f q}={f C}_{_{M}}\Delta\phi={f C}_{_{M}}\phi_{_{M}}$, то емкостной ток ${f C}_{_{M}}\frac{d\phi_{_{M}}}{dt}$

$$I_{M} = C_{M} \frac{d\phi_{M}}{dt} + I_{K^{+}} + I_{Na^{+}} + I_{yT},$$

Полный мембранный ток

Согласно теории Ходжкина-Хаксли, возбуждение элемента мембраны связано с изменениями проводимости мембраны для ионов Na $^+$ и K $^+$: g_K и g_{Na} .

Проводимости мембраны сложным образом зависят от мембранного потенциала и времени.

или

(дальше из лекций Рубина)

Потенциал действия. В состоянии покоя соотношение проницаемостей калия и натрия составляет P_K : $P_{Na} = 1:0,04$, т. е, $P_{Na} \ll P_K$. Это обусловливает приближение значений потенциала покоя к равновесному потенциалу для K^{\dagger} в невозбужденной мембране. Внутреннее содержимое нервного волокна в состоянии покоя заряжено отрицательно по отношению к наружному раствору, что определяется направлением движения K^{\dagger} наружу из аксоплазмы. Потенциал покоя согласно уравнению Гольдмана равен

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K}[K_{0}] + P_{Ns}[Na_{0}]}{P_{K}[K_{i}] + P_{Ns}[Na_{i}]}$$

При возбуждении мембраны нервного волокна в ней возникают электрические импульсы. Одиночный нервный импульс – потенциал действия – длится около 1 мс и распространяется по волокну со скоростью

 $1-100\,$ м/с. Во время развития потенциала действия наблюдается быстрое смещение значений потенциала внутренней части волокна от отрицательных $-70\,$ мВ до положительных значений $+40-+50\,$ мВ (деполяризация) и последующий возврат к прежним значениям с кратковременной стадией гиперполяризации (рис. 16.1). Реверсия мембранного

потенциала во время развития импульса вызвана резким изменением проницаемостей мембраны для ионов, так что на гребне спайка

$$P_{K}: P_{Na}=1:20, \text{ t. e. } P_{Na} \gg P_{K}.$$

Таким образом, оказывается, что проницаемость мембраны для ионов зависит от приложенного мембранного потенциала. Во время развития спайка поток ионов Na⁺, направленный внугрь, вызывает деполяризацию до тех пор, пока потоки Na⁺ внугрь и наружу сравняются, а потенциал на мембране приблизится к равновесному для ионов Na. После этого происходит инактивация Na-каналов, прекращение потока Na

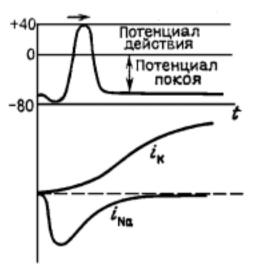


Рис. 16.1. Возникновение импульса потенциала действия (ПД) в результате местной деполяризации

внугрь. Одновременно увеличивается проницаемость для К, который выходит теперь наружу по градиенту своего электрохимического потенциала. В этом процессе мембрана реполяризируется до тех пор, пока выход К не прекратится, а потенциал на мембране приблизится к равновесному калиевому потенциалу. Реполяризация проходит через быструю стадию гиперполяризации. Потенциал на мембране вновь достигает

уровня потенциала покоя, однако это происходит в условиях повышенной концентрации ионов Na и пониженной концентрации ионов К внутри клетки. Указанные отклонения от распределения ионов на покоящейся мембране могут нарастать при многократном прохождении нервных импульсов. В этих условиях постоянный уровень внутриклеточных концентраций К⁺ и Na⁺ поддерживается Na - , К-АТФазой, выводящей Na⁺ наружу в обмен на поступление К⁺.

2. Механизмы переноса электрона при фотосинтезе. Зависимость от температуры.

В первичных процессах кванты света поглощаются пигментами в двух фотохимических системах - ФС1 и ФС2, которые функционируют последовательно, передавая электрон по цепи промежуточных соединений. Источником электронов служат молекулы воды, которые разлагаются с выделением кислорода. Основная форма запасания энергии света организация электронного потока, который представляет собой не просто набор отдельных окислительно-восстановительных реакций, а направленную цепь транспорта электронов между переносчиками, локализованными в фотосинтетических мембранах.

В реакционных центрах происходит быстрый перенос электрона на большие межмолекулярные расстояния, с одной стороны мембраны на другую (до 50 Б). В этом процессе активная роль принадлежит белковому окружению молекул-переносчиков. Дело в том, что белок не является пассивным местом расположения переносчиков, а сам принимает активное участие в транспорте. Состояние белка играет непосредственную роль в обеспечении электронного транспорта в цепи фотосинтеза.

Механизмы переноса электрона изучают в биофизике методами низкотемпературной фиксации объекта, которые позволяют исследовать кинетику процессов при пониженных температурах. Принципиальным результатом, который показал своеобразие первичных процессов фотосинтеза, является то, что процесс переноса электрона при низких температурах (-196?С) протекает в реакционных центрах с высокими скоростями. Данные о температурной зависимости скорости процесса показывают, что перенос электрона в этой системе совершается при температуре ниже 100 К, то есть при температуре жидкого азота со скоростями, в общем близкими к скоростям переноса при комнатной температуре.

В основе этого лежит так называемый туннельный эффект W квантовомеханическое явление. Электрон переносится между двумя молекулами переносчиков, разделенных барьером, в условиях, когда энергия электрона недостаточна для преодоления этого барьера. В классической физике в этих условиях перенос электрона был бы невозможен, поскольку при низких температурах он не может получить необходимую для преодоления барьера энергию. Квантовомеханический эффект состоит в том, что в силу своей волновой природы электрон как бы просачивается под барьером. Отсюда и название - туннельный перенос. Электрон туннелирует от одного переносчика к другому с вероятностью, которая зависит от ширины и высоты барьера: она экспоненциально уменьшается с увеличением этих параметров.

Принципиальным обстоятельством является то, что в экспериментах перенос электрона в фотосинтетической цепи в реакционных центрах происходит с очень большой эффективностью и, следовательно, он должен происходить необратимо. Однако туннельный перенос возможен в принципе как от донора к акцептору, так и в обратном направлении. И в случае, если молекулы обладают одинаковыми размерами, эффективность переноса электрона составляет всего около 50%. Для того чтобы сделать перенос необратимым, нужно, чтобы во время пребывания электрона на молекуле акцептора он успел потерять часть энергии. Тогда совпадение уровней между донором и акцептором будет нарушено. Если при этом электрон успел локализоваться на акцепторе, то он уйдет дальше в цепь переносчиков и перенос на этом участке станет необратимым.

Таким образом, основное условие состоит в том, что при туннелировании электрона часть его энергии должна теряться. Потеря электронной энергии происходит в колебаниях легких атомных групп белка, содержащих водород. Время этих колебаний составляет несколько пикосекунд. Это намного меньше, чем время туннелирования электрона от цитохрома на Р870 , которое занимает около микросекунды. Смещения расстояний, которые при этом происходят у колеблющихся ядер, незначительны - меньше 0,01 Б. Если в таких образцах провести дейтерирование - заменить водород на дейтерий в белке, то, поскольку дейтерий обладает большей массой, колебания замедлятся и соответственно скорость переноса электрона тоже должна замедляться. Это и происходит в экспериментах. Процесс туннелирования лежит в основе переноса электрона на многие межмолекулярные расстояния в фотосинтетических мембранах. Надо отметить, что туннельный перенос настолько эффективен, что происходит даже при комнатной температуре с большей эффективностью, чем обычный надбарьерный активационный перенос.

Современная биофизика показывает совершенно определенную взаимосвязь между внутримолекулярной подвижностью белка РЦ и переносом электрона. Например, при понижении температуры происходит некоторое замедление переноса электрона на участке между первичным и вторичным акцепторами QA QB. При этом одновременно уменьшается и внутримолекулярная подвижность белка РЦ, которая была измерена с помощью специальных методов радиоспектроскопии. Можно не только понижать температуру, но и уменьшать относительное содержание воды в РЦ. Во всех случаях будем наблюдать снижение внутримолекулярной подвижности белка РЦ, связанное с затормаживанием его мелкомасштабных перестроек. Кроме того, при нагревании образца РЦ или увеличении содержания воды одновременно с увеличением внутримолекулярной подвижности в нем наблюдается усиление процесса переноса электрона (на участке между первичным и вторичным хиноном). Смещения ядер в молекуле белка, которые сопровождают его структурные перестройки, составляют уже величины больше 0,01 Б и приближаются примерно к 1-1,5 Б. Это обстоятельство очень важно.

Таким образом, наблюдаемые в белке внутримолекулярные процессы, связанные с подвижностью, имеют два разных масштаба. Это колебательные процессы с небольшими смещениями порядка 0,01 Б и другие процессы, где смещения намного больше (около 1,5 Б) и сравнимы с длиной химической связи.

Итак, процесс переноса электрона между донором и акцептором происходит в два этапа. Вначале локализация электрона на акцепторе с потерей части энергии колебательной релаксации за короткие времена (< 1 пс). Затем молекула акцептора переходит в новое равновесие за счет дальнейшей релаксации.

Билет № 13

1. Ионные токи в модели Ходжкина-Хаксли. Воротные токи.

Проводимость каналов. Воротные токи. Изменение потоков Na⁺ и $K^{+}(i_{Na} u i_{K})$ во время потенциала действия (рис. 16.1) обеспечивается двумя типами ионных каналов для Na и K, проводимость которых поразному меняется в зависимости от электрического потенциала на мембране. Na – проводимость быстро нарастает и затем быстро экспоненциально уменьшается. Калиевая проводимость нарастает по S – образной кривой и за 5 - 6 мс выходит на постоянный уровень. Восстановление натриевой проводимости до исходных значений происходит в 10 раз быстрее, чем калиевой проводимости. Вопрос о том, каким образом проводимость ионных каналов управляется электрическим полем, является одним из центральных в биофизике мембранных процессов. В модели Ходжкина - Хаксли предполагается, что проводимость для ионов Na и K регулируется некоторыми положительно заряженными управляющими частицами, которые перемещаются в мембране при изменениях электрического поля. Смещение положения этих частиц в мембране зависит от приложенного потенциала и соответствующим образом открывает или закрывает ионный канал. Считается, что в случае калиевой проводимости имеются четыре активирующие канальную проводимость частицы. В случае Na - канала предполагается наличие трех активирующих частиц, необходимых для открывания, и одной инактивирующей частицы - для закрывания канала. На основе этих предположений удалось построить математическую модель, с высокой точностью воспроизводящую нервный импульс. Главное достижение состоит в разделении трансмембранных токов на отдельные компоненты (i_{Na} и i_K) и в экспериментальном изучении их свойств. В функциональной структуре канала были выделены элементы, ответственные за механизмы селекции ионов (селективный фильтр), активации (активационные ворота) и инактивации канала (инактивационные ворота) (рис. 16.2). Движение заряженных управляющих частиц в канале (воротных частиц) обнаруживается экспериментально по возникновению воротных токов. Они появляются в результате смещения частиц в мембране под влиянием наложенного на мембрану электрического импульса. Удалось обнаружить воротные токи смещения, связанные с частицами, отрывающими Na-канал. Вместе с

тем предположение, что перескок нескольких заряженных групп должен происходить через всю толщу мембраны, представляется маловероятным. Поэтому выдвигается другая интерпретация природы воротных токов. Предполагается, что токи смещения обусловлены не трансмембранным перескоком заряженных частиц, а кооперативным изменением

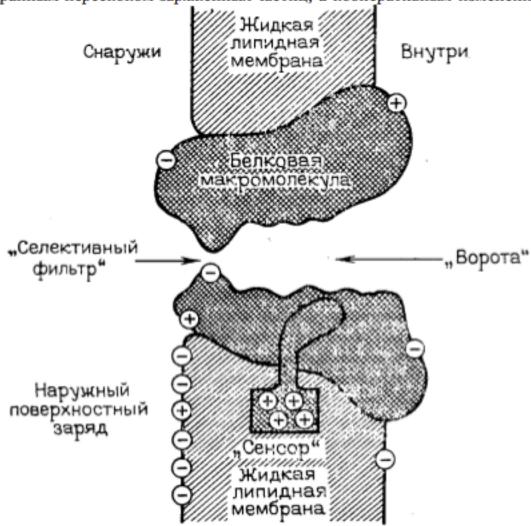


Рис. 16.2. Строение ионного канала (по Хилл, 1981)

ориентации диполей, выстилающих внутреннюю полость канала.

Полярные группы, определяющие дипольное окружение иона в канале, влияют на энергию иона и на прохождение его через канал. Если под влиянием деполяризующего электрического импульса изменяется их ориентация, то это вызовет смещение заряженных групп и изменение проводимости канала. Процесс переориентации диполей может носить кооперативный характер и быть достаточно резким. В этом случае энергия, необходимая для переориентации каждого элементарного диполя, должна зависеть не только от его собственной энергии, но и от доли диполей, уже изменивших свою ориентацию. Иными словами, по мере изменения ориентации части диполей энергия, необходимая для переориентации оставшихся диполей, уменьшается тем значительнее, чем больше число уже переориентированных диполей. Можно представить себе, что в исходном состоянии диполи "мещают" друг другу изменить ориентацию под действием поля, а переориентированные диполи уже "не путаются под ногами" у оставшихся. В результате такого рода кооперативного эффекта проводимость канала очень быстро "лавинообразно" нарастает под действием приложенного электрического импульса. Заметим, что и конформационные перестройки в канале, сопровождающиеся

нарастает под действием приложенного электрического импульса. Заметим, что и конформационные перестройки в канале, сопровождающиеся поворотом диполей, могут также приводить к скачкообразным изменениям проводимости в одиночном канале. Фактически во всех предложенных моделях речь идет о своего рода фазовых переходах в мембранах, лежащих в основе скачкообразных переходов канала между двумя состояниями.

2. Основные биологические факторы, определяющие радиобиологические эффекты. Понятие радиочувствительности.

<u>Радиочувствительность</u> — поражаемость биологических объектов (клеток, тканей, органов или организма в целом) ионизирующим излучением.

Основные биологические факторы, определяющие радиобиологические эффекты:

1. Вид живого организма.

Величина радиобиологического эффекта (при одной и той же поглощенной дозе облучения) существенно зависит от <u>вида облучаемого биологического объекта</u>.

Иными словами, биологические объекты обладают различной *радиочувствительностью*.

Радиочувствительность живых организмов широко варьирует в зависимости от их видовой принадлежности. Сравнение радиочувствительности обычно проводят по величине полулетальной дозы $\Pi \Delta_{50}$. Чем выше значение $\Pi \Delta_{50}$, тем ниже радиочувствительность; чем ниже значение $\Pi \Delta_{50}$, тем выше радиочувствительность.

Наиболее радиочувствительными являются млекопитающие; напротив, наиболее высокой радиоустойчивостью обладают простейшие, бактерии и вирусы. Таким образом, в целом по мере усложнения биологической организации радиочувствительность существенно повышается; однако, встречаются и исключения.

- 2. Возраст (или стадия онтогенетического развития).
- В процессе <u>онтогенетического развития</u> радиочувствительность организма может существенно изменяться. Так, у мушки дрозофилы радиочувствительность с возрастом резко снижается. У млекопитающих наиболее чувствительным к действию ионизирующего излучения является период <u>пренатального</u> (внутриутробного) развития;

<u>половозрелые особи</u> относительно <u>радиоустойчивы</u>, а <u>молодые и стареющие</u> – относительно <u>радиочувствительны</u>.У новорожденных радиочувствительность может быть либо относительно высокой, либо низкой, в зависимости от вида.

3. Пол.

Общей закономерности относительно половых различий в радиочувствительности живых организмов не существует. Даже разные линии животных одного вида (например, мышей) могут иметь противоположные половые различия в радиочувствительности: у одних линий более радиочувствительными являются самки, у других — самцы.

Но все же обычно <u>самки более устойчивы к действию облучения</u>.Однако, обычно <u>половые</u> различия в радиочувствительности не превышают 10-15%.

4. Физиологическое состояние.

Физиологическое состояние животных может вносить определенные изменения в степень и время проявления радиационного поражения.

Так, известны эксперименты, в которых при облучении животных, находящихся в состоянии естественной спячки (например, у сусликов), развитие лучевого поражения существенно замедлялось. Однако, после пробуждения лучевое поражение обычно (но не всегда) развивалось также, как и у бодрствующих животных, т.е. выживаемость не изменялась, увеличивалось лишь время жизни животных.

Известны также эксперименты, в которых животные, невпадающие в естественную спячку, но находящиеся в состоянии глубокого охлаждения во время облучения, проявляли более высокую постлучевую выживаемость по сравнению с неохлажденными во время облучения животными.

Таким образом, состояние обмена веществ в организме в момент облучения может в определенной степени влиять на развитие лучевого поражения: <u>в большинстве случаев повышение интенсивности обмена веществ в момент облучения увеличивает радиочувствительность.</u>

5. Используемая пища.

Развитие лучевого поражения в некоторой степени зависит и от используемой диеты.

<u>Наличие в пище витаминов, различных микроэлементов, повышающих общую резистентность организма, увеличивает и его радиоустойчивость</u>.

Имеется большое количество сообщений о благоприятном влиянии витаминов E, A, β -каротина и других, которое проявляется в частичном предотвращении лучевых эффектов и более быстром восстановлении.

Известны также эксперименты, в которых включение в состав стандартной для лабораторных животных диеты определенной растительной пищи или экстрактов некоторых растений приводило к увеличению выживаемости облучаемых животных.

В большинстве случаев для проявления благоприятного воздействия какого-либо пищевого компонента необходимо его длительное скармливание животным перед облучением — в течение не менее 1-2 недель. Защитные эффекты пищевых компонентов, однако, не велики. Эффективность благоприятного воздействия пищевых компонентов при их скармливании после облучения обычно ниже, чем при скармливании до облучения.

Билет № 14

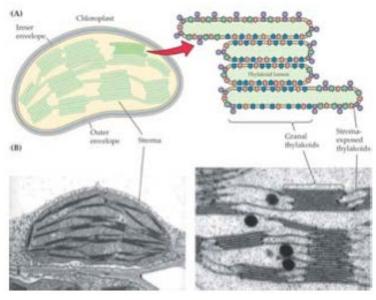
1. Структурная организация и функционирование фотосинтетических мембран. Фотосинтетическая единица.

Элементарной структурой, осуществляющей всю совокупность фотосинтетических процессов, является хлоропласт. Хлоропласт – это один

из трех видов пластид растительной клетки. Хлоропласты эукариотных фотосинтетических клеток имеют наиболее сложную структурную организацию внутренних мембран посравнению с другими органоидами клеток.

Основные компоненты хлоропластов высших растений:

- 1) двойная мембрана внешняя более простая, толщиной 7 нм ивнутренняя ~ 10 нм, образующая впячивания внутрь хлоропласта, изкоторых возникает система внутренних мембран;
- 2) строма внутренняя растворимая фаза хлоропласта с ферментамиС-цикла, синтеза белка (ДНК, РНК, рибосомы) и др. Растворимымикомпонентами;
- 3) собственно фотосинтетические мембраны граны (диаметр 0,5мкм), состоящих из тилакоидов, и стромальныеламеллы (диаметр5-7 мкм), пронизывающие весь хлоропласт и связывающие граны.



Молекулярная организация фотосинтетических мембран

Структурная основа первичных процессов фотосинтеза — фотосинтетическая единица (Φ CE). Φ CE = CCK+PЦ.

В ФСЕ пигменты функционально гетерогенны и взаимодействуют между собой , что обеспечивает высокую эффективность поглощения и преобразования световой энергии в первичных процессах.

Для ФСЕ характерна высокая структурно -функциональная упорядоченность. Основные типы пигмент белковых комплексов высших растений — это Фотосистема I и Фотосистема II. Каждая из них состоит из реакционного центра (РЦ) и светособирающего комплекса (ССК).

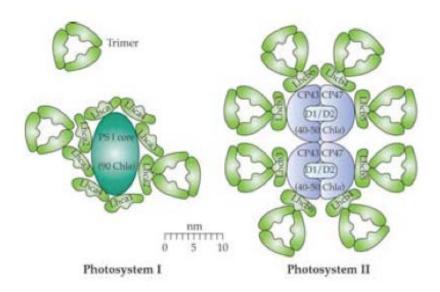
<u>РЦ ФСІ — ядро (core):</u> димер Π_{700} , 2 β-каротина, ≈100 молекул хл «а» (внутренняя антенна)

ССК І (LHC I): 80-120 молекул хл «а» и «b», каротиноиды. Состоит из 4 типов субъединиц LHCa1, LHCa2, LHCa3, LHCa4, которые образуют комплексы Lhca1/Lhca4, (Lhca2)2, (Lhca3)2,

РЦ ФСІІ — ядро (core): димер П680, хлорофилл «а»-содержащие белки СР43 и СР47 (внутренняя антенна), связанные с белками D1/D2, и цитохромом b 559

ССК II (LHC II): Хлорофиллы «а», «b», каротиноиды. Образуют субъединицы S-LHCII (Lhcb1)2/Lhcb3, M-LHCII Lhcb1/Lhcb2, L-LHCII Lhcb1/Lhcb2

3 минорных ССК (расположены между РЦ и ССК II) – СР29 (LHCb4), СР26 (LHCb5), СР24 (LHCb6),



Необходимо знать, что локализация фотосистем на мембранах неодинакова. ФСІ локализована на ламеллах стромы и тех участках тилакоидов гран, которые не стыкуются, тогда как фотосистема II - на стэкинговых участках.

Водоокисляющий комплекс — один из важнейших доменов мембран оксигенныхфотоавтотрофов. Он локализован на внутренней мембране тилакоидов в их люмене. В состав комплекса входят белки . Центральную роль в окислении воды играют атомы марганца и тирозиновый остаток Z- переносчика.

2. Временные характеристики динамической подвижности белков.

Функциональные свойства белков зависят от конформационного состояния. Однако остается неясным, под влиянием каких сил и механизмов изменяется это состояние и какую роль оно играет в обеспечении их активности. В современной молекулярной биофизике центральное место занимает проблема механизма и функциональной роли внутримолекулярной подвижности биополимеров, прежде всего белков.

Решение этой проблемы предусматривает получение количественных характеристик подвижности отдельных частей и атомных групп и сопоставление их с функциональным состоянием молекулы белка при различных условиях (температура, pH, ионная сила).

различных условиях (температура, рН, ионная сила). Поскольку белок обладает гетерогенной пространственной организацией, подвижность его отдельных структурных единиц будет различной по своим характерным временам и амплитудам смещений. Кроме того, глубокие конформационные перестройки всей молекулы белка не могут происходить сразу, а складываются из локальных микроинформационных смещений отдельных атомных групп. В итоге они приводят уже к направленным перестройкам всей конструкции молекулы белка вследствие взаимного смещения его отдельных частей по определенным детерминистским степеням свободы. Приведем в качестве примера последовательных, функционально значимых перестроек в белке конформационные изменения гемоглобина (Hb). Присоединение кислорода к атому железа Fe⁺² приводит к смещению его на 0,7 Å в плоскость гемовой группы. Это первичное микроинформационное смещение индуцирует в Hb каскад последовательных перестроек. Они включают смещение гистидина к центру молекулы, смещение субъединиц с перестройкой системы водородных связей. При этом меняется и конформация самих α- и βсубъединиц. После оксигенации первых двух α-субъединиц облегчается присоединение следующих молекул кислорода к остальным субъединицам, сродство которых к кислороду увеличивается в несколько сот раз. В этом и состоит функционально направленный смысл кооперативных конформационных перестроек в Нь. Физическая причина их состоит в том, что первоначальное равновесие сил необратимо нарушается в результате акта присоединения кислорода к Fe⁺². В молекуле Нb должна установиться новая равновесная оксиконформация, которой уже соответствует другое взаимное расположение атомных групп. Процесс достижения этой конечной, равновесной оксиконформации происходит через ряд последовательных стадий как релаксация исходной дезоксиформы, ставшей неравновесной из-за быстрого присоединения кислорода. Непосредственное изучение быстрых внутренних движений в молекуле белка стало возможным лишь в последние годы, благодаря внедрению современных физических резонансных методов радиоспектроскопии (электронный парамагнитный, ядерный магнитный, ядерный гамма-резонансы, методы люминесценции). Остановимся кратко на физической сущности этих методов и получаемой с их помощью информации.

Основной экспериментальный подход состоит в том, чтобы, изучая определенные физические параметры (люминесцентные, парамагнитные) специально внедренных во внугрь белка низкомолекулярных соединений, получить характеристику подвижности окружающей их среды, т. е. характеристику внутримолекулярной подвижности белка.

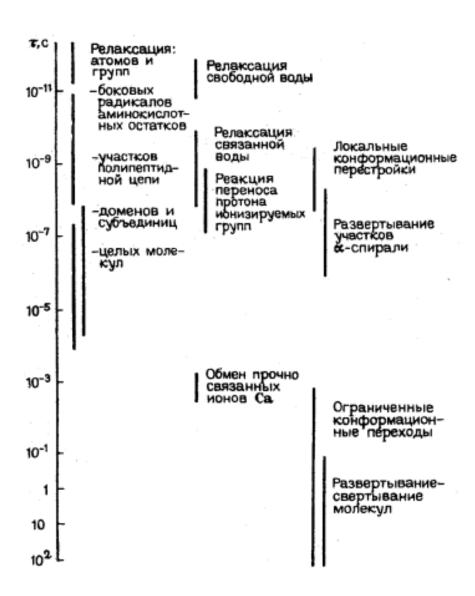


Рис. 9.6. Схема характеристических времен подвижности белков

<mark>Билет № 15</mark>

1. Основные фазы потенциала действия (локальный ответ, ПД, следовые потенциалы). Роль локального потенциала в генерации потенциала действия, рецепторного и

синаптического потенциала.

2. Окислительный стресс. Активные формы кислорода и пути их образования.

Окислительный стресс - это нарушение баланса между прооксидантами и антиоксидантами в пользу первых, что приводит организм к потенциальной опасности развития различных заболеваний.

Окислительный стресс может быть результатом:

- уменьшения уровня антиоксидантов. В результате мутации, наносящей ущерб активности ферментов антиоксидантной защиты, или токсинов, которые истощают антиоксидантную защиту.

Например, многие ксенобиотики метаболизируются при коньюгации с GSH; высокие концентрации ксенобиотика могут исчерпать GSH и вызвать окислительный стресс, даже если ксенобиотик не является генератором АФК. Дефицит в диете полезных минералов (например. Zn2+, Mg2+, Fe2+, Cu2+, Se), и/или антиоксидантов может также вызвать оксилительный стресс.

- увеличение производства АФК, например, при воздействии на клетки или организм высоких концентраций О2 или токсинами, которые сами являются АФК (например диоксид азота), или токсинами, которые метаболизируются в свободные радикалы (например паракват - гербицид

для уничтожения посадок марихуаны), или чрезмерная активация «естественных» систем, производящих такие формы (например ненормальная активация фагоцитов при хронических воспалительных процессах), а также при облучении лучевой или неионизирующей природы.

Последствия окислительного стресса:

- Адаптация клеток или организма при контроле систем защиты, которыемогут:
- а) полностью защищать против повреждения;
- b) защищают против повреждения до некоторой степени, но не полностью;
- с) «сверхзащищают» (например, клетки являются тогда стойкими к более интенсивномувоздействию наложенномувпоследствии).
- Повреждение клетки: приводит к повреждению (окислительному повреждению) любых молекулярных целей: липидов, ДНК, белков, углеводов, и т.д.
- Смерть клетки: клетка может:
- а) оправиться от окислительных повреждений, репарируя их или заменяя поврежденные молекулы;
- b) может выжить с постоянным окислительным повреждением;
- с) окислительное повреждение, особенно ДНК, может вызвать смерть клетки, апоптоз или некроз.

<u>Активные формы кислорода</u> — соединения кислорода с высокой реакционной способностью, окисляющие практически все классы биомолекул — белки, липиды, нуклеиновые кислоты и углеводы. Большинство АФК — продукты неполного (одно-, двух- или трёхэлектронного) восстановления молекулярного кислорода.

Источники АФК в живой клетке:

- электрон-транспортные цепи фотосинтеза;
- ферментативное образование АФК

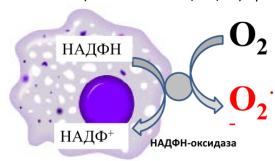
- •Ксантиноксидаза
- •Гликолатоксидаза
- •Циклооксигеназа
- •Флавиновые оксидазы
- •Цитохром P₄₅₀-зависимые монооксигеназы



- •Гваяколовая пероксидаза
- •НАДФН-оксидазы плазматической мембраны

Оксигеназы - это ферменты, катализирующие активирование О2 и последующее включение 1 или 2 его атомов в молекулы различных субстратов. Если субстратом (акцептором О2) служит водород, фермент называют оксидазой.

- ЦитохромР450-зависимые монооксигеназы семейство мембранных ферментов,катализирующих расщепление (гидроксилирование) ряда эндогенных и экзогенных соединений с помощью донора электронов НАДФН и молекулярного кислорода: RH + HAДФH + H+ + O2→ ROH + HAДФ+ +H2O
- свечение (хемилюминесценцию) при активации макрофагов и нейтрофилов патогенами



Супероксиддисмутаза:

$$2O_2^{-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Миелопероксидаза:

$$H_2O_2 + Cl^- \rightarrow H_2O + OCl^-$$

Реакция Фентона
$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^- + HO^- + Fe^{3+}$$

Реакция Осипова $OCl^- + Fe^{2+} \rightarrow Cl^- + HO^- + Fe^{3+}$

- при действии ионизирующих излучений

Радиолиз воды (разложение воды под действием ионизирующих излучений). Поглощение ионизирующих излучений молекулами воды приводит к образованию АФК. АФК повреждают биомолекулы клетки (непрямое действие ионизирующих излучений).

1. Ионизация воды (при поглощении энергии 12,56 эВ и более)

$$H_2O o \cdot H_2O^+ + e^ \cdot H_2O^+ + H_2O o H_3O^+ + HO \cdot$$
 $e^- + H_2O o OH^- + H \cdot$
В присутствии кислорода:
 $O_2 + e^- o \cdot O_2^ O_2 + H \cdot o H-O-O \cdot$ (перекисный радикал)

2. Гомолитический распад (при поглощении энергии 7 эВ и более)

$$H_2O \rightarrow H_2O^* \rightarrow HO \cdot + H \cdot HO \cdot + HO \cdot \rightarrow H_2O_2$$

- на свету

Билет № 16

1. Кинетика простейших ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Влияние ингибиторов на кинетику ферментативных реакций.

Живые организмы кинетически регулируют хим реакции, подавляя стремление к достижению термодинамического равновесия.

Общие принципы кинетики хим реакций применимы и к ферментативным реакциям. Известно, что любая хим реакция характеризуется константой ТД равновесия. Она выражает состояние хим равновесия, достигаемого системой, и обозначается K_{D} .

$$A + B \underset{k_{-1}}{\rightleftharpoons} C + D, \qquad K_p = \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]}$$

константа равновесия равна произведению концентраций образующихся веществ, деленному на произведение концентрации исходных веществ. Значение константы равновесия обычно находят из соотношения констант скоростей прямой (k_{+1}) и обратной (k_{-1}) реакций, т.е. $K_p = k_{+1}/k_{-1}$. В состоянии равновесия скорость прямой реакции: $v_{+1} = k_{+1}[A] \bullet [B]$ равна скорости обратной реакции: $v_{-1} = k_{-1}[C] \bullet [D]$, т. е. $v_{+1} = v_{-1}$ соответственно $k_{+1}[A] \bullet [B] = k_{-1}[C] \bullet [D]$, или

$$\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[C] \cdot [D]}{[A] \cdot [B]};$$
 отсюда $\frac{k_{+1}}{k_{-1}} = K_{\rho}$.

Изучая явление насыщения, Л. Михаэлис и М. Ментен разработали общую теорию ферментативной кинетики. Они исходили из предположения, что ферментативный процесс протекает в виде следующей химической реакции:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{+2}} E + P$$

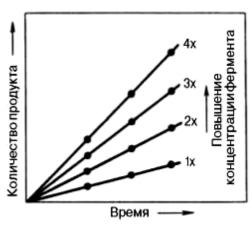
т.е. фермент *E* вступает во взаимодействие с субстратом *S* с образованием промежуточного комплекса *ES*, который далее распадается на свободный фермент и продукт реакции *P*. Математическая обработка на основе закона действующих масс дала возможность вывести уравнение Михаэлиса-Ментен, выражающее количественное соотношение между концентрацией субстрата и скоростью ферментативной реакции:

$$v = \frac{V_{\text{max}} \cdot [S]}{K_s + [S]},$$

где v — наблюдаемая скорость реакции при данной концентрации субстрата [S]; K_S — константа диссоциации фермент-субстратного комплекса, моль/л; V_{max} — максимальная скорость реакции при полном насыщении фермента субстратом.

Из уравнения Михаэлиса—Ментен следует, что при высокой концентрации субстрата и низком значении K_S скорость реакции является максимальной, т.е. $v = V_{\text{max}}$. При низкой концентрации субстрата, скорость реакции оказывается пропорциональной концентрации субстрата в каждый данный момент (реакция первого порядка).

Линейная зависимость справедлива только в определенных условиях, например в начальный период ферментативной реакции, так как в этот период практически не происходит обратной реакции, а концентрация продукта оказывается недостаточной для обратимости реакции. Именно в этом случае скорость реакции (точнее, начальная скорость реакции v) будет пропорциональна концентрации фермента.



Зависимость скорости реакции от концентрации фермента в присутствии насыщающих концентраций субстрата.

Фермент является одной из реагирующих молекул в хим реакции и при взаимодействии с субстратом образует промежуточный фермент-субстратный комплекс, который далее подвергается распаду на продукт и свободный фермент:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} ES \rightarrow E + P.$$

Если упростить это уравнение, исключив промежуточный ES-комплекс:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} E + P$$
,

то в уравнениях для скоростей прямой и обратной реакций обязательным компонентом является концентрация фермента:

$$v_{+1} = k_{+1}[E] \cdot [S]; v_{+2} = k_{-1}[E] \cdot [P].$$

Однако в уравнениях для константы равновесия (K_{eq} или K_p) концентрация фермента уже не имеет значения:

$$K_{p} = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[E] \cdot [P]}{[E] \cdot [S]} = \frac{[P]}{[S]}.$$

Как видно, константа равновесия (K_p) ферментативной реакции не зависит от концентрации фермента. Определяя скорость и направление химической реакции, фермент тем не менее не оказывает влияния на конечные (равновесные) концентрации реагирующих молекул и продуктов, определяющих величину константы равновесия.

Ферментативные процессы являются регулируемыми.

- 1. Конкурентное ингибирование сродство с активным центром.
- 2. Неконкурентное ингибирование аллостерическое.
- 3. Антиконкурентное ингибирование ингибитор соединяется с (es) комплексом.
- 4. Смешанное ингибирование по активному и аллостерическому центру.
- 5. Ингибирование избытком субстрата.

2. Два типа фотодинамических реакций.

(когда интенсивность света в поле микроскопа была достаточно большой, окрашенные красителями клетки прекращали движение и погибали, причем спектр действия этого эффекта соответствовал спектрам поглощения красителей.)

Фотодинамическое действие - способ световой регуляции движения и жизнеспособности

клеток. По характеру первичного процесса все фотодинамические реакции можно разделить на два

типа:

<u>Ітип</u> - все реакции, первичной стадией которых служит реакция возбужденных молекул фотосенсибилизаторов (Sens*) с субстратами окисления (X).

Sens* + $X \rightarrow$ свободно-радикальные интермедиаты + $O2 \rightarrow$ продукты окисления X

<u>II тип</u> - процессы, в которых первичным является взаимодействие возбужденных молекул фотосенсибилизаторов с кислородом Sens* + O2 \rightarrow активные фотопродукты + X \rightarrow продукты окисления X

Билет № 17

переходов в мембранных системах. Вращательная и трансляционная подвижность

1. Физико-химические механизмы стабилизации мембран. Особенности фазовых

фосфолипидов, флип-флоп переходы. Латеральная диффузия мембранных липидов.

2. Кислородный эффект в радиобиологии и его механизмы.

Кислородный эффект в радиобиологии:

- это явление усиления повреждающего действия ионизирующего излучения при наличии в среде кислорода во время облучения;
- радиозащитное действие гипоксии (т.е. пониженного содержания кислорода);
- радиосенсибилизирующее действие кислорода;
- универсальное явление, наблюдаемое при облучении различных объектов целых организмов, клеток и простых модельных систем;

Первые наблюдения кислородного эффекта:

- 1. В 1912 г. в Германии H.Swartz реакция кожи на облучение уменьшается, если тубус рентгеновской трубки или радиевый аппликатор плотно прижаты к коже. (уменьшение лучевой реакции кожи обусловлено прекращением кровотока и, следовательно, пониженным содержанием кислорода в этих участках кожи).
- 2. В 1921 г. H.Holthusen яйца аскарид более устойчивы к облучению в отсутствии кислорода.
 - 3. В 1921-1923 гг. Е.Рetry семена растений в бескислородной среде более устойчивы к облучению, чем в присутствии кислорода.

Кислородный эффект:

- при облучении макромолекул в сухом состоянии
 - КЭ обнаружен не только на клеточном и организменном уровне, но и в экспериментах с облучением биологических макромолекул в сухом состоянии(ферменты, нуклеиновые кислоты). КЭ почти всегда наблюдается при облучении сухих макромолекул.
- при облучении разбавленных водных растворов макромолекул (обратный) т.е. в условиях, когда преобладает непрямое действие КЭ может быть очень слабым или отсутствовать. Возможен защитный эффект кислорода (т.е. обратный): при облучении растворов трипсина (его радиочувствительность в атмосфере кислорода оказалась в 3 раза ниже, чем в атмосфере азота).
- на культивируемых клетках при действии разных видов ионизирующих излучений КЭ наблюдается при облучении редкоионизирующими излучениями (γ- и рентгеновским). При облучении плотноионизирующими излучениями кислородный эффект гораздо менее выражен (в случае нейтронного=15 МэВ излучения) или полностью отсутствует (в случае α-излучения=2,5 МэВ). Самое высокое значение ККУ при действии рентгеновского излучения.

Снижение КЭ при действии плотноионизирующего излучения на клетки (объяснение)

- при действии плотноионизирующего излучения количество одномоментно происходящих попаданий в мишень так велико, что поражение мишени достигает максимального уровня и становится необратимым даже в бескислородных условиях (т.е. усиливать радиационный эффект уже некуда, он и так максимальный).
- при действии плотноионизирующего излучения в результате дополнительных реакций вторичных продуктов радиолиза воды образуется кислород. Это приводит к тому, что реальных аноксических условий при облучении плотноионизирующим излучением создать невозможно. Дополнительные реакции с участием вторичных продуктов радиолиза воды становятся возможны, поскольку плотность радикалов, возникающих при действии плотноионизирующего излучения гораздо выше, чем при действии редкоионизирующего излучения. Повышается вероятность осуществления

реакции рекомбинации 2-х гидроксильных радикалов и реакции гидроксильного радикала с перекисью водорода с образованием перекисного радикала:

При действии редкоионизирующих излучений вероятность осуществления последней реакции очень незначительна (т.к. для ее осуществления необходимо образование при радиолизе воды 3-х близко расположенных друг к другу гидроксильных радикалов, что очень маловероятно для РЕДКОионизирующего излучения). Образовавшийся перекисный радикал может привести к образованию кислорода по следующим реакциям:

Первоначальные представления о физико-химическом механизме КЭ

КЭ на физ-хим уровне обусловлен появлением более активных продуктов радиолиза воды в присутствии кислорода, а именно супероксиданионрадикала О2−• и перекисного радикала НО2•. Позже было показано, что реакционная способность этих радикалов не превышает реакционной способности других основных продуктов радиолиза воды, возникающих в отсутствии кислорода.

Гипотеза кислородной фиксации

В 1956 г. Т. Альпер и П. Говард-Фландерс:

- в результате облучения мишени образуется ее активированное состояние;
- это активированное состояние мишени существует в течение очень короткого времени (не более 20 мс), а затем мишень возвращается в стабильное состояние (т.е. восстанавливается);
 - в активированном состоянии мишень является очень реакционноспособной по отношению к кислороду;
- если во время облучения в среде присутствует кислород, то мишень в активированном состоянии взаимодействует с ним с образованием перекиси (гидроперекиси), т.е. происходит пероксидация мишени;
- пероксидация мишени приводит к потере ее функциональных свойств (ферментативной активности и т.д.) и затрудняет ее репарацию (у молекулы ДНК) или вовсе делает ее невозможной. Повреждение становится нерепарируемым. Кислород закрепляет («фиксирует») повреждение мишени.

Значение КЭ при радиотерапии опухолей

КЭ необходимо учитывать при радиотерапии злокачественных новообразований.

Цель радиотерапии — убить опухолевые клетки и как можно меньше повредить нормальные ткани, окружающие опухоль. Применению облучения для удаления опухоли препятствует тот факт, что существенная часть популяции клеток опухоли является гораздо более устойчивой к действию облучения. Это связано с тем, что в опухолях имеются гипоксические зоны, возникающие в результате гораздо худшего снабжения опухоли кровью по сравнению с нормальными тканями, что происходит по следующим причинам:

- рост капиллярной сети не поспевает за быстрым ростом опухоли;
- быстрое деление клеток опухоли приводит к периодическому сдавливанию имеющихся там капилляров и прекращению кровотока.

Парциальное напряжение кислорода (pO2) в гипоксической зоне опухоли может составлять 1-10 мм рт. ст., тогда как в нормальных тканях — от 20 до 100 мм рт. ст.

Билет 21

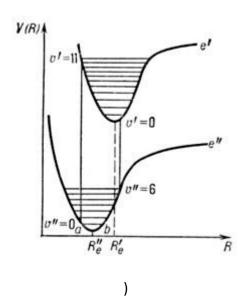
ФРАНКА -КОНДОНА ПРИНЦИП -утверждает, что электронные переходы в молекулах происходят очень быстро по сравнению с движением ядер, благодаря чему расстояние между ядрами и их скорости при электронном переходе не успевают измениться. Ф.- К. п. соответствует адиабатическому приближению (метод приближенного решения задач квантовой механики, применяемый для описания квантовых систем, в к-рых можно выделить "быструю" и "медленную" подсистемы. Исходная задача решается в два этапа: сначала рассматривается движение быстрой подсистемы при фиксир. координатах медленной подсистемы, а затем учитывается движение последней.) и основан на приближённом разделении полной энергии молекулы на электронную энергию и энергию движения ядер (колебательную и вращательную), согласно Борна - Оппенгеймера теореме (БОРНА - ОППЕНГЕЙМЕРА ТЕОРЕМА - устанавливает соотношение между вкладами движений электронов относит. движений ядер и вращения молекулы как целого в полную энергию молекулы. Разложив оператор энергии по параметру

 $V \gamma = \sqrt[4]{m_e/M}$ (где m_e - масса электрона и М - величина, имеющая порядок массы ядер молекулы), М. Борн (М. Вогп) и Р. Оппенгеймер (В. Oppenheimer) в 1927 показали, что полную энергию молекулы приближённо можно представить в виде:

$$\mathcal{E} = \mathcal{E}_0 + \gamma \mathcal{E}_2 + \gamma^2 \mathcal{E}_4 + \ldots,$$

где член нулевого порядка соответствует электронной энергии, член 2-го порядка - колебательной и член 4-го порядка - вращательной (нечётные степени параметра γ обращаются в нуль). Возможность такого разложения связана с тем, что масса электрона много меньше массы ядер.

). По Ф.- К. п. в простейшем случае двухатомной молекулы наиб. вероятны электронные переходы, изображаемые вертикальными линиями на диаграмме зависимости потенц. энергии от межъядерного расстояния для двух комбинирующих электронных состояний (*Puc. 3. Схема* электронных (e' и e'')и колебательных уровней энергии двухатомной молекулы и образование электронно-колебательных полос (R''_e, R'_e) в соответствии с принципом Франка - Конда.

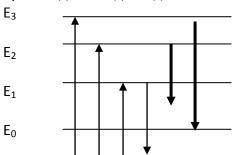


5. Основные законы молекулярной флуоресценции

1. Независимость спектров флуоресценции от длины волны возбуждающего света.

Электронные спектры поглощения многоатомных молекул обычно состоят из нескольких широких полос, расположенных в видимой и ультрафиолетовой областях спектра. Это дает возможность возбуждать их люминесценцию монохроматическим светом с широким набором длин волн. При

возбуждении люминесценции светом с частотами, лежащими в пределах одной полосы поглощения вещества, молекулы переходят на разные колебательные уровни одного возбужденного электронного состояния. В случае же возбуждения свечения излучением, частоты которого соответствуют разным полосам поглощения вещества, молекулы могут переходить в различные возбужденные электронные состояния. В обоих случаях спектр люминесценции должен существенно меняться, однако в действительности у сложных молекул, помещенных в конденсированные среды, форма и положение их спектра люминесценции характерны для каждого вещества и практически не зависят от длины волны возбуждающего света. При поглощении возбуждающих квантов различной величины молекулы первоначально невозбужденного электронного уровня E_0 на возбуждающие уровни E_1 , E_2 и E_3 . Вместе с тем постоянство их спектра люминесценции указывает на то, что завершающий излучательный переход происходит всегда с одного и того же уровня Е₁.



Это означает, что большинство из возбужденных состояний, присущих исследуемым молекулам, нестабильны, и лишь одно из них E_1 , характерное для них в данных температурных условиях, является устойчивым, откуда происходит переход в невозбужденное состояние с испусканием кванта люминесценции. Независимость спектра люминесценции от длины волны возбуждающего света характерна, прежде всего, для сложных молекул, находящихся в жидкой и кристаллической фазах.

2.3акон Стокса-Ломмеля

Одна из важных закономерностей молекулярной люминесценции проявляется во взаимном расположении спектров поглощения и люминесценции. Д.Стокс сформулировал правило, согласно которому свет люминесценции имеет всегда большую длину волны, чем поглощенный возбуждающий свет: $hv_{lm} < hv_{abc}$

Правило Стокса утверждает, что за счет больших возбуждающих квантов всегда должны возникать более мелкие кванты люминесценции. Следовательно, лишь часть поглощенной энергии расходуется на возбуждение люминесценции, другая же ее часть идет на увеличение колебательной энергии молекул и развитие в них безизлучательных переходов.

Обычно правило Стокса не выполняется. Это связано с тем, что у подавляющего числа веществ спектры поглощения и люминесценции в той или иной степени перекрываются между собой. Несоответствие правила Стокса многочисленным экспериментальным данным было устранено в более общей зависимости, установленной Э.Ломмелем. Эта закономерность получила название закона Стокса – Ломмеля: спектр флуоресценции всегда смещен в сторону более длинных волн по сравнению со спектром поглощения того же вещества: hv_{abc, макс} < hv_{Im, макс}

3. Правило зеркальной симметрии спектров поглощения и люминесценции Левшина.

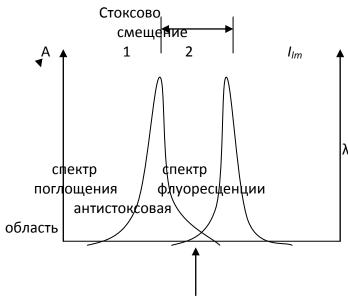
Если по оси x откладывается частота v, по оси y — молекулярный коэффициент поглощения (для спектра поглощения) и интенсивность излучения (для флуоресценции), то действует **правило зеркальной симметрии Левшина**: спектры поглощения и флуоресценции приблизительно зеркально симметричны относительно прямой, проходящей перпендикулярно к оси частот через точку пересечения обоих спектров, если они представлены в шкале частот. Зеркальная симметрия наблюдается у спектров многих сложных веществ, находящихся в кристаллическом состоянии, в растворе, иногда и в разреженных парах. Правило Левшина не абсолютно. Выполняется для молекул

с одинаковой структурой колебательных подуровней основного и возбужденного электронных состояний. Данное правило может быть записано в виде:

$$v_{abc} + v_{lm} = 2v_o$$

где v_0 — частота, соответствующая линии симметрии, проходящей через точку пересечения обоих спектров.

Расстояние между положениями максимумов в спектре поглощения и спектре флюоресценции называют *стоксовым смещением* (рис.2).



Различные флуоресцирующие вещества характеризуются неодинаковым стоксовым смещением, поскольку имеют неодинаковые возбужденные электронно-колебательные состояния. Чем больше велич **Рис. 2.** Спектр поглощения (1) и спектр флюоресценции еделение люминесцирующих веществ флуо (2). А - светопоглощение, I_{lm} — интенсивность

Изме люминесценции, λ – длина волны устранить если:

јуждающее излучение, которое можно

- а) излучение флуоресценции наблюдать в направлении перпендикулярном к направлению светового потока возбуждающего излучения;
- б) отделить спектральный участок возбуждающего излучения от спектрального участка флуоресцирующего излучения с помощью светофильтров;
- г) использовать фронтальное измерение направления возбуждающего светового потока и излучение флуоресценции направлять под острым углом;
- д) проводить регистрацию результатов в линию, т.е. когда направления возбуждающего светового потока и излучения флуоресценции совпадают.

4. Закон Вавилова.

Закон Вавилова С.И. гласит: квантовый выход флуоресценции постоянен, если длина волны возбуждающего света меньше длины волны флуоресценции.

$$\Phi$$
 = const, если $\lambda_{abc} < \lambda_{lm}$.

При $\lambda_{abc} > \lambda_{lm}$ (антистоксова область) квантовый выход резко уменьшается.

Из закона Вавилова следует: в определенном спектральном диапазоне (при $\lambda_{abc} < \lambda_{lm}$) спектр люминесценции (флуоресценции) не зависит от того, каким участком спектра возбуждается люминесценция (флуоресценция), т.е. спектр люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего излучения.

§1. Определение люминесценции; время жизни.

Излучение, избыточное над тепловым, длительность которого намного превышает период световых колебаний, называется люминесценцией. По длительности излучения люминесценция

делится на флуоресценцию (длительностью 10-8-10-9 с) и фосфоресценцию (длительностью 10-6 с и более).

Характеристиками люминесценции являются среднее время жизни, спектры возбуждения и излучения, квантовый и энергетический выходы и поляризация.

Изменение населенности возбужденного уровня молекулы, с которой испускается люминесценция (в данном случае для простоты будем рассматривать флуоресценцию), может быть описана следующим дифференциальным уравнением:

$$\frac{dn}{dt} = kI - k_f n - k_i n - k_d n \tag{4.1}$$

В этом уравнении n — заселенность уровня, k — коэффициент поглощения света, I — интенсивность возбуждающего света, kf — константа скорости флуоресценции, ki — константа скорости внутренней конверсии, kd — константа скорости безизлучательной тепловой деградации. После прекращения возбуждения уравнение (4.1) примет вид

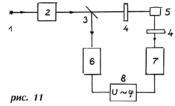
$$\frac{dn}{dt} = -k_f n - k_i n - k_d n \tag{4.2}$$

Поскольку интенсивность флуоресценции пропорциональна n, через время $t=\tau=(kf+ki+kd)-1$ интенсивность флуоресценции уменьшится в е раз. Величина τ называется временем жизни или длительностью флуоресценции.

Время жизни флуоресценции измеряется либо с помощью фазовой флуорометрии, либо с помощью лазерной пикосекундной техники, а время жизни фосфоресценции — с помощью фосфороскопа.

Остановится на методе фазовой флуорометрии. Блок-схема установки для измерения времени жизни этим методом показана на рис. 11.

На рис. 11 обозначения имеют следующий смысл: 1 — источник света для возбуждения флуоресценции, 2 — модулятор, модулирующий световой поток с круговой частотой ω. Обычно это либо модулятор на стоячих ультразвуковых волнах, либо ячейка Керре. Частота модуляции обычно бывает около 10 МГц. Модулированный поток через полупрозрачную пластинку 3 и фильтр 4 падает на образец 5. Излучение флуоресценции и возбуждающий свет попадают на приемники 6 и 7 (обычно ФЭУ с подходящей спектральной чувствительностью). Радиотехническая схема 8 вырабатывает сигнал, пропорциональный сдвигу фаз между возбуждающим светом и флуоресценцией.



Пусть исследуемый образец облучают синусоидально-модулированным светом, интенсивность которого может быть описана следующий образом: $I(t) = I_0 \big(1 + M \sin \omega t \big)$

Величина М описывает глубину модуляции. Излучаемая образцом флуоресценция будет отставать по фазе от возбуждающего света на угол ф, а степень модуляции уменьшится, что мы будем описывать множителем m. Таким образом, интенсивность люминесценции будет иметь вид: $F(t) = F_0 \left[1 + Mm \sin(\omega t + \varphi) \right]$

Как мы уже указывали, с помощью радиотехнических устройств (обычно фазачувствительных, синхронных детекторов) измеряют фазовый угол ф и фактор демодуляции m. В случае единственного времени жизни (моноэкспоненциальный спад), эта величина может быть рассчитана по измеряемым значениям ф и m по следующим формулам: $tg \varphi = \omega \tau$

$$m(\omega) = \cos \varphi = (1 + \omega^2 \tau^2)^{-\frac{1}{2}}$$

В случае, если образец флюоресцирует с несколькими временами жизни флуоресценции, тогда время т, вычисленное из величины ф не согласуется с величиной т, определенной по величине фактора демодуляции. В этом случае возникают более сложные выражения для определения ті:

$$tg\varphi = \frac{\sum_{i} f_{i} \sin \varphi_{i} \cos \varphi_{i}}{\sum_{i} f_{i} \cos^{2} \varphi_{i}} = \frac{N(\omega)}{D(\omega)}$$

$$m(\omega) = \left[\left(\sum_{i} f_{i} \cos^{2} \varphi_{i} \right)^{2} + \left(\sum_{i} f_{i} \sin \varphi_{i} \cos \varphi_{i} \right)^{2} \right]^{\frac{1}{2}} =$$

$$= \left[D^{2}(\omega) + N^{2}(\omega) \right]^{\frac{1}{2}}$$

$$N(\omega) = \sum_{i} \frac{f_{i} \omega \tau_{i}}{1 + \omega^{2} \tau_{i}^{2}}; D(\omega) = \sum_{i} \frac{f_{i}}{1 + \omega^{2} \tau_{i}^{2}};$$

$$(4.4)$$

В этих выражениях $\phi(\omega)$ и $m(\omega)$ — фазовый сдвиг и фактор демодуляции, определяемые экспериментально; τ і — время жизни і-го компонента, τ і — доля і-компоненты в общей интенсивности флуоресценции. Вообще говоря, величины τ і и τ і могут быть определены из измерений τ и τ при τ можно написать систему 2n уравнений, из которых определить 2n параметров τ і τ і. §2. Спектры возбуждения и излучения флуоресценции; выход флуоресценции; поляризация.

Спектром излучения флуоресценции (спектром флуоресценции) называется зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны или частоты при постоянной интенсивности и длине волны возбуждающего света. Спектр флуоресценции описывается зависимостью Іизл=Іизл(λ) при Ів=const, λ в=const (или ν s=const). Длина волны возбуждающего света расположена в пределах спектра поглощения флуоресцирующего вещества; обычно она выбирается равной λ max Ω ши δ ка! Закладка не определена., длине волны максимума спектра поглощения. Для регистрации спектра флуоресценции необходимы: источник возбуждающего света, два монохроматора (для возбуждения и для анализа спектра), фотоприемники для измерения интенсивности возбуждающего света и интенсивности флуоресценции.

Опытным путем установлено, что форма спектра флуоресценции (или нормированный спектр флуоресценции) не изменяется при изменении длины волны возбуждающего света в пределах полосы поглощения флуоресцирующего вещества. Это утверждение называется законом С.И. Вавилова. Он верен для одного поглощающего или излучающего вещества.

Спектр возбуждения флуоресценции определяет эффективность возбуждающего света разной длины волны в возбуждении флуоресценции. Спектр возбуждения определяется соотношением:

$$\frac{F(\lambda)}{I_{L}(\lambda)} = \Phi(\lambda)$$

где $F(\lambda)$ — зависимость интенсивности флуоресценции от длины волны, $Ib(\lambda)$ — зависимость поглощенного возбуждающего света от длины волны. Обычно при измерениях спектра возбуждения интенсивность флуоресценции поддерживают постоянной, максимальной $F(\lambda)$ =Fmax=const. Тогда спектр действия (возбуждения) флуоресценции выражается следующим образом:

$$\Phi(\lambda) = \frac{F_{\text{max}}}{I_{\cdot}(\lambda)}$$

Максимальную интенсивность флуоресценции поддерживают постоянной, изменяя интенсивность возбуждающего света. Тогда спектр возбуждения можно построить, откладывая величину, обратную интенсивности возбуждающего, против соответствующей длины волны.

Важной характеристикой является выход флуоресценции. Различают энергетический и квантовый выходы флуоресценции. Энергетическим выходом флуоресценции называется отношение интенсивности флуоресценции к интенсивности поглощенного света:

$$\varphi_{\rm exp} = \frac{E_{fl}}{E_{ad}}$$

Квантовым выходом флуоресценции называется отношение числа испущенных квантов флуоресценции к общему числу поглощенных квантов.

$$\varphi_k = \frac{N_{fl}}{N_{ad}}$$

Существуют флуоресцирующие вещества с очень большим квантовым выходом. Так, флуоресценция 6-аминоакридина в спирте имеет квантовый выход около 0,9. Это значит, что очень мало поглощенной энергии переходит в тепло; по-видимому, в этом случае мы имеем дело с очень жесткой молекулой.

Весьма важной характеристикой флуоресценции является поляризация. В общем виде поляризация флуоресценции характеризует анизотропию излучающего осциллятора. Она может быть описана двумя величинами: поляризацией и анизотропией флуоресценции.

$$P = \frac{F_{\downarrow} - F_{\perp}}{F_{\downarrow} + F_{\perp}} \qquad A = \frac{F_{\downarrow} - F_{\perp}}{F_{\downarrow} + 2F_{\perp}}$$

В этих формулах $F \parallel u F^{\perp}$ — интенсивности флуоресценции с компонентами параллельной и перпендикулярной поляризации возбуждающего света. Между P и A существуют следующие соотношения:

$$A = \frac{2P}{3 - P} \quad P = \frac{3A}{2 + A}$$

Для неподвижных и хаотически ориентированных молекул поляризация равна $P_0 = (3\cos^2\beta - 1)(\cos^2\beta + 3)$

В то же время при возбуждении неполяризованным светом $P_0 = (3_{\cos^2 \beta} - 1)(7 - \cos^2 \beta)$

В этих формулах eta угол обозначает угол между поглощающим и излучающим диполями. \$3. Свойства спектров флуоресценции: правило Стокса, закон Вавилова, правило зеркальной симметрии В.Л. Левшина.

Экспериментальным путем Стокс установил, что спектр флуоресценции в целом сдвинут в сторону длинных волн по сравнению со спектром поглощения. Это происходит из-за диссипации энергии в тепло в возбужденном состоянии молекулы. Спектральная область флуоресценции, расположенная в области длин волн, меньших, чем длинноволновый край полосы поглощения, называется антистоксовой областью. В последние годы с помощью пикосекундной хроноскопии прямо показано, что спектр флуоресценции с течением времени после прекращения возбуждения коротким лазерным импульсом постепенно сдвигается в красную область спектра.

С.И. Вавилов экспериментально установил для растворов красителей следующее положение, впоследствии названное законом Вавилова: в пределах полосы поглощения квантовый выход флуоресценции красителя не зависит от длины волны возбуждающего света и является постоянной величиной. Это происходит потому, что за время жизни возбужденного состояния молекула красителя "разменивает" неравновесную, избыточную тепловую энергию до нижнего возбужденного вибронного уровня первого синглетного возбужденного электронного состояния.

Постоянство квантового выхода флуоресценции может служить критерием чистоты (однокомпанентности) флуоресцирующего вещества, а также показывает отсутствие химических реакций, которые могут возникнуть под действием возбуждающего света.

Для растворов сложных молекул красителей В.Л. Левшиным было установлено правило зеркальной симметрии спектров. Оно состоит в том, что нормированные спектры поглощения и люминесценции, построенные в виде зависимости от частоты или волнового числа, симметричны относительно прямой, проходящей через точку пересечения спектров и перпендикулярной оси абсцисс. Это правило отражает примерно одинаковую колебательную структуру основного и возбужденного состояний молекулы. Его квантовомеханическое обоснование было дано Д.И. Блохинцевым. Строго говоря, Д.И. Блохинцев показал, что зеркальной симметрией обладают

 $\frac{k_{\nu}}{v} = f'(\nu)$ и $\frac{N_{\nu}^{ucn}}{v^4} = f''(\nu)$, где k_{ν} - энергия, поглощаемая единицей объема в единицу времени при частоте v, Nvисп - мощность испускания на частоте v.

§4. Соотношения между временами жизни и квантовым выходом в различных условиях; радиационное время жизни; закон Штерна-Фольмера.

Из уравнений (4.1) и (4.2) в стационарном случае следует, что квантовый выход может быть выражен следующим образом:

$$\varphi = \frac{k_f n}{kI} = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_d}$$
 (4.5)

Определим собственное (радиационное) время жизни как такое время жизни, которое имело бы люминесцирующее состояние, если бы отсутствовали все процессы дезактивации кроме флуоресценции. Таким образом, по определению

$$\tau_r = \frac{1}{k_f}$$
 (4.6)

Тогда учитывая соотношения (4.3-4.6), получим

$$\varphi = \frac{\tau}{\tau_r}$$
 или $\tau = \varphi \, \tau_r$ (4.7)

Радиационное время жизни — это максимально возможное время жизни при ϕ = 1,т.е. при отсутствии всех процессов кроме флуоресценции. В реальном случае при наличии других процессов дезактивации τ и ϕ уменьшаются, оставаясь пропорциональными друг другу.

Радиационное время жизни связано с формой и интенсивностью спектров поглощения и флуоресценции. Предложено несколько формул для расчета радиационного времени жизни.

Приведем некоторые из них. Одна из простейших формул, связывающих ${\mathfrak r}$ с ${\mathfrak c}^{(\widetilde{\mathcal V})}$, где ${\widetilde{\mathcal V}}$ — волновое число, имеет следующий вид:

$$\frac{1}{\tau_r} = 2900n^2 \int \frac{\left(2\widetilde{v}' - \widetilde{v}\right)^3}{\widetilde{v}} \varepsilon(\widetilde{v}) d\widetilde{v}$$
 (4.8)

Здесь $\widetilde{\mathcal{V}}'$ означает волновое число, соответствующее линии зеркальной симметрии между спектрами флуоресценции и поглощения, построенными в шкале волновых чисел $\widetilde{\mathcal{V}}$. Более сложная формула, учитывающая форму как полосы поглощения, так и спектра флуоресценции, имеет вид:

$$\frac{1}{\tau_r} = 2800 \frac{g_0}{g_1} \frac{n_f^3}{n_a} \frac{\int F d\tilde{v}}{\int F \tilde{v}^3 d\tilde{v}} \frac{\int \mathcal{E} d\tilde{v}}{\tilde{v}}$$
(4.9)

В этой формуле g0 и g1 — мультиплетности основного и возбужденного состояний соответственно, nf и na — средние показатели преломления растворителя в областях флуоресценции

и поглощения, $F(\widetilde{v})$ и $\varepsilon(\widetilde{v})$ - спектры флуоресценции и поглощения в шкале волновых чисел в мкм $^{^{-1}}$.

Формулу (4.8) можно упростить и получить следующее простое соотношение:

$$\frac{1}{\tau_r} \cong 10^4 \varepsilon_{\text{max}} \tag{4.10}$$

Для сильно поглощающих в видимой области красителей $\mathcal{E}_{\max} \cong 10^5$, поэтому $\tau_r \cong 10^{-9}$ с. Получим теперь соотношение между квантовым выходом и константами скорости при

наличии тушителя, т.е. в случае, когда , $k_d = k_d q$, q — концентрация тушителя в растворе. В этом случае уравнение (4.5) можно представить в виде:

$$\varphi = \frac{k_f}{k_f + k_i + k_d' q}$$
 (4.11)

Обозначим ϕ 0 и τ 0 — квантовый выход и время жизни ϕ луоресценции без тушителя, т.е. при q=0, тогда

$$\varphi_0 = \frac{k_f}{k_f + k_i} \qquad \tau_0 = \frac{1}{k_f + k_i}$$

$$\frac{\varphi_0}{\varphi} = \frac{k_f + k_i + k_d' q}{k_f + k_i} = 1 + k_d' \tau_0 q$$

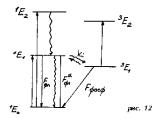
Таким образом, обратный квантовый выход флуоресценции прямо пропорционален концентрации тушителя (закон Штерна-Фольмера).

$$\frac{\varphi_{0}}{\varphi} = 1 + k_{d}' \tau_{0} q$$
 (4.12)

§5. Флуоресценция и фосфоресценция.

Во многих органических веществах, особенно в замороженных растворах органических красителей, наблюдается излучение люминесценции, продолжающееся от 10 ⁻⁶ с до нескольких секунд после прекращения возбуждения. Как правило, оно имеет спектр излучения, сдвинутый к более длинным волнам, чем спектр флуоресценции данного вещества. Такое излучение называется фосфоресценцией. В 1953 г. А.Н. Теренин высказал предположение о том, что фосфоресценция происходит с триплетного уровня возбужденной молекулы. Триплетный уровень заселяется путем интеркомбинационной конверсии (константа скорости ki) с возбужденного уровня с s=0. Схема соответствующих уровней и переходов представлена на рис. 12.

Поскольку в триплетном состоянии молекула имеет s=1, то переход между чистыми синглетными и триплетными уровнями запрещен. Однако, частично запрет снимается из-за смещения состояний с различной мультиплетностью. Это происходит из-за наличия в гамильтониане членов, описывающих спин-орбитальное взаимодействие, а также взаимодействия парамагнитных ионов с данной молекулой. Малой вероятностью таких (синглет-триплетных) переходов и объясняется большая, по сравнению с флуоресценцией, длительность фосфоресценции. На рис.12 показана также α -флуоресценция, имеющая спектр обычной флуоресценции, но длительность фосфоресценции.



Замедленная флуоресценция (α-флуоресценция) объясняется обратным заселением синглетного уровня с триплетного уровня. Окончательное доказательство участия триплетного состояния в процессе фосфоресценции было получено опытами по исследованию парамагнитной восприимчивости в процессе фосфоресценции. Оказалось, что кинетика уменьшения парамагнитной восприимчивости совпадает с кинетикой фосфоресценции.

Типы ионных каналов

Классификация ионных каналов проводится по различным параметрам и поэтому единой унифицированной классификации для них пока не существует.

Так, возможна классификация по структуре (строению) и происхождению от однотипных генов.

По этому принципу, например, выделяют три семейства лиганд-активируемых ионных каналов $^{[1]}$:

- 1. с пуриновыми рецепторами (АТФ-активируемые);
- 2. с никотиновыми АХ-рецепторами, ГАМК-, глицин- и серотонин-рецепторами;
- 3. с глутаматными рецепторами.

При этом в одно и то же семейство попадают ионные каналы с разной ионной <u>селективностью</u>, а также с <u>рецепторами</u> к разным <u>лигандам</u>. Но зато образующие эти каналы белки имеют большое сходство в строении и происхождении.

Ионные каналы также можно классифицировать **по селективности** в зависимости от проходящих через них <u>ионов</u>: натриевые, калиевые, кальциевые, <u>хлорные</u>, <u>протонные</u> (<u>водородные</u>).

Согласно функциональной классификации^[2], ионные каналы группируются **по способам управления** их состоянием на следующие виды:

- 1. Неуправляемые (независимые).
- 2. <u>Потенциал</u>-управляемые (потенциал-чувствительные, потенциал-зависимые, voltage-gated).
- 3. <u>Лиганд</u>-управляемые (хемо-управляемые, хемочувствительные, хемозависимые, лигандзависимые, рецептор-активируемые).
- 4. Опосредованно-управляемые (вторично-управляемые, ион-активируемые, ион-зависимые, мессенджер-управляемые, управляемые метаботропными рецепторами).
- 5. Совместно-управляемые (<u>NMDA</u>-рецепторно-канальный комплекс). Они открываются одновременно как <u>лигандами</u>, так и определённым электрическим <u>потенциалом мембраны</u>. Можно сказать, что у них двойное управление. Пример: NMDA-рецепторно-канальный комплекс, имеющий сложную систему управления, включающую в себя 8 рецепторных участков-сайтов, с которыми могут связываться различные лиганды.
- 6. <u>Стимул</u>-управляемые (механочувствительные, механосенситивные, активируемые растяжением (stretch) липидного бислоя, <u>протон</u>-активируемые, температурночувствительные).
- 7. Актин-управляемые (актин-регулируемые, actin-regulated, actin-gated channels).
- 8. Коннексоны (двойные поры).

Наиболее часто встречаются два типа каналов: ионные каналы с лиганд-зависимыми воротами (находятся, в частности, в постсинаптической мембране нервно-мышечных соединений) и ионные каналы с потенциал-зависимыми воротами. Лиганд-зависимые каналы превращают химические сигналы, приходящие к клетке, в электрические; они необходимы, в частности, для работы химических синапсов. Потенциал-зависимые каналы нужны для распространения потенциала

§ 1. Дискретное описание транспорта

Классическое описание транспорта ионов через биологические мембраны основано на представлении о диффузии не взаимодействующих между собой заряженных частиц в сплошной однородной среде. Электродиффузионные уравнения, полученные в приближении постоянного поля (приближение Гольдмана), составляют теоретическую основу электрофизиологии. Это уравнения [см. (XIX.2.4); (XIX.2.10)], описывающие поток одного вида ионов через мембрану, а также мембранный потенциал в условиях нулевого электрического тока:

$$J = \frac{zF\varphi P}{RT} \frac{c_o - c_i \exp(zF\varphi/RT)}{1 - \exp(zF\varphi/RT)},$$
 (XXI.1.1)

$$J = \frac{zF\varphi P}{RT} \frac{c_o - c_i \exp(zF\varphi/RT)}{1 - \exp(zF\varphi/RT)},$$
 (XXI.1.1)
$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{\text{K}}[\text{K}_o] + P_{\text{Na}}[\text{Na}_o] + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}_o]}{P_{\text{K}}[\text{K}_i] + P_{\text{Na}}[\text{Na}_i] + P_{\text{Cl}}[\text{Cl}_i]}.$$
 (XXI.1.2)

Уравнения (XXI.1.1) и (XXI.1.2), выведенные в приближении постоянного поля, основываются на следующих постулатах: 1) мембрана представляет собой гомогенную фазу; 2) профиль электрического потенциала в мембране линеен $(d\varphi/dx =$ = const); 3) концентрация иона в мембране на границе с раствором пропорциональна концентрации этого иона в среде с коэффициентом пропорциональности ү; 4) ионы движутся через мембрану независимо, не взаимодействуя между собой.

Если представление о линейной зависимости потенциала от расстоягия в первом приближении оправдвно по отношению к тонким мембранам с толщиной ≤ 10 нм, то другие предпосылки электродиффузионной теории в случае ионного транспорта нарушаются.

Мембрана не является однородной фазой для движения ионов, поскольку перенос ионов через мембраны осуществляется через специализированные участки ионные каналы, представляющие собой липопротеиновые комплексы сложной структуры.

В узких каналах (натриевый — 0.31×0.51 нм, калиевый — 0.45×0.45 нм) невозможна независимая диффузия, а допустимо только однорядное движение ионов. Вследствие узости поры в канале могут происходить сильные ион-ионные взаимодействия.

Различия в поверхностных потенциалах на концах поры могут привести и к различным значениям коэффициента распределения. Возможно также существование локальных неоднородностей электрического поля, связанных с зарядами белковой

действия.

молекулы, образующей канал. Наконец, экспериментальные данные показывают, что в натриевом канале входящий и выходящий потоки подчиняются принципу независимости [см. (XIX.2.12.)] в том случае, когда через канал идет Na⁺, но не другие ионы; калиевый канал в гигантском аксоне кальмара вовсе не подчиняется принципу независимости.

Таким образом, существуют явления, которые нельзя объяснить в рамках представлений о свободной диффузии, — это взаимодействие потоков, а также блокировка канала при высоких концентрациях электролита.

🔀 В последнее время сформировалась новая теория, в основе которой лежат общие физические принципы.

- Поступление иона в канал сопровождается замещением воды гидратной оболочки на полярные группы, выстилающие полость канала.
- 2. Особенности взаимодействия иона с молекулярными группами канала учитываются соответствующими профилями потенциальной энергии иона в канале, который представляется рядом последовательных потенциальных ям и барьеров.
- Ион достаточно долго (по сравнению со временем тепловых колебаний) задерживается в каждой потенциальной яме. Перескок возможен только в пустую яму. Второй ион не может попасть в занятую потенциальную яму из-за электростатического взаимодействия с уже находящимся там ионом.
- Перескоки между ямами совершаются под действием тепловых флуктуаций. Вероятность перескока зависит от приложенного электрического поля.

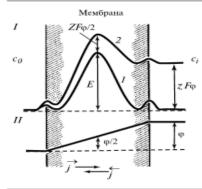


Рис. XXI.1.

Энергетический профиль в трехбарьерной модели канала (I) в отсутствие поля (I) и при наложении на мембрану разности электрических потенциалов (2), и профиль электрического потенциала φ на мембране (II):

 $c_o,\ c_i$ — концентрации электролита в окружающем мембрану растворе, E — высота основного центрального барьера, z — валентность иона, F — число Фарадея, j и j — односторонние потоки иона через канал

Исходя из этих предположений уравнение для потока ионов можно вывести на основе теории абсолютных скоростей реакций Эйринга, если рассматривать транспорт ионов как серию последовательных перескоков через энергетические барьеры в канале. Наиболее простым и достаточно общим оказывается случай, когда в мембране существует всего три кинетических барьера. Боковые барьеры соответствуют входным участкам канала, где происходит первичный процесс дегидратации, центральный барьер — селективной области (селективный фильтр). Если скорость переноса ионов через канал лимитируется центральным энергетическим барьером, который расположен посередине толщины мембраны (рис. XXI.1), то односторонние

ионные потоки определяются уравнениями [см. (XIV.1.1)]

$$\overrightarrow{\jmath} = c_o A \exp\left[-\left(\frac{E}{RT} + \frac{\varphi F z}{2RT}\right)\right] = c_o \nu \exp\left(-\frac{zF\varphi}{2RT}\right),
\overrightarrow{\jmath} = c_i A \exp\left[-\left(\frac{E}{RT} - \frac{\varphi F z}{2RT}\right)\right] = c_i \nu \exp\left(\frac{zF\varphi}{2RT}\right).$$
(XXI.1.3)

где A — константа, E — высота барьера в отсутствие электрического поля, ν — константа скорости перехода через основной барьер в отсутствие электрического поля.

Величину $F\phi/RT$ часто называют безразмерным потенциалом. Вводя $\phi = F\phi/RT$ в уравнения (XXI.1.3), получим выражение для тока, переносимого ионами данного вида:

$$I = zF(\overleftarrow{\tau} - \overrightarrow{\tau}) = zFv(c_i \exp(z\psi/2) - c_o \exp(-z\psi/2)).$$
 (XXI.1.4)

В условиях симметричного ионного окружения ($c_o = c_i = c$) вольтамперная характеристика канала описывается формулой

$$I = zF\nu c \left(\exp(z\psi/2) - \exp(-z\psi/2)\right) = zF\nu c \operatorname{sh}(z\psi/2); \tag{XXI.1.5}$$

$$\operatorname{sh} x = \frac{1}{2} \left(\exp x - \exp(-x)\right).$$

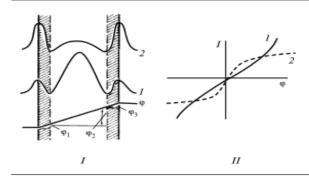


Рис. XXI.2.

Профили энергии в каналах с внутренней лимитирующей стадией $(I,\ 1)$ и граничной лимитирующей стадией $(I,\ 2)$ и соответствующие вольтамперные характеристики каналов (II):

I — ток, ϕ — электрический потенциал; ϕ_1 , ϕ_2 , ϕ_3 — падение напряжения на участках мембраны, соответствующих трем энергетическим барьерам

Таким образом, если ток через канал определяется скоростью переноса ионов через основной энергетический барьер, расположенный в центре мембраны, то вольтамперная характеристика имеет форму гиперболического синуса: с ростом напряжения на мембране проводимость возрастает (согласно приближению постоянного поля, мембрана, находящаяся в симметричном ионном окружении, обладает линейной вольтамперной характеристикой (т. е. проводимость постоянна).

По форме вольтамперной характеристики ионного канала можно выявить, какая стадия, граничная или внутренняя, определяет перенос иона через канал. Рис. XXI.2 иллюстрирует соотношение между профилем энергии (I) и формой вольтамперной характеристики канала (II). Если ток через канал определяется

переносом через центральный барьер, то, как видно из (XXI.1.5), вольтамперная характеристика будет наклоняться к оси токов (кривые 1). Если же ток определяется скоростью входа в канал, то при больших напряжениях на мембране все ионы, входящие в канал, будут переноситься через него, а ток стремится к насыщению (кривые 2). Константы скорости переноса ионов через боковые барьеры слабо зависят от электрического поля, поскольку приложенная к мембране разность потенциалов практически вся падает на внутренней части мембраны (падение напряжения φ_1), а падение потенциала на границе незначительно (падение напряжения φ_1 и φ_3). На рис. XXI.2 показано, что суммарный скачок потенциала на мембране складывается из небольших по величине скачков потенциала на границах (φ_1 и φ_3) и основного падения потенциала на внутренней части мембраны.

Как видно из уравнений (XXI.1.3), отношение односторонних потоков равно

$$\vec{j} / \vec{j} = \frac{c_o}{c_i} \exp\left(-\frac{zF\varphi}{RT}\right),$$
 (XXI.1.6)

что совпадает с формулой Уссинга [см. (XIX.2.12)], выведенной на основе электродиффузной модели. Это является следствием того, что выражения (XXI.1.3)—(XXI.1.6) были получены для случая разбавленных растворов ионов, когда канал большую часть времени остается пустым и ионы «не мешают» друг другу. Однако и в этом случае симметрия вольтамперной характеристики существенным образом зависит от положения основного барьера относительно середины мембраны. При расположении основного энергетического барьера у одной из сторон мембраны обнаруживается эффект выпрямления: поток ионов в одном направлении существенно зависит от потенциала, а встречный поток слабо чувствителен к изменениям мембранного потенциала.

§ 7. Молекулярное строение каналов

Интенсивное изучение химического строения каналов началось в биофизике в конце 1960-х годов. К этому времени стало ясно, что для выяснения механизмов активации и инактивации каналов, их селективности, блокировки, прохождения ионов через пору и других функциональных свойств необходимо знание структуры макромолекул, входящих в состав канала. В середине 70-х годов было установлено, что Na⁺-канал представляет собой трансмембранный белок, погруженный в липидный бислой. Этот же вывод был получен и в отношении другого типа каналов, изменение проводимости которых достигается не за счет изменения электрического потенциала на мембране, а в результате действия химических нейромедиаторов.

Адетилхолиновый рецептор. Наиболее изученными являются активируемые ацетилхолином каналы нервномышечных соединений позвоночных (двигательная концевая пластинка). Пришедший к синапсу нервный импульс вызывает освобождение в синаптическую щель нейротрансмиттера ацетилхолина:

Последующая диффузия молекул ацетилхолина приводит к их связыванию в постсинаптической мембране с рецепторными молекулами. Вследствие этого происходит деполяризация постсинаптической мембраны (до 0 мВ), открытие в результате этого Na⁺-каналов и возникновение в мышечном волокие распространяющегося потенциала действия. Обратное восстановление поляризованного состояния достигается под действием фермента ацетилхолинэстеразы, который гидролизует ацетилхолин до ацетата и холина. Ацетилхолиновый рецептор (электрического органа ската) представляет собой комплекс, состоящий из четырех типов субъединиц (α , β , γ и δ) с молекулярной массой соответственно 40, 50, 60 и 65 кДа, которые входят в комплекс в соотношении $\alpha_2\beta\gamma\delta$. Две α -субъединицы несут на себе два места связывания ацетилхолина. Интактный ацетилхолиновый рецептор может быть встроен в липидную мембрану, где он проявляет все основные свойства ионного канала: ион-селективность и проводимость, чувствительность к действию ингибиторов.

Аминокислотная последовательность первых 54 остатков ацетилхолинового рецептора была определена химическим путем. Она оказалась сходной для всех четырех типов субъединиц белка, которые, очевидно, кодируются гомологичными генами. Полная структура белка была определена известными методами генной инженерии. Так, знание частичной аминокислотной последовательности позволило вначале провести клонирование и секвенирование копий ДНК, соответствующих информационной РНК (мРНК) субъединиц белка ацетилхолинового рецептора. Такая комплемантарная ДНК (кДНК) получалась, как известно, на основе мРНК с помощью обратной транскриптазы. Затем транскрипты ДНК включались в ДНК плазмид для последующего введения в клетки Escherichia coli и получения банка кДНК, содержащего в качестве случайных отдельные участки исходной мессенджер-последовательности. Дополнительно синтезировались искусственные молекулы ДНК, которые кодировали небольшую часть уже известной аминокислотной последовательности белка-рецептора. Отбор нужных плазмид из всего исходного набора проводили путем гибридизации ДНК плазмид с этими искусственно синте-

зированными молекулами ДНК. Тем самым отбирались способные к гибридизации молекулы ДНК плазмид и определялась последовательность их оснований, которая уже включала и дополнительные, новые, кодирующие белок участки.

Повторяя эту процедуру, удалось в конце концов правильно расшифровать весь кодирующий участок и на основе триплетного кода определить первичную аминокислотную последовательность субъединиц белка ацетилхолинового рецептора.

На рис. XXI.13 приведена гипотетическая схема топографической организации отдельной субъединицы ацетилхолинового рецептора, содержащей сегменты M_1-M_4 . Как видно, полипептидная цепь пересекает мембрану четыре раза. Сегменты M_1 , M_2 , M_3 , M_4 соответствуют участкам первичной аминокислотной последовательности, уложенным в α-спиральные структуры. Каждый из сегментов содержит 20–30 аминокислот при общем числе их 430–500 в каждой из четырех субъединиц α, β, γ, δ, входящих в состав всего рецептора.

Наибольшая функциональная роль принадлежит сегменту M_2 и его ближайшему гидрофобному окружению. В нижней части рис. XXI.13 показаны участки субъединиц α , β , γ , δ , несущие отрицательно заряженные аминокислоты (Acn⁻, Глю⁻, Глн⁻). Изменение (уменьшение) заряда этих участков путем замены аминокислот методами генной инженерии приводило к уменьшению потока катионов через канал. По-видимому два внутренних и один наружный отрицательно заряженных участка влияют на проводимость поры канала. Сама пора образована сегментом M_2 каждой из отдельных субъединиц. Отметим, что модификация отрицательных зарядов вблизи других сегментов M_3 , M_4 не приводит к подобным результатам по изменению проводимости канала.

Билет 22

<u>Локальное производство (возникновение) энтропии</u> – это скорость производства энтропии в малом объеме:

$$\sigma = ds_i/dt = J^*F > 0 \tag{6}$$

t-время.

(Говорят также о функции диссипации $\Psi = T \times \sigma$, однако, мы не будем использовать этого понятия!)

Локальное возникновение энтропии представляется, как произведение обобщенных *«потоков»* на обобщенные *«силы»*. Возможность такого представления мы покажем на конкретных примерах.

 ${\it «Силы»}\, F$ в неравновесной термодинамике пропорциональны градиентам (или разностям) интенсивных переменных.

 ${\it «Потоки»}\,J$ – это величины, имеющие привычную размерность потоков {физическая величина/площадь/время).

Потоки и силы сопряжены. Разность температур приведет к возникновению сопряженного потока тепла J_Q . Разность химических потенциалов компонентов вызовет движение вещества из одной части системы в другую (сопряженный поток диффузии J_D) и т.д. Разность химических потенциалов между продуктами и реагентами вызовет «поток химической реакции» J_{chem} . Если в системе действуют различные потоки и силы, то суммарное локальное производство энтропии равно

$$\sigma = \sum_{i=1}^{k} J_i F_i \tag{6a}$$

СООТНОШЕНИЕ ОНЗАГЕРА

Между движущими силами и скоростями (потоками) должна, очевидно, существовать взаимосвязь, при которой увеличение (уменьшение) движущей силы вызывает соответствующее увеличение (уменьшение) скорости процесса. Это относится не только к химическим реакциям, но и к другим необратимым процессам.

Например, процессы переноса тепла и диффузии вещества через мембрану из одной фазы в другую включают движущие силы — градиенты температуры и концентраций, а потоки соответствуют переносу тепла или вещества между двумя фазами. Во всех этих случаях возрастание энтропии имеет вид

$$T\frac{d_{i}S}{dt} = XJ > 0, (7)$$

где X — движущая сила, J — величина потока.

Если система находится вблизи равновесия, где величины движущих сил и потоков очень малы, то между ними имеется прямая пропорциональная зависимость:

$$J = LX, \tag{8}$$

где L — постоянный линейный коэффициент.

Если в открытой системе вблизи равновесия протекают одновременно несколько процессов, то между ними существуют термодинамические соотношения, отражающие их взаимное влияние. Для двух процессов (J_1, X_1) и (J_2, X_2) эти соотношения имеют вид

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

$$J_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2,$$
(9)

где постоянные коэффициенты L_{11} , L_{22} отражают зависимость потока от своей силы, а коэффициенты L_{12} , L_{21} соответствуют взаимному влиянию силы одного процесса на поток другого процесса. Они

носят название коэффициентов взаимности Онзагера. Вблизи равновесия

$$L_{12} = L_{21}. (10)$$

Теперь можно установить количественную связь между одновременно протекающими в клетке процессами, не зная их молекулярных механизмов.

Рассмотрим процесс активного переноса вещества через биологическую мембрану, который происходит за счет энергии сопрягающего метаболического процесса и поэтому может идти против градиента концентрации переносимого вещества. Тогда

$$\begin{split} J_1 &= L_{11} X_1 + L_{12} X_2, \\ J_2 &= L_{21} X_1 + L_{22} X_2, \qquad L_{12} = L_{21}, \end{split}$$

где процесс $(J_1,\ X_1)$ сопряженного переноса идет против градиента силы $X_1\ (J_1,X_1<0)$ за счет энергии сопрягающего процесса $(J_2,X_2>0)$. Если сопряжение отсутствует, то $L_{12}=L_{21}=0$ и процессы идут независимо друг от друга под действием только своих движущих сил

$$J_1 = L_{11}X_1, \qquad J_2 = L_{22}X_2.$$

В начальные моменты запуска системы большая скорость сопрягающего процесса J_2 снижается до минимальных значений, одновременно растет величина X_1 . В результате этих изменений устанавливается стационарное состояние, когда результирующий сопряженный поток обращается в нуль: $J_1=0$. Если система полностью сопряжена, то и для сопрягающего потока устанавливается стационарное состояние $J_2=0$. В этом случае в системе нет видимых изменений и вся энергия сопрягающего потока тратится на поддержание силы X_1 . Можно мыслен-

Термодинамика транспортных процессов. ----

§ 3. Туннельный эффект

Механизмы. Физические представления, связанные с задачей туннелирования элекэлектронов или ядер, являются весьма важными для дальнейшего изложения. Пусть, например, электрон находится в области I (рис. XIII.3), где его энергия Е меньше,

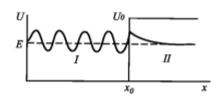


Рис. XIII.3 Проникновение электрона под потенциальный барьер высотой U_0 из области I в область II

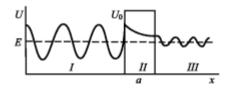


Рис. XIII.4 Туннелирование электрона через конечный потенциальный барьер U_0 из области I в область III

чем энергия потенциального барьера Щ, отделяющего область І от области П. Требуется найти вероятность того, что электрон преодолеет область ІІ, т. е. пройпройдет сквозь потенциальный барьер. Согласно классической физике, эта вероятность равна нулю, так как Е < Щ и в области ІІ кинетическая энергия электрона должна § 3. Туннельный эффект 379

а — ширина барьера

быть отрицательна, что невозможно. В квантовой механике движение электрона описывается волновой функцией $\Phi(ж,?)$, которая, подобно плоской волне, падающей на потенциальный барьер Щ в точке x = Жо, частично отражается, а частично проходит сквозь него.

Билет № 23

- 1. Роль конформационной подвижности в функционировании белков. Электронно-конформационные взаимодействия. Роль воды в динамике белков.
- 2. Проницаемость мембран для воды. Закон Вант-Гоффа. Осмотические свойства клеток и органелл. Движущие силы транспорта воды.
- 3. Модели хаотических процессов в биологии.

Билет № 24

- 1. Молекулярные моторы. H^+ -АТФаза.
- 2. Дозовые кривые выживаемости облученных клеток (основные характеристики). Теория мишени.
- 3. Принцип метода моделирования молекулярной динамики белков.

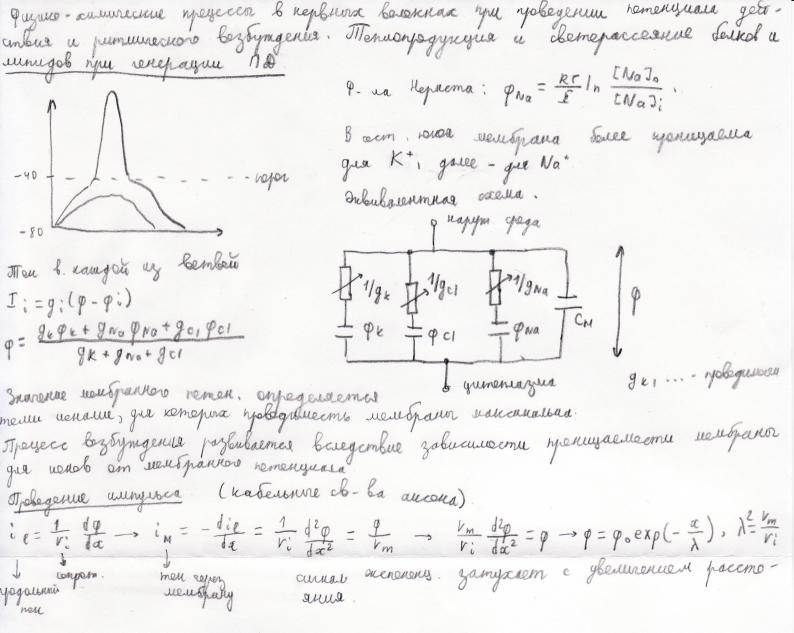
Билет № 25

- 1. Фотохимические реакции повреждения белков и нуклеиновых кислот.
- 2. Физико-химические процессы в нервных волокнах при проведении потенциала действия и ритмического возбуждения. Теплопродукция и светорассеяние белков и липидов при генерации потенциала действия.
- 3. ЭПР спектроскопия при исследовании биологических мембран.

Ронь конформационней подвишнаеми в функционировании быков. Диктронно-кон-формационные взаимодентвия Ром воды в динамике быков. Rosepinnas azonepus. Капринер, менециа этака инеет миниции эксрпи в траке-кондориадии и максинум в уче конформации. Salenumeums nemenguara brympennero branjenus om yrea $g: u(g) = \frac{u_0}{2}(1-\cos 3g)$, u_0 - Eapsep nepexega us agross gregorieur b grynyso. Renoze Cranzansce bengy chazu C-N :N nenegos napa , somewy mo Nu Cu chazo que ne equiapras. Ocnalowe Bozu yene - venus brawans. Кондания. оперния динного бенка с более 100 гонатов) навого найти непосред-ственно, обочно впаснают керелиция метру втеричной стр. бенка и кого первичной аншиск. Ное-того. В общем: пенарите шдрор. грута на пов-ти, гидрор-впутри Кан пайти пигроскер. сест: опагала дле динентида, далее дебавиласт ещё один амира остаток и т. з. Heres. ynelogopegn parg. empyrmyny byn (05>0) no uz ze pazpyw. bagop chazen 14>0 -> b year of = 14-785>0 (upere non, but > 1705)step. reberegno - greebyop. bernal. us bogos. Chappene mosquer-sexassive relap. genoper rugganague, ege noi. bogre emine chappen ne grab. a observado suggannos Base seven tronto 2-3 and bogre. Пронизанием инибран для веды. Закен Вант-Горра. Основнические св-ва клеток и органем. Эвинущие симп трансперта веды. Закон Вант-Горда: в разбавленика растверас ($C \le 0.01 \, \frac{MOND}{n}$) растворитель и растверению в-во ведут себе подобно газан $\rightarrow TV = nRT$, где n - числе молей растворению в-ва, T - оснотичение давление. $\rightarrow T = CRT$, C - кему растворению в-ва Осное-процек однестерскией дирдугии р-ил ст р-ра сменьшей кому распоред. в. ва и р-ру с былией черы полущения перегеродну Давление, кеторо мунию приномить в прецессе осноет и р-ру, гтобог привости его уровень и уровню чис. того раст-ме - оснотическое давление. Двинущие сима трансперта води: метабомпеснае и оснотиченая. Оснотичес-кая - транспорт води обеспочивается разрестью оснотического давления ка разрича стеропаа менорани с пенинумо бенев - сиваперинов. Это пассивний транспорт Эктивного траненерт веды - с помощью бенев-ноштелей. Caromiranere de la memore. Turipmenurecció p-p: Derson. Jabrerie bruse, rem 6 kiemicas, kiemica megazin begy u cuopuzubaromea. Гинетенический р-р: наоборот, шетка напусает. Sunique report reper una nomem moregum bega. Ha nob-mu suniquero sucrea copazienea como begasagnira chazeta, o se en Granjura reperce bogo. Morenjura ведот на границе раздела шнид - раствор образурот У слод объещью обод регора, слой педратной ведок, полещик ведок в котором взами. с полармочим группани меленут минида, слеб мелену веди, связанний водоредной связью с молекульний минида на уровие карбонимей учупил и прансмембранние водине метими.

Ромскиштеские реакции поврещения быков и нукленнових инсист.
Ротодитивние принские наиболее эррентивно индуприруютае в биог. системах ко-
Нешенью тигов первичних дотехим, реакций, кетерые приведет к деетр. действию
Нешению тигов первигних фотожисими, реакций, кетероге приведет к деетр. деяствию оптического измучения: фотожисиемие, фотошнизация, фотодиссоциация, фотоприо- единение.
Jonewayague mpunnepana (AH) & Leikaa: AH hr AH++e-
B quemurobura ocnamuax Seusob pomeguecoquayus 5-5 obazeii:
a d D hy soco cul
B omenue on Serkeb, & nykreunobora kuciomad pomenonizaque asomucionisse
Bonsurue om Serkob, le nykreunobora kucromad pomenonuzagna azomucinisco ochobakum nyovez mersko npu norrowenum 2-a kbarmet 19-chema.
Peanyn & DHK.
Фотеринения с сединения двух стований по 5,6-двешней уторедней связи
Peanyn & DHK. Pomegungungung: cegunenue gbyce cerchanum ro 5,6-gheunem ymopegneti chazu c ospazobanuem neutoga yunuodymarobore muna Domeruspamainus - nymoegunenue begir u nupumuguroborny noutogy c pazpirboru gheunem chazu: H H
gheunea chazu.
$\begin{array}{c} C \\ H \\ C \\ H \end{array}$
C
/
Crubben c Lereaux. Trumperience anunouncionnos comamas Lerka sepez 54-
une OH-yypnor K Cs wie C6 gumezina une mienera DHK.
Crushen c Sereaux. Trumperience anunencicemente cemanicol seria sepez 54- una OH-yrgneria in Co sumezina una manura DHK. THOH Tomberolametre peacyna. Slampuner, TH by TH* by TH* e [TH] Tomanum.
T-mum.

Mogeri a asmiricula njegeces & dueroun Уменения напачних устовий приведат и больши коночни розультатся. Megens gunatum rengraguit. $α_{n+1} = f_r(α_n) = v α_n(1-α_n)$. Dua $f(α_n)$ worms forms parmer penulux: ποιοπονίας α καιεδαπείδησε ημαδιωπένων κ σεπετιμό pabrofectia, ygalenul om neo, πασε. При ССЗ - числением пенулации стренитие к устентивану остоянию равноbe cue. The V > 3,5 - commuzaque. Onna pergraphoeme, no V > 3,5 chamb wayon between constitutive unnextain. 3 narenua V, no imperior ancho yenewroborse nepusy. Moren yokanbaemae, $V_n = V_c - \cos s + S - n$, n >> 1, $rge S = \frac{V_n - V_{n-1}}{V_{n+1} - V_n}$ connemence no regolamentaira unnextaint be znarenue napavempa V, i regulax vemepose quial expansem constituisment. sempeague + anyearus Mnomecmba Mangensyema Tec-mo source. rucial $z_{n+1} = \frac{1}{2}c(z_n) = z_n^2 + C \rightarrow \begin{cases} \alpha = \frac{1}{2} - \frac{2}{3} \\ p - 12n \end{cases}$ c=(21-14)/4; C=0 → hu vangoù unepayou Zo→Zo→Zo→Zo→...
mpaunex une o, une oo) B zabuennomu on c (um -> 0 um -> 0 - amwenno rengramo pazientene урактанные учаници областей примажения.



Билет 26

1. Молекулярная организация биологических мембран. Состав, строение, образование. Термодинамика процессов формирования и устойчивости мембран. Белок-липидные взаимодействия. Фазовый переход.

Биологическими мембранами называют функциональные структуры клеток толщиной в несколько молекулярных слоев, ограничивающие цитоплазму и большинство внутриклеточных структур, а также образующие единую внутриклеточную систему канальцев, складок и замкнутых полостей.

В состав биологических мембран: входят липиды, относящиеся главным образом к трем основным классам: глицерофосфатиды (фосфолипиды), сфинго- и гликолипиды, а также стероиды.

В состав молекулы природных липидов входят полярная заряженная фосфатная головка и длинные углеводородные цепочки, принадлежащие жирным кислотам. В природных фосолипидах жирные кислоты могут иметь ненасыщенные двойные связи в основном во втором положении глицеринового остатка. Белки могу пронизывать мембрану насквозь, а могут быть частично или целиком погружены в липидный слой. Взаимодействие с гидрофобными липидами осуществляется в основном неполярными аминокислотными остатками. Белки плавают в липидном слое мембраны в виде отдельных глобулярных частиц и обладают определенной подвижностью. Активность мембранных белков зависит от фазового состояния липидов и вязкости мембраны.

Липид-белковые взаимодействия. В основе данных взаимодействий лежат межмолекулярные дисперсионные и электростатические силы, водородные связи или другие эффекты связывания. Липид-белковые взаимодействия и обусловленные ими явления условно классифицируют следующим образом: взаимодействия белок — липидный монослой; взаимодействия белок — липидный бислой; липид-белковые взаимодействия в мембранах, включающие липид-зависимые ферменты.

Взаимодействие белков с липидными монослоями обнаруживается при включении в монослои радиоактивно меченных белков (альбумин, цитохром с). Электростатические взаимодействия между белками и монослоем проявляются в виде резкого изменения сорбции белков на заряженных монослоях при отклонении от изоэлектрической точки белков. В опытах с фосфолипазами показано, что электростатические взаимодействия определяют начальные этапы взаимодействия фермент — липидный монослой. Начальные этапы существенно облегчают последующую правильную стереохимическую ориентацию компонентов фермент-субстратного комплекса.

Взаимодействие белок — липидный бислой — высокоспецифичный и многостадийный процесс, характеризующийся наряду с поверхностной сорбцией внутримембранным встраиванием белков. Экспериментальным критерием встраивания белков в липидный бислой обычно служит изменение ионной проницаемости мембран. В модельных экспериментах встраивание мембранных белков в искусственные бислойные системы играет решающую роль в их успешной функциональной реконструкции.

Липид-белковое взаимодействие в мембранах проявляется при образовании внутри мембран специфичного липидного окружения вокруг белковых молекул. Такие липиды называются связанными или аннулярными. В настоящее время, однако, окончательно не решен вопрос о возможности формирования вокруг белков в жидкокристаллических мембранах (при Г > ГФП) специфического липидного окружения, характеризующегося сравнительно медленным обменом с остальными липидами. Тем не менее с помощью метода ЭПР доказано изменение подвижности и характера упаковки углеводородных цепей

под

влиянием белков. Более того, методами ЭПР, ЯМР, флуоресценции и другими показано, что пертурбирующее действие различных интегральных и периферических белков (цитохром-соксидаза, цитохром с, полилизин, миелин, родопсин, белки тилакоидных мембран и др.) распространяется вплоть до четвертого слоя липидов, окружающих молекулу белка.

Формирование мембраны, их стабилизация во многом определяются поверхностными явлениями и межмолекулярными взаимодействиями. Теоретическое изучение свойств высокоорганизованных биологических мембран проводят на примере углеводородных пленок и структур, образуемых липидами в водных средах.

Поведение различных соединений в растворах подчиняется адсорбционному уравнению Гиббса:

где σ — межфазное (поверхностное) натяжение, Γ_i — степень адсорбции i-го компонента в поверхностном слое, μ_i — химический потенциал i-го компонента.

Для бинарной системы (например, липид-вода) адсорбционное уравнение Гиббса записывается в виде:

 $-d\sigma = \Gamma_{-}1d\mu_{-}1 + \Gamma_{-}2d\mu_{-}2$

При низкой концентрации растворенного вещества, сильно адсорбирующегося на поверхности раздела (весьма реальная ситуация для системы липид-вода), адсорбцию самого растворителя можно приравнять к нулю (Г2=0).

Тогда: $-d\sigma = \Gamma_1 d\mu_1$. Так как для разбавленных растворов $d\mu_1$ RT In a_1 \sim RT In C_I, где a1 и C1 — активность и концентрация растворенного вещества, то адсорбционное уравнение принимает вид

Величина $(d\sigma/dc)|c->0$ называется поверхностной активностью. Поверхностно активными называются вещества, понижающие поверхностное натяжение. Для таких веществ $d\sigma/dc < 0$ и $\Gamma > 0$. К этим соединениям, хорошо адсорбирующимся в поверхностном слое и снижающим поверхностное натяжение, относятся органические амфифильные соединения, в частности, липиды.

выделяют три типа электростатических взаимодействий в мембранных системах: латеральное, или тангенциальное взаимодействие заряженных групп молекул, которые расположены в одном полуслое мембран; трансмембранное взаимодействие заряженных групп, расположенных по разные стороны мембраны; межмембранное взаимодействие заряженных групп, расположенных на поверхности двух соседних мембран. Теоретическое описание первого типа взаимодействий в мембранах осложнено трудностями определения точной топографии (размещения) зарядов в мембранах и нахождения диэлектрической проницаемости среды, разделяющей заряды в мембране. К настоящему времени глубже разработана теория межмембранных электростатических взаимодействий. Однако формальное описание установленных закономерностей достаточно сложно. Не вдаваясь в детали расчетов, укажем, что энергия отталкивания, например, эритроцитов на расстояниях, больших 10 нм, обращается в нуль, а уже при ~ 2 нм она более чем на три порядка превышает энергию теплового Трансмембранные ионно-электростатические взаимодействия обычно рассматривают по аналогии с плоским конденсатором. Однако теория этого взаимодействия применительно к мембранным

системам разработана недостаточно.

Равновесие мембраны: воспользуемся методом Гиббса. Схематически представим реальную систему, ограничив мембрану с двух сторон разделяющими поверхностями и полагая, что фаза бет однородна вплоть до этой поверхности. Если внутри мембраны сохраняется слой со свойствами объемной фазы, то такую мембрану называют толстой. Для толстых пленок характерно свойство аддитивности, когда значение энергии складывается из ее значений для объемной фазы и поверхностных слоев. При отсутствии слоя со свойствами объемной фазы в пленках наблюда-

ется взаимодействие между поверхностными слоями и условия аддитивности энергии не выполняются. Такие пленки называют тонкими. пленок. Важная особенность тонких пленок состоит в том, что давление в фазе, из которой сформирована пленка (мембрана), и давление в окружающей среде не одинаковы. Эту разницу давлений р_бета - р_альфа = П — расклинивающее давление.

Фазовый переход: Как показано физическими методам исследования: дилатометрией (измерение коэффициента объемного расширения) калориметрией (измерение теплоемкости), методом рентгеноструктурного анализ и др., липидная часть биологических мембран при определенных температурах испытывает фазовый переход первого рода. Согласно данным рентгеноструктурного анализа, радиоспектроскопии, флюоресцентного анализа, инфракрасной спектроскопии и других физических исследований, в фосфолипидной мембране при понижении

температуры происходит переход их жидкокристаллического в гель-состояние, которое условно иногда называют твердокристаллическим. В Гель-состоянии молекулы расположены ещё более упорядочено, чем в жидкокристаллическом. Вс гидрофобные углеводородные хвосты фосфолипидных молеку в гель-фазе

полностью вытянуты строго параллельно дру другу (имеют полностью транс-конформацию). В жидком кристалле за счет теплового движения возможны транс-гош-переходы, хвосты молекул изгибаются, и параллельность друг друг в отдельных местах нарушается, особенно сильно в середине мембраны.\

Билет 27

1 Активный транспорт натрия, калия и кальция. Транспорт протонов.

К веществам, которые транспортируются посредством первично активного транспорта, относят натрий, калий, кальций, водород, хлор и некоторые другие ионы. Механизм активного транспорта лучше всего изучен для натрий-калиевого насоса (Na+/K+-насоса) — транспортного процесса, который выкачивает ионы натрия через мембрану клетки наружу и в то же время закачивает в клетку ионы калия. Этот насос отвечает за поддержание различной концентрации ионов натрия и калия по обе стороны мембраны, а также за наличие отрицательного электрического потенциала внутри клеток. (В главе 5 будет показано, что он является также основой процесса передачи импульсов в нервной системе.) Белок-переносчик представлен комплексом из двух раздельных глобулярных белков: более крупного, называемого альфа-субъединицей, с молекулярной массой около 100000, и меньшего, называемого бета-субъединицей, с молекулярной массой около 55000. Хотя функция меньшего белка неизвестна (за исключением того, что он, возможно, закрепляет белковый комплекс в липидной мембране), крупный белок имеет три специфических характеристики, важные для функционирования насоса.

- 1. На выступающей внутрь клетки части белка имеются три рецепторных участка для связывания ионов натрия.
- 2. На наружной части белка располагаются два рецепторных участка для связывания ионов калия.
- 3. Внутренняя часть белка, расположенная вблизи участков связывания ионов натрия, обладает АТФ-азной активностью.

Рассмотрим работу насоса. Когда 2 иона калия связываются с белком-переносчиком снаружи и 3 иона натрия связываются с ним внутри, активируется АТФ-азная функция белка. Это ведет к расщеплению 1 молекулы АТФ до АДФ с выделением энергии высокоэнергетической фосфатной связи. Полагают, что эта освобожденная энергия вызывает химическое и конформационное изменение молекулы белка-переносчика, в результате 3 иона натрия перемещаются наружу, а 2 иона калия — внутрь клетки. Как и другие ферменты, Na-K+-ATФаза может работать и в обратном направлении. При экспериментальном увеличении электрохимических градиентов для Na+ и K+ до таких значений, что накопленная в них энергия станет выше химической энергии гидролиза АТФ, эти ионы будут двигаться по своим градиентам концентрации, а Na+/K+-Hacoc будет синтезировать АТФ из АДФ и фосфата. Следовательно, фосфорилированная форма Na+/K+-насоса может быть или донором фосфатов для синтеза АТФ из АДФ, или использовать энергию для изменения своей конформации и качать натрий из клетки, а калий — в клетку. Относительные концентрации АТФ, АДФ и фосфатов, как и электрохимические градиенты для натрия и калия, определяют направление ферментативной реакции. Для некоторых клеток, например электрически активных нервных клеток, от 60 до 70% всей потребляемой клеткой энергии тратится на перемещение натрия наружу и калия внутрь.

Активный транспорт кальция

Са2+ -зависимая АТФаза, сопряженная с мощным Са 2+-насосом, локализована в мембранах саркоплазматической сети. Са2+ -АТФаза состоит из одной полипептидной цепи с молекулярной массой около 100 000 и относительно высоким содержанием гидрофобных аминокислот (аминокислоты с неполярными боковыми цепями). Для работы Са2+- зависимой АТФазы также необходимо присутствие фосфолипидов. Схема работы:на первом этапе происходит связывание Са2+ и АТФ. Эти соединения связываются с разными центрами на внешней поверхности мембранного пузырька. Константа связывания Са2+ составляет порядка 10^7 М-1.

На втором этапе АТФ гидролизуется с образованием фосфорилированного фермента. Образующаяся фосфорилированная форма фермента E~P конформационно неустойчива и претерпевает изменение пространственной структуры так, что ион-связывающие участки оказываются отделенными от внешней среды. Изменение конформации Са +-АТФазы проявляется в изменении сигнала ЭПР спиновой метки, присоединенной к белку, в связи с изменением подвижности метки.

На следующем этапе цикла происходит изменение сродства Ca2+ -связывающих центров к ионам Ca2+ одновременно с изменением характера связи фосфатной группы с ферментом. Энергия, ранее сосредоточенная в макроэргической фосфатной связи комплекса E^P, расходуется на изменение константы связывания ионов Ca2+ с ферментом. Изменение сродства обусловлено, по-видимому, изменением расположения полярных групп, образующих координационные связи с Ca2+. В итоге, ионы Ca2+ получают доступ во внутреннее пространство мембранных пузырьков и выбрасываются во внутренний объем.

Транспорт протонов

Перенос H+ через мембраны может осуществляться механизмами трех типов. В некоторых мембранах существуют подвижные переносчики протонов (пластохинон в фотосинтетической мембране хлоропластов). Возможны также конформационные переходы мембранного белка при связывании протона на одной стороне мембраны и депротонировании белка с другой стороны мембраны, сопряженные с поворотом макромолекулы в мембране, при котором присоединенный протон пересекает мембрану. Наконец, протоны могут транспортироваться через мембрану по специализированным структурам — H+-каналам. Протонный канал представляет собой узкую полость, образованную полярными группами белка.Протонный канал — важный компонент всех H+- АТФаз. Он образован гидрофобной частью субъединицы сопрягающего фактора — комплексом CFq. По H+- каналу протоны поступают к каталитическому участку транспортной системы, в котором осуществляется сопряжение переноса H+ с реакциями синтеза-гидролиза АТФ.

2 Острая лучевая болезнь человека. Стохастические и детерминированные, генетические соматические эффекты облучения, примеры.

Острой лучевой болезнью (ОЛБ) называют совокупность клинических синдромов, развивающихся при кратковременном (от нескольких секунд до 3 суток) облучении в дозах, превышающих 1Гр на всё тело.

- Классификация ОЛБ: 1-2Гр 1 степень (легкая) 2-4Гр 2 степень (средняя) 4-6 Гр 3 степень (тяжелая) >6Гр крайне тяжелая степень
 - Периоды ОЛБ: Период формирования // Восстановления // исходов и последствий
 - Период формирования ОЛБ: фаза первичной реакции; // фаза кажущегося клинического благополучия (скрытая, или латентная, фаза); // фаза выраженных клинических проявлений (фаза разгара болезни); // фаза раннего (непосредственного) восстановления.

Фазность периода формирования наиболее четко проявляется при костномозговой форме и частично – при кишечной форме лучевой болезни.

<u>Фаза первичной реакции:</u> возникает в зависимости от дозы через несколько минут или через несколько часов после облучения. Длится от нескольких часов до 3-4 сут.

Симптомы: тошнота; рвота (от однократной до многократной и неукротимой), особенно после приема жидкости; отсутствие аппетита; иногда ощущение сухости и горечи во рту; чувство тяжести в голове, головная боль, общая слабость, сонливость; шокоподобное состояние;падение артериального давления;кратковременная потеря сознания; понос;повышенная температура;в периферической крови в первые сутки после облучения наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз и лимфопения.

<u>Фаза кажущегося клинического благополучия</u>: Продолжительность этой фазы зависит от дозы: может длиться 30 суток (при дозах 1-2 Гр), может вообще отсутствовать (при дозах более 10 Гр).

Термин «кажущееся клиническое благополучие» применяется в данном случае из-за отсутствия клинически видимых признаков болезни (включая улучшение самочувствия больного), хотя целый ряд клинических признаков наблюдается все же и в этой фазе, например: Лимфопения в ранние сроки; В средние или поздние: орофарингеальный синдром (гиперемия и эрозия слизистых рта и глотки), выпадение волос (при облучении в дозах не менее 4 Гр); тромбоцитопения и нейтрофильная лейкопения; подавление ранних стадий сперматогенеза и т. д.

<u>Фаза выраженных клинических проявлений:</u>В зависимости от дозы облучения может наступать либо уже на 1-2 сутки, либо на 5-7 неделе после облучения. Для этой фазы наиболее типичны инфекционные осложнения и кровотечения, протекающие на фоне глубокой нейтрофильной лейкопении и тромбоцитопении. При более высоких дозах — глубокие кишечные нарушения (энтерит, парез, непроходимость), расстройства центральной регуляции кровообращения, отек мозга.

<u>Фаза раннего восстановления</u> начинается с 45-50 суток после облучения. Показателями начала фазы раннего восстановления являются: нормализация температуры тела; улучшение самочувствия; улучшение аппетита; начало восстановление массы тела; прекращение кровоточивости; постепенная нормализация морфологических показателей крови (числа лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов) – у выживших она начинается еще в фазе разгара болезни.

Продолжительность фазы раннего восстановления составляет 2-2,5 мес. К концу 3-го месяца от начала заболевания самочувствие больных становится, как правило, вполне удовлетворительным. Рост волос возобновляется к 4-му месяцу. Сперматогенез восстанавливается к 4-6 месяцу.

Лечение:

Главная задача терапии ОЛБ — продлить период, в течение которого организм будет продолжать жить (несмотря на минимальное число функциональных клеток в периферической крови) до тех пор, пока не произойдет хотя бы частичное восстановление системы кроветворения.

Восстановление системы кроветворения и, соответственно, исход костно-мозговой формы ОЛБ в первую очередь зависит от количества сохранивших жизнеспособность кроветворных стволовых клеток.

Даже после общего облучения в дозе 10 Гр сохранившиеся в организме кроветворные стволовые клетки способны обеспечить восстановление кроветворения.

НАДО ТОЛЬКО ПОМОЧЬ ОРГАНИЗМУ ПРОДЕРЖАТЬСЯ довольно длительный промежуток времени.

Это время нужно для того, чтобы из малого числа оставшихся стволовых клеток образовался пул такого размера, который позволит части стволовых клеток начать дифференцировку с образованием клеток-предшественников различных ростков кроветворения, которые, в свою очередь, дадут начало клеткам сначала пролиферирующего, затем созревающего и, наконец, функционального пула.

<u>Терапия:</u> трансфузия нейтрофилов, трансфузия тромбоцитов, трансфузия эритроцитов (при анемии, обычно возникающей при обильных кровопотерях), мероприятия, направленные на ускорение восстановления костного мозга (введение цитокинов — низкомолекулярных регуляторных белков), трансплантация костного мозга (только аутологичного [собственного костного мозга, взятого перед облучением] или изологичного [от однояйцового близнеца]), переливание солевых растворов и глюкозы для компенсации утраты воды и электролитов, сопровождающей поражение кишечника, введение одновременно или последовательно нескольких антибиотиков широкого антибактериального действия (аминогликозиды, цефалоспорины, полусинтетические пенициллины) в максимальных дозировках (раннее назначение антибиотиков наиболее эффективно),

введение средств, уменьшающих побочное действие антибиотиков. неклеточные средства, увеличивающие свертываемость крови и прочность капилляров (эригем, дицинон и др.).

<u>Детерминированные эффекты облучения</u> — биологические эффекты, вызванные ионизирующим излучением в облученном организме, которые возникают при достижении определенного <u>дозового порога</u>, а выше дозового порога вероятность их появления и степень проявления (т.е. тяжесть) увеличиваются с дальнейшим повышением дозы. Возникают, главным образом, в результате <u>гибели</u> клеток, приводящей к нарушению функции ткани, которую они составляют. К ним относятся, непосредственные проявления острого лучевого поражения, радиационные синдромы, нарушение репродуктивной функции, поражение кожи, возникновение катаракты.

Наблюдаются в основном в <u>ближайшие сроки</u> после облучения, реже — в <u>отдаленные сроки</u> (например, катаракта). Порог для разных детерминированных эффектов может наблюдаться при дозах от 0,1 Гр до нескольких десятков грей. Ннапример, порог обратимой стерильности мужчин при однократном облучении семенников составляет около 0,15 Гр, а порог необратимой — 3,5-6 Гр. Порог для постоянной стерильности женщин при остром облучении

Порог достоверного подавления кроветворения в красном костном мозге человека при остром облучении наблюдается при 0,15 Гр.

Стохастические эффекты облучения – биологические эффекты, вызванные ионизирующим излучением в облученном организме или его потомстве, не имеющие дозового порога возникновения, вероятность появления которых увеличивается при повышении доз, а тяжесть проявления не зависит от дозы. Возникают в результате мутагенного действия ионизирующего излучения, т.е. когда клетка под действием излучения не погибает, но в ней происходит повреждение генома. Стохастические эффекты облучения могут возникать как в самом <u>облученном организме</u>, так и у <u>потомства</u> облученного организма. К стохастическим эффектам облучения относятся радиоиндуцированные опухоли, возникающие в различных тканях облученного организма. Наиболее часто встречаются злокачественные опухоли кожи, костей, молочной и щитовидной желез, яичников, легких, а также лейкозы.Стохастические эффекты возникают через длительное время после облучения, т.е. являются отдаленными последствиями облучения. Поскольку существуют механизмы клеточного восстановления, стохастические эффекты при малых дозах маловероятны, однако с увеличением дозы облучения их вероятность возрастает. Тяжесть же этих эффектов не зависит от дозы. Лучевые изменения половых клеток могут привести к возникновению стохастических эффектов в виде наследственных болезней или уродств у потомства облученного организма.

Соматические эффекты облучения (от греч. sóma — тело) — вредные биологические эффекты, вызванные ионизирующим излучением в соматических (т.е. не половых) тканях облученного организма.

Могут быть как *детерминированными*, так и *стохастическими*, как *ранними* (проявления острой лучевой болезни и локальные лучевые повреждения), так и *отдаленными* (сокращение продолжительности жизни, возникновение опухолей, катаракты и др.).

Генетические (наследственные) эффекты облучения – вызванные ионизирующим излучением биологические эффекты, обусловленные повреждением генома (появление доминантных и рецессивных генных мутаций) половых клеток облученного организма и проявляющиеся у его потомства.

Относятся к *стохастическим эффектам* облучения. Могут быть как *неблагоприятными* (вредными), так и благоприятными (полезными). Полезные генетические эффекты используют для выведения более продуктивных штаммов микроорганизмов и сортов растений.

Билет 28

Все виды взаимодействий между атомами независимо от их физической природы

при формировании различных макромолекулярных связей можно разделить на

$\overline{h} = \sum_{i=1}^{N} \overline{T_i}$

2 основных типа:

- взаимодействия ближнего порядка между атомами соседних звеньев
- дальние взаимодействия между атомами, которые хотя и отстоят по цепи далеко друг от друга, но случайно встретились в пространстве в результате изгибов цепи.

В качестве простейшей модели биополимера рассмотрим свободно-сочлененную цепь. Будем считать, что цепь состоит из ряда прямолинейных сегментов, каждый из которых включает определенное число отдельных звеньев. Внутри каждого сегмента сохраняется абсолютная корреляция в ориентации звеньев. При этом между сегментами эта корреляция полностью отсутствует.

Радиус-вектор h между концами цепи может быть представлен в виде суммы отдельных векторов li,

характеризующих каждый сегмент. Число сегментов должно быть достаточно большим (не меньше 80), чтобы можно было корректно использовать статистические подходы (h принадлежит [0, |N|]) и может внутри него принимать любые значения. Вероятность того, что определенный сегмент находится в определенном положении относительно другого сегмента, может быть выражена через функцию распределения Wa вектора расстояний между сегментами цепи. Функция Wa называется функцией распределения величины а или плотностью вероятности нахождения данного значения a, если произведение wada равно вероятности нахождения значения переменной a в интервале от $a = 4 \cdot x \cdot h^2 \left(\frac{3}{2 \cdot x \cdot N \cdot l^2}\right)^{\frac{3}{2}} \cdot e^{\frac{34h^2}{2HR^2}}$ достаточно длинной свободно-сочлененной цепи, находящейся в термодинамическом равновесии с окружающей средой. функция

термодинамическом равновесии с окружающей средой, функция распределения является гауссовой. Для определенности введем систему координат, в начало которой поместим начало цепи.



Функции распределения координат x, y, z конца цепи являются гауссовыми. Так как x, y, z являются независимыми, то вероятность попадания конца цепи в элемент объема dr=dxdydz окрестности точки (x, y, z) равна произведению трех независимых событий, следовательно:

$$W_\tau \cdot d \mathcal{F} = \left(\frac{3}{2 \cdot \pi N \cdot l^2}\right)^{3/2} \cdot e^{\frac{-3 \cdot k^2}{2N \cdot l^2}}$$

Для ансамбля, состоящего из n молекул, произведение W_tdt равно относительной доли молекул (dn/n), конец которых попадает в элемент объема d при закреплении всех цепей в точке (0,0,0) Вероятность того, что h имеет длину |h| не зависит от направления h и пропорциональна произведению W_t на элемент объема шарового слоя $4*Pi*h^2*dh$ в котором находятся концы всех векторов длиной от h до h+dh.

или:

То есть произведение W_hdh равно относительному числу молекул (dn/n) для которых длина вектора h заключена в интервале от h до h+dh B соответствии с этим распределением принято различать следующие статистические характеристики свободного состояния цепи.

Среднее значение длины цепи:
$$\overline{h} = \frac{1}{n} \cdot \sqrt[n]{h \cdot dn} = \sqrt[n]{h \cdot W_x \cdot dh} = \sqrt{\frac{8}{3\pi} \cdot N \cdot l^2}$$

Наиболее вероятное значение длины свободно-сочлененной цепи: $^{h_{\rm m} \Rightarrow \max{\{W_{\rm s}\}} \Rightarrow h_{\rm m}} = \sqrt{\frac{2}{3} N \cdot l^2}$

Среднеквадратичное значение: $\overline{h^2} = \frac{1}{n} \cdot \sqrt[n]{h^2 \cdot dn} = \sqrt[n]{h^2 \cdot W_x \cdot dn} = N \cdot t^2$

В полимерной цепи, где все валентные углы, соединяющие сегменты, фиксированы и одинаковы, а вокруг всех одинарных связей разрешено свободное вращение,для

среднеквадратичного значения имеем следующее выражение: $\bar{h}^2=M^2\frac{1+\cos\theta}{1-\cos\theta}$

Геометрические размеры задаются с помощью среднеквадратичного расстояния биополимера -h^2. Внутренняя пространственная структура задаётся пространственным распределением плотности звеньев. Вследствие

объёмного взаимодействия, число звеньев в пространстве может меняться от точки к точке. В полимерных нитях, вследствие взаимосвязанности звеньев, изменение плотности в одной точке пространства связано с изменением плотности в другой точке, то есть существует пространственная корреляция плотности. Если в макромолекуле отсутствует объёмное взаимодействие, то она не имеет достоверной

пространственной структуры. В этом состоянии флуктуация (изменение вероятности) плотности имеет значение того же порядка, что и сама плотность. Такое состояние носит название клубка. Радиус корреляции ξ , то есть характерное расстояние, в пределах которого плотность звеньев резко меняется, становится того же порядка, что и размеры макромолекулы $R: \xi^{\sim}R, R^{\sim}sqrt(h^{\sim}2), \xi^{\sim}l^{*}N^{\sim}0,5$

Наличие объёмных взаимодействий может привести к такому состоянию, в котором флуктуация плотности мала по сравнению с самой плотностью. Такое плотное образование называется глобулой. В нем радиус корреляции

флуктуации плотности намного меньше размеров молекулы ξ<<R Глобула в отличие от клубка обладает компактной пространственной структурой. Сердцевина большой глобулы примерно однородна, с постоянной концентрацией звеньев *n0*.

Все виды взаимодействий между атомами независимо от их

физической природы

при формировании различных макромолекулярных связей можно разделить на

2 основных типа:

- взаимодействия ближнего порядка между атомами соседних звеньев
- дальние взаимодействия между атомами, которые хотя и отстоят по цепи далеко друг от друга, но случайно встретились в пространстве в результате изгибов цепи.

Первичная структура, или основная последовательность звеньев полимерной цепи (аминокислоты в цепи белка, нуклеотиды в цепи нуклеиновых кислот), определяется химическими или валентными взаимодействиями. Помимо этого, между молекулами действуют также слабые невалентные силы, которые приводят к притяжению на больших и к отталкиванию — на малых расстояниях. На рис изображена типичная зависимость потенциальной энергии взаимодействия U(r) двух частиц молекулярной природы от расстояния r между

ними. Энергия взаимодействия U(r), или потенциал взаимодействия, связана с силой взаимодействия F(r):

F(r) = -dU(r)/dr.

На малых расстояниях вследствие отталкивания молекул при взаимном проникновении их электронных оболочек преобладают силы отталкивания: dUoтт(r)/dr << 0, а на больших расстояниях превалирует притяжение: dUnp(r)/dr > 0. Общий потенциал взаимодействия U(R)

представляет собой алгебраическую сумму:

Минимум на кривой U(r) при $r=r \ 0$ соответствует равновесному положению, в котором силы притяжения уравновешиваются силами отталкивания. Существуют различные типы взаимодействий, от которых в основном зависит вторичная структура макромолекул. Силы Ван-дер-Ваальса играют большую роль в образовании конденсированных жидких и твердых состояний, во взаимодействиях на поверхности раздела фаз. Они имеют электромагнитную природу и определяются взаимодействием электрических диполей в соседних молекулах. Ими определяются взаимодействия в газах и возникающие отклонения от законов идеальных газов. В первом приближении эти отклонения подчиняются известному уравнению Ван-дер-Ваальса для газов (p + a/v2) (v-b)= nRT, где a, b — константы, определяющие взаимное притяжение и отталкивание молекул. В зависимости от соотношения между давлением р и объемом у могут осуществляться разные агрегатные состояния жидкости и газа и переходы между ними. В частности, для жидкости энергия межмолекулярных взаимодействий определяет теплоту испарения. Значение характерной энергии ван-дер-ваальсовых взаимодействий лежит обычно в диапазоне от 4-8 кДж/моль и выше, в то время как тепловая энергия молекулы при комнатной температуре (Т = 300 К) составляет RT ~ 48 Дж/моль • град,

а энергия ковалентных связей 170-630 кДж/моль.

Водородная связь. Водородная связь осуществляется между электроотрицательными атомами (O, N, F, C1) с участием водорода, который образует ковалентную связь с одним из них. Природа водородной связи сложна и не сводится только к электростатическому притяжению, хотя оно и дает значительный вклад в энергию водородной связи. По данным структурного анализа кристаллов, расстояние между электроотрицательными атомами, связанными водородной связью, обычно меньше вандер-ваальсовых радиусов соответствующих атомов примерно на 0,02-0,09 нм. Значения энергии Н-связи лежат в пределах 12,6-33,6 кДж/моль.

Энергия внутреннего вращения. В нормальных условиях длины связей и валентные углы (между прилегающими связями) остаются практически постоянными, поскольку они испытывают при обычных температурах лишь незначительные тепловые флуктуации. Остающиеся переменные, которые определяют конформацию полимерной молекулы, представляют собой углы поворота вокруг связей или углы внутреннего вращения ф_i. Это двугранные углы между двумя плоскостями, образованными парами связей і — 1, і и i, i + 1.

На рис показана в качестве примера полиметиленовая цепь в трансконформации, где все углы ф_i, внутреннего вращения атомов водорода СН-групп вокруг единичной i-связи равны нулю.

Так как все длины связей и валентные углы остаются постоянными, то конфигурация главной цепи определяется набором n-2 величин ϕ 2, ϕ 3,..., ϕ (n-1) или { ϕ }.

Таким образом, разные конформации получаются вследствие вращения атомных групп вокруг отдельных единичных связей. Принципиальным обстоятельством является то, что внутренние вращения связей не являются независимыми. Следовательно, энергию полимера нельзя представить в виде простой суммы энергий мономерных звеньев:

поскольку взаимное влияние поворотов звеньев проявляется в зависимости E_j , не только от φ_i , φ_i , φ_j (i-1) и φ_j (i+1). Влиянием более удаленных связей можно, вообще говоря, пренебречь. Отсюда следует, что энергия конформации $E\{\varphi\}$ зависит от энергии взаимодействия соседних звеньев или от соседних углов вращения:

,

<u>Пов</u>оротная изомерия. Различающиеся между собой устойчивые конформации, возникающие в ре-

зультате поворотов вокруг единичных связей, называются поворотными изомерами. При значениях высоты барьеров около 12,5 кДж/моль частота перескоков между поворотными изомерами при комнатной

температуре составляет 10^10 с^-1, так что разделить поворотные изомеры в этом случае невозможно. Поэтому целый ряд равновесных характеристик молекул (дипольный момент, сила вращения и пр.) есть результат усреднения по всем поворотным изомерам. Однако спектральные линии для них несколько различаются, так как проявляются за времена, меньшие времени жизни поворотного изомера. Впервые это было обнаружено Ф. Кольраушем (1932) с помощью спектров комбинационного светорассеяния.

Определение конформационной энергии. Определение конформационной энергии больших участков белковых структур весьма сложно. Конформационная энергия молекулы по формуле представляется суммой отдельных видов взаимодействий в попарно-

аддитивном приближении, когда

каждая пара атомов взаимодействует независимо от их внутримолекулярного окружения. оно связано с учетом всех взаимодействий.

Активный транспорт — это перенос вещества из мест с меньшим значением электрохимического потенциала в места с его большим значением. Активный транспорт в мембране сопровождается ростом энергии Гиббса, он не может идти самопроизвольно, а только в сопряжении с процессом гидролиза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), то есть за счет затрат энергии, запасенной в макроэргических связях АТФ.

Активный транспор вещест через биологические мембраны имеет огромное значение. За счет активного транспорта в организме создаются градиент концентраций, градиент электрических потенциалов, градиент давления и т.д., поддерживающие жизненные процессы, то есть с точки зрения термодинамики активный перенос удерживает организм в неравновесном состоянии, поддерживает жизнь.

Электрогенный ионный насос

Согласно современным представлениям, в биологических мембрана имеются ионные насосы, работающие за счет свободной энергии гидролиза АТФ, — специальные системы интегральных белков (транспортные АТФазы). В настоящее время известно три типа электрогенных ионных насосов, осуществляющих активный перенос ионов через мембрану. Перенос ионов транспортными АТФазами происходит вследствие сопряжения процессов переноса с химическими реакциями, за счет энергии метаболизма клеток.

Пр работе K+-Na+-ATФазы за счет энергии, освобождающейся при гидролизе каждой молекулы ATФ, в клетку переносится два иона калия и одновременно из клетки

выкачиваются три иона натрия. Таким образом, создается повышенная по сравнению с межклеточной средой концентраци в клетке ионов калия и пониженная натрия, что имеет огромное физиологическое значение.

В Са2+-АТФазе за счет энергии гидролиза АТ переносятся два иона кальция, а в Н+-помпе - два протона. Молекулярный механизм работы ионных АТФаз до конца неизучен. Тем не менее прослеживаются основные этапы этого сложного ферментативного процесса. В случае К+-Na+-АТФазы (обозначим её для краткости Е) насчитывается семь этапов переноса ионов, сопряженных с гидролизом АТФ. Обозначения Е1 и Е2 соответствуют расположению активного центр фермента на внутренней поверхности мембраны соответственно (аденозиндифосфат - АДФ, неорганическиц фосфат - Р, звездочкой обозначен активный комплекс):

- 1) $E + AT \rightarrow E^*AT\Phi$,
- 2) E*ATΦ + 3Na -> [E*ATΦ]*Na3
- 3) [E*ATФ]*Na3->[E1 P]*Na3 + АДФ
- 4) [E1 P]*Na3- > [E2 P]*Na3
- 5) [E2 P]*Na3 + 2K > [E2 P]*K2 + 3Na
- 6) [E2-P]*K2->[E1-P]*K2+3Na
- 7) [E P] * K2 -> E + P + 2K.

На схеме видно, что ключевым этапом работы фермент являются: 1) образование комплекса ферментов с АТФ на внутренней поверхности мембраны (эта реакция активируется ионами магния); 2) связывание комплексом трех ионов натрия; 3) фосфорилирование фермента с образованием аденозиндифосфата; 4) переворот (флип-флоп) фермента внутри мембраны; 5) реакция ионного обмена натрия на калий, происходящая на внешней поверхности мембраны; 6) обратный переворот ферментного комплекса с переносом ионов калия внутрь клетки 7) возвращение фермента в исходное состояние с освобождением ионов кали и неорганического фосфата (Р). Таким образом, за полный цикл происходят выброс

из клетки трех ионов натрия, обогащение цитоплазмы двумя ионами калия и гидролиз одной молекул АТФ

2. Противолучевые химические средства. Классификация. Механизмы действия. Показатели эффективности. Фактор изменения дозы. Примеры. Понятие идеального радиопротектора.

Термин «радиопротекторы» применяют в отношении тех химических соединений, которые проявляют эффективность только при введении ДО ОБЛУЧЕНИЯ. Поэтому их также называют химическими радиопрофилактическими средствами (химическими радиозащитными средствами)

Вещества, которые снижают радиационной поражение при введении ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ называют радиотерапевтическими средствами. Однако правильнее использовать термин «терапевтические противолучевые средства».

Наибольшую эффективность радиопротекторы проявляют при введении за 10-30 минут до облучения. При введении после облучения эти вещества обычно не вызывают увеличение устойчивости к облучению.

В качестве основного показателя эффективности действия радиопротекторов используют т.н. "фактор изменения дозы" (ФИД; *англ.* Dose Modification Factor, DMF), равный отношению полулетальных доз при введении радиопротектора и без радиопротектора:

Классификацию радиопротекторов обычно проводят по следующим принципам:

- по эффективности (по величине ФИД),
- по механизмам действия,
- по химической структуре или наличию определенных химических групп,
- по длительности действия,
- по происхождению (искусственно синтезированные или природного происхождения),

В зависимости от значения ФИД радиопротекторы подразделяют на:

- слабые радиопротекторы ФИД < 1.2;
- умеренные радиопротекторы 1.2 < ФИД < 1.5;
- сильные радиопротекторы ФИД > 1.5.

Наиболее эффективные радиопротекторы имеют значения ФИД от 2.0 до 2.7 в отношении кроветворного синдрома (при облучении мышей рентгеновским или γ -излучением). Эффективность радиопротекторов снижается с увеличением линейной передачи энергии (ЛПЭ) излучения. Радиопротекторы против α -излучения не существуют.

Значения ФИД для противолучевых средств, эффективных при введении после облучения, почти никогда не превышают 1.3.

Еще одна <u>характеристика эффективности</u> радиопротекторов: <u>Терапевтический индекс.</u> Терапевтический индекс (ТИ, англ. ТІ) рассчитывается как соотношение токсической дозы препарата (обычно СД₅₀, т.е. доза препарата, вызывающая гибель 50% животных) к эффективной дозе препарата (т.е. радиозащитной дозе препарата – в случае радиопротекторов).

Таким образом, ТИ радиопротектора показывает во сколько раз его эффективная (радиозащитная) доза ниже его токсической дозы. Иными словами, ТИ является показателем широты безопасного действия препарата (в данном случае – радиопротектора).

Чем шире ТИ, тем безопаснее использование лекарственного препарата (в данном случае – радиопротектора). Чем уже ТИ, тем опаснее использование препарата и тем выше вероятность появления побочных неблагоприятных эффектов от его применения. К сожалению, многие радиопротекторы (а точнее – большинство) проявляют максимальную эффективность при их введении в дозах, близких к токсическим, т.е. ИМЕЮТ НИЗКИЕ ЗНАЧЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ИНДЕКСА.

Основные механизмы действия:

- индукция гипоксии в организме,
- обратимое ингибирование синтеза ДНК,
- образование смешанных дисульфидов (защита сульфгидрильных групп жизненно важных биомолекул),
- ускорение реституции (восстановления) ДНК благодаря способности радиопротекторов легко отдавать (донировать) атом водорода,
- ускорение регенерации системы кроветворения,
- ингибирование апоптоза.
- перехват свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК)

<u>Идеальный радиопротектор</u> (для случая общего облучения) должен:

- проявлять высокую радиозащитную эффективность (ФИД = 2-3);
- быть эффективным не только против острого, но и против хронического облучения;
- быть эффективным при пероральном приеме (или по крайней мере при внутримышечном введении) и быстро распределятся по органам и тканям;
- проявлять высокую эффективность уже через несколько минут после введения и сохранять ее в течение длительного времени после введения;
- быть эффективным против различных видов ионизирующего излучения;
- не проявлять неблагоприятных побочных эффектов, т.е. должен быть нетоксичным;
- быть недорогим;
- быть химически стабильным (долго храниться в обычных условиях) и удобным для применения.

Примеры:

Первые обнаруженные протекторы: Цианистый натрий. Сульгидрильная аминокислота Цистеин.

Класс Аминотиолов: Предполагается, что они прехватывают свободные радикалы и проводят реституцию поврежденных молекул ДНК путем донирования простейший — NH2-CH2-CH2-SH (2-меркаптоэтиламин). МЭА — продукт декарбоксилирования цистеина. ФИД=1,7. В общем виде, соединения этого класса выглядат как R1-NH-(CH2)n-S-R2. Максимум эффективности при n=2,3. Гаммафос — самый известный. В этом радиопротекторе тиольная группировка прикрыта фосфатной группой, что повышает стабильность препарата (защищает SH-группу от окисления до поступления препарата внутрь клетки), увеличивает его поступление в клетки и понижает токсичность. Однако, все же токсичность этого препарата довольно высока (TI = 1,4). До настоящего времени этот препарат остается одним из самых эффективных из известных радиопротекторов: при внутрибрюшинном введении мышам за 30 минут до уоблучения ФИД = 2,7 для 30-дневной выживаемости (т.е. в отношении гибели в результате кроветворного синдрома) и ФИД = 1,8 для 7-дневной выживаемости (т.е. в отношении гибели в результате кишечного синдрома). Побочка: тошнота, рвота, понижение кровяного давления.

Билет 29

1. Связь энтропии и информации в биологических системах.

Согласно формуле Больцмана, энтропия определяется как логарифм числа микросостояний, возможных в данной макроскопической системе.

$$S = k_6 \ln W$$

где $k_{\rm B}=1,38\cdot 10^{-16}$ эрг·град⁻¹, или $3,31\cdot 10^{-24}$ энтропийных единиц (1 э.е.=1 кал·град⁻¹= 4,1 Дж/К), или $1,36\cdot 10^{-23}$ Дж/К – постоянная Больцмана, W – число микросостояний (например, число способов, которыми можно разместить молекулы газа в сосуде).

В этом смысле — энтропия есть мера неупорядоченности и хаотизации системы. В реальных системах существуют устойчивые и неустойчивые степени свободы. Понятие энтропии связано именно с неустойчивыми степенями свободы, по которым возможна хаотизация системы, а число возможных состояний много больше единицы. В полностью устойчивых системах энтропия равна нулю.

В биологии понятие энтропии можно применять только к конкретному метаболическрму процессу, а не для описания какой-либо системы в общем.

Связь энтропии и информации в теории информации была установлена для статистических степеней свободы. Допустим что мы получили информацию о том, каким конкретно способом из всех возможных способов осуществлено данное макросостояние системы. Тогда количество информации, которое мы при этом получали будет тем больше, чем больше был исходная неопределенность (энтропия) системы.

Согласно теории информации в этом случае кол-во инфы о единственном реальном состоянии системы равно:

$$I = \log_2 W$$
.

За бит принимаем информацию, содержащуюся в достоверном сообщении, когда число возможных состояний равно W=2

$$I = log_2 2 = lбит$$

Отсюда связь между энтропией (в энтропийных единицах) и инфой в битах:

$$S$$
 (э.е.)=2,3·10⁻²⁴ = 1бит

Можно оценить кол-во информации в теле человека:

$$I = \log_2 10^{13} \sim 10^{13} \log_2 10^{13} \sim 4.10^{14} \text{ бит.}$$

Это кол-во информации нужно, дл единственно правильного расположения клеток в организме. Энтропия системы снизится на:

$$\Delta S=2.3\cdot10^{-24}\cdot4\cdot10^{+14}\sim10^{-9}$$
 3.e. $\sim4\cdot10^{-9}$ Дж/К.

Учтем аминокислоты в белках, нуклеотиды ДНК. Тогда будет:

$$I \sim 1,3 \cdot 10^{26}$$
 бит,

Это эквивалентно снижению энтропии на 1200Дж/К. Эквивалентно окислению 900 молекул глюкозы.

Однако связь между I и S справедлива лишь по отношению к информации о том, какое из всех W микросостояний реализовано в данный момент. Эту микроинформацию нельзя сохранить, поскольку из-за тепловых флуктуаций любое состоения передйет в другое. Ценность же информации определяется не её количеством, а возможностью её запоминания, хранения, обработки и дальнейшей передачи для использования в жизнедеятельности организма.

Основное условие восприятия и запоминания информации — это способность рецепторной системы вследствие полученной информации переходить в одно из устойчивых, заранее заданных в силу её организации, состояний. Поэтому информационные процессы в организованных системах связаны только с определенными степенями свободы. Сам процесс запоминания информации должен сопровождаться некоторой потерей энергии в рецепторной системе для того, чтобы она могла в ней сохраниться достаточное время и не теряться вследствие тепловых флуктуаций. Именно здесь и осуществляется превращение микроинформации, которую система не смогла запомнить, в микроинформацию, которую система запоминает, хранит и затем может передать другим акцепторным системам. Как говорят, энтропия есть мера множества незапоминаемых системой микросостояний, а макроинформация = мера множества их состояний, о пребывании в которых система должна помнить.

В состоянии ТД равновесия, при максимальной энтропии, информационная структура системы нулевая. Энтропия и информация связаны, как обратные величины: уменьшение энтропии системы связано с увеличением информации этой системы.

2. Типы объемных взаимодействий в белковых макромолекулах. Водородные связи: силы

Ван-дер-Ваальса; электростатические взаимодействия; поворотная изомерия и энергия

внутреннего вращения. Общая конформационная энергия биополимеров.

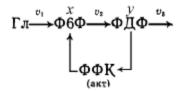
Первичная структура полимерной цепи определ

Билет 30

- Автоколебательные режимы. Колебания в гликолизе.
- Физико-химические процессы в нервном волокне при возбуждении (теплопродукция, светорассеяние, энергообеспечение). Состояние мембраны, ионный транспорт. ЯМР-спектроскопия в исследовании внутримолекулярной подвижности.

Во многих биологически системах наблюдается колебательные процессы. Особое внимание следует уделить тем случаям, когда колебания отражают внутренние динамические свойства системы. Такие системы называются автоколебательными. Перидоическому движению соответстует замкнутая кривая на фазовой плоскости. Если она излорирована, а к ней с обеих сторон приблежаются другие траектории, то такой цикл называется устойчивым предельным циклом.

В качестве примера такой системы можно привести гликолитическую цепь. Опыты показали, что процессы гликолиза сопровождаются периодическими изменениями концетраций промежуточных веществ фруктозобфосфата (фбф) и фруктозобдифосфата (фдф) и восстановленного НАД. Эти колебания особенно четко были заметны у голодающих клеток. Применив к моделированию процесса принципы узкого места, остались только реакции превращения глюкозы в фбф и превращения фбф в фдф под действием фосфофруктокиназы (ффк). Предполагалось, что ффк активируется продуктом превращения фдф. Схема процесса выглядит так



v2 должна зависеть не только от x, но и от y, то есть v2 =k'xy, в свою очередь v3=ky

$$\frac{dx}{dt} = v_1 - k'xy,$$

$$\frac{dy}{dt} = k'xy - k_2y,$$

Но тогда при увеличении концентраций скорости растут неограниченно. Чтобы избавиться от этого, воспользуемся при построении системы уравнением Михаэлиса-Ментен,

$$v = \frac{kx}{K_x + x}$$

Теперь при росте концентраций скорость будет выходить на насыщение. Тогда уравнения примут вид

$$\frac{dx}{dt} = v_1 - \frac{k_1 x}{K_x + x} \cdot \frac{y}{K_y + y},$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{k_1 x}{K_x + x} \cdot \frac{y}{K_y + y} - \frac{k_2 y}{K_y' + y},$$

Появляется кубическая нелинейность. В результате анализа оказалось, что характер фазового портрета зависит от соотношения некоторых параметров: a=1/(v1*k1) и r=y/(Ky'). Очевидно, первый параметр можно рассматривать как управляющий, так как варьируя v1 мы можем его менять. Особая точка может быть устойчивым фокусом при ar/(r+1) < 1 и неустойчивым при обратном. Во втором случае, однако, вблизи фокуса возникает предельный цикл и система становится автоколебательной. Значит, ar/(r+1) = 1 является бифуркационным значением. Этот результат подтверждается экспериментами.

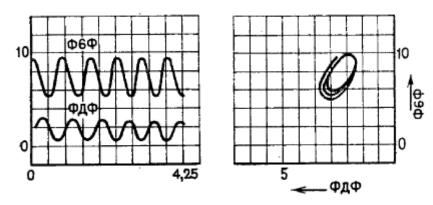


Рис. 2.13. Рассчитанная с помощью ЭВМ кинетика изменений ФДФ и Ф6Ф и фазовый портрет модели гликолиза

В состоянии покоя соотношение проницаемостей калия и натрия 1:0,04. Это обуславливает приближение значений покоя к равновесному потенциалу в невозбужденной мембране. Внутреннее содержимое нервного волона заряжено отрицательно по отношению ко внешнему, что определяется движением ионов калия наружу.

При возбуждении мембраны нервного волокна в ней возникают электрические импульсы. Одиночный нервный импульс — потенциал действия (ПД) — длится около 1мс и движется со скоростью 1-100м/с. Во время развития ПД наблюдается быстрое смещение значений потенциала внутренних частей волокна от -70мВ до +40-50мВ (деполяризация) и последующий возврат к нормальным значениям с короткой стадией гиперполяризации. Реверсия мембранного потенциала объясняется резким изменением проницаемости мембраны для ионов. Таким образом, получается, что проницаемость мембраны для ионов зависит от приложенного мембранного потенциала. Во время развития спайка поток Натрий+ внутрь вызывает деполяризацию до того, пока потоки наружуи и внутрь не сравняются. После этого происходит инактивация Натрий+ каналов и одновременно увеличивается проницаемость для К, который выходит наружу по градиенту

электрохимического потеницала. В этом процессе мембрана реполяризуется до тех пор, пока не прекратится выход К. Постоянный уровень концентраций Калия и Натрия поддерижвается Натриевой и Каливой АТФазой, выводящей наружу На+ в обмен на поступление К+.

Вопрос о том, как проводимость ионных каналов управляется полем, является одним из центральных для биофизики мембранных процессов. В модели Ходжкина-Хаксли предпологается, что проводимость регулируется некими заряженными управляющими частицами, смещение которых в мембране воздействует на канал. Считается, что для калиевой проводимости есть четыре активирующие частицы, а для натриевой есть три активирующие и одна инактивирующая. На основе этой модели удалось с большой точностью воспроизвести нервный импульс. В структуре канала были выделены механизмы селекции ионов, активаторы и инактивторы каналов. Удалось обнаружить вортные токи смещения, связанные с частицами, открывающими На-канал. Вместе с тем, предположение, что перескок несокльких заряженных групп происходит через всю мембрану, выглядит маловероятным. Поэтому выдвигается другая интерпретация воротных токов. Предполагается, что токи возникают из-за изменения ориентаций диполей во внутренней полости канала. Изменение ориентации диполей должно происходить лавинообразно, и это лучше описывает воротные токи.

Распространение импульса вдоль волокна проходит без затухания с постоянной скоростью. Внтуренняя часть волокна на спайке заряжена положительно, а на соседних участках — отрицательно, что приводит к появлению локальных токов, который в свою очередь приводит к деполяризации мембраны рядом с ним и распространению импульса. Анализ математических моделей показывает, что скорость распространения импульса обратно пропорциональна корню из диаметра волокна, что совпадает с экспериментальными данными.

Светорассеяние. Метод светорассеяния дает немного для понимания физических свойств липидного бислоя, но вполне достаточен, чтобы проследить за фазовыми переходами в суспензии липосом при изменении температуры или при иных воздействиях. Чтобы понять принцип применения метода, обратимся к рис. 8.28. Рассеяние света везикулой связано с тем, что показатели преломления липидного слоя и окружающей водной среды различаются, а сам липидный слой имеет кривизну. Наибольшее отклонение от

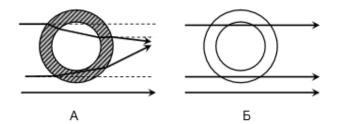


Рис. 8.31. Рассеяние света везикулой.

A — твердое состояние липидной мембраны (высокий показатель преломления), E — жидкое состояние липидной мембраны (низкий показатель преломления).

первоначального направления имеют лучи, попавшие на край везикулы

показателях преломления стенок сфер, то есть липидных слоев мембран и водного раствора. Твердые мембраны плотнее и имеют более высокий показатель преломления, чем жидкие. Поэтому рассеяние света сильнее везикулами, липиды которых находятся в твердом состоянии. Измеряя

светорассеяние суспензии при разных температурах, можно построить кривые плавления,

используя тот же общий подход, как и в других случаях

Другие лучи отклоняются тем меньше, чем ближе они к центру сферы. В совокупности происходит рассеяние падающего света. Рассеяние это тем выше, чем больше различие в

Билет 31

- Механизмы фотоингибирования в фотосинтезе.
- Транспорт ионов. Ионное равновесие; электрохимический потенциал; профили потенциала и концентрации у границы раздела фаз; коэффициент распределения; двойной электрический слой.

Флуоресцентные методы исследования состояния фотосинтетического аппарата растений.

Конечно, свет как источник энергии совершенно необходим для фотосинтеза. Однако он одновременно может быть и повреждающим фактором. При действии повышенных интенсивностей света в результате процессов фотоингибирования фотосинтеза развиваются длительные и глубокие перестройки фотосинтетического аппарата. Механизм этого явления также связан с тем, что в условиях блокирования переноса электрона из-за образования их избытка в цепи фотосинтеза происходит генерация активных форм кислорода, приводящая к окислительному стрессу и разрушению клеточных мембран в процессе ПОЛ. В качестве защитного механизма в клетке происходит распад белков РЦ, который приводит к прекращению фотосинтеза. Иными словами, клетка скорее предпочитает лишиться РЦ как источника фотодеструкции с тем, однако, чтобы потом его восстановить в более благоприятных условиях. Распад РЦ происходит по механизму протеолитического расщепления белка (Д1) реакционного центра фотосистемы II. Для реактивации РЦ необходимы повторный синтез (ресинтез) Д1-белка и его встраивание в РЦ. На обычном свету устанавливается равновесие между процессом фотоингибирования с распадом Д1-белка и процессом реактивации с его ресинтезом. Однако при длительном интенсивном освещении могут происходить уже необратимые повреждения РЦ, сопровождающиеся глубокой фотодеструкцией мембран вследствие развития ПОЛ. ПОЛ и активность фотосинтеза. Посмотрим, как связана люминесценция хлорофилла с состоянием фотосинтетических мембран в различных условиях. На рис. 5 показано, что под действием повышенных интенсивностей света в начальный период (1-20 мин) освещения падает фотосинтетическая эффективность (Fv / Fm) как ответная реакция клетки на световое воздействие. Фотоингибирование РЦ в этот период носит все еще обратимый характер, а клетки сохраняют свою жизнеспособность. Однако при дальнейшем освещении (после 20 мин) клетки уже не справляются с фотоингибированием и происходит накопление продуктов ПОЛ, что видно по росту ТЛ. Именно в этот период и происходит гибель клеток.

Таким образом обратимое падение активности РЦ происходит до появления продуктов ПОЛ и не сопровождается гибелью самих клеток. Падение эффективности первичных стадий фотосинтеза наосит регуляторный характер и представляет собой защитную адаптивную реакцию клетки на начальных этапах повышенного освещения.

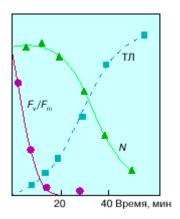


Рис. 5. Влияние интенсивного освещения (1000 Вт Ч м- 2) на фотосинтетическую активность Fv / Fm , амплитуду высокотемпературной термолюминесценции ТЛ и выживаемость клеток хлореллы N. Видно, что в начальной период освещения (1-20 мин) падение эффективности фотосинтеза (Fv / Fm) не сопровождается гибелью клеток N и появлением продуктов ПОЛ (ТЛ)

В билипидной мембране элетростатические взаимодействия осуществляются между заряженными группами либо в пределах одного слоя (латеральные), либо между разными слоями (трансмембранные).

Движущей силой диффузии через мембрану является разность химических потенциалов этого вещества между областями, разделенными мембранами. Если происходит транспорт ионов, то их движение зависит не только от концетрации, но и от электрического потенциала на мембране. В этом случае пользуются понятием электрохимического потенциала.

$$\overline{\mu} = \overline{\mu}_0 + RT \ln C + ZF\varphi$$
,

Непосредственно движущей симлой является градиент потенциала (производая по направлению). Основной энергетический барьер состоит в том, что диэлетрическая постоянная липидов 2-3, а в воде порядка 81. Вследствие этого, энергия иона как заряженной частицы повышается в липидном слое. Отсюда следует, что коэффициент распределения концентраций ионов между водой и липидной фазой должен быть очень мал. Рассмотрим распределение электролита А+Б- между липидной и водной фазами, где липофильность аниона и катиона разные. (пусть липофильность Б- выше). Вбили границы концентрация Б- в липидной фазе чуть выше из-за липофильности, поэтому неполярная липидная фаза несет отрицательный заряд и и имеет потенциал ниже, чем водная фаза. Однако, вдалеке от раздела концентрации равны. В целом, концентрации А и Б меньше в липидной фазе из-за разности в диэлектрической проницаемости. В областях рядом с границей раздела имеются диффузионные слои, в которых концетрации А и Б неодинаковы, и условие электронейтральности не соблюдается. Соотношений концентраций электролита на гранце можно получить из условия равновесия на границе раздела фаз.

$$\mu_{OA}^{(1)} + RT \ln C_A^{(1)} = \mu_{OA}^{(2)} + RT \ln C_A^{(2)}$$

$$\ln \gamma_{A^+} = \frac{\Delta \mu_{\mathrm{O}_A}}{RT}, \quad \ln \gamma_{B^-} = \frac{\Delta \mu_{\mathrm{O}_B}}{RT},$$

При условии электронейтральности каждой фазы

$$C_B^{(1)} = C_1 \text{ M } C_A^{(2)} = C_B^{(2)} = C_2,$$

$$\frac{C_2}{G} = \sqrt{\gamma_{A^+} \gamma_{B^-}}.$$

Величина же разности потенциалов между фазами зависит от разности электрохимических потеницалов обоих видов иона. Можно показать, что при электронейтральности каждой фазы

$$\Delta \varphi = \varphi_1 - \varphi_2 = \frac{1}{2F} \left(\Delta \mu_{O_B} - \Delta \mu_{O_A} \right) = \frac{2F}{RT} \left(1 \eta \gamma_A - 1 \eta \gamma_B \right).$$

Таким образом, разность потенциалов возникает только если коэффициенты распределения ионов различны. Характер падения потенциала зависит от распределения ионов в двойном электрическом слое в толще мембраны. Анализ показывает, что значение электрического потенциала вблизи границы относительно объема изменяется экспоненциально с ростом координаты. Характерное растояние, когда величина падает в е раз, называется длиной экранирования и характеризует толщину двойного электрического слоя. В липидном слое длина экранирования намного больше, то есть у тонкой мембраны скачок потенциала почти отсутствует. Поэтому значения потенциала в тонкой мембране не отличается от уровня потенциалов растворов на любом удалении от мембраны. Если же приложить поле, то потенциал в мембране будет меняться линейно. Однако если поверхность тонкой мембраны изначально заряжена и имеет фиксированные заряды, то в пространстве образуется двойной электричский слой. В результате сочетания притяжения мембранных зарядов и теплового движения ионов, поверхностный потенциал на мембране будет сложным образом зависеть от от плотности поверхностоного заряда, равновесной концентрации электролита и температуры.

Доннановское равновесие — это вид ионного равновесия между фазами, когда одна из фаз несет заряженные частицы, неспособные перейти в другую фазу. Пусть есть две фазы с растворенным электролитом, и в фазе два имеются фиксированные заряды, которые не могут проходить сквозь мембрану. Из условий равновесия с электрохимическими потеницалами получаем уравнения для

$$\phi_1 - \phi_2 = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_{A_2}}{C_{A_1}} = -\frac{RT}{F} \ln \frac{C_{B_2}}{C_{B_1}},$$

разности потенциалов.

Которое называется уравнение Нернста для равновесного потенциала на мембране. Влияние недиффундирующего иона приводит к появлению разности потенциалов, даже если исходные концетрации электролитов были равны по обе стороны.

Транспорт ионов имеет непрерывный характер. Из соотношений Онзагера, поток пропорционален градиенту электрохимического потенциала. Он также зависит от концентрации и подвижности ионов.

$$\begin{split} & \mathrm{I} = Cu \, \big(- \frac{d\overline{\mu}}{dx} \, \big) \\ & \overline{\mu} = \mu_0 + RT \, \mathrm{ln}C + ZF \, \phi, \\ & \mathrm{найдем} \, \mathrm{c} \, \, \mathrm{yчетом} \, \, \frac{d \, \mathrm{ln}C}{dx} = \frac{1}{C} \frac{dC}{dx}, \, \, \mathrm{что} \\ & I = -uRT \, \frac{dC}{dx} - uCZF \frac{d\phi}{dx} \end{split}$$

Последнее выражение называется уравнением Нернста-Планка пассивного транспорта ионов.

При учете линейности потенциала, получаем уравнение

$$I = \vec{i} - \vec{i} = \frac{ZF\Delta\phi u}{h} \cdot \frac{C_1 - C_2 \exp(ZF\Delta\phi / RT)}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)}.$$

$$I = \frac{ZF\Delta\phi}{RT} \rho \frac{C_0 - C_i \exp(ZF\Delta\phi / RT)}{1 - \exp(ZF\Delta\phi / RT)}$$

где ро — коэффициент проницаемости. Последние уравнение известно как уравнение Гольдмана в приближении постоянного поля.

Если через мембрану одновременно диффундируют разные ионы, их потоки дают суммарный вклад в транспорт. В равновесии сумма потоков равна нулю. Наибольшее знаечение имеет перенос ионов Натрия, Калия, Хлора.

Проницаемости ионов различны и появляющееся неравномерное распределение приводит к возникновению потенциала покоя. Отношение проницаемости калия натрия хлора относится как 1:0,04:0,05. Поэтому иногда можно считать, что потенциал определяется только клаием. Впрочем, реальные потенциалы в клетке не обязательно равны равновесным, что объясняется активным переносом ионов.

Билет 32

Стационарное состояние и условия минимума скорости прироста энтропии. Теорема Пригожина.

<u>Формулировка теоремы Пригожина</u>: В стационарном состоянии продукция энтропии внутри термодинамической системы при неизменных внешних параметрах является минимальной и константной. Если система не находится в стационарном состоянии, то она будет изменяться до тех пор, пока скорость продукции энтропии, или, иначе, <u>диссипативная функция</u> системы не примет наименьшего значения

Стационарное состояние открытой системы определяется уравнением:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{d_eS}{dt} + \frac{d_iS}{dt} = 0 \qquad \frac{d_eS}{dt} < 0, \quad \left|\frac{d_eS}{dt}\right| = \frac{d_iS}{dt} \text{ if } \frac{dS}{dt} = 0$$

где deS – обмен со внешней средой, diS – внутренние необратимые процессы

$$dS = deS + diS$$

Пусть в открытой системе в близи равновесия одновременно протекают 2 процесса (X1 – движущая сила, I1 - поток) и (X2, I2), для них верно соотношение Онзагера:

$$I_1 = L_{11}X_1 + L_{12}X_2$$

$$I_2 = L_{21}X_1 + L_{22}X_2$$
 и соотношение:
$$T\frac{d_1S}{dt} = I_1X_1 + I_2X_2 = L_{11}X_1^2 + 2L_{11}X_1X_2 + L_{22}X_2^2,$$

Зависимость от X1 проверим взяв частную производную по X1 при постоянных X2 и Т:

$$\left[\frac{\partial \left(T \frac{d_1 S}{dt} \right)}{dX_1} \right]_{X_1 = \text{const}} = 2(L_{11} X_1 + L_{12} X_2) = 2I_1$$

одно из состояний стационарно, значит I1=0, значит равенства эквивалентны:

$$\left[\frac{\partial \left(T\frac{d_1S}{dt}\right)}{dX_1}\right]_{X_2=\mathrm{cons}t}=0\quad\text{и}\ I_1=\bar{I}_1=0$$

Таким образом, в стационарном состоянии положительная фунция diS/dt имеет экстремум и принимает минимальное положительное значение.

По мере приближения к стационарному состоянию скорость образования эгнтропии внутри открытой систеы монотонно уменьшается, постепенно приблиижаясь к своему минимальному положительному постоянному значению.

Если система находится в стационарном состоянии где TdiS/dt минимальна, то любые отклоения от отклонения вызовут возмущения и увеличение. Но в силу теормы Пригожина величины сил и потоков будут изментяться таким образом, что скорость образования энтропии (TdiS/dt) будет уменьшаться, а система вернется к стационарной точке.

2. Электродиффузионная теория транспорта ионов через мембрану.
Электрохимический потенциал и его компоненты. Взаимодействие ионов с
растворителем. Диффузионный потенциал. Уравнения для ионных потоков и
мембранного потенциала.

В электродиффузионной модели мембрану рассматривают как непрерывно гомогенную среду, в которой происходит диффузия точечных невзаимодействующих частиц. Суммарный поток произвольного вида ионов ј, движущихся пассивно и независимо в такой гомогенной среде в направлении оси х, пропорционален концентрации ионов, их подвижности и действуюзей на ион силе.

Общее уравнение: потом = концентрация *действующая сила * подвижность

$$J = cu(-d\bar{\mu}/dx).$$

<u>Электрохимический потенциал.</u> Химическим потенциалом данного вещества цк называется величина, численно равная энергии Гиббса, приходящаяся на один моль этого вещества, помещенного в электрическое поле.

Математически химический потенциал определяется как частная производная от энергии Гиббса G по количеству k-го вещества, при постоянстве температуры T, давления P и количеств всех других веществ m1:

$$\mu_{\textbf{k}} = (\frac{\partial G}{\partial m_{\textbf{k}}})_{P,T,m_{l\neq \textbf{k}}}. \qquad \qquad \widetilde{\mu} = \mu_0 + RT lnC + ZF\phi \text{ ,}$$

Учитывая определение электрохимического потенциала поток равен:

$$J=-uRTrac{dc}{dx}-uczFrac{d\phi}{dx},$$
где z — валентность иона, F — число Фарадея, u -

подвижность

Получили уравнение электродиффузии или **уравнение Нернста—Планка**: и описывает диффузию ионов в растворе или в гомогенной незаряженной мембране. Первый член в правой части уравнения описывает свободную диффузию (диффузионная компонента общего потока), второй выражает миграцию ионов в электрическом поле (миграционная компонента).

В подходе Планка-Гендерсона (не верен для толстых мембран!) к решению электродиффузионного уравнения предполагают, что условие электронейтральности выполняется не только для объема фаз, разделенных мембраной, но и для самой мембраны. Иначе говоря, предполагают, что концентрации катионов и анионов в любой плоскости по оси х одинаковы (c+ = c_). В стационарном состоянии при условии разомкнутой цепи суммарный электрический ток через мембрану не течет, т. е. сумма переносимых катионов равна сумме переносимых анионов. Для бинарного электролита, содержащего одновалентный катион и одновалентный анион, условие равенства потоков имеет вид

$$u_+RTrac{dc}{dx}+u_+cFrac{d\phi}{dx}=u_-RTrac{dc}{dx}-u_-cFrac{d\phi}{dx},$$
 , где и+ и и - подвижности катиона и

аниона в мембране. Отсюда

$$\frac{d\varphi}{dx} = -\frac{u_{+} - u_{-}}{u_{+} + u_{-}} \frac{RT}{F} \frac{1}{c} \frac{dc}{dx},$$

Учитывая, что $(1/c)(dc/dx) = d \ln c/dx$ и интегрируя уравнение (XIX.1.4), получаем

$$\Delta \varphi = -\frac{u_{+} - u_{-}}{u_{+} + u_{-}} \frac{RT}{F} \ln \frac{c_{2}}{c_{1}}. \tag{XIX.1.5}$$

полученое соотношение называется уравнением Гендерсона. Оно позволяет рассчитать **диффузионный потенциал**, возникающий между двумя растворами электролита разной концентрации.

Уравнение Гендерсона пригодно для мембран макроскопической толщины (порядка микрометров и более), но несправедливо в случае тонких липидных и клеточных мембран, где условия локальной электронейтральности по всей толщине мембраны не соблюдаются. Это связано с тем, что вследствие неодинаковой липофильности катионов и анионов их концентрации в мембране неодинаковы. Существенно также, что толщина биомембран меньше дебаевского радиуса экранирования (см. выше). Следовательно, уравнение Гендерсона непригодно для описания мембранного потенциала клетки.

Второй подход к решению уравнения Нернста—Планка, известный как приближение постоянного поля, основан на предположении о линейности изменения электрического потенциала или постоянства напряженности поля по всей толщине мембраны (dcp/dx = const). Это условие выполняется для тонких мембран, в которых концентрация носителей зарядов мала, а толщина двойного электрического слоя очень велика, т.е. в случае диффузии ионов через липидные бислои и клеточные мембраны.

Уравнение Нернста—Планка приобретает вид неоднородного линейного дифференциального уравнения

$$dc/dx + Ac = -B$$
,

где A = zFy/RTh, B = J/uRT, ср— трансмембранная разность потенциалов. Решение уравнения показывает зависимость суммарного пассивного потока ионов j от разности потенциалов на мембране (р и концентраций ионов на краях мембраны:

$$J_{j} = \frac{zF\varphi u}{h} \cdot \frac{c' - c'' \exp(zF\varphi/RT)}{1 - \exp(zF\varphi/RT)},$$

где с' и с" — концентрации иона ј на краях в фазе мембраны. Концентрации ионов на краях мембраны (с' и с") пропорциональны соответственно концентрациям в наружном и внутреннем омывающих растворах

$$c' = \gamma c_o;$$
 $c'' = \gamma c_i,$

где гамма — коэффициент распределения, зависящий от липофильности иона. Тогда уравнение для пассивного потока ионов через мембрану примет вид

$$J = \frac{zF\varphi P}{RT} \cdot \frac{c_o - c_i \exp(zF\varphi/RT)}{1 - \exp(zF\varphi/RT)}$$

Билет **№** 33

1. Механизмы миграции энергии

Особое значение в биологических процессах имеют миграция энергии электронного возбуждения и транспорт электронов.

<u>Миграция энергии электронного возбуждения.</u> Это явление давно было обнаружено в растворах люминесцирующих красителей. Оно осуществляется по общей схеме $D^* + A \longrightarrow D + A^*$,

где D* и A — соответственно молекулы донора и акцептора энергий. Здесь происходит безызлучательный обмен энергией между электронно-возбужденной молекулой донора D* и молекулой акцептора A в основном состоянии. Сама по себе миграция энергии не сопровождается химическими изменениями молекул, а представляет собой чисто физический процесс. Перенос возбуждения сопровождается сокращением длительности возбужденного состояния и квантового выхода люминесценции молекул донора, для которого молекулы акцептора выступают в роли тушителей. Одновременно происходит и деполяризация флуоресценции A при переносе энергии от D в системе хаотически распределенных молекул.

<u>Индуктивно-резонансный перенос:</u> Переснос происходит за счет кулоновского взаимодействия между электронами в молекулах. Во время мущществования возбужденного состояния молекулы Д* генерируется переменное електромагнитное поле за счет оссциляции заряда эдектрона. Это поле взаимодействует с электронов в невозбужденной мол А. Если частота переменного поля Д* совпадает с частотой перехода элктрона А на возбужденный уровень, то происхожит перенос энергии. Д возвращается в основное состояние, а А* в возбужденное. Никакого поглащения и иулучения квантов не

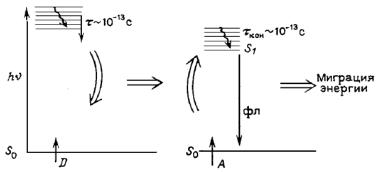


Рис. 11.1. Схема миграции энергии электронного возбуждения

происходит.

Вероятность индуктивно-резонансного перехода пропорциональна степени перекрытия спектра флуоресценции донора и спектра поглащения акцептора и обратно пропорционально R^6 (R — растояние между взаимодействующими молекулами)

Пример: Один из наиболее важных процессов миграции энергии осуществляется в фотосинтезе. Здесь происходит перенос энергии от фикоэритрина и фикоцианина на хлорофилл в направлении реакционного центра, где происходит первичный акт фотосинтеза. Электронная энергия может переноситься в биологических системах и в процессе транспорта электронов по общей схеме:

<u>Перенос электрона</u> может происходить на относительно большие расстояния и независимо от поступательных движений молекул донора и акцептора электрона. Это отличает эти процессы от окислительно-восстановительных реакций в растворе. Полупроводниковая концепция не получила подтверждения в биологических системах. Рассматриваем концепцию туннельного транспорта электрона между отдельными белковыми молекуламипереносчиками, отделенными друг от друга энергетическими барьерами. Туннельный перенос происходит в условиях, когда значение энергии электрона меньше высоты энергетического барьера между молекулами D и A. Этот эффект имеет чисто квантовомеханическую природу. Тунельные перехожы совершаются ядрами и электронами ДА. Сначала Электрон локализинован в доноре, после переноса в акцепторе и система имеет другую энергию.

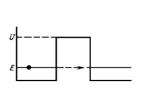


Рис. 11.6. Туннелирование электрона через конечный потенциальный барьер

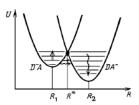


Рис. 11.7. Электронноколебательные взаимодействия при туннелировании электрона: $R_1 \rightarrow R_2$ – смещение положения равновесия ядер при переходе из электронного состояния \overline{D} A в состояние \overline{D} A"

Это значит, что равновесные ядерные координаты R\ и Ri начального (Д⁻⁻ A) и конечного (ДА⁻) состояний отличаются. Однако существу точка R*, в которой кривые потенциальной энергии пересекаются. В точке R* энергии начального и конечного состояний совпадают. Допустим, что донорно- акцепторный комплекс, находившийся в состоянии Д⁻А, перестроился

таким образом, что его ядерная координата попала в окрестность точки R*. Само по себе это необязательно приведет к переносу электрона. Но в точках, близких к R*, сравнительно невелика ширина барьера туннелирования, отделяющего потенциальные кривые начального и конечного состояний. Поскольку около точки R* энергии начального и конечного состояний близки, то во время пребывания системы около R* электрон может успеть протуннелировать от Д⁻ на А. Для закрепления на акцепторе электрон должен успеть потерять часть своей энергии и, чтобы не вернуться таким же образом назад. В свою очередь для этого ядерная система должна успеть перестроиться так, чтобы часть электронной энергии ушла в тепло, а вся система приобрела бы ядерную конфигурацию, соответствующую состоянию ДА⁻ с координатой Ri. В этом случае за время пребывания электрона на А ядерная конфигурация изменится так, что система "свалится" в точку R± В результате произойдет необратимый перенос электрона от Д к А и система перейдет в состояние ДА⁻.

Ядерная система комплекса ДА, находящегося в исходном состоянии, может попасть в окрестность точки R* за счет тепловой активации и перехода на верхние колебательные уровни исходного состояния, где координаты ядер близки к R*. Этому процессу соответствует активационный температурно-зависимый участок двухфазной кривой переноса электрона. При низких температурах ядра находятся на нижних колебательных уровнях, где ширина барьера между потенциальными кривыми начального и конечного состояний шире, чем на верхних уровнях. В этом случае существует меньшая вероятность туннелирования ядер в конечное состояние, которая уже не зависит от температуры.

Таким образом, общая вероятность туннельного переноса электрона, сопряженного с перестройкой ядерной системы и тепловой диссипацией части электронной энергии, складывается из двух частей:

$$W = W_0 + W_1 e^{-\hbar \omega / k_{\rm g} T}$$
.

Здесь Wo - вероятность подбарьерного, не зависящего от температуры туннелирования с нижних колебательных уровней; Wi - вероятность надбарьерного активационного процесса;

 $W_0 << W_1 \hbar \omega,$ энергия колебательного кванта, необходимая для активации переноса.

2. Представления о пространственно неоднородных стационарных состояниях (диссипативных структурах) и условиях их образования.

Образование диссипативных структур определяется динамическим считыванием параметрически заданной информации. К примеру брюсселятор является распределенным триггером со многоми устойчивыми состояниями — формами диссипативных стуктур, или процесс деления клетки связан с с параметрически задаванным образованием новой диссипативной системы, возвращение из которой невозможно в силу гистерезиса. Зассмотрим образование диссипативной структуры в экологической системе.

Будем считать что миграция хищников и жертв в пространстве имеет случайный характер типа диффузии. Тогда можно описать уравнениями:

$$\begin{split} \frac{\partial x_1}{\partial t} &= c_1 x_1 - a_{12} x_1 x_2 + D_1 \frac{\partial^2 x_1}{\partial r^2} \\ \frac{\partial x_2}{\partial t} &= a_{12} x_1 x_2 - c_2 x_2 + D_2 \frac{\partial^2 x_2}{\partial r^2} \end{split}$$

Самоограничения отсутствуют. Если пространство замкнуто, то катрина периодических

колебаний, если систмема открытая, то решение в виде движущихся волн.

Если миграция жертв отсутствует, что в реальной ситуации означает существенно меньшую подвижность жертв по сравнению с хищниками. Решения получаются в виде волны жертв и хищников, распространяющейся в пространстве.

Это есть как говорят, "волна погони и бегства". С течением времени происходит продвижение этой волны вдоль координаты г. Естественно, что в начальной точке каждый раз происходит возрождение этих волн в силу уравнений

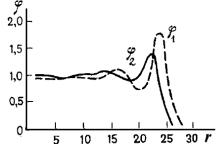


Рис. 5.6. Распределение плотности популяции хищников (ф2) и жертв (ф1) в пространстве

точечной модели, соответствующих активному характеру распределенной системы.

Другим типом своеобразного пространственного поведения в экологических системах являются стационарные неоднородные распределения переменных в пространстве - диссипативные структуры, которые можно сопоставить с "пятнами жизни в природе". Особое значение имеет вопрос, каким образом связаны между собой автоколебательные режимы в точечных моделях и диссипативные структуры в соответствующих им распределенных системах.

Одна из простых точечных моделей Вольтерра, имеющих предельный цикл, представлена в виде соответствующей ей распределенной системы, как

$$\frac{\partial x_1}{\partial t} = a x_1 \left(\frac{k - x_1}{x_1} \right) - b x_1 x_2 + D_1 \frac{\partial^2 x_1}{\partial r^2}$$
$$\frac{\partial x_2}{\partial t} = -c x_2 + \alpha x$$

В этой системе по сравнению с простой моделью Вольтерра первый член, описывающий динамику жертв в отсутствие хищника, <u>обладает кубической нелинейностью</u>. Это обусловлено половым размножением жертв, когда скорость роста при малых плотностях пропорциональна числу встреч между особями, т. е. квадрату плотности популяций (axi). В системе могут быть два разных режима. При одних начальных условиях устанавливается автоколебательный по времени режим при однородном в пространстве распределении

компонентов. Это соответствует устойчивому предельному циклу точечной системы (рис. 5.7), когда происходят синхронные колебания численности по всему ареалу распространения.

Существуют и другие начальные условия, при которых в системе со временем возникает устойчивая диссипативная структура, т. е. стационарное периодическое распределение концентраций в пространстве (рис. 5.8). В этом случае распределение хищников, быстро мигрирующих в ареале распространения, близко к однородному (они "размазываются" в системе).

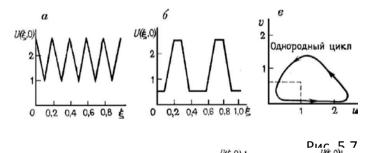


Рис. 5.8. Некоторые начальные распределения установлению стационарной

Наоборот, концентрация медленно мигрирующих жертв, ведущих оседлый образ

Билет № 34

1. Распределённые динамические модели.

Расспределительная модель - переменные изменяются не только во времени, но и в пространстве. В распределенных системах могут протекать в отдельных точках пространства химические превращения веществ и одновременно происходить диффузия отдельных веществ из элементарных объемов с высокой концентрацией в объемы с меньшей концентрацией. Таким образом, связь между соседними элементарными объемами осуществляется за счет процессов переноса. В биологических системах (активные мембраны, ткани, сообщества организмов) также существуют и распределенные источники энергии, часть этой энергии диссипирует в элементарных объемах системы - активно распределенные системы.

Примером биологического процесса, протекающего в распределенной системе, служит образование структур в морфогенезе. Оно происходит не за счет внешних толчков, а самопроизвольно на основе информации, заключенной в оплодотворенной яйцеклетке, в исходно пространственно однородной среде. Речь идет в данном случае о возникновении в активной распределенной системе стационарных пространственно неоднородных структур. Другой пример — распространение волн возбуждения в нервной или мышечной ткани. Уравнение для распределенной системы. Исследование простейших моделей показало, что различные типы поведения активных распределенных систем могут быть описаны нелинейными дифференциальными уравнениями в частных производных, где учитываются химические реакции и диффузия реагентов.

Для узкой трубки:

$$I = -D \frac{\partial c(r,t)}{\partial r},$$
 для промежутков в пределе: $\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial I}{\partial r} = \frac{\partial}{\partial r} \left(D \frac{\partial c(r,t)}{\partial r} \right)$ $\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c(r,t)}{\partial r^2}.$

Если D=const

 $\frac{\partial c}{\partial t} = f(c) + D \frac{\partial^2 c}{\partial r^2}.$

Общее уравнени изменения за счет химической реакции:

Изучение системы: приравнивает к нулю и находим стационарное значение концетнрации

$$D_i \frac{\partial^2 c(r,t)}{\partial r^2} + f_i(c_1,c_2,...,c_n) = 0,$$
 далее задаем возмущение и исследуем его во времени.

Б<u>азовые модели</u>, с помощью которых можно задавать сложные процессы:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = P(x,y) + D_x \frac{\partial^2 x}{\partial r^2} \,, \qquad \qquad \text{Эта модель может качественно описать процессы} \\ \frac{\partial y}{\partial t} = Q(x,y) + D_y \frac{\partial^2 y}{\partial r^2} \,, \qquad \qquad \text{самопроизвольного возникновения волн и структур в распределения описать процессы самопроизвольного возникновения волн и структур в распределенных системах, т. е. процессы самоорганизации. Они осуществляются, когда в системе возникают неустойчивости, приводящие к потере исходного распределения веществ во$$

времени и пространстве. Вместо этого устанавливается новый тип распределения вещества во времени и пространстве, т. е. происходит самоорганизация системы.

В зависимости от вида функций f(c\,C2,...,c_n) и коэффициентов диффузии Д в системах могут возникать следующие нетривиальные типы поведения переменных или виды самоорганизации.

1. Распространяющиеся возмущения в виде бегущего импульса. 2 Стоячие волны. 3. Синхронные автоколебания разных элементов во всем пространстве. 4. Квазистохастические волны, которые получаются при случайном возмущении разности фаз автоколебаний в двух

точках пространства. 5.Стационарные неоднородные распределения переменных в пространстве — диссипативные структуры. 6.Генерация волн автономными источниками импульсной активности. В качестве источников волн могут быть, например, локальные кратковременные флуктуации переменных.

<u>Брюсселятор</u> представляет собой наиболее исследованную систему, которая при разных значениях параметров может обладать разнообразным поведением во времени и пространстве. На модели брюсселятора удается выявить условия возникновения типов самоорганизации в биологических и химических системах, и в этом смысле эта модель является базовой. Обратим внимание на то, что в брюсселяторе содержится простейшая кубическая нелинейность, которая обеспечивается реакцией 2х +у ^ 3х

Примером такой реакции может быть ферментативный процесс, в котором фермент имеет по крайней мере три каталитических центра. Кубическая нелинейность — важное условие возникновения диссипативных структур.

Уравнение:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = A + x^2 y - (B+1)x + D_x \frac{\partial^2 x}{\partial r^2}$$
, При B<1+A эта точка представляет собой устойчивый фокус, а при B>1+A $^\sim$ — неустойчивый фокус, вокруг которого в точечной системе образуется предельный цикл

.

2. Молекулярные механизмы повреждающего действия кислорода. Роль свободнора радикальных реакций и синглетного кислорода.

<u>Активные формы кислорода</u> — соединения кислорода с высокой реакционной способностью, окисляющие практически все классы биомолекул — белки, липиды, нуклеиновые кислоты и углеводы.

Повреждение молекул АФК на липиды мембран:

1)Инициирование цепи

 $X \cdot + LH \rightarrow XH + L \cdot ($ липидный радикал)

<u>2)Продолжение цепи</u>

 $L \cdot + O2 \rightarrow LOO \cdot$ (перекисный радикал липида)

 $LOO \cdot + LH \rightarrow L \cdot + LOOH$ (гидроперекись липида)

3)Разветвление цепи

LOOH + Fe 2+ (Cu+) \rightarrow OH- + Fe3+ (Cu2+) +

LO· (алкоксильный радикал)

<u>4)Обрыв цепи</u> L· + L· → LL

$$LOO \cdot + LOO \cdot \rightarrow LOH + L = O^* + O2$$

 $L=O^* \rightarrow L=O + hv$ (хемилюминесценция)

В итоге: Окислительная модификация мембранных белков, Нарушение барьерных свойств липидного бислоя , Уменьшение стабильности бислоя (эл. Пробой)

Окисление углевода, Образование сшивок ДНК-ДНК и ДНК-белок.

Действие на белки: Окисление аминокислотных остатков (Cys, Met, His, Pro, Arg, Trp, Phe, Tyr),

Окисление белкового скелета, Фрагментация полипептидной цепи, Образование внутри- и
межмолекулярных сшивок $ ightarrow$ инактивация беелка или снижение активности

	,,pee, , ,			
Поврежден	ния нуклеиновых кисл	от, приводящие к мутац	циям: Окисление азотистых оснований,	,

межмолекулярных сшивок o инактивация беелка или снижение активности