

## Биологические мембраны. Строение, свойства, функции.

Ю. А. Владимиров

### Резюме

*Биологические мембраны, наряду с цитоскелетом, формируют структуру живой клетки. Клеточная или цитоплазматическая мембрана окружает каждую клетку. Ядро окружено двумя ядерными мембранами: наружной и внутренней. Все внутриклеточные структуры: митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, фагосомы, синаптосомы и т.д. представляют собой замкнутые мембранные везикулы (пузырьки). Каждый тип мембран содержит специфический набор белков - рецепторов и ферментов; но основа любой мембраны - бимолекулярный слой липидов (липидный бислой), который во всякой мембране выполняет две главные функции: барьера для ионов и молекул и структурной основы (матрицы) для функционирования рецепторов и ферментов.*

### Введение

Если рассмотреть электронную микрофотографию ультратонкого среза живой ткани (после его фиксации и соответствующего прокрашивания), то первое, что обращает на себя внимание, - это тонкие двойные линии, которые "вырисовывают" контуры клетки и внутриклеточных органелл (см. рис. 1). Это - срезы через биологические мембраны - тончайшие плёнки, состоящие из двойного слоя молекул липидов и встроенных в этот слой белков. По сути дела, именно мембраны (наряду с цитоскелетом), формируют структуру живой клетки. Клеточная или цитоплазматическая мембрана окружает каждую клетку. Ядро окружено двумя ядерными мембранами: наружной и внутренней. Все внутриклеточные структуры: митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы, пероксисомы, фагосомы, синаптосомы и т.д. представляют собой замкнутые мембранные везикулы (пузырьки).

### История изучения свойств и строения мембран

Термин "мембраны" как окружающей клетку невидимой плёнки, служащей барьером между содержимым клетки и внешней средой и одновременно - полупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и некоторые растворенные в ней вещества, был впервые использован, по-видимому, ботаниками фон Модем и независимо К. фон Негели (1817-1891) в 1855 г для объяснения явления плазмолиза. В 1877 г. ботаник В. Пфедфер (1845-1920) опубликовал свой труд "Исследования осмоса" (Leipzig), где постулировал существование клеточных мембран, основываясь на сходстве между клетками и осмометрами, имеющими искусственные полупроницаемые мембраны, которые были приготовлены незадолго до этого М. Траубе. Дальнейшее изучение осмотических явлений в растительных клетках датским ботаником Х. де Фризом (1848-1935) послужило фундаментом при создании физико-химических теорий осмотического давления и электролитической диссоциации датчанином Я. Вант-Гоффом (1852-1911) и шведским ученым С. Аррениусом (1859-1927). В 1888 году немецкий физико-химик В. Нернст (1864-1941) вывел уравнение диффузионного потенциала. В 1890 году немецкий физико-химик и философ В. Оствальд (1853-1932) обратил внимание на возможную роль мембран в биоэлектрических процессах. Между 1895 и 1902 годами Э. Овертон (1865-1933) измерил проницаемость клеточной мембраны для большого числа соединений и показал прямую зависимость между способностью этих соединений проникать через мембраны и их растворимостью в липидах. Это было чётким указанием на то, что именно липиды формируют плёнку, через которую проходят в клетку вещества из

окружающего раствора. В 1902 году Ю. Бернштейн (1839-1917) привлек для объяснения электрических свойств живых клеток мембранную гипотезу.

В 1925 году Гортер и Грендел показали, что площадь монослоя липидов, экстрагированных из мембран эритроцитов, в два раза больше суммарной площади эритроцитов. Гортер и Грендел экстрагировали липиды из гемолизированных эритроцитов ацетоном, затем выпаривали раствор на поверхности воды и измеряли площадь образовавшейся мономолекулярной пленки липидов. На основе результатов этих исследований было сделано предположение, что липиды в мембране располагаются в виде бимолекулярного слоя. Это предположение подтвердили исследования электрических параметров биологических мембран (Коул и Кёртис, 1935 год): высокое электрическое сопротивление, порядка  $10^7$  Ом·м<sup>2</sup> и большая емкость  $0,51$  Ф/м<sup>2</sup>.

Вместе с тем имелись экспериментальные данные, которые свидетельствовали о том, что биологическая мембрана содержит в своем составе и белковые молекулы. Эти противоречия экспериментальных результатов были устранены Даниелли и Давсоном, предложившими в 1935 году так сказать "бутербродную" модель строения биологических мембран, которая с некоторыми несущественными изменениями продержалась в мембранологии в течении почти 40 лет. Согласно этой модели, на поверхности фосфолипидного бислоя в мембранах располагаются белки.

### Функции биологических мембран

В таблице 1 перечислены функции цитоплазматических и некоторых внутриклеточных мембран.

Во всех живых клетках биологические мембраны выполняют функцию *барьера*, отделяющего клетку от окружающей среды, и разделяющего внутренний объем клетки на сравнительно изолированные "отсеки" (compartments). Сами по себе перегородки, разделяющие клетки на отсеки, построены из двойного слоя липидных молекул (называемого часто *липидным бислоем*) и практически непроницаемы для ионов и полярных молекул, растворимых в воде. Но в этот липидный бислой встроены многочисленные белковые молекулы и молекулярные комплексы, одни из которых обладают свойствами селективных (т. е. избирательных) *каналов* для ионов и молекул, а другие - *насосов*, способных активно перекачивать ионы через мембрану. Барьерные свойства мембран и работа мембранных насосов создают неравновесное распределение ионов между клеткой и внеклеточной средой, что лежит в основе процессов внутриклеточной регуляции и передачи сигналов в форме электрического импульса между клетками.

Вторая функция, общая для всех мембран - это функция "монтажной платы" или *матрицы*, на которой располагаются в определенном порядке белки и белковые ансамбли, образующие системы переноса электронов, запасания энергии в форме АТФ, регуляции внутриклеточных процессов гормонами, поступающими извне и внутриклеточными медиаторами, узнавания других клеток и чужеродных белков, рецепции света и механических воздействий и т. д. О работе многих из таких систем читатель узнает из других статей данного тома.

Гибкая и эластичная пленка, которой по существу являются все мембраны, выполняет и определенную *механическую функцию*, сохраняя клетку целой при умеренных механических нагрузках и нарушениях осмотического равновесия между клеткой и окружающей средой.

Общие для всех мембран функции барьера для ионов и молекул и матрицы для белковых ансамблей обеспечиваются главным образом липидным бислоем, который устроен в принципе одинаково во всех мембранах. Однако набор белков индивидуален для каждого типа мембран, что позволяет мембранам участвовать в выполнении самых

разных функций в различных клетках и клеточных структурах. Некоторые из этих функций упомянуты в таблице 1.

Таблица 1. Некоторые функции биологических мембран

Клетки	Мембраны	Функция
Все клетки	Клеточные (цитоплазматические)	Активный транспорт ионов $K^+$ , $Na^+$ , $Ca^{2+}$ , поддержание осмотического равновесия
Большинство клеток	Клеточные	Связывание гормонов и включение механизмов внутриклеточной сигнализации
Нервные и мышечные клетки	Клеточные	Генерация потенциалов покоя и действия, распространение потенциала действия
Большинство клеток (кроме эритроцитов)	Внутренняя мембрана митохондрий	Перенос электронов на кислород и синтез АТФ (окислительное фосфорилирование)
Большинство клеток (кроме эритроцитов)	Эндоплазматический ретикулум	Перенос ионов кальция из клеточного сока внутрь везикул
Клетки зрительного эпителия	Мембраны зрительных дисков	Поглощение квантов света и генерация внутриклеточного сигнала

### Строение мембран

#### Общая схема строения мембран

Согласно современным представлениям, все клеточные и внутриклеточные мембраны устроены сходным образом: основу мембраны составляет двойной молекулярный слой липидов (липидный бислой) на котором и в толще которого находятся белки (см. рис. 1).

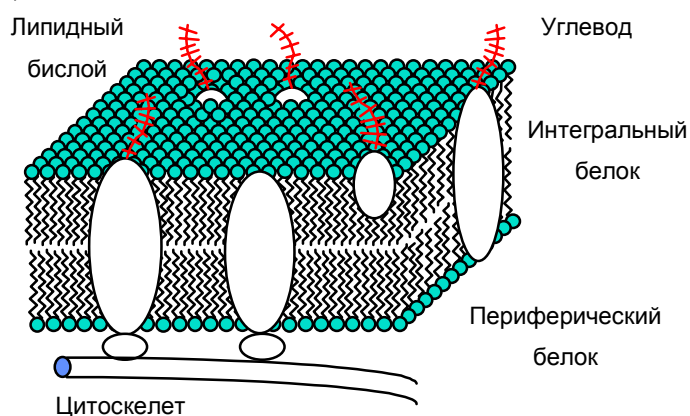


Рис. 1. Общая схема строения биологических мембран.

### Липиды мембран

#### Химический состав мембран

В таблице 2 приведено относительное содержание белков и липидов в некоторых мембранах. Грубо говоря, по весу мембраны состоят наполовину из белков, наполовину - из липидов, но во внутриклеточных мембранах, содержащих переносчики электронов (внутренние мембраны митохондрий, мембраны микросом), белков существенно больше, чем липидов.

Таблица 2. Относительное содержание белков и липидов (%) в некоторых мембранах (Котык А. и Яначек К. “Мембранный транспорт, Москва, “Мир”, 1980 г., стр. 33).

Мембраны	Белки	Липиды
Бычий миелин	22	78
Эритроциты человека	49	44
Плазматические мембраны клеток печени	60	40
Наружные митохондриальные мембраны	55	45
Внутренние митохондриальные мембраны	78	22
Микросомы из печени крыс	62	32

В состав липидов мембран входят в основном фосфолипиды, сфингомиелины и холестерин (см. таблицу 2).

Таблица 3. Состав липидов в мембранах эритроцитов человека (Котык А. и Яначек К. “Мембранный транспорт, Москва, “Мир”, 1980 г., стр. 45).

Фосфолипиды	36,3
Сфингомиелины	29,6
Холестерин	22,2
Гликолипиды	11,9

Как видно из [таблицы 3](#), основные фосфолипиды мембран - это фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозит и кардиолипин.

Таблица 4. Содержание фосфолипидов и сфингомиелина в мозгу и почках человека (Котык А. и Яначек К. “Мембранный транспорт, Москва, “Мир”, 1980 г., стр. 44).

Фосфолипиды	Мозг	Почки
Фосфатидилхолин	29,2	37,9
Фосфатидилэтаноламин	35,0	30,8
Фосфатидилсерин	17,6	7,0
Фосфатидилинозитол	2,2	6,1
Кардиолипин	0,4	4,2
Фосфатидиловая кислота	0,5	0,6
Сфингомиелин	13,6	12,8

### **Амфифильные молекулы**

Липидные бислои образуются *амфифильными* молекулами фосфолипидов и сфингомиелина в водной фазе. Амфифильными эти молекулы называют потому, что они состоят из двух частей, различных по своей растворимости в воде: полярной “головки”, обладающей высоким сродством к воде, т. е. *гидрофильной*, и “хвоста” образуемого неполярными углеводородными цепями жирных кислот; эта часть молекулы обладает низким сродством к воде, т. е. *гидрофобна*.

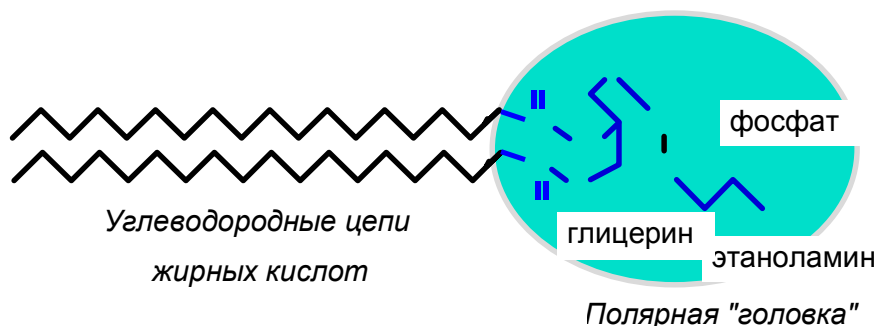


Рис. 2.  
Молекула  
фосфатидил-  
этанолламина

В состав липидов мембран входят в основном фосфолипиды, сфингомиелины и холестерин. Например, в мембранах эритроцитов человека их содержание, составляет, соответственно 36, 30 и 22 % по весу; еще 12% приходится на гликолипиды (Котык А. и Яначек К. “Мембранный транспорт, Москва, “Мир”, 1980 г., стр. 45).

С химической точки зрения фосфолипид состоит из четырёх частей: *глицерина*, двух *жирных кислот* с длинной углеводородной цепью, *фосфорной кислоты* и особой для каждого фосфолипида группы, которую мы будем называть *характеристической группой*.

Примером амфифильной молекулы может служить молекула фосфатидилэтанолламина, структура которой показана на рис. 2. Как и другие фосфолипиды, фосфатидилэтанолламин, в химическом отношении представляет собой сложные эфиры трехатомного спирта глицерина с двумя жирными кислотами; к третьей гидроксильной группе присоединен ортофосфат, а к нему - небольшая органическая молекула, характерная для каждого вида фосфолипидов. В рассматриваемом случае это этанолламин, но могут быть также холин, инозитол, серин и некоторые другие молекулы.

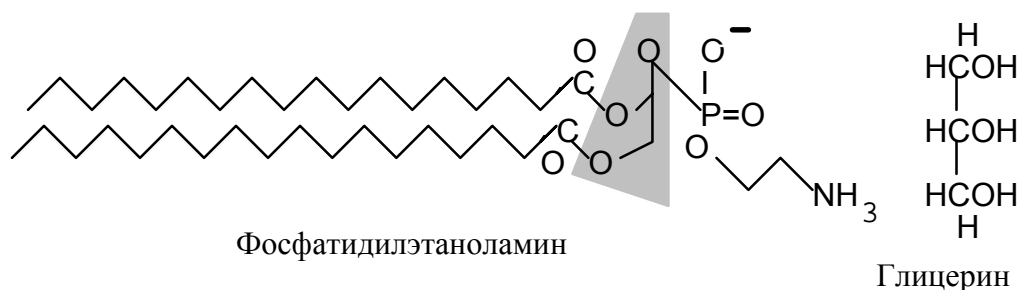


Рис. 3. Глицерин - основное связующее звено в молекулах фосфолипидов. Слева затенённая группа - это глицерин.

Трёхатомный спирт - глицерин связывает через сложно-эфирную связь две жирные кислоты и остаток фосфорной кислоты, как это видно на рис.1. На [рис. 4](#) даны скелетные формулы одной из жирных кислот и фосфорной кислоты.

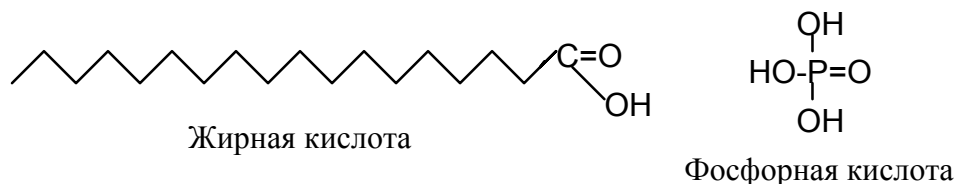


Рис. 4. Скелетные формулы одной из жирных кислот и фосфорной кислоты

Фосфолипиды различаются как составом жирных кислот, так и структурой характеристической группы. В фосфатидилэтаноллаmine такой группой является остаток этанолламина. В других фосфолипидах такой группой может

Фосфолипиды различаются как составом жирных кислот, так и структурой характеристической группы. В фосфатидилэтаноламине такой группой является остаток этаноламина. В других фосфолипидах такой группой может быть остаток холина, серина и другие полярные молекулы (см. [рис.5](#)).

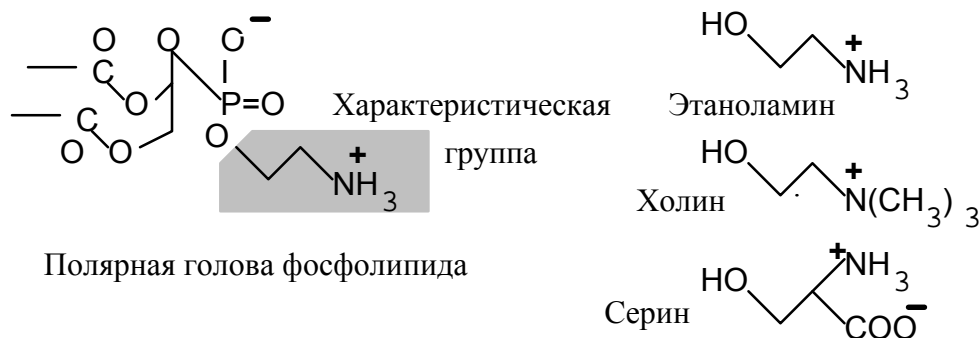


Рис.4. Характеристические (полярные) группы фосфолипидов.

В состав липидного слоя мембран входят также холестерин и сфингомиелины; последние близки к фосфолипидам по химическому строению и физическим свойствам.

### Белки мембран

Белки мембран принято делить на интегральные и периферические. *Интегральные белки* имеют обширные *гидрофобные участки* на поверхности и нерастворимы в воде. С липидами мембран они связаны *гидрофобными взаимодействиями* и частично погружены в толщу липидного бислоя, а зачастую и пронизывают бислоем, оставляя на поверхности сравнительно небольшие гидрофильные участки. Отделить эти белки от мембраны удастся только с помощью *детергентов*, типа додецилсульфата или солей желчных кислот, которые разрушают липидный слой и переводят белок в растворимую форму (*солюбилизируют* его) образуя с ним ассоциаты. Все дальнейшие операции по очистке интегральных белков осуществляются также в присутствии детергентов.

*Периферические белки* связаны с поверхностью липидного бислоя электростатическими силами и могут быть отмыты от мембраны солевыми растворами.

### Липидный бислой

Данные рентгеноструктурного анализа и другие показывают, что молекулы фосфолипидов имеют форму сплюснутого с боков цилиндра, а по длине как бы делятся на две неравные части: небольшую "голову", состоящую из полярных групп, и длинный "хвост", образованный углеводородными цепями жирных кислот, входящих в состав фосфолипида (см. [Рис.6](#)).

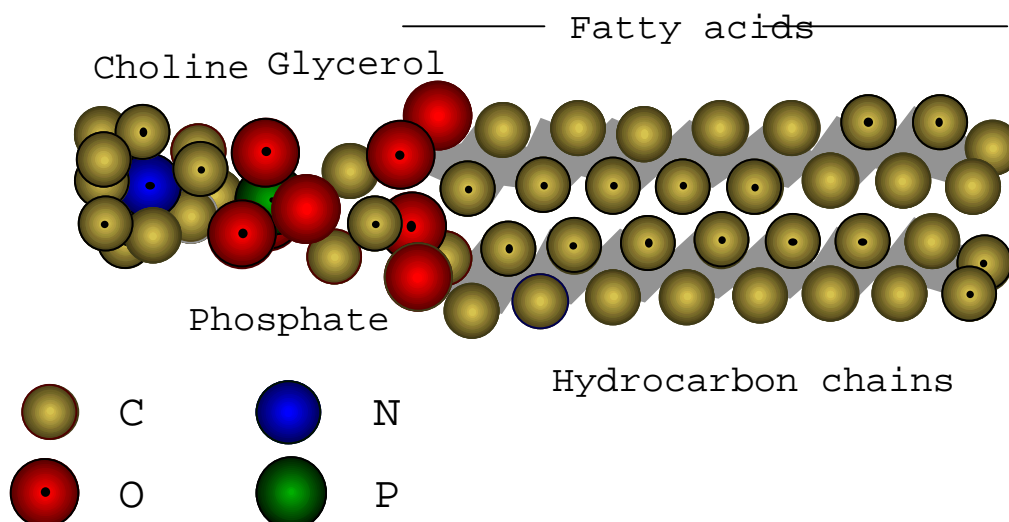


Рис. 6. Структура фосфолипида

Именно такое строение молекулы приводит к тому, что в водных растворах фосфолипидные молекулы самособираются в бислойную мембрану. В мембране "жирные хвосты" упрятаны внутрь, а снаружи в контакте с водным окружением оказываются полярные "головы" этих молекул.

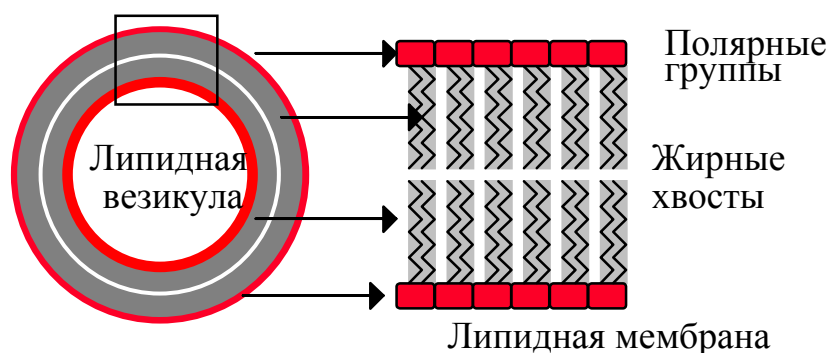


Рис. 7. Самосборка фосфолипидных молекул в липидных везикулы в водном растворе.

В водном растворе происходит самосборка мембран (справа) и замыкание мембран с образованием липидных пузырьков, называемых липосомами (слева).

### Модельные мембраны

Изучение физических свойств липидного слоя мембран осуществляется преимущественно на двух видах искусственных мембранных структур, образованных синтетическими фосфолипидами или липидами, выделенными из биологических источников: липосомах и бислойных липидных мембранах (БЛМ).

### Липосомы

*Липосомы* - это липидные везикулы (пузырьки), образующиеся из фосфолипидов в водных растворах. Чтобы получить липосомы, спиртовой раствор фосфолипидов впрыскивают в большой объем водного раствора фосфолипиды, нерастворимые в воде, образуют мелкие пузырьки, стенки которых состоят из одного липидного бислоя (*однослойные липосомы*).

Можно сначала высушить раствор фосфолипидов в органическом растворителе (например, хлороформе) в пробирке, добавить в пробирку водный раствор и хорошенько потрясти пробирку. Липиды переходят в водный раствор, теперь уже в виде многослойных липосом. Суспензию липосом обычно используют для изучения



физических свойств липидного бислоя как вязкость, поверхностный заряд или диэлектрическая проницаемость, а также для изучения проницаемости для незаряженных молекул..

### Бислойные липидные мембраны (БЛМ)

Для изучения ионной проницаемости липидного слоя мембран используют БЛМ.

Для приготовления БЛМ (см. [рис. 8](#)) в стаканчик с раствором электролита помещают второй, тефлоновый стаканчик, в стенку которого сделано отверстие, диаметром около 1 мм.

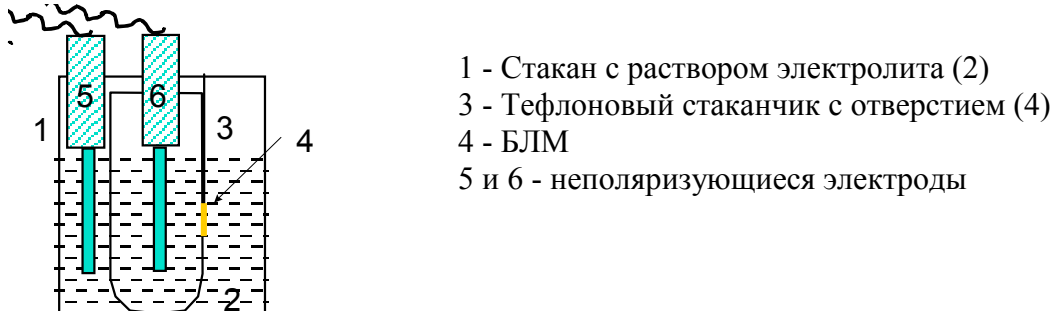
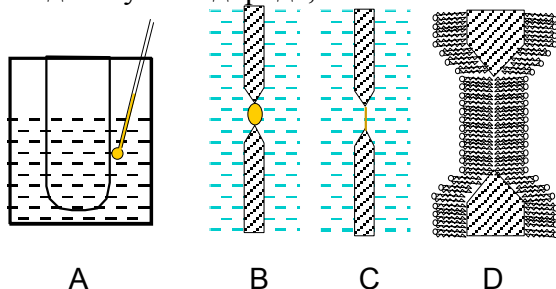


Рис. 8. Установка для изучения электрических свойств бислойной липидной мембраны (БЛМ)

С помощью капилляра в отверстие вводят маленькую каплю раствора фосфолипида в жидком углеводороде, гептане или гексане ([Рис. 9, А](#)).



Молекулы фосфолипидов собираются на поверхности капли таким образом, что полярные головки молекул обращены в водную среду, а гидрофобные хвосты - внутрь капли (рис. 9Б). Постепенно растворитель уходит из капли и улетучивается, а капля превращается в липидную пленку (БЛМ), рис. 9, С и D).

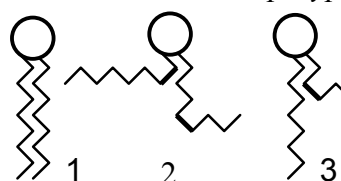
Рис. 9. Стадии приготовления БЛМ.

В БЛМ полярные головки фосфолипидов обращены в водную фазу, а неполярные углеводородные цепи жирных кислот сливаются в сплошную вязкую фазу во внутренней части липидной мембраны. По многим свойствам эта пленка сходна с липидным слоем биологических мембран.

### Подвижность углеводородных цепей фосфолипидных молекул в липидном бислое мембран

Атомы углерода в углеводородных цепях жирных кислот соединены между собой одинарными связями, вокруг которых, как на оси, разные участки цепи могут вращаться. Это вращение приводит к тому, что цепи могут находиться в самых различных конфигурациях, как это показано на [рис. 10](#).

Рис. 10. Различные конфигурации жирнокислотных цепей фосфолипидов.



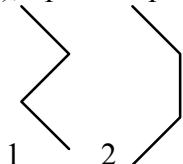
Жирной выделена связь, вокруг которой произошел поворот цепи на 180°.



В результате такого вращения жирнокислотные цепи приобретают как бы гибкость, хотя на самом деле они не изгибаются в полном смысле этого слова, а лишь могут поворачиваться вокруг связей между атомами, что и приводит к изгибу молекулы в целом.

За счёт изгиба цепей молекула фосфолипида частично утрачивает свою цилиндрическую форму и становится более сферической.

На плоскости возможные конфигурации фосфолипидной молекулы изобразить трудно, но некоторые из них для иллюстрации приведены на рис. 11. Полностью вытянутая конфигурация (1) соответствует совершенно одинаковому расположению всех углеродных атомов друг относительно друга. Такая конфигурация называется *полностью-транс* конфигурацией. *Транс*-конфигурация участка цепи из четырёх углеродных атомов изображена на [рис.11, 1](#). Альтернатива транс-конфигурации - это так называемая *гош*-конфигурация (рис.11,2). В мембранах жирнокислотные цепи стиснуты соседними молекулами, и свободная форма клубка для фосфолипидной молекулы не реализуется. Распространена поэтому *двойная гош*-конфигурация (рис.11,3), при которой углеводородная цепь остаётся вытянутой вдоль оси.



- 1- транс-конфигурация;
- 2- гош-конфигурация;
- 3- двойная гош-конфигурация.

Рис. 11. Три конфигурации углеводородной цепи жирных кислот.

### Кинки

Возможность изменения конфигурации цепей жирных кислот имеет большое значение для растворения в липидном слое и переноса через него различных молекул и ионов. Ион попадает в полость внутри липидного бислоя, образуемую за счет соответствующих изгибов окружающих цепей жирных кислот.

Такая полость называется *кинком* (от английского слова *kink* - петля, изгиб). Кинки образуются в результате теплового движения молекул и ион может перемещаться в липидном слое мембраны, перескакивая из одного кинка в соседний. Это схематически изображено на [рисунке 12](#).

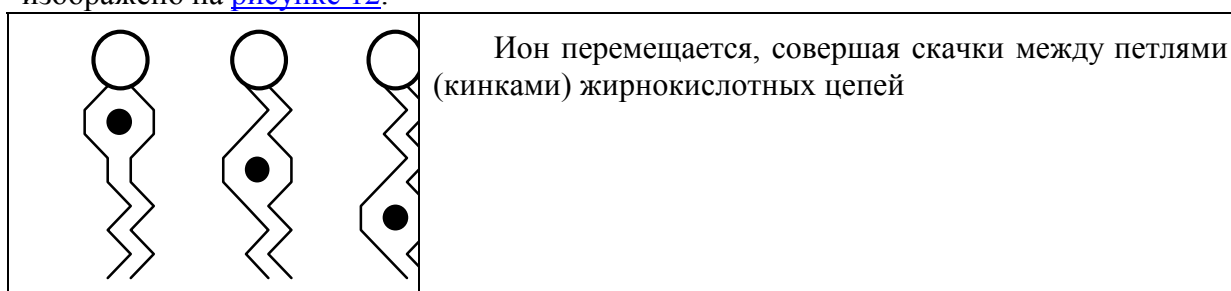


Рис. 12. Передвижение иона в липидном слое мембран.