

II Міжнародний біофізичний конгрес у Відні

5—9 вересня 1966 р. у Відні відбувся II Міжнародний біофізичний конгрес, організований Міжнародною організацією з теоретичної та прикладної біофізики.

В роботі Конгресу взяли участь понад 3000 вчених з СРСР, США, Великобританії, Чехословаччини, Угорщини, Румунії, Болгарії, Польщі, Канади, Австралії, Ізраїлю, Італії, Франції, Індії, Швеції, Норвегії та інших країн. Радянська делегація була представлена 57 вченими. Завдяки тому, що щодня працювало кілька симпозіумів та 17 паралельних секцій, учасники конгресу мали змогу заслухати 782 актуальні доповіді.

Офіційне відкриття конгресу відбулося 5 вересня у великому конференц-залі державного Університету. З коротким вступним словом виступив Президент Міжнародної організації біофізиків проф. А. А. Качальський (Ізраїль). Він відзначив, що біофізика як наука перебуває тепер на стадії швидкого розвитку, і тому дуже важко розглянути цю галузь та всі численні оригінальні праці. Крім того інтенсивне дослідження біофізичних проблем досить швидко розширює наші уявлення про самий предмет біофізики.

Міжнародна організація біофізиків на підставі досвіду першого конгресу вирішила спрямувати свою діяльність на II Міжнародному конгресі по таких основних розділах: 1) Молекулярна біофізика, 2) Трансформація енергії, 3) Біофізика клітини і організмів, 4) Радіаційна біофізика, 5) Загальні математичні теорії, 6) Методи, 7) Навчання.

Усі ці галузі були представлені на симпозіумах. До перших двох розділів можна віднести симпозіуми: «Симетрія в біологічних системах», «Збудження, перенос енергії та її перетворення», «Контроль дії генів при диференціації», «Структура білків», «Тематика сучасної біофізики». Третій розділ, присвячений структурі та функціям клітинних мембран, по праву є найбільш істотним розділом біофізичного аспекту вивчення клітинних процесів. Великий інтерес викликала доповідь Д. Б. Фінеана (Великобританія) «Структура клітинної мембрани». Застосувавши метод негативної фіксації при електронномікроскопічних дослідженнях, дифракцію рентгенівських променів та проекструвавши ліпідів з тіней еритроцитів, Фінеан одержав дані про цілком новий тип молекулярної організації мембрани. Він вважає, що ліпідні молекули в природній мембрані не утворюють суцільну двошарову систему. Найімовірніше це циркулярні, глобулярні або сферичні міцели. Така гіпотеза дійсно може пояснити цілий ряд явищ проникності. Проте глобулярно-міцелярну будову ліпідів важко пов'язати з високим електричним опором більшості клітинних мембран.

Як відомо, вивчення біопотенціалів привертає в останні роки дуже багато уваги, особливо в зв'язку з можливостями використання цих даних для інформації про фізіологічні стани організмів та окремих систем. Останнім часом великий інтерес до біопотенціалів став проявлятися з боку біофізиків, в надрах якої виник самостійний напрям: біофізика клітини та організму, який ставить своєю метою виявлення фізико-хімічних причин виникнення потенціалів у клітинах і тканинах, з'ясування механізму іонної асиметрії та осмотичних процесів у клітинах.

Для кращого викладу роботи Конгресу доцільно розбити весь цей обширний матеріал на кілька розділів. Перший розділ включає дослідження структури клітини та штучні мембрани, другий розділ присвячений результатам дослідження мембранного потенціалу, до третього розділу входять праці про активний транспорт основних клітинних катіонів і аніонів і, нарешті, до четвертого розділу включені праці про стан води у клітинах та клітинні осмотичні процеси. Таке логічне, а не календарне розташування матеріалу дозволяє дати найбільш повне і чітке уявлення про сучасний стан проблеми, шляхи її розвитку та перспективи дальшої розробки.

Серед праць, присвячених структурі клітини, слід відзначити дослідження В. Штоекеніуса і Р. Ровена (США) «Мембрана із звичайними властивостями в *Halobacterium halobium*». В електронному мікроскопі на поверхні кожного організму автори спостерігали тонкий, щільний шар, який відповідає мембрані. В багатьох випадках вдається відзначити тришарову структуру, яка складається з двох зовнішніх щільних шарів та центрального більш ясного шару, кожний шириною приблизно 25 Å

Основними складовими частинами, димо, перебувають у формі (но, коли ліпідів екстрагуються скопі лист ліпідів дуже нагадують шарів: двох щільних зовнішніх шарів. Основна відмінність між біомембранами полягає в меншій щільності та в тому, якого утворюється ліпідний лист. Ліпідні шарів і збільшує їх щільність, видні як шари шириною 25 Å. Що структура мембрани *Halobacterium* теїнів на їх поверхнях. Ця структура мембрани в клітинах бактерій в електронному мікроскопі ці структури вивчені галузженнями. Функція цих мембран.

Великий інтерес викликає дослідження гідрофобних мембран з високим рівнем вибіраності автор вбачає, що призводить до змін в мембрані, як розглядає цей процес Мульдер. Гідрофобного розчинника на мембрані значається в Na—K чутливих мембранах дає властивостям біологічних мембран має порівняно великий електричний потенціал. Х. Ван ден Берга і В. ван Осс. Мембран з поліелектролітами мембран, які розділяють дві рідини, в мембрані до іонів. С. Д. Бангама (Великобританія) встановили, що коли суцільна мембрана то вони спонтанно набрякають. Такі кристали з нейтральних до аніонів, ніж до одновалентних катіонів. Фоліпіди мають різну спорідненість до цих іонів різко підтверджує, що аналогічні властивості мають ліпідні складові частини мембран.

Дослідження природи біопотенціалів цих завдань сучасної біофізики вивченням молекулярної біології в окремих рослинних клітинах зок із специфічними властивостями ботаніки.

Нові та цікаві дані про біопотенціали були представлені в доповіді «Біопотенціали цитоплазми *Valonia*». Вимірювання біопотенціалу цитоплазми ніського розчину. Вони становлять цитоплазми змінюється в межі потенціалу натрію на холін-хлорид. І, наприклад, вплив. На підставі одержаних даних *Valonia* існує неелектрогенний потенціал. Обчислення потенціалів цитоплазми тально зареєстровані величини потенціалів калієвих рівноважних потенціалів.

Слід спинитися також на дослідженні іонів у *Nitella translucens*. У дослідженні калію і хлору всередину та на поверхню клітини нітківки різними методами (наприклад, натрію) та вміщуючи їх в умови, які гії для активного транспорту. Транспорт хлору, навпаки, пов'язаний з процесом фотосинтезу.

Центральним моментом дослідження питання активного транспорту в клітині відзначити, що в опублікованих дослідженнях були представлені дуже цікаві дані, що свідчать про виключну роль

Основними складовими частинами мембрани є полярні ліпіди та протеїни. Ліпіди, вимо, перебувають у формі бімолекулярного листа. Такі листи утворюються спонтанно, коли ліпіди екстрагуються з бактерій і стикаються з водою. В електронному мікроскопі лист ліпідів дуже нагадує структуру мембрани. Він також складається з трьох шарів: двох щільних зовнішніх шириною 8 Å і центрального, ясного, шириною 25 Å. Основна відмінність між бімолекулярним листом ліпідів та клітинною мембраною полягає в меншій щільності та товщині зовнішніх шарів. Якщо до розчину, на поверхні якого утворюється ліпідний лист, додати протеїну, то він адсорбується на поверхні ліпідних шарів і збільшує їх щільність та товщину. Тепер в електронному мікроскопі вони видні як шари шириною 25 Å. На підставі цих даних автори приходять до висновку, що структура мембрани *Halobacterium halobium* така: два шари ліпідів з шаром протеїнів на їх поверхнях. Ця структура аналогічна моделі Данієллі. Крім поверхневої мембрани в клітинах бактерій виявляється ціла система внутрішніх мембран. В електронному мікроскопі ці структури у вигляді смужок, з дуже короткими боковими відгалуженнями. Функція цих мембран тепер не відома.

Великий інтерес викликала доповідь А. Ілани (Ізраїль) «Рух іонів у штучних гідрофобних мембранах з високою дискримінацією калію і натрію». Можливо, пояснення суті вибірності автор вбачає у взаємодії матриці мембрани з органічними розчинниками, що призводить до зміни кількості адсорбованої в порах води, аналогічно тому, як розглядає цей процес Мулленс. Водночас можлива причина вибірності полягає в дії гідрофобного розчинника на водне оточення фіксованого заряду мембрани, як це відзначається в Na—K чутливих скляних електродах. Така мембрана найбільше відповідає властивостям біологічних мембран, тому що поряд з високою вибірністю вона має порівняно великий електричний опір. З великою увагою була заслухана доповідь Х. Ван ден Берга і В. Камербека (Нідерланди) «Взаємодія фосфоліпідних мембран з поліелектролітами». Адсорбуючи різні поліелектроліти на фосфоліпідних мембранах, які розділяють дві водні фази, автори спостерігали певні зміни проникності мембран до іонів. Слід відзначити працю Д. Папахандропулоса і Д. Бангама (Великобританія) «Проникність рідких фосфоліпідних кристалів». Автори встановили, що коли сухі натуральні фосфоліпіди привести у зіткнення з водою, то вони спонтанно набрякають, утворюючи рідкі кристалічні структури, що містять іони. Такі кристали з нейтральних або негативно заряджених фосфоліпідів більш проникні до аніонів, ніж до одновалентних катіонів (калію і натрію). Негативно заряджені фосфоліпіди мають різну спорідненість до калію і натрію. У присутності кальцію проникність до цих іонів різко підвищується, та змінюється спорідненість до них. Оскільки аналогічні властивості мають і біологічні мембрани, автори приходять до висновку, що ці ліпідні складові частини є важливим функціональним компонентом мембран клітин.

Дослідження природи біоелектричних явищ у тварин та рослин — одне з основних завдань сучасної біофізики і фізіології. В останні роки в зв'язку з бурхливим розвитком молекулярної біології велику увагу стали приділяти процесам, що здійснюються в окремих рослинних клітинах. Тому вивчення природи біоелектричних явищ та їх зв'язок із специфічними властивостями внутріклітинних процесів стали суттєвими завданнями ботаніки.

Нові та цікаві дані про природу біоелектричних потенціалів у клітинах рослин були представлені в доповіді Л. Вілегаса (Венесуела) «Електричні потенціали цитоплазми *Valonia*». Вимірювали потенціал цитоплазми і потенціал вакуолі щодо зовнішнього розчину. Вони становлять відповідно 40 ± 3 і 8 ± 1 мВ. Величина потенціалу цитоплазми змінюється в межах 1 мВ при заміщенні в навколишньому середовищі іонів натрію на холін-хлорид. І, навпаки, зміна концентрації іонів калію спричиняє істотний вплив. На підставі одержаних даних доповідач приходять до висновку, що у клітин *Valonia* існує неелектрогенний натрієво-калієвий насос, розташований поблизу плазмалем. Обчислення потенціалів за калієм, натрієм і хлором показало, що експериментально зареєстровані величини потенціалів цитоплазми дуже близькі до показників калієвих рівноважних потенціалів.

Слід спинитися також на доповіді Е. Макробі (Великобританія) «Транспорт іонів у *Nitella translucens*». У клітинах нітківки виявляється активний транспорт іонів калію і хлору всередину та натрію назовні проти електрохімічного градієнта. Отруюючи клітини нітківки різними метаболічними інгібіторами (ціаніди, динітрофенол, азид натрію) та вміщуючи їх в умови освітлення, доповідач встановив, що джерелом енергії для активного транспорту катіонів є процеси окислювального фосфорилування. Транспорт хлору, навпаки, пов'язаний з переносом електронів, що утворюються в процесах фотосинтезу.

Центральним моментом розділу «Біофізика клітини і організмів» на Конгресі були питання активного транспорту калію, натрію, кальцію, аніонів та неелектролітів. Слід відзначити, що в опублікованих працях I Міжнародного біофізичного конгресу ці питання були представлені дуже поверхово. Проте за останні роки зібрано багато даних, що свідчать про виключну роль молекулярних мембранних шарів у житті клітин для

організованих ланцюгів каталітичних процесів, транспорту речовин, регуляції клітинної діяльності, збудливості і генерації електричних потенціалів.

Професор Р. Д. Кейнс давно відомий своїми працями про енергетичні джерела активного переміщення іонів проти електрохімічного і концентраційного градієнтів. На Конгресі він виступив з доповіддю «Вплив оубаїну на вихід натрію з м'яза жаби». Для пояснення руху іонів натрію крізь клітинну мембрану було запропоновано кілька механізмів: пасивна дифузія, обмінна дифузія з допомогою переносчика і активний транспорт. Автор встановив, що у свіжоізольованого кравецького м'яза жаби, який знаходиться у нормальному розчині Рінгера з 2,5 мМ іонів калію, лише 37% потоку натрію, що виходить, блокується оубаїном у концентрації 10^{-4} М. При збільшенні зовнішньої концентрації калію до 10 мМ вихід міченого натрію з м'яза помітно збільшується. Проте частка цього потоку, нечутлива до інгібітора, залишається без змін або навіть дещо зменшується. Нечутливий до оубаїну компонент вихідного потоку іонів натрію дуже варіабільний і з часом зменшується та зникає. При заміні у розчині Рінгера іонів натрію на іони літію або холін-хлориду вихід натрію з м'яза жаби зменшується майже на 40%. Всі ці дані свідчать на користь механізму обмінної дифузії. Проте у м'яза, навантаженого іонами натрію або у свіжовирізаного, але охолодженого до $0-2^{\circ}\text{C}$, при заміні у зовнішньому середовищі іонів натрію на літій спостерігається не зменшення, а збільшення загального потоку натрію зовні. Тому Кейнс вважає, що у кравецького м'яза жаби значна частина потоку натрію зовні має бути віднесена до активного транспорту.

Цікаві дані були наведені в доповіді Ф. Д. Бринлі і Л. Д. Мулінса «Виведення натрію з перфузованих аксонів кальмара». У гігантський аксон кальмара автори ін'єкували розчин такого складу: ізоіонат калію-151, аспартат калію-151, таурин-275, MgCl_2 —0,4—4, NaCl -88, KCl -4, К-фосфоаргінін—10 і Na_2ATP —4—10. Середня величина потоку натрію з аксона становила $23 \text{ пкмол/см}^2 \cdot \text{сек}$ при 13°C , температурний коефіцієнт його становив 2,2. Якщо з ін'єкovanого розчину усунути макроергічні фосфорні сполуки або додати 10 мМ строфантину до морської води, в якій знаходиться перфузований аксон, то спостерігається оборотне зменшення потоку натрію зовні майже на 42%.

Два різних механізми активного виведення іонів натрію були продемонстровані в доповіді Г. Уїтгенбері «Виведення натрію та обмін натрію на калій у клітинах нирки». Частина натрію, що виходить назовні, обмінюється на позаклітинний калій. Ця частина натрієвого потоку змінюється під впливом температури та оубаїну. Друга, навпаки, не чутлива до оубаїну, вона відіграє важливу роль в регуляції об'єму клітини.

В зв'язку з цим слід звернути увагу на доповіді Р. П. Кернана і М. Докрі «Роль нервів у активному транспорті іонів м'язом щура», Ф. Д. Бринлі «Іонні потоки в ізольованих волокнах морського жолудя» і У. М. Армстронга «Вплив зовнішнього калію на вихід натрію з м'яза шлунка жаби».

Останнім часом було встановлено, що у ферментативному механізмі іонного транспорту беруть участь АТФ-ази, які крім магнію активуються натрієм і калієм та локалізуються в субмікроскопічних структурах мембранної фракції. Водночас виявлені дані про тісний зв'язок між обміном фосфопротейнів і фосфоліпідів та активністю калій-натрієвого насоса. В зв'язку з цим на Конгресі велику увагу привернула доповідь Р. Л. Поста і А. К. Сена (США) «Модифікація оубаїном кінетики фосфорилуючого передатчика в $(\text{Na}-\text{K})$ АТФ-ази». Автори встановили, що фосфорилування рухливої мембранної складової частини або переносчика відбувається в присутності Mg^{2+} . Na^{+} шляхом переносу термінальної фосфатної групи АТФ. Іони калію виявляють незначний активуючий вплив на цей процес. Якщо концентрація калію вища, ніж натрію, то фосфорилування переносчика уповільнюється або повністю пригнічується, що пов'язано, очевидно, з витисненням натрію з ділянок ферменту, які мають високу спорідненість до цього іона. Гідроліз або дефосфорилування переносчика здійснюється за участю іонів калію. Вплив оубаїну полягає в повному пригніченні калієвої активації, меншою мірою змінюється натрієва активація, а активація магнієм змін не зазнає. Отже, розщеплення АТФ з допомогою ферменту здійснюється у три ступені: утворення комплексу фермент-АТФ, потім фермент $\sim \text{P} + \text{H}_2\text{O} = \text{фермент} + \text{P}$. Перші два ступені вимагають присутності Na^{+} і Mg^{2+} , третій — K^{+} . Автори обговорюють можливі варіанти участі даної системи в активному переносі іонів калію і натрію крізь мембрану.

В праці Ч. Хогіварі (Угорщина) описані умови виділення розчинної $(\text{Na}-\text{K})$ АТФ-ази з еритроцитів, шкіри і нирок. М. Макіноза (ФРН) виявив кореляцію між багатьма властивостями активного транспорту іонів кальцію та фосфорилуванням мембран саркоплазматичного ретикулу. В доповіді Г. Закса і В. Гіршовича (Великобританія) були наведені дані про особливості АТФ-азної активності слизової оболонки шлунка та мозку щурів.

У встановленні механізмів транспорту іонів крізь клітинні мембрани велику роль відіграють дослідження на мембранних моделях, які дають інформацію про фізичні та фізико-хімічні особливості процесів. Велику увагу в зв'язку з цим привертають повідомлення про скляні електроди. Співробітники скляного підприємства «Корнінг» (США)

П. Геберт і І. Алтун виготовили електроди з тонких лентних іонів, зокрема, іонів кальцію. Експериментальні електроди в розчині HCl з хлорованим срібним електродом склали в вигляді мембрани товщиною 0,03 мм одержували з допомогою трубки. Опір електродів становив кілька ом.

На Конгресі був представлений транспорт, наведене термодинамічне рівняння на нерівноважних реакціях.

Не можна не спитися про роботу Л. Е. Мур (США) «Виведення натрію з м'яза жаби». Автор вивчав вихід натрію з м'яза жаби. Хлорний потік пояснюється концентрацією та величини мембранного потенціалу, досягає $5 \cdot 10^{-6} \text{ см/сек}$.

Раніше вважали, що в клітині визначається цілком рівновага, що концентрація хлору в клітині більше належної при даній концентрації хлору в розчині. Аналогічно Л. Тіса (Бельгія). Внутрішній морської свинки становить великий потенціал виявився на 3 мВ. Коефіцієнт активності хлору вища розрахункової, яку обчислюють за рівнянням Оубаїна, низькі температури зменшують різницю між концентрацією хлору в клітині та в розчині. Активний транспорт хлору в клітині.

Найактуальнішим питанням в тому, що вода — головний компонент більш-менш нейтральних середовищ. Завдяки успіхам, досягнутим в останні роки, значення структури молекулярного і субмолекулярного рівня.

Для з'ясування структури молекулярного і субмолекулярного рівня Н. А. Верцбинська (США) вивчала тканини щура. Вся внутрішня частина тварини, введена в кров тварини, регульованим клітинним осмотичним фосфорилуванням. Осмотичні властивості клітин К. Фугелі (Норвегія), Данія, інших досліджень.

На закінчення слід відзначити, що стрімкий розвиток біологічної життєдіяльності клітини, заснованої на активності клітини.

Конгрес був безсумнівною подією для працівників різних спеціальностей, які в останні роки експериментально вивчали діяльність у клітині Радянського Союзу, а також

П. Геберт і І. Алтунг виготовили скляні електроди для вимірювання активності дво-валентних іонів, зокрема, іонів кальцію і магнію в присутності іонів калію і натрію. Експериментальні електроди виготовляли у вигляді скляних трубок, заповнених KCl або HCl з хлорованим срібним дротом всередині, з'єднаним з входом підсилювача. Чутливе скло у вигляді мембрани наносили на нижній кінець трубки. Мембрану товщиною 0,03 мм одержували з допомогою видування або шліфування, після чого її приклеювали до трубки. Опір електродів становив 10^4 см.

На Конгресі був представлений термодинамічний аналіз різних моделей активного транспорту, наведене термодинамічне описання молекулярних процесів у клітинах і тканинах та нерівноважних реакцій у процесах метаболізму.

Не можна не спинитися на працях, в яких розглядається активний транспорт аніонів. Л. Є. Мур (США) виступив з доповіддю «Активна проникність скелетного м'яза жаби». Автор вивчав вихід хлору з ізольованих м'язових волокон в рівноважних умовах. Хлорний потік пояснюється теорією постійного поля. P_{Cl} не залежить від хлорної концентрації та величини мембранного потенціалу. При нейтральному рН величина P_{Cl} досягає $5 \cdot 10^{-6}$ см/сек.

Раніше вважали, що розподіл хлору між внутрішньою і зовнішньою поверхнею клітини визначається цілком пасивним механізмом. Проте зовсім недавно було виявлено, що концентрація хлору в аксоплазмі гігантського аксона кальмара вдвоє або втриє більша належної при простій електрохімічній рівновазі. Висока внутріклітинна концентрація хлору є результатом дії механізму активного транспорту цих іонів проти градієнта потенціалу. Аналогічні дані були представлені в доповіді Р. Кастилса і Л. Тіса (Бельгія). Внутріклітинна концентрація хлору в гладкому м'язі кишечника морської свинки становить 50–60 мМ/л води волокна. Негативний хлорний рівноважний потенціал виявився на 30 мВ вище експериментальної величини мембранного потенціалу. Коефіцієнт активності хлору в гомогенатах м'яза досягає 0,88. Ця величина дещо вища розрахункової, яку обчислюють за даними концентрації хлору в гомогенатах. Оубаїн, низькі температури та інші метаболічні отрути викликають зменшення внутріклітинної концентрації хлору. Ці дані свідчать про активне нагромадження хлору всередині клітин. Активний транспорт іонів має, видимо, якесь функціональне значення.

Найактуальнішим питанням тепер є проблема про стан води всередині клітин. Справа в тому, що вода — головний за масою компонент клітини. Довго воду розглядали як більш-менш нейтральне середовище, що заповнює простір між біологічними макромолекулами. Завдяки успіхам, досягнутим в галузі молекулярної біології, все більш очевидним стає значення структури води для розуміння цілого ряду фізіологічних процесів на молекулярному і субмолекулярному рівнях.

Для з'ясування структурно-функціонального стану води А. І. Сидорова і Н. А. Верцбинська (СРСР) досліджували динаміку змін вмісту H_2O у різних тканинах щура. Вся внутріклітинна вода виявилась здатною обмінюватися на дейтерованийу, введену в кров тварини. Обмін води між тканинами і кров'ю є активним процесом, регульованим клітинними обмінними процесами і, в першу чергу, процесами окислювального фосфорилування.

Осмотичні властивості клітин різних тканин були продемонстровані в доповідях К. Фугелі (Норвегія), Д. Ц. Коблика (США), Хюбнера (НДР) та в ряді інших досліджень.

На закінчення слід відзначити, що II Міжнародний біофізичний конгрес продемонстрував стрімкий розвиток біофізики за останні роки. Досліджують усе нові сторони життєдіяльності клітини, застосовують і розробляють нові методи.

Конгрес був безсумнівно корисним, надавши можливість широко обмінятися думками працівникам різних спеціальностей, сприяв критичному аналізу одержаного в останні роки експериментального матеріалу з ряду питань біофізики та значною мірою координуванню діяльності у цих напрямках різних лабораторій усіх країн, в тому числі Радянського Союзу, а також накреслив шляхи дальшого розвитку біофізики.

З. О. СОРОКІНА