

МІЖНАРОДНИЙ СИМПОЗІУМ «ТРАНСПОРТ І РОЗПОДІЛ РЕЧОВИН У КЛІТИНАХ ВИЩИХ РОСЛИН»

Міжнародний симпозиум «Транспорт і розподіл речовин у клітинах вищих рослин» відбувся у Німецькій Демократичній Республіці, в замку Рейнхардсбрун (Тюрінгія) з 14 до 19 жовтня 1968 р. Симпозиум був організований біологічним товариством НДР, Німецькою Академією наук і Інститутом біохімії рослин Німецької Академії наук. В роботі симпозиуму брали участь понад 800 вчених СРСР, США, Англії, ФРН, НДР, Австрії, Фінляндії, Польщі, Болгарії і Угорщини. Симпозиум відбувся у формі дискусії з попередньою публікацією доповідей, які розсилали учасникам для поліпшення підготовки дискусії. На симпозиумі широко обговорювали проблеми моделювання і пасивної проникності, різні аспекти транспорту, транспорт у хлоропластах і мітохондріях, а також проблеми електрофізіології клітин рослин. Учасників симпозиуму привітав директор Інституту біохімії рослин професор доктор К. Мотес.

Великий інтерес викликали доповіді, присвячені моделюванню мембранних процесів. Одним із шляхів аналізу складних взаємовідношень різних сил, що відповідають за транспорт речовин крізь мембрани клітин, є вивчення транспортних процесів у менш складних системах, в яких транспорт не залежить від хімічних реакцій метаболізму. Такими системами є різні іонообмінні системи і, зокрема, ізотермічно-ізобарні системи, що містять два розчини електроліту, розділені мембраною з вузькими порами. У доповіді «Транспорт речовин крізь синтетичні мембрани» Д. Воерман (ФРН, Франкфурт, Інститут біофізики) розглянув осмотичну поведінку пористих мембран і транспорт іонів проти концентраційного градієнта крізь ці мембрани в термінах теорії мембран з вузькими порами, яку досить повно розроблено за останні двадцять років. В ізотермічно-ізобарних мембранних системах можна відзначити три можливих види транспорту: а) розчинник і розчинена речовина транспортуються у напрямку їх концентраційного градієнта (позитивний осмос); б) розчинена речовина транспортується у напрямку градієнта, а розчинник — проти градієнта його хімічного потенціалу, тобто потік направлений від концентрованої до розведеної зовнішньої фази (негативний осмос); в) розчинена речовина транспортується проти градієнта, а розчинник — за градієнтом (позитивний осмос). Передбачити, який із згаданих видів транспорту властивий системі, можливо тільки при виборі відповідної моделі мембрани. Такою моделлю є мембрана з порами діаметром 1—100 Å. Теорія обмежена діаметром пор, необхідним для того, щоб компоненти середовища розподілялися в порах гомогенно шляхом термічного руху молекул.

Рушійними силами потоку іонів крізь мембрану є градієнт потенціалу і гідростатичного тиску у мембрані. Автор розглядає утворення цих градієнтів на прикладі аніонообмінної мембрани, що розділяє два розчини різної концентрації того ж самого електроліту. Які ж результати обумовлюються комбінацією цих двох рушійних сил потоку іонів? Якщо рухомість протиіонів більше рухомості коіонів, градієнт потенціалу і гідростатичного тиску має той самий напрям і спрямований від розведеного до концентрованого зовнішнього розчину. Якщо рухомість коіонів більше рухомості протиіонів, дві рушійні сили потоку мають протилежні напрямки, і можна спостерігати позитивний осмос при рушійній силі градієнта гідростатичного тиску досить значній, щоб компенсувати рушійну силу градієнта електричного потенціалу, і негативний осмос, — коли напрямок потоку визначається напрямком рушійної сили електричного потенціалу.

Позитивний і негативний осмос в умовах ізобарного процесу відповідає позитивному і негативному коефіцієнту відбиття, який характеризує осмотичну поведінку аніонообмінної мембрани, і може бути визначений експериментально. Якщо протиіони більш рухомі, ніж коіони, коефіцієнт відбиття позитивний для малих концентрацій розчиненої речовини, але негативний для великих. Якщо звернутися до експеримен-

тальних результатів, одержаних на сильноосновній аніонообмінній мембрані, можна бачити, що система аніонообмінник/NaCl дає тільки позитивні коефіцієнти відбиття. Система аніонообмінник/HCl дає і позитивні, і негативні коефіцієнти відбиття залежності від обраної концентрації електроліту. Для системи мембрана/NaCl різниця в гідростатичному тиску досить значна у великому концентраційному інтервалі для того, щоб компенсувати електричне поле дифузійного потенціалу. У цьому випадку осмос позитивний. Для системи мембрана/HCl становище інше. Тільки в розведених зовнішніх розчинах напрямок потоку визначається напрямком градієнта тиску. В концентрованих зовнішніх розчинах напрямок потоку визначається градієнтом електричного потенціалу. Його величина для ініціювання потоку в цьому випадку досить значна, щоб скомпенсувати градієнт гідростатичного тиску. Спостерігається негативний осмос.

Таким чином експериментальні дані підтверджують теоретичні передумови.

Щодо транспорту іонів проти концентраційного градієнта, то згідно з рівнянням транспорту речовин крізь мембрани з вузькими порами існує три різні рушійні сили для транспорту: конвекція середовища в пори, концентраційний градієнт і градієнт потенціалу у мембрані. В експериментах різні лужні іони транспортуються при одночасному впливі цих рушійних сил проти їх концентраційної різниці між зовнішніми фазами. Найбільш цікавими для обговорення є дані щодо транспорту іонів літію крізь катіонообмінну мембрану з обмеженою механічною проникністю (слабозшита фенолсульфоформальдегідна мембрана). На початку досліду концентрація іонів літію однакова по обидва боки мембрани (0,1 н.). Градієнти потенціалу і концентрації іонів у мембрані (дві рушійні сили транспорту цих іонів) генеруються різницею концентрацій другого електроліту — HCl (ліворуч — $5 \cdot 10^{-3}$ н.; праворуч — 0,1 н.). На протязі досліду концентрація HCl в обох зовнішніх фазах і концентрація LiCl ліворуч підтримуються постійними. Це досягається повільним додаванням концентрованого розчину HCl праворуч і безперервним відновленням розчину ліворуч. Праворуч спостерігається збільшення концентрації літію (або LiCl), яке після певного періоду наближається до застою. Система досягає стаціонарного стану; при цьому концентрація літію праворуч в 4,9 разів вище, ніж у вихідному стані.

При транспорті іонів калію і літію через ту саму мембрану концентрація цих іонів у стаціонарному стані в правій частині мембрани приблизно в чотири рази більша, ніж у вихідному стані, і, крім того, концентрація калію на 20% перевищує концентрацію літію. Це відбувається, на думку автора, за рахунок деякої селективності мембрани для калію, а також високої рухомості калію всередині фази мембрани. Концентрація калію в мембрані близько обох меж фаз у 1,7 разів більша, ніж концентрація літію.

Отже, осмотична поведінка іонообмінних мембран і транспорт іонів крізь ці мембрани проти концентраційного градієнта відповідають теорії мембран з вузькими порами.

Можливість нагромадження іонів калію до формальної константи обміну $K_{K/Na}$, яку можна порівняти з константою обміну, що спостерігається у більшості клітин, показана для катіонообмінної системи при багаторазовому насиченні її іонами калію і натрію з наступним пропусканням розчинів HCl (Холодова Ю. Д. і Сорокіна З. О., СРСР, Київ, Інститут фізіології ім. Богомольця АН УРСР). Фізичною основою такої поведінки іонів калію і натрію є різниця в ступені їх гідратації та сильно виражена вибірна дія витиснювача (H-іонів) щодо іонів натрію.

Всі ці матеріали показують, що на модельних системах можливо відтворити окремі сторони транспортних процесів, що здійснюються у живій клітині. При цьому, умови, що варіюють у модельних системах і призводять до закономірностей, аналогічних клітинним, слід пов'язувати з процесами клітинного метаболізму.

Жваву дискусію викликали також доповіді В. Урла (Австрія, Відень, Університет) і В. Андерсена (Норвич, Університет Східної Англії), присвячені питанням проникності неелектролітів і води у клітинах кореневих тканин.

Використання тритієвої води і аналіз її обміну дали можливість продемонструвати характерні особливості проникності води у коренях рослин. Існує швидка фаза потоку води з коренів (з міченого розчину, механічно затриманого на поверхні об'єкту), експоненціальна фаза, що відповідає теоретичній моделі пасивної дифузії з циліндра, і неекспоненціальна повільна фаза потоку, що зумовлена, очевидно, звільненням гідратаційної води протеїнів і полісахаридів у клітині. Ця фаза може бути віднесена і за рахунок потоку води з інших морфологічних частин клітини, які є бар'єром для цього потоку. Ці дані порівняні з аналогічними даними, одержаними для деяких тваринних об'єктів. Так, криві входу і виходу води на аксоні кальмара складаються з двох експонент, одна з яких належить до екстрацелюлярної ділянки (сполучнотканинна оболонка, шваннівські клітини), друга — до внутріклітинної. Енергія активації дифузійної води у мембрані аксона, розрахована з температурної залежності, становить 3—5 ккал/моль, енергія активації експоненціальної

фази виходу води в коренях — 3,9 ккал/моль. Ці дані збігаються з даними по дифузії тритієвої води у чистій воді і свідчать про відсутність помітної взаємодії між молекулами води і стінками пор.

Вивчення фізико-хімічної природи біоелектричних потенціалів рослинних клітин привертає в останні роки багато уваги, особливо у зв'язку з можливостями використання нових високоефективних методик (мікроелектродна техніка, радіоактивні ізотопи, селективні мікроелектроди). Стали доступні прямому вимірюванню іонні потоки крізь мембрани, фізико-хімічні характеристики мембран і хімічний склад окремих компонентів клітин. Значних успіхів цей напрямок досліджень досяг у галузі фізіології велетенських клітин прісноводних і морських водоростей, як *Nitella*, *Chara*, *Valonia*, *Halycistis*, *Nitellopsis* та ін. Аналогічне вивчення фізіології клітин вищих рослин за рядом причин (менший розмір клітин, наявність щільних оболонок) виявилось більш складним.

Рослинні клітини, так само, як і клітини тварин, є гетерогенними багатозонними системами. Для їх будови характерна наявність міцної клітинної стінки-оболонки, що оточує плазматичну мембрану, а також наявність вакуолей деяких організмів — пластидів, найважливішими з яких є хлоропласти.

Хімічні аналізи цитоплазми й клітинних структур показали, що їх неорганічний іонний склад неоднаковий. Принцип доннанівської рівноваги виявився неправомірним у більшості ботанічних об'єктів. Про нерівномірний розподіл неорганічних іонів всередині клітин рослин свідчать також дані вимірювання потоків радіоактивних ізотопів (Макроббі, Англія, Кембриджський університет; Хігінботам, США, Вашингтонський університет; Крем, Норвич, Університет Східної Англії). Криві виходу й входу при логарифмуванні дають дві або три експоненти, які на відміну від клітин тварин, досить легко пов'язати з певними клітинними структурами, а саме, клітинна стінка, цитоплазма і вакуоля.

При дослідженні біоелектричних явищ у рослин найчастіше розглядається різниця потенціалів між цитоплазмою клітин й оточуючим середовищем (ЦС), між вакуолею й середовищем (ВС), а також між цитоплазмою й вакуолею (ЦВ) (Амрас, Австрія, Інститут зоології при Університеті м. Граца). Обчислення потенціалів за концентраціями іонів калію, натрію і хлору та за активностями цих іонів показало, що експериментально зареєстровані величини ЦС й ВС у *Chara australis*, *Halycistis ovalis*, *Nitella flexilis* й *Tolypella intricata* найбільше збігаються з величинами потенціалів за калієм. У клітин *Nitella* інших екологічних груп, а також у клітин *Chaetomorpha* й *Griffithia* sp. та ін. спостерігається значна різниця між ВС і величинами калієвого рівноважного потенціалу. Припускається, що у клітин цієї групи відносна пасивна проникність мембрани до калію нижча, або відбувається активний транспорт іонів калію з цитоплазми у вакуолю, та ЕРС насоса спричиняє істотний вплив на трансмембранну різницю потенціалів (Макроббі).

Природа пасивних іонних потоків крізь мембрани рослинних клітин поки зовсім не ясна. Серед формул, що описують дифузію іонів, найбільш поширена у фізіології рослин формула Гольдмана. Вона справедлива для випадку, коли градієнт електричного потенціалу всередині мембрани постійний, переміщення іонів крізь мембрану здійснюється незалежно один від одного. Проте на цілому ряді ботанічних об'єктів було встановлено, що співвідношення потоків іонів не задовольняє цієї формули. Виявилось, що у *Nitella franslucens* потік натрію всередину клітин пов'язаний частково з переміщенням хлору у тому ж напрямку. У клітин *Tolypella* й *Hydrodictyon africanum* значна частина потоку калію всередину клітин пов'язана з хлорним насосом і не є, очевидно, пасивною.

Можливо, що припущення Гольдмана про незалежність пасивних іонних потоків крізь мембрану не застосована до рослинних об'єктів. Щодо природи зв'язку між потоками катіонів та аніонів крізь мембрани існує кілька гіпотез. Припускають, що потік іонів хлору всередину є результатом роботи електрогенного аніонного насоса. Хлорний насос збільшує ВС й утворює катіонний градієнт, який сприяє входу в клітини еквівалентної кількості катіонів. За альтернативною гіпотезою в мембрані деяких рослин є нейтральний сольовий насос, робота якого супроводжується нагромадженням KCl і NaCl.

Ще більша різниця між калієвим рівноважним потенціалом і експериментально визначеними величинами ВС й ЦС у клітин вищих рослин внаслідок того, що у них потоки іонів крізь мембрани в обох напрямках залежать один від одного, і здійснюється електрогенний активний транспорт ряду іонів (Хігінботам, США, Вашингтонський університет). Переміщення аніонів у клітини здійснюється метаболічними насосами. Виявлені насоси для виведення з клітин натрію, кальцію та магнію. Щодо іонів калію, то для них існує як пасивний, так і активний шлях входу. Калієвий насос може працювати за принципом електронейтрального насоса, як це спостерігається у клітинах тканин тварин. Проте найчастіше тут виявляється спряження потоків не калію і натрію, а калію й водню. Метаболічні інгібітори (динітрофенол, ціанід) викликають швидке й оборотне зниження різниці потенціалів, що свідчить