

ПРОБЛЕМЫ БИОФИЗИКИ

С. Е. Бреслер

1. ВВЕДЕНИЕ

В живых организмах мы встречаемся с необычайно сложными системами, выполняющими исключительно изощренные и тонкие функции. Явления живого мира можно разделить на химические и физические так же, как это делается в неживой природе. Химические процессы живой природы изучаются биохимией. Эта наука выделилась и развилась гораздо раньше, чем биофизика. Причина состоит в том, что молекулярно-атомистические представления стали основой биохимии гораздо раньше, чем биофизики. Поэтому биохимия представляет собой более организованную, систематическую науку, в ней больше законченности.

Биофизика должна изучать физические явления живой природы. Но делала она это долгое время феноменологически, не вникая в атомно-молекулярную природу живой материи. Поэтому в настоящее время она еще представляет собой скорее набор неразрешенных проблем, чем завершенную науку. Только за последние 15 лет произошел перелом и было выковано современное мощное оружие — система экспериментальных приемов и теоретических взглядов, по сути дела, новый научный метод, исходящий из изучения структуры и взаимодействия тех молекул, из которых состоят живые тела.

Именно атомно-молекулярный подход позволил решить в принципе одну из самых фундаментальных проблем — понять механизм наследственности и изменчивости организмов. Этот раздел биофизики составляет содержание того, что сейчас принято называть молекулярной биологией. Однако, кроме решения конкретных задач, еще важнее было создание нового научного метода, который может и должен быть применен к другим, еще более сложным и трудным задачам. Поэтому биофизика переживает сейчас необычайно интересное время. Имеется множество неразрешенных проблем, имеются мощные методы, основанные на современных достижениях физики и химии. Наконец, имеется большое число способнейших энтузиастов, решающих эти проблемы. Успехи этой науки приумножаются не по дням, а по часам.

Обращаясь к конкретному материалу биофизики, мы можем классифицировать его различным образом. Несомненно, проблема номер один — это молекулярный механизм генетического кодирования, о котором упоминалось выше, — механизм самоповторения в живой природе. В одной своей существенной части, касающейся одноклеточных организмов, эта проблема уже решена. Что касается самоповторения сложного организма, его развития из одной половой клетки путем дифференцировки, то здесь еще почти ничего не известно. Наконец, когда мы говорим «самоповторение организмов», речь идет о синтезе материалов, из которых состоит клетка и о которых имеется информация в ее ядре. Но биологические

молекулы существуют не в свободном виде, а как правило, встроены в специализированные морфологически весьма разнообразные нерастворимые образования — мембраны.

Из мембран образованы все органеллы, составляющие клеточную структуру, — ее оболочка, ядро, митохондрии, рибосомы и другие. Каким образом возникает эта структура, как информация о ней передается потомству — все это, обозначаемое обычно как проблема морфогенеза, следует считать второй важнейшей неразрешенной проблемой биофизики.

В мембранах заложены важнейшие биологические функции, например двигательная. Самопроизвольное движение, прямое превращение химической энергии в механическую работу наблюдается у всех организмов на всех стадиях эволюции от вируса до человека и во всех типах клеток сложного организма, начиная от специализированных органов, т. е. мышц, кончая сокращением митохондрий и рибосом, происходящим в любой клетке. Мы уже немало знаем о природе биологического движения, однако и этот бурно развивающийся раздел биофизики далек от завершенности.

Другая фундаментально важная функция мембран — активный перенос различных веществ против градиента концентрации, т. е. в направлении, противоположном обычной диффузии. Именно перенос веществ сквозь мембраны, как через внешнюю оболочку клетки, так и внутри цитоплазмы, регулирует подвод химических веществ туда, где в клетке идут реакции. Поэтому активный перенос координирует химические процессы в пространстве и во времени и является одним из важнейших регуляторов скорости метаболических реакций. В частности, очень важными и распространенными процессами являются так называемые натриевый и калиевый насосы, активный транспорт ионов калия внутрь клеток, натрия во внешнюю среду. Активный транспорт ионов вызывает образование электродвижущих сил на мембранах, которые уподобляются гальваническим элементам или заряженным аккумуляторам. При определенных условиях в клетках нервной системы (нейронах) происходит пробой мембран, они закорачиваются. При этом через мембрану течет электрический ток. Связь передачи нервного возбуждения с электрическим током известна со времен Гальвани и Вольта.

В настоящее время кратковременные электрические сигналы, возникающие в нейронах, считаются основной нервной деятельности. Именно в этих электрических сигналах закодирована вся нервная деятельность человека и животных.

Естественно, что механизм действия мембран, работа их как химических и электрохимических (в случае ионов) насосов, механизм образования электрических токов в нервных клетках — все это фундаментальные, еще по-настоящему не решенные проблемы современной биофизики. Эти проблемы будут кратко рассмотрены нами в настоящем обзоре. По ним собран большой экспериментальный материал, однако, как уже говорилось выше, в биофизике долгое время отсутствовал атомно-молекулярный подход, что крайне ограничивало ее возможности. Следует подчеркнуть, что в физике вообще атомно-молекулярные методы, идеи, способ мышления утвердились только в начале XX века, на полвека после торжества этих идей в химии, в которой после Дальтона иной подход был уже невозможен. Это объясняется просто тем, что создать экспериментальные методы для исследования атомов и молекул как физических тел оказалось крайне сложным делом. Только в XX веке (введение в обиход дифракции рентгеновских лучей и электронов, молекулярной спектроскопии и радиоспектроскопии) появилась возможность прямыми методами изучать атомно-молекулярный мир. Так же дело обстояло и с биофизикой.

Биологические молекулы (белки, нуклеиновые кислоты, липиды, углеводы) сложны по сравнению с теми, на которых выросла современная молекулярная физика. Изучение структуры этих молекул оказалось возможным в принципе с помощью тех же методов, однако пришлось для этого разработать крайне изощренную технику. Это было осуществлено в течение последних 15 лет и, несомненно, было плодом научно-технической революции, ознаменовавшей середину XX века. Например, структурный анализ белков был бы попросту невозможен не только без современных микрофокусных рентгеновских трубок, но и без быстродействующих счетно-решающих машин. Поэтому истекшие 15 лет внесли необычайно много в наше знание строения, теплового движения, молекулярного взаимодействия биологических молекул. А это и обусловило возможность атомно-молекулярного рассмотрения биофизических явлений. На примере генетического кода этот метод показал свою огромную силу.

Сейчас настал момент атаковать другие биофизические проблемы.

В начале настоящего обзора будут рассмотрены основные данные о структуре биологических молекул и о проблеме генетического кода. Далее будут рассмотрены биофизические проблемы, менее разработанные или вообще почти не затронутые, — механизм развития и дифференцировки при образовании сложного организма, механизм морфогенеза, строение и функции мембран, электрические явления в мембранах и их значение в нервной деятельности.

Ряд вопросов биофизики, как, например, природу биомеханических явлений, механизм зрения и слуха, действие ионизирующих излучений на живую материю и т. п., мы оставим в стороне.

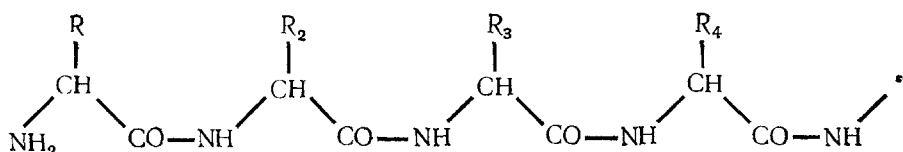
Обилие материала и краткость изложения вынуждают нас описывать результаты огромной экспериментальной работы без того, чтобы вникать в методы и способ получения тех или иных данных. Нам ясно все несовершенство подобного способа изложения. Но если бы мы поступили иначе, получилась бы не статья, а книга. Мы постарались приложить список литературы, в которой заинтересованные читатели смогут найти более детальные сведения по упомянутым в статье вопросам.

II. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОЛЕКУЛЫ

1. Б е л к и ¹

Белки занимают центральное место в обмене веществ (метаболизме). Белки — ферменты, катализаторы химических реакций. Они в огромной степени ускоряют химические реакции, из которых складывается метаболизм. При этом каждый индивидуальный фермент ускоряет одну строго определенную реакцию и действует на строго детерминированные вещества — субстраты. Конечно, реакции, ускоряемые ферментами, должны быть термодинамически возможны. Но даже при соблюдении этого условия эти реакции в отсутствие ферментов не идут. Ферменты заставляют субстраты реагировать друг с другом в том интервале умеренных температур от 10 до 40° С, в котором протекает жизнь. Ферменты — не в пример более сильные и избирательные катализаторы, чем те, которые знает химическая технология. В основе каждого фермента лежит молекула белка, к которой часто присоединена сравнительно небольшая молекула так называемого кофермента. В роли последнего часто выступают витамины или их производные. Строение и свойства коферментов хорошо изучены. Что же касается белков, а именно в них заключено своеобразие ферментов (поскольку один и тот же кофермент может фигурировать в десятках различных ферментов), то их строение полностью было познано за последние 10—15 лет.

Белки — полимеры. Это длинные молекулярные цепочки. Самый маленький белок — инсулин — состоит из 51 звена, самые длинные белковые цепи содержат, по-видимому, несколько тысяч звеньев. Звенья, из которых состоит белковая цепь, это аминокислоты. Существует 20 так называемых «магических» аминокислот, которые универсальны и входят почти во все белки. Их химическую структуру мы не приводим, ее легко найти в книгах. Общая формула белка

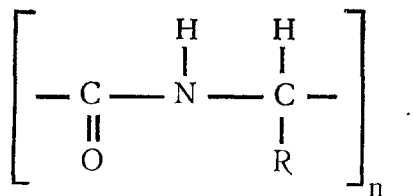


Положение каждого аминокислотного звена в белковой цепи детерминировано с математической точностью. Замещение одного звена на новое является результатом генетической мутации и может вызвать катастрофу в структуре белка и в выполняемой им функции. Так, Полинг и Ингрэм показали, что замена единственного звена в белке красных кровяных шариков — гемоглобине приводит к тяжелейшему наследственному заболеванию — серповидной анемии. Белковую цепь можно уподобить длинной строчке текста. Как буквы в тексте чередуются абсолютно детерминированно — ни одну нельзя выбросить или заменить без искажения текста, — так и белок должен быть набран из заданной последовательности аминокислот. Каждая замена звена эквивалентна опечатке. Конечно, одни аминокислоты, как и некоторые буквы в тексте, повторяются часто, другие реже. Но сущность дела в том, что это — полностью упорядоченная система, не допускающая никаких флуктуаций.

Подобное строение белка, или так называемая первичная структура, полностью доказано и не может оспариваться. Существуют превосходные аналитические методы, позволяющие определить структурную формулу белковой цепи, т. е. порядок чередования различных аминокислот вдоль цепи. Это было сделано уже для нескольких десятков белков.

Окончательным доказательством знания структуры какой-либо молекулы в химии считается ее полный синтез из простых веществ. Полный синтез белка (инсулина) методами органической химии осуществлен за последние три года. Более того, методы синтетической химии настолько хорошо развиты, что один из выдающихся химиков современности Мэрифилд осуществил автоматическую машину, которая ступенчато, шаг за шагом, синтезирует любую белковую цепь по заданной программе. Такая машина должна синтезировать любой белок, а не какой-либо один частный объект. На ней уже проведен синтез фермента рибонуклеазы — цепи из 124 аминокислотных остатков. Синтетический фермент оказался активным.

Белки явились первым примером полимеров, макромолекулы которых обладают вторичной структурой. Что это означает? Оказывается, что между звеньями одной и той же цепи возникают интенсивные взаимодействия вследствие образования водородных связей. Белковая цепь является повторением звеньев с общей формулой



Пептидные группы — CO — NH — образуют столь сильные водородные связи, что последние не расщепляются даже в водном растворе. Только такие вещества, как трифторуксусная или дихлоруксусная кислоты или мочевины, способны полностью дезорганизовать внутримолекулярные водородные связи в белковой макромолекуле. Полинг предсказал, что структурами с минимумами энергии для белковой цепочки могут явиться либо так называемая α -спираль, у которой каждое звено связано двумя водородными связями с четвертыми по счету звеньями вдоль цепи, либо складчатая β -структура, у которой цепь сложена параллельными складками и каждое звено опять же образует две водородные связи с противолежащими звеньями в соседних складках. Это и есть два типа регулярной вторичной структуры у белков. По-существу, это — способ укладки полимерной цепи в пространстве, долженствующий минимизировать энергию сил сцепления. Можно назвать это явление внутримолекулярной кристаллизацией.

Предсказанные Полингом типы вторичной структуры были экспериментально подтверждены во всех деталях с помощью рентгеноструктурного анализа как на модельных полимерах — полипептидах, состоящих из одинаковых звеньев (какой-либо повторяющейся аминокислоты), так и на настоящих белках. Кроме того, было доказано, что образование вторичной структуры и соответственно ее разрушение — процессы кооперативные. Они на самом деле аналогичны кристаллизации и плавлению, хотя и происходят в пределах одной отдельной макромолекулы (белки имеют молекулярные веса от 6000 до сотен тысяч при среднем весе звена, близком к 110).

При сравнении белков с модельными простыми полипептидами выясняется еще одна важная деталь. У полипептидов альтернатива заключается в следующем: либо каждая макромолекула вся образует α -спираль, и тогда она ведет себя как жесткая иголочка, либо она целиком складывается в складчатую β -структуру и образует довольно симметричное тело типа эллипсоида, либо, наконец, она остается аморфным клубком, пропитанным растворителем, т. е. водой. Какая из вторичных структур избирается природой, это зависит от соотношения между энергией сил сцепления и тепловым движением звеньев цепи. В конечном счете все зависит от специфики боковых групп R, определяющих собой природу аминокислоты. В белках ситуация иная. В каждой макромолекуле присутствуют все 20 или большинство аминокислот. Поэтому внутри одной белковой макромолекулы могут осуществляться все три типа вторичной структуры: α , β и аморфная. Белковая макромолекула является системой небольших элементов, построенных по трем возможным типам вторичных структур. Кроме того, все эти элементы с различной вторичной структурой уложены в пространстве таким образом, чтобы в результате получилось компактное тело — белковая глобула. В белковой макромолекуле сравнительно мало пустого места, заполненного молекулами растворителя, обычно 20—30% ее объема. Чем определяется такая топологически сложная, так называемая третичная структура белковой молекулы? Естественно, она определяется балансом внутримолекулярных сил и тепловым движением.

Почему бы в белках не образоваться одному строго регулярному структурному элементу, как в полипептидах, например одной α -спиральной области? Для этого имеется ряд оснований. Во-первых, как видно из рис. 1, где представлена в виде схемы первичная структура типичного белка, белковая цепочка сшита химическими мостиками во многих местах. Пользуясь терминологией технической химии, можно сказать, что белковые цепочки завулканизированы серными мостиками, как резина. Ясно

что вблизи мостиков α -структура должна прерываться. Кроме того, имеются два типа звеньев (пролин и оксипролин), около которых α - и β -структуры оказываются геометрически невозможными.

Следовательно, существует ряд разных причин, способствующих нарушению дальнего порядка или аморфизации белковой цепи. Но среди них имеется одна наиболее общая причина. Белковая глобула, несомненно, — фигура равновесия всех типов молекулярных сил, действующих между звеньями цепи. Тот факт, что третичная структура белков является термодинамически равновесной, доказан в настоящее время прямыми

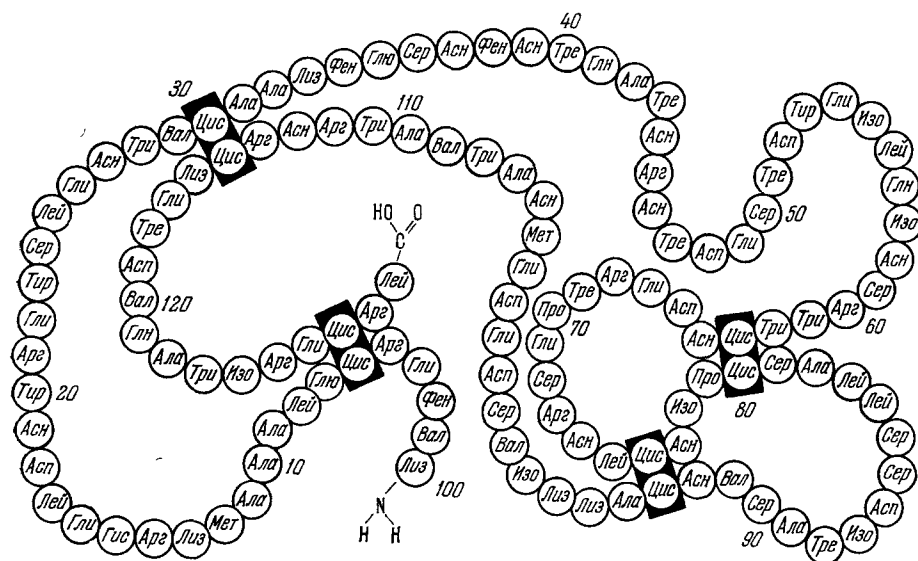


Рис. 1. Первичная структура лизоцима.

экспериментами — показано, что можно дезорганизовать эту структуру обратимо. Макромолекула превращается в статистический клубок, а затем возвращается спонтанно в первоначальное состояние, когда устраняются причины, вызывающие денатурацию.

Из всех типов молекулярных сил, действующих внутри белковой глобулы, имеется один, который способствует ее свертыванию в компактное тело. Это ван-дер-ваальсовы, т. е. дисперсионные, силы между боковыми группами углеводородной природы. В белковой цепи до 50% и более боковых радикалов имеют чисто углеводородную природу. Поэтому соответствующие участки белковой цепи становятся гидрофобными. В окружении воды эти углеводородные радикалы стремятся установить контакт между собой, как бы слиться в углеводородную каплю, совершенно по тем же причинам, по каким керосин образует в воде круглые капли с минимальной поверхностью. Дисперсионные силы, или, как их неудачно называют, гидрофобные взаимодействия, стремятся собрать белковую макромолекулу в компактный шарик. Однако этому препятствует вторичная структура, требующая жестких спиралей. Отсюда компромиссное решение — белок состоит из фрагментов упорядоченных и неупорядоченных, сложенных вместе, как бы сжатых в плотное сравнительно симметричное образование.

Конечно, «гидрофобные силы» — не единственные, определяющие собой третичную структуру белка. Имеются еще весьма характерные водо-

родные связи между некоторыми специфически приспособленными боковыми группами (например, между фенольной группой тирозина $\text{HO} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{CH}_2 -$ и карбоксильной группой глутаминовой или аспарагиновой кислоты). Эти водородные связи обнаруживаются по спектроскопическим проявлениям, так как фенольное кольцо имеет характерную полосу поглощения.

Существенную роль в белках играют кулоновские силы между ионизованными боковыми группами, количество которых в средней белковой молекуле достигает нескольких десятков. Наконец, целые α -спиральные области внутри макромолекулы несут существенный дипольный момент порядка десятков и даже сотен дебаев (в зависимости от размеров α -спиральных областей). Дипольные взаимодействия спиральных участков дают также заметный вклад в энергию сил сцепления. Различные спиральные фрагменты стремятся располагаться антипараллельно друг другу. Своеобразие белков состоит в том, что все типы молекулярных сил дают вклады одного порядка в энергию белковой глобулы. Поэтому белки так поразительно изменчивы. При изменении состава среды, ее ионной силы белковые макромолекулы изменяются — набухают или сжимаются, удлиняются или симметризируются. Белок крови гемоглобин, например, как бы «дышит» при присоединении кислорода. Присоединение каждой молекулы кислорода сопровождается утерей одного протона боковой группой гистидина в белке. Отсюда изменение заряда и изменение размеров макромолекулы.

Ферменты изменяют свои размеры при присоединении субстрата. Предполагается, что это обстоятельство принципиально важно для осуществления катализа. Так или иначе, все внутренние противоречия в белке между вторичной и третичной структурами, между силами сцепления (гидрофобные силы, водородные связи) и силами отталкивания (кулоновские силы между ионизованными группами) приводят к некоторому состоянию с минимумом энергии. Оно и характеризует равновесную структуру белковой макромолекулы.

В последнее время были сделаны интересные попытки рассчитать равновесную вторичную и третичную структуры белка, исходя из известной первичной структуры, т. е. из известного порядка чередования аминокислотных остатков вдоль цепи. В принципе дело идет о минимизации суммарной энергии всех типов сил сцепления и отталкивания. Попытка проделать этот расчет с помощью современных счетно-решающих машин пока не привела к успеху. Но сама постановка этой задачи поучительна. Следует полагать, что она разрешима, хотя и требует преодоления значительных трудностей.

В настоящее время изучение вторичной и третичной структур белка — дело эмпирическое. Наиболее полную и всеобъемлющую информацию здесь дает рентгеноструктурный анализ. Анализ белковых кристаллов является поразительным триумфом рентгеноструктурного метода *). Эти кристаллы содержат по несколько тысяч атомов в элементарной ячейке. Анализ дает координаты каждого атома, т. е. позволяет полностью воспроизвести первичную, вторичную и третичную структуры без каких-либо дополнительных данных. Количество рентгеноструктурной информации, которую необходимо получить из эксперимента и переработать, грандиозно. Обычно каждый анализ требует точного измерения координат и интенсивностей многих сотен тысяч рефлексов. Далее идет математическая переработка этой информации с помощью аппарата рядов Фурье. Практически

*) См. статью У. Л. Брэгга, УФН 97 (3), 525 (1969). (Прим. ред.)

рых, спектрополяриметрия; в-третьих, измерение кругового дихроизма вблизи полосы поглощения, так называемого котон-эффекта. Все эти явления позволяют получить некоторую информацию о структуре. Однако отсутствие корректной теории не позволяет использовать их для количественной характеристики степени регулярности белка или для того, чтобы отличить элементы α - от элементов β -структуры. Оптические методы пока являются сугубо качественными и не всегда однозначными. Однако они полезны в качестве паллиатива в силу быстроты и малой трудоемкости.

Другая группа экспериментальных методов — гидродинамическая — дает общее суждение о размерах белковой глобулы и тем самым о третичной структуре. Наиболее употребительными являются измерение вязкости белковых растворов и константы седиментации (скорости осаждения, отнесенной к центробежному ускорению) белка в ультрацентрифуге. Все эти методы при всей их ограниченности позволяют продвигаться в области физической химии белка. Однако решающие и безальтернативные ответы дает только рентгеноструктурный анализ.

Заканчивая этот раздел, мы можем констатировать, что структура белков не содержит сейчас каких-либо неразгаданных тайн. Первичная структура известна уже для десятков белков, вторичная и третичная для девяти. Имеются прецеденты полного синтеза белков методами органической химии, причем синтетический белок проявлял такую же функциональную активность, как и природный.

Дело сейчас за количественным ростом информации, за увеличением числа объектов из всех классов белков. Это — важная и полезная работа, однако в ней уже нет той новизны, полной неожиданностей, которая отличала эту область еще десять лет назад. Но один фундаментальный вопрос остается практически совершенно нетронутым. Почему белки имеют такую структуру, которую мы у них находим? С одной стороны, этот вопрос связан с функцией, выполняемой белками. Иначе говоря, можно спрашивать: каким образом структура данного реального белка служит выполнению этой полезной функции? Что в структуре является обязательным и незаменимым? С другой стороны, каждый белок есть продукт эволюции, результат накопления случайных наследуемых изменений, которые были закреплены естественным отбором. Поэтому в структуре белка записана не только его современная функция, но и его история, т. е. те функции, которые он некогда выполнял в более примитивных организмах. В структуре белков нельзя искать полной целесообразности. Эволюция, как известно, процесс статистический, полный случайностей. Понимание связи структуры белка с его различными функциями, взаимной обусловленности структуры и функции — это почти всеобъемлющая задача, объединяющая большинство проблем биофизики, упоминавшихся во введении.

2. Нуклеиновые кислоты

Это — второй важнейший класс биологических молекул, играющий главную роль в процессе самоповторения клетки или целого организма. Нуклеиновые кислоты — это кибернетические вещества — материальный субстрат наследственности. В них зафиксирована структура всех белков клетки и организма, всех его составных веществ. Нуклеиновые кислоты — полимерные цепи, в которых в различных сочетаниях фигурируют четыре типа звеньев, так называемых нуклеотидов. Цепь главных валентностей нуклеиновых кислот содержит попеременно молекулы сахара и связанные двумя эфирными связями молекулы фосфорной кислоты. Сбоку от цепи главных валентностей привешены пуриновые или пиримидиновые основания: аденин, гуанин, цитозин и тимин (или урацил). Сахары встречаются

двух типов — рибоза в рибонуклеиновой кислоте (РНК) и дезоксирибоза в дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК). Было установлено, что ДНК — основная составная часть клеточных ядер и что во всех ядрах клеток одного организма количество ДНК абсолютно стандартное. У нуклеиновых кислот также следует различать первичную, вторичную и третичную структуры. Первичная структура — это структурная формула вещества. Для нуклеиновых кислот это — знание порядка чередования четырех типов нуклеотидов вдоль цепи. Для изучения первичной структуры уже разработаны различные остроумные методы, но задача здесь оказалась значительно более трудной, чем при изучении белков, и результаты пока скромные. В настоящее время могут быть изучены до конца лишь не слишком длинные последовательности нуклеотидов, не более ста единиц. Высшими достижениями является выяснение структурных формул транспортных РНК-цепочек, состоящих из 75—80 нуклеотидных звеньев.

Что касается ДНК, то здесь мы встречаемся с необыкновенно длинными цепями, достигающими миллионов звеньев. Чередование четырех типов нуклеотидов вдоль такой длинной цепи не может быть изучено существующими методами. Поэтому пока приходится довольствоваться малым. Удастся разобраться в том, каковы 2—3—4 концевых звена цепи, или, расщепив цепь на короткие олигонуклеотиды (димеры, тримеры), установить статистическое распределение соседей в подобных коротких фрагментах.

В целом задача познания первичной структуры нуклеиновых кислот оказалась труднее, чем для белков. В этом случае тот факт, что нуклеиновые кислоты образованы из четырех типов мономеров, а не из двадцати, как белки, оказался не в нашу пользу, так как фрагменты после частичного гидролиза оказываются чересчур стандартными. Кажущаяся простота является препятствием, а не преимуществом.

Что касается вторичной структуры нуклеиновых кислот, то на ней следует остановиться подробнее, так как ее открытие (Уотсоном и Криком в 1953 г.) явилось одним из главных этапов в создании молекулярной биологии. Путем анализа рентгенограммы ДНК и сопоставления множества других данных (в данном случае рентгеноструктурный анализ сам по себе недостаточен, так как нуклеиновые кислоты в силу малой упорядоченности дают несовершенные рентгенограммы с малым числом рефлексов) было установлено, что ДНК образует всегда (за очень редким исключением) двухзаходные спирали, в которых обе нити двухзаходной спирали строго дополнительны, комплементарны между собой (рис. 4), а именно, против аденина в первой нити всегда помещается тимин, а против гуанина — всегда цитозин. Эта взаимная дополнительность нуклеотидов происходит от того, что аденин образует две водородные связи с тимином (или урацилом), а гуанин три водородные связи с цитозином. Других возможностей компактно упаковаться в длинных цепях ДНК не существует. Если взять не полимерные цепочки ДНК, а попросту боковые группы — свободные пуриновые и пиримидиновые основания, то и они могут образовывать комплексы друг с другом, что проявляется в их способности сокристаллизовываться в стехиометрических соотношениях. Однако здесь разнообразие возможных комплексов гораздо шире, что было установлено рентгеноструктурным анализом. Это не удивительно, так как малые молекулы могут поворачиваться под различными углами друг к другу в элементарной ячейке. В полимерах никакого разнообразия не наблюдается, наоборот, правила дополнительности, сформулированные Уотсоном и Криком, соблюдаются строго.

В последние годы была сделана попытка оценить вклад различных молекулярных сил в энергию взаимодействия двух цепочек ДНК в двух-

заходной спирали². Создалось впечатление, что ван-дер-ваальсовы дисперсионные силы между пуриновыми и пиримидиновыми группами, упакованными как стопка монет внутри двойной спирали, являются доминирующими и дают наибольший вклад. Однако водородные связи создают специфичность связывания именно А..Т и Г..Ц, т. е. лежат в основе принципа комплементарности. К сожалению, квантовохимические методы грубы и в руках разных авторов дают различные результаты. Поэтому мы не имеем пока хороших расчетов, дающих физическое обоснование величине 14—15 ккал/моль — барьеру энергии, защищающему комплементарное спаривание от «ошибок».

Однако факт остается фактом. Еще в большей степени, чем у белков, вторичная структура ДНК подобна внутримолекулярной кристаллизации, а ее разрушение под действием теплового движения или при крайних значениях *pH* подобно плавлению кристалла. Оно происходит при критических условиях, как это свойственно кооперативным явлениям. Но самое важное в структуре ДНК и в найденном в ней принципе комплементарности — это взаимная обусловленность обеих цепей. Каждая из двух цепей ДНК полностью определяет собой структуру дополнительной цепи. В этом обстоятельстве заключен новый фундаментальный принцип природы. Дело в том, что функция ДНК — хранение и перенос информации о структуре всех белков и всех нуклеиновых кислот и об их надмолекулярной организации в клетке. Ясно, что первое требование, которое предъявляется к ДНК, — это способность к буквальному самоповторению — авторепликации. Ведь при делении клетки оба ядра дочерних клеток получают всю информацию, содержащуюся в ядре материнской клетки, значит, и полную копию материнской ДНК. Но ДНК — полимер, в котором чередуются самым причудливым образом четыре типа нуклеотидов. Каким образом синтезировать полимерную цепь из четырех типов мономерных звеньев так, чтобы в ней с абсолютной точностью воспроизводился заданный порядок чередования мономеров?

Вероятность ошибки, т. е. вставки неправильного звена, — величина потрясающе малая. Ее можно оценить в 10^{-10} — 10^{-11} . Чтобы достичь

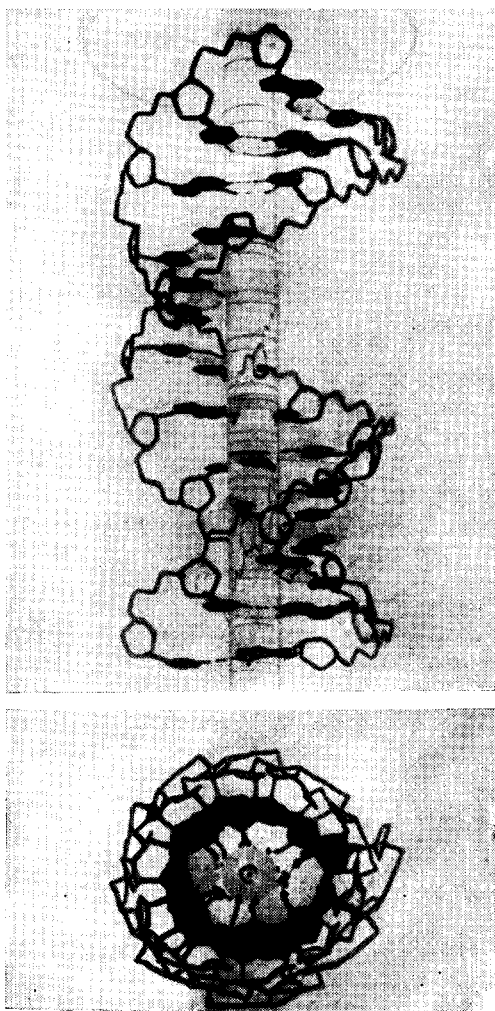


Рис. 4. Спираль Уотсона — Крика (проволочная модель).

такой точности копирования известные нам методы синтетической химии непригодны. Поэтому было введено специальное понятие матричного синтеза, т. е. такого процесса, когда готовая полимерная цепь служит матрицей, или шаблоном, для второй, вновь образующейся цепи, и навязывает ей свою структуру, как бы передает запасенную в ней информацию. До открытия физической структуры ДНК понятие матрицы было лишь логической абстракцией. Уотсон и Крик превратили его в реальное физическое тело, показали, каковы молекулярные силы, лежащие в его основе. Представим себе, что двойная спираль ДНК начнет расходиться с одного из концов. Тогда на освободившейся нити ДНК смогут сорбироваться мономеры из раствора. Они будут сорбироваться с обязательным соблюдением принципа комплементарности и, сомкнувшись в цепь, образуют в итоге две двухзаходные спирали Уотсона — Крика. При этом синтезе каждая из двух цепей послужила матрицей для набора комплементарной цепочки. Этот механизм полностью объясняет процесс авторепликации ДНК.

Как принято говорить, этот процесс должен быть полуконсервативным, так как в состав каждой новой дочерней молекулы ДНК входит одна цепочка из материнской ДНК и одна вновь синтезированная. Это конкретное предсказание может быть проверено простыми экспериментами с изотопной меткой, позволяющей отличать «старые» цепи ДНК от «новых». Опыты Месельсона, Сталя и Винограда на бактериях, опыты Тейлора на высших растениях полностью доказали, что механизм синтеза ДНК в живой природе — это механизм полуконсервативного копирования. Иначе говоря, молекула ДНК является матрицей при синтезе подобных же молекул ДНК. Спрашивается, какие молекулярные силы обеспечивают такую селективность при отборе нуклеотидных звеньев, что вероятность ошибки не превышает 10^{-10} ? Из этого числа можно оценить разность энергий при вставке в синтезируемую цепь «правильного» или «неправильного» (не комплементарного) звена. Так как, по Больцману, вероятность флуктуации $W = e^{-U/kT}$, где U — искомая разность энергий, то приравняв $W = 10^{-10}$, находим $U = 15$ ккал/моль. Это — большая величина, и по всем данным она определяется в конечном счете водородными связями аденин — тимин и гуанин — цитозин.

Из всего сказанного становится ясным, какую громадную роль сыграло открытие вторичной структуры ДНК. Что касается вторичной структуры РНК, то здесь дело обстоит несколько иначе, так как РНК синтезируется в виде одной-единственной цепочки. РНК в клетках не находится в свободном виде, а встроена в специальные белково-полинуклеотидные частицы — рибосомы. В них имеются три типа молекул РНК с молекулярными весами 30 000, 600 000 и 1 000 000. В случае вирусов, содержащих РНК, последняя также встроена в структуру вирусной корпускулы. Только маленькая транспортная РНК (ТРНК) может находиться в свободном растворенном состоянии.

Вследствие образования водородных связей аденин — урацил и гуанин — цитозин цепочка ТРНК складывается сама на себя и образует, по-видимому, подобие трилистника («листок клевера»). В ней имеются несколько (по-видимому, четыре) упорядоченных фрагментов (кусочки двойных спиралей) и между ними аморфные переходы. Все данные указывают на то, что подобная третичная структура ТРНК важна для функции. Ее нарушение различными способами (например, теплом с последующим закреплением денатурированных состояний многовалентными ионами) ведет к утрате функции.

Почему форма молекулы ТРНК имеет столь существенное значение? По всей вероятности, ферменты, для которых ТРНК является субстратом,

чувствительны к изменениям ее третичной структуры. Между ферментом и субстратом происходит явление, которое можно назвать «молекулярным узнаванием». Ферменты исключительно специфичны. Они сорбируют только свой субстрат. Специфичность основана, несомненно, на обычных молекулярных силах, но это явление кооперативное. Различные части молекулы субстрата должны одновременно соответствовать дополнительным группам молекулы фермента. Ясно, что для такого узнавания небезразличны третичные структуры как фермента, так и субстрата. Для изучения изменений третичной и вторичной структур нуклеиновых кислот широко применяются такие же оптические методы, как и для белков. Здесь — и измерение гипохромного эффекта в полосе поглощения нуклеиновых кислот, т. е. вблизи 260 мкм, и измерение оптической активности, которая у нуклеиновых кислот почти целиком обязана спиральной вторичной структуре, и измерение дисперсии оптической активности и дихроизма вблизи полосы поглощения (эффект Котона), и двойное преломление в потоке (эффект Максвелла). Все эти методы общеупотребительны. Кроме них, довольно успешно применялся метод рентгеновской дифракции от раствора нуклеиновых кислот.

В случае ДНК ценную информацию дает электронная микроскопия, позволяющая измерять размеры двойной спирали ДНК и дающая достаточно точные значения молекулярного веса ДНК.

Кстати, проблема молекулярного веса ДНК до настоящего времени остается неясной. В случае вирусов, содержащих ДНК (например, бактериофагов), удается иногда выделить целые молекулы ДНК из корпускулы вируса (рис. 5). Получается молекулярно-однородный препарат ДНК с молекулярным весом порядка $(100—300) \cdot 10^6$ дальтонов. Однако при приготовлении ДНК из бактерий и из клеток высших организмов не удается избежать механического разрыва длинных макромолекул. В итоге получают частицы ДНК случайного молекулярного веса. Неоднократно высказывалось предположение о том, что вся хромосома бактерии содержит одну молекулярную цепь ДНК; тогда ее молекулярный вес должен был бы быть равным $(2—3) \cdot 10^9$. Однако никто этого пока не смог доказать. Так или иначе, когда готовят препараты ДНК из различных организмов, получают обычно смесь фрагментов со средним молекулярным весом $(10—20) \cdot 10^6$.

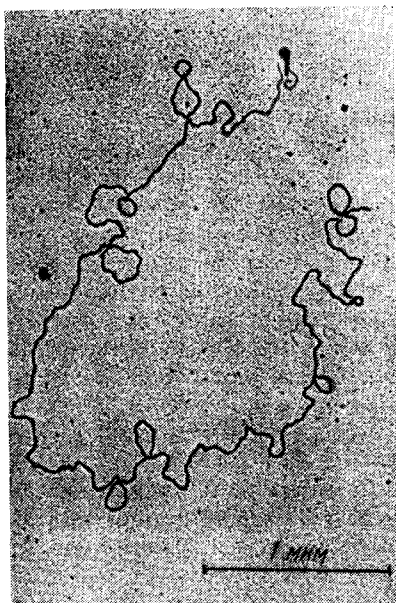


Рис. 5. Электронная микрофотография ДНК.
Запечатлен момент выбрасывания фагом Т1 своей ДНК.

3. Л и п и д ы ³

Третья группа важнейших биологических молекул — липиды. По своей структуре это самые простые вещества. Они низкомолекулярны, строение их полностью известно, но по своей функции они очень сложны, и до сих пор не ясно, что они в точности призваны делать и зачем природа придала им столь своеобразное строение. Липиды — поверхностно-актив-

ные вещества, напоминающие по своему строению детергенты, столь широко применяемые в технике и быту. Липиды являются необходимым компонентом биологических мембран. Именно липиды делают мембраны трудно проницаемыми для хорошо растворимых в воде ионов, сахаров, аминокислот и других веществ. Проницаемость по отношению к этим веществам перестает быть вопросом растворимости и пассивной диффузии, а становится химическим процессом так называемого активного транспорта. Если извлечь липиды из мембраны, она становится «пористой», через нее беспрепятственно просачиваются растворимые в воде вещества. Каким образом интегрированы липиды в мембранах, в настоящее время точно не известно. К стоящим здесь проблемам мы вернемся в дальнейшем.

Функции липидов не ограничиваются мембранами. Они дают комплексы со многими белками. Некоторые из белков являются, по-видимому, переносчиками липидов (последние сами по себе не растворимы в воде, но соответствующие белки их солюбилизуют). Таков сывороточный альбумин крови. Он способен вбирать в себя даже бензол. В других белках липиды служат регуляторами ферментативной активности. (Цитохромоксидаза теряет полностью активность, если из нее извлечь липиды, и вновь приобретает активность, если липиды в нее вернуть.) Следует напомнить, что некоторые гормоны, например гормоны коры надпочечников, также относятся к липидам; по-видимому, и они дают комплексы с определенными ферментами или другими активными белками и тем самым влияют на их функцию.

В чем же механизм действия липидов на белки? Почему один и тот же липид может влиять на активность разных белков? По всем данным липиды изменяют конформацию, т. е. геометрию белковой цепи, деформируют белковую глобулу. Это — конформационные регуляторы. К этой их функции мы еще вернемся ниже. Здесь же подчеркнем, что структура молекул липидов приспособлена к тому, чтобы сорбироваться на белках и влиять на их конформацию. Липиды можно классифицировать по нескольким группам. Сюда относятся:

а) Простые липиды (жирные кислоты, нейтральные жиры или триглицериды жирных кислот). Вполне вероятно, что эти вещества играют подчиненную роль, являясь полупродуктами для синтеза более сложных липидов и источниками энергии для окислительных процессов в клетке.

б) Стероиды. К этому классу соединений относятся холестерин, желчные кислоты, половые гормоны и витамин D.

в) Углеводороды. К этому классу соединений относятся витамин А и другие каротиноиды, а также витамины Е и К.

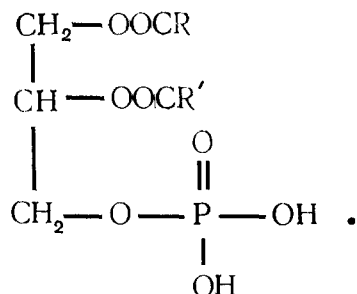
г) Сложные липиды (фосфолипиды, гликолипиды; последние, кроме жирной кислоты и аминок спирта, содержат также и углевод).

д) Воски — эфиры высших одноатомных спиртов и высших жирных кислот.

По-видимому, именно сложные липиды выполняют специфические биологические функции в мембранах и в некоторых ферментах. Фосфолипидов особенно много в клетках мозга и вообще нервной системы. Это связано с самодовлеющим значением мембранных процессов в нервной системе.

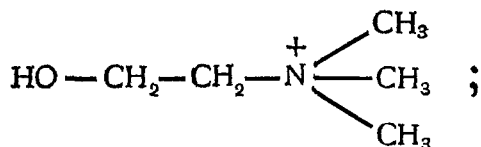
Остановимся кратко на химической структуре фосфолипидов. Фосфолипидов известно довольно значительное количество. Так как мы не понимаем отчетливо, в чем состоит их функция, и соответственно не можем сформулировать какие-либо рациональные требования к их структуре, перечисление всех этих веществ вряд ли целесообразно. Интересующихся

мы отсылаем к специальной литературе³. Приведем лишь несколько типичных примеров. Многие фосфолипиды состоят из так называемой фосфатидной кислоты, соединенной эфирной связью с аминоканголем. Формула фосфатидной кислоты



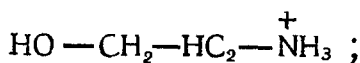
Радикалы R и R' представляют собой остатки жирных кислот, причем R' чаще всего — непредельная жирная кислота, а R — предельная. Следовательно, фосфатидная кислота представляет собой глицерин, у которого два гидроксила этерифицированы жирными кислотами, а третий гидроксил — фосфорной кислотой. Ясно, что фосфатидная кислота посредством остатка фосфорной кислоты может образовывать еще эфирные связи. В ряде липидов такие связи возникают с одним из следующих аминоканголов:

а) холином



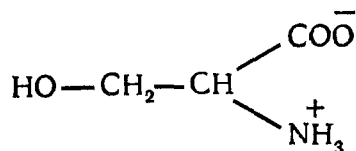
соответствующий класс липидов называется лецитинами; это наиболее распространенные в природе фосфолипиды;

б) этаноламином



соответствующий класс липидов называется кефалинами;

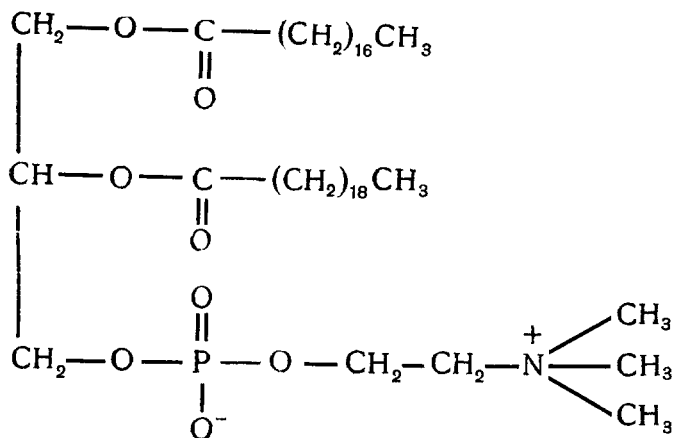
в) серином



фосфатидилсерины, как и кефалины, были выделены вначале из мозга, в котором содержатся в заметном количестве.

Мы видим, что структуре рассмотренных фосфолипидов свойственны следующие особенности. В ней присутствуют две длинные алифатические цепочки R и R', придающие молекуле гидрофобные свойства. Одновременно в ней имеется положительно заряженная группа, происходящая от аминокангола, и анионная группа от дважды этерифицированного остатка

фосфорной кислоты. Приводим полную структурную формулу лецитина



Ясно, что конец молекулы, содержащий заряженные группы, крайне гидрофилен, т. е. отличается большим сродством к воде. По-видимому, фосфолипиды дают комплексы с белками такой структуры, что длинные углеводородные цепи поглощаются гидрофобной (водоотталкивающей) каплей внутри белковой глобулы, а заряженные группы торчат наружу и стремятся сблизиться с заряженными группами белка. Эти общие черты молекулярной архитектуры достаточны, чтобы липиды выполняли свои функции. Так, например, различные лецитины одинаково успешно активируют фермент цитохромоксидазу, который утратил активность, лишившись липидного компонента. Очень строгой специфичности здесь не наблюдается. Нет, по-видимому, строгой специфичности и в экспериментах по моделированию и реконструкции мембран, о которых речь пойдет ниже. Следовательно, фосфолипиды — относительно простые поверхностно-активные вещества, без которых не могут существовать биологические структуры (мембраны) и не работают некоторые извлекаемые из мембран ферменты. Но картина молекулярной структуры мембран, способ интеграции в этой структуре белков и липидов, механизм воздействия липидов на белки, все это пока нерешенные проблемы, почему этот важнейший класс биологически активных веществ и следует считать менее понятным, чем несравненно более сложные белки и нуклеиновые кислоты.

Следующий повсеместно распространенный в живой природе класс соединений — это сахара, полимерные углеводы — целлюлоза, крахмал, гликоген и некоторые их производные. Роль и значение этих веществ в значительной мере выяснены и подробно описаны в биохимической литературе.

III. СИНТЕЗ БИОПОЛИМЕРОВ. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

Важнейшие биополимеры, нуклеиновые кислоты и белки представляют собой линейные последовательности различных нуклеотидов (общим числом 4) и аминокислот (числом 20). Чередование различных мономерных единиц в последовательности детерминировано с абсолютной точностью. Замена одного звена цепи на какое-нибудь другое, ошибочное — это мутация, чреватая катастрофическими последствиями для структуры белка и его функции. Напомним уже приводившийся пример гемоглобина. Замена одного-единственного звена из 287 на ошибочное приводит к возникновению молекул белка с измененными свойствами (Полинг, Ингрэм).

Паталогический гемоглобин становится менее растворимым, кристаллизуется внутри эритроцитов, которые при этом разрушаются, закупоривая кровеносные капилляры. Отсюда тяжелое смертельное заболевание — серповидная анемия. Следовательно, в организмах существует механизм синтеза линейной последовательности нуклеотидов и аминокислот, действующий с беспрецедентной точностью. Обычная сополимеризация в органическом синтезе всегда дает статистический разброс в структуре сополимера. Флуктуации порядка десятков процентов являются вполне обычным делом. При копировании нуклеиновых кислот вероятность ошибки не превышает 10^{-10} — 10^{-11} . Это обеспечивается синтезом полимеров на матрице или шаблоне. Каждая двойная цепь ДНК, как говорилось выше, является матрицей для синтеза двух комплементарных цепей. В самой структуре ДНК заложен принцип матричного синтеза.

Безошибочность в работе наборной машины поддерживается принципом комплементарности оснований Уотсона — Крика. В этом случае мы в общих чертах понимаем природу молекулярных сил, создающих точное соответствие между шаблоном и синтезируемой цепью. Синтез ДНК по ДНК происходит под действием фермента ДНК-полимеразы. Фермент не определяет собой последовательности нуклеотидов. Он с равным успехом копирует любые матрицы с каким угодно расположением нуклеотидных звеньев. В последние месяцы Корнбергу удалось с помощью этой реакции, проводимой в растворе, т. е. *in vitro*, показать, что ДНК вируса (бактериофага ФХ 174) можно точно скопировать и синтетической ДНК можно инфицировать клетки ничуть не хуже, чем природной.

ДНК — полимер, содержащий информацию о структуре всех белков клетки. Но в синтезе белка ДНК непосредственно не участвует. Матрицей для синтеза белка служит так называемая информационная, или матричная, РНК (мРНК), синтезируемая по ДНК, как по шаблону. Следовательно, в клетке непрерывно идет синтез РНК по ДНК. Процесс этот носит название транскрипции. Он осуществляется под действием фермента РНК-полимеразы, прикрепляющейся к определенным точкам на цепях ДНК, содержащихся в клеточной хромосоме. РНК-полимераза движется вдоль цепи ДНК и создает копию одной из двух цепей Уотсона — Крика, построенную по тому же принципу комплементарности оснований (аденин против урацила, гуанин против цитозина). Структура РНК комплементарна, но не идентична структуре ДНК. Во-первых, сахар другой, дезоксирибоза заменена на рибозу; во-вторых, одно их основание модифицировано — вместо тимина фигурирует урацил. Но эти вариации не затрагивают главного — образования водородных связей между основаниями и принципа комплементарности Уотсона — Крика, служащего основным регулятором при наборе синтезируемой цепочки из четырех номеров.

На прекрасной электронной микрофотографии Холла (рис. 6) видна матрица ДНК и на ней молекулы РНК-полимеразы, нанизанные как бусы с определенными интервалами между ними. Все они начинают свое движение от начальной точки — так называемого промотора. Когда одна из них продвигается достаточно далеко, к промотору прикрепляется вторая, затем третья и т. д. Итогом являются одонитчатые молекулы матричной РНК. Интересно, что одни промоторы запускают копирование одной из цепей ДНК (в шутку одну из этих цепей называют «крик», другую — «уотсон»), другие промоторы заставляют фермент копировать вторую цепь. Следовательно, матричная РНК может представлять собой в одних случаях продукт транскрипции с «крика», в других — с «уотсона», но никогда не происходит транскрипции с обеих цепей одновременно от одного и того же промотора.

Как мы увидим дальше, рядом с промоторами находятся операторы — те точки хромосомы, к которым прикрепляются репрессоры, запрещающие транскрипцию и прекращающие синтез определенных белков. Здесь

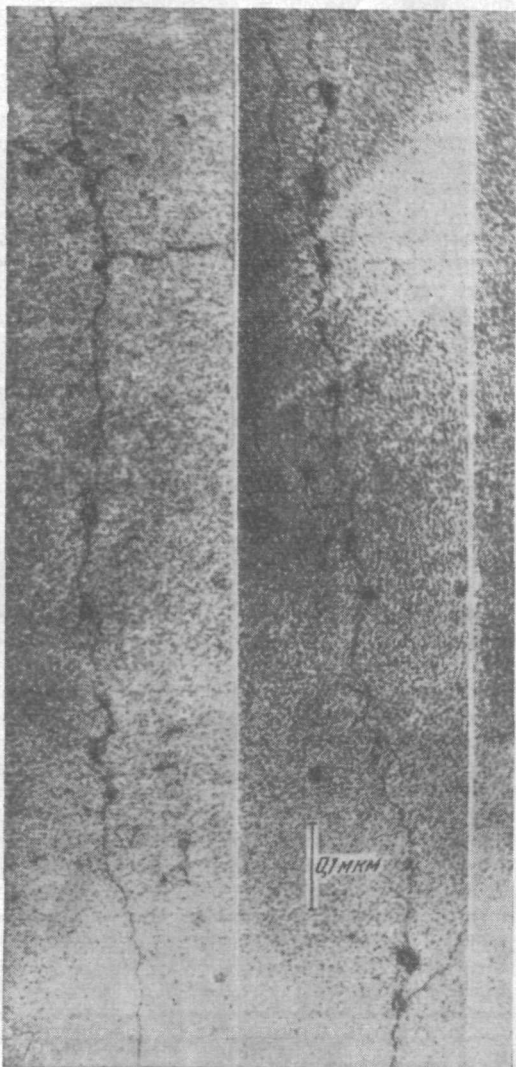


Рис. 6. Электронная микрофотография нескольких молекул РНК-полимеразы, прикрепившихся к нити ДНК.

кислотам (двухбуквенный код недостаточен, так как число возможных сочетаний $4^2 = 16$, т. е. меньше 20; трехбуквенный дает $4^3 = 64$, т. е. примерно тройной избыток комбинаций.). Точные и безупречные эксперименты показали, что генетический код является действительно троичным. Тройка соседних нуклеотидов на матрице, кодирующая одну аминокислоту, носит название кодона.

Число троичных кодонов избыточно по сравнению с числом аминокислот. Это приводит к так называемой вырожденности кода. Почти

заложен механизм регулирования синтеза белков. Без него белки производились бы клеткой в избытке, безотносительно к реальным ее потребностям. В строении операторов имеются еще не выясненные любопытные детали, однако в целом процесс транскрипции достаточно ясен.

Далее следует синтез белка по матричной РНК. Здесь имеется принципиальное затруднение. Между аминокислотами и нуклеотидами нет ни структурных аналогий, ни комплементарности. Кроме того, нуклеотидов четыре, а аминокислот — двадцать. Следовательно, если линейная последовательность нуклеотидов детерминирует линейную последовательность аминокислот, то должен существовать особый код, который устанавливает жесткое соответствие между несколькими соседними нуклеотидами и одним аминокислотным звеном. Соотношения здесь приблизительно такие же, как между обычной азбукой и азбукой Морзе, которая гораздо беднее по разнообразию знаков, и потому мы вынуждены в ней изображать каждую букву последовательностью из нескольких тире и точек. Код, переводящий язык нуклеиновых кислот на язык белков, называется генетическим кодом, а сам процесс синтеза белка носит название перевода или трансляции. Легко понять, что самый экономный код должен быть троичным, чтобы перейти от четырех нуклеотидов к двадцати аминокислотам.

каждой аминокислоте соответствует несколько альтернативных кодонов. В настоящее время генетический код полностью расшифрован (табл. I)

Таблица I

Генетический код

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц
	Лей	Сер	Охра	Бессмысленный (?)	А
Ц	Лей	Сер	Янтарь	Три	Г
	Лей	Про	Гис	Арг	У
	Лей	Про	Гис	Арг	Ц
	Лей	Про	Гли	Арг	А
А	Лей	Про	Гли	Арг	Г
	Изо	Тре	Асп	Сер	У
	Изо	Тре	Асп	Сер	Ц
	Изо	Тре	Глиз	Арг	А
Г	Мет *)	Тре	Лиз	Арг	Г
	Вал	Ала	Асп	Гли	У
	Вал	Ала	Асп	Гли	Ц
	Вал	Ала	Глу	Гли	А
	Вал *)	Ала	Глу	Гли	Г

*) У 5'-конца цепи кодон служит инициатором роста белковой цепи и кодирует формилметионин.

и показана его универсальность для всей живой природы от бактерий до человека. Вся эпопея с расшифровкой генетического кода длилась менее шести лет и представляет собой изумительное интеллектуальное свершение. Главный метод расшифровки был изобретен Ниренбергом. Это так называемый эксперимент *in vitro* на простых искусственных моделях. Было показано, что простые синтетические полинуклеотиды заданного строения могут служить матрицами для синтеза простых полипептидов. Так как синтез полинуклеотидных моделей был разработан в совершенстве химиком Кораной, удалось вскрыть полностью все соответствия между аминокислотами и триплетными кодонами. Это и есть генетический код, представленный в табл. I.

Конечно, возник вопрос, сколь точно соответствует эксперимент на модели (т. е. *in vitro*) тому, что совершается в живой клетке (т. е. *in vivo*). Для проверки кода *in vivo* были придуманы остроумные методы. Все они гораздо более косвенные, чем эксперименты *in vitro*, но их так много, они столь разнообразны, что в целом степень их убедительности исключительна. К великому сожалению, нам невозможно останавливаться здесь на экспериментальных обоснованиях молекулярной биологии. Мы отсылаем читателей к соответствующим книгам и статьям¹.

В таблице генетического кода имеются три триплета, которые не являются кодонами для каких-либо аминокислот (два из этих триплетов обозначены в таблице словами «янтарь» и «охра»). Когда в клетке происходит точечная мутация, один нуклеотид заменяется другим. При этом изменяется один троичный кодон и происходит замещение одного аминокислотного звена в белковой цепи на ошибочное. Происходит как бы опечатка в тексте. Однако если в результате точечной мутации образовался один из трех указанных бессмысленных, или нонсенс, кодонов, белковая цепь

идет синтез любого из клеточных белков, — это рибосома. Она состоит из двух телец (одна субъединица побольше с константой седиментации 50s и одна поменьше — с константой 30s). Рибосомы состоят из особого типа РНК и из нескольких десятков различных белков. Точная структура рибосом и способ их функционирования пока еще не выяснены. Через рибосому проходит цепочка матричной РНК (с молекулярным весом порядка нескольких миллионов). Связь между кодоном и соответствующей аминокислотой осуществляется не непосредственно, а через промежуточную молекулу — адаптор. Адапторами являются маленькие полимеры, особые транспортные РНК (ТРНК) с молекулярным весом порядка 25 000 (78—80 звеньев цепи). Всего различных адапторов в несколько раз больше, чем аминокислот (40—50 в одной клетке). На одном из концов адаптора химически присоединена та или иная аминокислота. Соединение ТРНК со своей аминокислотой осуществляется специальным ферментом аминок-ацил-ТРНК-синтетазой. Число подобных ферментов в клетке примерно равно числу аминокислот. Фермент узнает свою аминокислоту и одну из своих ТРНК (благодаря вырождению кода число ТРНК для одной аминокислоты, как правило, больше единицы) и осуществляет их сочетание с помощью эфирной связи. С другой стороны, ТРНК содержит триплет-антикодон, комплементарный кодону на матрице. Поэтому ТРНК, несущая на себе аминокислоту, находит свое место на матрице благодаря все тому же принципу дополнительности Уотсона — Крика. Связь кодон — антикодон оказывается достаточно прочной, чтобы происходил безошибочный набор белковой цепи в соответствии со структурой матрицы и с генетическим кодом. Так происходит трансляция, или синтез белка.

Супрессорные мутации, о которых говорилось выше, представляют собой ошибки в структуре ТРНК. Было показано, что все ТРНК синтезируются путем транскрипции с определенных областей хромосомы. Поэтому в структуре ТРНК также возможны мутационные ошибки, как и в структуре МРНК. Если ошибка произошла в антикодоне, и притом такая, что мутированный антикодон какой-либо конкретной ТРНК стал подходить к нонсенс-кодону, мы получим супрессорный штамм. Ошибка в антикодоне ТРНК может исправить целый класс мутационных ошибок в МРНК. Отсюда возникла идея очень важного эксперимента. В настоящее время порядок чередования нуклеотидов в транспортных РНК может быть полностью изучен. Где-то в цепи из 75 звеньев находится антикодон, где — в точности мы не знаем, но можем догадываться, благодаря тому, что знаем строение кодонов.

Однако, раз супрессорный штамм имеет одну определенную ТРНК с мутированным антикодonom, то, выделив ее и изучив ее структурную формулу, мы можем путем сравнения с нормальной, немутированной ТРНК в точности установить, где находится антикодон и какова его структура. Это было проделано в последние месяцы Смитом с сотрудниками и дало в точности ожидаемый результат. Таким образом, взаимодействие кодон — антикодон по правилам комплементарности Уотсона — Крика было подтверждено прямым анализом.

Мы не останавливаемся здесь на методах эксперимента. И все же нельзя не отметить потрясающего успеха — выделения одной индивидуальной ТРНК из многих десятков и полного изучения ее структуры. Как уже говорилось, транспортные РНК являются небольшими полимерами. Их отделение друг от друга представляет собой задачу, по трудности вполне сравнимую с задачей разделения изотопов урана. Достаточно сказать, что осуществляется это разделение с помощью противоточного экстракционного каскада (экстракция — процесс распределения между

двумя жидкими фазами). Для полной очистки индивидуальной ТРНК пользуются каскадами в 1500—2000 ступеней! Ясно, что недавний опыт человечества в разделении изотопов сыграл не последнюю роль в быстром решении этой задачи молекулярной биологии.

Приготовление индивидуальных ТРНК требует промышленного масштаба, хотя потребляют их пока только научные лаборатории. Это одна из трудностей, показывающих, как сложен и дорогостоящ современный эксперимент.

Возвращаясь к механизму синтеза белка в рибосомах (см. рис. 7), мы можем сформулировать основные его этапы. В рибосоме имеются две позиции (два сайта — site). Одна из них занята молекулой ТРНК, на которой химически прикреплена вся незавершенная молекула белка (мы рассматриваем промежуточный момент синтеза, не начало и не конец). Промежуточное соединение синтеза белка называется пептидил-ТРНК. Оно было выделено и изучено в нашей лаборатории. Вторая позиция в рибосоме занята ТРНК с очередной аминокислотой. Ясно, что сорбируется на рибосоме именно та ТРНК, антикодон которой комплементарен кодону.

Одну из позиций на рибосоме, а именно ту, где находится ТРНК с аминокислотой, мы назовем акцепторной. Второй сайт, где находится ТРНК, несущая пептид, мы назовем донорным. Под действием одного из ферментов происходит отделение конца пептидной цепи от ТРНК и присоединение к аминогруппе очередной аминокислоты. Так образуется очередная пептидная связь. При этом в донорной позиции оказывается освободившаяся ТРНК, которая десорбируется и уходит в раствор. Далее ТРНК, несущая пептид (пептидил-ТРНК), должна переместиться из акцепторного сайта в донорный. Можно убедиться в том, что это передвижение действительно необходимо, так как его можно ингибировать некоторыми ядами (например, антибиотиком фуцидиновой кислотой) и тогда синтез белка останавливается. Когда пептидил-ТРНК передвинулась в донорную позицию, то в освободившуюся акцепторную позицию снова сорбируется ТРНК с молекулой очередной аминокислоты. Чтобы шла сорбция именно следующей по ходу дела ТРНК, необходимо, чтобы матричная РНК продвинулась относительно рибосомы на три нуклеотидных звена, т. е. на один кодон. Возможно, что оба движения, т. е. переход пептидил-ТРНК из акцепторного сайта в донорный и протяжка мРНК на длину очередного кодона происходят одновременно. Это пока не известно. Не ясно, как работает этот (лентопротяжный) механизм, но нет сомнений, что необходимые силы создаются белками рибосом и что в основе движения лежат конформационные изменения белковых молекул, как и в случае сокращения мышечных белков.

Мы видим, что синтез белков осуществляется настоящей машиной. В ней должны быть еще специальные приспособления, чтобы начать (инициировать) синтез белковой цепи и чтобы завершить эту цепь. О возможной роли нонсенс-кодонов, как химических сигналов об обрыве цепи, говорилось выше.

В настоящее время мы еще не знаем многих деталей синтеза белка, так как структура и функции рибосом еще мало изучены. По всей вероятности, следует ожидать многих уточнений. Однако главные, наиболее принципиальные стороны явления выяснены. Ясна роль мРНК и ТРНК, ясна роль кодонов и антикодонов. Понятна основная последовательность событий, происходящих в рибосоме. При теперешних темпах развития молекулярной биологии уточнение деталей может занять еще 3—5 лет, не больше. Однако, как уже говорилось, за этой в основном разрешенной проблемой уже встают другие, еще более заманчивые и трудные.

IV. РЕГУЛИРОВАНИЕ СИНТЕЗА БЕЛКОВ. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

Переходя к вопросам гораздо менее ясным, мы остановимся сначала на проблеме регулирования. Проблема регулирования синтеза белков возникает особенно отчетливо у одноклеточных организмов — бактерий, дрожжей, водорослей. Все эти клетки должны постоянно приспосабливаться к изменяющейся внешней среде. В сложном многоклеточном организме картина иная: каждый тип клеток, как принято говорить, каждая ткань, находится в постоянных внешних условиях. Лишь организм в целом приспосабливается к изменениям среды. На уровне отдельной клетки приспособительные механизмы далеко не столь существенны, как у одноклеточных.

Почему вообще возникает проблема регулирования? Автономная бактериальная клетка содержит в своей хромосоме генетическую информацию примерно о 1000—1500 разных белков. Но из числа этих белков реально синтезируется не более 10—20%. Масса потенциальных возможностей при этом не реализуется, и это идет на благо клетке, так как аппарат синтеза белков в ней работает весьма напряженно. Белки, как уже говорилось, синтезируются поочередно в рибосомах. В клетке бактерии *Escherichia coli* имеется в среднем 5000—6000 рибосом. Время синтеза индивидуальной белковой цепи порядка 5—10 сек. Значит, за время деления бактериальной клетки (20—30 минут) успеет синтезироваться порядка 10^6 молекул белка. В клетке содержится всего несколько тысяч молекул каждого фермента. Это не так уж много, учитывая огромную работу, которую должны провести эти ферменты за короткое время.

Если заставить бактериальную клетку синтезировать много дополнительных белков, то ее состояние ухудшается. Хороший пример дает нам перевод бактерий с богатой среды на бедную. Предположим *E. coli* растет на среде, снабженной всеми аминокислотами. Это освобождает клетку от необходимости синтезировать излишние для нее сотни ферментов, нужных для фабрикациии двадцати необходимых аминокислот. Когда культура бактерий переносится на среду без аминокислот, то в клетках должны образоваться все недостающие ферменты. При этом рост полностью останавливается на несколько часов, а затем постепенно возобновляется, но остается гораздо более медленным (период удвоения вместо 20 минут равен 1 часу), чем на богатой среде. Это означает, что клетка труднее и медленнее справляется со своими задачами. Но из этого ясно видно, что бактериальная клетка не синтезирует ненужных ей белков и тем самым экономит ресурсы и энергию для синтеза нужных. А это означает существование автоматического регулирования синтеза ферментов и обратной связи от продуктов деятельности ферментов к синтезу самих ферментов.

В настоящее время основной механизм этого автоматического регулирования у бактерий уже известен, главным образом благодаря работам двух ученых — Ж. Моно и Ф. Жакоба⁵. Все регулирование происходит на уровне транскрипции — образования МРНК по ДНК. Это показано прямыми экспериментами, в которых измерялось количество одной определенной МРНК, соответствующей одной небольшой группе генов, и было выяснено, что это количество резко изменяется в процессе регулирования.

Основным орудием, осуществляющим процесс регулирования, является специальный белок-репрессор, синтезируемый обычным способом с помощью своей матричной РНК. Функция репрессора — подавлять группу связанных генов и не позволять считывание информации с этой группы, т. е. ингибирование процесса транскрипции. Так как подавление касается группы генов, регулирование осуществляется достаточно экономно. Приведем пример.

Для синтеза аминокислоты гистидина клетке требуется десять ферментов (по числу стадий биохимического синтеза). Структура этих ферментов запечатлена в десяти соседних генах, образующих так называемый оперон. При транскрипции образуется одна цепь мРНК со всей группы генов, т. е. со всего оперона. Синтез мРНК начинается с определенной начальной точки оперона — так называемого оператора. В этой точке и присоединяется репрессор, мешая ферменту РНК-полимеразе осуществить транскрипцию всего оперона.

Многие детали этой сложной картины подтверждены в настоящее время экспериментами. В двух случаях репрессоры были выделены и очищены, причем удалось даже измерить константу связывания репрессора с оператором. Это связывание оказалось сильным (константа диссоциации порядка 10^{-10} — 10^{-11} моль/л вместо обычно наблюдаемых констант связи фермент — субстрат порядка 10^{-4} — 10^{-6} моль/л). Легко вычислить, что вполне достаточно 10—20 молекул репрессора на клетку, чтобы оператор был всегда насыщен репрессорами.

Как же осуществляется обратная связь и запускается процесс транскрипции мРНК? Дело в том, что репрессор должен присоединить к себе конечный продукт синтеза, т. е. гистидин. Только в этом состоянии репрессор активен и реагирует с оператором. Когда гистидин в среде отсутствует, репрессор не содержит гистидина (так называемого эффектора) и не выполняет своей тормозящей функции. Следовательно, в этот момент может происходить транскрипция, образуется соответствующая мРНК и синтезируются нужные ферменты. С помощью этих ферментов образуется гистидин; когда количество его становится достаточным, репрессор насыщается гистидином, активируется и прерывает дальнейшую транскрипцию. Это означает, что автоматика отреагировала на концентрацию аминокислоты. Этот пример типичен для так называемых *анаболических* (т. е. синтетических) ферментов.

Для второй группы, так называемых *катаболических* ферментов, регулирование протекает немного иначе. Эта группа ферментов не синтезируется, а наоборот, участвует в реакциях расщепления и окисления органических веществ. Для этих ферментов существенны не продукты реакции, а исходное вещество, служащее источником энергии. Приведем пример.

Положим, бактерии используют глюкозу в качестве источника энергии. В некоторый момент времени глюкоза в среде заменяется на другой сахар, например лактозу. Чтобы сбраживать лактозу, нужны новые ферменты. В клетке их практически не было (количество этих ферментов составляло *несколько* молекул). Однако информация об этих ферментах в хромосоме имеется, но соответствующий оперон полностью подавлен репрессором и транскрипция мРНК не происходит. В момент появления лактозы в среде она присоединяется к репрессору (лактоза — эффектор) и делает репрессор неактивным. Здесь процесс в точности противоположен случаю гистидина. Эффектор оказывает нейтрализующее действие на репрессор. Это явление называется *индукцией* ферментов, а лактоза в данном примере действует как индуктор. Конечный результат тот же, что и в предшествующем случае — оператор освобождается от репрессора, начинается транскрипция мРНК по ДНК, и в конечном счете синтезируются нужные ферменты. Количество этих ферментов в клетке после индукции увеличивается в несколько тысяч раз — таков диапазон изменений концентраций белков в результате регулирования.

Такова общая картина. В ней возможны отдельные вариации. Так, для синтеза некоторых ферментов (например, используемых при метаболизме арабинозы) регулирование происходит не негативно, с помощью

репрессора, а позитивно, с помощью белка-индуктора. Однако это ничего в принципе не меняет.

Ряд интересных деталей регулирования еще далеко не выяснен. Так, общее число репрессоров (и индукторов) в клетке можно оценить в 200—300, если общее число возможных белков 1000—1500. Так как репрессоры, очевидно, синтезируются без всякого регулирования, как принято говорить, — конститутивно, то в целях экономии количество каждого из них должно быть очень мало. Мы видели, что можно оценить количество каждого репрессора в клетке в 10—20 молекул (а значит, общее их число в 3000—5000 молекул). Каким образом клетка умудряется синтезировать так мало каждого из этих белков, если транскрипция матричной РНК ничем не подавлена? Это обстоятельство пока остается неясным.

Спрашивается, почему так важно было изучить процесс регулирования у бактерий? Естественно, что нас интересуют, как с теоретической, так и с практической стороны, больше всего высшие организмы — многоклеточные растения и животные. Но молекулярная биология развивалась главным образом на примере одноклеточных и использовала их в качестве превосходной модели.

У многоклеточного сложного организма также имеется регулирование скорости синтеза белков. Однако оно работает в ответ на сигналы, поступающие из внешней среды к организму в целом, а не к данной конкретной клетке. Материальными агентами, осуществляющими регулирование, являются гормоны — специальные вещества, вырабатываемые клетками желез и поступающие в кровь или прямо в органы при участии нервной системы в ответ на внешние раздражители. У гормонов множество регуляторных функций — они действуют на проницаемость мембран, на активность некоторых ключевых ферментов. По-видимому, одна из важнейших функций гормонов — воздействие на синтез белка в клетке, возможно, путем дерепрессии процесса транскрипции с определенных генов. Это явление можно наблюдать в целом организме или в отдельных переживающих органах, но особенно убедительны и важны наблюдения, относящиеся к клеточным или тканевым культурам — этим важнейшим модельным системам современного биологического эксперимента. В тканевых культурах клетки определенной ткани растут непрерывно в виде одного слоя на внутренней поверхности сосуда, содержащего довольно сложную питательную среду. На культуре клеток гепатомы (опухоли печени) удалось показать (Томкинс с сотрудниками), что введение в среду определенных кетостероидных гормонов простой структуры стимулирует в 10—20 раз синтез фермента тирозинтрансаминазы.

Теперь мы перейдем к формулированию одной из важнейших нерешенных проблем биологии — механизма развития и дифференцировки. Целый многоклеточный организм возникает из одной-единственной оплодотворенной половой клетки — зиготы. При последовательных делениях первоначальная клетка превращается в тысячи и миллиарды клеток. Если первые деления являются в главных чертах копированием первоначальной зиготы, то в строго определенные моменты скачкообразно происходит дифференцировка, т. е. клетки, относящиеся к разным областям зародыша, становятся несколько специализированными и отличными друг от друга по своей структуре и метаболизму. На первых этапах развития моменты дифференцировки определяются приблизительно числом происшедших митозов. Фактически каждая клетка получает через свою оболочку информацию о своем непосредственном окружении, и, в зависимости от этой информации, возникает внезапное переключение синтезов белков, приводящее к первым этапам дифференцировки. Далее, когда клеток в эмбрионе становится много, моменты и направления

дифференцировки определяются воздействием одних типов клеток на другие через посредство специальных химических индукторов. Так через ряд скачкообразных изменений происходит эмбриональное развитие (онтогенез) вплоть до образования сложного организма ⁶.

Чрезвычайно важна идентичность клеточных ядер во всех клетках, начиная от зиготы и кончая всеми тканями сложного организма. Точнее, ядра идентичны по количеству и качеству ДНК, т. е. содержат один и тот же запас генетической информации, что и ядро первой половой клетки. Спрашивается, каков же этот запас ДНК, если сравнить клетку высшего организма с бактерией? Оказывается, что количество ДНК в ядре сложного организма на три порядка (в 1000 и более раз) превышает запас ДНК бактериальной клетки. Мы видели, что количество ДНК у бактериальной клетки таково, что она может кодировать порядка 1000 разных белков. Мы указывали, что реально клетка использует приблизительно десятую часть этой информации. В настоящее время даже удалось измерить, какую часть своей ДНК бактериальная клетка использует при транскрипции МРНК. Оказалось, что эта часть близка к 10%. Клетка дифференцированного высшего организма находится в более простых условиях, чем бактериальная, — она специализирована и получает многие необходимые вещества из других тканей организма. Поэтому количество ферментов, реально образуемых в каждом типе клеток, меньше, чем в универсальной клетке бактерий. Что же происходит со всем обилием генетической информации, имеющейся в ядре каждой конкретной клетки сложного организма? Эта информация заперта, как можно думать, сравнивая запас ДНК в клетке бактерии и сложного организма, репрессирована на 99,9%. Соответствующие опероны полностью инактивированы и не подвергаются транскрипции. Матричные РНК не образуются почти на протяжении всей хромосомы, а соответствующие белки не синтезируются. Только очень малая часть генетического вещества (порядка 1/1000) сохраняет свою активность в каждом конкретном типе клеток. Отсюда возможность образовывать при развитии эмбриона многих сотен различных по типу клеток.

Запас информации для этого достаточен. Главный вопрос — в том, как осуществляется регулирование синтеза белков в этом случае, каким образом при дифференцировке последовательно отпираются все новые и новые области хромосом, как этот процесс самонастраивается во времени и в пространстве. Нет сомнений в том, что и в этом случае применимы те же понятия, что и в случае бактерий, — репрессия генов и индукция, и что в основе дифференцировки лежат «химические сигналы», получаемые клеткой от ее непосредственного окружения. В этом отношении весьма примечательны опыты, проделанные Стюартом на многих обычных растениях.

Стюарт взял сложный дифференцированный организм растения, например моркови, и специальными приемами (в основном механическими) ему удалось диспергировать частичку ткани растения (например, корнеплода моркови) на отдельные клетки. Получилось то, что называется клеточной культурой. Ясно, что речь здесь идет о дифференцированных специализированных клетках сложного организма. В специально подобранной стерильной жидкой среде эти клетки жили, дышали и метаболизировали. При добавлении в среду определенных растительных гормонов клетки начинали делиться и образовывали небольшие клеточные колонии. В таком состоянии экспериментатор наносил их на твердую питательную среду (агар) со всеми ингредиентами. В результате клетки продолжали делиться, дифференцировались, проходили через все стадии эмбрионального развития и из них вырастали целые растения.

Этот эксперимент чрезвычайно поучителен. Изолированные клетки корнеплода моркови попадают в условия, когда они не могут действовать друг на друга. Выделяемые клетками «химические сигналы» разбавляются в огромном объеме среды. Оказывается, что клетки при этом дедифференцируются, в них исчезает специализация, а ядро их снова приобретает все свои потенции. Иначе говоря, тканевая клетка отдельного сформированного органа приобретает качества зиготы. Когда мы небольшую колонию пересаживаем на агар, мы способствуем дифференцировке, так как выделяемые клетками «химические сигналы» остаются *in situ*. При этом клетка проходит весь эмбриональный цикл, происходит дифференцировка, и мы получаем из каждой клетки маленькое растение.

Одна из важных черт онтогенеза многоклеточных — ограниченный рост. Всякий орган растет до определенных размеров. Это результат взаимного влияния клеток путем производимых ими «химических сигналов». Известно, что образование злокачественных опухолей проявляется в том, что клетки перестают подчиняться регулирующему действию окружения. Клетки опухоли растут и делятся независимо от окружающих тканей — ничто их не ограничивает. Кроме того, они дедифференцируются частично или полностью, т. е. теряют преемственную связь с клетками тех органов и тканей, из которых опухоль произошла. Однако количество и качество ДНК ядер остаются в опухоли теми же, как в клетках здорового организма. (Во всяком случае, до сих пор никакой разницы обнаружено не было.)

Одно из самых замечательных достижений биологического эксперимента заключается в том, что эти явления можно моделировать в относительно простой системе. Такими системами являются уже упоминавшиеся культуры тканей. В специальных стерильных средах, эмпирически подобранных, происходит длительный рост тканей, взятых почти из любых органов человека или животных в форме однослойных (толщиной в одну клетку) образований. В культуре ткани можно вызвать злокачественное перерождение отдельных клеток, либо действуя некоторыми специальными онкогенными вирусами (например, вирусом саркомы Роуса), либо специальными ядами — канцерогенными углеводородами, либо, наконец, облучением рентгеновскими лучами. Малигнизация отдельных клеток, их злокачественное перерождение становится видимым, так как в этом месте начинается объемный рост культуры, культура перестает быть однослойной по толщине и образуется нарост. Пересадка подобного нароста животному дает злокачественную опухоль. Следовательно, злокачественное перерождение свойственно и такой упрощенной модели, как тканевая культура.

Одним из самых поразительных свойств тканевых культур является их спонтанное перерождение после периода длительной культивации. Это перерождение происходит статистически, с большими флуктуациями во времени. Если культивировать параллельно несколько десятков идентичных тканевых культур, то через достаточно долгое время все они подвергнутся злокачественному перерождению, однако у разных образцов это случится в разное время, в согласии со статистическими законами. По-видимому, когда в культуре появляется одна или небольшое количество переродившихся клеток, в дальнейшем идет их бурный рост и отбор, т. е. подавление жизнедеятельности нормальных клеток. В каком-то упрощенном виде малигнизовавшая тканевая культура моделирует то, что происходит с больным организмом.

Вернемся теперь к молекулярному механизму дифференцировки и соответственно дедифференцировки. Ясно, что здесь имеется ряд проблем. Первый вопрос, какова материальная природа «химических

сигналов» к дифференцировке, как они образуются и на что конкретно действуют (в конечном счете они действуют на области хромосомы, но их действие может быть опосредованно)? Второй вопрос: как и почему развиваются события дифференцировки во времени? Третий вопрос: как и почему развивается дифференцировка в пространстве, т. е. приводит к координированному росту разных тканей в различных пространственных областях эмбриона?

По поводу всех этих вопросов имеются косвенные данные, основанные на угнетении процесса дифференцировки ядами, на механическом и лучевом повреждении эмбрионов, на экспериментах по пересадке (трансплантации) малых областей одних эмбрионов в другие, на получении различных мутантов с поврежденной дифференцировкой и т. д. Прямых данных, касающихся высших организмов, пока нет.

Приведем несколько соображений, основанных главным образом на логике. Мы можем оценить число различных типов клеток, начиная с первых стадий эмбрионального развития и кончая сложным организмом, в тысячу. Считая, что каждый тип клеток имеет свою область хромосомы, которая репрессируется и дерепрессируется целиком в один акт, мы получим тысячу репрессоров, или индукторов. Отсюда в каждом конкретном типе клеток 99,9% ДНК репрессирувано. Мы снова приходим к информационной проблеме. Имеются «химические сигналы», которые должны узнавать определенные точки на хромосоме и взаимодействовать с ними вполне избирательно. Такое молекулярное узнавание должно происходить в 10^3 случаев. На чем же основано такое молекулярное узнавание? Так как один из партнеров, очевидно, ДНК, следует думать, что и второй партнер, т. е. репрессор, или индуктор, должен содержать полинуклеотидную последовательность даже в том случае, если это белок. Действительно, комплементарные взаимодействия оснований по Уотсону — Крику — это единственный известный нам пример молекулярных сил, обеспечивающий безошибочное узнавание. Но в случае узнавания 20 аминокислот достаточно было троичного кода. Для узнавания тысячи различных точек на хромосоме (как показал опыт, точки эти разбросаны вдоль хромосомы хаотически) необходима последовательность из пяти нуклеотидов ($4^5 = 1024$). Индукторы, или репрессоры, являются, по-видимому, белками, но трудно себе представить, как они могут обходиться без включения пентануклеотида в свою структуру. Это заключение является чисто умозрительным, однако сейчас появились уже некоторые данные в его подтверждение.

Дж. Боннер недавно обнаружил следующее важное обстоятельство. Если извлечь из ядер клеток какой-либо дифференцированной ткани хроматин, т. е. ядерный нуклеопротеид, то можно подвергнуть его транскрипции с помощью отдельно полученной РНК-полимеразы, т. е. использовать как матрицу для ферментативного синтеза РНК. Затем можно измерить, какая часть ДНК будет комплементарна полученной таким способом РНК. Оказывается, около 5% всей ДНК подверглось транскрипции в этих условиях опыта. Это гораздо больше того, что ожидалось при синтезе мРНК в клетках. Но опыт *in vitro* и не может обнаруживать такой же жесткий контроль, как *in vivo*. Существенно, что большая часть хроматина репрессирувана и не транскрибируется даже *in vitro*. Хроматин содержит ДНК, покрытую специальными основными полипептидами — гистонами, которые создают вокруг нее оболочку, препятствующую транскрипции. Если диссоциировать гистоны с помощью раствора высокой ионной концентрации (2 моля NaCl), то вся ДНК начинает транскрибироваться. Казалось, что добавление гистонов к ДНК должно привести к обратному эффекту, т. е. к закрытию большей части хромосомы и остав-

лению небольшой ее части в доступном для транскрипции состоянии. Выяснилось, что это действительно происходит, но гистоны присоединяются к ДНК и инактивируют ее неспецифически, без всякого порядка, т. е. транскрибируемая РНК вовсе не та, которая свойственна данному типу клеток. Далее было найдено, что существует специальный вид хромосомной РНК, которая должна присутствовать одновременно с гистонами, чтобы определенная область хромосомы не инактивировалась и была способна к транскрипции. Если реконструировать хроматин, не убирая этой РНК, то восстанавливается способность к синтезу той же вполне специфической РНК, как до диссоциации. Этот специальный вид РНК, найденный в хромосоме клеток дифференцированных организмов, вероятно, и есть то вещество, которое определяет собой репрессию-дерепрессию генов при дифференцировке. Все ожидают с нетерпением подтверждения и дальнейшего развития этой работы.

В заключение мы вернемся к бактериям и расскажем о последних экспериментах Жакоба, Гро и их сотрудников, где проблема дифференцировки поставлена в предельно упрощенной системе. Речь идет о синтезе вируса — бактериофага λ , паразитирующего на клетках *E. coli*. Этот вирус собирается постепенно из нескольких типов белков и из молекулы ДНК. Это своего рода дифференцированный организм; он состоит из нескольких органелл — головки, хвоста, волокон. Кроме того, при заражении клетки этим вирусом в самой клетке образуются некоторые дополнительные ферменты, нужные для синтеза компонент вируса, но невходящие в окончательную конструкцию. По времени образования различают ранние белки — это и есть упомянутые ферменты, и поздние белки — структурные белки самого фага. При подробном изучении удалось уже показать наличие по крайней мере четырех оперонов в хромосоме фага λ . Каждый оперон приводит при транскрипции к своей мРНК. Все типы матриц разного молекулярного веса, и потому их удастся хорошо дискриминировать в ультрацентрифуге. В начальный момент развития бактериофага (первые минуты после заражения) функционирует только один из оперонов (оперон «ранних белков»). Все остальные опероны не подвергаются транскрипции. Один из белков (вполне определенный), синтезируемый клеткой на первой мРНК, является индуктором, дерепрессирующим синтез мРНК со следующего оперона. Подобным же образом один определенный белок, синтезируемый на второй матрице, — индуктор синтеза третьей матрицы путем транскрипции с третьего оперона, и т. д. Эти факты были безупречно установлены путем генетического и одновременно биофизического эксперимента. В них не приходится сомневаться. Можно надеяться, что в недалеком времени индукторы дифференцировки для этого элементарного случая будут выделены и изучены. Сколь далеко удастся провести аналогию со сложным организмом и его развитием, покажет будущее.

В проблеме дифференцировки имеется еще одна логически очевидная деталь, требующая специального объяснения. Дело в том, что при обычном делении клетки копируются буквально, но дифференцировка приводит к разным типам клеток. Хотя ядерный материал в них одинаков, картина репрессии—дерепрессии в них, очевидно, различна. Отсюда и различия морфологические, физиологические и биохимические.

Спрашивается, как может произойти такое неэквивалентное деление? Ответ на этот вопрос дается в простейшей форме в опытах Соннеборна по дифференцировке пола у парameций. Парameции — одноклеточные простейшие, у которых в определенный момент развития происходит разделение клетки на две — различного сексуального типа, которые отличны друг от друга физиологически. Происходит такое неэквивалент-

ное деление потому, что вновь образовавшиеся ядра расходятся и оказываются в разных областях цитоплазмы. Структура цитоплазмы генетически детерминирована, т. е. информация о ней содержится в ядре. При этом цитоплазма анизотропна или неоднородна: свойства ее в противоположных областях клетки неодинаковы. Когда ядра расходятся в момент деления в разные области цитоплазмы, они попадают под влияние окружающей среды, окружающих белков, которые различны по своему составу. Поэтому различные части хромосомы окажутся различно репрессированными в обоих ядрах в силу взаимодействия ядер с близлежащей областью цитоплазмы. Отсюда — две результирующие клетки с различной структурой и дифференцированными функциями.

Множество аналогичных примеров известно из онтогенеза животных. Эмбриологами введено специальное понятие биологического поля, указывающее на существование пространственных градиентов различных детерминирующих факторов, в результате чего в самой структуре клетки заложены возможности неэквивалентного ее деления и дивергентного развития, т. е. превращения в различные типы клеток.

В целом состояние этой области науки таково, что биофизическое исследование только начато. Нам представлялось полезным наметить важнейшие проблемы. Как подойти к ним экспериментально — дело интуиции исследователей.

V. МОРФОГЕНЕЗ

Каким образом возникают в природе форменные элементы, в которых сочетаются в строго определенном порядке биологические молекулы — белки, нуклеиновые кислоты, липиды и другие? Как образуются мембраны, каким образом передается потомству информация об их структуре, как эта информация реализуется при удвоении клетки? На эти вопросы до последних лет невозможно было дать даже гадательного ответа. Лишь сейчас наступило некоторое прояснение. Первый важный результат в этой области был получен в очень простой системе — вирусе табачной мозаики. Этот вирус состоит из одной цепочки РНК и около 2000 идентичных белковых глобул, которые соединяются друг с другом в белковую гильзу, где замурована спиральная ниточка РНК.

Следовательно, вирус состоит из одного типа РНК и одного типа белка. Все же образование табачной мозаики — простейший пример морфогенеза. Одним из самых сенсационных открытий прошлых лет было установление факта (Френкель-Конрат), что простым сдвигом pH в кислую сторону можно «разобрать» вирус табачной мозаики на отдельные белковые субъединицы. При этом РНК освобождается из вируса и может быть отделена от белка. Потом можно слить растворы РНК вируса и белка вируса и, восстановив нейтральный pH , наблюдать полную реконструкцию вирусных частиц до прежних размеров (измеряемых в электронном микроскопе). Самое удивительное обстоятельство заключается в том, что реконструированный вирус обладает такой же инфекционностью, как и природный. Таким образом, морфогенез возникает путем самосборки. Все, что требуется, — это наличие обоих необходимых ингредиентов РНК и белка и благоприятная среда.

Почему происходит эта самосборка? Какие силы в ней участвуют? Здесь необходимо остановиться на понятии четвертичной структуры белков. Мы рассматривали выше первичную, вторичную и третичную структуры белка. Итогом было образование белковых глобул. Однако и этими тремя этапами структуры дело не исчерпывается. Целые белковые глобулы способны соединяться друг с другом в определенные стехиометриче-

ские комплексы. Большинство ферментов состоит из нескольких идентичных субъединиц, соединенных в такую четвертичную структуру. Различными путями четвертичную структуру удается разрушить, комплексы диссоциируют и ферменты при этом чаще всего теряют свою активность. Что же держит субъединицы вместе? Обычно это — силы, возникающие между функциональными группами на поверхности белковых глобул. В частности, это могут быть кулоновские силы между положительно и отрицательно заряженными группами. Существенно, что поверхность глобулы имеет дискретное и притом небольшое число подобных групп. Отсюда — образование комплексов с различным координационным числом. В частном случае, когда координационное число равно 2, белковые глобулы могут ассоциироваться в цепочки, напоминающие бусы. Подобный тип полимеризации белковых субъединиц с образованием длинных цепей наблюдается в живой природе довольно часто. Таким образом построены, например, мышечные белки миозин и актин. Легко себе представить, что при координационном числе 2 полимеризация субъединиц будет происходить не в виде прямой цепи, а в виде спирально изогнутой. Подобный случай четвертичной структуры мы видим в табачной мозаике.

Белковая, полая внутри, гильза (рис. 8) образована спирально уложенной цепочкой из белковых субъединиц. Эксперимент показал, что подобная полимеризация белковых глобул происходит и в отсутствие РНК. Но при этом длина образующихся цилиндрических частиц произвольна — она может быть малой, но может и превышать длину природных вирусных частиц (2200 Å). В присутствии РНК вируса происходит вплетение спиральной цепочки РНК внутри спирально уложенной цепи белковых субъединиц. В результате получаются вирусные цилиндрики строго определенной длины — такой, какая достаточна для полной укладки цепи нуклеиновой кислоты. Какие силы заставляют цепь РНК укладываться внутри белковой гильзы? По-видимому, наряду с кулоновскими взаимодействиями здесь снова замешаны водородные связи, на сей раз между боковыми группами РНК и боковыми группами белка. В точности это еще не известно, но удивления это явление не вызывает.

Образование вирусных корпускул — простейший случай морфогенеза. Гораздо более сложный и интересный случай, послуживший объектом дальнейших исследований, — морфогенез бактериофагов. Здесь мы имеем дело с несколькими десятками различных белков, соединенных друг с другом в сложное дифференцированное образование. Фаг имеет ряд органелл — головку, т. е. резервуар, содержащий молекулу ДНК, являющуюся его хромосомой, хвост, который прикрепляется к бактериальной оболочке и через который фаг впрыскивает свою ДНК внутрь бактерии; наконец, волокна, покрывающие кончик хвоста. Бактериофаг простейший пример дифференцированного биологического объекта, в котором при всей его малости имеются различные по структуре и функции органеллы.

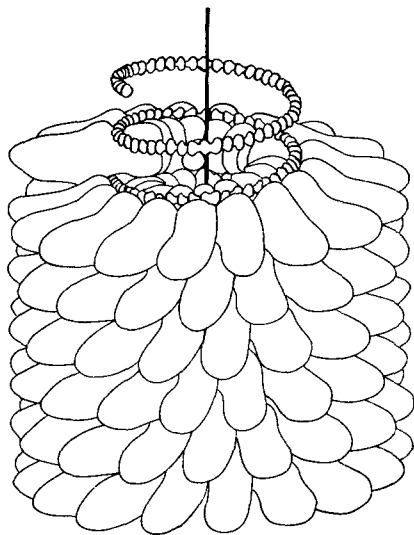


Рис. 8. Модель вируса табачной мозаики.

Белковые субъединицы частично сняты, чтобы показать упаковку РНК.

Каким образом протекает морфогенез у бактериофага? Это удалось выяснить в двух исключительных по важности работах. В одной из них (Р. Эдгар ⁷) было показано, что ДНК фага несет в себе информацию о всех типах белков фага плюс информацию о некоторых типах белков, которые в фаг не встраиваются, но необходимы именно для морфогенеза. Что же это за дополнительные белки? Оказалось, что это — ферменты, выполняющие следующую функцию: они специфически соединяют друг с другом отдельные простые органеллы фага — головку, хвост, волокна, образующиеся самосборкой из определенных белковых субъединиц. Функция этих ферментов в сборке фага достаточно ясна. Чтобы ее понять, мы можем апеллировать к более простым и хорошо изученным примерам.

Мы уже говорили, что четвертичная структура белков образуется благодаря взаимодействию комплементарных групп на поверхности белковых глобул, например, положительно и отрицательно заряженных, или донорных и акцепторных, если речь идет об образовании водородных связей. Но эти группы могут быть маскированы и могут демаскироваться с помощью специальных ферментов, отщепляющих маскирующий фрагмент белковой молекулы. Оказывается, природа часто использует этот хитрый прием. Например, ферменты пищеварения — трипсин и химотрипсин — вырабатываются поджелудочной железой в виде неактивных предшественников трипсиногена и химотрипсиногена. В этих предшественниках замаскированы группы, необходимые для построения активного фермента. В двенадцатиперстной кишке эти предшественники встречаются со специфическими ферментами, которые их активируют, превращая в трипсин и химотрипсин (И. П. Павлов).

Сейчас точно выяснено, что при этом происходит. От цепочки трипсиногена и химотрипсиногена отщепляются маленькие фрагменты. При этом изменяется не только первичная, но и вторичная и третичная структуры этих белков. В результате в ферменте происходит «сборка» активного центра, так как все необходимые группы оказываются сосредоточенными в одном месте и в нужной конформации. Таков процесс активирования трипсиногена и химотрипсиногена, сейчас хорошо изученный.

Второй пример, еще более похожий на сборку бактериофага, — процесс свертывания крови. В основе лежит белок фибриноген — вытянутое эллипсоидальное образование с молекулярным весом 600 000. Этот белок всегда присутствует в крови, и он инертен, так как имеющиеся на его концах две активные группы замаскированы. В нужный момент, при возникновении кровотечения, фермент тромбин действует на фибриноген и отщепляет с его концов короткие полипептидные цепочки, тем самым демаскируя его активные группы. Говорят, что фибриноген превратился в фибрин-мономер. Дальше идет полимеризация фибрина-мономера в волокна фибрина макроскопических размеров. Эти волокна блокируют повреждение в стенке кровеносного сосуда и останавливают кровотечение. Здесь налицо процесс ферментативного демаскирования активных групп на поверхности белка. Результатом является полимеризация. Нечто подобное имеет место при сборке фага из его конструктивных элементов. Для этого и нужны специфические ферменты, специализированные для соединения определенных деталей фага.

Свое открытие Эдгар сделал весьма интересным методом. Он получил множество мутаций фага, имевших то или иное генетическое повреждение, ту или иную недостаточность. Одни фаги способны были образовывать головки, но не хвосты, другие наоборот. Мутации все относились к так называемому амбер-типу. Это означает, что они проявлялись при культивации фага на обычных штаммах бактерий, но на супрессорных, т. е. исправляющих ошибки, штаммах образовывались нормальные фаги.

Далее Эдгар показал замечательную вещь — комплементацию, т. е. взаимную дополнительную дефектных мутантов. Например, если вырастить фаги, у которых не образуются головки, и такие, у которых не образуются хвосты, вскрыть клетки и смешать эти неполноценные заготовки просто в виде взвеси, то из них образуются полноценные фаги прямо *in vitro* в случае, если заготовки дополнительно друг другу. Полученными таким способом фагами можно было заразить супрессорные штаммы бактерий. Следовательно, была наблюдаема самосборка вирусов из отдельных структурных деталей.

Действуя этим путем, Эдгар обследовал все свои мутанты фага и классифицировал их. И тут оказалось, что имеются мутанты, у которых существовали по отдельности все органеллы фага, но они не скреплялись вместе. Нужные для этого ферменты отсутствовали. Эти ферменты можно было добавить, извлекая их из клеток, зараженных фагом с какими-либо иными дефектами. Была обнаружена комплементация обоих типов мутантов. Наконец, с помощью чрезвычайно чувствительных иммунологических опытов было показано, что скрепляющие белки не входят сами в состав фаговой корпускулы, т. е. это — ферменты, способствующие сборке, но остающиеся вне вируса. Такова логика фактов, приведших к описанной выше картине самосборки фага.

Спрашивается, происходит ли самосборка фага в один момент, или это цепь процессов, растянутых определенным образом во времени? И на этот вопрос мы можем дать сейчас весьма вероятный ответ. Мы уже видели, что согласно последним данным Жакоба и Гро белки бактериофага синтезируются не все одновременно, а последовательно, группами. При этом один из белков первого оперона запускает транскрипцию МРНК со второго оперона, т. е. является индуктором синтеза МРНК. Подобным же образом один из белков второго оперона запускает синтез МРНК третьего оперона и т. д. Подобная регуляция транскрипции осуществляет последовательный ввод в действие различных групп белков. Поэтому естественно предполагать, что сборка структурных элементов фага протекает во времени в форме правильной последовательности событий.

Спрашивается, можно ли перенести эти первые результаты на морфогенез в клетках — образование структурных элементов клетки и сборку целых клеток? В настоящий момент такие прямые данные отсутствуют. Однако опыты с бактериофагами дают рациональный подход к этой проблеме. Эти опыты говорят, что надмолекулярные структуры полностью детерминированы белками и другими компонентами. Они образуются самосборкой при участии специальных ферментов.

Координированное во времени включение синтеза определенных групп белков придает самосборке структур последовательный, организованный характер. В клетках высших организмов имеются определенные многократно повторяющиеся структурные элементы. Рибосомы, о которых говорилось выше, — простейшие из таких элементов. Митохондрии, в которых сосредоточен весь арсенал дыхательных ферментов, — второй пример. Наконец, клеточные мембраны в самом широком смысле слова, в частности, клеточные оболочки, состоят, по-видимому, из мозаики периодически повторяющихся стандартных структурных единиц (Д. Грин). В зеленых растениях пластиды имеют также периодическую структуру. В последние годы удалось показать, что все эти структурные элементы — пластиды, митохондрии, мембраны — содержат ДНК в небольшом количестве (1—4% ядерной ДНК) и что эта ДНК играет генетическую роль, т. е. содержит информацию об определенных ферментах. Особенно важны эксперименты Сэгер; в них были найдены мутанты зеленых клеток, у которых повреждена именно ДНК пластид. С меньшей убедительностью такие

мутанты найдены и для митохондрий. Явления цитоплазматической наследственности дополняют основную ядерную наследственность. Сейчас многие исследователи склонны считать, что пластыды, митохондрии и субъединицы мембран способны к авторепродукции, т. е. к самокопированию. Если понимать под этим репликацию цитоплазматической ДНК, транскрипцию ее оперонов и синтез соответствующих структурных белков тут же рядом и, наконец, самосборку митохондрий, пластид или субъединиц мембран, то мы будем продолжать те же идеи, которые намечены в морфогенезе опытами Френкель-Конрата и Эдгара. Конечно, чем сложнее структура, тем труднее себе представить осуществление морфогенеза путем самосборки, тем больше этапов должно быть у этого процесса. Однако здесь, по-видимому, вполне преодолимые количественные трудности. Биологи не раз предлагали ввести матрицу или шаблон более высокого порядка, чем просто цепь ДНК, чтобы объяснить самоповторение структур. Однако в этой гипотезе всегда отсутствовали конкретные биофизический и биохимический механизмы. Это было абстракцией, лишенной конкретного содержания. Поэтому гипотеза «сверхматрицы» ничего не дала для постановки новых экспериментов. А это пока единственное, что требуется от биологических гипотез.

VI. СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ МЕМБРАН

Биологические мембраны — особые двумерные образования толщиной 50—100 Å — создают перегородки как между клетками, так и между различными органеллами внутри каждой клетки. Их значение вполне понятно. Они отделяют друг от друга химические реакции, текущие в клетке и тем самым организуют их в пространстве и во времени. Их роль такая же, как и реакторов в химической технологии. Так, например, синтез белка протекает, как мы видели, в рибосомах, а окислительные реакции в митохондриях. Ядро также является органом, отделенным мембраной от цитоплазмы.

Замечательной функцией мембран является избирательная проницаемость и активный транспорт различных веществ, продвижение молекул против градиента концентрации, т. е. против направления тепловой диффузии. Ясно, что активный транспорт ведет к понижению энтропии переносимого вещества и потому требует непрерывной затраты энергии. По сути дела активный транспорт — химический процесс, протекающий за счет тех же источников энергии, которыми пользуется клетка.

Можно привести много примеров активного транспорта. Так, питание клеток путем переноса питательных веществ из внешней среды в цитоплазму всегда осуществляется активным транспортом. Секреция клеток желез — другой очевидный пример. Очень важный для живой природы и весьма универсальный случай активного транспорта — это так называемый калиево-натриевый насос. Оболочка многих клеток засасывает калий из внешней среды и вытесняет натрий наружу. Так ведут себя красные кровяные шарики, мышечные клетки, нервные клетки. В результате концентрация калия в нервной клетке в 30 раз выше, чем во внешней среде, а концентрация натрия в 10—15 раз ниже. Такая ситуация непрерывно поддерживается, пока клетки живут. Если их отравить или задерживать в них метаболические процессы, то концентрации ионов выравниваются. Для работы насоса непрерывно затрачивается источник химической энергии — аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), которая расщепляется в мембране под действием специального фермента.

Спрашивается, какова структура мембран и как она связана с их функцией? На эти вопросы мы до сих пор не в силах дать ответ. Мембра-

ны — объект чрезвычайно трудный для изучения. Они нерастворимы, поэтому наблюдать в них химические реакции затруднительно. Даже отпрепарировать их для электронной микроскопии как следует не удается, и потому количество надежных структурных данных о мембранах весьма незначительно. Ясно, однако, что они состоят из специальных белков и липидов. Липиды, которые не растворимы в воде, создают тот барьер, непроницаемый для растворимых в воде метаболитов, без которого был бы невозможен активный транспорт. Любое удаление липидов из мембран делает мембраны свободно проницаемыми для воды и растворимых веществ.

Лишь в последнее время развилось новое направление в изучении мембран — разделение мембран с помощью химических методов на субъединицы, которые при удалении липидов удается перевести в раствор⁸. По-видимому, из этих опытов следует, что мембраны состоят из повторяющихся правильных пространственных образований — групп белковых макромолекул. В этом смысле мембраны напоминают кристаллы. При переводе субъединиц мембран в раствор содержащиеся в них ферменты сохраняют свою активность и мембраны могут быть реконструированы из этих белковых субъединиц путем добавления к ним липидных компонентов.

Интересно, что полное удаление липидов лишает некоторые из мембранных белков ферментативной активности полностью (например, цитохромоксидазу). Прибавление фосфолипида к раствору такого фермента возвращает ему активность. Это — признак интенсивного взаимодействия липида с белком и влияния липида на конформации белковой макромолекулы. По-видимому, именно белковый состав мембран однозначно определяет их липидный состав, так как липиды интенсивно взаимодействуют с боковыми группами белков и в известной мере обладают структурной дополнительностью к белкам.

Очень интересные результаты были получены при изучении белковых субъединиц мембран. Как говорилось выше, это комплексы ферментов, причем функционально связанных между собой, катализирующих цепи последовательных реакций. Хороший пример подобного рода — синтаза жирных кислот, выделенная Линеном из клеточных мембран. Под электронным микроскопом видно, что это — «гроздь» из многих белков, ферментов, осуществляющих многостадийный синтез жиров. Ясно, что объединение группы ферментов в одной пространственной единице не случайно. Вероятно, в этих условиях особенно просто решается проблема переноса реагирующих молекул от одного катализатора к следующему, подобно тому как на конвейере или автоматической линии деталь движется и подвергается последовательно действию многих станков и инструментов. Поэтому мембраны это не только орудия активного транспорта, но и носители сложных ферментных комплексов, места интеграции многоступенчатых химических реакций.

К сожалению, мы не можем сейчас сколько-нибудь достоверно судить о внутреннем строении мембраны. В тех случаях, когда она образует морфологически сложные складки и переплетения, как, например, в митохондриях (рис. 9), их функциональный смысл пока также не ясен. Не знаем мы до сих пор также ни одного примера до конца изученной реакции активного транспорта. Даже для наиболее исследованного калиево-натриевого насоса мы фактически еще мало знаем. Мы не идентифицировали соединение, в виде которого происходит перенос калия и натрия через мембрану, и не выяснили, как этот перенос сопряжен с затратой химической энергии.

Остановимся еще на одной исключительно важной функции мембран — возбудимости. Именно эта функция является решающей для работы

нервной системы, в частности мозга. Мы отмечали, что липиды характерны для вещества мембран. Недаром липиды составляют такой огромный процент веса мозговой ткани (от 30 до 50% сухого веса в разных областях мозга). Возбудимость означает способность мембран терять свойства непроницаемости для водорастворимых веществ под действием электрического поля или специальных химических агентов. Здесь, несомненно, имеют значение структурные особенности белков и липидов.

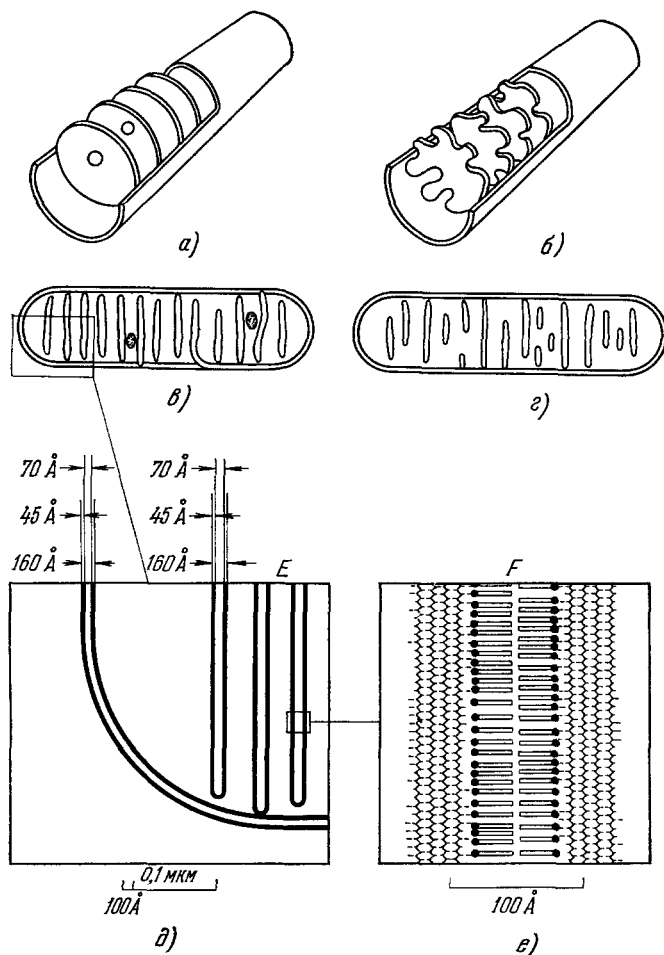


Рис. 9. Реконструкция структуры различных митохондрий на основании электронных микрофотографий с ультратонких срезов.

Показаны детали при возрастающем увеличении микроскопа.

Изолирующие свойства мембраны связаны, как уже говорилось, с непрерывностью липидной пленки. Липиды, в особенности фосфолипиды, несут довольно большой дипольный момент. Под действием больших градиентов потенциала, возникающих в мембране (значения порядка $2 \cdot 10^5$ в/см), молекулы липидов должны ориентироваться, и соответствующая электрическая энергия дает существенное слагаемое в величине свободной энергии липидной пленки, а следовательно, важна для ее устойчивости. Известно, что большой скачок потенциала вблизи поверхности раздела фаз способствует адсорбции и ориентации дипольных молекул на этой

поверхности. Следовательно, значение электрического поля в мембране для ее стабильности в общих чертах понятно. Когда внешнее электрическое напряжение осуществляет деполяризацию мембраны, поле в ней падает и липидная пленка утрачивает устойчивость, в ней появляются разрывы. Тогда через нее может осуществляться перенос ионов, сахаров и других водорастворимых веществ. Другой механизм утраты устойчивости связан с действием медиаторов на белки мембраны. В белках часто наблюдаются конформационные переходы под действием специфических низкомолекулярных веществ. Например, рентгеноструктурный анализ фермента карбоксипептидазы показал, что при образовании фермент-субстратного комплекса происходит деформация белка и смещение отдельных групп на огромную величину $14 \text{ \AA}$. Это свидетельствует о сильных изменениях конформации макромолекулы белка. Если в мембранных белках происходят конформационные переходы при присоединении медиаторов, нетрудно себе представить такие процессы, которые изменяют сцепление белка с липидом и тем самым воздействуют на устойчивость липидной пленки. Конформационные переходы являются резко кооперативными. Идентичные субъединицы, из которых построены мембраны, ведут себя как молекулы в кристаллической решетке. Они как бы все одновременно переходят из одной аллотропической модификации в другую. Статистическая механика таких переходов разработана для мембран Киттелом и др.⁹ Однако конкретные механизмы остаются неизвестными. Возбудимые мембраны генерируют электрические сигналы и отвечают на них. На этом целиком основана деятельность нервных клеток, о чем будет речь впереди.

Незнание физического строения мембран вызвало к жизни целое новое направление — попытки физико-химического моделирования биологических мембран с помощью пленок масел, мыл и липидов. Во всех этих моделях отсутствуют белки с ферментативной активностью и отсутствует активный транспорт. Поэтому они весьма далеки от действительности. И все же любопытно, что на этих моделях удается воспроизводить некоторые особенности возбудимых мембран¹⁰. Тем самым становятся яснее те типы молекулярных сил, которые участвуют в образовании биологических мембран. Из нерастворимых в воде липидов легко можно вытянуть тонкие пленки, ограниченные с обеих сторон водной фазой. Подобные пленки лэнгмюровского типа представляют собой бимолекулярные листки. Внутренность их гидрофобна, т. е. водоотталкивающая, и состоит из углеводородных цепочек; внешняя поверхность покрыта смачиваемыми водой ионогенными группами. Такие пленки оказываются непроводящими для ионов, и их электрическая емкость на единицу поверхности того же порядка, что и емкость биологических мембран ($\sim 1 \text{ мкф/см}^2$). Это означает, что их толщина порядка $50 \text{ \AA}$. Далее, вводя в липидные пленки определенные вещества, удается придать им избирательную проницаемость для некоторых ионов, например катионов натрия и калия. В этом случае мы получаем полупроницаемые мембраны, которые ведут себя как натриевые или калиевые электроды. Если водная среда по обе стороны мембраны содержит различные концентрации какой-либо соли калия, то калий начнет диффундировать из одной области в другую, а эквивалентное количество анионов не может перейти в ту же сторону. В результате на мембране возникнет скачок потенциала, она зарядится. Этот скачок потенциала будет зависеть по известной формуле Нернста от отношения концентраций ионов калия по обе стороны мембраны.

Одно из веществ, придающих липидной модели свойства полупроницаемой перегородки, — это антибиотик аламетицин. Его химическое строение своеобразно. Это так называемый макроциклический полипептид, состоящий из 19 аминокислотных остатков. Внутри этого «бублика»

находится карбоксильная группа, образующая соль с ионом калия или натрия. По-видимому, в пленке 5—6 таких колец образуют стопку, внутри которой остается канал, заполненный ионами калия. Это и позволяет именно катионам продвигаться вдоль канала цепочкой, в то время как для анионов подобное движение исключено. Отсюда и образование электродного потенциала на подобной полупроницаемой перегородке. Если дополнительно прикладывать к пленке внешнюю разность потенциалов, то при критических ее значениях проводимость по отношению к катионам возрастает в 10^4 раз, т. е. происходит пробой мембраны. Полагают, что именно в этих условиях происходит образование шестичленных канальных комплексов внутри непроводящей пленки. Все это отдаленно напоминает свойства возбудимой мембраны, хотя в последней, как будет показано ниже, проводимость возникает в момент деполяризации, т. е. понижения разности потенциалов на пленке.

На рис. 10 изображена гипотетическая структура оболочки нервной клетки. Внешняя поверхность изображена покрытой ганглиозидами — липидами, содержащими молекулу так называемой сиаловой кислоты. Эта внешняя оболочка нейрона, по всем данным, взаимодействует специфически с ионами кальция или калия попеременно, с первыми в состоянии

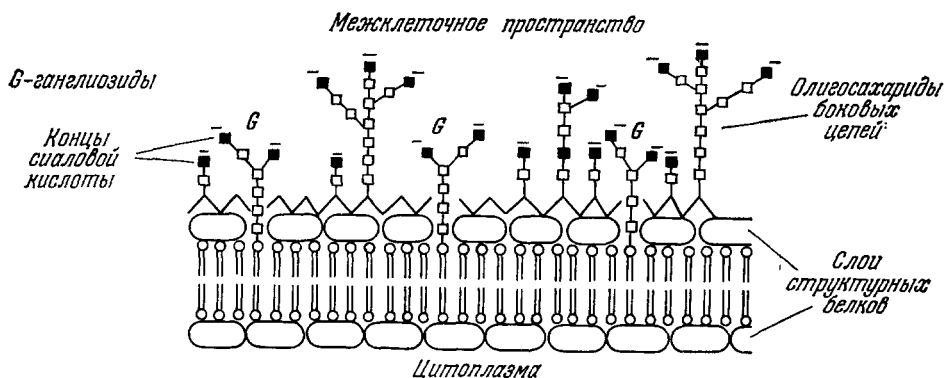


Рис. 10. Схема (гипотетическая) мембраны нейрона.

покоя, со вторыми в состоянии возбуждения. Иначе говоря, в момент возбуждения внешняя оболочка нейрона освобождает ионы кальция. К этому обстоятельству мы вернемся ниже.

Что касается мышечных клеток, то в них возбудимая мембрана, отделяющая их от нервной клетки, передает мышечному белку сигнал о сократительной реакции. В настоящее время природа этого сигнала выяснена. Это — проникновение в клетку мышцы ионов кальция, без которых мышечный белок актомиозин не может взаимодействовать с источником энергии, АТФ. Это взаимодействие требует концентрации ионов кальция 10^{-5} — 10^{-6} молей. На самом же деле концентрация кальция внутри клеток поддерживается активным транспортом на уровне 10^{-7} при 10^{-4} молей во внешней среде. Когда происходит возбуждение клеточной мембраны, то барьер, препятствующий прохождению ионов кальция, пробивается. Поэтому в клетках создается среда, благоприятная для реакции мышечного белка с АТФ.

Таким образом, мембраны обнаруживают четыре типа функциональной активности: 1) разделение химических процессов в пространстве (компарментализацию), 2) активный транспорт, 3) интеграцию многостадийных биохимических синтезов, 4) возбудимость.

VII. ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ И КОДИРОВАНИЕ В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ

Центральная нервная система человека и животных непрерывно воспринимает из внешнего мира разнообразную информацию посредством органов чувств. Эта информация по нервным проводникам передается в мозг, в нем перерабатывается и переводится в приказы, которые по другим нервным проводникам передаются двигательным органам, железам, кровеносным сосудам, — словом, практически любым функционально активным образованиям. Часть первичной информации, а также продуктов ее переработки оседает в мозгу на длительное время в форме памяти. Всеми этими сложнейшими процессами заняты клетки нервной системы — нейроны, которых у человека по разным оценкам от 10 до 100 миллиардов.

Высшая нервная деятельность человека и животных изучалась физиологами сначала с использованием понятий, выработанных психологией. Затем на смену пришли физиологические понятия: рефлексы безусловные и условные, возбуждение и торможение. Всегда было ясно, что в основе этих физиологических явлений лежат материальные процессы, физические и химические, протекающие в веществе нервной системы. Но только с начала XX века эти материальные процессы начали систематически изучаться, и понимание их достигло сейчас такого уровня, когда уже можно сформулировать основные научные проблемы. Основной физический процесс, который был обнаружен во всех нервных тканях, — прохождение электрических сигналов. В отдельных частях нервной системы вплоть до отдельных нейронов текут быстропеременные токи и притом немалые (порядка десятков микроампер). Часть этих токов может регистрироваться даже с помощью внешних электродов, например приложенных к черепу, т. е. при ответвлении от них ничтожной части вольны. Именно таким образом исследуется некоторый суммарный электрический процесс в мозгу — электроэнцефалограмма. Но можно зарегистрировать и потенциалы, развивающиеся в малых участках нервной системы вплоть до одного нейрона.

Современная техника позволяет вводить и «вживлять» тоненький электрод (толщиной в несколько микрон и менее) в один определенный нейрон у животного. Во время нейрохирургических операций возможно отведение потенциалов одного нейрона и у человека. Импульсная активность группы нейронов может быть зарегистрирована у человека в так называемых хронических условиях. Электроэнцефалограммы человека дают весьма суммарный эффект, результат объединенного действия миллионов нейронов. Нетрудно убедиться в том, что электроэнцефалограмма отражает всевозможную информацию, приходящую к человеку, например воздействие раздражителей — света, звука и т. д. Но возникает вопрос: действительно ли картина электрических потенциалов в мозгу соответствует психической деятельности и является ее закодированным отражением? Окончательного доказательства этого еще нет, так как не расшифрован тот код, который функционирует в нервной системе. Заключение о том, что картина потенциалов действительно отражает работу нервной системы, основано главным образом на наблюдениях над малыми ансамблями нейронов у некоторых относительно простых животных (моллюсков, ракообразных). Большая удача нейробиологии состоит в том, что у этих животных мало нервных клеток и они велики по размерам. С одной стороны, этим малым ансамблям, по-видимому, свойственны некоторые черты электрической активности, которую мы находим у высокоразвитых организмов. С другой стороны, есть реальная надежда разобраться в электрическом поведении подобного ансамбля в течение обозримого времени,

Именно на таких примитивных объектах удалось связать детальную картину электрических сигналов в нейронах с действием раздражителей, вызывающих эти сигналы. К этому мы вернемся ниже.

Основное наблюдение, убеждающее нас по крайней мере в том, что передача электрического сигнала по нерву достаточна, чтобы заставить сработать исполнительный механизм, например мышцу, — это старинный

опыт Гальвани (1791 г.). Изолированная лапка лягушки судорожно движется, если подать на нее извне электрический импульс. Известно, сколько споров вызвал в XVIII веке этот эксперимент. Его физиологическое значение непреходяще.

Рассмотрим теперь, как возникают токи действия. Их источником является мембрана — оболочка нейронов. На мембране образуется разность потенциалов — следствие работы калиево-натриевого насоса. Всякий нейрон подобен заряженному аккумулятору: в нем источником э. д. с. является избыток калиевых ионов внутри клетки. В состоянии покоя оболочка клетки сохраняет лишь малую проницаемость для ионов калия и непроницаема для ионов натрия и анионов. Но поверхностная мембрана нейронов особого типа отлична от оболочки других клеток. Это — возбудимая мембрана. При передаче нервного импульса в определенных участках мембраны возникают внезапно и скачком условия проводимости. В этой точке мембраны возникает ионный ток, калиевый и натриевый, стремящийся выравнять потенциалы и концентрации внутри и вне нейрона.

На рис. 11 схематически изображен нейрон. Мы видим, что это большая клетка с очень развитой поверхностью, покрытая отростками-дендритами. С одной стороны нейрон переходит в тонкую длинную нить — аксон. Аксон — это линия передачи нервного импульса. Он может достигать в длину метра. Аксон одного нейрона соединен с дендритами соседнего, тот — со следующим и т. д. Возможны и другие виды объединений нейронов. Так образованы сети нейронов. Места контактов

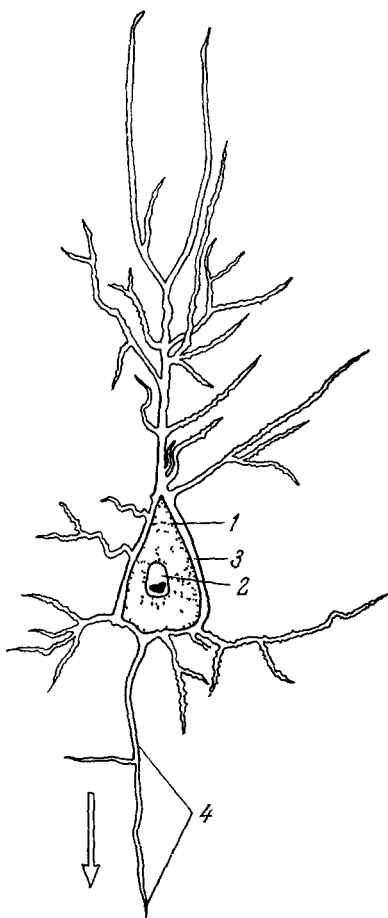


Рис 11 Типичная конфигурация нейрона

Вниз по направлению стрелки отходит аксон 1 — тело клетки, 2 — ядро 3 — оболочка или мембрана, 4 — аксон Стрелкой показано направление распространения импульсов

имеют особую структуру (рис. 12). Они называются синапсами. В них-то и происходит первоначальное нарушение изолирующего действия мембраны, т. е. генерируется импульс тока. Импульс тока передается от одного синапса к другому, в котором также возникают условия проводимости, и т. д. Следовательно, нейронная сеть — это не просто пассивный проводник электрического сигнала. Скорее — это радиорелейная линия, в которой происходит непрерывно усиление сигнала за счет электрической энергии, запасаемой калиево-натриевым насосом. Это очень важное обстоятельство, так как без специального механизма усиления

нервные сигналы затухали бы очень быстро вследствие хорошей проводимости цитоплазмы.

Во всем дальнейшем изложении мы вынуждены отвлечься от многих усложнений, не имеющих принципиального значения для разбираемой проблемы — кодирования информации в нервной системе. В частности, мы не будем касаться второго типа клеток нервной системы — глиальных клеток и роли образуемых ими миелиновых оболочек вокруг аксонов.

Нейроны не ограничиваются тем, что передают электрические сигналы вдоль своего аксона. Это только простейшая их функция. Существуют нейроны различной структуры, и число синапсов в отдельном нейроне может варьировать (в зависимости от его функциональной роли) от нескольких единиц до десятков тысяч. Более сложные нейроны являются

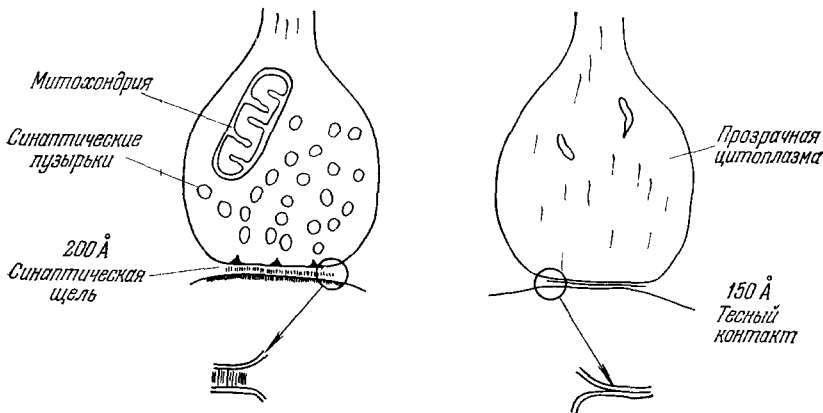


Рис. 12. Схемы синапсов с химическим (слева) и электрическим (справа) механизмом передачи импульса.

анализаторами; в них происходит суммирование многих электрических сигналов, приходящих из нейронной сети через синапсы, причем суммирование нелинейное. В зависимости от положения того или иного синапса на дендритах возбуждаемый в нем сигнал ослабляется и складывается с другими сигналами, идущими от других синапсов и также по-разному ослабленными. В результате суммирования всех ослабленных сигналов возникает один, который может оказаться ниже или выше порога возбуждения мембраны аксона. Если суммарный сигнал от всех синапсов окажется выше порога возбуждения, то вдоль аксона побежит волна возбуждения и на его конце в соответствующем синапсе будет выдан выходной сигнал, воздействующий уже на следующий нейрон.

Следовательно, оболочка нейрона не однородна, а содержит структурно различные участки, выполняющие разные функции. Во-первых, это приемники — входные синапсы, расположенные на дендритах. В них образуются первичные сигналы. Во-вторых, это участки разветвления дендритов. В них происходит частичное затухание сигналов (они играют роль аттенуаторов) и их смешение или суммирование. В-третьих, это мембрана аксона, которая испытывает пороговое возбуждение, если сумма всех парциальных сигналов, дошедших до нее, достаточно велика. Далее результирующий сигнал распространяется без затухания вдоль аксона. А на его противоположном конце находятся участки мембраны четвертого типа — передатчики, или выходные синапсы. Кроме этих четырех типов функционально различных мембран, в нейронах мы встречаемся еще с пятым типом, который служит генератором автоколебаний, независимым

от внешних источников возбуждения. С наличием подобных незатухающих электрических колебаний в центральной нервной системе, так называемых ритмов, мы еще встретимся в дальнейшем.

Рассмотрим теперь, что является причиной своеобразного пробоя мембраны в синапсе. Более 40 лет назад было установлено, что существуют специальные вещества — медиаторы нервной проводимости, действующие непосредственно на синапсы. В табл. II сведены наиболее хорошо установленные медиаторы. По-видимому, эти вещества воздействуют на белки мембраны, присоединяясь к ним и вызывая конформационные переходы. В результате мембрана в участке синапса становится проводящей для водорастворимых ионов калия и натрия. Через несколько миллисекунд мембрана снова восстанавливает свою непроницаемость.

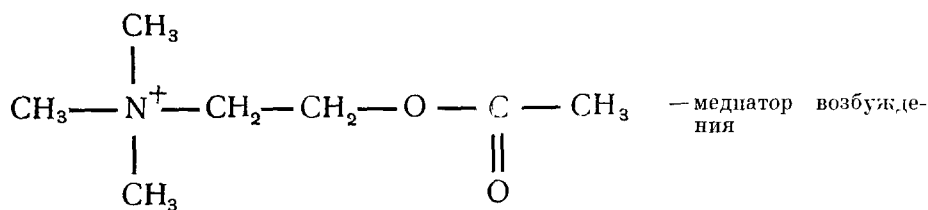
Структура различных синапсов была изучена в последние годы с помощью электронной микроскопии. На рис. 12 изображен синапс, разделяющий мышечную клетку и двигательный нейрон (нейрон, передающий приказ о мышечном сокращении). Схема является иллюстрацией, обобщающей данные электронной микроскопии. Нейрон оканчивается мешочком, в цитоплазме видны митохондрии, а также пузырьки диаметром около $500 \text{ \AA}$, содержащие ацетилхолин (это было показано прямыми методами). Внизу нейрон оканчивается предсинаптической мембраной, за которой находится синаптическая щель и постсинаптическая мембрана, относящаяся уже к другому нейрону. Когда электрический сигнал приходит к предсинаптической мембране, на ней происходит выделение определенной порции медиатора, по-видимому, содержащего примерно одного пузырька (порядка 2000 молекул ацетилхолина). Тогда происходит возбуждение постсинаптической мембраны, и в ней возникает электрический импульс (постсинаптический импульс). Вслед за этим фермент холинэстераза немедленно расщепляет выделившийся ацетилхолин и снимает возбуждение. В том случае, когда синапс соединяет два нейрона, постсинаптический импульс пробегает, затухая, небольшое расстояние, суммируется с другими подобными же импульсами и, дойдя до возбудимой оболочки аксона, может дать начало распространению незатухающего сигнала. Последний, дойдя до выходного синапса, снова выделяет медиатор, и так волна возбуждения бежит вдоль нейронной сети от синапса к синапсу. Фактически в огромном большинстве случаев дело не ограничивается одним единичным сигналом. Так, двигательный нейрон выделяет на нервно-мышечном синапсе целую серию пузырьков ацетилхолина, в результате чего образуется серия электрических импульсов. Это и приводит к мышечному сокращению. Единичные импульсы для этого недостаточны. Более того, в последние годы удалось, ведя наблюдение за подобным синапсом в состоянии покоя, обнаружить в нем случайные единичные сигналы. По-видимому, это — шумы, возникающие вследствие спонтанного выделения отдельных пузырьков медиатора на мембране. Амплитуда этих шумов такая же, как полезных сигналов при передаче возбуждения.

Детальный механизм работы синапсов с химической передачей пока не выяснен. Существенно, что наряду с ними обнаружены синапсы с чисто электрическим механизмом передачи. Они отличны по своему строению, в частности не содержат пузырьков с медиатором. Синапсы с различными химическими медиаторами также несколько различаются по своей микроструктуре. Было показано, что в нервной системе можно проследить за цепями нейронов, действующих с определенным типом медиатора, начиная от периферических клеток и кончая корой головного мозга. По-видимому, смысл того, что в нервной системе образуются такие «кабели» с различными химическими медиаторами, заключается в том, чтобы создать известную

Таблица II

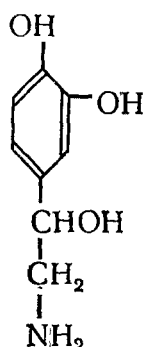
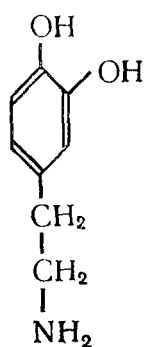
Медиаторы нервной проводимости

Ацетилхолин



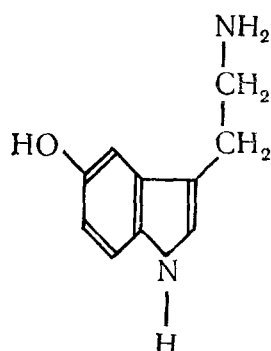
Норадреналин

и допамин



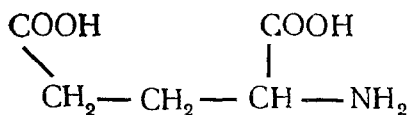
То же

5-оксигриптами (серогонин)

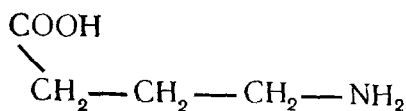


» »

Глутаминовая кислота

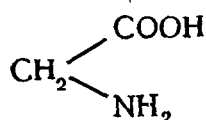
— медиатор возбужде-
ния и торможения

γ-аминомасляная кислота



— медиатор торможения

Глицин



» ,

автономность у определенных функционально различных областей нервной системы, уменьшить в некоторых областях возможности перекрестных коммуникаций. С одной стороны, все нейроны связаны в сети, и это, как будет показано дальше, необходимо для работы нервной системы. С другой стороны, мозг по всем данным — высокодифференцированный орган, состоящий из различных типов клеток, и наличие не одного, а многих медиаторов — это проявление дифференцировки.

Центральная нервная система животных и человека является объектом воздействия разнообразных фармакологических агентов — наркотиков, галлюциногенов, возбуждающих средств, транквилизаторов и т. д. Во многих случаях можно проследить за сходством молекулярной структуры этих агентов со структурой медиаторов нервных импульсов. Спрашивается, какие преимущества дает химический механизм проводимости в синапсах по сравнению с электрическим? Ответить на этот вопрос не так просто. Но одно обстоятельство вполне очевидно. Химический механизм обеспечивает униполярность проводимости — распространение сигнала только в нужном направлении.

Рассмотрим теперь несколько подробнее процесс образования единичного электрического сигнала. В результате работы калиево-натриевого насоса концентрация натрия внутри нейрона примерно в 15 раз меньше, чем во внешней среде (в ней 0,15-мольный раствор NaCl, а внутри 0,01-мольный), концентрация ионов калия в 30 раз выше, чем во внешней среде (внутри нейрона она порядка 0,03 моля, снаружи 0,001 моля). В нормальном состоянии (состоянии покоя) мембрана непроницаема ни для натрия, ни для анионов, но слегка проницаема для калия. Только ионы калия являются потенциалообразующими; они диффундируют во внешнюю среду и создают на мембране двойной слой, отрицательная обкладка которого находится внутри нейрона. Скачок потенциала на поляризованной мембране (потенциал покоя) составляет 60—70 мВ. Когда он установился, дальнейшая диффузия ионов калия прекращается. Таким образом, калиевая батарея заряжена. Если бы мембрана вела себя как полупроницаемая перегородка, проницаемая для катионов калия и непроницаемая для анионов, на ней возник бы электрохимический потенциал, определяемый формулой Нернста

$$RT \ln \left(\frac{C_1}{C_2} \right) = eV_p,$$

где C_1 и C_2 — концентрации ионов калия внутри и вне клетки, V_p — равновесная разность потенциалов, e — заряд электрона.

Если рассчитать ожидаемую разность потенциалов в нашем случае, она должна была бы составлять 90 мВ. На самом же деле в случае покоящейся мембраны в ней действует калиевый насос, повышающий концентрацию калия внутри клетки за счет свободной энергии ΔF метаболических реакций. Поэтому истинная разность потенциалов V будет ниже равновесной и определится равенством

$$RT \ln \left(\frac{C_1}{C_2} \right) = eV + \Delta F.$$

Как говорилось, потенциал покоя составляет 60—70 мВ. При воздействии медиатора на мембрану в синапсе ее изолирующее действие прекращается. Возникает локальный ток ионов натрия внутрь нейрона (так как натрий — преимущественный катион во внешней среде) и калия во внешнюю среду; проводимость по отношению к анионам остается малой. При этом мембрана начинает деполяризоваться в месте «прокола», и вдоль нее бежит затухающая волна деполяризации.

Когда электрический затухающий сигнал доходит до возбудимой мембраны аксона, то в ней может возникнуть проводимость, начиная с самого края. Начиная с этой точки, мембрана аксона деполяризуется. Дефицит катионов внутри аксона будет восполняться главным образом за счет приходящих извне ионов натрия, так как концентрация натрия во внешней среде велика (0,15 моля), а концентрация калия относительно мала повсюду. Анионы в переносе тока практически не участвуют.

Ток деполяризации мембраны распространяется от места «пробоя», т. е. от начального края аксона. Когда отрицательный скачок потенциала в некоторой точке мембраны становится достаточно низким (10—15 мв вместо начальных 60—70 мв), ее сопротивление резко уменьшается и она становится местом вторичного «пробоя». В результате образуется стационарная волна деполяризации, распространяющаяся с определенной скоростью вдоль аксона. У этой волны имеются некоторые дополнительные особенности. Так, поток ионов натрия из внешней среды во внутреннюю

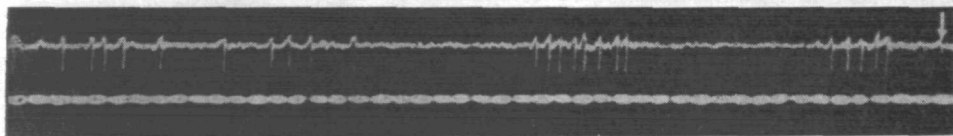


Рис. 13. Типичная осциллограмма биотоков.
Сверху отметка времени (1 деление — 10 мсек).

не прекращается, когда разность потенциалов становится равной нулю. Это вполне естественно, так как концентрация натрия в наружной среде в 15 раз больше. Поэтому диффузия натрия продолжается, и она не сбалансирована диффузией анионов. Отсюда перезарядка мембраны от -60 до $+50$ мв. Когда образовался потенциал действия, т. е. мембрана перезарядилась от -60 до $+50$ мв, она снова восстанавливает свои первоначальные свойства — становится непроницаемой для натрия и лишь слегка проницаемой для калия, и это задолго до того, как образовался равновесный натриевый потенциал. В результате местный потенциал действия существует только около 1 мсек (рис. 13) и имеет характер острого всплеска («спайк» — spike). Амплитуда его достигает 110 мв. Существенно, что этот сигнал распространяется, не затухая, вдоль мембраны, иначе говоря, вдоль аксона, пока не доберется до следующего синапса. Мы видим, что «возбудимая» мембрана активно участвует в процессе формирования и поддержания электрического сигнала. Белки и липиды, из которых она состоит, изменяют свою структуру; скорее всего, в них происходят конформационные превращения. Это обнаруживается, если измерять оптические свойства аксона в момент распространения волны возбуждения. Синхронно с электрическим сигналом вдоль аксона распространяется волна изменения светорассеяния и изменения двойного лучепреломления¹³. Изменения структуры мембраны и служат причиной изменения ее электрических параметров. Рассмотрим, как ведет себя пассивная полупроницаемая мембрана, поляризованная в растворе электролита. На ней образуется скачок потенциала того же порядка. Если сделать в ней «пробой» в какой-либо точке, то начнется ее деполяризация и потенциал постепенно падает до нуля. Мы можем написать уравнения для тока, текущего вдоль мембраны:

$$\frac{\partial i}{\partial x} = \frac{\partial q}{\partial t} = C \frac{\partial v}{\partial t},$$

где i — сила тока в данной точке, v — потенциал в данной точке, q — заряд в данной точке (на единицу длины «кабеля»), C — емкость мембраны на единицу длины кабеля. Далее,

$$i = -\frac{1}{R} \frac{\partial v}{\partial x},$$

где R — суммарное сопротивление внешней и внутренней среды на единицу длины «кабеля». Отсюда

$$\frac{\partial v}{\partial t} = D \frac{\partial^2 v}{\partial x^2},$$

где $D = 1/CR$.

Решение дифференциального уравнения при начальном возмущении, выражаемом δ -функцией, будет таково:

$$v = v_0 \left(1 - \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}} \right).$$

Мы видим, что решение — это распространяющаяся вдоль оси x сильно затухающая область деполяризации.

Так обстоит дело с первоначальным сигналом, возникающим в синапсе. Пройдя 1—2 мм вдоль дендрита, амплитуда сигнала успевает существенно понизиться. Путь, проходимый сигналом, является главным фактором, определяющим действие «аттенюатора». Иначе обстоит дело с возбудимой мембраной аксона. Вдоль нее, как мы видели, распространяется без затухания электрический сигнал, так как мембрана аксона не ведет себя пассивно, а становится проводящей в месте прохождения импульса. Мы можем оценить скорость распространения сигнала следующим образом¹¹. Для потенциала вдоль аксона будет справедливо обычное телеграфное уравнение, которое записывается для любого кабеля с определенными емкостью и сопротивлением:

$$\frac{\partial v}{\partial t} = \frac{1}{RC} \frac{\partial^2 v}{\partial x^2} - \frac{\mathcal{I}}{C}, \quad (1)$$

где C — емкость на единицу длины аксона, R — сопротивление (внешнее и внутреннее) на единицу длины аксона, $\mathcal{I}$ — сила тока, текущего через мембрану, на единицу длины аксона. Если решение телеграфного уравнения пишется в виде стационарной волны, то можно ввести вместо x новую переменную ξ :

$$\xi = x - Vt,$$

где V — скорость распространения сигнала. Тогда уравнение преобразуется к виду

$$\frac{d^2 v}{d\xi^2} + VRC \frac{dv}{d\xi} - R\mathcal{I}(\xi) = 0. \quad (2)$$

Задача может быть легко решена, если задаться простой формой электрического сигнала $\mathcal{I} = \mathcal{I}(\xi)$.

Рассмотрим распространение сигнала, составленного из двух прямоугольников (рис. 14). Мы сохраняем наиболее характерные черты явления, т. е. чередование разрядки мембраны и вслед за этим новой ее зарядки до первоначального потенциала. Для простоты истинная кривая изменения тока со временем заменена разрывной функцией. Если бы мембрана вела себя по принципу «все или ничего», т. е. возбуждалась бы скачкообразно, эта картина была бы справедливой. На самом деле возбуждение происходит резко, но не скачкообразно. Однако это мало отражается

на качественной картине. Для потенциала v получается решение, изображенное на рис. 14, б.

Для области $\xi \geq 0$ аналитическое выражение будет

$$v(\xi) = \frac{1}{V^2 RC} [\mathcal{I}_1 + \mathcal{I}_2 e^{-V^2 RC(\tau_1 + \tau_2)} - (\mathcal{I}_1 + \mathcal{I}_2) e^{-V^2 RC\tau_2}] e^{-V RC \xi}.$$

Легко написать выражения для потенциала и в остальных областях, но они нам не понадобятся¹¹.

Чтобы определить параметр V — скорость распространения сигнала, мы должны ввести дополнительное условие, что в момент включения

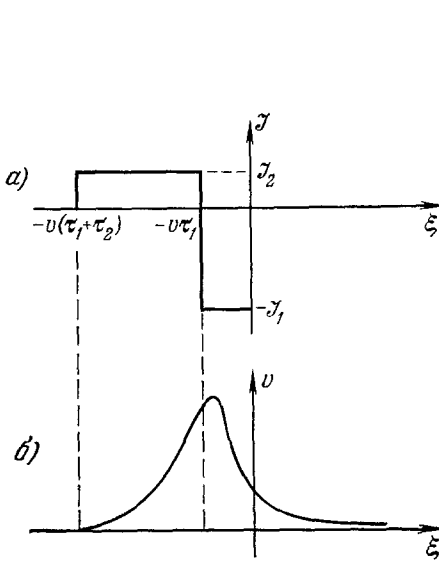


Рис. 14. Идеализированная кривая единичного импульса, используемая при расчете.

а) Ток через мембрану, б) изменение потенциала вдоль мембраны.

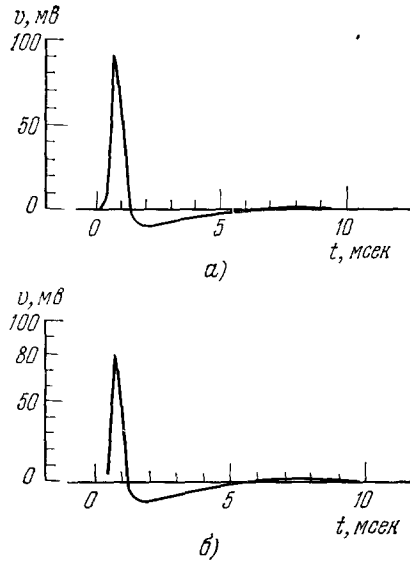


Рис. 15. Кривая единичного импульса:

а) экспериментальная, б) рассчитанная по теории Ходжкин — Хаксли.

мембранного тока, т. е. при $\xi = 0$, потенциал v равен порогу возбуждения v_1 : $v(0) = v_1$. Подставляя это в уравнение (3), получим

$$\frac{1}{V^2 RC} [\mathcal{I}_1 + \mathcal{I}_2 e^{-V^2 RC(\tau_1 + \tau_2)} - (\mathcal{I}_1 + \mathcal{I}_2) e^{-V^2 RC\tau_2}] = v_1.$$

Это трансцендентное уравнение для V приводит к двум решениям, из которых лишь одно устойчивое. Мы можем получить совсем простое решение, если пренебрежем экспоненциальными членами. Оно справедливо при

$$\left(1 + \frac{\mathcal{I}_2}{\mathcal{I}_1}\right) e^{-\frac{\mathcal{I}_1 \tau_1}{v_1 C}} \ll 1.$$

Смысл этого неравенства в том, что максимальный потенциал в импульсе значительно выше, чем порог возбуждения. На практике это условие выполняется. Тогда

$$V = \sqrt{\frac{\mathcal{I}_1}{v_1 RC^2}}.$$

Скорость распространения сигнала зависит только от тока $\mathcal{I}_1$ разрядки в момент пробоя и не зависит практически от обратного тока зарядки.

Если взять из работы А. Ходжкин и А. Хаксли¹² величины $v_1 = 15$ мв, $\rho = 35$ ом·см и радиус $a = 0,02$ см, то сопротивление внутренней среды аксона будет равно $\rho/\pi a^2 = 3 \cdot 10^4$ ом/см; емкость мембраны составляет 1 мкф/см², или $C = 2\pi a \cdot 10^{-6} = 1,2 \cdot 10^{-7}$ ф/см. Наконец, сила тока $\mathcal{I}_1 = 10$ мка/см; отсюда получится скорость распространения сигнала

$$V = 30 \text{ м/сек},$$

что соответствует по порядку величины экспериментальным значениям. Практически скорость V изменяется в широких пределах в разных нейронах. У человека она составляет обычно десятки м/сек; достигает 100 м/сек у толстых аксонов и понижается до немногих метров в секунду у самых тонких волокон. Скорость непосредственно зависит от диаметра аксона: чем толще аксон, тем больше скорость (вследствие большей силы разрядного тока $\mathcal{I}_1$).

Остановимся кратко на экспериментах, в которых были доказаны описанные здесь принципы формирования и проведения единичного электрического импульса. Удача экспериментаторов заключалась в нахождении хорошего объекта для изучения. Этим объектом был гигантский аксон кальмара. Его диаметр достигает 1 мм, в то время как аксоны большинства нервных клеток человека имеют всего около 10 мкм в диаметре. Длина гигантского аксона достигает десятков сантиметров. По-видимому, эволюция наградила кальмара гигантским аксоном как раз для того, чтобы нервный сигнал проводился по нему очень быстро. Кальмар движется на реактивном принципе, выбрасывая воду. Все его мышцы должны сокращаться синхронно. Для этого нужно, чтобы сигнал к сокращению достиг всех мышц с очень малым сдвигом по фазе. Для экспериментаторов гигантский аксон — находка. Его легко отпрепарировать, ввести в разные его точки изолированные микроэлектроды толщиной в несколько микрон, можно выдавить из него всю внутреннюю среду — аксоплазму и через капиллярную канюлю подвергнуть аксон промыванию — перфузии любым солевым раствором. Наконец, можно погрузить гигантский аксон в любую внешнюю среду (нужно лишь следить за тем, чтобы осмотическое давление было сбалансировано). При желании можно, уменьшив концентрацию электролитов, восполнить осмотическое давление за счет незаряженной сахарозы. Опыт показал, что при всех этих манипуляциях мембрана аксона сохраняет свои основные свойства и способна действовать как механизм проведения электрического импульса.

С помощью экспериментов на гигантском аксоне А. Ходжкин, А. Хаксли, Б. Кац и другие нейробиологи раскрыли механизм образования и проведения единичного сигнала. Первое, что было выяснено, это то, что потенциал покоя в мембране определяется только перепадом концентраций калия и может изменять свой знак, если во внешней среде калия оказалось больше. Следовательно, было экспериментально доказано, что ионы натрия и любые анионы не проникают через покоящуюся мембрану, а калий проходит. Далее, в некоторой точке аксона был приложен электрический импульс с помощью специальных «раздражающих» электродов. По этим электродам подавался ток, понижающий разность потенциалов в соответствующей точке до критических 15 мв. Тогда из этой точки возникал и распространялся сигнал, который можно было регистрировать осциллографом на любом расстоянии от точки возбуждения. Далее было показано, что перезарядка мембраны в момент возбуждения (так называемый «овершут» — overshoot) связан с наличием градиента концентрации ионов натрия. Введение натрия внутрь аксона уменьшало потенциал перезарядки, а замена наличного натрия (при постоянной концентрации калия) на сахар увеличивала. Наконец, было точно показано, что ско-

рость распространения потенциала возбуждения определяется электропроводностью раствора внутри аксона. Замена ионов натрия на сахар уменьшала скорость распространения. Все это находится в точном согласии с теорией.

Рассмотренная нами выше элементарная теория скорости распространения нервного импульса качественно правильно передает явление. Однако для количественного рассмотрения она непригодна. Если нужно исследовать теоретически истинную форму сигнала, то следует прибегнуть к нелинейному дифференциальному уравнению, так как электрическое

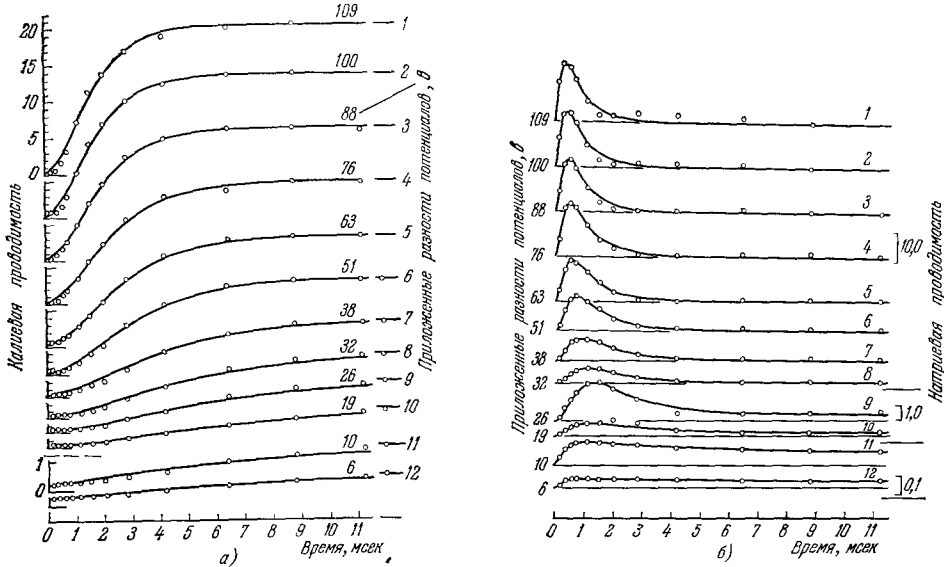


Рис. 16. Характеристики проводимости мембраны аксона при мгновенном приложении разности потенциалов (в мв).

Проводимость по калию—а), по натрию—б). 1—12 — номера кривых.

сопротивление мембраны R приходится считать зависимым от потенциала. Поэтому решать это уравнение приходится численными методами. Ходжкин и Хаксли провели систематическое исследование тока ионов калия и ионов натрия через мембрану при внезапном включении постоянной разности потенциалов на мембране. На рис. 16 приведены кривые изменения тока ионов калия и ионов натрия как функция времени и разности потенциалов¹³. Мы видим, что для калия процесс установления ионного тока имеет релаксационную природу. Кроме того, зависимость тока от напряжения очень резкая, но не скачкообразная. Для ионов натрия ситуация еще сложнее. Ток натрия нарастает в течение 1 мсек, затем падает до нуля по релаксационному закону в течение 3—5 мсек. Причина этого явления непонятна, но мы уже останавливались на нем, когда указывали, что ток натрия через мембрану сам собой прекращается задолго до того, как напряжение «овершута» достигает равновесного скачка потенциала. Ходжкин и Хаксли выразили кривые рис. 16 эмпирическими формулами и использовали последние для расчета формы и скорости распространения электрического сигнала вдоль аксона. Дифференциальное уравнение распространения сигнала решалось численно, и результаты оказались во вполне удовлетворительном согласии с опытом (см. рис. 15) как в отношении формы импульса, так и в отношении скорости распространения. Тем самым феноменологическая картина генерирования и распространения

единичного электрического сигнала получила завершенность. В настоящее время делаются попытки еще улучшить и упростить феноменологическую теорию, но познавательное значение этих работ незначительно. Что касается физической природы явлений, протекающих внутри возбудимой мембраны, то они остаются во многом неясными. В последние годы благодаря работам И. Тасаки с сотрудниками удалось несколько продвинуться и в этом вопросе. Японские исследователи полностью заменили внутри и вне гигантского аксона биологически активные ионы натрия и калия на разнообразные другие — литий, рубидий, цезий, аммоний. Если эти нефизиологические ионы перфузировались внутрь аксона, а двухвалентные ионы кальция, бария или стронция находились во внешней среде, то мембрана аксона сохраняла свойство возбудимости и способность генерировать электрические сигналы, хотя никакого активного транспорта этих чужеродных ионов через мембрану не наблюдалось. Следовательно, функция возбудимости независима от активного транспорта. По идее Тасаки возбудимость мембраны происходит в несколько этапов. Вначале при покое внешняя сторона мембраны содержит двухвалентные катионы, по-видимому кальция, присоединенные к полимерному полианиону. При приложении внешней разности потенциалов кальций обменивается на одновалентные ионы, и это является первопричиной конформационных переходов в субъединицах мембраны. В результате мембрана становится проводящей для калия и натрия. В конце импульса происходит обратный ионный обмен связанных ионов калия на кальций и вследствие этого обратный конформационный переход в непроводящее состояние.

В лаборатории Нахмансона были получены данные, подтверждающие эту идею и показывающие, что кальций поглощается в синаптической мембране теми же молекулами, которые способны присоединять медиатор ацетилхолин. При введении в мембрану ацетилхолина происходит освобождение ионов кальция, и далее, по-видимому, срабатывает тот же спусковой механизм, который рассматривал Тасаки (см. ¹⁴).

Наряду с нейронами, осуществляющими процессы возбуждения в нервной системе, присутствуют нейроны, осуществляющие процессы торможения; нейроны возбуждения и нейроны торможения образуют мозаику и соединяются друг с другом синапсами. В нейронах торможения также генерируется и распространяется вдоль аксона электрический сигнал, но обратный по знаку сигналу в нейронах возбуждения. Электрический ток в этих импульсах течет изнутри наружу, а не наоборот. Такое поведение тормозных нейронов объясняется иными свойствами их мембраны.

Как может протекать ионный ток изнутри наружу в условиях, когда внутренняя часть клетки заряжена отрицательно по отношению к внешней среде?

Оказалось (это было выяснено Экклсом на двигательных нейронах млекопитающих — сравнительно крупных клетках спинного мозга), что мембрана тормозных нейронов при ее «пробое» становится хорошо проницаемой для ионов калия, но отнюдь не для ионов натрия. Поэтому возникает поток катионов калия изнутри наружу. В результате отрицательный потенциал внутри тормозного нейрона вырастает еще больше.

Каков предел этому росту? Если концентрация калия внутри клетки в 30 раз выше, чем снаружи, то равновесный скачок потенциала на мембране составляет 90 мв. Так как потенциал покоя не превышает 60 мв, остается еще возможность заметно увеличить отрицательный заряд внутри нейрона. И действительно, амплитуда тормозного сигнала в нейроне составляет 80 мв.

Рассмотрим теперь следующую по важности и сложности проблему — поведение нейрона не изолированного, а включенного в естественную для него систему связей. Именно простейшие ансамбли нейронов нужны для того, чтобы сопоставить картину токов с качественной и количественной картиной внешних раздражителей и с картиной поведения животного, например координированным сокращением различных мышц. Как уже говорилось, природа и здесь «пошла нам навстречу». Имеется ряд животных с элементарно построенной нервной системой (без мозга, но с нервными узлами — ганглиями). Брюхоногий моллюск *Aplysia* («морской заяц») служит одним из излюбленных объектов нейрофизиологов. Первое, что отличает электрическое поведение нейрона в естественных условиях стимуляции через синапсы, это тот факт, что он, как правило, не дает отдельных импульсов, а целые пакеты или залпы периодически следующих друг за другом сигналов (см. рис. 13). Интенсивность стимуляции (например, светом) отражается не на амплитуде, а на частоте повторения сигналов. Амплитуда единичного сигнала определяется целиком физическими параметрами мембраны — емкостью, электропроводностью аксоплазмы, критическим потенциалом. Частота импульсов определяется числом пузырьков медиатора, приходящим на синаптическую мембрану. Следовательно, нейронной сети свойственна частотная модуляция.

Нейроны по своей структуре и функции разделяют на «детонаторные» и «интеграторные». Первые осуществляют только передачу нервного импульса вдоль сети. Поэтому в них относительно небольшое число очень эффективно работающих синапсов. Они осуществляют быструю и эффективную передачу. Другие нейроны осуществляют интегрирующую деятельность или анализ информации. В них синапсы многочисленны и имеют достаточно низкий уровень эффективности передачи. Поэтому отдельные постсинаптические импульсы, доходящие до мембраны аксона, недостаточны, чтобы возбудить мембрану. Однако действия близлежащих синапсов суммируются, притом алгебраически, так как тормозные синапсы вносят свой вклад с обратным знаком. В итоге, если происходит возбуждение такого интеграторного нейрона, то это результат проведенного суммирования или анализа информации.

В простейшей нейронной сети моллюска *Aplysia* можно было наблюдать элементарный процесс образования условного рефлекса, или обучения. Для этого был выбран определенный нейрон с подходящими к нему двумя нервными стволами. Стимуляция одного из стволов электрическим импульсом вызывала сильную ответную реакцию (сильную волну возбуждения) в виде залпа импульсов. Стимуляция через второй ствол вызывала слабое действие (несколько единичных импульсов). Затем оба стимулирующих сигнала подавались один за другим с небольшим интервалом. Тогда между ними возникала временная связь. Она вырабатывалась постепенно и сохранялась затем в течение десятков минут.

При наличии временной связи достаточно было подать на нейрон слабый или малоэффективный импульс, чтобы получить реакцию, эквивалентную действию сильного стимулятора. Интересно, что выработка временной связи требовала закономерного и притом быстрого чередования обоих сигналов во времени. Если оба импульса, сильный и слабый, подавались через случайные интервалы времени, то условный рефлекс не вырабатывался. Эти результаты, полученные на малых ансамблях нейронов, позволяют надеяться на эти ансамбли как на объекты для изучения механизма образования электрических связей.

На малых ансамблях можно наблюдать простейшие механизмы межнейронного взаимодействия. Обработка зрительной информации была изучена на примере простого камерного глаза моллюска *Hermisenda*.

Глаз этого животного состоит из линзы, специальной черной диафрагмы, выделяющей узкий конус света, и сетчатки, содержащей всего пять рецепторных клеток. В каждую из этих клеток можно было ввести микроэлектрод. Оказалось, что под действием света в одних клетках возникают быстро повторяющиеся электрические импульсы, а в соседних, наоборот, происходит торможение (так называемое латеральное торможение), т. е. все они образуют одну электрическую сеть. В возбудимых клетках частота сигналов закономерно меняется при изменении положения источника света. Перенесение источника света слева направо дает учащение разрядов в одном из двух возбудившихся нейронов. Следовательно, на этом элементарном примере могут быть изучены в принципе некоторые простейшие аспекты образования зрительного восприятия.

Подобные примеры изучения малых нейронных сетей могут быть умножены. По-видимому, здесь заложены возможности сравнительно быстрого продвижения в познании нервной системы. Попробуем теперь обратиться к нервной системе во всей ее сложности. Ясно, что в центре стоит проблема информационная, т. е. кодовая. Сформулировать ее далеко не просто. Мы уже видели, что активность нервных клеток проявляется в генерировании коротких электрических импульсов. Амплитуда этих импульсов в основном стандартна, а частота в известных пределах растет с ростом интенсивности возбуждения (например, с увеличением освещенности в глазу, силы звука в рецепторе уха и т. д.). Наблюдаемые на электроэнцефалограммах изменения амплитуд могут быть связаны с тем, что в них суммируются потенциалы с большого и притом переменного числа нейронов.

Спрашивается, где возможности для кодирования информации? Как вообще следует понимать это кодирование? Чтобы ответить на эти вопросы, следует остановиться на том, какого типа информация возникает в мозгу¹⁴. Ясно, что она возникает в результате временной связи различных сенсорных (т. е. относящихся к органам чувств) сигналов. Простейший пример — это павловский условный рефлекс. Животное (или человек) получает одновременно из внешнего мира два разных сигнала (например, пищу и звонок). Каждый из этих сигналов проходит по нервной системе своим путем; один возникает в зрительном или обонятельном рецепторе, второй — в слуховом. Объединены оба сигнала фактом одновременности. Если это сочетание повторяется неоднократно, то в мозгу оба сигнала связываются — это и есть формирование временной связи — при звонке выделяется слюна, так как звонок означает пищу. Если угодно, это также простейший пример ассоциативной памяти или простейший пример обучения. Можно пытаться любые сложные события в психике представлять как ассоциации сигналов, относящихся к различным рецепторам, т. е. к областям, дающим характеристику явления с точки зрения вида, звука, запаха, вкуса, осязания и др. Такие ассоциации происходят между ощущениями, но, несомненно, у них материальная природа, т. е. это реальные физические ассоциации между нейронами и текущими в них токами.

И вот тут-то мы приходим к кодированию в нервной системе. Если рассматривать огромное число нейронов в мозгу и полагать, что эти клетки заранее распределены по различным рецепторам и различным исполнительным механизмам (мышцам, железам и др.), то можно иллюстрировать мозг в виде огромного табло с вспыхивающими сигнальными лампочками. Определенные области табло означают то, что животное видит, другие — то, что оно слышит. Определенное сочетание лампочек в первой области (область зрительного рецептора) будет означать некоторую видимую конфигурацию предмета — объекта изучения. Когда комбинации лампочек в разных областях табло вспыхивают одновременно,

между ними могут возникать временные связи. Тогда достаточно будет, чтобы под внешним воздействием вспыхнули только лампочки, относящиеся к звуковому рецептору (звонок); это автоматически вызовет вспышку комбинации лампочек, относящихся ко всему, что связано с пищей, и включению исполнительных механизмов (слюнные железы и т. д.). Таков биофизический механизм простейшего условного рефлекса, или простейшей ассоциации.

Спрашивается, как возникают такие связи между одновременно вспыхнувшими лампочками? Очевидно, должна существовать система коммутации, которая позволяет при необходимости связать электрически разные нейроны, даже далеко расположенные друг от друга, если они возбудились одновременно. И еще одно: необходимо существование автоматического механизма, проверяющего эту одновременность, т. е. постоянно испытывающего, какие связи между событиями должны быть закреплены в памяти, а какие связи нужно отбросить как случайные.

Вернемся к нашей иллюстрации со световым табло. Каким образом мы стали бы устанавливать на нем закономерные комбинации вспыхивающих лампочек? Мы просмотрели бы все табло от начала до конца, т. е. сканировали бы его раз, второй, третий. Именно подобный опыт дал бы нам представление о том, как сочетаются вместе вспыхивающие лампочки и каков статистический вес этих комбинаций. Несомненно, мозг должен проделывать обе эти операции. Он должен с достаточно большой частотой производить сканирование всей нейронной сети, как бы просматривать все возникающие при этом случайные и неслучайные сочетания возбужденных нейронов и должен осуществлять внутреннюю электрическую связь тех из них, которые под внешним воздействием постоянно возбуждаются в один и тот же момент. Следовательно, в основе нервного кода должны лежать, с одной стороны, частота электрических сигналов в нейронах как мера интенсивности сигнала, с другой стороны — положение — координата возбужденных нейронов. Механизмом кодирования являются связи, сочетания, ассоциации одновременно возбуждающихся нейронов.

Вся эта картина является логическим следствием описанных выше опытов с примитивными нейронными ансамблями. Такую картину интеграции элементов нервной системы мы можем себе представить, хотя о деталях механизмов как сканирования нейронной сети, так и создания в ней электрических связей, материализующих хотя бы краткосрочную память, мы знаем еще очень мало. Все же и сейчас уже имеются некоторые экспериментальные данные, подтверждающие ее.

Мы уже говорили, что картина потенциалов, снимаемая с мозга как через внешние электроды (т. е. с довольно больших областей), так и путем вживления электродов в отдельные клеточные популяции, достаточно сложна. Психическая деятельность должна сводиться к аperiodическим сигналам (или залпам сигналов), поскольку ощущения и результаты их обработки непрерывно изменяются.

Чтобы визуализировать результаты измерений биопотенциалов в мозгу, физиологи придумали метод табло, почти точно моделирующий ту картину, о которой мы говорили. Электроэнцефалограммы снимаются одновременно с нескольких (а иногда и нескольких десятков) участков мозга. Каждому электроду или паре электродов соответствует свой канал на электроэнцефалоскопе или своя электроннолучевая трубка топоскопа. Изменение потенциала в области какого-либо из электродов сопровождается изменением свечения соответствующей трубки топоскопа. Вся картина снимается на киноплёнку. При этом видна топография изменений потенциалов мозга в покое (отсюда название прибора — топоскоп) и ее изменения при действии внешних раздражителей или в случаях, когда

мозг занят работой, требующей воображения или логических усилий (например, решением математической задачи). Для динамических картин, отражающих рисунок биопотенциалов, англичане предложили термин *pattern*. Соответствующего русского слова пока не подобрали, и наши физиологи используют англицизм «паттерн». Ясно, что разрешающая способность экспериментальных методов еще невелика и каждый из регистрируемых потенциалов есть суммарный эффект большой области мозга. Отсюда до микроскопического паттерна возбуждения и торможения отдельных нейронов еще очень далеко.

Вернемся к проблеме кодирования. Мы видели, что амплитуда и форма отдельного электрического сигнала («спайка») определяется свойствами мембраны, т. е. относительно стандартна. Однако частота повторения сигналов, определяемая последовательностью частиц медиатора, приходящих на синаптическую мембрану, несет в себе информацию. Простейший случай, когда распространяется вообще единичный сигнал, осуществлен в нейронах, связанных с рецепторами осязания. Здесь осуществляется передача простейшей информации «да» или «нет». Существенным является момент времени, когда возникает сигнал «да».

В зрительном рецепторе, да и во многих других, образуются пакеты равноотстоящих сигналов, частота которых кодирует яркость освещения (в общем случае интенсивность раздражения). Существуют системы нейронов, в которых длительность или ширина пакета импульсов несет определенную информацию. По-видимому, этот язык принят в нейронах, контролирующих высоковольтные электрические разряды у некоторых морских рыб. Можно себе представить и другие изощренные примеры частотной модуляции, которые могут использоваться. Картины биопотенциалов дают примеры подобного рода, но до настоящего времени не выяснено, имеют ли эти вариации кодовое значение или же это шумы.

Наконец, с несомненностью доказано, что в некоторых нейронах возникают автоколебания с характерными частотами, не связанные с внешними раздражителями. Если записать в одной точке множество электроэнцефалограмм, усреднить их и разложить в ряд Фурье, то удастся иногда выделить несколько периодических электрических колебаний, так называемые α -, β -, δ -, θ -ритмы.

По предположению некоторых физиологов (например, Г. Уолтера¹⁵) периодические ритмы отражают механизм сканирования в мозгу. Можно путем некоторых остроумных сопоставлений даже уточнить, что α -ритм человека с периодом порядка 0,1 сек теснее всего связан со зрительным раздражением, а θ -ритм с периодом 0,2 сек иногда оказывается связанным с эмоциями. Эти ритмы очень интересно изменяются в детском возрасте, во сне, под действием наркотиков или при некоторых поражениях мозга (опухоли, кровоизлияния и т. п.).

Один из любопытных методов эксперимента заключается в раздражении органов чувств человека ритмическим стимулом той же частоты, что и определенный ритм, найденный при анализе биопотенциалов. Так, например, можно раздражать глаза периодическими вспышками света с помощью электронного стробоскопа, который нетрудно синхронизовать с выделенным из шумов α -ритмом мозга. Такая, синхронная с ритмом, примитивная по содержанию (простые смены света и темноты) стимуляция, может вызывать множество интересных явлений, как психических и физиологических, так и патологических.

Некоторые люди под действием такого раздражения испытывают нечто подобное галлюцинациям. Сначала дело ограничивается зрительными ощущениями. Человек видит сложные движущиеся периодические картины и узоры; затем к этому присоединяются ощущения незрительного

порядка. Наконец, у небольшой части субъектов развиваются болезненные явления в виде эпилептического припадка. Если одновременно снимать электроэнцефалограмму со многих точек мозга и рассматривать ее паттерн на топоскопе, то обнаруживаются вначале интенсивные изменения в ограниченном участке коры, связанном со зрительным рецептором, отражающие, по-видимому, состояние возбуждения. Затем состояние возбуждения переходит на соседние участки мозга и распространяется все шире и шире. Это своеобразное резонансное явление приводит как бы к прорыву границ тех локальных областей возбуждения, которые прямо относятся к данному органу чувств. Любопытная черта α -ритма заключается в том, что у большинства людей он проявляется при закрытых глазах, когда непосредственное действие органов чувств отключено. Если это действительно сканирование, то оно относится именно к стадии поиска сигнала в соответствующих областях нервной системы. Ритмичность колебаний является признаком непрерывного поиска связей, ее прекращение — свидетельством конца или завершения процесса поиска.

Мы не будем останавливаться здесь на других периодических ритмах, нас интересуют не детали физиологии, а биофизические механизмы.

Подытоживая, мы можем сказать, что для создания общей картины передачи информации мозгом важно следующее:

- 1) знание связи топографии нейронов с содержанием передаваемых ими сигналов;
- 2) умение регистрировать экспериментально образование электрических связей между удаленными нейронами;
- 3) понимание материального механизма, устанавливающего эти связи;
- 4) понимание того, какую дополнительную информацию несут в себе вариации временных интервалов между электрическими импульсами и каковы здесь шумы;
- 5) выяснение механизма сканирования или поиска связей.

В настоящее время только начинается работа по идентификации функции отдельных участков мозга. Этому очень помогают данные, получаемые при вживлении тонких золотых электродов в мозг для диагностики и лечения. Долгое время физиологи ограничивались функциональным изучением одной только коры. Сейчас приступили к изучению подкорковых структур, в том числе ответственных за эмоции и многие явления психики. Ближайшие десятилетия покажут, как далеко удастся продвигаться по этому пути.

Проблема материального механизма, устанавливающего постоянные связи между нейронами (так называемая пластичность синапсов), в настоящее время является почти полной загадкой. В просторечии это и есть механизм памяти. Память бывает двух основных типов — кратковременная и долговременная. При долговременной памяти информация откладывается не на секунды, а на годы. Пожалуй, единственное, что можно утверждать сейчас на основании достаточно грубых экспериментов со специфическими ингибиторами, это то, что долговременная память может быть связана с изменениями синапсов и требует синтеза специфических белков в клетках мозга, а следовательно, и синтеза матричной РНК.

Проблемы нейробиологии, в том числе и природа памяти, становятся сейчас в повестку дня. Неоднократно высказывалось убеждение о непознаваемости нашего мозга и механизма сознания. Эти идеи периодически возрождаются и в современную эпоху. На самом же деле можно ожидать, что ближайшие годы вовлекут биофизику в исследование мозга на молекулярном уровне и многие из рассмотренных выше загадок окажутся решенными еще при жизни нашего поколения.

В заключение мне хотелось бы поблагодарить многих товарищей, прочитавших эту статью в рукописи, в особенности Н. П. Бехтереву, С. А. Нейфаха, П. Г. Светлова за доброжелательную критику и многочисленные советы и замечания.

Институт высокомолекулярных соединений
АН СССР, Ленинград

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Обзоры строения биополимеров и проблемы молекулярной биологии и нейробиологии даны в книгах: Дж. Уотсон, Молекулярная биология гена, М., «Мир», 1968; В. Ингрэм, Биосинтез макромолекул, М., «Мир», 1966; Г. Стэнт, Молекулярная биология бактериофага, М., «Мир», 1966; С. Е. Бреслер, Введение в молекулярную биологию, М., «Наука», 1966; сб. «Молекулы и клетки», под ред. Г. М. Франка, вып. 1—3, М., «Мир», 1968.
2. Б. Пюльман, Квантовая биохимия, М., «Мир», 1965; Электронная биохимия, М., «Наука», 1966.
3. D. Hanahan, Lipide Chemistry, John Wiley and Sons, N.Y., 1960.
4. А. С. Спирин, Л. П. Гаврилова, Рибосомы, М., «Наука», 1968.
5. F. Jacob, Genetics of the Bacterial Cell. Нобелевский доклад, Science **152**, 1470 (1966); Ф. Жакоб, Генетика **6**, 3 (1965).
6. Дж. Боннер, Молекулярная биология развития, М., «Мир», 1967.
7. R. Edgar, J. Lielausis, J. Mol. Biol. **32**, 263 (1968).
8. Д. Грин, Р. Гольдбергер, Молекулярные аспекты жизни, М., «Мир», 1968; Механизмы интеграции клеточного обмена, под ред. С. А. Нейфаха, М., «Наука», 1967.
9. J. P. Changeux, J. Thiery, Y. Tung, C. Kittel, Proc. Natl. Acad. Sci. **57**, 335 (1967).
10. P. Mueller, D. Rudin, Nature **217**, 713 (1968).
11. В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, Биофизика **12**, 900 (1967).
12. A. L. Hodgkin, A. Huxley, J. Physiology **117**, 500 (1952); А. Ходжкин, Нервный импульс, М., «Мир», 1965.
13. L. Cohen, R. Keynes, B. Hill, Nature **218**, 438 (1968); I. Tasaki, A. Watanabe, R. Sandlin, L. Carnay, Proc. Natl. Acad. Sci. **61**, 883 (1968).
14. Symposium: Frontiers in Molecular Neurobiology, Proc. Natl. Acad. Sci. **60** (4), 1055 (1968).
15. Грей Уолтер, Живой мозг, М., «Мир», 1966; Д. С. Воронцов, Электрофизиология, М., «Наука», 1967.