

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ

13.1. История вопроса

По многочисленным данным, на поверхности большинства, если не всех клеток, существует диффузионный барьер (см., например, раздел 4.1, п. 1). На мой взгляд, лучше всего ему подходит название, данное Пфеффером — *Plasmahaut* (протоплазматическая кожа). Однако термин «клеточная мембрана» используется уже так давно, что приходится, вздыхая, мириться с ним — как приходилось мириться с самим термином «клетка». Основной вопрос этой главы — физико-химическая структура клеточной мембраны. На этот вопрос существует две противоположные точки зрения: одна происходит из теории мембранных насосов, другая — из ТФЗЛ (и теории АИ). После краткого изложения обеих теорий я проанализирую экспериментальные данные, полученные в ходе поиска ответа на вопрос, какая же из этих теорий ближе к истине.

1. Мембранная теория

Начало мембранной теории положил опыт Траубе с мембраной из преципитата ферроцианида меди. В отличие от прокрахмаленной бумаги Томаса Грэма, и подобно свиному мочевому пузырю в опытах аббата Нолле, — мембрана ферроцианида меди не только непроницаема для коллоидов, но также «непроницаема» для таких кристаллоидов, как сахароза или ионы меди и ферроцианида. Эту избирательную проницаемость Траубе объяснил в 1867 году своей теорией *атомного сита*, наличием в мембране пор определенного размера, достаточно больших для одних ионов и молекул и слишком маленьких для других [17]. Эта идея была весьма новаторской: лишь много лет спустя подобные мысли вновь начали высказываться другими учеными, среди которых были Михаэлис [401], Монд и Амсон [51], Бойль и Конвей [44].

Однако идея сита Траубе оказалась ошибочной. Бигеллоу, Бартелл и Хантер продемонстрировали, что мембрана ферроцианида меди сохраняет свои осмотические свойства даже при таком большом диаметре пор, как 0,5 мкм (5000 Å) [55; 56, р. 96; 13, р. 656—657]. Не может же, в самом деле, сито с порами диаметром 5000 Å быть препятствием для такой молекулы, как сахароза, с диаметром молекулы всего 8,8 Å. Тем не менее, такая мембрана для сахарозы непроницаема.

13.1. История вопроса

13.2. Проницаемость клеток и модельных систем для ионов

13.3. Обмен воды между клеткой и средой ограничен связанной водой, а не мембраной

13.4. Проницаемость клеток для воды на порядки выше, чем фосфолипидного бислоя

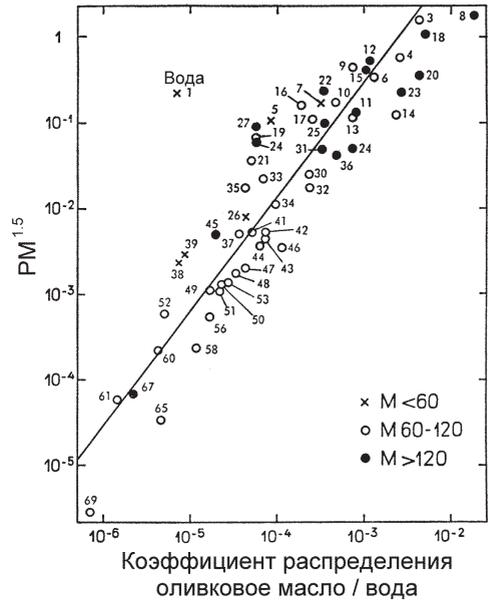
13.5. Поверхностное натяжение на границе раздела клетка/среда ниже, чем на границе раздела фосфолипиды/среда

13.6. Ионофоры на порядки усиливают проницаемость для ионов K^+ сплошного, искусственного фосфолипидного бислоя, но слабо влияют на проницаемость для K^+ мембран почти всех исследованных клеток

13.7. Поляризованная и структурированная вода вместо фосфолипидного бислоя

Интересно, что еще за 12 лет до идеи Траубе, в 1855 году, Лермит показал, что в основе полупроницаемости или, точнее, *дифференциальной проницаемости* мембран для различных веществ лежат различия в их *растворимости* в материале мембраны [57; 56, р. 98] (см. также статью Юстуса Либиха [482]). В подкрепление своей теории Лермит провел остроумный и убедительный эксперимент. Он создал в стеклянном цилиндре трехслойную систему: нижний слой — хлороформ, средний — вода, верхний — эфир (самый легкий из использованных растворителей). Эфир слабо растворим в воде, хлороформ — нерастворим. Поэтому эфир достигал слоя

Рис. 34. Зависимость проницаемости клеток *Nitella mucronata* для 69 неэлектролитов от коэффициента равновесного распределения этих неэлектролитов между оливковым маслом и водой (коэффициент равновесного распределения = $C_{\text{масло}}/C_{\text{вода}}$, где $C_{\text{масло}}$ — концентрация вещества в оливковом масле, $C_{\text{вода}}$ — концентрация вещества в воде). Обратите внимание, что на оси ординат отложено произведение константы проницаемости (P) каждого из веществ на его молекулярную массу (M), возведенную в степень 1,5 (возведение в степень придало эмпирической зависимости линейный характер). 1 — тяжелая вода (HDO); 7 — этанол; 8 — паральдегид; 52 — этиленгликоль; 61 — мочевины; 69 — глицерин. (По Колландеру [320]).



хлороформа, диффундируя сквозь слой воды, а хлороформ не мог достичь слоя эфира из-за наличия водного барьера. Вода сыграла здесь роль *полупроницаемой* среды: проницаемой для эфира, но непроницаемой для хлороформа.

Знаменитым следствием теории Лермита «проницаемость через растворимость» стала *теория липоидных мембран* Чарльза Эдмунда Овертона [21]. Повторив идею Квинке о масляном слое на поверхности клеток [542], Овертон внес принципиально важное дополнение: неодинаковая проницаемость клеточных мембран для различных неэлектролитов обусловлена различной растворимостью веществ в этой масляной мембране.

Рунар Колландер провел эксперименты [320], результаты которых подтвердили теорию проницаемости липоидных мембран Овертона (см. рис. 34). По оси ординат отложено произведение измеренной

экспериментально проницаемости (P) клеток *Nitella* для данного вещества на его молекулярную массу (M), возведенную в степень 1,5 (см. подпись к рисунку). По оси абсцисс отложены коэффициенты распределения 69 веществ между оливковым маслом и водой. Сильная корреляция этих показателей свидетельствует о том, что проницаемость мембраны для неэлектролитов в самом деле определяется их растворимостью в липоидной мембране клетки. На первый взгляд все выглядит убедительно, но к этому опыту остаются серьезные претензии. Рассмотрим основные из них.

Во-первых, проницаемость определяли следующим образом: сначала клетки *Nitella* погружали в раствор исследуемого неэлектролита на определенное время, а затем производили сбор и анализ образцов жидкости из центральной вакуоли (см. рис. 1А). Однако внимательный читатель может вспомнить, что Хёфлер в своих поздних работах доказал: диффузионным барьером для сахарозы у зрелых растительных клеток является не плазматическая мембрана, а тонопласт — внутренняя, везикулярная мембрана (рис. 1). Колландер в своем опыте этого не учел. Поэтому весьма вероятно, что диффузионным барьером, который характеризуют данные рис. 34, является не клеточная мембрана, а именно тонопласт. Однако тонопласт — особая, специализированная структура, характерная лишь для зрелых растительных клеток, и ее нельзя рассматривать в качестве модели типичной клеточной мембраны.

Во-вторых, характерной особенностью *полупроницаемой* мембраны является гораздо большая проницаемость ее для воды, чем для растворенных в ней веществ. Еще аббат Нолле в самом первом сообщении по этому вопросу заметил, что свиной мочевоидный пузырь проницаем для воды, но непроницаем для этанола. Взглянув же на рис. 34, мы узнаём, что коэффициент распределения этанола между оливковым маслом и водой не ниже, чем у воды, а более чем в 100 раз *выше*. Получается, по логике Колландера, что мембрана *Nitella* должна быть в 100 раз более проницаема для этанола, чем для воды, что противоречит всем фактам и даже самой идее «сита», объясняющей полупроницаемость биологической мембраны (молекула этанола намного больше молекулы воды).

В-третьих, межфазное натяжение между маслом и водой по меньшей мере в сто раз больше, чем фактическое натяжение на поверхности клетки (подробности см. в разделе 13.4).

Поскольку объяснения явления полупроницаемости (идея атомного сита и «проницаемость через растворимость») столкнулись с серьезными затруднениями, ряд ученых попытался объединить их в одну модель. Примеры многочисленны: мозаичная теория мембран Натансона [438], теория ультрафильтра Рухланда [422], теория липоидной фильтрации Колландера и Берлунда [403], олигомолекулярная теория Даниэли—Харви [483], а также принятая ныне жидкостно-мозаичная теория Зингера—Николсона [200], в которой масляный слой Овертона заменен фосфолипидным бислоем. Все эти

модели объединяет одна общая для них идея: слой жиров или фосфолипидов образует непрерывный барьер между внутренней средой клетки и наружной. Во всех этих моделях клеточная мембрана — это действительно мембрана, тонкая пленка с четкими границами как изнутри, так и снаружи. Однако в этом ряду моделей есть исключение. Это мембранная модель Вильгельма Пфедфера, часто называемого основателем мембранной теории. Однако в модели Пфедфера плазматическая мембрана частично или полностью образована белками [18, р. 156]. К тому же четкой границы между его «плазмодермой» и цитоплазмой может и не быть [18, р. 139]. Поэтому у самого основателя мембранной теории оказалось куда больше общего с Францем Лейдигом и Максом Шульце с их взглядами о том, что по химической природе клеточная мембрана не отличается от протоплазмы (см. гл. 1).

2. Теория фиксированных зарядов Линга и теория ассоциации-индукции

В теории фиксированных зарядов Линга (ТФЗЛ), представленной в 1951 и 1952 годах, я последовательно придерживался принципа: что справедливо для всей цитоплазмы, должно быть справедливо и для поверхности клетки [96, р. 781—782]. Конкретно, я предположил, что природа фиксированных анионов на поверхности клетки должна быть такой же, как и внутриклеточных, и поэтому они также должны обладать способностью избирательно адсорбировать K^+ в присутствии Na^+ , как это происходит в цитоплазме. Руководствуясь этим, я, с одной стороны, разработал теорию избирательной проницаемости для K^+ , а с другой, — позже, в 1955 году, — новую теорию потенциала покоя (см. рис. 4С). Эти вопросы будут подробно освещены в 15 главе.

Спустя 13 лет я предложил теорию МОПВ, согласно которой клеточная вода связана и представляет собой динамичную структуру из множества слоев молекул воды, каждая из которых приобретает в такой структуре дополнительный дипольный момент (поляризуется). И в этой части своей теории я не отошел от идеи принципиального сходства свойств протоплазмы во всем ее объеме, начиная с клеточной поверхности. Это неизбежно привело к созданию более полной модели клеточной мембраны.

Как и вся толща цитоплазмы, основная часть клеточной мембраны образована поляризованной ориентированной водой. Иными словами, клеточная мембрана — это, в первую очередь, мембрана из структурированной воды, в которой определяющую функциональную роль играют фиксированные анионы (или катионы), а также специализированные структуры, участвующие в трафике свободных аминокислот, сахаров и даже белков [15, р. 426—435].

Принимая идею *вездесущности* поляризованной ориентированной воды как непрерывной фазы всей клетки, включая клеточную