

## «Фундаментальная биология вышла на плато» – развитие представлений

В. А. Кордюм, Д. М. Иродов, О. А. Маслова, Т. А. Рубан, Е. М. Сухорада,  
В. И. Андриенко, Н. С. Шувалова, Л. И. Лихачева, С. П. Шпилева

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины  
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, Украина, 03680

kordium@imbg.org.ua

---

*Развивается представление о внутриклеточном транспорте продуктов метаболизма. Оно формируется в виде двух составляющих. Первая в общем виде предложена в предыдущей публикации. В ней обосновано положение о том, что клеточный метаболизм локализован и реализуется не на неподвижных структурах, а на энергично перемещающихся (в основном поступательно – «рысканием») микровезикулах. В настоящей работе продемонстрировано, что при добавлении к мезенхимальным клеткам тетразолия на поверхности рыскающих везикул откладывается формаза. Этот процесс прослежен во времени и показана его динамика. Поскольку образование формаза является общепринятым проявлением метаболизма, то его формирование на везикулах в процессе их движения служит экспериментальным подтверждением протекания метаболизма на подвижных структурах. Вторая составляющая представлена как гипотетическая, что основано на литературных данных о внутриклеточных электропотенциалах и расчетах возможного их участия в прецизионном переносе продуктов метаболизма.*

*Ключевые слова: клеточный метаболизм, микровезикулы, мезенхимальные стволовые клетки, внутриклеточный электропотенциал.*

---

Современное состояние фундаментальных исследований в биологии характеризуется выходом на плато [1]. Это связано с тем, что при наличии гигантского материала о клетке отсутствуют представления, позволяющие реализовать его в виде процессов, непосредственно имеющих место в пространстве клетки и времени их протекания в этом пространстве.

Клеточный метаболизм состоит из сложнейшего и множественного переплетения функционально взаимосвязанных и взаимообусловленных цепей ферментативных реакций. Он осуществляется но-

менклатурой из тысяч макромолекул, обладающих ферментативной активностью [2], счет общего числа которых в каждой клетке идет на сотни тысяч. Для этого они должны быть организованы в пространстве клетки в цепи, обеспечивающие (с учетом требующейся субангстремной точности взаиморасположения) последовательную обработку метаболита и взаимодействие между цепями через конечные/начальные продукты. Учитывая высокую реакционную способность промежуточных продуктов цепей ферментативных процессов, передача «обрабатываемого материала» должна происходить очень быстро, синхронно и строго прецизионно между активными центрами соседних ферментов. Молекулярная

архитектура метаболизма в клетке и механизмы ее прецизионной пространственно-временной работы находятся пока вне внимания современной фундаментальной биологии. Это приводит к тому, что гигантский экспериментальный материал трактуется как функционирующий «естественным путем», по принципу «черного ящика». Но даже при таком подходе реальные расстояния в клетке между участниками цепи процессов и размерами этих участников не дают (в рамках существующих представлений [3–5]) возможности объяснить, как такое может происходить. С учетом же того, что участники событий образуются в разных компартментах клетки и должны собраться все вместе, в нужной точке, в нужное время и в правильной взаимной ориентации, возникают дополнительные неразрешимые проблемы. А все представления о внутриклеточном сортировке и транспорте отсортированного на везикулах демонстрируют только то, что для имеющегося разнообразнейшего набора макро- и иных молекул такая система обеспечить организацию метаболизма в пространстве клетки в реальном времени не может. Все структуры клетки известны. И по номенклатуре их оказывается совсем немного.

#### Структура клетки:

ядро;

цитоплазматическая мембрана;

фибриллярные структуры:

– микротрубочки;

– промежуточные филаменты;

– актиновые нити;

аппарат Гольджи;

эндоплазматический ретикулум:

– шероховатый;

– гладкий;

лизосомы;

пероксисомы;

эндосомы;

митохондрии.

И есть еще «цитозоль». Что это? Изучены эти все структуры если не исчерпывающе, то вполне достаточно для современных представлений о том, что в них происходит. Концептуально современ-

ные представления основаны на «системном сортировке», в котором нет места индивидуальным цепям и их совмещениям (не говоря уже о прецизионности, которая и не упоминается). Но даже в таком варианте это все относится к белкам (и, частично, к липидам). «Транспорт белков в секреторных и внутриклеточных путях эукариотических клеток определяется везикулярным транспортом промежуточных продуктов» [6]. «Транс-Гольджи сеть (TGN) является основным секреторным путем, сортировочной станцией, которая направляет вновь синтезируемые белки в различные субклеточные места назначения. TGN также получает внеклеточный материал и рециклирует молекулы во внутриклеточных компартментах» [7]. Для этого на поверхности везикул имеются специальные белки, обеспечивающие контакт с сортируемым белком, а для проникновения внутрь служат лидерные пептиды. Транспорт везикул обуславливают подвижные филаменты клетки. Это детально изучают. Но дифференциация между такими «системными» везикулами отсутствует. Они, согласно принятому, – «доставляют» [8]. Системы (типы) везикулярных структур (эндосомы, лизосомы, пероксисомы и др.) имеют свои, системные белки поверхности, белки узнавания целевых мембран, с которыми они сливаются, группы белков, которые в такие структуры поступают. А для метаболизма нужны индивидуальные цепи ферментов, сопряжение конкретных цепей, прецизионная передача продуктов. В рамках существующих теоретических построений возможность такого отсутствует.

Спроецируем структурную номенклатуру клетки на карту метаболизма и попробуем представить себе, где же это все и как в пространстве, времени и согласованности происходит. Кроме известного «системного», должен существовать еще какой-то (или какие-то) иные механизмы.

Наши наблюдения показывают некую внутриклеточную динамику структурно автономных микробразований и позволяют сформулировать представление о том, что имеется особая система поиска и сборки белков в нужные последовательности для осуществления ими метаболических циклов и транспорта продуктов таких циклов. Структурные единицы, которые выполняют это, названы «мета-

болосомами» [1]. И основной метаболизм происходит не на неподвижных мембранах, а распределен в динамичном пространстве клетки с основным расположением и протеканием на метаболосомах. Таким образом, смысл предлагаемой концепции сводится к тому, что метаболизм реализуется в основном на подвижных элементах, своей подвижностью обеспечивающих пространственно-временное сопряжение всего метаболизма, протекающего как отдельные реакции, в то единое функционально целое, которое и есть реальный метаболизм клетки. Вначале внимание было обращено только на ограниченный круг подвижных объектов. Но это – лишь самое наглядное.

Метаболосомы – это не какая-то особая структура. Данный термин определяет пространственно-временной статус метаболизма. Метаболизма как процесса, осуществляемого в основном на динамичных, а не на неподвижных структурах. На структурных элементах, интенсивно перемещающихся в локальных микропространствах клетки и, таким образом, обеспечивающих сопряжение метаболических цепей и их участков. И надо определить возможный круг структур, соответствующих развиваемому представлению. Для этого метаболизм необходимо визуализировать по каким-либо ключевым процессам. Одним из таких процессов может быть перенос электрона при актах метаболических реакций. Реагент для таких переносов известен, хорошо и детально проработан и широко применяется. Это один из тетразолиев – МТТ: 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид. Он используется и как химическое соединение, и как реагент для изучения клеток. Детальными исследованиями показано, что при восстановлении МТТ образует водонерастворимое окрашенное производное, агрегирующее в клетках – формаза. При этом мертвые клетки на него не реагируют [9]. Саму реакцию часто ограничивают лишь выявлением дегидрогеназной активности клеток. На их активность он, конечно же, реагирует интенсивно.

Но в целом такое представление – «дань истории», так считали в начале его изучения. В действительности, МТТ реагирует еще со многими ферментами клетки, а при наличии высоких концентраций восстановителей (продуктов метаболизма) –

в меньшей мере и с ними [10]. Но так происходит лишь в «чистом виде» – в пробирке с реагентами или клеточным гомогенатом. В клетках же вследствие сложной организации мембран и особенностей проникновения через них процесс происходит в высокой степени пространственно-избирательно. Избирательность эта оказывается весьма необычной. В клетках млекопитающих имеется очень большое количество (в «штуках») пространственно-автономных структур. Их перечень может меняться в зависимости от типа клетки, но почти всегда существует некий общий набор – ядро, митохондрии, лизосомы, пероксисомы, эндосомы. В живых, специально не обработанных для изменения проницаемости клетках (неких «средних») формаза локализуется только в немногих из них: «внутриклеточно гранулы формаза не колокализуются с митохондриями, эндоплазматическим ретикулулом или аппаратом Гольджи, но частично колокализуются с эндосомами» [10]. При изменении условий – обычно при изолировании конкретных структур (за счет фракционирования разрушенных клеток) – последние, хотя и в разной степени, но восстанавливают тетразолий до формаза [10]. Однако МТТ часто применяют и для «определения активности», дифференциации живых и мертвых клеток и других интегральных задач, в научных и прикладных целях [11, 12]. Поэтому общее представление (принципиально абсолютно правильное) сводится к тому, что тетразолий – это реагент для реакций, связанных с переносом электронов, которые он может перехватывать и, таким образом, его можно использовать для различных задач, связанных с интегральным метаболизмом. А особенности проникновения его в клетки позволяют решать лишь такие «обобщенные» задачи.

Это общее представление не давало видеть очевидного даже тогда, когда такое очевидное документировалось и публиковалось. Общие картины понятны и логичны. Там, где в клетке тетразолий доступен для взаимодействий, идет образование и агрегация формаза в абсолютно наглядные (и, желательные, для четкости эффекта максимально демонстративные) мощные агрегаты. Подобные картины можно видеть и при работе с мезенхимальными клетками (рис. 1, см. вклейку).

Fig. 1 to article by Sherepitko D. V. et al.

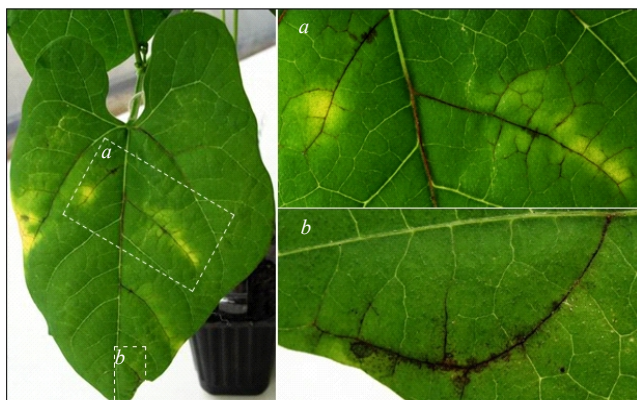


Fig. 1. Necrotic veinal lesions on primary leaves of *Phaseolus vulgaris* cv. Topcrop (7 days post inoculation). Lesions were cut from the leaf and inoculated into *Glycine max* cv. «Gribskaya 30» to recover biologically purified isolates of Soybean mosaic virus; a and b – zoomed sections

Figures to article by Kordium V. A. et al.

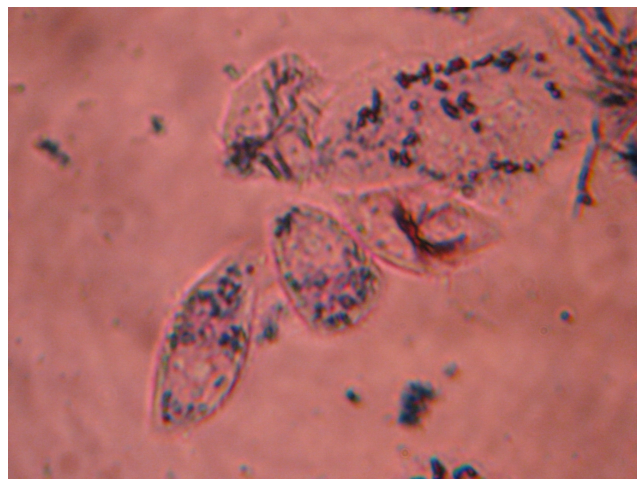


Рис. 1. Образование формазана на везикулах в живой мезенхимальной клетке

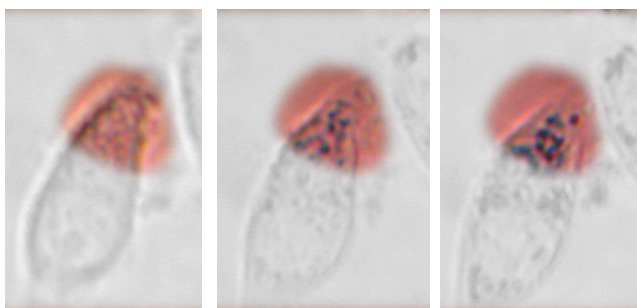


Рис. 2. Кадры видеофрагмента, демонстрирующие образование гранул формазана на движущихся везикулах. Видео доступно на сайте журнала [www.biopolymers.org.ua](http://www.biopolymers.org.ua)

Figures to article by Kordium V. A. et al.

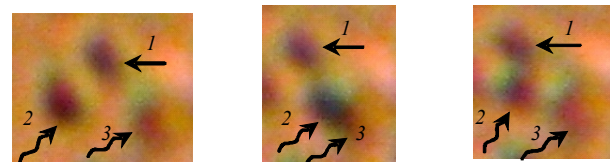
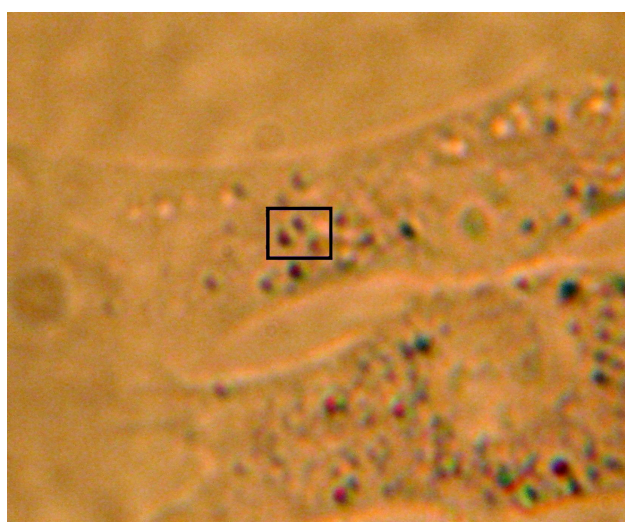


Рис. 4. «Мгновенные» контакты между подвижными везикулами. Видеофрагмент, собранный из последовательно снятых с интервалом в 5 с кадров, демонстрирует движение везикул, при котором могут возникать кратковременные контакты между ними. Внизу представлены три последовательных (с интервалом в 5 с) кадра, где зафиксированы изменения взаимного расположения везикул, при котором между ними образуется такой контакт. Везикулы визуализировали с помощью интерференционного микроскопа, дающего возможность видеть «неровности» на поверхности клетки, вызванные движением везикул в цитоплазме. Для длительного слежения была создана специальная термостатируемая камера со средой, в которой можно наблюдать за клетками в течение нескольких часов

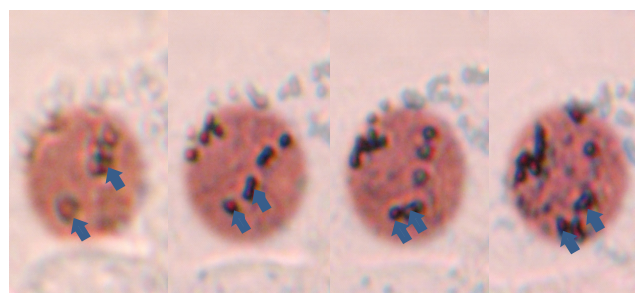


Рис. 5. Кадры видеофрагмента, демонстрирующие контакты различных везикул. Время контакта 225 – 115 = 110 с. Артефакт наложения исключается очень малой глубиной резкости (меньше толщины везикулы). Видео доступно на сайте журнала [www.biopolymers.org.ua](http://www.biopolymers.org.ua)

Но при визуализации процесса в динамике выявлялось нечто, на что не обращали внимания те, кто такое изучал и публиковал. Формирование агрегатов происходит на поверхности структур. И носит оно точечно-локальный характер [10]. Сплошной осадок формируется только на последних этапах реакции за счет слияния отдельных локальных точечных зон. Анализ динамики этого процесса в мезенхимальных стволовых клетках (MSC) показал, что процесс может идти и внутри везикул, но это – незначительное событие по сравнению с тем, что имеет место на их поверхности. Возможно, неокрашиваемость содержимого является следствием плохой проницаемости. Но в отличие от опубликованных наблюдений, описанных выше, непрерывная регистрация процесса продемонстрировала, что происходит все это на поверхности каждой везикулы в процессе ее непрерывного и быстрого движения, обычно имеющего характер «рыскания» (рис. 2, см. вклейку).

Мелкие подвижные везикулы (вначале и описываемые как метаболосомы) также индуцируют образование на их поверхности формаза. Но этот процесс протекает значительно менее интенсивно и носит (в рамках разрешения применяемой оптики) относительно диффузный характер. Следует отметить, что и для крупных везикул разрешение использованной оптики не позволяет четко идентифицировать отдельные точки восстановленного формаза в начале процесса. Но отложение формаза на мелких везикулах тоже происходит в процессе их «рыскания». Информативность подобных картин очень сильно зависит от оптики. Показательно, что на мелких везикулах формаза образуется во всем диапазоне интенсивности процесса – от практического отсутствия до весьма значительного. Это может иметь место лишь в случае различной интенсивности метаболических процессов и по разным их цепям, неодинаково расположенным на разных везикулах. Таким образом, появляется достаточно представительная группа объектов, которые, по сформулированному выше критерию, можно отнести к метаболосомам. Но прежде чем проводить дальнейший анализ, необходимо остановиться еще на одном классе клеточных составляющих – митохондриях.

Как уже отмечено выше, в клетках митохондрии с МТТ обычно не реагируют. Связано это не с их функцией, а с тем, что они для МТТ в клетке не проницаемы. И только при пермеабиллизации (осуществляемой разными способами) они реагируют в полной мере, показывая высокий уровень метаболизма. А в силу особого статуса и значения митохондрий этот метаболизм изучен детально. И картина открылась поразительная.

Сегодня уже окончательно установлено не только симбиотическое происхождение митохондрий, но и источник такового –  $\alpha$ -протеобактерии [13]. Но вследствие сложных и длительных эволюционных процессов геном симбионта почти полностью перекочевал в ядро. Это – удивительный и пока вообще оставленный без должного внимания генетический микс между эу- и прокариотическими геномами. Обычно у симбионтов геном редуцируется. У митохондрий же все иначе. Их геном переместился в иную (чужую для них!) наследственную структуру – ядро. И оставшийся геном, т. е. то, что называют «митохондриальным геномом» и существует как автономно реплицирующаяся единица, у человека составляет всего 16569 нуклеотидов. Он содержит 37 «остаточных» генов, только часть которых кодирует всего 13 белков [14]. Все остальные белки поступают в митохондрии (формируя их как таковые) посредством экспрессии соответствующих ядерных генов и трансляции их транскриптов в цитоплазму. И только затем, уже «в готовом виде», они поступают в митохондрии «по мере необходимости». А далее на основе и по механизмам самосборки их (митохондрии как структуры) формируют. Интегральное число индивидуальных аминокислотных последовательностей митохондрий человека определено величиной 16950 пептидов [15]. Но это – суммарно для всех тканей. А индивидуальная митохондрия содержит их значительно меньше (из-за различий в составе митохондрий по тканям). Согласно обычным, прочно укоренившимся у основной массы биологов представлениям, митохондрии – это основные производители энергии в клетке. И это (в части энергии) – в значительной мере так, лишь с уточнением, что митохондрии являются основным потребителем и преобразователем кислорода. Но, кроме того, они еще и мощнейшие ме-

таболизирующие структуры [16]. И функционируют в сложном пространственно-временном взаимодействии с остальным метаболизмом клетки. У них метаболические потоки идут «на вход», «на выход» и «попеременно» [17].

А для разных тканей настройка метаболических функций митохондрий происходит за счет изменения состава их белков [15]. Осуществляется же все это в митохондриях «внутри», как в своей собственной клетке [13], что таковым и является по их эволюционному происхождению. И подобный метаболизм тоже нужно обеспечивать не только внутри митохондрий (где он функционирует по механизмам, присущим прокариотам), но и в общем пространстве и согласованной совокупности процессов всей клетки, соотнося все к тому же и во времени.

По количеству в клетке находится от нескольких тысяч митохондрий до несколько десятков процентов от объема клетки [18]. Число их в «штуках» при этом становится неопределяемым. И все вместе они образуют сложную архитектуру (митохондрион), которая высокодинамична и может существовать в разных построениях – от сплошной сети, в которой почти все митохондрии плотно соединены в нечто единое, до практически полностью дисперсного распределения, а также в виде различных сочетаний между этими крайними состояниями [19]. Зависит же это от физиологических условий, фазы клеточного деления, типа клеток и т. д.

Митохондрии, являясь во многом ключевыми структурами клетки, в определенных условиях и в определенной степени могут обеспечить функционирование некоторых этапов метаболизма. И какие конкретно метаболические цепи в них имеются, хорошо и предметно изучено. Но по этим своим функциям они тоже нуждаются в обязательном пространственно-временном сопряжении с «немитохондриальным» метаболизмом.

Таким образом, в клетке набирается весьма значительное количество как по номенклатуре, так и по числу входящих в нее функциональных единиц микроструктур, соответствующих статусу «метабоლოსом». Это различные, способные к быстрым перемещениям везикулы, как можно предположить, в основном, ограниченные мембранами, в которых происходят какие-то метаболические процессы. По

локализации их протекания они состоят из закрытых, открытых и «совмещенных» композиций. Закрытыми являются ограниченные мембранами энергично-подвижные микрообразования, метаболические процессы в которых локализованы внутри. И транспорт между такими везикулами (как между ними и другими структурами) осуществляется дополнительно через мембраны. Так организованы митохондрии (в которых метаболизм изучен лучше всего). В открытых композициях метаболические процессы протекают на их поверхности, и обмен с окружающими метаболическими цепями у них не имеет мембранных ограничений. Так, предположительно, организованы те везикулы, которым вначале и было дано название «метабоლოსомы». Такие везикулы могут иметь и иную, не мембранную организацию, возможно, только белковую. Наконец «совмещенные» композиции выполняют и наружно-протекающие элементы метаболизма, и имеют их внутривезикулярные цепи. По-видимому, такое состояние временно-функциональное, транзитное. Стабильным же оно является у двух первых типов. Вероятно, имеются и какие-то самостоятельные, постоянно функционирующие микрообразования подобного «комбинированного» строения. Но, по логике процессов метаболизма, такое построение кажется слишком рационально-привлекательным, чтобы оно не существовало в клетке. И теперь (с учетом метабоლოსом) клеточное пространство становится высокодинамичным в пространстве и времени. Остается совсем «немного». Ну хорошо, есть микроструктуры на и внутри которых протекают отдельные метаболические процессы. Эти микроструктуры энергично перемещаются в пространстве клеток и благодаря этому создают перекрывающее весь метаболизм единое метаболическое пространство. И «в общем виде» все получается очень стройно. Но хотя по отношению к организации метаболизма на неподвижных мембранах (как это принято считать) переход к динамически организованному метаболизму представляется шагом вперед в понимании реальности, центральная проблема – перемещение промежуточных метаболитов между ферментами метаболических цепей (и их прецизионное совмещение) с учетом реакционной способности метаболитов и неизбежного значительного

(по молекулярным масштабам) расстояния транспортировки между активными центрами ферментов, составляющими цепь, и между отдельными цепями метаболизма – остается открытой. Передача из «рук в руки» требует точности совмещения на уровне десятых ангстрема. Такая же степень точности должна быть и при совмещении цепей процессов. Движущиеся везикулы могут сближать цепи процессов, находящиеся на них, с цепями на других везикулах и на неподвижных мембранах. Но это сближение (при непрерывном движении-«рыскании») составит в лучшем случае нанометры. А для совмещения цепей они при контакте должны тоже пространственно сближаться. И представить себе, что при этом они прецизионно, с точностью до десятых ангстрема совместят разные цепи для их сопряжения по метаболитам, абсолютно нереально. Проблема прецизионности взаимодействий остается нерешенной.

Попробуем соединить пространство клетки с процессами, в ней происходящими. По всем показателям – размер, форма, состав, интенсивность процессов, функции и т. д. – клетки между организмами, тканями, состояниями различаются очень сильно. Поэтому выберем достаточно распространенный для «общих» представлений пример – клетку соединительной ткани млекопитающих. Чаще всего как некое «среднее» используют культуру клеток – иммортализованных, опухолевых или какой-либо вариант первых пассажиров клеток соединительной ткани. Такая «средняя» клетка, даже при ее сложном комбинированно-составленном изображении, очень уж «в общем» выглядит. Поэтому в таком «общем» виде в ней все «в общем» понятно.

Но при функциональной оценке картина клетки по мере детализации становится достаточно необычной. Чтобы клетка жила, в ней должен осуществляться весь тот комплекс процессов, который называют «метаболизм». Он состоит из нескольких крупных блоков процессов – обслуживания носителя информации (геном, его мультпликация, считывание, репарация и т. д.); биосинтеза белка на рибосомах и всех тех событий, которые это обеспечивают; обработка всего, что идет на строительство, поддержание и т. д. всех составляющих клетки («метаболизм» в более узком и более часто используе-

мом понимании этого термина как сопряжение «катаболизма» и «анаболизма»); энергетики (которую достаточно часто воспринимают в виде реализации кислорода, т. е. «дыхания») на молекулярном уровне). Все это, конечно же, должно протекать в абсолютной взаимосвязи, с перекрыванием в виде разнообразных «пограничных» процессов, пространственной и временной динамике, с субангстремной точностью взаимодействий и все такое прочее. В общем виде оно так и понимается. А «в частности» открывается удивительная картина и возникает много вопросов. И первый из них – локализация происходящего.

Наиболее четко и достаточно реалистично это представлено обслуживанием информации. И сама наследственная информация, и ее обслуживание реализуются в ядре. Это – и надежный компартмент, и обслуживание, организованное на «удобном» носителе – нитях ДНК, т. е. пространственно обеспеченное, и самих процессов куда меньше, чем в цитоплазме, и т. д. Биосинтез белка у всего живого идет на рибосомах. Рибосома как самостоятельная молекулярная машина изучена хорошо. В клетках млекопитающих (если взять, например, «среднюю клетку») рибосомы в функционально активном состоянии локализованы в околоядерном пространстве на специальных мембранных структурах – шероховатом ретикулуме. Это и логично, и понятно, и объяснимо. Информационная РНК поступает из ядра и чем ближе к ее источнику, тем проще, надежнее, быстрее и т. д. ее реализация. Сам синтез (соединение аминокислот в нужную последовательность) идет на рибосомах, структурная и пространственная организация которых хорошо изучена. Но все подготовительные процессы должны быть как-то «нужным образом» размещены в пространстве, согласованы во времени и совмещены (тоже в пространстве и времени) с нужными точками рибосом. Затем (уже после синтеза белка «в удобном месте») его надо как-то доставить во все участки клетки, в том числе и на периферию. А счет номенклатуры белков клетки идет на десятки тысяч. Если же учитывать и по-разному сплайсированные варианты, – то на сотни тысяч. К тому же в разных типах клеток набор белков будет достаточно сильно различаться. Еще сложнее выглядит про-

блема «метаболизма» в более узком понимании («собственно метаболизм»). Поскольку исполнителями метаболизма являются белки, а их биосинтез идет на рибосомах вблизи ядра, то и функционировать им лучше всего здесь же. И в относительной близости к ядру метаболизм действительно наиболее интенсивен. Но клетка функционирует во всем своем объеме. И метаболизм для обеспечения такого должен выполняться во всем объеме равномерно. Или, если он происходит неравномерно по всему объему, то продукты его должны распространяться по всему объему, как минимум, в количестве и номенклатуре, достаточных для функционирования всех (и любых!) участков клетки. Посмотрим, как выглядит функциональная структура пространства клетки.

Начнем с митохондрий. Они, как замечено выше, обеспечивают многие ключевые (и не дублируемые в других компартментах) метаболические процессы. Но их распределение в клетке (за редким исключением) крайне неравномерно, – как правило, плотное возле ядра и разреживается к периферии. А в ряде случаев еще и непонятно «пятнистое» [19].

Иногда получают более полно охарактеризованное структурно-идентифицированное микропространство клетки. Тогда открывается еще более удивительная картина.

Так, эндоплазматический ретикулум в живой клетке тоже концентрируется вблизи ядра, образуя почти полностью заполненное собой пространство. Но к периферии он убывает количественно не «вообще», а превращаясь в тоненькую крупноячеистую сетку. А митохондрии, находясь в такой сетке, чаще всего с ней пространственно никак не соприкасаются [20].

В самой клетке, конечно же, «дырок» нет, вся она заполнена тем, что функционально необходимо, и во всех направлениях пронизана динамичными нитчатыми структурами – цитоскелетом.

Но если все основные процессы метаболизма реализуются вблизи ядра, то как функционирует периферия? Оказывается, что функционирует она очень активно. Как же такое может происходить, если основные метаболические и энергетические процессы сконцентрированы в центральной зоне клетки?

Чтобы попытаться ответить на этот вопрос, посмотрим, что, кроме подвижных филаментов, на периферии активно. И, возможно, даже не просто активно, а активнее, чем вблизи ядра. Таковым оказывается сигналинг, его цепи, что наиболее наглядно видно на уровне рецепторов и первых связанных с ними событий. Обычно сигналинг считают цепочкой молекулярных процессов, начинающихся на клеточной мембране (с взаимодействия лиганда с рецептором) и заканчивающихся взаимодействием с геном-мишенью [21].

В общем виде все понятно и очень логично. Вопросы возникают при детализации. Начнем с некой феноменологии. Практически все процессы сигнальных путей основаны на двух типах событий. Это фосфорилирование, выполняемое киназами, и самосборка после такого фосфорилирования. И так по всем путям сигналинга: почти исключительно фосфорилирование и самосборка (часто даже пересамосборка).

Изучение сигнальных путей выявило удивительную картину, на которую, почему-то, не обращают должного внимания. Кроме прямых и понятных путей сигналинга – от активированного лигандом рецептора к гену-мишени, идут «боковые» массовые переплетения в цитоплазме, сопровождающиеся фосфорилированием [21].

Числа таких путей, на каждом этапе которого происходит очередное фосфорилирование, не счесть. Как и числа самих киназ. Их разнообразие очень велико. Так, в дрожжах (наиболее «низкогеномных») эукариотах) одних протеинкиназ более сотни. А для кодирования всех киназ в геноме имеется 2 % его объема [22]. Конечно, не все абсолютно киназы обеспечивают сигналинг. Не все, но почти все (исключений очень мало). И получается, что вся цитоплазма пронизана сигнальными путями и в ней происходит массовое и непрерывное фосфорилирование. Теперь посмотрим на масштабы такого фосфорилирования. Номенклатура рецепторов и лигандов идет на сотни, и непрерывно описываются новые. Сами рецепторы обычно наборные. Они в поверхностной мембране состоят из разных наборов субъединиц, что существенно увеличивает число собственно рецепторов [23].



## Количество рецепторов на клетку

Лиганд	Тип клетки	Количество рецепторов	Источник
ЭПО (EPO) – эритропоэтин	Мышиная эритролейкемия	Более 1000	[24]
	ЕРО-неотвечающие	300–600	[25]
	Мышиная эритролейкемия	760	[26]
	COS EPO-R-трансдуктанты	210000	[26]
G-CSF – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор	NFS-60 – мышиная миелоидная лейкемия	2000	[27]
	«Другие линии»	30–800	[27]
GM-CSF – гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор	Обычные COS-клетки	1700	[28]
	COS GM-CSF – R-трансдуктанты	600000	[28]
IL-2	BAF BO3 – IL-2 трансформанты BO клеток	9300	[29]
IL-5	BCL-B20 – мышиная хроническая В-клеточная лейкемия	250 – высокой аффинности; 6200 – низкой	[30]
	Преиндукции в течение 24 ч LPS	1200 – высокой; 8400 – низкой	[30]
IL-7	Лимфоциты	10000–500000 – мембранные	[31]
		В плазме крови растворимых в 100–1000 раз больше	[31]
EGF – эпидермальный фактор роста	Первичные и перевиваемые клетки опухолей	30000–327000	[32]
	Клетки меланомы	300	[32]

Рецепторы разных типов содержат все клетки. И набор таких рецепторов часто категорически не совпадает с их принятыми функциями. Количество же рецепторов (каждого!) на клетку просто неправдоподобное (таблица).

Такое можно было бы объяснить редкими «встречами» рецепторов с лигандами, которые появляются только «когда надо», да и то в ничтожном количестве. В общем, так обычно и считают. Реальное их (лигандов) количество стало известно относительно недавно, когда техника анализа достигла уровня пикограммового разрешения. Оказалось, что в крови человека имеются практически все (!) лиганды для всех рецепторов в неких базовых концентрациях. Очень низких, пикограммовых на 1 мл плазмы крови (т. е. по порядку величины  $10^{-12}$  г – триллионные доли грамма).

Что же стоит за такими исчезающе малыми цифрами? Средняя молекулярная масса основных цитокинов составляет примерно 15 кДа.

«Средний» цитокин – это 15000 Да ( $1,5 \cdot 10^4$ ); 1 Да =  $1,66 \cdot 10^{-24}$  г. Одна «средняя» молекула имеет массу  $1,5 \cdot 10^4 \cdot 1,66 \cdot 10^{-24} = 2,49 \cdot 10^{-20}$  г; 1 пг =  $10^{-12}$  г. Следовательно, в 1 пг будет  $10^{-12}/(2,49 \cdot 10^{-20}) = 4,016$ , т. е.  $\approx 4 \cdot 10^9$  молекул «среднего» цитокина.

При «средней» концентрации цитокинов в крови 2,5 пг/мл это составит  $10^{10}$  молекул в 1 мл.

Но это – в крови. Непосредственно в крови цитокины не образуются, в ней клетки белой крови не активны (и вообще долго не находятся). Стабильная концентрация цитокинов в крови является равновесной. Клиренс цитокинов разный, но, как правило, очень короткий (от нескольких минут до нескольких часов). Стабильная концентрация при клиренсе означает их непрерывное поступление в кровь из тканей, где она должна быть, для образующихся (в данной ткани) – еще выше (и значительно), а для необразующихся (в данной ткани) – поступать из крови (в ее, крови, имеющейся концентрации). Возникает удивительная ситуация. На клет-

ках существуют десятки тысяч рецепторов для разных лигандов. Самых лигандов на 1 мл крови приходится миллиарды (а часто и десятки миллиардов) молекул (каждого лиганда), а в межклеточной жидкости – еще больше. И одной молекулы лиганда, соединившегося со своим рецептором, достаточно, чтобы запустить сигнальный каскад.

Межклеточный матрикс, как сейчас уже хорошо изучено, не просто «каркас», а сложный набор своих особых «лигандов» в виде определенных доменов такого матрикса. На клетках для этих лигандов имеются свои рецепторы (и тоже в избытке) [33, 34]. И вся эта массовость направлена для каждого каскада только на один ген – одну «штуку»! И для достижения эффекта достаточен тоже один лиганд (одна «штука») на один рецептор (одну «штуку»). Что-то здесь не так. Не в плане регуляции – она, конечно же, существует и реализуется через сигналинг. Но чтобы тысячи однотипных рецепторов на клетке при весьма обильном числе молекул их лигандов и при массовых событиях в цитоплазме предназначались только для одной единичной мишени, для живого представляется нереалистичным. Ген-мишень – один; лиганд, взаимодействующий для запуска цепи сигналинга со своим рецептором, – один; рецептор, активирующий свой каскад, – тоже один. И больше одного рецептора, лиганда, каскада для активации одного гена не требуется. А их избыточность даже не «намного», не «во много раз», а на много порядков превышает необходимое. Тогда что же еще? Это «еще» просто демонстративно заявляет о себе в массовости событий. Посмотрим, что это за события и что еще, кроме сигналинга «в чистом виде», они обеспечивают. Фосфокиназы осуществляют фосфорилирование.

По химии процесса – это перенос на молекулу-мишень аниона фосфорной кислоты с образованием на мишени заряда.

Образование таких заряженных молекул происходит массово (так как рецепторов и их лигандов много) и очень быстро. Так, в одном из экспериментов к клеткам линии FL112 с количественно определенными рецепторами (всего 596 на клетку) к IL-7 добавляли этот лиганд. Через 30 с клетки резко охлаждали и лизировали. Лизат вносили в камеру, проводили электрофорез и фореграммы визуализирова-

ли антителами к фосфотирозину. Регистрировали появление 10 фосфорилированных белков в количестве, достаточном для их идентификации [35].

И это только один пример только одного лиганда и одного рецептора. А сам этот процесс высокодинамичен – киназы проводят фосфорилирование, а фосфатазы – дефосфорилирование [36].

Принято считать, что киназы специфичны и фосфорилируют только «свои» мишени, узнавая строго определенные последовательности аминокислот. И в общем виде оно, по-видимому, так и есть. Но специфичность абсолютной не бывает. А определение консенсусных доменов в мишенях, узнаваемых одной киназой, часто носит, скорее, символический, чем реально значимый характер [23].

При всей важности фосфорилирования его детальный анализ (как механизма проявления возможного спектра функций) не проводили. Как пример – фосфопроteinкиназы. Они фосфорилируют белки по «избирательным» ОН-группам серина, треонина и тирозина. Почему только по трем и именно этим? Аминокислот-то 20 (для которых имеются свои кодоны). И присоединение фосфатной группы идет не по аминокислоте, а по ОН. Что-то здесь связано с особенностью, имеющей пока непонятный, но какой-то фундаментально-значимый биологический смысл. С какой-то специфически изменяющейся конформацией, обусловленной не только потерей–восстановлением функции. Для этого были бы пригодны самые разные сайты в любых аминокислотах.

Другой особенностью сигналингового фосфорилирования является его локализация. Конечно же, он пронизывает всю клетку, доходя до «своего» гена. Но это – «вообще», «в принципе». А конкретно – почти полностью все фосфорилирование такими киназами происходит в цитоплазме. И не по всей равномерно. Очень «кучно» идет фосфорилирование непосредственно на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны [36]. То есть в той зоне клетки, том ее пространстве, где основного метаболизма уже почти нет.

А теперь попробуем определить локализацию клеточного содержимого по местам того метаболизма, который, по всем существующим представлениям, составляет «жизнь» и «живое». Как это ни

парадоксально, но цельной картины подобного сегодня не существует. Используя самые современные методы исследований, создают различные варианты объемных реконструкций клетки. Но это (при всем совершенстве и в лучшем случае) – не более чем структура. При визуализации показана локализация отдельных молекул – структурных, сигнальных, ферментов. А вот цельной картины нет. Тем не менее, исходя из таких частных данных, видно (как указывалось выше), что метаболизм в клетке распределен пространственно очень неравномерно и основные метаболические процессы расположены вокруг ядра.

Далеко не всегда, но чаще всего градиентно от ядра к периферии (как указывалось выше) локализованы митохондрии. Поскольку в них метаболических процессов весьма много, то какое-то сопряжение с остальными метаболическими цепями у них должно быть. А градиент расположения митохондрий показывает также и некий градиент интенсивности уровня метаболизма в клетке. Но клетка не содержит «пустых» участков – она вся чем-то заполнена. Чем и зачем? Для центральной части все понятно – там «метаболизм». А периферия? Что в ней? В ней значительная часть фосфокиназ сигналинга, мишени этих киназ (т. е. различные белки, липиды), мембранные образования клеточного ретикулума, структуры цитоскелета и сократительные филаменты. Как же они работают (а работают очень интенсивно), если дистанции «метаболизма» и, соответственно, метаболитов от них, по масштабам молекул, очень велики?

Начнем с энергии. Общепринятым представлением об источнике энергии являются митохондрии. И в общем виде, принципиально, это так. Но для элементарных клеточных процессов, требующих энергии, основным источником является (чаще всего) АТФ. Его продукция в клетке происходит далеко не в одних митохондриях. Наиболее наглядно это показано на примере мутантных клеток человека, полностью лишенных митохондриальной ДНК [37]. В них окислительного фосфорилирования не было. Но в присутствии глюкозы и пирувата образование АТФ происходило в полном, необходимом клетке объеме, количественно так же, как и в исходных клетках с полноценными митохондриями

[38]. Значит, и без митохондрий может быть энергетическое обеспечение. Но для этого необходимы глюкоза и, особенно, пируват. Пируват – промежуточный метаболит и его надо доставлять «куда надо». Тогда АТФ будет образовываться и без митохондрий. Возникает странная картина. В центральной части клетки происходят почти все основные метаболические процессы, а на периферии идет если и не основное, то весьма значительное потребление метаболитов. И для потребления оказывается необязательным непосредственно-контактное пространственное совмещение закрепленных на неподвижных мембранах «производителей» и «потребителей». Но в этом случае потребление требует доставки нужных продуктов (макроэргов, белковых молекул, липидов и др.), оттока «израсходованных» метаболитов, поврежденных макромолекул.

Совмещение метаболических цепей с зонами интенсивного метаболизма «по-крупному» могут обеспечивать метаболосомы. Но для перемещения молекул как макро- так и не макро- между метаболосомами, а тем более на периферии (где расстояния между «производителями» и «потребителями» еще большее) должен существовать еще какой-то иной, дополнительный механизм. Перемещение блока метаболизма (эндосомы, лизосомы, пероксисомы, митохондрии, мелкие метаболосомы) за счет энергии макроэрга обусловлено совмещением цепей реакций, забором нужного или испорченного «по-крупному». Но для перемещения отдельных молекул такое неприемлемо. Если бы для перемещения каждой молекулы метаболизма был бы нужен макроэрг, то все закончилось бы, еще не начавшись. Возник бы даже не «заколдованный круг», а бесконечная «заколдованная спираль»: для образования одного макроэрга нужно передвижение нескольких метаболитов между активными центрами ферментов, сопряженных в цепи; на каждый «шаг» такого передвижения каждого метаболита в свою очередь необходим макроэрг, для образования которого ... и т. д. А в то же время совершенно очевидно, что перемещение молекул при абсолютной адресности, точности и скорости требует какого-то дополнительного обеспечения. «Просто так» ничего не происходит. Причем такое перемещение должно быть универсальным для разных молекул. Что-то дол-

жно быть еще, что-то иное, чем только транспортные везикулы, неподвижные мембраны, метаболосомы. Одним из элементов такого «еще», «иногое» может быть «несигнальная» функция «сигналинга». Основные по массовости процессы фосфорилирования–дефосфорилирования протекают вблизи цитоплазматической мембраны и в значительной мере – на периферии. Каждый акт фосфорилирования – это локальное возникновение заряда; каждый акт дефосфорилирования – это локальное его исчезновение. Как сам заряд, так и его исчезновение меняет электрический потенциал. Возникают и непрерывно меняются в пространстве заряды и микропотенциалы. Такие потенциалы могут быть элементарными – принадлежать только одной молекуле. Но могут быть и весьма мощными, если они образуют суммарное микрополе в локальной микроструктуре клетки. В этом плане очевидно, что «ничтожных» зарядов и энергий применительно к процессам, происходящим в клетке, вообще не существует.

Одной из несистемных единиц энергии в физике является электронвольт (эВ). Это энергия, которую приобретает электрон (один, «одна штука») в поле с напряжением 1 В, пройдя в этом поле путь в 1 м [39]. Что же может сделать такая энергия одного элементарного заряда (одного! электрона)? Оказывается, очень много. По соотношениям физических единиц, 1 эВ соответствует  $1,6 \cdot 10^{-19}$  Дж. Если это перевести в единицы, характеризующие перемещение груза (массы) в пространстве, то удобно проводить расчеты в килограммо-метрах (кг·м). В этих единицах  $1 \text{ эВ} = 1,6 \cdot 10^{-19}$  Дж,  $1 \text{ кг}\cdot\text{м} = 9,81$  Дж.

1 кг·м перемещает массу в 1 кг на расстояние 1 м против силы земного тяготения (т. е. «поднимает»): это  $\approx 1,63 \cdot 10^{-20}$  кг·м, т. е.  $1 \text{ эВ} = 1,63 \cdot 10^{-20}$  кг·м.

Ничтожность такой величины, если ее рассматривать абстрактно, просто-таки демонстративно очевидна. Но по масштабам клетки она приобретает совсем иное значение:  $1 \text{ эВ} = 1,63 \cdot 10^{-20}$  кг·м;  $1 \text{ кг} = 10^{15}$  пг;  $1 \text{ м} = 10^9$  нм,  $1 \text{ пг} = 10^{-15}$  кг;  $1 \text{ нм} = 10^{-9}$  м,  $1 \text{ эВ} = 1,63 \cdot 10^{-20}$  кг·м  $\cdot 10^{15}$  пг/кг =  $1,63 \cdot 10^{-5}$  пг·м.

Это значит, что 1 эВ способен переместить массу в  $1,63 \cdot 10^{-5}$  пг на расстояние 1 м.  $1 \text{ эВ} = 1,63 \cdot 10^{-5}$  пг·м  $\cdot 10^9$  нм/м =  $1,63 \cdot 10^4$  пг·нм, т. е. 1 эВ может переместить массу в  $1,63 \cdot 10^4$  пг на расстояние 1 нм.

А применительно к молекулярным событиям и по их масштабам такая энергия становится очень большой величиной:  $1 \text{ эВ} = 1,63 \cdot 10^4$  пг·нм; 1 атомная единица массы (1 Да) =  $1,66 \cdot 10^{-24}$  г,  $1 \text{ пг} = 10^{-12}$  г;  $1 \text{ г} = 10^{12}$  пг;  $1 \text{ нм} = 10^{-9}$  м;  $1 \text{ м} = 10^9$  нм.

Молекула белка массой 100 000 Да ( $10^5$  Да) имеет массу  $10^5 \cdot 1,66 \cdot 10^{-24} = 1,66^{-19}$  г =  $1,66 \cdot 10^{-7}$  пг.

В 1 пг содержится  $10^{-12}/(1,66 \cdot 10^{-19}) = 6 \cdot 10^6$  молекул белка массой 100 кДа каждая.

1 эВ способен переместить («поднять»)  $1,63 \cdot 10^4$  пг·нм  $\cdot 6 \cdot 10^6$  (молекул в 1 пг)  $\approx 1 \cdot 10^{11}$ , т. е. 1 эВ может переместить на расстояние 1 нм ( $10 \text{ \AA}$ )  $10^{11}$  молекул белка массой 100 кДа каждая. Или  $10^{10}$  молекул такого белка на расстояние 10 нм ( $100 \text{ \AA}$ ).

И что особенно важно, так это возможность переноса представлений о такой энергии на процессы в клетке. Электронвольт характеризует энергию, возникающую при движении элементарного заряда, равного заряду одного электрона (с поправкой на массу, т. е. в первом приближении с экстраполяцией на один одновалентный ион), в электромагнитном поле. Или (эквивалентно) потребность в энергии для перемещения одного иона в поле. А вся клетка – это непрерывные, массовые, по всему ее пространству электромагнитные поля, ибо каждая химическая реакция связана с перемещениями электронов, в результате чего даже при взаимодействии нейтральных молекул на какое-то время в них возникают заряды. В клетке же, кроме такового, в еще большей мере образуются и преобразуются заряженные молекулы как макро-, так и всех иных размеров.

Выше уже упоминалась «зарядовая» особенность сигналинга. Вот и получается, что поля всех видов концентрации зарядов на микроструктурах могут обеспечивать движение в них (в таких полях) элементарных зарядов, т. е. молекул клетки. А ионизированные молекулы (микро- и макро-) перемещаются в этих полях прецизионно направленно, строго по их силовым линиям. Создаются необходимые условия для быстрого и прецизионного перемещения на значительные (по масштабам клетки) расстояния.

Фосфорилирование и дефосфорилирование создают динамические, множественные электрические заряды, формирующие электромагнитные поля.

Конечно, они очень слабые для одной фосфатной группы. Но таких групп очень много. Кроме того, в клетке существуют и куда более мощные, тоже множественные, перекрывающие все пространство цитоплазмы, заряды в виде хорошо изученных структурных образований. Заряд структур в клетке в значительной мере определяется ионами (как на «встроенных» в макромолекулах в виде их заряда, так и катионами и анионами солей). Наиболее наглядно это демонстрирует распределение pH [40].

Разница в pH между структурами вроде бы и невелика. Но, как показали измерения на мембранах митохондрий, разница в 0,2 единицы pH образует потенциал в 30 мВ [40]. И если это отнести к клеточным структурам, то величины оказываются очень большими. Поскольку же вся клетка высокоструктурирована, то она оказывается насыщена полями значительной (по масштабам клетки) мощности. А дистанции между источниками таких полей (отнесенные к расстояниям, требуемым для прецизионных перемещений молекул), оказываются вполне приемлемыми.

В зависимости от состава (только состава!) мембраны (в любой клетке) ее потенциал может меняться в диапазоне от 50 до 0 мВ [41]. Заряды мембран митохондрий это не касается – он у них значительно выше. Особое влияние на заряды и их распределение имеют поверхности структурных образований клетки. Только на структурах в клетке могут возникать поля. Их (структур) суммарная площадь по масштабам клетки просто фантастическая, а заряды (и соответственно градиенты полей) чрезвычайно велики (рис. 3) [41].

Наиболее хорошо изучены (и наиболее значимы) потенциалы митохондрий. Их величины обычно колеблются в диапазоне от 30 до 180 мВ [42] и хорошо визуализируется по изменению цвета специальных красителей (особенно точно это показано при использовании  $jc-1$ ). Как указано выше, митохондрии в клетках, по современным данным, могут образовывать цепи очень разной длины. И в пределах этих цепей имеются, часто чередуясь, митохондрии с различными зарядами [42]. При этом в значительной мере заряд не зависит от темпов синтеза АТФ [19].

В митохондриях происходит интенсивное образование реактивных форм кислорода, также существенно влияющих на заряд этих органелл [43].

Оказалось, что упомянутый процесс далеко не равномерный. Часто он имеет характер «вспышек», возникающих за доли секунды и длящихся всего несколько секунд [44]. Поэтому и заряд, как можно ожидать, тоже будет пульсировать. В результате клетка (фактически вся) состоит из разной мощности точечных зарядов, создающих в реальном объеме клетки сплошные микрополя. Поскольку же такие структуры, как эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, сеть митохондрий, относительно стабильны, то электромагнитные поля в них и между ними в таком «чистом виде» тоже будут относительно (при всей своей динамичности) пространственно микролокализованы. Возмущения при структурной стабильности будут вносить внутренние флуктуации, влияющие на локализацию и величину заряда. Возникают прецизионные каналы перемещения в микропространствах клетки. Ситуация становится еще более необычной при наличии в неподвижном (квазинеподвижном) поле подвижных элементов (любых размеров), несущих свои собственные заряды. Такие динамичные везикулы, на (и в) которых происходят непрерывные, интенсивные и массовые ферментативные реакции, при своем быстром движении будут выполнять функции генераторов полей.

И поля эти тоже крайне динамичны. Движение везикул, в основном, не «круговое», а «возвратно-поступательное». И в момент остановки можно ожидать, что произойдет микрозаряд. Следующий ход в противоположную сторону по отношению к стабильному полю, в котором совершается перемещение, – опять заряд. И так непрерывно.

Скорость же «хода» везикулы в одном направлении очень высока. Она неопределенно выше 5 с – разрешающей способности фоторегистрации в динамике на имеющейся у нас аппаратуре (и поэтому не может быть точно оценена), а «ход», т. е. расстояние перемещения, достаточно большой (десять микрометра) для возникновения заряда. В литературе имеются описания «прыжков» митохондрий на 0,8 мкм [45]. А средняя скорость такого перемещения может составлять 0,3 мкм/с [46]. Пульсиру-

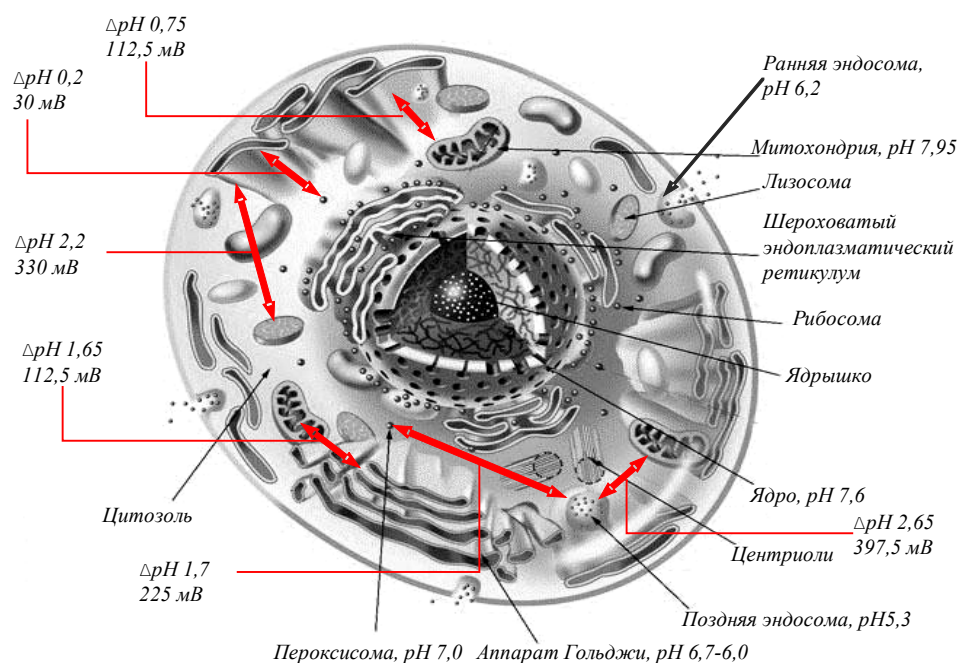


Рис. 3. Разница значений pH между органеллами создает разницу потенциалов по 30 мВ на каждые 0,2 единицы pH (по материалам публикации [40])

ющие микрополя создают механизм строго направленного и фактически «мгновенного» перемещения заряженных молекул на значительные, по их масштабам, расстояния. Перемещения в поле, в момент его возникновения и по направлению его силовых линий. Перемещения того, что несет свой собственный заряд. И не только (а, скорее всего, не столько) отдельных молекул, а того пула продуктов, который на везикуле образовался. Фактически – передача «адресату». И получение от него новой порции для переработки. Но, возможно, только передача, а получение – от другой везикулы (или неподвижного компартмента) при «своем» к нему ходе. Такие контакты можно регистрировать при анализе цитраферных съемок. Мгновенные контакты между подвижными везикулами происходят массово и непрерывно (рис. 4, см. вклейку).

Но возможно и относительно длительное плотное соединение подвижных везикулярных структур (рис. 5, см. вклейку).

По-видимому, подобные объединения необходимы для относительно длительного синтеза (по масштабам жизни клетки), некоего адаптивного, фазового, стадийного, нового продукта метаболизма, временной функции. Так могут объединяться в новые цепи, требующие постоянного пространственного совмещения, блоки метаболизма, создавая времен-

ный «единый цикл». А количество объединенных в «единый цикл» везикул определит количественную регуляцию интенсивности процесса. Исчезнет потребность такой функции – везикулы со своими цепями разойдутся и «единый цикл» прекратится.

Почти все промежуточные метаболиты несут заряд. И белковые молекулы тоже. Поэтому для перемещения имеются и необходимые «технические» условия. Хорошо известно, что в клетке все макромолекулы (и не макро- тоже) покрыты несколькими слоями воды. Капельно-жидкой воды в клетке (кроме вакуолей – ее специализированных хранилищ) нет [46]. Вода адсорбирована на различных молекулах. И такая адсорбция многослойна с увеличением подвижности по мере удаления от поверхности молекулы-носителя. Возникает система идеального транспорта – в градиенте поля, по соприкасаемым поверхностным слоям подвижной воды (как по «смазке»). Хватит ли для этого энергии?

Вернемся к электронвольту. Даже единичный заряд иона на перемещающейся молекуле – это заряд, равный заряду электрона (плюс или минус). 10 нм (100 Å) – вполне реалистичное расстояние и между активными центрами ферментов, расположенных на мембране, и для переноса с поверхности подвижной частицы на неподвижную мембрану (или в обратную сторону). В таком варианте для перемещения

(«на подъем») молекулы массой 100000 Да на расстояние 10 нм хватит энергии, образующейся в поле величиной всего 10 мВ. Только это в случае неподвижного поля для перемещения в нем крупных молекул с одним элементарным зарядом. А перемещать надо ведь не «на подъем», а «по смазке». Да еще (согласно приведенному в качестве примера расчету) крупного белка (с одним зарядом). Метаболиты же имеют массу, по крайней мере, в сто раз меньшую. Их заряда, даже единичного, хватит для такого перемещения со стократным запасом. Для этого и зарядов, образуемых фосфокиназами, может хватить. Поля же, судя по имеющимся в литературе данным, в клетке обычно намного мощнее. В отношении электромагнитных полей в клетке сложилась удивительная ситуация. Они (поля) хорошо известны, во многом количественно определены, ни сомнений, ни удивления ни у кого не вызывают. Но функционально внутри клетки им отводят роль только механизмов протонного транспорта (или транспорта ионов неорганических солей) через мембраны митохондрий (и реже – некоторых везикулярных образований). В этой связи посмотрим, что же собой представляют эти поля и на каких расстояниях они функционируют.

Начнем с напряженности полей. Опять же, лучше всего в этом отношении изучены митохондрии. Вот пример возникновения потенциалов. «... Электрохимический потенциал имеет две компоненты – мембранный потенциал и градиент рН. Общая энергия этих градиентов может составлять 240 мВ на толщину 5 нм внутренней мембраны, что эквивалентно 480000 В на 1 см...» [42]. Поле в полмиллиона вольт на сантиметр и автомобиль потянет. А 5 нм – это 50 Å, вполне реалистичное расстояние, на которое в клетке от «производителя» к «потребителю» должны перемещаться продукты метаболизма. И передвигать на такое расстояние надо не автомобиль, а молекулу. Экстраполировав это на потенциалы в клетке (что описано выше), видно, насколько мощные имеются силы и энергии для перемещений молекул.

Очень интересно формирование зарядов. Они могут возникать «сами по себе» или при реакциях. Пример заряда «самого по себе» описан (в расчетах) только за счет состава. Везикулы, содержащие

33 % кислых липидов в 100 мМ моновалентной соли, имеют заряд 50 мВ [41]. Но такое принципиально будет иметь место для любых мембран клетки. В клетке «открытых» мембран нет, они все как-то замыкаются. И одновалентных солей в клетке более чем достаточно. А при ферментативных реакциях образуются потенциалы на молекулах ферментов. И весьма значительные [47]. Вот и возникают каналы прецизионной передачи «из рук в руки». В живом все необычно. И только каноны «общепринятых представлений» дают возможность «представлять» изучаемое как некое «в общем» понятное, где требуются лишь уточнения, дополнения и прочие частности.

Так, ферменты рассматривают как особо эффективные катализаторы. И с позиций представлений о катализе они изучены (и продолжают изучаться). С учетом того, конечно, что они белки (ну есть еще и рибозимы, тоже очень сложное «нечто») с очень особой структурой и особо протекаемым катализом (но катализом). И это, безусловно, так. Но активный центр ко всему «каталитическому» – еще и сложнейший и неразделимый с остальной молекулой энергетический преобразователь. Поскольку же преобразует он энергию, связанную с электронами, то является еще и электропреобразователем. При реакциях часть энергии обязательно остается и деградирует в тепловую. Но при всех процессах это происходит не сразу, а через какую-то цепочку превращений. Поэтому (как предположение), если в процессе ферментативного акта на молекуле фермента произойдет возникновение (мгновенное) заряда (но сосредоточенное в активном центре), то поле, направленное к активному центру другого фермента (вместе с зарядом как энергией перемещения), прецизионно переправит продукт. Какое-то время потребуется на конформационное изменение белковой молекулы – и фермент готов к восприятию (и установлению по направлению «к себе») поля от предыдущего фермента цепи для доставки обрабатываемого продукта (рис. 6). В неживом катализ неориентирован. Поэтому его и изучали только как явление, как катализ (а в живом все иначе). В живом даже между напряженностью поля и его движущей силой имеется еще и удивительная нелинейность [48]. Но все

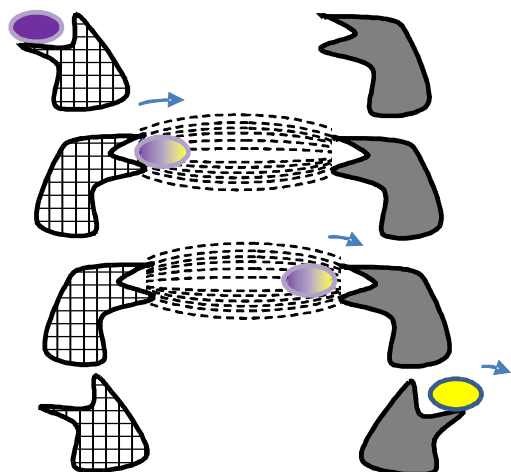


Рис. 6. Предполагаемое участие электрического поля в передаче продукта «из рук в руки» по ферментной цепи

это в литературе фигурирует совершенно в иных контекстах представлений. А что происходит в клетке между наружными мембранами различных образований (как подвижных, так и стационарных) – даже не упоминают.

Существуют реконструкции различных везикул (особенно детальные для митохондрий). Имеются модели, расчеты макромолекулярных функциональных комплексов (особенно детальные для рибосом). Но нет даже схематического построения, реконструкции в объеме хотя бы маленького, хоть сферы 10 нм в диаметре внутриклеточного участка между двумя наружными мембранами любых структур, ограничивающими содержимое реконструируемого пространства. Вообще-то термин «цитозоль» имеет более чем столетний возраст. В то время (на рубеже прошлого и позапрошлого веков) органы и ткани раздавливали, как-то фильтровали через хлопчатобумажную материю и получали какую-то жидкость – «золь». А иногда она загустевала и тогда это был «гель». Поскольку из ткани при ее гомогенизации и фильтрации под давлением можно было получать жидкость, то и считали, что так есть и в клетке – какие-то структуры (ядро, цитоплазматическая мембрана, еще какие-то точки, видимые в микроскоп) плавают в содержимом – «золе». «Цитозоль» – «клеточная жидкость». Но с тех пор очень уж много воды утекло (и не только клеточной) в мире науки. И что такое сегодня «цитозоль» как понятие требует очень серьезного изучения и пере-

осмысливания. В каком-то виде (как химическое соединение кислорода и водорода) – это, конечно, вода. Но в каком виде? Даже в тонких капиллярах она приобретает совершенно необычные свойства (по сравнению с привычной для нас капельно-жидкой). Но капилляры, даже очень тонкие – это сотни микрометров. А в клетке расстояния между структурами нанометровые (в пределе – десятки нанометров). Между ними мощные электромагнитные поля, в которых находятся молекулы воды и адресно перемещаемые метаболиты. Теперь надо от прежних представлений о «цитозоле» переходить к качественно новым. Пока их нет. Никаких. И первым шагом к ним должно быть понимание необходимости их изучения, моделирования, расчета, проверки, поиска путей управления.

**Заключение.** Суммируя все изложенное, можно следующим образом кратко сформулировать суть предлагаемой концепции. Это дополнение современных экспериментальных данных (и принятых представлений) о состоянии, составе, процессах метаболизма теоретическим построением (с указанием механизмов, обеспечивающих это построение) о пространственно-временной организации и реализации указанных состояний и процессов в клетке.

В основу такого построения (и его механизмов) положено следующее. Основные метаболические цепи и процессы расположены не на неподвижных (малоподвижных) мембранах клетки, а на динамичных, способных к быстрому перемещению, мембранных образованиях. Эти образования, выполняя часто хорошо изученные у них функции, обеспечивают также пространственную организацию метаболических процессов. Благодаря энергичному перемещению они собирают на своих поверхностях ферменты в цепи и организуют пространственно-временное совмещение цепей метаболизма «по-крупному», т. е. за счет транспорта, сканирования этими цепями (расположенными на/внутри структур) пространства клетки, в котором перемещаются микро-структуры, с другими метаболическими цепями, а также с теми, которые расположены на неподвижных (малоподвижных) мембранах.

Таким образом, сосуществуют и взаимодействуют пространственно-динамические и пространственно-стационарные метаболические процессы, це-



пи, циклы. Организация метаболизма в клетке требует особого анализа.

Согласно «общим представлениям», т. е. безусловной феноменологии, поскольку метаболизм в клетке имеется, то идет он, «как надо», и, стало быть, организован (по компартментам, согласно метаболическим цепям, при помощи «внутриклеточного транспорта», белкового сортинга и т. д.). И все это в таком общем виде не вызывает (и не может вызывать) сомнений. Неопределенности начинаются с конкретизации. И, пожалуй, критической является компартментализация. Те компартменты, которые известны, – ядро, митохондрии, лизосомы и др. – в плане своих функций понятны. Но даже в них, классических компартментах, пространственно-временная динамика метаболических цепей, за редчайшими исключениями, не имеет решений (ни по механизмам, ни по целостно пространственно-временному функционированию молекулярных ансамблей). Что же касается основного метаболизма («анаболизма» и «катаболизма»), то его в плане внутриклеточной организации даже не пытаются обсуждать. Считается, что он протекает в клетке «вообще». Хотя концентрация вблизи ядра уже давно не вызывает сомнений. Но можно провести анализ организации метаболизма с иных, тоже не вызывающих сомнений, позиций. Позиций надежности.

Давно и хорошо известно, что идентичных (вызывающих одно и то же превращение) молекул ферментов в клетке «много». И то, что идентичных цепей метаболических процессов тоже много, вполне понятно и логично. Но далее идет некий хаос. Молчаливо считается, что все эти цепи расположены если не равномерно по всей клетке, то, в основном, в центральной части клетки. Но в этой центральной части расположены они «вообще» хаотически. В «общем виде» так оно и есть. Только вот как расположены? Хаотически? А если не хаотически, то как? Этот вопрос почему-то не рассматривают. И опять же «молчаливо» считается, что все цепи метаболизма расположены «вообще», «как надо». Ну, конечно, не совсем все. Что-то в основном локализовано в лизосомах, что-то – в митохондриях. Но основной метаболизм распределяется «вообще». В то же время даже в нарисованной на бумаге карте метаболических процессов видна определенная

функциональная взаимосвязь. И во всех отношениях представляется рациональным, что функционально тесно объединенные циклы расположены множественно-локально, т. е. в клетке имеется множество функциональных локальных компартментов таких циклов. Тогда «рыскание»-сканирование везикул будет обеспечивать и сборку, и функционирование таких циклов, и сопряжение с соседними. На каждой везикуле сообразно ее поверхности может быть несколько идентичных сопряженных циклов. И именно везикулы – это метаболические компартменты.

Проблема, которая в литературе только начинает обсуждаться (пока почти исключительно для сигнальных путей), – это механизмы правильного сочетания и взаимной ориентации белковых комплексов. Насчет механизмов пока ничего не находят (кроме указания, что они должны существовать). А вот для правильной сборки и ориентации введено представление о внутриклеточном скаффолде, функциональным элементом которого является «платформа». Что касается вводимого понятия о «внутриклеточном скаффолде», то оно, по определению термина «скаффолд» (т. е. «строительные леса»), подразумевает для всего построения потенциальную неподвижность. Опять все сводится к варианту закрепления цепей метаболизма в каком-то застывшем виде. Да и природа такого скаффолда даже гипотетически не рассматривается. Иное дело «платформы». Это белковые молекулы («внутриклеточный скаффолд») с посадочными сайтами, узнаваемыми участниками собираемого комплекса. А сам «скаффолд» имеет дополнительный сайт присоединения к мембране [49].

В одном из исследований кандидатом на то, что затем получило название «скаффолд», определен белок LAT, а на то, что названо «платформами», – сайты, связывающие в единый комплекс Grb2, Gbp, PLC- $\gamma$ 1 и p85 субъединицу фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) [50]. Принцип платформ на подвижных везикулах [1] вполне соответствует обсуждаемому в литературе по отношению к платформам внутриклеточного скаффолда. Но, кроме принципа выбора платформами аффинных к ним макромолекул, их нахождение на подвижных везикулах позволяет предложить механизм такого вы-

бора в пространстве клетки и совмещение ферментных цепей по их конечным/начальным продуктам переработки.

Прецизионное, строго ориентированное перемещение продуктов метаболизма между цепями (и внутри них, между соседними ферментами цепей), то, что получило название «из рук в руки», а также между «производителями» и «потребителями», происходит по силовым линиям электромагнитных полей. Такие поля существуют (и хорошо известны) за счет зарядов микроструктур в клетке, а также из-за быстрого перемещения подвижных образований. Между зарядами всегда устанавливается поле. Его силовые линии точно ориентированы. Движение в них заряда вообще не может быть иным, чем строго прецизионным. Если между двумя активными центрами соседних ферментов цепи установится поле (а возникает оно мгновенно – со скоростью света) вследствие изменения заряда как результата ферментативной реакции, то продукт поступит «из рук в руки» с абсолютной точностью, так как никуда иначе он попасть не может. И отсутствие капельно-жидкой воды в клетке – условие прецизионности перемещений. В капельно-жидкой воде диффузия идет хаотически. А в поле – только строго направленно. Особую высокодинамичную роль в образовании и изменениях микрополей в клетке играет сигналинг. Кроме известной сигнальной (в общепринятом понимании) функции, за счет масштабированной, охватывающей все пространство клетки активности фосфокиназ, он обеспечивает массовое появление и флуктуацию зарядов (особенно на периферии клетки).

Все это позволяет ввести в объяснение пространственно-временных процессов в клетке отсутствующее в современных представлениях звено – «регуляторные механизмы организации пространственно-временного совмещения клеточного метаболизма». Метаболизм эукариотической клетки по своей пространственно-временной организации имеет две составляющие (взаимосвязанные, взаимообусловленные и прочее взаимно-, но, тем не менее, со своими основными функциями). Первая составляющая – это «базовый метаболизм». Тот, который известен по перерабатываемым продуктам, ферментам, такую работу осуществляющим, обра-

зуемым метаболитам. Под термином «метаболизм» его, в общем виде, так и понимают. Это метаболические циклы «переработки» молекул, создание «нужного». Это обслуживание, обеспечение всей клетки. Собственно, абстрагируясь от организации клетки, – это вся клетка в виде мгновенного временного среза, ее основа, смысл, функция и т. д. Это то, что сегодня и есть представление о клетке. Вторая составляющая – это «сервисно-сигнальный», «обеспечивающе-сопутствующий» метаболизм. Он – пространственно-временное обеспечение «всего»: всех подвижных элементов, организации сигналинга и прецизионного пространственно-временного совмещения всех процессов в электромагнитных полях («каналах»). Это «модификация» молекул. Клетка ко всем своим «само-» еще и самонастраиваемая, самоорганизуемая система, то, что пока вообще не анализируют. В основе этих двух фундаментальных «само-» лежат самосборка, самоорганизация и самофункционирование в пространстве и времени. Самосборка – это некое фундаментальное свойство всего мироздания, всего сущего (от Вселенной до кристалла поваренной соли). А вот самоорганизация в самофункционирующую систему метаболизма («суть клетки»), его (метаболизма) взаиморасположение в реальном пространстве, обеспечение прецизионно точного и согласованного в реальном времени протекания процессов – это то, что выполняет «сервисно-сигнальная», «обеспечивающе-сопутствующая» составляющая.

Клетка – это самоорганизующаяся, самофункционирующая и саморегулируемая молекулярная электрохимическая машина. А ее архитектура и интерьер – это электромагнитное обеспечение электрохимического механизма динамики «базового метаболизма». Обеспечение за счет пространственно-временного совмещения в то единое, что воспринимается сегодня как «метаболизм», в котором без «сервисно-сигнальной», «обеспечивающе-сопутствующей» составляющей не видно механизмов пространственно-временной (реальной, а не нарисованной) организации и функционирования.

И плато современной фундаментальной биологии – это накопление гигантского материала о клетке и процессах в ней, в интегральном виде пред-

ставленого на уровне мгнового среза, т. е. в статике, который теперь надо выводить на новый уровень – не только на уровень «организации» клетки (состав, расположение, функции, укладка макромолекул, самосборка и т. д.), но и на уровень ее «жизни» – организацию и процессы в реальном пространстве клетки, в реальном времени их протекания и механизмы, это обеспечивающие.

V. A. Kordium, D. M. Irodov, O. O. Maslova, T. A. Ruban, E. M. Sukhorada, V. I. Andrienko, N. S. Shuvalova, L. I. Likhachova, S. P. Shpilova

Fundamental biology reached a plateau – development of ideas

Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine  
150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

#### Summary

*The idea about intracellular transport of metabolic products is presented considering two constituents. The first was described in general in the previous publication. It justified the thesis that cell metabolism is localized and realized not on the fixed structures but on the vigorously and steadily moving («prowling») microvesicles. In the current paper we have shown that an addition of tetrazolium (MTT) to mesenchymal stem cells (MSC) leads to the cumulation of formazan on the surface of actively moving vesicles. This process was time-tracked and shown in dynamics. As formazan is a metabolite product, its formation on the vesicles is an experimental confirmation of the metabolic processes on these moving structures. The second constituent is presented as a hypothesis that is based on the literature data on the intracellular electrical potentials and the calculations of their possible involvement in precision transport of metabolic products.*

*Keywords: cell metabolism, microvesicles, mesenchymal stem cells, intracellular electrical potentials.*

V. A. Кордюм, Д. М. Іродов, О. О. Маслова, Т. О. Рубан, О. М. Сухорада, В. І. Андрієнко, Н. С. Шувалова, Л. І. Ліхачова, С. П. Шпільова

«Фундаментальна біологія вийшла на плато» – розвиток уявлень

#### Резюме

*Розвивається уявлення про внутрішньоклітинний транспорт продуктів метаболізму, яке формується у вигляді двох складових. Першу в загальному вигляді представлено у попередній публікації, де обґрунтовано положення про те, що клітинний метаболізм локалізується і реалізується не на нерухомих структурах, а на енергійно рухомих (перважно поступально – «нишпорячи») мікровезикулах. У даній роботі продемонстровано, що за додавання до мезенхімальних стовбурових клітин тетразолію на поверхні мікровезикул, які активно рухаються, відкладається формазан. Цей процес відслідковано у часі та показано в динаміці. Оскільки утворення формазану є ознакою метаболізму, то його формування на везикулах експериментально доводить наявність процесів метаболізму саме на поверхні рухомих структур. Другу складову представлено як гіпотетичну. Вона базується на літературних*

*даних про внутрішньоклітинні електропотенціали та розрахунках їхньої можливої участі у прецизійному перенесенні продуктів метаболізму.*

*Ключові слова: клітинний метаболізм, мікровезикули, мезенхімальні стовбурові клітини, внутрішньоклітинні електропотенціали.*

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kordium V. A., Andrienko V. I., Maslova O. A., Shuvalova N. S., Irodov D. M., Ruban T. A., Sukhorada E. M., Likhacheva L. I., Shpilevaya S. P. Fundamental gap of fundamental biology // *Biopolym. Cell.*–2011.–**27**, N 3.–P. 235–245.
2. Roche Applied Science «Biochemical Pathways» wall chart / Third edition.
3. Mellman I., Fuchs R., Helenius A. Acidification of the endocytic and exocytic pathways // *Annu. Rev. Biochem.*–1986.–**55**.–P. 663–700.
4. Braulke T., Bonifacio J. S. Sorting of lysosomal proteins // *Biochim. Biophys. Acta.*–2009.–**1793**, N 4.–P. 605–614.
5. Lam S. K., Yoda N., Schekman R. A vesicle carrier that mediates peroxisome protein traffic from the endoplasmic reticulum // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*–2010.–**107**, N 50.–P. 21523–21528.
6. Rohn W. M., Rouille Y., Waguri S., Hoflack B. Bi-directional trafficking between the trans-Golgi network and the endosomal/lysosomal system // *J. Cell Sci.*–2000.–**113**, Pt 12.–P. 2093–2101.
7. Gu F., Crump C. M., Thomas G. Trans-Golgi network sorting // *Cell Mol. Life Sci.*–2001.–**58**, N 8.–P. 1067–1084.
8. van Meel E., Klumperman J. Imaging and imagination: understanding the endo-lysosomal system // *Histochem. Cell Biol.*–2008.–**129**, N 3.–P. 253–266.
9. Smith F. G. The mechanism of the tetrazolium reaction in corn embryos // *Plant. Physiol.*–1952.–**27**, N 3.–P. 445–456.
10. Liu Y., Peterson D. A., Kimura H., Schubert D. Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction // *J. Neurochem.*–1997.–**69**, N 2.–P. 581–593.
11. Nikkiah G., Tonn J. C., Hoffmann O., Kraemer H. P., Darling J. L., Schonmayr R., Schachenmayr W. The MTT assay for chemosensitivity testing of human tumors of the central nervous system. Part I: Evaluation of test-specific variables // *J. Neurooncol.*–1992.–**13**, N 1.–P. 1–11.
12. Takahashi S., Abe T., Gotoh J., Fukuuchi Y. Substrate-dependence of reduction of MTT: a tetrazolium dye differs in cultured astroglia and neurons // *Neurochem. Int.*–2002.–**40**, N 5.–P. 441–448.
13. Gabaldon T., Huynen M. A. From endosymbiont to host-controlled organelle: the hijacking of mitochondrial protein synthesis and metabolism // *PLoS Comput. Biol.*–2007.–**3**, N 11.–P. e219. (P. 2209–2218 эти стр. проставлены на отгиске, а Пабмед выдает то, что я поставила)
14. Holt I. J. Mitochondrial DNA replication and repair: all a flap // *Trends Biochem. Sci.*–2009.–**34**, N 7.–P. 358–365.
15. Johnson D. T., Harris R. A., French S., Blair P. V., You J., Bemis K. G., Wang M., Balaban R. S. Tissue heterogeneity of the mammalian mitochondrial proteome // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*–2007.–**292**, N 2.–P. C689–C697.
16. Thiele I., Price N. D., Vo T. D., Palsson B. O. Candidate metabolic network states in human mitochondria. Impact of diabetes, ischemia, and diet // *J. Biol. Chem.*–2005.–**280**, N 12.–P. 11683–11695.

17. Zorov D. B., Krasnikov B. F., Kuzminova A. E., Vysokikh M. Yu., Zorova L. D. Mitochondria revisited. Alternative functions of mitochondria // *Biosci. Rep.*—1997.—**17**, N 6.—P. 507–520.
18. Tallini G. Oncocytic tumours // *Virchows Arch.*—1998.—**433**, N 1.—P. 5–12.
19. Benard G., Rossignol R. Ultrastructure of the mitochondrion and its bearing on function and bioenergetics // *Antioxid. Redox Signal.*—2008.—**10**, N 8.—P. 1313–1342.
20. Collins T. J., Berridge M. J., Lipp P., Bootman M. D. Mitochondria are morphologically and functionally heterogeneous within cells // *EMBO J.*—2002.—**21**, N 7.—P. 1616–1627.
21. Palmer M. J., Mahajan V. S., Trajman L., Lauffenburger D. A., Chen J. Perspectives on the quantitative immunobiology of the IL-7 signaling network // *Cell. Mol. Immunol.*—2008.—**5**, N 2.—P. 79–89.
22. Metzler D. E. *Biochemistry* / 2<sup>nd</sup> edit.—New York: Acad. press, 2001.—Vol.1.—940 p.
23. Lin J. X., Migone T. S., Tsang M., Friedmann M., Weatherbee J. A., Zhou L., Yamauchi A., Bloom E. T., Mietz J., John S., Warren J. The role of shared receptor motifs and common Stat proteins in the generation of cytokine pleiotropy and redundancy by IL-2, IL-4, IL-7, IL-13, and IL-15 // *Immunity.*—1995.—**2**, N 4.—P. 331–339.
24. Mayeux P., Billat C., Jacquot R. Murine erythroleukaemia cells (Friend cells) possess high-affinity binding sites for erythropoietin // *FEBS Lett.*—1987.—**211**, N 2.—P. 229–233.
25. Sawyer S. T., Krantz S. B., Luna J. Identification of the receptor for erythropoietin by cross-linking to Friend virus-infected erythroid cells // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—1987.—**84**, N 11.—P. 3690–3694.
26. D'Andrea A. D., Lodish H. F., Wong G. G. Expression cloning of the murine erythropoietin receptor // *Cell.*—1989.—**57**, N 2.—P. 277–285.
27. Fukunaga R., Ishizaka-Ikeda E., Nagata S. Purification and characterization of the receptor for murine granulocyte colony-stimulating factor // *J. Biol. Chem.*—1990.—**265**, N 23.—P. 14008–14015.
28. Gearing D. P., King J. A., Gough N. M., Nicola N. A. Expression cloning of a receptor for human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor // *EMBO J.*—1989.—**8**, N 12.—P. 3667–3676.
29. Hatakeyama M., Mori H., Doi T., Taniguchi T. A restricted cytoplasmic region of IL-2 receptor beta chain is essential for growth signal transduction but not for ligand binding and internalization // *Cell.*—1989.—**59**, N 5.—P. 837–845.
30. Mita S., Harada N., Naomi S., Hitoshi Y., Sakamoto K., Akagi M., Tominaga A., Takatsu K. Receptors for T cell-replacing factor/interleukin 5. Specificity, quantitation, and its implication // *J. Exp. Med.*—1988.—**168**, N 3.—P. 863–878.
31. Armitage R. J., Ziegler S. F., Friend D. J., Park L. S., Fanslow W. C. Identification of a novel low-affinity receptor for human interleukin-7 // *Blood.*—1992.—**79**, N 7.—P. 1738–1745.
32. Pathak M. A., Matrisian L. M., Magun B. E., Salmon S. E. Effect of epidermal growth factor on clonogenic growth of primary human tumor cells // *Int. J. Cancer.*—1982.—**30**, N 6.—P. 745–750.
33. Reyes C. D., Petrie T. A., Garcha A. J. Mixed extracellular matrix ligands synergistically modulate integrin adhesion and signaling // *J. Cell. Physiol.*—2008.—**217**, N 2.—P. 450–458.
34. Barker T. H. The role of ECM proteins and protein fragments in guiding cell behavior in regenerative medicine // *Biomaterials.*—2011.—**32**, N 18.—P. 4211–4214.
35. Uckun F. M., Dibirdik I., Smith R., Tuel-Ahlgren L., Chandan-Langlie M., Schieven G. L., Waddick K. G., Hanson M., Ledbetter J. A. Interleukin 7 receptor ligation stimulates tyrosine phosphorylation, inositol phospholipid turnover, and clonal proliferation of human B-cell precursors // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—1991.—**88**, N 9.—P. 3589–3593.
36. Mustelin T., Vang T., Bottini N. Protein tyrosine phosphatases and the immune response // *Nat. Rev. Immunol.*—2005.—**5**, N 1.—P. 43–57.
37. King M. P., Attardi G. Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation // *Science.*—1989.—**246**, N 4929.—P. 500–503.
38. Gajewski C. D., Yang L., Schon E. A., Manfredi G. New insights into the bioenergetics of mitochondrial disorders using intracellular ATP reporters // *Mol. Biol. Cell.*—2003.—**14**, N 9.—P. 3628–3635.
39. *Fizicheskiy entsiklopedicheskiy slovar'*.—Moskva: Sovetskaya entsiklopediya, 1966.—Vol. 5.
40. Linnane A. W., Kios M., Vitetta L. Healthy aging: regulation of the metabolome by cellular redox modulation and prooxidant signaling systems: the essential roles of superoxide anion and hydrogen peroxide // *Biogerontology.*—2007.—**8**, N 5.—P. 445–467.
41. Grabe M., Oster G. Regulation of organelle acidity // *J. General Physiol.*—2001.—**117**, N 4.—P. 329–344.
42. Reers M., Smiley S. T., Mottola-Hartshorn C., Chen A., Lin M., Chen L. B. Mitochondrial membrane potential monitored by JC-1 dye // *Methods Enzymol.*—1995.—**260**—P. 406–417.
43. Kuznetsov A. V., Margreiter R. Heterogeneity of mitochondria and mitochondrial function within cells as another level of mitochondrial complexity // *Int. J. Mol. Sci.*—2009.—**10**, N 4.—P. 1911–1929.
44. Wang W., Fang H., Groom L., Cheng A., Zhang W., Liu J., Wang X., Li K., Han P., Zheng M., Yin J., Wang W., Mattson M. P., Kao J. P., Lakatta E. G., Sheu S. S., Ouyang K., Chen J., Dirksen R. T., Cheng H. Superoxide flashes in single mitochondria // *Cell.*—2008.—**134**, N 2.—P. 279–290.
45. Capaldi R. A., Aggeler R., Gilkerson R., Hanson G., Knowles M., Marcus A., Margineantu D., Marusich M., Murray J., Oglesbee D., Remington S. J., Rossignol R. A replicating module as the unit of mitochondrial structure and functioning // *Biochim. Biophys. Acta.*—2002.—**1555**, N 1–3.—P. 192–195.
46. Кордюм В. А. *Nasha «shagrenevaya kozha» – eto nasha problema. Nam ee i reshat'.*—Kiev: Logos, 2006.—264 p.
47. Mironov S. L., Symonchuk N. ER vesicles and mitochondria move and communicate at synapses // *J. Cell Sci.*—2006.—**119**, Pt 23.—P. 4926–4934.
48. Williamson D. H., Lund P., Krebs H. A. The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide in the cytoplasm and mitochondria of rat liver // *Biochem. J.*—1967.—**103**, N 2.—P. 514–527.
49. Good M. C., Zalatan J. G., Lim W. A. Scaffold proteins: hubs for controlling the flow of cellular information // *Science.*—2011.—**332**, N 6030.—P. 680–686.
50. Zhang W., Sloan-Lancaster J., Kitchen J., Tribble R. P., Samelson L. E. LAT: the ZAP-70 tyrosine kinase substrate that links T cell receptor to cellular activation // *Cell.*—1998.—**92**, N 1.—P. 83–92.

UDC 573

Received 14.03.11