

Управление ростом трехмерных структур на примере биоклетки. II. От теории к эксперименту

© С.Л. Григорьев

(Поступило в Редакцию 13 ноября 2001 г.)

На основе данных биологии развития, молекулярной биологии и биохимии описаны схемы роста волокон живых клеток. Эти схемы рассмотрены с точки зрения радиационной химии, интегральной и нанооптики и показаны пути экспериментального выращивания волокон в целях информатики и наномеханики.

Мембраны и волокна являются основными структурами живых организмов и обеспечивают все их функции: снабжение энергией, движение, обработку информации и т.д. Биохимия и микробиология владеют технологией создания искусственных наномембран и мембранных образований: мицелл, липосом, везикул размером от 250 \AA до $300 \mu\text{m}$ [1]. Полученные при их исследовании данные объясняют многие механизмы роста и функционирования клеточных и неклеточных организмов (вирусов). Основу биомембран составляют липиды.

Амфифильные молекулы, к числу которых относятся липиды, в водных растворах самопроизвольно образуют упорядоченные монослои на поверхности воды, мицеллы и бислоиные липосомы (везикулы) в объеме раствора. Вид образующейся структуры для данного вещества (липида) зависит в основном от его концентрации в воде и температуры. Процесс формирования искусственного липидного бислоя, аналогичного по строению мембране живой клетки, показан на рис. 1. Свойства и структуру мембран липидных везикул в водных растворах можно изменять, вводя в раствор липиды других типов, холестерол, белки, ионы кальция и т.д.

В живых организмах рост клеточных мембран зависит не только от внешних факторов (состава внеклеточной жидкости, свойств соседних клеток), но и определяется функциями внутриклеточного содержимого (растворенных в цитоплазме белков, внутренних органелл клетки — ядра, рибосом и т.д.). Из множества явлений, регулирующих рост и развитие клеток, рассмотрим в основном формирование волоконных отростков нервных клеток — аксонов нейрона, имея в виду выращивание искусственных нейросетей.

Одна из фундаментальных концепций нейробиологии заключается в том, что аксон представляет собой непрерывное продолжение тела нервной клетки: при размерах этой клетки порядка $100 \mu\text{m}$ длина аксона может достигать 1 м и более [2].

Нейроны развиваются из округлых клеток — нейробластов, образующихся на ранних стадиях деления материнской яйцеклетки животных (рис. 2). В процессе развития эти клетки приобретают вытянутую форму, которая формируется внутриклеточными белковыми (актиновыми) микротрубочками, прикрепленными к мембране клетки с помощью другого типа белковых микрофиламентов — интегринов (рис. 2, более подробно рис. 6). В точке прикрепления образуются выступы

(шипики) в мембране, дающие возможность преимущественного роста в данном направлении. Дальнейшее формирование пространственной организации нейрона происходит в течение почти всей жизни человека. Наиболее общая, термодинамическая теория объясняет образование разветвленной структуры клеток уменьшением при этом свободной энергии системы в первую очередь за счет сил межклеточной адгезии.

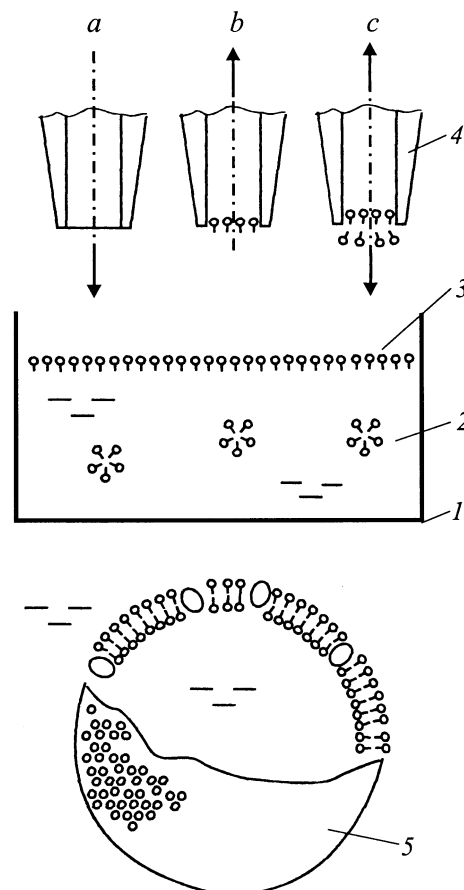


Рис. 1. Схема получения липидного бислоя: 1 — сосуд; 2 — водный раствор липида; 3 — поверхностная пленка-монослой молекул липида; 4 — пипетка (a — до погружения в раствор, b — после первого погружения, c — после второго погружения); 5 — везикула с включенными в нее молекулами белка (при наличии последних в растворе).

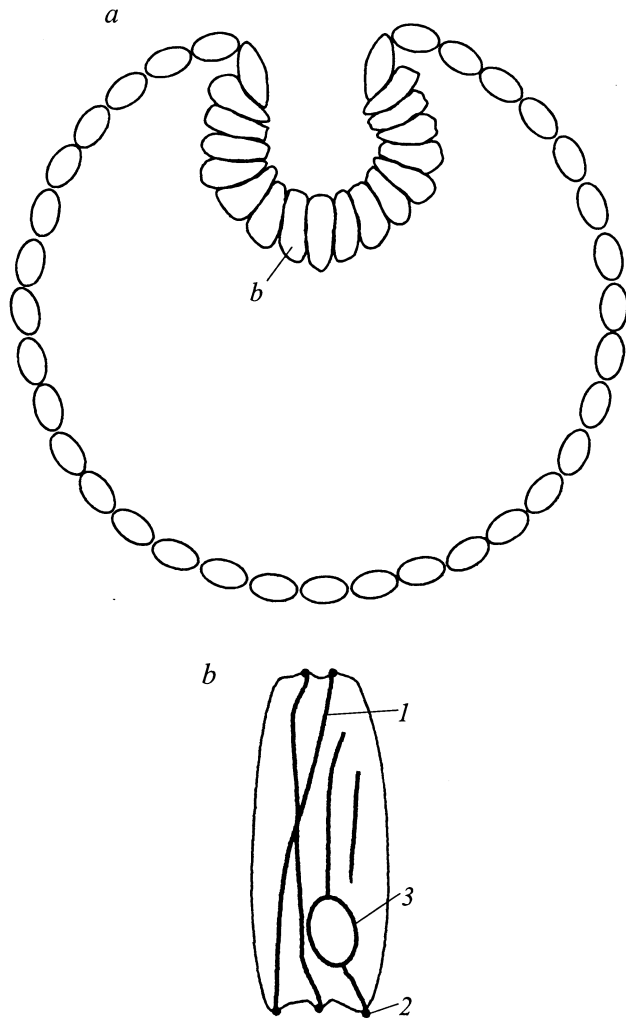


Рис. 2. Формирование нервных клеток зародыша (схема): *a* — формирование нервных клеток из эктодермы; *b* — нервная клетка-нейробласт (*1* — микротрубочки, *2* — белковые микрофиламенты мембраны, *3* — ядро клетки).

Для построения более полной схемы роста волокон, кроме данных о росте аксонов, рассмотрим также данные об аналогичном процессе — росте жгутиков у некоторых бактерий [2, т. 1] (рис. 3). Жгутики являются простейшим живым механизмом, обеспечивающим движение бактерий, а также некоторые другие их функции.

Рост жгутиков состоит из следующих стадий: 1) синтез „строительного материала“ жгутиков — белка тубулина, — происходящий с участием РНК клетки во внутриклеточном пространстве; 2) полимеризация тубулина в форме микротрубочек (диаметром 10–20 Å); 3) стохастическое формирование точек роста волокна в липидной мембране — выступов, шипиков, обращенных во внешнее пространство; 4) образование жгутика из выступа, в котором микротрубочки растут наиболее устойчиво. Схема образования микротрубочек жгутика путем полимеризации белка показана на рис. 4.

Сравнение механизмов (стадий) роста аксона нейрона и жгутика дано на рис. 5. Начальные стадии в обоих случаях подобны. Затем наблюдается различие: жгутик формируется как многослойная трубка, аксон растет

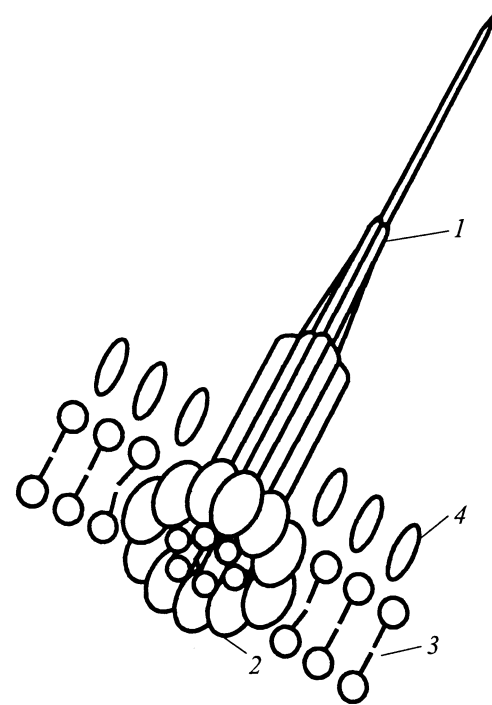


Рис. 3. Жгутик бактерии (схема): *1* — микротрубочки жгутика (тубулин), *2* — глобулы белка (миозин), *3* — липидный бислой (внутренняя мембрана клетки), *4* — слой молекул гликогена (наружная мембрана клетки).

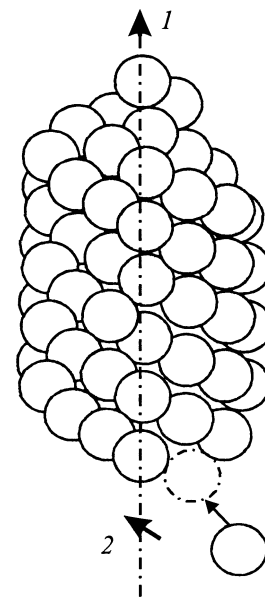


Рис. 4. Сборка (полимеризация) микротрубочки из белковых глобул (макромолекул), *1* — направление роста; *2* — локальное направление электрического вектора волны, стимулирующей процесс.

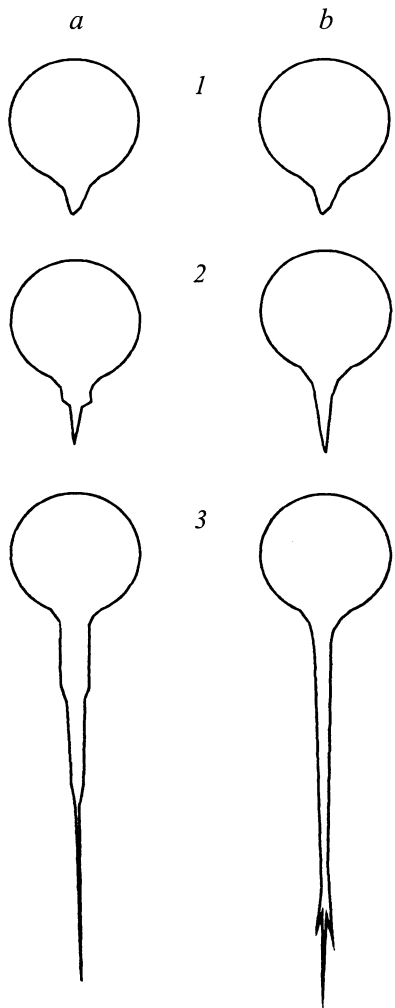


Рис. 5. Стадии (1–3) роста клеток: *a* — жгутик, *b* — аксон.

как однослойная трубка с разветвлениями. Однако подобие сохраняется на переднем фронте роста (на кончике волокна). Составляющие этого подобия следующие: 1) образование заостренной формы растущего кончика волокна из округлой мембраны обеспечивается путем ее деформации белковыми микротрубочками; 2) подвод „строительных материалов“ к кончику волокна осуществляется в основном изнутри клетки; 3) мембрана „кончика“ содержит якорные и рецепторные белки, сцепляющие его с межклеточным веществом, а также определяющие направление роста (градиент сил адгезии или хемотаксис); 4) синтез „строительных веществ“ ведется в теле клетки под генетическим контролем (ДНК–РНК) ядра клетки и корректируется сигналами обратной связи от белков кончика растущего волокна.

Общая схема „стройки“ показана на рис. 6. Работу „стройки“ в простейшем виде можно описать следующим образом.

1. Питательные („строительные“) вещества поступают через мембрану внутрь клетки диффузионным путем.

Здесь они направляются в различные органеллы клетки, например в рибосому.

2. В рибосомах из первичных питательных веществ (аминокислот, углеводов) синтезируются строительные элементы — молекулы белка (актина или тубулина). Синтез контролируется молекулами РНК, поставляемыми ядром клетки.

3. Молекулы актина (тубулина) мигрируют к местам сборки — в зону растущего шипика, превращающегося затем в волокно.

4. Молекулы актина (тубулина) полимеризуются на трубочках, изначально присутствовавших на стенках округлой клетки как на фундаменте.

5. Трубочки растут, растягивая мембрану, и т. д.

Теперь, пользуясь моделью радиационно-химических процессов в клетке [3], рассмотрим роль электромагнитных субмиллиметровых волн в росте аксона, а именно ограничимся рассмотрением их роли в полимеризации микротрубок актина. Роль электромагнитных волн в осуществлении обратной связи между мембранным белком и молекулами ДНК–РНК ядра была в общих чертах показана ранее [3].

Схема надмолекулярной полимеризации актина в микротрубку [2, т. 2] показана на рис. 4. Актин (G-белок) состоит из глобулярных мономеров с массой около 40 000. Каждый мономер состоит из нескольких полипептидных спиралей, связанных с небольшой молекулой — ингибитором гуанозинтрифосфатом (ГТФ),

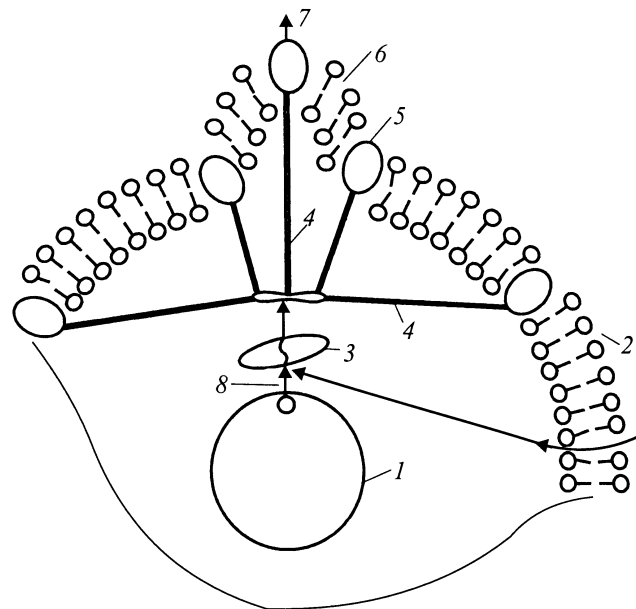


Рис. 6. Путь распространения и синтеза веществ в клетке (экзоцитозный путь) и путь электромагнитной энергии в клетке (радиотаксис; обратные связи не показаны), 1 — ядро клетки и молекулы ДНК, 2 — мембрана клетки, 3 — рибосома, 4 — актиновые микротрубки (цитоскелет), 5 — белки мембраны (интегрины), 6 — растущий шипик — будущее волокно, 7 — выход волны в направлении поглощения, 8 — управляющая волна (квантованный импульс).

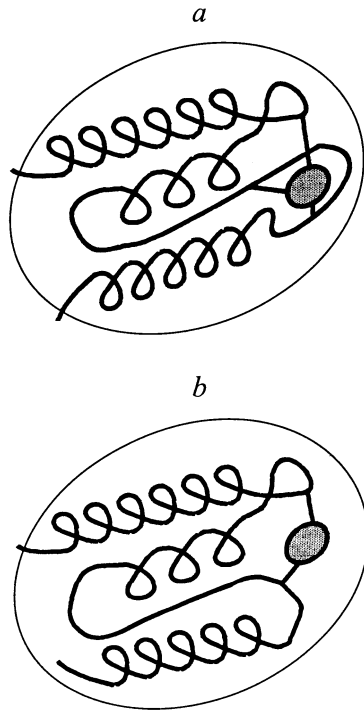


Рис. 7. Схема глобул актина: *a* — глобула, обеспечивающая полимеризацию; содержит молекулу ГТФ (зачернена); *b* — глобула, из которой трубочки не образуются; содержит молекулу ГДФ (зачернена).

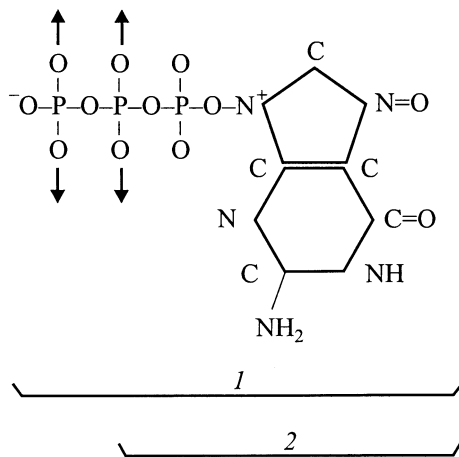


Рис. 8. Схема двух форм молекулы-ингибитора: ГТФ (1) ГДФ (2), стрелки — „к белку“.

при гидролизе превращающемся в гуанозиндифосфат (ГДФ). Схематично два вида глобул актина показаны на рис. 7. Изменение числа связей молекулы-ингибитора с петлями белка меняет их форму и способность к полимеризации в трубку. Предполагается, что превращение происходит под влиянием некоторого внешнего митогенного сигнала [2, т. 3], имеющего химическую природу (т.е. специального вещества). Однако конформация возможна и под влиянием кванта электромаг-

нитного излучения [4]. Наиболее изучен этот процесс для белковых систем, участвующих в фотосинтезе [5]. Например, белок трансдуцин (также G-белок, как и актин) связан с молекулой ГТФ. Источником сигнала для преобразования активности этого комплекса является конформация небольшой, связанной с белком молекулы родопсина под действием кванта света. Как показано в работе [3], родопсин преобразует световой квант с энергией порядка 1 eV в квант вращательного перемещения атомов полярных группировок гликопротеина, связанного с родопсином (энергия порядка 0.01 eV). Известно также, что облучение радиоволнами крайне высоких частот стимулирует синтез АТФ у микроорганизмов и переводит белки в водных растворах в активную конформацию [7]. По-видимому, кванты с энергией вращательных переходов существенно влияют на энергии активации процесса гидролитического превращения ГТФ в ГДФ (рис. 8) аналогично каталитическому влиянию ферментов (гидралаз) [8].

Учитывая изложенное, рассмотрим возможность моделирования электрорадиохимической стороны процесса роста волокна из округлой клетки-везикулы. С этой целью необходимо максимально упростить схему, по-

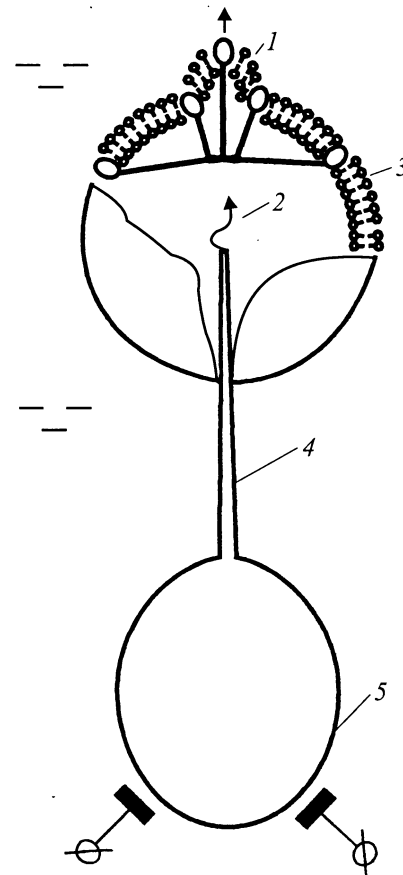


Рис. 9. Схема эксперимента: 1 — растущий шипик — будущее волокно, 2 — волна (фонон или солитон), 3 — везикула в растворе, 4 — волновод-трубка, 5 — субмиллиметровый импульсный лазер.

казанную на рис. 6. Например, можно оставить только двуслойную липидную везикулу (рис. 9), содержащую мембранный белок-интегрин и связанные с ним активные микротрубочки, равновесные с везикулой округлой формы. Пусть некоторое количество растворенного, незаполимеризованного в трубочки актина и липидов содержится во внутриклеточном пространстве. Везикула находится в растворе с хорошей проницаемостью для субмиллиметровых волн (в воде с необходимым рН). Получить такую исходную структуру, по-видимому, можно методами биохимии (см. выше). Теперь введем в везикулу тонкий полимерный волновод из полярного диэлектрика [3], аналогичный по строению трубке актина, соединенный с импульсным лазером — источником субмиллиметрового излучения [6]. Этот волновод призван заменить функции ядра, рибосом и других отсутствующих органелл клетки. Подберем частоту и интенсивность излучения, соответствующие активации процесса полимеризации актина (в диапазоне $50\text{--}200\text{ см}^{-1}$). При этом начнут расти микротрубочки, направление которых совпадает с направлением излучения волновода. Начнется деформация мембраны и будет формироваться выступ в округлой мембране. Деформация мембраны приведет к увеличению ее диффузионной проницаемости для липидов, растворенных во внутриклеточной жидкости, и новые молекулы смогут встроиться в мембрану, образуя волокно.

Несомненно, это лишь постановка задачи, но она, по мнению многих ученых, не менее важна, чем ее решение.

Выводы

1. Квантованные электромагнитные импульсы с энергией вращательных переходов могут стимулировать рост (полимеризацию) микротрубочек и образование волокон в биоорганических системах.

2. Сочетание методов биохимии и микробиологии с методами нанотехнологий и нанооптики позволит экспериментально моделировать процесс роста волокон живых клеток.

Список литературы

- [1] Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции / Пер. с англ. М.: Мир, 1997. 624 с.
- [2] Гилберт С. Биология развития: В 3 томах. М.: Мир, 1993. 228, 235, 358 с.
- [3] Григорьев С.Л. // ЖТФ. 2001. Т. 71. Вып. 11. С. 110–113.
- [4] Бугаенко Л.Т., Кузьмин М.Г., Полак Л.С. Химия высоких энергий. М.: Химия, 1988. 336 с.
- [5] Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков. М.: Высшая школа, 1996. 335 с.
- [6] Григорьев С.Л. // ЖТФ. 2002. Т. 72. Вып. 2. С. 16–19.
- [7] Бецкий О.В., Девятков Н.Д. // Радиотехника. 1996. № 9. С. 4–11.
- [8] Березин Б.Д., Березин Д.Б. Курс современной органической химии. М.: Высшая школа, 1999. 768 с.