

8. *Chapin F.S., Kedrowski R.A.* Seasonal changes in nitrogen and phosphorus fractions and autumn retranslocation in evergreen and deciduous taiga trees // *Ecology*. 1983. Vol. 64. P. 376–391.
9. *Ferm A., Markkola A.* Nutritional variation of leaves, twigs and buds on *Betula pubescens* stands during the growing season // *Folia For.* 1985. Vol. 61. P. 1–28.
10. *Hill J.* The remobilization of nutrients from leaves // *J. Plant. Nutr.* 1980. Vol. 2. P. 407–444.
11. *Oleksyn J., Zytковиак R., Reich P.B., Tjorlker M.G., Karolewski P.* Ontogenetic patterns of leaf CO₂ exchange, morphology and chemistry in *Betula pendula* trees // *Trees*. 2000. Vol. 14. P. 271–281.
12. *Roberts D.M., Harmon A.C.* Calcium-modulated proteins: targets of intracellular calcium signals in higher plants // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1992. Vol. 43. P. 375–414.
13. *Roos W.* Ion mapping in plant cells – methods and applications in signal transduction research // *Planta*. 2000. Vol. 210. P. 347–370.

LIPID MEMBRANES AND THEIR CONSTITUENTS: STRUCTURE, PROPERTIES, FUNCTIONS (COMPUTER SIMULATIONS)

Rabinovich A.L.

Institute of Biology, Karelian Research Center, Russian Academy of Sciences,
Russian Federation, Petrozavodsk 185910, Pushkinskaya St. 11; E-mail: rabinov@krc.karelia.ru

Abstract. Membranes play an active part in the life of the cell, they exist as dynamic structures. Lipid molecules form the basis of biological membranes and differ with respect to the type of hydrophilic head-group and occur with a wide variety of hydrophobic hydrocarbon chains of fatty acids. Knowledge of physical-chemical properties of lipid bilayers is a key element of our general understanding of biomembrane functioning, which is one of the greatest challenging problems in biochemical, biophysical and other sciences. This information is also relevant and essential in new biotechnological applications. The main properties of natural lipids and lipid membrane systems revealed by computer simulations are described in this work.

ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ И ИХ КОМПОНЕНТЫ: ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ, СВОЙСТВАМИ И ФУНКЦИЯМИ (КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ)

Рабинович А.Л.

Учреждение Российской академии наук Институт биологии КарНЦ РАН,
Петрозаводск 185910, ул. Пушкинская, 11; E-mail: rabinov@krc.karelia.ru

Введение. Мембранные системы являются сложными комплексами, традиционно привлекающими к себе повышенное внимание исследователей. Один из источников такого интереса – это способность отдельных компонентов мембранных систем к самопроизвольной организации. Центральным вопросом исследований обычно является поиск взаимосвязи между химическим строением исходных молекулярных компонентов и физическими свойствами итоговых структур в разных условиях. Большую важность представляют также вопросы о функциональной роли того или иного компонента мембранной системы.

В биологической мембране обычно сосуществуют десятки, сотни типов липидных молекул, имеются также белки, углеводы, стеринны и другие молекулы, вовлеченные в разнообразные клеточные процессы. Липидные молекулы образуют основу мембраны, они различаются по химическому строению головных групп и/или углеводородных цепей (цепей остатков жирных кислот).

Оценить относительный вклад отдельных молекул (липидов или цепей ацилов) в свойства мембранной системы можно, если изучить различия в собственных свойствах этих молекул в разных условиях. На этом пути, однако, имеется ряд трудностей. Экспериментальные данные по различным свойствам молекул фосфолипидов, цепи которых могут содержать, в частности, двойные связи, или по свойствам этих цепей в отдельности, весьма немногочисленны. Ситуация остается таковой несмотря на осознание научным сообществом того факта, что информация о таких свойствах крайне важна для понимания основ структурной организации и функциониро-

вания мембранных систем, их практического использования, создания структур с заранее заданными свойствами. Отсутствие систематических экспериментальных данных по свойствам липидов объясняется несколькими причинами. С одной стороны, имеются объективные трудности на этапе экспериментального выделения, очистки, идентификации и сохранения ненасыщенных липидов (и липидов другого строения) и их компонентов. С другой стороны, встречаются затруднения на этапе интерпретации регистрируемых в физическом эксперименте спектров или других характеристик. Получаемые характеристики относятся к образцу как целому, но из них требуется выделить нужную информацию, относящуюся к конкретным молекулярным компонентам системы.

Один из путей восполнения обсуждаемых пробелов в данных – применить какие-либо теоретические подходы. Нужно подчеркнуть, что в общем объеме работ по изучению свойств молекулярных систем живой и неживой природы теоретическим исследованиям принадлежит очень важное место, – не менее важное, чем исследованиям экспериментальным. Теоретические исследования постоянно развиваются, за последние десятилетия достигнут ощутимый прогресс. Этот прогресс обусловлен несколькими причинами: (1) совершенствуются аналитические подходы, (2) возникают некоторые новые концепции и представления, (3) появились и быстро развиваются методы имитационного компьютерного моделирования. Особого внимания заслуживает именно компьютерное моделирование, поскольку оно позволяет получить информацию о свойствах молекулярных систем, которая часто является уникальной по степени детальности, – это информация на «атомном» уровне. С компьютерным моделированием связаны многообещающие перспективы как в области теоретической разработки основ функционирования молекулярных систем, так и разнообразных приложений. В настоящее время, ввиду бурного развития вычислительной техники в мире и повышения степени ее доступности, компьютерное моделирование упрочилось как парадигма, как мощный общепризнанный инструмент изучения свойств объектов различной природы.

Отметим, что компьютерное моделирование биомембранных систем и их компонентов в течение последних двух-трех десятилетий проводилось весьма интенсивно [1–4]. Вместе с тем следует признать, что имеющиеся на сегодня теоретические данные об этих свойствах, аналогично упомянутым выше экспериментальным данным, также остаются фрагментарными. Некоторым оправданием может служить тот факт, что встречается огромное разнообразие мембранных систем и, соответственно, для их моделирования и всестороннего изучения требуется большое время.

О структуре, свойствах и функциях. На основании уже имеющихся к настоящему времени данных можно утверждать, что ключевое значение для функционирования биологических мембран имеют особые их компоненты: ненасыщенные и полиненасыщенные углеводородные цепи молекул липидов (цепи жирных кислот). Химическое строение ненасыщенных цепей, наиболее типичных для липидов биомембран, характеризуется тем, что все их двойные связи $C=C$ являются метиленпрерывающимися, т. е. между каждой парой двойных связей расположена только одна метиленовая группа (CH_2). Для обозначения химического строения таких цепей обычно используется сокращение $N:k(n-j)cis$. Здесь N – общее количество атомов углерода; k – количество метиленпрерывающихся двойных связей; j – количество атомов углерода до ближайшей двойной связи, считая от концевой группы CH_3 цепи (на это указывает наличие символа n ; иногда вместо $(n-j)$ используется обозначение ωj); cis – конфигурация двойных связей (более редко встречается конфигурация $trans$). Подавляющее большинство цепей жирных кислот в биомембранах имеет количество углеродных атомов N от 12 до 22 и количество двойных связей k от 1 до 6.

В данной работе математические вопросы, связанные с алгоритмами компьютерного моделирования, не затрагиваются; они подробно изложены, например, в работах [2, 3]. Речь пойдет лишь о свойствах углеводородных компонентов липидов различной степени ненасыщенности. Было показано, что равновесная гибкость углеводородной цепи в общем случае зависит от длины цепи (т. е. от количества атомов углерода), количества двойных связей, их взаимного расположения (т. е. от количества групп CH_2 , которые локализованы между двойными связями), местоположения всей группы двойных связей вдоль по цепи, а также от конфигурации двойных связей (cis или $trans$). В данной работе имеются в виду только цепи с несопряженными двойными связями.

Оказалось, что если сравнивать цепи с одинаковым количеством атомов углерода и одинаковым количеством двойных связей, то цепь с метиленпрерывающимися двойными связями *cis* является более гибкой, чем любые цепи, между каждой парой двойных связей *cis* в которых локализована не одна, а 2, 3 или более метиленовых групп (количество метиленовых групп между двойными связями может быть и неодинаковым для разных пар двойных связей в цепи). Далее, если все двойные связи *cis* являются метиленпрерывающимися, то, как правило, чем больше двойных связей в цепи, тем больше гибкость последней. Вместе с тем, при одинаковом количестве метиленпрерывающихся двойных связей и одинаковом количестве атомов углерода в разных цепях гибкость оказывается наибольшей у той молекулы, в которой вся группа двойных связей расположена наиболее близко к середине цепи. Другими словами, чем больше смещена вся группа двойных связей молекулы от центра цепи к ее концам, тем менее гибкой является молекула (это правило нарушается лишь при локализации двойной связи у 1-го или 2-го атома углерода цепи).

Полиненасыщенные участки жирнокислотных цепей с метиленпрерывающимися двойными связями *cis*, как оказалось, выделяются по своим свойствам наиболее резко. Представляется целесообразным перечислить особенности этих свойств:

(I). При температурах **выше** температуры плавления (т. е. температуры фазового перехода гель – жидкий кристалл):

– (а) в полиненасыщенных участках цепей наиболее **велики**, по сравнению с цепями насыщенными:

- (1) степень ориентационного разупорядочения простых связей С–С, соседних с двойными С=C,
- (2) угловые флуктуации связей С–Н во всех СН₂-группах вдоль по цепи,
- (3) пространственные флуктуации атомов углерода двойных связей С=C,
- (4) равновесная гибкость, – как цепи в целом, так и каждого ее участка.

Очевидно, свойства (1)-(2)-(3)-(4) могут способствовать поддержанию надлежащей конформационной подвижности молекул ферментов (что является важнейшим фактором для нормального их функционирования), если ферменты окружены полиненасыщенными цепями липидов. Такие свойства могут также обеспечить выигрыш в энергии липид-белковых взаимодействий по всей поверхности контакта молекул, создать надлежащие условия для согласованного взаимодействия отдельных ферментов сложных энзиматических систем;

– (б) при изменении температуры среды характеристики полиненасыщенной цепи в целом и каждого ее сегмента (связи) в отдельности являются **наиболее стабильными** по сравнению с характеристиками насыщенных цепей.

Если аннулярный слой вокруг ферментов обогащен липидами с полиненасыщенными цепями, то свойства (б) последних могут более надежно, чем другие цепи, обеспечить стабильность условий и оптимизировать липид-белковые взаимодействия при флуктуациях температуры, причем, на каждом малом участке вдоль всей поверхности контакта белков и полиненасыщенных цепей. Иначе говоря, эти свойства полиненасыщенных цепей липидов должны ослабить негативное воздействие изменений температуры на активность ферментов. С другой стороны, повышение концентрации полиненасыщенных цепей в слоях вокруг ферментов может способствовать увеличению активности ферментов, если цель состоит в общем повышении уровня метаболизма.

(II). При температурах **ниже** температуры плавления (фазового перехода гель – жидкий кристалл) наиболее вероятная конформация, которую принимает полиненасыщенная цепь, является вытянутой и имеет «углоковообразную» форму. Эта конформация комплементарна аналогичным конформациям других полиненасыщенных цепей, а также конформациям «транс-зигзаг», в которые, как известно, с наибольшей вероятностью переходят при низких температурах насыщенные цепи липидов. Такое свойство полиненасыщенной цепи может сыграть важную роль при низких температурах. Оно может ослабить разрушительное влияние низких температур на мембранные структуры. Действительно, при глубоком охлаждении мембраны будут формироваться такие упаковки полиненасыщенных цепей липидов с насыщенными, в которых не будут возникать высокие механические напряжения.

Таким образом, свойства полиненасыщенных участков жирнокислотных цепей по сравнению с насыщенными, моно- и диненасыщенными оказываются **экстремальными**. Разумно полагать, что и функции в биологических мембранах полиненасыщенных углеводородных цепей вполне могут и

должны быть **специфичными**. Эти функции не должны ограничиваться лишь задачей поддержания на должном уровне жидкостности мембранной системы; возможные специфичные функции перечислены выше в пп. **I, II** при изложении свойств цепей.

К данным утверждениям можно добавить соображения общего характера. При изменении внешних условий биологическая мембрана будет стремиться сохранить должный уровень свойств, изменяя оптимальным образом (в рамках имеющихся возможностей) строение своих компонентов. Если принять во внимание имеющиеся в литературе экспериментальные значения температур плавления углеводородных цепей разной степени ненасыщенности, а также молекул липидов (например, фосфатидилхолинов) с такими цепями, то можно сделать вывод, что для существенного изменения температуры плавления мембраны (и тем самым достижения в ней должной степени жидкостности) достаточно заменить часть насыщенных углеводородных цепей в липидах цепями лишь с одной и/или двумя двойными связями *cis* (или наоборот, цепи с одной и/или двумя двойными связями *cis* заменить на насыщенные) без изменения длины цепи. Липиды с именно такими жирнокислотными цепями могли бы являться основным строительным материалом биомембран. Таким образом, с точки зрения формальной логики, для поддержания в мембране должного уровня жидкостности, липидов с цепями, содержащими 3, 4, 5 или 6 двойных связей *cis*, не требуется. Однако огромное количество биохимических данных по жирнокислотному составу тканей и органов растений и животных свидетельствует о том, что в мембранах присутствует большое количество полиненасыщенных цепей, – таких, как 18:3(n-3)*cis*, 20:4(n-6)*cis*, 20:5(n-3)*cis*, 22:6(n-3)*cis*. Таким образом, и данные соображения наталкивают на мысль о том, что основная роль полиненасыщенных цепей в биомембране должна быть более **специфичной**, нежели роль насыщенных углеводородных цепей и цепей с одной и/или двумя двойными связями *cis*.

Полиненасыщенные цепи, как правило, распределены в матрице мембраны не непрерывно, а локально, – преимущественно в областях, непосредственно примыкающих к мембрановстроенным (интегральным) белкам. Этот факт тоже свидетельствует о **специфичности** роли полиненасыщенных цепей. Если принять во внимание перечисленные выше в пп. **I, II** весьма специфичные свойства полиненасыщенных цепей, то сосредоточение этих цепей именно в подобных, пограничных с белками, слоях представляется даже естественным и целесообразным; наиболее логичные объяснения этому уже приведены в пп. **I, II**.

Заключение. В липид-белковых взаимодействиях существенное значение имеет не только тип липидных молекул и их углеводородных цепей, но и структура конкретных белков, и для более детальной интерпретации огромного разнообразия ситуаций в биологических мембранах требуются дальнейшие исследования. Вместе с тем важно подчеркнуть, что существенную роль в выработке и обосновании уже предложенных идей сыграли данные о свойствах липидных цепей, первоначально полученные именно теоретически, методом компьютерного эксперимента. Эти данные позволяют достигнуть определенного понимания взаимосвязей «структура – свойства – функции» для широкого класса жирнокислотных цепей.

Работа поддержана РФФИ (проект 10-03-00201а), программой Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4 и Swedish Institute Visby programme 00961/2008, 00675/2009.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рабинович А.Л. Температурная зависимость конформационных свойств олигомерных цепей природных липидов: компьютерное моделирование // Биофизика. 2008. Т. 53. Вып. 3. С. 426–433.
2. Рабинович А.Л. Цепные молекулы как компоненты мембранных систем: компьютерное моделирование // Методы компьютерного моделирования для исследования полимеров и биополимеров. Отв. ред. В.А. Иванов, А.Л. Рабинович, А.Р. Хохлов. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 2009. С. 409–454.
3. Рабинович А.Л., Иванов В.А. Обзор методов компьютерного моделирования молекулярных систем: метод Монте-Карло // Методы компьютерного моделирования для исследования полимеров и биополимеров. Отв. ред. В.А. Иванов, А.Л. Рабинович, А.Р. Хохлов. М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 2009. С. 63–119.
4. Lyubartsev A.P., Rabinovich A.L. Recent development in computer simulations of lipid bilayers // Soft Matter. 2011. Vol.7. № 1. P. 25–39.