

УДК 577.352.315+23

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАННЫХ СИСТЕМ

С. М. МАРТИРОСОВ

На примере взаимодействия H^+ -АТФ-азного комплекса и калиевого ионофора, а также ряда других систем дается разбор гипотезы о структурном воздействии различных механизмов мембраны.

Ключевые слова: мембранные системы, взаимодействие, транспорт, регуляция

Клетка как термодинамически открытая система нуждается в постоянном потоке энергии, веществ и информации через свою граничную мембрану, отделяющую внутриклеточное содержимое от окружающей среды. Все три потока тесно взаимосвязаны. Трансформация энергии сопровождается перераспределением веществ по обе стороны мембраны, а перераспределение веществ может привести к информационному сигналу. Потоки энергии, веществ и информации проходят через различные мембранные системы переноса и регуляции. О том, как могут взаимодействовать мембранные системы, рассказано в данной статье.

1. Теория косвенного биоэнергетического взаимодействия

В соответствии с теорией Митчелла [40, 41], если в одном месте мембраны какая-то транспортная система вырабатывает определенную разность электрохимических потенциалов $\Delta\mu$, то в другом месте ее эту запасенную энергию может использовать любая другая система переноса или регуляции. Известно, что

$$\Delta\mu_i = RT \ln (a_i)_{cp} / (a_i)_{кл} + F\Delta\psi,$$

где первое слагаемое является энергией, связанной с асимметричным распределением веществ, а второе слагаемое — энергия электрического поля на мембране, отнесенная на моль переносимого вещества. Индекс относится к заданному иону, $(a_i)_{cp}$ и $(a_i)_{кл}$ — соответственно активности (концентрации) иона в среде и в клетке, $\Delta\psi$ — разность электрических потенциалов на мембране, R , T и F — газовая постоянная, абсолютная температура и число Фарадея соответственно.

Итак, если первичная система вырабатывает $\Delta\mu_i$, то вторичная система может использовать либо «концентрационную батарею», либо энергию электрического поля, либо обе вместе, и тем самым осуществлять некие функции, связанные с потреблением энергии. Например, механическую, осмотическую, электрическую и химическую работы.

В то же время первичная система, которая вырабатывает $\Delta\psi$, т. е. создает градиенты электрического поля и концентраций, потребляет стороннюю энергию: химическую при деградации органических соединений и энергию солнечного света.

Так как $\Delta\mu$ является термодинамической величиной, которая одинакова во всем данном замкнутом объеме, то первичные и вторичные молекулярные механизмы могут находиться в значительном отдалении друг от друга, и тем не менее взаимодействие между ними будет осуществляться с той же эффективностью, как если бы они находились рядом. Многочисленные факты показывают справедливость этой концепции опосредованного через $\Delta\mu$ взаимодействия между мембранными системами. Тем не менее остается невыясненным вопрос о том, всегда ли это так? Известно, что белки мембраны подвержены латеральной диффузии и могут образовывать при соприкосновении домены. Более того, такие сложно организованные ансамбли, как редокс-цепи и хроматофорные образования, представляют собой пример структур, в которых белки занимают строго заданные места, и поэтому можно говорить о генетически предопределенной организации белковых ансамблей.

В связи с этим встает вопрос: может ли клетка оказаться в таких условиях, когда две независимые системы переноса вступают в структурный контакт в соответствии с физиологической целесообразностью. Подобные случаи разобраны в последующих разделах данной статьи, в основном на примере внутримембранного взаимодействия двух типов систем.

2. Распределение ионов K^+ и $\Delta\psi$

Бактериальные клетки аккумулируют значительное количество ионов K^+ , в зависимости от вида бактерий—от 0,2 до 4 М. Например, *E. coli* и *Salmonella* накапливают до 0,25 [49], *S. faecalis*—до 0,6 [52], *Staphylococci*—до 0,7, а предельные галофильные организмы до 4 М этих ионов [14, 29]. С термодинамической точки зрения более существенной оказалась величина градиентов K^+ между клеткой и средой. Показано, что бактерии способны создавать чрезвычайно высокое отношение концентраций в клетке относительно среды. Например, у *E. coli* и *S. faecalis*, на которых проведены основные исследования по природе транспорта ионов K^+ , это отношение превышает 10^5 [11, 26].

В то же время на транспорт любого вещества у бактерий может затрачиваться либо энергия, высвобождаемая при гидролизе АТФ (или другого макроэргического соединения), либо $\Delta\mu$. Измеренная величина мембранного потенциала у бактерий ($\Delta\psi$) обычно не превышает 150—180 мВ (отрицательно в бактериальной клетке) [23, 24]. Поэтому при пассивном поглощении ионов K^+ по градиенту электрического поля распределение могло бы достигнуть только 10^3 , что значительно ниже измеренного распределения ионов K^+ . Для указанного ранее рас-

пределения, достигающего 10^5 — 10^6 , нужен был бы $\Delta\psi$, равный 300—350 мВ. На основании этого было высказано предположение, что в мембране бактерий функционирует специальный K^+ -АТФ-азный комплекс, использующий энергию, высвобождаемую при гидролизе терминального макроэргического фосфора, для транспорта ионов K^+ внутрь клеток. Такая система была обнаружена в клетках *E. coli* Элштейном с соавт. и названа Kdp-системой транспорта ионов K^+ [18, 20]. Так как в клетках впервые была обнаружена K^+ -АТФ-аза, она была подвергнута тщательному анализу. Удалось установить, что три структурных гена *kdpA*, *kdpB* и *kdpC* кодируют три мембранных белка с молекулярными весами 47000, 90000 и 22000 Д соответственно [28]. Kdp-система способна создавать очень высокое распределение по ионам K^+ , достигающее $4 \cdot 10^6$ [26]. Следует заметить, что это распределение достигается не за счет увеличения внутриклеточной концентрации ионов K^+ , а за счет того, что Kdp система в физиологических условиях обычно находится в репрессивном состоянии и включается в работу при очень низких концентрациях ионов K^+ в среде. Поэтому, накачивая в клетку даже 10^{-1} М ионов K^+ , она забирает их из среды, содержащей 10^{-6} и менее ионов K^+ .

Несмотря на всю важность открытия репрессибельной K^+ -АТФ-азы, которая включается в работу только при очень низких концентрациях ионов K^+ , когда не работает другая основная система транспорта ионов K^+ (см. ниже), теория мембранного транспорта не обогатилась новой идеей.

3. Протонно-калиевый насос

При физиологических концентрациях ионов K^+ в окружающей среде свыше 1 мМ эти ионы поглощаются бактериями с помощью системы, у которой K_m лежит в пределах 1—3 мМ [26]. Элштейн с соавт. [44] установили, что такой главной системой поглощения ионов K^+ у *E. coli* является Trk-система (ранее она называлась TrkA-система), генетический анализ которой показал [19, 46], что мутации в четырех несвязанных локусах—*trkA*, *trkD*, *trkE* и *trkC*—отражаются на транспорте ионов K^+ . Кинетический же анализ позволил установить, что функционирование этой системы требует одновременного присутствия АТФ и $\Delta\mu_{H^+}$ [45]. Были высказаны предположения, что АТФ нужен как источник энергии, а $\Delta\mu_{H^+}$ как регулятор транспорта [11]; $\Delta\mu_{H^+}$ —источник энергии, АТФ—модулятор транспорта, так как транспортер работает в фосфорилированном состоянии, но не гидролизует АТФ до неорганического фосфора и АДФ [11, 51]; наконец, и АТФ, и μ_{H^+} служат источниками энергии для противогradientного движения ионов K^+ внутрь бактериальных клеток [25].

В дальнейшем с помощью ионоселективных электродов было установлено, что поток ионов K^+ через Trk-систему для анаэробно выращенных бактерий *E. coli* всегда сопровождается выбросом из клетки дополнительного количества ионов H^+ . Эта компонента потока H^+ со-

составляет около 30% от общей секреции кислоты в период гликолиза у бактерий [3, 16, 32]. Другой особенностью этого обмена ионов H^+ клеткой на ионы K^+ среды является его чувствительность к N,N' -дипицклогексилкарбондимида (ДЦКД)—ингибитору H^+ -АТФ-азного комплекса F_1-F_0 . При ДЦКД-чувствительном обмене H^+ на K^+ из клеток выбрасываются $2H^+$ и один анион лактата, а в клетку входит один ион K^+ [32], т. е. имеет место сохранение макроскопической электронейтральности потоков ионов в отношении $H^+ : K^+ : \text{лакт}^- = 2:1:1$. Такая же стехиометрия ионного обмена была найдена и для грамположительных бактерий [38].

Самым удивительным фактом оказалась устойчивость стехиометрии $2H^+ : K^+$ к различным внешним воздействиям как у *E. coli* [3, 17], так и у *S. faecalis* [38]. Было показано, что стехиометрия H^+ / K^+ -обмена у анаэробно выращенных бактерий не изменяется при изменении температуры от 12° до 37°, активности ионов K^+ в среде—от 0,1 до 10 мМ, рН—от 5,7 до 8,5, а также при изменении типа экзогенного источника энергии (глюкозы или молочной кислоты у *E. coli*) и абсолютных величин потоков ионов H^+ и K^+ . Устойчивость стехиометрии ДЦКД-чувствительного обмена $2H^+ : K^+$ предполагала существование жесткой структурной связи между потоками H^+ и K^+ . Поэтому было высказано предположение, что в мембранах анаэробно выращенных гликолизующих бактерий функционирует протонно калиевый насос, обменивающий $2H^+$ клетки на один ион K^+ среды и чувствительный к ДЦКД [3, 17]. Это допущение означало, что, во-первых, транспорт ионов K^+ внутрь требует АТФ и, во-вторых, что этот транспорт сопряжен с выбросом ионов H^+ .

Два вопроса требовали ответа: а) почему транспорт ионов K^+ у гликолизующих анаэробно выращенных бактерий сопровождается выбросом ионов H^+ и б) почему этот обмен чувствителен к ДЦКД, ингибитору H^+ -АТФ-азы F_1-F_0 ? Можно допустить, что и анаэробно выращенных клетках *E. coli*, а тем более у анаэробов *S. faecalis* отсутствуют редокс-цепи, поэтому единственным генератором мембранного потенциала $\Delta\psi$ является F_1-F_0 . Иными словами, F_1-F_0 генерирует $\Delta\psi$, а ионы K^+ поглощаются клетками в ответ на генерацию $\Delta\psi$, т. е. для поглощения клетки нуждаются и в АТФ, и в $\Delta\psi$ этих ионов.

Измерение мембранного потенциала с помощью ТФФ⁺ электродов (тетрафенилфосфоний-проникающий катион) показало, что уже исходно у *E. coli* имеется $\Delta\psi$ около 0,12В, при рН 7,5. Введение в среду глюкозы кратковременно, на период функционирования $2H^+ : K^+$ обмена, который длится несколько минут (см. раздел 4), увеличивает $\Delta\psi$ до 0,14—0,15В. В *S. faecalis* мембранный потенциал в отсутствие экзогенного источника энергии близок к нулю и становится равным 0,15В после добавления глюкозы [39]. Таким образом, обмен $2H^+$ на K^+ сопровождается генерацией $\Delta\psi$, которая снимается с помощью ДЦКД.

Чтобы идентифицировать системы переноса H^+ и K^+ , дальнейшую работу проводили с мутантами *E. coli*, имеющими четко охарактеризованные дефекты. Мутант *E. coli* ТК 509 с неработающей Ttk -системой [46] не обладал ни $2H^+ : K^+$ обменом, ни способностью увеличи-

вать $\Delta\psi$ от 0,12 до 0,15В, как это имело место у дикого типа *E. coli* K-12 (7.). С другой стороны, естественно было ожидать, что блокирование функций $F_1 \cdot F_0$ с помощью мутаций в unc -кластере, кодирующем структуру этого АТФ-азного комплекса, должно привести к исчезновению ДЦКД-чувствительного потока ионов H^+ из бактерий. Опыты показали, что в мутантах с дефектами в α -, β - и γ -субъединицах АТФ-азы F_1 , входящей в состав АТФ-азного комплекса $F_1 \cdot F_0$, $2\text{H}^+/\text{K}^+$ обмен не имеет места [9, 36]. Дефект в α -субъединице, который находится на границе между АТФ-азой и внутримембранным белком, H^+ -каналом, приводит к нечувствительности этой системы обмена к осмотическому давлению среды (см. раздел 4). Дефект в H_1 -субъединице (м. в 24000) из F_0 приводит к потере ДЦКД-чувствительности и осмотической регуляции этой системы. При дефектах же в H_2 - и H_3 -субъединицах из F_0 система $2\text{H}^+/\text{K}^+$ обмена перестает функционировать.

Эксперименты на мутантах с дефектами по Trk -системе и H^+ -АТФ-азному комплексу $F_1 \cdot F_0$ с несомненностью показывают, что у анаэробно выращенных гликолизирующих бактерий имеется тесная связь между функциями $F_1 \cdot F_0$, переносящего ионы H^+ из клетки в среду, и Trk -системой поглощения K^+ . Блокирование функций одной системы ведет к потере функций другой. Поэтому предположение о существовании в бактериях $\text{H}^+ - \text{K}^+$ -насоса стало обретать молекулярное основание. Однако казалось невероятным, как две генетически независимые системы, такие, как $F_1 \cdot F_0$ и Trk , создают обмен, эквивалентный функции протонно-калиевого насоса. Более того, как видно из следующего раздела, обе системы принимают деятельное участие в регуляции тургорного давления клетки.

4. Регуляция тургорного давления бактерий

Еще в 1965 г. Шульц и Эпштейн [48] показали, что резкое повышение осмотического давления в среде приводит к значительному, но кратковременному возрастанию скорости поглощения K^+ у *E. coli*. Позже было установлено, что скорость поглощения K^+ возрастает при увеличении осмотичности среды для обеих калиевых транспортных систем — Trk и Kdp [45].

Изучение потоков K^+ с помощью ионоселективных электродов выявило необычный характер поглощения K^+ у *E. coli* в средах, содержащих от 0,1 до 10 мМ K^+ при pH выше 7,0 [1, 2, 15]. Вначале, в течение 3—5 мин наблюдается интенсивное поглощение K^+ через Trk -систему [6, 33]. Затем этот процесс и последующий выход K^+ в среду спонтанно прекращаются. Через 15—25 минут начинается более медленное и длительное поглощение этих ионов через TrkF -систему. Подобное явление наблюдается только при увеличении осмотического давления среды, и чем выше тоничность среды, тем дольше идет поглощение K^+ через Trk -систему [2, 16]. При осмотическом равновесии между клеткой и средой или уменьшении тоничности среды поглощение K^+ через Trk -систему полностью подавляется, в то время как медленное поглощение этих ионов через TrkF -систему сохраняется. Подавление функции Trk -

системы уменьшением осмотического давления среды сопровождается исчезновением ДЦКД-чувствительной секреции ионов H^+ , т. е. при отсутствии фактора повышения осмотического давления в среде исчезает ДЦКД-чувствительный обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$.

С помощью мутантов *E. coli* (см. раздел 3) было показано, что в этот обмен вовлечены как $\text{F}_1\text{-F}_0$, так и Trk. Следовательно, когда тургор клетки уменьшается при увеличении осмотического давления среды и соответственно уменьшается объем клеток, включается не только система поглощения K^+ , но и протонный насос $\text{F}_1\text{-F}_0$.

Было высказано предположение, что регуляция тургора клеток осуществляется со стороны периплазматического пространства [31]. Эта гипотеза включала в себя следующие допущения: потоки H^+ и K^+ через $\text{F}_1\text{-F}_0$ и Trk систему взаимозависимы и подчиняются жесткой стехиометрии ($2\text{H}^+:\text{K}^+$); протонный насос $\text{F}_1\text{-F}_0$ у грамотрицательных бактерий состоит не из двух функциональных белков, а из трех; третий белок является периплазматическим белком-клапаном, который механически открывает и закрывает вход в H^+ -канал F_0 в зависимости от увеличения или уменьшения осмотичности среды.

Таким образом, постулируется, что осмотическая регуляция поглощения K^+ у *E. coli* осуществляется не через Trk-систему, а с помощью H^+ -АТФ-азного комплекса $\text{F}_1\text{-F}_0$.

Из предложенной гипотезы вытекает ряд следствий. АТФ-зависимый обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$ с участием $\text{F}_1\text{-F}_0$ у грамположительных бактерий *S. faecalis*, лишенных периплазматического пространства, не должен зависеть от осмотического давления среды, что было экспериментально подтверждено [38]. Роль периплазматического пространства в регуляции функций $\text{F}_1\text{-F}_0$ подтверждается тем, что в сферопластах, приготовленных из *E. coli*, обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$ не чувствителен к осмотическому давлению среды. Другой существенный факт был получен на мутантах *E. coli* AN 382, у которых H^+ -канал F_0 резистентен к ДЦКД [7, 9, 34, 36]. Обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$ у этих мутантов терял чувствительность к осмотическому давлению среды, хотя скорость обмена $2\text{H}^+:\text{K}^+$ оставалась неизменной. Таким образом, мутация по *uncB* гену ведет не только к ДЦКД-резистентности H^+ -канала, но и к потере его чувствительности к тоничности среды. Имеются и другие данные, подтверждающие регуляцию обмена $2\text{H}^+:\text{K}^+$ с наружной стороны H^+ -канала F_0 , входящего в комплекс $\text{F}_1\text{-F}_0$. Если сперва уменьшить тоничность среды, чтобы клетки *E. coli* K-12 (Δ) набухли, затем добавить в среду ДЦКД и через 15 мин резко увеличить тоничность среды, то вначале происходит обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$ и только через некоторое время замечается ингибирующее действие ДЦКД. ДЦКД подавляет этот обмен с некоторым запозданием. Если же ДЦКД был введен в среду при высокой тоничности, когда клетки сморщены и должен начаться обмен $2\text{H}^+:\text{K}^+$ при введении в среду источника энергии, то ДЦКД сразу же полностью подавляет его. Между периплазматическим белком-клапаном и ДЦКД идет конкуренция за вход в H^+ -канал F_0 . Все эти косвенные факты дают основание думать, что надмолекулярная физиологическая конструкция протонного насоса $\text{F}_1\text{-F}_0$ состоит из трех белков: $\text{F}_1\text{-F}_0$ и периплазматического

белка-клапана (БК, см. рис.). Кроме того, Тгк-система поглощения K^+ , т. е. основная система этих бактерий, ответственная за сохранение тургора клетки, по-видимому, не имеет собственного осмотического ре-

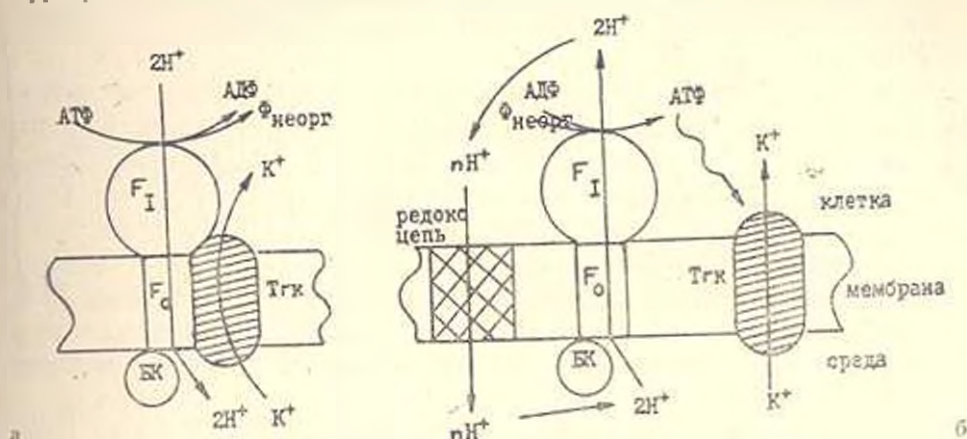


Рис. Характер взаимосвязи H^+ -АТФ-азной $F_1 \cdot F_0$ с калиевым ионофором Тгк в анаэробных и аэробных бактериях. а) H^+ -АТФ-азный комплекс $F_1 \cdot F_0$ образует с транспортером ионов K^+ Тгк суперкомплекс в анаэробных гликолизующих бактериях. Этот суперкомплекс работает, как протонно-калиевый насос, обменивающий $2H^+$ клетки на один ион K^+ среды [2, 10, 35]. БК—белок-клапан, расположенный в периплазматическом пространстве грамотрицательных бактерий, который открывает и закрывает H^+ -канал F_0 в зависимости от тургорного давления клетки [32]. б) Те же системы, работающие порознь у аэробно выращенных *E. coli*. В этом случае Тгк система в качестве источника энергии использует энергию электрического поля, а АТФ служит модулятором процесса [37], в то время как дыхательная цепь, выбрасывая какое-то количество ионов H^+ ,

поддерживает нужную величину $\Delta\psi_{H^+}$.

гулятора. Если белок-клапан у *E. coli* не функционирует, то поглощение K^+ через Тгк-систему теряет свою чувствительность к осмотическому давлению среды.

5. Симбиоз молекулярных механизмов

Это пока гипотеза [10, 12, 35], хотя и неплохо обоснованная. Допускается, что две независимые транспортные системы— $F_1 \cdot F_0$ и Тгк—способны к комплементарному структурному объединению внутри мембраны для совместного использования энергии гидролиза АТФ (рис., а). Такое структурное объединение систем дает возможность создать одновременно распределение K^+ между клеткой и средой около 10^5 , ΔpH 1 и $\Delta\psi$ около 0,15 В при фосфатном потенциале клетки около 50 кДж, в то время как дыхательная цепь или $F_1 \cdot F_0$ могут создать nH^+ лишь около 20 кДж ($\Delta\psi$ 0,15В и рН 1), что совершенно недостаточно для распределения K^+ в 10^5 при непрямом взаимодействии между $F_1 \cdot F_0$ и калиевым транспортером.

Образование суперкомплексов, составленных из АТФ-азного комплекса $F_1 \cdot F_0$ и калиевого транспортера, может быть как у грамотрицательных, так и у грамположительных бактерий. У грамотрицательных бактерий к этому суперкомплексу добавляется периплазматичес-

ческий белок-клапан (рис., а), который регулирует время включенного состояния суперкомплекса (F_1-F_0 —Tgk—BK).

Суперкомплекс, состоящий из F_1-F_0 и калиевого транспортера Tgk, обладает несомненной биологической и термодинамической целесообразностью.

Калиевый транспортер, например, Tgk-система, лишен собственно-го преобразователя энергии. При объединении с F_1-F_0 калиевая система становится АТФ-зависимой, что и наблюдали ряд авторов. Следовательно, один преобразователь энергии обслуживает два ионофора: F_0 и Tgk-систему, т. е. протонсфор и K^+ -ионофор. Таким путем достигается структура экономя.

Эта система очень экономно расходует и энергию гидролиза АТФ, что крайне важно при таком низкоэнергетическом процессе как гликолиз. При обмене $2H^+ : K^+$ часть энергии гидролиза АТФ затрачивается на создание $\Delta\mu_{H^+}$, а другая—тратится на поддержание $\Delta\mu_{K^+}$. В общей сложности получается, что когда системы работают порознь, то к. п. д. этих систем не превышает 10—15%, в то время как при совместной их работе он выше 60—70%.

Из вышесказанной гипотезы вытекают два важных следствия:

1. Если этот суперкомплекс способен гидролизовать АТФ при движении ионов H^+ из клетки в среду, а ионов K^+ —в обратном направлении, то при реверсии потоков, когда ионы H^+ будут входить в клетку по градиенту электрического поля и концентраций, а ионы K^+ по градиенту концентраций будут выходить из клетки, можно наблюдать синтез АТФ, если величины $\Delta\mu_{H^+}$ и μ_{K^+} окажутся в сумме достаточными для той энергии, которая нужна для синтеза АТФ. Это характерно для ионообменного насоса и впервые экспериментально было подтверждено Тарраханом и Глином [22] на эритроцитах для $Na^+—K^+$ -насоса.

2. Согласно данной гипотезе, симбиоз двух транспортных механизмов целесообразен только при таком низкоэнергетическом процессе, как гликолиз в анаэробных клетках, когда не работает редокс-цепь и вырабатывается всего 2 молекулы АТФ для всех нужд клетки. Поэтому в аэробно выращенных клетках, когда F_1-F_0 занято вместе с редокс-цепью синтезом АТФ и когда благодаря этому бактериальная клетка вырабатывает до 24 молекул АТФ, симбиоз F_1-F_0 и Tgk-системы становится нецелесообразным, во-первых, потому, что F_1-F_0 вместе с редокс-цепью работает в режиме синтеза АТФ и не может объединиться с Tgk-системой для гидролиза АТФ, во-вторых, редокс-цепь вырабатывает стабильный и высокий $\Delta\mu_{H^+}$ и обеспечивает выход 24 молекул АТФ, вследствие чего Tgk может использовать любой из указанных видов энергии.

Оба следствия нашли подтверждение в экспериментах, проведенных Трчуниаком на кафедре биофизики ЕРГУ [8, 35, 37].

Для экспериментального доказательства первого следствия необходимо иметь на мембране $\Delta\psi$ в 0,15 В и рН 1, так как $2H^+$, переносимые через F_1-F_0 , используют как $\Delta\psi$, так и ΔpH . В целом F_1-F_0 расходуют $2 \times \Delta\mu_{H^+}$ (2×20 кДж) для синтеза одной молекулы АТФ. Оба иона

H^+ переносятся через $F_1 \cdot F_0$ электрогенно, поэтому используют энергию как $\Delta\psi$, так и ΔpH .

Суперкомплекс $\{F_1 \cdot F_0 - Trk - BK\}$ переносит электрогенно только один ион H^+ и, следовательно, другой ион H^+ не в состоянии использовать $\Delta\psi$. Поэтому $\{F_1 \cdot F_0 - Trk\}$ при тех же условиях, которые создаются для $F_1 \cdot F_0$, уже не в состоянии синтезировать АТФ. Иными словами, $\Delta\mu_{H^+}$ величиной 20 кДж будет недостаточно для синтеза АТФ с помощью этого суперкомплекса, так как около 12 кДж, которые дает электрическое поле, не будет использовано вторым ионом H^+ . Таким образом, из $\Delta\mu_{H^+}$ (44 кДж) будет использовано только 32 кДж. А этого недостаточно для синтеза АТФ. Поэтому недостающую энергию суперкомплекса должен брать из разности химических потенциалов по ионам K^+ . Это очень важная особенность синтеза АТФ с помощью ионообменного $H^+ - K^+$ -насоса. Для синтеза же АТФ с помощью $F_1 \cdot F_0$ градиент по K^+ не имеет никакого значения, если на мембране исходно имеется $\Delta\psi$ около 0,12 В.

Другой отличительной особенностью функций суперкомплекса является его стехиометрия. Если при гидролизе АТФ из клетки выносятся $2H^+$, а в клетку вносятся один K^+ против градиента концентраций, то при реверсии такого насоса на каждый выносимый из клетки ион K^+ по градиенту концентрации в клетку будет вноситься $2H^+$, при этом будет синтезироваться одна молекула АТФ.

Третьей отличительной особенностью синтеза АТФ с помощью суперкомплекса является чувствительность этой системы к осмотическому давлению среды. Система будет синтезировать АТФ только при увеличении тоничности среды, так как, согласно допущению, увеличение тоничности среды открывает вход H^+ -канала.

Экспериментально было показано [8, 35], что реверсия потоков ионов H^+ и K^+ через эту систему сопровождается одновременным синтезом АТФ в соотношении: $АТФ:H^+:K^+ = 1:2:1$. Уменьшение ΔpH или ΔpK на единицу, введение в среду протонаторов или ДЦКД, уменьшение тоничности среды блокируют реверсированный цикл.

Не менее интересными оказались данные, доказывающие второе следствие из гипотезы [37]. Если ввести в суспензию аэробно выращенных клеток *E. coli* циннид и тем самым заблокировать функции редокс-цепи, то легко показать, что $F_1 \cdot F_0$ из режима синтеза переходит в режим гидролиза АТФ, т. е. транспортирует ионы H^+ из клетки в среду. Такие клетки *E. coli* становятся эквивалентными анаэробно выращенным бактериям. Однако при изменении величины потоков H^+ и K^+ в зависимости от условий окружающей среды наблюдается изменение стехиометрии ДЦКД-чувствительного обмена H^+ на K^+ от 0,5 до 4,5. Неустойчивость стехиометрии является важным свидетельством независимости функционирования $F_1 \cdot F_0$ и Trk в аэробно выращенных *E. coli* (рис., 6).

Особенно наглядно разъединенность систем переноса $F_1 \cdot F_0$ и Trk видна при исследовании потоков H^+ и K^+ в зависимости от температуры. Если для потока ионов H^+ через $F_1 \cdot F_0$ величина Q_{10} была близка

к 3, то для калиевого насоса Ttk она была ниже 1,5, что прямо указывает на независимость работы обеих систем: H^+ -АТФ-азный комплекс F_1F_0 функционирует как фермент с Q_{10} , равным 3, в то время как «диффузионный» калиевый канал Ttk работает как пассивная система с низким Q_{10} . В то же время в анаэробно выращенных клетках обе системы имеют Q_{10} , равный 3, что и должно быть в соответствии с гипотетическим рисунком. В то же время арсенат, препятствующий образованию АТФ, подавляет транспорт ионов K^+ в обоих случаях. Согласно рисунку (б), этот факт подтверждает гипотезу ряда авторов о том, что Ttk-система нуждается в Ar_{10} как источнике энергии, а АТФ служит модулятором процесса [11, 51]. Однако надо отметить, что эта функция Ttk подобных систем переноса K^+ может наблюдаться только в условиях аэробноза.

6. Внутримембранное взаимодействие белков

В настоящее время имеется множество данных, полученных как на intactных мембранах, так и на солюбилизованных белках, которые показывают, что мембранные системы представляют собой олигомерные формы простых функциональных единиц. Это относится к АТФ-азам, переносчикам, рецепторам, цитохромам и т. д. Клянгелберг в своем интересном обзоре [27] высказывает предположение, что олигомерное состояние гомологических структур в изолированных мембранах могло бы служить критерием intactности выделенного механизма.

Однако ассоциация гомологических мембранных единиц, как нам кажется, затрагивает лишь один аспект проблемы внутримембранного взаимодействия белков. Ряд экспериментов, включая и вышеизложенные, указывают на образование внутри мембраны гетерологических суперструктур. Два или более мембранных белков могут образовывать димер для мембранной регуляции транспорта и клеточного метаболизма. Рассмотрим некоторые наиболее интересные результаты.

Уже в конце прошлого века было известно, что, когда микроорганизмам даны одновременно два источника углерода, они вначале утилизируют полностью один из них и только после этого начинается утилизация второго источника. Этот феномен известен как глюкозный эффект, так как глюкоза оказывается наиболее предпочтительным источником углерода в силу своей легкой утилизируемости [30]. Сущность явления состоит в способности микроорганизмов включать и выключать некоторые катаболитические опероны. Вначале включаются опероны, ответственные за синтез ферментов и транспортных систем наиболее легко утилизируемого субстрата.

Глюкоза способна репрессировать экспрессию катаболитных генов двумя способами, известными как катаболитная репрессия и исключение индуктора. Предполагается, что катаболитная репрессия связана с блокадой синтеза ферментов вследствие уменьшения активности мембранной аденилатциклазы (АЦ). Уменьшение активности АЦ ведет

к блокаде синтеза цАМФ, необходимого для проявления катаболит-чувствительных оперонов.

Явление же, известное как исключение индуктора, есть прямое следствие блокады транспортных систем, переносящих определенные субстраты, которые и являются индукторами соответствующих оперонов.

В расшифровке этих механизмов значительное место занимают работы Бурда и его соавт. [4, 5]. Им удалось показать, что основная система транспорта глюкозы у бактерий—фосфонолпируватзависимая фосфотрансферазная система бактерий (ФТС)—играет основную роль в регуляции как катаболитной репрессии, так и при исключении индуктора [4, 5, 50]. Им было высказано предположение, получившее косвенные экспериментальные подтверждения о том, что ФТС вступает в структурную связь как с М-протеином, мембранным белком, ответственным за транспорт β -галактозидов, так и с мембранной АЦ. В обоих случаях при наличии глюкозы в среде ФТС переносит ее внутрь клеток и во время этой работы в определенных условиях в состоянии блокировать как М-протеин, так и АЦ. В первом случае наблюдается исключение индуктора, так как, например, лактоза не может проникнуть в клетку и способствовать экспрессии *lac*-оперона, во втором—имеет место катаболитная репрессия: АЦ не синтезирует цАМФ. Такое же допущение о внутримембранном взаимодействии белков было впоследствии высказано Петерковским и Газдаром [12] в отношении взаимодействия М-протеина и АЦ.

Различие между идеей о внутримембранном взаимодействии мембранных механизмов, высказанной при изучении взаимодействия F_1-F_0 с Tgk-системой переноса K^+ , и тем, что разработано Бурдом с соавт. [4, 5], заключается в следующем: ионные механизмы вступают в симбиотическую связь, помогая друг другу при энергетическом кризисе, в то время как транспортеры сахаров и АЦ связаны антибиотически—функции одной системы исключают работу другой; для взаимодействия H^+ -АТФ-азного комплекса F_1-F_0 и K^+ -ионофора Tgk допускается комплементарное или генетически предопределенное взаимодействие, в то время как в отношении ФТС и М-белка предполагается случайное взаимодействие, зависящее от концентрации этих белков в мембране.

До сих пор говорилось лишь о бактериальных клетках. Однако феномен гетерологического объединения мембранных белков известен и для животных клеток. Между многими тканями, как известно, имеется гормональная связь. Показано, что в определенных случаях рецепторы пептидных гормонов вступают в структурную связь с мембраной АЦ животных клеток [13]. Имеются в настоящее время также данные о том, что Na^+K^+ -АТФ-азы клеток животных вступают в структурную взаимосвязь с гликолитическими ферментами, образуя сложные домены [21].

Вопрос сейчас в том, чтобы понять, когда имеет место случайное белок-белковое взаимодействие, а когда это взаимодействие генетически предопределено.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 10.X 1984 г.

Ս. Մ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՈՎ

Զրաձնագին ԱԾՖ-ազային կոմպլեքսի և կալիումական իոնոֆորի փոխազդեցության, ինչպես նաև մեմբրանային այլ համակարգերի օրինակի վրա վերլուծվում է մեմբրանի տարրեր մեխանիզմների սարուկատուրային փոխազդեցության մասին հիպոթեզը:

BIOLOGICAL EXPEDIENCE OF THE OVERMOLECULAR ORGANIZATION OF MEMBRANE SYSTEMS

S. M. MARTIROSOV

The hypothesis of structural interaction between different membrane mechanisms has been discussed. The results discussed regard the interaction of H⁺-ATP-ase complex and potassium ionophore, as well as some other membrane systems.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аликханян М. А., Мартиросов С. М., Петросян Э. С. Докл. АН АрмССР, 58, 94, 1973.
2. Дургарьян С. С., Мартиросов С. М. Биофизика, 25, 469, 1980.
3. Дургарьян С. С., Мартиросов С. М. Биофизика, 25, 654, 1980.
4. Колачев Н. Ю., Гершикович В. Н., Бурд Г. Н. Биохимия, 45, 873, 1980.
5. Колачев Н. Ю., Умярова А. М., Бурд Г. Н. Биохимия, 46, 732, 1981.
6. Мартиросов С. М., Трчунян А. А. Биофизика, 26, 817, 1981.
7. Мартиросов С. М., Трчунян А. А. Биофизика, 26, 1033, 1981.
8. Мартиросов С. М., Трчунян А. А. Биофизика, 29, 255, 1984.
9. Мартиросов С. М., Трчунян А. А., Нордкян А. Г. Биофизика, 27, 48, 1982.
10. Мартиросов С. М., Наносян Г. А., Трчунян А. А. Биофизика, 27, 249, 1982.
11. Bakker E. P., Harold F. M. J. Biol. Chem., 255, 433, 1980.
12. Bourd G. I., Martirosov S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 10, 315, 1993.
13. Calt K. J., Dufou M. L. Annu. Rev. Physiol., 49, 529, 1979.
14. Christian J. H. B., Walthe J. A. Biochim. Biophys. Acta, 65, 596, 1962.
15. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 5, 554, 1978.
16. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. Ibid, 5, 561, 1978.
17. Durgaryan S. S., Martirosov S. M. Ibid., 5, 567, 1978.
18. Epstein W., Davies M. J. Bacteriol., 101, 836, 1970.
19. Epstein W., Kim B. S. Ibid, 108, 639, 1971.
20. Epstein W., Lalmins L. Trends Biochem. Sci., 5, 21, 1980.
21. Fassel E. T., Solomon A. K. Biochim. Biophys. Acta, 464, 82, 1977.
22. Garrahan P. J., Glynn I. M. J. Physiol., 192, 237, 1967.
23. Grinvaldene B., Chmellauskotte V., Grinvalds L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 56, 203, 1974.
24. Harold F. M., Papineau D. J. Membr. Biol., 8, 27, 1972.
25. Heefner D. L. Mol. Cell Biochem., 44, 81, 1982.
26. Helmer G. L., Lalmins L. A., Epstein W. In: Membranes and Transport, 2, New—York, 1982.
27. Klingenberg M. Nature (London), 290, 449, 1981.

28. Lelms J. A., Rhoads D. B., Attendorf K., Epstein W. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 3216, 1978.
29. Lanyi J. K. Biochim. Biophys. Acta, 559, 337, 1979.
30. Magasanik B. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 249, 1961.
31. Martirosov S. M. Bioelectrochem. Bioenerg., 6, 315, 1979.
32. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 8, 25, 1981.
33. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 8, 597, 1981.
34. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 8, 605, 1981.
35. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 9, 459, 1982.
36. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 11, 29, 1983.
37. Martirosov S. M., Trekhounian A. A. Ibid, 13, 1955, 1984.
38. Martirosov S. M., Petrosian L. S. Ibid, 8, 17, 1981.
39. Martirosov S. M., Petrosian L. S., Trekhounian A. A., Vartanian A. G. Ibid, 8, 613, 1981.
40. Mitchel P. Symp. Soc. Gen. Microbiol., 20, 121, 1970.
41. Mitchel P. J. Bioenerg., 3, 5, 1972.
42. Peterkofsky A., Gazdar C. Bioscience Rep., 1, 53, 1981.
43. Proverbio F., Hoffman J. F. J. Gen. Physiol., 69, 605, 1977.
44. Rhoads D. B., Epstein W. J. Biol. Chem., 252, 1394, 1977.
45. Rhoads D. B., Epstein W. J. Gen. Physiol., 72, 283, 1978.
46. Rhoads D. B., Waters F. W., Epstein W. J. Gen. Physiol., 67, 315, 1976.
47. Schrier S. I. Amer. J. Physiol., 240, 139, 1966.
48. Schultz S. G., Epstein W. J. Gen. Physiol., 49, 221, 1965.
49. Schultz S. G., Solomon A. K. J. Gen. Physiol., 45, 355, 1961.
50. Shulgina M. V., Kalachev I. Y., Bourd G. I. FEBS Lett., 103, 238, 1979.
51. Silver S. In: Bacterial Transport, New York, 1978.
52. Zarlungo M. H., Schultz S. G. Biochim. Biophys. Acta, 126, 308, 1966.

«Биол. Армения», т. XXXVIII, № 1, 1987

УДК 551.510.42

ПРИНЦИП ОПТИМАЛЬНОСТИ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ СОЦИОЭТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Ф. Н. СЕМЕВСКИЙ, С. М. СЕМЕНОВ, Г. А. ТОНОЯН

Рассматривается процесс естественного отбора в популяциях на определенные формы поведения. В отличие от классической схемы отбора по наследуемым признакам в статье анализируется обобщенный процесс отбора по таким признакам, которые могут распространяться в популяции как за счет наследуемости, так и за счет копирования, обучения.

Показано, что в рамках схемы отбора на индивидуальном уровне можно объяснить такие эффекты, как распространение в популяции альтруистических черт поведения особей. Подчеркивается, что для количественного анализа такого рода процессов достаточно ранее предложенного авторами [7] математического аппарата, базирующегося на принципе оптимальности для параметров состояния особи.

Ключевые слова: социозтологические процессы, математическое моделирование.

Наблюдаемые в природе определенные черты организации в системах надорганизменного уровня—популяциях, биоценозах—в современной биологии объясняются с эволюционных позиций. Та или иная