



Тема 5. Организация биологических систем

Содержание темы: Наблюдение наноструктур в природе; Размеры био-наноструктур; Оценка размеров биологических наноструктур;

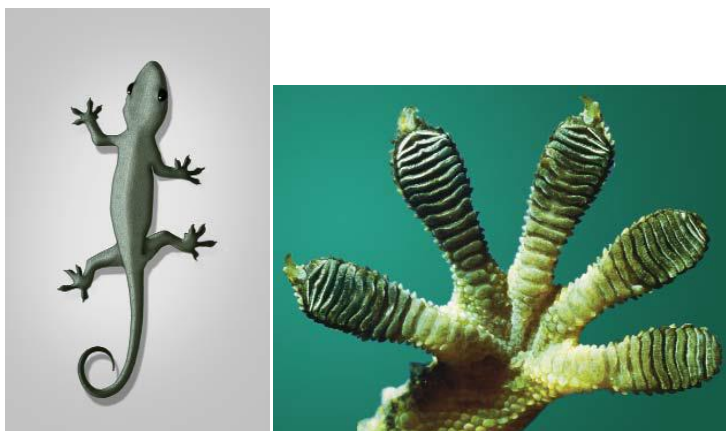
Структура органических наночастиц; Уровни организации белков, методы их изучения и синтеза;

Белковая инженерия; Нуклеиновые кислоты, методы их изучения и синтеза;

Биоэнергетика, механизмы переноса энергии в биоструктурах; Вирусы.

Наблюдение наноструктур в природе

1. Изучая уникальные способности геккона, который может бегать по совершенно гладкому вертикальному стеклу, учёные обнаружили, что каждая его лапка покрыта мельчайшими волосообразными щетинками с лопатками на концах диаметром всего 200 нм. За счёт сил **Ван-дер-Ваальса** эти лопатки цепляются за любое вещество, а их огромное количество позволяет эффективно распределять нагрузку.



Сотрудники компании iRobot сконструировали на этом принципе робота, который может передвигаться по стенкам аквариума.

2. Что получится, если к солнечной батарее присоединить крылья бабочки? Для повышения эффективности солнечных батарей служат концентраторы, “собирающие” солнечный свет и направляющие его на фотоэлемент. Обычно используют параболические зеркала или линзы Френеля. Эти устройства довольно сложные, дорогие и тяжелые.

Учёные предположили, что прототипом легкого и эффективного устройства могут служить бабочки. Они обратили внимание на то, что белые бабочки-капустницы в

пасмурный день начинают свой полет раньше других бабочек. Капустницы быстро прогревают свои летательные мышцы, раскрыв крылья под небольшим углом. С помощью ИК камеры исследователи выяснили, что оптимальный угол отклонения крыла от вертикали равен 17° . При таком положении прирост температуры тела бабочки оказался больше, чем при полностью раскрытых крыльях.

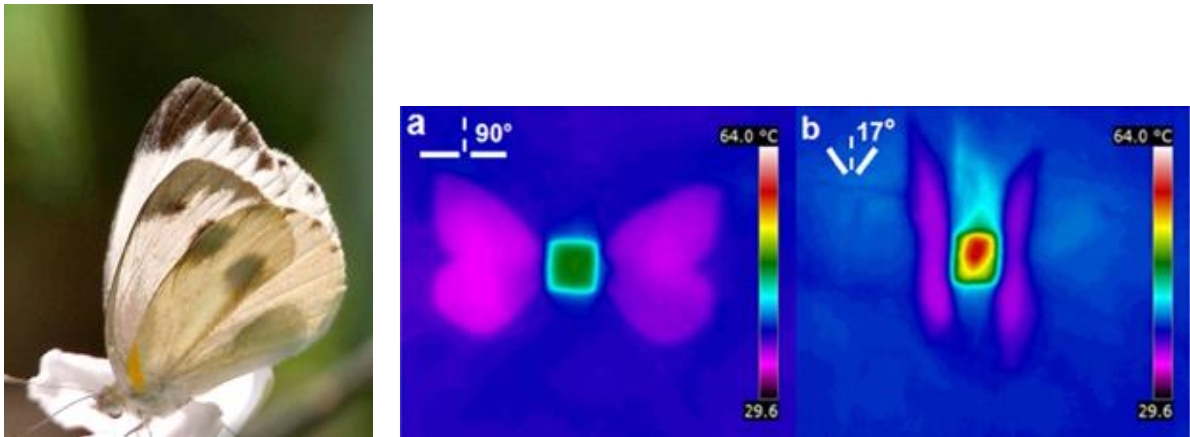


Рис. 1. Бабочка-капустница греется перед полетом. Справа снимок с ИК камеры.

Высокую отражательную способность крыльям обеспечивает их уникальная иерархическая структура. В ячейках белых чешуек распределено много нанобусинок, содержащих пигмент **птерин**. В черных пятнах на крыльях, этих нанобусинок меньше.

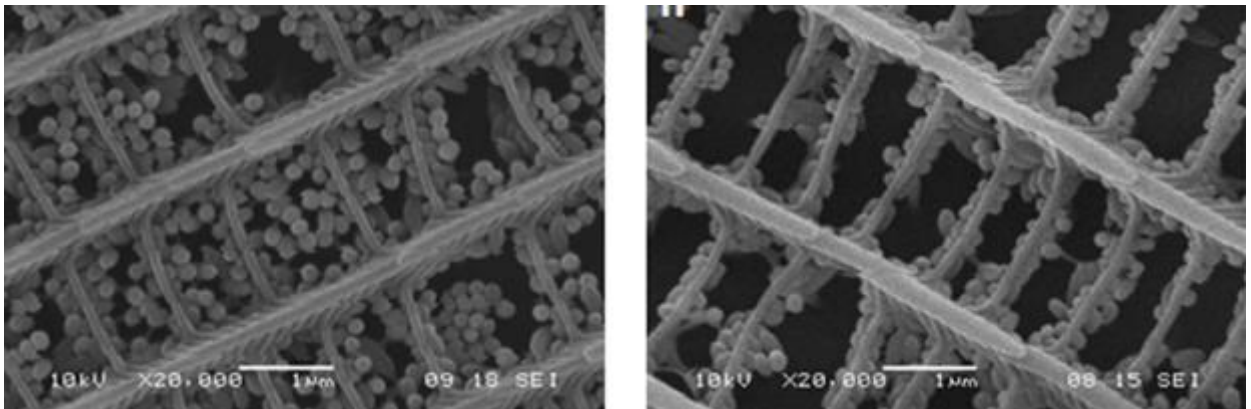


Рис. 2. SEM изображение структуры чешуек крыла бабочки-капустницы: слева – белые чешуйки, справа – чешуйки из чёрного пятна.

Изучение устройства бабочек даёт возможность создания нового светоотражающего материала для солнечных концентраторов. Измерения показали отличное соответствие между спектром отражения крыльев белой бабочки-капустницы и рабочим диапазоном Si-солнечного элемента.

Размеры био-наноструктур

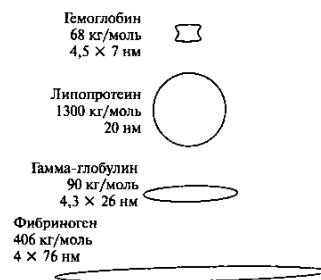
Формально наноструктуры имеют размер: 1 – 100 нм. Биологические наноструктуры можно наблюдать в диапазоне: 0,5 – 200 нм.

Бактерии : 1 – 10 мкм (мезоскопический масштаб ~ 1 мкм)

Вирусы : 10 – 200 нм (~ 100 нм)

Белки : 4 – 50 нм (~ 10 нм)

Аминокислоты : наименьшая – глицин – 0,42 нм (~ 1 нм)



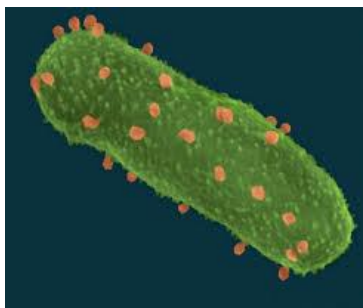
В природе 100 аминокислот, но в белках только 20, связанные друг с другом последовательно пептидными связями.

ДНК – тоже наноцепь – спиральная цепочка из 4 нуклеотидов: ~ 2 нм толщиной и ~ 2 метра длиной!

Хромосома – упакованная ДНК – размером 1 – 10 мкм.

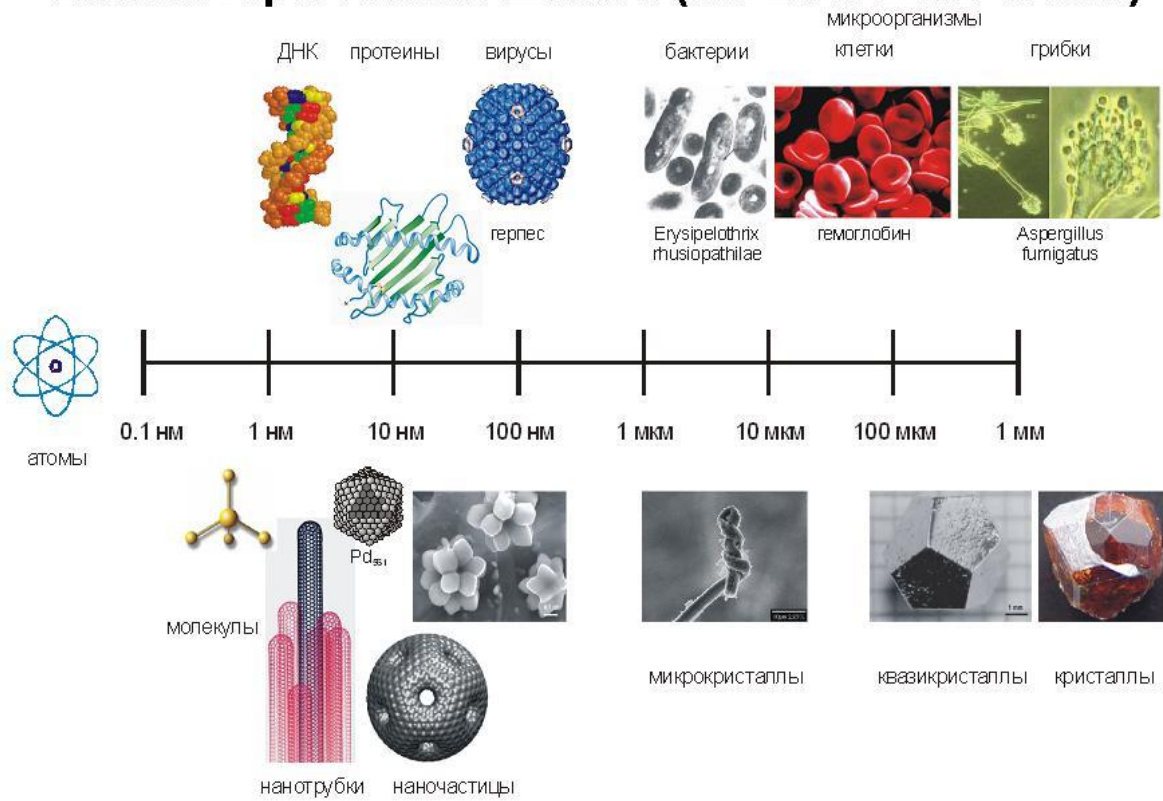
Электронный микроскоп – стандартный метод прямого наблюдения.

Вирусы бактериофаги атакуют бактерию
(увеличение x 40 000)



Бактериофаг - тип вируса, который атакует и заражает бактерии. Бактериофаг, показанный на рис. 12.2, имеет 40 нанометровую голову, прикрепленную к хвосту длиной 100 нм и 13 нм шириной. Длина бактерии на рисунке - 1600 нм, ширина - 360 нм.

Нанометрическая шкала (по В.Я. Шевченко)



<http://isc.nw.ru/Rus/department/lin.htm>

Оценка размеров биологических наноструктур

Существует множество способов оценки размерных параметров d основных биологических строительных блоков, то есть аминокислот, для белков и нуклеотидов для ДНК.

Если известна кристаллическая структура строительного блока, и кристаллографическая элементарная ячейка содержит n молекул, тогда можно разделить объем ячейки на n и взять кубический корень от результата для получения среднего размера:

$$d = \left(\frac{V_U}{n} \right)^{1/3}$$

Для вычисления плотности аминокислот и белков могут быть использованы их кристаллографические данные.

Для аланина, глицина, валина и воды они составляют

1,43, 1,607, 1,316 и 1 г/см³ соответственно.

Структура белков менее компактна, следовательно, для них характерны меньшие значения плотности ρ , чем для составляющих их аминокислот. Существует приближенное выражение, связывающее размер с молекулярной массой белка M_w :

$$d = 0.12(M_w)^{1/3}$$

Например, белок **гемоглобин** с молекулярной массой $M_w = 68\,000$ г/моль имеет характерный размер $d = 4,8$ нм, находящийся в пределах диапазона размеров наночастиц.

Если известен молекулярный вес белка и объем, определенный по данным электронной микроскопии, тогда плотность ρ (в г/см) может быть определена по формуле:

$$V = 0,001661 \frac{M_w}{\rho}$$

где M_w выражается в г/моль, а ρ - в г/см).

Другой распространенный путь определения размера биологической молекулы заключается в ее наблюдении в электронный микроскоп, который может обеспечивать изображения, полученные при различных ориентациях молекулы.

Таблица 12.1. Типичные размеры различных биологических объектов в нанометровом диапазоне

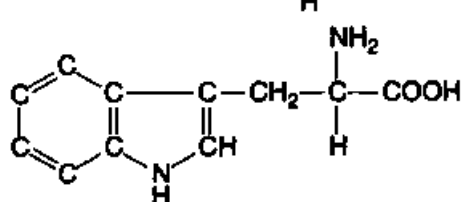
Тип	Вещество	M_w г/моль	Размер d , нм	
Аминокислоты	Глицин (наименьшая аминокислота)	75	0,42	
	Триптофан (наибольшая аминокислота)	246	0,67	
Нуклеотиды	Цитозин фосфат (наименьшая аминокислота ДНК)	309	0,81	
	Гуанин фосфат (наибольшая аминокислота ДНК)	361	0,86	
	Аденозин трифосфат (АТФ, источник энергии)	499	0,95	
Другие молекулы	Стеариновая кислота $C_{17}H_{35}CO_2H$	284	0,87	
	Хлорофилл растений	720	1,1	
Белки	Инсулин, полипептидный гормон	6000	2,2	
	Гемоглобин, переносчик кислорода	68000	7,0	
	Альбумин, белок яиц	69000	9,0	
	Эластин, конструкционное вещество клеток	72000	5,0	
	Фибриноген, свертывающий кровь	400000	50	
	Липопротеин, переносчик холестерина (сферич.)	1300000	20	
	Рибосома (в которой происходит синтез белка)		30	
	Гранулы гликогена в печени		150	
	Вирусы	Вирус гриппа		60
		Вирус табачной мозаики, длина		120
Бактериофаг T_2			140	

Таблица 12.2. Типичные размеры в микрометрах различных биологических объектов в мезоскопическом диапазоне

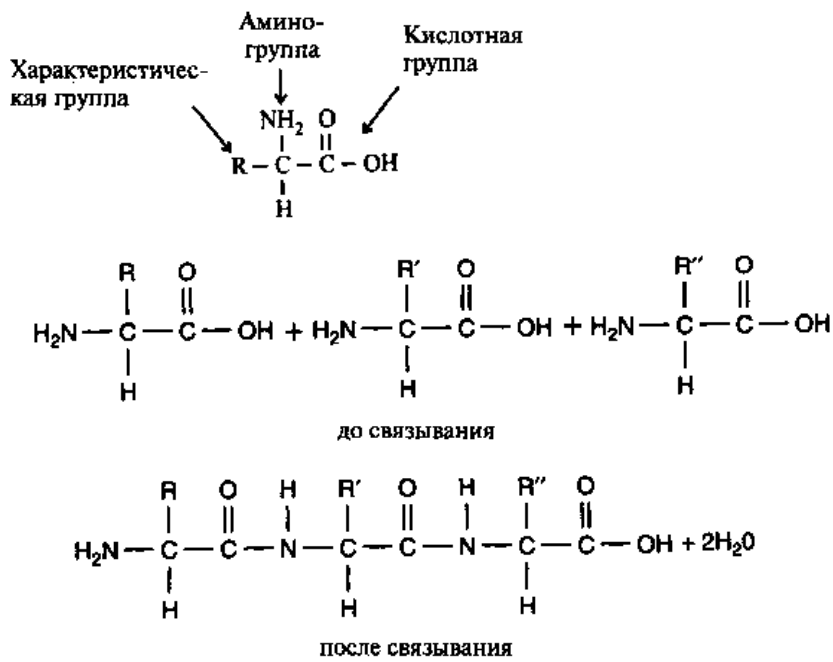
Тип	Объект	Размер d (мкм)
Органеллы (структуры в клетках, находящиеся вне ядра)	Митохондрия, где при дыхании образуется АТФ	0,5x0,9x3
	Хлоропласт, где происходит фотосинтез, длина	4
	Лизосома (пузырек с ферментами для переваривания макромолекул)	0,7
Клетки	Вакуоль амебы	10
	Бактерия <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>), длина	8
	Тромбоцит крови человека	3
	Лейкоцит (белое кровяное тело), сферич.	8 – 15
	Эритроцит (красное кровяное тело), диск.	1,5x8
Разное	Хромосома человека	9
	Связка в сухожилиях	50 – 300

Структура органических наночастиц

Аминокислоты

Название	Обозначение	M_r , г/моль; размер, нм	РНК-слова (кодоны)	Структура
Глицин	Gly	75.07 Da 0.42 нм	GGU GGA GGC GGG	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$
Аланин	Ala	89.09 Da 0.47 нм*	GCU GCA GCC GCG	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3\text{-C-COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Валин	Val	117.12 Da 0.54 нм	GUU GUA GUC GUG	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{C-C-COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{H} \end{array}$
Треонин	Thr	119.12 Da 0.54 нм	ACU ACA ACC ACG	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{CH}_3\text{-C-C-COOH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Лютамаг (Глутаминовая кислота)	GluN	147.13 Da 0.70 нм	GAA GAG	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C-COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Триптофан	Try	246.27 Da 0.90 нм	UGG	

Собираем белок из аминокислоты аланина посредством формирования пептидных связей:

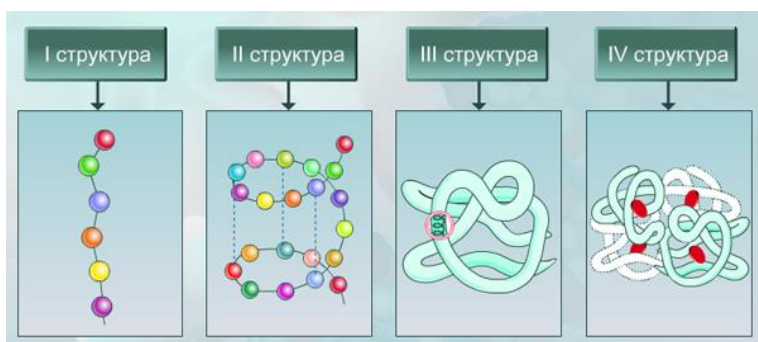


Гидроксогруппа (-OH) карбоксильной группы одной аминокислоты связывается с атомом водорода Н аминокислоты следующей аминокислоты с установлением С - N пептидной связи и освобождением молекулы воды. Выше показано образование трипептидной молекулы.

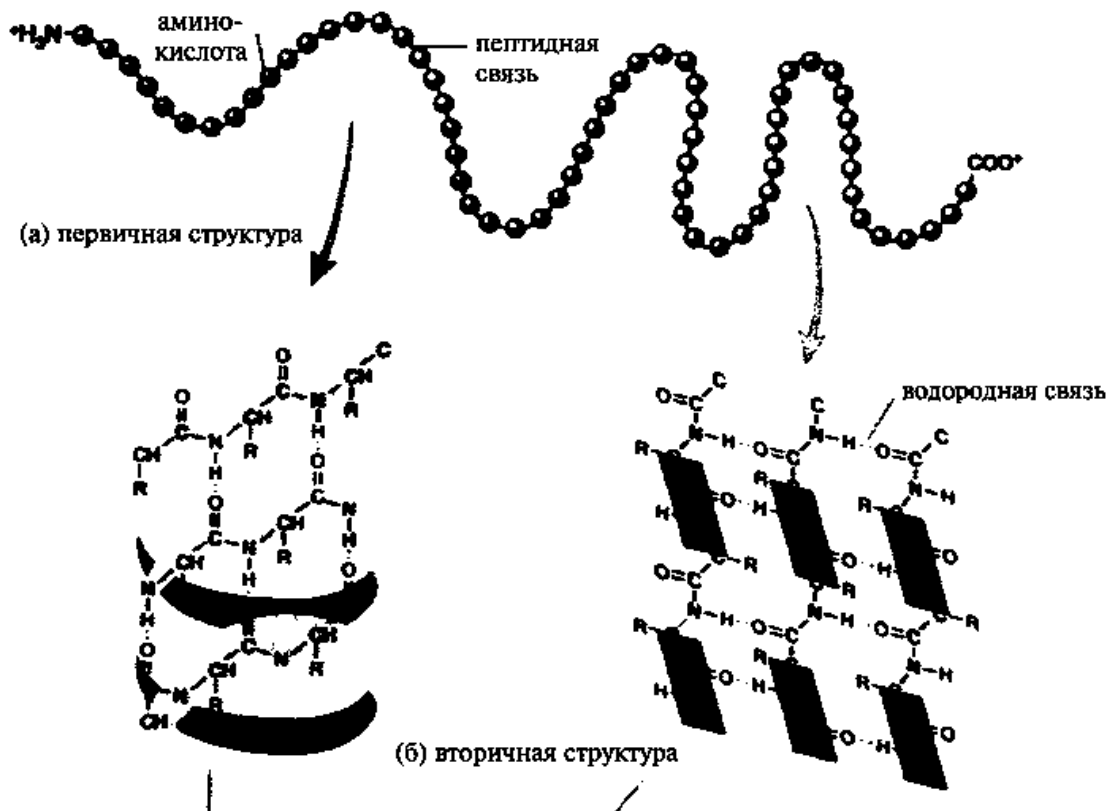
Типичный белок состоит из одной или нескольких очень длинных полипептидных молекул. Малые пептиды называются **олигопептидами**, а аминокислоты, включенные в полипептидные цепи, часто называют **аминокислотными остатками** для того, чтобы отличать их от свободных или несвязанных аминокислот.

Белок **гемоглобин**, например, имеет 4 полипептидных цепочки, каждая из которых содержит около 300 аминокислотных остатков.

Четыре уровня структуры белка:



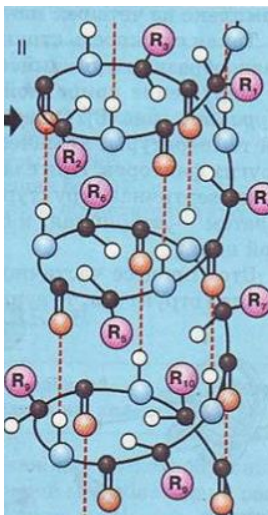
Уровни 1 и 2



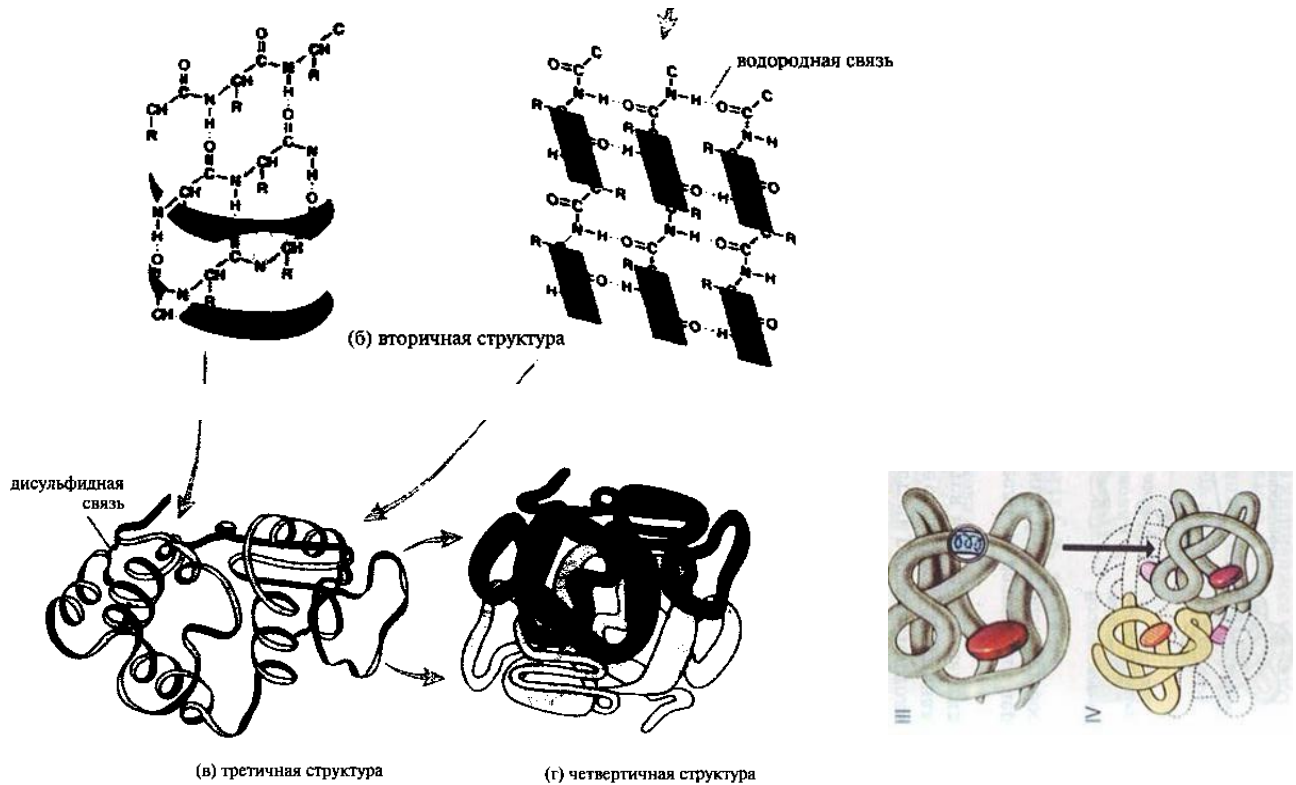
Вьюная полипептидная цепь называется **первичной структурой**.

Становясь более компактными локально, цепи или свиваются в так называемые **α -спирали**, или укладываются в плоскости, называемые **β -листами**, которые удерживаются водородными связями. Листы могут также называться нанопленками. Эти две конфигурации составляют то, что называется **вторичной структурой**.

α -спираль:



Уровни 3 и 4



Глобальная упаковка достигается **третичной структурой**, состоящей из последовательности скручиваний и поворотов отдельных сегментов, удерживаемых дисульфидными связями.

Если присутствует более одного полипептида, они располагаются друг относительно друга в четвертичной структуре. Этот тип упаковки типичен для глобулярных (сферических) белков.

Некоторые белки имеют глобулярную, другие - фибриллярную (продолговатую) форму.

Из двух нижних схем на рисунке видно, что третичная и четвертичная структуры не очень плотно упакованы, поэтому плотность белков ниже, чем плотность аминокислот в кристаллическом состоянии, как уже упоминалось выше.

В действительности часть пространства внутри молекулы белка, находящегося в цитоплазме клетки, содержит между скручиваниями и поворотами гидратные молекулы воды.

Виды белков

Белки – обязательная составная часть всех клеток. Роль белков в организме разнообразна.

Белки-гормоны участвуют в управлении всеми жизненными процессами организма, его ростом и размножением.

На сетчатке нашего глаза возникает изображение благодаря особому светочувствительному белку – **родопсину**.

Мы способны двигаться, потому что наши мышцы сокращаются и расслабляются благодаря белкам **актину** и **миозину**.

Все химические процессы в организме протекают при участии специальных белков-**ферментов**, без них невозможны пищеварение, дыхание, обмен веществ, свертывание крови.

При попадании в организм болезнетворных бактерий или ядов вырабатываются белки **иммуноглобулины**, нейтрализующие их вредное воздействие.

Белок **гемоглобин** с молекулярной массой 68000 г/моль состоит из четырех полипептидов, каждый из которых содержит последовательность из около 300 аминокислот и гем-молекулу ($C_{34}H_{32}O_4N_4Fe$). Атом железа в геме - это место присоединения молекулы O_2 к гемоглобину, переносящему кислород к тканям тела. Красное кровяное тело (эритроцит) содержит около 250 миллионов молекул гемоглобина, так что каждая такая клетка способна переносить около миллиарда молекул кислорода.

Коллаген составляет 21 - 50% всех белков в теле млекопитающих. Это главный компонент соединительной ткани, несущий нагрузку. Он обнаружен в хрящах, костях, сухожилиях, связках, коже и роговице глаза. Волокна коллагена образуются тройными спиралями белков, содержащих повторения трипептидных последовательностей **-Gly-Pro-Xxx-**, где аминокислота, обозначенная **Xxx**, обычно - пролин (Pro) или гидроксипролин (Hpro). Коллаген не может образовывать α -спираль.

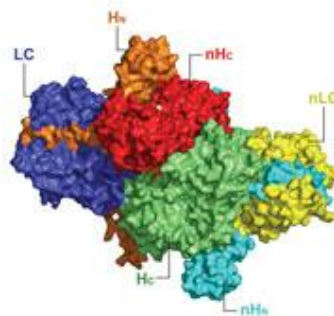
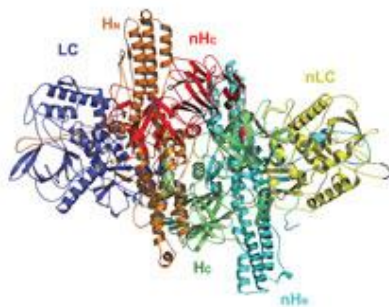
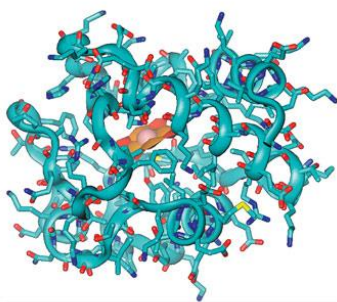
Многие свойства белка **эластина** аналогичны свойствам коллагена. Он обеспечивает упругость кожи, легких, сухожилий и артерий млекопитающих. Эластин имеет белок-предшественник называемый тропоэластином с молекулярной массой 72 кг/моль. Его структура состоит из повторяющихся олигопептидов - коротких полипептидов, содержащих от четырех до девяти аминокислотных остатков.

Что такое ферменты

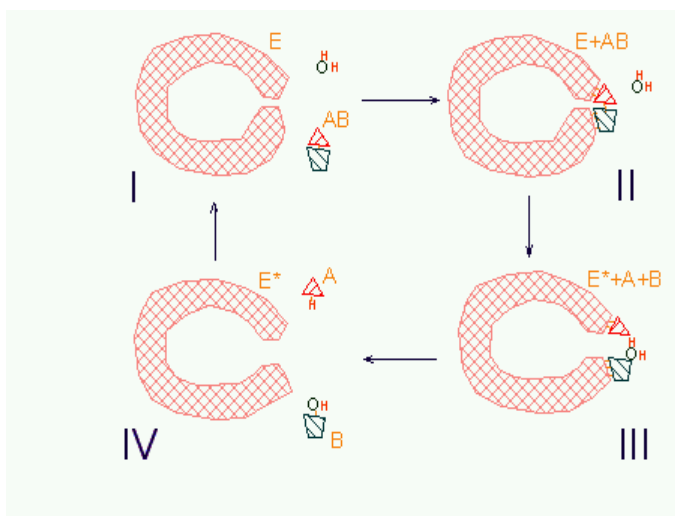
Ферменты – это белковые вещества, образуемые любой живой клеткой. Их можно определить как биологические катализаторы, т.е. как вещества, ускоряющие реакции без которых организм не смог бы поддерживать жизнь.



Substrate



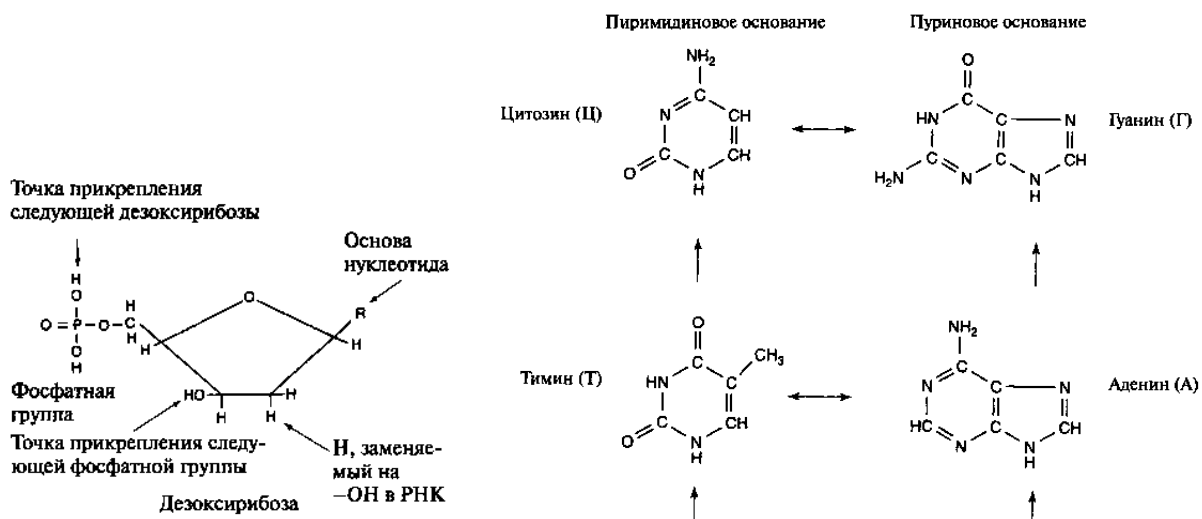
Работа фермента:



Нуклеотиды

Цепь каждого белка построена из свойственной только этому белку комбинации аминокислот. В молекуле ДНК содержится информация о структуре всех существующих в организме белков.

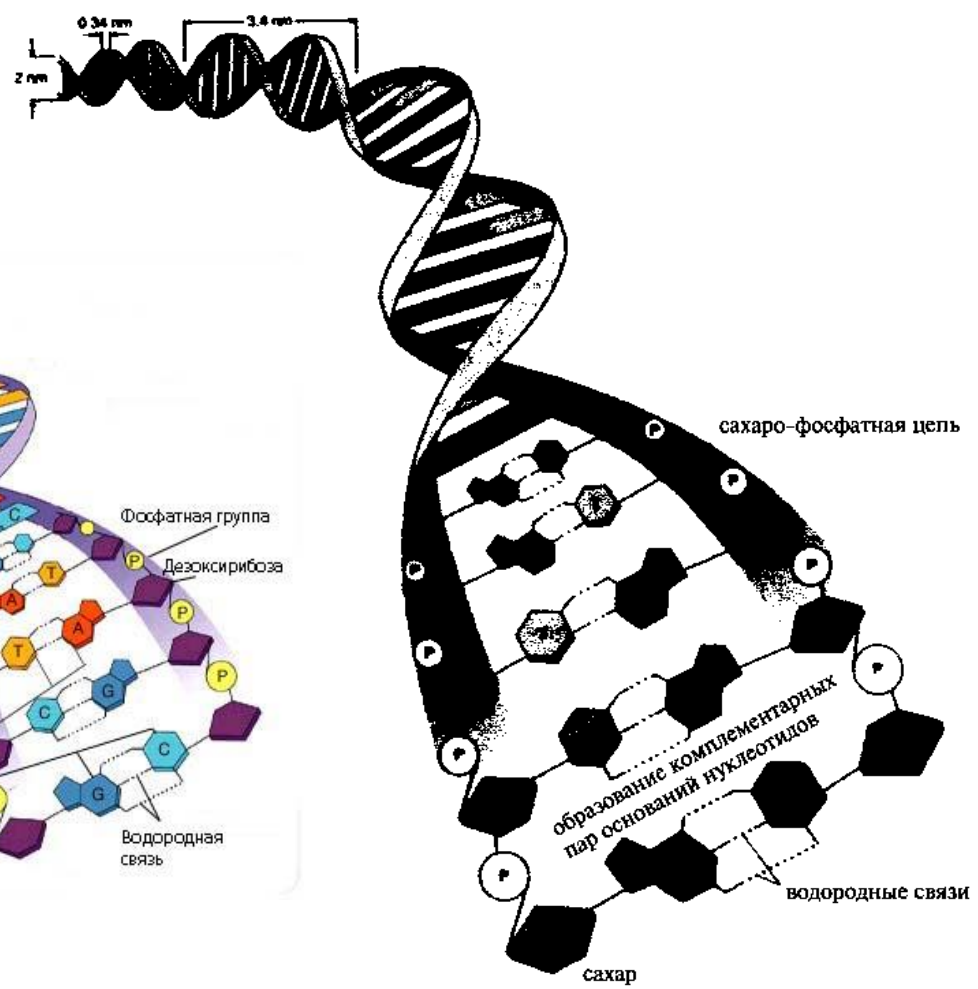
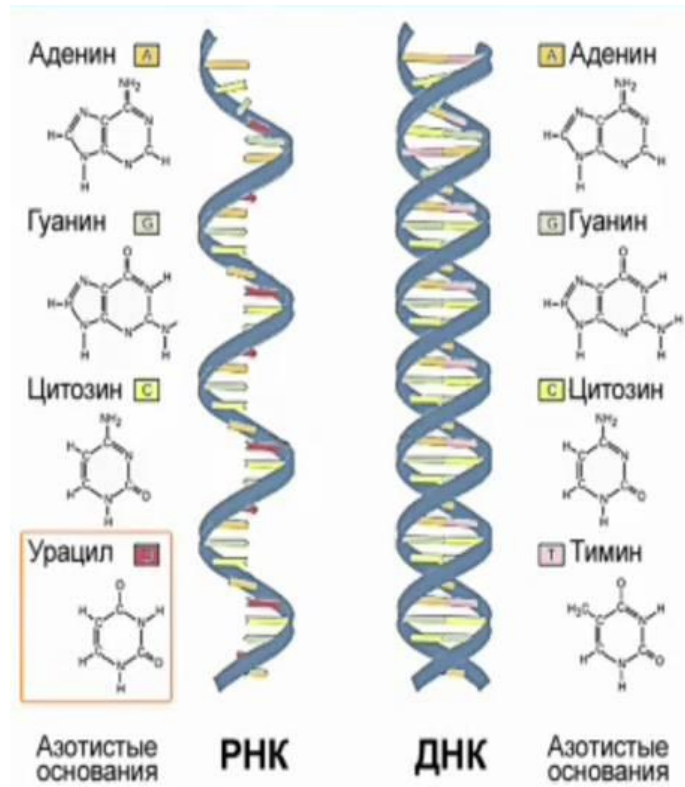
Основной строительный блок ДНК содержит пятичленное дезоксирибозное **кольцо сахара**, фосфатную группу ($-P_0_4H_2$) прикрепленную с одной стороны кольца, и основание нуклеиновой кислоты R, прикрепленное с другой стороны. Стрелками с левой стороны на левом рисунке показаны точки прикрепления других **нуклеотидов** при образовании сахарозно-фосфатной основы нити ДНК. Отметим, что молекулы основания нуклеиновых кислот и молекулы аминокислот имеют приблизительно одинаковые размеры.



Соединение нуклеотидов:

Точки прикрепления оснований к **сахарным кольцам** показаны вертикальными стрелками. Горизонтальными стрелками показаны точки образования связей между основаниями при образовании двойной спирали днк. Цитозин (Ц) может соединяться только с гуанином (Г), а тимин (Т) - с аденином (А). Кислотно-фосфатные и сахарозные группы соседних нуклеотидов образуют сахарозно-фосфатную основу нити ДНК, имеющей вид макроскопически длинной двойной спирали.

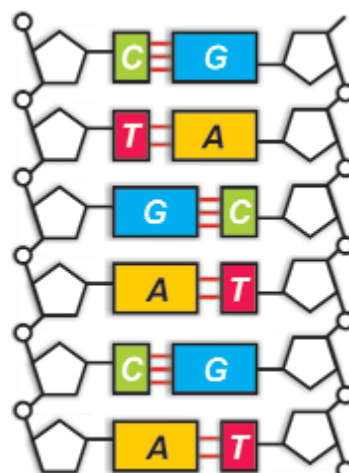
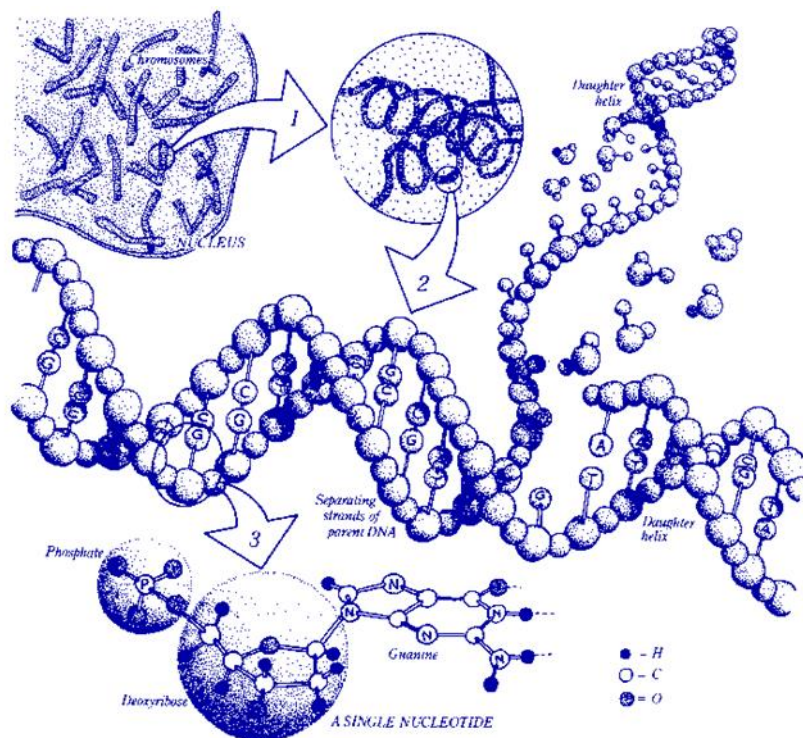
ДНК из нуклеотидов:



Размеры нуклеотидов около 0,84 нм (см. таблицу выше), что больше расстояния 0,34 нм между парами оснований.

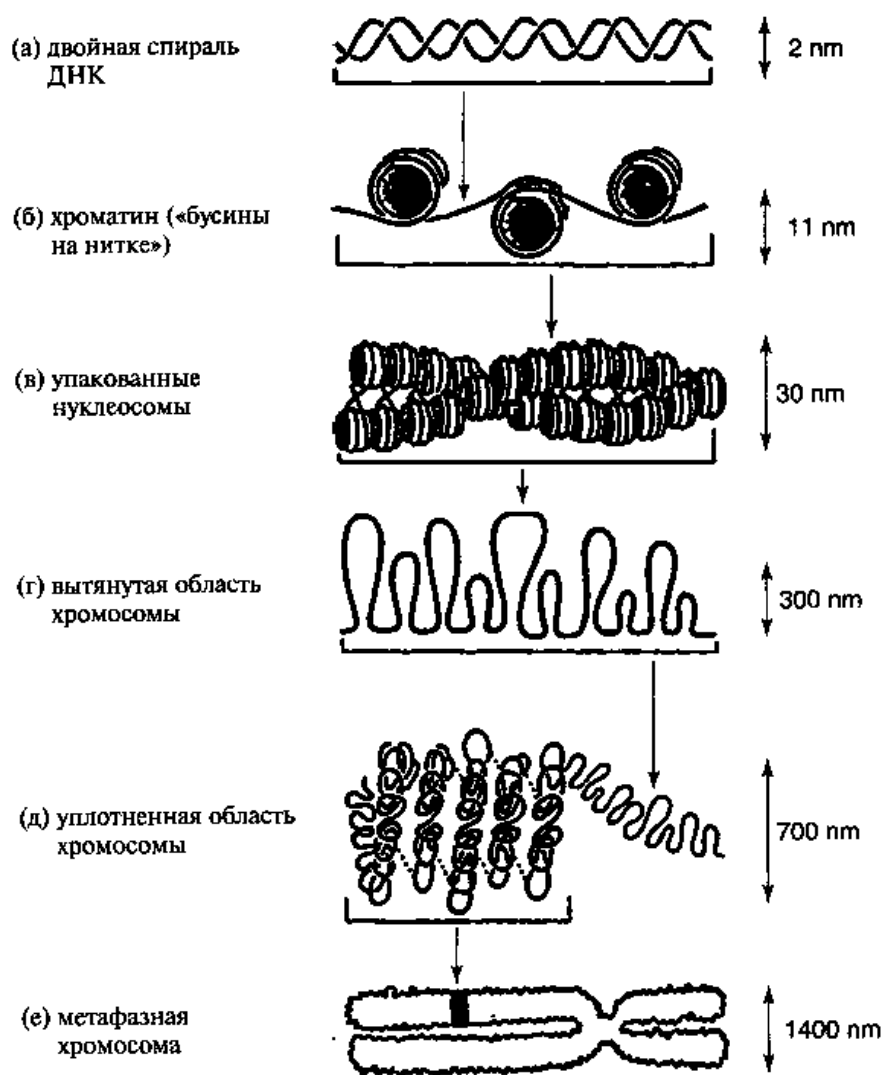
Пары нуклеотидов выстраиваются в длину между двумя сахарозно-фосфатными основными цепями ДНК, что задаёт расстояние между ними 2 нм.

Фиксированное расстояние между двумя цепями требует, чтобы маленькое пиримидиновое основание (одинарное кольцо) всегда соединялось с большим пуриновым основанием (двойное кольцо), а именно: цитозин - с гуанином, а тимин - с аденином.



Помещаем ДНК в клетку

Длина ДНК цепи (~ 2 метра) на много порядков величины больше, чем диаметр ядра человеческой клетки (~ 6 мкм). Для того, чтобы поместиться внутри ядра, молекула ДНК вынуждена складываться несколькими способами. Отрезки вытянутой двойной спирали ДНК, содержащие ~140 пар основ, сворачиваются вокруг группы молекул белков, называемых **гистонами**. В результате образуется то, что иногда называют «бусинами».



Гистоновые бусины имеют диаметр 11 нм и соединяются между собой отрезками двойной спирали ДНК.

Гистоновая бусина с намотанной на нее спиралью ДНК называется **нуклеосомой**, а вместе со связующим линейным отрезком ДНК - **хроматином**.

Связующие области ДНК обеспечивают большую гибкость последовательности нуклеосом, необходимую для дальнейших стадий упаковки.

На следующем иерархическом уровне упаковки нуклеосомы укладываются одна на другую, но так, что соседние принадлежат двум разным свитым между собой колонкам, соединенным отрезками звеньев ДНК. Теперь они образуют структуру хроматиновых волокон диаметром 30 нм - конфигурацию, названную «**упакованными нуклеосомами**».

Хроматиновые волокна затем подвергаются следующему уровню укладки в структуру толщиной 300 нм, которая затем складывается в **гиперукладку** толщиной 700 нм способом, показанным на рисунке.

На всех уровнях упаковки отдельные элементы удерживаются, по большей части, относительно слабыми водородными связями, что позволяет всей структуре частично или полностью разворачиваться для репликации во время деления клетки или для транскрипции во время образования молекул рибонуклеиновой кислоты (РНК), направляющих и осуществляющих синтез белков.

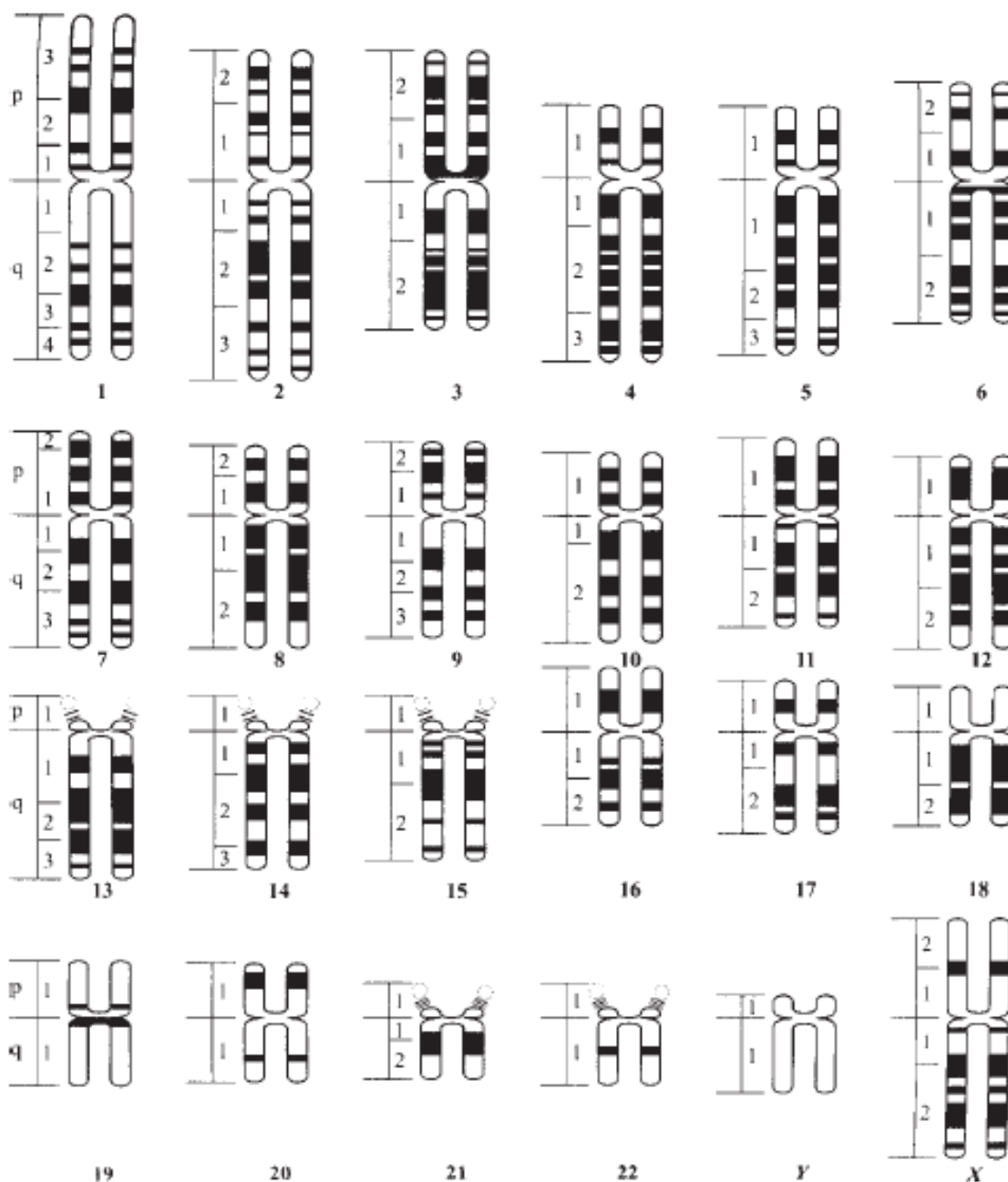
Окончательно упакованная структура метафазной хромосомы достаточно мала для того, чтобы уместиться внутри ядра клетки.

Геном

Отрезок молекулы ДНК, в котором содержится информация о последовательности аминокислот в одном белке, называется **ген**.

Геном - полный набор элементов наследственности, называемых **генами**, каждый из которых ответственен за индивидуальную структуру, признак или функцию в теле (например, цвет глаз).

Геном человека состоит из 46 хромосом (два гаплоидных набора из 23 хромосом), каждая из которых в среднем содержит около 1600 расположенных в ней генов. Человеческий гаплоидный геном содержит около 6×10^9 пар оснований, т.е. в среднем около 150×10^6 пар оснований на одну хромосому.

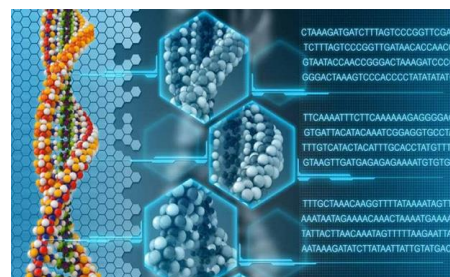


Информация в ДНК

Информация для синтеза белка из аминокислот содержится в ДНК в виде последовательности **трехбуквенных кодовых слов (кодонов)**, использующих четырехбуквенный алфавит: А, Ц, Г, Т, основанный на четырех основаниях нуклеиновых кислот аденина (А), цитозина (Ц), гуанина (Г), тимина (Т). Отдельным аминокислотам, которые связываются вместе при формировании белка, соответствуют свои кодовые слова. Одна из цепей ДНК, называемая кодирующей, хранит эту информацию, в то время как другая цепь пары, называемая дополнительной, не несет в себе полезной информации.

Так как в кодовом слове всего три буквы, а в алфавите - четыре, то возможны $4^3 = 64$ различных слов. Двум из двадцати аминокислот соответствует единственное слово. Для триптофана это слово в РНК - UGG. Другие аминокислоты имеют от двух до шести выделенных им слов. Три слова, а именно: UAA, UAG и UGA являются **стоповыми кодонами**, которые используются для указания конца спецификации набора аминокислот (поэтому кодовыми словами для аминокислот являются 61 слов из 64). В лингвистической терминологии все слова, соответствующие конкретной аминокислоте - **синонимы**, а при наличии синонимов в коде код называют **вырожденным**.

В настоящее время код ДНК расшифрован полностью, т.е. для каждой аминокислоты точно установлены кодирующие ее триплеты. **Карта генома** - это линейная схема расположения генов в хромосомах с указанием относительных расстояний между ними.



Килобаза - единица измерения длины молекулы ДНК, равная тысяче пар нуклеотидов. Существует всего четыре вида оснований и, соответственно, четыре вида их пар. Как известно из информатики, объект, имеющий 4 состояния, несет в себе 2 бита информации. Значит, 1 байт = 8 битам = 4 парам оснований. Получается, что одна килобаза соответствует 250 байтам, а во всей ДНК человека заключено около 750 Мб информации, что соответствует емкости современного компакт-диска! У лабораторной мыши тоже 750 Мб, то есть, с точки зрения объема наследственной информации, человек не отличается от мыши!

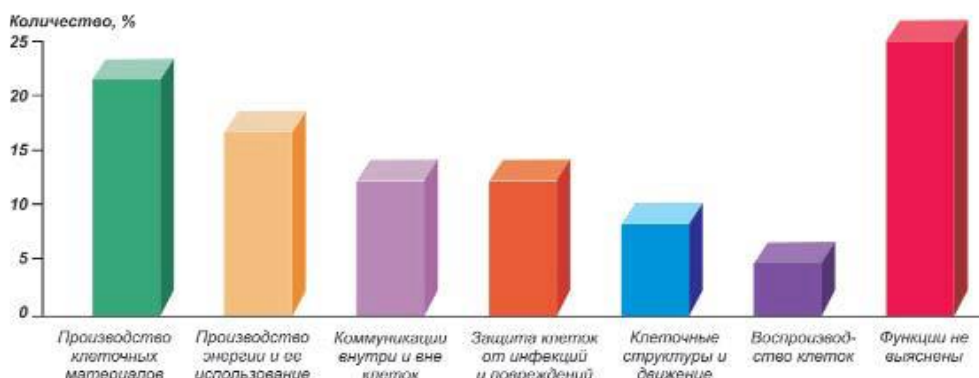
Созданы международные банки данных, содержащие расшифрованные геномы разных организмов, и любой специалист может воспользоваться собранной там информацией.

В основе расшифровки генома лежит сложный процесс, называемый секвенированием (от англ. sequence – последовательность). Он базируется на механизме “разрезания” ДНК посредством рестриктаз. Грубо говоря, сначала ДНК “шинкуется” на кусочки, каждый из них анализируется по отдельности, и затем воссоздается первоначальная структура. Это так называемые методы «первого поколения». Однако в процессе реализации проекта «Геном человека» было разработано множество других, более мощных методов.

Невероятно, но 99% человеческого генома было расшифровано всего за 12 лет! На рисунке изображен график динамики процесса секвенирования ДНК по годам, сопровождающийся развитием науки и техники. Так что скоро люди начнут получать свой генетический «паспорт» прямо в роддоме.



Оказалось, что больше всего генов предназначено для формирования и поддержания активности мозга (3195), а меньше всего – для создания эритроцитов (8).



Синтез белка с помощью ДНК

При синтезе конкретного белка определенный сегмент молекулы ДНК раскручивается и происходит **транскрипция**: участок двойной спирали, который хранит кодовые слова для этого белка, выступает шаблоном для синтеза однонитевой молекулы **РНК-посредника** (иРНК). При **транскрибировании кода** каждая нуклеотидная основа ДНК заменяется комплементарным основанием в РНК (вместо тимина в иРНК присутствует **урацил**).

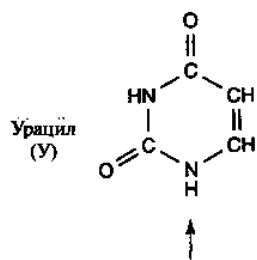
Таким образом при транскрипции происходит перезапись кодовых слов с заменами по схеме:

A → У

Ц → Г

Г → Ц

Т → А

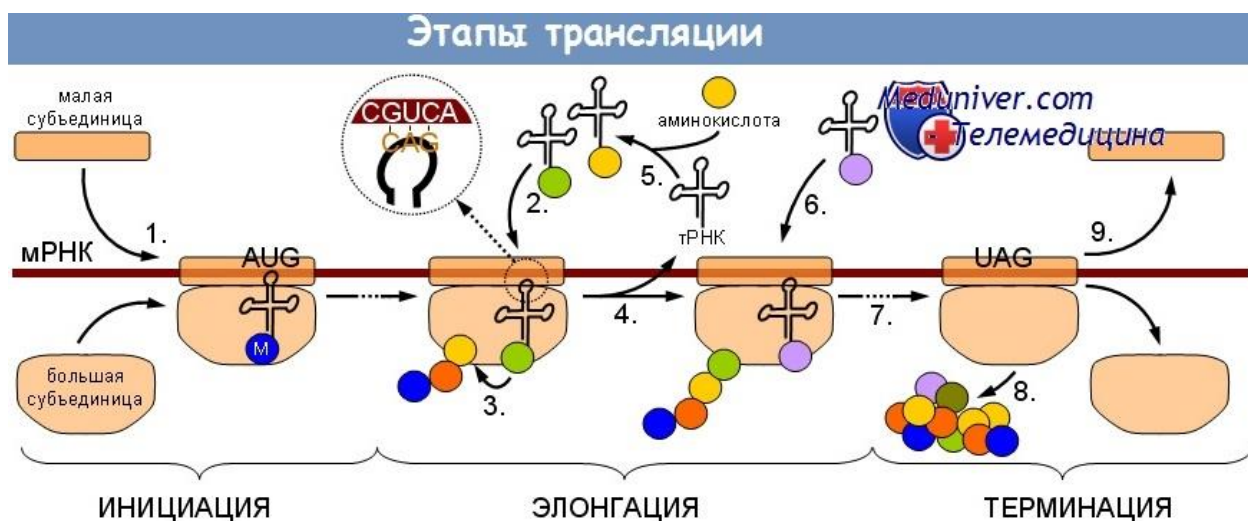


Последовательность трёхбуквенных кодонов в иРНК задает последовательность, в которой соответствующие аминокислоты объединятся в синтезируемый белок.

Так как ДНК содержит кодовые слова для тысяч белков, а иРНК - только для одного, молекула иРНК мала по сравнению с ДНК и является всего лишь короткой нанопроволокой.

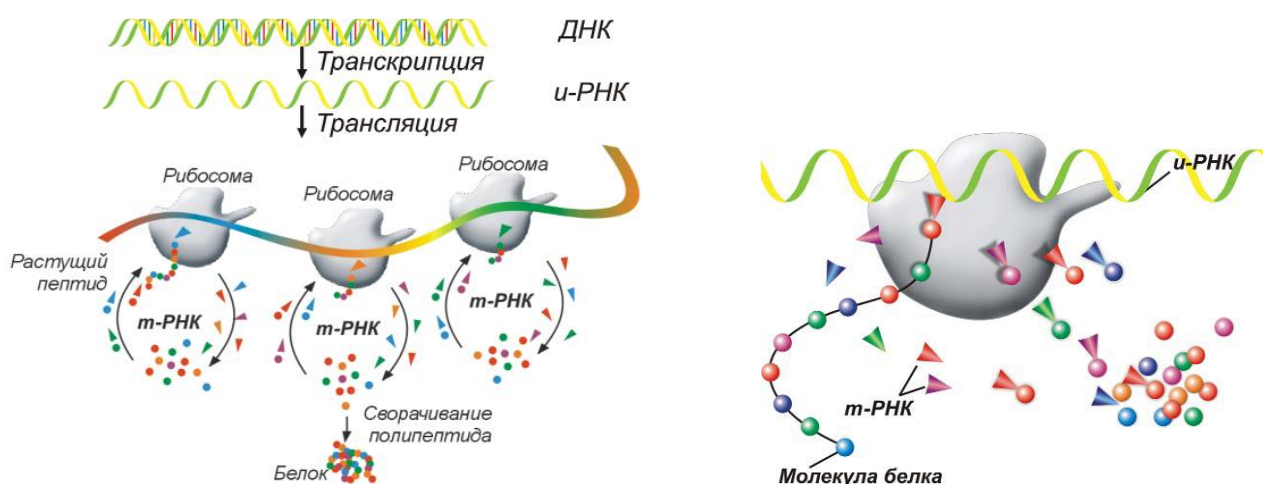
По мере движения иРНК-полимеразы по матрице впереди неё происходит расплетание, а позади — восстановление двойной спирали ДНК.

Транскрипция состоит из стадий инициации, элонгации и терминации:

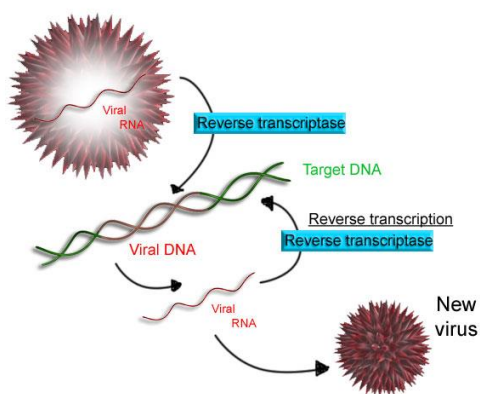


Существует ряд экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что транскрипция осуществляется в так называемых **транскрипционных фабриках**: огромных, по некоторым оценкам, до 10^7 а.е.м. комплексах, которые содержат около 8 РНК-полимераз.

Молекула иРНК переносит (**транслирует**) сообщение о последовательности аминокислот из ядра клетки (где имеет место транскрипция с ДНК) к наночастицам, называемым **рибосомами** и находящимися в цитоплазме вне ядра (где и происходит синтез белков с участием ещё одного типа РНК - мРНК, которая подвозит аминокислоты в рибосому). Множество дополнительных белковых наночастиц, называемых **ферментами**, выступают катализаторами процессов белкового синтеза.

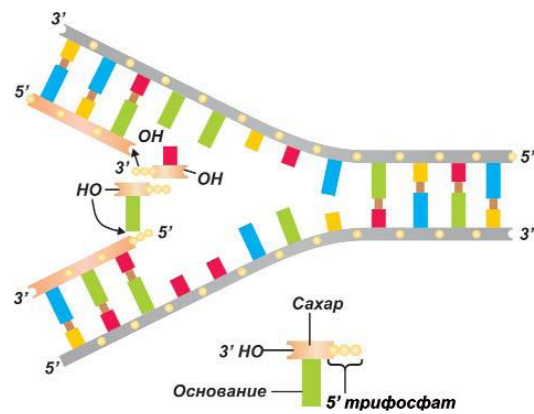


Некоторые **вирусы** (такие как вирус иммунодефицита человека, вызывающий ВИЧ-инфекцию), имеют возможность транскрибировать РНК в ДНК. ВИЧ имеет РНК-геном, который встраивается в ДНК клетки-хозяина.



Генетическая бессмыслица возникает и при выпадении одного нуклеотида из гена - последовательность слов радикально меняется! Белок, считываемый с такого испорченного гена, может привести к серьезным генетическим заболеваниям организма (болезнь Дауна, серповидноклеточная анемия, сахарный диабет, мышечная дистрофия и т.д.).

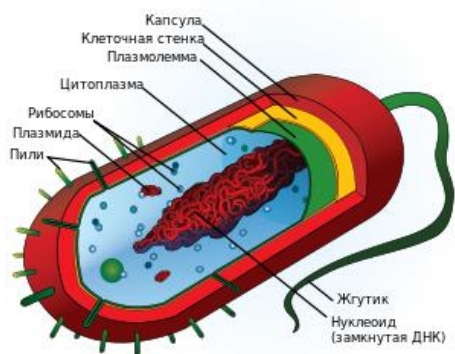
Репликация ДНК



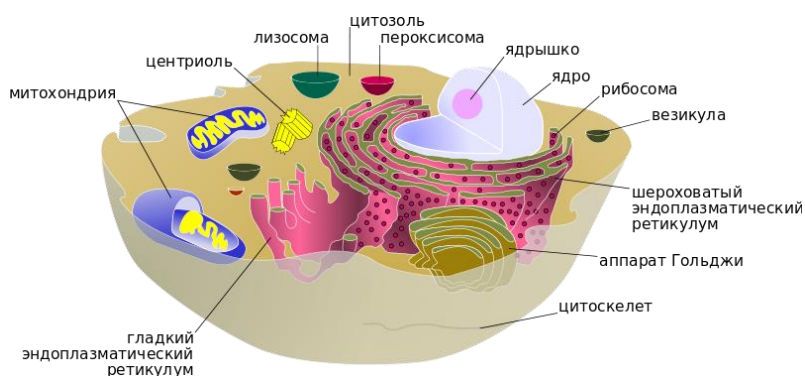
Механизм репликации ДНК: двойная спираль расплетается с образованием двух репликативных вилок, на каждой из которых начинается встречный синтез второй нити. В этом процессе принимает участие специальный белок – ДНК-полимераза, который, проходя вдоль нити материнской ДНК, последовательно считывает нуклеотиды и строит на их основе вторую нить (по принципу комплементарности).

Биоэнергетика

Прокариоты – безъядерные организмы, к которым относятся **бактерии** и синезеленые водоросли (цианобактерии).



Эукариоты имеют четко оформленное ядро с оболочкой, отделяющей его от цитоплазмы. К ним относятся грибы, растения и животные.

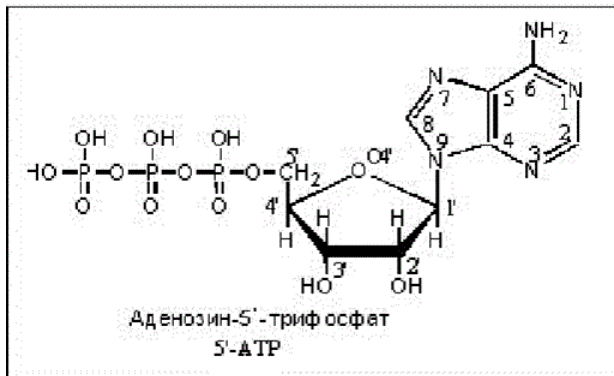


Типичный **прокариот** включает следующие основные подсистемы:

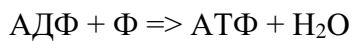
1. геном (инструкция по сборке РНК и белков);
2. механизм репликации ДНК (производство её новых копий);
3. рибосомы (синтез белка);
4. цитозоль (внутренняя полужидкая среда клетки);
5. мембрана (взаимодействие с внешней средой и синтез АТФ16).

Мембрана содержит механизмы переноса веществ: субстратов – внутрь клетки, а продуктов ее жизнедеятельности – наружу. Поступающие из внешней среды субстраты в результате электрохимических преобразований расходуются на синтез необходимых клетке соединений, в т. ч. **универсальных переносчиков энергии (АТФ)**.

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота – это молекула, которая обеспечивает клетку энергией, она содержит **макроэргическую связь**.



Реакция её синтеза из аденозиндифосфата и фосфата:



На образование **макроэргической связи** ($\text{АТФ}=\text{АДФ}\sim\text{Ф}$) затрачивается 30,6 кДж/моль.

При её разрыве эта энергия освобождается, переходя в тепловую-кинетическую. В то же время в процессе окисления, образуются ионы H^+ и OH^- , а отрицательно заряженный фосфат гидратируется, т.е. покрывается «шубой» из молекул воды. **В этой шубе и сидит энергия, необходимая клетке.**

В результате кинетического толчка ионы H^+ выбрасываются из митохондрий через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство (сам по себе H^+ не может проникнуть через мембрану, так как она непроницаема для заряженных частиц), а OH^- остается внутри митохондрии. В результате на границе-мембране (толщина мембраны не превышает 10 нм) возникает разница концентраций H^+ (то есть кислотности среды ΔpH) и разница электрического потенциала ($\Delta\phi$) который на мембране митохондрий достигает 200 мВ (у митохондрий 2 мембраны, причем внешняя такой важной роли, как внутренняя, не играет). Электрохимический потенциал на мембране митохондрий – универсальная форма запасаения энергии клеткой.

Электрохимический потенциал на мембране состоит из химической и электрической компонент: $\Delta\mu_n = \Delta\text{pH} + \Delta\phi$.

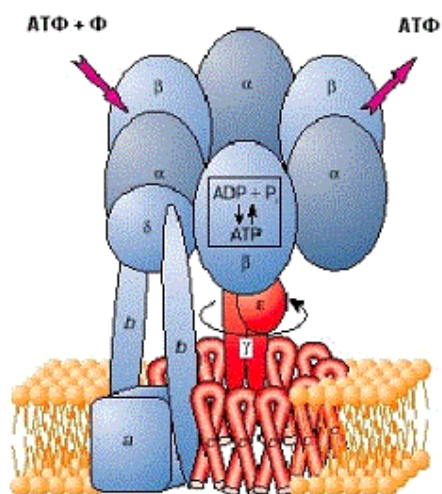
Синтезом АТФ занимается молекулярная машина, которая называется **АТФ-синтаза**. Она состоит из двух частей.

Первая часть называется F₀. Она погружена в мембрану и представляет собой протонный канал, по которому протон H⁺ может попасть внутрь митохондрии (падая в поле электрического потенциала и разгоняясь). Но попадает он внутрь с потерей энергии, которую забирает у него вторая часть молекулярной машины F₁.

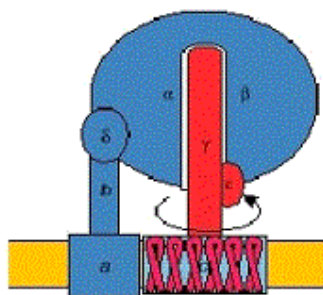
F₁ торчит внутрь митохондрии и использует энергию проходящих через F₀ протонов для того, чтобы аденозиндифосфат соединился с фосфатом посредством макроэргической связи и образовал молекулу АТФ: $\text{АДФ} + \text{Ф} \Rightarrow \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O}$.

Причём, прежде всего для синтеза АТФ совершается работа механическая: в АТФ-синтазе крутится белковая структура, которая состоит из двух частей – статора (рис. ниже помечено синим цветом), и ротора (обозначен красным).

Строение АТФ-синтазы



Ансамбль α и β субъединиц имеет размер 8 нм в высоту и 10 нм в диаметре



Статор состоит из трех альфа субъединиц и трех бета субъединиц, которые занимаются синтезом АТФ. В собранном состоянии все вместе эти субъединицы по форме напоминают слегка приплюснутый шар 8 нм в высоту и 10 нм в диаметре.

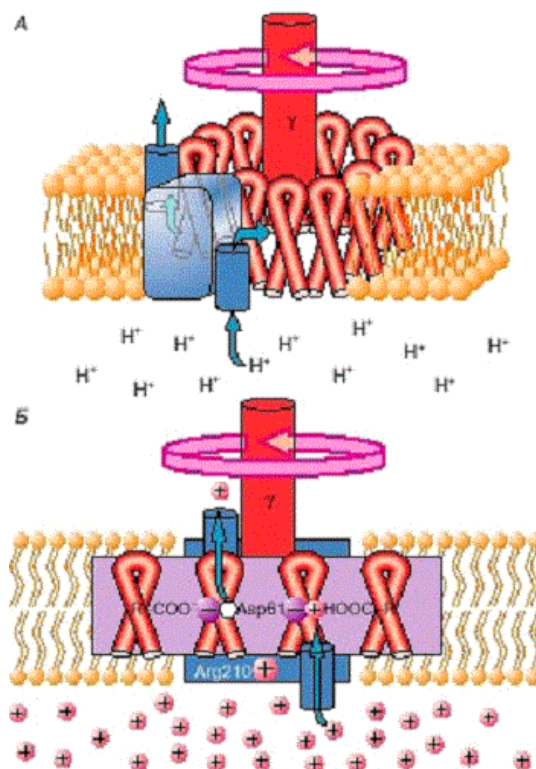
Условия, в которых находятся молекулы АДФ и Ф в этом каталитическом центре, существенно отличаются от условий протекания реакции в водной среде, благодаря чему образование молекулы АТФ в активном центре фермента может происходить энергетически "бесплатно". Энергия "падающих" протонов тратится потом на то, чтобы «выпихнуть» АТФ из активного центра центробежными силами, отцепить его от каталитической субъединицы.

К статору примыкает дельта субъединица. Здесь же есть опора **b**, которая «якорит» всю систему в мембране.

Вращающаяся часть машины (ротор) состоит из γ и ϵ субъединиц. Эта конструкция погружена в структуру, сделанную из одинаковых белков, они обозначаются буквой **c** (красные молекулы-петельки).

Статор держится в мембране, а ротор крутится. Энергия пролетающего через мембрану протона используется на то, чтобы разочек прокрутить ротор этой машины.

В середине статора имеется белок, который образует проход для протона. Но этот канал не сплошной (если бы был канал, который пронизывал всю мембрану насквозь, то из-за разницы потенциалов все протоны потекли бы внутрь митохондрии, и произошла бы деэнергетизация мембраны, т.е. она бы разрядилась). Канал состоит из двух **полуканалов**, которые смещены одна относительно другой (две синих трубочки на рис. снизу).



Протон проваливается через полуканал с наружной стороны митохондриальной мембраны, сваливается на подставленную ему аминокислоту ротора и **протонирует** её (можно сказать заряжает позитивом). Этот заряженный конец аминокислоты тянется ко створу полуканалу, где его поджидают отрицательно заряженные ионы, заставляя ротор вращаться.

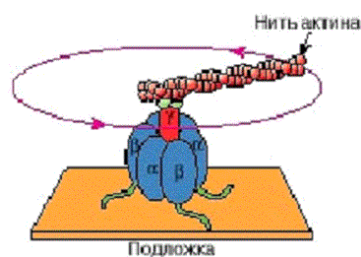
Таким образом, за счет электрохимического потенциала на внутренней мембране митохондрий внутри клетки или митохондрий совершается механическая работа, сопряженная с химическим синтезом.

За объяснение ферментативного механизма, лежащего в основе синтеза АТФ, два исследователя Пол Д. Бойер (США) и Джон Э. Уолкер (Великобритания) в 1997 году получили Нобелевскую премию.

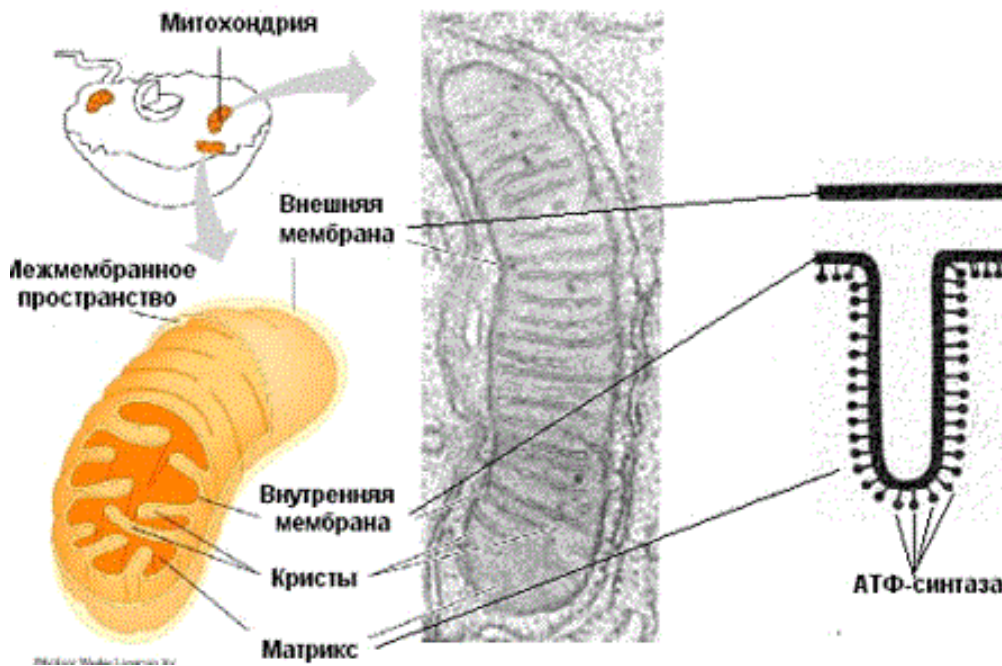
Эксперимент-доказательство:

Отметим, что молекулярная машина работает в обе стороны: если течет протонный ток с наружной стороны мембраны внутрь, то статор синтезирует АТФ, а если протонного потенциала нет, но с внутренней стороны машины прибегает АТФ, то она начинает «выкачивать» из клетки протоны, создавая протонный потенциал.

Для того, чтобы доказать, что в АТФ синтазе вращается часть машины, F1 фрагмент перевернули и прикрепили к неподвижной подложке, а к гамма-субъединице навесили искусственным образом нить актина (длинный белок), помеченную флуоресцентной меткой, так что её можно было увидеть в микроскоп. Затем подали к этой системе энергию в виде АТФ, и оказалось, что при наличии АТФ гамма субъединица начала крутиться. Все это сняли на пленку. Было видно, как крутится флуоресцентная метка на актиновом хвостике.



Возникнуть этот мотор должен был более трех миллиардов лет назад.



На рисунке представлен срез митохондрии. Внутри содержится матрикс и выросты – кристы (складки), на которых и расположена АТФ-синтаза. Складки нужны, чтобы увеличить площадь поверхности, то есть энергетическую ёмкость клетки. Количество складок зависит от того, насколько интенсивно клетке приходится работать. Например, митохондрии в клетках печени имеют гораздо меньше крист, чем в клетках сердца.

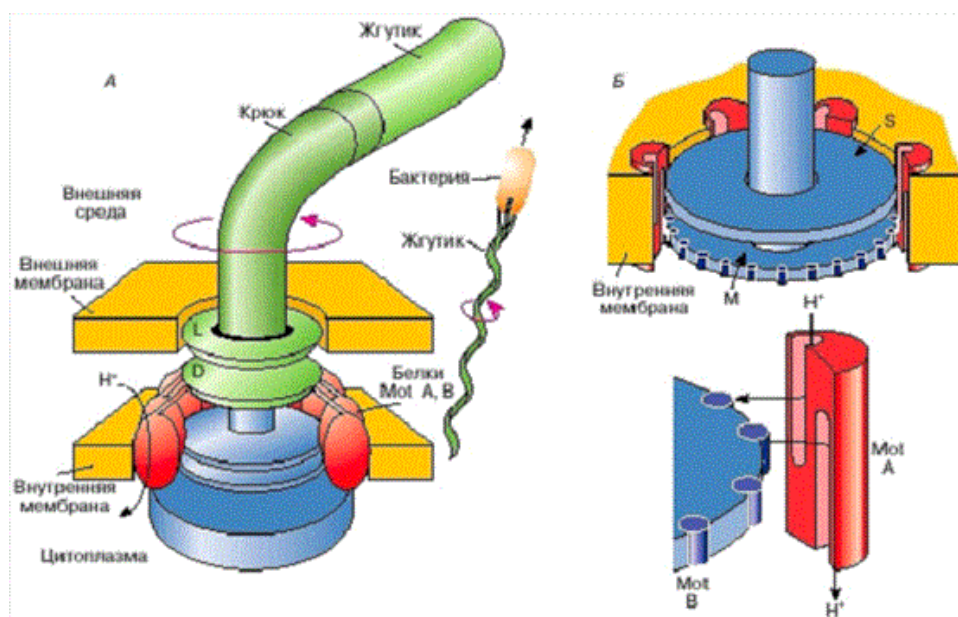
Отметим, что в хлоропластах происходит точно такой же процесс синтеза АТФ, как и в митохондриях. Там также работает АТФ-синтаза, но источником протонного потенциала является энергия света. Складки хлоропластов тилакоидами, но они вывернуты наизнанку!

Энергию и «стройматериалы» клетки получают в результате переработки поступающих извне веществ. Энергия образуется в результате расщепления сложных веществ – **катаболизма**, а строительные блоки – в результате синтеза, **анаболизма**. Катаболизм и анаболизм представляют собой две основные части **метаболизма** – обмена веществ. В качестве сложных веществ (**субстратов**) используются, в основном, различные углеродсодержащие соединения – глюкоза, крахмал, спирты и органические кислоты, углекислота, метан, парафины и т.д.

Жгутик - молекулярный мотор

Около половины известных видов бактерий на поверхности имеют органы движения - волнообразно изогнутые жгутики. Наличие жгутиков зависит от условий внешней среды: на твердых средах при длительном культивировании бактерии могут утратить жгутики, а на жидких — вновь приобрести.

Масса жгутиков составляет до 2 % сухой массы бактерии. Длина жгутика больше длины тела микроорганизма и составляет 3 – 12 мкм. Толщина жгутика 0,02 мкм. У некоторых видов бактерий жгутик снаружи дополнительно покрыт чехлом.



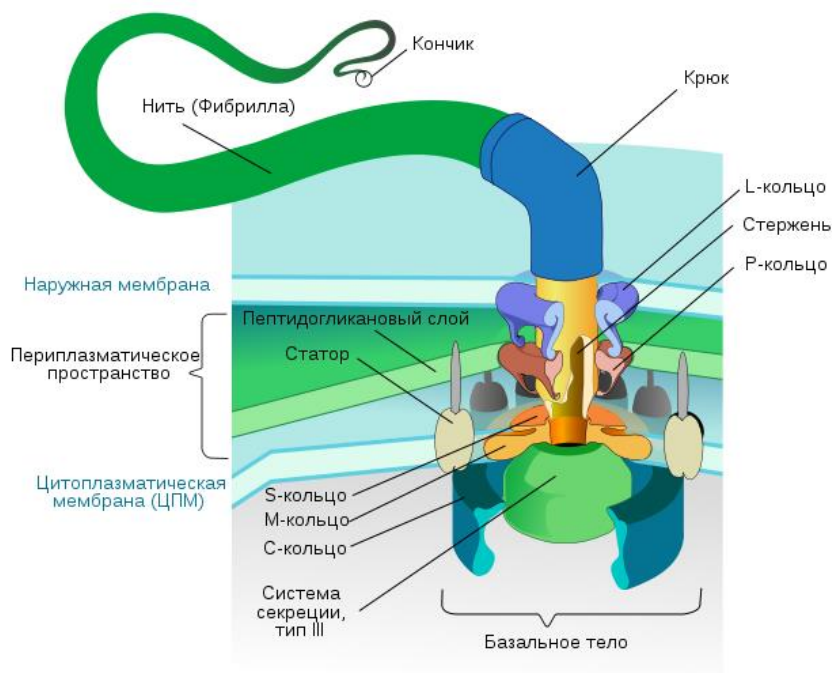
Для того, чтобы жгутик вращался, в его основании находится так называемое базальное тело, которое представляет собой электромотор. Его задача заключается в том, чтобы крутить прикрепленный к ротору жгутик (на рисунке сверху: статор - синий, ротор - зеленый). Также как и в АТФ-синтазе, здесь имеются два протонных полуканала и принцип вращения такой же: зарядка-перезарядка группы COOH в аминокислотах. Число протонов, которые должны «провалиться» в канал за время одной прокрутки жгутика, порядка тысячи. При этом жгутик может совершать более 200 колебаний в секунду.

Жгутики состоят из белка флагеллина. В составе жгутика имеется либо одна гомогенная белковая нить, либо 2–3 нити, плотно свернутые в косу.

Нить жгутика - жесткая спираль (фибрилла), закрученная против часовой стрелки. Это жесткий полый цилиндр диаметром около 120 нм, состоящий из белка флагеллина. По длине

нити белковые молекулы образуют 11 рядов и уложены в виде спирали. Шаг спирали специфичен для каждого вида бактерий.

В процессе роста нити белковые молекулы, синтезированные внутри клетки, проходят через полость цилиндра и пристраиваются в спираль на её конце. На конце жгутика имеется белковая шапочка (крышечка), закрывающая отверстие цилиндра и препятствующая выходу молекул белка в окружающую среду.



У поверхности КС спиральная нить переходит в утолщенную изогнутую структуру — крюк. Крюк (толщиной 20 – 45 нм) вблизи поверхности клетки - относительно короткий цилиндр, состоит из белка, отличающегося от флагеллина, и служит для обеспечения гибкого соединения нити с базальным телом.

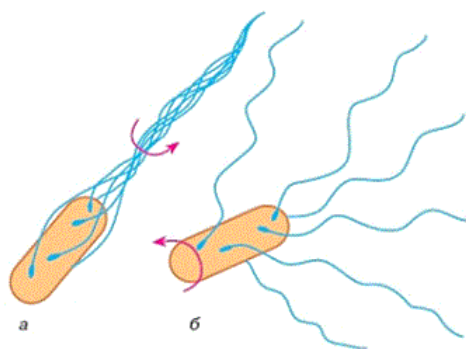
Базальное тело находится в основании жгутика и обеспечивает его вращение. Оно содержит 9 – 12 различных белков и состоит из двух или четырех дисков (колец), нанизанных на стержень, являющийся продолжением крюка.

Эти кольца вмонтированы в цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку. Два внутренних кольца (M и S) — обязательные составные части базального тела. M-кольцо локализовано в ЦПМ, S-кольцо располагается в периплазматическом пространстве грамотрицательных или в пептидогликановом мешке грамположительных бактерий. Два наружных кольца (D и L) необязательны для движения, так как имеются только у грамотрицательных бактерий,

локализованы соответственно в пептидогликановом слое и в наружной мембране клеточной стенки. Кольца S, D и L неподвижны и служат для фиксации жгутика в клеточной стенке. Вращение жгутика определяется вращением M-кольца, встроенного в цитоплазматическую мембрану клетки. Особенности строения базального тела жгутика определяются строением клеточной стенки.

Функционально базальное тело представляет собой электромотор, работающий на протонах. M-кольцо базального тела (вращающийся ротор), окружено мембранными белками, имеющими отрицательные заряды (статор мотора). Бактериальная клетка обладает эффективным механизмом, позволяющим превращать электрохимическую энергию в механическую. Поэтому на работу жгутика бактерия тратит около 0,1 % всей расходуемой ею энергии. При работе жгутика используется протондвижущая сила, которая обеспечивается разностью концентраций протонов на внешней и внутренней сторонах мембраны (на внешней стороне их больше) и наличием более отрицательного заряда на внутренней стороне мембраны. Протондвижущая сила заставляет протоны проходить через базальное тело внутрь клетки, при этом они задерживаются на определенных участках ротора, придавая им положительный заряд, затем протоны уходят внутрь клетки. Заряженные участки расположены таким образом, что возникает сила притяжения между заряженными участками ротора и статора, M-кольцо начинает вращаться со скоростью около 300 об/с. Механизм вращения: зарядка–перезарядка группы COOH в аминокислотах. Для полного оборота кольца через базальное тело должно пройти 500–1000 протонов. Вращение M-кольца через жестко связанную с ним ось и крюк передается нити жгутика, которая функционирует как пропеллер или корабельный винт. Бактерия плавает до тех пор, пока работает винт, вклад инерции исключительно мал.

Тип движения жгутиков — вращательный. Существуют два вида движения: прямолинейное и кувыркание (периодические случайные изменения направления движения). Когда жгутики вращаются против хода часовой стрелки (около 1 секунды), с частотой 40–60 об./с (близко к скорости среднего электромотора), их нити сплетаются в единый жгут (рис. 9а). Вращение жгутиков передается клетке. Так как клетка намного массивнее жгутика, она начинает двигаться по прямой в противоположном направлении, со скоростью в 3 раза меньшей, чем скорость движения жгутика.



Расположение жгутиков на клетке кишечной палочки при их вращении против часовой стрелки (а) и по часовой стрелке (б)

Так обеспечивается поступательное движение клетки, скорость которого в жидкой среде для разных видов бактерий составляет 20–200 мкм/с (это соответствует примерно 300–3000 длин тела в минуту) и более медленное перемещение по поверхности твердых сред.

Если бактерия перемещается в сторону оптимальной концентрации аттрактанта, жгутики проталкивают клетку через среду, ее прямолинейное движение становится более длительным, а частота кувырканий более низкой, что позволяет ей в конечном итоге перемещаться в нужном направлении.

Движущая сила	Электрохимический градиент (протонный H ⁺ или натриевый Na ⁺)
Число протонов на оборот	~ 1000
Энергия, освобождаемая на	~ 2,5 × 10 ⁻²⁰ Дж
Максимальная скорость	300 Hz (протоны) 1700 Hz (ионы Na ⁺)
Torque at stall	~ 4 × 10 ⁻¹⁸ Нм
Максимальная мощность	~ 10 ⁻¹⁵ Вт
К.П.Д.	50-100% (stall) ~ 5% (swimming cell)
Число шагов ротора на оборот	~ 50

Торможение жгутиков осуществляют некоторые виды белков. Например, было доказано, что белок EpsE может функционировать, как сцепление, отключающее одну движущуюся часть от другой.

Скольжение бактерий. Способность к скольжению с небольшой скоростью (2–11 мкм/с) по твердому или вязкому субстрату обнаружена у некоторых прокариот, напр., микоплазм. Существуют несколько гипотез, объясняющих скользкое движение. Согласно гипотезе реактивного движения оно обусловлено выделением слизи через многочисленные слизевые

поры в клеточной стенке, в результате чего клетка отталкивается от субстрата в направлении, противоположном направлению выделения слизи.

Согласно гипотезе «бегущей волны» скользящее движение у подвижных безжгутиковых форм связано с наличием между пептидогликановым слоем и наружной мембраной тонкого белкового слоя из упорядоченно расположенных фибрилл, аналогичных нитям жгутиков. Вращательное движение фибрилл, «запускаемое» этими структурами, приводит к появлению на поверхности клетки «бегущей волны» (движущихся микроскопических выпуклостей клеточной стенки), в результате чего клетка отталкивается от субстрата.

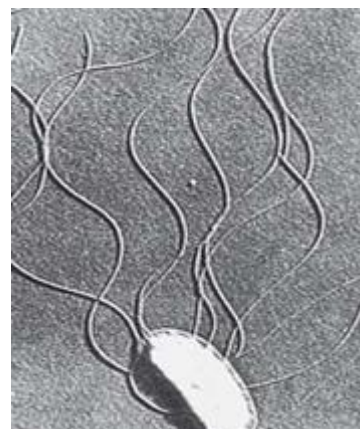
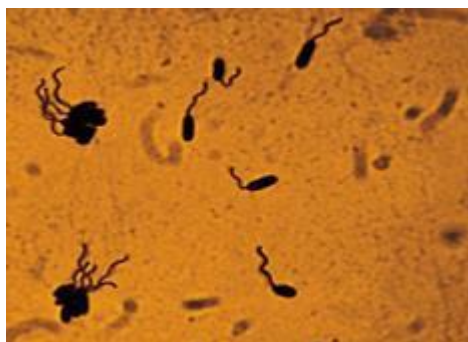
Функции жгутиков:

- 1. Обеспечивают адгезию — начальную стадию инфекционного процесса.**
- 2. Обеспечивают подвижность бактерий.**
- 3. Определяют антигенную специфичность, это H-антиген.**

Жгутики очень тонкие, поэтому их можно обнаружить только при специальной обработке. Вначале при помощи протравки достигается разбухание и увеличение их размера, а затем производится окраска препарата, благодаря чему они становятся видимыми при световой микроскопии.

Для того, чтобы проверить, действительно ли жгутик вращается при движении бактерии, бактериальную клетку за жгутик прикрепили к стеклу. В раствор добавили вещество, которое она любит (сахар), и она начала вертеться, потому что она явно хотела добраться до сахара, если не добавляли, то она вела себя более спокойно.

Визуализация жгутиков методом серебрения (оптическая микроскопия) и методом электронной микроскопии:



Реакция бактерий на внешнюю среду

В поверхностных структурах бактериальной клетки есть специальные белковые молекулы — рецепторы. Рецепторы расположены неравномерно по всей поверхности клетки, а сконцентрированы на одном из полюсов. Состояние рецептора отражает внеклеточную концентрацию соответствующего эффектора.

Хемотаксис имеет приспособительное значение. Например, формы холерного вибриона с нарушенным хемотаксисом оказываются менее вирулентными.

Аэротаксис — нуждающиеся в молекулярном кислороде бактерии скапливаются вокруг пузырьков воздуха, попавших под покрывное стекло.

Фототаксис — движение к свету или от него, свойствен фототрофным бактериям, использующим свет в качестве источника энергии.

Магнитотаксис — способность водных бактерий, содержащих кристаллики железосодержащих минералов, плыть вдоль линий магнитного поля Земли.

Термотаксис — движение в сторону изменения температуры, что имеет большое значение для некоторых патогенных бактерий.

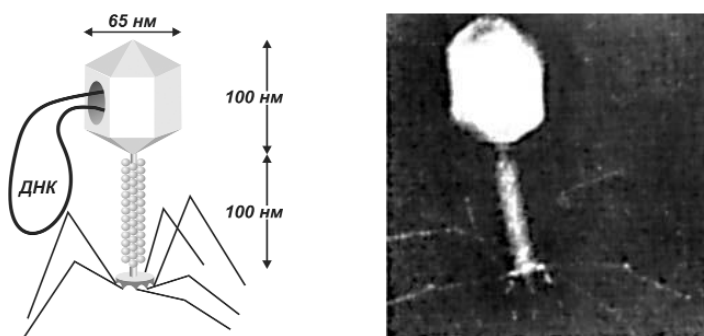
Вискозитаксис — способность реагировать на изменение вязкости раствора. Обычно бактерии стремятся в среду с большей вязкостью, что имеет большое значение для патогенных видов.

Вирусы

Вирусы – существа совершенно удивительные. Они занимают промежуточное положение между живой и неживой материей, представляя собой случай некоего биологического дуализма. На вопрос “живые ли вирусы?” нельзя ответить однозначно, ведь если живой считать структуру, способную к размножению и обладающую наследственной информацией, то можно сказать, что вирусы живые (впрочем, по этому определению живыми можно признать и компьютерные вирусы). Но если считать живой структуру, обладающую клеточным строением (как растения, грибы, животные), то ответ должен быть нет. Следует также отметить, что вирусы не воспроизводят себя вне клетки-хозяина.

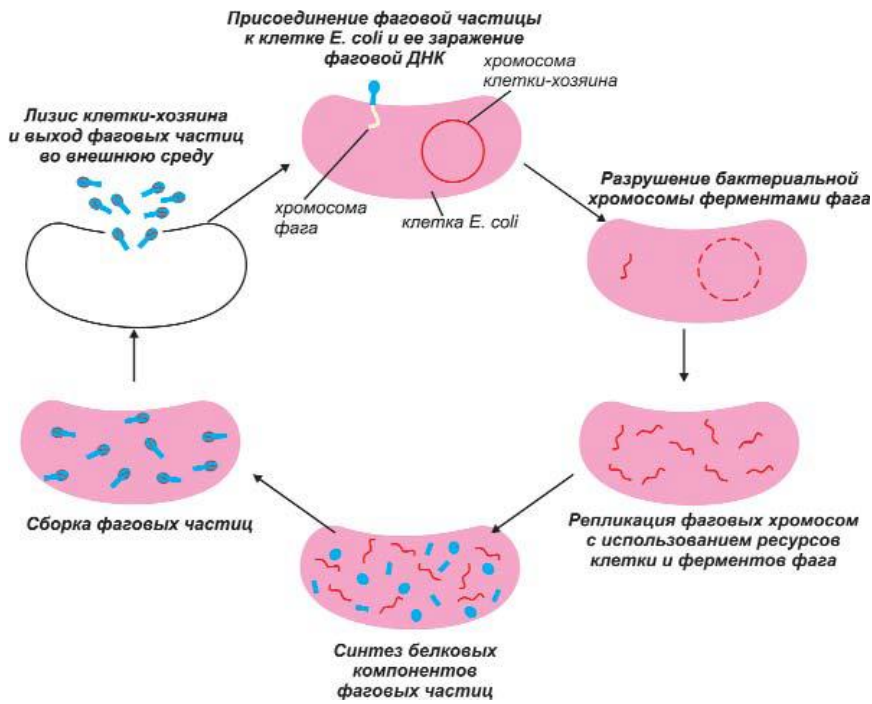
Строение и «работа» вирусов. Вирусы состоят из головки (сердцевины) округлой, гексагональной или палочковидной формы диаметром 45 - 140 нм и отростка толщиной 10 - 40 и длиной 100 - 200 нм. В 1 мм³ воды может уместиться около миллиарда фагов.

Бактериофаг и его фото в электронном микроскопе:

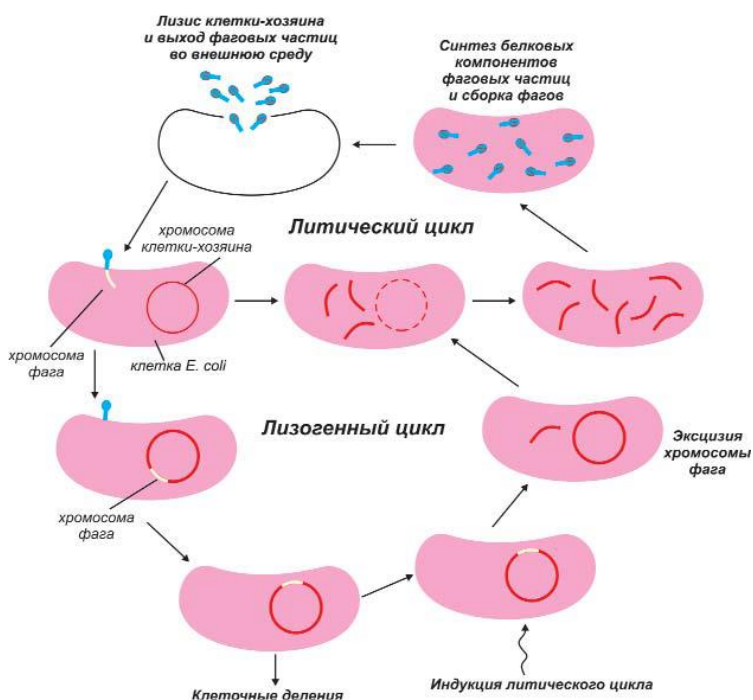


Сердцевина вируса содержит ДНК или РНК. Ее окружает защитная белковая оболочка (капсид). Отросток имеет вид полый трубки, окруженной сократительными белками вроде мышечных. На конце отростка у многих вирусов есть базальная пластинка, от которой отходят тонкие длинные отростки-«ноги», служащие для прикрепления к клетке-хозяину.

Вирус может воспроизводить себе подобных только внедряясь в клетку хозяина. Для этого он прикрепляется к бактериальной клетке и растворяет клеточную стенку, выделяя особый фермент. Затем содержимое головки по каналцу отростка проникает в клетку. Попав внутрь клетки, вирус, подобно своему компьютерному собрату, перепрограммирует рибосомы на производство своих копий. Он «выключает» хозяйскую ДНК и, используя свою собственную ДНК или РНК, «заставляет» клетку синтезировать новые копии вируса. После сборки большого числа вирусных частиц клетка, как правило, погибает, а множество новых вирусов, произведенных с ее помощью, выходит на свободу, поражая другие клетки. Вирусы, вызывающие гибель клетки, называют вирулентными.



Вирулентность – это степень болезнетворного действия микроба. Ее можно рассматривать как способность адаптироваться к организму хозяина и преодолевать его защитные механизмы. Однако существует и другая категория вирусов, называемых **умеренными** (симбиотическими). Проникая внутрь клетки, они могут либо повести себя как обычные фаги, вызывая гибель клетки (**литический цикл**), либо могут встроиться в ДНК клетки-хозяина и остаться в ней в скрытой неинфекционной форме (**лизогенный цикл**). Клетки, содержащие такой вирус, называются **лизогенными**, они могут содержать 2, 3 и более фагов. Лизогения может затем передаваться потомству бактерии.



Басня про Людей:

К одному святому явился Бог, чтобы оставить свой ЗАВЕТ.

- Я Господь твой, о Человек. Я сотворил тебя из ничего. Я дал тебе жизнь и вдохнул в тебя душу. Я дал тебе пять чувств, и шестое, лучшее - разум. Я приблизил тебя к Себе и обещал тебе высочайшее место в мире. Благодарен ли ты мне за эти дары?

- Да, Господи, благодарен, и преизрядно.

- В таком случае, могу ли я попросить тебя сделать мне три маленьких одолжения? Они не сильно напряжные, но, пожалуйста, исполни их.

- Да, Господи, всё исполню.

- Посмотрим-посмотрим... Итак. Даю тебе три заповеди, иже не преступишь овые никогда - ни ты, ни твоё потомство в роды и роды. Не ешь луку. Каждый девятый день надевай на шею шарфик и прогуливайся вдоль реки. Перед тем как уснуть, читай вслух азбуку.

- Кхм... Ладно, Господи, я постараюсь всё это делать, и детей научу. Но, Господь, мне хотелось бы знать...

- Это выше твоего разумения, человек.

- Я дико извиняюсь, Господи, но у меня будут когнитивный диссонанс.

- Это твои проблемы, человек.

- Мне будет сложно объяснить моим детям, зачем нужно заниматься подобной дурью.

- Это, опять же, твои проблемы, человек.

- Я предвижу, Господи, что внуки моих внуков тоже зададут себе эти вопросы - и, не найдя ответа, перестанут выполнять Твою волю.

- А это будут уже их проблемы, человек.

- Хорошо, Господи. Но всё-таки - нафиг это нужно?!

- Уговорил. Если ты никому не передашь это знание, я тебе отвечу.

- Зуб даю.

- Хорошо, верю. Видишь ли, на самом деле мне нужно от тебя совсем не это. Но это - простейший способ объяснить тебе, что мне от тебя нужно.

- Как это, Господи?

- Хорошо, смотри. Твоё потомство расселится среди народов, которые едят лук. Они его есть не будут, чем вызовут раздражение своих соседей - ибо лук будет составлять неперемнную часть трапезы тех народов, а люди вообще-то не любят, когда кто-то брезгует их едой. Но это позволит твоему потомству сохраниться как отдельному народу, на что у меня есть свои виды. Далее, твоё потомство догадается расселиться в местностях, где лук не растёт. Это будут самые худшие земли. Однако, через несколько столетий, на этих территориях обнаружатся крайне ценные полезные ископаемые, что сделает твоё потомство богатым... Впрочем, ему будут завидовать и даже постараются на него напасть. Но если они будут прогуливаться вдоль реки...

- Так, Господи, я начинаю понимать. Они смогут селиться только там, где есть реки?

- Ага, соображаешь... Да, это дополнительное ограничение. Они будут селиться там, где до реки можно будет добраться за девять дней. Точнее, доскакать: в ту эпоху появится конный транспорт и хорошие дороги.

- А шарфик-то зачем?

- Чтобы не простудиться, идиот... Так вот, реки к тому моменту будут основными транспортными артериями мира. Таким образом, именно твоё потомство будет контролировать коммуникации. Это позволит ему успешно отбиться от врагов... Правда, через пару столетий после этого все реки пересохнут. Остатки твоего потомства поселятся в пойме последней реки. Это убержёт их от техногенной катастрофы... Про смысл чтения азбуки на ночь я, уж извини, объяснять не буду. Главное: ты понял общий принцип?

- Ну да. Маленькое и просто формулируемое отрицательное условие заменяет очень длинное позитивное описание, к тому же относящееся к будущему.

- Вот именно. Есть множество обстоятельств, которые будут ясны только в будущем, а сейчас мне бы не хотелось их раскрывать. Хотя бы потому, что, если бы кто-нибудь знал будущее, он мог бы помешать его наступлению.

- Ага, понял.

- Ну так выполняй!

Много десятилетий спустя состоялось собрание мудрых.

- В Священной Книге сказано: "Каждый девятый день надевай на шею шарфик и прогуливайся вдоль реки". Здесь в тексте слово "ткукукуинуку", что означает "текущая вода". Значит, для того, чтобы исполнить волю Господню, достаточно каждый девятый день проходить мимо текущей воды...

- Нет, "ткукукуинуку" означает "вода, текущая по естественному ложу, промытому самой же этой водой".

- Ты прав. Значит, к роду "ткукукуинуку" относятся любые ручьи, а также потёки воды на снегу, если они промыты водой...

- Является ли моча водой?

- Несомненно. Если кто-нибудь поссал на снег, то это "ткукукуинуку". Также "ткукукуинуку" - это след от любой струи воды.

- Годится ли вода из-под крана?

- Конечно, ибо она течёт. Но необходимо, чтобы она промыла себе русло. Поэтому можно выдавливать в раковину немного зубной пасты, чтобы струя воды её размывала... А вообще, главное

- это шарфик. В этом вопросе текст не допускает разночтений. Шарфик надо надевать обязательно.