

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ РАДІОЕЛЕКТРОНІКИ**

**Н.В. Хміль, Г.В. Шестопалова, В.Г. Колесніков**

**ОСНОВИ  
МОЛЕКУЛЯРНОЇ ТА КЛІТИННОЇ  
БІОФІЗИКИ**

*Навчальний посібник*

**Харків-2023**

УДК 577.3:577.2(075.8)

*Рекомендовано до друку рішенням Вченої ради  
Харківського національного університету радіоелектроніки  
(протокол № 8/7 від 06.07.2023)*

**Хміль Н.В., Шестопалова Г.В., Колесніков В.Г.**

Основи молекулярної та клітинної біофізики: навчальний посібник для студентів ЗВО / Н.В. Хміль, Г.В. Шестопалова, В.Г. Колесніков. – Харків: ХНУРЕ, 2023. – 244 с.

**ISBN 978-966-659-366-8**

У посібнику викладено сучасні уявлення про біофізичні властивості біологічних макромолекул: принципи їх структурної організації, механізми стабілізації, термодинамічні особливості комплексоутворення. Для розуміння функціональної цілісності організму людини розглянуто основні принципи структурно-функціональної організації клітинної мембрани та механізми транспорту речовин крізь плазматичну мембрану. Описано біоелектричні явища плазматичної мембрани клітини як реакція на вплив фізичних і хімічних факторів навколишнього та внутрішньоклітинного середовища. Особливу увагу приділено процесам матричного синтезу: реплікації, транскрипції та трансляції в еукаріот і прокаріот. Розглянуто основні принципи м'язового та нем'язового скорочення та етапи забезпечення біологічної системи енергією.

Рекомендований як навчальний посібник для студентів усіх форм навчання спеціальності 163 «Біомедична інженерія». Зокрема стане в пригоді для здобувачів першого (бакалаврського) рівня освіти: «Біофізика», «Біомеханіка», «Хімія», «Біохімія», «Методи медико-біологічних досліджень», «Моделювання біологічних процесів та систем», «Біоінформатика», «Біосенсори», «Нанотехнології в біології та медицині»; для другого (магістерського) рівня освіти – «Методи математичної фізики в біології та медицині»; третього (доктор філософії) рівня освіти – «Перспективні напрями наукових досліджень».

Іл. 168. Табл. 10. Бібліогр. 64 наймен.

ISBN 978-966-659-366-8

DOI: 10.30837/978-966-659-366-8

© Н.В. Хміль, Г.В. Шестопалова,  
В.Г. Колесніков, 2023

© Харківський національний університет  
радіоелектроніки, 2023

## ЗМІСТ

|   |    |
|---|----|
| <b>Скорочення та умовні позначки</b> .....  | 7  |
| <b>Вступ</b> .....  | 8  |
| <b>1 Вступ до біофізики. Історія становлення біофізичної науки.</b>                         |    |
| <b>Предмет і методи дослідження біофізики</b> .....   | 10 |
| <b>2 Молекулярні механізми поглинання та розподілу енергії в біофізичних системах</b> ..... | 23 |
| 2.1 Загальні принципи розподілу енергії в біофізичній системі.....                          | 23 |
| 2.2 Енергія навколишнього середовища .....  | 25 |
| 2.3 Форми енергії в біофізичних системах.....   | 27 |
| 2.4 Енергія молекулярної взаємодії .....  | 30 |
| 2.4.1 Механізми поглинання енергії молекулами .....   | 31 |
| 2.4.2 Механізми молекулярної трансдукції.....   | 34 |
| 2.4.3 Вплив іонізуючого випромінювання на біологічні системи .....                          | 38 |
| 2.4.4 Трансдукція звукового сигналу .....   | 39 |
| 2.5 Методи діагностики та візуалізації клітинних сигналів .....                             | 42 |
| 2.5.1 Комп'ютерна томографія .....  | 42 |
| 2.5.2 Магнітно-резонансна томографія.....   | 43 |
| 2.5.3 Позитронно-емісійна томографія .....  | 46 |
| 2.6 Контрольні запитання та завдання.....   | 47 |
| <b>3 Молекулярна взаємодія в макромолекулах</b> .....                                       | 48 |
| 3.1 Взаємодія Ван-дер-Ваальса.....  | 49 |
| 3.1.1 Орієнтаційні взаємодії.....   | 49 |
| 3.1.2 Індукційні взаємодії.....   | 50 |
| 3.1.3 Дисперсійні взаємодії .....   | 50 |
| 3.2 Водневі зв'язки.....  | 52 |
| 3.3 Структура води та гідрофобні взаємодії .....  | 56 |
| 3.4 Контрольні запитання та завдання .....  | 60 |
| <b>4 Біофізика комплексоутворення</b> .....   | 62 |
| 4.1 Константа дисоціації .....  | 62 |
| 4.2 Молекулярне впізнавання.  |    |
| Характеристики специфічності комплексу .....  | 63 |

|  |            |
|--|------------|
| 4.3 Фізико-хімічні механізми комплексоутворення .....                                | 67         |
| 4.3.1 Кінетика зв'язування .....   | 68         |
| 4.3.2 Утворення комплексу відповідно до термодинаміки .....                          | 69         |
| 4.3.3 Рушійні сили зв'язування та ентальпійно-ентропійна компенсація ....            | 72         |
| 4.4 Методи вимірювання специфічності комплексоутворення .....                        | 73         |
| 4.5 Контрольні запитання та завдання .....   | 74         |
| <b>5 Біофізика білків .....</b>  | <b>75</b>  |
| 5.1 Різноманітність і функції білків у клітині.....                                  | 75         |
| 5.2 Структурна організація білкових молекул .....                                    | 76         |
| 5.2.1 Торсійні кути поліпептидного ланцюга .....                                     | 79         |
| 5.2.2 Особливості згортання білкової молекули .....                                  | 81         |
| 5.3 Фактори, що спричиняють денатурацію та ренатурацію білків.....                   | 87         |
| 5.4 Ферментний каталіз та кінетика ферментативних реакцій .....                      | 89         |
| 5.4.1 Принципи ферментативної кінетики .....   | 90         |
| 5.4.2 Залежність швидкості ферментативної реакції<br>від концентрації ферменту ..... | 94         |
| 5.4.3 Залежність швидкості ферментативних реакцій від рН .....                       | 96         |
| 5.4.4 Вплив температури на швидкість ферментативної реакції.....                     | 97         |
| 5.4.5 Особливості дії інгібіторів та індукторів<br>ферментативних реакцій.....       | 98         |
| 5.5 Контрольні запитання та завдання .....   | 103        |
| <b>6 Біофізика нуклеїнових кислот .....</b>  | <b>104</b> |
| 6.1 Будова й функціональне значення нуклеїнових кислот .....                         | 104        |
| 6.2 Структура полінуклеотидного ланцюга .....  | 106        |
| 6.3 Вторинна структура ДНК .....   | 109        |
| 6.3.1 Комплементарність пар азотистих основ.....                                     | 109        |
| 6.3.2 Поліморфізм молекули ДНК .....   | 111        |
| 6.3.3 Сили, що стабілізують подвійну спіраль ДНК.....                                | 113        |
| 6.3.4 Фактори, що спричиняють денатурацію ДНК.....                                   | 115        |
| 6.3.5 Гіперхромний ефект .....   | 116        |
| 6.4 Структура РНК.....   | 117        |
| 6.4.1 мРНК .....   | 117        |
| 6.4.2 тРНК .....   | 119        |
| 6.4.3 рРНК.....  | 121        |
| 6.4.4 Рибозими.....  | 123        |

|  |            |
|--|------------|
| 6.5 Третинна структура нуклеїнових кислот .....                | 124        |
| 6.6 Контрольні запитання та завдання.....                      | 126        |
| 6.7 Додаткові завдання .....                                   | 127        |
| <b>7 Біофізичні основи матричних процесів .....</b>            | <b>128</b> |
| 7.1 Реплікація ДНК.....  | 128        |
| 7.1.1 ДНК-полімерази.....                                      | 131        |
| 7.1.2 ДНК-топоізомерази.....                                   | 132        |
| 7.1.3 ДНК-лігази.....  | 133        |
| 7.1.4 ДНК-гелікази .....                                       | 134        |
| 7.2 Транскрипція.....  | 135        |
| 7.2.1 РНК-полімерази прокариотів та еукаріотів .....           | 135        |
| 7.2.2 Ініціація транскрипції .....                             | 137        |
| 7.2.3 Елонгація транскрипції.....                              | 139        |
| 7.2.4 Термінація транскрипції .....                            | 139        |
| 7.3 Трансляція мРНК.....                                       | 141        |
| 7.3.1 Ініціація трансляції.....                                | 143        |
| 7.3.2 Елонгація трансляції .....                               | 144        |
| 7.3.3 Термінація трансляції.....                               | 145        |
| 7.4 Посттрансляційні модифікації білка .....                   | 146        |
| 7.5 Контрольні запитання та завдання .....                     | 148        |
| <b>8 Біофізика клітинних мембран .....</b>                     | <b>150</b> |
| 8.1 Функції клітинних мембран .....                            | 150        |
| 8.1.1 Будова клітинної мембрани.....                           | 150        |
| 8.1.2 Рідинно-мозаїчна модель плазматичної мембрани.....       | 156        |
| 8.1.3 Біофізичні властивості плазматичних мембран .....        | 158        |
| 8.1.4 Рухливість макромолекул у ліпідному бішарі.....          | 162        |
| 8.2 Механізми транспорту речовин крізь клітинну мембрану ..... | 164        |
| 8.2.1 Пасивне транспортування.....                             | 165        |
| 8.2.2 Закони дифузії Фіка.....                                 | 171        |
| 8.2.3 Активне транспортування.....                             | 173        |
| 8.3 Електрогенез у клітині .....                               | 177        |
| 8.3.1 Мембранний потенціал спокою .....                        | 177        |
| 8.3.2 Виникнення потенціалу дії .....                          | 180        |
| 8.4 Контрольні запитання та завдання .....                     | 185        |

|   |     |
|---|-----|
| <b>9 Біофізика сенсорної та клітинної рецепції</b> .....        | 186 |
| 9.1 Сенсорна рецепція та класифікація сенсорних рецепторів..... | 186 |
| 9.1.1 Фоторецептори.....  | 191 |
| 9.1.2 Механорецептори .....                                     | 194 |
| 9.1.3 Терморецептори.....                                       | 195 |
| 9.1.4 Ноцицептори .....   | 197 |
| 9.1.5 Кортіів орган .....                                       | 200 |
| 9.2 Механізми клітинної рецепції .....                          | 203 |
| 9.3 Контрольні запитання та завдання.....                       | 206 |
| <b>10 Біофізика м'язового та нем'язового скорочення</b> .....   | 208 |
| 10.1 Значення та функції основних видів м'язів .....            | 208 |
| 10.2 Будова й функції міофіламентів .....                       | 209 |
| 10.3 Механізм м'язового скорочення .....                        | 215 |
| 10.4 Фізіологічні характеристики скорочення м'язів .....        | 219 |
| 10.5 Особливості нем'язового скорочення .....                   | 224 |
| 10.6 Клітинне дихання .....                                     | 227 |
| 10.7 Контрольні запитання та завдання .....                     | 234 |
| <b>Перелік джерел посилання</b> .....                           | 236 |

## СКОРОЧЕННЯ ТА УМОВНІ ПОЗНАКИ

|                  |  |
|------------------|--|
| АТФ              | – аденозинтрифосфат  |
| ГТФ              | – гуанозинтрифосфат  |
| ДНК              | – дезоксирибонуклеїнова кислота                                  |
| К <sub>м</sub>   | – константа Міхаеліса  |
| РНК              | – рибонуклеїнова кислота   |
| Ф <sub>н</sub>   | – неорганічний фосфор  |
| T <sub>пл</sub>  | – температура плавлення ДНК                                      |
| цАМФ             | – циклічний аденозинмонофосфат                                   |
| цГМФ             | – циклічний гуанозинмонофосфат                                   |
| EP               | – комплекс фермент-продукт реакції                               |
| ES               | – комплекс фермент-субстрат                                      |
| $k_{+1}, k_{-1}$ | – константи швидкості прямої та зворотної ферментативної реакції |
| $V_{\max}$       | – максимальна швидкість ферментативної реакції                   |

## ВСТУП

Молекулярна та клітинна біофізика є однією з найцікавіших та динамічних галузей сучасної науки завдяки поєднанню різноманітних ідей та засобів біології, фізики, хімії, математики та комп'ютерних наук.

Ключовою метою цього навчального посібника є ознайомлення студентів з біофізичними основами життєдіяльності організму людини на молекулярно-клітинному рівні, зокрема з будовою та властивостями найважливіших біологічних макромолекул нуклеїнових кислот, білків та їх комплексів.

Знання основних закономірностей протікання біологічних процесів з погляду термодинаміки та механізмів їх регуляції допоможуть майбутнім фахівцям галузі біомедичної інженерії усвідомити перспективи та втілити набуті вміння в розроблення сучасних біоінженерних технологій та медичної апаратури на науково обґрунтованому рівні. Розуміння ключових біофізичних механізмів реалізації генетичної інформації дасть змогу опанувати й коректно реалізувати експеримент із використанням програм комп'ютерного моделювання та молекулярної динаміки, що вкрай необхідно для ранньої діагностики різних патологічних станів.

Особливу увагу зосереджено на описі регуляторних трансмембранних рецепторних систем, іон-селективних каналів та дифузійних транспортних систем цитоплазматичної мембрани, завдяки чому реалізується злагодженість між внутрішньоклітинною сигналізацією та роботою функціональних систем. Обмін енергією є ключовим аспектом життєдіяльності будь-якої клітини. Клітини постійно сприймають та використовують енергію з довкілля для забезпечення різноманітних біохімічних процесів, таких як синтез молекул, рух і передача сигналів. На енергетичний баланс клітини впливають дихання, транспорт речовин і електронний транспорт. Взаємодія клітини із зовнішнім середовищем забезпечує підтримку гомеостазу та адаптацію організму з допомогою сенсорної рецепції.

У навчальному посібнику розглянуто різні типи рецепторів та їх особливі функції, зокрема сприйняття світла, звуку, температури, дотику та механізми перетворення фізичних стимулів на нервові сигнали. Основна література викладена в джерелах [1–64]. Додаткова література, присвячена біофізичним процесам під час дихання, наведена в джерелах [64–72], перспективним методам 3D-прототипування – у [73–75] та обробленню біосигналів – у [76–81].

Навчальний посібник може бути корисним для здобувачів першого (бакалаврського) рівня освіти: «Біофізика», «Біомеханіка», «Хімія», «Біохімія», «Методи медико-біологічних досліджень», «Моделювання біологічних процесів та систем», «Біоінформатика», «Біосенсори», «Нанотехнології в біології та медицині»; для другого (магістерського) рівня освіти – «Методи математичної фізики в біології та медицині»; для третього (доктор філософії) рівня освіти – «Перспективні напрями наукових досліджень».

# 1 ВСТУП ДО БІОФІЗИКИ.

## ІСТОРІЯ СТАНОВЛЕННЯ БІОФІЗИЧНОЇ НАУКИ.

### ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОФІЗИКИ

Важливе місце серед наук про життя посідає біологічна фізика, або біофізика (від дав.-гр. *βίος* – життя, дав.-гр. *φύσις* – природа), – наука, що вивчає фізичні та фізико-хімічні процеси, які відбуваються в живих системах на різних рівнях організації – від молекулярно-клітинного до популяційно-біосферного, – використовуючи універсальний характер основних фізичних законів та строгість математичних підходів. Біофізика є міждисциплінарною наукою про життя та здатна розв'язувати проблеми біології, медицини, екології, біотехнології, сільського господарства за допомогою сучасних методів фізики, математики, комп'ютерного моделювання.

Розвиток і становлення біофізики спостерігалися протягом тривалого часу. У XVIII ст. видатний природодослідник **Михайло Ломоносов** (1711–1765), відповідно до уявлень про хімічний зв'язок подразнювальних молекул матерії з молекулярними й ефірними структурами нервів, описав механізм подразнень у чутливих нервах і поширення збудження в нервах. Він також пояснив, як виникає відчуття смаку й нюху.



Михайло Ломоносов  
(1711–1765)



Томас Юнг  
(1773–1829)



Луїджі Гальвані  
(1737–1798)

Суттєвий внесок у XVIII ст. зробили результати досліджень фізика **Юнга Томаса** (1773–1829), який пояснив явище акомодатії ока зміною кривизни кришталіка, першим описав явище інтерференції світла, розробив теорію кольорового зору, дослідив деформацію тіл. Італійський фізіолог

**Луїджі Гальвані** (1737–1798) започаткував електробиологію, довівши, що в живих тканинах є електрика. Термін «біофізика» вперше з'явився в літературі на рубежі XIX–XX ст. та своєю появою завдячує двом ученим: англійському математику, біологу **Карлу Пірсену** (1857–1936) та французькому фізику **Жаку Арсену Д'Арсонвалю** (1851–1940). У 1892 р. К. Пірсон організував кафедру в Коледжі де Франс, яку назвав «кафедра біофізики», основною науковою темою якої було вивчення впливу змінних струмів на біологічні об'єкти та застосування фізичних закономірностей до опису та існування певних форм життя. Французький фізик і лікар Д'Арсонваль був піонером електротерапії, він вивчав медичне застосування струмів високої частоти. Його вважають засновником парамедичної сфери фізіотерапії. Серед винаходів Д'Арсонваля – діелектричне нагрівання та різноманітні вимірювальні прилади, зокрема амперметр із термопарою та гальванометр із рухомою катушкою.



Карл Пірсен  
(1857–1936)



Жак Арсен Д'Арсонваль  
(1851–1940)

Тісні зв'язки між квантовою фізикою та біологією були окреслені видатними фізиками, зокрема **Нільсом Генриком Давидом Бором** (1885–1962), **Вольфгангом Ернстом Паулі** (1900–1958) і **Ервіном Рудольфом Йозефом Александером Шредінгером** (1887–1961). Засновник квантової механіки Е. Шредінгер у своїй відомій книзі «Що таке життя з погляду фізики?» вперше сформулював цілу низку запитань щодо біофізики і дав на них відповіді. Учений наголосив, що з погляду фізики живий організм належить до відкритої термодинамічної системи з безперервним обміном речовини й енергії з довкіллям, а вражаючу стійкість живого організму в умовах принципової нерівноважності процесів, які в ньому відбуваються, Е. Шредінгер пояснив

безперервним відтоком ентропії з організму в навколишнє середовище. Іншим питанням, важливим з погляду фізики, є таке: чому будь-який живий організм містить велику кількість атомів? Відповіддю є вказівка на те, що система, яка складається з незначної кількості атомів, не може бути впорядкованою, а тому будь-яка флуктуація, що виникає внаслідок теплового руху частинок, призведе до порушення системи, не сумісного з життям.



Нільс Генрик Давид Бор  
(1885–1962)



Вольфганг Ернст Паулі  
(1900–1958)



Ервін Шредінгер  
(1887–1961)

Останнім часом фізичні ідеї, такі як «реляційна біологія», «термодинаміка», «дисипативні структури», «нерівноважна термодинаміка», усе частіше застосовуються для опису біологічних явищ і процесів.

Серед багатьох досягнень біофізики за останні кілька десятиліть особливо варто згадати інструменти, розроблені та вдосконалені для вирішення проблем, пов'язаних зі структурою та динамікою біологічних макромолекул. Справді, дуже багато потужних інструментів для дослідження біомакромолекул були започатковані знаменитими фізиками та біофізиками. Рентгенівська кристалографія є показовим прикладом. Рентгенівські промені були відкриті **Вільгельмом Рентгеном** (Нобелівська премія з фізики, 1901 р.), а їх дифракція на кристалах була вперше продемонстрована **Максом фон Лауе** (Нобелівська премія з фізики, 1914 р.), який започаткував новий напрям рентгенівської кристалографії – метод дослідження структури речовини, в основі якого лежить явище дифракції рентгенівського випромінювання на тривимірних кристалічних ґратках. Зауважимо, що можливість використання рентгеноструктурного аналізу для вивчення широкого класу речовин і беззаперчна цінність цих досліджень стимулювали розвиток методів розшифрування молекулярно-біологічних структур.

Видатним науковцем сучасності є **Лайнус Полінг** (1901–1994), автор вторинної структури білка –  $\alpha$ -спиралі та  $\beta$ -структури. Серед основних досягнень Л. Полінга є вчення про хімічні зв'язки, викладене в його книзі «*The Nature of Chemical Bond and Structure of Molecules and Crystals*», 1939 р.;

друге видання книги побачило світ 1940 р. (1942 і 1944 рр. були надруковані додаткові тиражі другого видання). У кінці 40-х рр. Л. Полінг розпочав дослідження атомної та молекулярної структури білків і амінокислот із використанням рентгенівської кристалографії. Саме тоді вчений разом із співробітником Р. Корі виявили існування кристалічної структури найпростіших амінокислот. Застосувавши результати рентгеноструктурних досліджень амінокислот (значення властивих міжатомних відстаней та валентних кутів, величини ван-дер-ваальсових радіусів), Л. Полінг і Р. Корі провели конформаційний аналіз поліпептидного ланцюга, що є основою структури будь-якого протеїну. На основі рентгеноструктурних досліджень для просторового розміщення поліпептидного ланцюга автори запропонували два варіанти –  $\alpha$ -спіраль і  $\beta$ -складчасту структуру. Ці структури формуються завдяки міжланцюговим водневим зв'язкам, що з'єднують групи  $CO$ - і  $NH$ - поліпептидних ланцюгів.



Лайнус Полінг  
(1901–1994)



Л. Полінг та Р. Корі  
з моделлю  $\alpha$ -спіралі білка (1954 р.)

Л. Полінг був одним із перших, хто встановив значення водневих зв'язків для біомолекул: завдяки малій енергії зв'язку та малій енергії активації, що характеризує їх утворення та руйнування, водневі зв'язки відіграють важливу роль у реакціях, які відбуваються за нормальної температури. Досягнення Л. Полінга в галузі дослідження хімічних зв'язків у біополімерах були гідно оцінені 1954 р. Нобелівським комітетом, який відзначив його премією з хімії «За дослідження природи хімічного зв'язку та її використання для встановлення структури складних сполук».

Роботи з вивчення просторової структури білків, що розпочав в 30-х рр. у Великій Британії **Джон Бернал** (1901–1971) та успішно продовжив

англійський біохімік **Джон Кендрю** (1917–1997) і **Макс Перутц** (1914–2002), відіграли важливу роль у становленні молекулярної біології. Сучасний етап розвитку біофізики, власне, розпочався з видатних відкриттів просторової структури білків і знаменитої спіралі життя – подвійної спіралі ДНК.

Уявлення біомакромолекул у вигляді кристалів дало змогу встановити молекулярну структуру міоглобіну та гемоглобіну. М. Перутц 1953 р. розробив метод ізоморфного заміщення, в основі якого – введення атомів важких металів до молекул кристалічних білків. Це допомогло використовувати результати рентгеноструктурного аналізу для дослідження білка гемоглобіну. У 1957 р. автори побачили «те, чого ніхто не бачив раніше» (за висловом самого Д. Кендрю) – тривимірну структуру білка. Продовжуючи роботу, Д. Кендрю зробив близько 10 тис. рентгенівських знімків кристалів нормального та ізоморфного міоглобіну. 13 лютого 1960 р. в журналі *Nature* вийшла стаття, у якій була опублікована модель міоглобіну з положенням майже 2600 атомів у молекулі білка. Двома роками пізніше Д. Кендрю був удостоєний Нобелівської премії з молекулярної біології. У 1960 р. була розшифрована структура гемоглобіну, за що 1962 р. М. Перутц разом із Д. Кендрю отримали Нобелівську премію з хімії.



Джон Бернал  
(1901–1971)



Джон Кендрю  
(1917–1997)



Макс Перутц  
(1914–2002)

1953 р. результати рентгеноструктурного аналізу, здобуті **Морісом Вілкінсом** (1913–2010) і **Розаліндою Франклін** (1920–1958), дали змогу британцям Джеймсу Уотсону та Френсісу Кріку (1916–2004) з університету Кембріджа створити модель молекули дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК). Послідовність нуклеотидів у ДНК – це генетичний код, набір інструкції для побудови та функціонування клітин живих організмів. Відкриття просторової

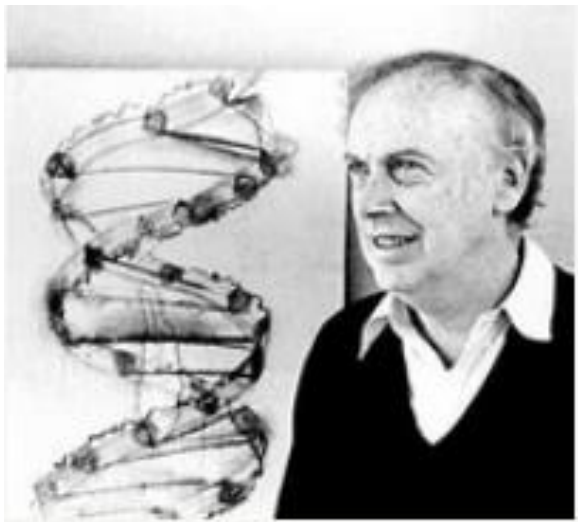
структури ДНК стало революцією у світі науки та одним із найважливіших відкриттів біології ХХ ст. і сприяло низці нових досліджень, без яких не можна уявити не тільки сучасної науки, а й сучасного життя загалом. Учені за своє відкриття 1962 р. нагороджені Нобелівською премією з фізіології та медицини, окрім Розалінд Франклін, яка померла за 4 роки до преміювання.



Моріс Вілкінс  
(1913–2010)



Розалінд Франклін  
(1920–1958)



Джеймс Вотсон  
(1928)



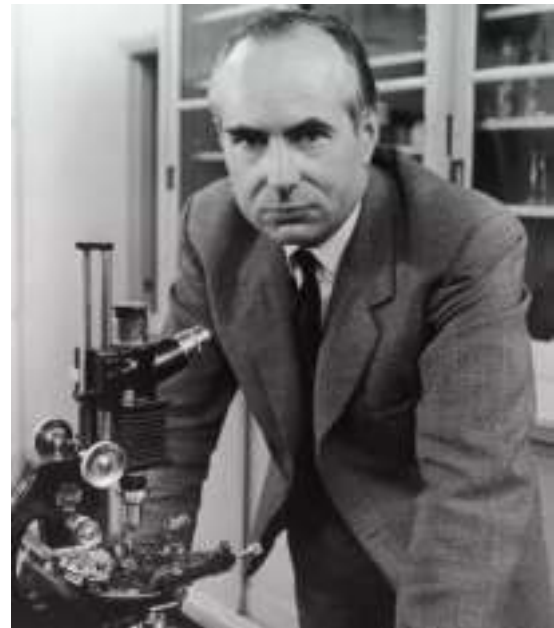
Френсіс Крік  
(1916–2004)

Послідовне застосування фізичних методів та уявлень у вивченні надмолекулярних мембранних структур сприяло відкриттю іонної природи біоелектричних явищ. Британські нейрофізіологи, біофізики та біохіміки **Алан Ходжкін** (1914–1998) і **Ендрю Хакслі** (1917–2012) 1952 р. запропонували оригінальний математичний опис кінетики натрієвої та калієвої провідності, зміну якої вони спостерігали експериментально. Модель передбачає, що провідність мембрани для іонів  $Na^+$  і  $K^+$  регулюється деякими керуючими

частинками, які переміщуються в мембрані за умови зміни електричного поля. Сучасні уявлення про генерацію та поширення потенціалу дії в нейронах основані на роботах цих видатних фізіологів. Вони припустили, що для генерації потенціалу дії електрично заряджені атоми, або іони, мають переміщатися крізь шарнірні ворота (або канали) клітинної мембрани. У цьому разі мембрана зсередини та зовні має бути заряджена по-різному, і через різницю цих потенціалів, на думку вчених, саме народжувався іонний струм. До того ж важчі та більші іони натрію могли ввійти в гігантський аксон кальмара крізь спеціальні шарнірні ворота лише тоді, коли різниця потенціалів зменшувалася до певного порога.



Алан Ходжкін  
(1914–1998)



Ендрю Хакслі  
(1917–2012)

«За відкриття, що стосуються іонних механізмів збурення та гальмування в периферійних і центральних ділянках нервових клітин» А. Ходжкін і Е. Хакслі 1963 р. отримали Нобелівську премію з фізіології та медицини. Ці відкриття дали змогу сформулювати сучасну теорію виникнення збурення, відому як теорія калій-натрієвого насоса.

Англійський біохімік **Пітер Мітчелл** (1920–1992) 1961 р. запропонував оригінальну схему окисного фосфорилування. Ключову роль у біоелектричних явищах, що відбуваються на мембранах, відіграють процеси спряження окиснення та фосфорилування. Ця гіпотеза основана на уявленні про те, що енергія окислення субстрату використовується для утворення електрохімічного потенціалу іонів водню по обидва боки внутрішньої мембрани мітохондрій; переміщення електронів крізь мембрану є рушійною силою в реакції

енергетичного спряження. Учений показав, що синтез молекули АТФ у мітохондріях відбувається завдяки електричному градієнту на внутрішній мембрані мітохондрій, так званій спряженій мембрані. П. Мітчелл був нагороджений Нобелівською премією з хімії 1978 р. з формулюванням «За внесок у розуміння процесу перенесення біологічної енергії, зроблений завдяки створенню хеміосмотичної теорії».

Сучасні уявлення про іонні канали склалися у зв'язку з двома методичними підходами до їх вивчення. По-перше, це метод локальної фіксації (англ. *patch clamp*), що дає змогу спостерігати струм іонів крізь одиночний канал. Цю техніку запропонували в кінці 70-х рр. **Ервін Неєр** (1944) і **Берт Сакман** (1942), лауреати Нобелівської премії з фізіології та медицини 1991 р. «За відкриття, що стосується функції одиночних іонних каналів в клітинах». По-друге, розумінню властивостей каналів сприяла побудова їх моделей на основі розшифрованого генетичного коду багатьох каналних білків і встановленою у зв'язку з цим амінокислотною послідовністю молекул.



Пітер Мітчелл  
(1920–1992)



Ервін Неєр  
(1944)



Берт Сакман  
(1942)

Упродовж 60-х рр. минулого століття в декількох інститутах Національної академії наук України в Харкові та Києві (Інститут радіофізики та електроніки – ІРЕ (1964), Інститут молекулярної біології та генетики – ІМБГ (1968), Фізико-технічний інститут низьких температур – ФТІНТ (1968), Інститут теоретичної фізики – ІТФ (1973) за ініціативою директорів О. Усикова, С. Гершензона, Б. Веркіна та О. Давидова були створені наукові відділи, лабораторії та групи для експериментального й теоретичного вивчення біологічних об'єктів фізичними методами.

Одним з основних напрямів фундаментальних досліджень українських учених у галузі фізики біологічних систем стала молекулярна біофізика,

предметом якої є вивчення фізичних принципів структурної організації та функціонування найважливіших біополімерів – нуклеїнових кислот і білків. Ці макромолекули виявилися надзвичайно цікавими об'єктами з незвичними для молекулярної фізики особливостями: їх дослідження вимагало розроблення нових експериментальних підходів і навіть створення нетрадиційних фізичних моделей і математичного апарату.

На цей час пріоритетними напрямками досліджень української біофізичної школи, зокрема Київського відділення біофізиків, є з'ясування нелінійних ефектів скорочення м'язів за умов норми та впливу різноманітних факторів, регуляція процесів скорочення-розслаблення скелетних м'язів, патологічні структурні зміни м'язів у разі ішемії; вплив електромагнітних полів різних частотних діапазонів на центральну нервову систему, гладенькі м'язи та інші системи організму; біологічна дія каліксаренів на скорочувальну активність гладеньких м'язів.

**Платон Григорович Костюк** (1924–2010) – видатний український біофізик, учений світового рівня в галузях нейрофізіології, молекулярної біології й клітинної фізики. Створив наукову школу дослідників цих напрямів в Інституті фізіології ім. Богомольця Національної академії наук України, був першим, хто «вступив у діалог з нейроном». Уперше в світі П. Костюк упровадив методику внутрішньоклітинного діалізу соми нервової клітини й застосував її для вивчення мембранних і молекулярних процесів у ній. З'ясував стан гомеостазу іонів кальцію в нервових клітинах і його порушень за певних хвороб. Уперше в Україні П. Костюк застосував мікроелектродну техніку для дослідження структурно-функціональної організації нервових центрів та біофізичних і молекулярних механізмів збудження та гальмування в нервових клітинах. Він розробив методику внутрішньоклітинної перфузії тіла нервової клітини й застосував її для дослідження мембранних і молекулярних механізмів цієї клітини. Упровадив нові методи реєстрації електричної активності нервових клітин, створив нові електрофізіологічні прилади. Ці технології дали змогу вимірювати активність іонних каналів клітинної мембрани, ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрій, що допомогло П. Костюку з колегами вивчати механізми обміну іонів кальцію в нервових клітинах, його порушення в разі патології мозку. Дослідник уперше запровадив в Україні реєстрацію активності окремих молекул іонних каналів, що допомогло ідентифікувати їх окремі види й родини в різноманітних клітинах, вивчити фізико-хімічні властивості.



П.Г. Костюк  
(1924–2010)



В.Л. Зима  
(1936–2005)



М.Ф. Шуба  
(1928–2007)

**Валентин Леонідович Зима** (1936–2005) – видатний український біофізик, був одним з перших викладачів кафедри біофізики біологічного факультету Київського університету ім. Т. Шевченка. В. Зима досліджував спектральні характеристики ароматичних амінокислот і білків, вивчав люмінесценцію та міграцію квантів енергії в органічних кристалах і квазікристалах. За допомогою розробленого ним флуоресцентного методу кількісного оцінювання цитозольного кальцію зареєстрував кальцієві сигнали в різноманітних клітинах, передусім у міоцитах. Також В. Зима досліджував структурно-функціональні домени в міозині та їх участь у генерації механічної сили м'яза.

**Михайло Федорович Шуба** (1928–2007) – український біофізик, завідувач і професор кафедри біофізики Київського університету ім. Т. Шевченка, засновник і перший президент Українського біофізичного товариства, започаткував усесвітньо відому наукову школу з дослідження фізіології та біофізики гладеньких м'язів. Йому належить пріоритет відкриття існування прямих електричних контактів (нексусів) між гладеньком'язовими клітинами та кабельних властивостей гладеньких м'язів. М. Шуба запропонував концепцію, що пояснювала природу фазного й тонічного скорочення гладеньких м'язів, припускаючи існування трьох типів каналів, крізь які проникають до гладеньком'язової клітини іони кальцію – основного ініціатора скорочення. Особливість цієї гіпотези полягає в тому, що вона була запропонована задовго до можливості прямої реєстрації активності поодиноких каналів. На початку 80-х рр. ХХ ст., впроваджуючи прогресивні методи електрофізіологічних досліджень на поодиноких клітинах, Михайлом Федоровичем уперше виділено іонний струм – потенціал залежних

кальцієвих каналів плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин, досліджено їх основні фармако-біофізичні характеристики.

Біофізичній спільноті Харкова вже понад сто років. 1933 р. в цьому місті з'явилася перша біофізична лабораторія, з 1936 р. в Харківському університеті запрацювала аспірантура за фахом «Біофізика», 1966 р. відбувся перший випуск фахівців-біофізиків, а 45 років тому (1968 р.) на радіофізичному факультеті університету утворилася кафедра зі словом «біофізика» в назві. Ця подія була особливою, оскільки кафедри біофізики в закладах вищої освіти зазвичай були у складі фізичних чи біологічних факультетів. Появі спеціалізованої кафедри біофізики передувало становлення унікальних напрямів наукових досліджень у місті Харкові, починаючи з експериментів В. Данилевського щодо впливу електромагнітних полів на організм людини.

Першим завідувачем новоствореної кафедри був академік НАН України **Веркін Борис Ієримійович** (1919–1990) – видатний український учений-біофізик, фізик, кріобіолог. Роботи Б. Веркіна в галузі фізики низьких температур і кріогенної техніки широко відомі в нашій країні та за кордоном і принесли йому загальне визнання. Учений розробив метод тунельної спектроскопії, довів можливість кристалізації молекул РНК і ДНК, заснував польову мас-спектрометрію. Спільно з медиками створив і впровадив низку методів тривалого консервування крові, тканин і кісткового мозку за низьких температур. Б. Веркін є засновником харківської наукової школи фізиків-кріогенників. Молекулярна біофізика у Харкові пройшла важкий шлях становлення, і в її розвитку вчений відіграв величезну роль. На короткий, але дуже важливий час він стає завідувачем кафедри молекулярної та прикладної біофізики в Харківському університеті.



Веркін Б.І.  
(1919–1990)



Благой Ю.П.  
(1929–2018)



Малєєв В.Я.  
(1930–2018)

У середині 1970 р. на базі Фізико-технічного інституту низьких температур був створений відділ фізики розчинів ДНК, який очолив **Благой Юрій Павлович** (1929–2018). Почалося створення установок для вивчення світлорозсіювання розчинів ДНК, для спектрофотометрії розчинів та низькотемпературної люмінесцентної спектроскопії, що дала інформацію про електронну структуру ДНК. Ю. Благой був фахівцем із термодинаміки розчинів, з молекулярної біології, біохімії та генетики.

Основними напрямками наукових досліджень видатного вченого-біофізика, професора кафедри молекулярної та прикладної біофізики Харківського національного університету ім. В. Каразіна **Малєєва Володимира Яковича** (1930–2018) були дослідження фізичних принципів будови та ролі гідратного оточення в стабілізації структури найважливіших біологічних макромолекул – білків і нуклеїнових кислот. Одним із напрямів дослідження В. Малєєва є вивчення процесів комплексоутворення ДНК з різними низькомолекулярними речовинами, що супроводжується зміною діелектричних властивостей розчину, яке зумовлено змінами у водній оболонці нуклеїнової кислоти.

У сучасній біофізиці застосовуються точні біофізичні методи дослідження, такі як електрофорез, ультрацентрифугування, калориметрія, квазіупруге розсіювання світла, рентгеноструктурний аналіз, нейтроноскопія, спектрофотометрія, раманівська спектроскопія, люмінесцентний аналіз, електронний парамагнітний резонанс тощо. Значні досягнення в біофізиці були зроблені завдяки спектроскопії ядерного магнітного резонансу (Нобелівські премії з фізики, 1902, 1943, 1944 і 1952 рр.; Нобелівські премії з хімії, 1991 та 2002 рр.; Нобелівська премія з фізіології та медицини, 2003 р.), електронної мікроскопії (Нобелівська премія, 1986 р.; премія з фізики та Нобелівська премія з хімії, 1982 р.), а також атомно-силової мікроскопії (Нобелівська премія з фізики, 1986 р.) та оптичному пінцету (Нобелівська премія з фізики, 1997 р.).

Побудова моделей у біофізиці із застосуванням методів молекулярної динаміки нині є одним із основних етапів біофізичного дослідження, оскільки живий організм – дуже складна система, що не завжди доступна для фізичного експерименту. Методи молекулярної динаміки дають змогу моделювати детальну мікроскопічну картину внутрішньої рухливості біологічних систем, які складаються з безлічі молекул, проводити розрахунок траєкторій руху взаємодіючих молекул у просторі, визначати їх координати та вільну енергію взаємодії.

На сьогодні виокремлюють три основні напрями досліджень у галузі сучасної біофізики – молекулярна біофізика, біофізика клітини й біофізика

складних систем. Залежно від напрямку дослідження об'єктами вивчення молекулярної біофізики є функціонально активні речовини, серед яких білки, нуклеїнові кислоти. У межах біофізики клітини вивчаються надмолекулярні структури живої клітини, серед яких особливе місце посідають мембранні структури клітин і субклітинні компоненти. Біофізика складних систем розглядає живі організми різного рівня організації з позицій фізико-математичного моделювання. У цьому разі об'єктами дослідження є сукупність клітин, живі тканини, фізіологічні системи та популяція організмів.

Предметом біофізики є фізичне обґрунтування процесів, які відбуваються на всіх рівнях організації живої біологічної системи. Крім того, складники біологічних процесів розглядаються та пояснюються з погляду фізичних процесів, понять і закономірностей фізики.

Нині основними завданнями біофізики є:

- 1) пошук загальних принципів біологічно значущих фізичних впливів на різних рівнях організації біологічної матерії;
- 2) розкриття природи процесів у біологічних системах відповідно до знань сучасної фізики, хімії, математики;
- 3) розроблення узагальнених фізичних понять, що адекватно описують біологічні явища.

## 2 МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ ПОГЛИНАННЯ ТА РОЗПОДІЛУ ЕНЕРГІЇ В БІОФІЗИЧНИХ СИСТЕМАХ

### 2.1 Загальні принципи розподілу енергії в біофізичній системі

З-поміж інших дисциплін сучасна біофізика відрізняється тісним зв'язком із низкою природничих і математичних наук, що разом дають повне уявлення про структуру та функціонування живої біологічної системи від атомарно-молекулярного рівня до цілісного організму. На різних рівнях організації живого саме біофізичні принципи забезпечують злагоджені фізіологічні функції організму людини, зокрема завдяки надійним механізмам поглинання та розподілу енергії, яка надходить з навколишнього середовища.

Відомо, що всі молекули нашого організму перебувають у стані рівноваги з довкіллям, окрім короткого періоду існування, який відводиться на зворотну реакцію в разі стимуляції певним фізико-хімічним агентом. Енергія навколишнього середовища ( $E_0$ ) – це добуток абсолютної температури ( $T$ ) та константи Больцмана ( $k$ ), коли реалізуються різноманітні біофізичні функції. Численні фізіологічні системи абсорбують енергію безпосередньо з довкілля; наочними прикладами таких процесів є абсорбція світла видимого діапазону молекулами родопсину, руйнування ДНК ультрафіолетом (УФ) та поглинання УФ молекулами меланіну для часткового захисту від такого руйнування. Водночас значну кількість енергії наш організм абсорбує з неприродних джерел, що протягом багатьох десятиріч активно використовуються для медичних та наукових завдань – це енергія для магнітно-резонансної візуалізації (МР-візуалізація) та магнітно-резонансної спектроскопії (МР-спектроскопія), ультразвукової діагностики (УЗ) тощо.

Призначення біологічних молекул не лімітоване лише абсорбцією енергії та випромінюванням енергії в навколишнє середовище, взаємодія з іншими молекулами є важливим аспектом у забезпеченні формування хімічних зв'язків різної довжини та з різним періодом існування. Наприклад, існування ковалентних зв'язків пролонговане в часі, енергія їх зв'язку настільки більша за  $kT$ , що без присутності специфічної ферментно-зв'язаної системи ці зв'язки не здатні зруйнуватися впродовж усього життя. Тому дослідження формування та руйнування ковалентних зв'язків мають незначну роль у молекулярній біофізиці, навіть якщо структури, які вони організовують, надзвичайно важливі.

Навпаки, водневі, гідрофобні та іонні зв'язки мають енергії ледь більші за  $kT$ . Ці типи зв'язку постійно утворюються та розриваються в бурхливому молекулярному просторі, саме тому забезпечують можливість протікання різноманітних і цікавих із погляду біофізики реакцій.

Біофізика клітинних мембран і регуляторних систем відіграє важливу роль у розумінні принципів молекулярного впізнавання та специфічного зв'язування молекул. Внутрішньоклітинна та внутрішньотканинна рідини суттєво відрізняються, насамперед високою концентрацією білків у внутрішньоклітинному середовищі та концентрацією іонів  $K^+$  та  $Na^+$ , взаємодія яких з молекулами води є основною причиною багатогранності молекулярно-клітинного простору.

Відповіді на питання фундаментальної генетики щодо процесів, які контролюють трансдукцію факторів транскрипції крізь ядерну мембрану, механізмів транспорту факторів транскрипції (дифузія чи активний енергоємний транспорт у присутності АТФ-залежних систем) та як вони зв'язуються з геномом і визначають білок-білкову взаємодію для реалізації функціонального призначення білкової макромолекули, неможливі без прецизійних біофізичних підходів. Величина константи зв'язування ( $K_a$ ) характеризує не лише внутрішньоклітинні реакції, а й особливість зв'язування антитіл з антигенами, що є передумовою запуску неспецифічного імунного відгуку, коли імунна система розпізнає інфекцію протягом декількох днів. Хоча за умови діабету типу 1 – інсулінозалежному аутоімунному захворюванні – власний імунітет руйнує клітини підшлункової залози впродовж багатьох років, не запускаючи імунну відповідь. Суттєва пролонгованість імунної відповіді пояснюється незначною схожістю структури антигена, невеликим значенням  $K_a$  та нетривалим часом існування комплексу «антиген-антитіло».

Мембранні електричні функції забезпечуються іонами  $K^+$  та  $Na^+$ , різна проникність клітинної мембрани для яких позначається на різниці кількості відкритих і закритих іонних каналів та формуванні мембранного потенціалу спокою. Навіть у стані спокою іонні канали регулюють та контролюють зв'язування агоністів із рецепторами на мембрані клітини та забезпечують трансмембранне проходження гормонального сигналу для реалізації певного біологічного ефекту. Нетривалі високоамплітудні зміни мембранного потенціалу спокою, що виникають у процесі збурення живої клітини, призводять до зміни електричного заряду на незначній ділянці мембрани та до виникнення потенціалу дії, який є біофізичною основою нервового та м'язового імпульсу.

## 2.2 Енергія навколишнього середовища

Різноманітні процеси, що забезпечують життєдіяльність біологічної системи, перебувають під контролем законів термодинаміки. Біофізичні системи будь-якого рівня організації протягом життя залежать від постійного надходження енергії, щоб, власне, залишатися живими, та досягають теплової рівноваги, або термодинамічної рівноваги, після припинення свого існування. У середині живого організму є достатньо малі біофізичні підсистеми, які можуть перебувати в стані термодинамічної рівноваги навіть за умов, коли організм не є в термодинамічній рівновазі з навколишнім середовищем. Біофізичні системи не можуть створювати або нівелювати енергію, але їм властиво вправно маніпулювати енергією. У цьому разі виконується певний вид роботи або змінюється внутрішня енергія системи.

Для біофізичних процесів, зокрема фізіологічних, виведених із стану рівноваги, властиве збільшення ентропії та енергії, яка спрямована на упорядкування певного локального простору, хоча ця енергія набагато менша ніж енергія навколишнього середовища. Різниця в цих енергіях і є зміною ентропії. Закономірності першого, другого та третього правил термодинаміки протягом багатьох років залишаються одними з тих, які активно обговорюються в науковому світі, адже ці принципи є основою для розуміння фундаментальних питань біофізики – механізмів абсорбції енергії, формування хімічних зв'язків, дифузії іонів, перебігу рідини, м'язового скорочення та багатьох інших процесів. До речі, м'язове скорочення та перебіг крові по кров'яному руслу є біофізичними та фізіологічними процесами одночасно. У цьому разі «процес» – це перехід між функціями стану. «Функція стану» – це термодинамічна величина, яка за відсутності потоку енергії ззовні характеризує стан рівноваги. «Процеси» описують кількісні переходи між функціями стану, або, простіше кажучи, між різними станами термодинамічної системи.

«Внутрішня енергія системи» – це сума різних станів у складі цієї системи. Якщо в хімічній системі внутрішня енергія описується ентальпією та вільною енергією Гельмгольца – термодинамічним потенціалом, що визначає рівноважні термодинамічні характеристики системи залежно від об'єму та температури, то внутрішню енергію фізіологічної системи більш доречно описувати зміною вільної енергії Гіббса:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S, \quad (2.1)$$

де  $H$  – ентальпія;

$T$  – абсолютна температура;

$S$  – ентропія.

Для визначення вільної енергії Гіббса в біофізичних системах частіше використовують запис:

$$dG = -SdT + Vdp + Fdl + \sum_{i=1}^m \mu_i dn_i + \psi dq, \quad (2.2)$$

де  $V$  – об'єм;

$dp$  – зміна тиску;

$F$  – механічна сила;

$dl$  – зміна довжини;

$\mu_i$  – хімічний потенціал;

$dn_i$  – зміна кількості молекул;

$\psi$  – електричний потенціал;

$dq$  – зміна електричного заряду.

Це рівняння доволі громіздке порівняно з рівнянням для визначення вільної енергії Гіббса:

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq}, \quad (2.3)$$

де  $R$  – молярна газова стала;

$K_{eq}$  – константа рівноваги.

Різниця між цими рівняннями наочна. Рівняння (2.3) є лише підмножиною рівняння (2.2); воно було виведене з припущення, що температура, тиск, довжина та заряд є сталими величинами, тоді рівняння для визначення вільної енергії Гіббса спрощується та залишається тільки хімічний потенціал системи. З практичного погляду цього спрощення намагається досягти експериментальна наука – зафіксувати всі змінні величини, за винятком однієї, яка визначається в процесі вимірювання, наприклад, під час вивчення теплової регуляції першочергово приділяється увага величині  $dT$ ; дихання залежить від  $dp$ ; у дослідженні скорочення м'язів вимірюється  $dl$ ; показники електрокардіограми залежать від  $dq$ . Звичайно, усі ці складники завжди присутні в біофізичній системі, але, перебуваючи в умовах навколишнього середовища, у якому вона функціонує, експериментатор намагається мінімізувати вплив зовнішніх факторів, які різко змінюють результати дослідження, особливо якщо об'єкт вивчення – біологічна система.

## 2.3 Форми енергії в біофізичних системах

Енергія біофізичних систем має різні форми. Цілісність функціонування нашого організму проявляється за температури 98,6 °F, 37 °C або 310 K. Наш організм здатен надійно регулювати температуру тіла, незалежно від температури довкілля. За винятком незначної кількості молекул, що в певний період часу залучені до біохімічної реакції, середня кінетична енергія всіх атомів і молекул організму перебуває в стані рівноваги з енергією навколишнього середовища  $E_0$ . Для поєднання енергії з температурою системи австрійський фізик-теоретик, засновник молекулярно-кінетичної теорії Людвіг Едуард Больцман (1844–1906) ввів коефіцієнт пропорційності  $k$ , який потім став називатися коефіцієнтом Больцмана.

$$T = \frac{2}{3k} \frac{m_0 v^2}{2}, \quad (2.4)$$

де  $k$  – постійна Больцмана;  $k = 1,380649 \cdot 10^{-23}$  Дж/К.

Енергія системи в стані рівноваги  $E_0$  – добуток абсолютної температури  $T$  (у градусах Кельвіна) на постійну Больцмана  $k$ .

$$E_0 = k \cdot T = 310 K \cdot 1,38 \times 10^{-23} \text{ Дж} / K \cdot \text{молекула} = 4,28 \times 10^{-21} \text{ Дж} / \text{молекула}. \quad (2.5)$$

Значення  $4,28 \times 10^{-21}$  Дж/молекула – це енергія рівноваги однієї молекули системи. Але реальна біофізична система є ансамблем молекул, тому вводиться число Авогадро  $N_A$  для того, щоб конвертувати постійну Больцмана в універсальну газову постійну  $R$ .

$$R = N_A \cdot k = 6,02 \times 10^{23} \text{ молекула} / \text{моль} \cdot 1,38 \times 10^{-23} \text{ Дж} / K \cdot \text{молекула} = 8,31 \text{ Дж} / K \cdot \text{моль}. \quad (2.6)$$

Тоді молярна енергія рівноваги  $E_m$

$$E_m = R \cdot T = 8,31 \text{ Дж} / K \cdot \text{моль} \cdot 310 K = 2,58 \text{ кДж} / \text{моль}. \quad (2.7)$$

Молекули в середині будь-якої клітинної підструктури перебувають у рівновазі з довкіллям, коли  $RT = 2,58$  кДж/моль, за умови, якщо вони не долучені до біохімічної реакції. У разі виникнення реакції, наприклад, у процесі поглинання світла молекулами меланіну, уроканінової кислоти або ретиналю, біологічна система цих молекул під час реакції фотоізомеризації набуває цис-конформації за умови збурення енергією світла нейтральної транс-конформації (рис. 1.1).

Подібно до інших фізичних систем, біологічні системи намагаються досягти найнижчого енергетичного стану з максимальною ентропією. Незалежно від того, які параметри використовуються в традиційних фізико-хімічних експериментах –  $kT$  чи  $RT$ , енергія довкілля матиме найнижчий енергетичний рівень, до якого спрямовуються всі фізіологічні системи.

Звичайно, ця енергія вища за енергію глобальної енергії рівноваги навколишнього світу, тому наш організм існує в енергетичному мінімумі, дещо віддаленому від глобальної теплової рівноваги.

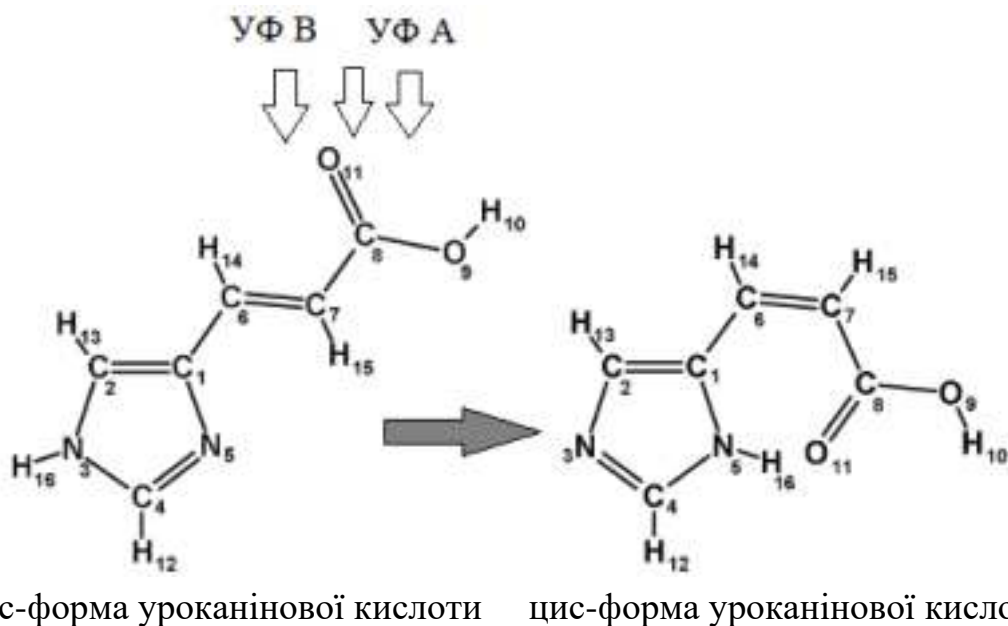


Рисунок 2.1 – Зміна молекулярної структури молекули уроканінової кислоти під дією ультрафіолетового випромінювання типу А й В. Перехід нейтральної транс-форми уроканінової кислоти у функціональну активну цис-форму.

Транс-ізомер має здатність поглинати енергію УФ-випромінювання та захищати молекули ДНК від руйнування

Сукупність молекул у стані рівноваги матиме однакову середню енергію, але кожна індивідуальна молекула в складі молекулярного «ансамблю» відрізнятиметься значенням енергії. Імовірність того, що молекула ( $n_i$ ) перебуває в стані з певною енергією ( $E_i$ ) згідно з розподілом Больцмана, визначається формулою

$$n_i = C \cdot e^{-E_i / kT}, \quad (2.8)$$

де  $C$  – константа нормалізації.

Оскільки експонента у формулі (2.8) є від'ємною, матимемо незначну кількість молекул з енергією, тому що  $E_i$  зростає. Кожна молекула в «ансамблі» перебуває в локальних умовах існування, де постійно відбувається зіткнення з іншими молекулами, що постійно змінюють швидкість руху, а отже, і енергію. Засновник кінетичної теорії газів Джеймс Клерк Максвел (1831–1879), британський фізик, математик і механік, вивів рівняння розподілу молекул за швидкостями, з допомогою якого можна обчислити середні та найбільш імовірні швидкості та енергії молекул.

$$\frac{dn(v)}{n_0 dv} = \frac{4}{\sqrt{\pi}} \left(\frac{m}{2kT}\right)^{3/2} v^2 e^{-mv^2/2kT}, \quad (2.9)$$

де  $\frac{dn}{n_0}$  – частина молекул із певним діапазоном швидкостей ( $dv$ );

$\frac{mv^2}{2}$  – кінетична енергія, поділена на  $kT$ .

Молекули в стані рівноваги мають лише кінетичну енергію, тому кінетичну енергію молекул можна записати як

$$E_m = \frac{mv^2}{2}. \quad (2.10)$$

Рівняння розподілу молекул за швидкостями Максвела може бути модифіковано для отримання рівняння розподілу молекул за значеннями кінетичної енергії. Для цього необхідно помножити неекспоненційну частину

рівняння (2.9) на  $\frac{2}{m} \cdot \frac{m}{2}$  та замінити  $\frac{mv^2}{2}$  на  $E_m$ .

$$\frac{dn(E)}{n_0 dE} = \frac{8}{m\sqrt{\pi}} \left(\frac{m}{2kT}\right)^{3/2} E_m e^{E_m/kT}. \quad (2.11)$$

Розподіл молекул за швидкостями Максвела показано штриховою лінією (рис. 2.2).

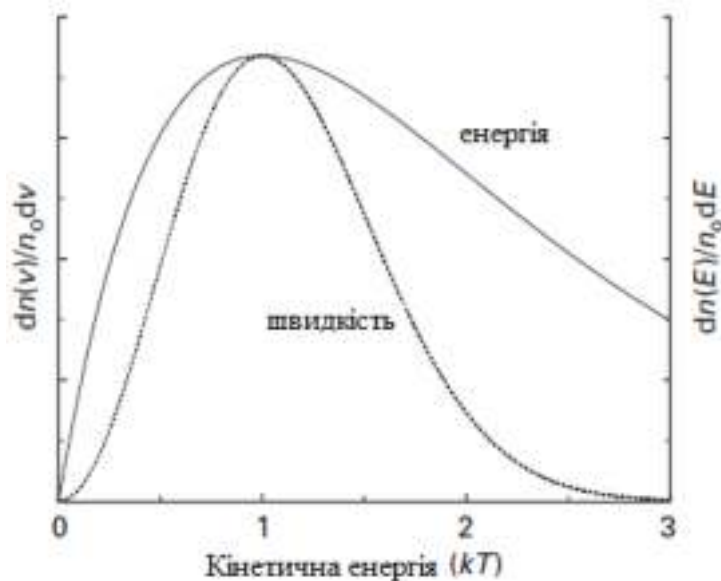


Рисунок 2.2 – Розподіл молекул за значеннями кінетичної енергії та швидкостями в стані рівноваги. По осі абсцис позначено кінетичну енергію в одиницях  $kT$  щодо енергії навколишнього середовища. Пік кривої розподілу

молекул за швидкостями досягається, коли  $\frac{mv^2}{2kT} = 1$ . Пік кривої розподілу

молекул за значеннями кінетичної енергії за умови  $\frac{E_m}{kT} = 1$

Важливою концепцією є те, що навіть у стані рівноваги молекулам притаманний розподіл енергії, хоча не всі вони мають однакову енергію. Діапазон розподілу енергії визначатиметься фізичними умовами, що оточують певну молекулу. У разі, коли маса молекули незмінна, її швидкість залежатиме від молекулярної взаємодії з навколишніми молекулами й, отже, змінюватиметься розподіл молекул за кінетичною енергією. З огляду на рис. 2.2 розподіл молекул за значеннями кінетичної енергії є далеким від нормального.

## 2.4 Енергія молекулярної взаємодії

Енергія, асоційована з кожним атомом і кожним хімічним зв'язком, не є безперервною, вона має дискретний квантовий характер, що базується на електронних оболонках у складі електронної хмари навколо ядра атома. Термін «електронна хмара» використовується для унаочнення розподілу електронів на молекулярних чи атомних орбіталях, та є ділянкою, де перебування електрона є найімовірнішим. Як показав Л. Больцман, для кожного атома чи молекули найбільш вигідною конформацією є конформація саме з квантовим розподілом енергії та з найменшою енергією. У середині кожного кванта існують незначні варіації теплового руху, і, хоча в молекулі не кожен зв'язок визначається найменшою енергією, загалом молекула намагатиметься досягти мінімальної енергії способом пошуку цієї енергії із значної кількості можливих молекулярних конформацій, створених силами притягання (ядро-електрони) та відштовхування (ядро-ядро, електроні-електрони), що призведе до зміни валентних кутів і енергії в хімічних зв'язках. Звісно, що більша молекула, то більше існує можливих конформацій та енергетичних рівнів. Саме завдяки цьому розподіл енергії в молекулі здається безперервним (рис. 2.2). Водночас для фосфоресцентних, флуоресцентних систем і для молекул, у яких певні хімічні зв'язки чутливі до певних частот електромагнітного спектра, можливе збурення електрона й перехід його на вищий енергетичний рівень.

Теплову енергію молекул необхідно відрізнити від хімічної енергії молекул. Усі молекули, незалежно від хімічної будови, матимуть однакову теплову енергію  $kT$ . Зв'язок, що утворюється між атомами однакових або різних елементів для досягнення енергетично стабільного стану, називається хімічним зв'язком. У молекулах із різною хімічною структурою міститься різна кількість енергії, що вивільняється в процесі утворення хімічного зв'язку. Що більша кількість енергії виділяється, то міцнішим буде

зв'язок і коротша довжина цього зв'язку. Довжина зв'язку – це відстань, на якій сили притягання та відштовхування між атомами урівноважуються й система досягає мінімального енергетичного стану. Для кожного з цих зв'язків властива своя енергія дисоціації, або енергія розриву хімічного зв'язку. Хімічний зв'язок, що утворюється способом узагальнення електронної пари, називається ковалентним, а число утворених електронних пар (хімічних зв'язків) – ковалентністю. Невід'ємною частиною біологічних молекул є ковалентний зв'язок між атомами; значення енергії дисоціації для ковалентного зв'язку наведене в табл. 2.1.

Молярна енергія рівноваги  $E_m$  в організмі людини становить 2,58 кДж/моль. Як видно з таблиці 2.1,  $E_m$  набагато нижча за енергію будь-якого ковалентного зв'язку в організмі. Це означає, що статистично малоймовірно, що будь-який ковалентний зв'язок спонтанно розірветься через випадкові теплові коливання навколо нього.

Таблиця 2.1 – Значення енергії дисоціації ковалентних зв'язків за температури 25 °C

| Зв'язок        | Енергія дисоціації (кДж/моль) |
|----------------|-------------------------------|
| C–C            | 344                           |
| C–H            | 415                           |
| C–N            | 292                           |
| C–O            | 350                           |
| N–H            | 391                           |
| O–O            | 143                           |
| O–H            | 463                           |
| O <sub>2</sub> | 498                           |
| C=C            | 615                           |
| C=O            | 725                           |

#### **2.4.1 Механізми поглинання енергії молекулами**

Незважаючи на те, що ковалентним зв'язкам будь-якої фізіологічної системи властива тепла стабільність, деякі з цих зв'язків все ж таки чутливі до енергії, яка надходить із зовнішніх джерел. Тому, коли молекули поглинають енергію, згодом вона вивільняється у вигляді тепла, у цьому разі молекула або повертається до початкової конформації, або, захопивши частину енергії всередині молекули, змінює свою структуру.

У першому випадку в процесі поглинання енергії з навколишнього середовища зміниться хімічна структура молекули та локально підвищиться температура. Молекули в цьому разі набудуть більш високого значення енергії. Якщо збільшення енергії вище за  $kT$ , тоді молекула перейде до стану теплової рівноваги з довкіллям і повернеться до свого основного енергетичного стану. Поглинання світлової енергії білком шкіри – меланіном – є наочним прикладом розвитку подій за механізмом повернення конформації молекули зі збуреного стану до основного (рис. 2.3).

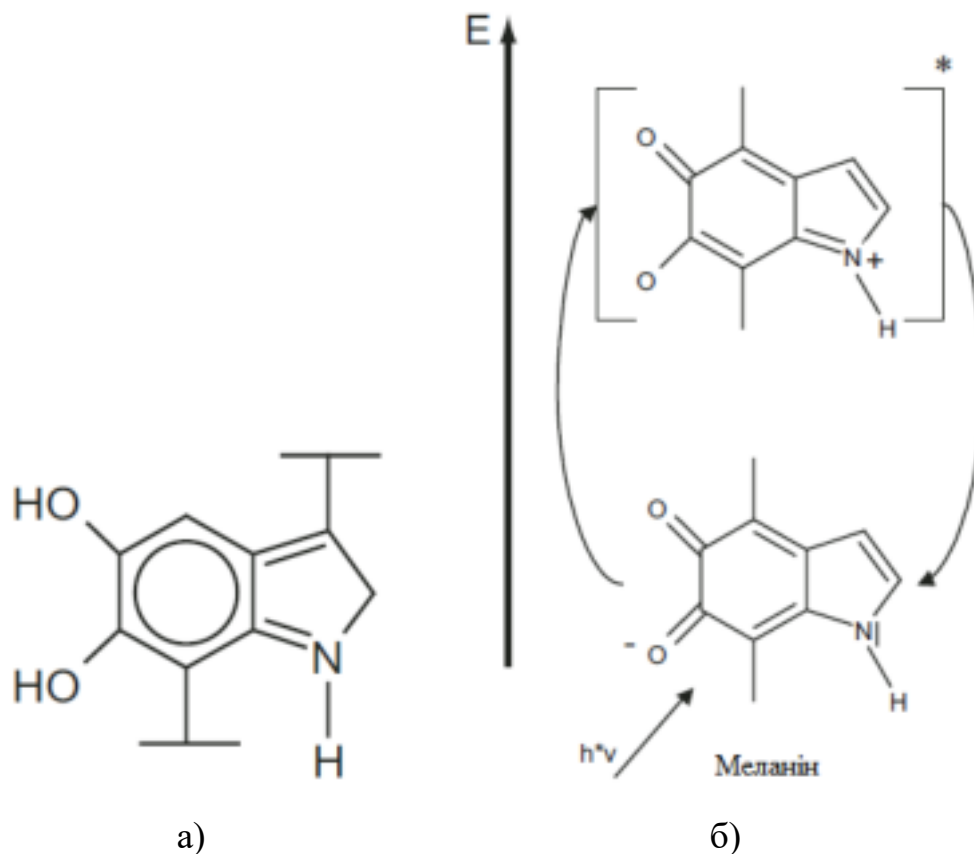


Рисунок 2.3 – Структура 5,6-дигідроксиіндолу, мономеру меланіну (а).

Поглинання ультрафіолетового випромінювання молекулою меланіну переводить її з основного стану в збурений. Вивільнення енергії у вигляді тепла повертає молекулу меланіну зі збуреного стану в основний (б)

Поглинання молекулою зовнішньої енергії зі зміною хімічних зв'язків призводить до зміни хімічної структури молекули, у цьому разі вона матиме свій власний енергетичний мінімум, що відрізняється від початкового (рис. 2.4). Висота енергетичного бар'єра між двома станами визначатиме, чи є ймовірність переходу молекули у свою початкову структуру, чи ні. Що більша висота енергетичного бар'єра, то менш імовірно, що молекула спонтанно

повернуться до початкової хімічної структури через випадкові коливання енергії в навколишньому середовищі. Якщо енергетичний бар'єр менший, ніж  $kT$ , то може відбутися спонтанне відновлення хімічної структури.



Рисунок 2.4 – Зміна хімічної структури внаслідок поглинання енергії молекулою

Рівновага між двома станами молекули визначатиметься основними енергетичними станами. У «вищому» з двох мінімумів у стані рівноваги перебуватиме менша кількість елементів, ніж у «нижчому» мінімумі. Якщо мінімуми розмістяться на одній лінії, це буде означати, що в рівновазі перебувають обидва стани. Поглинання енергії може бути настільки значним, що повернення до початкового стану не відбудеться. У цьому разі молекула поглине значну кількість тепла, що спричинить руйнування її тривимірної структури; це відбувається за умови теплової денатурації білка. Зазначимо, що енергетичний бар'єр між початковим і новим станом настільки суттєвий, що жоден фермент не здатний знизити його, щоб повернути молекулу до початкової конформації (рис. 2.5).

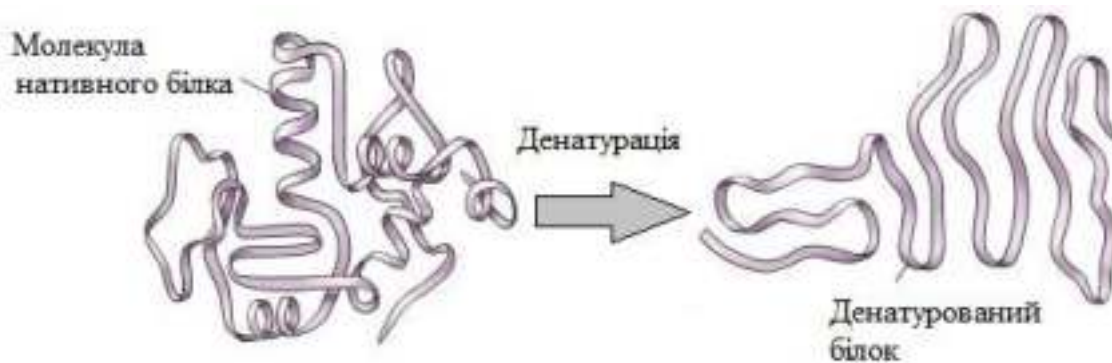


Рисунок 2.5 – Денатурація білка пов'язана з порушенням четвертинної, третинної та вторинної структур, що спричиняє зміни фізико-хімічних і біологічних властивостей білка

Денатурація відбувається під впливом хімічних агентів (мінеральні та органічні кислоти, луки, органічні розчинники, важкі метали, алкалоїди, детергенти) та фізичних факторів (температура, ультразвук, іонізуюча радіація). Енергетичний бар'єр між нативним і денатурованим станом значно перевищує  $kT$ .

#### 2.4.2 Механізми молекулярної трансдукції

З-поміж випадків, коли молекула, змінюючи свою конформацію, може спонтанно перейти до початкового стану, а також коли повернення неможливе через суттєвий енергетичний бар'єр, існують певні зміни у фізіологічній системі, коли перехід молекули в нативний стан забезпечують ферменти. У таких ситуаціях певний хімічний зв'язок молекули реагує на певну довжину хвилі електромагнітного випромінювання, що зумовлено збігом частоти коливань електронів хімічного зв'язку та частоти електромагнітного випромінювання. У цьому разі енергія конкретного зв'язку не є безперервною, їй притаманні певні квантові енергетичні рівні.

Відповідно до гіпотези Планка, найменша порція енергії, яку несе електромагнітне випромінювання, визначається за формулою

$$E = h \cdot \nu, \quad (2.12)$$

де  $E$  – енергія кванта;

$h$  – постійна Планка;  $h \approx 6,63 \cdot 10^{-34}$  Дж·с або (кг·м<sup>2</sup>/с);

$\nu$  – частота коливань.

Енергія кванта електромагнітного випромінювання  $E$  зростатиме зі збільшенням частоти коливань  $\nu$ . Частота електромагнітного випромінювання  $\nu$  обернено пропорційна довжині електромагнітної хвилі  $\lambda$ , водночас їх добуток дорівнює швидкості світла у вакуумі  $c$

$$c = \lambda \cdot \nu, \quad (2.13)$$

де  $c$  – швидкість світла у вакуумі;

$\lambda$  – довжина електромагнітної хвилі;

$\nu$  – частота коливань.

Отже, енергія, частота та довжина хвилі пов'язані між собою. На рис. 2.6 подано електромагнітний спектр від гамма-променів до радіохвиль. Як видно з рисунка, гамма-випромінювання має найвищу частоту та найбільшу енергію; радіохвилі мають найменшу частоту та найменшу енергію випромінювання.

Квантова механіка обмежує стани електронів. За принципом унеможливлення Паулі два електрони не можуть мати однакові квантово-механічні стани в одному атомі чи в одній молекулі, тобто жодна пара

електронів в атомі не може мати однакові електронні квантові числа. Крім того, цей принцип також пояснює існування різних атомів у періодичній таблиці Менделєєва. Наприклад, коли атом отримує новий електрон, він завжди потрапляє на найнижчий із доступних енергетичних рівнів (найбільш віддалену від ядра орбіталь). Два атоми із «закритими» оболонками не можуть створити хімічний зв'язок один з одним через те, що електрони одного атома не знаходять доступних квантових станів, які вони могли б зайняти в іншому атомі. Отже, порядок електронів, а саме електронів на найвіддаленішій орбіталі, також впливає на хімічні властивості елемента та здатність атомів до взаємодії з іншими атомами, а отже, і на те, як взаємодіють молекули під час формування газів, рідин або твердих тіл, і на те, як вони об'єднуються в живих організмах.

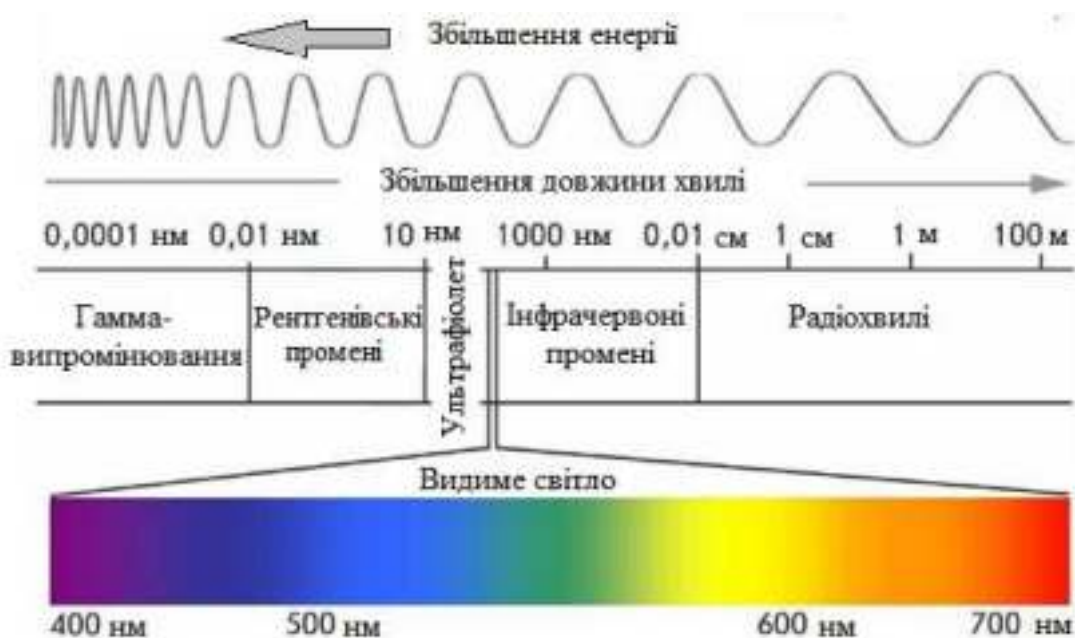


Рисунок 2.6 – Електромагнітний спектр. Енергія електромагнітної хвилі прямо пропорційна частоті й обернено пропорційна довжині хвилі

Основним станом електрона є синглетний  $S_0$  стан, фотон може збудити електрон до синглетного  $S_1$  стану (рис. 2.7).

Принцип унеможливлення Паулі – один із найважливіших у квантовій фізиці здебільшого через те, що всі три типи частинок, з яких складається вся звичайна матерія (електрони, протони й нейтрони), підкоряються йому. Однак цікаво, що цей принцип не підтримується жодними фізичними силами, відомими науці. Коли електрон входить в іон, він якимось чином вже «знає» квантові числа електронів, що містяться там, тобто знає, які атомні орбіталі він може зайняти, а які ні.

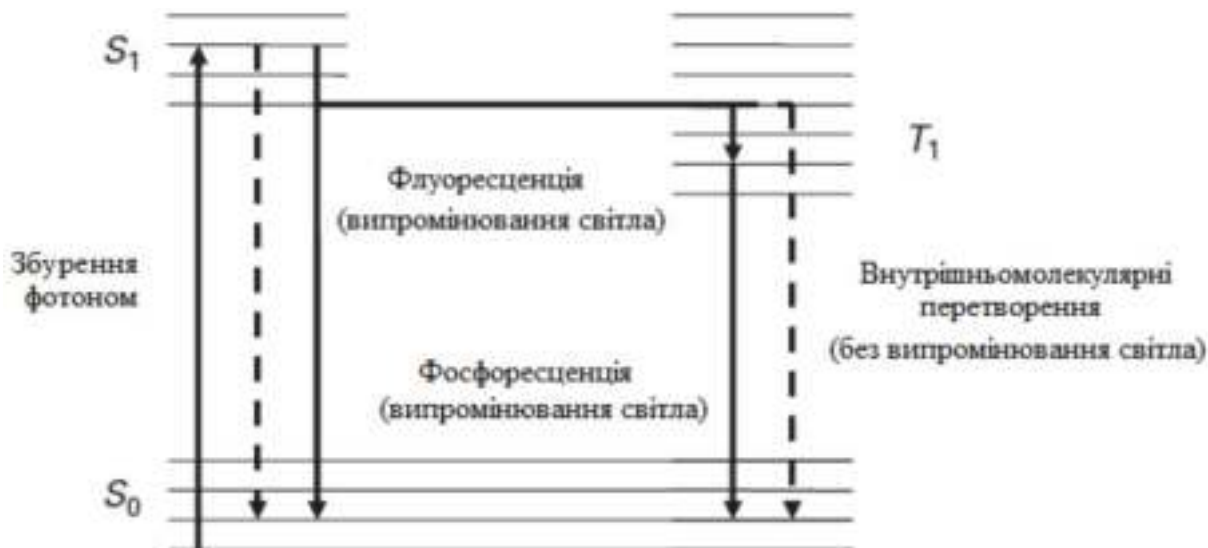


Рисунок 2.7 – На рівні одного атома різні квантові стани ( $S_0$ ,  $S_1$ ,  $T_1$ ) мають теплові варіації на кожному квантовому рівні (горизонтальні паралельні лінії). Флуоресценція та фосфоресценція мають незначну роль у фізіології людини.

Внутрішньо-молекулярні перетворення відбуваються в процесі фототрансдукції, а також впливають на ультрафіолет і рентгенівське випромінювання

Електрон здатний спонтанно вивільняти енергію у вигляді фотона світла – це явище відоме як флуоресценція. Може відбутися енергетичний перехід у сусідній триплетний стан  $T_1$ , з якого фотон світла може вивільнятися з різною частотою – це фосфоресценція. За часовими характеристиками флуоресцентне випромінювання ( $10^{-9}$  до  $10^{-5}$  с) є швидшим за фосфоресцентне ( $> 10^{-5}$  с) унаслідок більшої стабільності стану  $T_1$ . Хоча обидва механізми притаманні фізіологічним системам і незліченна кількість лабораторних методів використовують і флуоресценцію, і фосфоресценцію для вивчення біологічних молекул, але вони не відіграють значної ролі в біофізичних системах.

Третій спосіб вивільнення енергії електроном відбувається без випромінювання світла (позначено пунктирними лініями на рис. 2.7). У цьому разі частина енергії залишається всередині молекули та змінює її структуру. Прикладом цього є поглинання світла молекулою родопсину та конформаційні зміни молекули ретиналю (рис. 2.8).

Під впливом світла з максимальною поглинальною здатністю на довжині хвилі 500 нм 11-цис-форма ретиналю сітківки ока поглинає достатню кількість енергії для перетворення у транс-форму. Транс-форма частково дисоціює від опсинової частини родопсину, викликаючи каскад реакцій фототрансдукції. Транс-ретиналь не здатний спонтанно повернутися до 11-цис-форми, що свідчить про наявність енергетичного бар'єра між цис- і транс-формами,

тому що енергетичний бар'єр перевищує енергію навколишнього середовища  $kT$ . Лише присутність ферменту ізомерази сітківки дає змогу переходити транс-ретиною до 11-цис-ретиною. Оскільки в стані рівноваги довше перебуває 11-цис-форма, вона повинна мати менший енергетичний мінімум, ніж транс-форма.

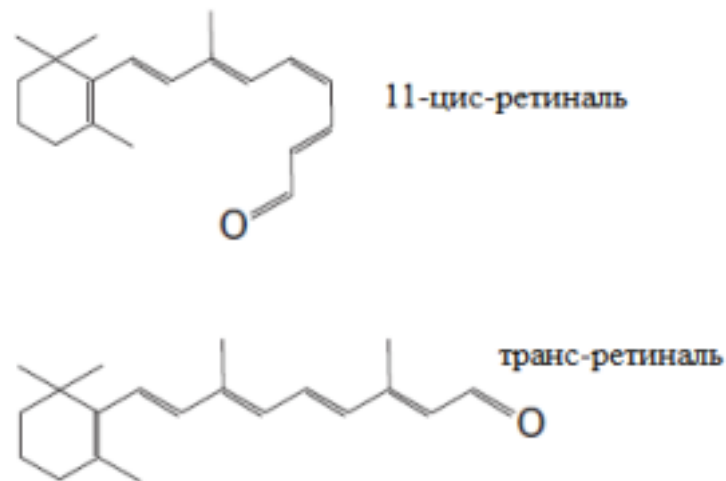


Рисунок 2.8 – Структурні форми ретиною

ДНК особливо чутлива до УФ-випромінювання *B* типу (УФ-В). Під впливом випромінювання довжиною хвилі 280–315 нм можуть утворюватися піримідинові містки між тимін – тиміном та тимін – цитозином. Ці мутації в ДНК виправляються ферментативно, аналогічно до відновлення структури молекули ретиною сітківки ока. В обох ситуаціях продукти поглинання енергії (ретиною, ДНК) втрачають свою фізіологічну функцію – здатність поглинати світло або передавати генетичну інформацію (рис. 2.9). Хоча внаслідок еволюції ферментативних систем функціональна активність молекул може відновлюватися й набувати початкових функціональних станів.

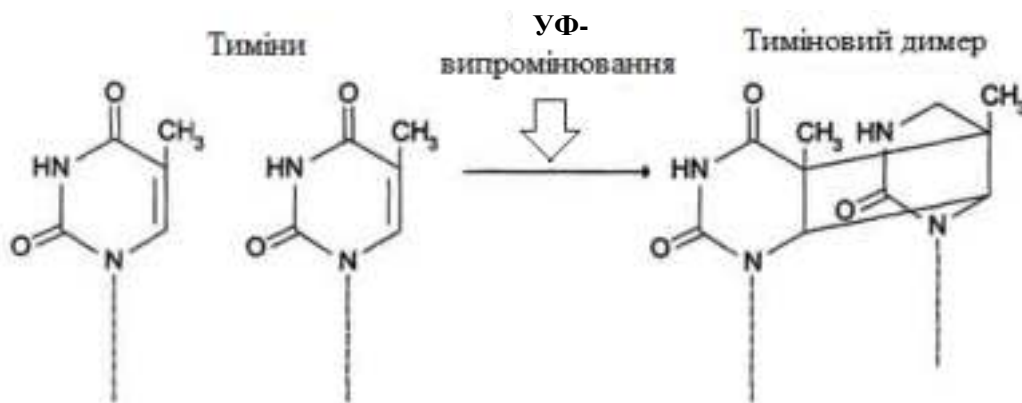


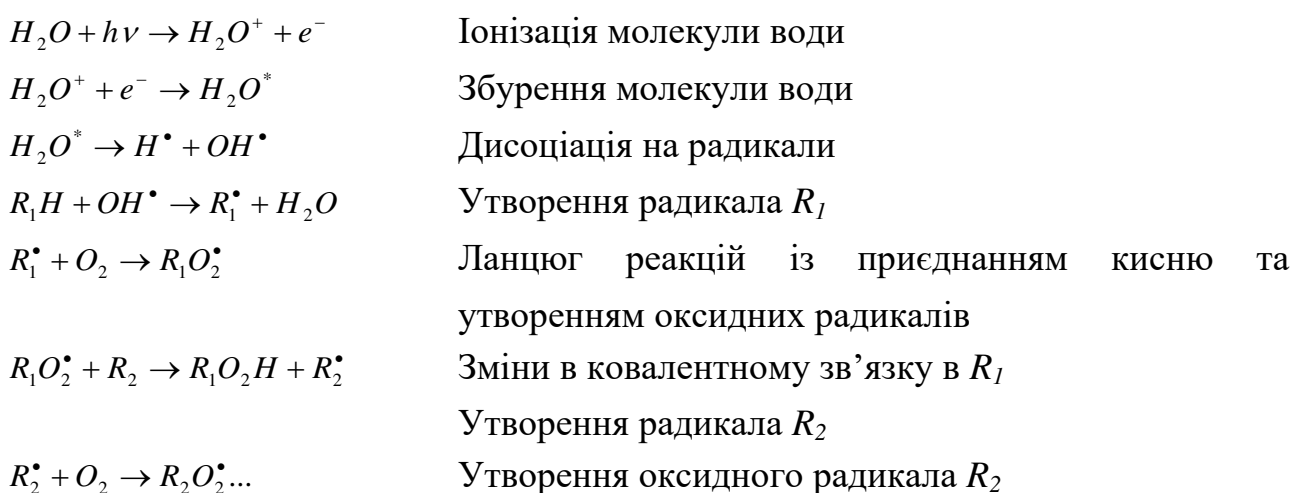
Рисунок 2.9 – Молекулярні пошкодження ДНК – утворення тимін-тимінових димерів під впливом УФ-випромінювання *B* типу

### 2.4.3 Вплив іонізуючого випромінювання на біологічні системи

Пошкодження ДНК може відбуватися під впливом рентгенівських променів, довжини хвиль яких набагато коротші за довжини хвиль видимого діапазону та УФ-В-випромінювання. Рентгенівське випромінювання є іонізуючим, тобто воно приводить до іонізації та збурення атомів і молекул.

Рентгенівські промені мають велику енергію – десятки й сотні кілоелектронвольт. Попри те, що вони слабо взаємодіють із речовиною, така взаємодія все ж існує, і в процесі поглинання рентгенівського випромінювання вивільняється значна кількість енергії, що може призвести до безповоротних пошкоджень у клітині живого організму. Тому рентгенівські промені небезпечні й робота з ними потребує особливої уваги. Користь рентгенівського випромінювання для медичної діагностики полягає в здатності рентгенівських променів взаємодіяти з тканиною: якби не було взаємодії, усі рентгенівські промені, що надходять від джерела рентгенівського випромінювання, рівномірно проходили б крізь тканину, а рентгенівська плівка не мала б контрасту.

Кожна молекула має свою енергію іонізації: у випадку води ця енергія становить 1200 кДж/моль, що в 100–1000 разів менша, ніж енергія рентгенівського випромінювання. Взаємодія рентгенівського випромінювання з молекулами води сприятиме їх іонізації. Зі свого боку іонізація молекул води утворюватиме вільні радикали, що є продуктом іонізуючого випромінювання. Іонізація води – це перша реакція в ланцюзі послідовних реакцій, що ведуть до утворення вільних радикалів.



Присутність кисню в середовищі суттєво подовжує руйнівну силу рентгенівського випромінювання з утворенням вільних радикалів. Кожен органічний радикал  $R_1$ ,  $R_2\dots$  має ковалентну структуру, яка постійно змінюється, що призводить до порушення функції молекули. Сутність ланцюгової реакції утворення вільних радикалів полягає в поступовому

знищенні значної кількості молекул і загибелі клітини. Це є бажаним результатом у терапії ракової патології, але зовсім неприпустимо для функціонально здорової тканини. Зі свого боку молекули антиоксидантів, такі як вітамін С, можуть зупинити цей ланцюг реакцій з утворенням  $H_2O$ ,  $H_2$  та перекису водню  $H_2O_2$ . Відомо, що молекула  $H_2O_2$ , хоча і є руйнівною, але завдяки ферменту пероксисом – каталазі – вона перетворюється на  $H_2O$  та  $O_2$ , і цикл руйнування припиняється.

#### 2.4.4 Трансдукція звукового сигналу

На відміну від електромагнітного випромінювання, для поширення звукових хвиль необхідне середовище. Частота звукової хвилі – це її висота, а амплітуда звукової хвилі – її гучність. Звукові хвилі здатні викликати періодичні стиснення різних середовищ, зокрема повітря, рідини або твердої структури, які є складниками цілісної системи звукової трансдукції вуха людини. Перш ніж перетворитися на електричні сигнали звукові хвилі надходять крізь повітряне середовище зовнішнього вуха та мембрану барабанної перетинки до твердих структур – кісток середнього вуха та овального вікна, а потім далі крізь рідину на базилярну мембрану внутрішнього вуха.

Співвідношення між швидкістю звуку в середовищі  $c$ , частотою звукової хвилі  $\nu$  та довжиною звукової хвилі  $\lambda$ :

$$c = \nu \cdot \lambda, \quad (2.14)$$

де  $c$  – швидкість звуку в середовищі;

$\lambda$  – довжина звукової хвилі;

$\nu$  – частота звукової хвилі.

Швидкість проходження звуку крізь різні середовища не однакова: крізь тверде середовище звук поширюється швидше, ніж крізь рідину; крізь рідину звук поширюється швидше, ніж крізь повітря. Крім того, фізичні властивості середовища, наприклад, густина матеріалу або вологість повітря, можуть змінювати швидкість поширення звуку.

Взаємозв'язок між швидкістю звуку  $c$ , жорсткістю середовища  $K$  та густиною середовища  $\rho$ :

$$c = \sqrt{\frac{K}{\rho}}, \quad (2.15)$$

де  $c$  – швидкість звуку;

$K$  – жорсткість середовища;

$\rho$  – густина середовища.

Жорсткість середовища – це здатність середовища чинити опір утворенню деформацій. Саме для твердого середовища «жорсткість» є однією з важливих характеристик, оскільки з віком зміна жорсткості кісток середнього вуха, потовщення овального вікна та базилярної мембрани призводять до поступової втрати здатності сприймати звук високої частоти та слуху загалом.

Звук має хвильове походження. Визначається частотою, інтенсивністю, тиском, потужністю. Як звук людина сприймає вухом коливання в діапазоні частот 16–20000 Гц. Коливання, які не сприймаються вухом, з частотою 16 Гц, називаються інфразвуком, а коливання понад 20 000 Гц – ультразвуком.

Інтенсивність звуку – це середній потік енергії, яку переносить звукова хвиля за одиницю часу, віднесений до одиниці площі поверхні, перпендикулярної до напрямку поширення звукової хвилі. Слуховий апарат людини сприймає звук завдяки коливанням тиску, викликаним звуковою хвилею.

Звуковий тиск – це різниця між миттєвим значенням повного тиску, що створює звукова хвиля, та середнім тиском за відсутності звукових хвиль. Інтенсивність звуку та звуковий тиск пов'язані співвідношенням

$$I = \frac{P^2}{\rho \cdot c}, \quad (2.16)$$

де  $I$  – інтенсивність звуку, Вт/м<sup>2</sup>;

$P$  – звуковий тиск, Па;

$\rho$  – густина середовища, кг/м<sup>3</sup>;

$c$  – швидкість поширення звукової хвилі, м/с.

Оскільки людина сприймає звуки в достатньо великому діапазоні інтенсивності звуку й звукового тиску, то користуватися для оцінювання звуку абсолютними їх значеннями незручно. До того ж вухо людини здатне реагувати на відносну зміну цих параметрів, а не на абсолютну. Тому прийнято оцінювати інтенсивність звуку та звуковий тиск щодо значень порога чутливості у відносних логарифмічних одиницях – децибелах (дБ). Мінімальна величина звукового тиску та інтенсивності, яка відчувається органами слуху людини, називається порогом чутливості. Виміряні таким чином величини називаються рівнями інтенсивності.

Рівень інтенсивності звуку  $L_I$ , дБ, визначається так:

$$L_I = 10 \cdot \lg\left(\frac{I}{I_0}\right), \quad (2.17)$$

де  $I$  – інтенсивність звуку, Вт/м<sup>2</sup>;

$I_0$  – інтенсивність звуку порога чутливості, Вт/м<sup>2</sup>.

Рівень звукового тиску  $L_p$ , дБ:

$$L_p = 20 \cdot \lg\left(\frac{P}{P_0}\right), \quad (2.18)$$

де  $P$  – звуковий тиск, Па;

$P_0$  – звуковий тиск порога чутливості, Па.

Перш ніж досягнути внутрішнього вуха, звукові коливання проходять крізь зовнішнє й середнє вуха. Зовнішнє вуха слугує переважно для вловлювання звукових коливань, підтримання сталості вологості й температури барабанної перетинки (рис. 2.10).

За барабанною перетинкою починається порожнина середнього вуха, з іншого кінця закрита перетинкою овального отвору. Заповнена повітрям порожнина середнього вуха з'єднується з порожниною носоглотки за допомогою слухової (евстахієвої) труби, що слугує для вирівнювання тиску обабіч барабанної перетинки.

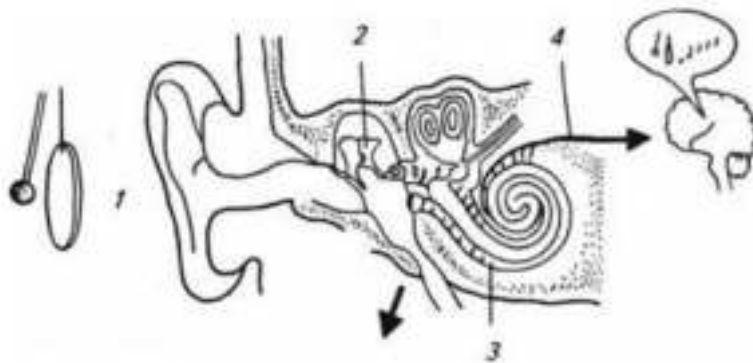


Рисунок 2.10 – Схема будови вуха, передача звукового сигналу:

- 1 – повітряна передача; 2 – механічна передача;  
3 – рідинна передача; 4 – електрична передача

Барабанна перетинка, сприймаючи звукові коливання, передає їх на систему розташованих у середньому вусі кісточок (молоточок, коваделка і стремінець). Кісточочки не лише відправляють коливання на мембрану овального отвору, а й посилюють коливання звукової хвилі. Це відбувається внаслідок того, що спочатку коливання передаються довшому важелю, утвореному рукояткою молоточка й відростком коваделка. Цьому ж сприяє і розходження поверхонь стремінця й барабанної перетинки. Остання обставина приблизно у 22 рази посилює тиск звукової хвилі на барабанну перетинку. Але за умови посилення коливання барабанної перетинки знижується амплітуда хвилі. Зазначені вище й подальші структури, які передають звук, створюють надзвичайно високу чутливість слухового аналізатора.

## 2.5 Методи діагностики та візуалізації клітинних сигналів

### 2.5.1 Комп'ютерна томографія

Комп'ютерна томографія – це високоінформативний метод променевої діагностики патологічних станів у разі неврологічних, судинних, онкологічних, кардіологічних і хірургічних захворювань, в основі якого лежить рентгенівське випромінювання. Рентгенодіагностика забезпечує пошарове рентгенологічне дослідження, основане на комп'ютерній реконструкції зображення та отримується в процесі кругового сканування об'єкта вузьким пучком рентгенівських променів. Фізична природа процесу томографування полягає в тому, що промінь сканує тіло людини по окружності. На іншому боці рентгенівської трубки в декілька рядів встановлено систему твердотільних датчиків у кількості до кількох тисяч (рис. 2.11).

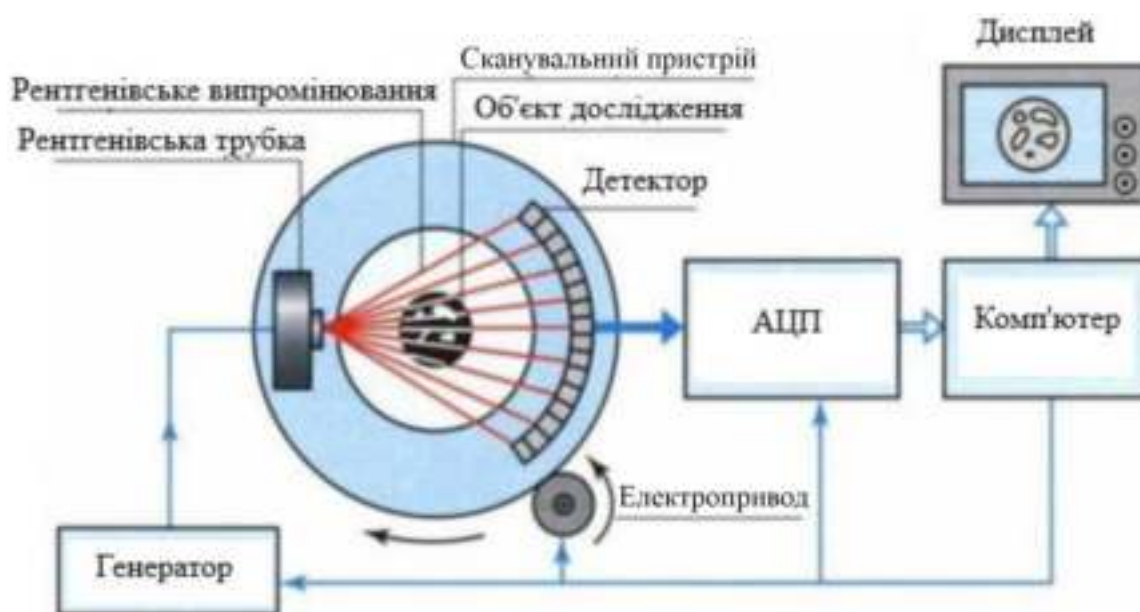


Рисунок 2.11 – Принцип КТ-сканування та схема роботи КТ-системи

Датчики здатні фіксувати змінені кількісні характеристики променів і відтворювати ступінь ослаблення пучка. Обертаючись навколо тіла людини, рентгенівський промінь сканує його під різними кутами. До кінця обертання випромінювача в пам'яті комп'ютера зберігаються зафіксовані сигнали всіх датчиків. Накопичена інформація у вигляді масиву даних обробляється на комп'ютері та візуалізується у вигляді графічного зображення зрізу, що складається з кількох десятків тисяч світлових точок, яскравість яких пропорційна щільності тканин, крізь які проходив пучок випромінювання. У цьому разі комп'ютером обчислюється коефіцієнт ослаблення променів,

або коефіцієнт поглинання тканин, що виражається в одиницях Хаунсфілда (*Hounsfield Units, HU*), для кожної точки зображення. Ця величина показує, наскільки біологічна тканина здатна поглинати або послаблювати рентгенівські промені. Кістка поглинає рентгенівські промені сильніше порівняно з іншими тканинами і має найбільший коефіцієнт поглинання – +800–+3000 HU. Повітря практично не поглинає промені та має найменший коефіцієнт поглинання -1000 HU.

Здатність тканин поглинати рентгенівські промені прямо пов'язана з їх щільністю, що також може вимірюватися в одиницях Хаунсфілда. Отже, якщо за нульову величину щільності прийнята щільність води за умови щільності кістки +1000 HU і щільності повітря -1000 HU, тоді ця шкала також буде називатися шкалою Хаунсфілда. Відповідно до цієї шкали весь діапазон щільностей тіла людини налічує 2000 одиниць: від -1000 до +1000. У сучасних КТ-дослідженнях зображення щільностей коливається від -1000 до +3000 HU. Тобто що більша щільність тканин, то сильніше вона поглинає випромінювання і світлішою ця тканина є на екрані: кістка біла, повітря чорне. Отже, нормальні й патологічні утворення розрізняють за градаціями переходу від чорного до білого кольору (рис. 2.12).

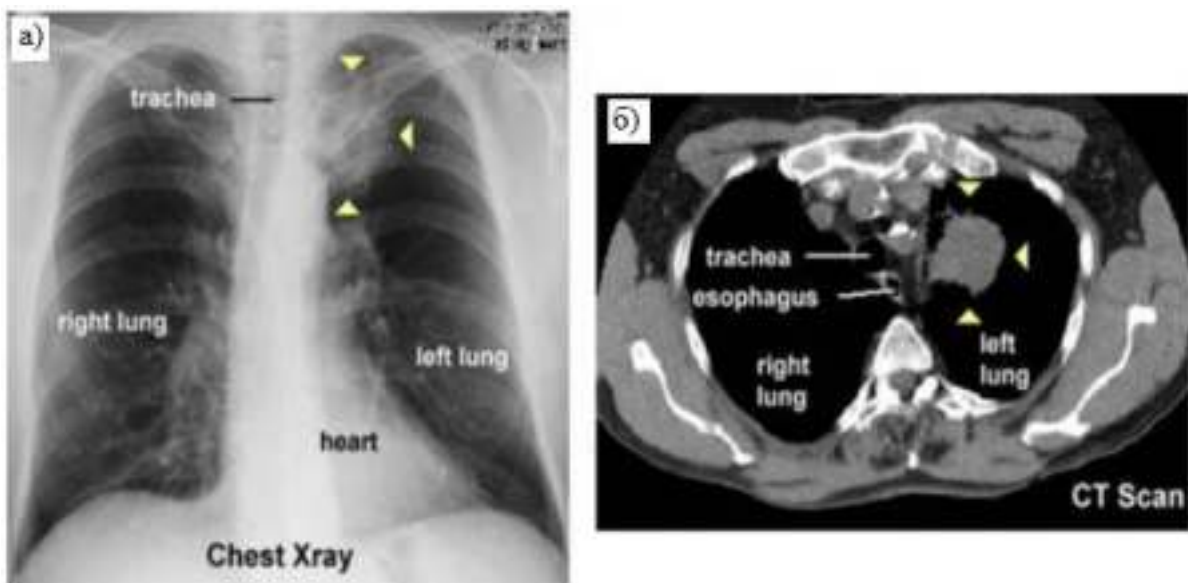


Рисунок 2.12 – Рентгендіагностика (а) та КТ-сканування грудної клітки (б); розташування пухлини в лівій легені

### **2.5.2 Магнітно-резонансна томографія**

Магнітно-резонансна томографія (МРТ) є сучасною технологією дослідження та візуалізації внутрішніх органів і тканин організму. Метод оснований на вимірюванні електромагнітного відгуку атомних ядер, найчастіше

ядер атомів водню, а саме на їх збуренні за допомогою певної комбінації електромагнітних хвиль у сталому магнітному полі високої напруги (рис. 2.13).

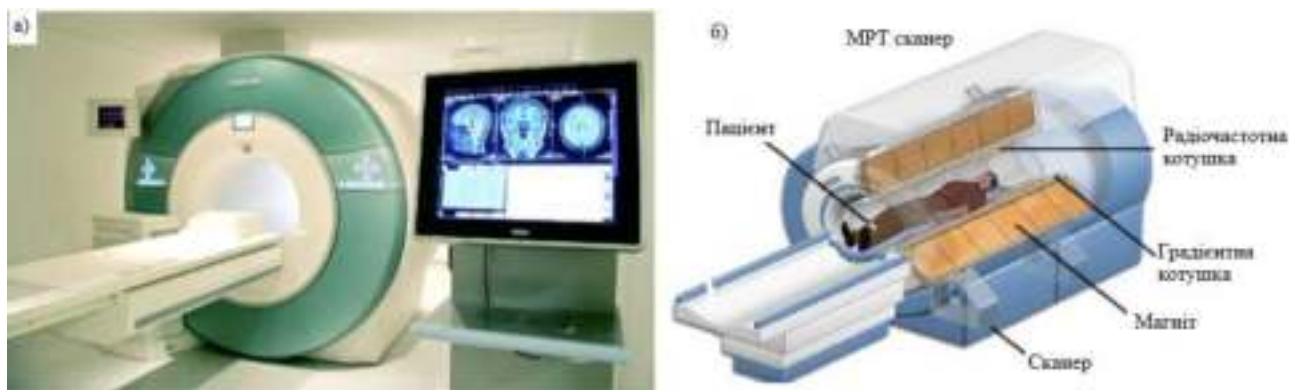


Рисунок 2.13 – Магнітно-резонансний томограф (а);  
принцип дії магнітно-резонансного томографа (б)

Трьома основними компонентами магнітно-резонансного томографа є кільцеподібний магніт, що генерує постійне магнітне поле високої напруженості; радіочастотна котушка, здатна генерувати та приймати радіочастотні імпульси; блок оброблення інформації.

Основою явища ядерного-магнітного резонансу (ЯМР) є магнітні властивості ядер деяких елементів. Метод ЯМР ґрунтується на дослідженні насиченості тканин організму воднем та іншими елементами, а також їх магнітних властивостей, пов'язаних із перебуванням в оточенні різних атомів і молекул. Наприклад, ядро водню містить один протон, що має магнітний момент (спін) і змінює свою просторову орієнтацію в потужному магнітному полі. Також зміна просторової орієнтації відбувається через вплив додаткових (градієнтних) полів на протон та вплив зовнішніх радіочастотних імпульсів, які подаються на особливій резонансній частоті для цього протона в цьому магнітному полі. На основі параметрів протона (спінів), що можуть перебувати тільки у двох протилежних фазах, а також їх прив'язаності до магнітного моменту протона, можна встановити, у яких саме тканинах міститься атом водню.

Отже, для магнітного ядра зі спіном  $\frac{1}{2}$  притаманні лише два стани, або два енергетичні рівні. У магнітному полі відбувається розділення цих рівнів так, що енергетична відстань між ним дорівнює:

$$\Delta E = \gamma \cdot h \cdot B_0, \quad (2.19)$$

де  $\gamma$  – гідродинамічне співвідношення ядра;

$h$  – постійна Планка;

$B_0$  – напруга магнітного поля.

Нижній з двох рівнів має меншу енергію, відповідно, він «більш» вигідний, і перебування частинки на нижньому енергетичному рівні ймовірніше. Розподіл ядер підлягає розподілу Больцмана. Тому що сильніша різниця енергій між рівнями, то більша різниця в «заселеності» рівнів. Збільшення напруги магнітного поля призведе до збільшення різниці в «заселеності», тобто числа ядер, що поляризуються магнітним полем, а отже, до збільшення інтенсивності сигналу ЯМР. Важливими характеристиками ЯМР-сигналу є часи релаксації:  $T_1$  – поздовжня релаксація, яка відтворює швидкість передачі надмірної енергії іншим ступеням свободи системи (оточенню ядра) і визначається взаємодією з довкіллям;  $T_2$  – час спін-спінової, або поперечної, релаксації, яка відтворює поведінку всього спінового «ансамблю» й не змінює енергію ядерних спінів. Метод МРТ дає змогу проводити на сучасному діагностичному рівні розширені кардіологічні, ангіографічні дослідження будь-яких судин, детально візуалізувати та оцінювати особливості будови камер серця й судин, вивчати структури міокарда (рис. 2.14).

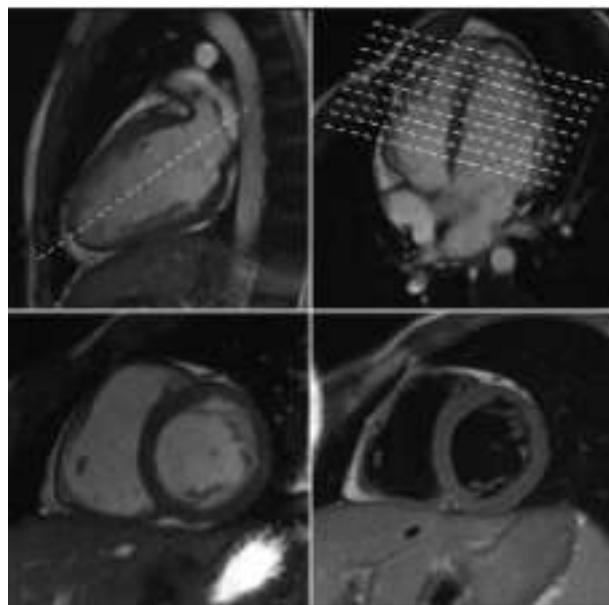


Рисунок 2.14 – Ортогональні проєкції сканування серця й відповідні їм МРТ-зрізи

У разі МРТ-досліджень отримання тривимірного зображення камер серця та його структур є обов'язковою вимогою для належної інтерпретації зображень. Метод МРТ дає змогу отримувати візуалізацію серця в будь-якій площині, водночас мультипланарні зображення забезпечують інтерпретацію з істинними вимірами, на яких серцево-судинні структури можуть бути детально визначені.

### 2.5.3 Позитронно-емісійна томографія

Позитронно-емісійна томографія (ПЕТ-сканування) – це метод ядерної медичної візуалізації для кількісного вимірювання *in vivo* фізіологічних параметрів і метаболічних змін. ПЕТ дає змогу відстежувати розподіл в організмі біологічно активних сполук, позначених позитрон-випромінювальними радіоізотопами, та виявляти біохімічні зміни в органі або тканині на початку захворювання до того, як анатомічні зміни, пов'язані з хворобою, можна побачити за допомогою комп'ютерної томографії або магнітно-резонансної томографії. ПЕТ є методом радіоізотопної діагностики, який ефективний для виявлення патологій нейрологічної, кардіологічної та онкологічної природи. ПЕТ оснований на застосуванні фармпрепаратів, позначених ізотопами (радіофармацевтичних препаратів), що містять радіонукліди з малими періодами напіврозпаду:  $^{11}\text{C}$ -вуглець (період напіврозпаду  $T_{1/2}$  становить 20,4 хв),  $^{13}\text{N}$ -азот ( $T_{1/2} = 10$  хв),  $^{15}\text{O}$ -кисень ( $T_{1/2} = 2,03$  хв),  $^{18}\text{F}$ -фтор ( $T_{1/2} = 110$  хв), які і є випромінювачами позитронів.

В основі методу ПЕТ лежить реєстрація пари  $\gamma$ -квантів, що виникають у процесі анігіляції електронів і позитронів. Під час анігіляції, тобто реакції взаємознищення за умови зіткнення електрона та позитрона, пара «позитрон – електрон» зникає, утворюючи два  $\gamma$ -кванти, що розлітаються в протилежних напрямках. Кожний із цих квантів має енергію 511 кеВ. Ці два кванти реєструються двома протилежно розташованими датчиками, розміщеними в кілька рядів кільцем діаметра 45–65 см. Сприйняте височастотне електромагнітне випромінювання ( $\gamma$ -кванти) перетворюється на цифровий код, що обробляється на комп'ютері (рис. 2.15).

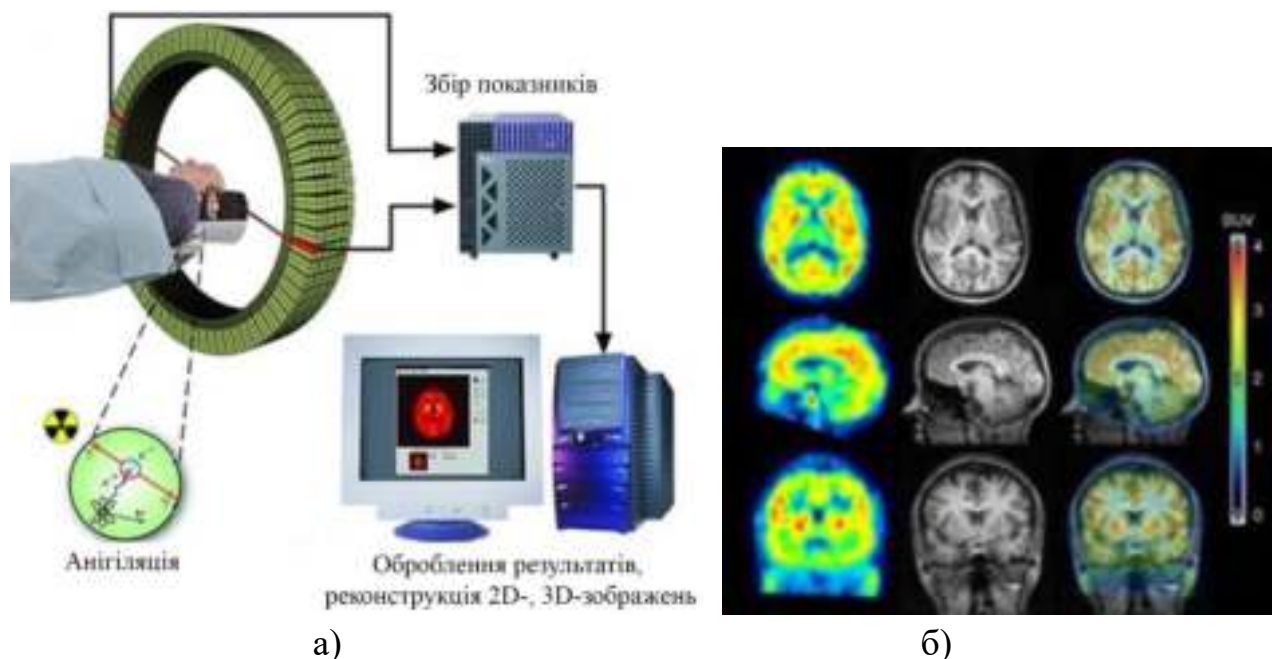


Рисунок 2.15 – Принцип роботи ПЕТ (а). ПЕТ різних ділянок головного мозку (б)

## 2.6 Контрольні запитання та завдання

1. Визначення вільної енергії. Поясніть, як вона залежить від ентальпії та ентропії системи?
2. У якому напрямку змінюється вільна енергія під час переходу системи до стану рівноваги?
3. Чи може в процесі переходу до стану рівноваги зростати ентальпія системи? За якої умови? Чи може збільшитися ступінь упорядкованості під час переходу до рівноважного стану?
4. Які загальні принципи розподілу енергії в біофізичній системі?
5. Перший закон термодинаміки.
6. Другий закон термодинаміки.
7. Які форми існування енергії в біофізичних системах?
8. Розподіл молекул за значеннями кінетичної енергії в стані рівноваги.
9. Теплова та хімічна енергія молекул.
10. Що таке ковалентний зв'язок і які основні властивості йому притаманні? З допомогою чого полімерний ланцюг може змінити свою конформацію?
11. Механізми поглинання енергії молекулами.
12. Що таке енергетичний бар'єр?
13. Флуоресценція та фосфоресценція.
14. Особливості впливу іонізуючого випромінювання на біологічні системи.
15. Вплив іонізуючого випромінювання на молекули нуклеїнових кислот.
16. Радіоліз води.
17. Особливості трансдукції звукового сигналу.
18. Поясніть особливості візуалізації клітинних відгуків за допомогою методу магнітно-резонансної томографії.
19. Ефективність реєстрації патологічних станів методом комп'ютерної томографії.
20. Біофізичні основи позитронно-емісійної томографії в діагностичному алгоритмі різних захворювань.

### 3 МОЛЕКУЛЯРНА ВЗАЄМОДІЯ В МАКРОМОЛЕКУЛАХ

Первинна структура, або основна послідовність елементів полімерного ланцюга (амінокислоти в білковому ланцюзі, нуклеотиди в ланцюзі нуклеїнових кислот), визначається ковалентними взаємодіями. Крім цього, між молекулами діють слабкі нековалентні сили, що приводять до притягання молекул на більших відстанях та до відштовхування на малих відстанях. Типову залежність потенційної енергії взаємодії  $U(r)$  двох молекул від відстані ( $r$ ) між ними подано на рис. 3.1.

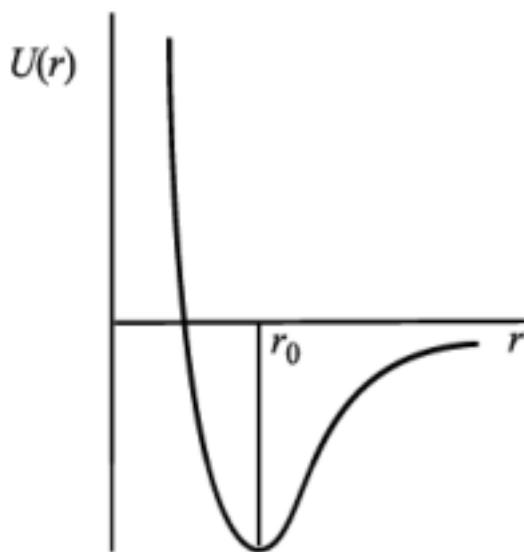


Рисунок 3.1 – Типовий вигляд залежності енергії взаємодії від відстані

Енергія взаємодії  $U(r)$ , або потенціал взаємодії, пов'язана із силою взаємодії  $F(r)$ :

$$F(r) = -\Delta U(r) / \Delta r. \quad (3.1)$$

На незначних відстанях унаслідок відштовхування молекул за умови взаємного проникнення їх електронних оболонок переважають сили відштовхування:  $\Delta U_{\text{відштов.}}(r) < 0$ , а на великих відстанях превалюють сили притягання  $\Delta U_{\text{притяг.}}(r) > 0$ . Загальний потенціал взаємодії  $U(r)$ :

$$U(r) = U_{\text{відштов.}}(r) - U_{\text{притяг.}}(r) \quad (3.2)$$

Мінімум на кривій  $U(r)$ , якщо  $r = r_0$ , відповідає рівноважному положенню, у якому сили притягання врівноважуються силами відштовхування.

Існують різні типи взаємодій, від яких залежить вторинна структура макромолекул.

### 3.1 Взаємодія Ван дер Ваальса

Сили Ван дер Ваальса є нековалентними взаємодіями, що стабілізують конформаційний стан макромолекул і визначають його зміну в процесі функціонування.

Значення характерної енергії ван-дер-ваальсових взаємодій перебуває в діапазоні від 4–8 кДж/моль і вище, тоді як теплова енергія молекули за кімнатної температури ( $T = 300$  К) становить  $RT = 2,58$  кДж/моль, а енергія ковалентних зв'язків – 140–725 кДж/моль. Сили Ван дер Ваальса мають електромагнітну природу й визначаються взаємодією електричних диполів між сусідніми молекулами. Залежно від того, чи властиві молекулам постійні електричні дипольні моменти, чи дипольні моменти виникають унаслідок поляризованості електронних оболонок, існують різні типи сил Ван дер Ваальса.

#### 3.1.1 Орієнтаційні взаємодії

Розглянемо взаємодію двох диполів, розміщених уздовж прямої  $R$  так, як це показано на рис. 3.2.

Відповідно до закону Кулона енергія орієнтаційної взаємодії  $U_{орієнт.}$  дипольних моментів  $P_1$  і  $P_2$  дорівнює

$$U_{орієнт.}(R) = -\frac{e^2}{R-l_1} - \frac{e^2}{R+l_2} - \frac{e^2}{R+l_2-l_1} + \frac{e^2}{R}, \quad (3.3)$$

за умови  $R \gg l_1, l_2$

$$U_{орієнт.}(R) = -\frac{2 \cdot e^2 \cdot l_1 \cdot l_2}{R^3} = -\frac{2 \cdot P_1 \cdot P_2}{R^3}. \quad (3.4)$$

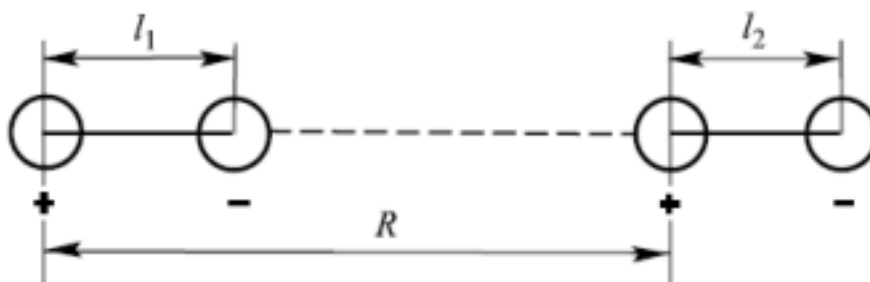


Рисунок 3.2 – Взаємодія двох диполів, розміщених уздовж лінії ( $R \gg l_1, l_2$ ).

Дипольні моменти  $P_1$  та  $P_2$  дорівнюють  $P_1 = e \cdot l_1, P_2 = e \cdot l_2$ ,

де  $e$  – заряд електрона;  $l_1, l_2$  – відстань між протилежними зарядами.

У системі СГСЕ  $e = 4,8 \cdot 10^{-10}$  од. і за умови  $l \approx 10^{-8}$  (довжина хімічного зв'язку)

$P \approx 10^{-18}$  в одиницях СГСЕ, або 1 Д (дебай)

Якщо диполі вільні та здійснюють теплові рухи, то в середньому вони прийматимуть орієнтації, які відповідають притягненню, оскільки їх власна енергія  $E$  в цьому разі знижується. Тепловий рух намагатиметься порушити порядок розміщення диполів. Для знаходження «результуючого» орієнтаційного потенціалу необхідно провести статистичне усереднення взаємодії за різними можливими орієнтаціями пари молекул. Відповідно до розподілу Больцмана  $\exp(-E/kT)$ , що показує вірогідність перебування системи в стані з енергією  $E$  за температури  $T$ , енергетично вигідним положенням віддається перевага. Усереднюючи величини за всіма орієнтаціями, якщо  $E \ll kT$ , можна знайти енергію орієнтаційної взаємодії:

$$U_{\text{орієнт.}} = -\frac{2 \cdot P_1^2 \cdot P_2^2}{3 \cdot k \cdot T \cdot R^6}. \quad (3.5)$$

### 3.1.2 Індукційні взаємодії

У разі, коли одна молекула має постійний дипольний момент  $P_1$ , вона може навести диполь  $P_2$  в іншій молекулі, якщо їй притаманна певна поляризованість  $\alpha$ :

$$P_2 = \alpha \cdot E_1, \quad (3.6)$$

де  $P_2$  – наведений диполь;

$\alpha$  – коефіцієнт поляризованості другої молекули;

$E_1$  – локальна напруга електричного поля в центрі молекули, яка поляризується та перебуває під впливом постійного диполя  $P_1$  першої молекули. Поле  $E_1$  диполя  $P_1$  на відстані  $R$  від постійного диполя дорівнюватиме  $E_1 = 2 \cdot P_1 / R^3$ , якщо  $P_1$  та  $R$  розміщені паралельно. Звідси можна показати, що енергія індукційної взаємодії  $U_{\text{інд.}}$ , усереднена за всіма орієнтаціями постійного диполя  $P_1$ , дорівнює:

$$U_{\text{інд.}} = -\frac{1}{2} E_1^2 = -2 \cdot \alpha \cdot P_1^2 / R^6. \quad (3.7)$$

Очевидно, що зміщення електронів в один бік за умови поляризації молекули сусіднім постійним диполем компенсується їх зміщенням у протилежний бік завдяки дії такого самого постійного диполя зі зворотно спрямованим моментом, який розміщений на іншому боці молекули.

### 3.1.3 Дисперсійні взаємодії

Найбільш поширеними видами нековалентних взаємодій є дисперсійні, або поляризаційні, тобто такі, що спостерігаються між молекулами, у яких відсутні постійні дипольні моменти. Дисперсійні взаємодії зумовлені

здебільшого зовнішніми слабо пов'язаними електронами. Природа дисперсійних взаємодій має квантово-механічний характер та є результатом появи «миттєвих» диполів, що виникають унаслідок переміщення електронів у молекулах, яким не притаманні постійні дипольні моменти.

Дисперсійна взаємодія між молекулами описується виразом

$$U_{дисп.} = -\frac{3 \cdot I_1 \cdot I_2}{2 \cdot (I_1 + I_2)} \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2}{R^6}, \quad (3.8)$$

де  $I_1, I_2$  – іонізаційні потенціали, що визначають міцність зв'язку електронів в атомі (молекулі);

$\alpha_1, \alpha_2$  – поляризованість молекул.

Характеристики різних видів сил Ван дер Ваальса для окремих речовин наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Значення поляризованості, дипольного моменту, потенціалу іонізації та енергії різних видів слабких взаємодій між деякими атомами й молекулами

| Речовина         | $\alpha$ ,<br>см <sup>3</sup> ·10 <sup>24</sup> | $P$ , Д | $I$ , eВ | $U_{орієнт} \cdot 10^{-5}$<br>Дж/моль | $U_{інд.} \cdot 10^{-5}$<br>Дж/моль | $U_{дисп.} \cdot 10^{-5}$<br>Дж/моль |
|------------------|---|---------|----------|---------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| H                | 0,667   | 0       | 13,6     | 0                                     | 0                                   | 6,1                                  |
| O <sub>2</sub>   | 1,57  | 0       | 13,6     | 0                                     | 0                                   | 39,8                                 |
| N <sub>2</sub>   | 1,74  | 0       | 15,8     | 0                                     | 0                                   | 57,2                                 |
| CO               | 1,99  | 0,12    | 14,3     | 0,0034                                | 0,057                               | 67,5                                 |
| H <sub>2</sub> O | 1,48  | 1,84    | 18,0     | 190,0                                 | 10,0                                | 47,0                                 |
| NH <sub>3</sub>  | 2,24  | 1,5     | 11,7     | 84,0                                  | 10,0                                | 70,0                                 |

Сумарна ван-дер-ваальсова взаємодія двох молекул визначається сумою виразів (3.5), (3.7) та (3.8) і становить від 4,0 до декількох десятків кДж/моль. Для багатьох біологічно важливих макромолекул глибина ван-дер-ваальсового енергетичного мінімуму лежить у діапазоні 1–13 Дж/моль у перерахунку на число взаємодіючих пар груп, що за порядком збігається з величиною теплової енергії молекул за кімнатної температури (2,58 кДж/моль). Суттєвою різницею дисперсійних сил від орієнтаційних та індукційних є їх адитивність. Це пов'язано з тим, що за умови одночасної взаємодії декількох молекул кожна з них наводить на всі інші молекули координовані «миттєві» диполі, які перебувають у фазі з відповідними збурювальними диполями. Кожен із цих диполів завжди орієнтований так, що він притягується до відповідного індукованого диполя. Водночас інші диполі, які не є у фазі з останнім, тільки

періодично взаємодіють з ним і після усереднення за всіма можливими фазами дають нульовий внесок в енергію.

На малих відстанях починають діяти сили відштовхування між атомами, що пов'язано з ефектами відштовхування електронних оболонок за умови їх взаємного проникнення.

Фізична природа сил відштовхування є предметом дослідження квантової механіки й пов'язана з обмінними взаємодіями, зважаючи на принцип Паулі. Обмінні взаємодії відбуваються внаслідок перекривання хвильових функцій електронів на відстані  $\sim 0,1$  нм (тобто довжин хімічних зв'язків); вони зменшуються з відстанню швидше, ніж притягання диполів, що індуковані дією електромагнітних полів.

### 3.2 Водневі зв'язки

Структура й функції біологічних молекул значною мірою визначаються водневими зв'язками. Це стосується білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів клітинних мембран, а також водного середовища, яким притаманні ці компоненти. Тривимірна архітектура білків і нуклеїнових кислот стабілізується водневими зв'язками, біологічне розпізнавання реалізується здебільшого за допомогою водневих зв'язків; молекулярна рухливість, необхідна для реалізації біологічних процесів, безпосередньо пов'язана зі швидким утворенням і розривом водневих зв'язків.

Водневий зв'язок реалізується завдяки електростатичному притяганню між гідрогеном (із частково позитивним зарядом) однієї молекули та атомом зі значним значенням електронегативності (наприклад, *O*, *N*, *F*, *P*) іншої молекули. Акцептором водневого зв'язку може бути будь-який атом, що є електронегативним і має неподілену пару електронів. У водневому зв'язку неподілена пара електронів кисню, азоту або фтору взаємодіє з частково позитивним гідрогеном, що ковалентно пов'язаний з одним із цих атомів. Водневі зв'язки відіграють важливу роль у формуванні структури білків, оскільки вони стабілізують вторинну, третинну та четвертинну структуру білків, утворених альфа-спіралями, бета-листами, поворотами та петлями поліпептидного ланцюга. У цьому водневі зв'язки з'єднують амінокислоти між різними поліпептидними ланцюгами в структурі білків (рис. 3.3).

Водневі зв'язки відповідають за утворення особливої пари азотистих основ у подвійній спіралі ДНК. Зв'язування пар азотистих основ у ДНК, що утримує подвійну спіраль, базується на тому, що кожен аденін утворює

два водневі зв'язки з тиміном, а кожен цитозин утворює три водневі зв'язки з гуаніном, як показано на рис. 3.4 та 3.5.

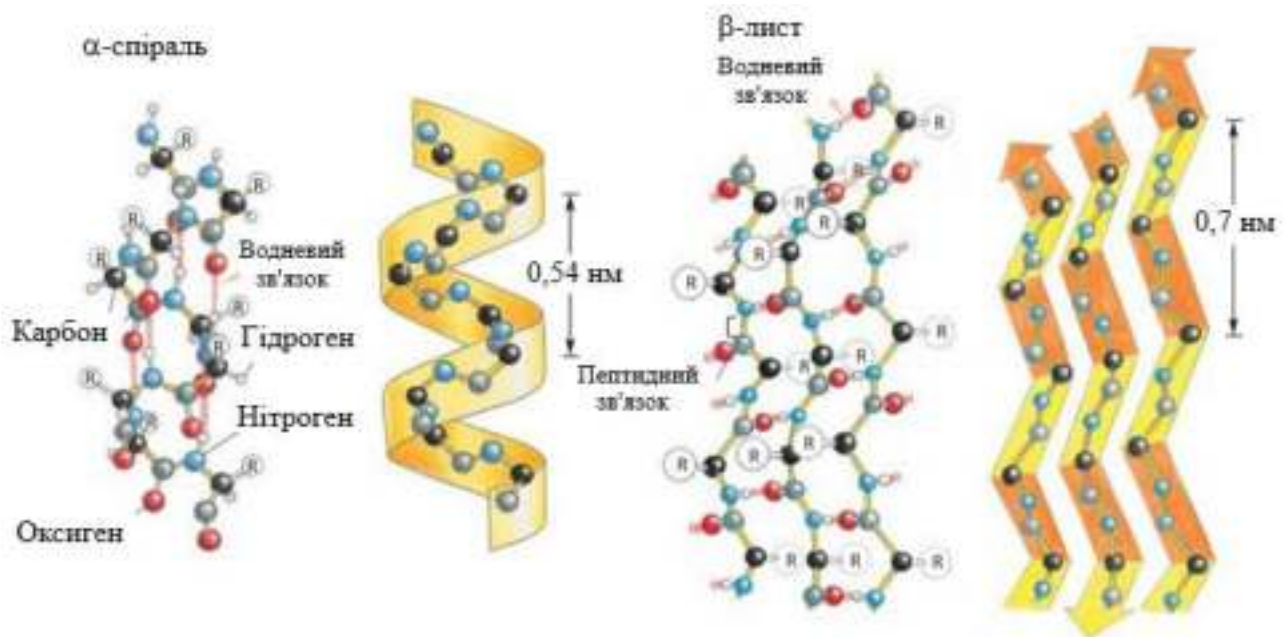


Рисунок 3.3 – Водневий зв'язок і вторинна структура білка. Структура  $\alpha$ -спіралі та  $\beta$ -листів залежать від водневих зв'язків

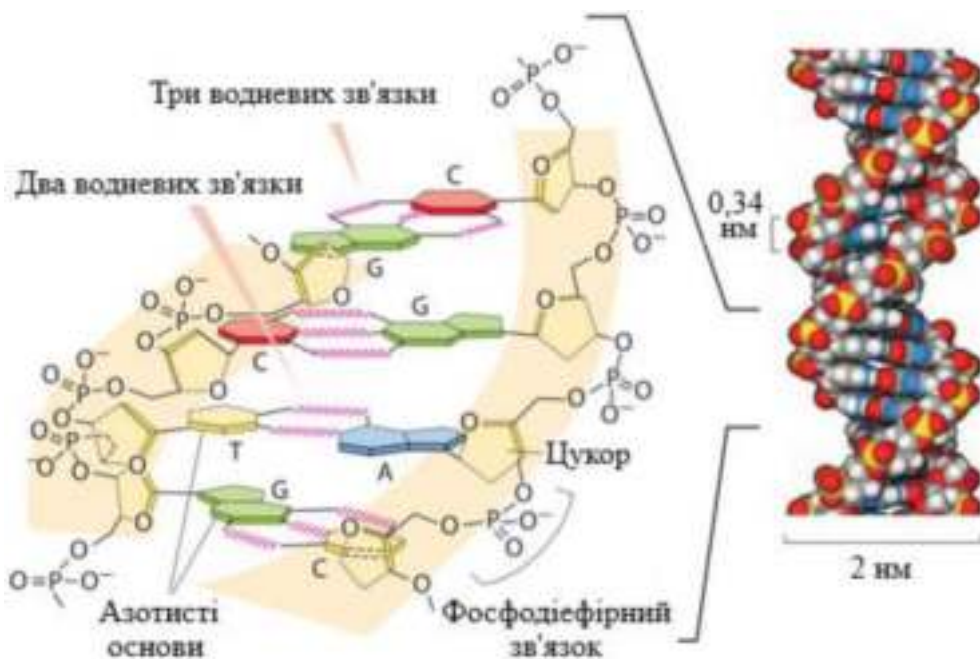


Рисунок 3.4 – Сполучення азотистих основ у подвійній спіралі ДНК.

Чотири основи утворюють стабільні водневі зв'язки: А–Т, G–С.

Праворуч показана атомна модель структури ДНК.

Відстань між сусідніми парами основ становить приблизно 0,34 нм

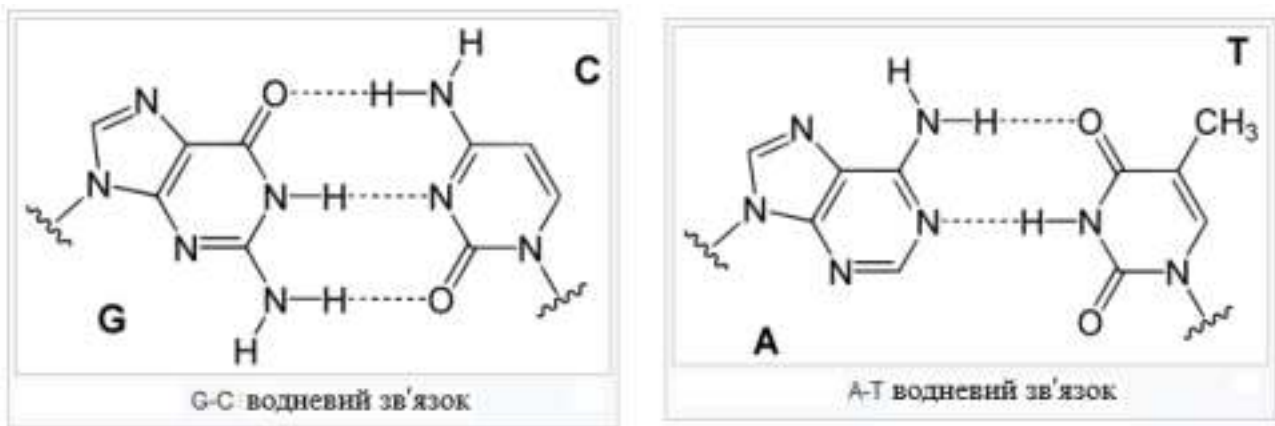


Рисунок 3.5 – Цитозин і гуанін утримуються трьома водневими зв'язками. Сполучення аденіну й тиміну реалізуються двома водневими зв'язками, тому зв'язок між ними слабший і довший, ніж за умови зв'язування цитозин-гуанін

Зв'язування факторів транскрипції з ДНК часто основане на утворенні водневих зв'язків і є прикладом утворення водневого зв'язку в комплексі «нуклеїнова кислота – білок». Ці зв'язки регулюють швидкість від'єднання транскрипційного фактора й, отже, впливають на константу дисоціації (до того ж швидкість приєднання факторів транскрипції часто обмежена дифузією та, отже, є неспецифічною для сайту зв'язування). Крім того, водневі зв'язки визначають функції каталітичних активних центрів у ферментах.

Водневі зв'язки є принципово електростатичними взаємодіями. Ці зв'язки набагато слабші за ковалентні. Однак вони є найсильнішим видом диполь-дипольної взаємодії. Електронегативний атом, з яким зв'язаний атом гідрогену, відтягує електронну густину від атома гідрогену, створюючи частково позитивний заряд. Тому атом гідрогену може взаємодіяти з частково негативно зарядженим атомом із допомогою електростатичної взаємодії.

Енергія водневих зв'язків становить 6–30 кДж/моль. Значення енергії водневих зв'язків є не лише комфортною для сприятливого зв'язування в процесі утворення комплексів білків і нуклеїнових кислот з іншими макромолекулами – вона перебуває в сильній залежності від конформації біомакромолекул: незначна зміна кута або відстані між відповідними атомами призводить до різкої зміни енергії. Водневий зв'язок є ключовим елементом особливості білка-переносника, що має розрізняти дві хімічні групи дуже схожого розміру та заряду, наприклад, фосфат і арсенат (рис. 3.6). Зміна кута й відстані між атомами призводить до різниці в значенні сили зв'язування в кілька разів.

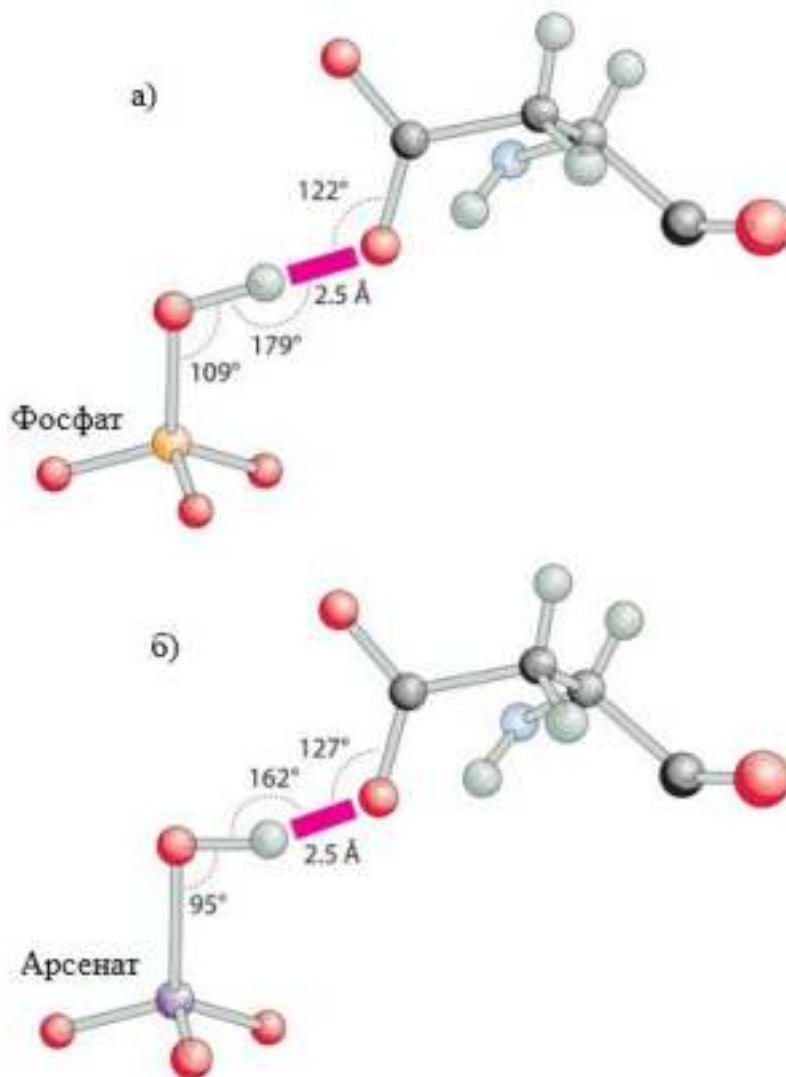


Рисунок 3.6. – Водневий зв'язок (2,5 Å) між гідрогеном фосфату та киснем карбоксильної групи аспарагінової кислоти транспортного білка (а).

Кути між зв'язаними атомами близькі до оптимальних значень. Той самий зв'язок у процесі зв'язування арсенату (сіль миш'якової кислоти, структурний аналог фосфату) (б). Для структури властиві інші кути взаємодії між атомами, сила зв'язування різниться майже в  $\approx 500$  разів

Експериментально наявність водневих зв'язків у речовинах реєструється за допомогою методів рентгенографічної кристалографії, ЯМР-спектроскопії, зокрема протонного магнітного резонансу, та коливальної спектроскопії. Про зміну мережі водневих зв'язків унаслідок дії агентів фізико-хімічної природи можуть свідчити результати дослідження *НВЧ*-діелектрометрії міліметрового діапазону радіохвиль на частотах дисперсії діелектричної проникності вільної води ( $f = 5 \dots 50$  ГГц).

### 3.3 Структура води та гідрофобні взаємодії

Функціонування біологічних макромолекул невід'ємно пов'язане з водним середовищем; білки й нуклеїнові кислоти еволюційно адаптувалися до води, тому вода має принципово важливе значення у формуванні активних центрів ферментів, рецепторних комплексів мембрани клітини, вона впливає на конформаційну структуру біологічних молекул та їх динамічний стан.

Вода здатна утворювати локальні структури завдяки такій властивості, як спрямованість водневого зв'язку. Загальновізнано, що саме мережа водневих зв'язків відповідає за аномальні термодинамічні властивості води: для неї властиве збільшення об'єму за умови замерзання, хоча плавлення льоду супроводжується зменшенням об'єму. За 4 °С (277 К) вода має максимальну густину  $\rho = 1 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$ , за 0 °С (273 К)  $\rho = 0,917 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$ . Теплоємність води є значною та становить  $C = 75,3 \text{ Дж/моль} \cdot \text{К}$ . Молекула води є сильно асоційованою з координаційним числом 4, тому одночасно молекула води може бути і акцептором, і донором водневих зв'язків.

Полярність молекули води дає змогу їй утворювати полярні асоціації з іншими зарядженими молекулами (полярними або іонними). Вода може утворювати водневі зв'язки з іншими молекулами води ( $\delta^+$  між воднем і  $\delta^-$  між киснем двох молекул) (рис. 3.7).

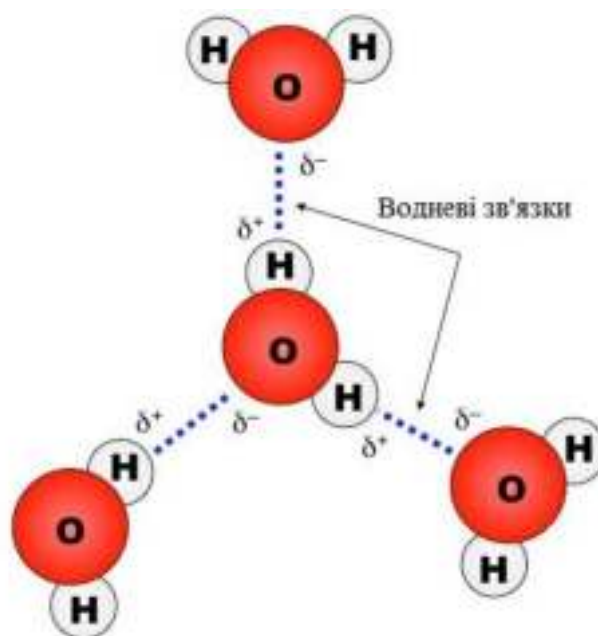


Рисунок 3.7 – Утворення водневих зв'язків між молекулами води

Молекула води має таку будову (рис. 3.8): довжина *ОН*-зв'язку становить 0,096 нм, кут між атомами гідрогену та атомом кисню дорівнює 104,5°.

Завдяки асиметрії зарядів, молекула води має значний дипольний момент  $\mu = 1,82$ . За температури  $T = 298$  К діелектрична проникність води  $\epsilon = 80$ , поверхневий натяг  $\sigma = 0,072$  Н/м.

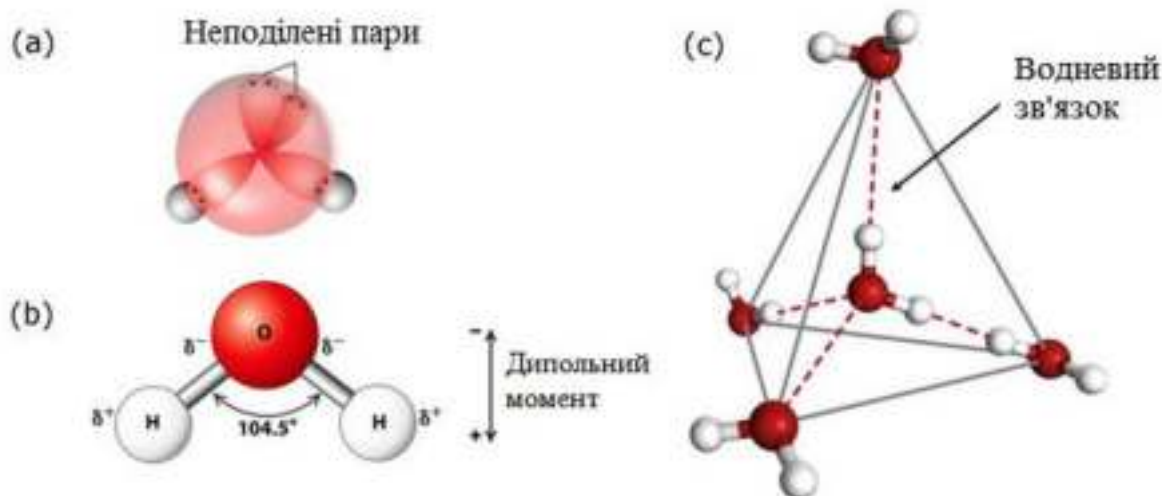


Рисунок 3.8 – Електронний розподіл у молекулі води: тетраедрична структура молекулярних орбіталей з електронами, залученими в ковалентні зв'язки, і неподілені пари (а). Структура молекули води (атоми гідрогену показані білим кольором, атом кисню – червоним (б)). Тетраедричне розташування молекул води, пов'язаних водневими зв'язками (с)

Під гідрофобною взаємодією зазвичай розуміють ефекти, пов'язані з низькою розчинністю неполярних речовин у воді, тобто їх гідрофобністю, що призводить до посиленої асоціації цих розчинених речовин у водних розчинах. Оскільки в білкових молекулах, окрім полярних радикалів амінокислот, є значна кількість неполярних радикалів, вони намагаються групуватися разом, ніби уникаючи контакту з водою. У цьому процесі гідрофобний ефект є основною рушійною силою згортання (*фолдингу*) білка. З цієї причини можна припустити, що гідрофобність неполярних груп відіграє важливу роль у визначенні компактного конформаційного стану глобулярних білків.

Основою гідрофобного ефекту є збільшення ентропії води в системі. Молекули води, що взаємодіють із гідрофобними поверхнями, утворюють упорядковані кластерні льодоподібні структури навколо гідрофобної поверхні. Ці впорядковані молекули води мають меншу ентропію, ніж вільні молекули води, що становлять основний об'єм розчину. Під час згортання білкової молекули гідрофобні поверхні амінокислотних залишків об'єднуються і витісняють молекули води в об'ємний розчин. Молекули води,

що вивільняються, мають більшу ентропію, ніж тоді, коли вони утворювали впорядковані структури навколо гідрофобної поверхні (рис. 3.9). Збільшення ентропії води є рушійною силою гідрофобного ефекту ( $\Delta S_{\text{води}} > 0$ ). У процесі згортання білкової молекули його поліпептидний ланцюг дещо втрачає свою ентропію, оскільки набуває певної конформації, але це зменшення ентропії часто компенсується паралельним збільшенням ентропії молекул води, оскільки згорнута структура білка «приховує» свої гідрофобні бічні ланцюги.

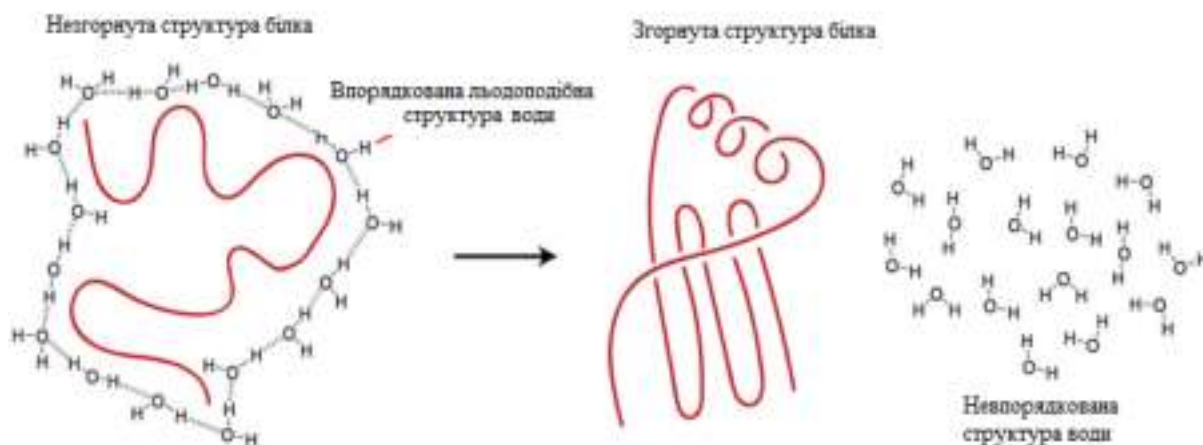


Рисунок 3.9 – Гідрофобний ефект сприяє термодинамічній сприятливості згортання білка. Вода, взаємодіючи з гідрофобними бічними ланцюгами в розгорнутих структурах білка, утворює впорядковані льодоподібні структури з низьким рівнем ентропії. Під час згортання білка гідрофобні поверхні об'єднуються й вилучають воду зі своєї структури, молекули води набувають неупорядкованої структури (об'ємна вода), у цьому разі збільшення ентропії молекул води є термодинамічною рушійною силою гідрофобного ефекту

Завдяки гідрофобним взаємодіям значно зростає ентропія системи. Термодинамічно вигідним є сприятливе зближення та взаємодія неполярних груп між собою для того, щоб зменшити не вигідні контакти з полярними молекулами води. Оскільки така зміна ентропії має найбільший вплив на зменшення вільної енергії системи, це означає, що гідрофобні взаємодії мають ентропійну природу.

Гідрофобне зв'язування лігандів – сахарози та сукралози – наочно демонструє гідрофобний ефект, хоча обидва дисахариди мають різну біологічну дію (рис. 3.10).

Сахароза є стабілізатором білкових структур, виявляє свою захисну дію як регулятор на дію стресових факторів довкілля (наднизькі та надвисокі температури, дегідратація) та здатна структурувати воду на поверхні білків способом переважного вилучення молекул води з поверхні поділу білок-вода.

Водночас сукралоза є дестабілізатором білкових структур, її дія спрямована на зменшення гідратації білкової молекули способом вбудовування в гідروفобний активний центр, що дестабілізує білкову молекулу. Дослідження гідروفобного ефекту були проведені за допомогою методів молекулярного докінгу (*Autodock Vina*) та молекулярної динаміки (*PyMol*) на модельних протеолітичних ферментах – лізоцимі та субтилізині.

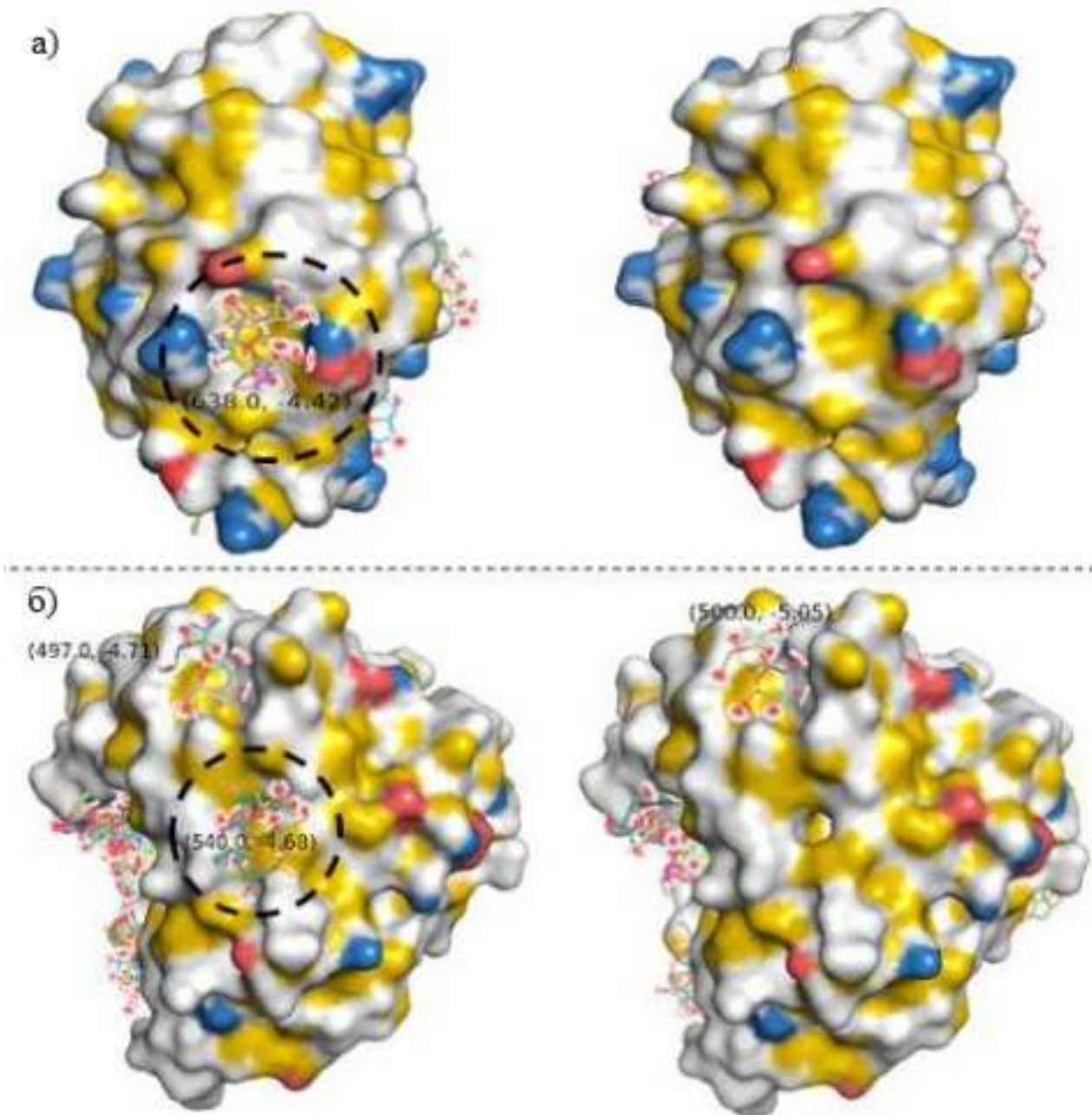


Рисунок 3.10 – Конформації ферментів у процесі зв’язування сукралози (ліворуч) і сахарози (праворуч), субстрат зв’язаний в активному центрі двох ферментів – лізоциму (а), субтилізину (б). Взаємодія сукралози з гідروفобною кишенею на білкових поверхнях ферментів позначено пунктиром, гідروفобні кишени на поверхні білків показано жовтим кольором

Оскільки гідрофобний ефект має ентропійну природу, а ентропійний внесок у вільну енергію зростає з температурою рівняння (2.1), ефективність гідрофобних взаємодій збільшується за умови підвищення температури (зростає ефект визволення води в середовище, де рух молекул води прискорюється). Саме цим зростанням гідрофобного ефекту пояснюється добре відоме зниження розчинності у воді неполярних молекул газів у разі підвищення температури. Для біологічних систем це також має велике значення: підвищення температури, навіть не дуже значне (до 35–37°C), змінює енергетичний баланс міжмолекулярних взаємодій. Гідрофобні взаємодії є надзвичайно важливими для живих систем, оскільки є основою утворення клітинних мембран, без яких існування клітини було б неможливим. Також гідрофобні взаємодії відіграють провідну роль у підтриманні структури біологічних макромолекул.

### 3.4 Контрольні запитання та завдання

1. Поясніть залежність потенційної енергії взаємодії двох молекул від відстані.
2. Особливості взаємодії молекул на малих відстанях. Внутрішньомолекулярні взаємодії в макромолекулах.
3. Біофізична природа слабких зв'язків, які стабілізують просторову структуру макромолекул. Які фактори докільця спричиняють конформаційну перебудову макромолекул? Як проявляється така конформаційна перебудова?
4. У чому полягає фізичний механізм ван-дер-ваальсових взаємодій?
5. Між якими групами атомів проявляються орієнтаційні взаємодії? Енергія орієнтаційних взаємодій. Яка роль орієнтаційних взаємодій у стабілізації  $\alpha$ -спіралі білкової молекули?
6. Індукційна та дисперсійна взаємодії в стабілізації просторової структури нуклеїнових кислот і білкових молекул.
7. Фізична природа сил відштовхування.
8. Поясніть ентропійну природу іонних взаємодій між двома високочарядженими макромолекулами.
9. Які властивості мають бути притаманні двом хімічним групам, щоб між ними міг утворитися водневий зв'язок?
10. Що таке водневий зв'язок? Водневі зв'язки в молекулах нуклеїнових кислот і білках.
11. Енергія водневих зв'язків.

12. Чому водневий зв'язок є важливим для специфічного міжмолекулярного впізнання та для стабілізації вторинної структури білків?
13. Методи реєстрації зміни міжмолекулярних і внутрішньомолекулярних водневих зв'язків.
14. Значення води клітинного середовища, роль води у формуванні стабільної конформації макромолекул.
15. Тривимірні структура молекули води.
16. Властивості води як одного з основних компонентів біологічних об'єктів.
17. Як молекули води впливають на конформацію макромолекул, що мають неполярні бокові групи?
18. Поясніть фізичну природу гідрофобного ефекту. Залежність між гідрофобними взаємодіями та ентропією біологічної системи.
19. Значення гідрофобного ефекту для фолдингу білка.
20. Що є основою гідрофобного ефекту? Наведіть приклади утворення гідрофобного зв'язку між реагуючими макромолекулами.

## 4 БІОФІЗИКА КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ

Молекулярна взаємодія у цілісній біофізичній системі забезпечується контактами молекул з іншими молекулами, а також контактами молекул з іонами, вільними радикалами, з молекулами в збуреному стані, унаслідок чого утворюються молекулярні комплекси, стабілізовані силами міжмолекулярної взаємодії. Молекулярні комплекси містять групи атомів або молекул із значно меншими відстанями між атомами всередині однієї групи, ніж між аналогічними атомами різних груп. Сили всередині молекул значно перевищують сили міжмолекулярного зв'язку. Внутрішньомолекулярні сили зазвичай ковалентні або іонні, міжмолекулярні сили завжди ван-дер-ваальсові. Незалежно від того, якими є молекулярні контакти – постійними або тимчасовими, існує ціла низка параметрів, що організовують і регулюють утворення молекулярних контактів. Це концентрації молекули або іонів, константа дисоціації між утвореними парами молекул, енергетичний бар'єр між певною парою молекул та енергією довкілля.

### 4.1 Константа дисоціації

Розрахунок константи дисоціації має принципове значення для розуміння взаємодії між парами «молекула – молекула», «молекула – іон». Коли солі поміщають у розчин, вони будуть певною мірою дисоціювати, наприклад, сильні кислоти, такі як соляна кислота  $HCl$ , будуть повністю дисоціювати, що й відбувається в просвіті шлунку:



У цьому разі соляна кислота не може організовуватися в комплекс із будь-яким білком, адже  $pH$  шлункового соку становить 1–2, що відразу б призвело до денатурації білка й руйнування клітин. Але завдяки різко кислому  $pH$  шлункового соку відбувається руйнування патогенної мікрофлори, яка може викликати захворювання різної етіології.

У клітинах організму за нормальних умов  $pH$  становить близько 7,0, а в плазмі крові – 7,4.

На відміну від  $HCl$ , фосфорна кислота за умови фізіологічного  $pH$  є слабкою кислотою, існує рівновага між двома проміжними формами, дисоціація проходить у декілька етапів, один з яких



У цій реакції не всі іони гідрогену дисоціюють від кисню. Повна дисоціація на  $3H^+$  та  $PO_4^{3-}$  відбудеться лише за умови дуже високого  $pH$  (понад 11), а повністю протонувана форма  $H_3PO_4$  утвориться лише за дуже низького  $pH$  (менше ніж 3). Оскільки клітини організму не можуть функціонувати в подібних екстремальних умовах  $pH$ , у фізіологічних системах спостерігаються лише частково дисоційовані форми фосфорної кислоти.

Умови, за яких відбувається дисоціація, регулюються константою дисоціації. Дві речовини  $A$  і  $B$  можуть з'єднатися, утворюючи комплекс  $AB$ , але цей комплекс також може розділитися на окремі компоненти –  $A$  і  $B$ :



Розподіл комплексу  $[AB]$  на компоненти  $[A]$  і  $[B]$  триватиме доти, доки система не досягне стану рівноваги. У цьому стані співвідношення між концентраціями компонентів  $[A]$ ,  $[B]$  і  $[AB]$  буде таким:

$$K_D = \frac{[A] \cdot [B]}{[AB]}, \quad (4.4)$$

де  $K_D$  – константа дисоціації для комплексу  $[AB]$ . Якщо відношення між  $[A]$ ,  $[B]$  і  $[AB]$  обернене, то визначатиметься константа зв'язування (асоціації)  $K_a$ . Для фізіологічних систем частіше використовують  $K_D$ .

Що більша константа дисоціації, то сильніше дисоціює електроліт, тобто він легше розпадається на іони, яких у розчині стає більше.

## 4.2 Молекулярне впізнавання. Характеристики специфічності комплексу

Підґрунтям до функціонування живої клітини є молекулярне впізнавання між біологічними макромолекулами та низькомолекулярними речовинами (лігандами). Молекулярне впізнавання належить до процесу, у якому основні біологічні макромолекули (білки й нуклеїнові кислоти) взаємодіють одна з одною або з різними низькомолекулярними молекулами через нековалентні взаємодії з утворенням специфічного комплексу. Цей процес має дві важливі характеристики: 1) специфічність, що виявляється у високоточній ідентифікації ліганду, який зв'язується, від інших, менш специфічних лігандів; 2) афінність, яка є термодинамічною характеристикою, що відповідає за міцність зв'язування активних центрів взаємодіючих молекул на основі стереохімічної комплементарності.

Найбільш важливим є те, що молекулярне впізнавання є елементом складного, функціонально важливого механізму, що містить основні елементи життя – самовідтворення, метаболізм і оброблення інформації. Наприклад,

реплікація, або синтез ДНК, – це процес, що відбувається перед поділом клітини та реалізується з допомогою низки складних ферментативних реакцій, в основі яких є впізнання та зв'язування ферментів із подвійною спіраллю ДНК.

Під час реплікації ферменти хелікази використовують енергію гідролізу нуклеотидтрифосфатів для переміщення вздовж цукрово-фосфатного остова ДНК та «розплітання» внутрішньо- та міжмолекулярних водневих зв'язків між азотистими основами, роблячи доступним зчитування букв азотистих основ полімеразами. Інші ферменти – ДНК-полімерази – каталізують полімеризацію дезоксирибонуклеотидів уздовж ланцюжка ДНК, приєднуючи нуклеотиди до оліго- (полі-) нуклеотидного ланцюга. ДНК-лігази відповідають за зшивання полінуклеотидних ланцюгів (рис. 4.1).

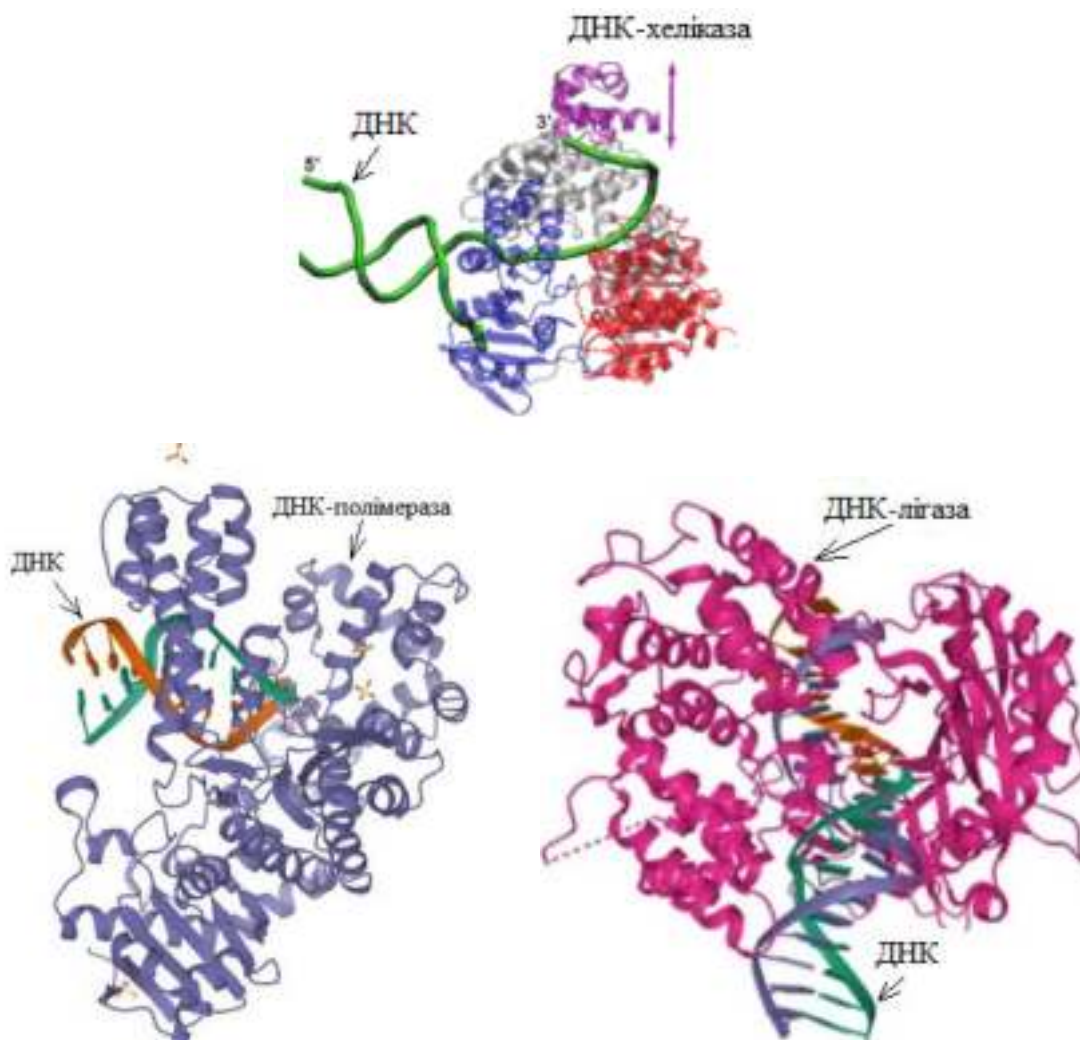


Рисунок 4.1 – Кристалічна структура комплексів фермент-ДНК у процесі молекулярного впізнання

Необхідно зазначити, що білки, які задіяні у функціонально важливих процесах і забезпечують життєдіяльність будь-якої біологічної системи, є специфічними до послідовності ДНК, водночас найбільш доступні сайти зв'язування розташовані на поверхні жолобків молекули ДНК – частіше великого, рідше – малого (рис. 4.2).

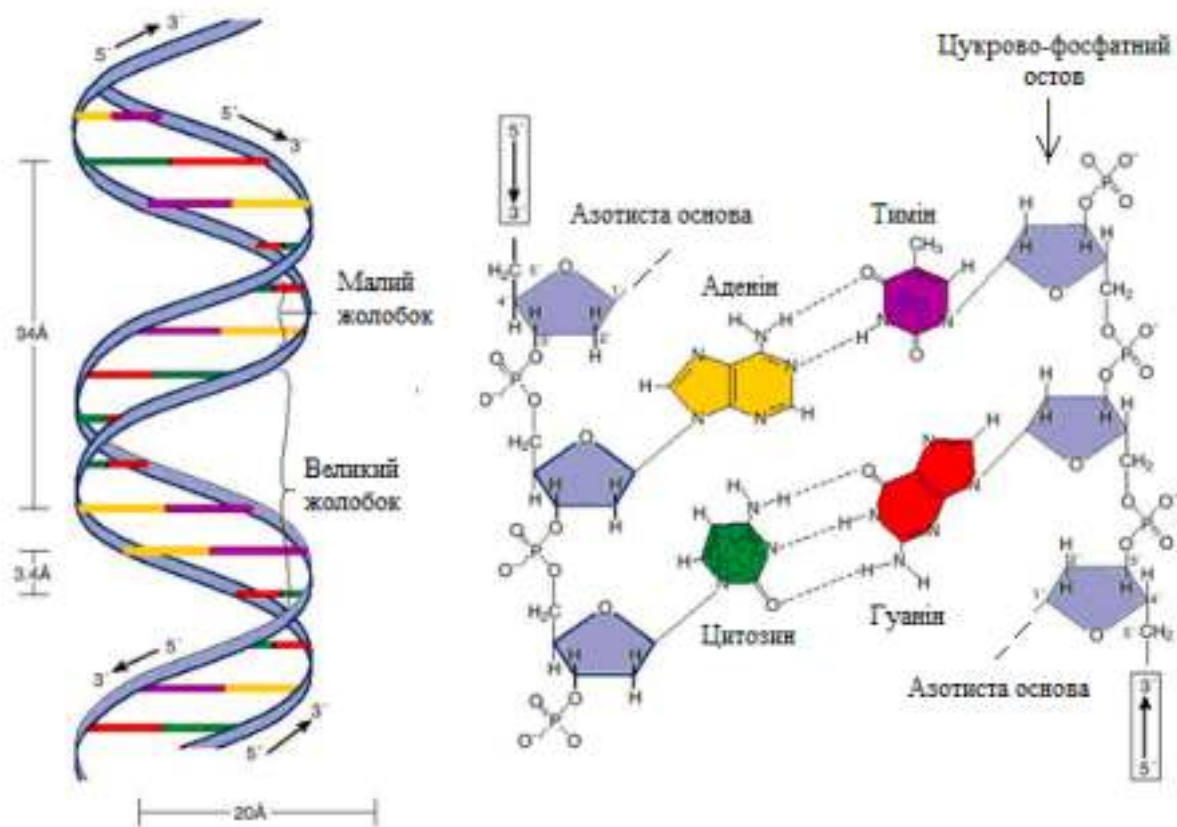


Рисунок 4.2 – Схема подвійної спіралі ДНК – великий та малий жолобки, періодичність азотистих основ, антипаралельна орієнтація ланцюгів. Хімічна структура цукрово-фосфатного остова та основ ДНК, водневі зв'язки між парами основ: між аденином і тиміном існують два водневі зв'язки, а між цитозином і гуаніном – три

Загалом існує два основних варіанти впізнавання білка з послідовністю ДНК – специфічне (пряме) та неспецифічне (непряме). Специфічне зв'язування – це утворення енергетично й кінетично стабільного комплексу, в якому окремі молекули міцно, по-особливому взаємодіють один з одним. У цьому разі білки взаємодіють з послідовностями ДНК, формуючи прямі контакти (Н-зв'язки) між амінокислотними залишками й унікальними атомними групами основ (заступниками в положеннях *C4* піримідинів і *C6* та *N6* пуринів у великому жолобку). Неспецифічне зв'язування іноді порівнюють з утворенням «випадкового» асоціату. За умови непрямого

впізнання білок взаємодіє з неспецифічними групами основ і цукрово-фосфатного остова, а впізнання обумовлено унікальністю конформації певної ділянки ДНК або його здатністю до деформації (рис. 4.3).

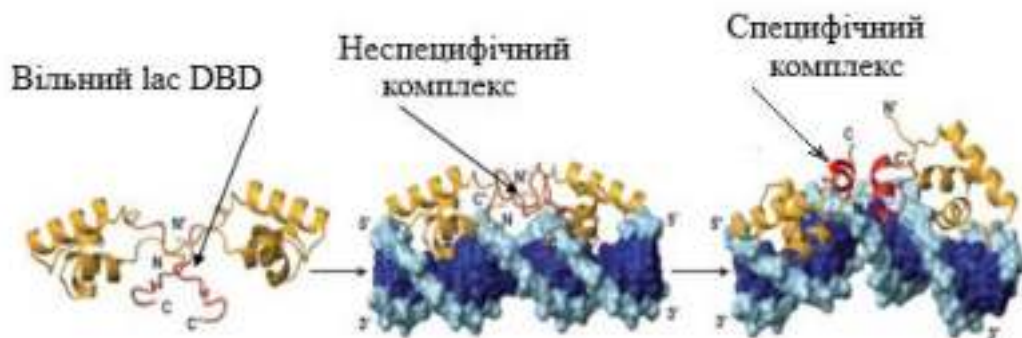


Рисунок 4.3 – Неспецифічне та специфічне впізнання ДНК-зв’язувальним доменом лактозного репресора (*lac DBD*) ділянки ДНК. За умови неспецифічного зв’язування ДНК зберігає свою канонічну *B*-конформацію. У разі специфічного зв’язування конформація ДНК вигинається під кутом  $\approx 36^\circ$

Спорідненість – це існування стерично та хімічно комплементарних поверхонь взаємодіючих молекул білка та ДНК у сайтах зв’язування. Спорідненість кількісно може визначатися через константи асоціації ( $K_a$ ), що в процесі зв’язування білків зі «своєю» та «чужими» послідовностями ДНК відрізняються в декілька разів: для специфічних комплексів  $K_a = 10^{10} - 10^{12} \text{ M}^{-1}$  (але не менше ніж  $10^6 \text{ M}^{-1}$ ), для неспецифічних  $K_a = 10^4 \text{ M}^{-1}$  і нижче. Діапазон змін вільної енергії зв’язування для специфічних комплексів  $\Delta G = -16 \div -7$  ккал/моль, для неспецифічних –  $\Delta G = -8 \div -5$  ккал/моль. Одним із критеріїв специфічності прийнято також вважати зміну теплоємності: специфічне зв’язування характеризується її значною негативною зміною ( $\Delta C = -1,1 \div -1,3$  ккал/моль К), а неспецифічне – близькою до 0.

Високоєфективне та специфічне молекулярне впізнання та зв’язування відіграють вирішальну роль у роботі та регулюванні метаболічних шляхів за участю ферментів, що передбачає тисячі хімічних реакцій, які протікають паралельно. Каскад клітинних сигналів також проходить етапи молекулярного впізнання, зв’язування та дисоціації. Цей каскад реакцій ініціюється впізнанням низькомолекулярних месенджерів мембранними рецепторами, передається крізь сегменти трансмембранних рецепторів і завершується певною функціональною відповіддю клітини (рис. 4.4).

*G*-білкові зв’язані рецептори (*GPCR*) є найчисленнішою родиною мембранних рецепторів, що стимулюють передачу зовнішньоклітинних

сигналів через нуклеотидний обмін опосередковано гетеротримерними  $G$ -білками. Нуклеотидний обмін, або точніше – дисоціація ГДФ від  $\alpha$ -субодиниці  $G$ -білка ( $G\alpha$ ) є ключовим кроком до активації  $G$ -білка та ініціації подальшого плину каскаду сигнальних подій.

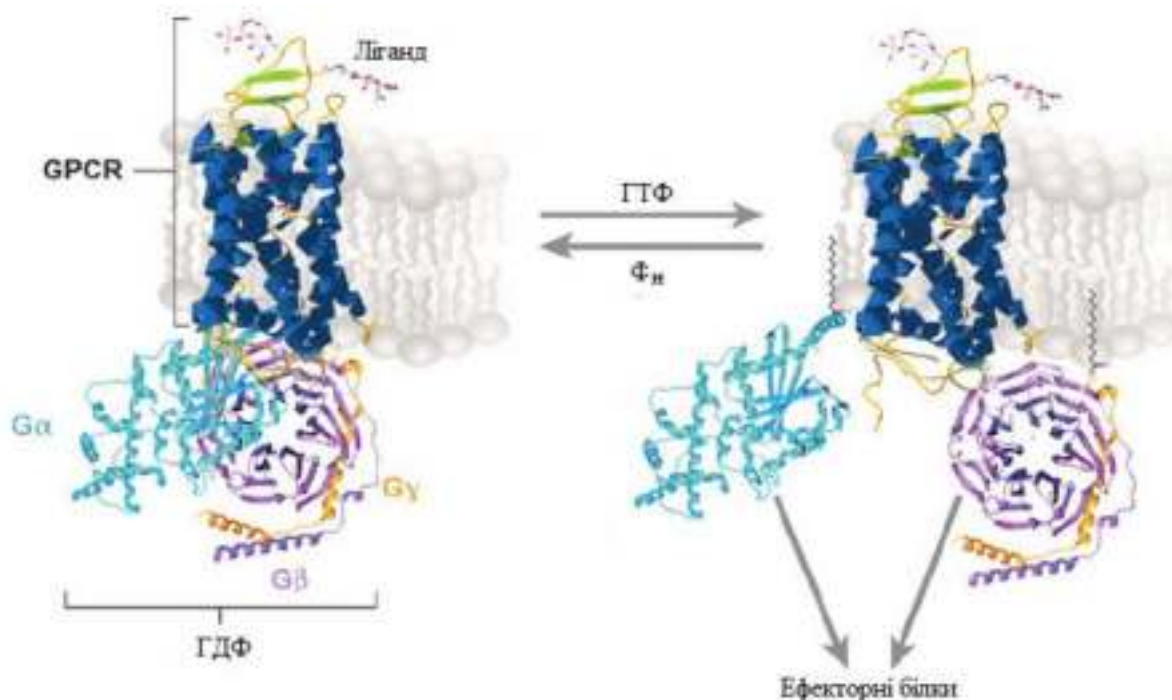


Рисунок 4.4 – Класична модель активації  $G$ -білка.  $GPCR$ -рецептори мають сім трансмембранних (7 ТМ) доменів.  $GPCR$  взаємодіють з гетеротримерним  $G$ -білковим комплексом, що містить три субодиниці –  $G\alpha$ ,  $G\beta$  та  $G\gamma$ .

У гетеротримері  $G\alpha$  субодиниця пов'язана з ГДФ.

Вивільнення ГДФ є обмежувальним кроком у циклі  $G$ -білка.

Активація  $GPCR$  лігандом сприяє активації гуанін-нуклеотидного фактора й фосфорилюванню ГДФ до ГТФ, що приводить до активації  $G$ -білка, дисоціації  $G\alpha$  субодиниці від  $G$ -білка. Вільна  $G\alpha$  субодиниця та вільний димер  $G\beta\gamma$  зі свого боку взаємодіють з ферментами (ефекторними білками) для того, щоб змінити концентрацію вторинних месенджерів (наприклад,  $cAMP$ ) або рух іонів крізь плазматичну мембрану

### 4.3 Фізико-хімічні механізми комплексоутворення

Для розуміння молекулярного впізнавання між білком і його лігандом необхідно розуміти фізико-хімічні механізми, що лежать в основі взаємодії «білок – ліганд», – кінетику зв'язування, основні термодинамічні концепції та взаємозв'язки, пов'язані зі зв'язуванням «білок – ліганд», а також рушійні фактори зв'язування та ентальпійно-ентропійної компенсації.

### 4.3.1 Кінетика зв'язування

Кінетика зв'язування «білок – ліганд» описує процес, що лежить в основі асоціації між білком і лігандом, особливо приділяється увага швидкості, з якою ці два агенти зв'язуються один з одним. Реакцію зв'язування рецептора  $[R]$  з лігандом  $[L]$  з утворенням їх комплексу  $[R \cdot L]$  можна подати у такому вигляді:



Швидкості прямої ( $v_{on}$ ) та зворотної ( $v_{off}$ ) реакцій визначаються співвідношенням:

$$v_{on} = k_{on} \cdot [L] \cdot [R], \quad (4.6)$$

$$v_{off} = k_{off} \cdot [L \cdot R], \quad (4.7)$$

де  $[R]$ ,  $[L]$  та  $[R \cdot L]$  – концентрації рецептора, ліганда та комплексу «ліганд – рецептор»,  $k_{on}$  і  $k_{off}$  – константи швидкості прямої та зворотної реакції. Розмірність  $k_{on} - M^{-1} c^{-1}$ ,  $k_{off} - M^{-1} c^{-1}$ . В умовах рівноваги  $v_{on} = v_{off}$ , тоді

$$k_{on} \cdot [R] \cdot [L] = k_{off} \cdot [R \cdot L]. \quad (4.8)$$

Константа дисоціації комплексу визначається як відношення швидкостей прямої та зворотної реакції:

$$K_D = \frac{k_{off}}{k_{on}} = \frac{[L] \cdot [R]}{[L \cdot R]}. \quad (4.9)$$

Величина константи дисоціації чисельно дорівнює концентрації ліганда, за якої концентрації вільного та зв'язаного рецептора рівні. Що більша спорідненість рецептора з лігандом, то менша константа дисоціації і, отже, менша концентрація ліганда, за якої половина молекул рецептора буде зв'язана з лігандом. Очевидно, що розмірність  $K_D$  – це  $M$ . Величина зворотної константи дисоціації називається константою асоціації (або константою зв'язування):

$$K_a = \frac{1}{K_D} = \frac{k_{on}}{k_{off}} = \frac{[L \cdot R]}{[L] \cdot [R]}. \quad (4.10)$$

Розмірність величини  $K_a - M^{-1}$ .

Рецептор може мати не одне, а кілька місць зв'язування ліганда, що можуть бути ідентичними, тобто належати одній моді зв'язування ліганда, або різнитися за параметрами зв'язування та характеристиками. У цьому разі характеристикою взаємодії «ліганд – рецептор» є кількість мод зв'язування ( $i$ ), тобто число різних за своєю природою ділянок рецептора, здатних взаємодіяти з лігандом. Кожна з мод визначається кількістю місць зв'язування ліганда ( $n_i$ ) та константою зв'язування ліганда ( $K_{ai}$ ).

Параметри зв'язування несуть важливу інформацію про механізми хімічних і біохімічних процесів взаємодії ліганда з рецептором, а також

про властивості ліганду й рецептора. Розуміння спорідненості зв'язування є важливим моментом в оцінюванні біологічних процесів, що лежать в основі міжмолекулярної взаємодії, структурної біології та взаємозв'язку структур і функцій.

Спорідненість зв'язування – це сила зв'язування між окремою біомолекулою (наприклад, білка або ДНК) та її лігандом / компонентом зв'язування (наприклад, лікарським препаратом або інгібітором). Спорідненість зв'язування зазвичай вимірюється та позначається з використанням константи рівноважної дисоціації ( $K_D$ ), що застосовується для оцінювання сил біомолекулярних взаємодій. Що нижче значення  $K_D$ , то вища спорідненість зв'язування ліганду з його молекулярною мішенню. На спорідненість зв'язування впливають нековалентні міжмолекулярні взаємодії, наприклад, утворення водневих зв'язків, електростатичні, гідрофобні сили й сили Ван-дер-Ваальса, що виникають між двома молекулами.

#### **4.3.2 Утворення комплексу відповідно до термодинаміки**

Система «білок – ліганд – розчинник» термодинамічна й містить розчинену речовину, а саме молекули білка, ліганд і розчинник, тобто воду й буферні іони. Ця термодинамічна система підпорядковується законам термодинаміки, оскільки в ній постійно відбуваються складні взаємодії між речовинами, обмін енергією між білком, лігандом, водою та буферними іонами, а також теплообмін, пов'язаний з різними змінами енергії. Вільну енергію Гіббса називають термодинамічним потенціалом, що характеризує здатність термодинамічної системи виконувати максимальну роботу за умови постійної температури (ізотермічний процес) та постійного тиску (ізобарний процес).

За аналогією з будь-яким мимовільним процесом, зв'язування білка з лігандом відбувається лише тоді, коли зміна вільної енергії Гіббса ( $\Delta G$ ) системи є негативною, і система досягає рівноважного стану за умови постійного тиску та температури. Оскільки ступінь асоціації «білок – ліганд» характеризується величиною негативної  $\Delta G$ , можна вважати, що  $\Delta G$  визначає стабільність певного комплексу «білок – ліганд» та афінність зв'язування ліганду з цим білком. Необхідно зазначити, що вільна енергія є функцією стану системи, отже,  $\Delta G$  визначається лише початковим і кінцевим термодинамічними станами, незалежно від шляху, що пов'язує ці два стани.

Стандартна вільна енергія зв'язування  $\Delta G^\circ$ , яка стосується зміни вільної енергії, вимірюваної за стандартних умов (тиск 1 атм, температури 298°K

та ефективної концентрації реагенту (білка та ліганду) 1 М), пов'язана з константою зв'язування  $K_a$  співвідношенням Гіббса:

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K_a, \quad (4.11)$$

де  $R$  – універсальна газова стала (1,987 кал/°К·моль);

$T$  – температура в градусах Кельвіна.

З рівняння (4.11) стає очевидним таке: що вища константа зв'язування  $K_a$ , то більш негативною стає стандартна вільна енергія зв'язування  $\Delta G^\circ$ , що вказує на те, що кінетичні параметри ( $k_{on}$  та  $k_{off}$  та їх співвідношення  $K_a$ ) визначають термодинамічні властивості комплексу, тобто стабільність комплексу та афінність зв'язування між білком і лігандом.

Вільна енергія зв'язку ( $\Delta G$ ) у будь-який момент, не обов'язково за стандартних умов, у процесі асоціації молекул «білок – ліганд» визначається як

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R \cdot T \cdot \ln Q, \quad (4.12)$$

де  $Q$  – коефіцієнт реакції, що є відношенням концентрації комплексу «білок – ліганд» до добутку концентрацій вільного білка та вільного ліганду в будь-який момент часу. Коли  $Q = K_a$  (як показано в рівнянні (4.10)), реакція асоціації перебуває в рівновазі та  $\Delta G = 0$ .

$\Delta G$  також можна визначити через ентальпійний та ентропійний внески за допомогою фундаментального рівняння:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S, \quad (4.13)$$

де  $\Delta H$  і  $\Delta S$  – зміна ентальпії та ентропії системи в процесі зв'язування ліганду, відповідно;

$T$  – температура в Кельвінах.

Ентальпія – це міра повної енергії термодинамічної системи, дорівнює сумі внутрішньої енергії та добутку тиску на об'єм. Із внутрішньою енергією  $U$  ентальпія зв'язана співвідношенням

$$H = U + P \cdot V, \quad (4.14)$$

де  $U$  – внутрішня енергія;

$P$  – тиск;

$V$  – об'єм.

$\Delta H$  набуває від'ємних значень під час екзотермічних реакцій, наприклад, у процесі формування енергетично вигідних нековалентних зв'язків між атомами; за умови ендотермічних реакцій  $\Delta H$  має позитивні значення, наприклад, у разі розривів енергетично вигідних нековалентних зв'язків. У процесі комплексоутворення «білок – ліганд» ентальпія зв'язування  $\Delta H$  відображає загалом зміну енергії системи й зазвичай розглядається як зміна енергії внаслідок утворення нековалентних взаємодій (ван-дер-ваальсових

контактів, водневих зв'язків, іонних пар та будь-яких інших полярних і неполярних взаємодій) на поверхні зв'язування.

Однак необхідно брати до уваги й тепловий ефект реакції зв'язування, що присутній у біологічній системі «білок – ліганд» завдяки наявності розчинника, і навряд чи можна уявити утворення сприятливих взаємодій без порушення будь-яких інших. Насправді зміна ентальпії під час зв'язування є результатом формування та руйнування багатьох індивідуальних зв'язків, зокрема втрата водневих і ван-дер-ваальсових зв'язків, що утворюються між білком і розчинником та між лігандом і розчинником, а також реорганізації розчинника поблизу поверхонь комплексу «білок – ліганд». Ці окремі складники можуть як сприятливо, так і несприятливо впливати на утворення комплексу, і чиста зміна ентальпії є результатом комбінації цих впливів.

Ентропія – це міра того, наскільки рівномірно буде розподілена теплова енергія в загальній термодинамічній системі. Другий закон термодинаміки визначає, що тепло завжди самовільно перетікає з ділянок із вищою температурою в ділянки з нижчою температурою. Це знижує ступінь упорядкованості вихідної системи, ентропію в цьому разі можна розглядати як міру неупорядкованості в атомах і молекулах системи.

$\Delta S$  – це глобальна термодинамічна властивість системи, позитивний і негативний знаки якої вказують на загальне збільшення або зменшення ступеня свободи системи, відповідно. Загальну зміну ентропії, пов'язану з процесом зв'язування молекул (ентропія зв'язування  $\Delta S$ ), можна поділити на три ентропійні компоненти:

$$\Delta S = \Delta S_{\text{solv.}} + \Delta S_{\text{conf.}} + \Delta S_{r/t}, \quad (4.15)$$

де  $\Delta S_{\text{solv}}$  – зміна ентропії розчинника, яка визначає вивільнення розчинника в процесі зв'язування молекул, що сприятливо впливає на ентропію зв'язування;

$\Delta S_{\text{conf}}$  – зміна конформаційної ентропії, що відображає зміни в конформаційній свободі як білка, так і ліганду після зв'язування. Вплив на ентропію зв'язування може бути як сприятливим, так і несприятливим, оскільки ступінь свободи комплексу може збільшуватися або зменшуватися порівняно зі ступенем свободи незв'язаного комплексу (коли вільний білок і ліганд перебувають у вільному стані);

$\Delta S_{r/t}$  визначає втрату поступального й обертального ступенів свободи білка та ліганду в процесі утворення комплексу, що зменшує кількість частинок у розчині та несприятливо впливає на ентропію зв'язування.

Наведені вище три ентропійні компоненти визначають зміну ентропії, до того ж позитивна й негативна зміни можуть мати сприятливий або несприятливий впливи на вільну енергію зв'язку, відповідно.

### **4.3.3 Рушійні сили зв'язування та ентальпійно-ентропійна компенсація**

Зв'язування білка з лігандом може відбуватися спонтанно лише тоді, коли зміна вільної енергії системи є негативною. Зниження вільної енергії системи, що забезпечує зв'язування білка з лігандом, визначає стабільність комплексу, наприклад, процеси згортання білка та зв'язування білка з лігандом зумовлені зменшенням загальної вільної енергії Гіббса системи.

Як було зазначено вище, дві термодинамічні величини, зміна ентальпії та зміна ентропії, визначають знак і величину вільної енергії зв'язку. Тому будемо вважати  $\Delta H$  і  $\Delta S$  рушійними факторами для зв'язування в системі «білок – ліганд». Впливи  $\Delta H$  і  $\Delta S$  у  $\Delta G$  тісно пов'язані. Наприклад, міцне зв'язування внаслідок кількох сприятливих нековалентних взаємодій між асоціюючими молекулами призведе до значної негативної зміни ентальпії, але це зазвичай супроводжується негативною зміною ентропії через обмеження рухливості взаємодіючих молекул, що зрештою змінить вільну енергію зв'язку.

Так само великий приріст ентропії зазвичай супроводжується позитивною зміною ентальпії через енергію, необхідну для руйнування нековалентних взаємодій. Явище зміни вільної енергії, спричинене додатковими змінами між ентальпією та ентропією, називається ентальпійно-ентропійною компенсацією. Зазначена компенсація має складне підґрунття й може, наприклад, оманливо інтерпретувати інформацію, отриману з вузького діапазону температур, або з обмеженого діапазону вільних енергій. З іншого боку, компенсація може бути наслідком випадкових експериментальних і систематичних помилок або результатом зміщення відбору даних. Проте ентальпійно-ентропійна компенсація дуже часто спостерігається в термодинамічних дослідженнях у процесі зв'язування біологічних систем, а також в аналізі калориметричних показників унаслідок молекулярного зв'язування «білок – ліганд» тощо. Основна вимога в аналізі показників – це дотримання чітких критеріїв для визначення справжніх ефектів компенсації.

На компенсацію впливають численні фактори, зокрема структурні та термодинамічні властивості розчинника (гідрофобний ефект, сольватація, десольватація та локальна структура води), конфірмаційна гнучкість сайту

зв'язування в системі «білок – ліганд», молекулярна структура ліганду та зміна міжмолекулярних сил у процесі зв'язування.

Оскільки ентальпійно-ентропійна компенсація не викликає різких змін у вільній енергії зв'язку, тонке розуміння того, який саме вплив у вільну енергію зв'язку переважає – ентропійний чи ентальпійний, має важливе значення в дослідженнях, пов'язаних із медичною хімією, особливо в процесі розроблення ліків. Основна стратегія оптимізації полягає в тому, щоб максимально виявити сприятливий ентропійний або ентальпійний впливи, усуваючи шкідливі ефекти ентальпійно-ентропійної компенсації на термодинамічному рівні, для того щоб зрештою досягти найбільшого зменшення вільної енергії зв'язку.

#### 4.4 Методи вимірювання специфічності комплексоутворення

Існує чимало способів вимірювання спорідненості зв'язування та констант дисоціації, наприклад, аналіз затримки електрофоретичного зсуву в гелі, аналіз афінної адсорбції, рівноважний діаліз, аналітичне ультрацентрифугування, спектрофотометричний аналіз. З-поміж цих методів ізотермічна титраційна калориметрія (ІТК) – це прямий безмаркерний аналіз, за допомогою якого вимірюється спорідненість зв'язування між двома біомолекулами, що взаємодіють, наприклад у процесі зв'язування білка і ліганду. ІТК вимірює значення  $K_D$  у мілімолярному та наномолярному діапазоні. Цей метод може визначити стехіометрію зв'язування та параметри термодинаміки зв'язування, які необхідні для того, щоб схарактеризувати міжмолекулярні взаємодії. Цей метод називається «золотий стандарт» аналізу взаємодії молекул, оскільки він дає змогу не тільки вивчати широкий спектр взаємодій та забезпечувати високі кількісні значення  $K_D$ , а також точно визначає стехіометрію реакції, ентальпію ( $\Delta H$ ) та ентропію ( $\Delta S$ ) реакції.

Спектрофотометрія є одним з інформативних методів оцінювання термодинамічних і структурних особливостей за умови взаємодії «білок – ДНК», «білок – РНК». Метою цього методу є вивчення взаємозв'язку між вільною енергією, збереженням послідовності в структурі макромолекул і структурною кооперативністю. Інформація про структурні та зв'язувальні характеристики білок-нуклеїнових комплексів є підґрунтям до розуміння тонких механізмів регуляції експресії генів і реалізації генетичної інформації на рівні синтезу білкових молекул і посттрансляційної модифікації поліпептидів.

#### 4.5 Контрольні запитання та завдання

1. Чим забезпечується молекулярна взаємодія в біофізичній системі?
2. Параметри, що організують і регулюють утворення молекулярних контактів.
3. Значення константи дисоціації для розуміння взаємодії між парами «молекула – молекула», «молекула – іон».
4. Що таке молекулярне впізнавання? У чому полягає його значення для функціонування клітини?
5. Наведіть приклади утворення комплексів між важливими біологічними макромолекулами.
6. Які молекулярні взаємодії є основними під час комплексоутворення?
7. Основні типи впізнавання білка з послідовністю ДНК.
8. Наведіть приклади комплексоутворення між білками та нуклеїновими кислотами для реалізації матричних процесів – реплікації, транскрипції, трансляції.
9. Що таке спорідненість за умови взаємодії біологічних макромолекул?
10. Основні фізико-хімічні механізми, що лежать в основі взаємодії «білок – ліганд».
11. Визначіть рушійні сили для специфічного зв'язування.
12. Кінетика зв'язування «білок – ліганд». Швидкості прямої та зворотної реакції.
13. Поясніть твердження «білок – ліганд – розчинник – це термодинамічна система».
14. Параметри зв'язування в системі «білок – ліганд».
15. Поясніть біофізичний зміст ентропійно-ентальнійної компенсації.
16. Як впливає вільна енергія в стабільність комплексу «білок – ліганд».
17. Поясніть вплив зміни вільної енергії біофізичної системи на афінність зв'язування ліганду з білком.
18. Біофізичне значення методу ізотермічної титраційної калориметрії у зв'язуванні спорідненості біологічних макромолекул та їх лігандів.
19. Значення методу спектрофотометрії для оцінювання термодинамічних параметрів комплексоутворення.
20. Методи вимірювання специфічності комплексоутворення.

## 5 БІОФІЗИКА БІЛКІВ

### 5.1 Різноманітність і функції білків у клітині

Білки – це високомолекулярні органічні сполуки, що в живій клітині є однією або декількома поліпептидними ланцюгами, мономерами яких є амінокислоти. Молекулярні маси білків лежать у діапазоні від 6 кДа до понад мільйона.

В організмі людей і тварин вміст білка значно вищий, ніж у рослин. У м'язах, легенях, селезінці, нирках на білки припадає понад 70–80% сухої маси, у печінці – 57%, у мозку – 45%. Найнижчий вміст білка у кістковій тканині – 20%. Неоднаковий вміст білка і в різних субклітинних органелах. Найбільше його в гіалоплазмі (40% проти загального білка клітини). Мітохондрії та мікросоми містять по 20%, ядро – 12%, лізосоми – 2%, пероксисоми – 2,5%, плазматична мембрана – 1,5%.

Вміст хімічних елементів у білку (% від сухої маси): вуглець – 51–55; кисень – 21–28; азот – 15–18, водень – 6–7, сірка – 0,3–2,5.

Структурна організація та хімічний склад білкових молекул визначають різноманітність їх функцій. Обмін речовин, структура й функції кожної клітини визначаються білками. Хімічні реакції в клітині прискорюються в сотні тисяч разів завдяки ферментам – білкам із каталітичною функцією. Структурні та захисні білки є важливими елементами захисних і сполучних тканин; імуноглобуліни – білки імунної системи організму, фібриноген і тромбін – білки, що діють як фактори згортання крові. Особливі білки структурують клітинну мембрану й цим відмежовують внутрішнє середовище клітини від зовнішнього. Білки-переносники внутрішньої мембрани мітохондрій забезпечують транспорт електронів у процесі клітинного дихання та фотосинтезу.

Група транспортних білків виконує функцію транспорту продуктів обміну речовин: кисень у крові переноситься гемоглобіном, залізо – трансферином, мідь – церулоплазміном, жирні кислоти – альбумінами плазми крові. Резервні білки, зокрема альбумін яєчного білка або казеїн молока, депонуються у вигляді амінокислот, що потім використовуються в онтогенезі; наприклад, феритин – «депо» заліза в селезінці. Скоротливі білки – актин і міозин беруть участь у скороченні м'язових міофібрил. Рецепторні білки відповідають за сприйняття зовнішніх сигналів і проведення їх всередину

клітини. Білки з антивірусними властивостями – інтерферони – утворюються після первинної вірусної інфекції організму та пригнічують подальше розмноження вірусів. Розчинні глобулярні білки, наприклад сироватковий альбумін плазми крові, відповідають за підтримку осмотичного тиску.

За складом білки розрізняють прості та складні. Прості білки містять лише амінокислоти, складні білки мають не лише амінокислоти, а й групи іншої хімічної природи, що називаються простетичними групами. Залежно від природи простетичної групи складні білки поділяють на протеїди, глікопротеїди, ліпопротеїди, хромопротеїди, металопротеїди, фосфопротеїди. За формою молекули білки є глобулярними та фібрилярними.

## 5.2 Структурна організація білкових молекул

Виокремлюють чотири рівні структурної організації білкових молекул. Зв'язки, що беруть участь в організації вторинної, третинної та четвертинної структур, зображені на рис. 5.1.

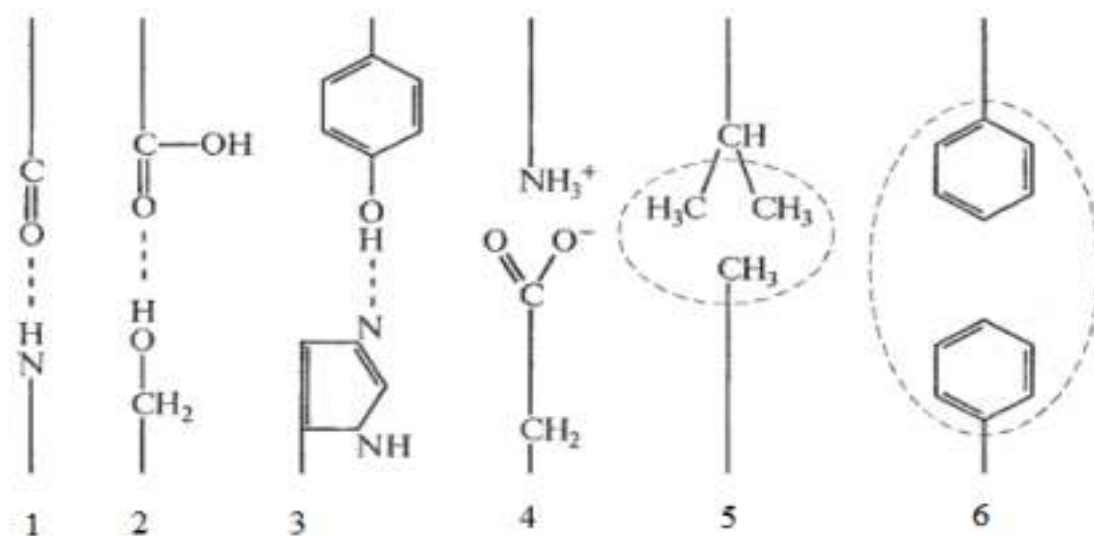


Рисунок 5.1 – Водневі зв'язки: 1 – між пептидними групами; 2 – між кислотами та спиртами (серин); 3 – між фенолом та імідазолом. Електростатичні взаємодії: 4 – між основами (аргінін, лізин) та кислотами (глутамінова, аспарагінова).

Гідрофобні взаємодії: 5 – за участю лейцину, ізолейцину, валіну, аланіну;

6 – за участю фенілаланіну

Первинна структура білка визначається природою амінокислот, що містяться в складі білкової молекули, абсолютною та відносною кількістю залишків кожної амінокислоти, послідовністю амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі. У разі наявності простетичних груп їх склад

і кількість також є первинною структурою. Вторинна структура визначається просторовою орієнтацією поліпептидного ланцюга. Третинна структура характеризує тривимірну структуру поліпептидного ланцюга, зокрема й орієнтацію простетичних груп. Четвертинна структура білка утворюється внаслідок взаємодії двох або більше поліпептидних ланцюгів за допомогою нековалентних зв'язків.

Первинною структурою білкової молекули є лінійна послідовність амінокислот, кожна попередня амінокислота з'єднана з наступною за допомогою пептидного зв'язку (рис. 5.2).

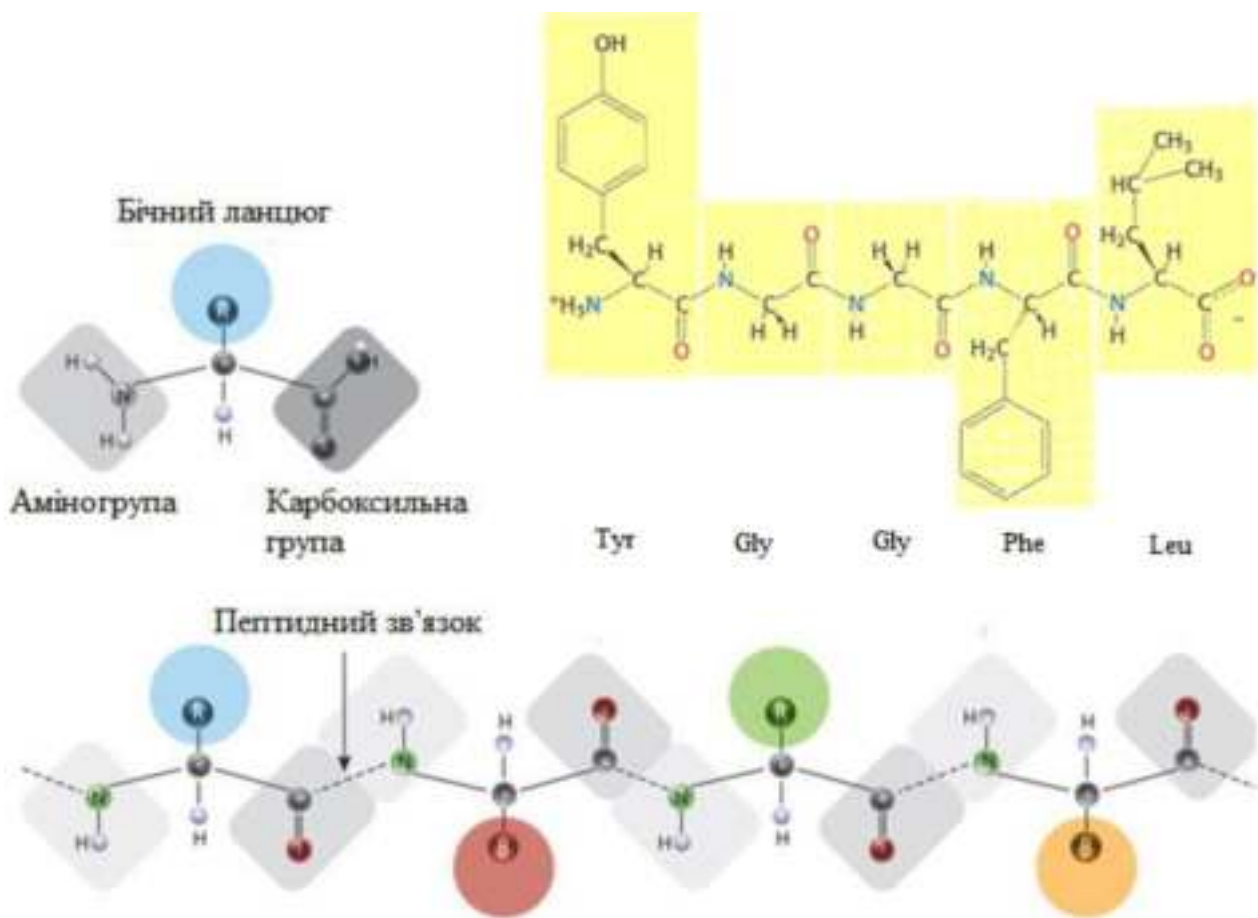


Рисунок 5.2 – Побудова поліпептидного ланцюга білкової молекули за допомогою пептидних зв'язків між сусідніми амінокислотними залишками

Білки побудовані з 20 амінокислот, кожна з яких має унікальний бічний ланцюг ( $R$  – радикал амінокислоти) (рис. 5.3).

Водневі зв'язки між аміногрупами й карбоксильними групами в сусідніх ділянках білкового ланцюга спричиняють його згортання та утворення вторинних структур –  $\alpha$ -спіралі та  $\beta$ -листа (рис. 5.4, 5.5).

Хімічний склад бічних ланцюгів амінокислот має вирішальне значення для формування певної конформації білка. Бічні ланцюги заряджених

амінокислот можуть утворювати іонні зв'язки, а полярні радикали амінокислот здатні утворювати водневі зв'язки. Гідрофобні бічні ланцюги взаємодіють один з одним через слабкі ван-дер-ваальсові взаємодії. Переважна більшість зв'язків за участю радикалів амінокислот є нековалентними.

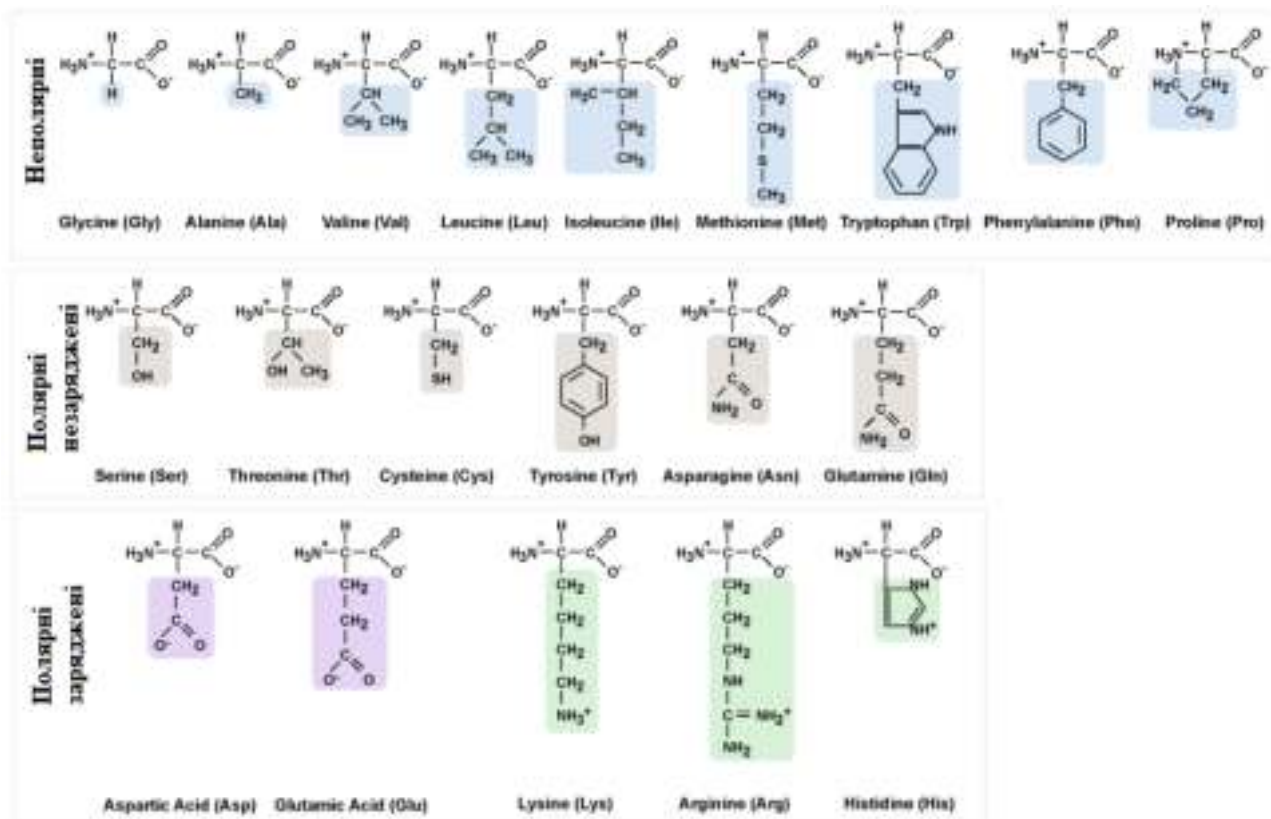


Рисунок 5.3 – Структура амінокислот, що містяться в складі білків

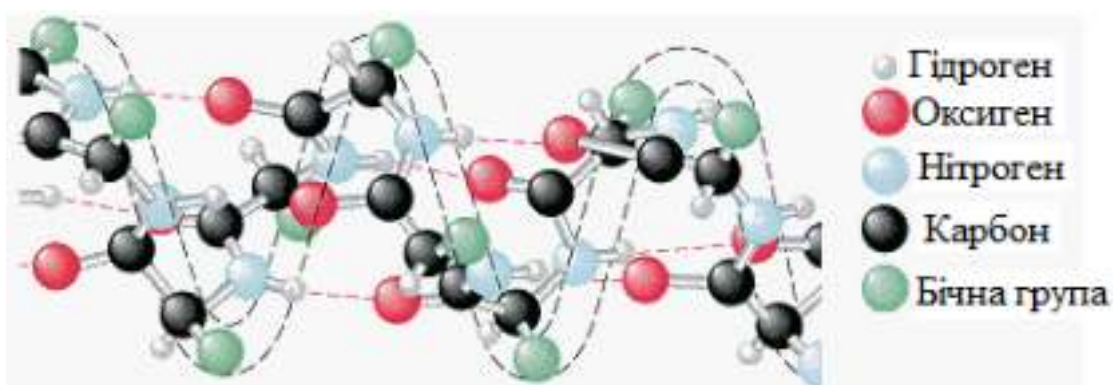


Рисунок 5.4 – Водневі зв'язки між сусідніми пептидними зв'язками дають змогу поліпептидам утворювати праву  $\alpha$ -спіраль. Один виток уздовж спіралі містить 3,6 амінокислотного залишку

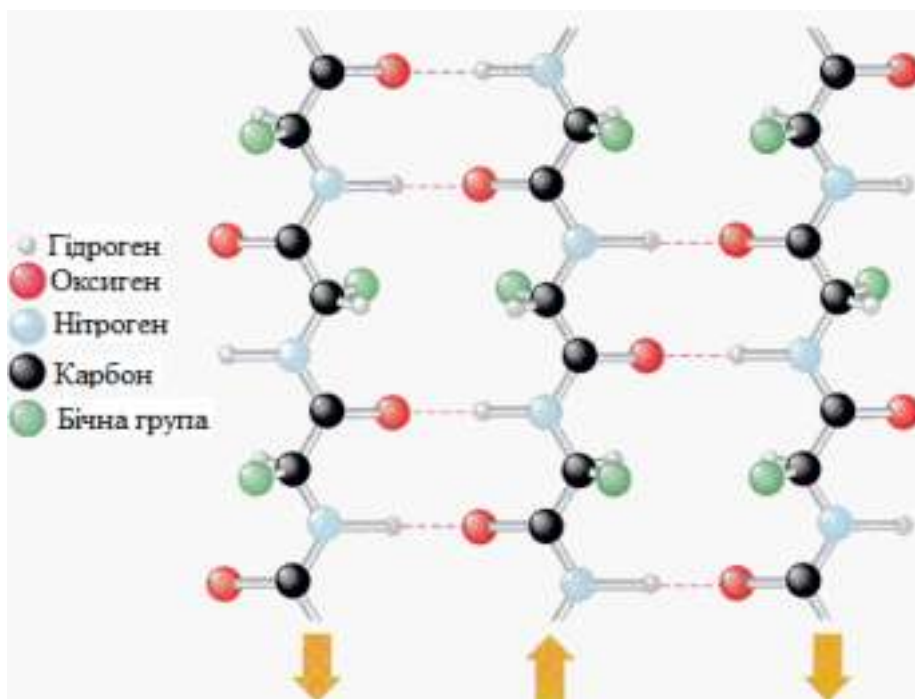


Рисунок 5.5 – Дві антипаралельні  $\beta$ -складчасті структури

### 5.2.1 Торсійні кути поліпептидного ланцюга

Поліпептидний остов описують за допомогою торсійних кутів, що також називаються кутами Рамачандрана, на честь індійського фізика, який працював над моделюванням взаємодій у поліпептидних ланцюгах. Кут  $\varphi$  (*phi*) – це кут навколо зв'язку  $-N-C\alpha-$  (де  $C\alpha$  – вуглець в  $\alpha$ -положенні), кут  $\psi$  (*psi*) – це кут навколо зв'язку  $-C-C\alpha-$ . Кут  $\omega$  (*omega*) – це кут навколо зв'язку  $-C-N-$  (тобто навколо пептидного зв'язку) (рис. 5.6) (табл. 5.1).

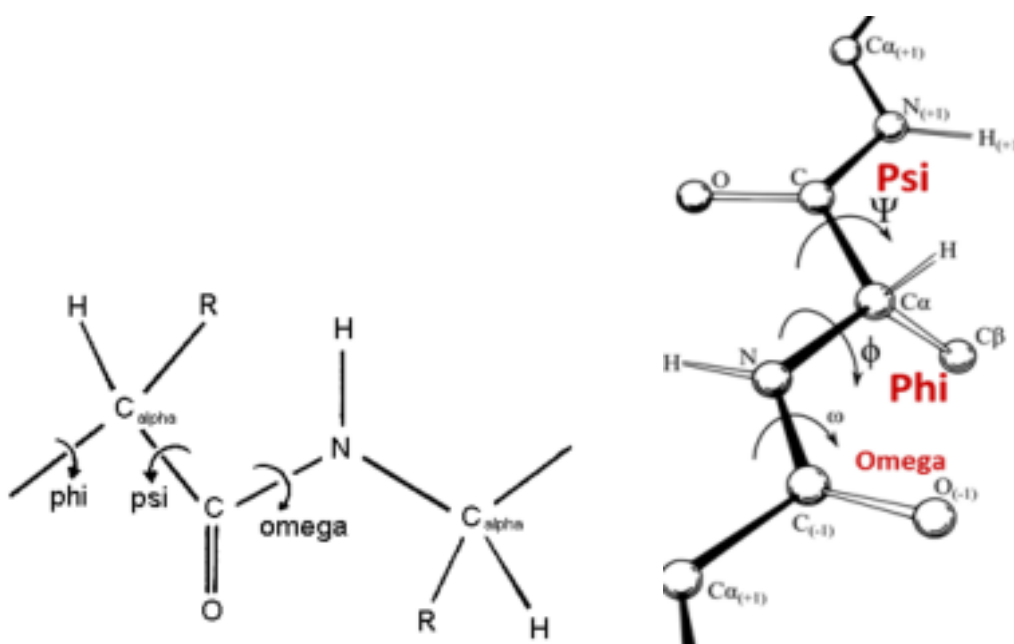


Рисунок 5.6 – Три основні торсійні кути поліпептидного ланцюга

Таблиця 5.1 – Приблизні значення торсійних кутів для деяких поліпептидів

|  | $\phi$ (deg)  | $\psi$ (deg)     | $\omega$ (deg) |
|--|---------------|------------------|----------------|
| Right handed $\alpha$ helix ( $\alpha$ -poly(L-alanine))     | -57           | -47              | +180           |
| Left-handed $\alpha$ helix                                   | +57           | +47              | +180           |
| Parallel-chain pleated sheet                                 | -119          | +113             | +180           |
| Antiparallel-chain pleated sheet ( $\beta$ -poly(L-alanine)) | -139          | +135             | -178           |
| Polyglycine II   | -80           | +150             | +180           |
| Collagen   | -51, -76, -45 | +153, +127, +148 | +180           |
| Poly(L-proline) I  | -83           | +158             | 0              |
| Poly(L-proline) II   | -78           | +149             | +180           |

Спосіб побудови та візуалізації торсійних кутів білка був запропонований Рамачандраном, тому його називають графіком Рамачандрана. На цьому графіку зазначено розподіл торсійних кутів у білковій структурі (рис. 5.7).

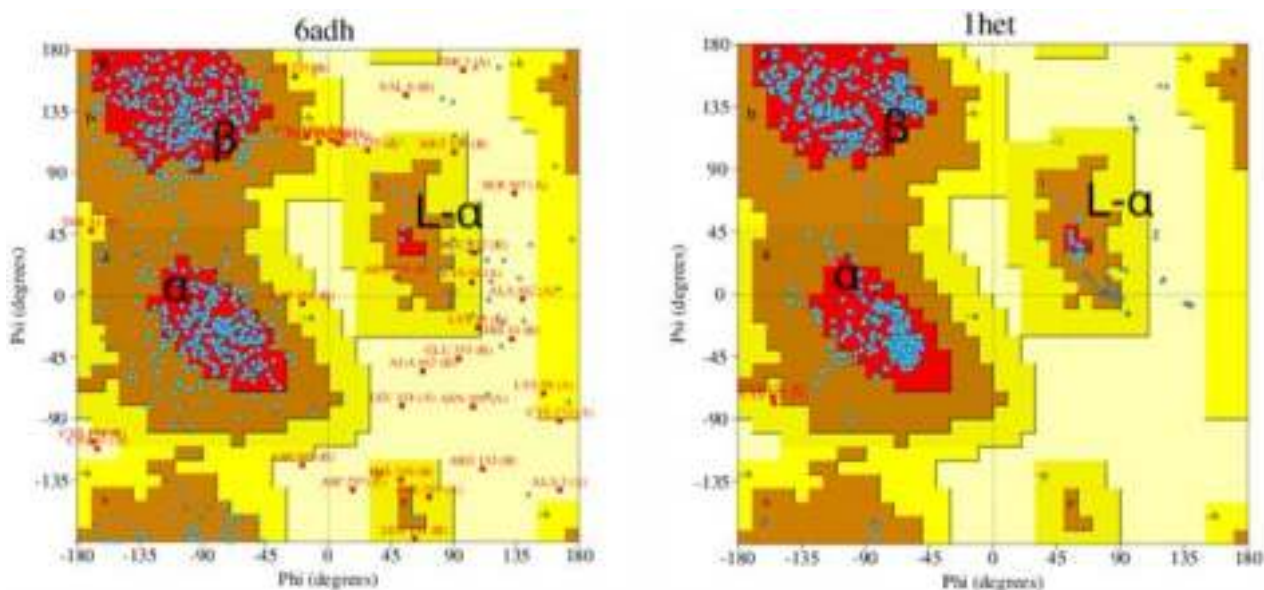


Рисунок 5.7 – Графік Рамачандрана. Розподіл торсійних кутів білка за умови двох різних роздільних здатностей. Зображення ліворуч (код *PDB*: *6adh*) відповідає структурі з роздільною здатністю приблизно 2,9 Å, праворуч – структура з вищою роздільною здатністю (код *PDB*: *1het*) – 1,15 Å. Точки для структури з високою роздільною здатністю добре згруповані в енергетично найбільш вигідних червоних ділянках  $\alpha$ -спіралей,  $\beta$ -листів і лівої  $\alpha$ -спіралі (*L- $\alpha$* )

Відповідно до графіка Рамачандрана за умови нижчої роздільної здатності багато точок розташовані в енергетично менш сприятливих (жовтих) ділянках. Горизонтальна вісь графіка показує значення  $\phi$ , а вертикальна – значення  $\psi$ . І горизонтальна, і вертикальна осі починаються від -180 до +180. Кластер верхньої червоної ділянки відповідає торсійним кутам  $\beta$ -структури, а нижній кластер червоної ділянки відповідає  $\alpha$ -спіральному структурам.

Вища роздільна здатність рентгенівських показників зазвичай призводить до більш якісної тривимірної структури. Наприклад, на графіку Рамачандрана для структури з вищою роздільною здатністю значення торсійних кутів згруповані в червоних ділянках ( $\alpha$ - і  $\beta$ -ділянки). Їх називають дозволеними або енергетично найбільш сприятливими ділянками. Інші менш сприятливі (жовтий колір), що є результатом стеричних перешкод, спричинених специфічними обертаннями навколо поліпептидного ланцюга. Це призводить до наближення атомів один до одного та створює високу енергію стеричного відштовхування. Діаграма Рамачандрана слугує одним з індикаторів передбачення якості тривимірної структури. Білкова база даних (*PDB*) містить детальний опис кожної структури з коротким графічним поясненням певної структури. На рис. 5.8 показано графічний опис структур *badh* та *1het* (*PDB*), діаграми Рамачандрана для яких наведено вище.

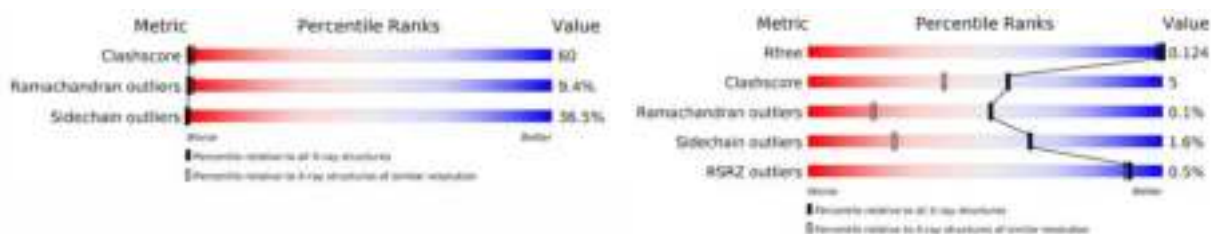


Рисунок 5.8 – Графічний опис *badh* та *1het* із білкової бази даних (*PDB*). У структурі *badh* атоми занадто близько розташовані один щодо одного – 9,4% невідповідність значень торсійних кутів до діаграми Рамачандрана та 36,5% – невідповідність бічного ланцюга. Для структури *1het* – лише 0,1% – невідповідність значень торсійних кутів до діаграми Рамачандрана

### 5.2.2 Особливості згортання білкової молекули

Для реалізації своїх функцій білки мають прийняти особливу форму, що реалізується під час фолдингу (згортання). Фолдинг – це процес самозгортання білка, що супроводжується сприятливою зміною вільної енергії  $\Delta G$  (рис. 5.9).

Відомо, що 20 амінокислот відповідають за синтез білкових ланцюгів, кожна з цих амінокислот кодується триплетами, тобто один код містить три нуклеотиди.

На сьогодні до кінця не розв'язаними залишаються питання:

1) чому серед багатьох комбінацій генетичних кодів частина відповідає за синтез білків із первинною структурою, а інша частина генетичного коду – за згортання білкової молекули в третинну поліпептидну структуру;

2) чому деякі послідовності складаються у впорядковані сегменти, наприклад  $\alpha$ -спіралі і  $\beta$ -листи, а інші – у витки та петлі. Тому проблема згортання білка розглядається як питання прогнозування третинної структури білка на основі первинної амінокислотної послідовності.

Амінокислотна послідовність не є єдиним чинником, що визначає форму білкової молекули. У клітині існують спеціальні молекули – регулятори фолдингу, які беруть активну участь у згортанні білків. Молекули, що прискорюють фолдинг, називають каталізаторами фолдингу.

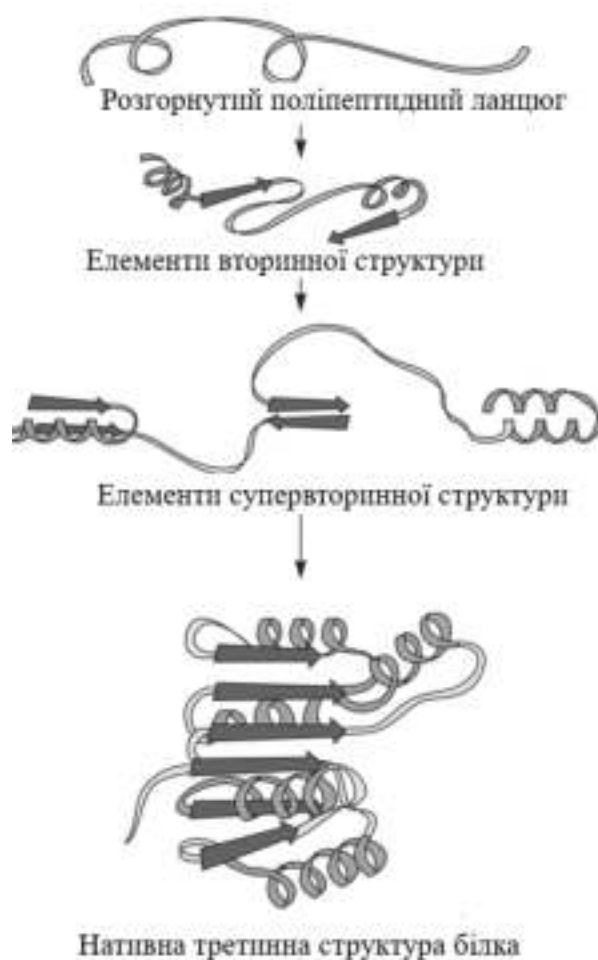


Рисунок 5.9 – Схема послідовного формування нативної третинної структури білка з розгорнутого поліпептидного ланцюга з утворенням супервторинної структури (поєднання кількох  $\alpha$ -спіралей)

Шаперонами фолдингу називають молекули, що слугують для зміни форми білка, запобігають взаємодії синтезованих білків один з одним, ізолюють

гідрофобні ділянки білків від цитоплазми, орієнтуючи їх усередину молекули, правильно розташовують білкові домени. Існує чотири типи молекул, які відіграють роль шаперонів: 1) фолдинг-шаперони забезпечують правильний фолдинг білків (*folding chaperones*); 2) молекули, що утримують частково згорнуті молекули білка в певному положенні (*holding chaperones*); 3) шаперони, які розгортають білки з неправильною формою (*disaggregating chaperones*); 4) молекули, які супроводжують білки, що транспортуються крізь клітинну мембрану (*secretory chaperons*).

Отже, синтезовані білки після виходу з рибосом для правильного функціонування мають згорнутися в стабільні тривимірні структури та залишатися такими протягом усього функціонального життя клітини. Підтримка контролю якості структури білка здійснюється шаперонами, що каталізують укладання поліпептидів. Шаперони зв'язуються з гідрофобними ділянками неправильно згорнутих білків, допомагають їм згорнутися і досягти стабільної нативної структури. Протягом свого функціонального життя білок може зазнавати різних стресів та денатурації. Такі частково денатуровані білки можуть стати, по-перше, мішенню протеаз, по-друге, агрегувати й, по-третє, згортатися в нативну структуру за допомогою шаперонів (рис. 5.10).

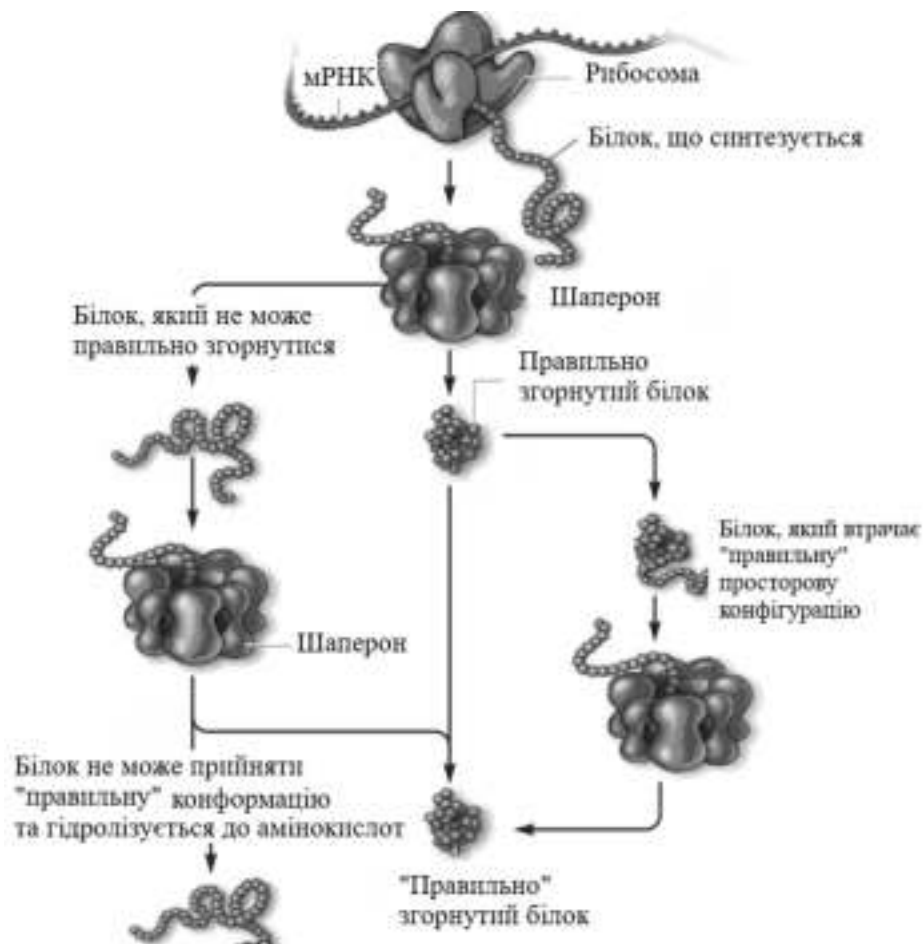


Рисунок 5.10 – Схема будови та реалізації функцій шаперонів

Основні чинники згортання білків містять гідрофобний ефект, канонічні водневі зв'язки, а також кулонівські та ван-дер-ваальсові взаємодії. Протягом останніх кількох десятиліть було виявлено додаткові або вторинні взаємодії, що містять водневі зв'язки типу  $C-H \cdots O$ ,  $n \rightarrow \pi^*$  взаємодії,  $C_5$  водневі зв'язки (водневий зв'язок між  $N-H$  і  $C=O$  групами в  $\beta$ -листах), взаємодії за участю ароматичних кілець (катион- $\pi$ ,  $X-H \cdots \pi$ ,  $\pi \cdots \pi$ , аніон- $\pi$ ) та халькогеновий зв'язок за участю хімічних елементів 16-ї групи періодичної таблиці хімічних елементів (кисню, сірки, селену, телуру тощо) (рис. 5.11) (табл. 5.2).

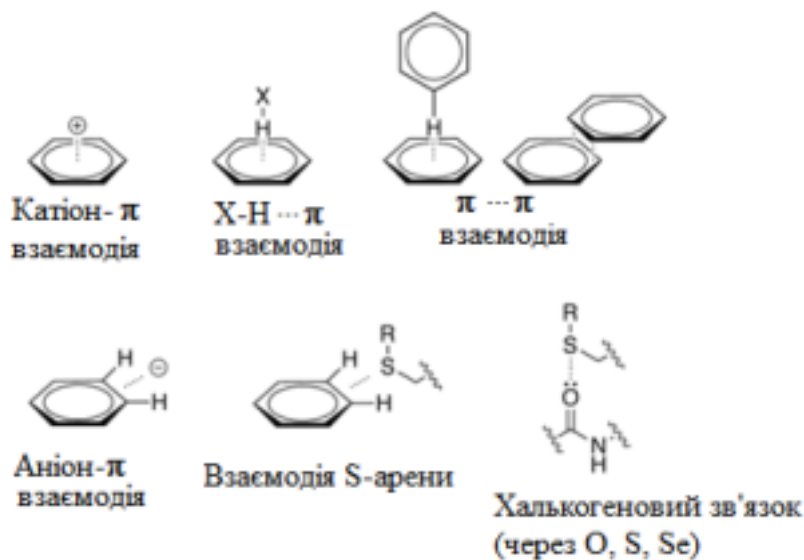


Рисунок 5.11 – Вторинні взаємодії за участю бічних ланцюгів

Енергії водневих зв'язків  $C-H \cdots O$  становлять 1-2 ккал/моль, що приблизно удвічі менше за канонічні водневі зв'язки, довжина зв'язку  $< 2,5 \text{ \AA}$  (табл. 5.1). Прикладом водневих зв'язків  $C-H \cdots O$  у білків є міжланцюговий  $C\alpha - H \cdots O = C$  водневий зв'язок у  $\beta$ -структурах. Контакти  $C-H \cdots O$  реалізуються на відстанях, значно коротших за ван-дер-ваальсові, у цьому разі донор-акцепторна взаємодія відбувається в межах площини пептидного зв'язку. Для  $\alpha$ -спіралі водневі зв'язки типу  $C-H \cdots O$  менш властиві (рис. 5.12).

Третинна структура належить до унікальної тривимірної форми білка, що є результатом згортання та згинання білкового остова. Третинна структура тісно пов'язана з біохімічним функціонуванням білка.

Основні типи взаємодій визначають форму й стабільність третинної структури білків. Іонні зв'язки є результатом електростатичного притягання між позитивно й негативно зарядженими бічними ланцюгами амінокислот. Наприклад, взаємне притягання між іоном карбоксилату аспарагінової кислоти та іоном амонію лізину допомагає підтримувати згорнуту ділянку

білка (рис. 5.13). Водневий зв'язок утворюється між високо електронегативним атомом кисню або атомом азоту та атомом водню, приєднаним до іншого атома кисню або атома азоту, наприклад, у бічних ланцюгах полярних амінокислот. Водневі зв'язки, як і іонні, надзвичайно важливі як у внутрішньо-, так і міжмолекулярних взаємодіях.

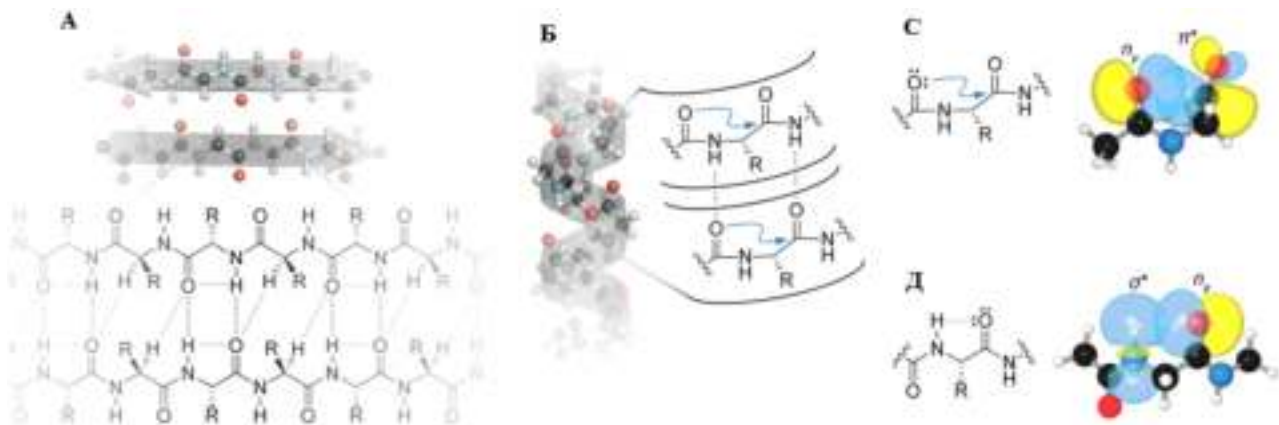


Рисунок 5.12 – Додаткові взаємодії в білкових молекулах за участю основного ланцюга. Структурна модель  $\beta$ -листа: водневі зв'язки (чорні штрихові лінії), водневі зв'язки  $C-H\cdots O$  (зелені штрихові лінії) (А).

Структурна модель  $\alpha$ -спіралі: водневі зв'язки основного ланцюга (чорні штрихові лінії) і взаємодії  $n\rightarrow\pi^*$  (сині стрілки) (Б). Орбітальні перекриття, що лежать в основі взаємодій  $n\rightarrow\pi^*$  та  $C_5$  водневий зв'язок (С, Д)

Таблиця 5.2 – Частоти зустрічальності та енергії вторинних взаємодій, що задіяні в процес згортання білків

| Тип взаємодії                 | Частота зустрічальності на 100 амінокислотних залишків | Енергія взаємодії (ккал/моль) |
|-------------------------------|--|-------------------------------|
| $n\rightarrow\pi^*$ взаємодії | 33   | 0,25                          |
| $C-H\cdots O$ водневі зв'язки | 10   | 0–1                           |
| $\pi-\pi$ взаємодії           | 5  | 0,5–1,5                       |
| $C_5$ водневі зв'язки         | 5  | 0,25–1,5                      |
| Катіон- $\pi$ взаємодії       | 1–2  | 0,5–2                         |
| Сірка–арени взаємодії         | 2–3  | 0,3–0,5                       |
| Халькогенові зв'язки          | <1   | 0,64                          |
| $X-H\cdots\pi$ взаємодії      | 1  | 0,35                          |

Дисульфідні зв'язки утворюються, коли два амінокислотних залишки цистеїну наближаються один до одного в процесі згортання білка. Окислення та зв'язування атомів сірки у високореакційноздатних сульфгідрильних ( $SH$ ) групах призводить до утворення цистину. Внутрішньоланцюгові дисульфідні

зв'язки присутні в багатьох білках, зокрема інсулін, і сильно стабілізують третинну структуру.

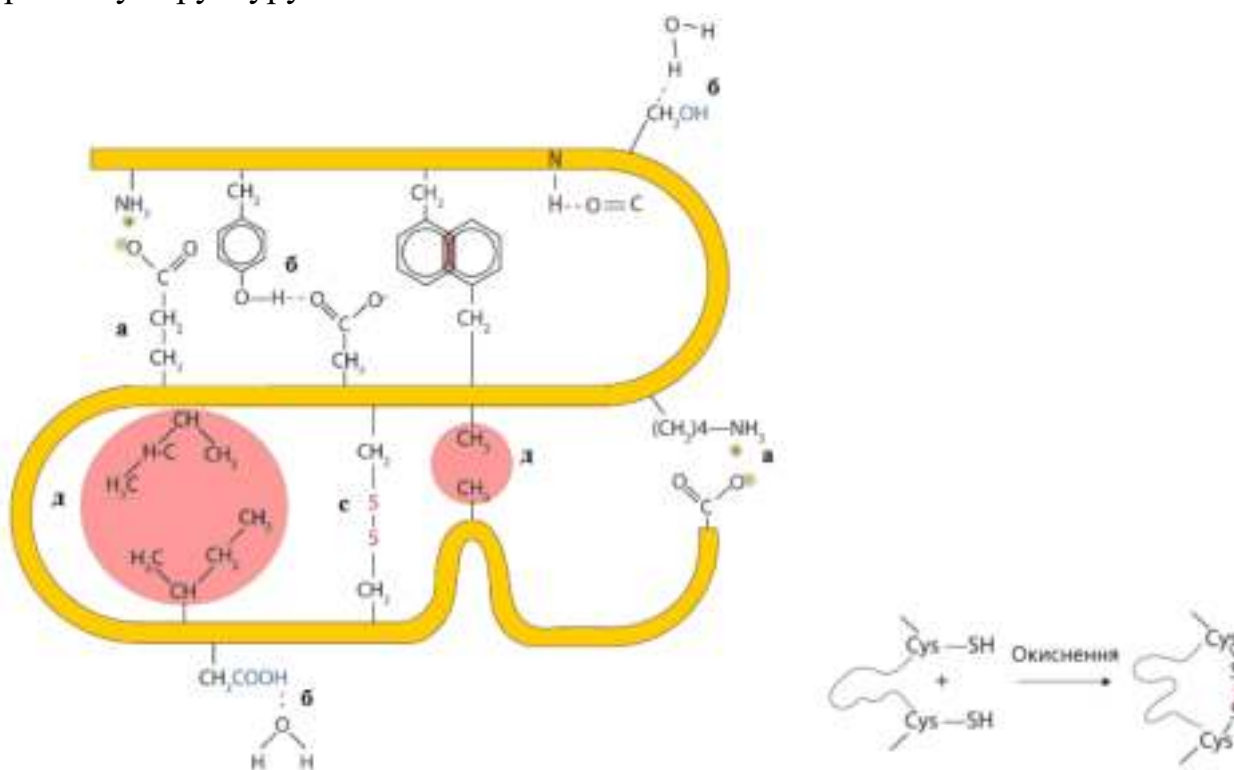


Рисунок 5.13 – Взаємодії, що стабілізують третинну структуру білка:

- а – іонний зв'язок; б – водневі зв'язки;
- с – дисульфідні зв'язки; д – дисперсійні сили

Дисперсійні сили виникають, коли неполярний атом на мить стає полярним через нерівномірний розподіл електронів, що призводить до утворення миттєвого диполя, який викликає зміщення електронів у сусідньому неполярному атомі. Дисперсійні сили є слабкими, але можуть бути важливими, коли внесок інших типів взаємодій, або відсутній, або мінімальний. Це стосується фіброїну, основного білка шовку, у якому значна частка амінокислот має неполярні бічні ланцюги. Гідрофобні взаємодії виникають через те, що молекули води беруть участь у водневих зв'язках з іншими молекулами води або іншими групами білків, здатними до утворення водневих зв'язків. Оскільки неполярні групи не можуть брати участь у водневих зв'язках, білок згортається таким чином, що ці групи орієнтовані у внутрішню частину білкової структури, зводячи до мінімуму їх контакт із водою.

Білок може складатися з більш ніж одного поліпептидного ланцюга, тобто з декількох субодиниць. Просторове розташування кількох субодиниць забезпечує четвертинну структуру білка. Гемоглобін із чотирма поліпептидними ланцюгами є прикладом білка з четвертинною структурою (рис. 5.14).

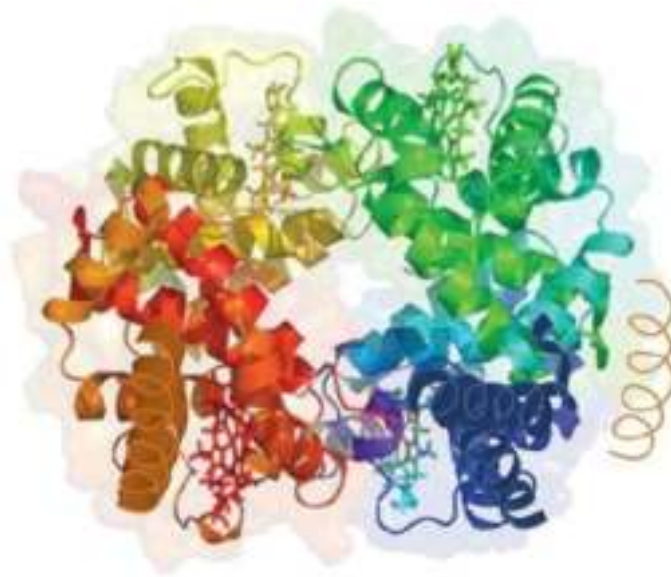


Рисунок 5.14 – Четвертинна структура гемоглобіну

Четвертинна структура білка утворюється та стабілізується тими самими видами взаємодій, що підтримують третинну структуру.

### **5.3 Фактори, що спричиняють денатурацію та ренатурацію білків**

Нативний стан білкової молекули є термодинамічно найбільш стабільним із найменшою можливою вільною енергією за фізіологічних умов. Високоорганізованим структурам білків властива денатурація – процес будь-якої зміни в тривимірній структурі білка, що робить його нездатним виконувати призначену функцію. Денатурація супроводжується змінами вторинної, третинної та четвертинної структур білків без розриву пептидних зв'язків. Існує широкий спектр реагентів і умов, таких як тепло, органічні сполуки, зміна рН, іони важких металів, які можуть спричинити денатурацію білка та перевести білок у нову рівноважну структуру (табл. 5.3).

Денатурація передбачає перетворення чітко визначеної згорнутої структури білка, утвореної за фізіологічних умов, у розгорнутий стан за нефізіологічних умов. Пряме вимірювання фракцій нативного та денатурованого білка в розчині неможливе. Але конформаційні зміни в білках незмінно впливають на їх хімічні та фізичні властивості, такі як поглинання ультрафіолету (УФ), флуоресценцію, в'язкість, коефіцієнт седиментації, оптичне обертання, круговий дихроїзм, реакційну здатність сульфгідрильних груп і активність ферментів. Отже, денатурацію білка можна вивчати, спостерігаючи за змінами цих фізичних і хімічних властивостей.

Таблиця 5.3 – Методи денатурації білка

| Метод   | Вплив на структуру білка  |
|---|---|
| Нагрівання вище ніж 50 °С або УФ-випромінювання.              | Висока температура або УФ-випромінювання надають білковим молекулам кінетичну енергію, що прискорює коливальні та вібраційні коливання атомів білка та порушує відносно слабкі водневі зв'язки та дисперсійні сили. |
| Використання органічних сполук, таких як етилен.              | Ці сполуки здатні утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки з білковими молекулами, порушуючи внутрішньомолекулярні водневі зв'язки всередині білка.  |
| Солі іонів важких металів, таких як ртуть, срібло та свинець. | Ці іони здатні утворювати міцні зв'язки з карбоксилатом кислих амінокислот або <i>SH</i> -груп цистеїну, розриваючи як іонні зв'язки, так і дисульфідні зв'язки.  |
| Алкалоїдні реагенти.  | Ці реагенти з'єднуються з позитивно зарядженими аміногрупами в білках для того, щоб розірвати іонні зв'язки.  |

Денатурація білків може бути оборотною. Коли денатурант вилучається з розчину білка або зразок охолоджується, більшість мономерних білків за відсутності агрегації повторно згортаються до своєї нативної конформації за відповідних умов розчину, таких як рН, іонна сила, окисно-відновний потенціал і концентрація білка. Наприклад, гліцинін (один із запасних білків сої) накопичується та випадає в осад у процесі зберігання за умови 2°C, а потім стає розчинним у разі повернення до температури доквілля.

Деякі олігомерні ферменти, зокрема лактатдегідрогеназа та гліцеральдегідфосфатдегідрогеназа, втрачають свою ферментативну активність за температури 4°C, що супроводжується дисоціацією субодиниць. Однак, якщо нагріти білок до температури доквілля та витримати за цієї температури протягом кількох годин, субодиниці знову об'єднуються та повністю відновлюють свою активність.

Термічна денатурація мономерних глобулярних білків здебільшого оборотна. Наприклад, коли мономерні ферменти нагрівають вище за температуру денатурації або навіть ненадовго витримують у разі 100°C, а потім швидко охолоджують до кімнатної температури, вони повністю

відновлюють свою активність. Проте термічна денатурація може стати незворотною, якщо білок нагрівають за температури 90–100°C протягом тривалого періоду, навіть у разі нейтрального рН. Необоротність процесу денатурації виникає через хімічні зміни в білку, таких як дезамінування залишків *Asn*, розщеплення пептидних зв'язків у залишках *Asp*, руйнування залишків *Cys* та агрегація.

Ренатурація білка – це перетворення денатурованого білка в його тривимірну структуру, що передбачає реконструкцію білкової молекули після втрати її початкової структури. Ренатурація – процес, зворотний денатурації; ренатурація іноді буває оборотною. Одним із способів ренатурації білка є вилучення додецилсульфату натрію та денатуруючих агентів після денатурації під час електрофорезу в поліакриламідному гелі або ізоелектричного фокусування. За умови повернення фізіологічних умов відбувається згортання білка та відновлення його початкової 3D-конформації (рис. 5.15).



Рисунок 5.15 – Схема денатурації та ренатурації білка

#### 5.4 Ферментний каталіз та кінетика ферментативних реакцій

Ферменти – це група біологічно активних полімерів (здебільшого білків), що каталізують практично всі метаболічні реакції в усіх живих організмах. Висока конформаційна рухливість ферментів дає змогу їм термодинамічно вигідно адаптувати свої активні центри до субстрату та проміжних продуктів реакції.

Кінетика ферментативних реакцій передбачає вимірювання швидкості, з якою відбуваються хімічні реакції, що каталізуються ферментами. Знання ферментативної кінетики дають інформацію про каталітичний механізм

ферментів, їх роль у метаболізмі та фактори, що впливають на активність ферментів і механізми гальмування.

Виокремлюють три види специфічності ферментів: 1) стереохімічна специфічність, за якої фермент може каталізувати перетворення лише одного стереоізомера (цис- або транс-форму; *L*- або *D*-форму). Наприклад, фумараза може перетворювати лише фумарову кислоту, але не її стереоізомер – малеїнову кислоту; 2) абсолютна специфічність ферменту виявляється в каталітичному перетворенні лише одного субстрату (наприклад, для уреазі субстратом є винятково сечовина); 3) за умови відносної специфічності фермент каталізує перетворення групи подібних субстратів, наприклад, з однаковим хімічним зв'язком. Так, протеолітичні ферменти шлунково-кишкового тракту (пепсин, трипсин, хімотрипсин) гідролітично розщеплюють білки та пептиди, але не діють на інші компоненти їжі.

Специфічність дії ферментів пояснюється двома моделями, які були запропоновані Емілем Фішером 1890 р. та Даніелем Кошландом 1959 р. Модель Фішера отримала назву «ключ – замок». Фішер стверджував, що за формою молекула субстрату (*S*, «ключ») абсолютно схожа на форму активного центра ферменту (*E*, «замок») і за умови, коли «ключ» (*S*) підходить до «замка» (*E*), може відбуватися ферментативне перетворення. Модель Фішера пояснює лише абсолютну специфічність дії ферментів, коли для ферменту є лише один субстрат. Згідно з моделлю Кошланда активний центр ферменту є динамічною структурою, що може змінювати свою конформацію під дією молекули субстрату, тобто субстрат індукує відповідні зміни в молекулі ферменту. Крім того, конформаційні зміни відбуваються і в молекулі субстрату, що створює умови для більш ефективного каталітичного перетворення. Тому модель Кошланда отримала назву «модель індукованої відповідності».

#### **5.4.1 Принципи ферментативної кінетики**

Основні принципи ферментативної кінетики побудовані на рівняннях реакцій, максимальній швидкості реакції ( $V_{max}$ ) та константі Міхаеліса ( $K_m$ ). Вважається, що для каталізу реакції ферменти утворюють комплекс із субстратами. Цей процес можна описати рівнянням



де *E* – фермент;

*S* – субстрат реакції;

*P* – продукт реакції,

а також за допомогою рис. 5.16.

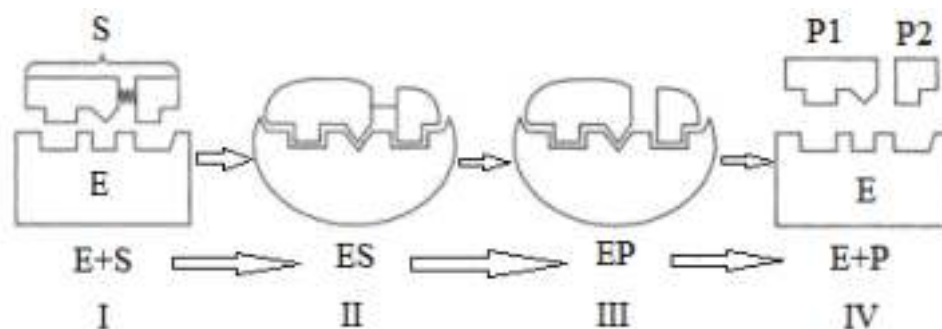


Рисунок 5.16 – Етапи ферментативного каталізу з огляду на молекулярні механізми дії:

- I – етап зближення та орієнтації субстрату в активному центрі ферменту;
- II – утворення фермент-субстратного комплексу з деформацією зв'язків у молекулі субстрату;
- III – утворення нестабільного комплексу фермент-продукт ( $EP$ );
- IV – вивільнення продуктів реакції з активного центру ферменту

Перша реакція в рівнянні (5.1) є оборотною: реакція утворення фермент-субстратного комплексу ( $ES$ ) має константу швидкості реакції  $k_{+1}$ ;  $k_{-1}$  – константа швидкості оборотної реакції.

Друга реакція рівняння (5.1) є необоротною; константа швидкості реакції становить  $k_{+2}$ .

Швидкість реакції ( $V$ ) – це швидкість, з якою утворюється продукт реакції ( $P$ ), і визначається рівнянням (5.2):

$$V = d[P]/dt = k_{+2} [ES], \quad (5.2)$$

де  $[P]$  – молярна концентрація продукту реакції;

$[ES]$  – молярна концентрація субстрату ферменту.

Леонор Міхаеліс і Мод Ментен запропонували математичну модель дії ферментів із двома константами,  $V_{max}$  і  $K_m$ .

Максимальна швидкість ( $V_{max}$ ) належить до точки на кривій (рис. 5.17), у якій збільшення концентрації субстрату не прискорює швидкість реакції, тому що молекули субстрату насичують активні центри ферменту й не здатні утворювати додаткові комплекси з ферментом (рис. 5.18).

Коли фермент насичений, швидкість реакції є максимальною. Швидкість ферментативної реакції виражається в мкмоль/л·хв.

Співвідношення констант швидкостей  $(k_{-1}+k_{+2})/k_{+1}$  називають константою Міхаеліса й позначають  $K_m$ . Константа Міхаеліса ( $K_m$ ) характеризує концентрацію субстрату (ммоль/л), за якої швидкість реакції дорівнює половині максимальної швидкості реакції ( $V_{max}$ ), коли половина активних центрів

ферменту зайнята субстратом. Константа Міхаеліса кількісно виражає спорідненість ферменту до субстрату. Константа Міхаеліса – Ментен має розмірність (ммоль/л). Фермент із низькою константою  $K_m$  має високу спорідненість до субстрату. Фермент з високою константою  $K_m$  має низьку спорідненість до субстрату.

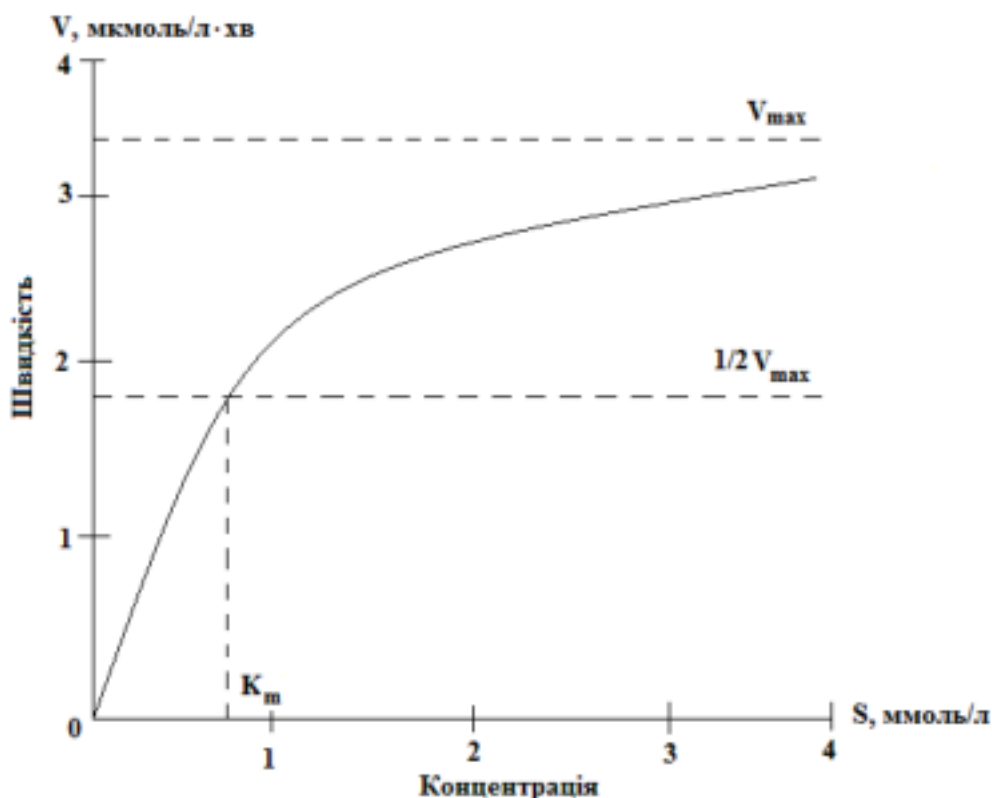


Рисунок 5.17 – Крива залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату.  $V_{max}$  – максимальна швидкість реакції за певної концентрації ферменту в оптимальних умовах проведення реакції;  $K_m$  – константа Міхаеліса. На кривій значення параметрів  $V_{max} = 3,4$  і  $K_m = 1,8$

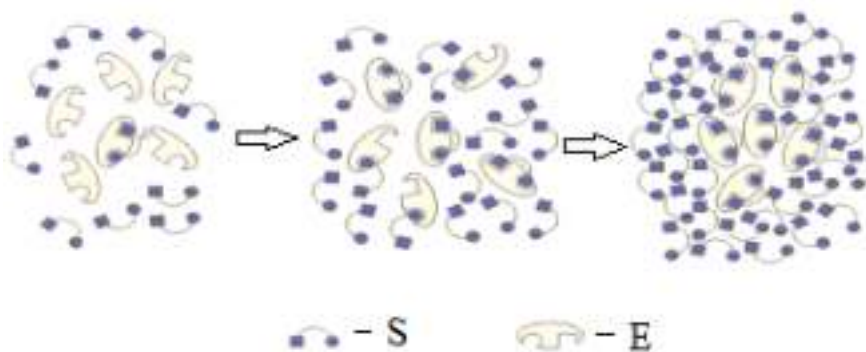


Рисунок 5.18 – Поступове насичення ферменту субстратом з утворенням фермент-субстратного комплексу

Значення  $K_m$  вимірюють за допомогою графіка в подвійних зворотних координатах (графік Лайнуївера – Берка) (рис. 5.19).

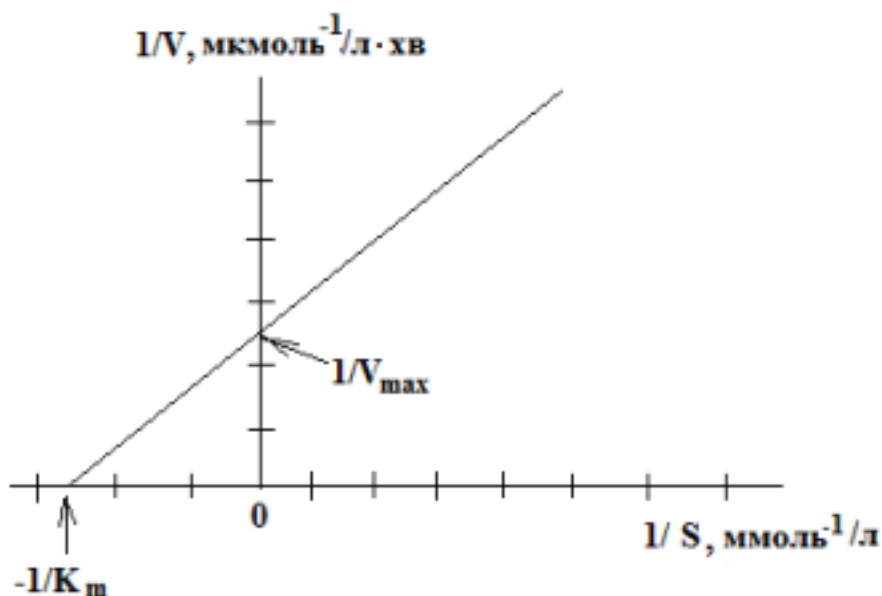


Рисунок 5.19 – Графік Лайнуївера – Берка

На концентрацію комплексу  $ES$  впливає швидкість його формування й розпаду. Найбільша швидкість реакції спостерігається тоді, коли всі молекули ферменту перебувають у комплексі із субстратом, тобто фермент-субстратному комплексі  $ES$ , у цьому разі  $[E] = [ES]$ . Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату виражається рівнянням:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}, \quad (5.3)$$

де  $V_{\max}$  – максимальна швидкість реакції;

$K_m$  – константа Міхаеліса;

$S$  – концентрація субстрату.

Рівняння (5.3) має назву «рівняння Міхаеліса – Ментен». Це основне рівняння ферментативної кінетики, що описує залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату. Якщо концентрація субстрату значно більша  $K_m$  ( $S \gg K_m$ ), то зростання концентрації субстрату на величину  $K_m$  практично не впливає на суму ( $K_m + S$ ), її можна вважати рівною концентрації субстрату. Відповідно, швидкість реакції стає рівною максимальній швидкості:  $V = V_{\max}$ . За цих умов реакція має нульовий порядок, тобто не залежить від концентрації субстрату. Можна зробити висновок, що  $V_{\max}$  є величиною постійною для цієї концентрації ферменту й не залежить від концентрації субстрату.

Якщо концентрація субстрату значно менша за  $K_m$  ( $S \ll K_m$ ), то сума  $(K_m + S)$  приблизно дорівнює  $K_m$ , відповідно,  $V = V_{max}[S]/K_m$ . Тобто в цьому разі швидкість реакції прямо пропорційна концентрації субстрату, реакція має перший порядок.

На рис. 5.20 показано залежність швидкості двох ферментативних реакцій (1 і 2) від концентрації субстрату. Константа Міхаеліса першого ферменту менша за константу Міхаеліса другого ферменту ( $K_{m1} < K_{m2}$ ). Отже, спорідненість першого ферменту до субстрату є вищою, ніж у другого, і початкова швидкість реакції, що каталізується першим ферментом, вища порівняно з другим ферментом.

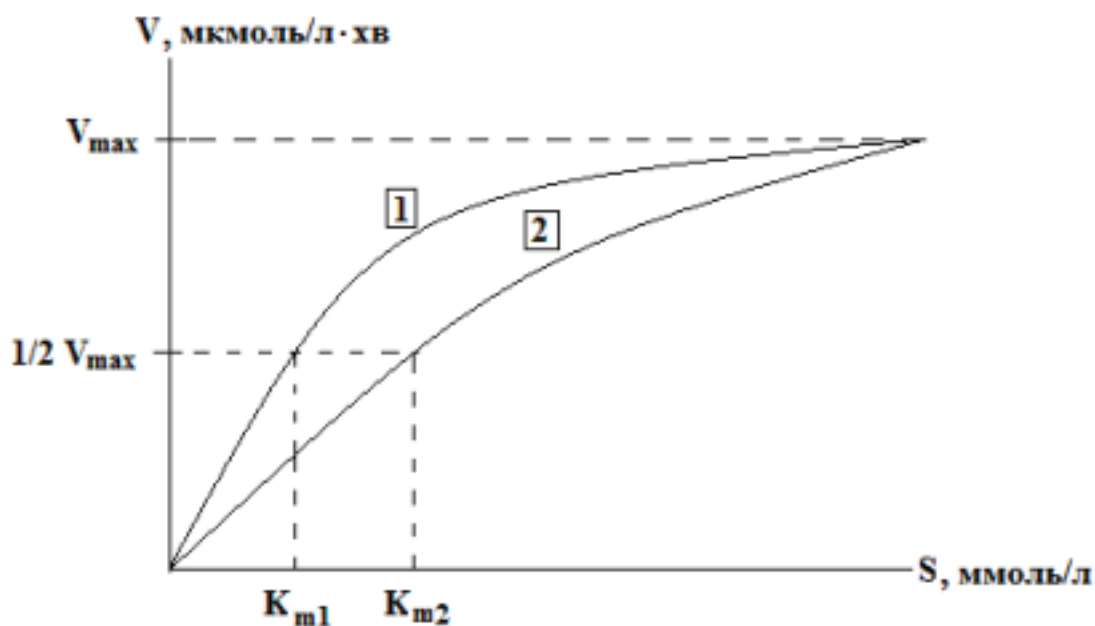


Рисунок 5.20 – Вплив різних концентрацій субстрату на швидкість реакції, що каталізується ферментами 1 і 2

#### **5.4.2 Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації ферменту**

В умовах надлишку субстрату в реакційному середовищі залежність швидкості реакції від концентрації ферменту має прямо пропорційний характер (рис. 5.21).

Тобто в живих клітинах що більше молекул ферменту, то швидше відбувається реакція. Цей принцип закладений в основу одного із шляхів регуляції ферментативних процесів, який має назву «зміна кількості ферментів у клітині». Основними механізмами цього шляху є індукція і репресія синтезу ферментів.



Рисунок 5.21 – Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації ферменту

На практиці послуговуються умовними величинами, що визначають активність ферменту: одна міжнародна одиниця активності (*МО*) відповідає такій кількості ферменту, що каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв за оптимальних умов проведення ферментативної реакції (5.4). Оптимальні умови індивідуальні для кожного ферменту й залежать від температури середовища, рН розчину за відсутності активаторів та інгібіторів.

$$1 \text{ МО} = 1 \text{ мкмоль перетвореного субстрату} / \text{хв.} \quad (5.4)$$

Кількість одиниць активності  $n\text{МО}$  визначають за формулою:

$$n\text{МО} = \text{Кількість перетвореного субстрату (мкмоль)} / \text{хв.} \quad (5.5)$$

У 1973 р. була прийнята нова одиниця активності ферментів:

1 *катал* (*кат*), відповідає такій кількості каталізатора, що перетворює 1 моль субстрату за 1 с. Кількість каталів визначають за формулою (5.6):

$$n\text{катал} = \text{Кількість перетвореного субстрату (моль)} / \text{с.} \quad (5.6)$$

Міжнародна одиниця ферментативної активності *МО* пов'язана з каталом рівностями (5.7) і (5.8):

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль } S / \text{с} = 60 \text{ моль } S / \text{хв} = 60 \times 10^6 \text{ мкмоль} / \text{хв} = 6 \times 10^7 \text{ МО}; \quad (5.7)$$

$$1 \text{ МО} = 1 \text{ мкмоль} / \text{хв} = 1/60 \text{ мкмоль} / \text{с} = 1/60 \text{ мкат} = 16,67 \text{ нкат.} \quad (5.8)$$

У медичній і фармацевтичній практиці для оцінювання активності ферментів використовують міжнародні одиниці активності. Для оцінювання кількості молекул ферменту серед інших білків даної тканини визначають питому активність (*пит.акт.*) ферменту, чисельно рівну кількості одиниць активності ферменту ( $n\text{МО}$ ) на масу білка в цій тканині (мг) (5.9):

$$\text{Пит.акт.} = n\text{МО (мкмоль)} / t \text{ (мг)}. \quad (5.9)$$

За питомою активністю судять про очищення ферменту: що менше сторонніх білків, то вища питома активність.

#### **5.4.3 Залежність швидкості ферментативних реакцій від рН**

Активність ферментів залежить від рН розчину, у якому відбувається ферментативна реакція. Для кожного ферменту існує значення рН, за умови якого спостерігається його максимальна активність. Відхилення від оптимального значення рН призводить до зниження ферментативної активності.

Вплив рН на активність ферментів пов'язаний з іонізацією функціональних груп амінокислотних залишків білка, які забезпечують оптимальну конформацію активного центру ферменту. Через відхилення рН від оптимальних значень відбувається зміна іонізації функціональних груп молекули білка. Наприклад, унаслідок закислення середовища відбувається протонування вільних аміногруп ( $NH_3^+$ ), а внаслідок залуження – відщеплення протона від карбоксильних груп ( $COO^-$ ). Це призводить до зміни конформації молекули ферменту й конформації активного центру; отже, порушується приєднання субстрату, кофакторів і коферментів до активного центру. Крім того, рН середовища може впливати на ступінь іонізації або просторову організацію субстрату, що також впливає на спорідненість субстрату до активного центру. У разі значного відхилення від оптимального значення рН може відбуватися денатурація білкової молекули з повною втратою ферментативної активності.

Оптимум значення рН для різних ферментів різний (рис. 5.22). Ферменти, які каталізують у кислих умовах середовища (наприклад, пепсин у шлунку або лізосомальні ферменти), еволюційно набувають конформації, що забезпечує роботу ферменту в разі кислих значень рН. Більша частина ферментів організму людини має оптимум рН, близький до нейтрального, що збігається з фізіологічним значенням рН (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 – Оптимальні значення рН для деяких ферментів

| Фермент             | Оптимальне значення рН |
|---------------------|------------------------|
| Пепсин              | 1,5–2,0                |
| Піруваткарбоксилаза | 4,8                    |
| Каталаза            | 6,8–7,0                |
| Фумараза            | 6,5                    |
| Уреаза              | 6,8–7,2                |
| Карбоксипептидаза   | 7,5                    |
| Трипсин             | 9,5–9,9                |

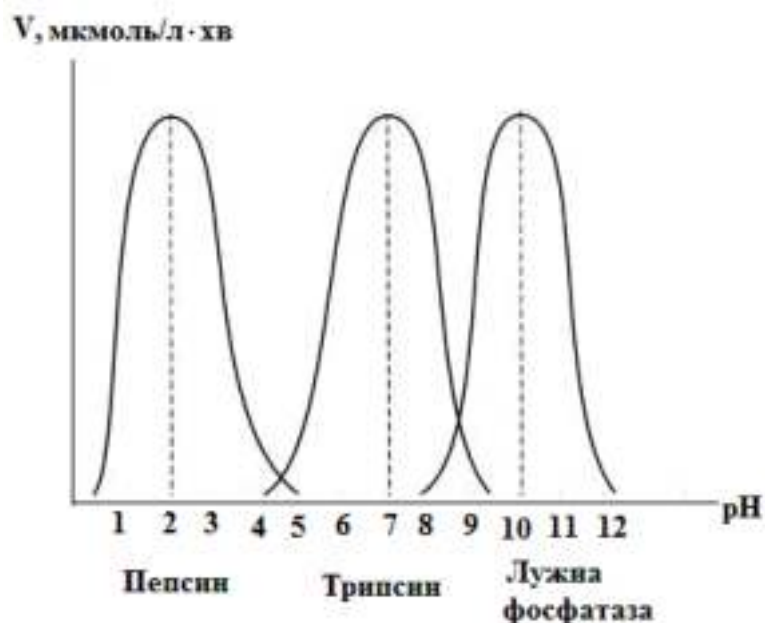


Рисунок 5.22 – Залежність швидкості ферментативної реакції ( $V$ ) від рН середовища

#### 5.4.4 Вплив температури на швидкість ферментативної реакції

Підвищення температури до певної межі впливає на швидкість ферментативної реакції, подібно до впливу температури на будь-яку хімічну реакцію. З підвищенням температури прискорюється рух молекул, що призводить до підвищення ймовірності взаємодії реагуючих речовин (рис. 5.23).

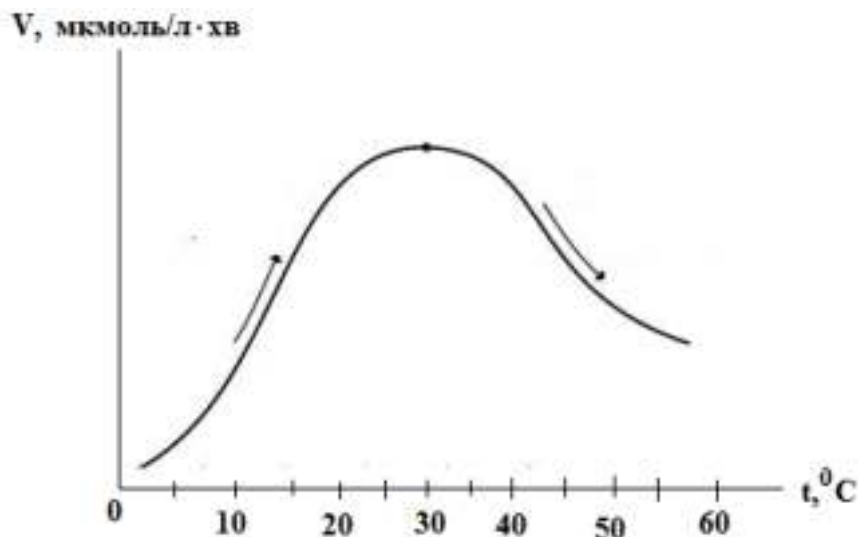


Рисунок 5.23 – Залежність швидкості ферментативної реакції ( $V$ ) від температури

Температура може підвищувати енергію реагуючих молекул, що також призводить до прискорення реакції. Швидкість хімічної реакції,

що каталізується ферментами, має свій температурний оптимум, перевищення якого супроводжується зниженням ферментативної активності, що виникає через термічну денатурацію білкової молекули.

Для більшості ферментів людини оптимальною є температура 37–38°C. Але в природі існують і термостабільні ферменти. Наприклад, *Taq*-полімераза, виділена з мікроорганізмів, що живуть у гарячих джерелах, не інактивується за умови підвищення температури до 95 °C. Цей фермент використовують у науково-практичній медицині для молекулярної діагностики захворювань із застосуванням методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

#### 5.4.5 Особливості дії інгібіторів та індукторів ферментативних реакцій

Інгібітори ферментів – це молекули, що знижують активність ферменту способом зв'язування з ним. Більшість інгібіторів ферментів зв'язуються з активним центром ферменту й перешкоджають утворенню фермент-субстратного комплексу (рис. 5.24). Тому інгібітори конкурують із субстратом за зв'язування в активному центрі ферменту. Якщо ферменту не вдається зв'язатися із субстратом, його каталітична активність знижується. Отже, в кінці реакції кількість продукту є низькою. Кількість утвореного продукту обернено пропорційна концентрації молекул інгібітора.

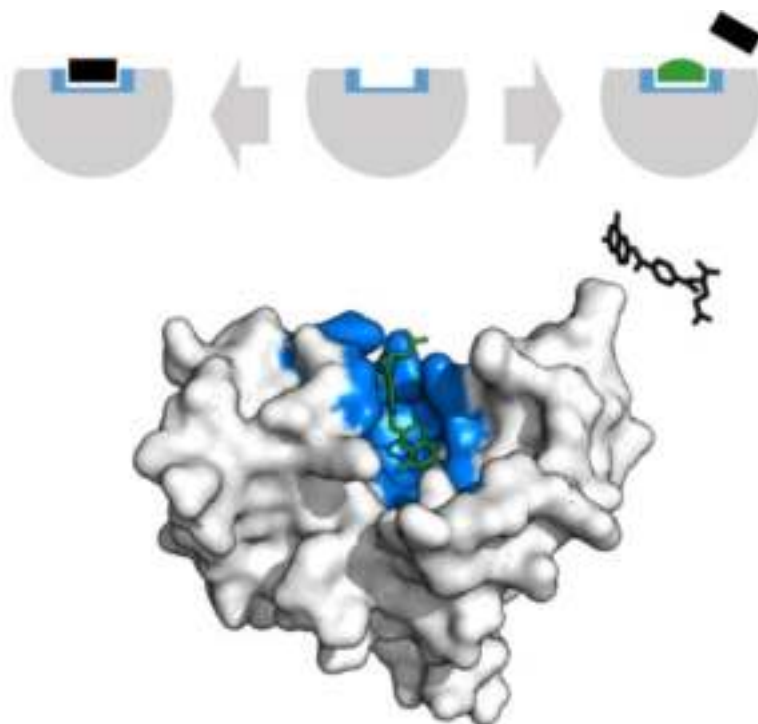


Рисунок 5.24 – Інгібітор у структурі молекули ферменту

Зв'язування інгібітора з ферментом може бути оборотним або необоротним. Оборотні інгібітори нековалентно зв'язуються з ферментом, утворюючи водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії та іонні зв'язки, тоді як необоротні інгібітори зв'язуються ковалентно. Необоротні інгібітори змінюють фермент хімічно, модифікуючи його амінокислотну послідовність. Як тільки послідовність амінокислот змінюється, його активність знижується. Багато ліків є інгібіторами ферментів, особливо антиретровірусні препарати, що використовуються для лікування ВІЛ.

Є три різні способи, якими можна пригнічувати дію ферменту – конкурентне гальмування, неконкурентне гальмування та алостеричне, або зворотне, гальмування.

### *Особливості конкурентного гальмування (рис. 5.25)*

1. Конкурентний інгібітор має структурну подібність до субстрату ферменту. Він конкурує з молекулами субстрату за активний центр ферменту. Інгібітор може залишатися зв'язаним із ферментом і виключає молекули субстрату з активного центру ферменту, поки він залишається прикріпленим.

2. Збільшення концентрації субстратів може зменшити дію конкурентного інгібітора. Це збільшує ймовірність зіткнення фермент – субстрат, а не зіткнення фермент – інгібітор. За умови дуже високих концентрацій субстрату швидкість реакції може досягати максимального значення.

3. Прикладом конкурентного інгібування є дія малонату на сукцинатдегідрогеназу. Фермент перетворює сукцинат на фумарат. Малонат є конкурентним інгібітором і тому конкурує з сукцинатом за активний центр сукцинатдегідрогенази.



Рисунок 5.25 – Схема конкурентного гальмування





Рисунок 5.27 – Схема алостеричної регуляції активності ферменту за типом алостеричної активації. Алостеричний активатор не зв'язаний з алостеричним сайтом ферменту; активний центр ферменту не здатний зв'язувати субстрат і каталізувати утворення продукту. Коли алостеричний активатор зв'язується з ферментом в алостеричній ділянці, форма активного центру змінюється таким чином, що він може зв'язувати свій субстрат і каталізувати утворення продукту.

Фермент залишатиметься активованим, доки алостеричний активатор не залишить алостеричний сайт



Рисунок 5.28 – Схема алостеричної регуляції активності ферменту за типом алостеричного гальмування. Алостеричний інгібітор не зв'язаний з алостеричним сайтом ферменту, активний центр ферменту здатний зв'язувати субстрат і каталізувати утворення продукту. Коли алостеричний інгібітор зв'язується з ферментом в алостеричній ділянці, активний центр ферменту змінюється, субстрат не може зв'язатися з ферментом

Індуктори ферменту – це молекули, що підвищують каталітичну активність ферменту (рис. 5.29). Вони можуть індукувати фермент способом зв'язування з його активним центром. Це може збільшити експресію гена,

який кодує фермент, для того щоб збільшити загальну кількість ферменту, що бере участь у реакції. Отже, індуктор ферменту збільшує синтез ферменту завдяки збільшенню експресії гена.

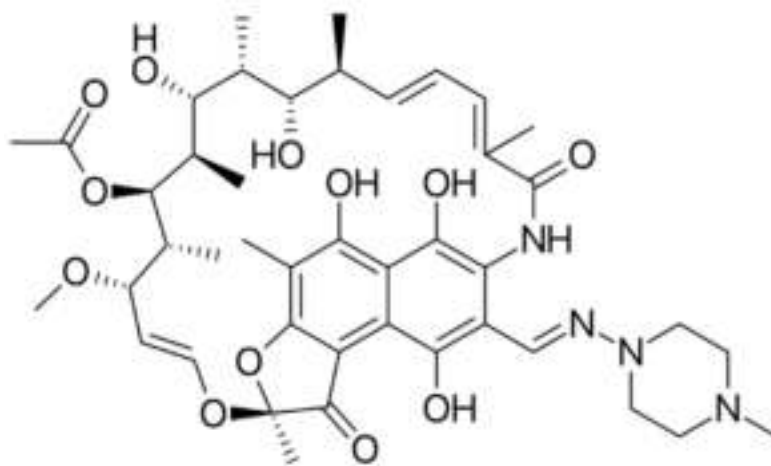


Рисунок 5.29 – Рифампін – індуктор ферменту

Багато ксенобіотиків і хімікатів навколишнього середовища є індукторами ферментів. Багато ліків також є індукторами ферментів. Рифампін – це протитуберкульозний препарат, що є популярним індуктором ферментів. Крім того, карбамазепін, фенітоїн і фенобарбітал також є індукторами ферментів.

Подібність між інгібітором ферменту та індуктором ферменту.

1. Індуктор ферменту та інгібітор ферменту здатні змінювати швидкість активності ферменту.
2. Індуктор ферменту та інгібітор ферменту можуть зв'язуватися з активним центром ферменту.
3. Багато лікарських засобів є інгібіторами та індукторами ферментів.
4. Обидва типи важливі для вивчення метаболізму ліків.

У табл. 5.5 наведено основні розбіжності в дії інгібіторів та індукторів ферментів.

Таблиця 5.5 – Відмінності в дії інгібіторів та індукторів ферментів

| Інгібітор ферменту  | Індуктор ферменту  |
|---|--|
| Інгібітор ферменту – це молекула, що знижує активність ферменту способом зв'язування з активним центром ферменту. | Індуктор ферменту – це молекула, що підвищує метаболічну активність ферменту способом зв'язування з ним або збільшення експресії гена. |
| Інгібітор ферменту зменшує кількість продуктів.   | Індуктор ферменту збільшує кількість продуктів.  |

## 5.5 Контрольні запитання та завдання

1. Функціональне значення білків.
2. Структурно-функціональні особливості білкових молекул. Первинна структура білків. Пептидний зв'язок.
3. Конформація білкової молекули. Зв'язки, що стабілізують вторинну структуру білка.
4. Торсійні кути білкової молекули. Карта Рамачандрана.
5. Особливості третинної структура білка. Доменна організація білка.
6. Четвертинна структура білка (гемоглобін, тубулін, гістони).
7. Кінетика ферментативних реакцій. Константа Міхаеліса.
8. Моделі, які описують специфічність дії ферментів.
9. Швидкість ферментативної реакції. Одиниці активності ферменту.
10. Залежність швидкості ферментативної реакції від температури, рН.
11. Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації ферменту.
12. Активні центри ферментів. Подібність між інгібітором ферменту та індуктором ферменту.
13. Особливості конкурентного гальмування.
14. Особливості неконкурентного гальмування.
15. Аlostеричне гальмування.

## 6 БІОФІЗИКА НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

### 6.1 Будова й функціональне значення нуклеїнових кислот

ДНК і РНК – це високомолекулярні біополімери, мономерами яких є нуклеотиди. У всіх живих організмах ДНК і РНК виконують роль зберігання, передачі та експресії генетичної інформації. У клітинах еукаріотів ДНК розташовується в ядрі клітини в складі хромосом, а також в мітохондріях і пластидах. У клітинах прокаріотів кільцева або лінійна молекула ДНК нуклеоїда міститься в цитоплазмі. Молекули РНК відіграють важливу роль у синтезі білка; деяким типам РНК властива каталітична функція, наприклад, рибозими є ферментами, що відіграють роль у реплікації, процесингу мРНК і сплайсингу; РНК виконують також складні регуляторні функції в клітинах. Деякі віруси використовують РНК як геномний матеріал. Ланцюги ДНК і РНК називається полінуклеотидами. Кожен нуклеотид складається з трьох частин: азотовмісної кільцевої структури, що називається азотистою основою, пентози – п'ятивуглецевого цукру та фосфатної групи. Молекула цукру має центральне положення в нуклеотиді, азотиста основа приєднана до 1'-вуглецю, фосфатна група приєднана до 5'-вуглецю (рис. 6.1).

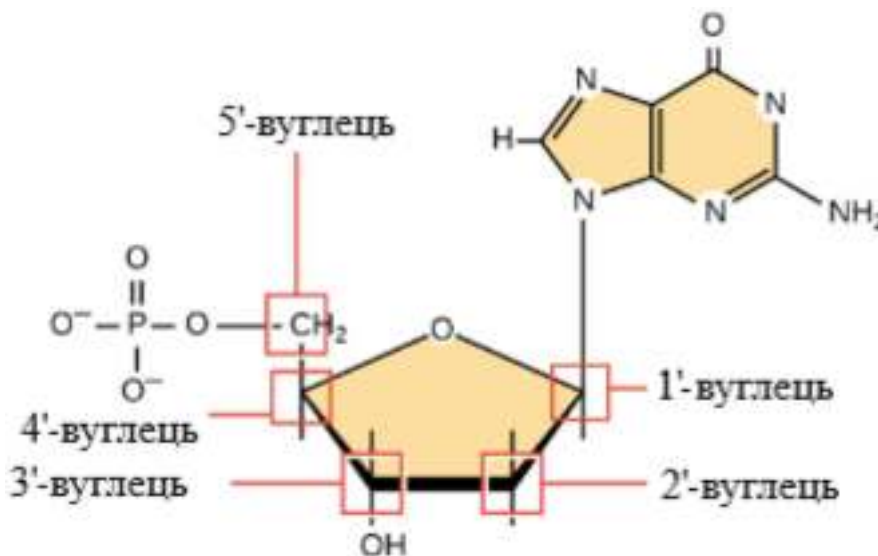


Рисунок 6.1 – Структура нуклеотиду

Азотисті основи нуклеотидів – це органічні молекули, що мають нітрогеновмісні кільцеві структури. Кожен нуклеотид у ДНК містить одну з чотирьох азотистих основ: аденін (А), гуанін (Г), цитозин (Ц) і тимін (Т). Аденін і гуанін є пуринами, їх структури мають два злитих вуглецево-азотних

кільця. Цитозин і тимін є піримідинами й мають одне вуглецево-азотне кільце. Нуклеотиди РНК містять аденін, гуанін і цитозин, але замість тиміну РНК містить піримідинову основу – урацил (У). Кожна азотиста основа має унікальну структуру з власним набором функціональних груп, приєднаних до кільцевої структури (рис. 6.2).

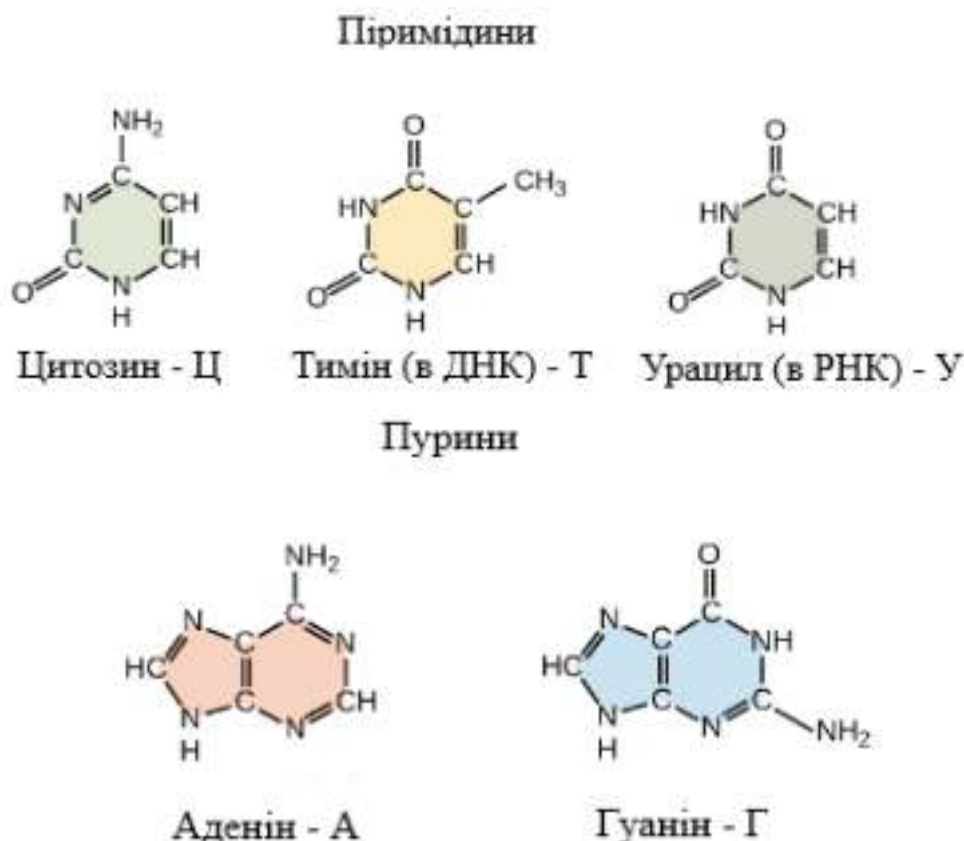


Рисунок 6.2 – Структура азотистих основ

У молекулі ДНК цукор із п'ятьма атомами вуглецю називається дезоксирибозою, у РНК – рибозою. Структура дезоксирибози й рибози схожі, але мають одну різницю: 2'-вуглець рибози містить гідроксильну групу, тоді як еквівалентний вуглець дезоксирибози містить водень. Атоми вуглецю молекули цукру нумеруються як 1', 2', 3', 4' та 5'. У нуклеотиді цукор має центральне положення, тоді як азотиста основа приєднана до 1'-вуглецю цукру, фосфатна група – до 5'-вуглецю цукру (рис. 6.3).

Нуклеотиди можуть мати одну фосфатну групу або ланцюг із трьох фосфатних груп, приєднаних до 5'-вуглецю цукру. Коли нуклеотид приєднується до щораз більшого ланцюга ДНК або РНК, він втрачає дві фосфатні групи, тоді в ланцюзі ДНК або РНК кожен нуклеотид має по одній фосфатній групі.

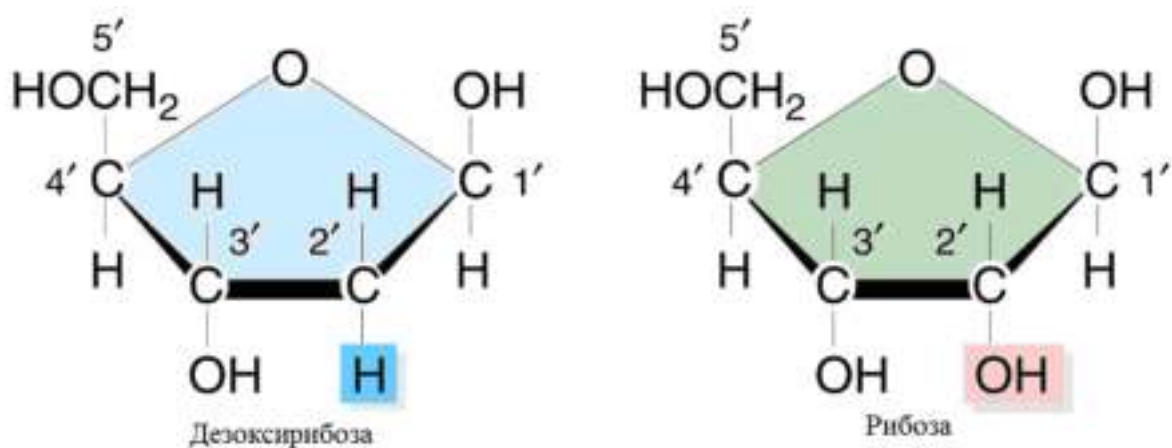


Рисунок 6.3 – Структура дезоксирибози та рибози

## 6.2 Структура полінуклеотидного ланцюга

Нуклеїнові кислоти, як і білки, мають первинну структуру. Послідовність нуклеотидів визначає первинну структуру нуклеїнових кислот. На відміну від білків, що мають 20 амінокислот, у нуклеїнових кислотах є чотири види нуклеотидів. Для амінокислотних послідовностей у білках прийнято записувати амінокислоти в порядку, починаючи з *N*-кінцевої амінокислоти. Запис нуклеотидних послідовностей у молекулах нуклеїнових кислот розпочинається з нуклеотиду, що має вільну фосфатну групу, тобто з 5'-кінця.

Полінуклеотидний ланцюг має два кінці 5'- та 3'-, що відрізняються один від одного за спрямуванням. На 5'-кінці, тобто на початку ланцюга, міститься 5'-фосфатна група першого нуклеотидного ланцюга. На 3'-кінці міститься гідроксильна група останнього нуклеотиду, до якого приєднується наступний нуклеотид. Послідовність ДНК записується в напрямку від 5'- до 3'-кінця, тобто нуклеотид на 5'-кінці буде першим, а нуклеотид на 3'-кінці – останнім (рис. 6.4).

Коли нові нуклеотиди додаються до ланцюга ДНК або РНК, він збільшується на 3'-кінці, водночас цьому 5'-фосфат нуклеотиди приєднуються до сусідньої гідроксильної групи на 3'-кінці ланцюга. У такий спосіб нуклеотиди поєднуються за допомогою 3',5'-фосфодієфірного зв'язку.

Завдяки тому, що за умови нейтрального рН середовища фосфатні групи полінуклеотиду несуть негативний заряд, загалом молекула ДНК заряджена негативно. Конформацію полінуклеотидного ланцюга визначають сім кутів обертання (рис. 6.5). Шість торсійних кутів полінуклеотидного ланцюга ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  та  $\zeta$ ) визначають конформацію цукрофосфатного остова й відповідають

за обертання навколо ковалентних зв'язків, кут  $\chi$  визначає орієнтацію азотистої основи щодо цукру й відповідає за обертання навколо глікозидного зв'язку.

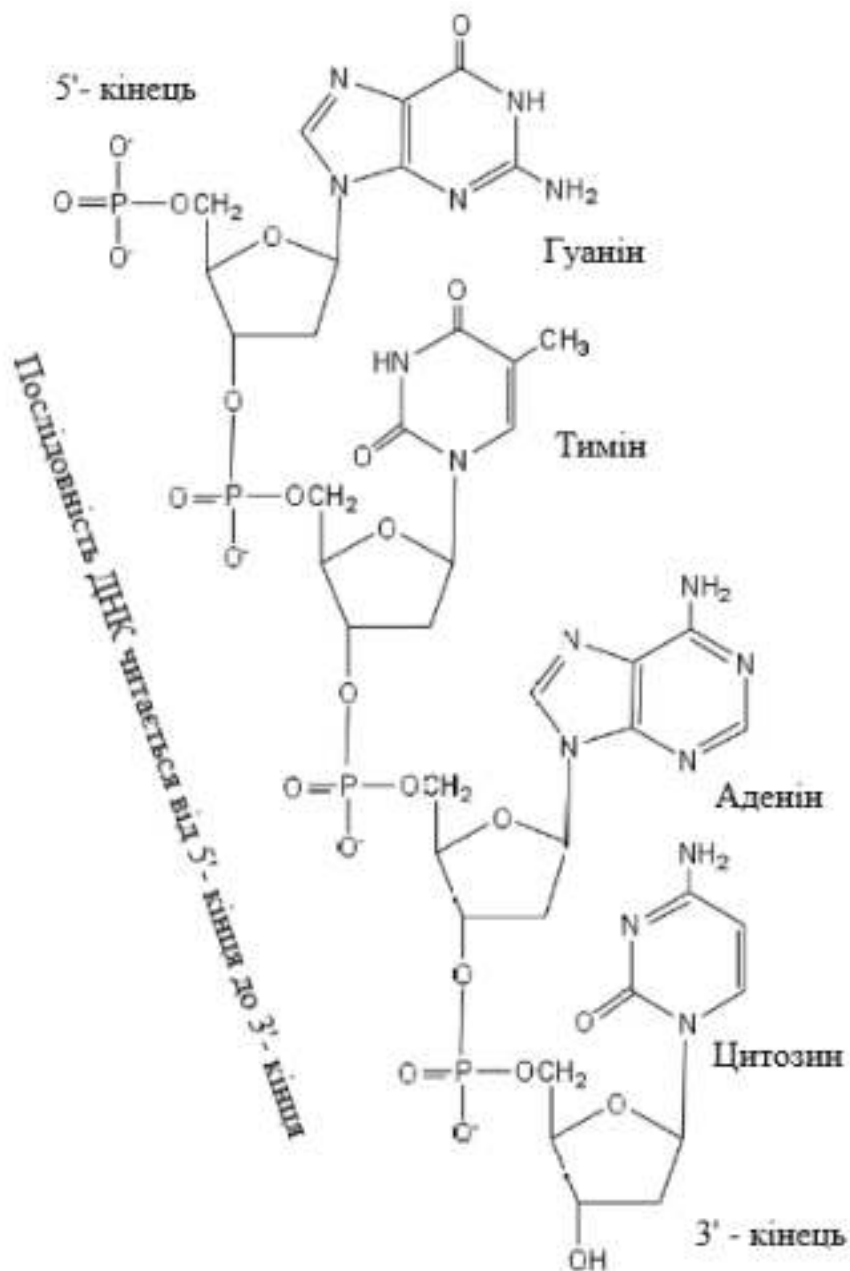


Рисунок 6.4 – Полінуклеотидний ланцюг.

Цукрофосфатний остов ланцюга нуклеїнової кислоти – це чергування фосфатних і цукрових одиниць (дезоксирибози в ДНК і рибози в РНК).

Пуринові та піримідинові основи відгалужуються від остова ланцюга (подібний сегмент РНК має ОН групи на кожному С2', а замість урацилу міститься тимін)

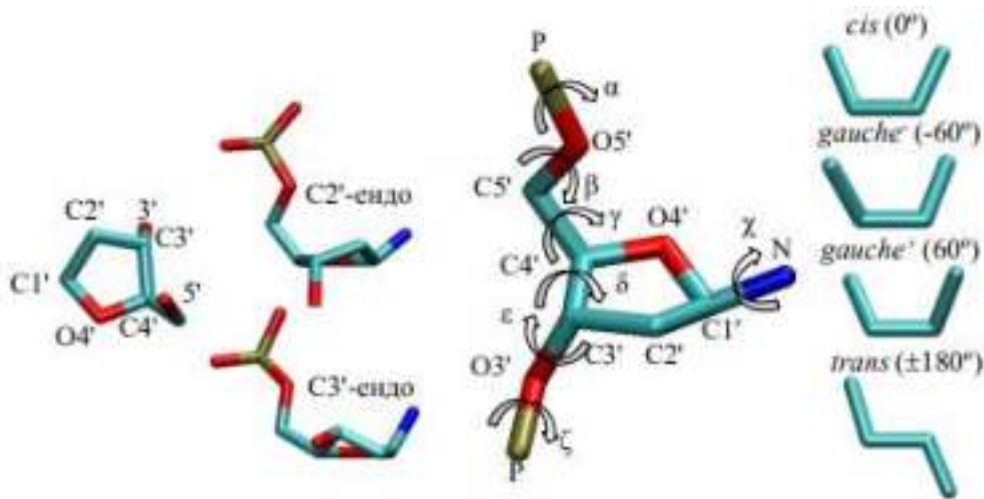


Рисунок 6.5 – Компоненти та структура цукрофосфатного остова: дезоксирибоза; конформації дезоксирибози С3'-ендо та С2'-ендо; система нумерації атомів і визначення торсійних кутів. Кут  $\alpha$  приблизно відповідає конформації гош<sup>-</sup>,  $\beta$  – транс,  $\gamma$  – гош<sup>+</sup>,  $\varepsilon$  – транс,  $\zeta$  – гош<sup>-</sup>

Для кута  $\chi$  є два діапазони значень, що позначаються як «син» ( $\chi \sim 45^\circ \pm 45^\circ$ ) й «анти» ( $\chi \sim -135^\circ \pm 45^\circ$ )

Пентози (дезоксирибоза, рибоза) не містять подвійних зв'язків, тому навколо зв'язків у їх складі можливе обертання. Вуглеводні компоненти в структурах ДНК та РНК перебувають переважно у двох конформаціях – С2'-ендо (С2'-атом виходить у бік С5'-атома з площини, заданої атомами С4'-О-С1', ця конформація властива для В-ДНК); конформація С3'-ендо (С3'-атом виходить з тієї самої площини в протилежний бік, ця конформація притаманна для А-ДНК та РНК) (рис. 6.6).

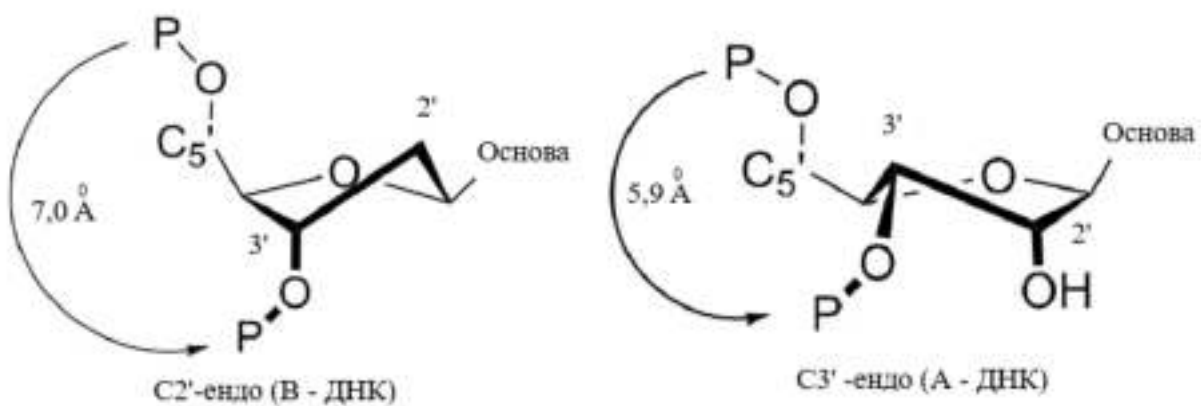


Рисунок 6.6 – Конформації цукру: С2'-ендо цукор дезоксирибози; С3'-ендо цукор рибози

У разі зміни зовнішніх умов між різними формами ДНК відбуваються конформаційні переходи ( $A \leftrightarrow B$ ,  $B \leftrightarrow C$ ). У процесі  $A \leftrightarrow B$  переходу спостерігається зміна конформації дезоксирибози:  $C3'$ -ендо – (А-форма)  $\leftrightarrow$   $C2'$ -ендо – (В-форма). Значення кута  $\chi$  приблизно дорівнює  $-160^\circ$  для В-форми ДНК, у якій реалізується конформація пентози  $C2'$ -ендо, і  $-100^\circ$  для А-форми ( $C3'$ -ендо); синконформація властива для частини нуклеотидів у складі С-форми ДНК (поліморфізм ДНК див. нижче).

### 6.3 Вторинна структура ДНК

#### 6.3.1 Комплементарність пар азотистих основ

ДНК – це дволанцюговий полінуклеотид, побудований за принципом компліментарності пар основ. У 1950 р. Ервін Чаргафф показав, що молярна кількість аденіну (А) у ДНК завжди дорівнює кількості тиміну (Т), молярна кількість гуаніну (Г) така сама, як і цитозину (Ц). У 1953 р. Джеймс Уотсон і Френсіс Крік створили модель вторинної структури ДНК. У ній гуанін завжди розміщується навпроти цитозину, аденін – навпроти тиміну (рис. 6.7).

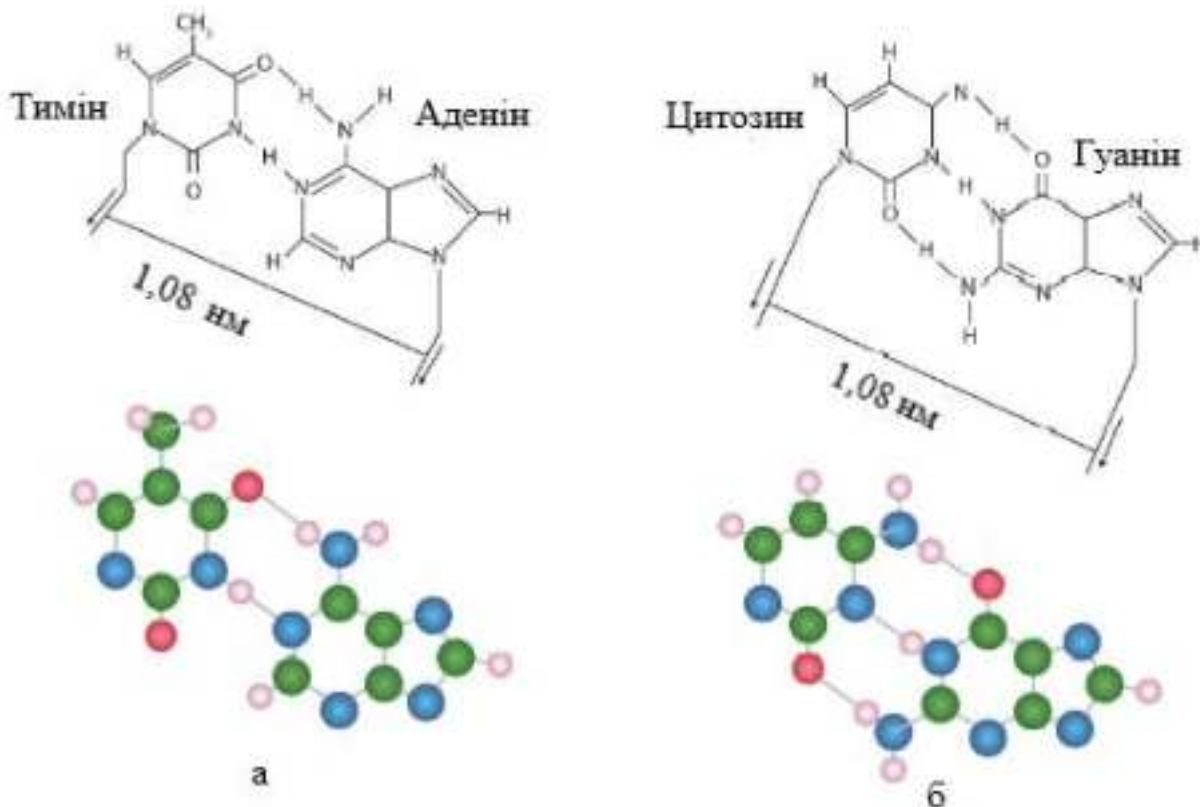


Рисунок 6.7 – Комплементарне поєднання азотистих основ.

Комплементарні основи утворюють водневі зв'язки одна з одною:

- а – два водневих зв'язки між тиміном і аденіном;
- б – три водневих зв'язки між цитозином і гуаніном

Спираючись на експерименти Е. Чаргаффа й результати рентгенівських досліджень Розалінд Франклін, учені дійшли висновку, що ДНК складається з двох антипаралельних ланцюгів, які утворюють подвійну правосторонню спіраль, фосфатні та цукрові групи якої розміщуються назовні від полімерного остова, а піримідинові та пуринові азотисті основи – всередині.

Діаметр спіралі ДНК – приблизно 20 Å, крок спіралі – 3,4 Å, у кожному витку розташовано по 10 пар залишків азотистих основ (рис. 6.8).

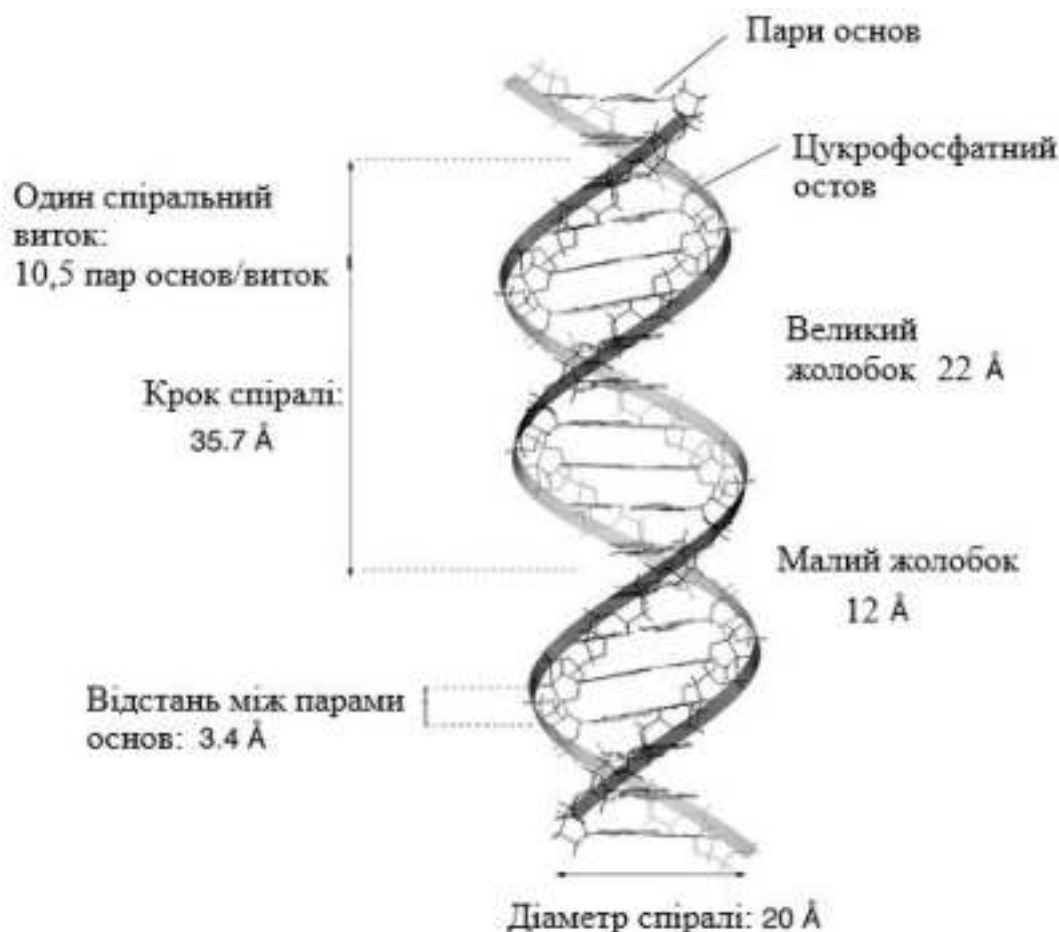


Рисунок 6.8 – Структура молекули ДНК

Структуру молекули ДНК описують як послідовність пар основ, кожна з яких подана у вигляді прямокутної площини. Знання відносних місць початку координат, розташованих у цих площинах, і відносної орієнтації короткої та довгої осей прямокутників дає змогу визначити для кожної суміжної пари основ так званий крок пари основ. Просторове розміщення пар азотистих основ одна щодо одної позначають шістьма локальними параметрами пар основ – *twist, roll, tilt, rise, shift, slide* (рис. 6.9).

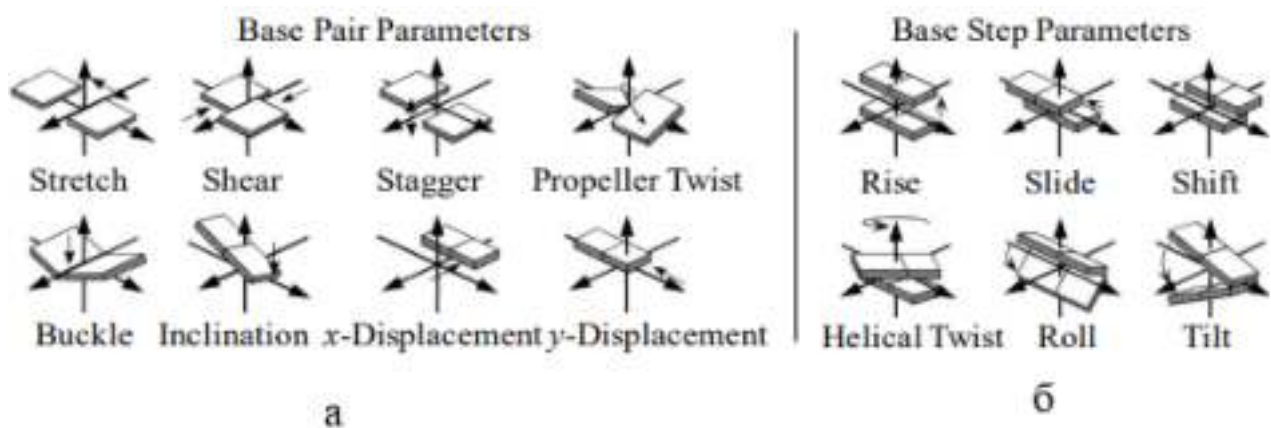


Рисунок 6.9 – Локальні параметри подвійної спіралі ДНК:

- шифт (*shift*,  $D_x$ ) – зміщення вздовж осі  $x$  – визначає зсув другої пари основ щодо першої (відповідно до нумерації по першому ланцюгу) у напрямку одного із жолобків (позитивне значення відповідає зсуву у великий жолобок, у разі зміни нумерації ланцюгів шифт змінює знак);
- слайд (*slide*,  $D_y$ ) – зміщення вздовж осі  $y$  – визначає зсув у напрямку цукрофосфатного остова (позитивне значення відповідає зсуву в напрямку першого ланцюга, знак слайда не залежить від нумерації ланцюгів);
- райз (*rise*,  $D_z$ ) – зміщення вздовж осі  $z$  – визначає відстань між парами основ уздовж нормалі до першої пари;
- тилт (*tilt*,  $\tau$ ) – кут обертання другої пари щодо першої навколо осі  $x$  – визначає локальний вигин у напрямку цукрофосфатного остова (позитивне значення відповідає вигину в бік другого ланцюга, у разі зміни нумерації ланцюгів тилт змінює знак);
- рол (*roll*,  $\rho$ ) – кут обертання навколо осі  $y$  – визначає локальний вигин подвійної спіралі в напрямку одного із жолобків (позитивне значення відповідає вигину в бік великого жолобка, знак рола не залежить від нумерації ланцюгів);
- твіст (*twist*,  $\Omega$ ) – кут обертання другої пари навколо нормалі до першої, який визначає ступінь спірального закручення (позитивне значення відповідає правій спіралі, негативне – лівій).

### 6.3.2 Поліморфізм молекули ДНК

Основними критеріями для визначення належності структури ДНК до А- або В-форми подвійної спіралі є конформація дезоксирибози, спіральні параметри *rise* і *twist*, ширина й глибина жолобків (табл. 6.1).

Поліморфізм конформації ДНК спостерігається також залежно від вмісту води в досліджуваних зразках: за високих значень вологості (понад 86%) за фізіологічних умов (0,2 М – молярна концентрація іонів  $Na^+$ ) подвійна спіраль має В-форму. Якщо відносна вологість близько 72%, утворюється

A-форма подвійної спіралі ДНК. С-форма ДНК – це лівостороння спіраль, яка має зигзагоподібну структуру з 12 парами азотистих основ на виток спіралі (рис. 6.10).

Таблиця 6.1 – Структурні параметри А- і В-ДНК

| Форма подвійної спіралі                      | А-ДНК      |            | В-ДНК      |          |
|--|------------|------------|------------|----------|
|  | Волокна    | Кристали   | Волокна    | Кристали |
| Стан ДНК                                     |            |            |            |          |
| Параметри спіралі                            |            |            |            |          |
| Кут спірального обертання (helical twist, °) | 32,7 ± 1,2 | 32,5       | 36,0       | 36,5     |
| Зсув н.о. вздовж осі (axial rise, z, Å)      | 2,55       | 2,8        | 3,4        | 3,3      |
| Висота на виток (Rise, Å)                    | 28,8       | -          | 35,6       | -        |
| Зсув від осі спіралі (x-displacement, Å)     | 4,4 ÷ 4,9  | 4,2        | -0,14      | -0,2     |
| Кут нахилу пари (Tilt, °)                    | 20,0       | -          | -5,9       | -        |
| Розміри жолобків (Å)                         |            |            |            |          |
| Великий жолобок                              | 8,0 ± 2,7  | 12,9 ± 2,6 | 17,2 ± 0,1 | 17,4     |
| Малий жолобок (ширина)                       | 16,7 ± 0,1 | 15,8 ± 0,5 | 12,1 ± 0,4 | 10,8     |
| Великий жолобок                              | 13,0 ± 0,5 | -          | 8,5        | -        |
| Малий жолобок (глибина)                      | 2,6 ± 0,2  | -          | 7,5        | -        |
| Орієнтація пар основ                         |            |            |            |          |
| Твіст (Twist, °)                             | 30,3       | 31,1       | 36,0       | 36,0     |
| Рол (Roll, °)                                | 12,4       | 8,0        | 0,6        | 1,7      |
| Слайд (Slide, Å)                             | -1,4       | -1,53      | 0,45       | 0,23     |
| Тилт (base-pair Tilt, °)                     | 22,6       | 14,6       | 2,8        | 2,1      |
| Віртуальні міжланцюгові відстані (Å)         |            |            |            |          |
| $d_{pp}$                                     | 5,5        | 6,0        | 6,6        | 6,7      |
| $d_{c1c1'}$                                  | 5,4        | 5,5        | 4,9        | 4,9      |
| Положення фосфатів (Å)                       |            |            |            |          |
| $X_p$  | -0,9       | -1,7       | -3,0       | -3,0     |
| $Y_p$  | 8,4        | 8,5        | 8,9        | 8,9      |
| $Z_p$  | 2,5        | 2,2        | -0,6       | -0,4     |

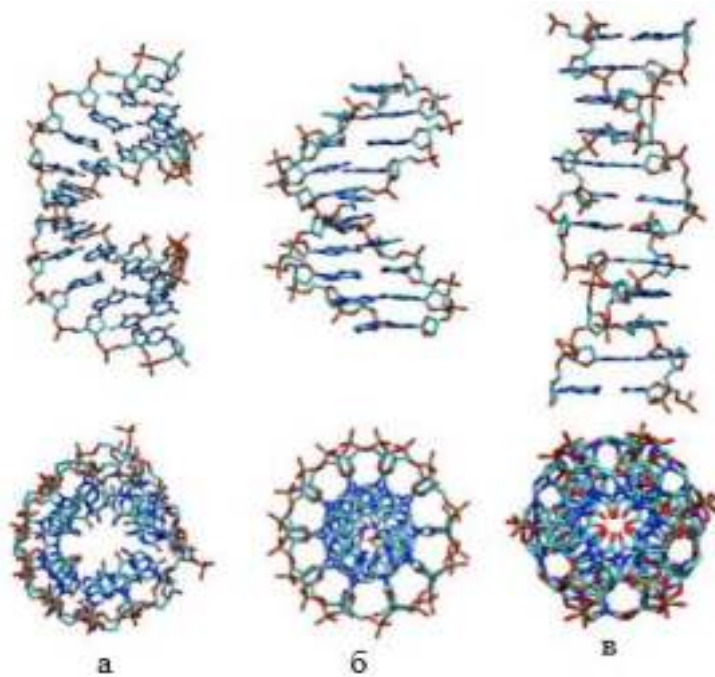


Рисунок 6.10 – Три основні форми подвійної спіралі ДНК:  
а – А-ДНК; б – В-ДНК; в – С-ДНК

### 6.3.3 Сили, що стабілізують подвійну спіраль ДНК

Конформаційну стабільність подвійної спіралі ДНК визначають стекінг-взаємодії. Стекінг-взаємодія в молекулі ДНК забезпечується взаємним перекриванням  $\pi$ -електронних хмар паралельно розташованих ароматичних кілець азотистих основ (пуринових і піримідинових) уздовж спіральної осі та реалізується в широкому діапазоні температур та іонних сил (рис. 6.11).

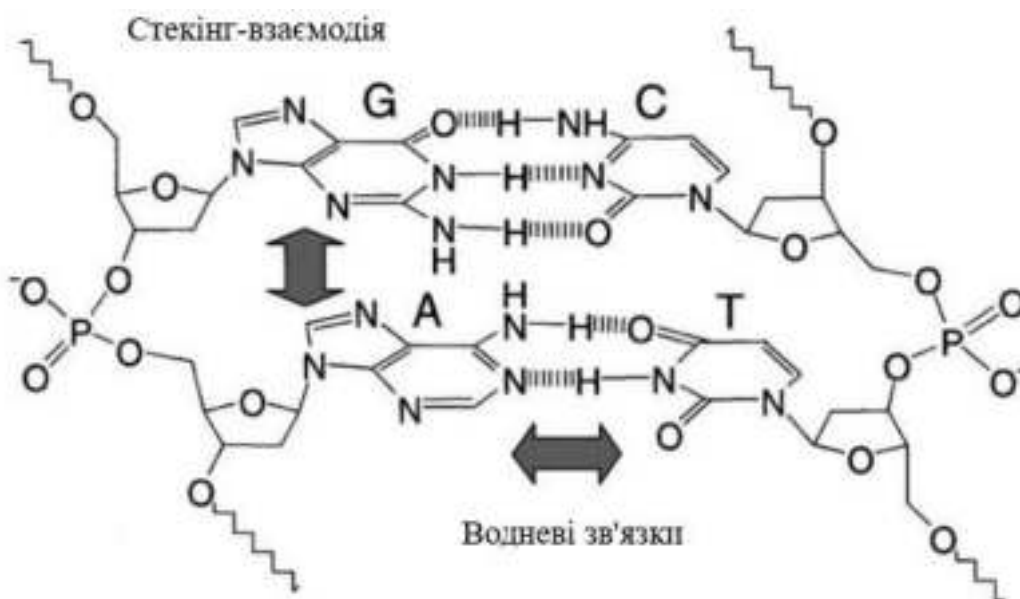


Рисунок 6.11 – Конформація ДНК стабілізована стекінг-взаємодією

Оригінальний підхід з використанням одноланцюгових розривів, так званих «ніків» (*nicks*), підтверджує, що:

1) стекінг-взаємодії стабілізують «ніковану» конформацію ДНК, близьку до конформації нативної дволанцюгової ДНК;

2) втрата стекінг-взаємодії призводить до утворення вигнутої конформації ДНК, що супроводжується зміною електрофоретичних властивостей молекули;

3) що більше вигнута конформація ДНК, то сильніше вона гальмується під час електрофорезу в поліакриламідному гелі;

4) причиною гальмування в процесі гель-електрофорезу є швидке врівноваження між «нікованою» конформацією ДНК та вигнутою конформацією ДНК, що залежить від типу динуклеотидного контакту в ділянці розриву (рис. 6.12). Зміну вільної енергії двох форм ДНК – нативної та «нікованої» для 16 пар азотистих основ за умов 0,1 М *NaCl* і 37°C подано в табл. 6.2.

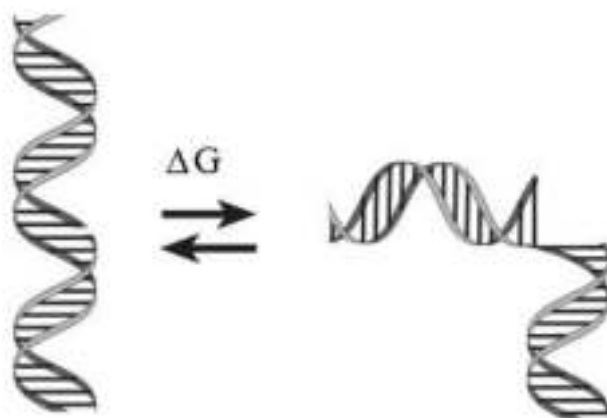


Рисунок 6.12 – «Нікована» та вигнута конформації ДНК

Таблиця 6.2 – Вільна енергія стекінг-взаємодій для різних пар основ

|                        |       |       |       |       |       |       |       |       |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Тип комплексу          | АА    | АТ    | АГ    | АЦ    | ТА    | ТТ    | ТГ    | ТЦ    |
| $\Delta G$ , ккал/моль | -1,11 | -1,34 | -1,06 | -1,81 | -0,19 | -1,11 | -0,55 | -1,43 |
| Тип комплексу          | ГА    | ГТ    | ГГ    | ГЦ    | ЦА    | ЦТ    | ЦГ    | ЦЦ    |
| $\Delta G$ , ккал/моль | -1,43 | -1,81 | -1,44 | -2,17 | -0,55 | -1,06 | -0,91 | -1,44 |

Стекінг-взаємодії мають важливе значення також у стабілізації молекул РНК та білків, коли два відносно неполярних ароматичних кільця мають  $\pi$ -орбіталі, що перекриваються. Ефективність стекінг-взаємодії

є вищою для ГЦ-збагачених пар нуклеотидів порівняно з АТ-збагаченими парами нуклеотидів.

#### **6.3.4 Фактори, що спричиняють денатурацію ДНК**

Денатурація, або плавлення, ДНК – це розплітання спіралі в процесі нагрівання молекул ДНК, зміни іонної сили або зміни рН-середовища. Під час денатурації нековалентні сили, що утримують обидва ланцюги ДНК, послаблюються, розташування пуринових і піримідинових нуклеотидів стає менш упорядкованим, підвищується спектр поглинання ДНК і мономерних нуклеотидів в ультрафіолетовій ділянці з максимумом поглинання на довжині хвилі 260 нм (рис. 6.13).

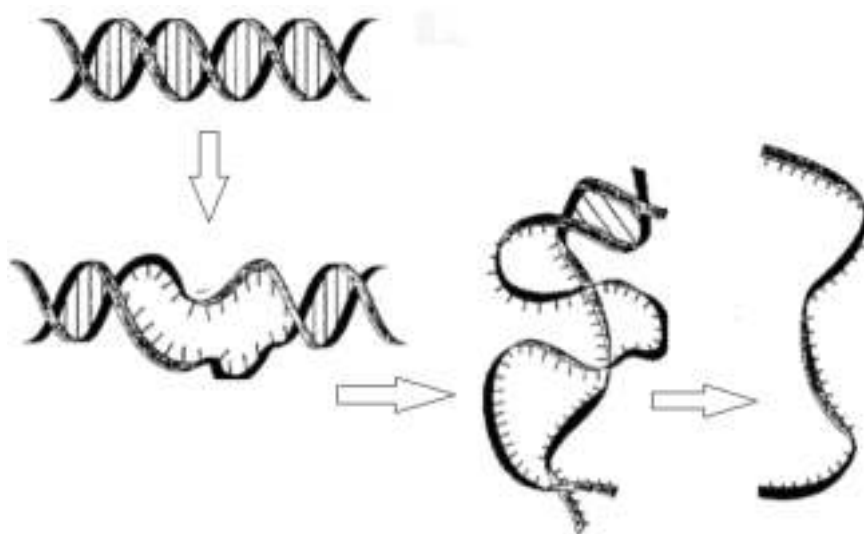


Рисунок 6.13 – Перехід впорядкованої структури ДНК (спіраль) у невпорядковану (клубок) та утворення одноланцюгової молекули ДНК

Плавлення дволанцюгової ДНК приводить до утворення двох одноланцюгових ДНК, що конформаційно більш гнучкі за подвійну спіраль. Плавлення ДНК супроводжується переходом спіраль-клубок. За допомогою методів спектроскопії ультрафіолетового діапазону та малокутового розсіювання нейтронів оцінюється перехід від спіралі до клубка. Залежність оптичної густини ДНК від температури називається кривою плавлення ДНК (рис. 6.14). Ступінь розходження ланцюгів ДНК під час нагрівання є відносно невеликою доти, доки не буде досягнуто точки плавлення. Після цього розходження ланцюгів йде набагато швидше.

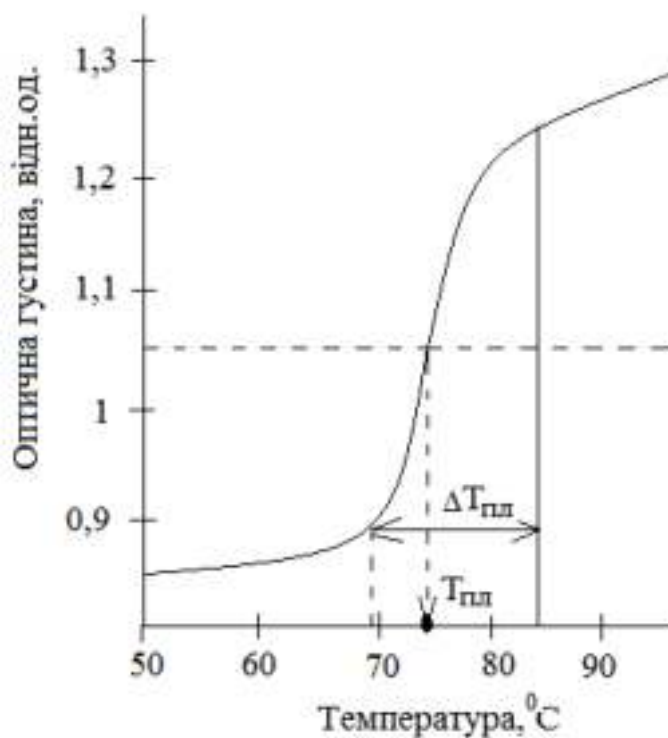


Рисунок 6.14 – Крива плавлення ДНК.

$T_{пл}$  – температура середини переходу;  $\Delta T_{пл}$  – температурний інтервал переходу

### 6.3.5 Гіперхромний ефект

Електронна структура гетероциклів пуринів і піримідинів має нерівномірно-розподілену електронну щільність у площинах основ, тому нуклеїновим кислотам притаманні енергопоглинальні властивості. Нуклеїнові кислоти поглинають світло на довжині хвилі 260 нм. У разі, коли ланцюги ДНК розташовані у вигляді спіралі, пари основ екрануються всередині молекули, що призводить до зменшення поглинання світла основами. Коли відбувається розділення двох ланцюгів, поглинання на довжині хвилі 260 нм зростає на 30–40%, що слугує індикатором інтактності ДНК під час плавлення та проявляється як гіперхромний ефект (рис. 6.15). Зростання оптичної густини в процесі денатурації ДНК відоме як гіперхромний ефект.

Значення температури та рН, за яких відбувається денатурація, залежать від нуклеотидного складу ДНК. Що вищим є вміст ГЦ-пар, то більшим є значення температури плавлення. Це відбувається тому, що три водневі зв'язки між Г та Ц розірвати важче, ніж два водневі зв'язки між А та Т. Тому ГЦ-збагачена ДНК є більш стійкою до нагрівання, ніж ДНК, у якій превалюють АТ-пари.

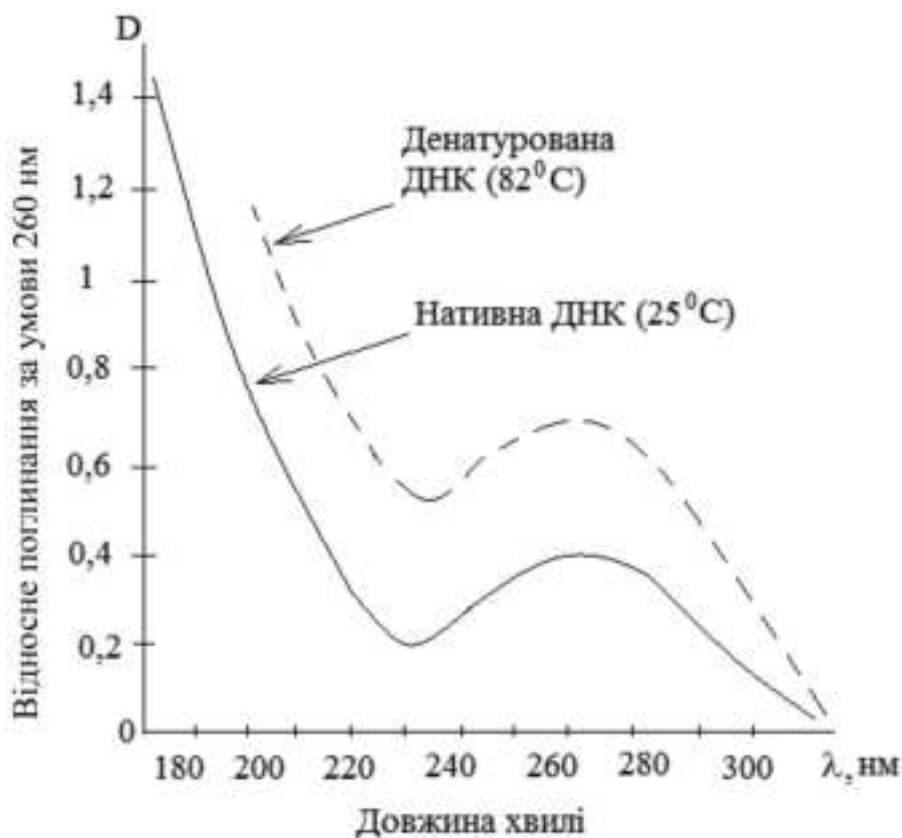


Рисунок 6.15 – Гіперхромний ефект ДНК

## 6.4 Структура РНК

Рибонуклеїнові кислоти містяться в усіх живих клітинах і структурно подібні до ДНК. Однак молекули РНК є одноланцюговими, мають полінуклеотидний остов, що складається з чергування фосфатних груп і цукру рибози. До кожного цукру приєднана одна з чотирьох основ: аденін (А), урацил (У), цитозин (Ц), гуанін (Г). У клітинах присутні різні типи РНК: матрична РНК (мРНК), рибосомальна РНК (рРНК) і транспортна РНК (тРНК). Інші типи РНК беруть участь у регуляції експресії генів і мають ферментативну активність.

### 6.4.1 мРНК

мРНК переносить інформацію про первинну структуру білкової молекули від ДНК ядра клітини до цитоплазми. мРНК становить близько 10% загального вмісту РНК у клітині. Утворенню зрілого транскрипту мРНК передують синтез первинного транскрипту – пре-мРНК, що належить до групи гетерогенних ядерних РНК (гяРНК). Пре-мРНК складається з некодуючих ділянок ДНК (*інтронів*), що не містять інформації про послідовність амінокислот білка та ділянок ДНК (*екзонів*), які кодують амінокислотну послідовність білків.

Вилучення інтронів та з'єднання між собою екзонів відбувається внаслідок сплайсингу за допомогою білкової ядерної структури – сплайсосоми. Склад сплайсосоми містить п'ять малих ядерних РНК (мяРНК), кожна з яких зв'язана з білковими факторами.

Процесинг, або посттранскрипційна модифікація, – це дозрівання пре-мРНК до її функціонально активної форми (рис. 6.16). Процесинг реалізується внаслідок:

- 1) приєднання «кеп»-структур до 5'-кінця молекули (*кепування*);
- 2) приєднання залишків аденіну до 3'-кінця молекули (*поліаденілірування*);
- 3) вирізання інтронів і з'єднання екзонів (*сплайсинг*);
- 4) приєднання метильної групи (*метилування*). Після етапів підготовки пре-мРНК перетворюється на зрілий транскрипт мРНК.

Більшість еукаріотичних мРНК є моноцистронними. Молекула моноцистронної РНК містить послідовність екзонів, що кодують один білок. Молекула біцистронної мРНК містить послідовність, що кодує два білка. Поліцистронні мРНК кодують білки бактерій і вірусів.

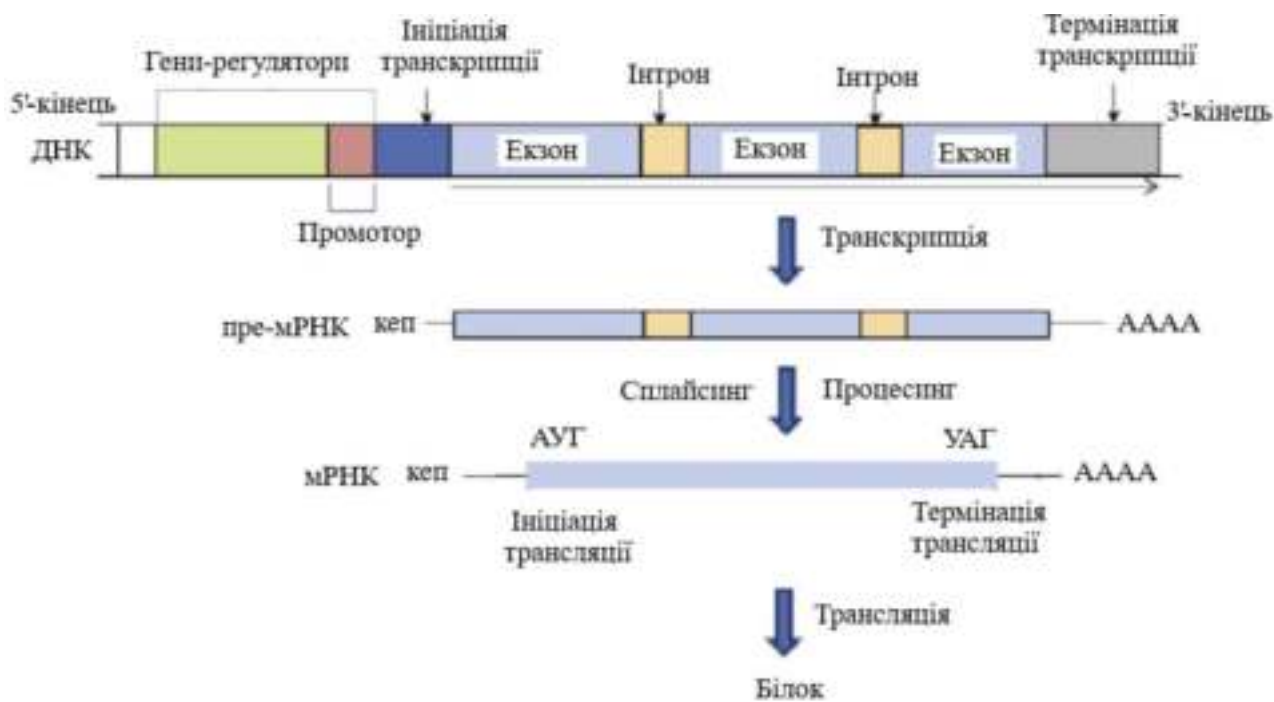


Рисунок 6.16 – Сплайсинг і процесинг пре-мРНК.

До 5'-кінця ланцюга пре-мРНК приєднується «кеп» – модифікований нуклеотид 7-метилгуанозинтрифосфату.

До 3'-кінця приєднується повторювана послідовність аденіну (полі-А).

Зріла мРНК транспортується з ядра в цитоплазму

мРНК може набувати вторинної структури у вигляді специфічних конфігурацій, таких як «стебло-петля» та «псевдовузол». Вторинну структуру мРНК стабілізують внутрішньомолекулярні взаємодії – водневі зв'язки та електростатичні взаємодії. Вторинні структури мРНК слугують для регуляції процесу трансляції. «Псевдовузли» забезпечують програмовану зміну рамки зчитування генів.

#### 6.4.2 тРНК

Транспортна рибонуклеїнова кислота (тРНК) забезпечує декодування послідовності мРНК способом розпізнавання своїм антикодоном (послідовність із трьох нуклеотидів) певного кодона мРНК. Довжина тРНК становить 76–90 нуклеотидів. Молекула тРНК має структуру у вигляді петель і шпильок, що утворюють форму трилистої конюшини (рис. 6.17).

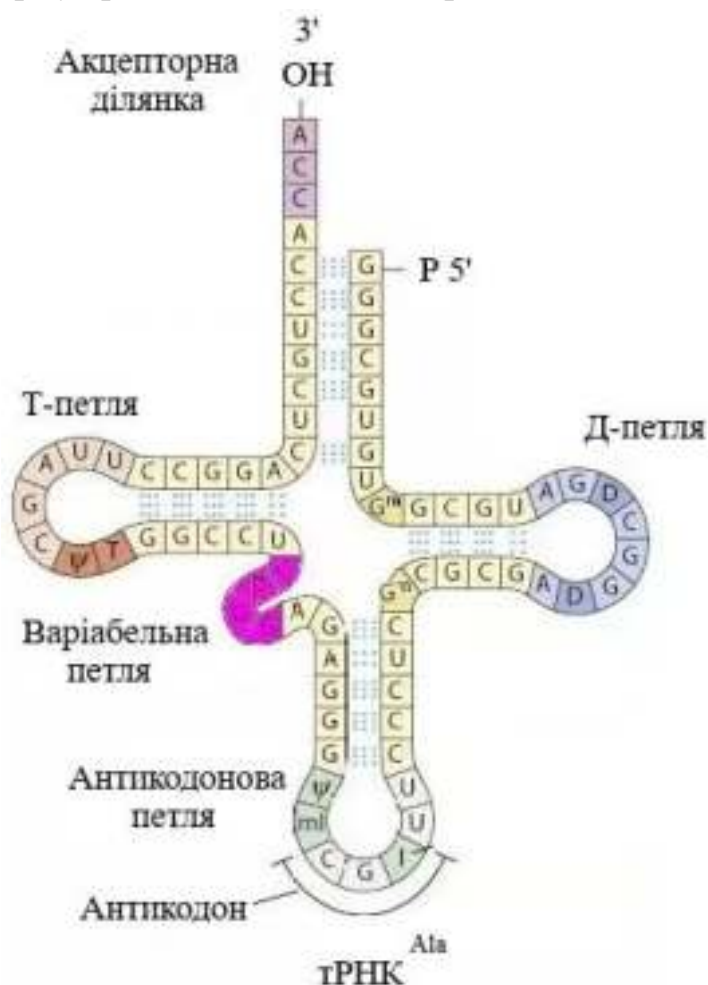


Рисунок 6.17 – Структура тРНК

Антикодонова петля містить послідовність нуклеотидів – антикодон, що розпізнає та декодує кодон мРНК. Акцепторна петля розміщена на 3'-кінці тРНК, має особливу послідовність нуклеотидів ЦЦА й утворює

складноферний зв'язок із амінокислотою. 5'-кінець містить фосфатну групу. Д-петля утворена 3–4 парами основ та містить дигідроуридин у формі модифікованого нуклеотиду. Т-петля має 4–5 пар основ та містить псевдоуридин. Т-петля є найближчою до 3'-кінця; Т-петля визначає високий рівень специфічності тРНК та забезпечує взаємодію з рРНК. Варіабельна петля має розмір від 3 до 21 пар основ.

Процесинг пре-тРНК відбувається за участю РНК-полімерази III (рис. 6.18).

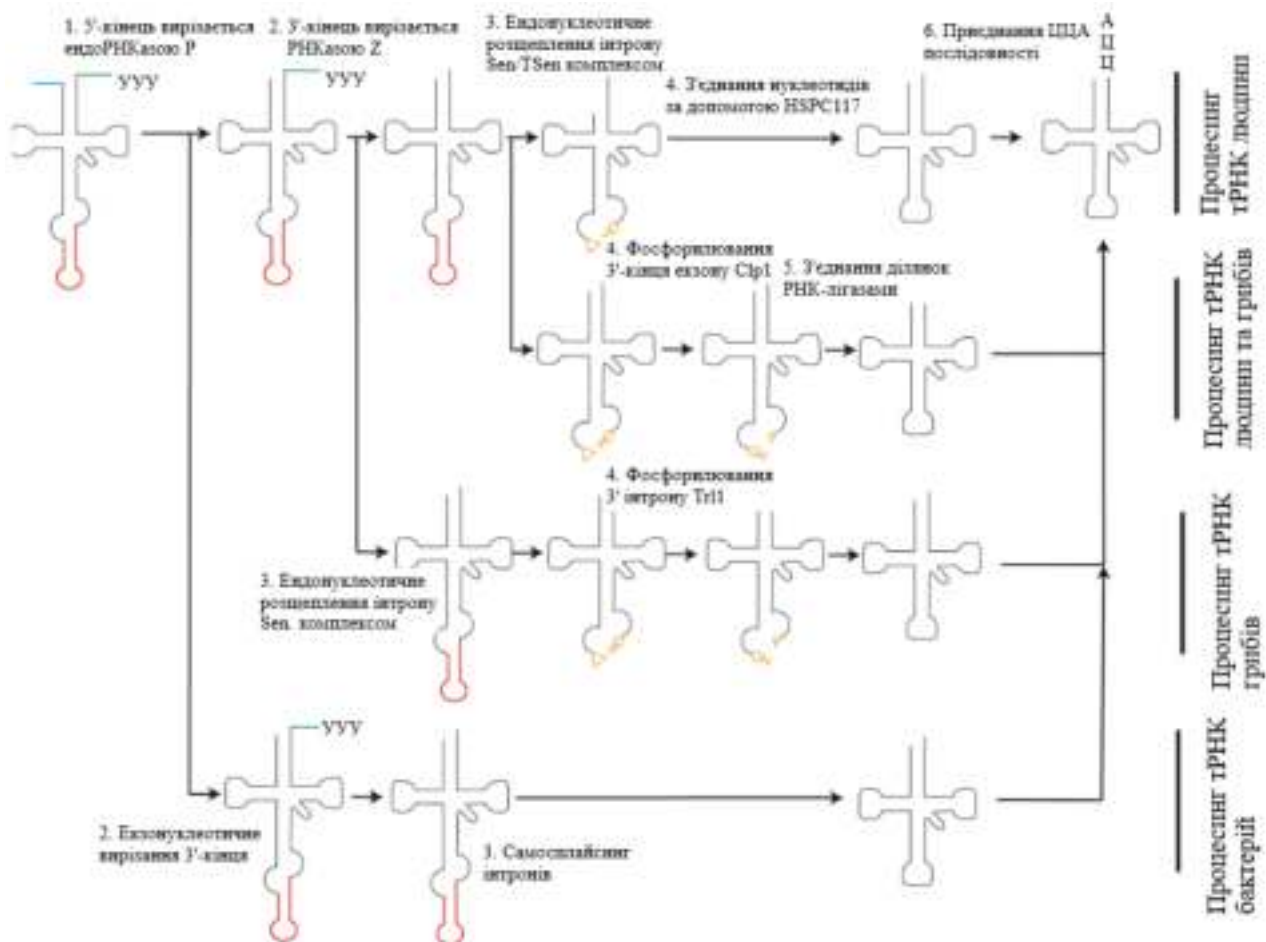


Рисунок 6.18 – Шляхи дозрівання тРНК у різних таксономічних груп.

Пре-тРНК містить 5'-кінець, 3'-кінець, інтрон.

Для утворення зрілої тРНК задіяні різні ферменти – ендо- та екзонуклеази

За допомогою ендоРНКази *P* вирізаються послідовності нуклеотидів на 5'- та 3'-кінцях. *SEN* комплекс (*Sen2*, *Sen15*, *Sen34* і *Sen54*) ендонуклеолітично розщеплює тРНК з обох боків інтрона, залишаючи 2', 3'-циклічний фосфат на 5'-кінці екзону й 5' гідроксил на 3'-кінці екзону. РНК-лігаза *HSPC117* безпосередньо діє на 2', 3'-циклічний фосфат для з'єднання послідовностей екзону.

### 6.4.3 рРНК

Молекули рибосомної РНК (рРНК) є структурними компонентами рибосом прокаріотичних та еукаріотичних клітин. рРНК становлять близько 80% усієї РНК клітини, локалізовані в цитоплазмі та мітохондріях. рРНК відіграє важливу роль у розпізнаванні консервативних ділянок мРНК і тРНК під час синтезу білка. В одній клітині може міститися від 50 до 5000 генів рРНК і до 10 мільйонів рибосом. Активність генів рРНК приводить до утворення ядерця, у якому утворюються субодиниці рибосом і відбувається рання збірка рибосом.

Прокаріотичні рибосоми містять дві субодиниці – велика з коефіцієнтом седиментації 50S і мала – з коефіцієнтом седиментації 30S; молекулярна маса великої субодиниці становить  $1,8 \cdot 10^6$  Да, малої –  $1,0 \cdot 10^6$  Да. У складі 50S-субодиниці містяться одна молекула 23S-рРНК, одна молекула 5S-рРНК і 34 молекули білка. Субодиниця 30S має одну молекулу 16S-рРНК і 21 білка. Велика субодиниця рибосом еукаріотів має константу седиментації 60S та молекулярну масу  $2,8 \cdot 10^6$  Да, мала субодиниця має константу седиментації 40S і молекулярну масу  $1,4 \cdot 10^6$  Да. Субодиниці рибосом еукаріотів також відрізняються набором Ррнк і кількістю та структурою білків. 60S-субодиниця містить 5S-рРНК, 5,8S-рРНК і 28S-рРНК та понад 50 різних поліпептидів. Мала 40S-субодиниця має одну 18S-рРНК і близько 30 поліпептидних ланцюгів. Усі рРНК, за винятком 5S-рРНК, мають загального попередника – 45S-РНК, що локалізується в ядерці (рис. 6.19).

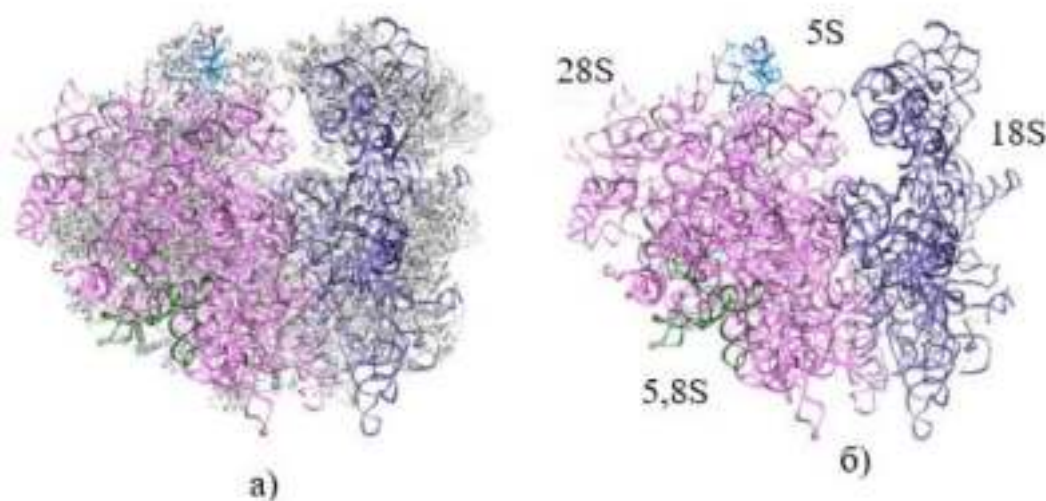


Рисунок 6.19 – Структура рибосоми людини (*PDB*: код 4UG0). рРНК у великій субодиниці (28S, 5,8S, 5S) і в малій субодиниці (18S).

Структура рибосоми з рибосомними білками (сірий колір) (а).

Рибосомні РНК (б)

Посттранскрипційні модифікації пре-рРНК реалізуються з допомогою процесингу: метилювання полірибонуклеотидів, у яких метильні групи зв'язуються або з азотистими основами, або з 2'-гідроксильними групами рибози. рРНК 18S, рРНК 5,8S і рРНК 28S транскрибуються РНК полімеразою I. У первинному транскрипті пре-рРНК, рРНК 18S, 5,8S і 28S фланкуються нуклеотидними послідовностями на 5'- і 3'-кінці за допомогою *спейсерів* (ділянок молекули, що не транскрибуються): зовнішніх *спейсерів* (*ETS*) та двох внутрішніх спейсерів (*ITS1* і *ITS2*). Спейсери містять декілька ділянок, на які діють ендорибонуклеази, у цьому разі первинний транскрипт розщеплюється, наприклад, у місцях 1, A0 (рис. 6.20).

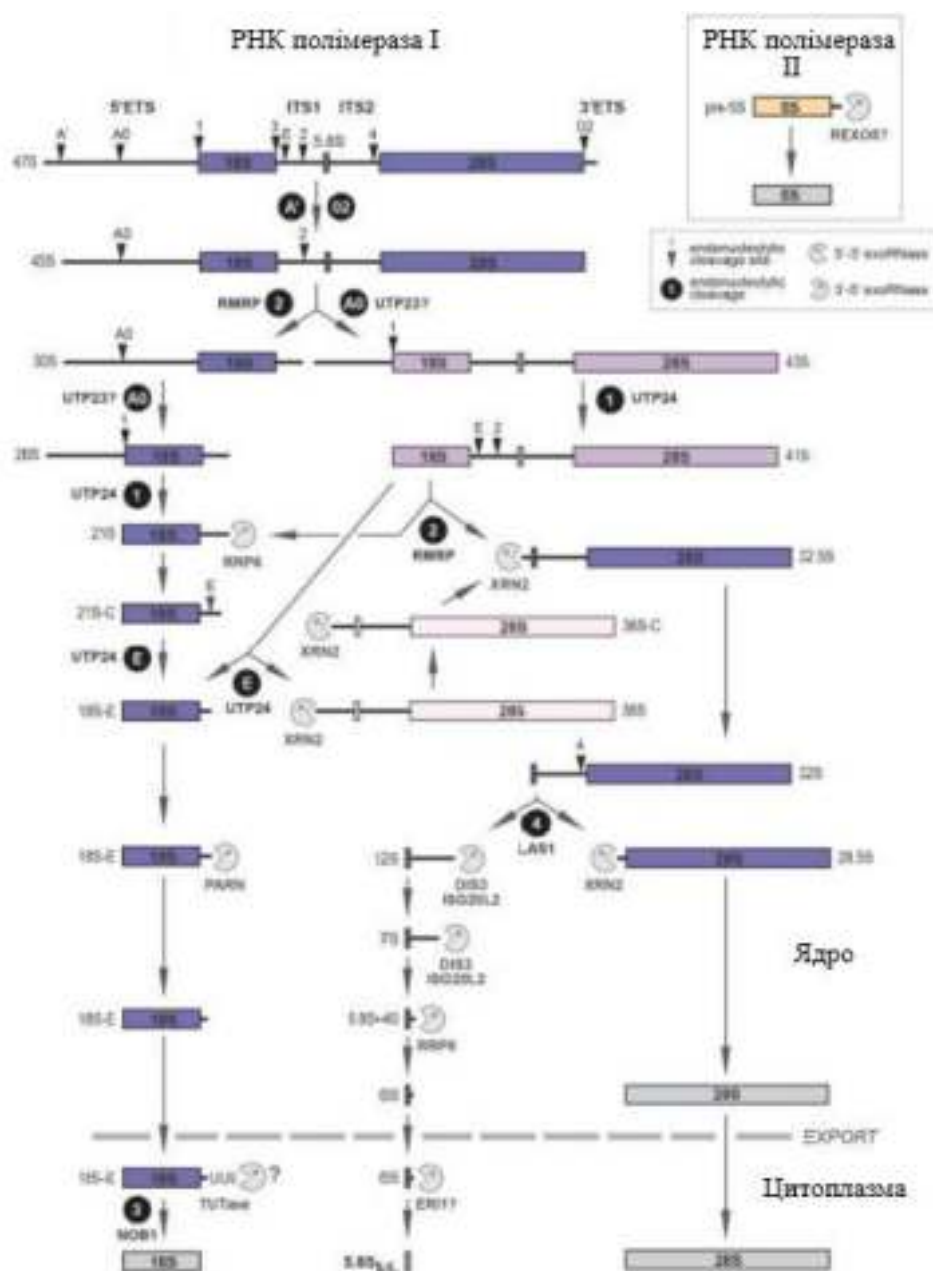


Рисунок 6.20 – Пре-рРНК процесинг у клітинах людини. Поступове вирізання спейсерів у пре-рРНК способом послідовної дії ендо- та екзорибонуклеаз

Залежно від місця розщеплення та кінетичних параметрів ендорибонуклеаз та екзорибонуклеаз утворюються різні набори рРНК. Основний спосіб процесингу пре-рРНК, що приводить до утворення функціонально-активних типів рРНК, охоплює ділянку розщеплення A0. 5S рРНК транскрибується РНК-полімеразою III; про дозрівання 5S рРНК є небагато інформації.

#### 6.4.4 Рибозими

Відкриття рибозимів – молекул РНК з ферментативною активністю – належить американським біохімікам Томасу Чеху та Сідні Альтман, за що вони 1989 р. були нагороджені Нобелівською премією. РНК-компонент РНК-білкового комплексу під назвою *рибонуклеаза P* – це унікальний фермент, що за допомогою рибозимної активності бере участь в обмеженому нуклеолітичному процесингу попередників тРНК (рис. 6.21). Рибозими з групи сателітних РНК утворюють просторову структуру типу «голівки молотка» (*hammerhead*), які мають властивість ауто-нуклеолітичного розщеплення. Такі РНК виявили в сателітних РНК вірусів рослин, віроїдів, а також серед транскриптів сателітних ДНК тритонів.

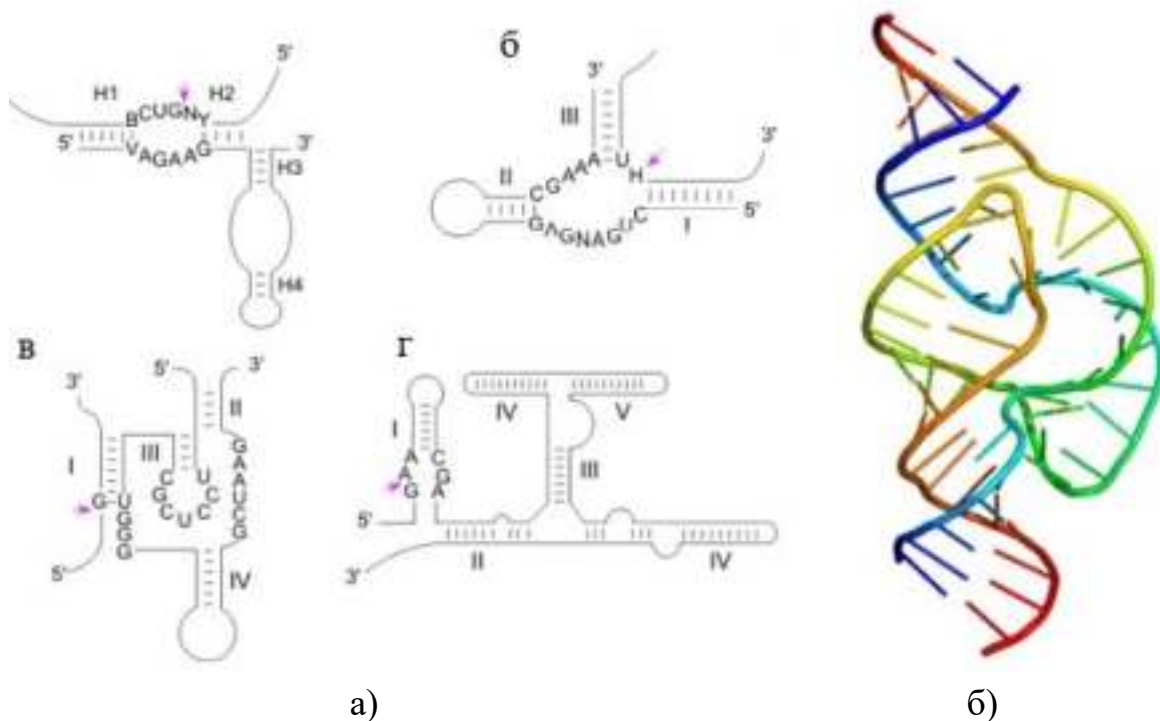


Рисунок 6.21 – Вторинні структури рибозимів, які здатні розщеплювати РНК (а); третинна структура молоточкового (*hammerhead*) рибозиму, що розщеплює РНК (б)

Для проявів ферментативної активності необхідна мінімальна РНК-молекула завдовжки 27 нуклеотидів, з яких 13 – висококонсервативні, у межах трьох нуклеотидів відбувається розщеплення фосфодієфірного зв'язку. Крім рибозиму типу *hammerhead*, до групи природних рибозимів належать: інтрони груп I та II; свинцевий рибозим (*leadzyme*); рибозим вірусу дельта-гепатиту; рибозим *Tetrahymena*; рибозим *VS*; рибозим глюкозамін-синтази (рибозим, що активується глюкозамін-6-фосфатом) тощо.

Відкриття рибозимів дає підстави припустити, що в процесі еволюції молекулам РНК належала провідна роль у збереженні та передачі генетичної інформації до того, як цю функцію почала виконувати молекула ДНК.

## 6.5 Третинна структура нуклеїнових кислот

Спіралізація вторинної структури ДНК призводить до утворення третинної структури ДНК, що стабілізується внутрішньомолекулярними взаємодіями та утворює суперспіраль. Третинна структура ДНК існує в хромосомах еукаріотів: завдяки взаємодії спеціальних білків (*гістонів*) з ДНК організовується структурна одиниця хроматину ядра – нуклеосома. Нуклеосоми відіграють ключову роль в епігенетичній регуляції транскрипції, реплікації, відновленні ДНК і перепрограмуванні клітин. Нуклеосоми утворюють хроматинове волокно завдовжки 250–300 нм. Хроматин – це щільно конденсовані нуклеосоми. Подальша конденсація волокон хроматину призводить до утворення хромосоми (у клітині організму людини міститься 46 хромосом – 23 пари) (рис. 6.22). Роль конденсації ДНК полягає в тому, щоб вмістити значну кількість генетичної інформації в межах однієї клітини. Окремі частини ДНК розмотуються лише тоді, коли вони транскрибуються для експресії генів. Отже, скручування ДНК є як просторовою, так і регуляторною необхідністю. Роль гістонів полягає в підтримці структурної організації хромосом і регуляції експресії генів.

Основу нуклеосоми організовує гістоновий кор, що містить дві копії білків гістонів – H2A, H2B, H3 та H4 (гістоновий октамер) та 146 пар нуклеотидів ДНК, намотаних на гістоновий кор. У складі гістонового комплексу також міститься додатковий лінкерний гістоновий білок – H1 та лінкерна ДНК (20–60 п.н.), що полегшують формування структур хроматину вищого рівня та беруть участь в регуляції транскрипції. Діаметр нуклеосоми приблизно 11 нм. Гістони є позитивно зарядженими білками з молекулярною масою від 11 до 21 кДа, вони багаті на основні амінокислоти (аргінін і лізин),

завдяки чому взаємодія між гістонами та ДНК стабілізується іонними зв'язками (рис. 6.23, 6.24).

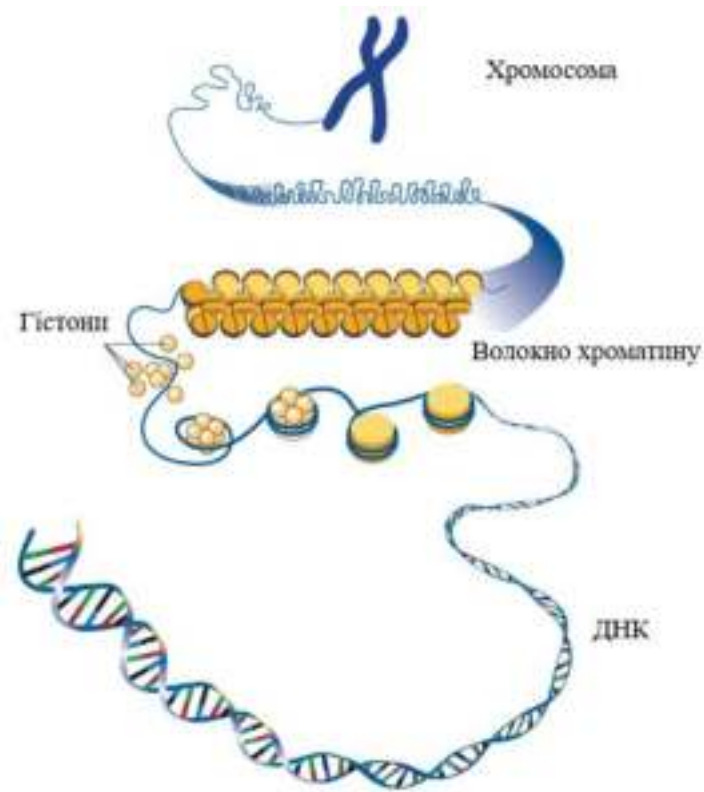


Рисунок 6.22 – Конденсація генетичного матеріалу

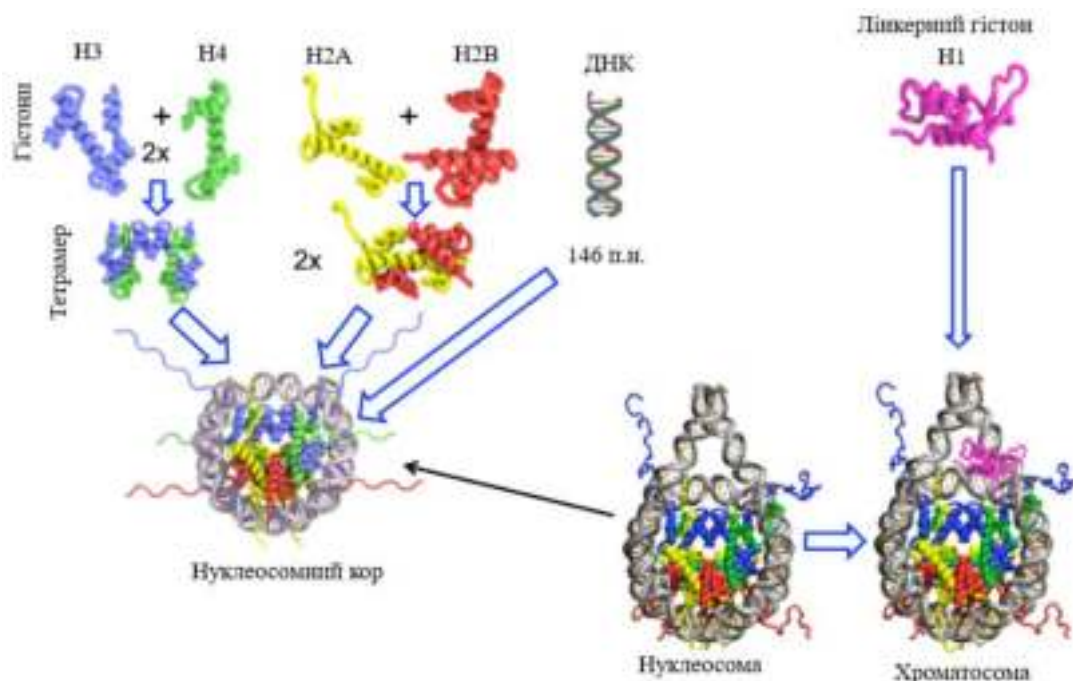


Рисунок 6.23 – Структурна організація нуклеосоми.

Структура гістонів у формі димерів, тетрамерів та октамеру (а); нуклеосома, що містить ДНК й намотана 1,65 раза навколо восьми білків гістонів 2 H2A, 2 H2B, 2 H3, 2 H4



Рисунок 6.24 – Схематичне зображення нуклеосоми

Основними силами, що забезпечують стабільність структури нуклеосоми, вважаються електростатичні взаємодії між фосфатними групами малої борозенки ДНК та залишками аргініну в С-термінальному глобулярному регіоні корових гістонів, особливо щодо пари білків Н3-Н4. Цей димер визначається найбільш консервативною будовою серед усіх відомих тепер білкових молекул. Оскільки основними силами приєднання корових гістонів до ДНК є електростатичні, за умов підвищення концентрації солей ці білки дисоціюють. За таких умов периферійні димери Н2А-Н2В від'єднуються раніше, а більш глибоко розташовані Н3-Н4 – пізніше. Н2А-Н2В стабілізують олігомеризацію Н3-Н4. За фізіологічних умов час дисоціації периферійних димерів від октамеру становить менше ніж секунду.

## 6.6 Контрольні запитання та завдання

1. Що таке функціональне значення нуклеїнових кислот?
2. Схарактеризуйте будову нуклеотиду. У чому полягає відмінність структури нуклеотидів у ДНК та РНК?
3. Назвіть особливості будови ДНК та РНК.
4. Перелічіть молекулярні сили, що стабілізують вторинну структуру ДНК та РНК.
5. Які фактори сприяють існуванню різних форм ДНК?
6. Що таке денатурація ДНК? Назвіть фізико-хімічні фактори, що сприяють плавленню молекули ДНК.
7. У чому полягає фізичний зміст гіперхромного ефекту?
8. Назвіть типи РНК та їх роль у процесах реалізації генетичної інформації.
9. Дайте визначення процесингу мРНК, тРНК, рРНК.
10. Дайте визначення нуклеосоми як структурної одиниці хроматину ядра.

## 6.7 Додаткові завдання

6.7.1 Фрагмент ДНК у В-формі має 7520 витків. Скільки нуклеотидів міститься в складі фрагмента?

6.7.2 Фрагмент молекули ДНК містить 250 гуанілових нуклеотидів, що становить 15% від загальної кількості. Скільки в цьому фрагменті аденілових нуклеотидів?

6.7.3 Фрагмент молекули ДНК містить 150 аденілових та 75 гуанілових нуклеотидів. Установити кількість водневих зв'язків, що утворюються між комплементарними ланцюгами ДНК.

6.7.4 Ген має п'ять екзонів. Напишіть продукт сплайсингу мРНК за умови, що відбулася делеція трьох нуклеотидів на 5'-кінці четвертого інтрону.

6.7.5 Відновіть послідовність нуклеотидів у гені ДНК, з якого був синтезований ланцюг іРНК з такою послідовністю: ГУАЦЦГГУГУАГЦУГУАЦ.

6.7.6 У молекулі ДНК з відносною масою 93 000 містяться аденінові нуклеотиди загальною масою 8 625. Визначити кількість нуклеотидів кожного виду, якщо молекулярна маса одного нуклеотида становить 345.

6.7.7 Скільки міститься аденінових, тимінових, гуанінових, цитозинових нуклеотидів у фрагменті молекули ДНК, якщо в ньому виявлено 950 цитозинових нуклеотидів, що становлять 20% від загальної кількості нуклеотидів у цьому фрагменті?

6.7.8 У молекулі ДНК на частку цитозинових нуклеотидів припадає 18%. Визначте відсотковий вміст інших нуклеотидів, що містяться в молекулі ДНК.

6.7.9 У молекулі ДНК із відносною молекулярною масою 69 000 на частку аденінових нуклеотидів припадає 8 625. Відносна молекулярна маса одного нуклеотиду в середньому – 345. Визначте кількість кожного нуклеотиду в молекулі ДНК.

6.7.10 У молекулі ДНК виявлено 880 гуанінових нуклеотидів, які становлять 22% від загальної кількості нуклеотидів цієї ДНК. Визначте кількість кожного нуклеотиду в цій молекулі ДНК. Яка довжина ДНК?

## 7 БІОФІЗИЧНІ ОСНОВИ МАТРИЧНИХ ПРОЦЕСІВ

Основними матричними процесами, властивими всім живим організмам, є реплікація ДНК, транскрипція і трансляція. Кожен процес має три стадії: ініціація – початок біосинтезу біополімеру, елонгація – подовження ланцюга або полімеризація мономерів, термінація – завершення біосинтезу біополімеру.

### 7.1 Реплікація ДНК

Реплікація ДНК – це процес, за допомогою якого дволанцюгова молекула ДНК копіюється з утворенням двох ідентичних молекул ДНК. Реплікація реалізується перед поділом клітини в *S*-фазу клітинного циклу з метою отримання дочірньою клітиною геному, ідентичного материнському. Реплікація має чотири етапи – ініціація реплікації, яка супроводжується утворенням реплікативної вилки; елонгація – синтез дочірніх ланцюгів; термінація – вилучення праймерів; завершення синтезу дочірніх ланцюгів. Наведемо основні характеристики реплікації.

- Реплікація ДНК є напівконсервативним процесом. Згідно з цим механізмом материнська молекула ДНК під час реплікації поділяється на два ланцюги, кожен з яких є матрицею для синтезу нового комплементарного ланцюга. Новоутворена молекула ДНК має один материнський ланцюг ДНК та один новий синтезований ланцюг.

- Дочірня ДНК утворюється за участю ферментів ДНК-полімераз, які потребують матриці материнської ДНК та невеликої ділянки нуклеотидів – праймера. Дочірня ДНК синтезується у напрямку від 5'- до 3'-кінця. Необхідна присутність чотирьох трифосфонуклеотидів – АТФ, ГТФ, ЦТФ, ТТФ.

- Під час реплікації ДНК утворюються два ланцюги: один – безперервний (*провідний*) ланцюг, другий – ланцюг, що запізнюється з набором фрагментів Оказаки.

*Фрагменти Оказаки – короткі фрагменти ДНК, що створюються на ланцюжку, який відстає, протягом реплікації ДНК. Назва фрагментів походить від прізвищ Оказакі Рейдзі (Okazaki Reiji) і Оказакі Цунеко (Okazaki Tsuneko), які відкрили їх 1968 р., досліджуючи реплікацію ДНК бактеріофагів.*

- Реплікація ДНК реалізується в присутності ферментів реплікації: праймази, ДНК-гелікази, ДНК-лігази та ДНК-топоізомерази.

Реплікація починається в певних місцях ДНК, що називаються ориджинами реплікації (*origins of replication*) (рис. 7.1). Більшість бактерій мають один ориджин реплікації завдовжки 245 пар основ. Ориджин містить переважно А/Т пари, які утримуються двома водневими зв'язками, що полегшує розходження ланцюгів ДНК. Ділянка ДНК, де здійснюється реплікація, називається репліконом. Хромосома *E. coli* містить один ориджин та є єдиним репліконом. У деяких бактерій на одну хромосому може бути два реплікони. Еукаріотична хромосома є полірепліконом і містить значну кількість точок ініціації. Спеціальні білки *SSB* (від *Single Strand Binding*) розпізнають ориджин, зв'язуються з ним і підтримують ділянку ДНК, що реплікується в розплетеному стані. Розплетена ділянка ДНК утворює дві Y-подібні структури – реплікативні вилки, що рухаються в процесі реплікації в протилежних напрямках.

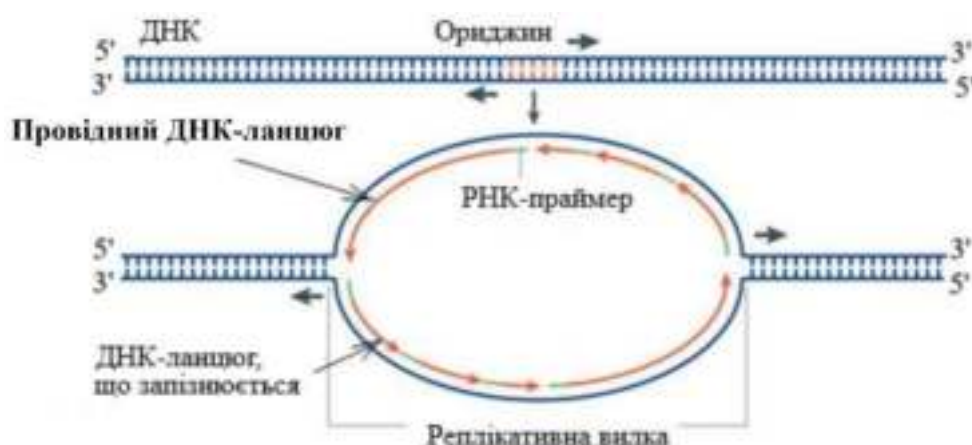


Рисунок 7.1 – Схематичне зображення ориджина реплікації

У кожній реплікативній вилці працюють дві молекули ДНК-полімерази, що здійснюють синтез двох полінуклеотидних ланцюгів. Оскільки два ланцюги є антипаралельними й синтез відбувається тільки в напрямку від 5'- до 3'-кінця, то синтез одного з ланцюгів відбувається безперервно, це є провідний ланцюг (*leading strand*); інший ланцюг синтезується окремими фрагментами – фрагментами Оказакі, – це ланцюг, що запізнюється (*lagging strand*) (рис. 7.2). Довжина фрагмента Оказакі в прокариотів становить 1–2 тис. нуклеотидів, у еукаріотів – 100–200 нуклеотидів.

ДНК-полімераза не здатна синтезувати дочірній ланцюг ДНК «з нуля»: фермент може приєднувати нуклеотид лише до наявної 3'-гідроксильної групи, тому ДНК-полімеразі потрібен *праймер*.

РНК-праймер – це короткий олігонуклеотид завдовжки 10–15 нуклеотидів, що синтезується праймазою в прокаріотів та ДНК-полімеразою в еукаріотів; потім праймер приєднується до синтезуючих ланцюгів ДНК. Стартовою молекулою в синтезі фрагментів Оказакі також є праймер. Після синтезу сусідніх фрагментів Оказакі РНК-праймер вилучається, розриви між сегментами ДНК ковалентно зшиваються ДНК-лігазою. Середня швидкість реплікації на одну реплікативну вилку становить ~750 нуклеотидів за секунду в бактерій, 60–90 нуклеотидів за секунду в еукаріотів. Синтез бактеріальної хромосоми відбувається за ~50 хв, повна реплікація ДНК еукаріотичної клітини – за кілька годин.

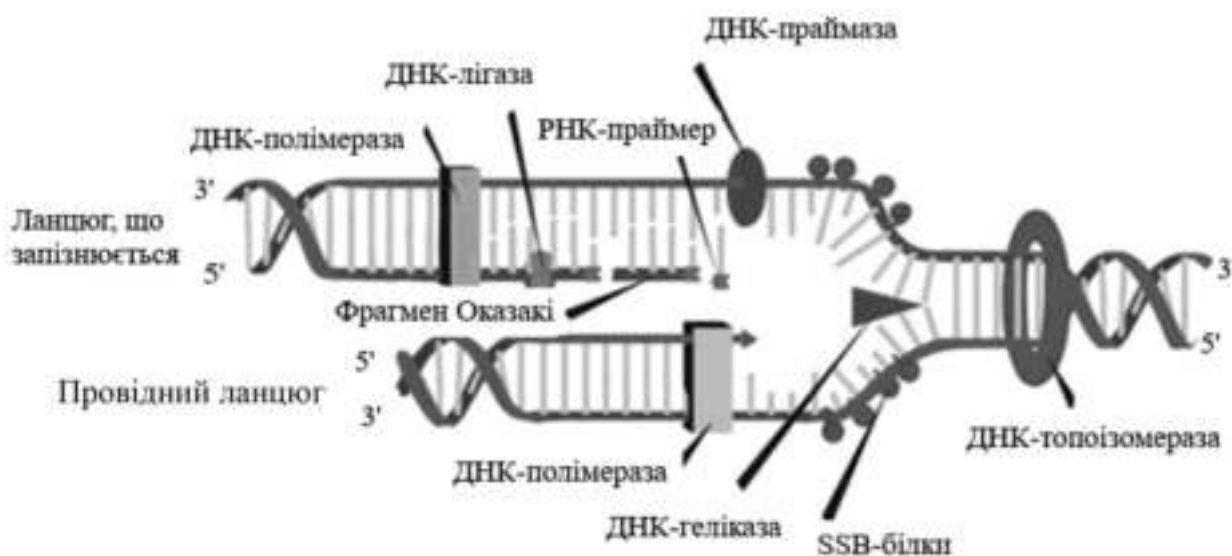


Рисунок 7.2 – Реплікативна вилка

Дозрівання – це процес утворення нової дволанцюгової молекули ДНК, що супроводжується:

- 1) вилученням некоректних пар основ, тобто тих, що утворилися не за принципом комплементарності;
- 2) додаванням відсутніх пар основ нуклеотидів у ланцюзі молекули ДНК в разі розривів ланцюга.

Корекцію здійснюють ферменти репарації – екзо-, ендонуклеази, рестриктази та лігази, що забезпечують високу точність реплікації. Після корекції РНК-праймер вилучається. Реплікація ДНК може бути порушена антибіотиками та різними мутагенами.

### 7.1.1 ДНК-полімерази

У клітинах прокаріотів присутні ДНК-полімерази трьох основних типів. ДНК-полімерази мають дві ферментативні активності: власне полімеразну, з допомогою якої до 3'-кінця ланцюга, що синтезується, приєднуються

нуклеотиди, і 3'-екзонуклеазну, яка долучена до редагування помилок завдяки відщепленню помилкових нуклеотидів, щойно приєднаних до 3'-кінця. ДНК-полімераза I – мономерний білок з мультидоменною структурою. На відміну від інших ДНК-полімераз, вона має також додаткову 5'-екзонуклеазну активність. ДНК-полімераза I використовується як допоміжна полімераза під час реплікації та інших процесів синтезу ДНК. ДНК-полімераза II долучена до певних репараційних процесів. ДНК-полімераза III – основна реплікативна полімераза прокаріотів, дві копії якої працюють у реплікативній вилці. Містить три субодиниці:  $\alpha$ -субодиниця відповідає за полімеразну активність,  $\epsilon$ -субодиниця – за 3'-екзонуклеазну активність,  $\theta$ -субодиниця виконує структурну функцію.

Еукаріотичні клітини містять п'ять ДНК-полімераз:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  і  $\epsilon$ . ДНК-полімераза  $\gamma$  (*Pol*  $\gamma$ ) є в мітохондріях і відповідає за реплікацію мітохондріальної ДНК. ДНК-полімерази  $\alpha$ ,  $\delta$  і  $\epsilon$  (*Pol*  $\alpha$ , *Pol*  $\delta$ , *Pol*  $\epsilon$ ) розташовані в ядрі, найбільш активні – у клітинах, що діляться. ДНК-полімераза  $\beta$  (*Pol*  $\beta$ ) функціонує для відновлення пошкодженої ДНК.

Ініціація синтезу ДНК під час дуплікації геному в процесі мітозу відбувається за допомогою універсального механізму праймування РНК, тобто складання коротких молекул РНК на розкручених ланцюгах спіралі за допомогою ДНК-залежної РНК-полімерази, так званої праймази. Праймування забезпечує переривчастий синтез ланцюга, що запізнюється, та вимагає постійної активності праймази в реплікативній вилці. У бактерій і бактеріофагів праймування РНК відбувається за участю одноланцюгової праймази, яка діє в комплексі з ДНК-геліказою. Еукаріотична праймаза – це гетеродимер каталітичних і регуляторних субодиниць.

Комплекс ДНК-полімераза  $\alpha$  (*Pol*  $\alpha$ ) / праймаза ініціює синтез нової ДНК під час реплікації еукаріотів. *Pol*  $\alpha$  спочатку розпізнає особливу форму подвійної спіралі – спіраль А-форми, а потім подовжує ланцюг РНК-праймера в процесі полімеризації – додаванні нуклеотидів до РНК-праймера. Після синтезу повного витка подвійної спіралі ДНК *Pol*  $\alpha$  втрачає прямий контакт зі спіраллю А-форми, *Pol*  $\alpha$  припиняє полімеризацію, залишаючи позаду праймер РНК-ДНК. Подовження ланцюга ДНК відбувається за участю ДНК-полімераз  $\delta$  та  $\epsilon$  (*Pol*  $\delta$  та *Pol*  $\epsilon$ ) (рис. 7.3).

Синхронізація праймінгу із синтезом фрагментів Оказакі вимагає узгодженої передачі праймера від *Pol*  $\alpha$  до *Pol*  $\delta$ .

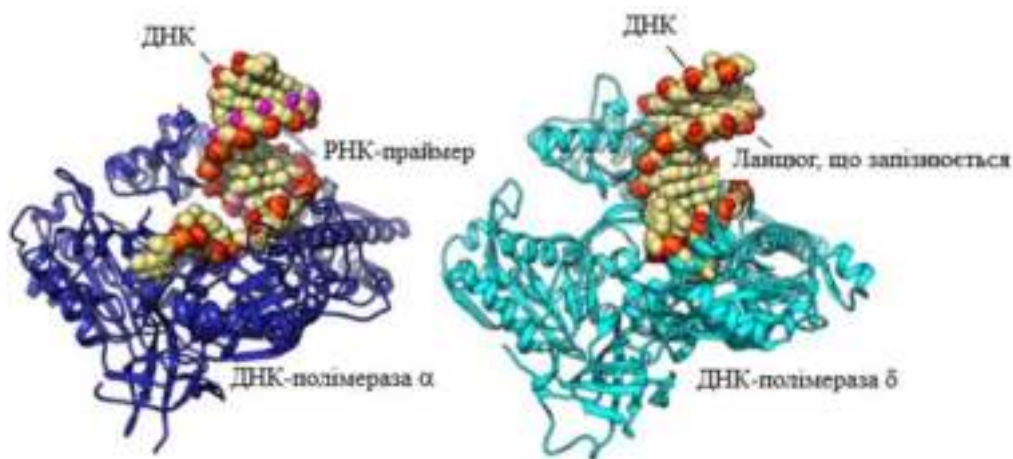


Рисунок 7.3 – Специфічне розпізнавання спіралі РНК/ДНК за допомогою *Pol α* та *Pol δ*

### 7.1.2 ДНК-топоізомерази

ДНК-топоізомерази – це ферменти, дія яких пов’язана з особливим розташуванням, тобто топологією ферментів щодо ДНК у процесах реплікації ДНК, транскрипції, рекомбінації та ремоделювання хроматину – динамічних змінах в архітектурі хроматину, завдяки яким білки, відповідальні за транскрипцію та інші процеси, отримують доступ до конденсованих ділянок геномної ДНК. Згідно з рентгеноструктурним аналізом ДНК-топоізомерази прокаріот типу ІА й типу ІІА і ДНК-топоізомерази еукаріот типу ІІА мають спільну структурну організацію. Ферменти типу ІВ структурно відрізняються від інших топоіомераз, але подібні до класу ферментів тирозин-рекомбіназ (рис. 7.4).

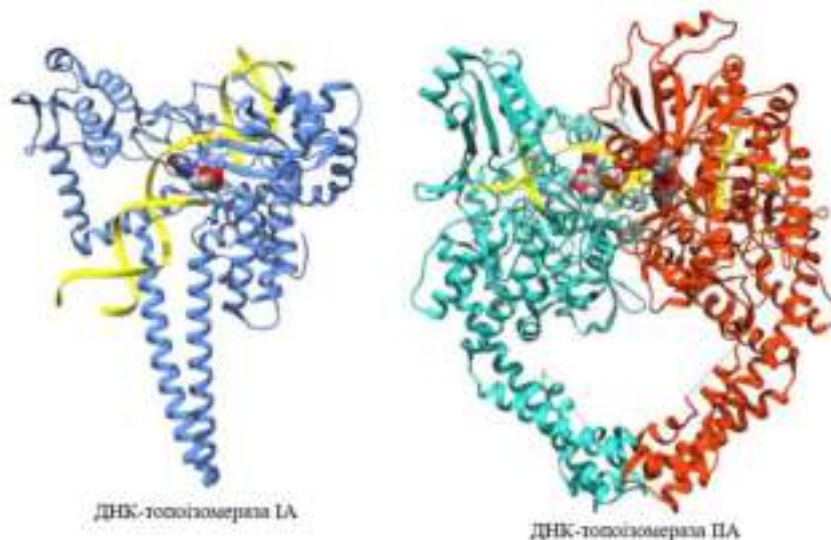


Рисунок 7.3 – Структури ДНК-топоіомераз людини. ДНК-топоіомераза ІА (*PDB: ID 1k4t*) і ДНК-топоіомераза ІІА (*PDB: ID 5qwk*) в комплексі з ДНК

ДНК-топоізомерази відповідають за тимчасові одно- або дволанцюгові розриви в ДНК, регулюють суперспіралізацію ДНК з метою полегшення взаємодії білка з ДНК та запобігають надмірній суперспіралізації.

Структурні особливості всіх топоізомераз:

- 1) шарнірні затискачі, здатні відкриватися та закриватися в процесі зв'язування з ДНК;
- 2) спеціальні порожнини для тимчасового зберігання сегментів ДНК;
- 3) структури, що забезпечують зв'язок конформаційних змін білків із динамічними характеристиками ДНК.

Зв'язування топоізомераз типу II з АТФ додатково модулюють конформаційні зміни у ферментах, для того щоб термодинамічно вигідно змінити топологію ДНК щодо білка.

### **7.1.3 ДНК-лігази**

ДНК-лігази – ферменти, що забезпечують стабільність і структурну цілісність геному в процесі реплікації, рекомбінації та репарації ДНК. Пошкодження в структурі фосфатного остова ДНК може призвести до втрати генетичної інформації та введення шкідливих хромосомних мутацій.

Відновлення структури ДНК реалізується завдяки каталітичній активності ДНК-лігаз, що утворюють фосфодієфірний зв'язок між 5'-фосфатною групою одного ланцюга із сусідньою 3'-ОН групою іншого. Ця реакція важлива не тільки для з'єднання фрагментів Оказакі під час реплікації ДНК, але й для відновлення пошкоджень ДНК. Ферментативна активність ДНК-лігази відбувається в декілька етапів:

- 1) активація ДНК-лігази з утворенням комплексу ферменту з трифосфонуклеотидом (АТФ) в активному центрі ферменту в присутності лізину;
- 2) перенесення аденозинмонофосфату (АМФ) до 5'-фосфатної групи одноланцюгового розриву;
- 3) утворення фосфодієфірного зв'язку та вивільнення АМФ (рис. 7.4).

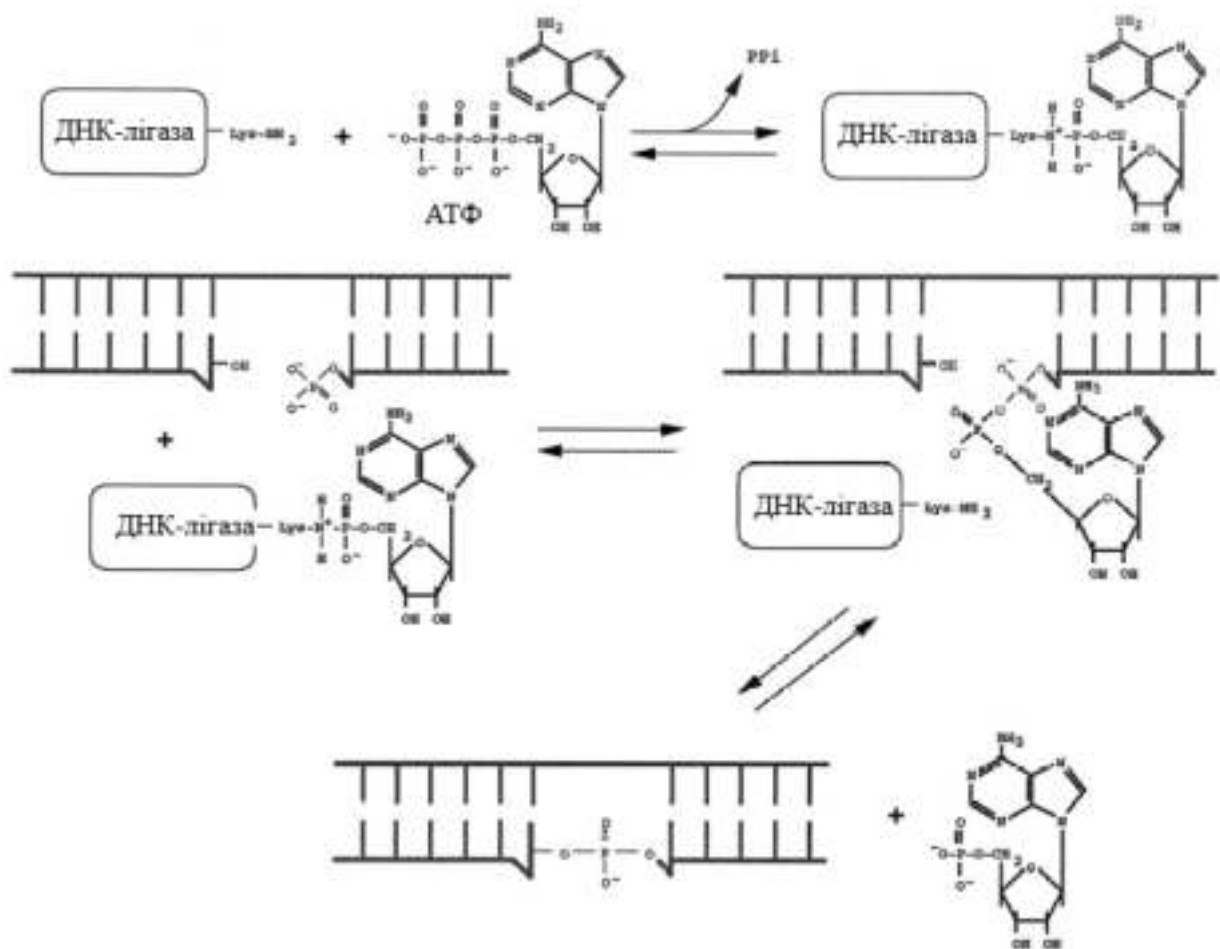


Рисунок 7.4 – Механізм дії ДНК-лігаз. АТФ-залежна ДНК-лігаза використовує АТФ як джерело енергії для прискорення реакції

#### 7.1.4 ДНК-гелікази

ДНК-гелікази беруть участь у таких процесах:

- 1) реплікація ДНК на етапах ініціації, елонгації та термінації;
- 2) рекомбінація ДНК;
- 3) відновлення ДНК;
- 4) транскрипція РНК;
- 5) трансляція;
- 6) сплайсинг транскриптів РНК з використанням хімічної енергії гідролізу двох молекул АТФ (рис. 7.5).

Завдяки дії ДНК-геліказ розриваються енергетично стабільні водневі зв'язки між дуплексною ДНК та короткі ділянки молекули ДНК розплітаються. ДНК-гелікази розташовані безпосередньо перед реплікативною вилкою. У підтриманні ділянки ДНК у розкрученому стані беруть участь *SSB*-білки, які зв'язують одноланцюгові нитки ДНК, протидіючи їх повторному об'єднанню.

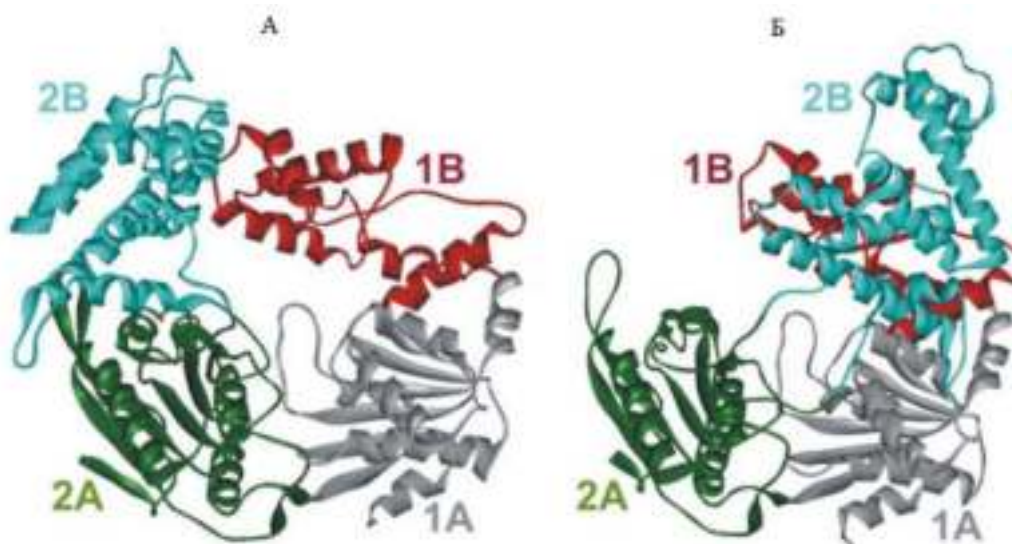


Рисунок 7.5 – Кристалічна структура ДНК-гелікази *E. coli* (PDB ID: 1UAA) у відкритій і закритій конформаціях. ДНК-геліказа містить чотири домени: 1A, 1B, 2A і 2B. Відкрита (А) і закрита (Б) конформації відрізняються наявністю моменту обертання домену 2В навколо шарнірної ділянки, що з'єднує його з доменом 2А приблизно на 130°.

Інші домени залишаються незмінними

## 7.2 Транскрипція

Транскрипція – це процес синтезу пре-мРНК, мяРНК та мікроРНК з використанням ДНК як матриці. Синтез молекул РНК починається на сайтах ініціації, тобто ДНК-промоторах, і завершується на сайтах термінації. Ділянка ДНК, обмежена ДНК-промотором і сайтом термінації, є одиницею транскрипції або транскриптоном.

### 7.2.1 РНК-полімерази прокаріотів та еукаріотів

РНК-полімераза є основним ферментом транскрипції, що реалізує свою функцію в присутності допоміжних білків, або факторів транскрипції. Фермент РНК-полімераза – це висококонсервативний білковий комплекс, що містить кілька субодиниць. Прокаріотична РНК-полімераза має п'ять субодиниць ( $\alpha$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\sigma$ ), її молекулярна маса становить 465 кДа, вона здатна транскрибувати всі типи РНК (рис. 7.6). РНК-полімераза II еукаріотів має 10–12 субодиниць – *RPB 1* (ДНК-залежна РНК-полімераза субодиниця 1), *RPB 2*... *RPB 12* і має молекулярну масу 550 кДа.

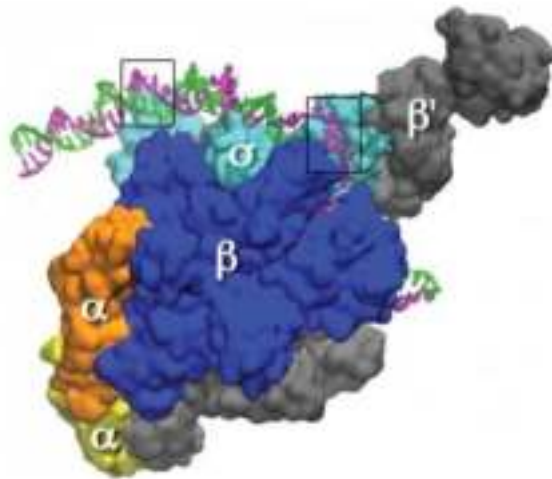


Рисунок 7.6 – РНК-полімераза *E.coli* в комплексі з ДНК

Синтез пре-мРНК еукаріотів значно складніший, ніж у прокаріотів, що пов'язано зі структурою РНК-полімерази та кількістю ферментів у клітині: замість однієї РНК-полімерази прокаріотів, еукаріоти мають три РНК-полімерази. Кожній еукаріотичній РНК-полімеразі потрібен особливий набір факторів транскрипції, щоб забезпечити коректне розміщення на матриці ДНК (рис. 7.7).

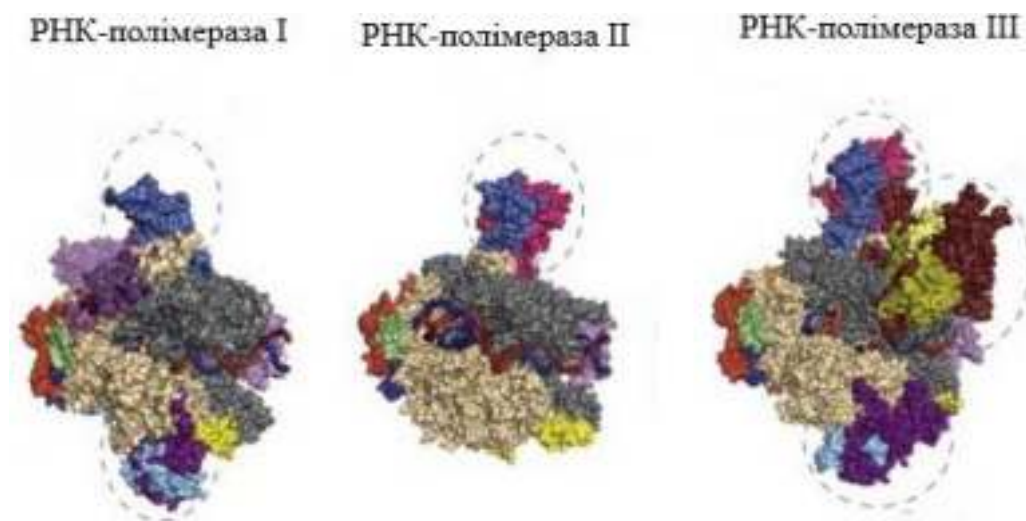


Рисунок 7.7 – Структурна організація еукаріотичних РНК-полімераз

РНК-полімераза I присутня в ядерці – спеціалізованій ядерній субструктурі, у якій рибосомна РНК (рРНК) транскрибується, піддається процесингу та збирається в рибосоми. Молекули рРНК є компонентами рибосоми й мають важливе значення для процесу трансляції. РНК-полімераза I синтезує всі рРНК, крім молекули 5S рРНК.

РНК-полімераза II розташована в ядрі й бере участь у синтезі всіх ядерних пре-мРНК. Еукаріотичні пре-мРНК підлягають інтенсивному

процесингу після транскрипції. РНК-полімераза II відповідає за транскрипцію переважної більшості еукаріотичних генів, що кодують білки.

РНК-полімераза III також розташована в ядрі. РНК-полімераза III транскрибує різні структурні РНК, зокрема 5S пре-рРНК, транспортні пре-РНК (пре-тРНК) і малі ядерні пре-РНК. Транспортні РНК відіграють важливу роль у трансляції: вони слугують молекулами-адаптерами між матрицею мРНК і поліпептидним ланцюгом, що зростає. Малі ядерні РНК мають різноманітні функції, зокрема «сплайсинг» пре-мРНК і регулювання факторів транскрипції. Деякі мікроРНК транскрибуються не лише РНК-полімеразою II, а й РНК-полімеразою III.

### 7.2.2 Ініціація транскрипції

Транскрипція починається зі зв'язування РНК-полімерази з ДНК-промотором (рис. 7.8). РНК-полімераза будує новий ланцюг РНК у напрямку від 5'-до 3'-кінця, тобто нуклеотиди РНК (А, У, Ц, Г) додаються до 3'-кінця ланцюга. У цьому разі рух РНК-полімерази здійснюється в напрямку від 3'- до 5'-кінця.

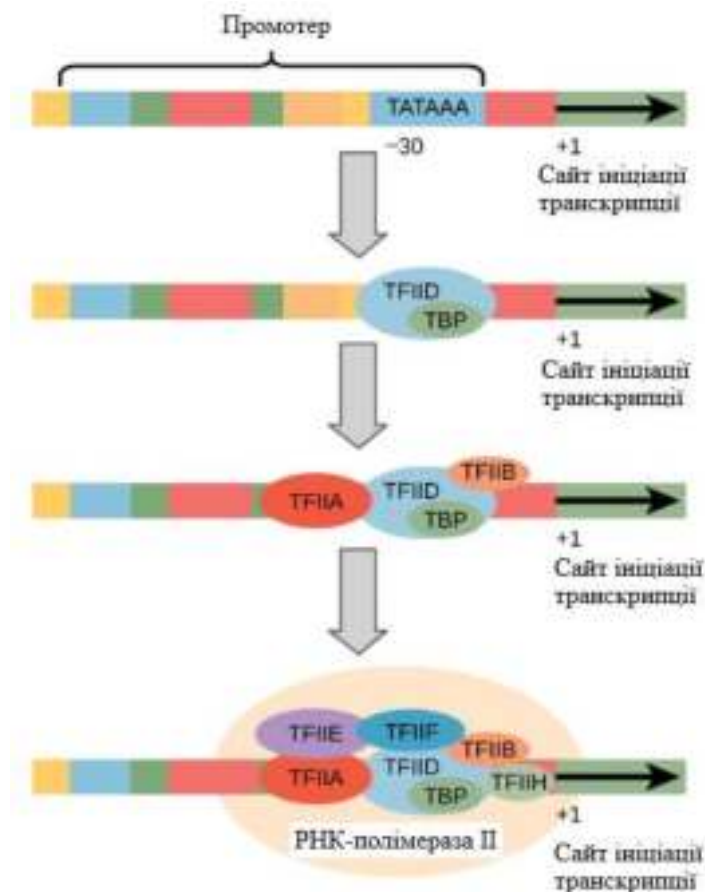


Рисунок 7.8 – Ініціація транскрипції в еукаріотів за участю РНК-полімерази II. Транскрипційні фактори розпізнають промотор, РНК-полімераза II зв'язується та утворює сайт ініціації транскрипції

ДНК-промотор еукаріотів – це коротка послідовність ДНК, відома як *TATA*-бокс, що розташований на відстані 25–30 пар основ від сайту ініціації транскрипції. *TATA*-бокс також є місцем зв'язування факторів транскрипції: *TATA*-зв'язувального білка (*TBP*), який є субодиницею фактора транскрипції II D (*TFIID*), а також ще п'яти транскрипційних факторів (*TFIIA*, *TFIIB*, *TFIIE*, *TFIIF*, *TFIIH*), що разом з РНК-полімеразою об'єднуються навколо *TATA*-бокса, утворюючи пре-ініціаційний комплекс. Фактор транскрипції II H (*TFIIH*), бере участь у розділенні протилежних ланцюгів дволанцюгової ДНК для забезпечення доступу РНК-полімерази до матриці одноланцюгової ДНК.

Швидкість транскрипції регулюють білки – активатори та репресори транскрипції, які зв'язуються з ДНК і регулюють експресію генів способом активації та зниження швидкості транскрипції відповідно.

Експресія генів потребує чіткої регуляції. Спеціальні ділянки ДНК регулюють експресію генів і слугують сайтами зв'язування для регуляторних факторів транскрипції. Збільшення ефективності транскрипції гена забезпечують *енхансери* (підсилювачі транскрипції) – специфічні ділянки ДНК розміром до 200 пар основ, до яких приєднуються фактори транскрипції – білки-активатори. Енхансери можуть розміщуватись як до, так і після генів, які вони регулюють. *Сайленсери* (інгібітори транскрипції) – це регуляторні ділянки ДНК, до яких приєднуються фактори транскрипції – білки-репресори; їх дія призводить до сповільнення або повного гальмування синтезу мРНК. *Інсулятори* мають довжину від 300 до 2000 пар основ. Інсулятори блокують дію дистальних енхансерів (перебувають у зоні між –200 та –50 нуклеотидами вище за точку старту транскрипції) та уможливають дію проксимальних енхансерів (можуть розташовуватися будь-де вздовж геному) на промотор генів, цим перешкоджають некоректній експресії генів. Інсулятори також слугують бар'єром просування конденсованого хроматину до промотора (рис. 7.9).

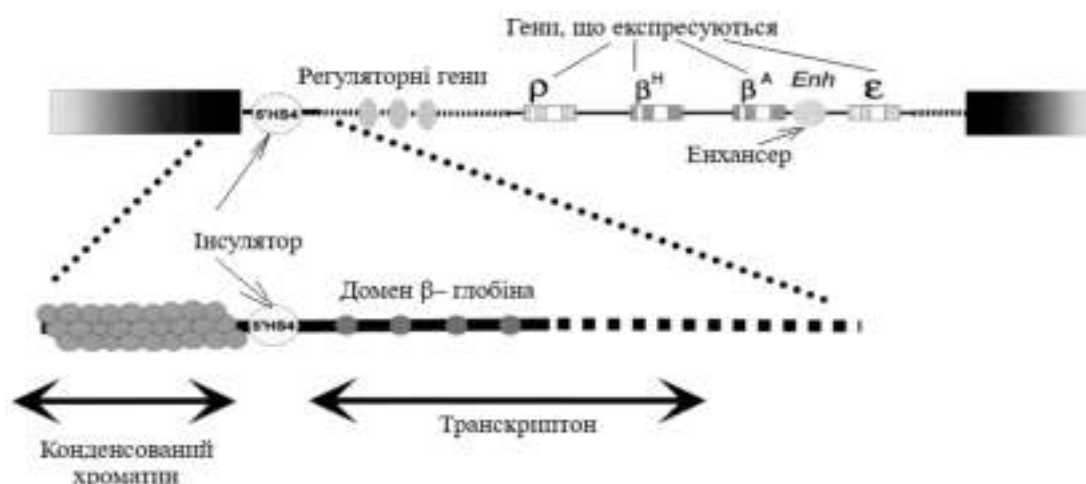


Рисунок 7.9 – Локус  $\beta$ -глобіна з регуляторними генами та генами, що транскрибуються в присутності енхансера та інсулятора

### 7.2.3 Елонгація транскрипції

Елонгація транскрипції – це процес подовження транскрипту пре-мРНК завдяки додаванню нових нуклеотидів за участю:

- 1) РНК-полімерази,
- 2) дволанцюгової ДНК-матриці та
- 3) новосинтезованого фрагменту РНК.

Під час елонгації РНК-полімераза рухається вздовж ланцюга ДНК-матриці, у напрямку від 3'- до 5'-кінця. До кожного нуклеотиду в ДНК-матриці РНК-полімераза приєднує комплементарний нуклеотид за допомогою фосфодієфірних зв'язків з утворенням ланцюга РНК, що зростає. Після того як синтезувався олігонуклеотид із 8–10 нуклеотидних залишків,  $\sigma$ -субодиниця РНК-полімерази прокариот відділяється, а замість неї до молекули ферменту приєднуються декілька факторів елонгації та починається наступна стадія. Азотисті основи А, Г, Т, Ц ланцюга ДНК кодують включення в ланцюг основ У, Ц, А і Г відповідно. ДНК-матриця одночасно може транскрибуватися багатьма РНК-полімеразами, тому, відповідно до подовження транскрипта, безліч коротких ланцюгів РНК у процесі елонгації стають довшими (рис. 7.10).

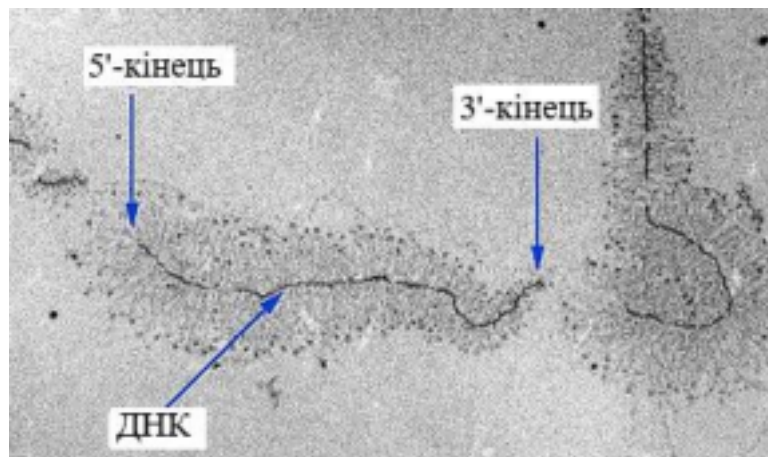


Рисунок 7.10 – Елонгація транскрипції

### 7.2.4 Термінація транскрипції

Етап термінації реалізується після досягнення РНК-полімеразою сайтів термінації (стоп-сигналу). Стоп-сигналами в транскриптоні є полі-(А)-послідовності, тому в ланцюзі РНК на 3'-кінці розташовані комплементарні їм полі-(У)-послідовності. Цей сигнал у прокариотів розпізнається термінуючим білком –  $\rho$ -фактором. Взаємодія  $\rho$ -фактора з полімеразним комплексом приводить до дисоціації комплексу ДНК-фермент-РНК і вивільнення синтезованого ланцюга. У процесі транскрипції з ДНК транскрибується первинний транскрипт РНК, що має

екзон-інтронну структуру, тому пре-мРНК зазнає посттранскрипційних змін, тобто процесингу, одним із етапів якого є сплайсинг – вилучення інтронів, зшивання екзонів і нуклеозидні модифікації (див. розділ 6), унаслідок чого формуються зрілі функціональні молекули РНК.

Термінація транскрипції для еукаріотичних РНК-полімераз відбувається по-різному. Рибосомальні гени рРНК, що транскрибуються РНК-полімеразою I, містять специфічну послідовність пар основ завдовжки 11 пар нуклеотидів у людини та 18 пар нуклеотидів у гризунів, яка розпізнається фактором термінації транскрипції – *TTF-1*. Цей білок зв'язує ДНК, блокує подальшу транскрипцію способом від'єднання РНК-полімерази I від ланцюга ДНК-матриці та вивільняє щойно синтезовану РНК.

РНК-полімераза II, що транскрибує гени, які не транслюють білки, не має специфічних сигналів або послідовностей для завершення транскрипції. РНК-полімераза II здатна продовжувати транскрибувати РНК на відстані від кількох пар нуклеотидів до тисяч пар нуклеотидів після фактичного «кінця» гена. Транскрипт розщеплюється в специфічних сайтах до того, як РНК-полімераза II завершить транскрипцію. Цей сайт розщеплення є «кінцем» гена. Залишок транскрипту розщеплюється 5'-екзонуклеазою *Xrn2*.

РНК-полімераза II, яка транскрибує гени, що кодують значну кількість білків, визначає «кінець» транскрипції пре-мРНК за специфічним сайтом розщеплення, розташованим між *AAUAAA* та послідовністю, багатою на *GU*: відстань між ними становить 40–60 нуклеотидів. Після того, як обидві послідовності транскрибуються, білок *CPSF* (*cleavage and polyadenylation specific factor*) зв'язує послідовність *AAUAAA*, а білок *CstF* (*cleavage stimulation factor*) зв'язує багату на *GU* послідовність. Білок *CPSF* містить чотири поліпептидні субодиниці з молекулярною масою 160 кДа, 100 кДа, 73 кДа і 30 кДа. Білок *CstF* містить три поліпептиди: 77 кДа, 64 кДа і 50 кДа. Присутність *CPSF* необхідна для ефективного зв'язування *CstF*, а взаємодія *CPSF* з РНК стабілізується *CstF*. *CPSF* та *CstF* утворюють складний білковий комплекс, що розщеплює пре-мРНК на ділянці 10–30 нуклеотидів нижче сайту *AAUAAA* (рис. 7.11). Стабільність потрійного комплексу РНК-*CPSF*-*CstF* визначає ефективність процесингу мРНК.

РНК-полімераза III, що транскрибує гени тРНК, 5S рРНК і структурні РНК, не має чіткого сигналу термінації. Для припинення транскрипції стоп-сигналом може слугувати послідовність з урацилу (від чотирьох до семи нуклеотидів на 3'-кінці).

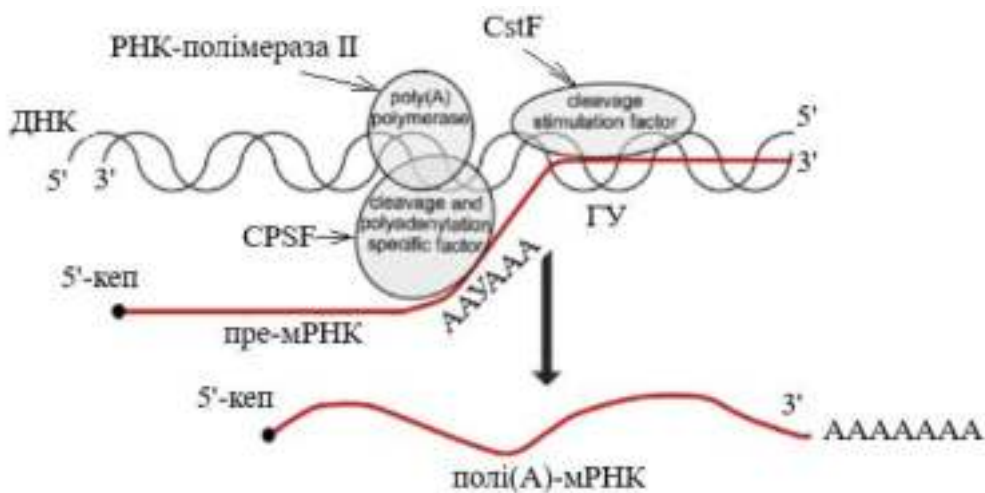


Рисунок 7.11 – Термінація транскрипції мРНК за участю білкового комплексу *CPSF-CstF*.

Процесинг пре-мРНК – кепування 5'-кінця, поліаденілювання 3'-кінця (Кеп є модифікованим рибонуклеотидом – 7-метилгуанозином, сполученим 5',5'-трифосфатним містком із першим нуклеотидним залишком транскрипту)

### 7.3 Трансляція мРНК

Гени в ДНК кодують білкові молекули, що виконують важливі для життєдіяльності організму функції. Наприклад, ферменти, які метаболізують поживні речовини й синтезують нові клітинні компоненти, а також ДНК-полімерази та інші ферменти, що реплікують ДНК під час поділу клітини, є білками.

У широкому розумінні *експресія* гена – це синтез відповідного білка, що послідовно реалізується в процесах реплікації, транскрипції та трансляції.

Трансляція є процесом «зчитування» відповідно до генетичного коду інформації про послідовність амінокислот у білках, яка закодована на мРНК (рис. 7.12). Властивості генетичного коду:

- 1) триплетність (три основи нуклеотидів – *кодон* – відповідають за трансляцію однієї амінокислоти);
- 2) неперекривання (кодони одного гена не перекриваються);
- 3) виродженість (кодування однієї амінокислоти здійснюється кількома триплетами);
- 4) компактність (код не містить проміжків між кодонами);
- 5) універсальність (генетичний код властивий усім організмам).

Трансляція відбувається в спеціалізованій органелі цитоплазми – рибосомі. В еукаріотів зрілі молекули мРНК крізь ядерні пори потрапляють у цитоплазму. У прокаріотичних організмах рибосоми можуть приєднуватися

до мРНК, тому трансляція починається з 5'-кінця мРНК, тоді як 3'-кінець все ще приєднаний до ДНК.

| Перше положення (5'-кінець) | Друге положення в кодоні         |                                  |                                  |                                  | Третє положення (3'-кінець) |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
|                             | У(Т)                             | Ц                                | А                                | Г                                |                             |
| У(Т)                        | УУУ }<br>УУЦ }<br>УУА }<br>УУГ } | УЦУ }<br>УЦЦ }<br>УЦА }<br>УЦГ } | УАУ }<br>УАЦ }<br>УАА }<br>УАГ } | УГУ }<br>УГЦ }<br>УГА }<br>УГГ } | У(Т)<br>Ц<br>А<br>Г         |
| Ц                           | ЦУУ }<br>ЦУЦ }<br>ЦУА }<br>ЦУГ } | ЦЦУ }<br>ЦЦЦ }<br>ЦЦА }<br>ЦЦГ } | ЦАУ }<br>ЦАЦ }<br>ЦАА }<br>ЦАГ } | ЦГУ }<br>ЦГЦ }<br>ЦГА }<br>ЦГГ } | У(Т)<br>Ц<br>А<br>Г         |
| А                           | АУУ }<br>АУЦ }<br>АУА }<br>АУГ } | АЦУ }<br>АЦЦ }<br>АЦА }<br>АЦГ } | ААУ }<br>ААЦ }<br>ААА }<br>ААГ } | АГУ }<br>АГЦ }<br>АГА }<br>АГГ } | У(Т)<br>Ц<br>А<br>Г         |
| Г                           | ГУУ }<br>ГУЦ }<br>ГУА }<br>ГУГ } | ГЦУ }<br>ГЦЦ }<br>ГЦА }<br>ГЦГ } | ГАУ }<br>ГАЦ }<br>ГАА }<br>ГАГ } | ГГУ }<br>ГГЦ }<br>ГГА }<br>ГГГ } | У(Т)<br>Ц<br>А<br>Г         |

Рисунок 7.12 – Генетичний код

Рибосома містить дві субодиниці: велика (50S) та мала (30S), (*S* – одиниця *Сведберга* – є мірою швидкості осідання та маси). Субодиниці рибосом містять білки, рибосомну РНК (рРНК) і транспортну РНК (тРНК). Молекули тРНК є адапторними молекулами – вони мають один кінець, який може зчитувати триплетний код у мРНК за допомогою комплементарного з'єднання основ, а інший кінець приєднується до певної амінокислоти. Ідею про те, що тРНК є адапторною молекулою, уперше запропонував Френсіс Крік. Ідея з розшифрування генетичного коду також започаткована цим ученим.

Не всі ділянки молекули мРНК відповідають певним амінокислотам. Зокрема біля 5'-кінця молекули мРНК є нетранслююча ділянка, розташована між першим нуклеотидом, який транскрибується, і стартовим кодоном (АУГ) кодувальної ділянки. Нетранслююча послідовність нуклеотидів необхідна для зв'язування з рибосомою: у бактерій – це послідовність Шайна – Дальгарно (АГГАГГ) завдовжки декілька нуклеотидів, названа на честь учених Джона Шайна та Лінна Дальгарно, які вперше її охарактеризували; в еукаріотів – це послідовність Козака завдовжки близько 170 нуклеотидів.

Трансляція мРНК відбувається в три стадії: ініціація, елонгація та термінація.

### 7.3.1 Ініціація трансляції

Трансляція мРНК починається з утворення преініціаційного комплексу мРНК з білковими факторами ініціації (*IF1*, *IF2* і *IF3*), які зв'язуються з малою субодиницею рибосоми. Преініціаційний комплекс і тРНК, що несе амінокислоту метіонін, зв'язуються з мРНК поблизу стартового кодону АУГ, утворюючи ініціаційний комплекс.

У трансляції беруть участь не вільні амінокислоти, а аміноацил-тРНК (aa-тРНК): Ала-тРНК<sup>ала</sup>, Мет-тРНК<sup>мет</sup> та інші для всіх 20 амінокислот. Кожна амінокислота зв'язана з акцепторною петлею «власної» тРНК. Це не просто активація амінокислоти, а й спряження амінокислоти з її антикодоном. Ключову роль у правильному зв'язуванні відіграють специфічні ферменти – аміноацил-тРНК-синтази. Для виконання цієї ролі аміноацил-тРНК-синтази мають по два центри впізнавання – для амінокислоти й для тРНК. Взаємодія амінокислоти з тРНК потребує енергії АТФ: спочатку амінокислота зв'язується з АТФ, а вже потім переміщується на тРНК. Ці стадії відбуваються в активному центрі аміноацил-тРНК-синтази. Кожна молекула тРНК багаторазово використовується як «носії» амінокислоти (рис. 7.13).

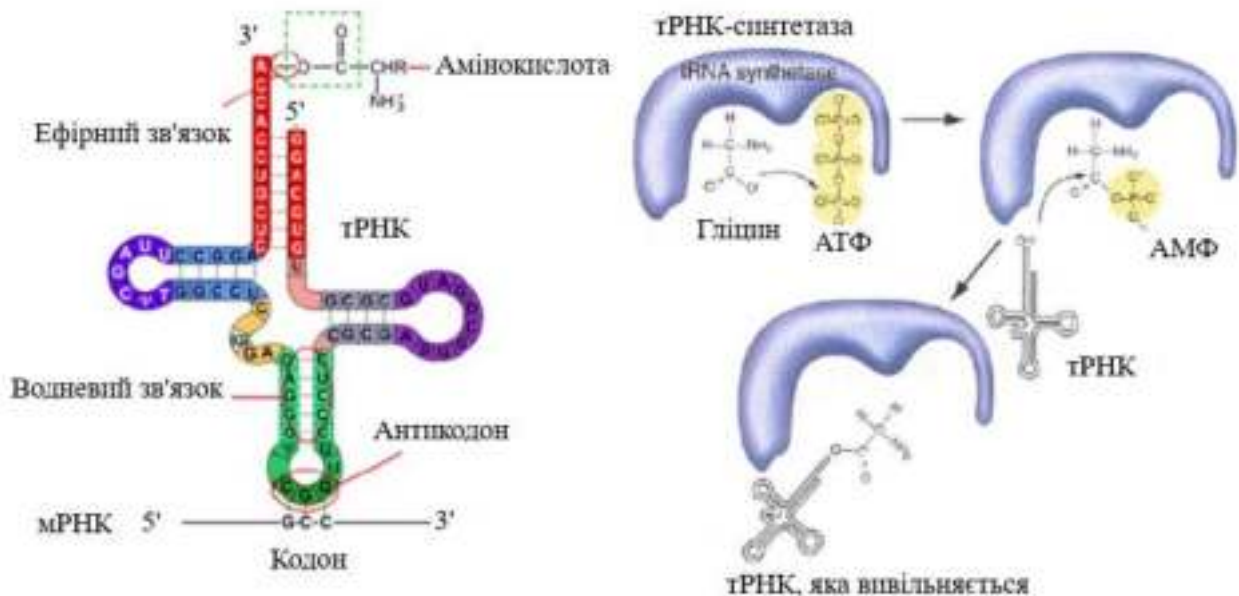


Рисунок 7.13 – тРНК та функціонування аміноацил-тРНК-синтетази

Велика субодиниця рибосом має три сайти зв'язування: амінокислотний (*A*), поліпептидний (*P*) і сайт від'єднання (*E*), кожен з яких відповідає за реалізацію певної реакції на рибосомі (рис. 7.14). Амінокислотний сайт (*A*) – це місце зв'язування чергової aa-тРНК. З поліпептидним сайтом (*P*) на початку трансляції зв'язується ініціююча aa-тРНК. В еукаріотів кодоном ініціації є кодон, що кодує метіонін. Також в *P*-сайті знаходиться пептидил-тРНК,

що містить вже синтезовану частину пептидного ланцюга. В *E*-сайті переміщується тРНК, що втратила зв'язок з пептидом перед тим, як вона виходить із рибосоми.

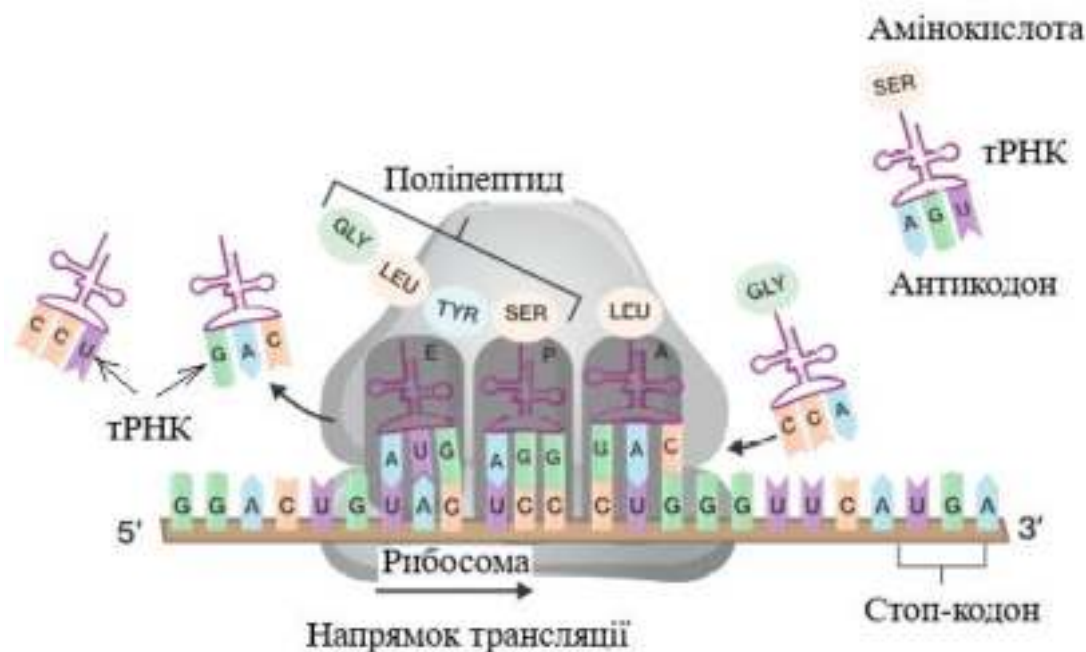


Рисунок 7.14 – Трансляція мРНК на рибосомі

Ініціаторна метіонін-тРНК – це єдина аа-тРНК, яка може зв'язуватися в *P*-сайті рибосоми. Потім рибосома готова зв'язати другу аа-тРНК на сайті *A*, яка потім з'єднається пептидним зв'язком з метіоніном.

### 7.3.2 Елонгація трансляції

Елонгація трансляції – це подовження поліпептиду на рибосомі, що супроводжується транслокацією, тобто переміщенням рибосоми вздовж мРНК у напрямку 5'-3'-кінець у присутності фактора елонгації *G* та молекули аденозинтрифосфату (АТФ). У клітинах *E. coli* факторами елонгації є білки *EF-Tu* та *EF-Ts*; джерелом енергії для транслокації є гуанозинтрифосфат (ГТФ). Після зв'язування комплексу тРНК-амінокислоти в *A*-сайті, ГТФ розщеплюється з утворенням гуанозиндифосфату (ГДФ), який потім вивільняється разом із *EF-Tu*. Фактор елонгації *EF-Ts* використовується для наступного циклу.

Основні хімічні реакції синтезу білка – утворення пептидного зв'язку та вивільнення пептиду – каталізує рибосомальний пептидилтрансферазний центр (*РПЦ*), який розташований у великій субодиниці рибосоми. Активний центр рибосоми – центр пептидилтрансферази – містить рРНК. Пептидилтрансфераза є РНК-ферментом – рибозимом, що відіграє роль

ентропійного каталізатора, який прискорює утворення пептидного зв'язку способом позиціонування субстрату (рис. 7.15).

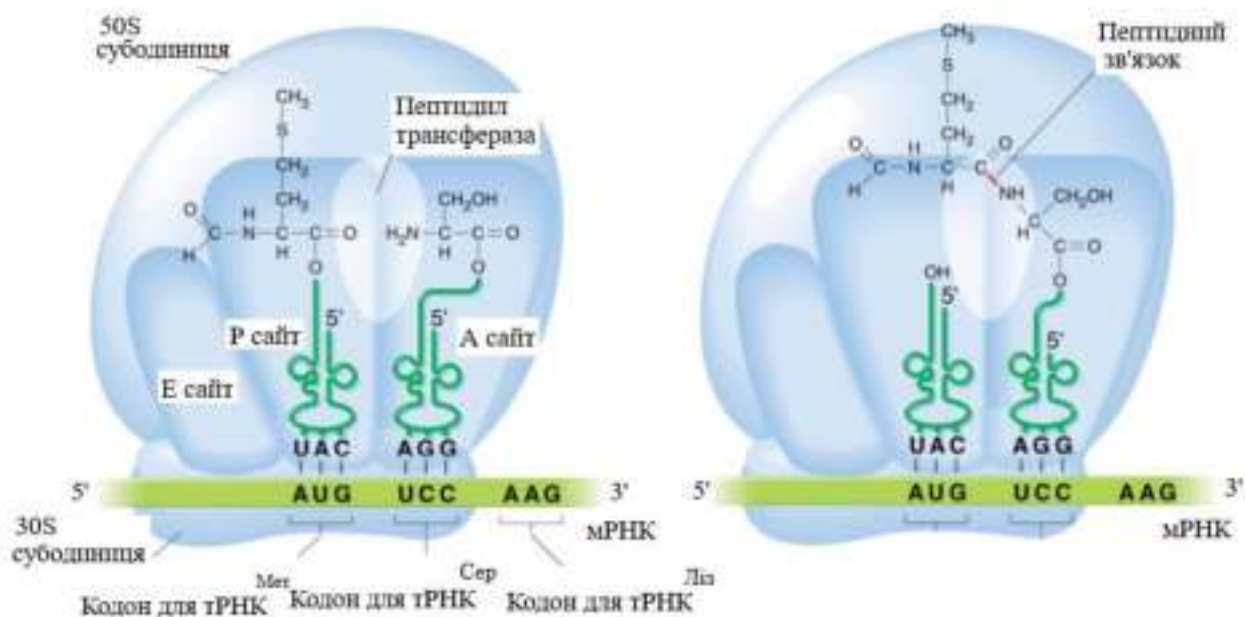


Рисунок 7.15 – Пептидилтрансферазний центр рибосоми.

Утворення пептидного зв'язку та подовження поліпептидного ланцюга

Після утворення пептидного зв'язку рибосома транслюється, а тРНК займає сайт *E*. Для приєднання наступної амінокислоти тРНК вивільняється в цитоплазму, сайт *A* приймає тРНК для наступного кодона. Цей процес повторюється доти, доки всі кодони в мРНК не будуть зчитані молекулами тРНК, а амінокислоти, приєднані до тРНК, не будуть з'єднані у відповідному порядку в поліпептидному ланцюзі, що зростає.

### 7.3.3 Термінація трансляції

На мРНК є три кодони термінації або стоп-кодони – УАА, УАГ, УГА, які розміщуються на *A*-сайті рибосоми. Ці кодони не розпізнаються транспортними РНК, з ними зв'язуються білкові фактори термінації (*RFs*, *release factors*), які сприяють вивільненню мРНК із рибосоми. Термінація трансляції контролюється декількома факторами термінації. *RFs* класу 1 та *RFs* класу 3 розпізнають стоп-кодони на *A*-сайті рибосоми та запускають гідроліз складноефірного зв'язку між поліпептидним ланцюгом та тРНК, які перебувають у *P*-сайті рибосоми. *RFs* класу 2 – це ГТФази, що стимулюють активність *RFs* класу 1. В еукаріотів *eRF1* розпізнає всі три стоп-кодони. У бактерій *RF1* і *RF2* можуть декодувати або УАА та УАГ, або УАА та УГА, відповідно. *RF* класу 1 зв'язуються із сайтом *A* на рибосомі. У цьому разі

*RF* класу 1 функціонально імітують тРНК, декодують стоп-кодони та активують центр пептидилтрансферази великої субодиниці рибосоми, який каталізує гідроліз зв'язку пептидил-тРНК.

## 7.4 Посттрансляційні модифікації білка

Функціонально активний стан білка досягається завдяки посттрансляційним модифікаціям, тобто змінам новосинтезованого білка способом приєднання небілкових функціональних груп до білків за участю ферментів під час або після їх синтезу. Посттрансляційні модифікації збільшують різноманітність і біологічні функції білків; багато з цих модифікацій відбуваються на кінцях поліпептиду, що містять реакційно здатні аміно- (*N*-кінець) та карбокси- (*C*-кінець) групи.

Переважає більшість білків еукаріот модифікуються способом ацетилювання, аргінілювання, тирозинування, ліпідизації, убіквітинування *N*-кінця поліпептиду (рис. 7.16).

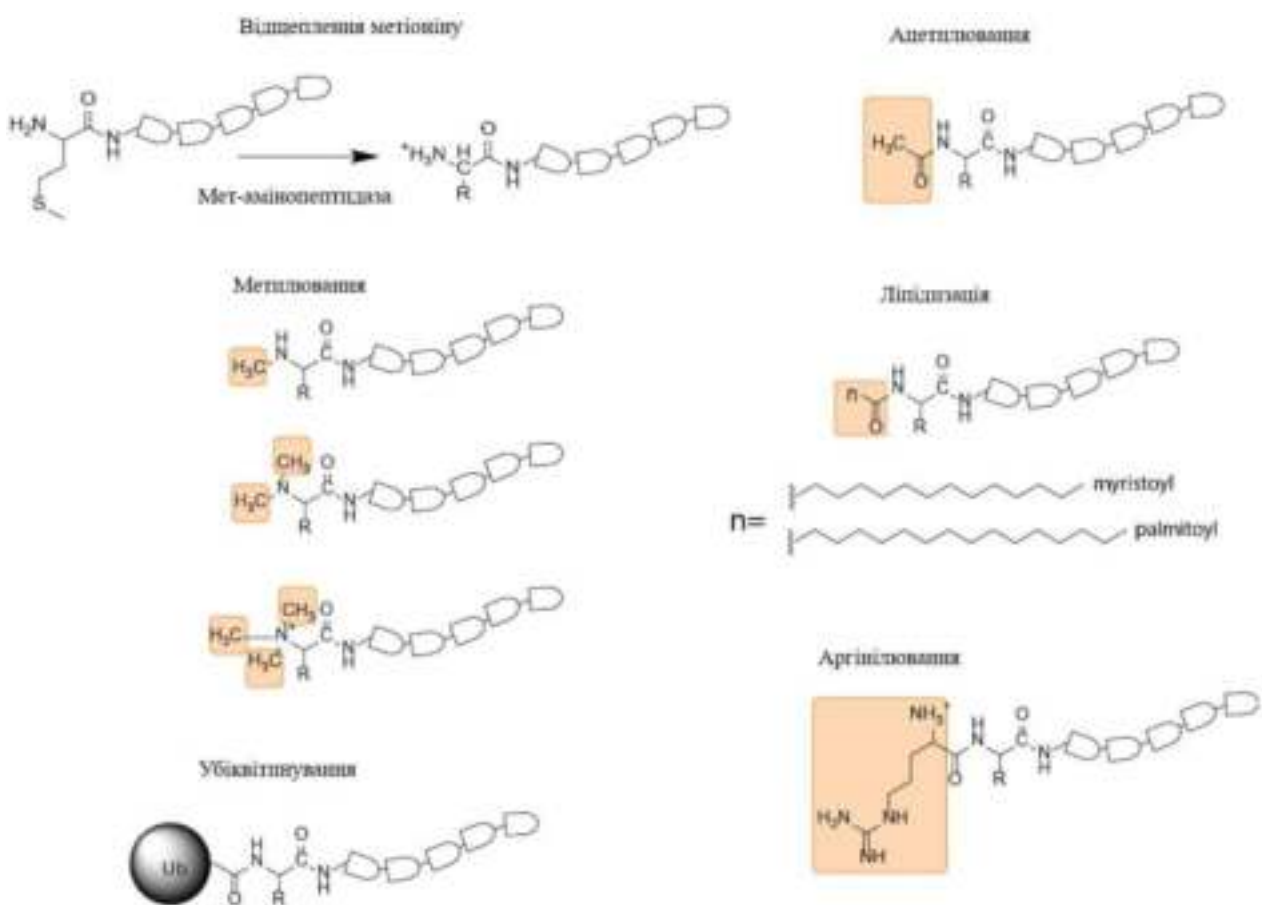


Рисунок 7.16 – Види *N*-кінцевої посттрансляційної модифікації

*N*-кінцеве ацетилювання є однією з найпоширеніших модифікацій білка в еукаріотах. Ця модифікація передбачає перенесення ацетильного фрагмента з ацетил-КоА на  $\alpha$ -аміногрупу новосинтезованого поліпептиду.

*N*-кінцеве ліпидування належить до перенесення жирних кислот від ацил-КоА до *N*-кінцевого залишку амінокислоти. Найбільш вивчений тип ліпідизації називається міристоїлюванням – додавання міристинової кислоти до *N*-кінцевого гліцину. Ця хімічна реакція каталізується *N*-кінцевими міристоїлтрансферазами.

*N*-кінцеве метилювання каталізує перенесення метильної групи від *S*-аденозилметіоніну до *N*-кінцевої  $\alpha$ -аміногрупи. Ступінь метилювання впливає на фізичні властивості білків: монOMETИЛЮВАННЯ ПІДВИЩУЄ ОСНОВНІСТЬ  $\alpha$ -АМІНОГРУПИ білків та зменшує її реакційну здатність. Диметилювання та триметилювання сприяють утворенню позитивного заряду на *N*-кінцевій аміногрупі.

Аргінілювання білків – це процес перенесення аргініну від аміноацил-тРНК до білка, що каталізується ферментом аргінілтрансферазою. *N*-кінцеве убіквітування передбачає додавання фрагмента убіквітину до вільної  $\alpha$ -аміногрупи першого залишку білка. *N*-кінцевий убіквітин може слугувати мішенню для поліубіквітування.

*C*-кінцеві посттрансляційні модифікації передбачають амидування, глікозилювання, ліпидування, тирозинізацію (рис. 7.17).

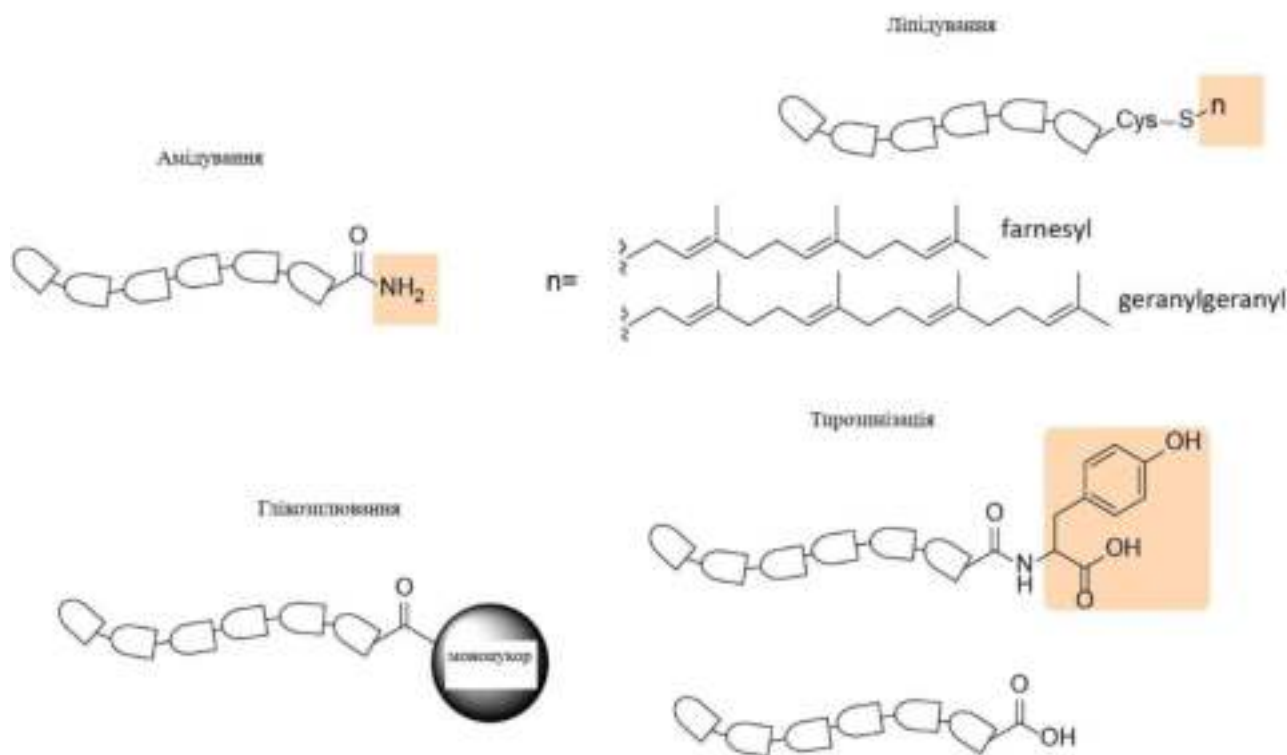


Рисунок 7.17 – Види *C*-кінцевої посттрансляційної модифікації

C-кінцеве  $\alpha$ -амідування – це процес додавання амідної групи до C-кінця поліпептидного ланцюга, є важливою посттрансляційною модифікацією, що часто спостерігається в клітинах. Група  $\alpha$ -амідів нейтралізує негативно заряджені C-кінці, запобігаючи іонізації C-кінця та покращуючи здатність білків і пептидів зв'язувати рецептори. Найбільш типові  $\alpha$ -амідовані пептиди розташовані в нервовій та ендокринній системах, зокрема нейрокінін А, кальцитонін і амелін. Реакція  $\alpha$ -амідування каталізується пептидилгліцин  $\alpha$ -амідувальною монооксигеназою.

Глікозилування – це процес приєднання моноцукрових залишків гліканів до білків за участю глікозилтрансфераз. Глікозилування білків відіграє важливу роль у дозріванні та сортуванні білків, впливаючи на широкий спектр нормальних і патологічних функцій.

C-кінцеве ліпидування білка – це процес додавання кількох ізопренових одиниць до залишків цистеїну поблизу C-кінцевих білків.

Тирозинізація – додавання амінокислоти тирозину до білка. Тирозинізацію було виявлено лише на тубуліні – основному структурному компоненті мікротрубочок. Мікротрубочки утворені консервативними димерами  $\alpha$ - та  $\beta$ -тубуліну, які можуть бути модифіковані широким діапазоном функціональних груп. Ферментативне детирозинування та подальше тирозинування тубуліну є циклічним процесом, що відіграє важливу роль у модулюванні функцій мікротрубочок під час мітозу, диференціації нейронів та скороченні клітин серцевого м'яза – кардіоміоцитів.

Посттрансляційні модифікації на N- та C-кінці впливають за протеомну різноманітність, а також мають важливе значення в процесах регуляції білка, для цитоскелету, клітинної сигналізації, ембріогенезу, а також життєздатності клітин.

## 7.5 Контрольні запитання та завдання

1. Пояснити біологічної ролі напівконсервативної реплікації.
2. За участю яких ферментів відбувається реплікація? Розкрийте значення ферментів на кожному етапі реплікації.
3. Особливості будови ДНК-полімераз прокаріотів та еукаріотів і прокаріотів.
4. Праймування РНК у прокаріотів та еукаріотів.
5. Структурні особливості топоізомераз.
6. Механізм дії ДНК-лігаз.

7. Промотор – це: 1) ділянка ДНК, з якою зв'язується РНК-полімераза; 2) ділянка ДНК, з якою зв'язується ДНК-полімераза; 3) фрагмент матричної РНК; 4) фрагмент рибосомальної РНК; 5) стартовий кодон.

8. Транскрипція – це процес: 1) біосинтезу білка; 2) інфікування бактерій чужорідною ДНК; 3) біосинтезу ДНК на ДНК-матриці; 4) біосинтезу РНК на РНК-матриці; 5) біосинтезу РНК на матриці ДНК.

9. Ланцюг ДНК, послідовність якого збігається з послідовністю мРНК, називається: 1) антизмістовний; 2) кодувальний; 3) ланцюг, що запізнюється; 4) провідний; 5) матричний.

10. У якому напрямку здійснюється синтез мРНК? 1) С–N; 2) N–С; 3) 5'–3'; 4) 3'–5'; 5) N–3'.

11. До якого кінця мРНК приєднується черговий нуклеотид під час транскрипції: 1) С; 2) N; 3) 5'; 4) 3'; 5) Р.

12. Який фермент бере участь у процесі транскрипції ДНК? 1) ДНК-залежна ДНК-полімераза; 2) рестриктаза; 3) ДНК-метиلاза; 4) ДНК-залежна РНК-полімераза; 5) екзонуклеаза.

13. Яка субодиниця бактеріальної РНК-полімерази вилучається з неї під час очищення промотору? 1)  $\alpha$ ; 2)  $\beta$ ; 3)  $\beta'$ ; 4)  $\sigma$ ; 5) вилучення не відбувається.

14. Послідовність ДНК, що відіграє роль фінішу транскрипції має назву: 1) енхансер; 2) сайленсер; 3) інсулятор; 4) термінатор.

15. У еукаріотів РНК-полімераза I відповідальна за транскрипцію генів: 1) білків; 2) високомолекулярної рибосомальної РНК; 3) 5S рРНК; 4) всіх типів рРНК і тРНК; 5) РНК-праймера.

16. Із ТАТА-боксом зв'язується базальний транскрипційний фактор РНК-полімерази II: 1) TFII B; 2) TFII D; 3) TFII E; 4) TFII F; 5) TFII H.

17. Ділянки ДНК, що підсилюють транскрипцію гена: 1) енхансери; 2) сайленсери; 3) інтрони; 5) екзони.

18. Сайленсери – це 1) ділянки ДНК, що підсилюють транскрипцію гена, перебуваючи на значній відстані від нього; 2) ділянки ДНК, що пригнічують транскрипцію гена, перебуваючи на значній відстані від нього; 3) сателітна ДНК; 4) гени, що кодують транспортну РНК.

19. Що таке репресор? Це 1) активатор трансляції; 2) білок, що блокує транскрипцію; 3) білок, що блокує активність ферменту; 4) низькомолекулярна ядерна РНК; 5) топоізомераза.

## 8 БІОФІЗИКА КЛІТИННИХ МЕМБРАН

### 8.1 Функції клітинних мембран

Клітинна або цитоплазматична мембрана – це напівпроникна мембрана, що містить білки, ліпіди, вуглеводи й виконує такі функції:

- 1) збереження цілісності внутрішньоклітинної організації та форми клітини;
- 2) створення та підтримання іонних градієнтів та електричних потенціалів;
- 3) регулювання розвитку клітин у процесі гістогенезу;
- 4) клітинна сигналізація та міжклітинна комунікація;
- 5) захист клітини від несприятливих факторів довкілля.

Вибірковий транспорт іонів та органічних молекул у клітину та з клітини реалізується завдяки напівпроникності цитоплазматичної мембрани. Співвідношення білків, ліпідів і вуглеводів у плазматичній мембрані залежить від типу клітини. Наприклад, мієлін – спеціалізована клітинна мембрана аксонів периферійних нервів – містить 18% білка й 76% ліпідів. Внутрішня мембрана мітохондрій містить 76% білка і 24% ліпідів. Плазматична мембрана еритроцитів людини на 30% складається з ліпідів. Вуглеводи присутні лише на зовнішній поверхні плазматичної мембрани та зв'язуються з білками або ліпідами, утворюючи глікопротеїни чи гліколіпіди відповідно.

#### 8.1.1 Будова клітинної мембрани

Цитоплазматична мембрана – це зовнішня оболонка живої клітини, що відокремлює цитоплазму клітини від довкілля та містить два шари ліпідів. Гліцерофосфоліпіди – це різновид фосфоліпідів, похідних фосфатидних кислот, які структурують ліпідний бішар клітинної мембрани. Гліцерофосфоліпіди нерозчинні у воді; унікальна геометрія гліцерофосфоліпідів спричиняє їх агрегацію в подвійні шари без будь-яких витрат енергії. Основними гліцерофосфоліпідними компонентами клітинних мембран є фосфоліпіди – фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин, фосфатидилінозитол (рис. 8.1).

Гліцерофосфоліпіди містять багатоатомний спирт – гліцерол, залишки жирних кислот і фосфорної кислоти. У структурі гліцерофосфоліпідів насичені та ненасичені жирні кислоти приєднані до першого та другого атомів вуглецю гліцеролу, фосфатна група – до третього атома вуглецю. Гліцерофосфоліпіди мають гідрофільну полярну «голову» та два гідрофобних «хвости». Довжина «хвостів» коливається у межах 14–24 атоми вуглецю в ланцюзі (рис. 8.2).



У цитоплазматичних мембранах та мембранах органел клітини (ендоплазматичного та саркоплазматичного ретикулумів, мітохондрій, ядра, комплексу Гольджі, лізосом, фагосом, пероксисом) два фосфоліпідних шари розташовуються таким чином, що їх гідрофільні головки звернені як до зовнішньоклітинного, так і до внутрішнього цитозольного середовища. Гідрофобні хвости в структурі подвійного шару ліпідів звернені один до одного. Конфігурація гідрофільних і гідрофобних частин подвійного шару перешкоджає вільному проходженню нуклеїнових кислот, амінокислот, білків, вуглеводів і іонів, у цьому разі електростатичні, ван-дер-ваальсові, нековалентні взаємодії та водневі зв'язки підтримують структуру ліпідного бішару (рис. 8.3).

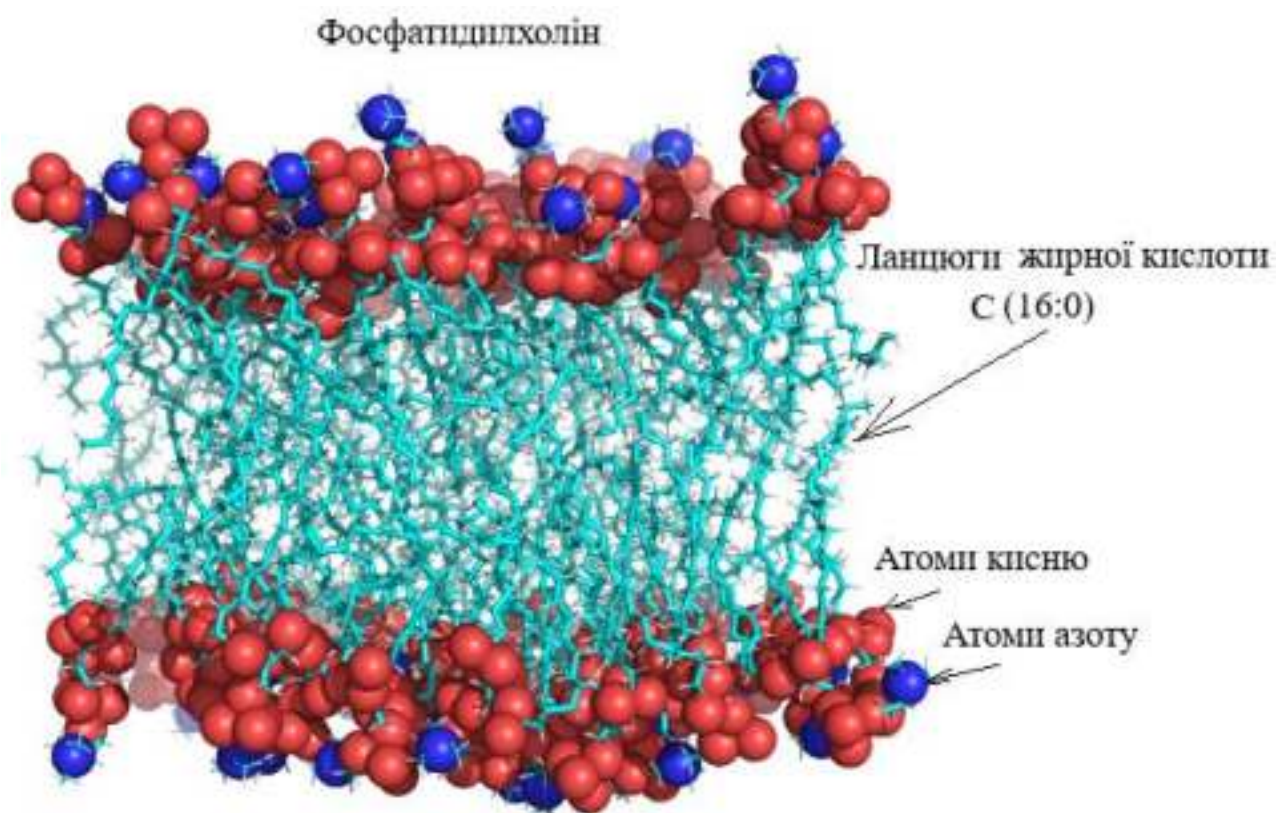


Рисунок 8.3 – Молекули фосфатидилхоліну в структурі плазматичної мембрани

Плазматичні мембрани мають товщину від 5 до 10 нм. Фосфоліпіди асиметрично розподіляються в подвійному ліпідному шарі мембрани. Зовнішній шар плазматичної мембрани містить здебільшого фосфатидилхолін і сфінгомієлін, тоді як фосфатидилетаноламін і фосфатидилсерин є переважними фосфоліпідами внутрішнього шару. Фосфатидилінозитол розміщується у внутрішньому шарі плазматичної мембрани, відіграє важливу роль у передачі сигналів клітини. Фосфатидилсерин та фосфатидилінозитол є негативно



Цитоплазматична мембрана містить білки, що становлять приблизно половину маси більшості клітинних мембран. Розрізняють інтегральні або трансмембранні білки (*інтегрини*), напівінтегральні та периферійні. Інтегрини з невеликою молекулярною масою можуть бути повністю інтегрованими в структуру мембрани, до того ж їх гідрофобні ділянки завдовжки 20–25 амінокислот взаємодіють із гідрофобною ділянкою фосфоліпідного подвійного шару. Складні білки можуть енергетично вигідно вбудовуватися в гідрофільні та гідрофобні ділянки ліпідного бішару та декілька разів перетинати його, утворюючи від 7 до 12 сегментів. Гідрофільні та гідрофобні ділянки сприяють конформаційно вигідній орієнтації білка вздовж фосфоліпідів, у цьому разі гідрофобна ділянка білка прилягає до неполярних «хвостів» фосфоліпідів, а гідрофільна контактує з цитозолем або позаклітинною рідиною.

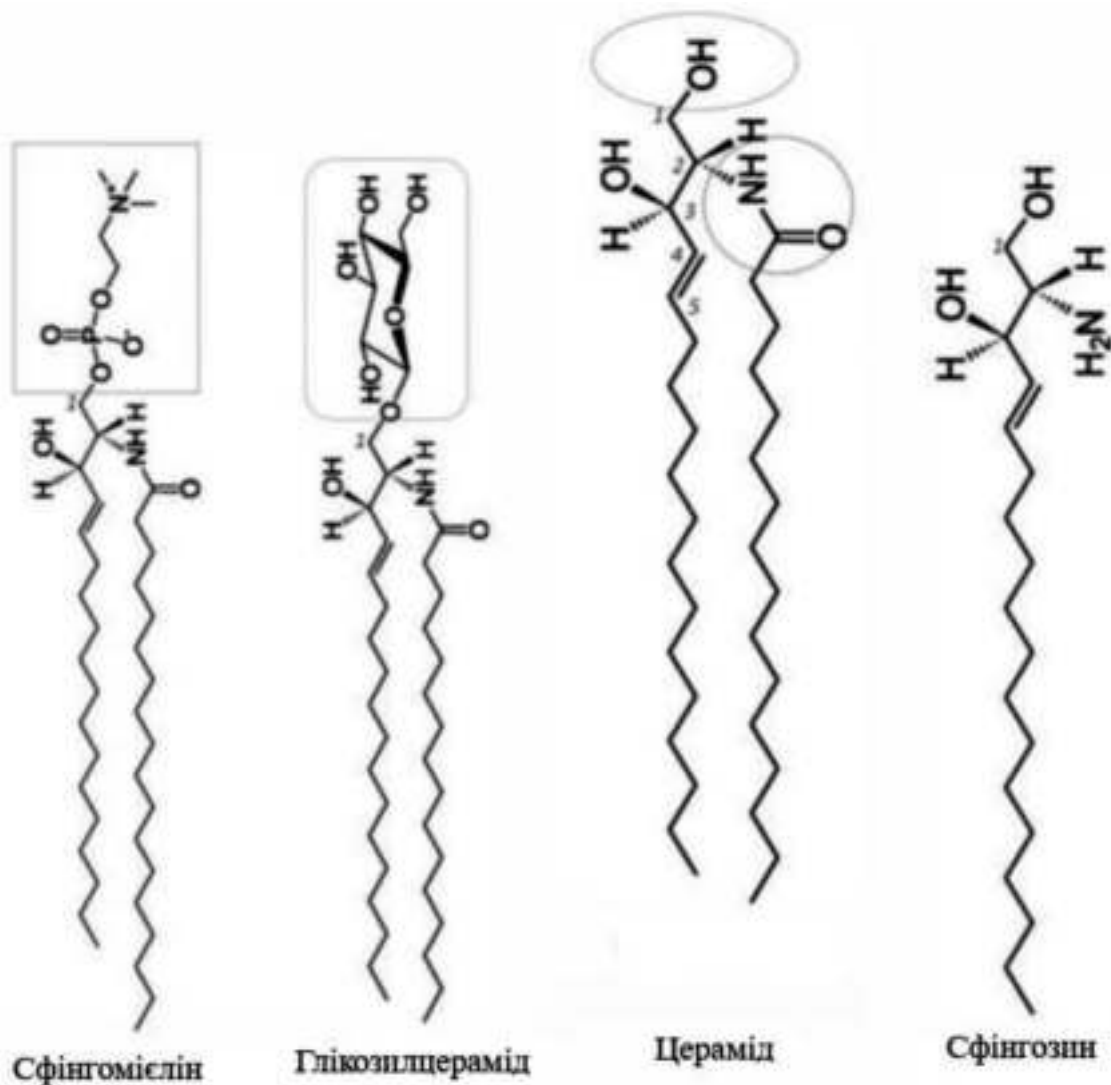


Рисунок 8.5 – Будова основних видів сфінголіпідів

Гліколіпіди та глікопротеїни становлять приблизно 2% ліпідів більшості плазматичних мембран, вони переважно розташовані на зовнішній поверхні клітини. Вуглеводні ланцюги, утворені моноцукрами (2–60 молекул), можуть бути лінійними або розгалуженими. Разом із периферійними білками вуглеводи утворюють на поверхні клітини спеціальні ділянки, що дають змогу клітинам розпізнавати одна одну. Функція розпізнавання важлива для клітин, оскільки допомагає імунній системі ідентифікувати клітини власного організму та чужорідні клітини або тканини. Групи крові, наприклад, відрізняються одна від одної структурою вуглеводних ланцюгів глікопротеїнів, що виступають над поверхнею мембран еритроцитів (рис. 8.6).

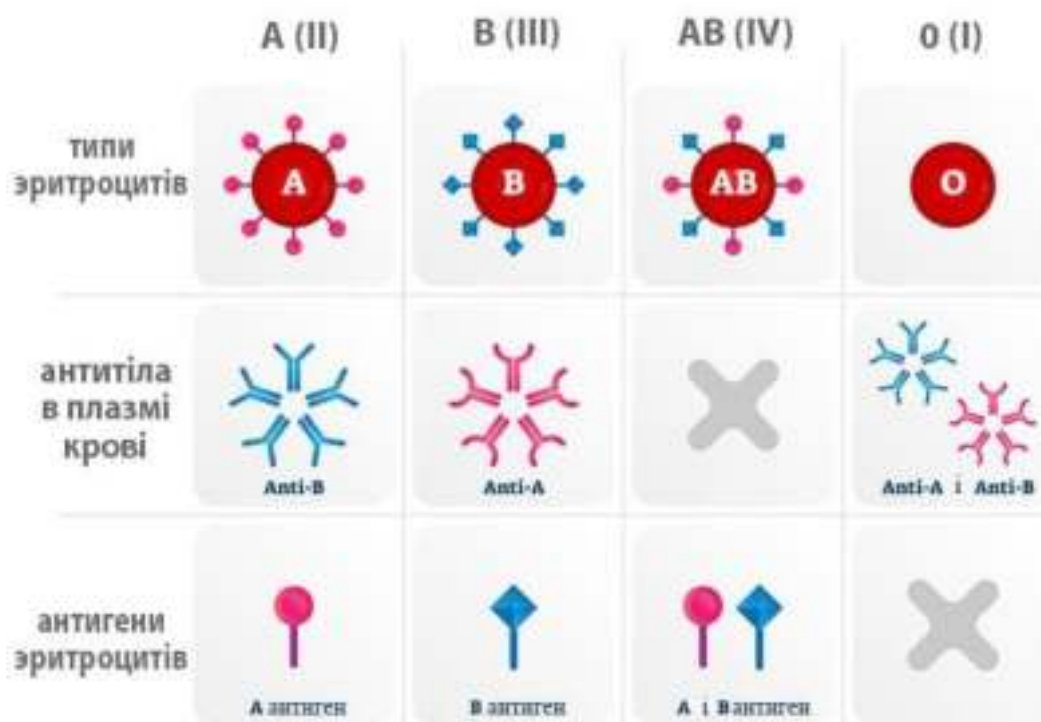


Рисунок 8.6 – Групи крові

Глікопротеїни та гліколіпіди на зовнішній поверхні клітини утворюють гідрофільну структуру – глікокалікс, що сприяє взаємодії клітини з водним середовищем.

Глікопротеїни та гліколіпіди мембрани вірусів полегшують проникнення генетичного матеріалу вірусу в клітини організму-господаря та можуть конформаційно модифікуватися для маскування від клітин імунної системи (рис. 8.7).

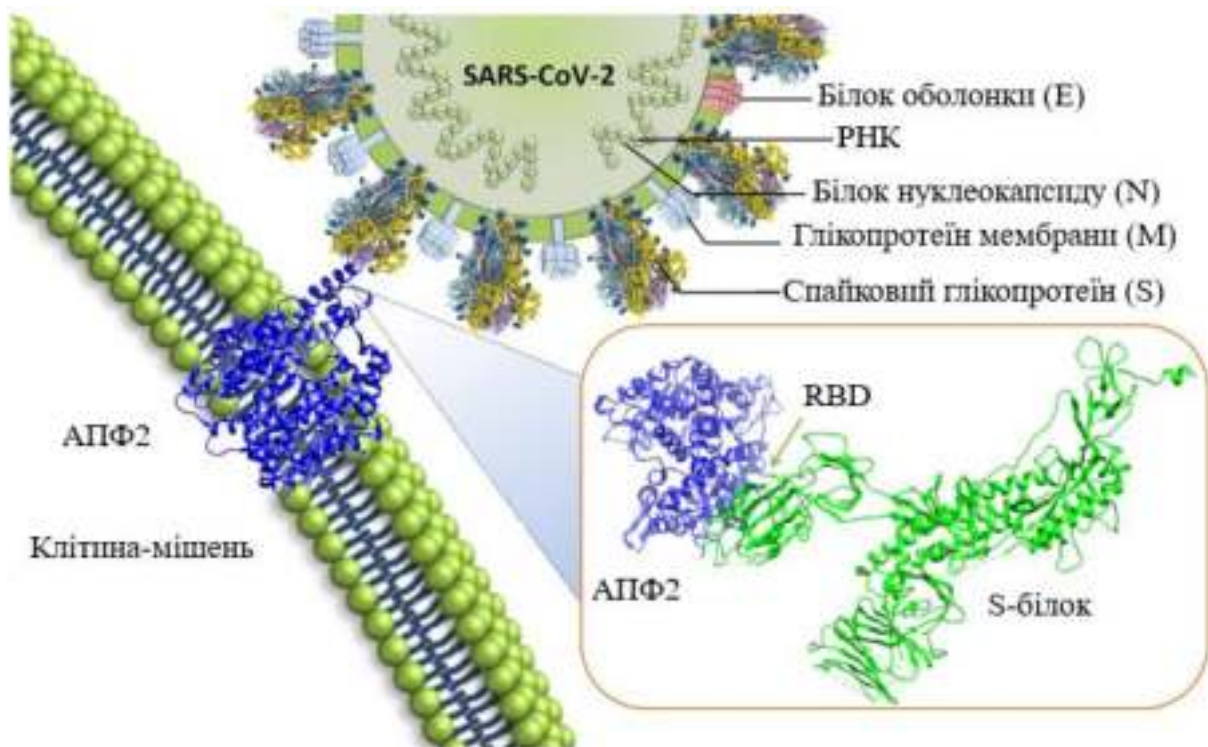


Рисунок 8.7 – Структура вірусу *SARS-CoV-2* і взаємодія з рецептором клітини-господаря – ангіотензинперетворювальним ферментом (АПФ2).

Мембрана вірусу *SARS-CoV-2* має чотири структурні білки – спайковий глікопротеїн (*S*), мембранний глікопротеїн (*M*), білок оболонки (*E*), нуклеокапсид (*N*). Білок-білкова взаємодія *S*-глікопротеїну *SARS-CoV-2* з рецептором АПФ2 клітини-господаря опосередкована через рецептор-зв'язувальний домен (*RBD-receptor binding domain*)

### **8.1.2 Рідинно-мозаїчна модель плазматичної мембрани**

За фізіологічних температур клітинні мембрани рідкі; за низьких температур мембрани стають гелеподібними. Структуру макромолекулярних білково-глікопротеїно-гліколіпідних комплексів у поєднанні з елементами цитоскелета описує рідинно-мозаїчна модель (рис. 8.8), яка вперше була запропонована С. Дж. Сінгером і Гарт Л. Ніколсоном 1972 р. Минуло понад 50 років – і базова модель клітинної мембрани залишається актуальною для опису основних наноструктур різноманітних внутрішньоклітинних і клітинних мембран рослинних, тваринних клітин і нижчих форм життя. Рідинно-мозаїчна модель постійно оновлюється та доповнюється експериментальними результатами щодо динаміки поведінки макромолекул в структурі цитоплазматичної мембрани.

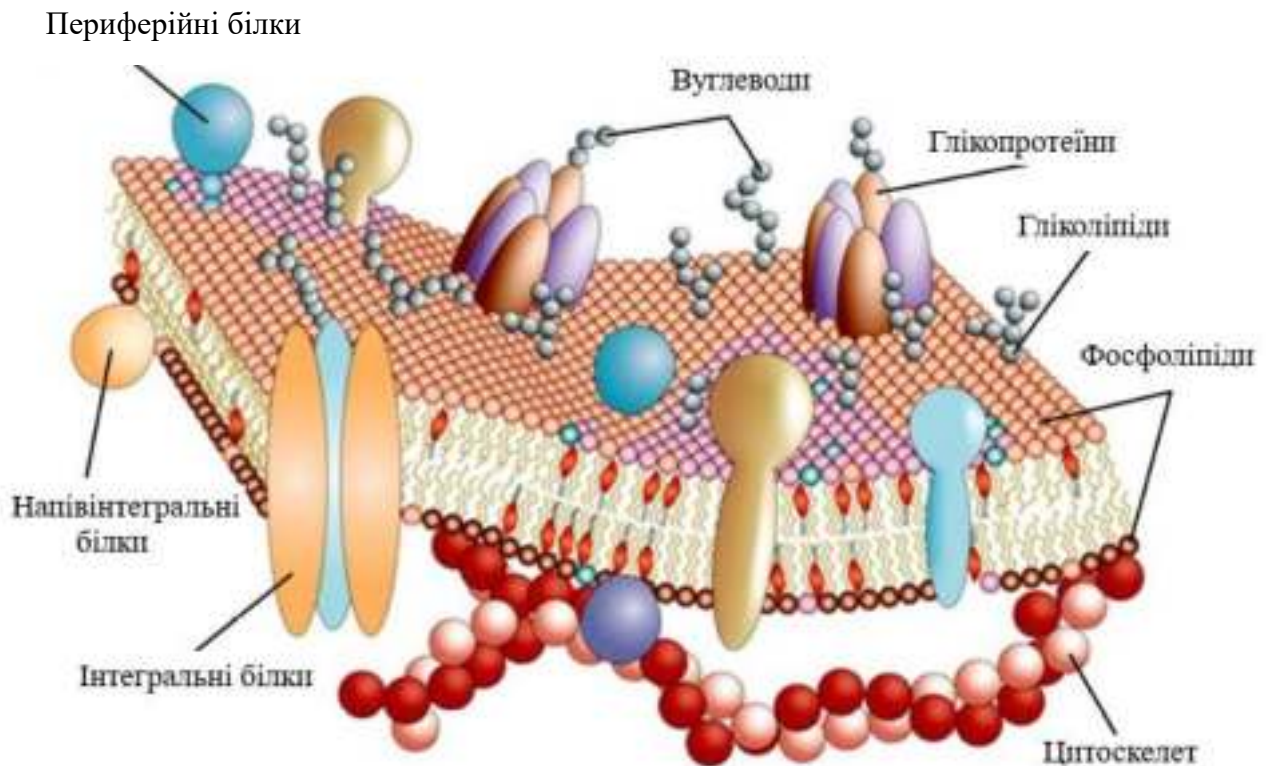


Рисунок 8.8 – Рідинно-мозаїчна модель клітинної мембрани

Термодинамічною основою до формування та стабілізації біологічних мембран є гідрофобні взаємодії та схильність гідрофобних структур до самоасоціації. Важливим чинником є ентропійно залежний процес вилучення води з гідрофобної частини мембрани, а також схильність гідروفільних структур до взаємодії з водним середовищем. Фосфоліпіди самоасоціюють своїми гідрофобними «хвостами», зокрема вода, для того щоб утворити подвійні ліпідні шари завдяки енергії, що забезпечується силами Ван-дер-Ваальса та гідрофобними взаємодіями. Взаємодія білків із мембранними фосфоліпідами зумовлена значною мірою гідрофобною взаємодією та значно меншою мірою гідروفільною.

У площині мембрани білкові й ліпідні компоненти обмежені у своїй обертальній і латеральній (бічній) рухливості. Ліпід-ліпідні, білок-білкові, ліпід-білкові взаємодії, а також клітинно-матриксні, клітинно-клітинні, внутрішньо-клітинно-мембранні й цитоскелетні взаємодії стримують латеральну рухливість та обмежують діапазон переміщення макромолекул у мембрані (рис. 8.9).

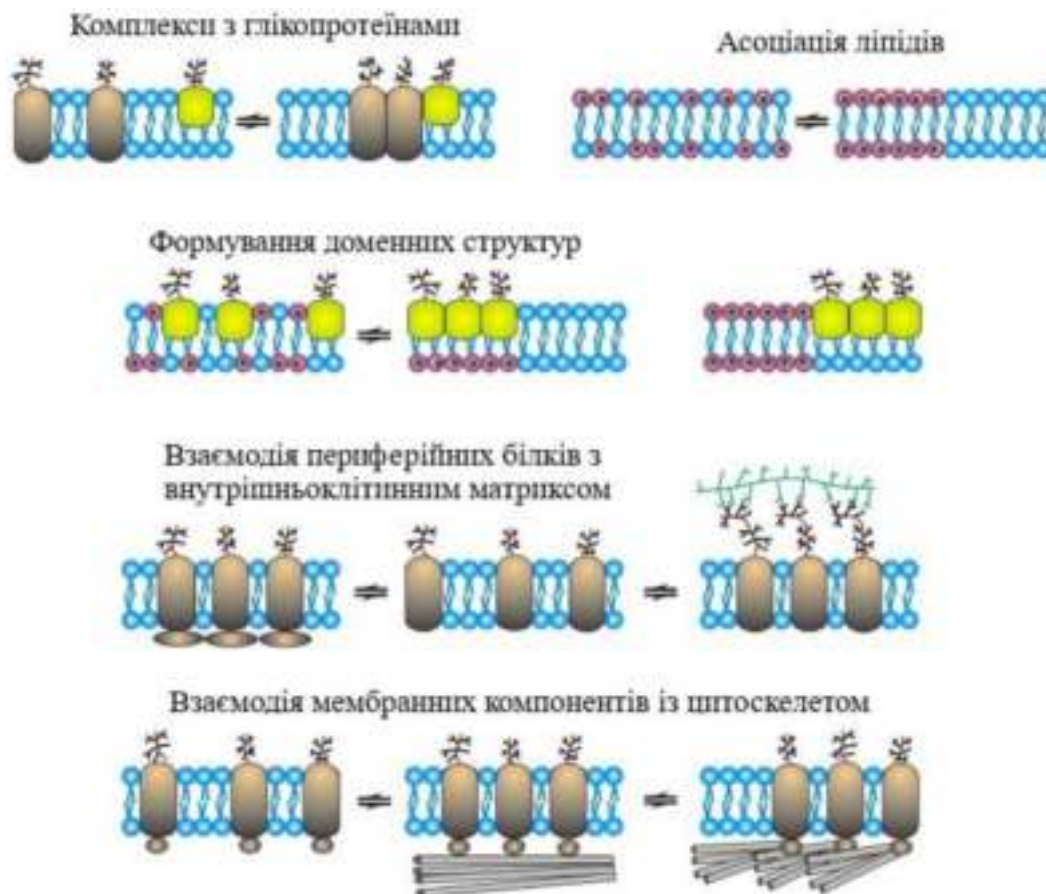


Рисунок 8.9 – Механізми обмеження латеральної та обертальної рухливості молекул у площині мембрани

### 8.1.3 Біофізичні властивості плазматичних мембран

Рідинно-мозаїчна модель визначає основні біофізичні властивості цитоплазматичних мембран. Плазматична мембрана є *асиметричною*: фосfolіпідів і білків асиметрично розподілені між внутрішнім і зовнішнім бішаром. Біологічне значення асиметричності розподілу пов'язане з функціональним призначенням макромолекул в мембрані, наприклад рецепторів, молекул адгезії, сигнальних систем тощо. Асиметрична природа клітинних мембран досліджується методами радіоактивного позначення, магнітно-резонансними дослідженнями, мікроскопічним маркуванням, флуоресцентною кореляційною спектроскопією.

Певне співвідношення між ненасиченими та насиченими жирними кислотами в складі мембранних ліпідів та постійна рухомість вуглецевих «хвостів» ацилів і сфінгозину визначає *рідинність (плинність)* та *в'язкість* ліпідної фази. Холестерол є модифікатором фізико-хімічних властивостей ліпідного бішару, стабілізуючи його способом обмеження рухливості внутрішньомембранних компонентів, тобто зменшуючи рідинність та збільшуючи в'язкість матриксу мембранних ліпідів.

Хоча ліпіди біомембрани мають певну впорядкованість, вони здатні до латеральної *дифузії*, тобто до переміщення вздовж ліпідної фази. До латеральної дифузії здатні також білки, що сприяє утворенню внутрішньомембранних білок-білкових ансамблів, або кластерів. Наприклад, *capping* – це комплекс мембранних білкових рецепторів лімфоцитів, що згруповуються під час дії на клітину чужорідних агентів. У живих клітинах чимало білків утворюють молекулярні зв'язки з позаклітинними білками та цитоскелетними елементами, що унеможливує латеральну дифузію в товщі мембрани.

У складі фосфоліпідів жирні кислоти можуть набувати різних конфігурацій залежно від кута повороту навколо C–C-зв'язків, у цьому разі утворюються ротамери або конформери. Зміна конфігурації в молекулах жирних кислот унаслідок поворотів навколо C–C-зв'язків називається *транс-гош*-ізомеризацією. *Гош*-конформація (*gauche* – скошений) аналогічна *цис*-конформації. Імовірність *транс-гош*-переходу дуже значна й зростає за умови підвищення температури. У процесі переходу з *транс*-у *гош*-конформацію утворюються складки або кінки (*kink* – злам). Транспорт води та інших речовин крізь мембрани певною мірою відбувається завдяки утворенню кінків. Утворення кінку супроводжується зменшенням довжини ланцюга на ~0,127 нм. У цьому разі частина ланцюга зміщується на ~0,15 нм, утворюючи вільний простір, а загальний об'єм, який займає молекула ліпиду, збільшується на 0,025–0,05 нм<sup>3</sup> (рис. 8.10).

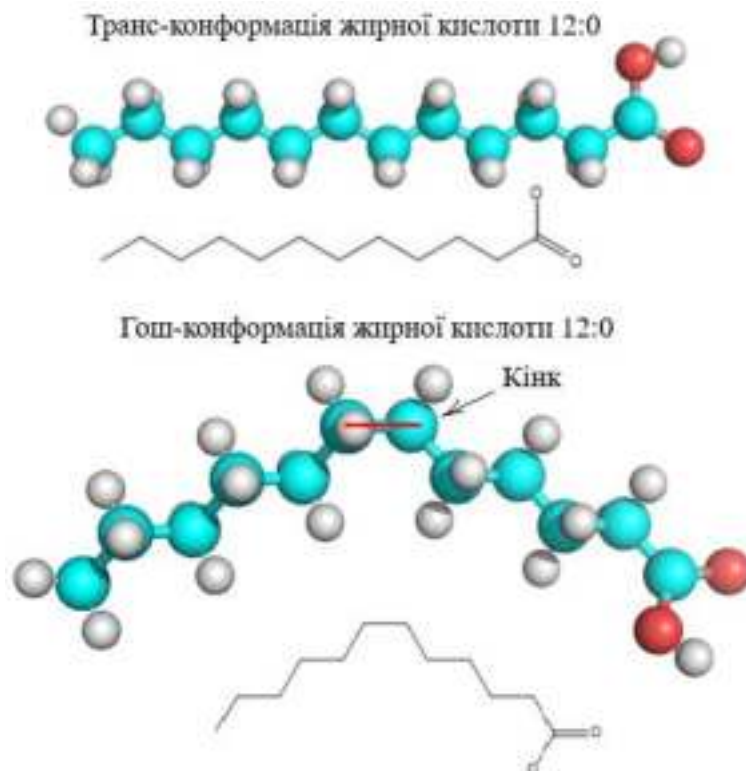


Рисунок 8.10 – *Гош*-конформації навколо одинарного C–C-зв'язку

Найменшу енергію має транс-, а найбільшу – *цис*-конформація. *Гош*-конформація (*гош*(+) і *гош*(-) ) – це поворот на  $\pm 120^\circ$  щодо *транс*-конформації. *Гош*-конфігурації перевищують за енергією *транс*-конформації лише на 2–3 кДж/моль, але ці стани розділяє енергетичний бар'єр заввишки 12–17 кДж/моль.

Якщо вуглецеві ланцюги, що перебувають повністю в *транс*-конформації є лінійними структурами, тоді поява одиночної *гош*-конформації в ланцюзі приводить до вигинів просторової конформації ланцюга на кут  $\sim 20^\circ$ . Ці вигини в щільно упакованих мембранних системах із повністю *транс*-конформацією ланцюгів жирних кислот супроводжують стереохімічні труднощі, що унеможливають появу одиночної *гош*-конформації (рис. 8.11). Поява двох *гош*-конформацій – *гош*<sup>(+)</sup> і *гош*<sup>(-)</sup>, розділених одинарним С–С-зв'язком у *транс*-конформації зменшує стереохімічні труднощі під час плавлення вуглецевих ланцюгів жирних кислот у мембранах. Хоча енергія такого стану удвічі вища за одиночну *гош*-конформацію, виникає так званий ротаційний стан вуглецевого ланцюга, хоча просторова конформація ланцюга загалом зберігається прямолінійною.

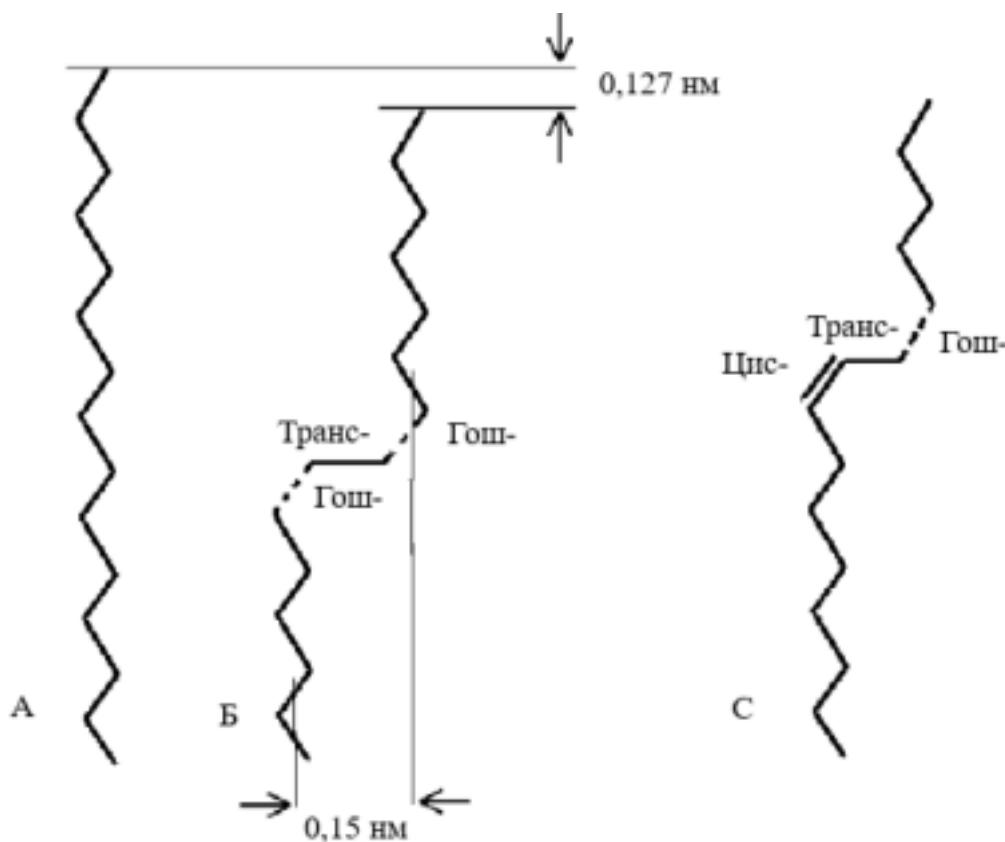


Рисунок 8.11 – Конформація вуглецевого ланцюга жирної кислоти фосфоліпіду.

А – *транс*-конформація; Б – *гош-транс-гош*-конформація;

С – *цис-транс-гош*-конформація

Вищі жирні кислоти в жирах подані здебільшого насиченими й ненасиченими ациклічними карбоновими кислотами. Більшість карбонових кислот, що містяться в складі жирів, мають парне число вуглецевих атомів.

Наявність подвійних зв'язків  $C=C$  у *цис*-ізомерів жирних кислот впливає на їх температуру плавлення ( $t_{пл}$ ). Що більше подвійних зв'язків у молекулі жирної кислоти, то сильнішими будуть вигини та менша кількість ван-дер-ваальсових контактів між ацильними ланцюгами. Це зменшує диполь-індуковану взаємодію між ланцюгами, що спричиняє зниження температури плавлення (рис. 8.12).

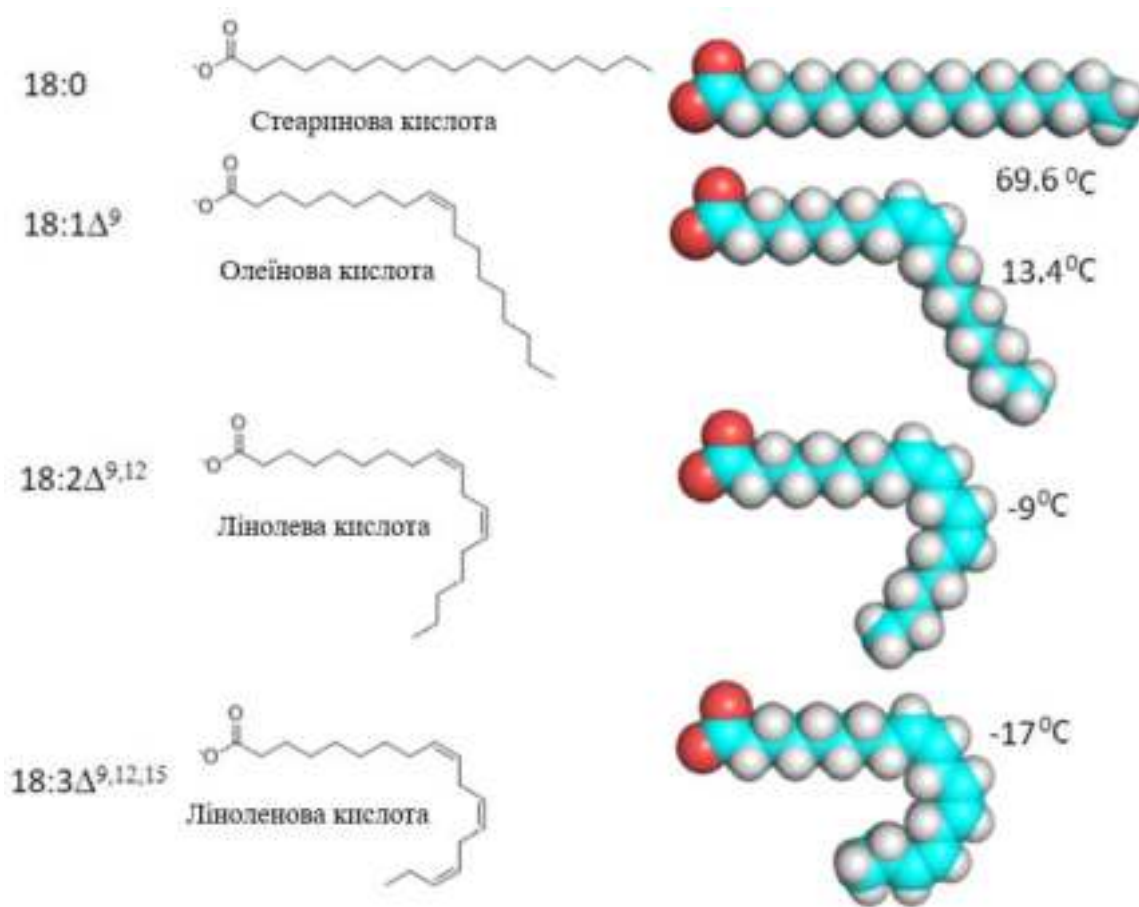


Рисунок 8.12 – Температури плавлення ізомерів жирної кислоти C (18:0) залежно від кількості та положення подвійних зв'язків

Збільшення кількості вуглецевих атомів у молекулах насичених жирних кислот супроводжується підвищенням їх температури плавлення. Наприклад,  $t_{пл}$  каприлової кислоти C (8:0) становить +16°C, лауринової C (12:0) – +43,5°C, стеаринової C (18:0) – +69,6°C. Збільшення кількості подвійних зв'язків у молекулах ненасичених жирних кислот призводить до зниження їх температури плавлення.

### 8.1.4 Рухливість макромолекул у ліпідному бішарі

Більшість гліцерофосфоліпідів еукаріотів синтезується на цитоплазматичній поверхні ендоплазматичного ретикулума, тоді як сфінголіпіди синтезуються та модифікуються на люменальній поверхні ендоплазматичного ретикулума й апарату Гольджі. Для збереження двошаровості та асиметричності мембрани новосинтезовані ліпіди переміщуються в площі цих мембран або рухаються до інших мембран клітини за допомогою транспортних везикул.

Розрізняють декілька типів руху:

1) обертальний, коли фосфоліпід обертається навколо своєї осі, щоб забезпечити взаємодію із безпосередніми сусідніми молекулами; час обертального руху  $\tau = 10^{-9}$  с;

2) латеральна дифузія, коли фосфоліпід рухається в площині одного моношару, коефіцієнт латеральної дифузії для ліпідів залежить від складу мембран і температури й становить  $D = 10^8 \dots 10^7$  см<sup>2</sup>/с. Середньоквадратичне переміщення молекули ліпідів за умови значення  $D = 6 \cdot 10^{-8}$  см<sup>2</sup>/с відбувається за 1 с на відстань приблизно 5 мкм;

3) «фліп-флоп»-перехід, або поперечна дифузія, за умови якої фосфоліпіди можуть переміщуватися між двома шарами мембрани. Швидкість «фліп-флоп»-переходу становить хвилини – десятки хвилин (рис. 8.13).

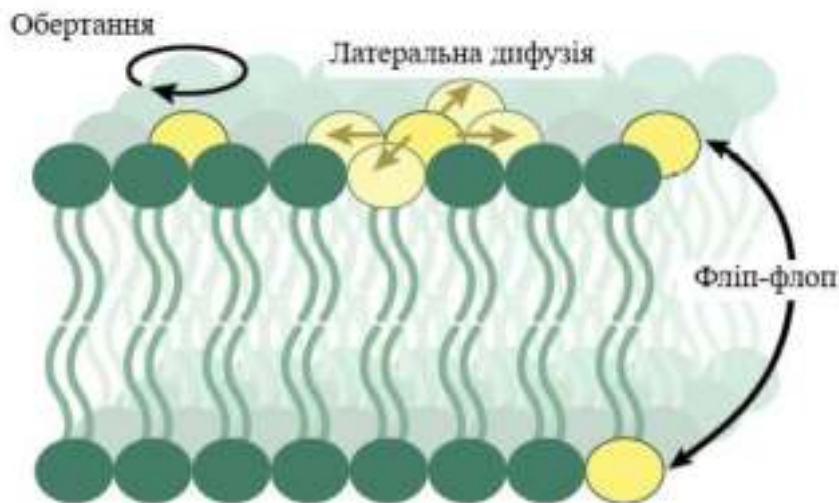


Рисунок 8.13 – Фосфоліпіди в ліпідному бішарі здійснюють обертальні рухи, латерально дифундують у площині одного моношару, переміщуються між бішаром «фліп-флоп»

Рухливість фосфоліпідів і білків у ліпідному бішарі є одним із принципів рідинно-мозаїчної моделі мембрани. Для регульованого та швидкого обміну фосфоліпідів крізь подвійний шар мембрани необхідно подолати

термодинамічний бар'єр. Молекули білків також виявляють дифузійну рухливість, але внаслідок значної маси вона суттєво нижча, ніж у ліпідів. Час обертання для родопсину становить  $\sim 10^{-6}$  с, а для цитохромоксидази –  $\sim 10^{-4}$  с. Коефіцієнти латеральної дифузії білків у природних мембранах перебувають у межах  $10^{-10}$ – $10^{-12}$  см<sup>2</sup>/с.

Поперечна дифузія реалізується за участю фосфоліпідних транспортерів – ферментів, що каталізують переміщення фосфоліпідів з одного моношару в інший. *Фліпази* – це ферменти, що переміщують мембранні гліцерофосфоліпіди та сфінголіпіди від зовнішнього до внутрішнього моношару мембрани з використанням енергії АТФ. *Флопази* – ферменти, що забезпечують переміщення мембранних ліпідів у протилежному до дії фліпаз напрямку; цей процес також є енергозалежним. *Скрамблази* – ферменти, здатні забезпечувати рух ліпідів мембрани в будь-якому напрямку без витрати енергії в присутності іонів  $Ca^{2+}$  (рис. 8.14).

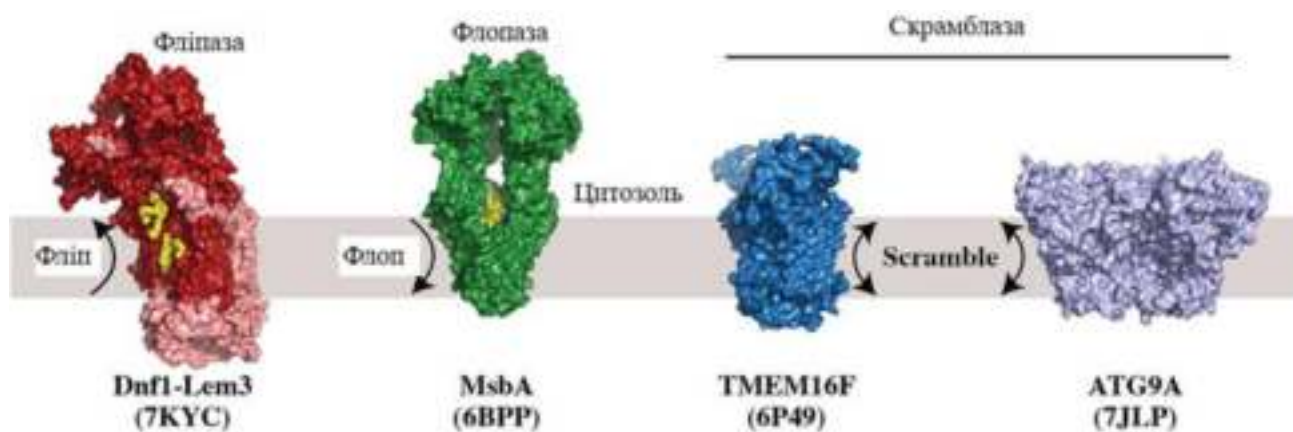


Рисунок 8.14 – Структура фосфоліпідних транспортерів (PDB)

З огляду на те, що вода є одним із основних компонентів живої системи, структурно-функціональні особливості біологічних мембран, дифузія фосфоліпідів і білків, біохімічна активність макромолекул у мембрані залежать від взаємодії молекул води з гідрофільними полярними групами фосфоліпідів, які відбуваються за участю водневих зв'язків і слабких ван-дер-ваальсових взаємодій.

*Гідратація* – це процес приєднання води до молекул, атомів та іонів, що перебувають у розчиненому або вільному стані, з утворенням гідратів або кристалогідратів. Вода в клітині може перебувати в декількох станах з різними енергіями зв'язку:

1) вільна або об'ємна вода оточує молекули на відстані більшій, ніж ван-дер-ваальсовий контакт;

2) зв'язана або гідратаційна вода утворює водневі зв'язки із зарядженими або полярними групами макромолекул.

Фосфотидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин гідратують по шість-сім молекул води, що впливає на дифузію ліпідів у мембрані. Водночас на рухливість ліпідів впливає *дегідратація* (зневоднення мембрани під дією фізико-хімічних факторів). У цьому разі латеральна дифузія зменшується вшестеро, а енергія активації латеральної та поперечної дифузії збільшується приблизно удвічі. Гідратація біологічних макромолекул змінюється в процесі життєдіяльності клітини під дією біологічно-активних речовин і фізико-хімічних факторів, що супроводжується суттєвим перерозподілом молекул води між зв'язаним і вільним станами.

## 8.2 Механізми транспортування речовин крізь клітинну мембрану

*Мембранний транспорт* – це сукупність механізмів, що регулюють проходження розчинених речовин (іонів і молекул) крізь біологічні мембрани завдяки вибірковій проникності мембрани. Малі молекули та іони проходять крізь мембрани способом пасивного чи активного транспортування. Перенесення макромолекул і великих частинок здійснюється з допомогою ендоцитозу та екзоцитозу.

Переміщення більшості розчинених речовин крізь мембрану здійснюється завдяки мембранним транспортним білкам. Для кожного типу клітин існують специфічні мембранно зв'язані транспортні білки, для яких притаманні конформаційні перебудови залежно від потреб клітини в конкретному фізіологічному процесі. Експресія мембранно зв'язаних транспортних білків регулюється генетично-молекулярними механізмами, клітинними сигнальними способами та біохімічними механізмами. Фізіологічний процес може відбуватися лише в тому разі, якщо він відповідає основним принципам термодинаміки. Мембранне транспортування підкоряється фізичним законам, які визначають його можливості й біологічну корисність.

Загальний принцип термодинаміки, який керує перенесенням речовин крізь мембрану, полягає в тому, що обмін вільною енергією  $\Delta G$  для транспортування моля речовини з ділянки з концентрацією  $C_1$  в ділянку, де його концентрація становить  $C_2$ , дорівнює:

$$\Delta G = RT \log \frac{C_2}{C_1}. \quad (8.1)$$

Зміна вільної енергії  $\Delta G$  є негативною, коли  $C_2$  менша, ніж  $C_1$ ; цей процес є термодинамічно вигідним, оскільки енергія переноситься з одного

компарменту клітини в інший, за винятком ситуації термодинамічної рівноваги, коли  $C_2 = C_1$  і  $\Delta G = 0$ .

Досягненню термодинамічної рівноваги заважає існування мембранного електричного потенціалу, що впливає на розподіл іонів, тому для транспортування іонів із зовнішнього середовища всередину справедливим є

$$\Delta G = RT \log \frac{C_i}{C_o} + zF\Delta P, \quad (8.2)$$

де  $F$  – постійна Фарадея;

$\Delta P$  – мембранний потенціал;

$z$  – заряд іона;

$C_o$  та  $C_i$  – концентрація іона поза та всередині клітини відповідно.

Якщо значення  $\Delta P$  є негативним, а  $z$  – позитивним, то внесок  $zF\Delta P$  у  $\Delta G$  буде негативним, тобто сприятиме транспорту катіонів із внутрішньої частини клітини назовні. Тому за умови збереження різниці потенціалів рівноважний стан  $\Delta G=0$  не буде відповідати еквімолярній концентрації іонів по обидва боки мембрани.

### 8.2.1 Пасивне транспортування

Пасивне транспортування відбувається мимовільно без затрати енергії способом *дифузії*, *осмосу* та *полегшеної дифузії*. Пасивне транспортування збільшує ентропію біологічної системи та зменшує вільну енергію.

Дифузія – це транспортування молекул та іонів безпосередньо крізь ліпідний бішар із ділянки з високою концентрацією до ділянки з низькою концентрацією, тобто речовини переміщуються за градієнтом концентрації. Дифузія може бути простою та полегшеною. Швидкість *простої дифузії* визначається трансмембранним градієнтом концентрації речовин, електрохімічним градієнтом, розчинністю речовин у гідрофобному шарі мембрани й тепловим рухом молекул, які переміщуються. Якщо речовини добре розчинні в ліпідах, то вони проникають до клітини способом простої дифузії. Невеликі неорганічні молекули ( $CO_2$ ,  $O_2$ ) і неполярні гідрофобні молекули (бензол) або полярні незаряджені молекули ( $H_2O$ , етанол) транспортуються способом простої дифузії. Що менша молекула й більш жиророзчинна, то швидше вона проникає крізь мембрану. Рух заряджених молекул крізь мембрану визначається не лише градієнтом концентрації, а й електрохімічним градієнтом або електричним мембранним потенціалом.

Полярні й заряджені молекули, зокрема вуглеводи (глюкоза), амінокислоти, нуклеозиди та іони ( $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  і  $Cl^-$ ), перетинають плазматичну

мембрану способом *полегшеної дифузії*. Проходження цих молекул крізь мембрану потребує активності специфічних транспортних і каналних білків (рис. 8.15).

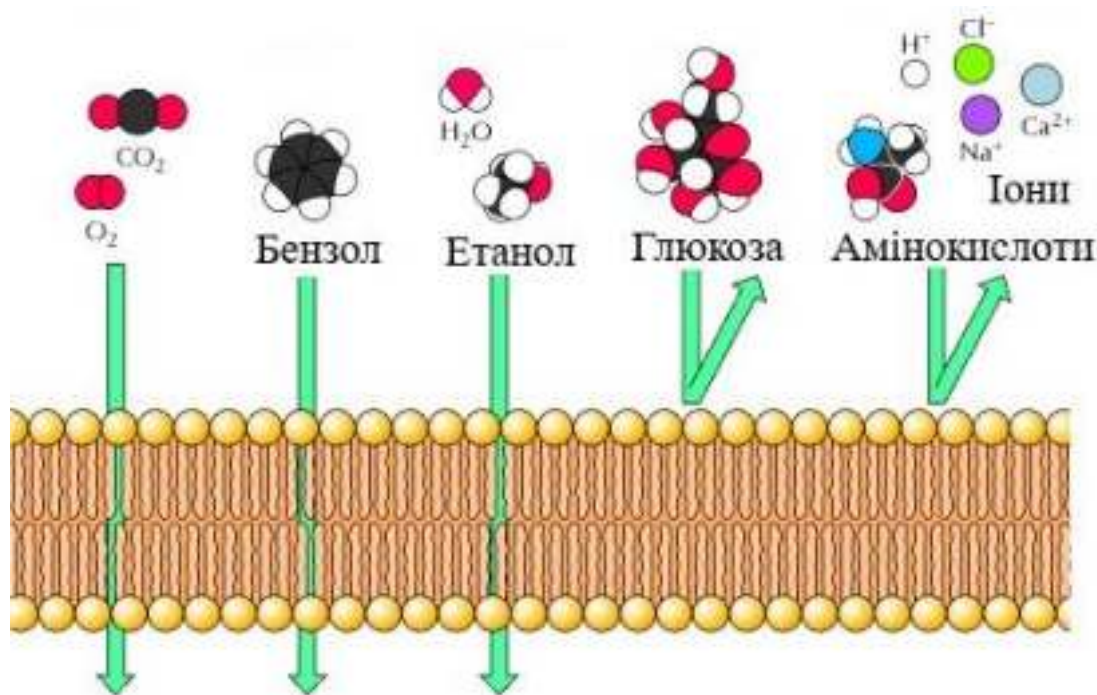


Рисунок 8.15 – Проникність фосфоліпідного бішару.

Гази, гідрофобні молекули й малі полярні незаряджені молекули проникають способом простої дифузії

Розрізняють два класи білків, що опосередковують полегшену дифузію: *білки-переносники* та *білки-канали*. Білки-переносники спочатку зв'язують специфічні молекули (цукри, амінокислоти й нуклеозиди) з одного боку мембрани, потім вони зазнають конформаційних змін, унаслідок чого молекули транспортуються та вивільняються з іншого боку мембрани. Канальні білки утворюють відкриті пори крізь мембрану, що забезпечує вільну дифузію будь-якої молекули відповідного розміру й заряду (рис. 8.16).

Транспортер глюкози є білком-переносником з молекулярною масою 55 кДа. В еритроцитах людини транспортери глюкози становлять приблизно 5% від загальної кількості мембранних білків і містять 12  $\alpha$ -спіральных трансмембранних сегментів, що мають переважно гідрофобні амінокислоти (рис. 8.17). Полярні амінокислотні залишки в структурі транспортерів глюкози утворюють сайт зв'язування глюкози.

Іонні канали або порини присутні в мембранах усіх клітин; у нейронах і міофібрилах іонні канали відповідають за передачу електричних сигналів. Іонні канали для швидкого трансмембранного переносу молекул води називаються *аквапоринами*.

Іонні канали мають структурно-функціональні особливості:

- 1) швидкість потоку іонів (понад мільйон іонів за секунду) у тисячу разів перевищує швидкість транспортування іонів білками-переносниками;
- 2) іонні канали є високоселективними для  $H^+$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$  і  $Cl^-$ , оскільки вузькі пори в каналі обмежують проходження іонів відповідного розміру та заряду;
- 3) більшість іонних каналів постійно є закритими.

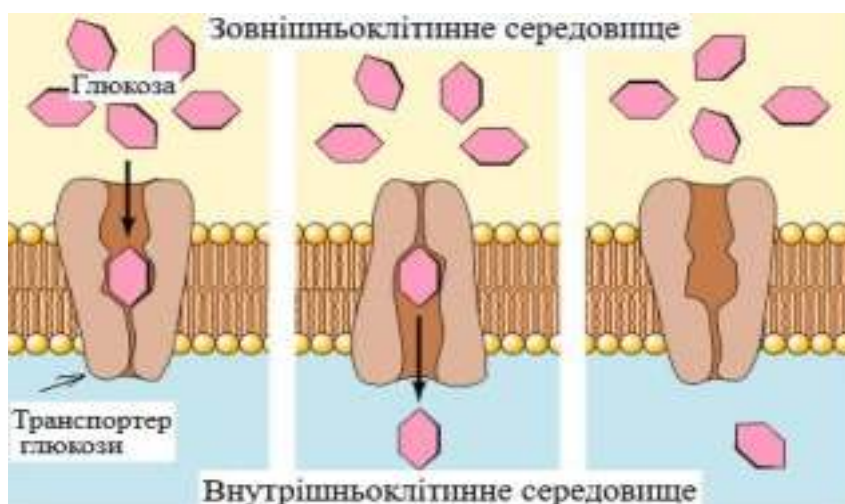


Рисунок 8.16 – Модель для полегшеної дифузії глюкози.

Транспортер глюкози приймає дві конформації, за умови яких сайт зв'язування глюкози відкритий або зовні, або всередині клітини

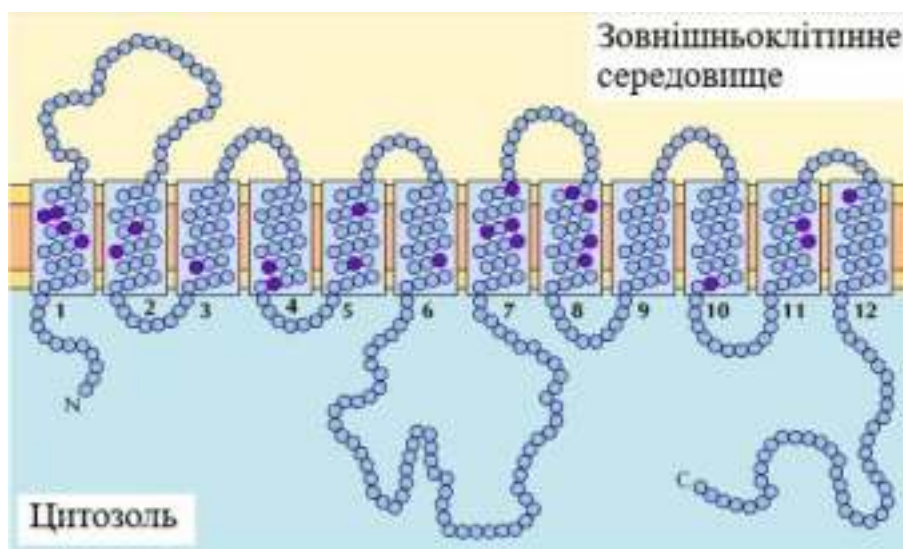


Рисунок 8.17 – Будова транспортера глюкози.

Транспортер глюкози має 12 трансмембранних  $\alpha$ -спіралей.

Полярні амінокислотні залишки, розташовані всередині фосфоліпідного подвійного шару

Відкриття іонних каналів регулюється «воротами», що тимчасово відкриваються у відповідь на специфічні подразники. Ліганд-керовані канали відкриваються у відповідь на зв'язування нейромедіаторів або інших сигнальних молекул; потенціал-керовані відкриваються у відповідь на зміну електричного потенціалу в плазматичній мембрані (рис. 8.18).

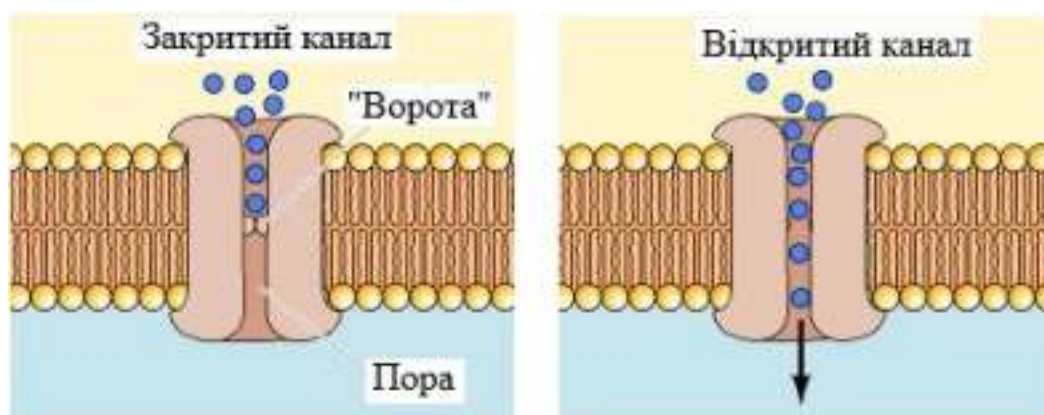


Рисунок 8.18 – Модель іонного каналу. Канал містить вузьку пору, що обмежує проходження іонів відповідного розміру. У закритій конформації потік іонів блокується «воротами»

Молекули води рухаються крізь клітинну мембрану способом осмосу. *Осмоз* – це процес односторонньої дифузії крізь напівпроникну мембрану молекул розчинника в бік більшої концентрації розчиненої речовини з певного об'єму з меншою концентрацією розчиненої речовини. У цьому разі напівпроникна мембрана не пропускає розчинену речовину. Осмос зумовлений прагненням системи до термодинамічної рівноваги й вирівнювання концентрацій розчину з обох боків клітинної мембрани. Осмос визначається *осмотичним тиском*, що дорівнює надлишковому зовнішньому тиску, який треба докласти з боку розчину, щоб припинити осмос.

Осмотичний тиск залежить від загальної кількості частинок (іонів і молекул) у розчині й не залежить від їх розміру, молекулярної маси й заряду. Виражають осмотичний тиск як *осмолярність* (число ммоль на 1 л розчину) або як *осмоляльність* (число ммоль на 1 кг розчинника). Осмотичний тиск біологічних рідин, виражений осмолярністю, вимірюють осмометром на основі інформації про концентрацію осмотично активних частинок у біологічних рідинах.

Осмотичний тиск плазми крові зумовлюється здебільшого концентрацією іонів  $Na^+$  і  $Cl^-$ , внесок яких у загальну величину становить близько 92%. Внесок білків плазми крові у створення осмотичного тиску визначає *онкотичний тиск*. Завдяки проникності стінок капілярів для електролітів

концентрації їх у плазмі крові та міжклітинній (*інтерстиціальній*) рідині близькі, а тому загальна осмолярність цих рідин майже однакова. Інтерстиціальна рідина майже не містить білків, а проникнення білків плазми крізь стінку капіляра обмежене. Завдяки цим факторам вирішальне значення для розподілу води між плазмою крові й інтерстиціальною рідиною має рівень білків плазми, а не електролітів. Ефективний осмотичний тиск білків плазми протидіє капілярному *гідростатичному тиску* й, отже, сприяє утриманню води в судинному руслі (рис. 8.19).

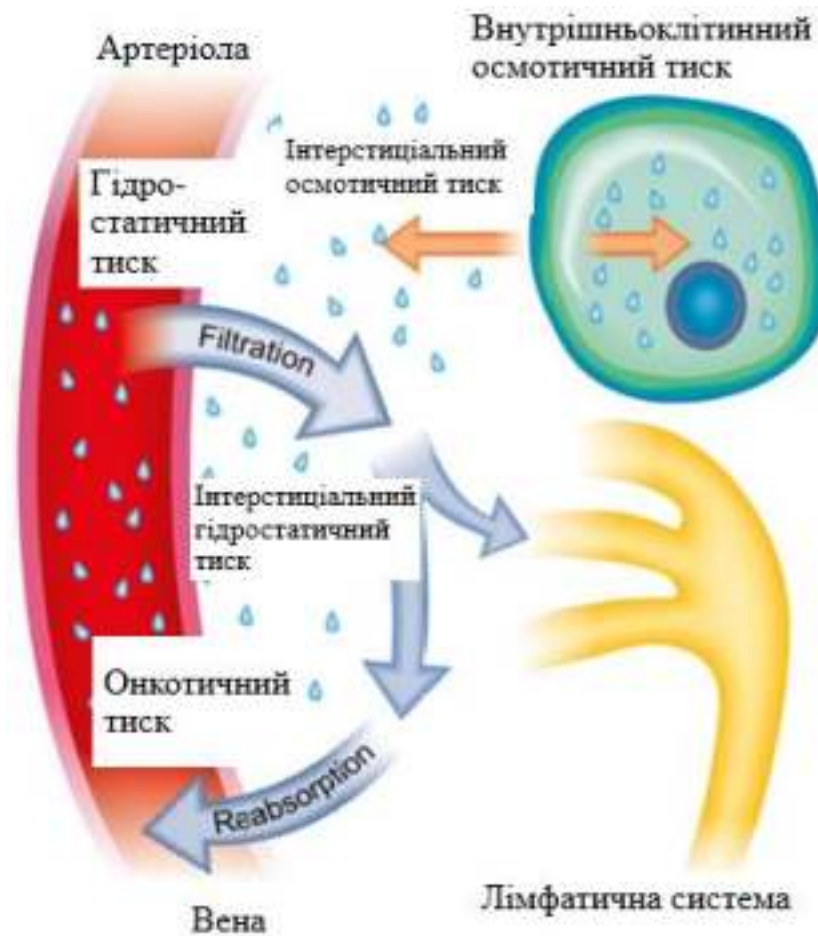


Рисунок 8.19 – Осмотичний тиск білків плазми протидіє капілярному гідростатичному тиску й сприяє утриманню води в судинному руслі

На альбуміни припадає 75–80% онкотичного тиску білків плазми; глобуліни через більшу молекулярну масу мають значно менше значення. Скорочення вмісту альбуміну в плазмі внаслідок зниженого синтезу чи виведення із сечею викликає вихід рідин із судин у міжклітинний простір, зменшення об'єму плазми й розвиток набряку.

Розподіл води між клітинами й позаклітинним простором залежить від різниці осмотичного тиску внутрішньо- і позаклітинної рідини. Осмотичний тиск внутрішньоклітинної рідини створюється, як правило, іонами  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,

фосфатами, негативно зарядженими в разі фізіологічного значення рН білками й перебуває в динамічній рівновазі з осмотичним тиском позаклітинної рідини. Клітинні мембрани легко проникні шляхом дифузії для води, а катіони, аніони й низькомолекулярні органічні речовини (глюкоза, сечовина, амінокислоти) переносяться способом активного чи пасивного транспортування, і швидкість їх перенесення значно менша від швидкості дифузії води. Тому порушення нормальної концентрації в плазмі крові осмотично активних речовин, здебільшого іонів натрію, зумовлює зміни гідратації клітин. Особливо чутливі до дегідrataції чи надмірної гідrataції клітини головного мозку. Порушення гідrataції клітин зумовлюються швидкими змінами концентрації в плазмі крові розчинених речовин, а за умови повільних змін концентрації встигає відбутися перерозподіл розчинених речовин, й осмотичний тиск з обох боків клітинної мембрани вирівнюється без значних переміщень води. Гомеостатичні механізми організму досить ефективно регулюють обмін води й електролітів, підтримуючи в межах фізіологічної норми осмотичний тиск позаклітинної, а через неї і внутрішньоклітинної рідин.

Розчини, розділені напівпроникними мембранами, можуть бути гіпертонічними, гіпотонічними або ізотонічними залежно від відносної концентрації розчиненої речовини. *Гіпертонічний розчин* має більшу концентрацію розчинених речовин, ніж розчин по іншій бік напівпроникної мембрани; осмотичний тиск гіпертонічного розчину вищий за нормальний осмотичний тиск плазми крові або осмотичний тиск у рослинних чи тваринних клітинах і тканинах. *Гіпотонічний розчин* має нижчу концентрацію розчинених речовин; осмотичний тиск гіпотонічного розчину нижчий, ніж у плазмі крові або в клітинах тваринних і рослинних організмів. У цьому разі вода буде переходити з гіпотонічного розчину в гіпертонічний, доки концентрації розчиненої речовини не вирівняються. *Ізотонічний розчин* має рівні концентрації розчиненої речовини й однаковий осмотичний тиск.

Еритроцити набухають і *гемолізують* у гіпотонічному розчині, тобто руйнуються їх оболонки, внутрішні складники еритроцитів виходять в плазму крові. Еритроцити в гіпертонічному розчині втрачають воду, клітини зменшуються в об'ємі, протоплазма відстає від клітинних стінок (*плазмоліз* еритроцитів). В ізотонічному середовищі потік води крізь мембрану еритроцитів у протилежних напрямках відбувається з однаковою швидкістю (рис. 8.20).

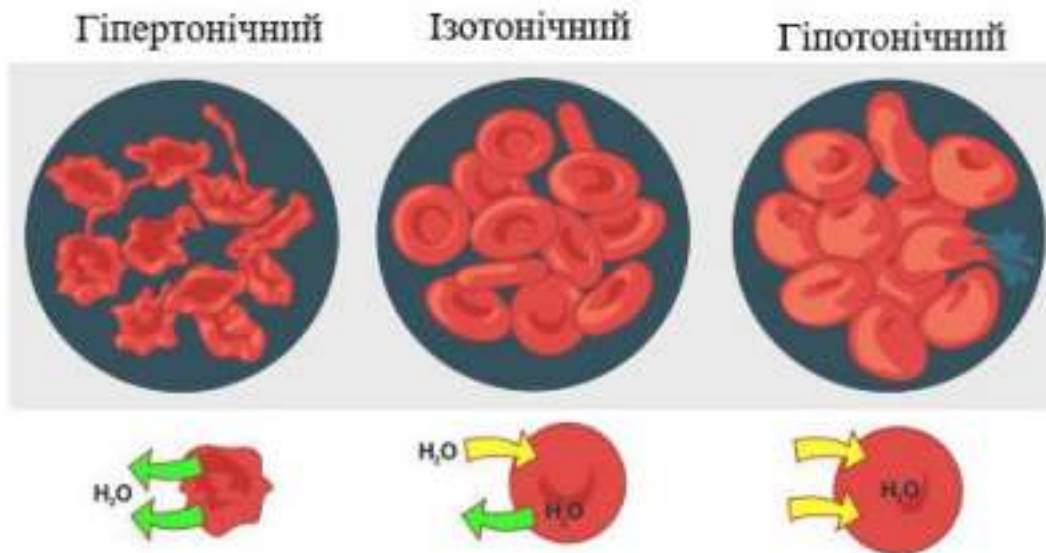


Рисунок 8.20 – Еритроцити в гіпертонічному, ізотонічному й гіпотонічному розчинах

### 8.2.2 Закони дифузії Фіка

Фізичні закони, що описують швидкість, з якою розчинені молекули дифундують крізь цитоплазматичні мембрани, були відкриті німецьким фізиком Адольфом Фіком 1855 р. Швидкість дифузії вимірюється кількістю речовини, що переноситься за одиницю часу крізь площу поперечного перерізу розчину. Швидкість дифузії зростає з підвищенням температури та зі збільшенням градієнта концентрації речовини. Зі свого боку швидкість дифузії зменшується зі збільшенням в'язкості розчинника й розміру молекул, що дифундують. У процесі збільшення молярної маси молекул коефіцієнт дифузії зменшується, водночас швидкість дифузії також зменшується.

У системі з градієнтом концентрації речовини  $dC/dx$  у напрямку  $x$  дифузійний потік  $J$  визначається першим законом Фіка:

$$J = -D \frac{\Delta C}{\Delta x}, \quad (8.3)$$

де  $J$  – щільність потоку речовини (відношення потоку до площі ділянки, крізь яку він проходить);

знак « $\leftarrow$ » показує, що сумарна щільність потоку речовини в процесі дифузії спрямована в бік зменшення концентрації (у бік, протилежний градієнту концентрації);

$D$  – коефіцієнт дифузії, що визначається властивостями молекул речовини, яка переноситься, і часом.

Рівняння Фіка описує просту дифузію та показує, що щільність потоку речовини  $J$  (моль/см<sup>2</sup>с) пропорційна коефіцієнту дифузії  $D$  (см<sup>2</sup>/с) і градієнту концентрації.

У системі з градієнтом концентрацій речовини  $dC/dx$  у напрямку  $x$  швидкість зміни концентрації речовини в точці, що зумовлена дифузією, визначається другим законом Фіка:

$$\frac{\Delta C}{\Delta t} = D \frac{\Delta^2 C}{\Delta x^2}, \quad (8.4)$$

де  $t$  – час.

Цей закон пов'язує просторову й часову зміни концентрації молекул, що дифундують.

Закони Фіка мають важливе фізіологічне значення, наприклад, у визначенні швидкості, з якою кисень і вуглекислий газ дифундують крізь альвеолярну мембрану в процесі газообміну. Деоксигенована кров рухається по капілярах до альвеол, де вуглекислий газ дифундує з крові в альвеоли. Кисень, що потрапив в альвеоли внаслідок вдихання повітря, дифундує крізь мембрану альвеол у капіляри. Це сприяє тому, що збагачена киснем кров потрапляє з легенів до серця, звідки перекачується по всьому тілу, а вуглекислий газ видихається назовні. Цей процес газообміну називається *зовнішнім диханням* (рис. 8.21).

Внутрішній обмін газів відбувається між капілярами, що оточують клітини, зокрема м'язові клітини, і самою клітиною. Кисень, зв'язаний із гемоглобіном, дифундує з крові до м'язової тканини, у якій транспортується міоглобіном; одночасно вуглекислий газ дифундує з м'язової клітини та надходить у кров. Обмін газів крізь мембрани капілярів і м'язових клітин способом дифузії є *внутрішнім диханням*.

Обмін газів відбувається внаслідок різниці їх парціального тиску в альвеолярному повітрі та венозної крові легневих капілярів. Тиск атмосферного повітря становить 760 мм рт. ст., кисень – 13% атмосферного повітря в легнях, тому парціальний тиск кисню в легнях становить  $760 \text{ мм рт. ст.} \times 0,13 \approx 100 \text{ мм рт. ст.}$  Кров, що надходить у легені, має парціальний тиск кисню 40 мм рт. ст.

Отже, кисень буде дифундувати з альвеол у кров доти, доки кров не матиме парціальний тиск кисню 100 мм рт. ст. Тиск вуглекислого газу в навколишньому середовищі набагато нижчий, ніж концентрація вуглекислого газу в крові, що надходить у легені. Атмосферний тиск вуглекислого газу становить приблизно 0,3 мм рт. ст., а концентрація вуглекислого газу в крові,

що надходить у легені, становить близько 40 мм рт. ст. Отже, вуглекислий газ буде дифундувати з крові в легені.

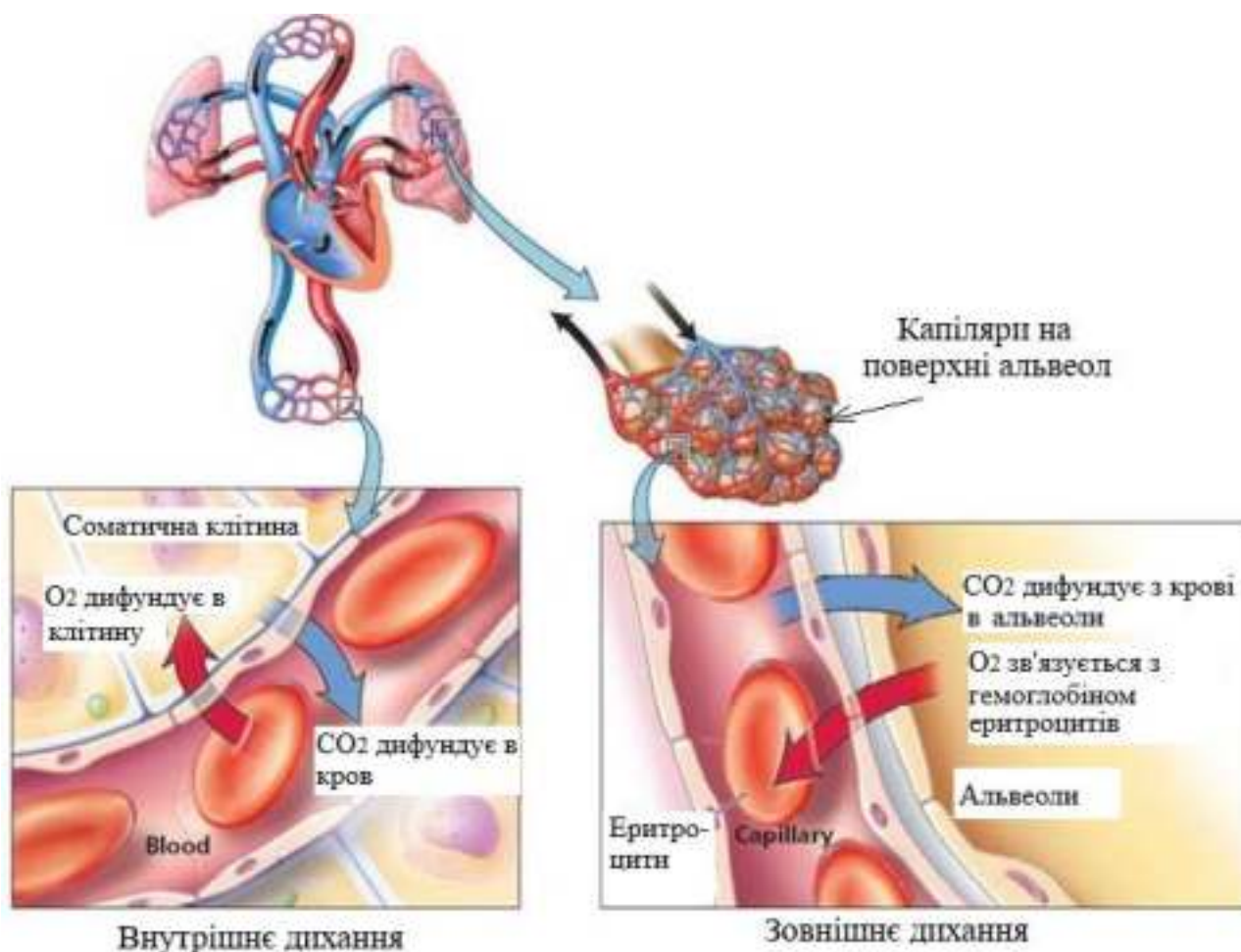


Рисунок 8.21 – Дифузія кисню та вуглекислого газу в процесі внутрішнього та зовнішнього дихання

### 8.2.3 Активне транспортування

Електрохімічний градієнт крізь мембрану визначає транспортування молекул способом полегшеної дифузії, за участю білків-переносників і білків-каналів. Проте в багатьох ситуаціях клітина транспортує молекули проти їх градієнтів концентрації. *Первинне активне транспортування* безпосередньо використовує хімічне джерело енергії (наприклад, АТФ) для переміщення молекул крізь мембрану проти концентраційних градієнтів.

*Іонні насоси*, відповідальні за підтримку градієнтів іонів крізь плазматичну мембрану, є прикладом первинного активного транспортування. Відомо, що концентрація іонів  $Na^+$  приблизно вдесятеро вища зовні, ніж усередині клітини, тоді як концентрація іонів  $K^+$  вища зовні. Іонні градієнти підтримуються  $Na^+-K^+$ -насосом або так званою  $Na^+-K^+$ -АТФазою, яка використовує енергію, отриману від гідролізу АТФ для транспортування

іонів  $Na^+$  і  $K^+$  проти їх електрохімічних градієнтів. Цей процес є результатом конформаційних змін  $Na^+$ - $K^+$ -насоса (рис. 8.22).

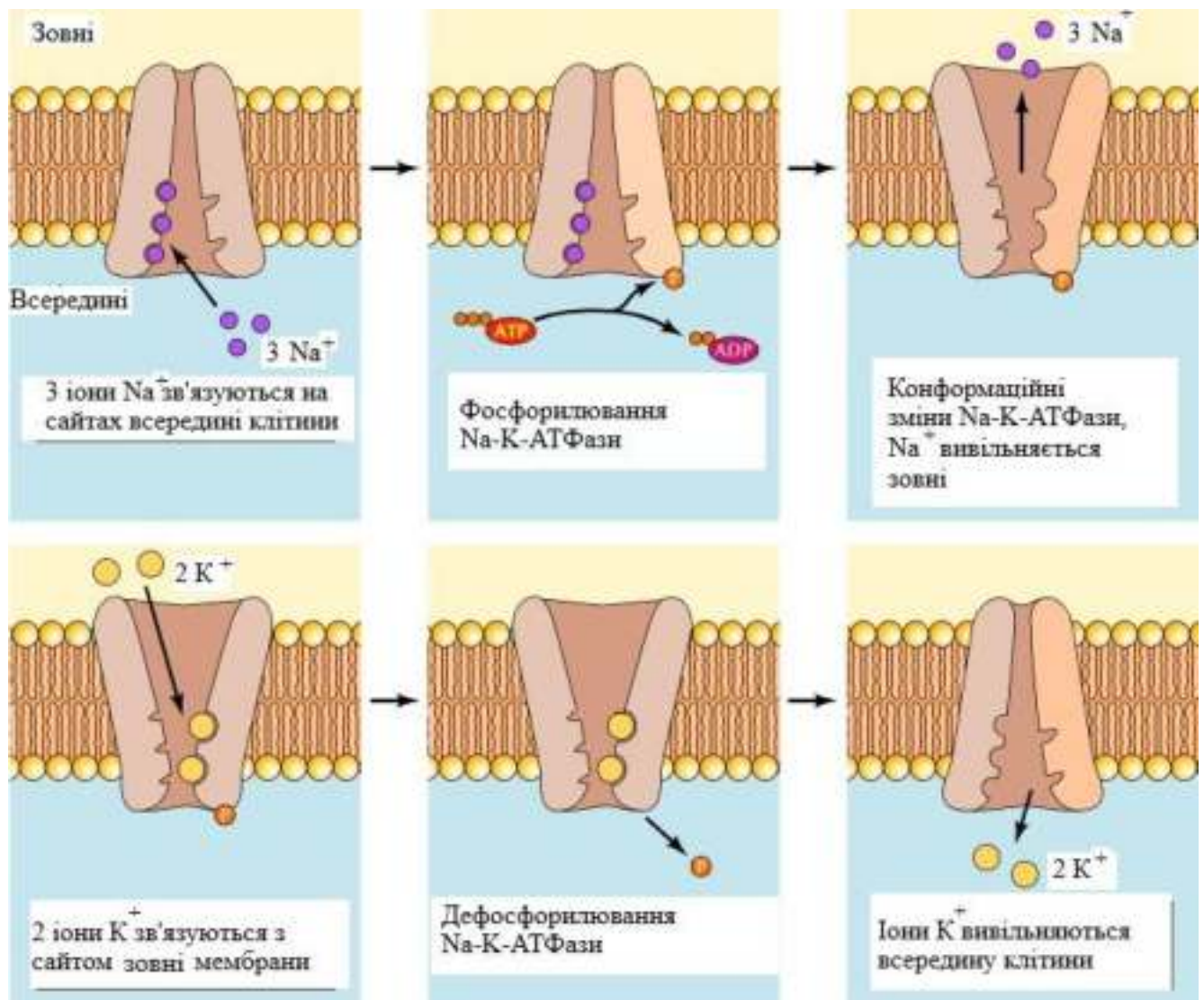


Рисунок 8.22 – Модель роботи  $Na^+$ - $K^+$ -насоса

Іони  $Na^+$  зв'язуються з високоафінними ділянками всередині клітини, що стимулює гідроліз АТФ і фосфорилування  $Na^+$ - $K^+$ -насоса. Унаслідок цього відбуваються конформаційні зміни, які відкривають сайти зв'язування для іонів  $Na^+$  зовні клітини та зменшують їх спорідненість до іонів  $Na^+$ , які вивільняються в позаклітинне середовище. Водночас на поверхні клітини відкриваються високоафінні сайти зв'язування для іонів  $K^+$ , що стимулює гідроліз фосфатної групи, зв'язаної з  $Na^+$ - $K^+$ -АТФазою. Відбуваються конформаційні зміни  $Na^+$ - $K^+$ -насоса, унаслідок яких іони  $K^+$  вивільняються всередину клітини.  $Na^+$ - $K^+$ -АТФаза має три сайти зв'язування для іонів  $Na^+$  і два – для іонів  $K^+$ , тому за кожен цикл роботи  $Na^+$ - $K^+$ -насоса кризь

плазматичну мембрану з допомогою однієї молекули АТФ транспортуються три іони  $Na^+$  і два іони  $K^+$ .

Для забезпечення роботи  $Na^+-K^+$ -насоса витрачається в середньому до 25% всієї синтезованої клітиною АТФ, що пов'язано з надзвичайно важливими функціями насоса – підтримки мембранного потенціалу спокою в процесі поширення електричних сигналів у нервових і м'язових клітинах, а також регуляції осмотичного балансу й об'єму клітини.

Активне транспортування іонів  $Ca^{2+}$  з клітини крізь плазматичну мембрану здійснюється за допомогою  $Ca^{2+}$ -насоса, робота якого забезпечується гідролізом АТФ. Унаслідок дії насоса внутрішньоклітинна концентрація іонів  $Ca^{2+}$  надзвичайно низька й становить приблизно 0,1 мкМ порівняно з позаклітинною концентрацією близько 1 мМ. Низька внутрішньоклітинна концентрація  $Ca^{2+}$  обумовлює чутливість клітини до незначного збільшення внутрішньоклітинного рівня  $Ca^{2+}$ , що має важливу роль у передачі клітинних сигналів і скороченні м'язів.

Велике сімейство трансмембранних транспортерів іонів, цукрів та амінокислот називається АВС-транспортерами (*ATP-binding cassette transporters*), які мають висококонсервативні АТФ-зв'язувальні домени, а також два нуклеотид-зв'язувальних домени (*NBD – nucleotide-binding domains*) і два трансмембранних домени (*TMD – transmembrane domains*). Гідроліз АТФ на *NBD*-домени призводить до конформаційних змін *TMD*-домени, що забезпечує транспортування молекул крізь подвійний ліпідний шар. Спільним для всіх АВС-транспортерів є характерна послідовність амінокислот – лейцин-серин-гліцин-гліцин-глутамін, яка бере участь у зв'язуванні нуклеотидів.

У вторинному активному транспортуванні АТФ не використовується; енергія для транспортування забезпечується завдяки різниці електрохімічних потенціалів іншої молекули. Існує дві основні форми вторинного активного транспортування – *антипорт* і *симпорт*. Під час антипорту два різних іони (або дві молекули) проходять мембрану в протилежних напрямках. Симпорт використовує потік інших іонів або молекул уздовж електрохімічного градієнта для перенесення іншої молекули, але дві молекули рухаються в одному напрямку.

Поглинання глюкози в апікальних доменах епітеліальних клітин кишечника (ентероцитах) здійснюється за допомогою глюкозного *симпортера*, який узгоджено транспортує два іони  $Na^+$  і одну молекулу глюкози в клітину способом симпорту (рис. 8.23).

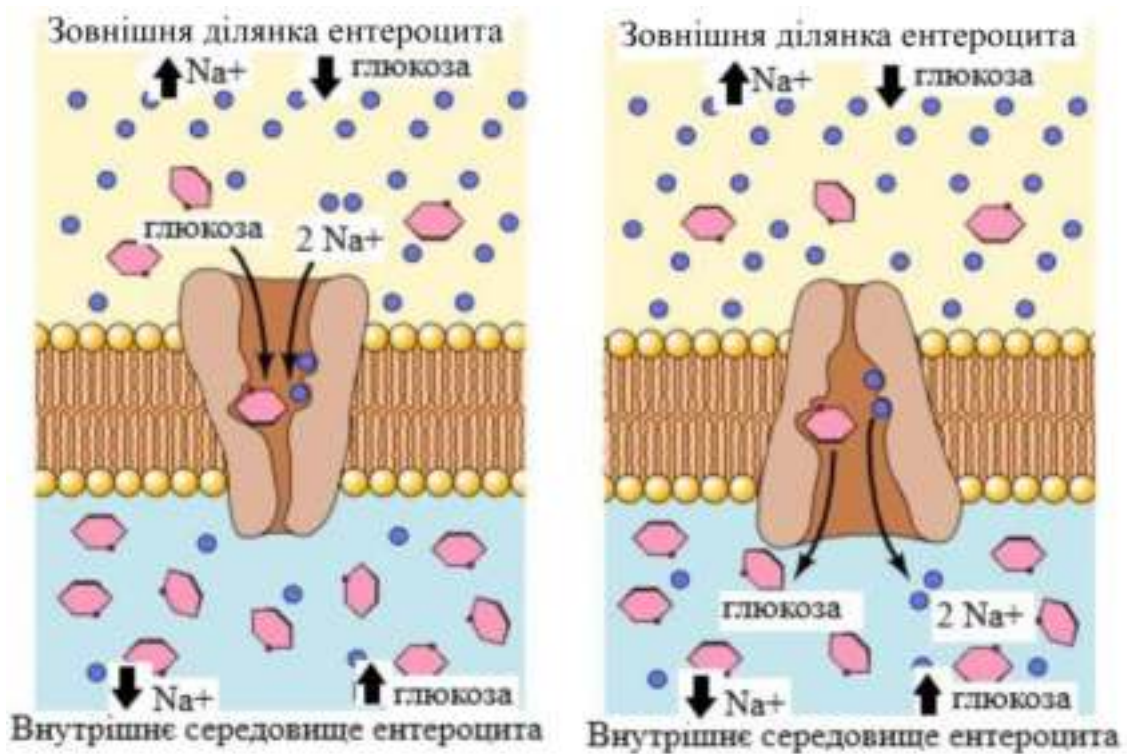


Рисунок 8.23 – Транспортування глюкози за участю симпортера глюкози

Прикладом антипорту є транспортування іонів  $Ca^{2+}$  з клітини за допомогою  $Na^+-Ca^{2+}$ -антипортера, що транспортує іони  $Na^+$  в клітину, а іони  $Ca^{2+}$  назовні.  $Na^+-H^+$ -антипортер регулює  $pH$  внутрішньоклітинного середовища способом транспорту іонів  $Na^+$  в клітину та іонів  $H^+$  з клітини. Таким чином вилучається надлишок іонів  $H^+$ , який утворюється внаслідок метаболічних реакцій, що запобігає підкисленню цитоплазми (рис. 8.24).

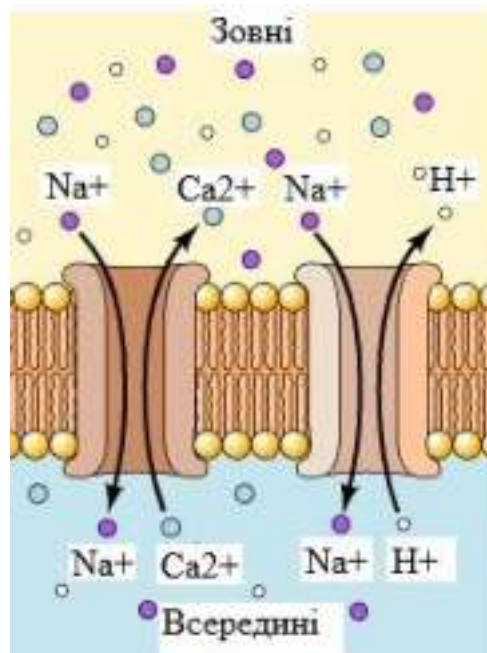


Рисунок 8.24 – Транспортування  $Na^+$  та  $Ca^{2+}$  за участю  $Na^+-Ca^{2+}$ -антипортера. Транспортування  $Na^+$  та  $H^+$  за участю  $Na^+-H^+$ -антипортера

## 8.3 Електрогенез у клітині

### 8.3.1 Мембранний потенціал спокою

Мембрани всіх живих клітин у спокої поляризовані, тобто мають різний електричний потенціал зовнішньої та внутрішньої поверхонь. Різниця потенціалів між зовнішньою та внутрішньою поверхнями мембрани називається *мембранним потенціалом спокою*. Різниця потенціалів – величина постійна й для різних клітин збудливих тканин коливається від  $-60$  до  $-100$  мВ. Виникнення мембранного потенціалу зумовлено різною концентрацією іонів  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  всередині й зовні клітини, а також різною проникністю мембрани для цих іонів. Концентрація  $K^+$  усередині клітини в 40–50 разів більша, ніж у міжклітинній рідині, а концентрація  $Na^+$ , навпаки, більша зовні клітини.

Роль іонних каналів у передачі електричних імпульсів була з'ясована за допомогою експериментів на гігантських нервових клітинах (*аксонах*) кальмара Аланом Ходжкіним та Ендрю Хакслі 1952 р. Діаметр аксона становить приблизно 1 мм, що дало змогу розмістити електроди на їх мембрані та виміряти зміни мембранного потенціалу, що відбуваються під час передачі нервових імпульсів. Зміни мембранного потенціалу є результатом регульованого відкриття та закриття  $Na^+$ - і  $K^+$ -каналів у плазматичній мембрані.

Для вивчення активності окремих іонних каналів Ервіном Неєром і Бертом Сакманом 1976 р. був розроблений метод локальної фіксації мембранного потенціалу, відомий як *петч-кламп* (*patch-clamp*) (рис. 8.25). Мікропіпетка з діаметром наконечника 1 мкм допомогла ізолювати невелику ділянку мембрани, що підвищило точність аналізу потоку іонів крізь селективний канал.

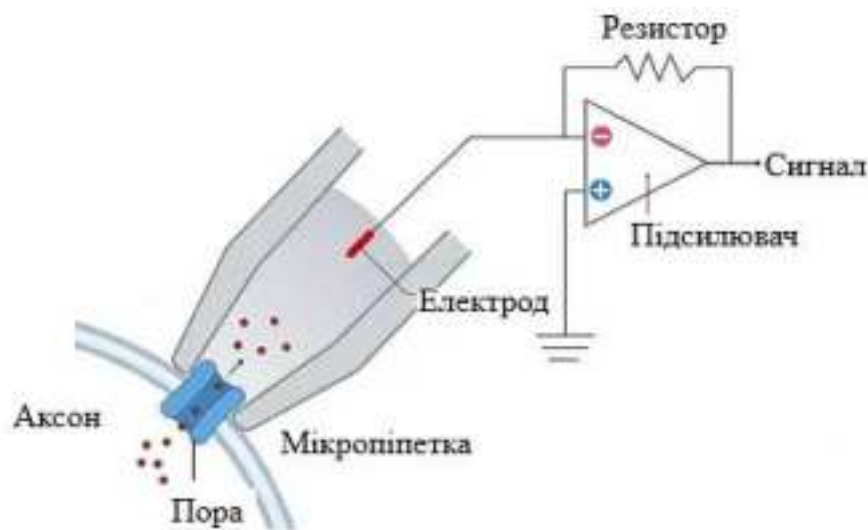


Рисунок 8.25 – Техніка петч-кламп

Потік іонів крізь мембранні канали залежить від установлення іонних градієнтів крізь плазматичну мембрану. Усі клітини, зокрема нервові та м'язові, містять іонні насоси, що використовують енергію, отриману від гідролізу АТФ, для активного транспортування іонів крізь плазматичну мембрану.

Унаслідок цього іонний склад цитоплазми суттєво відрізняється від іонного складу позаклітинних рідин (табл. 8.1). Наприклад, іони  $Na^+$  активно викачуються з клітин, тоді як іони  $K^+$  закачуються. Отже, в аксоні кальмара концентрація  $Na^+$  приблизно вдесятеро вища в позаклітинному середовищі, ніж усередині клітини, тоді як концентрація  $K^+$  приблизно в 20 разів більша в цитозолі, ніж в зовнішньоклітинному середовищі.

Таблиця 8.1 – Внутрішньоклітинні та позаклітинні концентрації іонів

| Іон                    | Концентрація (мМ)   |               |
|------------------------|---------------------|---------------|
|                        | Внутрішньоклітинний | Позаклітинний |
| <b>Аксон кальмара</b>  |                     |               |
| $K^+$                  | 400                 | 20            |
| $Na^+$                 | 50                  | 440           |
| $Cl^-$                 | 40–150              | 560           |
| $Ca^{2+}$              | 0,0001              | 10            |
| <b>Клітина ссавців</b> |                     |               |
| $K^+$                  | 140                 | 5             |
| $Na^+$                 | 5–15                | 145           |
| $Cl^-$                 | 4                   | 110           |
| $Ca^{2+}$              | 0,0001              | 2,5–5         |

Оскільки іони є електрично зарядженими, їх транспортування встановлює електричний градієнт крізь плазматичну мембрану. В аксонах кальмарів у стані спокою на плазматичній мембрані існує електричний потенціал приблизно -60 мВ, до того ж внутрішня сторона мембрани є негативно зарядженою щодо зовнішньої (рис. 8.26). Цей електричний потенціал є результатом роботи як іонних насосів, так і іонних каналів. Плазматична мембрана аксонів кальмарів у стані спокою містить відкриті  $K^+$ -канали, тому вона більш проникна для іонів  $K^+$ , ніж для іонів  $Na^+$  або інших іонів. Оскільки іони  $K^+$  заряджені позитивно, їх витікання з клітини створює

електричний потенціал крізь мембрану, у цьому разі внутрішня сторона мембрани стає негативно зарядженою. Цей мембранний потенціал протидіє безперервному витоку  $K^+$  з клітини, і система наближається до рівноважного стану, у якому мембранний потенціал врівноважує концентраційний градієнт іонів  $K^+$ . Отже, потік іонів  $K^+$  визначає мембранний потенціал спокою.

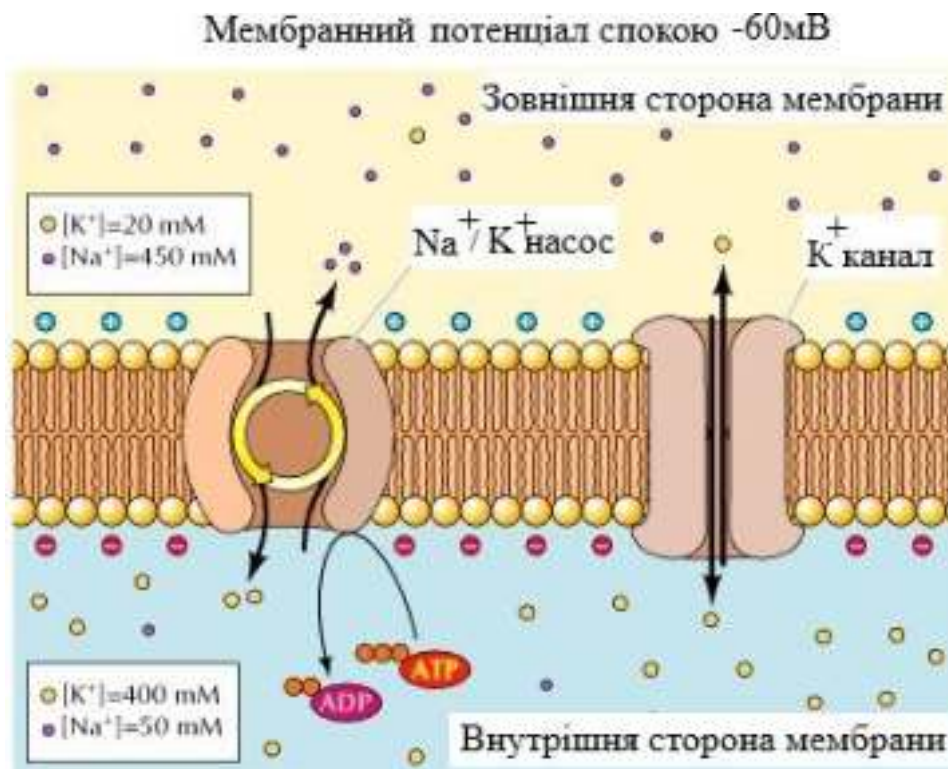


Рисунок 8.26 – Іонні градієнти й мембранний потенціал спокою аксона гігантського кальмара

Кількісно співвідношення між концентрацією іонів і мембранним потенціалом спокою визначається рівнянням Нернста:

$$\Delta\varphi = \frac{RT}{zF} \ln \frac{C_o}{C_i}, \quad (8.5)$$

де  $\Delta\varphi$  – різниця потенціалів на мембрані;

$R$  – газова постійна;

$T$  – абсолютна температура;

$z$  – заряд іона;

$F$  – постійна Фарадея;

$C_o$  та  $C_i$  – концентрація іона поза та всередині клітини відповідно.

*Рівноважний потенціал Нернста ( $E$ )* існує окремо для кожного іона, а мембранний потенціал визначається потоком усіх іонів, що перетинають плазматичну мембрану. Рівноважний потенціал для будь-якого з іонів можна розрахувати також за рівнянням Нернста. Оскільки аксони кальмарів у стані

спокою є більш проникними для  $K^+$ , ніж для  $Na^+$ ,  $Cl^-$  та інших іонів, мембранний потенціал спокою ( $-60$  мВ) близький до рівноважного потенціалу, що визначається внутрішньоклітинною та позаклітинною концентраціями й становить  $E_{K^+} = -75$  мВ.

Гольдман Д., Ходжкін А. і Катц Б. розрахували мембранний потенціал та запропонували рівняння (8.6), яке враховує внески одновалентних іонів натрію, калію і хлору в сумарний потік іонів крізь цитоплазматичну мембрану.

$$\Delta\varphi = \frac{RT}{zF} \ln \frac{P_{Na}[Na^+]_i + P_K[K^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o}{P_{Na}[Na^+]_o + P_K[K^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i} \quad 8.6$$

де  $P_{Na}$ ,  $P_K$ ,  $P_{Cl}$  – коефіцієнти проникнення для відповідних іонів.

Співвідношення коефіцієнтів проникнення  $P_{Na}:P_K:P_{Cl} = 0,04:1:0,45$ . Тобто проникність мембрани для іонів  $K^+$  вища, ніж для інших іонів.

*Доннанівська* рівновага встановлюється між клітиною і середовищем, якщо мембрана добре проникна для неорганічних іонів, але непроникна для білків та інших великих органічних іонів. Якщо всередині клітини або поза нею є заряджені макромолекули, не здатні проникати крізь мембрану, то вони суттєво впливають на розподіл іонів між клітиною та позаклітинним середовищем. Унаслідок на мембрані виникає різниця потенціалів, що називається доннанівським потенціалом. У цьому разі рівноважні концентрації іонів одного й того самого виду можуть бути різними по обидва боки мембрани.

### 8.3.2 Виникнення потенціалу дії

Потенціал дії виникає внаслідок дії подразника. *Подразник* – це фактор зовнішнього або внутрішнього середовища, спроможний впливати на живу тканину. Подразники можна виокремити за різними ознаками:

- 1) за місцем дії – зовнішні, внутрішні (нервові імпульси, гормони, продукти обміну речовин);
- 2) за біологічною дією на тканину – адекватні, неадекватні;
- 3) за природою подразників – механічні, термічні, хімічні, біологічні та електричні.

За силою подразники поділяються на підпорогові, порогові та надпорогові. До підпорогових належать подразники такої сили, що викликають тільки *локальний потенціал*, але не викликають збурення. Особливостями локального потенціалу є те, що він залежить від сили подразнення, зростає досить повільно і зникає після того, як припиняється подразнення. Він здатний до сумачії, але не здатний до незагасального розповсюдження.

Усі надпорогові подразники завжди викликають відповідну реакцію, що може бути різною залежно від сили подразника. Оптимальні за силою подразники викликають максимальне збурення, надмаксимальні – песимальну, тобто позамежову, відповідь.

Збурення тканин у живому організмі виникає під впливом нервової системи. Нервова система зі свого боку отримує імпульси збурення від чутливих специфічних закінчень – рецепторів. Коли нервові імпульси (*потенціали дії*) проходять уздовж аксонів, мембрана *деполяризується*, тобто мембранний потенціал спокою змінюється в бік позитивних значень менш ніж за мілісекунду з  $-60$  мВ до приблизно  $+30$  мВ (рис. 8.27). Після цього він знову стає негативним і повертається до значення потенціалу спокою.

Описані зміни є наслідком швидкого послідовного відкриття та закриття потенціал-залежних  $Na^+$ - (здебільшого) та  $K^+$ -каналів. Відносно невеликі початкові зміни мембранного потенціалу (від  $-60$  до приблизно  $-40$  мВ) призводять до швидкого відкриття  $Na^+$ -каналів. Потік іонів  $Na^+$  призводить до різкої зміни мембранного потенціалу, що зростає майже до  $+30$  мВ, наближаючись до рівноважного потенціалу  $Na^+$  ( $E_{Na^+} = +50$  мВ), порушуючи негативний мембранний потенціал і спричиняючи *деполяризацію*.

Отже, вхід іонів  $Na^+$  забезпечує висхідну фазу *піку* потенціалу дії. У фазу *овершута* потік іонів  $Na^+$  починає стрімко знижуватися, що пов'язано з інактивацією потенціал-залежних  $Na^+$ -каналів і зникненням електрохімічного градієнта  $Na^+$ .

У цей час потенціал-залежні  $K^+$ -канали відкриваються, у цьому разі суттєво збільшується проникність мембрани для іонів  $K^+$ . Іони  $K^+$  швидко переміщуються з клітини, що призводить до зниження мембранного потенціалу до рівноважного потенціалу  $K^+$  ( $E_{K^+} = -75$  мВ). Потім  $K^+$ -канали інактивуються й потенціал мембрани повертається до рівня мембранного потенціалу спокою  $-60$  мВ – це процес *реполяризації*.

Одним із наслідків зникнення градієнта  $Na^+$  є *рефрактерність* мембрани – тимчасова нездатність відповідати на подразник, що одразу виникає після потенціалу дії. За умови *абсолютної рефрактерності* збурливість не виникає ні внаслідок сили подразника на рівні порогу, ні в разі значно сильнішого подразника. *Відносна рефрактерність* виникає, коли надпороговий подразник може викликати потенціал дії із значно меншою амплітудою, ніж у нормі. У кінцевій фазі відбувається уповільнення відновлення мембранного потенціалу спокою, і в цій ситуації реєструються *слідові реакції* у вигляді депполяризації та гіперполяризації, зумовлені повільним відновленням вихідної проникності для іонів  $K^+$  (рис. 8.28).

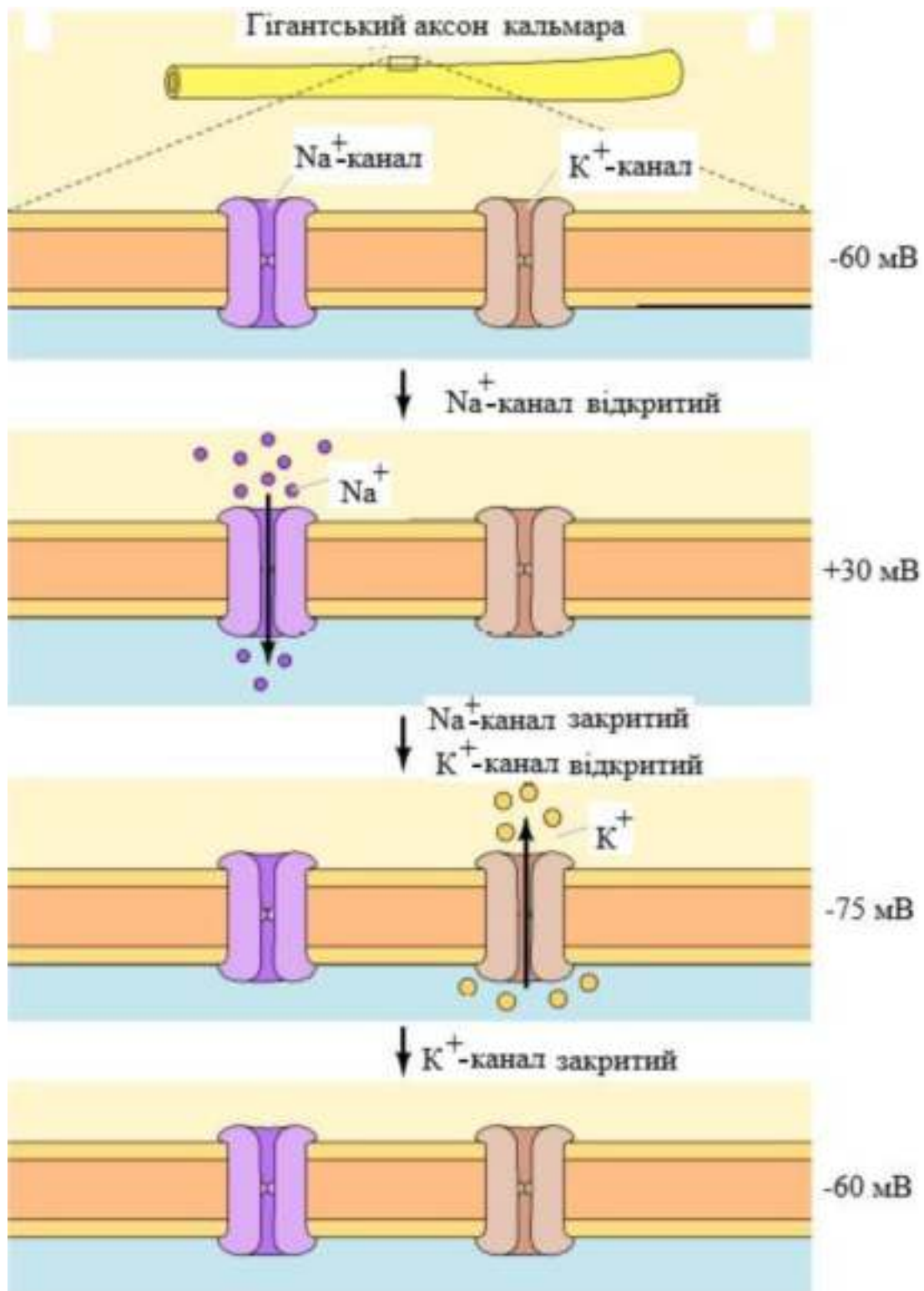


Рисунок 8.27 – Механізм утворення мембранного потенціалу дії

Поява потенціалів дії на кінцях більшості нейронів сигналізує про вивільнення нейромедіаторів, таких як ацетилхолін, що передають сигнали між клітинами в синапсі (рис. 8.29).

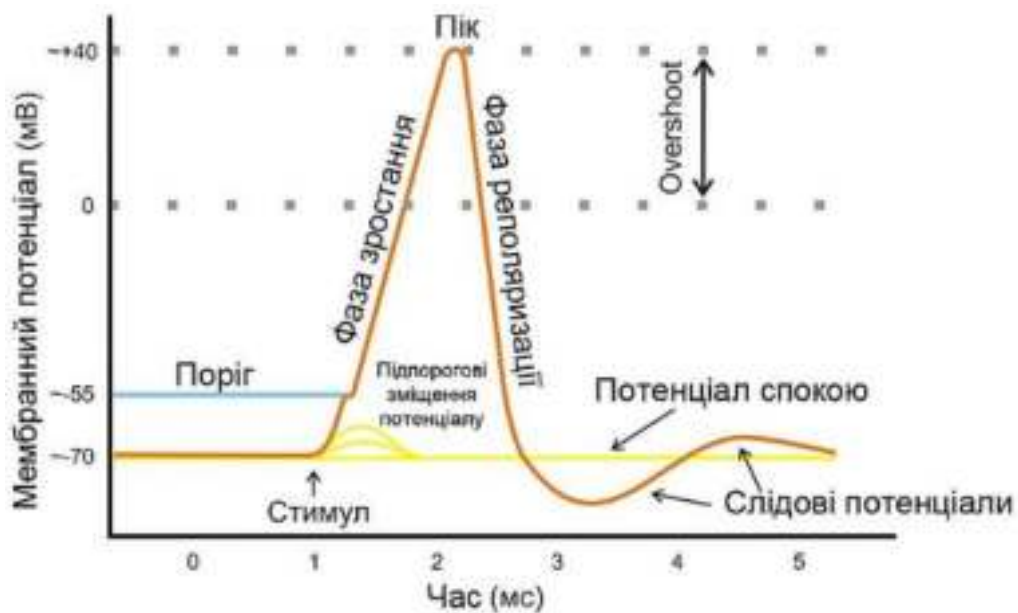


Рисунок 8.28 – Схематичне зображення ходу потенціалу дії

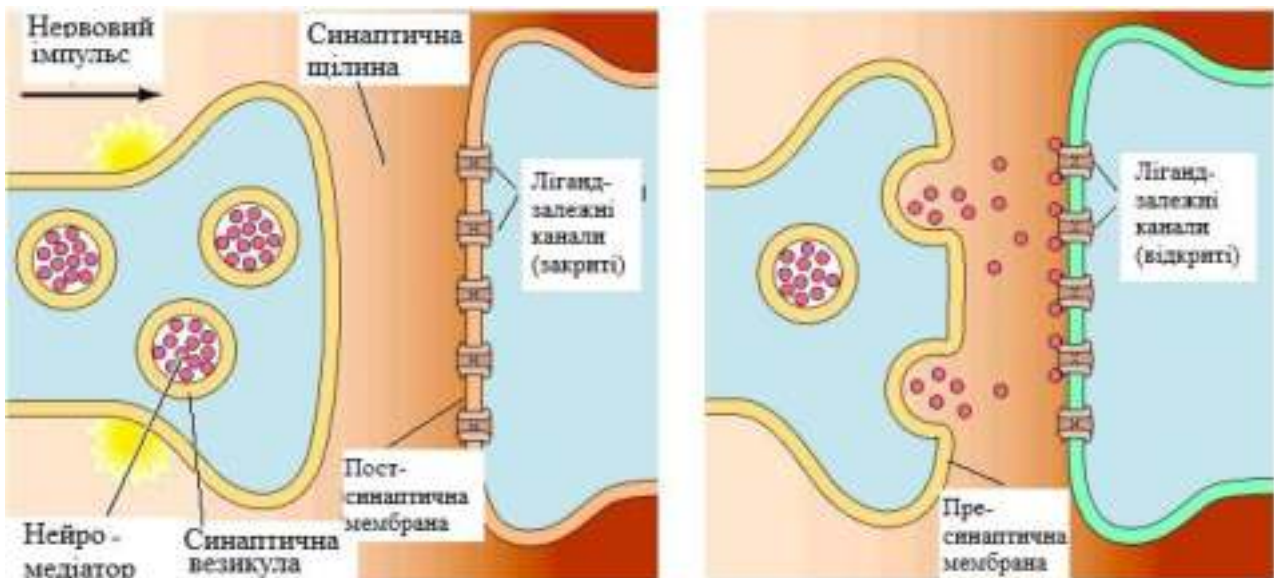


Рисунок 8.29 – Передача сигналу способом вивільнення нейромедіатора в синапсі

Нейромедіатори, що вивільняються з пресинаптичних мембран, зв'язуються з рецепторами постсинаптичних мембран, відкриваючи ліганд-залежні іонні канали. Зв'язування ацетилхоліну відкриває канал, проникний як для  $Na^+$ , так і для  $K^+$ . Це забезпечує швидкий потік іонів  $Na^+$ , що деполяризують мембрану м'язової клітини й запускають потенціал дії. Потім потенціал дії призводить до відкриття напругозалежних  $Ca^{2+}$ -каналів, що збільшує внутрішньоклітинний  $Ca^{2+}$ , що сигналізує про скорочення міоміофібрили.

Ацетилхоліновий рецептор постсинаптичних мембран м'язових клітин містить п'ять субодиниць, розташованих навколо центральної пори.

У закритому стані пори каналу заблоковані бічними ланцюгами гідрофобних амінокислот. Зв'язування ацетилхоліну індукує конформаційні зміни в рецепторі так, що гідрофобні бічні ланцюги зміщуються з каналу, відкриваючи пори, що дає змогу переміщатися позитивно зарядженим іонам  $Na^+$  і  $K^+$  та блокує переміщення негативно заряджених іонів  $Cl^-$ .

$Na^+$ -канали в десять разів більш проникні для  $Na^+$ , ніж для  $K^+$ , тоді як  $K^+$ -канали в тисячу разів більш проникні для  $K^+$ , ніж для  $Na^+$ . Селективність  $Na^+$ -каналу визначається розмірами іонів  $Na^+$  (0,95 Å); проходження іонів  $K^+$  крізь  $Na^+$ -канал обмежене розміром іонів  $K^+$  (1,33 Å).

Селективність  $K^+$ -каналу пояснюється тетрамерною структурою каналу, у якій чотири ідентичні білкові субодиниці асоціюють і утворюють комплекс навколо центральної іонопровідної пори. У межах верхньої частини пори, так званої *P-петлі*, є специфічний селективний фільтр, утворений п'ятьма амінокислотними залишками – треонін-валін-гліцин-тирозин-гліцин (рис. 8.30).

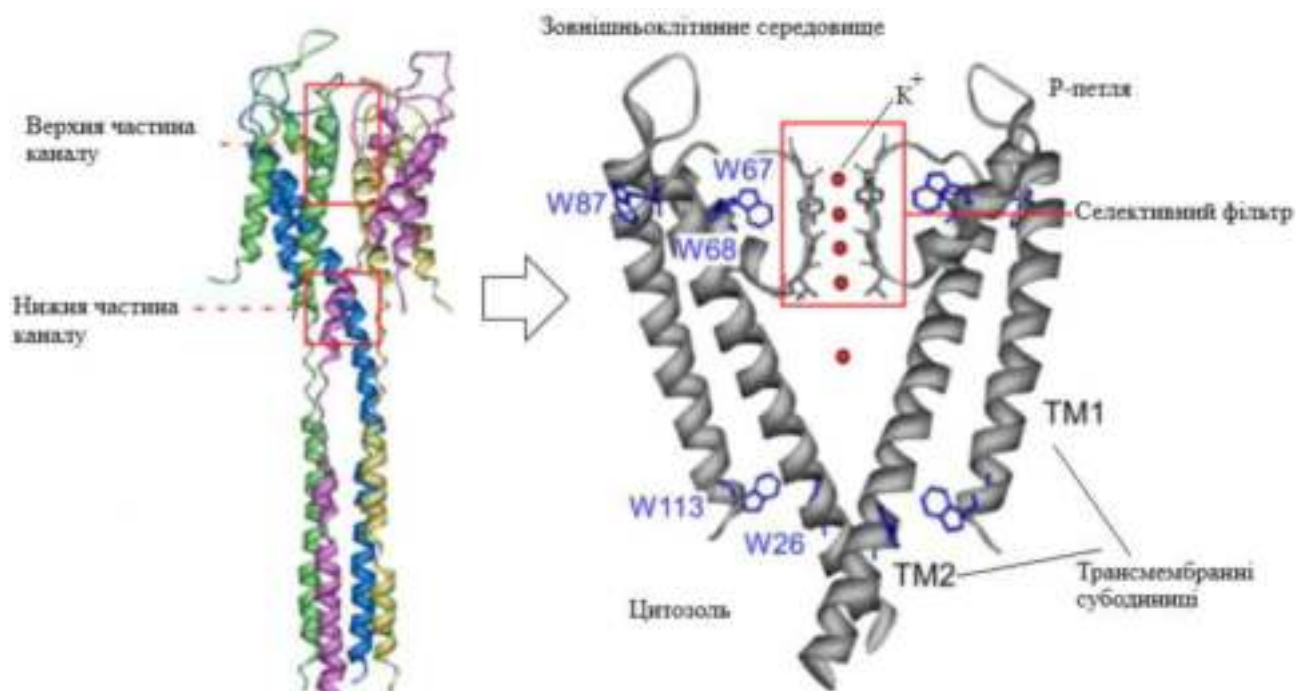


Рисунок 8.30 – Структура калієвого каналу

Електронегативні атоми кисню карбонільних груп ( $C=O$ ) амінокислотних залишків *P*-петлі взаємодіють із гідратованим іоном  $K^+$  таким чином, що молекула води відщеплюється від іона  $K^+$ . У цьому разі дегідратований іон  $K^+$  переміщується крізь пору. Іонам  $Na^+$  енергетично більш вигідно залишатися зв'язаними з молекулами води в позаклітинному просторі, ніж проходити крізь калій-селективні іонні пори.

## 8.4 Контрольні запитання та завдання

1. Яку будову має цитоплазматична мембрана?
2. Хімічний склад ліпідного бішару.
3. Особливості хімічної структури фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, фосфатидилсерину, фосфатидилінозитулу.
4. Яку будову має надмембранний шар плазмолемі?
5. Роль глікопротеїнів і гліколіпідів у структурі клітинної мембрани.
6. Рідинно-мозаїчна модель плазматичної мембрани.
7. Основні біофізичні властивості плазматичних мембран.
8. Приклади конфігурацій вуглецевих ланцюгів жирних кислот фосфоліпідів. Як ці конфігурації впливають на біофізичні властивості клітинних мембран?
9. Якими механізмами забезпечується динамічна рухливість макромолекул у ліпідному бішарі?
10. Як гідратація та дегідратація впливають на переміщення фосфоліпідів у структурі мембрани?
11. Що таке мембранний транспорт? Поясніть роль мембранного транспорту в забезпеченні життєдіяльності клітини.
12. Схарактеризувати основні види пасивного транспортування.
13. Чим відрізняється дифузія іонів крізь мембрану від осмосу?
14. Що таке осмотичний та онкотичний тиск?
15. Розкрийте сутність законів, що описують швидкість, з якою розчинені молекули дифундують крізь цитоплазматичні мембрани.
16. За допомогою яких механізмів реалізується активний транспорт молекул крізь клітинну мембрану?
17. Поясніть механізм роботи натрій-калієвого насоса.
18. Особливості вторинного активного транспорту. Наведіть приклади перенесення іонів і молекул способом первинного та вторинного активного транспорту.
19. Мембранний потенціал спокою.
20. Рівноважний потенціал Нернста.
21. Рівновага Доннана.
22. Що визначають за допомогою рівняння Гольдмана – Ходжкіна – Катца?
23. Механізм виникнення потенціалу дії.
24. Чим зумовлена деполяризація та реполяризація?
25. Механізми реалізації нервового збурення через хімічні синапси.

## 9 БІОФІЗИКА СЕНСОРНОЇ ТА КЛІТИННОЇ РЕЦЕПЦІЇ

Рецепція – це процес сприйняття та перетворення енергії зовнішнього подразника в енергію нервового імпульсу або в послідовність внутрішньоклітинних біохімічних процесів. Більшість клітинних подразників мають хімічну природу – це фактори росту, гормони, нейротрансмітери та компоненти позаклітинного матриксу, які реалізують свою дію локально або поширюються на значні відстані. Наприклад, нейротрансмітери – це ендogenousні хімічні речовини, які мають короткий радіус дії, що забезпечує швидкоплинну передачу нервового сигналу між сусідніми нейронами або між нейронами та м'язовими клітинами. Фолікулостимулювальний гормон є глікопротеїдним гонадотропним гормоном, що реалізує свою дію через кровоток, переміщуючись від базofilних клітин передньої долі гіпофіза до статевих залоз, де індукує секрецію статевих гормонів.

Клітини реагують на механічні подразники. Наприклад, сенсорні клітини шкіри реагують на тиск дотику, рецепторні клітини вуха – на звукові хвилі. Спеціалізовані клітини судинної системи людини виявляють зміни артеріального тиску, які організм використовує для підтримки оптимального серцевого навантаження.

Сенсорна рецепція – процес сприйняття та перетворення енергії подразників зовнішнього та внутрішнього середовища організму в енергію нервових імпульсів, що передається по чутливих нервах до центральної нервової системи (ЦНС). Сенсорний рецептор є нервовою клітиною, яка пристосована до сприйняття певного типу подразників і є початковою ланкою рефлекторної дуги.

Клітинна рецепція – це процес сприйняття та перетворення хімічного сигналу на послідовність внутрішньоклітинних біохімічних процесів. Клітинна рецепція забезпечує обмін інформацією між клітинами та здійснюється за допомогою біологічно активних речовин, які зв'язуються з клітинними рецепторами – специфічними білковими молекулами, розташованими на поверхні клітини, у цитоплазмі або в ядрі.

### 9.1 Сенсорна рецепція та класифікація сенсорних рецепторів

Людина сприймає навколишній світ за допомогою сенсорних систем. *Екстерорецептори* – це рецептори, розташовані поблизу подразника

в зовнішньому середовищі, наприклад, соматосенсорні рецептори, розташовані в шкірі. *Інтерорецептори* реагують на стимули від внутрішніх органів і тканин, наприклад, рецептори, які сприймають підвищення кров'яного тиску в аорті або каротидному синусі. *Пропріорецептори* розташовані поблизу рухомої частини тіла, наприклад, м'язової тканини або суглобової капсули, і визначають відчуття положення та навантаження. Сенсорні рецептори розташовані в спеціальних органах (зокрема очі, вуха, ніс і рот), а також у внутрішніх органах. Кожен тип рецепторів передає окрему сенсорну модальність, тобто якісну характеристику відчуттів, для того щоб інтегруватися в єдине сприйняття, яке досягається перетворенням енергії в електричний сигнал за допомогою спеціальних механізмів.

За специфічним подразником і функціональним значенням рецептори поділяються на види.

- *Хеморецептори* – спеціалізовані закінчення чутливих нервів або клітинних структур, що реагують на присутність та зміну концентрації хімічних речовин.

- *Терморецептори* відповідають за сприйняття змін температури та різних ступенів тепла, наявних у навколишньому середовищі.

- *Механорецептори* – закінчення чутливих нервових волокон, що реагують на механічний тиск чи іншу деформацію, яка діє ззовні або виникає у внутрішніх органах, і відповідають генерацією потенціалу дії.

- *Фоторецептори* – світлочутливі сенсорні нейрони сітківки ока, що специфічно реагують на світло.

- *Барорецептори* – чутливі нервові закінчення в кровоносних судинах, що сприймають зміну кров'яного тиску та рефлекторно регулюють його рівень.

- *Пропіорецептори* – чутливі нервові закінчення з групи механорецепторів; розташовані в скелетних м'язах, сухожиллях, зв'язках; дають інформацію про положення різних частин тіла щодо одна одної.

За особливостями сприйняття сигналу розрізняють: *дистантні* рецептори, здатні до сприйняття сигналу від об'єкта, розташованого на певній відстані від самого рецептора (слухові, нюхові); *контактні* рецептори, що сприймають сигнал тільки за безпосереднього контакту з подразником (больові, смакові).

За особливостями будови та функцій рецептори поділяють на:

- 1) *первинні* – вільні сенсорні нейрони (дендрити), закінчення яких здатні сприймати подразнення й генерувати нервовий імпульс та нейрони, інкапсульовані в сполучну тканину, яка підвищує їх чутливість. Рецепторний потенціал дії виникає на мембрані рецепторної клітини, від якої відходить

довгий аксон, що супроводжується деполяризацією внаслідок підвищення проникності мембрани для іонів  $Na^+$  (нюхові та температурні рецептори);

2) *вторинні* – видозмінені епітеліальні клітини, здатні сприймати стимули, генерувати рецепторний потенціал і утворюють синапси з сенсорними нейронами, які передають імпульси в мозок. Від рецепторної клітини відходить короткий відросток, що утворює синапс на аферентному закінченні, потенціал дії виникає вже після синаптичного контакту (слухові, вестибулярні, зорові рецептори);

3) *спеціалізовані рецепторні клітини*, що мають чіткі структурні компоненти. Рецептори болю та температури в дермі шкіри є прикладами нейронів, які є вільними нервовими закінченнями. Рецептори, що реагують на тиск і дотик, є прикладами інкапсульованих нервових закінчень дерми. Клітини сітківки, які реагують на світлові подразники, є прикладом спеціалізованої рецепторної клітини – фоторецептора (рис. 9.1).

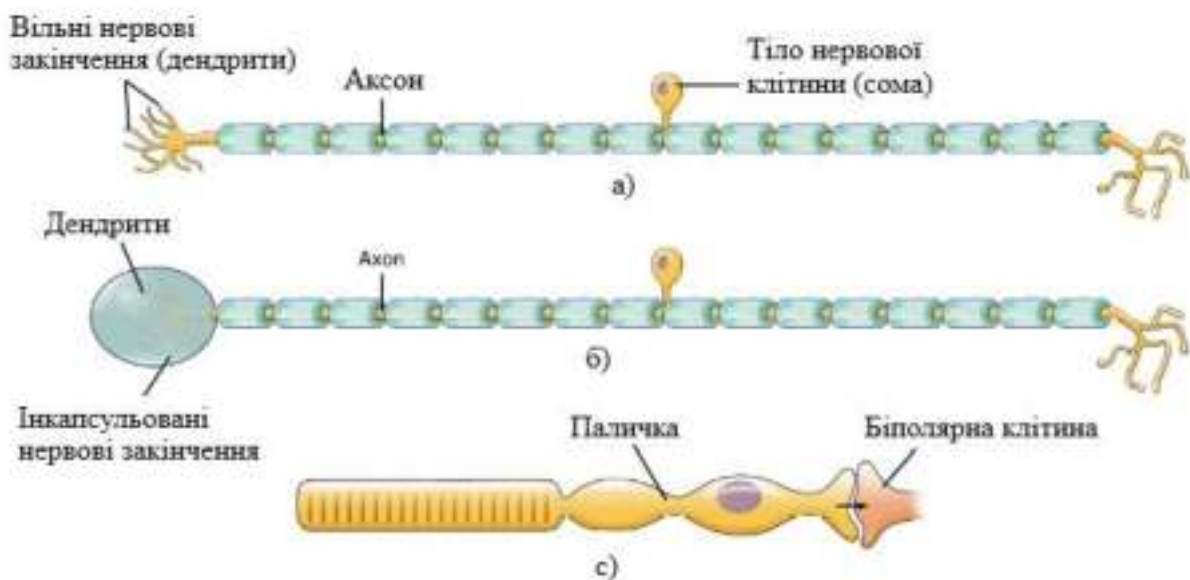


Рисунок 9.1 – Класифікація рецепторів на основі їх структури:

а – вільні нервові закінчення;

б – інкапсульовані нервові закінчення;

с – спеціалізована фоторецепторна клітина – паличка, яка вивільняє нейромедіатор до біполярної клітини крізь синаптичну щілину

Для рецепторного потенціалу властива сумація сигналів, унаслідок якої під час дії інтенсивного подразника деполяризація може досягти критичного рівня, і рецепторний потенціал переходить у потенціал дії, що проводиться потім аферентним нейроном.

За здатністю адаптації розрізняють рецептори *неадаптуючі* (тонічні) та *адаптуючі*. Ступінь активації неадаптуючих рецепторів пропорційна силі

та тривалості дії подразника й не змінюється в часі. До неадаптуючих належать рецептори внутрішнього середовища організму (баро-, хемо-, пропріорецептори, вестибулорецептори, больові рецептори). Основними ознаками незалежності активності цих рецепторів від часу є амплітуда рецепторного потенціалу, що не змінюється в часі, а також постійне число нервових імпульсів в аферентному волокні за умови постійної сили впливу (рис. 9.2).

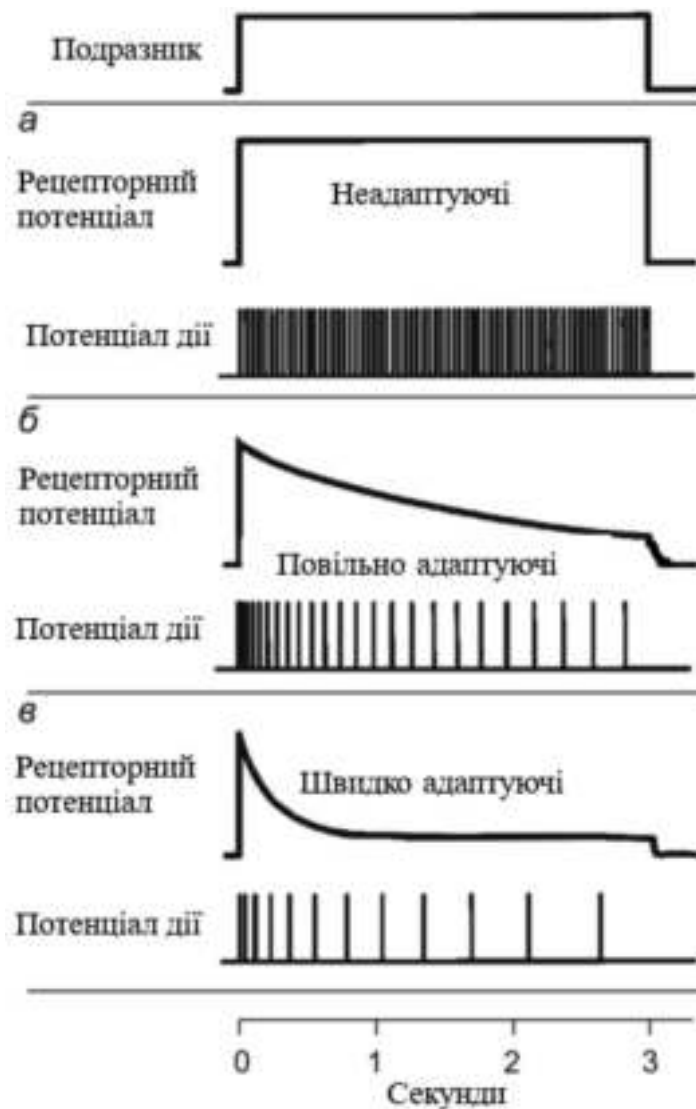


Рисунок 9.2 – Зміна в часі величини рецепторного потенціалу та частоти нервових імпульсів в аферентному волокні за постійної сили впливу на рецептор у: а – неадаптуючих рецепторах; б – повільно адаптуючих рецепторах; в – швидко адаптуючих рецепторах

Адаптуючі рецептори розрізняють повільно та швидко адаптуючі: активність повільно адаптуючих рецепторів повільно згасає від впливу подразника (наприклад, рецептори шкіри та пропріорецептори); швидко адаптуючі (фазні) рецептори реагують безпосередньо на появу подразника, або на зміну його властивостей (наприклад, тактильні, смакові та нюхові рецептори).

Загальними властивостями рецепторів є:

1) *специфічність* – виявляється у зв'язуванні рецептора лише специфічних сигналів, наприклад, дофамінові рецептори зв'язують дофамін, рецептори інсуліну зв'язують інсулін, рецептори фактора росту нервів зв'язують фактор росту;

2) *адаптація* – звикання до визначених подразників;

3) *сенсibiliзація* – підвищення збудливості під впливом багаторазових подразників;

4) *чутливість* – для кожного рецептора є свій поріг відчуття, тобто мінімальна сила подразника, яка викликає за певних умов ледве помітне відчуття.

Зв'язок між силою подразника та інтенсивністю відчуття описує основний закон психофізики – закон Вебера – Фехнера, запропонований 1860 р. німецькими психофізіологом та анатомом Ернстом Генріхом Вебером та фізиком, психофізиком Густавом Фехнером. Цей закон полягає в тому, що коли інтенсивність якої-небудь фізичної величини збільшувати в геометричній прогресії, то відчуття цієї величини зростатиме в арифметичній прогресії. Тобто під час збільшення інтенсивності стимулу в яку-небудь кількість разів його відчуття зростає на певну величину, у цьому разі відчуття пропорційне логарифму інтенсивності стимулювання. Наприклад, якщо інтенсивність звуку збільшується в геометричній прогресії, то відчуття його гучності збільшуватиметься в арифметичній прогресії (рис. 9.3):

$$E = k \lg \frac{I}{I_0}, \quad (9.1)$$

де  $k$  – коефіцієнт пропорційності, що залежить від частоти та інтенсивності звуку.

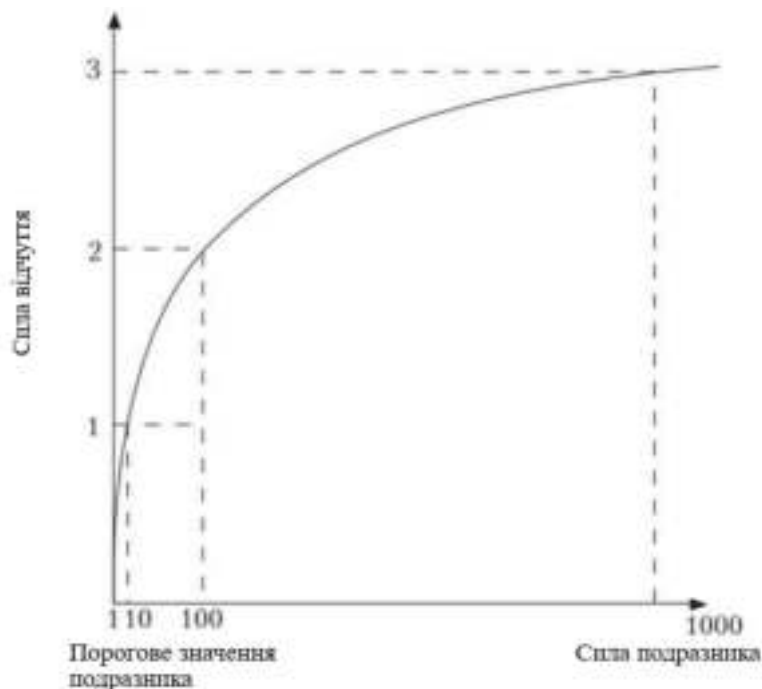


Рисунок 9.3 – Логарифмічна крива залежності величини відчуття від сили подразника

### 9.1.1 Фоторецептори

Фоторецептори сітківки ока (*палички* й *колбочки*) здатні поглинати світло в діапазоні довжин хвиль 400–750 нм. Палички й колбочки нерівномірно розподілені на сітківці ока. Палички розміщені на периферії сітківки й відповідають за нічне бачення; палички збуджуються під впливом слабкого світла, тоді людина не розрізняє кольорів і бачить нечітко. Колбочки розміщені біля жовтої плями центральної ділянки сітківки; колбочки відповідають за денне світлосприйняття та пристосовані до сприймання яскравого світла різних кольорів. Існує три типи колбочок, кожна з яких реагує на різні довжини хвиль (короткі, середні та довгі), що створює кольорове бачення.

Спектри поглинання паличкоподібних і колбочкоподібних фоторецепторів показані на рис. 9.4.

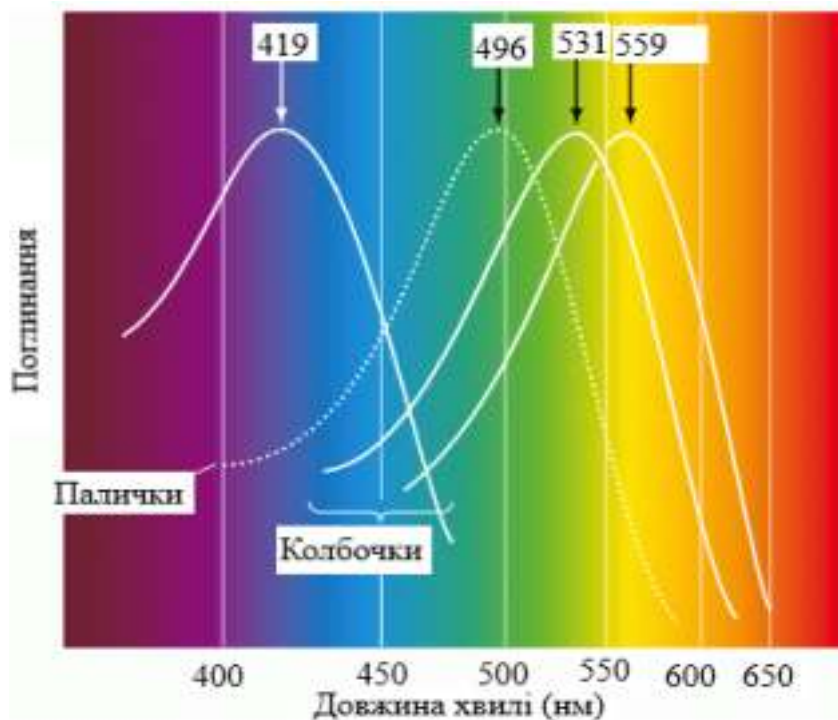


Рисунок 9.4 – Спектри поглинання фоторецепторів

Фоторецептори сітківки ока містять світлочутливий зоровий пігмент *родопсин* – складний білок (хромопротеїн), зв'язаний з *G*-білком – трансдуцином. Родопсин містить світлопоглинальний хромофор: альдегід вітаміну А – ретиналь, а також білок опсин. Різні типи опсинів беруть участь у перетворенні світла різної інтенсивності та довжини хвилі. Кожен фоторецептор експресує тільки один тип опсину.

За відсутності світла фоторецептори деполаризовані до потенціалу спокою мембрани  $-40$  мВ. Кванти світла гіперполяризують плазматичну мембрану фоторецептора до  $-70$  мВ (рис. 9.5).

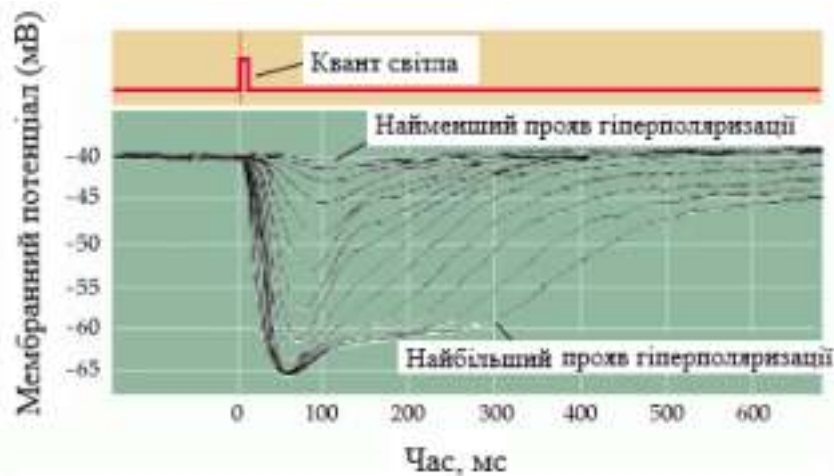


Рисунок 9.5 – Мембранний потенціал і гіперполяризація мембрани колбочки. Кожна гіперполяризація є відповіддю на стимуляцію світлом різної інтенсивності: за найвищих рівнів освітлення амплітуда відгуку максимальна

За підтримку деполаризованого стану мембрани фоторецепторів відповідає циклічний гуанозин 3'-5' монофосфат (цГМФ). Високі рівні цГМФ утримують цГМФ-залежні  $Na^+$  іонні канали у відкритому стані, що уможливорює рух іонів  $Na^+$  всередину клітини (рис. 9.6).

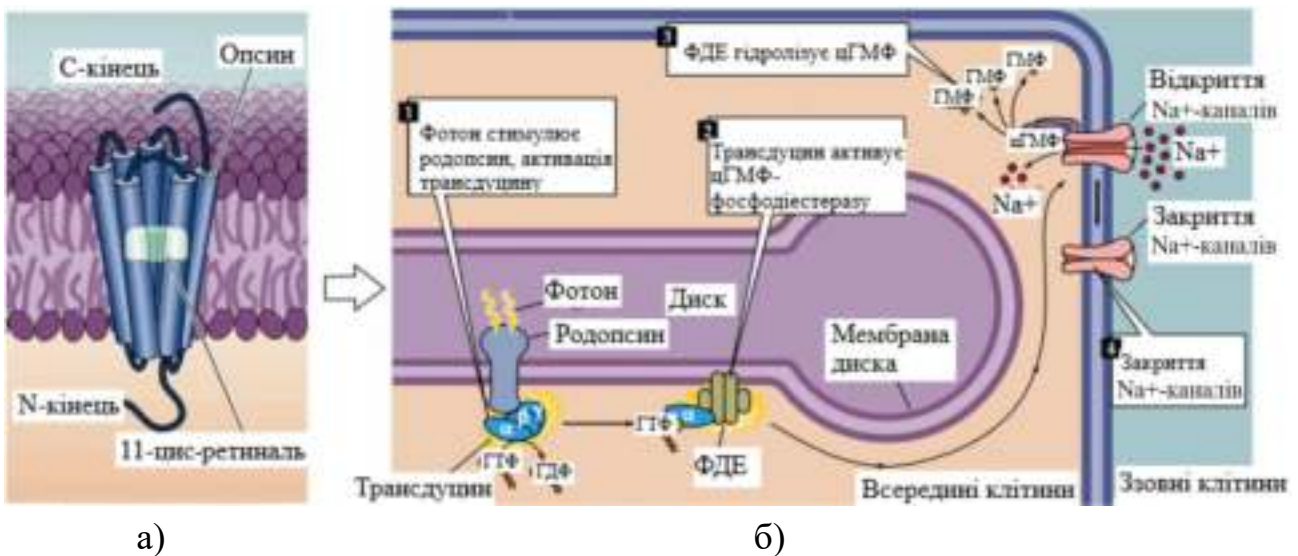


Рисунок 9.6 – Будова родопсину (а); механізм фототрансдукції на сітківці ока (б)

У процесі поглинання енергії світла 11-цис-ретиналь ізомеризується до транс-ретиналю, у цьому разі родопсин конформаційно змінюється й набуває активованої форми – метародопсину. Фототрансдукція сигналу – це каскад реакцій, що розпочинається з реакції зв'язування фотозбуреного родопсину з білком-трансдуцином, що супроводжується перетворенням ГДФ на ГТФ та вивільненням  $\alpha$ -субодиниці трансдукцину, яка протягом 1 мс активує

циклічну цГМФ-фосфодіестеразу (ФДЕ). За цих умов концентрація цГМФ зменшується, що сигналізує про закриття натрієвих каналів.

Активації однієї молекули родопсину одним фотоном достатньо, щоб суттєво змінити провідність мембрани клітини. Це можливо завдяки механізмам ампліфікації. Наприклад, одна фотоактивована молекула родопсину здатна активувати 500 молекул трансдуцину. Кожна молекула трансдуцину може стимулювати одну молекулу цГМФ-фосфодіестерази; кожна молекула цГМФ-фосфодіестерази може розщеплювати  $10^3$  молекул цГМФ за секунду. Отже, один активований родопсин може викликати гідроліз понад  $10^5$  молекул цГМФ за секунду.

Наведемо механізми, що гальмують фототрансдукцію та фотобіологічну реакцію.

1) Інактивація родопсину способом фосфорилування опсинкіназою з подальшим зв'язуванням арестину (*арестини – сімейство білків, необхідних для регуляції передачі сигналу на G-білкових рецепторах*) з фосфорильованим родопсином.

2) Інактивація трансдуцину способом гідролізу, зв'язаного з  $\alpha$ -субодиницею трансдуцину ГТФ до ГДФ за допомогою ГТФази.

3) Інактивація ФДЕ паралельно з інактивацією трансдуцину. У цьому разі інактивованій трансдуцин (ГДФ-зв'язаний) відокремлюється від ФДЕ, що призводить до припинення гідролізу цГМФ опосередкованого ФДЕ.

4) Активація гуанілатциклази білком, що активує гуанілатциклазу (*the guanylate cyclase-activating proteins, GCAP*), яка відновлює рівень цГМФ і сприяє повторному відкриттю цГМФ-залежних  $Na^+$ -каналів.

*Порушення фототрансдукції викликає патології органа зору людини.*

*Брадїопсія («уповільнений зір»)* – це стан, що виникає внаслідок мутацій у генах, що кодують білок *RGS9*, який інактивує трансдуцин. Пацієнти з брадїопсією мають проблеми з пристосуванням до мінливих умов освітлення, відчуваючи тимчасову сліпоту під час першого впливу яскравого світла. Цей розлад також проявляється як нездатність відчувати рух предметів у яскравому середовищі.

*Пігментний ретиніт* – спадкове захворювання, що визначається дегенерацією фоторецепторних клітин і накопиченням пігментів сітківки. Цей розлад часто призводить до сліпоти, та може бути результатом мутацій у різних генах, що експресуються у фоторецепторах. Ранні генетичні дослідження аутомно-домінантного пігментного ретиніту виявили низку точкових мутацій у гені родопсину.

*Вроджена нічна сліпота* – спадкове захворювання, пов'язане з погіршенням зору в умовах недостатнього освітлення. Цей розлад є наслідком місенс-мутацій у гені родопсину (точкових мутацій, коли змінений кодон починає кодувати іншу амінокислоту). Ці зміни змушують мутований білок родопсину постійно активувати трансдуцин. Постійна активація каскаду фототрансдукції обмежує точність світлової відповіді паличкових фоторецепторів.

### 9.1.2 Механорецептори

Механорецептори – це тип соматосенсорних рецепторів, здатних передавати позаклітинний сигнал до внутрішньоклітинної системи трансдукції сигналу крізь механозалежні іонні канали, які реагують на дотик, тиск, розтягування, звукові хвилі та рух (рис. 9.7).

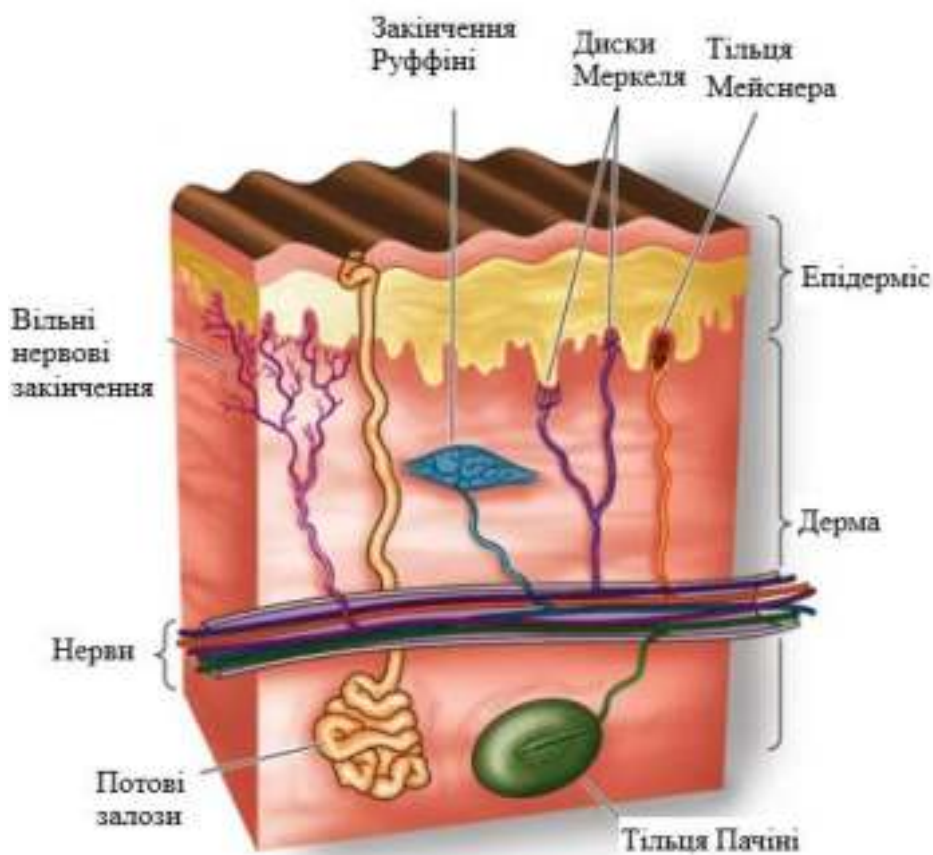


Рисунок 9.7 – Розміщення механорецепторів у структурі шкіри

Механорецептори присутні в структурі шкіри, а також кісткової тканини; рецептори можуть бути як інкапсульованими, так і неінкапсульованими вільними нервовими закінченнями. Існує чотири основні типи тактильних механорецепторів: диски Меркеля, тільця Мейснера, закінчення Руффіні та тільця Пачіні.

Тільця Мейснера – це інкапсульовані нейрони між дермальними сосочками, розміщені під епідермісом, які здатні реагувати на низькочастотні вібрації та легкий дотик і є швидко адаптуючими рецепторами. Тільця Мейснера мають довжину 30–140 мкм і діаметр 40–60 мкм. Основна стимуляція тілець Мейснера відбувається через динамічну деформацію.

Тільця Пачіні – швидко адаптуючі інкапсульовані рецептори, розміщені в підшкірній клітковині, реагують на тиск і високочастотну вібрацію. Вони становлять до 15% рецепторів шкіри на руці. Тільця Пачіні також розташовані в міжкісткових мембранах (пучки колагенових волокон, що формують тонкі пластини між кістками) та забезпечують прояви вібрації в скелеті. Тільця Мейснера та тільця Пачіні є низькопороговими механорецепторами.

Диски Меркеля – це неінкапсульовані нервові закінчення, що розміщуються в епідермісі та відповідають за малюнок відбитків пальців рук.

Закінчення Руффіні є повільно адаптуючими, інкапсульованими механорецепторами глибоких шарів шкіри, зв'язок та сухожилля; на них припадає 20% рецепторів на руці людини. Закінчення Руффіні відчують розтягнення шкіри, рух і положення пальців.

### **9.1.3 Терморецептори**

Терморецептори – це вид рецепторів, що відповідають за сприйняття змін температури й різних ступенів тепла, наявних у навколишньому середовищі. За місцем розташування терморецептори поділяються на периферійні та центральні. Периферійні розташовані в шкірі та містять два типи рецепторів – теплові й холодкові. Центральні терморецептори розташовані в гіпоталамусі та різних відділах спинного мозку. Вони здатні реагувати на зміну температури крові, яка протікає крізь мозок, навіть на 0,01°C (рис. 9.8).

Терморецептори поділяються на низько- та високопорогові. Низькопорогові рецептори активуються комфортними температурами від 15 до 45°C, що не викликають болю. Високопорогові рецептори реагують переважно на температуру понад 45°C і нижчу ніж 15°C. Відчуття тепла здійснюється здебільшого через немієлінізовані C-волокна, тоді як мієлінізовані A $\delta$ -волокна опосередковують відчуття холоду, а також відповідають за відчуття жару. На різних ділянках шкіри холодкових рецепторів значно більше, ніж теплових.

До відчуття тепла залучені рецепторні канали, такі як ванілоїдний рецептор підтипу 1 (*the vanilloid receptor subtype 1, VR1*), що активується за температури понад 41°C, ванілоїдно-подібний рецептор типу 1 (*the vanilloid receptor-like type 1, VRL-1*), який активується за температури понад 50°C,

і холодний ментоловий рецептор типу 1 (*the cold menthol receptor type 1, CMRI*) активується за температури 7–28°C. Ці рецептори активуються такими хімічними сполуками, як капсаїцин – активним компонентом гострого перцю чилі, що знижує температуру способом відкриття рецепторних каналів *VR1* і *VRL-1*, тоді як ментол підвищує чутливість до холоду через рецептори *CMRI*.

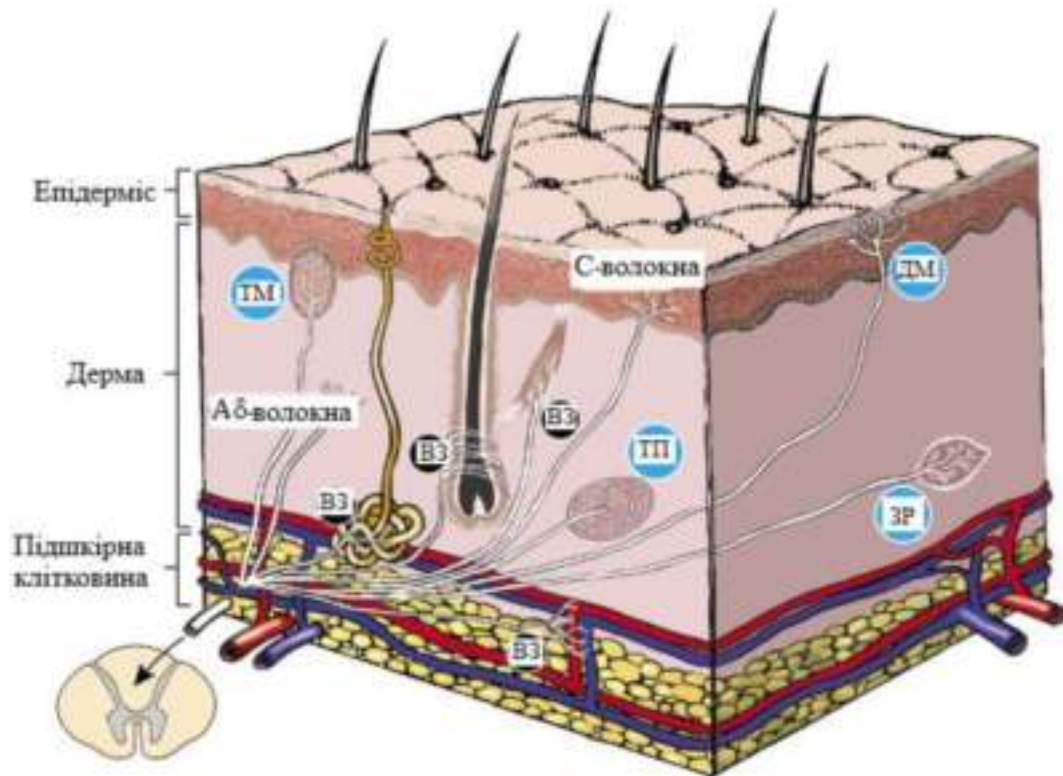


Рисунок 9.8 – Терморекцептори С-волокна та Аδ-волокна в структурі шкіри. (B3 – вільні нервові закінчення; ТМ – тільця Мейснера; ДМ – диски Меркеля; ТП – тільця Пачіні; ЗР – закінчення Руффіні)

Відчуття холоду й тепла з'являється в зоні адаптації температур, це діапазон від 29°C до 37°C. Якщо на шкіру або слизову нанести тепловий подразник у межах цього температурного діапазону, то спочатку буде відчуття теплового або холодного, але протягом наступних декількох хвилин відчуття стане нейтральним. Це явище називається *тепловою адаптацією*, яку необхідно брати до уваги для оцінювання порога відчуття.

Частота виникнення нервових імпульсів у рецепторах залежить від температури шкіри. Для холодних і теплових рецепторів властива спонтанна активність за відповідної температурної активації. За температури шкіри в діапазоні 34–38°C генерація нервових імпульсів в обох типах рецепторів мінімальна. Це створює відчуття температурного комфорту. Приблизно за такою самою схемою функціонують і центральні

терморцептори, але для них зона температурного комфорту лежить у межах 37–37,5°C. Температура понад 45°C і нижча ніж 15°C вважається некомфортною або больовою, яка може спричинити пошкодження тканин.

#### 9.1.4 Ноцицептори

Ноцицепція – процес сприйняття периферійними нервовими закінченнями (ноцицепторами, або больовими рецепторами) інтенсивних теплових, механічних чи хімічних стимулів.

Виокремлюють два основних класи ноцицепторів. Клас I містить мієлінізовані  $A\delta$ -волокна, пов'язані зі швидким, локалізованим, первинним болем. Цей клас поділяють згідно з електрофізіологічними характеристиками на два типи:

– тип I має високопорогові механічні  $A\delta$ -ноцицептори (*high-threshold mechanical, HTM*), що сприймають механічні та хімічні подразнення та мають високий поріг до температурних стимулів (понад 50 °C);

– тип II  $A\delta$ -ноцицепторів має високий поріг до механічних подразників, але низький до температурних.

Клас II ноцицепторів містить немієлінізовані C-волокна, що сприймають нечітко локалізований, так званий вторинний біль. Вони є гетерогенними. Пептидергічні C-волокна виділяють нейропептиди, субстанцію P та пептид, генетично пов'язаний із кальцитоніном (*calcitonin-gene related peptide, CGRP*). На їх поверхні відбувається експресія тирозинного рецептора кінази (*the tyrosine kinase receptors, TrkA*) нейротрофіну (*the nerve growth factor, NGF*) – фактора росту, необхідного для функціонування нервової системи. Непептидергічна популяція C-ноцицепторів містить рецептор *c-Ret (rearranged during transfection)*, чутливий до нейротрофічного фактора, отриманого з гліальних клітин (*glial-derived neurotrophic factor, GDNF*).

Окрему групу становлять чутливі до механічних і температурних подразників нервові закінчення (*mechano-heat-sensitive fibers, CMHs*), а також так звані «німі» рецептори, чутливі до механічних і нечутливі до температурних стимулів, які більше реагують на хімічні речовини (капсаїцин, гістамін) і активуються лише в разі пошкоджень тканини. Ноцицептори можуть відрізнятися наявністю на їх поверхні різноманітних каналів, що є чутливими до тепла (*VR1*), холоду (*the transient receptor potential melastatin subtype 8, TRPM8*), кислого середовища (*the acid-sensing ion channels, ASICs*), хімічних речовин (*the transient receptor potential cation channel subfamily A member 1, TRPA1*).

Гострий біль пов'язаний зі сприйняттям температурних, механічних і хімічних стимулів. Вважається, що поріг больової чутливості під час дії тепла становить понад 41 °С, коли активується ванілоїдний рецептор *VR1*, стимуляцію якого викликає також капсаїцин, що зумовлює появу пекучого болю. Больові температурні подразники можуть сприйматися рецепторами *VRC2*, їх поріг активації становить понад 50 °С.

У дослідженні болю, викликаного холодом, переважно використовується ментол та евкалипт; сприйняття такого болю пов'язують з рецептором *TRPM8*, поріг активації якого становить близько 25 °С. Активація *TRPM8* тісно пов'язана з потенціалзалежними калієвими та кальцієвими каналами. Сприйняття низьких температур менших ніж 15 °С відбувається завдяки активації рецептора *TRPA1*.

Больові механічні стимули сприймаються *Aδ*-волоконками II типу та *C*-волоконками з високими порогоми до механічних подразнень, а також і низькопороговими *Aδ*-волоконками I типу. У сприйнятті механічних подразників беруть участь рецептори *ASICs* та *TRPA1* (*the potassium channel subfamily K member 4, KCNK*).

Рецептори, чутливі до хімічних чинників, сприймають подразники зовнішнього та внутрішнього середовища. У цьому процесі провідна роль належить *TRP*-каналам (*the transient receptor potential channels*). Доведено, що вони реагують на великий спектр речовин, зокрема капсаїцин (*VR1*), ментол (*TRPM8*), їдкі компоненти гірчиці та часнику (*TRPA1*).

Ноцицептори передають інформацію в центральні відділи нервової системи за допомогою генерації потенціалу дії та активацією потенціалзалежних калієвих та натрієвих каналів. У *C*-волоконках є декілька видів потенціалзалежних натрієвих каналів, таких як *Nav1.7* та *Nav1.8*. Конформаційні зміни, що виникають унаслідок дії больових подразників у структурі каналу *Nav1.7*, можуть спричиняти еритромелалгію (патологічне розширення судин), пароксизмальні виражені больові розлади (*paroxysmal extreme pain disorder*) та гіперчутливість після запальних процесів. Натрієвий канал *Nav1.8* має особливе значення у сприйнятті низькотемпературних подразників. Потенціалзалежні натрієві канали є мішенями дії для місцевих анестетиків та деяких антидепресантів.

Важливим у сприйнятті больових відчуттів є потенціалзалежні кальцієві канали *N*-, *P/Q*- та *T*-типів, що переважно розміщені на *C*-волоконках. *P/Q*-тип каналів розташований на синаптичних закінченнях в II–IV пластинах заднього

рогу спинного мозку. Порушення роботи каналу *P/Q*-типу може супроводжуватися геміплегічною мігренню (імітація симптомів, властивих для інсульту, коли має місце тимчасовий параліч із м'язовою слабкістю). З кальцієвими рецепторами пов'язують болі в разі діабетичної полінейропатії, гіперчутливість унаслідок ушкодження нервів, виникнення нейрогенного запалення. Одна із субодиниць цих каналів (*a2d*) є мішенню дії габапентинів (протиепілептичні засоби), які застосовуються в лікуванні больових синдромів.

Тіла нейронів, що сприймають больові відчуття, розташовані в спинномозкових або тригемінальних гангліях та мають периферійний відросток (дендрит), що йде до органів, і центральний (аксон), який закінчується у спинному мозку. Ці нейрони є псевдоуніполярними, а речовини, що в них синтезуються, розподіляються однаково між дендритом та аксоном, а отже, їх периферійний та центральний відросток біохімічно мало відрізняються. Це дає їм змогу сприймати та передавати інформацію у двох напрямках. Хоча тільки периферійний відросток здатний відповідати на подразнення зовнішнього середовища (температура, холод, механічні стимули), значна кількість ендогенних молекул (іони водню, ліпіди, нейротрансмітери) можуть регулювати чутливість як периферійного, так і центрального відростка.

Центральні відростки прямують до спинного мозку, де закінчуються на клітинах заднього рогу спинного мозку. Ноцицептори *Aδ*-типу закінчуються на I та V пластинах сірої речовини спинного мозку, а *C*-ноцицептори – на I та II пластинах. На відміну від больової чутливості волокна, що сприймають легкий дотик, проводяться по *Aβ*-мієлінізованих волокнах та закінчуються на III, IV та V пластинах. Отже, волокна, що сприймають як больові подразники (*Aδ*- та *C*-волокна), так і не больові (*Aβ*-волокна), закінчуються на нейронах V пластини (так звані нейрони широкого динамічного діапазону – *wide dynamic range neurons, WDR*) (рис. 9.9).

Периферійні механізми, пов'язані зі змінами периферійних нервів, передбачають ушкодження нервових закінчень та зміну здатності до проведення та порушення нейромедіаторних систем. За декілька годин після ушкодження нервів виявляють надмірну збудливість і спонтанну активність *C*-волокон, які також стають надмірно чутливими до різних молекул, оскільки знижується їх поріг. Крім цього, зростає активність сусідніх, непошкоджених *C*-волокон. Збільшення активності волокон пов'язане насамперед зі змінами регуляції натрієвих і калієвих каналів.

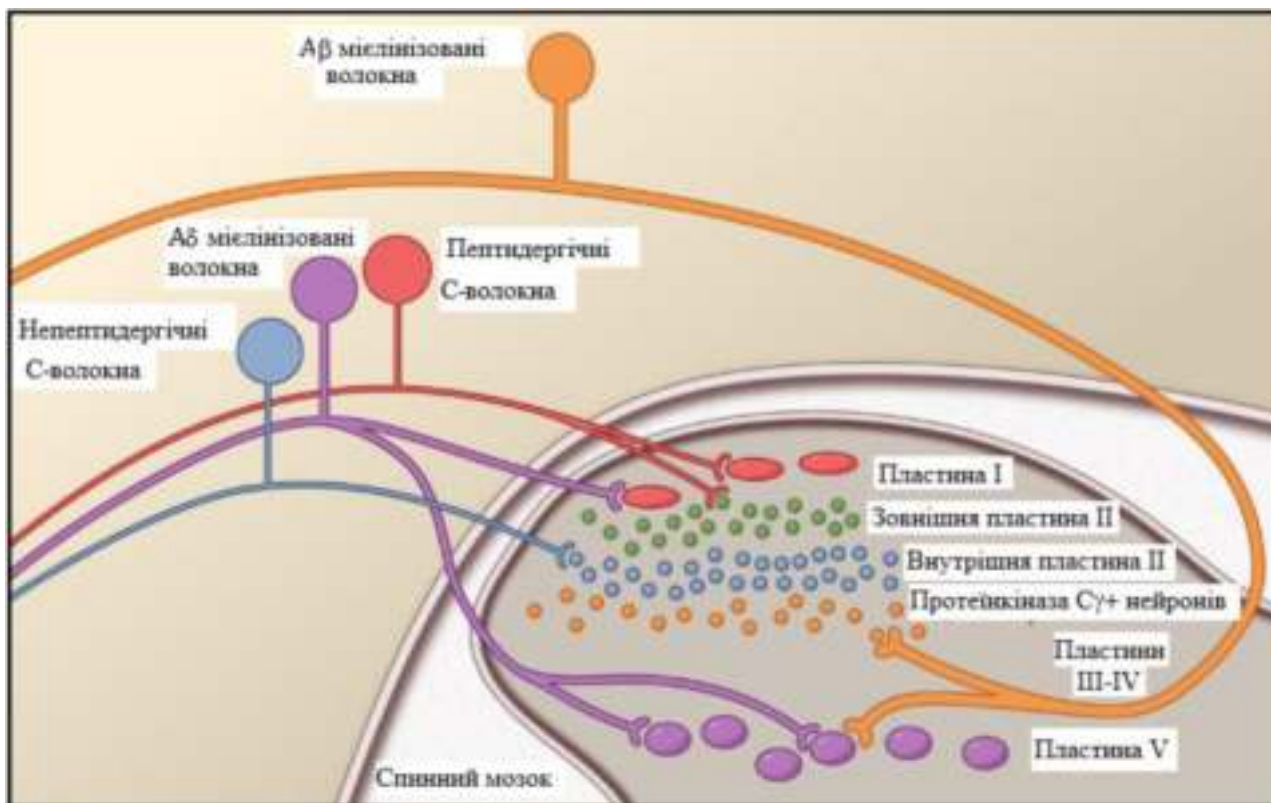


Рисунок 9.9 – Зв’язки між первинними аферентними нейронами та структурами спинного мозку

### 9.1.5 Кортіїв орган

Кортіїв орган – це нейросенсорний орган, розміщений на базилярній мембрані внутрішнього вуха, що сприймає механічну вібрацію вхідного звуку та перетворює її на потенціал дії. Кортіїв орган містить два типи сенсорних клітин: зовнішні волоскові, внутрішні волоскові та кілька типів опорних – клітини Дейтерса, Беттчера, Гензена, Клаудіуса (рис. 9.10, 9.11).

Кортіїв орган вкритий гелеподібною текторіальною мембраною, з якою контактують стереоцилії зовнішніх волоскових клітин. Під впливом звукових хвиль ендолімфа внутрішнього вуха починає коливатися, приводячи в рух стереоцилії, у цьому разі базилярна мембрана зміщується щодо текторіальної мембрани. Унаслідок цього у волоскових клітинах генеруються рецепторні потенціали та відкриваються селективні  $K^+$ -канали та іони  $K^+$  за електрохімічним градієнтом потрапляють всередину стереоцилій (див. рис. 9.12, 9.13).

Під впливом рецепторного потенціалу зовнішні волоскові клітини змінюються – вони подовжуються та коротшають. Почерговим подовженням і скороченням зовнішні волоскові клітини виконують роль своєрідного електромеханічного підсилювача, що збільшує коливання базилярної мембрани приблизно в 100 разів (40 дБ).

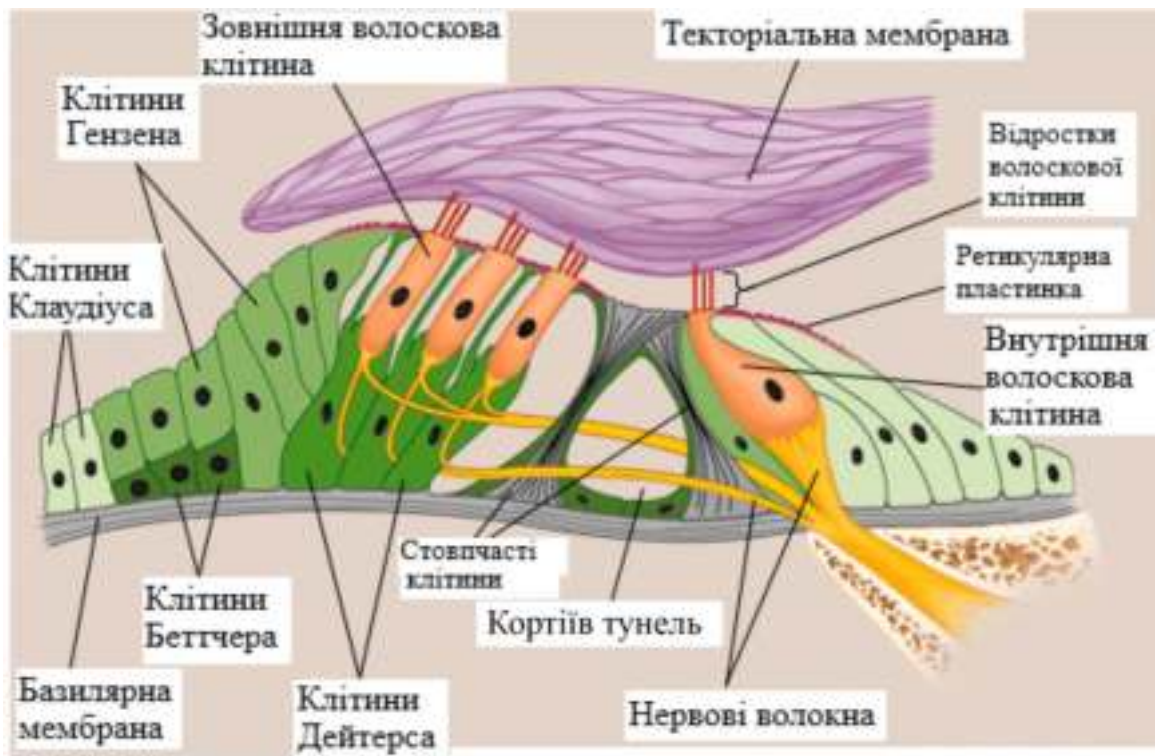


Рисунок 9.10 – Будова Кортієвого органу

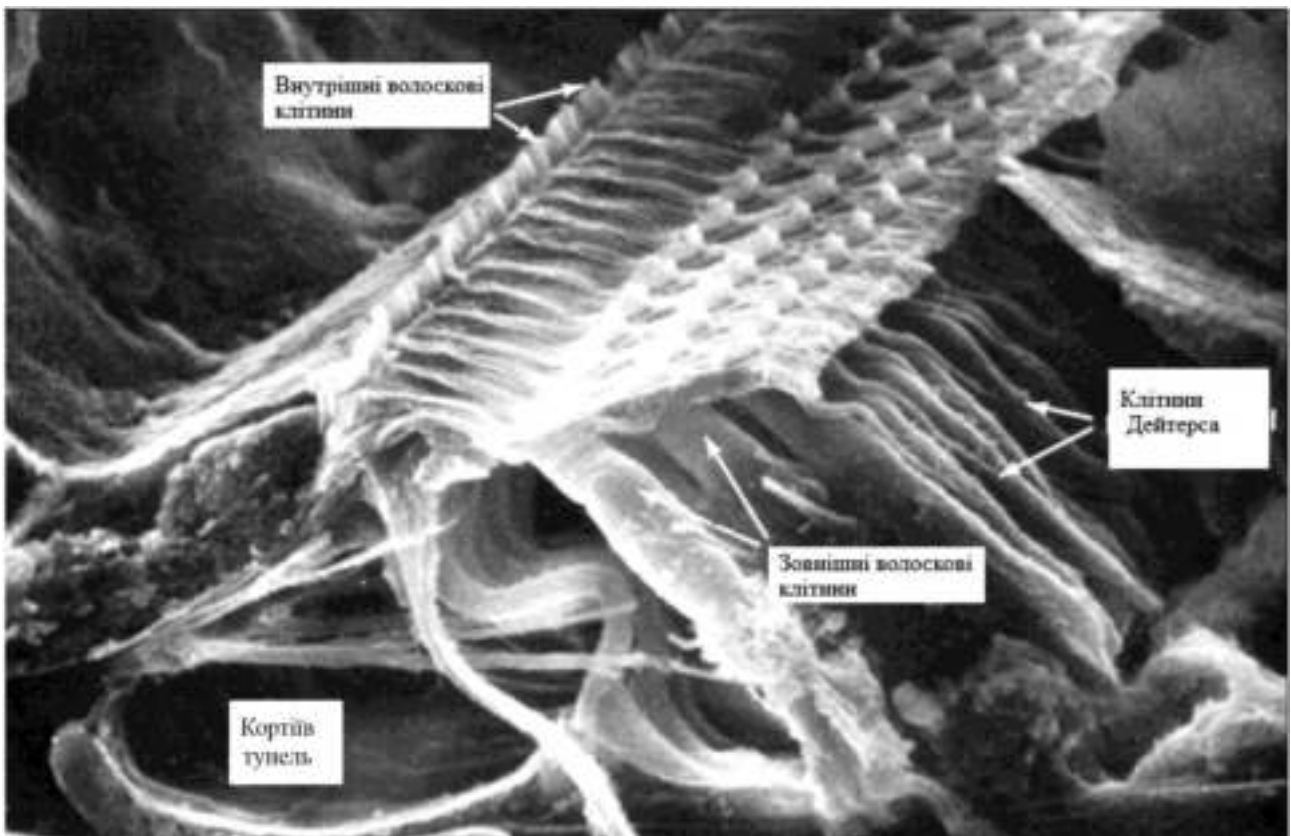


Рисунок 9.11 – Електронна фотографія Кортієвого органу

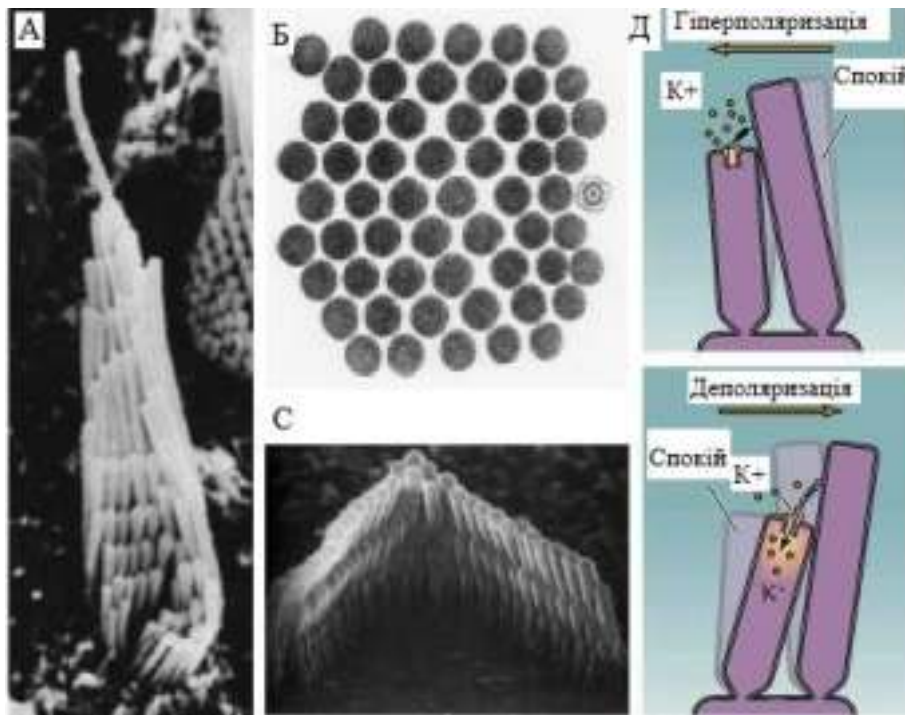


Рисунок 9.12 – Будова та розміщення відростків на волоскових клітинах:

А – стереоцилії та кіноцилії;

Б – поперечний розріз пучка стереоциліїв і кіноцилію;

С – електронна мікрофотографія зовнішніх волоскових клітин;

Д – формування рецепторного потенціалу на волоскових клітинах

До того ж підсилення відбувається на дуже вузькій ділянці довжини базилярної мембрани, що бере участь у сприйнятті тієї частоти звуку, за яку відповідає група зовнішніх волоскових клітин. Завдяки цьому кожна ділянка базилярної мембрани налаштована на певну частоту. Саме тому пошкодження зовнішніх волоскових клітин призводить до зниження слуху й до порушення гостроти налаштування базилярної мембрани й здатності точно розрізняти звуки за частотою. Зовнішні волоскові клітини пошкоджуються, як правило, першими внаслідок впливу таких факторів, як шум, ототоксичні речовини, недостатність кисню в крові.

Посилені зовнішніми волосковими клітинами «резонансні» коливання базилярної мембрани запускають дуже складний механо-електро-хімічний процес у внутрішніх волоскових клітинах, що супроводжується викидом медіаторів у синапси між основою внутрішньої волоскової клітини й коротким відростком нейрона слухового нерва. Тому внутрішні волоскові клітини виконують роль своєрідного «мікрофона» вуха. Їх пошкодження призводить до зниження слуху, а повна їх втрата – до повної глухоти.

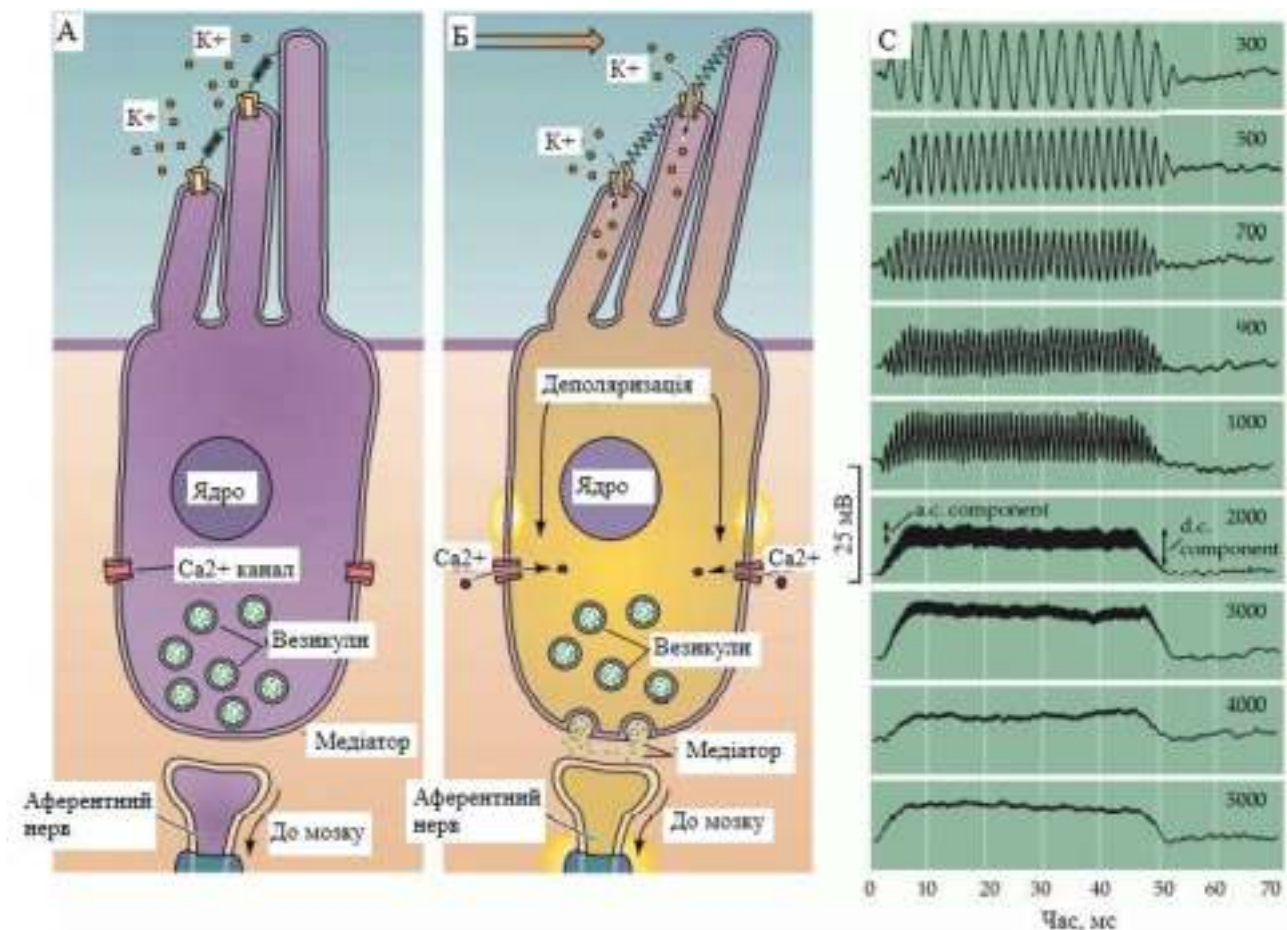


Рисунок 9.13 – Генерація рецепторного потенціалу на волоскових клітинах Кортієвого органа: А – відкриття селективних  $K^+$ -каналів; Б – деполяризація мембрани волоскової клітини, відкриття  $Ca^{2+}$ -каналів, вивільнення медіатора в синаптичну щілину; С – рецепторні потенціали (позначено в Гц).

Рецепторні потенціали волоскових клітин повторюють форму синусоїди на низьких частотах ( $< 3$  кГц)

## 9.2 Механізми клітинної рецепції

Клітина здатна отримувати, передавати та обробляти сигнали, що надходять з її безпосереднього оточення завдяки *мембранним рецепторам* – трансмембранним білкам, які зв'язуються з сигнальними молекулами поза клітиною, передають сигнал крізь послідовність молекулярних перемикачів до внутрішніх сигнальних ефекторів та ініціюють фізіологічну відповідь.

Мембранні рецептори поділяються на три основні класи: рецептори, пов'язані з *G*-білком, рецептори іонних каналів і рецептори, пов'язані з ферментами. Назви цих класів залежать від механізму, за допомогою якого рецептори перетворюють сигнали у внутрішньоклітинний каскад подій –

через *G*-білок, відкриття іонних каналів або активацію ферменту відповідно. Оскільки більшість сигнальних молекул не можуть подолати напівпроникну мембрану через велику молекулярну масу або значну кількість електричних зарядів на своїй поверхні, вони впливають на функцію клітини дистанційно, не проникаючи в клітину. Хоча молекули азоту, а також стероїдні гормони, такі як естроген, здатні проходити крізь плазматичну мембрану та зв'язуватися з внутрішньоклітинними рецепторами та рецепторами ядра.

*G*-білки – це гетеротримерні молекули, що складаються з  $\alpha$ -,  $\beta$ - та  $\gamma$ -субодиниць; вони відрізняються насамперед своєю молекулярною масою (*M*). Відомо близько 20 різних  $\alpha$ -субодиниць *G*-білків, молекулярна вага яких становить приблизно  $M \sim 40 \div 50$  кДа, чотирьох  $\beta$ -субодиниць – ( $M \sim 35$  кДа) та трьох  $\gamma$ -субодиниць ( $M \sim 10 \div 12$  кДа).

До групи *G*-білків належать чимало поліпептидів: поліпептид, що стимулює аденілатциклазу (*AC*) – *G<sub>s</sub>*; поліпептид, що інгібує *AC* й одночасно регулює роботу  $K^+$ -каналів у клітинах мозку – *G<sub>i</sub>*; поліпептид, що регулює роботу  $Ca^{2+}$ -іонних каналів і бере участь у метаболізмі іонів  $Ca^{2+}$  – *G<sub>q</sub>*; поліпептид трансдуцин (*G<sub>t</sub>*), який бере участь у передачі світлового сигналу. Поліморфізм, що спостерігається в групі гетеротримерних *G*-білків, проявляється завдяки різниці в структурі  $\alpha$ -субодиниці *G<sub>s</sub>*-білка (*G<sub>s $\alpha$</sub>* ) і  $\alpha$ -субодиниці *G<sub>i</sub>*-білка (*G<sub>i $\alpha$</sub>* ), особливо в ділянці *C*- та *N*-кінцевої послідовності амінокислот.

Структурною особливістю *G*-білків є домен для зв'язування гуанілових нуклеотидів. Це сайт, де відбуваються реакції гідролізу ГТФ до ГДФ, що супроводжується переходом білка з активного в неактивний стан, а також реакції перетворення ГДФ до ГТФ за допомогою ферменту ГТФази.

Загалом рецепторний білок отримує сигнал, потім зазнає конформаційних змін, що запускає низку біохімічних реакцій у клітині. Внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, які називаються каскадами трансдукції сигналу, зі свого боку здатні підсилювати специфічний сигнал. Активація рецепторів може викликати синтез малих молекул, які називаються вторинними месенджерами.

Вторинні месенджери ініціюють і координують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи. Наприклад, циклічний АМФ (*цАМФ*) є одним із основних вторинних месенджерів, який бере участь у каскадах передачі гормонального сигналу в кардіоміоцитах. Норадреналін, що вивільняється в синаптичну щілину, розташовану на закінченнях симпатичних нервів, зв'язується з  $\beta$ -адренергічними рецепторами саркоплазматичної мембрани кардіоміоцитів. Це приводить до активації *G*-білка та сприяє обміну ГДФ на ГТФ; ця реакція

фосфорилювання супроводжується від'єднанням  $\alpha$ -субодиниці  $G$ -білка від  $\beta\gamma$ -субодиниць.  $\alpha$ -субодиниця  $G$ -білка зв'язується з ферментом аденілілциклазою та стимулює її, результатом чого є синтез цАМФ з АТФ за допомогою аденілатциклази. Активація аденілатциклази приводить до синтезу сотень тисяч молекул цАМФ. Молекули цАМФ активують фермент протеїнкіназу А (ПКА) (*protein kinase A*, *PKA*) способом відокремлення її регуляторної субодиниці від каталітичної субодиниці. Вільна каталітична субодиниця ініціює серію ферментативних реакцій, що приводять до каскаду реакцій фосфорилювання. Водночас активуються численні білки, що регулюють як швидкість, так і силу серцевого скорочення. Фосфорилювання кальцієвого каналу  $L$ -типу, наприклад, посилює надходження кальцію в кардіоміоцити, що призводить до посилення скоротливості (рис. 9.14).

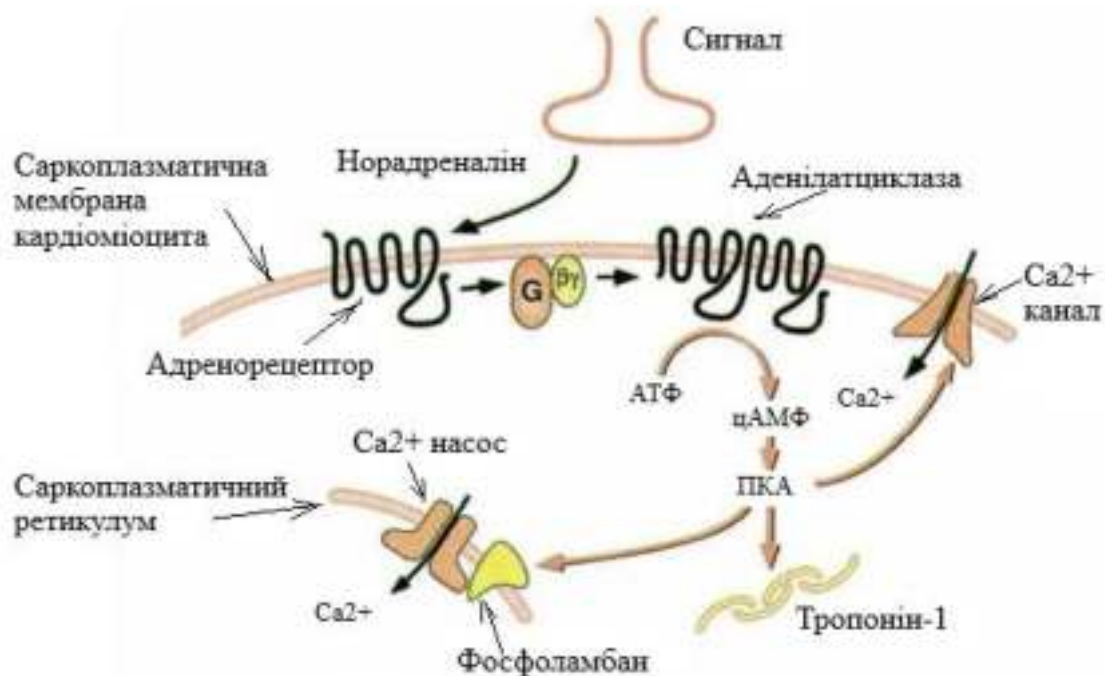


Рисунок 9.14 – Механізм трансмембранної передачі гормонального сигналу

Фосфоламбан – це білок саркоплазматичного ретикулума, що блокує роботу  $Ca^{2+}$ -насоса ( $Ca^{2+}$ -АТФази): зв'язуючись з  $Ca^{2+}$ -АТФазою, фосфоламбан зменшує спорідненість іонів  $Ca^{2+}$  і заважає надходженню  $Ca^{2+}$  в саркоплазматичний ретикулум. Тому гальмування виходу іонів  $Ca^{2+}$  із цитозоля в саркоплазматичний ретикулум призводить до того, що м'яз не може розслабитися, а отже, і повторно скоротитися. Норадреналін, запускаючи каскад внутрішньоклітинних реакцій, активує ПКА, що здатна фосфорилювати фосфоламбан, перешкоджаючи утворенню комплексу з  $Ca^{2+}$ -насосом.

Тропонін І пригнічує скорочення м'язів у фазу релаксації завдяки фосфорилуванню тропоніна І протеїнкіназою А.

Результативним ефектом усього каскаду реакцій є збільшення серцевого викиду – кількості крові, що викидають шлуночки серця за 1 хв. У разі припинення активації рецептора норадреналіном цАМФ розщеплюється фосфодіестеразою, протеїнкіназа А інактивується способом реасоціації каталітичної субодиниці з регуляторною субодиницею. Фосфорильовані білки швидко дефосфорилуються специфічними фосфатазами, повертаючи свою конформацію до менш активної форми. Ці зміни є швидкими й відбуваються від мілісекунд до секунди.

Іншими прикладами вторинних месенджерів є діацилгліцерин (*diacylglycerol, DAG*) та інозитол 1,4,5-трифосфат (*inositol 1,4,5-trisphosphate, IP3*), які синтезуються мембранним білком – ферментом *фосфоліназою*. *IP3* викликає вивільнення  $Ca^{2+}$  – вторинного месенджера з внутрішньоклітинних депо саркоплазматичного ретикулума. Разом *DAG* і  $Ca^{2+}$  активують інший фермент, що називається протеїнкіназа С (*protein kinase C, PKC*).

Протеїнкінази *PKA* і *PKC* каталізують перенесення фосфатних груп від молекул АТФ до молекул білків. Фосфорилуванню підлягають здебільшого такі амінокислоти, як серин, треонін і тирозин. Реакції фосфорилування контролюють активність багатьох ферментів, що беруть участь у внутрішньоклітинних сигнальних шляхах. Зокрема приєднання фосфатних груп викликає конформаційні зміни у ферментах, у цьому разі фосфорилування може сприяти як активації, так і пригніченню роботи ферменту. Фосфатні групи здатні приєднуватися до кількох сайтів зв'язування на одному білку, а також один білок може бути субстратом для багатьох кіназ і фосфатаз.

Зважаючи на той факт, що в будь-який момент клітина отримує численні сигнали, то й шляхи передачі сигналів мають багато точок перетину для того, щоб постійно інтегрувати всю інформацію, яку клітина отримує з навколишнього середовища.

### 9.3 Контрольні запитання та завдання

1. Розкрийте сутність визначень «сенсорна рецепція», «клітинна рецепція».
2. У чому полягає різниця між екстерорецепторами, інтерорецепторами та пропріорецепторами?

3. На які типи поділяються рецептори за специфічним подразником і функціональним значенням?
4. Схарактеризуйте дистантні та контактні рецептори.
5. У чому полягає різниця між первинними, вторинними рецепторами та спеціалізованими рецепторними клітинами?
6. Наведіть приклади неадаптуючих (тонічних) та адаптуючих (фазних) рецепторів.
7. Розкрийте біофізичний зміст основного закону психофізики Вебера – Фехнера.
8. Особливості будови фоторецепторів. Біофізична основа світлосприйняття.
9. Опишіть механізм перетворення світлової енергії фоторецепторами в енергію нервового імпульсу.
10. Особливості рецепторного потенціалу та гіперполяризації мембрани колбочки сітківки ока.
11. Механізми, що гальмують фототрансдукцію та фотобіологічну реакцію.
12. До яких патологій можуть призвести порушення в механізмах фототрансдукції?
13. Визначте основні типи механорецепторів.
14. Ноцицепція – біологічне та біофізичне пояснення виникнення больових відчуттів.
15. Будова Кортієвого органа внутрішнього вуха.
16. Генерація рецепторного потенціалу на стереоциліях зовнішніх волоскових клітин.
17. Якими структурами мембрани забезпечується клітинна трансдукція сигналів?
18. Яка роль аденілатциклази в каскаді внутрішньоклітинних шляхів проведення сигналів?
19. Які основні вторинні месенджери беруть участь у трансдукції внутрішньоклітинних сигналів?
20. Завдяки яким системам забезпечується злагоджена робота внутрішньоклітинної сигналізації?

## 10 БІОФІЗИКА М'ЯЗОВОГО ТА НЕМ'ЯЗОВОГО СКОРОЧЕННЯ

Здатність до створення напруження та скорочення властива клітинам різних типів м'язів (м'язове скорочення), а також цитоскелетним елементам клітин, які необхідні для їх поділу, адгезії та міграції (нем'язове скорочення).

### 10.1 Значення та функції основних видів м'язів

В організмі людини є три основні типи м'язів: скелетні, серцеві та гладкі. Кожен тип м'язів має особливу клітинну будову та функції, адаптовані до фізіологічної ролі певного м'яза. Скелетні м'язи здебільшого контролюють рух і поставу. Серцевий м'яз – це міокард, що підтримує всі процеси життєдіяльності організму людини. Гладка мускулатура міститься в шлунково-кишковому тракті, репродуктивній, сечовивідній, судинній та дихальній системах. Утворення м'язової тканини з міобластів називається *міогенезом*. Унаслідок міогенезу клітини-попередники під час ембріонального розвитку диференціюються в м'язові клітини – міоцити.

Скелетні, або поперечно-смугасті, м'язи прикріплюються до кісток і виконують власне функцію скорочення, для того щоб полегшити рух та переміщення тіла в просторі. Поперечна смугастість скелетних м'язів забезпечена білками актином і міозином, що утворюють саркомер – структурну одиницю міофібрил. Скелетні м'язи здатні розтягуватися, скорочуватися та знову повертатися до початкової форми. Розрізняють три типи м'язових волокон: повільноокисні (*slow oxidative, SO*), швидкоокисні (*fast oxidative, FO*) і швидкогліколітичні (*fast glycolytic, FG*).

Серцевий м'яз за будовою подібний до скелетних м'язів: має поперечну смугастість, є багатоядерним. Скорочення серцевого м'яза не контролюється вегетативною нервовою системою. Серцевий м'яз стійкий до втоми завдяки наявності значної кількості мітохондрій, міоглобіну та гарному кровопостачанню.

Гладкі м'язи мимовільні й контролюються вегетативною нервовою системою. Клітини не мають поперечної смугастості через відсутність саркомерів і мають одне ядро. Гладка мускулатура міститься в стінках порожнистих органів. Гладкі м'язи постійно скорочуються, повільно або ритмічно, контролюючи, наприклад, переміщення їжі вздовж стравоходу або звуження кровоносних судин під час вазоконстрикції (рис. 10.1).

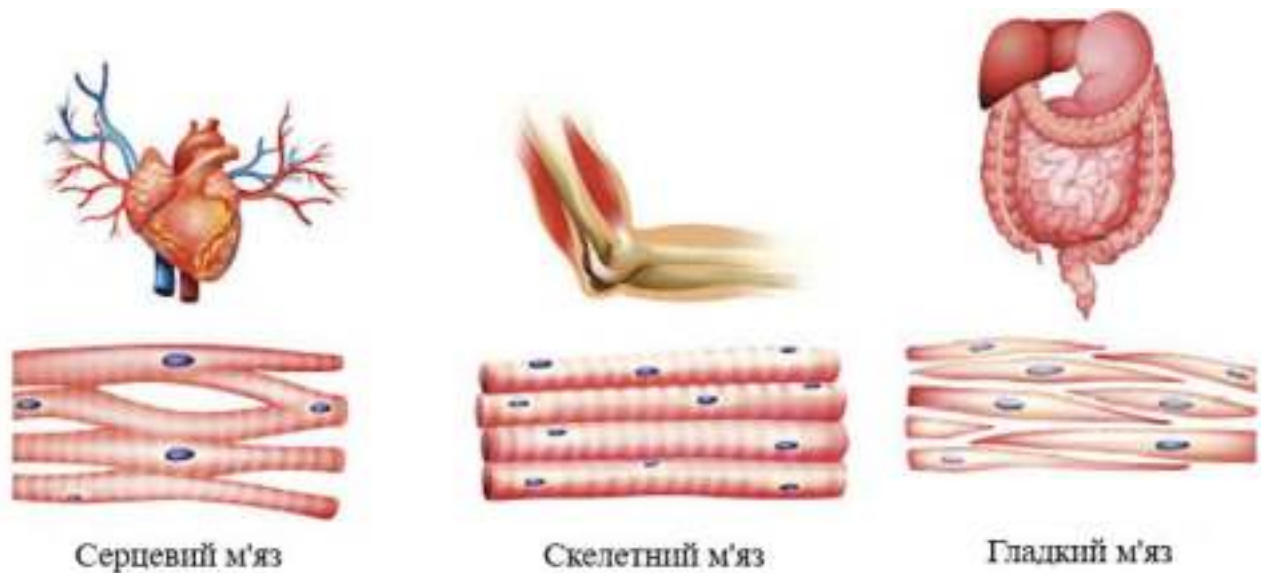


Рисунок 10.1 – Основні типи м'язів

Маса м'язів становить 50% маси тіла людини, з них 40% – це скелетні м'язи. М'язове волокно має мембрану – сарколему, ендоплазматичний ретикулум (саркоплазматичний ретикулум), мітохондрії, саркоплазму. Впоперек волокна і між міофібрилами проходить система трубочок, Т-система, пов'язана із сарколемою. Особливою властивістю м'язового волокна є наявність міофібрил. Міофібрила містить тонкі – актинові міофіламенти й товсті – міозинові міофіламенти (рис. 10.2).



Рисунок 10.2 – Будова м'яза

## 10.2 Будова й функції міофіламентів

Міофіламенти – це тонкі волокна, утворені білковими молекулами – актином та міозином, мають діаметр близько 7 нм та розрізняються за своєю

функцією, структурою та місцем розташування. У клітинах організму людини міофіламенти виконують різні функції:

- 1) забезпечення механічної стійкості, форми клітини, захист внутрішньоклітинних органел від пошкоджень;
- 2) переміщення клітини та її органел, зокрема мітохондрії та лізосоми;
- 3) поділ клітин під час мітозу та мейозу;
- 4) транспортування молекул усередині клітини;
- 5) скорочення та розслаблення м'язів.

Актинові філаменти – це тонкі філаменти завжовжки 1 мкм і завтовшки 5–7 нм. Вони містять три білки: актин, тропоміозин і тропонін (рис. 10.3).

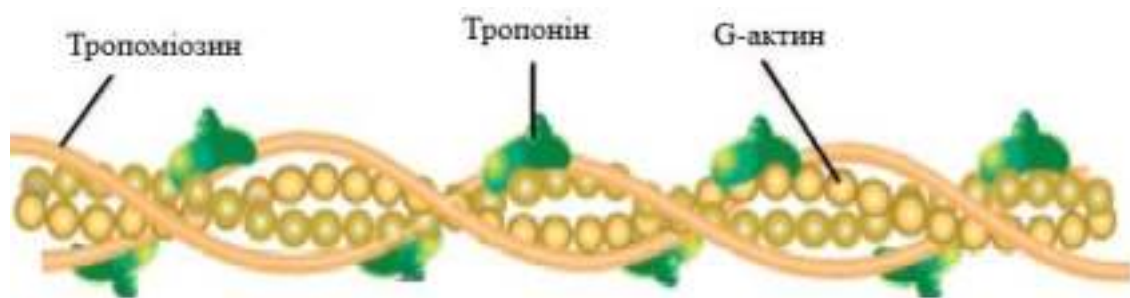


Рисунок 10.3 – Структура актинової філаменти

*G*-актин – це глобулярний білок діаметром 5 нм, що містить 375 амінокислот і чотири субдомени. Молекулярна маса *G*-актину становить 42 кДа. У клітинах *G*-актин має мономерну форму (рис. 10.4).

Полімеризація *G*-актину приводить до утворення *F*-актину способом додавання нових мономерів *G*-актину до «+» кінця ланцюга, який полімеризується. Дисоціація ланцюга *F*-актину до мономерів відбувається на «-» кінці. *F*-актин утворює тонкі філаменти міофібрил. Він взаємодіє з білками, такими як міозин, тропоміозин і спектрин. Контроль за полімеризацією та дисоціацією *F*-актину відбувається за участю різних регуляторних білків. Один з найважливіших регуляторів – це білок міостатин (*cross-linking protein myosin*), що забезпечує зв'язування та стабілізацію *F*-актину в більш довгі міофіламенти.

Фімбрин (*fimbrin*) і  $\alpha$ -актинін ( $\alpha$ -*actinin*) також взаємодіють з *F*-актином та забезпечують його структурну стабільність. Білок тимозин (*thymosin*), зв'язуючись з *G*-актином, запобігає його полімеризації. За необхідності прискорення полімеризації *F*-актину тимозин може вивільнитися з *G*-актину за допомогою інших регуляторних білків, наприклад, *P*-білка (*profilin*). Інший білковий комплекс (*the actin related Pprotein 2/3 complex, Arp2/3 complex*) може взаємодіяти з *F*-актином і сприяти формуванню мережі мікрофіламентів, що є важливою для клітинного руху та формування псевдоподій.

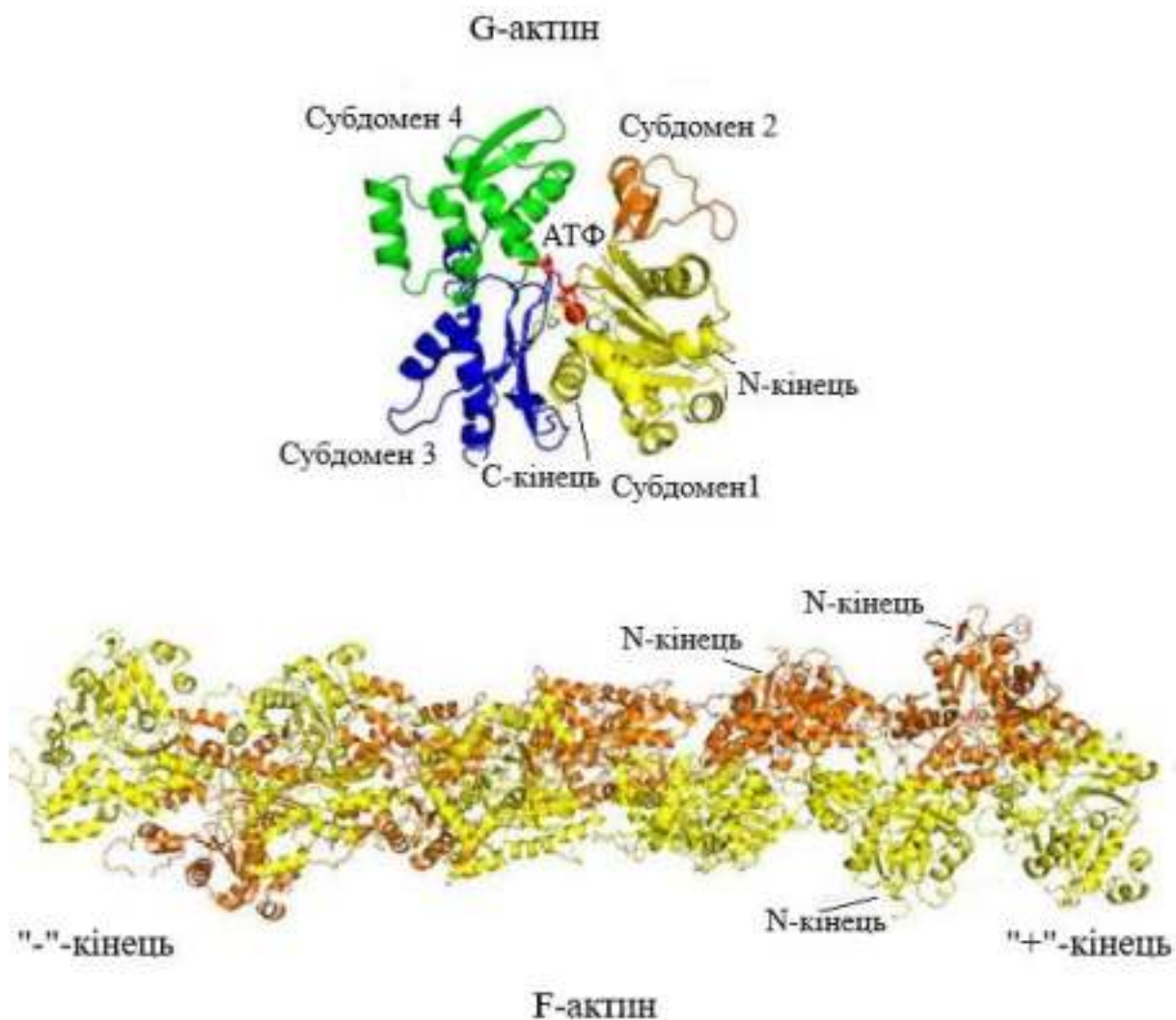


Рисунок 10.4 – Структури *G*-актину та *F*-актину (*PDB ID: 3EL2*)

Тропоміозин – фібрилярний білок, що має молекулярну масу 70 кДа, довжина тропоміозину становить 40 нм; молекула тропоміозину закручена в спіраль разом із двома нитками *F*-актину. Тропоміозин забезпечує стабільність актинових філаментів.

Тропонін – це глобулярний білок, що регулює взаємодію тропоміозину з актином та складається з трьох субодиниць – тропонін С (*TnC*), тропонін І (*TnI*) і тропонін Т (*TnT*). *TnC* має високу спорідненість з іонами  $Ca^{2+}$ . *TnI* має високу спорідненість з актином, *TnI* регулює скорочення м'яза способом інгібування міозинової активності за відсутності іонів  $Ca^{2+}$ ; підвищення концентрації іонів  $Ca^{2+}$  викликає зміну конформації *TnC*, що сприяє взаємодії міозину з актином. *TnT* має високу спорідненість з тропоміозином, забезпечує зв'язок тропонінового комплексу із тропоміозином. Вимірювання рівня *TnT* крові має діагностичне значення для виявлення

інфаркту міокарда та інших захворювань серця, оскільки його рівень підвищується в разі пошкодження серцевої м'язової тканини.

Міозин – це фібрилярний білок, що утворює товсті філаменти міофібрил. Білок міозин має молекулярну масу близько 500 кДа та довжину 160 нм. Структура міозину утворена двома довгими поліпептидними ланцюгами, що мають на С-кінці конформацію  $\alpha$ -спіралі; N-кінці довгих ланцюгів утворюють глобулярні головки, які нековалентно зв'язані з чотирма короткими поліпептидними ланцюгами (рис. 10.5). Довгі ланцюги разом закручені в спіраль із кроком 7,5 нм і утворюють фібрилярну частину міозинової молекули. На одному з кінців молекули ці ланцюги розкручуються й утворюють роздвоєний кінець. Кожний із кінців утворює комплекс із двома короткими ланцюгами, тобто на кожній молекулі є дві головки. Це глобулярна частина міозинової молекули. У міозині виокремлюють два фрагменти: легкий мероміозин (ЛММ) і важкий мероміозин (ВММ), між якими є шарнір. ВММ містить два субфрагменти: *S1* і *S2*. ЛММ і фрагмент *S2* ВММ разом закручені в пучок ниток, а субфрагмент *S1* виступає над поверхнею. Цей виступ (міозинова головка) має моторний домен. Глобулярна частина молекули міозину в присутності іонів  $Ca^{2+}$  виявляє АТФазну активність, тобто здатна розщеплювати АТФ, вивільняючи хімічну енергію, необхідну для міозин-актинової взаємодії.

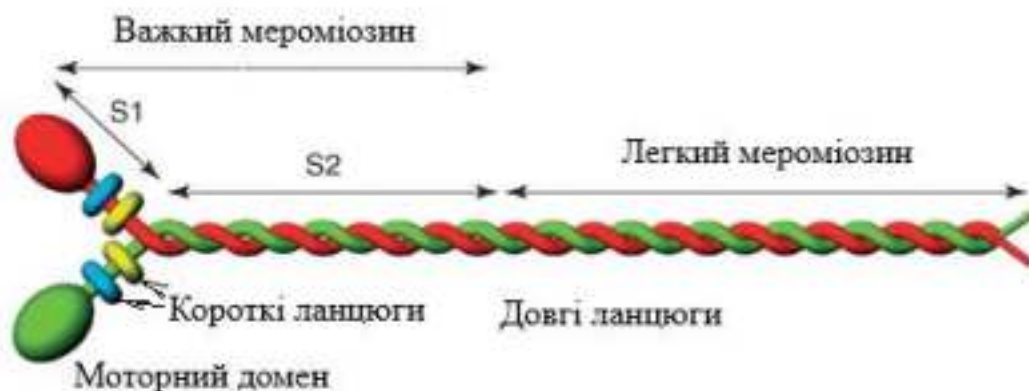


Рисунок 10.5 – Схематичне зображення міозину

Хвостова частина міозину утворена легким мероміозином. Об'єднання окремих молекул міозину в пучок відбувається з допомогою електростатичних взаємодій між фрагментами ЛММ. Кальмодулін і кінази легких ланцюгів міозину здатні модулювати активність міозину. Молекула міозину містить значну кількість глутамінової кислоти, і тому сумарно притаманний їй негативний заряд (рис. 10.6).

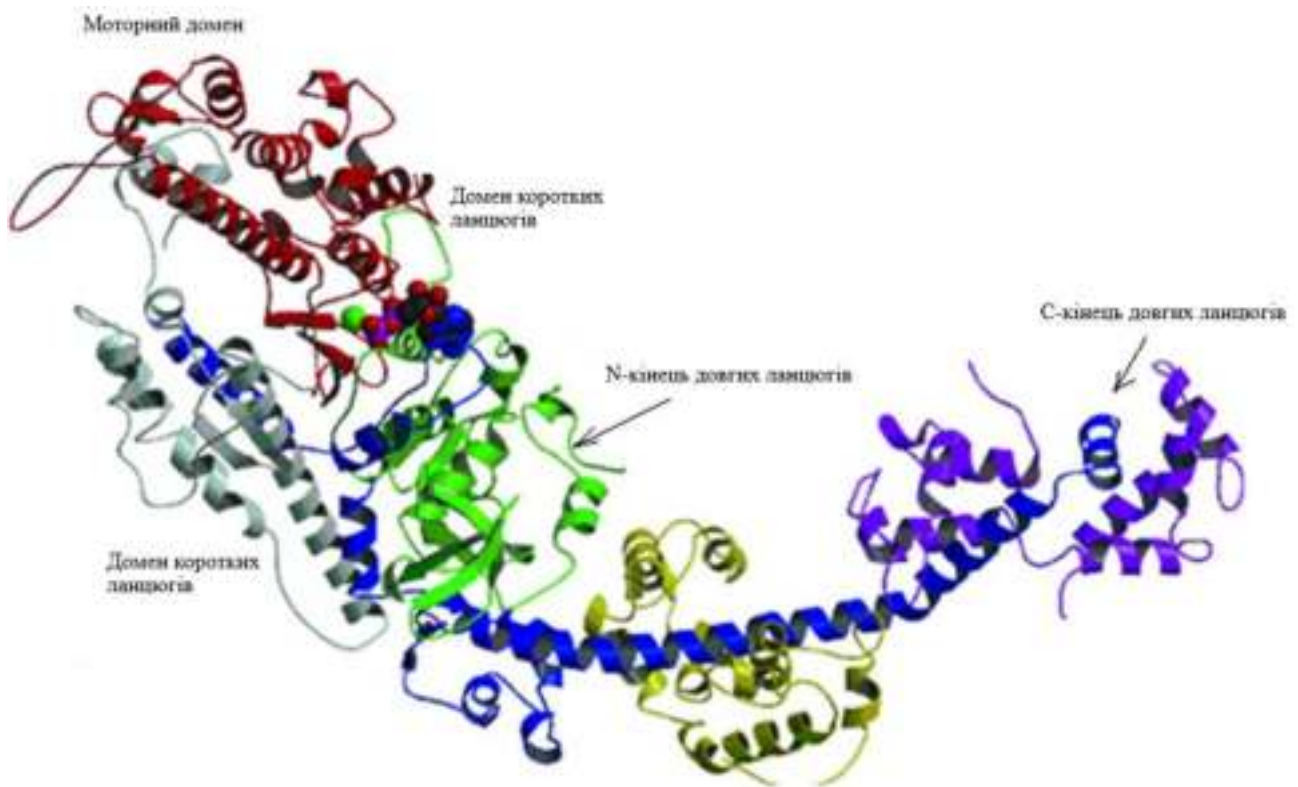


Рисунок 10.6 – Тривимірна структура міозину

Функціональною одиницею міофібрили, що забезпечує її скорочення, є *саркомер*. Він має форму циліндра та містить два основних білкових філаменти: тонкі філаменти – актин і товсті філаменти – міозин. За допомогою світлового мікроскопа у саркомері розрізняють світлі й темні смуги. Така поперечна смугастість міофібрил зумовлена особливим взаємним розміщенням актинових і міозинових філаментів (рис. 10.7).

Міофібрила містить понад 10 тис. саркомерів, що розташовуються один за одним. Саркомер визначається як відстань між двома послідовними *Z*-дисками або *Z*-лініями; коли м'яз скорочується, відстань між дисками *Z* зменшується. Кожен саркомер має дві основні ділянки: *I*-смуга, що містить тільки тонкі філаменти, й *A*-смуга, яка має товсті та тонкі філаменти. Під час скорочення м'яза скорочується й саркомер, зменшуючи відстань між сусідніми *I*-смугами, водночас довжина саркомера стає меншою.

Для утворення однієї міозинової філаменти потрібно 200 молекул білка міозину. Молекули міозину переплітаються своїми «хвостами» й утворюють так званий стрижень філаменти, від якого відходять поперечні містки, що мають «головки» та «шийки» (рис. 10.8).

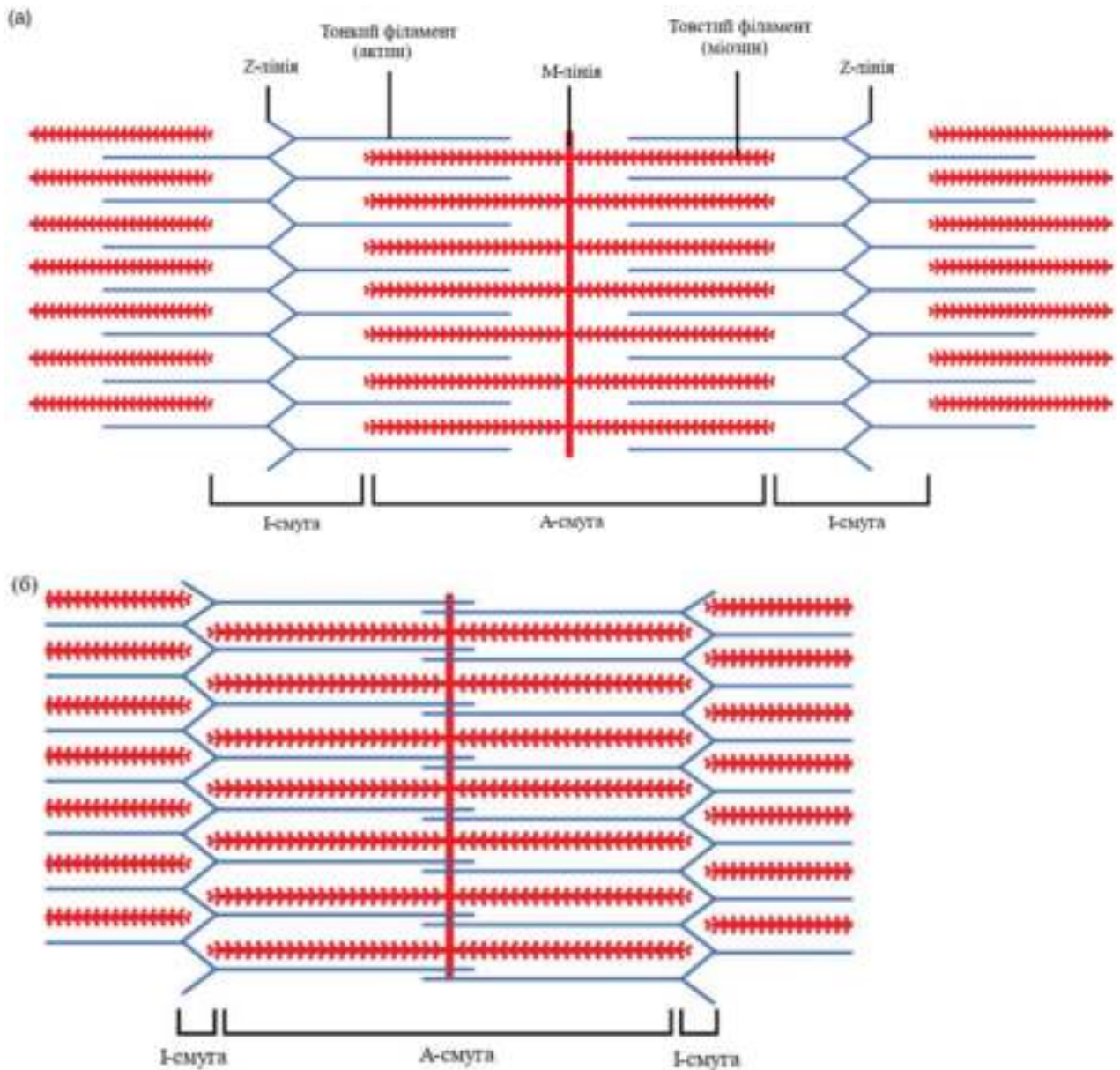


Рисунок 10.7 – Будова саркомера. Модель скорочення міофібрили: а) стан розслаблення міофібрили, б) міофібрила за умови скорочення



Рисунок 10.8 – Структура міозинової філаменти

### 10.3 Механізм м'язового скорочення

Фундаментальні принципи теорії м'язового скорочення вперше сформулював на початку ХІХ ст. французький фізіолог Клаудій Бернар, а в ХХ ст. продовжив і доповнив британський фізіолог Ендрю Гакслі, який разом з Ендрю Геддінгтоном розробили математичну модель м'язового скорочення, відому як «теорія м'язового скорочення Гакслі – Геддінгтона».

Основні положеннями теорії м'язового скорочення Гакслі – Геддінгтона:

- скорочення міофібрил відбувається внаслідок скорочення значної кількості саркомерів;

- м'язове скорочення відбувається через взаємодію між тонкими філаментами, що містять актин, і товстими філаментами, що містять міозин; під час скорочення довжина тонких актинових і товстих міозинових філаментів не змінюється;

- скорочення відбувається внаслідок ковзання актинових філаментів уздовж міозинових;

- скорочення реалізується за участю іонів кальцію, що вивільняється з саркоплазматичного ретикулума під час нервової стимуляції; у процесі зменшення кількості кальцію міозин відокремлюється від актину – і скорочення припиняється;

- процес м'язового скорочення потребує енергії АТФ; ковзання актинових філаментів уздовж міозинових відбувається з допомогою енергії, що вивільняється під час гідролізу АТФ.

Процес м'язового скорочення відбувається в декілька етапів: деполаризація та вивільнення іонів кальцію; утворення поперечного містка між актином та міозином; ковзання актинових філаментів вздовж міозинових філаментів; скорочення саркомера та скорочення м'язів.

#### *Деполаризація та вивільнення іонів кальцію*

Сигнали збурення від нейрона є єдиним способом функціональної активації м'язового волокна, що приводить до його скорочення. Нейронний потенціал дії (–90 мВ; тривалість потенціалу дії становить 2–4 мс; швидкість поширення – 3–5 м/с) від аксона мотонейрона шириться до термінальної ділянки мотонейрона на м'язовому волокні, так званого нервово-м'язового з'єднання. На термінальній ділянці аксона мотонейрона із везикул вивільняється нейромедіатор ацетилхолін в кількості до 10 тис. молекул з однієї везикули. Молекули ацетилхоліну дифундують крізь синаптичну щілину та зв'язуються з рецепторами ацетилхоліну, які розташовані на постсинаптичній

мембрані сарколеми (рис. 10.9). Унаслідок цього натрієві канали відкриваються, іони  $Na^+$  проникають всередину клітини, викликаючи деполяризацію м'язового волокна. Вихід іонів  $K^+$  з клітини створює різницю потенціалів між зовнішньою та внутрішньою сторонами мембрани. Мембранний потенціал м'язового волокна наближається до нуля, а потім набуває позитивних значень (+30 мВ). Закриття натрієвих каналів та активація натрій-калієвого насоса забезпечує викачування іонів  $Na^+$  з клітини в присутності АТФ. Цей процес завершує деполяризацію.

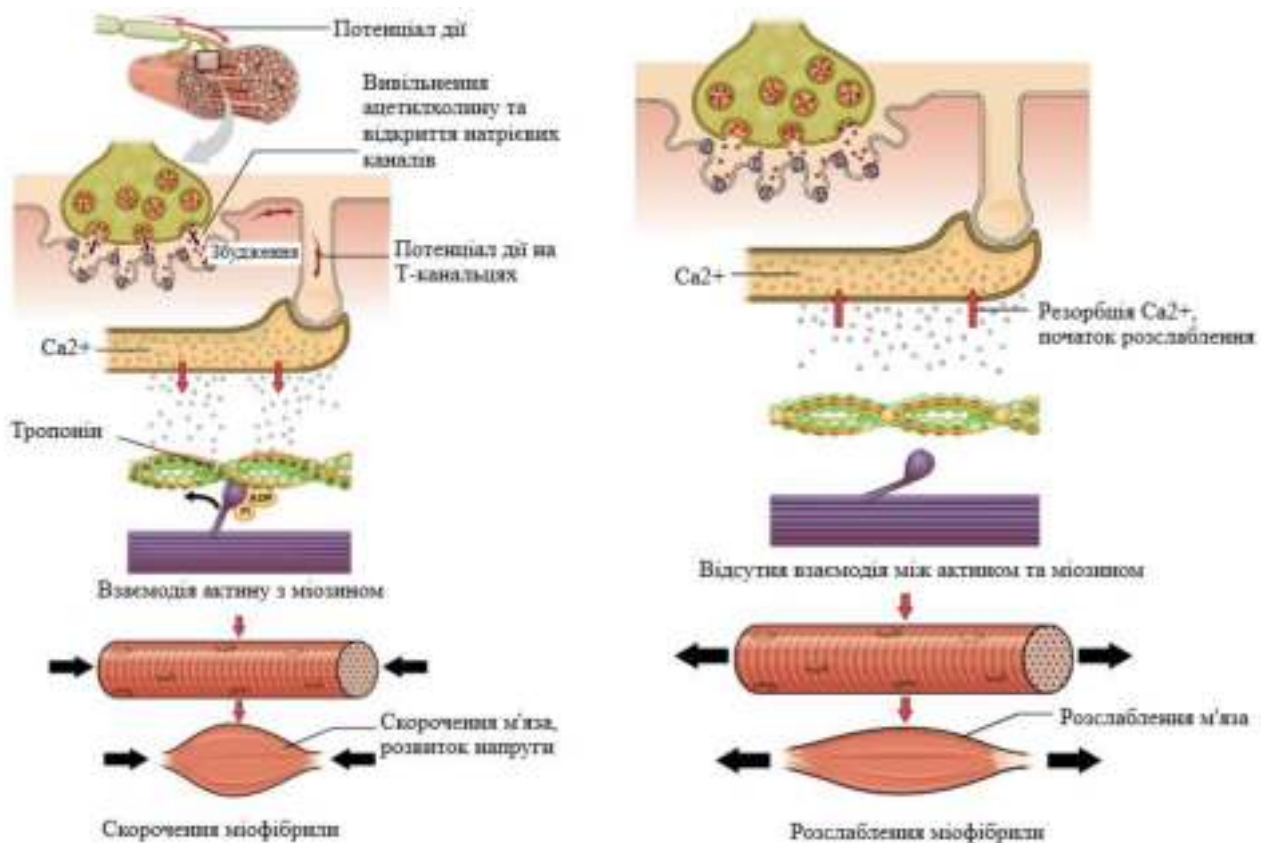


Рисунок 10.9 – Етапи м'язового скорочення

Мембранний потенціал дії поширюється на мембрану  $T$ -каналців, іони  $Ca^{2+}$  вивільняються із саркоплазматичного ретикулума, зв'язуються з білком тропоніном, що ініціює скорочення м'яза в присутності АТФ.

#### *Утворення поперечного містка між актином і міозином*

На актині є сайти зв'язування головок міозину, які в стані розслаблення м'яза блокуються білковим тропонін-тропоміозиновим комплексом. У процесі зв'язування іонів  $Ca^{2+}$  з білком тропоніном відбуваються конформаційні зміни комплексу, унаслідок чого стають доступними сайти зв'язування для головок міозину. Головки міозину утворюють поперечний місток із нитками актину.

### Механізм ковзання актину та міозину

Утворення поперечного містка відбувається, коли головка міозину приєднується до актину, тоді як аденозиндифосфат (АДФ) і неорганічний фосфат ( $\Phi_n$ ) все ще зв'язані з міозином. Потім  $\Phi_n$  вивільняється, головка міозину рухається до М-лінії, тягнучи за собою актин, переміщуючись приблизно на 10 нм у напрямку до М-лінії. Цей рух називається силовим ударом. За відсутності АТФ головка міозину не здатна від'єднатися від актину. АТФ зв'язується з головою міозину, розриваючи поперечний міст між актином і міозином. У цьому разі АТФ перетворюється на АДФ і Р за допомогою АТФазної активності міозину. Енергія, що виокремлюється під час гідролізу АТФ, змінює кут головки міозину у зведене положення. Головка міозину перебуває в положенні для подальшого переміщення до наступного сайту зв'язування актину (рис. 10.10).

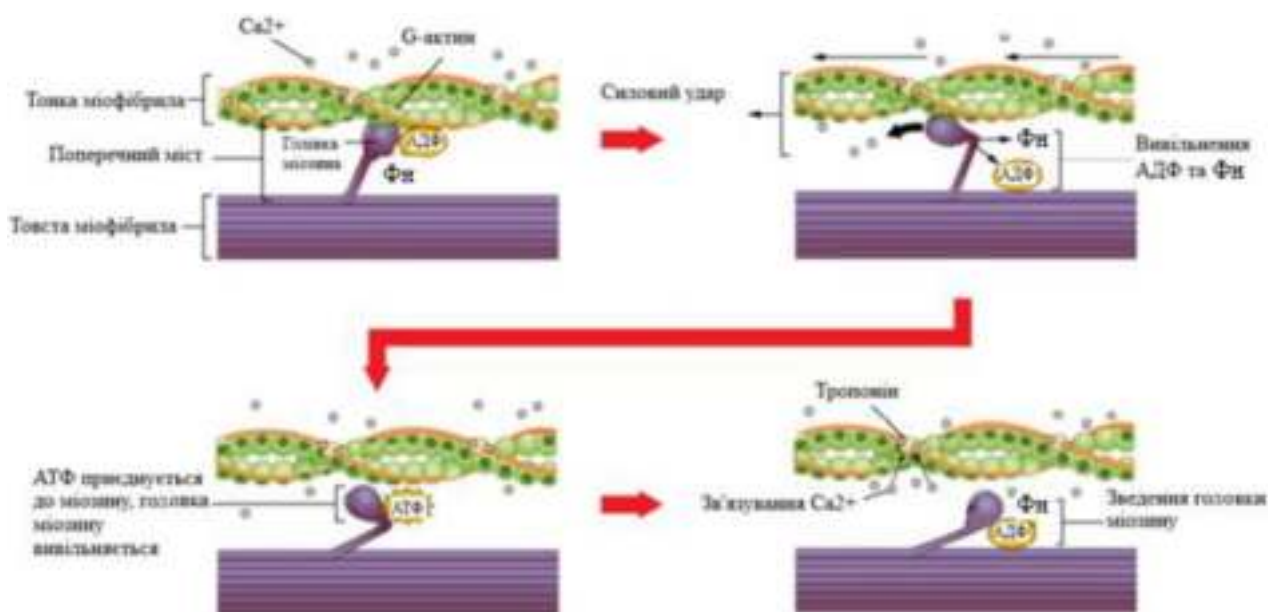


Рисунок 10.10 – Механізм ковзання актину вздовж міозину

Коли головка міозину зведена, міозин перебуває у високоенергетичній конфігурації. Ця енергія витрачається, коли головка міозину рухається під час силового удару, і в кінці цього удару головка перебуває в положенні з низькою енергією.

### Скорочення саркомера

Оскільки нитки актину прикріплені до Z-ліній, переміщення актину зближує Z-лінії, у цьому разі саркомер скорочується. Коли окремі саркомери стають коротшими, м'язові волокна загалом скорочуються.

### *Етап розслаблення*

Процес розслаблення міофібрил пов'язаний із відновленням тропоміозинового блока активних центрів актину. Це відбувається за умови зменшення концентрації іонів  $Ca^{2+}$  у саркоплазмі до вихідного рівня ( $10^{-8}$  М). Цей процес пов'язаний з роботою АТФ-залежних білкових *Ca*-насосів мембран саркоплазматичного ретикулула. Збільшення концентрації іонів  $Ca^{2+}$  під час скорочення до  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М призводить до активації *Ca*-насосів, що починають активно транспортувати іони  $Ca^{2+}$  проти градієнта концентрації із саркоплазми у саркоплазматичний ретикулум. Далі відбувається зв'язування іонів  $Ca^{2+}$  із кальсеквестрином – білком саркоплазматичного ретикулула. Зменшення концентрації  $Ca^{2+}$  у саркоплазмі призводить до зміни конформації тропоніну й відновлення тропоміозинових блоків. Активні центри актину не здатні взаємодіяти з головками міозину – і скорочення припиняється.

Оскільки концентрація АТФ у м'язах низька та її достатньо лише для кількох секунд скорочень, тому необхідне швидке відновлення АТФ. Існують три механізми відновлення АТФ: метаболізм креатинфосфату, анаеробний гліколіз, ферментація та аеробне дихання.

Креатинфосфат – це високоенергетична молекула, яка зберігає енергію у фосфамідних зв'язках, що зумовлює значно більший енергетичний ефект реакції порівняно з енергією АТФ. У процесі гідролізу креатину зміна вільної енергії становить  $\Delta G_{0'} \sim -43$  кДж/моль, за умови гідролізу АТФ –  $\Delta G_{0'} \sim -30,5$  кДж/моль. У спокійному м'язі надлишковий АТФ передає свою енергію креатину, утворюючи АДФ та креатинфосфат. Креатинфосфат використовується для швидкого синтезу АТФ. Коли м'яз починає скорочуватися й потребує енергії, креатинфосфат передає свій фосфат до АДФ, у цьому разі утворюється АТФ та креатин. Ця реакція каталізується ферментом креатинкіназою та відбувається дуже швидко, тому АТФ, що утворюється з креатинфосфату, забезпечує перші 15 с скорочення м'язів.

Коли АТФ, що синтезується з креатинфосфату, вичерпується, м'язи переходять на альтернативне джерело АТФ – гліколіз. Гліколіз – це анаеробне розщеплення глюкози, у процесі якого утворюється АТФ; однак швидкість утворення АТФ під час гліколізу набагато повільніша, ніж у циклі креатинфосфату. Для гліколізу джерелом енергії АТФ є глюкоза крові, або глікоген м'язів. Унаслідок розщеплення однієї молекули глюкози утворюються дві молекули АТФ і дві молекули пірвіноградної кислоти.

Аеробне дихання – це процес розщеплення глюкози в присутності кисню, що відбувається в мітохондріях. Унаслідок цього утворюється вуглекислий

газ, вода та АТФ. Для помірної активності м'язів витрачається приблизно 95% АТФ, що утворюється в реакціях аеробного дихання. Аеробне дихання ефективніше (36 молекул АТФ на молекулу глюкози), ніж анаеробний гліколіз (чотири молекули АТФ на молекулу глюкози). Однак аеробне дихання не підтримується без стабільного постачання  $O_2$  до скелетного м'яза й відбувається повільніше. Для компенсації м'язи зберігають незначну кількість надлишкового кисню в міоглобіні; це забезпечує більш ефективне скорочення м'язів і меншу втому.

#### 10.4 Фізіологічні характеристики скорочення м'язів

Розрізняють три типи скорочення м'язів: концентричне (ізотонічне), ізометричне та ексцентричне.

*Концентричне* скорочення розвивається в м'язово-сухожильному з'єднанні, супроводжується скороченням м'язів з укороченням за умови збереження постійного напруження. Цей тип скорочення вимагає максимальної енергії. У процесі *ізометричного* скорочення довжина м'яза залишається без змін; у цьому разі механічна робота не виконується, оскільки м'яз не скорочується. Цей тип скорочення потребує значної кількості енергії через силу, яку створює м'яз. За умови *ексцентричного* скорочення зовнішня сила, що діє на м'яз, перевищує силу, яку м'яз може створити, тому через високе зовнішнє навантаження м'яз подовжується. Водночас м'яз створює максимальну силу скорочення, але енергія на скорочення має мінімальні значення. Здебільшого природне скорочення м'язів є змішаним або ауксотонічним, тобто в процесі підвищення напруження м'яз коротшає. Ланцюг генерації сили скорочення м'язів має такий вигляд: ексцентричне > ізометричне > концентричне.

Триелементна модель Хілла – це модель, що описує м'язове скорочення з погляду наявності трьох елементів: передавача, каналу та отримувача. Передавачем є нервова система, яка ініціює сигнал, щоб м'яз почав скорочуватися. Каналом є нервові волокна, що передають сигнал від передавача до м'яза. Отримувачем є м'яз, який реагує на сигнал та починає скорочуватися. Процес м'язового скорочення починається з електричного сигналу, що генерується нервовою системою. Цей сигнал передається вздовж нервових волокон, використовуючи іони натрію та калію. Коли сигнал досягає м'яза, він викликає звільнення кальцію, що ініціює скорочення м'яза. Скорочення відбувається з допомогою міофіламентів. Модель Хілла також описує залежність швидкості скорочення м'яза від напруження міофіламента (рис. 10.11). Швидкість, з якою

м'яз змінює довжину, впливає на силу, що він може створити. Швидкість скорочення зростає, коли сила зменшується, і тому збільшення сили призводить до зменшення швидкості скорочення. Якщо сила продовжує зростати, м'яз не може скорочуватися далі (ізометричне скорочення). Якщо зовнішня сила, що діє на м'яз, перевищує силу, яку м'яз може створити, швидкість стає від'ємною (ексцентричне скорочення) (рис. 10.11, 10.12).

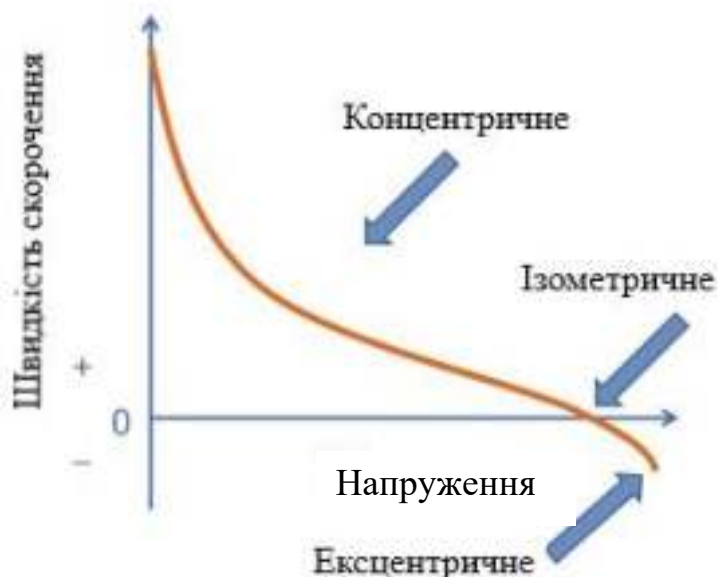


Рисунок 10.11 – Залежність швидкості скорочення м'язів від напруження за триелементною моделлю Хілла



Рисунок 10.12– Типи м'язового скорочення

Напруження в м'язах складається із сил, які створюються багатьма поперечними мітками завдяки переміщенню головок міозину вздовж актину. Зв'язок «довжина – напруження» в процесі ізометричного скорочення є однією з найважливіших характеристик скоротливого елемента м'яза, що використовується для обґрунтування теорії ковзання. Для всіх м'язів існує

певна оптимальна початкова довжина ( $L_0$ ), за якої ізометричне напруження досягає максимуму (рис. 10.13). Ця довжина лежить у межах 100–120% довжини в спокої, що зазвичай відповідає нормальній довжині м'яза *in situ*. Зменшення або збільшення довжини м'яза, порівняно з  $L_0$ , завжди супроводжується зниженням напруження.

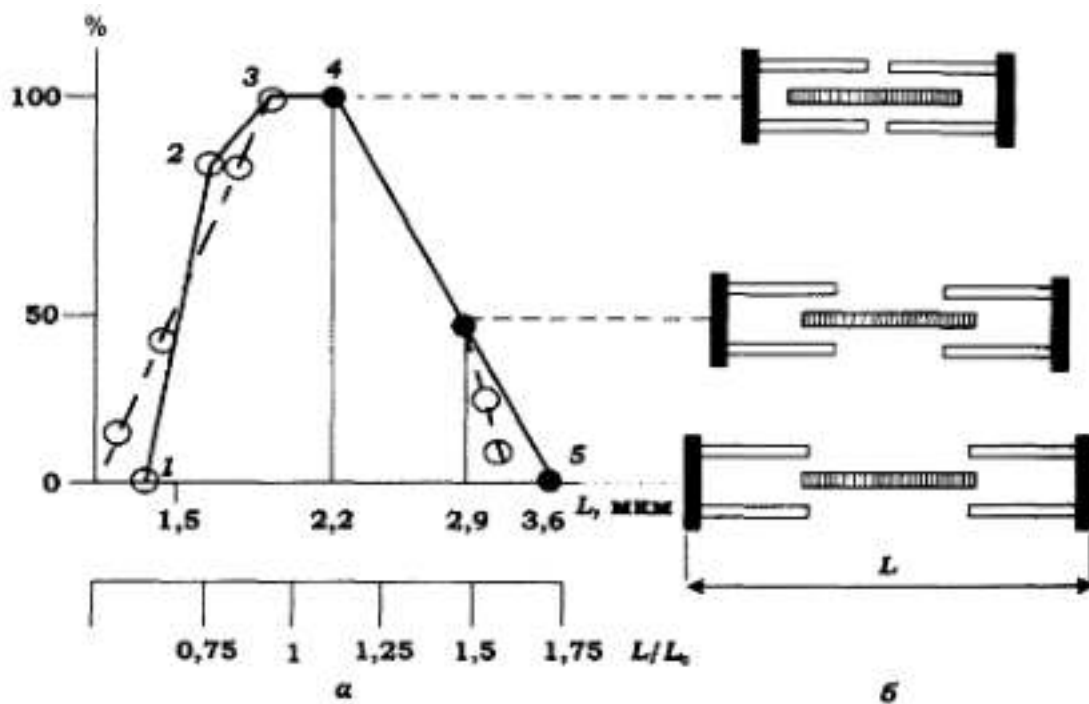


Рисунок 10.13 – Залежність величини напруження м'язового волокна:  
 а – від початкової довжини саркомера, %;  
 б – від ступеня перекриття філаментів

За мінімальної довжини саркомера (до 1,25 мкм, точка 1) у відповідь на подразнення напруження не генерується, оскільки взаємне переміщення філаментів неможливе через початкове повне їх перекриття. Цьому переміщенню заважає також «упирання» філаментів у Z-диски, оскільки їх довжина є більшою, ніж початкова довжина саркомера. Залежно від збільшення довжини саркомера від 1,25 до 1,65 мкм (точка 2) напруження зростає лінійно. Потім крутизна кривої «довжина – напруження» зменшується, і за довжини саркомера 2–2,2 мкм спостерігається максимальне напруження – стаціонарний режим роботи м'яза (між точками 3 і 4). У такому режимі відбувається максимальне перекриття міозинових і актинових філаментів і напруження не залежить від довжини м'яза. За подальшого збільшення довжини саркомера відбувається лінійне зменшення напруження, доки за умови довжини саркомера 3,65 мкм (точка 5) воно не дорівнюватиме нулю. За цих довжин саркомера напруження є пропорційним ступеню перекриття товстих і тонких філаментів.

За довжини саркомера 3,65 мкм і більше актинові філаменти виходять з проміжків міозинових філаментів, тому утворення зв'язку між ними, а відповідно, і взаємне ковзання під дією сили тяги поперечних містків стає неможливим.

Коли клітинна мембрана деполяризована, м'язова клітина не може бути стимульована протягом 1–3 мс. Цей період називається періодом абсолютної рефрактерності. Лише після цього відбувається м'язове скорочення.

Під дією одиночного стимулу м'яз починає скорочуватися за дуже короткий час (2 мс) – латентний період. Потім м'яз швидко коротшає, у ньому розвивається напруга (40 мс). Далі – довший період розслаблення (50 мс). Такий цикл називається одиночним скороченням (рис. 10.14).

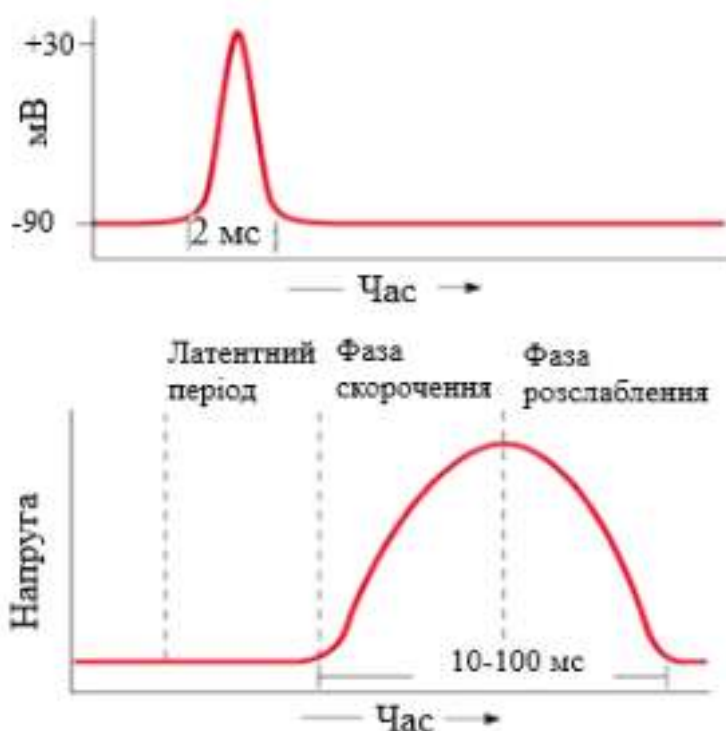


Рисунок 10.14 – Біоелектричні процеси в м'язовій клітині

Міограф – це медичний прилад для графічної реєстрації біоелектричних потенціалів м'язів. Міограф допомагає виявляти локалізацію нервово-м'язового ураження; визначати ступінь вираженості порушених функцій; виявляти стадії та характер патологічного процесу; контролювати динаміку порушених м'язових функцій.

Якщо під час ритмічного подразнення інтервал між першим і кожним наступним стимулом значний, то реєструють одиночні скорочення. За умови збільшення частоти подразнення час між стимулами зменшується так, що кожен наступний стимул подається тоді, коли м'яз ще скорочується.

Виникає стан, коли наступне скорочення накладається на попереднє. Зі збільшенням частоти стимуляції окремі скорочення зливаються, міограма має вигляд плавної лінії, що досягає певного рівня. Це стан *тетанусу* (рис. 10.15) Залежно від кількості нервових імпульсів скорочення м'язів реєструється як гладенький тетанус або як зубчастий тетанус. Якщо подальші подразнення наносяться в період розслаблення, виникає зубчастий тетанус, якщо у період скорочення – гладенький тетанус. За умови, коли наступні подразнення наносяться в період найбільшого збурення, то розвивається екзальтаційна фаза й виникає *оптимум*. Якщо наступні подразнення наносяться в період зниженого збурення, то розвивається фаза відносної рефрактерності й виникає *песимум*. Тетанічні скорочення не можуть тривати довго, оскільки м'яз втомлюється.

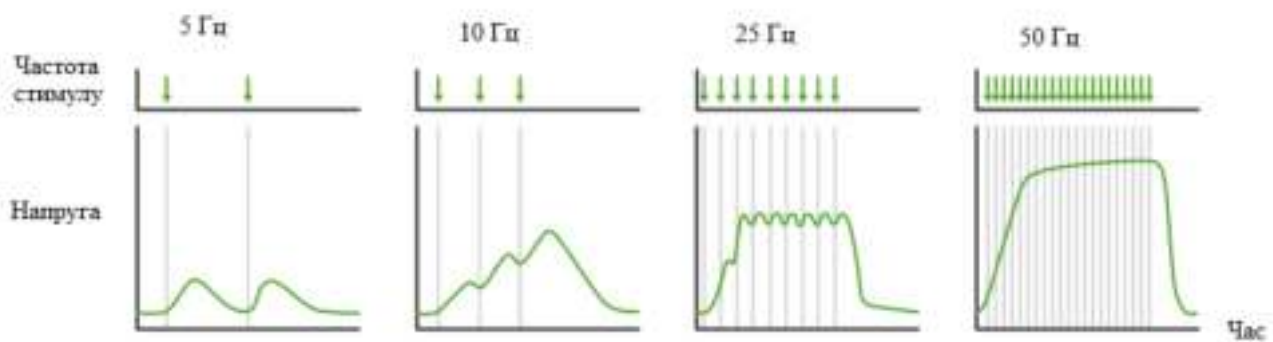


Рисунок 10.15 – М'язове скорочення за умови дії подразників із різною частотою

Гладкі м'язи побудовані з м'язових волокон діаметром від 2 до 5 мкм і завдовжки від 20 до 500 мкм. Скорочення гладких м'язів відрізняється від скорочення скелетних м'язів, оскільки гладкі м'язи не мають структурних компонентів, які формують саркомери. Аналогом Z-ліній у гладких м'язах є щільні тільця, що містяться в міоплазмі та з'єднані з клітинною мембраною та актиновими філаментами, що дає змогу їм скорочуватися з меншими енергетичними затратами. Скорочення різних гладких м'язів триває від 0,2 с до 30 с. Скорочення гладких м'язів регулюється вегетативною нервовою системою.

Механізм поєднання збурення та скорочення відрізняється від подібного процесу, що відбувається в скелетних м'язах, тому що гладкі м'язи не містять тропоніну й тропоміозину; скорочення гладких м'язів відбувається внаслідок зв'язування кальцію з білком кальмодуліном. Крім того, джерелом кальцію для скорочення скелетних м'язів є внутрішньоклітинний кальцій у саркоплазматичному ретикулумі, тоді як джерелами кальцію для скорочення

гладких м'язів є як внутрішньоклітинний кальцій саркоплазматичного ретикулума, так і позаклітинний кальцій, що надходить у клітину крізь кальцієві канали. Під час скорочення скелетних м'язів вивільнення кальцію ініціюється потенціалами дії, що генеруються нейромедіаторами, тоді як вивільнення кальцію в гладких м'язах ініціюється як спонтанним потенціалом дії, так і потенціалами дії, що генеруються зв'язуванням нейромедіаторів із рецепторами на клітинній мембрані.

Нижче подано послідовність процесів у гладких м'язах, що призводить до скорочення та розслаблення.

- Деполяризація клітинної мембрани та відкриття потенціал-залежних *Ca*-каналів. Іони  $Ca^{2+}$  входять у клітину за електрохімічним градієнтом, у цьому разі концентрація іонів  $Ca^{2+}$  в клітині збільшується.

- Вхід іонів  $Ca^{2+}$  крізь клітинну мембрану може викликати додатковий вихід іонів  $Ca^{2+}$  із саркоплазматичного ретикулума крізь *Ca*-залежні канали.

- Іони  $Ca^{2+}$  зв'язуються з білком кальмодуліном, регуляторним білком, який має чотири сайти зв'язування  $Ca^{2+}$  і відіграє важливу роль в активації ферментів. Кальцій-кальмодуліновий комплекс активує фермент кіназу легкого ланцюга міозину, що призводить до фосфорилування молекул головки міозину. Міозин гідролізує АТФ, генерується енергія та починається цикл утворення поперечних актино-міозинових містків, ковзання актину по міозинових ланцюгах. Фосфорильовані міозинові містки повторюють свій цикл, доки не дефосфорилуються міозинфосфатазою.

- Дефосфорилування міозину приводить до розслаблення м'язового волокна або стану залишкового напруження завдяки утвореним поперечним місткам, поки не відбудеться остаточна дисоціація кальцій-кальмодулінового комплексу.

Крім того, важливу роль у скороченні гладких м'язів відіграють різні фактори, зокрема рівень кальцію в клітині, концентрація АТФ та інші хімічні реакції. Оскільки гладкі м'язи є в багатьох органах, то їх скорочення регулюється багатьма факторами, що забезпечують нормальне функціонування організму.

## 10.5 Особливості нем'язового скорочення

Клітинний цитоскелет – це взаємопов'язана та динамічна мережа білкових філаментів, необхідна для внутрішньоклітинної організації, підтримки форми, клітинної міграції та поділу клітин. Цитоскелет утворений трьома

основними типами біологічних полімерів: актинових філаментів, мікротрубочок і проміжних філаментів. Для молекулярної структури актинових філаментів та мікротрубочок властива полярність («+» кінець та «-» кінець), завдяки якій здійснюється спрямоване внутрішньоклітинне транспортування речовин моторними білками, такими як кінезин, динеїн, а також нем'язовим міозином.

Білки кінезин і динеїн слугують для активного транспортування біологічного «вантажу», такого як молекули, органели та везикули уздовж мікротрубочок. Ці білки також забезпечують рух джгутикових структур і війок. Розрізняють два напрямки транспортування за допомогою моторних білків: від центру організації мікротрубочок, що розташований поблизу клітинного ядра, до периферії – це *антероградне* транспортування (забезпечується кінезином, що рухається до «+» кінця мікротрубочок); від периферії до центру організації мікротрубочок – це *ретроградне* транспортування (забезпечується динеїном, який рухається до «-» кінця мікротрубочок). Динеїн може переміщувати «вантаж» уздовж мікротрубочки зі швидкістю 14 мкм/с, водночас швидкість переміщення «вантажу» кінезином становить 2–3 мкм/с.

Динеїн містить два або три важких ланцюги, у складі яких є моторні домени, і велику кількість різних проміжних і легких ланцюгів (рис. 10.16). Розрізняють два сімейства динеїнів: цитоплазматичні та аксонемальні. Цитоплазматичні динеїни містяться в усіх еукаріотичних клітинах. Їх функціональне призначення полягає в транспортуванні везикул до апарата Гольджі. Аксонемальні динеїни забезпечують биття війок і джгутиків, тому мають важливе значення для рухливості одноклітинних організмів. Молекулярна маса динеїну становить 2 млн Да; динеїн – найбільш відомий молекулярний моторний білок.

Активний рух кінезину використовується у формуванні веретена поділу та розходженні хромосом під час мітозу й мейозу, також кінезин забезпечує транспортування мембранних органел. Кінезин містить два важкі і два легкі ланцюги, що формують глобулярні моторні домени; біспіралізовані хвостові ділянки утворені важкими ланцюгами.

Ізоформа міозину (*non-muscle myosin 2, NM2*) має високу експресію в нем'язових клітинах; *NM2* забезпечує нем'язову форму скорочення в різних типах клітин, наприклад, у процесі міграції лейкоцитів уздовж внутрішньої поверхні капілярів до зони запалення, під час розповсюдження метастазувальних ракових клітин, міграції незрілих нейронів у місце їх дозрівання. Молекули *NM2* – це гексамерні комплекси, що містять три пари поліпептидів: два нем'язові важкі ланцюги (*non-muscle heavy chains, NMHC2s, 230 кДа*),

два регуляторні легкі ланцюги (*regulatory light chains, RLC, 20 кДа*) і два основні легкі ланцюги (*essential light chains, ELC, 17 кДа*) (рис. 10.17).

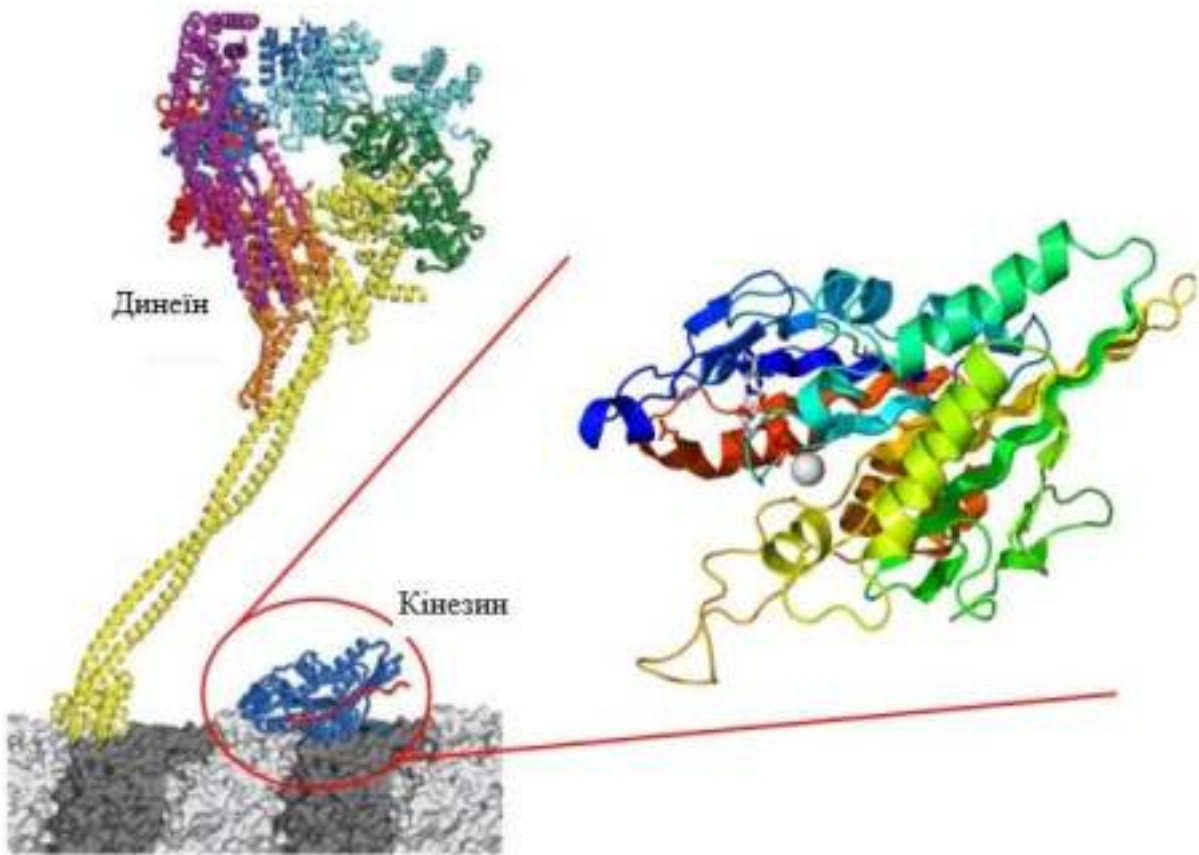


Рисунок 10.16 – Будова молекули динеїну та кінезину

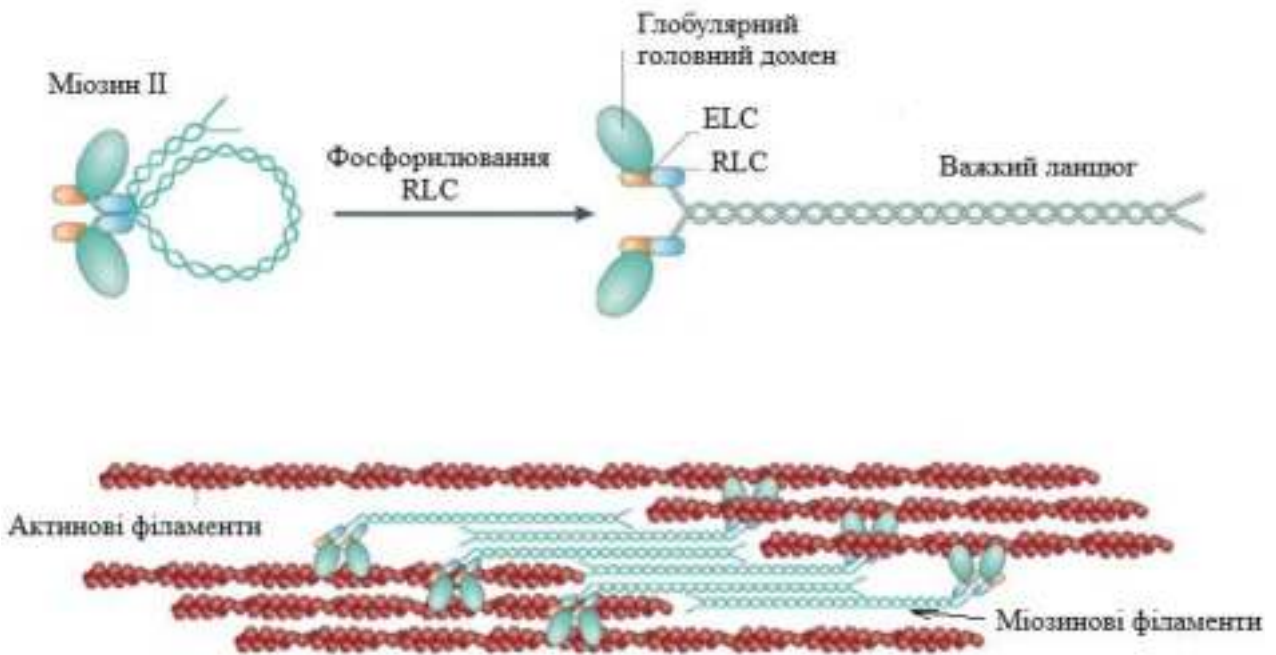


Рисунок 10.17 – Структура нем'язового міозину II. Взаємодія актинових і міозинових філаментів у процесі нем'язової форми скорочення

Міграція різноманітних клітин має декілька спільних властивостей. По-перше, полімеризація актину вздовж мембрани клітини сприяє випинанню її переднього краю та утворенню ламелоподій (з широкою зоною розширення) або філоподій (із вузькою зоною розширення). По-друге, у зоні розширення немає білка міозину, тому механізм «ковзання» міозинових ниток вздовж актинових відсутній. Завдяки полярності актинових філаментів міозинові філаменти підтягують їх з протилежного кінця до периферії зони розтягнення. У цьому разі активація *NM2* відбувається способом фосфорилування регуляторних легких ланцюгів. Ефективність взаємодії клітин, що мігрують, з поверхнею, якою вони пересуваються, забезпечується адгезійними білками – *інтегринами*. По-третє, завдяки скороченню міозину клітина, просуваючись уперед, розриває сайти адгезії в задній своїй частині та створює так званий молекулярний слід. Цикл пересування клітини поновлюється завдяки внутрішньоклітинним процесам полімеризації *G*-актину на передньому кінці клітини з утворенням нового ниткоподібного *F*-актину (рис. 10.18).

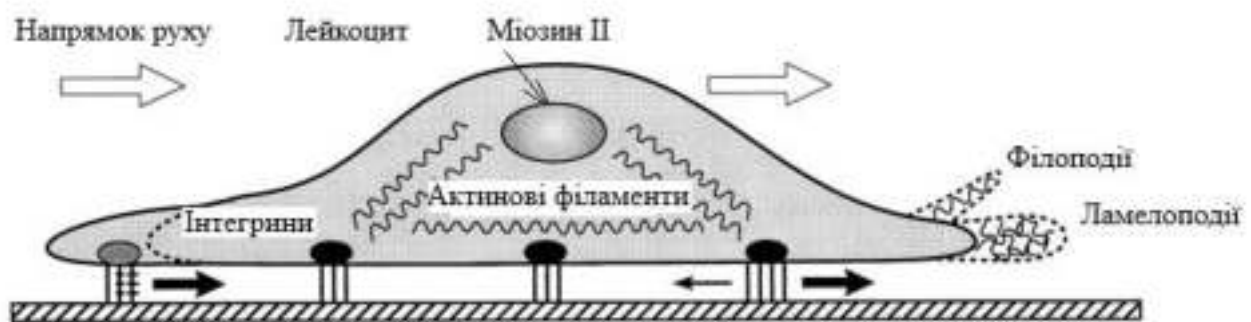


Рисунок 10.18 – Схема міграції лейкоциту поверхнею капіляра

## 10.6 Клітинне дихання

Клітинне дихання – це процес розщеплення глюкози в реакціях біологічного окиснення до форми, яку клітина може використовувати як джерело енергії, тобто до молекули АТФ. Біологічне окиснення супроводжується перенесенням електронів і протонів на кінцевий акцептор – молекулярний кисень з утворенням води. Клітинне дихання може протікати в мітохондріях клітини в присутності кисню (*аеробне дихання*) або в цитоплазмі клітини за відсутності кисню (*анаеробне дихання*). Кінцевим продуктом аеробного дихання є вода й вуглекислий газ. Аеробне дихання – це біологічний процес, під час якого молекула глюкози розщеплюється з утворенням енергії у вигляді молекул АТФ у присутності кисню. Хімічне рівняння аеробного дихання має такий вигляд:



Відповідно до цього рівняння в процесі розщеплення однієї молекули глюкози виділяється 2900 кДж енергії; молекули води та вуглекислого газу виділяються як побічні або кінцеві продукти реакції. Ця енергія потім використовується для синтезу молекул АТФ.

Аеробне дихання має чотири стадії: гліколіз (анаеробний процес), утворення ацетилкоензиму *A* (ацетил-*CoA*), цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса), ланцюг транспортування електронів.

Гліколіз – це послідовність катаболічних реакцій перетворення молекули глюкози на пірвіноградну кислоту. Гліколіз відбувається в цитоплазмі кожної клітини організму і передбачає 10 ферментативних реакцій (рис. 10.19).

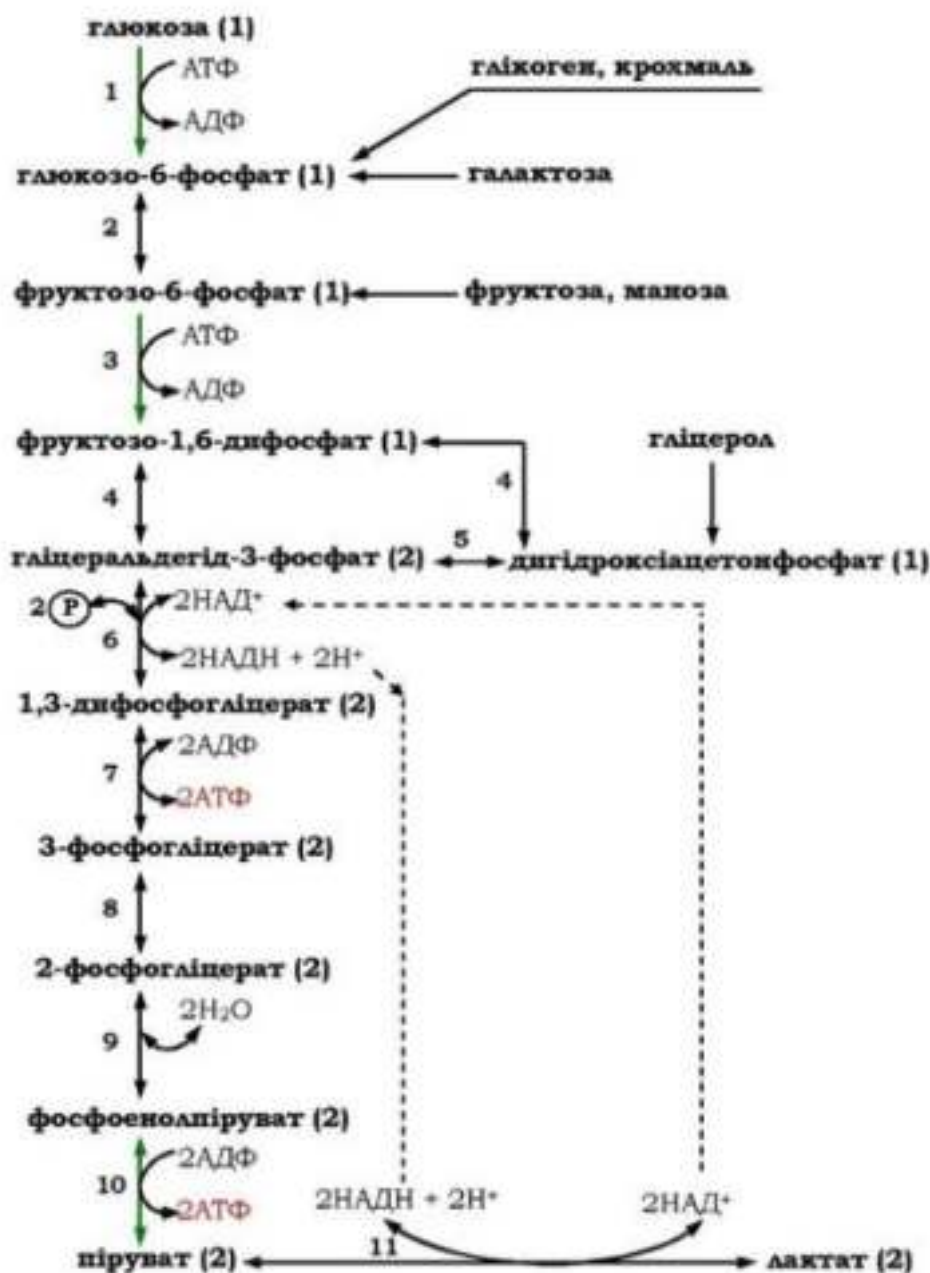


Рисунок 10.19 – Гліколіз

Під час розщеплення однієї молекули глюкози утворюється дві молекули АТФ, дві молекули відновленого НАДН (нікотинамідаденіндинуклеотид) та дві молекули пірувату, що застосовуються в подальших процесах аеробного дихання. Сумарна реакція гліколізу має такий вигляд:



Другим етапом аеробного дихання є утворення ацетил-КоА в реакції окислювального декарбосилування. У мітохондріях піруват, що утворився внаслідок гліколізу, окислюється і утворюється 2-вуглецева ацетильна група. Ця новоутворена група зв'язується з коферментом А, утворюючи ацетилкофермент А. Декарбосилування пірувату здійснює складний піруватдегідрогеназний комплекс; для його функціонування необхідні п'ять кофакторів – КоА, НАД<sup>+</sup>, тіамінпірофосфат (ТПФ), ФАД і ліпоєва кислота (ліпоат) (рис. 10.20). Піруватдегідрогеназний комплекс необоротно каталізує перетворення пірувату в ацетил-КоА. Відбувається втрата атома вуглецю з пірувату з утворенням молекули CO<sub>2</sub>. Крім того, у процесі окислювального декарбосилування НАД<sup>+</sup> відновлюється до НАДН. Реакція окислювального декарбосилування має такий вигляд:



Рисунок 10.20 – Окислювальне декарбосилування пірувату

На початку циклу трикарбонових кислот ацетил-КоА віддає свою ацетильну групу чотиривуглецевій сполуці – оксалоацетату (щавлевооцтовій кислоті), у цьому разі утворюється шестивуглецевий цитрат (лимонна кислота). Цитрат потім ізомеризується в ізоцитрат (ізолімонну кислоту), що далі дегідрується та декарбосилується до п'ятивуглецевої кислоти – α-кетоглутарату. Потім α-кетоглутарат декарбосилується знову, перетворюючись на чотиривуглецевий сукцинат. Сукцинат у три етапи ферментативно перетворюється на чотиривуглецевий оксалоацетат,

що за наявності в реагуючій системі ацетил-*КоА* знову бере участь у циклі трикарбонових кислот (рис. 10.21).

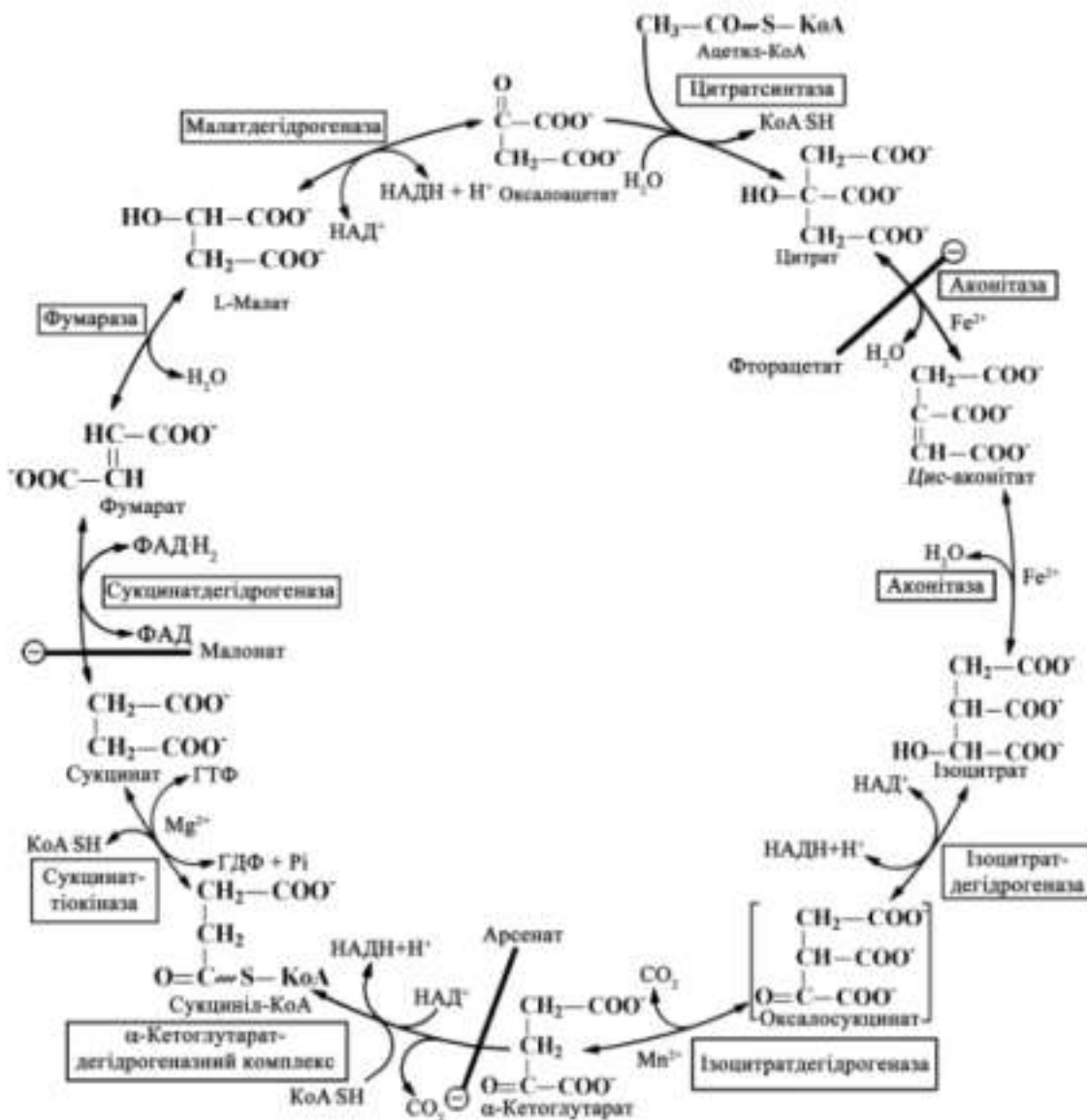


Рисунок 10.21 – Цикл Крибса

Отже, цикл Крибса передбачає вісім реакцій, чотири з яких є окислювальними процесами. Енергія, що виділяється в цих реакціях, запасується у вигляді відновлених коферментів *НАДН* і *ФАДН<sub>2</sub>* (флавінаденіндинуклеотид). За кожен цикл одна ацетильна група, тобто два атоми вуглецю, заходить у цикл у вигляді ацетил-*КоА*, і два атоми вуглецю залишають цикл у вигляді двох молекул *СО<sub>2</sub>*. Продуктами циклу Крибса є дві молекули *СО<sub>2</sub>*, одна молекула *АТФ* і відновлені форми *НАДН* та *ФАДН*.

Ланцюг транспортування електронів містить білкові комплекси, що забезпечують перенесення електронів від *НАДН* та *ФАДН* способом окислювально-відновлювальних реакцій, тобто хімічних реакцій, які

відбуваються зі зміною ступеня окиснення атомів, що містяться у складі реагентів, і реалізуються перерозподілом електронів між атомом-окисником та атомом-відновником. Ланцюг транспортування електронів розміщується на внутрішній мембрані мітохондрій (рис. 10.22).

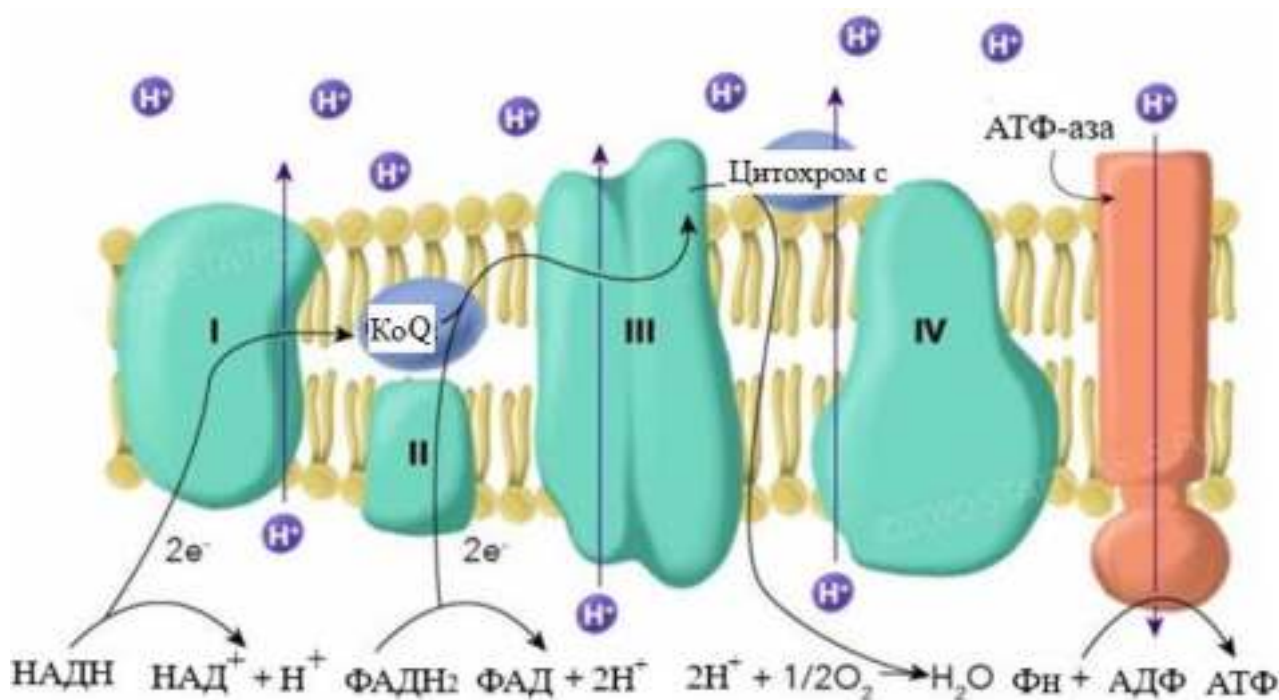


Рисунок 10.22 – Ланцюг транспортування електронів

Комплекс I (*НАДН-дегідрогеназний комплекс*) окислює *НАДН* способом відбирання в нього двох електронів, що переносяться на розчинний у ліпідній мембрані мітохондрій убіхінон. Убіхінон потім дифундує до комплексу III. Водночас комплекс I перекачує два протони та два електрони з матриксу в міжмембранний простір мітохондрії.

Комплекс II (*сукцинатдегідрогеназа*) не перекачує протони, але забезпечує вхід у ланцюг додаткових електронів завдяки окисненню сукцинату.

Комплекс III (*цитохром-*bc*1-комплекс*) переносить електрони з убіхінону на два водорозчинних цитохроми *c*, що розміщуються на внутрішній мембрані мітохондрії. Убіхінон передає два електрони, а цитохроми за один цикл переносять по одному електрону. Водночас туди також переходять два протони убіхінону та перекачуються комплексом.

Комплекс IV (*цитохром *z* оксидаза*) каталізує перенесення чотирьох електронів із чотирьох молекул цитохрому на *O*<sub>2</sub> та перекачує водночас чотири протони в міжмембранний простір. Комплекс містить *цитохроми a* та *a3*, що, окрім гему, містять іони міді.

Редокс-потенціал – це сила, що визначає напрямок потоку електронів на кисень у дихальному ланцюгу (рис. 10.23). Багатоланковий дихальний ланцюг є умовою для поступового звільнення енергії електронів. Вільна енергія електронів забезпечує трансмембранне перенесення протонів. Протонний градієнт через внутрішню мембрану мітохондрій використовується для синтезу АТФ за допомогою АТФ-синтази. Пояснення механізмів поєднання роботи дихального ланцюга та синтезу АТФ запропонував англійський біохімік Пітер Мітчелл 1961 р. За винайдення механізмів окисного фосфорилування вчений 1978 р. отримав Нобелівську премію в галузі хімії «За внесок у розуміння процесу перенесення біологічної енергії, який зроблений завдяки створенню хеміосмотичної теорії».

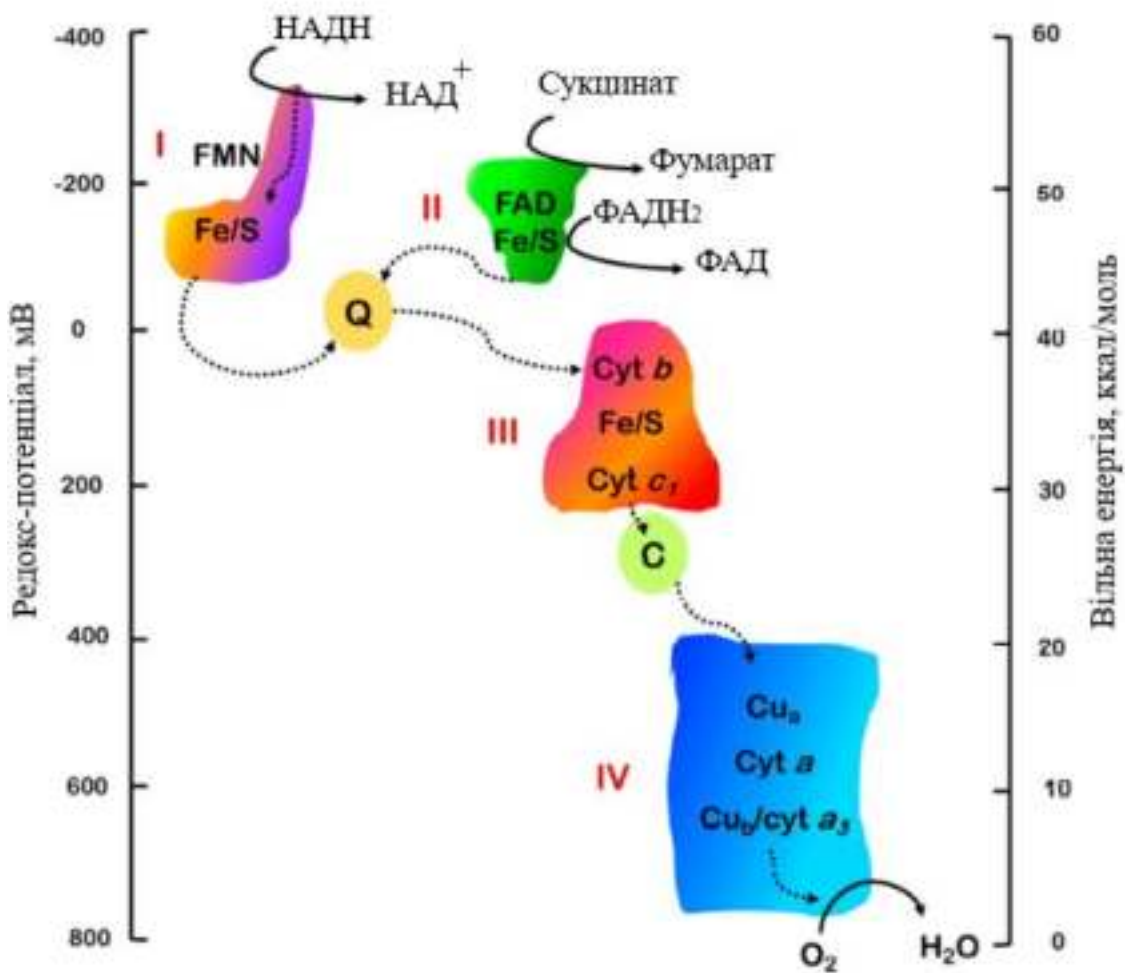


Рисунок 10.23 – Потік електронів крізь ланцюг транспортування електронів від НАДН, сукцинату та ФАДН<sub>2</sub> до O<sub>2</sub>

Ланцюг транспортування електронів забезпечує їх послідовний перехід від носіїв із нижчим потенціалом відновлення до носіїв з вищим потенціалом. Енергія, що вивільняється в процесі проходження електронів крізь ланцюг,

забезпечує перехід протонів проти електрохімічного градієнта в матрикс мітохондрій.

*Основні положення теорії Мітчелла:*

– внутрішня мембрана мітохондрій непроникна для іонів та малих молекул (за винятком молекул води);

– дихальний ланцюг працює як помпа, що викачує протони з матриксу в міжмембранний простір – рух двох електронів від субстрату на кисень призводить до перенесення 8–10  $H^+$  (протони транспортуються через I, III та IV комплекси) крізь мембрану;

– робота дихального ланцюга створює електрохімічний градієнт протонів ( $H^+$ ), оскільки вони вільно крізь внутрішню мітохондріальну мембрану в матрикс повернутися не можуть і будуть накопичуватись у міжмембранному просторі;  $H^+$  – проміжна форма зберігання енергії окиснення субстратів;

– енергію протонного градієнта використовує  $H^+$ -АТФ-синтаза для синтезу АТФ, коли через одну з її субодиниць протони повертаються в матрикс;

– існують сполуки-роз'єднувачі окисного фосфорилування, які порушують електрохімічний градієнт протонів і знижують ефективність роботи  $H^+$ -АТФ-синтази;

– протонна АТФ-синтаза ( $H^+$ -АТФ-синтаза,  $H^+$ -АТФ-аза) безпосередньо використовує енергію протонного градієнта, що був створений дихальним ланцюгом, для синтезу АТФ.

АТФ-синтаза – це мітохондріальний фермент, розташований на внутрішній мембрані мітохондрій (клітини еукаріотів) або в плазматичній мембрані (клітини прокаріотів), де він каталізує синтез АТФ із АДФ та неорганічного фосфату; для роботи АТФ-синтази використовується енергія у формі електрохімічного градієнта протонів. Кожна АТФ-синтаза виробляє близько 100 молекул АТФ щосекунди.

АТФ-синтаза містить дві білкові одиниці –  $F_1$  та  $F_0$ .  $F_1$  є водорозчинним периферійним мембранним білком, розташованим у мітохондріальному матриксі.  $F_0$  є водонерозчинним трансмембранним білком, що зв'язаний з внутрішньою мітохондріальною мембраною.  $F_1$  містить три пари субодиниць  $\alpha$  і  $\beta$ , які формують гексамер із трьома активними центрами, а також із субодиниць  $\gamma$ ,  $\delta$  і  $\epsilon$ , по одній у кожній.  $F_0$  – це канал, що містить 10–12 субодиниць і слугує для переміщення протонів із міжмембранного простору в матрикс, де вони утворюють воду з відновленим киснем, також  $F_0$  забезпечує обертання  $F_1$  (рис. 10.24).

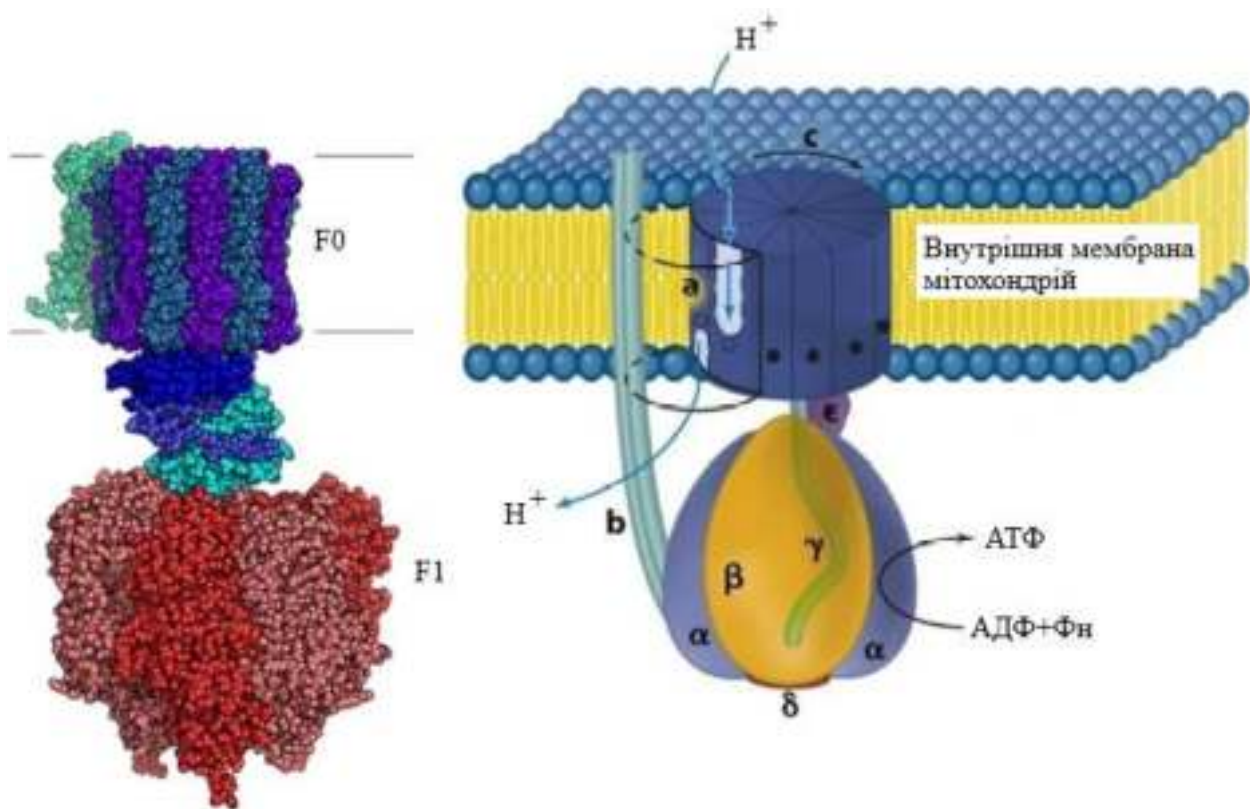


Рисунок 10.24 – Структура АТФ-синтази

Нині запропоновано дві гіпотези щодо механізму роботи АТФ-синтази. Відповідно до першої  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиниці мають функціональні групи, необхідні для транслокації протонів крізь мембрану. Передбачається, що протонування та депротонування цих груп усередині протонного каналу в процесі перенесення протонів крізь  $F_0$  змінює конформацію білків і цим викликає обертання мультимерного циліндра ротора разом з  $\gamma$  і  $\varepsilon$ -субодиницями. Обертання  $\gamma$ -субодиниці всередині  $\alpha\beta$ -гексамеру викликає конформаційні зрушення в  $\alpha$ - і  $\beta$ -субодиницях. Це забезпечує циклічний процес синтезу АТФ. Кожний акт синтезу однієї молекули АТФ вимагає обертання  $\gamma$ -субодиниці на  $120^\circ$ . За другим механізмом іони  $H^+$ , використовуючи енергію електрохімічного потенціалу, проходять протонний канал комплексу  $F_0$ , потрапляючи в активний центр  $F_1$  комплексу, де реагують з атомом кисню неорганічного фосфату. Унаслідок цього утворюється реакційнодатне фосфатне похідне, що безпосередньо взаємодіє з АДФ, фосфорилуючи його.

### 10.7 Контрольні запитання та завдання

1. Типи м'язової тканини, особливості будови та функцій.
2. Схарактеризуйте типи м'язових волокон та їх роль у м'язовій діяльності.

3. Назвіть структурні та скорочувальні елементи м'язового волокна та їх функціональне значення.
4. Перелічіть білки м'язів. Яка їх функціональна роль?
5. Які макроергічні сполуки є в м'язовому волокні?
6. Схарактеризуйте біохімічний механізм м'язового скорочення.
7. Як відбувається процес розслаблення м'язів?
8. Яка роль АТФ у процесах скорочення і розслаблення м'язів?
9. Що розуміють під механізмами або шляхами ресинтезу АТФ? Які існують способи ресинтезу АТФ у скелетних м'язах?
10. Дайте загальну характеристику джерелам, механізмам і шляхам ресинтезу АТФ.
11. Фізіологічні характеристики скорочення м'язів. Концентричне, ізометричне та ексцентричне скорочення м'язів.
12. Триелементна модель Хілла.
13. Зв'язок між довжиною та напруженням за умови ізометричного скорочення.
14. Біоелектричні процеси в м'язовій клітині.
15. М'язове скорочення під час дії подразників з різною частотою.
16. Що таке дихання? Схарактеризуйте структурні компоненти дихального ланцюга мітохондрій.
17. Що таке окислювальне фосфорилування? Поясніть теорію хімічного синтезу АТФ.
18. Дихальний ланцюг містить усі нижчезазначені речовини, за винятком:  
а) НАД; б) залізо-сірчані білки; в) убіхінон; г) піруват; д) цитохроми.
19. Ферменти тканинного дихання розміщені в: а) цитоплазмі; б) лізосомах; в) пероксисомах; г) мітохондріях; д) ядрі.
20. Призначення дихального ланцюга у мітохондріях: а) перетворення речовин і енергії; б) окиснення речовин до  $CO_2$  і  $H_2O$ ; в) забезпечення клітин  $НАД^+$  і  $ФАД$ ; г) перенесення атомів водню із  $НАДН_2$  на кисень з утворенням  $АТФ$  і  $H_2O$ ; д) перенесення електронів на цитохроми.

## ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Боровиков В.С. Веркін Борис Ієремійович. *Енциклопедія сучасної України*. Київ, 2005. Т. 4. 357 с.
2. Gatash S.V. History and achievements of the Department of Molecular and Medical Biophysics. In Shulga, S.N. (Ed.) *Radiofizicheskii fakultet za 60 let so dnia osnovaniia*. Kharkiv: V.N. Karazin Kharkiv National University, 2012. P. 83–90.
3. Department of Molecular and Medical Biophysics of V.N. Karazin Kharkiv National University. *History of the Department*. 2017. URL: <http://biomedphys.univer.kharkov.ua/istoriya-kafedry>
4. Department of Molecular and Medical Biophysics of V.N. Karazin Kharkiv National University. 2017. URL: <http://biomedphys.univer.kharkov.ua>
5. Karachevtsev V.A., Kosevich M.V., Zhigalova N.M. In memory of Professor Yuri P. Blagoi. *Biophysical bulletin*. 2018. № 39. P. 81–82. URL: <https://doi:10.26565/2075-3810-2018-39-07>
6. Iurii Pavlovich Blagoi. K 70-letiiu so dnia rozhdeniia. *Visnyk Kharkivskoho universytetu*. № 466. *Biophysical bulletin*. 1999. № 5. P. 116–117.
7. Entsyklopediia suchasnoi Ukrainy. 2004. URL: [http://esu.com.ua/search\\_articles.php?id=35449](http://esu.com.ua/search_articles.php?id=35449)
8. Blagoi Iu.P. Vospominaniia In V.V. Eremenko (Ed.). B.I. Verkin, kakim my ego pomnim. 2007. P. 90–94. URL: <http://www.ilt.kharkov.ua/verkin/p90.php>
9. Privalov P.L. Hydrophobic Interactions in Proteins. *Protein Structure and Protein Engineering*. 1988. P. 6–15. [https://doi:10.1007/978-3-642-74173-9\\_2](https://doi:10.1007/978-3-642-74173-9_2)
10. Hydrophobic interactions of sucralose with protein structures / N. Shukla et al. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2018. № 639. P. 38–43. URL: <https://doi:10.1016/j.abb.2017.12.013>
11. Shao Q. Important roles of hydrophobic interactions in folding and charge interactions in misfolding of  $\alpha$ -helix bundle protein. *RSC Advances*. 2015. № 5(6). P. 4191–4199. URL: <https://doi:10.1039/c4ra14265a>
12. Stefanutti E. Structural and dynamical studies on confined water. Physics. Université Pierre et Marie Curie – Paris VI; Università degli studi Roma Tre, 2017. English. NNT: 2017PA066730.
13. Hoshino Y., Lee H., Miura Y. Interaction between synthetic particles and biomacromolecules: fundamental study of nonspecific interaction and design of nanoparticles that recognize target molecules. *Polym J*. 2014. № 46. P. 537–545. URL: <https://doi.org/10.1038/pj.2014.33>

14. Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods / X. Du et al. *Int J Mol Sci.* 2016. Jan 26, № 17(2):144. DOI: 10.3390/ijms17020144. PMID: 26821017; PMCID: PMC4783878.
15. Janin J. Protein-protein recognition. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1995. № 64. P. 145–166. URL: [https://doi:10.1016/S0079-6107\(96\)00001-6](https://doi:10.1016/S0079-6107(96)00001-6)
16. Perozzo R., Folkers G., Scapozza L. Thermodynamics of protein-ligand interactions: History, presence, and future aspects. *J. Recept. Signal. Transduct. Res.* 2004. № 24. P. 1–52. URL: <https://doi:10.1081/RRS-120037896>
17. Chaires J.B. Calorimetry and thermodynamics in drug design. *Annu. Rev. Biophys.* 2008. № 37. P. 135–151. URL: <https://doi:10.1146/annurev.biophys.36.040306.132812>
- 18., Physicochemical bases for protein folding, dynamics, and protein-ligand binding / H. Li et al. *Sci. China Life Sci.* 2014. № 57. P. 287–302. URL: <https://doi:10.1007/s11427-014-4617-2>
19. Reynolds C.H., Holloway M.K. Thermodynamics of ligand binding and efficiency. *ACS Med. Chem. Lett.* 2011. № 2. P. 433–437. URL: <https://doi:10.1021/ml200010k>
20. Water networks contribute to enthalpy/entropy compensation in protein-ligand binding / B. Breiten et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2013. № 135. P. 15579–15584. URL: <https://doi:10.1021/ja4075776>
21. Saibil H. Chaperone machines for protein folding, unfolding and disaggregation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013. № 14. P. 630–642.
22. Hartl F.U., Bracher A., Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature.* 2011. № 475. P. 324–332.
23. Korennykh A., Walter, P. Structural basis of the unfolded protein response. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2012. № 28. P. 251–277.
24. Allosteric opening of the polypeptide-binding site when an Hsp70 binds ATP / R. Qi et al. *Nature Struct. Mol. Biol.* 2013. № 20. P. 900–907.
25. Newberry R.W., Raines R.T. Secondary Forces in Protein Folding. *ACS Chemical Biology.* 2019. URL: <https://doi:10.1021/acscchembio.9b00339>
26. The Principle and Method of Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). URL: <https://www.mblbio.com/bio/g/support/method/sds-page.html>
27. Vasudevan Damodaran, Sreekumari S., Vaidyanathan Kannan. Chapter-04 Proteins: Structure and Function. 2017. URL: [https://10.5005/jp/books/13014\\_5](https://10.5005/jp/books/13014_5)
28. Сиволоб А.В. Фізика ДНК: навч. посіб. Київ: Київський університет, 2011. 335 с.

29. Yakovchuk P., Protozanova E., Frank-Kamenetskii M.D. Base-stacking and base-pairing contributions into thermal stability of the DNA double helix. *Nucleic Acids Res.* 2006. Jan 31, № 34(2). P. 564–74. URL: <https://doi:10.1093/nar/gkj454>
30. Clancy S. RNA Functions. *Nature Education.* 2008. № 1(1). P. 102. URL: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/rna-functions-352>
31. Rich A., Zhang S. Z-DNA: the long road to biological function. *Nat Rev Genet.* 2003. № 4. P. 566–572. URL: <https://doi.org/10.1038/nrg1115>
32. Molecular mechanical studies of DNA flexibility: coupled backbone torsion angles and base-pair openings / J.W. Keepers et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982. Sep, № 79(18). P. 5537–41. URL: <https://doi:10.1073/pnas.79.18.5537>
33. Alpha/gamma transitions in the B-DNA backbone / P. Várnai et al. *Nucleic Acids Res.* 2002. Dec 15, № 30(24). P. 5398–406. URL: <https://doi:10.1093/nar/gkf680>
34. Britton L.A., Olson W.K., Tobias I. Two perspectives on the twist of DNA. *J Chem Phys.* 2009. Dec 28, № 131(24). P. 245101. URL: <https://doi:10.1063/1.3273453>
35. Pre-Ribosomal RNA Processing in Human Cells: From Mechanisms to Congenital Diseases / M. Aubert et al. *Biomolecules.* 2018. № 8. P. 123. URL: <https://doi:10.3390/biom8040123>
36. Mechanism for priming DNA synthesis by yeast DNA Polymerase  $\alpha$  / Rajika L Perera et al. *eLife.* 2013. 2:e00482. URL: <https://doi.org/10.7554/eLife.00482>
37. The journal of biological chemistry / Aidan J. Doherty et al. 1996. Vol. 271. № 19, Issue of May 10. P. 11083–11089.
38. Caruthers J.M., McKay D.B. Helicase structure and mechanism / *Curr Opin Struct Biol.* 2002. № 12. P. 123–133.
39. Della Rosa M., Spivakov M. Silencers in the spotlight. *Nat Genet.* 2020. № 52. P. 244–245. URL: <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0583-8>
40. Enhancers and silencers: an integrated and simple model for their function/ P. Kolovos et al. *Epigenetics & Chromatin.* 2012. № 5. P. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/1756-8935-5-1>
41. Van Meer G., Voelker D.R., Feigenson G.W. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008. Feb, № 9(2). P. 112–24.
42. Emerging roles for lipids in shaping membrane-protein function / R. Phillips et al. *Nature.* 2009. May 21. № 459(7245). P. 379–85.

43. Coleman J.A., Kwok M.C.M., Molday R.S. Localization, Purification, and Functional Reconstitution of the P4-ATPase Atp8a2, a Phosphatidylserine Flippase in Photoreceptor Disc Membranes. *J Biol Chem.* 2009. Nov. 20; 284(47). P. 32670–9.
44. Basbaum A.I., Jessel T. The perception of pain. *Principles of Neuroscience.* New York: Appleton and Lange, 2000. P. 472–491.
45. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception / R.A. Meyer et al. Wall and Melzack's Textbook of Pain. Philadelphia: Elsevier, 2008. P. 3–34.
46. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain / A.I. Basbaum et al. *Cell.* 2009. Vol. 139. P. 267–284.
47. Perl E.R. Ideas about pain, a historical view. *Nat. Rev. Neurosci.* 2007. Vol. 8. P. 71–80.
48. Novel classes of responsive and unresponsive C nociceptors in human skin / R. Schmidt et al. *J. Neurosci.* 1995. Vol. 15. P. 333–341.
49. Julius D., Basbaum A.I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature.* 2001. Vol. 413. P. 203–210.
50. A high-threshold heat-activated channel in cultured rat dorsal root ganglion neurons resembles TRPV2 and is blocked by gadolinium / A. Leffer et al. *Eur. J. Neurosci.* 2007. Vol. 26. P. 12–22.
51. Nagy I., Rang H. Noxious heat activates all capsaicin-sensitive and also a sub-population of capsaicin-insensitive dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience.* 1999. Vol. 88. P. 995–997.
52. Lumpkin E.A., Caterina M.J. Mechanisms of sensory transduction in the skin. *Nature.* 2007. Vol. 445. P. 858–865.
53. Reid G., Flonta M.L. Physiology. Cold current in thermoreceptive neurons. *Nature.* 2001. Vol. 413. P. 480.
54. Sensory neuron sodium channel Nav1.8 is essential for pain at low temperatures / K. Zimmermann et al. *Nature.* 2007. Vol. 447. P. 855–858.
55. The mechanoactivated K<sup>+</sup> channels TRAAK and TREK-1 control both warm and cold perception / J. Noel et al. *EMBO J.* 2009. Vol. 28. P. 1308–1318.
56. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin / M. Bandell et al. *Neuron.* 2004. Vol. 41. P. 849–857.
57. The ion channel ASIC1 contributes to visceral but not cutaneous mechanoreceptor function / A.J. Page et al. *Gastroenterology.* 2004. Vol. 127. P. 1739–1747.
58. Ishikawa Y., Homcy C.J. The Adenylyl Cyclases as Integrators of Transmembrane Signal Transduction. *Circulation Research.* 1997. Vol. 80. P. 297–304.

59. Gilman A.G. G proteins: transducers of receptor generated signals. *Annu. Rev. Biochem.* 1987. Vol. 56. P. 615–649.

60. Brito C., Sousa S. Non-Muscle Myosin 2A (NM2A): Structure, Regulation and Function. *Cells.* 2020. № 9(7). P. 1590. URL: <https://doi.org/10.3390/cells9071590>

61. Beyond being an energy supplier, ATP synthase is a sculptor of mitochondrial cristae / Héctor Miranda-Astudillo et al. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics.* 2022. Vol. 1863. Issue 6 (148569). URL: <https://doi.org/10.1016/j.bbatio.2022.148569>

62. Kinesin and Dynein Mechanics: Measurement Methods and Research Applications / Z. Abraham et al. *J Biomech Eng.* 2018. Feb 1, № 140(2). P. 0208051–02080511. URL: <https://doi:10.1115/1.4037886>

63. Overlapping hand-over-hand mechanism of single molecular motility of cytoplasmic dynein / S. Toba et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2006. № 103(15). P. 5741–5745. URL: <https://doi.org/10.1073/pnas.0508511103>

64. Prevo B., Scholey J.M., Peterman E.J.G. Intraflagellar transport: mechanisms of motor action, cooperation, and cargo delivery. *The FEBS journal.* 2017. № 284(18). P. 2905–2931. URL: <https://doi.org/10.1111/febs.14068>

65. The role of paranasal sinuses in the aerodynamics of the nasal cavities / Ismail, Husham Farouk et al. *International Journal of Life Science and Medical Research.* 2012. 2.3. P. 52–55.

66. Сучасні методи діагностики респіраторно-ольфакторної функції: монографія / О.Г. Аврунін та ін. Харків: ХНУРЕ, 2021. 150 с. URL: <https://doi.org/10.30837/978-966-659-300-2>

67. Інформаційні технології підтримки прийняття рішень при визначенні порушень носового дихання: монографія / О.Г. Аврунін та ін. Харків: ХНУРЕ, 2018. 132 с.

68. Research Active Posterior Rhinomanometry Tomography Method for Nasal Breathing Determining Violations / O.G. Avrunin et al. *Sensors.* 2021. № 21. P. 8508. URL: <https://doi.org/10.3390/s21248508>

69. Носова Я.В., Аврунін О.Г., Фарук Х.И. Определение микрохарактеристик воздушного потока в носовой полости при дыхании. *Вестник НТУ «ХПИ».* Серия: Новые решения в современных технологиях. Харьков: НТУ «ХПИ». 2018. № 16 (1292). С. 122–127. DOI: 10.20998/2413-4295.2018.16

70. Книгавко Ю.В., Аврунин О.Г., Фарук Х. Расчет функциональных параметров, определяющих показания к проведению ринопластики. *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. 2013. № 2/10 (62). С. 24–27.

71. Аврунин О.О. Аналіз пневматичної потужності при диханні людини. *Радіоелектроніка та молодь в ХХІ столітті: матеріали 26-го міжнародного молодіжного форуму* (19–21 квітня 2022 р.). Харків: ХНУРЕ, 2022. Т. 1. С. 40–41.

72. Аврунин О.Г., Бых А.И., Семенец В.В. Обоснование основных медико-технических требований для проектирования многофункционального риноманометра. *Функциональная компонентная база микро-, опто- и наноэлектроники: сб. науч. тр. III междунар. науч. конф.* (28 сент. – 2 окт. 2010 г.). Харьков; Кацивели: ХНУРЭ, 2010. С. 280–281.

73. Аврунин О.Г., Шамраева Е.О. Реконструкция объемных моделей черепа и имплантата по томографическим снимкам. *Системы обработки информации: сб. науч. пр.* Харьков: ХУПС, 2007. Вып. 9 (67). Р. 137–140.

74. Тымкович М.Ю., Аврунин О.Г., Семенец В.В. Использование DICOM-изображений в медицинских системах. *Техн. электродинамика: тематич. вып.* 2012. Т. 4. С. 178–183.

75. Бажан О.В., Аврунин О.Г., Тимкович М.Ю. Використання технологій віртуальної реальності в пластичній хірургії. *Авіація, промисловість, суспільство: матеріали I Всеукраїнської науковопрактичної конференції молодих вчених, курсантів та студентів*, Кременчук. 2018. С. 184.

76. Аврунин О.Г., Жемчужкина Т.В., Носова Т.В. Диагностические возможности электромиографического метода при исследовании функции носового клапана. *Бионика интеллекта*. 2010. № 3 (74). С. 99–104.

77. Аврунин О.Г., Жемчужкина Т.В., Носова Т.В. Автоматизированный анализ количественных показателей треморографических данных для наблюдения динамики тремора. *Восточно-Европейский журнал передовых технологий*. 2011. Т. 2. № 2 (50).

78. Топчий В.С., Жемчужкина Т.В., Носова Т.В. Статистический анализ показателей фазового портрета ЭМГ-сигнала с целью дифференцирования заболеваний опорно-двигательного аппарата. *Наукові нотатки: міжвузівський збірник*. Луцьк, 2018. Вип. 64. С. 217–222.

79. Шпакович Ю.С., Жемчужкина Т.В., Носова Т.В. К вопросу о применимости методов анализа электромиографических сигналов. *Вісник Національного технічного університету «ХПІ»*. 2017. № 21 (1243). Р. 117–123. URL: <https://doi.org/10.20998/2411-0558.2017.21.10>

80. Application of EMG-signal phase portraits for differentiation of musculoskeletal system diseases / T.V. Zhemchuzhkina et. al. *Proc. SPIE 11176. Photonics Applications in Astronomy, Communications, Industry, and High-Energy Physics Experiments*. 2019, 1117632 (6 Nov. 2019). URL: <https://doi.org/10.1117/12.2537338>

81. Носова Т.В., Жемчужкина Т.В., Семенец В.В. Автоматизированный контроль усталости мышц конечностей спортсменов. *Здоров'я нації і вдосконалення фізкультурно-спортивної освіти в Україні: тези доповіді 5-ї всеукраїнської науково-практичної конф.* Харків, 2018. С. 130–132.

## ДЛЯ ПОДАТОК

Навчальне видання

**ХМІЛЬ Наталія Володимирівна**  
**ШЕСТОПАЛОВА Ганна Вікторівна**  
**КОЛЕСНИКОВ Володимир Григорович**

# **ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ТА КЛІТИННОЇ БІОФІЗИКИ**

*Навчальний посібник*

Рецензенти:

В.Г. Дуденко, д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Харківського національного медичного університету;

Д.В. Сніжко, д-р техн. наук, професор кафедри біомедичної інженерії Харківського національного університету радіоелектроніки.

Відповідальний випусковий В.В. Семенець

Редактор Л.В. Кузьміна

Комп'ютерна верстка Л.Ю. Светайло

План 2023 (друге півріччя), поз. 59.

Підп. до друку 06.07.23.

Формат 60x84<sub>1/16</sub>.

Спосіб друку – ризографія.

Умов. друк. арк. 14,0.

Облік. вид. арк. 12,8.

Тираж 50 прим.

Ціна договірна

Зам. № 1-59

---

ХНУРЕ. Україна. 61166, Харків, просп. Науки, 14

---

Віддруковано в редакційно-видавничому відділі ХНУРЕ  
61166, Харків, просп. Науки, 14