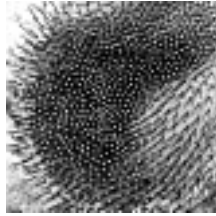


## Биофизика мышечного сокращения



### § 1. Общая характеристика преобразования энергии в системах биологической подвижности

Способность к движению — одно из характерных свойств всех живых организмов, начиная от простейших и кончая самыми сложными. Сокращение разных мышц и движение листьев растений, бегание ресничек и движение жгутиков, деление клеток и движение протоплазмы — все эти разнообразные формы проявления двигательной активности имеют общую черту — превращение химической энергии, освобождающейся при гидролизе АТФ, в механическую. Белковые структуры, участвующие в гидролизе АТФ и генерации силы, — это либо миозин и актин, либо кинезин (или динеин) и тубулин. При мышечном сокращении механическая работа осуществляется организованными в надмолекулярные структуры ферментом — АТФазой миозина — и актином. Регулятором двигательной активности в мышцах является кальций. В немышечных клетках, наряду с кальциевой, по-видимому, существуют и другие способы регуляции. Выяснение молекулярных механизмов генерации силы, трансформации химической энергии гидролиза АТФ в механическую работу, а также механизмов регуляции этих процессов является основной задачей биофизики биологической подвижности. Наибольшие успехи в этом направлении достигнуты при исследовании наиболее организованных поперечно-полосатых мышц позвоночных.

### § 2. Основные сведения о свойствах поперечно-полосатых мышц

**Система электромеханического сопряжения мышцы.** Поперечно-полосатая скелетная мышца состоит из продольных пучков мышечных волокон с характерным угловатым поперечным сечением. Ширина мышечных волокон варьирует от 10 до 100 мкм, а длина часто соответствует длине мышцы, достигая в некоторых волокнах 12 см. Всю мышцу окружает тонкий чехол соединительной ткани, которая отделяет пучки мышечных волокон друг от друга и участвует в присоединении их концов к сухожилиям. Мышечное волокно (рис. XXV.1) представляет собой сложную многоядерную клетку, содержащую одну–две тысячи более тонких вытянутых волоконцев (миофибрилл) диаметром 1–2 мкм, состоящих из элементарных сократительных единиц — саркомеров. Толстые и тонкие нити саркомеров образованы из сократительных (миозин и актин) и  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных регуляторных белков (см. § 3 этой главы). Функциональная активность белков сократительной системы зависит от концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  внутри саркомера. Быстрое и эффективное

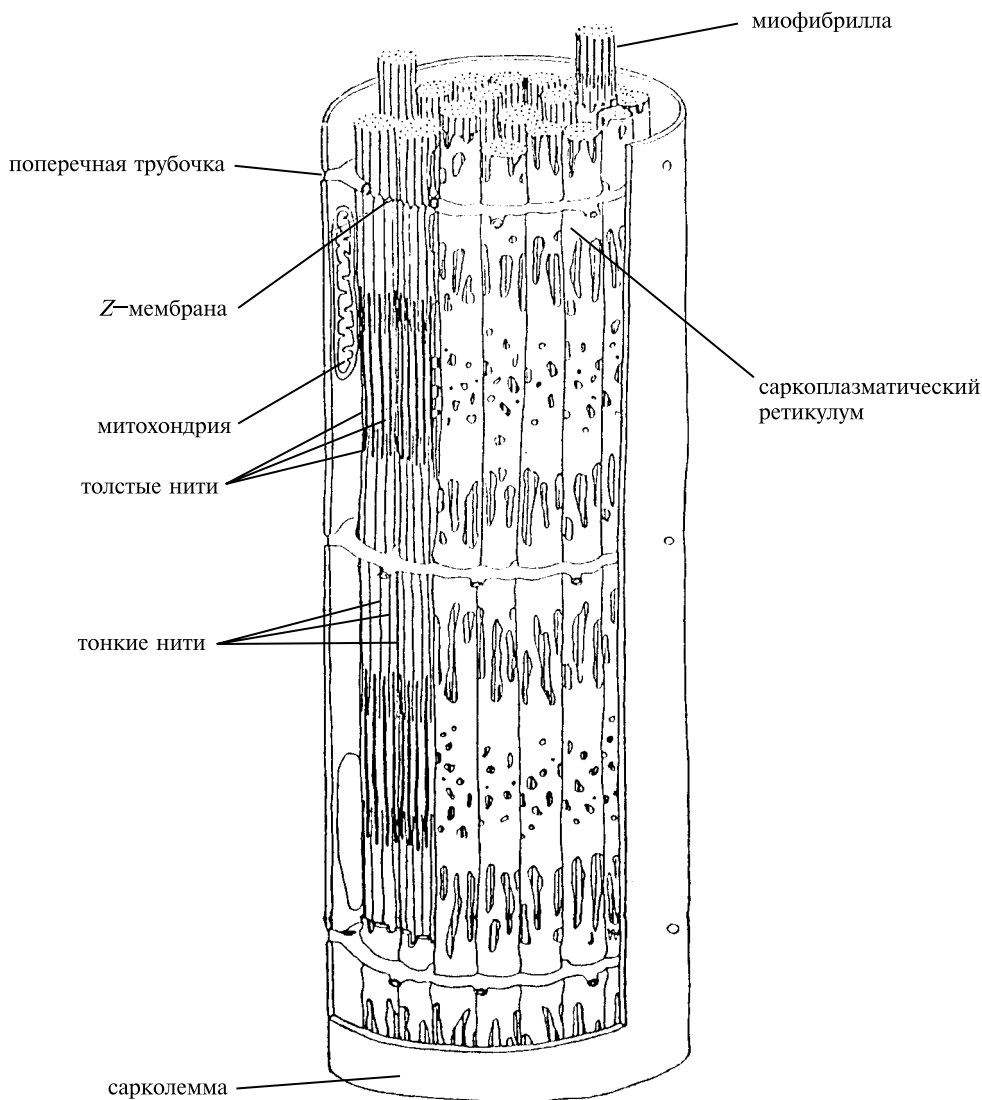


Рис. XXV.1.

Схема структурной организации мышечной клетки (по Woledge R. et al., 1992). На одном из участков поперечная трубочка удалена для того, чтобы показать одну из Z-мембран, разделяющих миофибриллу на саркомы (см. рис. XXV.4)

управление концентрацией ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в мышечном волокне осуществляется с помощью специального аппарата — так называемой системы электромеханического сопряжения.

Каждое мышечное волокно имеет отдельную мембранную оболочку — сарколемму — и электрически изолировано от других мышечных клеток. Внутри волокна, помимо миофибрилл, имеются две специализированные мембранные системы — система поперечных трубочек (Т-система) и саркоплазматический ретикулум (саркоплазматическая сеть). Т-трубочками названы своеобразные впячивания поверхностной мембраны, которые образуют разветвленную систему поперечных трубочек диаметром 0,04 мкм, повторяющихся в соответствии с повторяемостью саркомеров. Саркоплазматический ретикулум представляет собой систему сплюснутых вытянутых соединяющихся друг с другом пузырьков, которая охватывает каждый саркомер миофибриллы, подобно муфте. Части саркоплазматического ретикулума, прилегающие к поперечным трубочкам (терминальные цистерны), образуют с окончаниями поперечных трубочек специализированные контакты — триады.

Управление сократительной активностью мышцы осуществляется с помощью большого числа мотонейронов, аксоны которых в составе двигательного нерва подходят к мышце. Войдя в мышцу, аксон разветвляется на множество веточек, расходящихся к разным волокнам. Таким образом, один мотонейрон иннервирует целую группу мышечных волокон (так называемая нейромоторная функциональная единица), которая работает как единое целое. Мышца состоит из множества функциональных единиц и способна работать не всей своей массой, а по частям, что постоянно используется при регулировке силы и скорости сокращения.

Веточка аксона, подойдя к волокну, образует несколько нервных окончаний (терминалей), которые размещаются на поверхности волокна в специальных вытянутых углублениях (бороздках) таким образом, что между мембраной терминали аксона и мембраной волокна вдоль всей длины терминали остается зазор в 40–50 нм — синаптическая щель. Терминаль аксона и углубление сарколеммы покрыты шванновской клеткой. Вся эта структура называется концевой двигательной пластинкой, нервно-мышечным синапсом или нервно-мышечным соединением.

В расслабленной мышце (состояние покоя) мембрана волокна электрически поляризована. В фазном мышечном волокне в состоянии покоя разность потенциалов между внешней и внутренней сторонами мембраны составляет 70–90 мв (со знаком минус на внутренней стороне). При этом концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазме не превышает  $10^{-7}$  М. Приход нервного импульса вызывает сброс ацетилхолина из нервного окончания в синаптическую щель, что приводит к изменению проницаемости мембраны. В фазных волокнах это дает начало волне деполяризации (так называемый потенциал действия), распространяющейся по сарколемме вдоль мышечного волокна. В области триад возбуждение передается на мембрану саркоплазматического ретикулума и вызывает повышение ее проницаемости, что приводит к выходу из пузырьков ретикулума (главным образом, из терминальных цистерн) содержащихся в них ионов кальция. При этом концентрация кальция в цитоплазме мышечной клетки (саркоплазме) возрастает приблизительно до  $10^{-5}$  М. Вышедший кальций диффундирует в миофибриллы, где, присоединяясь к регуляторным белкам актомиозиновой системы, «включает» взаимодействие актина и миозина и, тем самым, процесс сокращения. Наряду с процессом выброса кальция, представляющим собой

кратковременное событие, в волокне происходит непрерывный активный обратный транспорт кальция (так называемая секвестрация), осуществляющаяся преимущественно продольным ретикулом. Понижение концентрации кальция до величин ниже порогового значения приводит к расслаблению мышцы и возвращению ее в состояние покоя.

Нейромоторные функциональные единицы подразделяются на две основные группы — фазные и тонические нейромоторные единицы. Мышечные волокна фазных единиц — так называемые фазные мышечные волокна — имеют одиночную иннервацию и мембрану, способную к распространению потенциала действия (и волны сокращения) вдоль волокна. Работа фазных единиц представляет собой чередование фаз — волна сокращения быстро сменяется фазой расслабления. К этому типу относится большинство волокон скелетных (поперечно-полосатых) мышц. В мышечных волокнах тонических нейромоторных единиц — так называемых тонических мышечных волокнах, мембрана которых неспособна к проведению потенциала, — по всей длине волокна разбросаны десятки нервно-мышечных окончаний (множественная иннервация). Сокращение этих волокон начинается лишь после целого ряда нервных импульсов, идущих с таким интервалом, чтобы обеспечить суммирование локального потенциала и достаточное его возрастание. Сокращение такого типа, медленно развивающееся, слитное, которое мышца способна поддерживать длительно, без видимого утомления, носит название тонического сокращения. Нейромоторные единицы тонического типа обычно участвуют в поддержании мышечного тонуса. Существуют и нейромоторные единицы переходного типа, мышечные волокна которых способны в зависимости от частоты приходящих импульсов сокращаться либо по фазному, либо по тоническому типу.

Основные результаты по механике и энергетике мышечного сокращения получены на портняжной мышце лягушки и на поясничной мышце кролика, содержащих, в основном, быстрые фазные волокна.

**Механика и энергетика мышечного сокращения.** В экспериментах по исследованию мышечного сокращения мышца (или мышечное волокно) обычно стимулируется не через нерв, а путем подачи прямоугольных импульсов электрического тока непосредственно на саркоплазматическую мембрану. Характер механического ответа мышцы на электрическое раздражение зависит как от формы стимулирующего сигнала, так и от наложенных на мышцу механических ограничений. При активации мышца развивает силу и укорачивается, либо только развивает силу, если ее концы фиксированы. В наиболее простом типе механических экспериментов исследуют изменения развиваемой мышцей силы (натяжения) при фиксированной длине всей мышцы либо некоторой ее части. Это — так называемое изометрическое сокращение. Иногда постоянной (стационарной) поддерживают величину внешней нагрузки на мышцу и наблюдают за изменениями ее длины. Это — изотоническое сокращение. Очень информативными являются так называемые нестационарные режимы сокращения, в которых исследуются переходные процессы, возникающие в мышце в ответ на быстрые контролируемые изменения одного из механических параметров либо какого-нибудь из внешних условий. Результаты таких исследований будут рассмотрены ниже, в § 6 этой главы. Вначале следует остановиться на экспериментальных данных, полученных для стационарных режимов сокращения мышцы.

Значительная часть сведений о механических и энергетических свойствах мышц, проявляющихся в стационарных режимах сокращения, получена А. В. Хиллом при исследовании портняжной мышцы лягушки. Соотношение между основными механическими параметрами мышечного сокращения — скоростью укорочения и развиваемой силой — носит название характеристического уравнения Хилла. Согласно этому уравнению, зависимость между скоростью изотонического сокращения  $v$  и силой  $P$  описывается гиперболой со смещенными осями (рис. XXV.2):

$$(P + a)v = b(P_0 - P), \quad (\text{XXV.2.1})$$

где  $P_0$  — изометрическая сила ( $P = P_0$  при  $v = 0$ ),  $a$  и  $b$  — эмпирические параметры, связанные соотношением

$$b = \frac{a}{P_0} v_{\text{макс}},$$

где  $v_{\text{макс}}$  — максимальная скорость укорочения мышцы ( $v = v_{\text{макс}}$  при  $P = 0$ ). Параметр  $a$  для портняжной мышцы лягушки равен  $0,25 \cdot P_0$ ; для других мышц он может несколько отличаться.

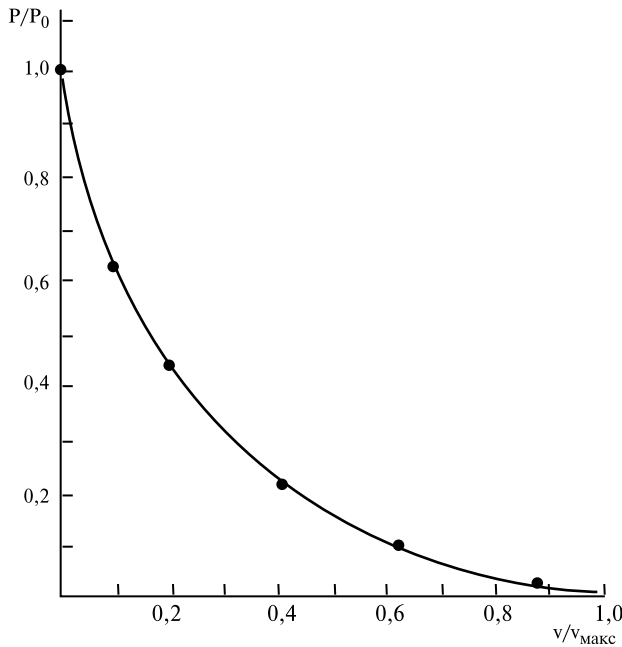


Рис. XXV.2.

Первое соотношение Хилла — зависимость между скоростью изотонического укорочения  $v$  и развиваемой силой  $P$  для портняжной мышцы лягушки при  $0^\circ \text{C}$  (по J. Squire, 1981)

Сплошная линия — экспериментальная зависимость; кружки — расчет по А. Хаксли (1957).  $P_0$  — изометрическая сила;  $v_{\text{макс}}$  — максимальная скорость укорочения

Так как соотношение (XXV.2.1) между  $P$  и  $v$  определяют в условиях, когда мышца укорачивается и поднимает груз, то развиваемая мышцей сила  $P$  представляет собой также и величину груза (нагрузки), поднимаемого мышцей. В отсутствие нагрузки скорость сокращения максимальна:  $v_{\text{макс}}$  — скорость укорочения ненагруженной мышцы. При увеличении нагрузки скорость укорочения мышцы уменьшается.  $P_0$  — это предельная нагрузка, которую способна поднять мышца.

При  $P > P_0$  скорость укорочения становится отрицательной (мышца растягивается).

Рассмотрим теперь «энергетику» сокращения мышцы. При сокращении мышца обычно не только совершает работу, но и выделяет тепло (нагревается). Живая мышца даже в состоянии покоя постоянно выделяет небольшое количество тепла, связанное с обменом веществ (теплота покоя). При возбуждении мышцы теплопродукция увеличивается. В ходе изометрического сокращения выделяется так называемое изометрическое тепло со скоростью примерно  $0,0625 \cdot P_0 \cdot v_{\text{макс}} = 0,25 \cdot b \cdot P_0$ . Если активированная мышца укорачивается и совершает работу, тепла выделяется больше, чем при изометрическом сокращении. Этот эффект (эффект Фенна) противоречит вязкоупругим теориям мышечного сокращения, включая и широко признанную в 20-е годы полиэлектролитную теорию Хилла и Мейергофа. В таких теориях обычно предполагается, что вся энергия, используемая мышцей при сокращении, запасается до начала сокращения. В этом случае следовало бы ожидать, что при увеличении количества энергии, затрачиваемой на работу, будет уменьшаться ее количество, освобождающееся в виде тепла. Как показал Фенн, этого не происходит. Чем большую работу совершает мышца, тем большим оказывается суммарное количество освобожденной энергии (теплота плюс работа). Это означает, что энергообеспечение мышцы тесно связано с работой ее сократительного аппарата. Открытие Энгельгардтом и Любимовой АТФазной активности у основного комплекса мышечных белков — актомиозина — привело к выводу о том, что для сокращения мышцы используется энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ актомиозином, причем процесс гидролиза тесно сопряжен с сократительным процессом.

Подробные исследования теплопродукции мышцы при изотонических укорочениях были проведены А. В. Хиллом. Измеряя количество тепла, выделяющееся в сокращающейся мышце дополнительно к изометрическому теплу — так называемое избыточное тепло или теплота укорочения  $\Delta Q$ , — Хилл вначале установил, что при сокращениях с постоянной нагрузкой величина  $\Delta Q$  зависит только от величины укорочения  $\Delta l$ :

$$\Delta Q = A \cdot \Delta l,$$

где  $A$  — коэффициент пропорциональности. При этом, соответственно, скорость теплопродукции  $\frac{dQ}{dt}$  пропорциональна скорости укорочения  $v = \frac{dl}{dt}$ :

$$\frac{dQ}{dt} = A \cdot v.$$

Если величина нагрузки  $P \neq 0$ , и при укорочении мышца совершает работу  $\Delta W = P \cdot \Delta l$ , то скорость суммарной избыточной энергопродукции будет равна

$$\frac{dE}{dt} = \frac{dQ}{dt} + \frac{dW}{dt} = A \cdot v + P \cdot v = (A + P)v.$$

Проводя затем укорочения одинаковой величины при различных нагрузках, Хилл показал, что в таких сокращениях скорость избыточной энергопродукции пропорциональна отклонению от максимально развиваемой мышцей силы ( $P_0 - P$ ). Таким

образом, он получил, что

$$\frac{dE}{dt} = (A + P)v = b(P_0 - P). \quad (\text{XXV.2.2})$$

При  $A = 0,25P_0$  уравнение (XXV.2.2) точно совпадает с характеристическим уравнением Хилла (XXV.2.1). Однако более точные эксперименты показали, что коэффициент  $A$  зависит от нагрузки:

$$A = 0,16P_0 + 0,18P. \quad (\text{XXV.2.3})$$

Это означает, что соотношение (XXV.2.2) выполняется точно лишь для  $P = 0,5P_0$ . При  $P > 0,5P_0$   $\frac{dE}{dt} \approx 1,072 \cdot b \cdot (P_0 - P)$ ; при малых нагрузках ( $P \rightarrow 0$ ) зависимость  $\frac{dE}{dt}$  от  $(P_0 - P)$  становится нелинейной (рис. XXV.3).

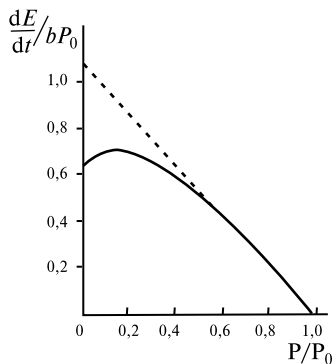


Рис. XXV.3.

Второе соотношение Хилла — зависимость скорости энергопродукции  $\frac{dE}{dt}$  в ходе изотонического сокращения от нагрузки  $P$  для портяжной мышцы лягушки при  $0^\circ \text{C}$ .

Зависимость построена без учета изометрического тепла, которое производится в изометрически сокращающейся мышце со скоростью

$$\frac{dE}{dt}_{\text{изом}} = 0,25 \cdot b \cdot P_0,$$

$b$  — параметр уравнения Хилла (XXV.2.1);  $P_0$  — изометрическая сила. Пунктиром показана прямая  $y = 1,072 \cdot b \cdot (P_0 - P)$

По количеству выделяемого мышцей тепла можно оценить эффективность преобразования энергии при сокращении. При изотоническом режиме сокращения коэффициент полезного действия мышцы, определяемый как отношение  $\frac{\text{работа}}{\text{работа} + \text{теплота}}$ , мало изменяется в широком диапазоне нагрузок, и при  $P = (0,2 \div 0,8)P_0$  составляет около 40%. Эффективность работы самого сократительного аппарата значительно выше: если оценивать полную энергопродукцию при учете только теплоты укорочения, то КПД, например, портяжной мышцы лягушки может достигать величины 70% и более.

Как отмечалось выше, основным источником энергии для мышечного сокращения является энергия гидролиза АТФ. В изометрическом режиме сокращения скорость гидролиза невелика. При укорочении мышцы скорость гидролиза повышается в соответствии с ростом производимой работы. Установлено, однако, что освобождаемой при гидролизе энергии достаточно для обеспечения только совершаемой работы, но не полной энергопродукции мышцы. Источники энергии для теплоты укорочения до сих пор остаются неясными.

Установленные А. В. Хиллом соотношения (XXV.2.1), (XXV.2.2), (XXV.2.3) являются важным критерием для проверки справедливости любой теории мышечного сокращения. Ниже в § 5, будут рассмотрены две теории мышечного сокращения, позволяющие получить соотношения Хилла теоретически.

### § 3. Структура сократительного аппарата

Прежде чем перейти к рассмотрению современных представлений о механизме сокращения мышцы, следует остановиться на структурной организации ее основных сократительных элементов — миофибрилл и саркомеров.

Миофибриллы скелетных мышц (см. рис. XXV.1, рис. XXV.4) представляют собой нитевидные образования диаметром 1–2 мкм, располагающиеся параллельно

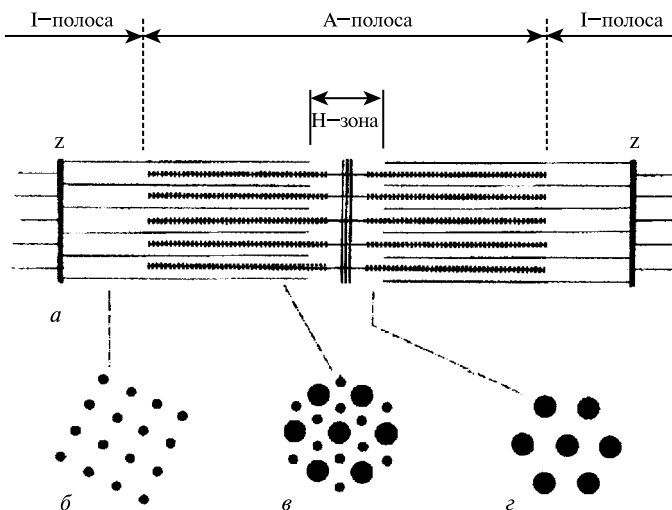


Рис. XXV.4.

Схема расположения толстых и тонких нитей в саркомере поперечно-полосатой мышцы (по J. Squire, 1981).

Показан только небольшой фрагмент миофибриллы, включающий часть одного из саркомеров. Вверху (а) саркомер показан в продольном сечении, внизу — поперечные срезы через различные участки саркомера: вблизи Z-мембраны (б), в области перекрытия толстых и тонких нитей (в), в H-зоне (г). А — тонкая (актиновая) нить; М — толстая (миозиновая) нить. Z-мембрана на этом рисунке изображена условной прямой линией. На толстых нитях поперечной штриховкой выделена область, содержащая миозиновые выступы (мостики).

друг другу и идущие от одного конца мышечного волокна до другого. Каждая миофибрилла разделена узкими поперечными пластинками — Z-мембранами на множество коротких повторяющихся единиц — саркомеров, длиной обычно 2–3 мкм. Под световым микроскопом они имеют вид повторяющихся темных и светлых полос, границы которых в соседних миофибриллах обычно совпадают, что и придает всей мышце характерную поперечную исчерченность. Темные полосы, находящиеся в



середине саркомера, принято называть анизотропными полосами (А-полосами или А-дисками). Светлые полосы, не проявляющие анизотропных свойств, называют изотропными полосами (I-полосами или I-дисками). В середине А-полосы имеется светлый участок — Н-полоса.

Структура саркомера образована двумя типами нитей, которые упакованы в гексагональные решетки, взаимно проникающие друг в друга. Более толстые нити, диаметром около 15 нм и длиной  $\sim 1,5$  мкм, состоят, в основном, из миозина. Молекула миозина (рис. XXV.5) с молекулярной массой  $\sim 500kDa$  состоит из двух тяжелых и четырех легких цепей с молекулярными массами  $\sim 200kDa$  и  $\sim 20kDa$ , соответственно. Тяжелые цепи асимметричны. Их тонкие  $\alpha$ -спиральные стержни, скручиваясь вместе в *coiled-coil* структуру, образуют вытянутый изогнутый стер-

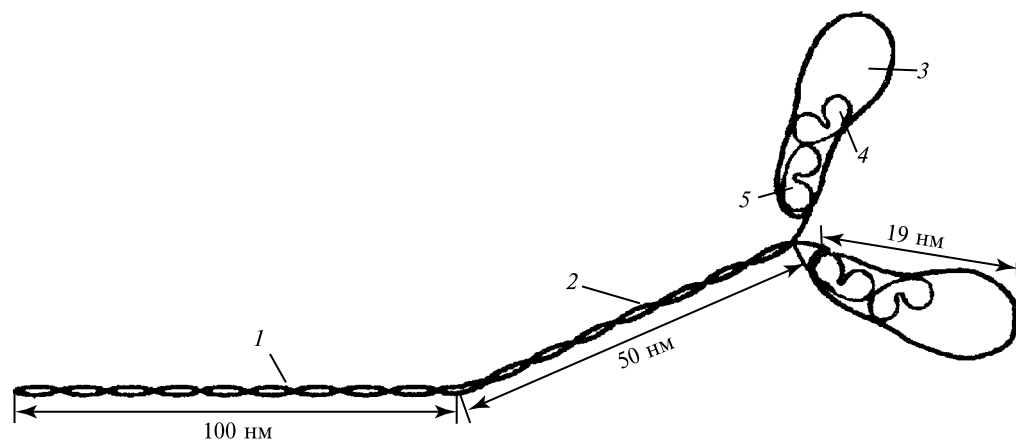


Рис. XXV.5.

Схематическое изображение молекулы миозина (по Rayment I., Holden H. 1994).

1 — легкий меромиозин; 2 — субфрагмент 2; 3 — глобулярный участок тяжелой цепи (субфрагмент 1); 4 — существенная легкая цепь; 5 — регуляторная легкая цепь.

жень диаметром  $\sim 2$  нм и длиной  $\sim 150$  нм. На одном из концов молекулы тяжелые цепи расходятся, образуя две массивные грушевидные глобулярные головки (субфрагменты 1) размерами  $\approx 19 \times 4$  нм, соединенные с *coiled-coil* стержнем и друг с другом шарнирным соединением. Вблизи шарнирного соединения на субфрагментах 1 попарно располагаются так называемые существенная и регуляторная легкие цепи. Второй шарнирный участок, расположенный на расстоянии примерно 50 нм от места присоединения головок, разделяет миозиновый стержень на две функционально различные части: легкий меромиозин, длиной около 100 нм, и субфрагмент 2, который вместе с глобулярными головками входит в состав так называемого тяжелого меромиозина. В толстых нитях стержни легкого меромиозина плотно упакованы, образуя стволы нитей, тогда как субфрагменты 2 и глобулярные головки располагаются на их поверхности и участвуют во взаимодействии с актиновыми нитями. Структура толстой нити биполярна: молекулы миозина в каждой половине толстой

нити уложены головками в сторону Z-мембран, так что в средней части нити образуется небольшая «голая зона», целиком состоящая из антипараллельно уложенных стержней легкого меромиозина и не содержащая мостиков (см. рис. XXV.4). В покоящейся мышце субфрагменты 2 прижаты к стволу толстой нити таким образом, что глобулярные головки миозина, расположенные на поверхности толстой нити,

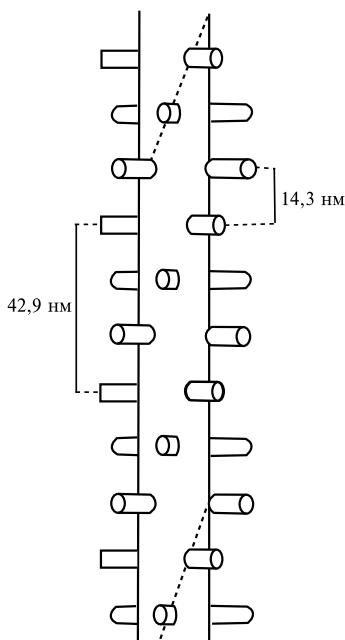


Рис. XXV.6.  
Трехтяжевая модель толстой нити — модель Сквайра (по J. Offer, 1974).

Модель построена в предположении, что субфрагменты 2 миозина прижаты к стволу нити; миозиновые головки условно изображены в виде цилиндрических выступов. Показан фрагмент одного из боковых участков нити, содержащий головки. Центральная часть нити, не содержащая головок («голая зона»), в рисунок не включена. Пунктиром показан один из трех тяжей спирали, образованной миозиновыми головками.

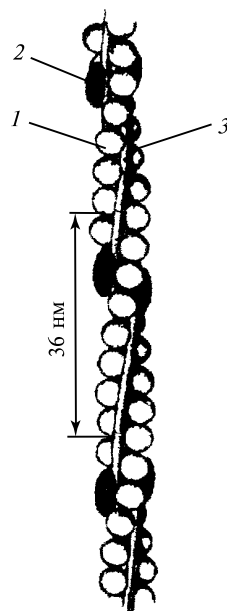


Рис. XXV.7.  
Схема строения тонкой нити (по S. Ebashi, 1975).  
1 — глобула актина;  
2 — комплекс тропонинов;  
3 — тропомиозиновый тяж

образуют своеобразную трехтяжевую спираль (модель Сквайра) с субъединичным и осевым шагом спирали 14,3 нм и 42,9 нм, соответственно (рис. XXV.6). При активации мышцы субфрагменты 2 могут отходить от ствола толстой нити, обеспечивая головкам, каждая из которых содержит актин-связывающий и АТФазный центры, возможность приближаться к актиновым нитям и взаимодействовать с ними.

Более тонкие нити (рис. XXV.7), диаметром 8–10 нм и длиной около 1 мкм, состоят из актина и  $\text{Ca}^{2+}$ -чувствительных регуляторных белков — тропомиозина

и тропонинов. Полярные глобулы актина размером  $\sim 4 \text{ нм} \times 5,5 \text{ нм}$  агрегируют полярно, образуя двухтяжевую спираль актиновой нити с периодом повторения  $\sim 36 \text{ нм}$ . Тропомиозин располагается в канавках актиновой спирали в виде двух тяжей, каждый из которых образован агрегацией полярных молекул тропомиозина по типу «голова к хвосту». На тяжах тропомиозина с регулярными интервалами 36–38 нм располагаются комплексы тропонина. Так формируется полярная структура актиновой нити, в которой каждая молекула тропомиозина взаимодействует с 7 мономерами актина и одним тропониновым комплексом. Полярность структуры тонкой нити выявляется при ее декорации тяжелым меромиозином или миозином: присоединение этих молекул к глобулам актина в нитях создает своеобразную структуру вдвинутых друг в друга «наконечников стрел», направленных в одну сторону. Тонкие нити, отходящие от Z-мембран на противоположных концах саркомера, имеют разную полярность: при их декорации тяжелым меромиозином острия образующихся при декорации «наконечников стрел» направлены с обеих сторон к центру саркомера, т. е. навстречу друг другу.

В А-полосе расположены, в основном, миозин-содержащие толстые нити. Тонкие, актин-содержащие нити, начинаясь от Z-мембран по обеим сторонам саркомера, тянутся через I-диски, входят в А-диск, располагаясь в промежутках между толстыми нитями, и заканчиваются на границах Н-зоны. При сокращении мышцы длина А-диска остается неизменной. Укорочение происходит лишь за счет одновременного уменьшения ширины I-дисков и Н-зоны. Эти данные легли в основу модели «скользящих нитей», согласно которой сокращение мышцы происходит в результате относительного перемещения (скольжения) толстых и тонких нитей в саркомере навстречу друг другу без изменения их длины.

Строгая упорядоченность расположения белков в структуре саркомера позволила исследовать динамику молекулярной структуры мышцы с помощью метода малоугловой (ограниченной углами рассеяния порядка  $2^\circ$ ) дифракции рентгеновских лучей. Пионерская роль в развитии этого направления исследований принадлежит Хью Хаксли. На рис. XXV.8 представлена схема установки для регистрации малоугловой дифракции. На рис. XXV.9 (см. также рис. XXV.4, в) приведена схема гексагональной упаковки толстых и тонких нитей в саркомере, в результате которой возникают две системы отражающих рентгеновские лучи плоскостей: (1,0) и (1,1). Дифракционная картина мышцы состоит из дифракционных максимумов (рефлексов), возникающих в результате дифракции как на этих системах плоскостей (экваториальные рефлексы 1,0 и 1,1), так и на повторяющихся структурах актиновых и миозиновых нитей (меридиональные рефлексы и так называемые слоевые линии рефлексов). При изменении функционального состояния мышцы местоположение рефлексов значительно не изменяется, происходит лишь перераспределение их интенсивностей.

Активация мышцы сопровождается значительными изменениями интенсивности экваториальных рефлексов: интенсивность рефлекса (1,0), возникающего в результате дифракции на решетке миозиновых нитей, заметно падает параллельно с усилением рефлекса (1,1), что свидетельствует о значительном переносе электронной плотной массы из областей вблизи миозиновых нитей к актиновым нитям. Этот эффект принято интерпретировать как перемещение глобулярных головок миозина к актиновым нитям с образованием поперечных мостиков между толстыми

и тонкими нитями — так называемое замыкание мостиков. «Миозиновые» рефлексы, возникающие в результате дифракции на спиральных, образованных массивными миозиновыми головками, наиболее сильны в покоей мышце. В активированной мышце интенсивность меридионального рефлекса, соответствующего расстоянию

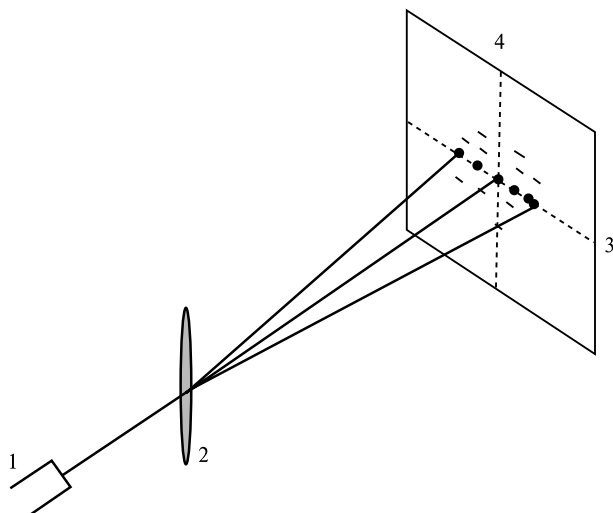


Рис. XXV.8.

Малоугловая дифракция рентгеновских лучей мышц (по К. Бэгшоу, 1985).

1 — источник рентгеновского излучения; 2 — мышца; 3, 4 — экватор и меридиан дифракционной картины, соответственно. Положение дифракционных пятен на дифракционной картине очень условно; меридиональные и экваториальные рефлексы, а также слоевые линии, состоящие из рефлексов, расположенных параллельно линии экватора на верхней и нижней половинах дифракционной картины, выполнены без соблюдения масштаба и интенсивностей дифракционных пятен.

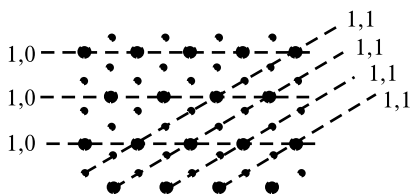


Рис. XXV.9.

Схема упаковки нитей в саркомере поперечнополосатой мышцы (поперечное сечение).

Штриховые прямые показывают отражающие плоскости (1,0), проходящие через длинные оси миозиновых нитей и (1,1), проходящие через длинные оси актиновых и миозиновых нитей.

14,3 нм между соседними ярусами миозиновых головок на толстой нити, почти не отличается от его интенсивности в покоей мышце, однако, рефлексы слоевой линии, соответствующие периоду повторения миозиновой спирали 42,9 нм, заметно ослабевают. В состоянии ригора, когда в мышце исчерпан АТФ и она становится нерастяжимой, что принято считать результатом замыкания максимального числа мостиков, происходит дальнейшее усиление экваториального рефлекса (1,1), ослабление «миозиновых» рефлексов, и появляются очень сильные «актиновые» рефлексы. Все эти изменения хорошо согласуются с мостиковой гипотезой генерации силы.

#### § 4. Мостиковая гипотеза генерации силы

При формулировке модели скольжения предполагалось, что скольжение нитей в сокращающейся мышце происходит в результате действия независимых генераторов силы, равномерно распределенных в саркомере между актиновыми и миозиновыми нитями и действующими циклически. В мостиковой модели такими генераторами

силы принято считать выступающие из ствола толстой нити мостики тяжелого меромиозина (миозиновые головки и субфрагмент 2). В покоящейся мышце мостики не взаимодействуют с актином, поэтому такая мышца легко растяжима. При активации ионы кальция связываются с регуляторным комплексом тонких нитей, в котором происходят структурные изменения, интерпретируемые как смещение тропомиозиновых тяжей относительно актиновой нити. В результате этого центры взаимодействия на глобулах актина становятся доступными для замыкания миозиновых мостиков. Структура толстых нитей при активации также изменяется; происходит разупорядочивание мостиков и их отход от ствола толстой нити по направлению к тонким нитям.

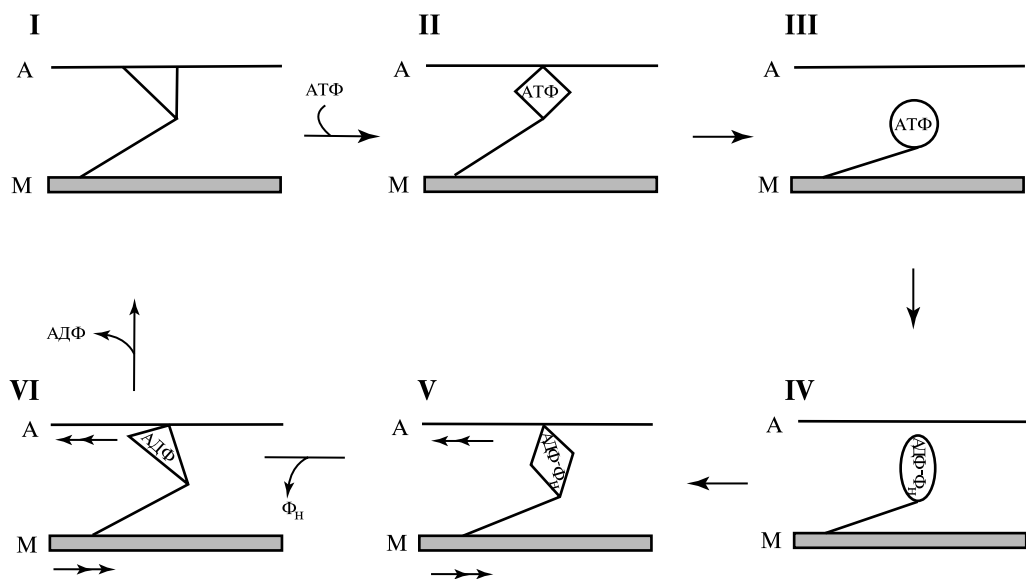


Рис. XXV.10.

Схема рабочего цикла мостика (по R. R. Schroeder et al., 1992).

A — актиновая нить (глобулы актина не показаны); M — миозиновая нить; I–VI — последовательные стадии рабочего цикла. Состояние I соответствует ригорному состоянию мостика; переход V → VI сопровождается генерацией силы («рабочий ход» мостика); двойными стрелками показано направление сил, действующих на толстую и тонкую нити. Конформационные изменения миозиновой головки условно показаны как изменения ее геометрической формы.

Рабочий цикл мостика сопряжен с гидролизом АТФ. Основные сведения о гидролитическом цикле мостика получены из исследований, проведенных на растворах мышечных белков. При условиях, близких к физиологическим, скорость гидролиза АТФ на чистом миозине очень мала и составляет 0,05–0,1 с<sup>-1</sup>. Актин может ускорять этот процесс в сотни раз. Согласно современным представлениям, цикл гидролиза АТФ актомиозином в мышце (рабочий цикл мостика) можно условно разделить на 6 стадий (рис. XXV.10), отличающихся по структуре мостика и по характеру связанного нуклеотида. Расщепление АТФ на АДФ и неоргани-

ческий фосфат (стадии III–IV цикла) происходит на свободном (не связанном с актином) миозине (схема Лимна—Тейлора). Образовавшийся при этом долгоживущий миозин–продуктный комплекс может соединяться с актином: содержащая продукты реакции миозиновая головка подходит к актиновой нити и замыкается на одной из глобул в положении, перпендикулярном оси нити (стадии IV–V). Затем она поворачивается, наклоняясь на угол примерно  $45^\circ$  (модель поворачивающегося мостика) и проталкивает актиновую нить в направлении от Z-мембраны (рабочий ход мостика, стадии V–VI). Для совершения рабочего хода используется свободная энергия, освобождающаяся при диссоциации продуктов реакции гидролиза АТФ, которая составляет более 50% от всей свободной энергии реакции. Согласно современным данным, основная доля свободной энергии освобождается при десорбции фосфата. После сбрасывания АДФ (стадии VI–I) происходит связывание новой молекулы АТФ (стадии I–II), вызывающее новую диссоциацию мостика (стадии II–III) и начало нового рабочего цикла.

Таким образом, разомкнутый мостик представляет собой смесь различных миозин-субстратных и миозин-продуктных, а замкнутый — различных миозин-продуктных комплексов, причем генерация силы сопряжена со сбрасыванием продуктов гидролиза АТФ, в основном, фосфата.

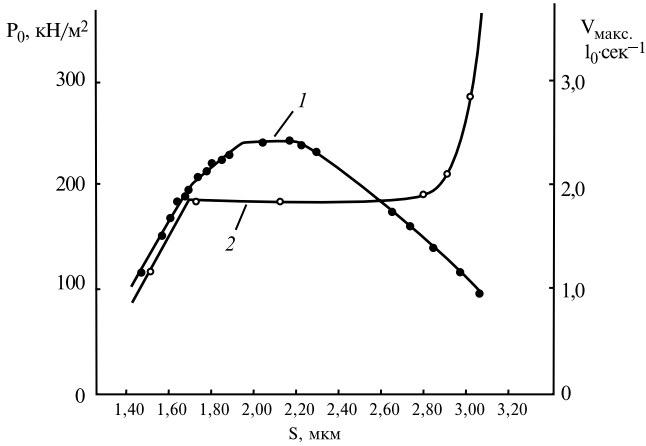
Силы, развиваемые отдельными мостиками, суммируются. При сокращении мышцы с закрепленными концами (изометрическом сокращении) величина генерируемой мышцей силы  $P_0$  зависит от длины саркомера. Как видно из рис. XXV.11, при изменении длины саркомера  $P_0$  изменяется в соответствии с изменением степени перекрытия актиновых и миозиновых нитей, т. е. оно пропорционально числу работающих мостиков. Известно также, что при сокращении ненагруженной мышцы скорость сокращения — максимальная скорость изотонического укорочения  $v_{\max}$  — в значительном диапазоне длин саркомеров остается постоянной. Это означает, что мостики работают независимо друг от друга, т. е. и сила, развиваемая отдельным мостиком, и кинетические параметры цикла мостика не зависят от числа работающих мостиков и полностью определяются свойствами самого мостика. Как будет показано в следующем параграфе, это свойство мышцы оказывается очень существенным при теоретическом моделировании стационарных режимов мышечного сокращения.

## § 5. Математическое моделирование мышечного сокращения

Для понимания молекулярных механизмов мышечного сокращения математическое моделирование составляет существенную часть исследований. Современный уровень техники не позволяет проследить за динамикой молекулярного мотора непосредственно в мышце, однако, его работу можно смоделировать на основании знаний о молекулярной конструкции саркомера и его физико-химических свойств. Критерием адекватности модели служит степень совпадения описания макроскопических свойств мышцы (например, механики и энергетики) в модели с экспериментальными результатами. Основной прогресс в этой области связан с именами Э. Хаксли, В. И. Децереvского, Т. Хилла.

**Основы математического моделирования мышечного сокращения.** Математическое моделирование мышечного сокращения основывается на ряде постулатов.

а



б

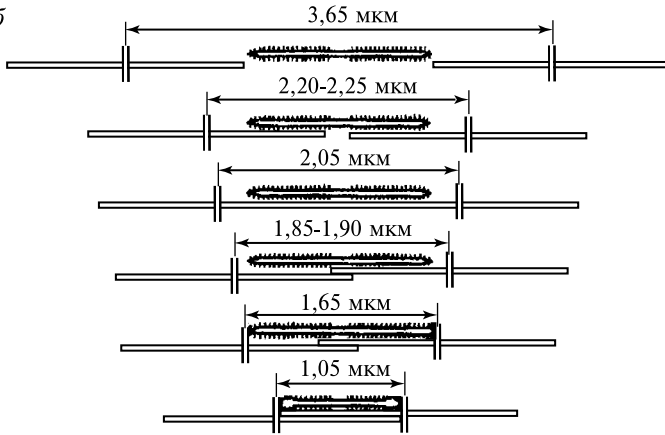


Рис. XXV.11.

Зависимость механических свойств мышцы от степени перекрытия нитей.

а. Зависимость изометрической силы  $P_0$  (кривая 1) и максимальной скорости изотонического укорочения  $v_{\max}$  (кривая 2) от длины саркомера  $s$  при стационарных режимах сокращения (по Edman К., 1979);  $l_0$  — длина покоя мышцы.

б. Степень перекрытия нитей при разных длинах саркомера (по А. М. Gordon, А. F. Huxley, F. J. Julian, 1966). 1–6 — различные стадии укорочения мышцы.

(1) Силы, развиваемые каждым саркомером, равны, так как эти элементы соединены последовательно, а распределенной массой волокна в большинстве режимов сокращения можно пренебречь. (2) Развиваемая волокном сила равна сумме сил мостиков в слое толщиной 0,5 саркомера, поскольку в этом слое мостики соединены последовательно, а правая и левая части саркомера зеркально симметричны. (3) Скорость изменения длины волокна составляет  $V = 2Nv$ , где  $N$  — число саркомеров в волокне, а  $v$  — относительная скорость скольжения нитей. (4) Эквивалентно ориентированные мостики находятся на расстоянии 42,9 нм, а диапазон перемещения замкнутого мостика не превышает 10–20 нм, так что возле свободного мостика может находиться только свободный актиновый центр. Следовательно, процессы образования и диссоциации мостиков можно описывать уравнениями мономолекулярной кинетики. (5) Сила, приходящаяся на один мостик в зоне перекрытия нитей, не зависит от степени перекрытия нитей, несмотря на изменение расстояния между нитями (см. рис. XXV.9). Из этого следует, что мостики функционируют независимо, а мышца может рассматриваться как одномерная система, т. е. свойства мостика могут описываться только одной механической координатой. Механическая координата мостика может изменяться только при скольжении нитей.

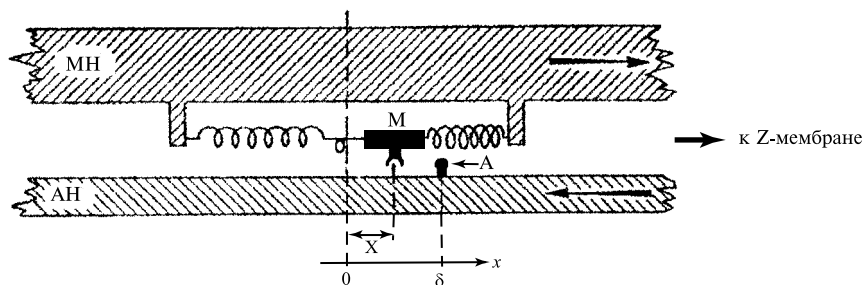


Рис. XXV.12.

Модель миозинового мостика (по А. Ф. Хаксли, 1957)

МН — миозиновая нить; АН — актиновая нить; М — актин-связывающий сегмент миозинового мостика; А — актиновый центр;  $x$  — координата мостика;  $\delta$  — координата актинового центра; 0 — равновесное положение миозинового мостика. Стрелками показаны направления относительного скольжения нитей при сокращении мышцы

**Теории Э. Хаксли и В. И. Дещеревского.** Основные подходы к теоретическому моделированию процесса мышечного сокращения в рамках модели скольжения и мостиковой гипотезы независимых генераторов силы были сформулированы Э. Хаксли (1957). На рис. XXV.12 показана схема мостика, предложенная Хаксли. Хотя она является очень упрощенной и не соответствует современным данным о молекулярной структуре мостика, на ее примере удобно ввести основные понятия, используемые при математическом моделировании мышечного сокращения.

Буквой М на рисунке обозначен миозиновый мостик, способный осциллировать возле равновесного положения 0 под действием тепловых флуктуаций. А — актиновый центр, вошедший в зону замыкания мостика М. Обозначим расстояние



Обозначим буквой  $\delta$ . Введем координату мостика  $x$ , равную величине его отклонения от равновесного положения 0. При достаточной величине тепловой флуктуации мостик достигнет координаты  $\delta$  и замкнется на актиновой нити. Развиваемая при этом сила, обусловленная упругой деформацией пружин, будет стремиться вызвать относительное движение нитей в направлениях, указанных стрелками. Такое движение нитей соответствует уменьшению координаты мостика (движению мостика влево вдоль оси координат  $x$ ). При этом развиваемая мостиком сила, в соответствии с законом Гука, линейно уменьшается, становясь отрицательной при  $x < 0$  (см. рис. XXV.14, а). Цикл мостика в такой схеме включает только два состояния — свободное  $\alpha$  и замкнутое  $n$ :



где константы скоростей замыкания  $k_1$  и размыкания  $k_2$  являются функциями координаты мостика. Хаксли постулировал, что константа скорости замыкания  $k_1 > 0$  лишь в некотором диапазоне координат  $[0, \delta]$  («зона замыкания») справа от положения  $x = 0$ , т. е. в области положительных сил. Константа скорости размыкания мостика  $k_2$  в этом же диапазоне координат невелика, но значительно возрастает при  $x < 0$ , т. е. в области отрицательных сил. В каждом цикле «замыкание—размыкание» гидролизуеться одна молекула АТФ.

Вследствие несоизмеримости периода повторения мостиков на миофибриллярной нити (42,9 нм) и осевого периода актиновой спирали (36 нм), разные мостики в мышце будут находиться на разных расстояниях до ближайшего актинового центра (т. е. иметь разные координаты  $x$ ). В результате этого при активации в мышце образуется почти непрерывный набор замкнутых мостиков, различающихся по координате  $x$ . Это дает возможность ввести функцию плотности распределения числа замкнутых мостиков по координате мостика  $x$  —  $\rho_n(x, t)$  — таким образом, что  $\rho_n(x, t) \cdot \Delta x$  соответствует числу мостиков в момент времени  $t$  с координатами в диапазоне  $[x, x + \Delta x]$ , а полное число замкнутых мостиков определяется как

$$n = \int_{-\infty}^{+\infty} \rho_n(x) dx.$$

На основании цикла (XXV.5.1) для  $\rho_n(x)$  можно записать кинетическое дифференциальное уравнение в частных производных:

$$\frac{\delta \rho_n(x, t)}{\delta t} = (\rho_0 - \rho_n) \cdot k_1 - \rho_n k_2, \quad (\text{XXV.5.2})$$

где  $\rho_0(x) = \text{const}$  — плотность распределения полного числа мостиков по координате  $x$ . Учет движения мостиков вдоль оси  $x$  при скольжении нитей дает второе дифференциальное уравнение в частных производных:

$$-v \cdot \frac{\delta \rho_n(x, t)}{\delta x} = k_1 \cdot \rho_0 - (k_1 + k_2) \cdot \rho_n, \quad (\text{XXV.5.3})$$

где  $v$  — скорость относительного скольжения нитей. Суммарная сила, развиваемая

мышцей, рассчитывается как

$$P = \int_{-\infty}^{+\infty} \rho_n(x) \cdot f(x) dx, \quad (\text{XXV.5.4})$$

где  $f(x)$  — элементарная сила, развиваемая мостиком с координатой  $x$ .

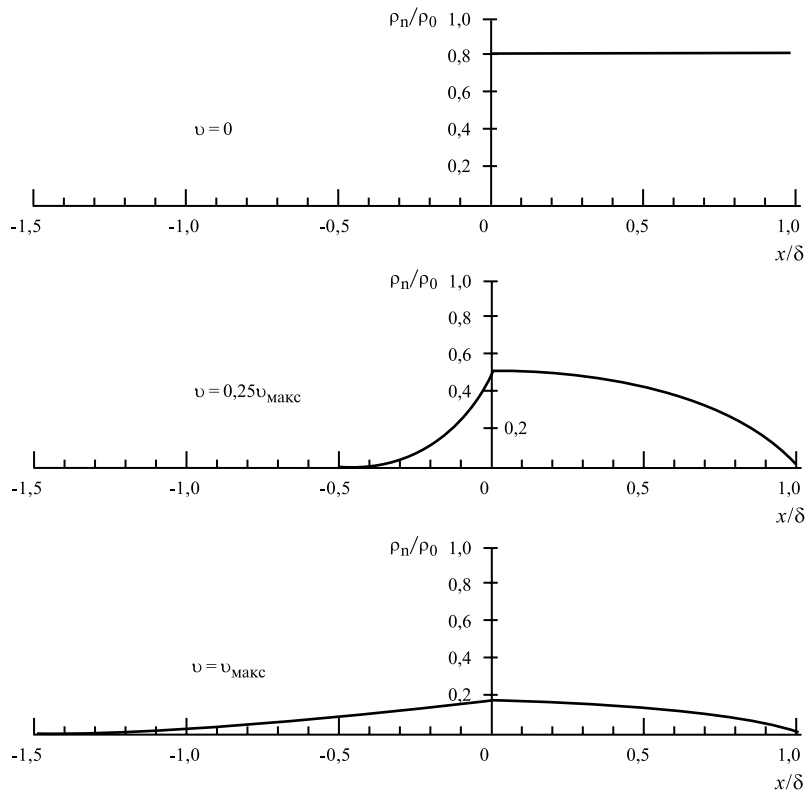


Рис. XXV.13.

Плотность распределения числа замкнутых мостиков  $\rho_n$  по координате мостика  $x$  при трех разных скоростях скольжения нитей (по А. Ф. Хаксли, 1957).

$\rho_0$  — функция плотности распределения полного числа мостиков по координате  $x$ ;  $\delta$  — ширина рабочей зоны мостика;  $v_{\text{макс}}$  — максимальная скорость скольжения нитей.

Численное интегрирование системы уравнений (XXV.5.2), (XXV.5.3) позволяет определить плотность распределения числа замкнутых мостиков по координате  $x$  —  $\rho_n(x)$  — для разных скоростей движения нитей. Затем с помощью уравнения (XXV.5.4) можно рассчитать величину развиваемой силы. Подобрал простые кусочно-линейные функции для зависимостей  $k_1$ ,  $k_2$  и  $f$  от  $x$ , Хаксли провел расчеты  $\rho_n(x)$ ,  $P$  и  $\frac{dE}{dt}$ . На рис. XXV.13 приведены зависимости  $\rho_n(x)$ , полученные им для

трех разных скоростей скольжения нитей. При изометрическом сокращении, когда  $v = 0$ , функция  $\rho_n(x)$  не равна нулю лишь для  $x > 0$ , где ее величина не зависит от  $x$  и определяется соотношением констант скоростей замыкания и размыкания мостиков. Если  $v > 0$ , число замкнутых мостиков становится зависимым от координаты мостика. При скольжении нитей часть замкнутых мостиков переходит в область  $x < 0$ , где, прежде чем разомкнуться, они развивают отрицательную силу.

Как видно из рис. XXV.2, Хаксли смог получить соотношение между нагрузкой  $P$  и скоростью скольжения нитей  $v$ , совпадающее с соотношением Хилла (XXV.2.1). Кроме того, при расчете скорости энергопродукции мышцы он получил линейную зависимость  $\frac{dE}{dt}$  от  $(P_0 - P)$ , соответствующую уравнению (XXV.2.2), которое считалось верным по представлениям тех лет.

Теория Хаксли была упрощена и усовершенствована В. И. Дещеревским. В его кинетической теории рассмотрена модель работы мостика с трехстадийным кинетическим циклом:



включающим одно свободное состояние  $\alpha$  мостика и два замкнутых — тянущее  $n$  при  $x > 0$  («тянущая» зона) и тормозящее  $m$  при  $x < 0$  («тормозящая» зона). Таким образом, одно замкнутое состояние, постулированное Хаксли, разбивается на два состояния в зависимости от знака развиваемой силы. Кроме того, вводится ряд упрощений. Рассмотрен только предельный случай, когда константы скоростей обратных переходов в цикле мостика пренебрежимо малы, и их можно не учитывать. Постулируется, что и развиваемая сила (рис. XXV.14, б), и константы скоростей переходов между стадиями цикла ( $k_1$ ,  $k_2$ ,  $v/\delta$ ) не зависят от координаты мостика. Рабочий цикл мостика в такой схеме можно описать следующим образом.

Мостик замыкается в начале тянущей зоны при координате мостика  $x = \delta$  и начинает развивать тянущую силу  $F = +f$ . Рабочий ход мостика жестко связан со скольжением нитей. На рис. XXV.14 ему соответствует уменьшение координаты мостика (движение влево по оси  $x$ ). По достижении координаты  $x = 0$  мостик заканчивает рабочий ход и переходит в тормозящее состояние, в котором он развивает тормозящую силу  $F = -f$ , и получает возможность разомкнуться. После размыкания мостик снова возвращается в исходное состояние. В тянущей зоне размыкание мостика запрещено.

В соответствии с циклом (XXV.5.5) для числа тянущих ( $n$ ) и тормозящих ( $m$ ) мостиков можно написать систему обыкновенных дифференциальных уравнений:

$$\frac{dn}{dt} = k_1(\alpha_0 - n - m) - v\frac{n}{\delta}, \quad (\text{XXV.5.6})$$

$$\frac{dm}{dt} = v\frac{n}{\delta} - k_2m, \quad (\text{XXV.5.7})$$

где  $\alpha_0$  — полное число доступных для замыкания мостиков.

При стационарном режиме сокращения, когда  $v = \text{const}$ , производные по времени от числа тянущих и тормозящих мостиков  $\frac{dn}{dt} = \frac{dm}{dt} = 0$ , а сумма сил, развиваемых тянущими и тормозящими мостиками, равна нагрузке, приложенной к

мышце:

$$P = f \cdot (n - m). \quad (\text{XXV.5.8})$$

В этом случае решение системы (XXV.5.6)–(XXV.5.7) может быть получено аналитически, т. е. в виде формулы:

$$\left(P + \frac{k_1}{k_1 + k_2} f \cdot \alpha_0\right) \cdot v = k_2 \delta \frac{k_1}{k_1 + k_2} (f \cdot \alpha_0 - P). \quad (\text{XXV.5.9})$$

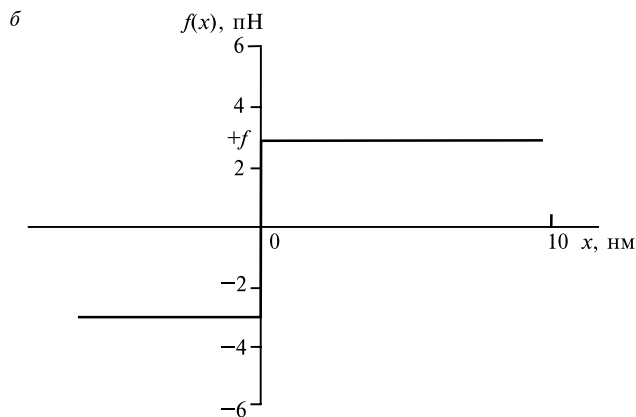
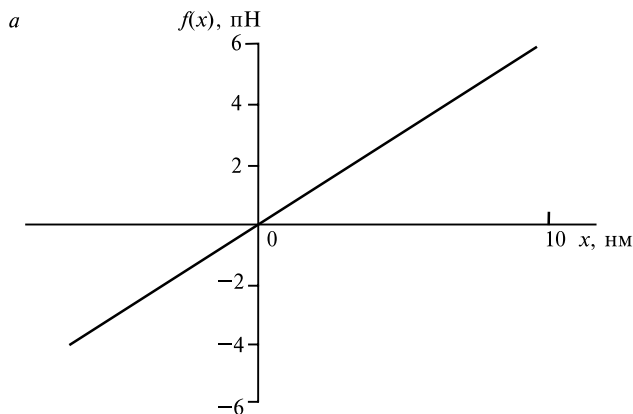


Рис. XXV.14.

Сила  $f$ , развиваемая замкнутым мостиком, в зависимости от координаты мостика  $x$ .

*a.* Зависимость, постулируемая в теории Хаксли 1957 г. (по White, Thorson, 1973);  
*б.* Зависимость, постулируемая в кинетической теории мышечного сокращения В. И. Дещеревского (по В. И. Дещеревский, 1977).  
 $x = \delta$  — начало «тянущей» зоны

Полученное соотношение между скоростью укорочения мышцы и развиваемой силой полностью совпадает с характеристическим уравнением Хилла (XXV.2.1). Коэффициенту  $a$  уравнения Хилла соответствует выражение  $a = \frac{k_1}{k_1 + k_2} f \cdot \alpha_0$ , тогда как коэффициент  $b = k_2 \cdot \delta \frac{k_1}{k_1 + k_2}$ , так что при  $f \cdot \alpha_0$  и  $k_2 \cdot \delta = v_{\text{макс}}$  соотношение  $b = \frac{a}{P_0} v_{\text{макс}}$  также выполняется.

Сопоставление соотношений (XXV.2.1) и (XXV.5.9) позволило провести оценку параметров цикла мостика  $f$ ,  $\delta$ ,  $k_1$ ,  $k_2$ . Для портняжной мышцы лягушки  $P_0 = 3 \cdot 10^6$  дин/см<sup>2</sup>,  $a/P_0 = 0,25$ ;  $v_{\max} = 1,5 \cdot 10^{-4}$  см/сек при 0° С. Считая, что в мышечном слое толщиной в половину саркомера с поперечным сечением 1 см<sup>2</sup> число мостиков  $\alpha_0 = 10^{13}$ , энергия гидролиза одной молекулы АТФ при физиологической ионной силе  $\epsilon = 3 \cdot 10^{-13}$  эрг и полагая, что значение положительной работы в цикле  $f \cdot \delta = \epsilon$ , получим  $f = 3 \cdot 10^{-7}$  дин,  $\delta = 10^{-6}$  см,  $k_1 = 50$  сек<sup>-1</sup>,  $k_2 = 150$  сек<sup>-1</sup>.

Стационарные количества тянущих  $n$  и тормозящих  $m$  мостиков, соответственно, в кинетической теории равны:

$$n = \frac{k_1(f\alpha_0 + P) + k_2P}{f(2k_1 + k_2)}; \quad m = \frac{k_1(f\alpha_0 - P)}{f(2k_1 + k_2)},$$

так что полное число замкнутых мостиков

$$n + m = \frac{2k_1 f\alpha_0 + k_2P}{f(2k_1 + k_2)}. \quad (\text{XXV.5.10})$$

При подстановке в это уравнение полученных выше значений параметров цикла мостика получаем  $(n + m)/\alpha_0 = 0,4 \cdot (1 + 1,5P/P_0)$ , что хорошо согласуется с экспериментальными данными: при увеличении нагрузки относительная жесткость мышцы, которую принято связывать с числом замкнутых мостиков, линейно растет от 0,3–0,4 при  $P = 0$  до 1 при  $P = P_0$ .

Стационарная скорость энергопродукции в кинетической теории пропорциональна скорости размыкания тормозящих мостиков:

$$\frac{dE}{dt} = k_2 \cdot m \cdot \epsilon = \epsilon \frac{k_1 k_1}{2k_1 + k_2} \cdot (f\alpha_0 - P) = \frac{(k_1 + k_2)\epsilon}{2k_1 + k_2} \cdot b \cdot (P_0 - P), \quad (\text{XXV.5.11})$$

где  $\epsilon$  — энергия, освобождающаяся при гидролизе одной молекулы АТФ.

Итак, в кинетической теории, благодаря введенным упрощениям, система дифференциальных уравнений в частных производных (XXV.5.2), (XXV.5.3), предложенная Э. Хаксли, заменяется системой обыкновенных дифференциальных уравнений (XXV.5.6), (XXV.5.7). Это позволило, в отличие от теории Хаксли, получить оба уравнения Хилла (XXV.2.1) и (XXV.2.2), а также зависимость жесткости мышцы от нагрузки аналитически, т. е. в виде формул. Это означает, что совпадение теоретических кривых с экспериментальными зависимостями в кинетической теории не связано с подгонкой произвольно постулируемых параметров цикла мостика от его координаты, как в теории Хаксли, а полностью обеспечивается особенностями кинетического цикла мостика. Однако кинетическая теория, как и теория Хаксли, позволяет получить только линейное соотношение между скоростью энергопродукции и нагрузкой, что, согласно современным данным, справедливо лишь для  $P > P_0$ . По-видимому, это связано с тем, что при высоких скоростях скольжения нитей какие-то из упрощений кинетической теории перестают выполняться.

Несмотря на простоту математического аппарата кинетической теории, Децеровский, используя один и тот же набор параметров цикла мостика, провел успешные расчеты основных закономерностей не только стационарных режимов сокращения скелетных мышц, но и колебательных режимов сокращения летательных мышц насекомых, а также кинетики гидролиза АТФ в растворах мышечных белков

как при наличии, так и в отсутствие тропонин-тропомиозинового регуляторного комплекса.

Таким образом, и теория Хаксли, и теория Дещеревского удовлетворительно описывали основные экспериментальные данные по механике и энергетике стационарных и медленных (с временным разрешением  $> 5$  мсек) нестационарных режимов сокращения. Позже, при исследовании быстрых нестационарных режимов с временным разрешением  $\approx 1$  мсек было обнаружено, что для объяснения поведения мышцы в этих режимах необходимо рассматривать цикл мостика, включающий несколько последовательных состояний с  $f > 0$ . Наличие нескольких промежуточных состояний в рабочем цикле мостика следует и из биохимических данных (см. § 4). Необходимо отметить, что в обеих рассмотренных выше теориях имелась принципиальная возможность введения нескольких дополнительных промежуточных состояний замкнутого мостика в зависимости от его координаты. Однако распределение мостиков между этими состояниями считалось равновесным. Это предположение было оправданным и позволяло получать правильное описание поведения мышцы в стационарных и медленных нестационарных режимах с помощью одного усредненного состояния мостика. В быстрых нестационарных режимах, когда распределение мостиков между состояниями становится неравновесным, процесс перераспределения мостиков между состояниями начинает играть решающую роль, что требует правильного моделирования свойств замкнутого мостика. В следующем параграфе нестационарные режимы сокращения будут рассмотрены более подробно.

## § 6. Моделирование нестационарных режимов сокращения

**Экспериментальные результаты.** Исследования нестационарных режимов сокращения мышцы с высоким временным разрешением ведутся, начиная с 60–70-х годов и связаны с именами Подольского, Э. Хаксли, Симмонса, Ломбарди. Наиболее информативными являются экспериментальные исследования, связанные с быстрым ступенчатым изменением длины мышцы. В таких режимах мышцу стимулируют, давая возможность развить максимальное изометрическое натяжение  $P_0$ , а затем на некоторый промежуток времени  $\Delta t$  освобождают один из ее концов, позволяя укоротиться на величину  $\Delta l$  (рис. XXV.15). Развиваемая сила вначале падает почти пропорционально укорочению (фаза 1), а затем восстанавливается до исходного уровня. При очень быстрых укорочениях ( $\Delta t < 1$  мсек) процесс восстановления силы становится нелинейным и включает несколько стадий (фаз), сильно различающихся по временным параметрам. Сразу по окончании укорочения сила быстро, за 1–2 мсек, восстанавливается до некоторого промежуточного уровня (фаза 2). Скорости восстановления силы в этой фазе может быть различной и увеличивается с ростом величины укорочения. Затем некоторое время —  $5 \div 20$  мсек — сила держится почти на постоянном уровне (фаза 3, так называемое «плато» натяжения), после чего медленно восстанавливается до исходной изометрической силы. Величины сил в конце фазы 1 — ( $T_1$ ) и в конце фазы 2 — ( $T_2$ ) зависят от величины укорочения (рис. XXV.16), достигая нулевого значения при  $\Delta l = 4\text{--}5$  нм для  $T_1$  и при  $\Delta l = 10\text{--}12$  нм для  $T_2$ .

В фазе «плато» (см. рис. XXV.15) натяжение почти не изменяется, но в мышце происходят активные восстановительные процессы, которые можно выявить,

проводя повторные укорочения (рис. XXV.17). Вначале, при первых укорочениях величина натяжения, восстановленного в фазе 2, для каждого последовательного укорочения становится все меньше. Однако, как только величина суммарного укорочения достигнет величины 10–15 нм на половину саркомера, ответная реакция

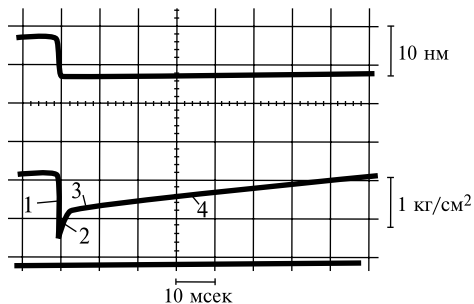


Рис. XXV.15.

Изменения натяжения после быстрого ступенчатого укорочения активированной мышцы за время  $\Delta t = 1$  мсек (по А. Ф. Никлеу, 1974).

Верхняя кривая — изменение длины в пересчете на 0,5 саркомера; нижняя — изменение натяжения. Начальная стадия (развитие изометрического натяжения) не показана (см. рис. XXV.17).

Цифрами обозначены последовательные фазы переходных изменений натяжения: падение натяжения в ходе укорочения (1); быстрое частичное восстановление натяжения (2); стадия «плато» натяжения (3); медленное возвращение к исходному уровню (4)

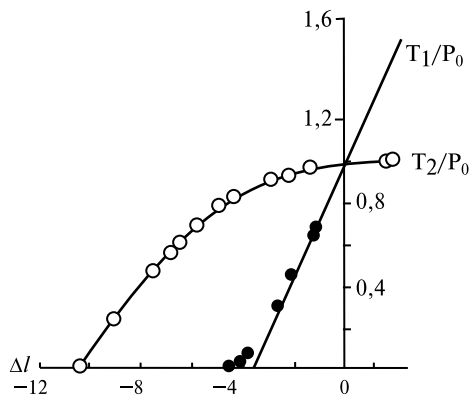


Рис. XXV.16.

Зависимость натяжения в конце фазы 1 —  $T_1$  и фазы 2 —  $T_2$  переходных изменений натяжения после быстрого укорочения, развивающего изометрическое натяжение мышечного волокна, от величины укорочения  $\Delta l$  при длительности укорочения 0,15 мсек (по G. Piazzesi, V. Lombardi, 1995).

$P_0$  — изометрическое натяжение; величина  $\Delta l$  соответствует укорочению половины саркомера.

мышцы становится «циклической». Кривые падения и восстановления натяжения после каждого укорочения полностью повторяются, т. е. мышца ведет себя так, словно в интервалах между укорочениями способность мостиков отвечать на быстрое укорочение (генерировать силу) успевает полностью восстановиться. Механизм возникновения таких «циклических» режимов при многоступенчатом укорочении остается неясным. Повторяющиеся изменения натяжения, по-видимому, обусловлены многократным размыканием и замыканием мостиков. Однако в некоторых случаях «циклический» режим можно получить даже при интервалах между укорочениями  $\sim 5$  мсек, что составляет всего 0,03–0,05 от длительности цикла гидролиза одной молекулы АТФ актомиозином. Это может означать, что процессы размыкания и замыкания мостиков в таких режимах не являются независимыми либо что энергия, освобождающаяся при гидролизе АТФ, может освобождаться не только целиком, но и дробно, частями, за несколько рабочих циклов.

Э. Хаксли и Симмонс (1971) исследовали поведение мышцы в нестационарных режимах при различной величине исходного натяжения  $P_0$ . Проводя эксперименты при разной степени перекрытия нитей или при неполной активации мышцы, они обнаружили, что при изменении  $P_0$  как натяжение  $T_1$  (в фазе 1), так и натяжение

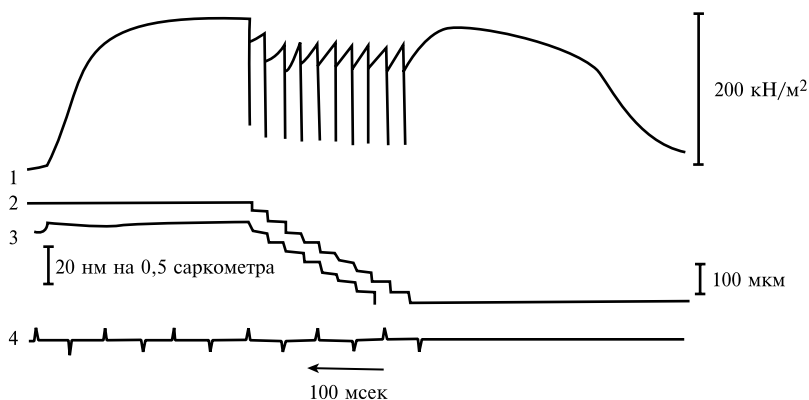


Рис. XXV.17.

Переходные изменения натяжения при многоступенчатом укорочении активированного мышечного волокна (по М. Irving et al., 1992).

1 — натяжение; 2, 3 — длина волокна и полусаркомера, соответственно; 4 — стимулирующие импульсы.

$T_2$  (в фазе 2) изменяются пропорционально  $P_0$ , тогда как скорость восстановления силы (при данной величине укорочения) практически не меняется. Исходная жесткость мышцы также изменяется пропорционально  $P_0$ . Однако и во время падения натяжения при ступенчатом укорочении, и во время его быстрого восстановления изменений жесткости мышцы не наблюдается. Это свидетельствует о том, что, в отличие от стадии «плато», процессы, происходящие в течение первых двух фаз, не связаны с перезамыканием мостиков и определяются только свойствами отдельного замкнутого мостика. Для их выяснения следует рассмотреть поведение мышцы в этих двух фазах более подробно. Это удобно сделать, используя модель так называемого элемента Войта (рис. XXV.18).

Элемент Войта (рис. XXV.18a) представляет собой две соединенные последовательно пружины — недемпфированную упругость  $K_1$  и упругость  $K_2$ , задемпфированную некоторой вязкостью  $\eta_2$ . На рис. XXV.18b показаны изменения натяжения в элементе Войта, происходящие после его быстрого ступенчатого укорочения. Предполагается, что в исходном состоянии обе пружины растянуты и элемент развивает некоторую силу  $P_0$ . При достаточно быстром укорочении начальная фаза, как и в мышце, сводится к линейному падению натяжения в недемпфированной упругости  $K_1$ . Восстановление натяжения во второй фазе обусловлено замедленным укорочением демпфированной упругости  $K_2$ , приводящим к частичному восстановлению исходного растяжения недемпфированной упругости. Очевидно, что  $T_1 = 0$



при величине укорочения  $\Delta l$ , равной исходному растяжению пружины  $K_1$ , т. е. наклон прямой  $T_1(\Delta l)$  сразу дает жесткость пружины  $K_1$ , тогда как  $T_2 = 0$  при  $\Delta l$ , равном сумме исходных растяжений обеих пружин, так что наклон прямой  $T_2(\Delta l)$  определяется соотношением их жесткостей.

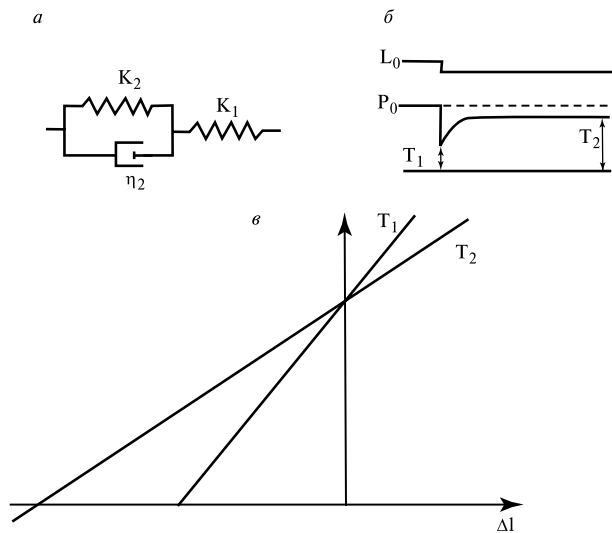


Рис. XXV.18.

Изменения натяжения при ступенчатом укорочении элемента Войта (по J. Squire, 1981).

а. Схема элемента Войта.  $K_1$ ,  $K_2$  — упругие элементы;  $\eta_2$  — элемент с вязкостью.

б. Переходы натяжения после быстрого ступенчатого укорочения элемента Войта. Верхняя кривая — длина, нижняя — натяжение;  $L_0$  — исходная длина элемента Войта;  $P_0$  — сила, развиваемая элементом до начала укорочения;  $T_1$  — натяжение в конце фазы 1;  $T_2$  — натяжение в конце фазы 2.

в. Зависимость  $T_1$  и  $T_2$  от величины укорочения  $\Delta l$  для элемента Войта.

Итак, и в мышце, и в элементе Войта временной ход изменений натяжения в первых двух фазах одинаков — падение натяжения и последующее быстрое частичное восстановление. При этом зависимость  $T_1(\Delta l)$  в обоих случаях линейна. Это свидетельствует о наличии у замкнутого мостика упругих свойств, аналогичных свойствам недемпфированной упругости  $K_1$  элемента Войта (так называемая последовательная упругость). Зависимость  $T_2(\Delta l)$  в мышце, в отличие от элемента Войта, нелинейна. Это означает, что модель мостика — генератора силы не может быть сведена к пассивному вязкоупругому элементу, как в модели Войта. При скольжении нитей мостик проходит через несколько активных состояний, в каждом из которых он способен генерировать силу. Было предложено несколько моделей замкнутого мостика для объяснения поведения мышцы в нестационарных режимах. Некоторые из них будут рассмотрены в следующем разделе.

**Модели мостика, генерирующего силу.** Существуют различные модели мостика, генерирующего силу. Э. Хаксли и Симмонс предложили модель мостика (рис. XXV.19), в которой, по аналогии с элементом Войта, имеется последовательный упругий элемент, дополнительный к генерирующему силу элементу. Упругий элемент может быть локализован в субфрагменте 2 миозина, как показано на рисунке, либо в любом другом участке мостика, включая актин. Генерация натяжения в модели сопряжена с активными переходами между несколькими промежуточными состояниями замкнутого мостика, которые на схеме соответствуют контактам с разными парами точек актинового центра (на схеме для простоты показаны четыре точки контакта). Первоначальное замыкание — с контактом по

точкам 1, 2 — не связано с генерацией силы; мостик генерирует силу и растягивает последовательный упругий элемент при переходе из этого состояния в состояние с контактами по точкам 2 и 3, а затем, после относительного скольжения нитей, — по точкам 3 и 4, и т. д.

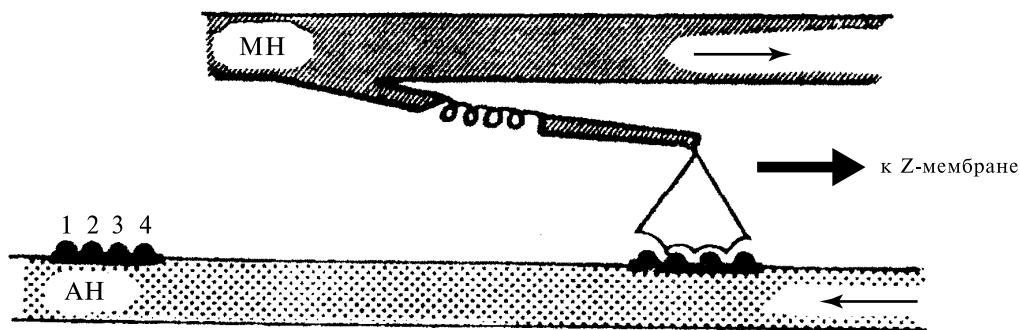


Рис. XXV.19.

Модель мостика Э. Хаксли—Симмонса (1971) (по Woledge R., 1992).

МН — миозиновая нить; АН — актиновая нить; 1, 2, 3, 4 — последовательные точки контакта миозиновой головки с актиновым центром. На рисунке показано состояние мостика с контактами в точках 2 и 3 (стрелками указано направление сил, действующих со стороны мостика на актиновую и миозиновую нити)

В рамках новой модели мостика получает простое объяснение ускорение стадии быстрого восстановления натяжения в фазе 2 с ростом амплитуды укорочения (см. стр. 246). При продвижении нитей навстречу друг другу в результате скачка длины в последовательном упругом элементе замкнутого мостика возникает упругая деформация (сжатие), пропорциональная амплитуде скачка. Потенциальная энергия этой деформации будет понижать активационный барьер для переходов слева направо (от контактов по точкам 1–2 к контактам по точкам 2–3 и т. д.). Так как восстановление натяжения в фазе 2, согласно модели Хаксли—Симмонса, обусловлено этими переходами, то понижение активационного барьера будет приводить к значительному ускорению процесса восстановления натяжения, что и наблюдается в эксперименте.

Другой способ объяснения упругих свойств замкнутого мостика предложен Айзенбергом и Т. Хиллом (рис. XXV.20). Согласно их модели, линейная зависимость между натяжением и координатой мостика в фазе 1 возникает вследствие его движения в потенциальной яме параболического типа, т. е. с квадратичной зависимостью между потенциальной энергией и координатой мостика. Разным биохимическим состояниям и разным механическим состояниям в модели соответствуют разные участки потенциальной поверхности.

На рис. XXV.20 показана поверхность потенциальной энергии для двух различных состояний 1 и 2 замкнутого мостика, постулируемая в модели Айзенберга и Хилла. Свойства мостика в состоянии 1 определяются формой потенциальной

ямы  $G_1$  с минимумом потенциальной энергии 10 ккал/моль, соответствующим углу наклона мостика  $90^\circ$  (и координате  $x = 12$  нм). Состояние 2 соответствует потенциальной яме  $G_2$  с минимумом потенциальной энергии при угле наклона мостика  $45^\circ$  (и координате  $x = 0$ ). Изменение угла наклона мостика, на схеме соответствующее движению по горизонтали, возможно лишь при скольжении нитей; изменение биохимического состояния, на схеме соответствующее движению по вертикали,

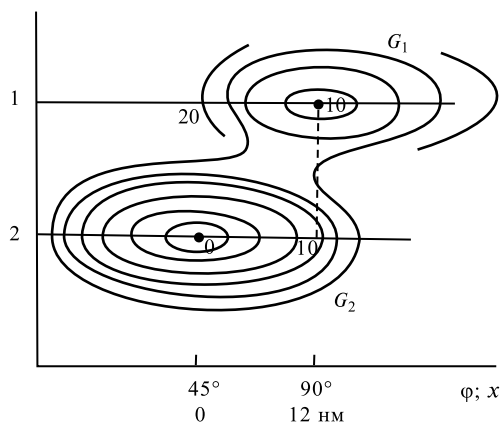


Рис. XXV.20.

Двумерная схема поверхности потенциальной энергии для модели замкнутого мостика с двумя устойчивыми состояниями 1 и 2 (по Е. Eisenberg, Т. Hill, 1978).

Показаны проекции на плоскость рисунка линий, соединяющих точки с одинаковой величиной потенциальной энергии; для некоторых из них указана величина потенциальной энергии в ккал/моль. Движение по оси  $y$  соответствует изменению биохимического состояния; движение по оси  $x$  — изменению механической координаты  $x$  или угла наклона мостика  $\varphi$ .  $G_1, G_2$  — потенциальные ямы, соответствующие состояниям 1 и 2 замкнутого мостика.

возможно и без изменения угла наклона мостика. На рис. XXV.21 представлена проекция потенциальных ям  $G_1$  и  $G_2$  на плоскость, перпендикулярную плоскости рис. XXV.20. Ось  $y$  на рис. XXV.21 соответствует величине свободной энергии замкнутого мостика  $G$ . Айзенберг и Хилл предположили, что потенциальная яма  $G_1$  (рис. XXV.21) соответствует комплексу  $AM \cdot ADP \cdot P_n$ , тогда как потенциальная яма  $G_2$  — комплексу  $AM \cdot ADP$ , т. е. переход между эквипотенциальными участками потенциальных ям  $G_2$  и  $G_1$ , указанный на рис. XXV.20 вертикальной пунктирной линией, сопряжен со связыванием или с освобождением фосфата и, соответственно, с генерацией силы. Затем, если скольжение нитей разрешено, мостик получает возможность движения к минимуму потенциальной энергии ямы  $G_2$  (рабочий ход мостика).

В модели Айзенберга и Хилла генерируемая мостиком сила при его движении в параболической потенциальной яме является линейной функцией координаты мостика независимо от наличия гуковского упругого элемента. Кроме того, модель предоставляет возможность проведения хотя бы качественного сопоставления биохимических состояний мостика в цикле гидролиза АТФ с его структурными и механическими состояниями. Однако, к сожалению, и в модели Айзенберга—Хилла, и в модели Хаксли—Симмонса параметры цикла мостика недостаточно конкретизированы для адекватного математического моделирования сокращения мышцы и требуют введения большого количества произвольно постулируемых функций. Кроме того, в обеих моделях возникают принципиальные трудности при попытке совместить требования, необходимые для описания в рамках единого набора

параметров как стационарных режимов сокращения, так и быстрых переходных режимов.

В начале 90-х годов Пиаззеси и Ломбарди сделали попытку разрешить это противоречие, введя гипотетическое предположение о возможности использования энергии гидролиза одной молекулы АТФ в нескольких рабочих циклах мостика. Согласно их модели, при некоторых условиях мостик после замыкания и генера-

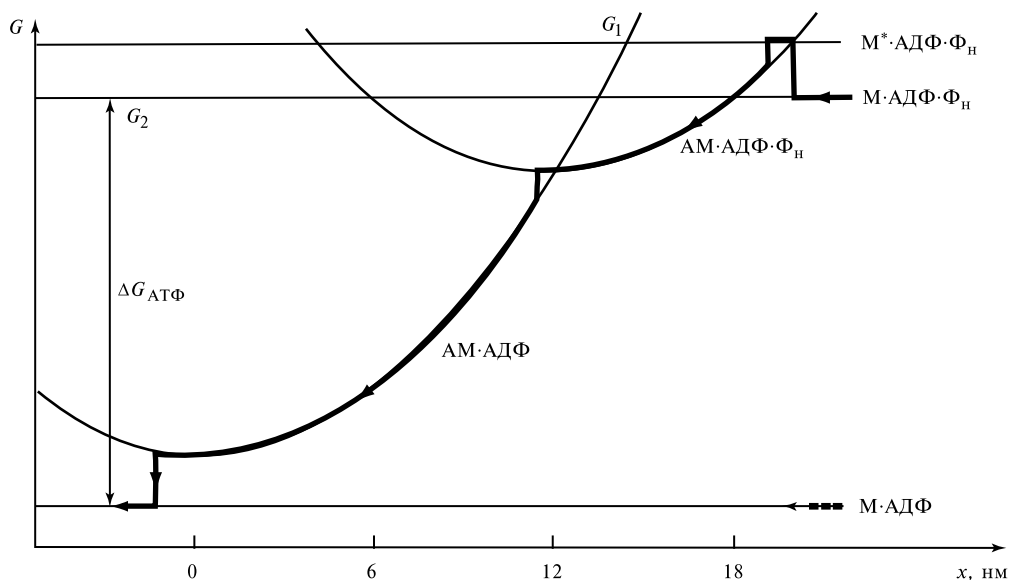


Рис. XXV.21.

Зависимость свободной энергии  $G$  от координаты мостика  $x$  для модели Айзенберга—Т. Хилла (по E. Eisenberg et al., 1980).

$M \cdot \text{АТФ}$ ,  $M \cdot \text{АДФ} \cdot \text{Ф}_n$ ,  $M^* \cdot \text{АДФ} \cdot \text{Ф}_n$ ,  $\text{AM} \cdot \text{АДФ} \cdot \text{Ф}_n$ ,  $\text{AM} \cdot \text{АДФ}$  — последовательные стадии цикла мостика;  $\Delta G_{\text{АТФ}}$  — величина свободной энергии, освобождающейся при гидролизе одной молекулы АТФ;  $G_1$  и  $G_2$  соответствуют состояниям 1 и 2 на рис. XXV.20; жирной линией показано изменение потенциальной энергии мостика при скольжении нитей (путь мостика в рабочем цикле)

ции силы способен диссоциировать с актиновой нити на одной из промежуточных стадий рабочего цикла без участия АТФ. В модели предполагается, что такой мостик, разомкнувшийся после «короткого» рабочего хода, обладает более высокой свободной энергией, чем мостик, завершивший «длинный» рабочий ход, и способен к повторению «короткого» рабочего хода. Подобрав кинетические параметры цикла с «коротким» рабочим ходом в соответствии с закономерностями медленных стационарных режимов, а цикла с «длинным» рабочим ходом — с особенностями высокоскоростных нестационарных режимов, авторы смогли получить практически исчерпывающее математическое описание поведения мышцы. Однако и в этой модели успех связан с использованием слишком большого числа произвольно варьируемых параметров. Так, например, произвольным является разбиение энергии

гидролиза АТФ между «длинным» и «коротким» рабочим ходом, которое авторы никак не связывают с биохимическими состояниями мостика. Не получают достаточного обоснования ни постулируемые в модели сложные линейно-экспоненциальные зависимости большого набора констант скоростей переходов между различными стадиями рабочих циклов мостика, ни физиологические механизмы, необходимые для выполнения этих сложных зависимостей в мышце. В связи с этим, несмотря на исключительно высокую степень совпадения теоретических кривых с экспериментальными данными, вопросы о молекулярных механизмах работы мостика, включая механизм, обуславливающий нелинейное поведение мышцы в нестационарных режимах, остаются открытыми.

Возможно, что путь к их пониманию лежит в ином направлении и связан с новыми подходами к исследованию мышцы, разработанными в последние годы, такими, как искусственные подвижные системы (*in vitro motility assays*), молекулярная генетика мышечных белков, расшифровка их молекулярных структур и т. д. Рассмотрению некоторых результатов этих исследований будет посвящен следующий параграф.

## § 7. Молекулярный мотор мышцы

**Типы молекулярных моторов.** Мостиковая гипотеза генерации силы была сформулирована более 40 лет тому назад. За истекшие годы была расшифрована структура саркомера и составляющих его белков, с высоким временным разрешением исследована механика и энергетика мышечного сокращения, изучена биохимия реакции гидролиза АТФ актомиозином. Однако молекулярный механизм трансформации химической энергии АТФ в механическую работу продолжает оставаться неясным. Со времени открытия Энгельгардтом и Любимовой АТФазной активности актомиозина и последующей локализации АТФазного центра в глобулярном субфрагменте миозина, субфрагмент 1 начинает претендовать на роль основного элемента мышечного «двигателя». В последнее время эти притязания получают все большее обоснование. Исследования, проведенные с помощью так называемых искусственных подвижных систем показали, что субфрагмент 1 способен осуществлять движение по иммобилизованным актиновым нитям без участия не только миозиновых нитей, но и субфрагмента 2. Обнаружен целый ряд других миозиноподобных «молекулярных моторов», включая многочисленное семейство «одноголовых»миозинов, а также кинезин и цитоплазматический динеин. Предполагают, что в каждой клетке имеется не менее 50 различных молекул, использующих энергию гидролиза АТФ для осуществления движения по актиновым филаментам или по микротрубочкам. В связи с этим вопрос о механизме трансформации энергии с помощью миозина приобретает все большее значение. Недавние успехи в расшифровке структуры глобулярного фрагмента миозина — субфрагмента 1 — позволили прояснить некоторые детали этого механизма.

**Трехмерная структура субфрагмента 1.** Необходимым условием для расшифровки трехмерной структуры белка является наличие высококачественных монокристаллов, пригодных для проведения рентгеноструктурного анализа. Методики получения миозина и его фрагментов известны уже более 30 лет и хорошо разработаны, однако, все попытки кристаллизации длительное время оставались

безуспешными. Лишь в начале 90-х годов для субфрагмента 1 проблема была решена Реймонтом с соавторами благодаря использованию методики метилирования лизиновых аминокислотных остатков, входящих в состав белка.

На рис. 22 показана стереопара молекулярной модели субфрагмента 1 в ленточном представлении, полученная в результате рентгеноструктурного анализа монокристаллов субфрагмента 1 миозина из мышцы цыпленка, с метилированным

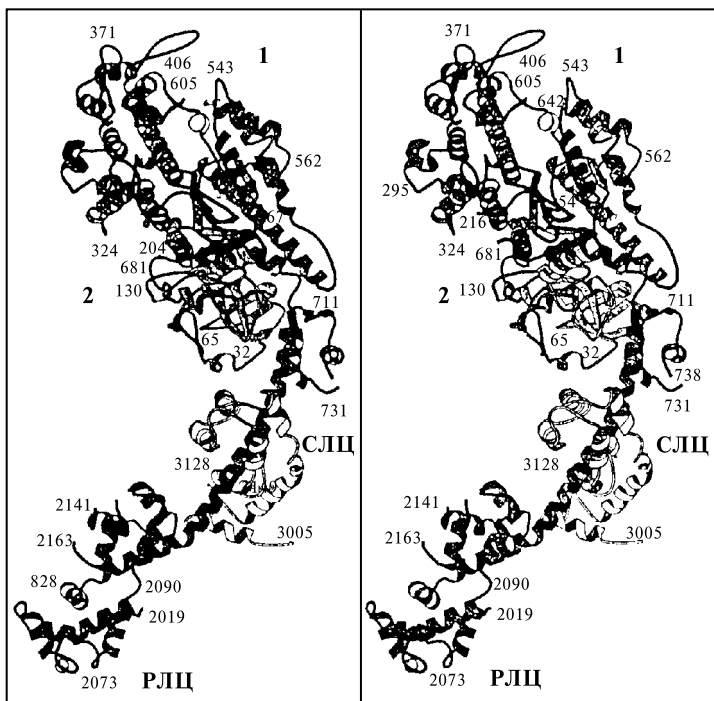


Рис. XXV.22.

Модель молекулярной структуры субфрагмента 1 в «ленточном» представлении (по Rayment I. et al., 1993).

1 — актин-связывающий участок; 2 — АТФазный центр; РЛЦ, СЛЦ — регуляторная и существенная легкие цепи, соответственно

лизином. Указанная на рисунке нумерация аминокислотных остатков начинается с N-конца; для легких цепей к номеру остатка прибавлено 2000 в случае регуляторной РЛЦ и 3000 в случае существенной СЛЦ легкой цепи.

В модели имеется несколько пропусков, соответствующих неупорядоченным участкам первичной последовательности, положение которых в молекуле белка осталось нерасшифрованным. Два таких участка — между Glu<sup>204</sup> и Gly<sup>216</sup>, а также между Tyr<sup>626</sup> и Gln<sup>647</sup> тяжелой цепи расположены вблизи АТФазного и актин-связывающего центров и, по некоторым данным, могут играть важную роль в организации взаимодействия между этими центрами.

Как видно из рисунка, субфрагмент 1 представляет собой массивный «моторный» домен, содержащий центры связывания актина и АТФ, от которого отходит вытянутая, слегка изогнутая «рукоятка» мотора. Основу «рукоятки» составляет длинная ( $\approx 8,5$  нм)  $\alpha$ -спираль, идущая к С-концу субфрагмента 1, стабилизируемая охватывающими ее последовательно существенной и регуляторной легкими цепями. Центр связывания с актином и нуклеотид-связывающий центр представляют собой глубокие вытянутые «карманы», расположенные на противоположных сторонах «моторного» домена на расстоянии  $\sim 4$  нм друг от друга. Обширный нуклеотид-связывающий карман глубиной  $\sim 1,3$  нм, стенки которого сходятся под углом  $\sim 40^\circ$  друг к другу, в модели имеет размеры  $\approx 1,5 \times 1,3$  нм<sup>2</sup> и, по-видимому, соответствует «открытой» конформации активного центра в отсутствие нуклеотида. Связывание АТФ должно приводить к «захлопыванию» кармана, что в случае фиксированного положения актин-связывающего участка на актине может вызывать перемещение С-конца миозиновой головки на расстояние не менее 5 нм.

Верхняя часть «моторного» домена состоит из двух неравных, не имеющих контактов, независимых субдоменов, отделенных друг от друга протяженной узкой щелью, которая начинается непосредственно под нуклеотид-связывающим карманом и проходит сквозь всю головку вплоть до актин-связывающего участка на другой стороне субфрагмента 1. Как показало сопоставление молекулярных структур актина (Холмс и др., 1990) и субфрагмента 1, в образовании прочного контакта между двумя белками могут принимать участие как электростатические взаимодействия комплементарно заряженных групп обоих белков, так и стереоспецифические взаимодействия гидрофобных остатков, расположенных на обоих субдоменах «моторного» домена и на двух соседних глобулах актиновой нити. При этом обеспечение строгого стереоспецифического соответствия контактных участков возможно лишь при закрытой щели в «моторном» домене. Как будет показано ниже, конформационные перестройки, связанные с открыванием и закрыванием этой щели, могут играть важную роль в сопряжении биохимического и механического циклов мостика.

**Молекулярная модель рабочего цикла мостика.** На рис. XXV.23 представлена модель работы мостика, предложенная Реймонтом и др. (1993) на основании проведенной ими расшифровки молекулярной структуры субфрагмента 1 и его комплекса с актином. Исходное состояние — стадия I — соответствует ригорному комплексу в отсутствие нуклеотида. В этом состоянии щель в «моторном» домене закрыта, а АТФазный центр находится в «открытой» конформации. II стадия — связывание АТФ — сопровождается открытием щели в «моторном» домене, что приводит к нарушению стереоспецифического соответствия между контактными участками актина и миозина и диссоциации миозиновой головки. III стадия — на свободной головке происходит захлопывание нуклеотид-связывающего кармана и гидролиз АТФ, сопровождающийся переходом миозиновой головки в неравновесную напряженную конформацию, которая на рисунке отражена в изогнутой форме головки. IV стадия — поиск нового актинового центра, первоначальное нестереоспецифическое связывание миозин-продуктного комплекса на одной из глобул актина. V стадия — образование прочной стереоспецифической связи с двумя глобулами актина, сопровождающееся закрытием щели и диссоциацией фосфата. Уход фосфата, в свою очередь, вызывает обратную конформационную перестройку в «моторном» домене, сопровождающуюся движением С-конца миозиновой головки относительно

актиновой нити — происходит рабочий ход мостика. VI стадия — в результате этих преобразований вновь открывается нуклеотид-связывающий карман, освобождается АДФ, после чего головка возвращается в ригорное состояние.

Важной особенностью модели является предположение о конформационной перестройке в диссоциированной головке, происходящей в результате гидролиза АТФ. Как предполагают авторы, при этом «химическая» свободная энергия,

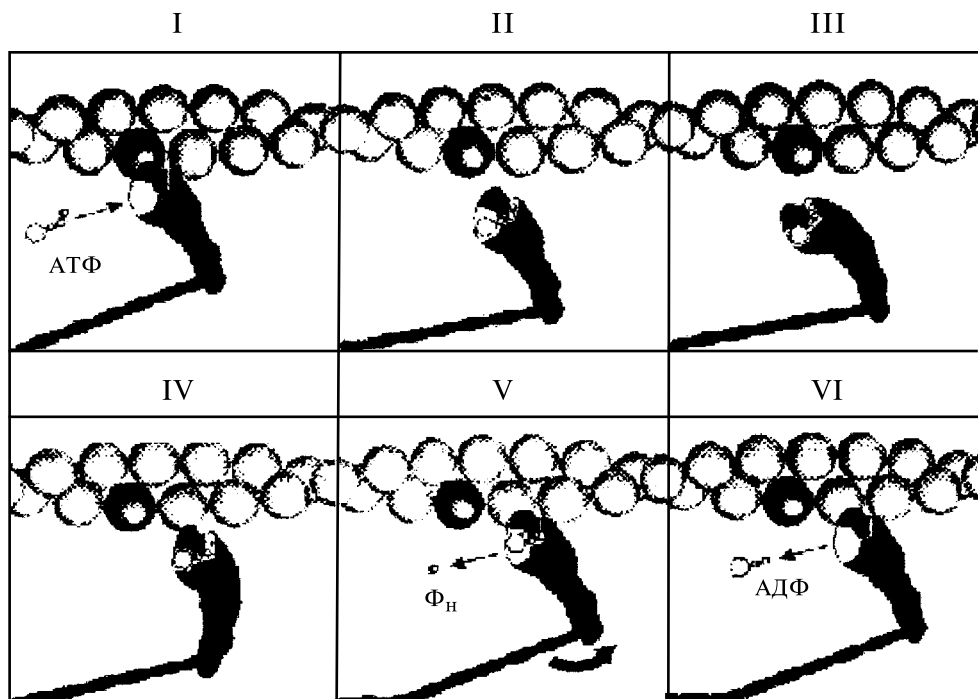


Рис. XXV.23.

Схема сопряжения биохимического и механического циклов мостика (по Raymont I., Holden H., 1994).

I — мостик, замкнутый в отсутствие АТФ; II-IV — последовательные стадии гидролиза АТФ; V, VI — диссоциация фосфата и АДФ, соответственно

освобождающаяся в результате гидролиза, запасается в виде «механической» потенциальной энергии деформации «моторного» домена, которая затем может использоваться для генерации силы и совершения рабочего хода.

Многие положения модели находят подтверждение в результатах других исследований. Так, например, согласно модели, уменьшение длины  $\alpha$ -спиральной «рукоятки» моторного домена должно уменьшать амплитуду рабочего хода. «Укороченный» субфрагмент 1 можно получить либо путем удаления легких цепей, приводящим к свертыванию  $\alpha$ -спирали, либо от мутантных молекул миозина. Как показали проведенные исследования, такие «укороченные» субфрагменты 1 сохраняют свою



актин-активируемую АТФазную активность, однако скорость их движения в искусственных подвижных системах значительно уменьшена.

Авторы модели на данном этапе не конкретизируют последовательность меж- и, возможно, внутридоменных движения, приводящих к открыванию и закрыванию нуклеотидного кармана и щели в моторном домене. Это — предмет дальнейших исследований. Не является окончательной и сама предложенная модель. Остается открытым вопрос о возможных искажениях, вносимых в структуру в результате метилирования остатков лизина. Однако не вызывает сомнений, что работа Реймонта с соавторами — это огромный успех исследователей мышечного сокращения, предоставляющий широкие возможности для объединения усилий молекулярных биологов, биофизиков и биохимиков на пути окончательного решения стоящих в этой области проблем.