

ОБЗОРЫ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ

**Физические основы клеточного движения.
Механизмы самоорганизации амебoidalной подвижности**

Ю.М. Романовский, В.А. Теплов

Процессы образования структур и автоволн в неравновесных активных средах являются предметом изучения специального раздела теории нелинейных динамических систем. В настоящем обзоре в качестве активной среды рассматривается протоплазма амебoidalных клеток, где в результате процессов сборки и диссоциации актомиозиновой сети непрерывно возникают и разрушаются гелеобразные структуры. Локальные области этих структур могут спонтанно сокращаться и релаксировать, вызывая сложно организованные круговые или возвратно-поступательные потоки золеобразной протоплазмы. Рассматриваются математические модели движений, в которых образующиеся диссипативные структуры и автоволновые процессы взаимно обуславливают друг друга. Показывается, что основные количественные закономерности динамики протоплазмы можно объяснить, постулируя наличие положительной обратной связи между локальной деформацией и уровнем свободного кальция — фактора, управляющего сокращением сети. Обсуждаются возможности различных физических методов, используемых для определения параметров математических моделей.

PACS numbers: 87.22.Jb, 87.64.-t, 82.40.Bj

Содержание

1. Введение (555).
2. Основные явления амебoidalной подвижности (557).
2.1. Закономерности локомоции клеток. 2.2. Механизм активного сокращения. 2.3. Две гипотезы амебoidalного движения.
3. Обзор существующих теорий (559).
3.1. Модели роста псевдоподий. 3.2. Взаимодействие клеток с поверхностью. 3.3. Самоорганизация фонтанирующих течений в Amoeba proteus.
4. Автоколебания и биологическая подвижность (562).
5. Плазмодий Physarum polycephalum как автоволновая система (562).
6. Модель автоволновой подвижности плазмодия (564).
6.1. Гидродинамическая модель течений протоплазмы в телях плазмодия. 6.2. Двумерная модель плазмодия. 6.3. Уравнения для активного напряжения и цепи управления. 6.4. Линейный анализ уравнений движения. 6.5. Квазигармонические автоволны. 6.6. Автомодаляция волн и квазистохастические режимы.

7. Физические методы исследования клеточного движения (570).
7.1. Клеточная тензометрия. 7.2. Лазерная доплеровская анемометрия. 7.3. Лазерный доплеровский микроскоп.
8. Нестационарные внешние воздействия как способ исследования автоколебаний в подвижности (573).
8.1. Синхронизация челночного движения протоплазмы периодически меняющимся градиентом температуры. 8.2. Воздействие света на автоволновые режимы плазмодия. 8.3. Математическая модель неавтономной системы.
9. Заключение (576).
Список литературы (577).

1. Введение

Благодаря совместным усилиям физиков, математиков, химиков и биологов в последние годы автоволны заняли ведущее место среди разнообразных динамических процессов, исследуемых в неравновесных открытых распределенных системах [1–6].

Нелинейные взаимодействия между переменными различной природы при учете диффузии вызывают потерю устойчивости стационарных и однородных состояний, что приводит к рождению страт в газовых разрядах, автосолитонов в протяженных полупроводниковых и магнитных средах и к разнообразию режимов горения [7–9]. Чем сложнее физические объекты, тем больше разнообразие автоволн и автоструктур. Замечательными примерами этого являются как автоколебательные химические реакции, так и множество явлений современной нейродинамики [10–12].

Как мы покажем ниже, нелинейная физика самоорганизации подвижности протоплазмы также основывается на закономерностях автоволновых процессов, где,

Ю.М. Романовский. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, физический факультет
119899 Москва, Воробьевы горы
Тел. (095) 939-26-12, (095) 947-25-20
E-mail: romanov@lbp.phys.msu.ru
В.А. Теплов. Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
142292 Пущино, Московская обл., Россия
Тел. (095) 923-96-68 (доб. 359), (095) 925-59-84
E-mail: teplov@venus.itib.serpukhov.su

Статья поступила 23 января 1995 г.

помимо диффузии, заметную роль играют гидродинамические потоки, регулирующие спонтанно возникающие механические сокращения внутриклеточных структур.

В этом смысле своеобразная самоорганизация движения протоплазмы объединяет в себе черты активных сред, в которых возможно несколько фазовых состояний, порождающих автоволны, и систем, в которых возникают гидродинамические неустойчивости. В настоящем обзоре на примере амебодных клеток мы покажем, как организуются такие самодвижения и какую роль они играют в биофизических механизмах миграции клеток по поверхности.

Способность двигаться — одно из неотъемлемых свойств всего живого на Земле. Во времена Левенгука, создавшего первый микроскоп, понятие подвижности было, в сущности, синонимом жизни. Все движения, на которые способны живые системы, основываются на двигательной активности клеток или их групп.

Подвижность на клеточном уровне проявляется в самых разнообразных формах. Это не только сокращение различных типов мышечных клеток, приводящее к перемещению животных, но и сократительная активность растительных клеток, обеспечивающая, например, движение листьев мимозы. Это также различные внутриклеточные движения, играющие важную роль в осуществлении обмена и распределении веществ внутри клетки: течение протоплазмы, самостоятельная подвижность отдельных субклеточных органелл, периодическая пульсация ядер клетки, расхождение хромосом, перетяжка и деление клетки на две дочерние и т.п. Механическая активность наблюдается и в нейронах, она не менее важна для их деятельности, чем электрическая.

Перемещение в пространстве необходимо как отдельным, свободноживущим клеткам, для того чтобы реагировать на окружающую среду (например, уходить от токсических веществ или, наоборот, двигаться по направлению к источнику пищи), так и тканевым клеткам многоклеточных организмов в ходе эмбриогенеза.

В основе всех этих явлений лежит непрерывный процесс самоорганизации движения, а для множества клеток — и самоорганизация самого двигательного аппарата. Клетку в целом можно рассматривать как открытую неравновесную термодинамическую систему, в которой непрерывно строятся и разрушаются специализированные структуры и возникают автоволновые движения.

Обычно различают три основных механизма клеточного движения: амебодное, ресничное и жгутиковое [13]. Амебодное движение — это перемещение клеток по твердой поверхности с помощью временно образующихся на поверхности клетки выростов, носящих общее название "псевдоподий" (т.е. ложноножки).

В отличие от псевдоподий, жгутики и реснички являются постоянными специализированными органеллами, обеспечивающими плавание клеток. При этом бактерии имеют вращающиеся жгутики, а простейшие перемещаются в жидкой среде, используя волнообразные биения ресничек или жгутиков.

Все эти столь различные формы движения имеют три общие черты. Во-первых, подавляющее большинство механизмов двигательной активности клеток можно объяснить небольшим числом основных преобразователей химической энергии в механическую работу. Рабочими

ми веществами этих преобразователей являются пары особых макромолекул, которые принято называть сократительными белками. Известны три основные пары сократительных белков: пара актин–миозин, используемая в мышцах и амебодных клетках; пары тубулин–динеин и тубулин–кинезин, работающие в ресничном движении и внутриклеточном транспорте органелл.

Во-вторых, во всех явлениях подвижности в той или иной мере происходит "скольжение" в каждой паре белков по отношению друг к другу или к другим элементам клеточной структуры.

В-третьих, энергетические ресурсы для всех этих процессов обеспечиваются за счет прямого превращения химической энергии аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) при ее гидролизе, осуществляемом миозином, динеином и кинезином.

Возникновение сократительных белков, по-видимому, явилось одним из важнейших шагов в эволюции механизма биологического катализа, в котором, по мнению Блюменфельда [14], центральная роль должна отводиться медленно релаксирующим механическим компонентам ферментов.

Структурные, конформационные перестройки, происходящие в сократительных белках, настолько велики, что основные принципы действия ферментов очень удобно изучать на их примере, и это вполне укладывается в современную концепцию белок–машина [15].

После всего сказанного представляется вполне вероятным, что в живых системах не существует ни одного физиологического процесса, в котором сократительные белки не играли бы определяющую роль.

С точки зрения физики протоплазма амебодных клеток является поистине уникальным объектом для исследования самоорганизации активных распределенных сред. Именно закономерности образования диссипативных структур и автоволн в актомиозиновых растворах и объяснение с их помощью механизмов амебодной подвижности является основным содержанием обзора.

Гелеобразные структуры непрерывно возникают и разрушаются в результате сборки и диссоциации актомиозиновой сети. Локальные области такой сети могут спонтанно сокращаться и релаксировать, вызывая сложно организованные круговые или возвратно-поступательные потоки золеобразной протоплазмы. Управление этими процессами осуществляется за счет изменения параметров и граничных условий системы.

Постановка и решение задачи об установившихся течениях в замкнутом объеме с активной актомиозиновой средой имеет некоторое сходство с проблемой возникновения ячеек Бинара в подогреваемом снизу слое вязкой жидкости. Как мы увидим ниже, роль градиента температуры в случае амебодного движения в определенном смысле играет концентрация химического регулятора сократительной активности среды.

Особенностью самоорганизации в активной актомиозиновой среде является сосуществование, а точнее, взаимообусловленность стационарных пространственных распределений, или диссипативных структур, и самоподдерживающихся волновых процессов.

Прежде чем перейти к современной теории этих процессов, остановимся кратко на биофизических основах взаимодействия сократительных белков и движения амебодных клеток.

2. Основные явления амебодной подвижности

2.1. Закономерности локомоции клеток

К амебодным клеткам, помимо собственно амёб, относятся многие клетки животных, и этот тип движения имеет непосредственное отношение к таким важным биологическим явлениям, как морфогенез, т.е. возникновение сложноорганизованных структур в процессе развития организма, опухолевые трансформации и иммунитет.

Движущаяся клетка представляет собой полярную структуру, в которой фронтом является выдвигающаяся псевдоподия. Центральная часть клетки называется телом, а задняя — хвостом. Для осуществления движения обязательно выполнение по крайней мере двух условий. Во-первых, клетка должна уметь выпускать псевдоподии, рост которых обязательно сопровождается перетеканием в них содержимого клетки. Во-вторых, необходим твердый субстрат, к которому псевдоподия должна иметь возможность прикрепиться. Однако как форма псевдоподий, так и характер перемещения у разных клеток могут быть весьма различными.

Для собственно амёб характерны лобоподии [16–18] — широкие тупые выпячивания, в передней части которых видна область совершенно прозрачной эктоплазмы (гиалиновый колпачок) без каких бы то ни было гранул (рис. 1). Внутреннюю, гранулированную область клетки, содержащую ядро и другие органеллы, называют эндоплазмой.

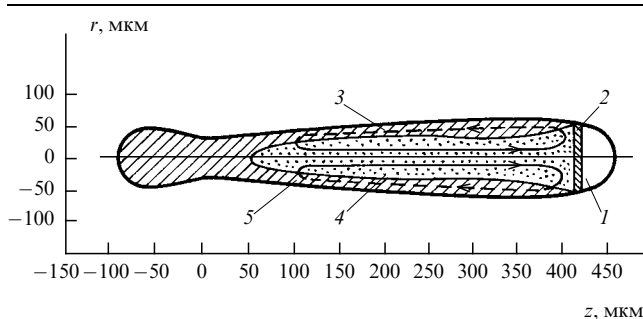


Рис. 1. Продольное сечение *Amoeba proteus* со схемой фонтанирующего потока (стрелками показано направление потока): (1) гиалиновый колпачок, (2) перегородка гиалинового колпачка, (3) гелеобразные эктоплазматические стенки (заштрихованы), (4) золеобразная эндоплазма, (5) мембрана амёбы

Поток эндоплазмы в направлении к продвигающемуся концу псевдоподии непосредственно перед гиалиновым колпачком распадается на боковые струи. Благодаря сходству с фонтаном эта область получила название фонтанирующей зоны. В ней совершается переход более жидкой эндоплазмы в гелеобразную эктоплазму, формирующую новые стенки клетки.

В гиалиновом колпачке могут возникать вихревые движения, на которые накладываются пульсации скорости с периодами порядка 10 с [18]. Эти пульсации, по всей видимости, связаны с периодическим откреплением тонких слоев геля от мембраны на вершине псевдоподии.

Эндоплазма продавливается через отделившийся и затем диссоциирующий гель в гиалиновую область и перемещает передний край мембраны вперед. Содержа-

щиеся в эндоплазме сократительные белки служат материалом для формирования нового гелевого слоя и цикл повторяется, что приводит к пульсирующему продвижению клетки.

Большие амёбы, достигающие линейных размеров около 1 мм, такие, как *Amoeba proteus*, т.е. амёба многоликая, или *Chaos-chaos* (обратите внимание на "синергетический" смысл этих старых названий!), выбрасывают в разные стороны сразу несколько псевдоподий. Они конкурируют между собой и побеждают те, которые находятся под воздействием более благоприятных градиентов химических и физических факторов: аттрактантов (т.е. веществ, привлекающих клетку), освещенности, электрического поля и т.д. Так как скорость миграции амёб около 1 мкм с⁻¹, а скорости потоков протоплазмы порядка 10 мкм с⁻¹, эти потоки легко наблюдаются под микроскопом.

Во всех случаях амебодной локомоции можно выделить следующую хронологическую картину двигательного поведения клеток: стадию вытягивания псевдоподии, стадию ее прикрепления и стадию сокращения тела, вызывающего отрыв хвоста [13, 19].

У клеток млекопитающих наблюдается другой тип псевдоподий. Это различные формы ламеллоподий. При распластывании фибробластов — клеток соединительной ткани ламелла представляет собой кольцо толщиной не более 1 мкм, расположенное по всему периметру клетки [20–22]. Для всей фазы ламеллообразования характерна волнообразная ритмическая активность края ламеллы, которая и является основным "двигателем" клетки [21].

Согласно [20, 23] краевую область ламеллы следует рассматривать как возбудимую среду из спонтанно активных элементов. Динамическая конкуренция различных участков ламеллы приводит к поляризации клетки в треугольную форму: клетка вытягивается в направлении ведущего края ламеллы, а остальная область ламеллы вырождается в узкую хвостовую область.

В некоторых случаях наблюдается циркулярное распространение волн сокращения по всему кольцу ламеллы. Несмотря на разнообразие, наблюдаемое на морфологическом уровне, вполне вероятно, что основной физической механизм одинаков для всех типов амебодного движения.

2.2. Механизм активного сокращения

Как видно из вышеприведенного описания, локомоция амебодных клеток — сложное явление, зависящее от координированных взаимодействий многих биохимических и биофизических процессов. Для его понимания необходимо в первую очередь решить два вопроса: какова природа механических сил, участвующих в организации псевдоподий, и как механические и химические процессы координируются?

Исследование механизмов двигательных реакций у живых существ началось с изучения поперечно-полосатых мышц, обладающих наиболее ярко выраженной способностью к сокращению. Именно из мышечных клеток были впервые выделены актин и миозин, которые, как впоследствии оказалось, присутствуют в подавляющем числе клеток. Благодаря высокой структурной упорядоченности, мышцы являются лучшим объектом для понимания механизма взаимодействия актина и миозина [24, 25].

В противоположность поперечно-полосатым мышечным клеткам со стационарными миофибриллами, способными к однонаправленному сокращению и генерации больших сил, амебодные клетки генерируют силу с помощью актомиозиновой филаментной системы, способной собираться и разбираться в ходе самого процесса сокращения.

Актин в неммышечных клетках может существовать в двух функциональных состояниях: в виде растворимых мономеров (G-актин) с молекулярной массой 42 кД или в форме полимеризованных двухнитевидных филаментов (F-актин) различной длины. Двойная спираль F-актина имеет толщину 5–7 нм и шаг 38 нм.

Содержание актина в некоторых активно передвигающихся клетках может достигать 20–30 % от общего белка. Для реакции полимеризации, идущей в присутствии связанного с мономерами АТФ, очень критична концентрация G-актина. Образующийся полимер всегда находится в равновесии с мономерным актином в соответствии с уравнением



Здесь n — число звеньев в полимере. Хотя мономеры могут добавляться к любому концу полимера, один оказывается предпочтительным для полимеризации, а другой — для деполимеризации.

Молекулы актина могут взаимодействовать с рядом так называемых актинсвязывающих белков. При этом в зависимости от того, какой белок вступает во взаимодействие с актином, может либо меняться процесс полимеризации, либо происходить связывание уже образованных актиновых нитей с другими клеточными структурами или друг с другом, что превращает суспензию микрофиламентов в гелевую сеть (рис. 2), или, наоборот, разрезание нитей на короткие фрагменты, ведущее к превращению геля в золь.

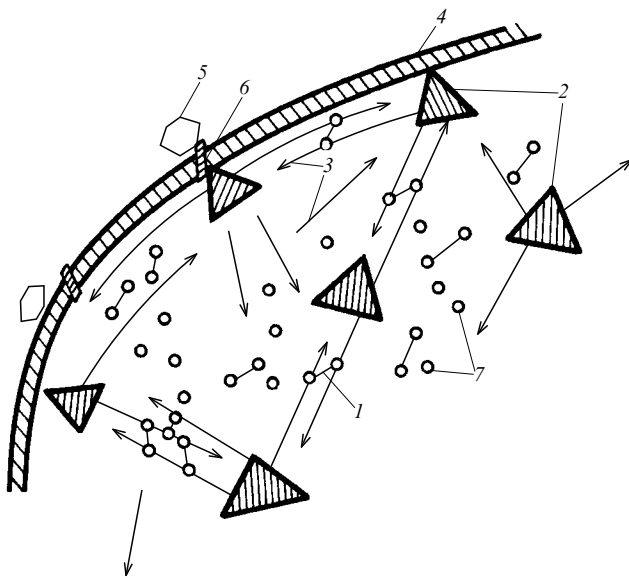


Рис. 2. Схема актомиозиновой сети (составлена по данным [31]): (1) олигомеры миозина, (2) актинсвязывающие узлы, (3) актиновые нити, образующиеся при полимеризации G-актина, (4) мембрана клетки, (5) адгезивные белки, (6) трансмембранные белки, (7) молекулы G-актина

Молекулы миозина тоже можно отнести к классу актинсвязывающих белков, причем он способен взаимодействовать только с полимеризованной формой актина, в результате чего и генерируются движения.

Миозин представляет собой гексамер, состоящий из двух тяжелых полипептидных цепей (с молекулярной массой 200 кД каждая) и двух пар легких цепей (с молекулярной массой 16–22 кД каждая). Тяжелые цепи крайне асимметричны и состоят из стержневого α -спирального участка глобулярной области, называемой головкой.

Стержневые участки обеих тяжелых цепей свиты в суперспираль таким образом, что обе головки оказываются на одном ее конце. Поэтому сама суперспираль получила название хвоста. С помощью своих хвостов миозиновые молекулы могут связываться друг с другом и образовывать различные биполярные структуры. В неммышечных клетках миозин находится в форме небольших олигомеров.

Ввиду схожести основных сократительных белков можно предположить, что основной механизм взаимодействия актина и миозина, изученный на мышцах, функционирует и в амебодных клетках и что роль мотора в амебодном движении также играет взаимное скольжение актина и миозина.

Один конец актинового филамента в неммышечных клетках обычно прикреплен к клеточной мембране или другим клеточным органеллам, а другой конец свободен. Между двумя противоположными и, таким образом, противоположно поляризованными актиновыми нитями находятся биполярные миозиновые олигомеры.

При взаимодействии актина и миозина возникает взаимное скольжение актиновых филаментов относительно миозина, что приводит к сближению структур, к которым они присоединены. Хотя в настоящее время довольно хорошо известны основные компоненты, вовлеченные в генерацию движущей силы, гораздо менее ясно, как это скольжение филаментов связано с формированием псевдоподий и их активностью.

2.3. Две гипотезы амебодного движения

Еще в прошлом веке, задолго до открытия сократительных белков, высказывались различные идеи об амебодном движении, которые позже возродились в двух основных взаимоисключающих теориях — Маста [16] и Аллена [17].

Согласно гипотезе Маста у движущейся амебы происходит непрерывное сокращение заднего, эктоплазматического, конца и вдоль тела создается градиент гидростатического давления, вызывающий течение плазмозоля к переднему концу, где в результате образуется псевдоподия.

По мере сокращения плазмозоль хвостовой части разжижается, т.е. превращается в плазмозоль, а на переднем конце происходит обратный процесс: плазмозоль, заворачиваясь к мембране, желатинизируется. Таким образом, эктоплазматическая трубка непрерывно разрушается на заднем конце клетки и надстраивается на ее фронте. Согласно этому представлению само течение эндоплазмы и образование псевдоподии происходит пассивно.

Гипотеза Маста господствовала почти 40 лет, пока не накопился ряд фактов, которые она не объясняла. Пре-

жде всего эта гипотеза требует наличия довольно сложной системы управления. Так, для аттрактантов (в том числе и пищи) информация от места рецепции на фронте должна передаваться к хвосту, сокращение которого уже затем может гидродинамически вызвать образование псевдоподии в месте рецепции, хотя хвостовое сокращение будет приводить к растяжению всех эластичных участков.

Другая идея, предложенная Алленом [17], называется гипотезой сокращения в зоне фонтанирования. Аллен приписал активные свойства самой эндоплазме, которая, по его мнению, состоит из аксиальной гелеобразной части и более жидкой периферической части, образующей зону смещения между аксиальной протоплазмой и эктоплазмой. Аксиальная эндоплазма представляет собой актомиозиновый гель, который способен сокращаться во фронтальной зоне псевдоподии и подтягивать остальную часть.

Приведенные рассуждения по сути не являются теориями, а скорее, представлениями о том, как могла бы двигаться амеба, если бы активность приписывалась только определенным ее частям. Сократительные белки присутствуют в любом месте клетки, и проблема амебодного движения заключается в организации системы управления.

Известно, что универсальным регулятором взаимодействия актина и миозина являются ионы кальция. Конечно, в регуляции амебодной подвижности принимают участие и другие большие и малые молекулы. Однако для построения простейшей теории и соответствующих базовых математических моделей достаточно принимать во внимание лишь пространственно-временное перераспределение концентрации Ca^{2+} , которое является непременным звеном в самоорганизации внутриклеточных движений.

3. Обзор существующих теорий

Построение общего количественного описания событий, происходящих в амебодных клетках, — сложная и до конца не решенная задача. Однако уже существует ряд физических и математических моделей, которые довольно хорошо описывают рост псевдоподий [26–29], процессы взаимодействия клетки с поверхностью [30] и организацию внутриклеточного движения [9, 31–33, 41, 82–85, 101].

В этом разделе мы сначала сделаем краткий обзор теорий роста псевдоподий, а затем опишем наиболее содержательные и интересные для физиков проблемы самоорганизации внутриклеточных течений. Обсуждаемые ниже модели будут рассмотрены в двух характерных случаях: самоподдерживающихся фонтанирующих потоков протоплазмы и автоволновых возвратно-поступательных (так называемых челночных) течений. В общем случае эти две формы подвижности протоплазмы могут существовать совместно и определять перенос массы клетки вперед, а следовательно, являться неотъемлемой частью механизма миграции.

Важными факторами в организации движения клеток являются градиенты различных внешних стимулов, в том числе и иммунные факторы, продуцируемые внутри многоклеточных организмов. Именно эти воздействия, а также самовоздействия клеток через вещества (которые они выделяют во внешнюю среду) управляют свой-

ствами мембраны и определяют направление миграции [34].

Свободноживущие клетки также реагируют друг на друга. Такие коллективные явления ярко выражены в развитии акразиомицета *Dictyostelium discoideum* [9, 35] и в поведении микроорганизмов при дефиците питания [36].

Таким образом, общая модель для миграции должна включать в себя описание внутриклеточных потоков, процессов прикрепления и открепления клетки от поверхности, рецепцию внешних факторов и, наконец, биохимическую картину передачи сигналов управления от рецепторов к сократительным механизмам и системам, контролирующим свойства мембраны.

3.1. Модели роста псевдоподий

В настоящее время предложено несколько моделей роста псевдоподий. В [26–28] описываются процессы образования ламеллоподии и подтягивания клетки вперед. Предполагается, что локальные изменения ионных условий, обусловленные пассивной проницаемостью мембраны фронтальной кромки ламеллы, запускают освобождение ионов кальция, активирующих факторы растворения геля. Это приводит к уменьшению модуля Юнга геля и под влиянием давления набухания происходит вытягивание ламеллоподии.

По мере поглощения везикулами ионов кальция и дезактивации факторов растворения появляется гелевая сеть и образуются адгезивные места, с помощью которых происходит прикрепление ламеллы к подложке. Ионы кальция при этом активируют сокращение появившейся актомиозиновой сети, причем максимальное сокращение происходит при их низкой концентрации, когда все факторы расслабления уже дезактивированы.

Сокращение геля подтягивает клетку вперед, отрывая ее хвостовые контакты от субстрата, затем гель релаксирует к своему первоначальному состоянию и цикл повторяется. Таким образом, ионная утечка запускает цикл растворения и набухания геля, за которым следует его желатинизация и сокращение. Этот цикл приводит сначала к расплыванию ламеллы впереди клетки, а затем к подтягиванию остальной части к выдвинувшемуся и прикрепившемуся фронту.

Одномерная математическая модель описывается посредством следующих полевых переменных: $u(\mathbf{x}, t)$ — смещение материальной точки в геле от ее первоначальной позиции, $c(\mathbf{x}, t)$ — концентрация ионов кальция, $G(\mathbf{x}, t)$ — объемная фракция геля, т.е. количество актина, связанного поперечными связями (концентрация цепочек в сети), $s(\mathbf{x}, t)$ — объемная фракция золя (в который включаются актинсвязывающие белки), отдельные актиновые мономеры и филаменты, не связанные в сеть. К сожалению, в работе [28] отсутствуют какой бы то ни было анализ и численные решения предложенных уравнений.

Хороший анализ другой математической модели проведен в работе [29], посвященной процессу вытягивания псевдоподии в лейкоцитах. Однако основной постулат этой теории представляется нам довольно сомнительным. Псевдоподия рассматривается как пористое тело, построенное из сети актиновых нитей, в котором мономеры актина транспортируются к ее концу и добавляются к существующим концам F-актина только за счет процессов диффузии и конвективного переноса.

Основная гипотеза авторов [29] состоит в том, что сама полимеризация актина является движущей силой для продвижения передней мембраны псевдоподии вперед и что скорость роста псевдоподии контролируется только актинсвязывающими белками.

Описанная выше модель, по мнению авторов, объясняет и вытягивание тонкого отростка (акросомы) в клетках спермы иглокожих [37], которое индуцируется их контактом с яйцеклеткой. Длина акросомального отростка, содержащего актиновые филаменты, может менее чем за 10 секунд достигать 90 мкм, что в 15 раз больше самой клетки. Через акросомальный отросток ядро и цитоплазма спермы попадают в яйцеклетку, что приводит к ее оплодотворению.

Указанной проблеме посвящено еще несколько теоретических работ [38–40]. Нам представляется наиболее близкой к реальности модель, предложенная в [39]. Авторы провели анализ эволюции передней границы растущего акросомального отростка и оценили кинетику полимеризации актина, ограниченной диффузией.

Было показано, что рост актиновых филаментов происходит слишком медленно, чтобы управлять акросомальным удлинением, и другие силы, например осмотические, управляющие водным потоком через мембрану, должны играть важную роль в его удлинении. А полимеризация актина — вторичное явление, необходимое для установления соответствующей формы растущей структуры и стабилизирующее ее после прекращения водного потока.

В работах Остера с соавторами [38, 40] предполагается, что осмотическое давление возникает за счет реакций на клеточной мембране, в результате которых освобождаются осмотически активные частицы, и из-за набухания актинового геля, прикрепленного к мембране. Под действием разности давлений конец отростка интенсивно продвигается вперед, сдерживаясь только силами внутреннего и внешнего трения.

В пренебрежении натяжением мембраны, что вполне допустимо, так как благодаря складкам-инвагинациям мембрана имеет много свободной поверхности, авторы [38, 40] получили решения модели, удовлетворительно совпадающие с известными экспериментальными данными. В частности, было показано, что квадрат длины растущей акросомы линейно зависит от времени, а сама скорость удлинения количественно совпадает с реальной.

3.2. Взаимодействие клеток с поверхностью

Чтобы двигаться, клетка должна прикладывать к окружению противоположно направленную силу. Поэтому очевидно, что механические свойства поверхности, так же как и химические свойства, будут влиять на скорость движения, которая для разных клеток весьма различна: например, скорость кровяных клеток нейтрофилов равна 30 мкм мин⁻¹, а фибробластов — 40 мкм ч⁻¹. Лимфоциты на плоскости движутся медленно, но помещенные в трехмерную сеть показывают скорости, сравнимые с нейтрофилами.

Интуитивно можно рассмотреть три режима поведения клетки, взаимодействующей с подложкой. На плохо адгезивной поверхности способность клетки прикрепляться так слаба, что никакого сцепления не получается и не происходит общее движение. Альтернативно, клетка может прикрепиться к хорошо адгезивной поверхности так сильно, что она становится неподвижной. И только с

оптимальным балансом адгезивных сил клетка может двигаться.

Скорость миграции клеток в зависимости от их адгезивных свойств оценена в [30]. Цитоскелет клетки моделировался как сложная сеть вязкоэластичных и сократительных элементов, а внутриклеточные силы с помощью адгезивных рецепторов были связаны с поверхностью.

Для получения асимметрии во взаимодействии клетки с поверхностью предполагались два альтернативных механизма: асимметрия в пространственном распределении концентрации поверхностных адгезивных рецепторов или их активности. На основе предложенной модели выявлено согласующееся с экспериментом влияние механических свойств поверхности клетки и ее адгезивности на скорость передвижения.

3.3. Самоорганизация фонтанирующих течений в *Amoeba proteus*

Важно, что даже в неподвижной в целом амебидной клетке могут происходить течения протоплазмы. Чтобы при этом масса не скапливалась впереди, возможны два механизма: либо происходят возвратно-поступательные колебательные течения, либо идут непрерывные замкнутые потоки вперед и назад (обычно в виде осесимметричного фонтанирующего течения). Наиболее ярко члочные течения представлены в плазмодии *Physarum polycephalum*, а фонтанирующие — в *Amoeba proteus*.

В дальнейшем мы подробнее остановимся на теории чистого фонтанирующего потока в *Amoeba proteus* (см. рис. 1). На биологическом уровне предложен ряд сценариев, согласно которым фонтанирующие потоки и динамическое равновесие между гелеобразными стенками и золеобразной протоплазмой в канале поддерживаются за счет постоянно идущих процессов синтеза и диссоциации актомиозиновой сети, которая описана нами выше. Ниже мы кратко представим уравнения динамики такого процесса и основные результаты, которые из них следуют. Представляется, что теория фонтанирующих потоков, предложенная Дембо [41, 101], является наиболее обоснованной.

Будем считать, что протоплазма состоит только из двух фаз: актомиозиновой сети и водного раствора, занимающего остаток некоторого замкнутого объема. Введем обозначения: ρ — объемная фракция фазы сети, V_j^s и V_j^n — компоненты скорости раствора и сети. Тогда в декартовой системе координат (x_1, x_2, x_3) можно ввести тензоры скорости напряжения сети и раствора:

$$E_{ij}^n = \frac{\partial V_j^n}{\partial x_i} + \frac{\partial V_i^n}{\partial x_j}, \quad E_{ij}^s = \frac{\partial V_j^s}{\partial x_i} + \frac{\partial V_i^s}{\partial x_j}, \quad i, j = 1, 2, 3. \quad (3.1)$$

Другими искомыми функциями будут давление в растворе $P(x_1, x_2, x_3, t)$ и концентрация регулятора сократительной активности $c(x_1, x_2, x_3, t)$. (Для определенности пусть это будут ионы кальция.)

Учитывая, что число Рейнольдса для амобы много меньше единицы и что относительный объем фракции сети также много меньше единицы, можно написать систему уравнений, представляющую законы сохранения для данной двухфазной среды. При этом будем рассматривать фазу сети как изотропную, вязкую и псевдопластичную жидкость.

В результате система уравнений имеет вид

$$\frac{\partial V_j^s}{\partial x_j} = 0, \tag{3.2a}$$

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x_j} (\rho V_j^n) + F, \tag{3.2б}$$

$$\frac{\partial}{\partial x_j} (\mu_r M E_{ij}^s) + \rho H (V_i^n - V_i^s) - \frac{\partial P}{\partial x_i} = 0, \tag{3.2в}$$

$$\frac{\partial}{\partial x_j} (\rho M E_{ij}^n) + \rho H (V_i^s - V_i^n) - \frac{\partial}{\partial x_i} (\rho \Psi) = 0, \tag{3.2г}$$

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x_j} (c V_j^s) + \frac{\partial}{\partial x_j} \left(\delta \frac{\partial c}{\partial x_j} \right) + S. \tag{3.2д}$$

Уравнения (3.2б) и (3.2д) представляют собой условия баланса для плотности сети и концентрации ионов Ca^{2+} , (3.2а) есть уравнение неразрывности для фазы раствора, а (3.2в) и (3.2г) — уравнения движения для фазы раствора и сети.

Анализ, проведенный в [41], привел к выражениям для скалярных функций F , H , M , Ψ и S , которые соответственно определяют скорость полимеризации (или деполимеризации) сети, удельное гидравлическое сопротивление сети (используемое в законе Дарси для потока раствора сквозь пористую среду), удельную вязкость сети (зависящую от числа поперечных связей между актиновыми нитями), удельное контракционное натяжение сети и скорость возрастания (или убыли) ионов Ca^{2+} в цитоплазме за счет работы различных клеточных систем:

$$F = \frac{\rho_e - \rho}{\tau_n}, \quad H = \frac{\mu_s}{m}, \quad M = \mu_n \exp\left(\frac{\rho}{\rho_g}\right)^2, \\ \Psi = \Psi_0(c - c_*), \quad S = -\frac{c}{\tau_c}. \tag{3.3}$$

В выражениях (3.3) постоянные параметры ρ_e и τ_n характеризуют объемную фракцию сети при химическом равновесии и постоянную времени полимеризации, μ_s — вязкость раствора, m — коэффициент проницаемости сети, μ_n — ее вязкость. При этом предполагается, что активное натяжение есть линейная функция концентрации ионов Ca^{2+} с константой пропорциональности Ψ_0 . При достижении концентрации ионов Ca^{2+} некоторого порогового значения c_* происходит сокращение сети. Величина τ_c обозначает время жизни свободных ионов Ca^{2+} , которые могут также диффундировать в цитоплазме с коэффициентом диффузии δ .

Решения модели (3.2)–(3.3) получались при различных граничных условиях. Чтобы сформулировать все возможные варианты, введем в рассмотрение единственный вектор, компоненты которого L_j и N_j , касательны и нормальны к поверхности мембраны клетки.

Если раствор и сетевая фаза скользят вдоль границы, то

$$E_{ij}^s N_i L_j = E_{ij}^n N_i L_j = 0. \tag{3.4}$$

Мембрана клетки мало проницаема для раствора, поэтому

$$N_j V_j^s = 0. \tag{3.5}$$

Сетевая фаза может прилипать или не прилипать к границе. В первом случае

$$N_j V_j^n = 0, \tag{3.6}$$

во втором —

$$E_{ij}^n N_i N_j = -\frac{\Psi}{M}.$$

Последнее выражение означает, что сетевая фаза вблизи границы может испытывать стеснение, т.е. $N_i V_i^n \leq 0$. Именно так обстоит дело вблизи фронтальной мембраны. Наконец, для ионов Ca^{2+} на границах принимается простое условие Дирихле:

$$c = \text{const}. \tag{3.7}$$

Основной результат работы Дембо заключается в том, что удалось найти реальное и самосогласованное сочетание параметров минимальной модели (3.2)–(3.3), которое хорошо соответствует данным многих экспериментов, весьма успешно описывает самоорганизацию эктоплазматической стенки, гиалинового колпачка и кинетику фонтанирующего движения.

На рис. 3 представлено продольное сечение исследуемой цилиндрической области (нижняя его половина). В соответствующих масштабах показаны распределение внутриклеточного давления (а), поле скоростей фазы раствора (б), распределение объемной фракции фазы сети (в), поле скоростей фазы сети (г) и концентрации ионов Ca^{2+} (д).

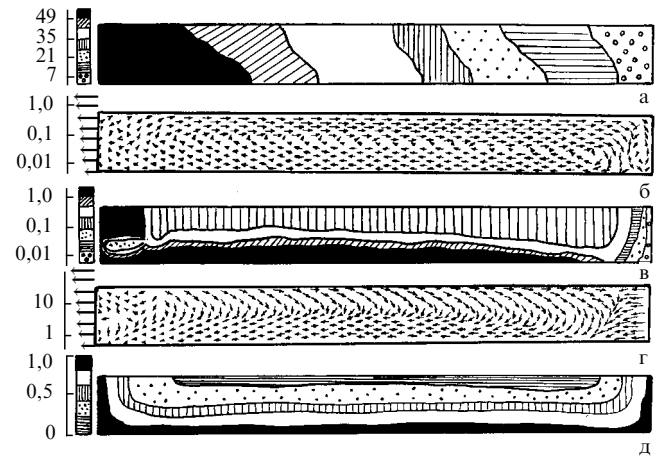


Рис. 3. Результаты расчета самоорганизующихся фонтанирующих потоков в модели *Amoeba proteus* (схема составлена по данным [41]). Изображена нижняя половина продольного сечения цилиндрической области, для которой производился расчет. Слева показаны шкалы соответствующих масштабов: (а) давление в растворе P (в дин см^{-2}); (б) поле скоростей фазы раствора V^s (в мкм с^{-1}); (в) объемная фракция фазы сети ρ (в долях единицы); (г) поле скоростей фазы сети V^n (в мкм с^{-1}); (д) безразмерная концентрация ионов Ca^{2+}

Из рис. 3 видно, что граница эндоплазма–эктоплазма действительно весьма резкая: отношение значений ρ в эктоплазме и эндоплазме составляет 90–95 %, что соответствует эксперименту. Важнейшее обстоятельство заключается в том, что благодаря граничным условиям в "голове" амебы сеть не прилипает к передней мембране и образует гелевую перегородку, которая задерживает проникновение гранул в гиалиновую область.

Другим важнейшим результатом моделирования является тот факт, что в цилиндрической области устанавливается стационарное распределение градиента давления, которое обеспечивает сильное течение по оси канала вперед и возвратное течение преимущественно вдоль образующих цилиндра.

Распределение ионов Ca^{2+} получается симметричным как относительно оси цилиндра, так и относительно его центрального поперечного сечения. Его концентрация падает от стенок к оси канала в несколько раз. Это распределение мало зависит от того, по какому закону ионы Ca^{2+} связываются с внутриклеточными структурами: линейному или нелинейному. Описанные стационарные распределения получаются в результате переходного процесса длительностью около 1 мин (для сравнения характерные времена $\tau_c \sim 1$ с и $\tau_n \sim 10$ с).

На основе базовой или минимальной модели (как ее называет Дембо) оказалось возможным рассчитать распределение мощности, расходуемой актомиозиновой сетью, и тепловые потери, являющиеся следствием внутреннего трения и химических реакций при гидролизе АТФ.

В одной клетке актомиозиновая сеть вырабатывает мощность $2,35 \cdot 10^{-5}$ эрг с^{-1} . Из-за вязкости сети в теплоту превращается $2 \cdot 10^{-5}$ эрг с^{-1} , из-за межфазного трения — $0,34 \cdot 10^{-5}$ эрг с^{-1} , из-за вязкости раствора — около $0,005 \cdot 10^{-5}$ эрг с^{-1} . При этом 35% мощности выделяется в малой области впереди эндоплазматического канала.

Выделение теплоты, непосредственно происходящее из химических реакций, существенно превосходит указанные выше потери "механического" происхождения. Вообще говоря, на поддержание внутриклеточных потоков различные клетки тратят значительно меньше энергии, чем на другие нужды (см., например, [42]).

Внутри гиалинового колпачка можно заметить вихревые движения фазы раствора и постоянный поток сетевой фазы от мембраны к перегородке. Это хорошо соответствует данным эксперимента, о которых мы уже упоминали. В процессе машинного эксперимента Дембо наблюдал различные колебательные режимы. Как мы покажем ниже, и в других амeboидных организмах такие режимы являются нормой [43, 82–85]. Заметим, что подробности и соответствующие числовые значения параметров можно найти в [41, 101].

Несмотря на то что минимальная модель приводит к большому числу правильных выводов, она не свободна от недостатков. Прежде всего она не учитывает деформации клетки (прогибы мембраны, к которой заякорена сокращающаяся актомиозиновая сеть), что, в свою очередь, должно вызывать изменения давления в данном поперечном сечении амобы, и не учитывается упругость сети. В дальнейшем мы увидим, что эти и другие факторы являются определяющими в образовании периодических челночных течений в другом замечательном организме — плазмодии миксомицета *Physarum polycephalum*.

4. Автоколебания и биологическая подвижность

Одним из интересных аспектов биологической подвижности является ее колебательный характер. Показательно, что большинство известных в настоящее время

клеточных осцилляторов найдено именно в клетках с явно выраженной сократительной активностью.

В литературе обычно предполагается, что автоколебания с минутным периодом, характерные для многих клеток, возникают из-за наличия обратных связей в цепях биохимических реакций, а сократительный аппарат является просто периодически активируемым фактором [44]. При этом совершенно не учитываются структурированность клетки и ее механическая организация, хотя еще Тьюринг в своей классической работе о морфогенезе [45] допускал, что химические и механические процессы в клетке взаимно влияют друг на друга.

Механическая основа клеток — цитоскелет представляет собой сложную фибриллярную сеть макромолекулярных размеров, которая прикреплена к плазмолемме. Главными компонентами цитоскелета являются сократительные белки, обладающие АТФ-азной активностью. Поэтому цитоскелет можно рассматривать и в качестве активного распределенного элемента.

Ферментативная активность белков определяется их конформационными свойствами и поэтому принудительная деформация, вызванная, скажем, механическим воздействием со стороны соседних элементов, способна изменить их ферментативную активность. Изменение ферментативной активности может привести, в свою очередь, к изменению активного напряжения и последующей деформации соседних элементов. Таким образом возможно возникновение процесса, имеющего характер автоволны и реализуемого только механохимической системой клетки.

Механические напряжения и деформации способны также изменять проводимость ионных каналов в мембранах клеток и клеточных органелл [46], что может приводить к пространственно-временному перераспределению концентрации свободных ионов кальция.

Механические напряжения влияют на процессы самоорганизации и в многоклеточных организмах [47–50], в частности на морфогенез [9, 51]. На основании этих данных можно предположить, что цитоскелет является не только фактором, но и существенной частью клеточного осциллятора. Преимуществом осцилляторов, включающих в себя сократительный аппарат, является возможность взаимодействия не только за счет диффузии, но и за счет механических и гидродинамических связей.

5. Плазмодий *Physarum polycephalum* как автоволновая система

Блестящие возможности для исследования проблемы амeboидной подвижности, физики самоорганизации и механохимических автоколебаний предоставляет плазмодий *Physarum polycephalum* — синцитиально организованная многоядерная масса протоплазмы, окруженная единой мембраной. Благодаря своим размерам эта гигантская клетка занесена в книгу рекордов Гиннеса. Она растет на питательном субстрате в виде пленки, площадь которой может достигать нескольких квадратных метров, а толщина — 2 мм.

Подвижность плазмодия проявляется в ритмических пульсациях тела и интенсивных возвратно-поступательных потоках эндоплазмы с периодом от 1 до 5 мин. При истощении в среде питательных веществ или появлении градиентов различных хемотактически активных стиму-

лов плазмодий начинает мигрировать, дифференцируясь при этом на две характерные области: веерообразную фронтальную пленку и сеть трубок, называемых тяжами, по устройству напоминающих сосуды кровеносной системы (рис. 4). Диаметры крупных тяжей достигают 2 мм, а длина — десятков сантиметров.

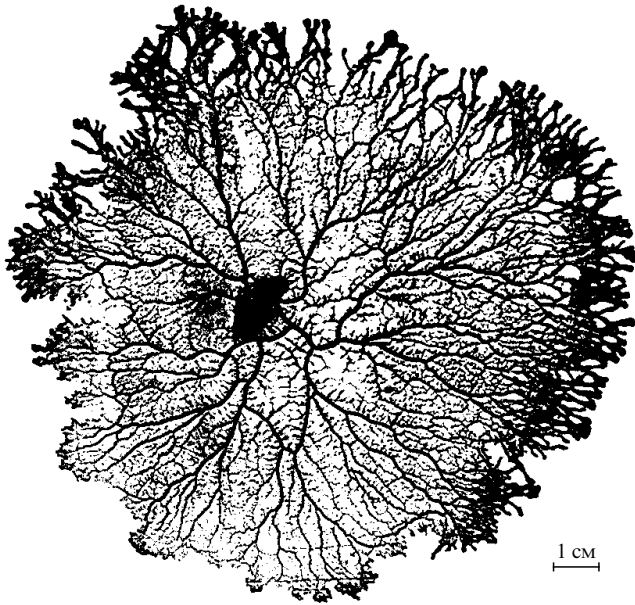


Рис. 4. Плазмодий *Physarum polycephalum* в стадии распластывания

Тяжи морфологически дифференцируются на наружную, относительно стационарную гелеподобную эктоплазму, образующую стенки, и жидкую, текущую эндоплазму, заполняющую просвет трубок. Потоки вызываются градиентами давления, генерируемыми сокращениями эктоплазматических стенок, в которых содержатся актомиозиновые фибриллы.

При отделении любого фрагмента тяжа от материнского плазмодия двигательная активность в нем временно прекращается. Затем его поврежденные концы быстро регенерируют и он начинает вести себя как самостоятельный самоорганизующийся организм. Отдельные участки начинают ритмически сокращаться, сначала нерегулярно, но через 10–20 мин происходит их синхронизация и увеличение амплитуды колебаний.

С течением времени концы тяжа развиваются в новые фронтальные области и между ними возникает организованное челночное движение эндоплазмы. Таким образом, возникает квазистоячая волна первого тона. Позже один из конкурирующих фронтов становится ведущим, второй фронт вырождается и возникает характерная полярная форма мигрирующего плазмодия [34, 52].

Пульсации тела плазмодия имеют сложную пространственно-временную организацию. В плазмодиях небольших размеров наблюдаются почти синфазные радиальные пульсации сети тяжей, причем фаза сокращения тяжей совпадает с фазой расслабления фронтальной области [53]. В длинных тяжах возможны стоячие волны более высоких тонов [54]. На таких тяжах наблюдалось также распространение перистальтических сокращений [55, 56].

Наиболее наглядно автоволновая двигательная активность плазмодия проявляется во фронтальной пленке. Так, возможны квазистохастические колебания толщины отдельных ее участков с постепенной их синхронизацией и волнообразные распространения пучностей со скоростями $5-30 \text{ мкм с}^{-1}$ [54, 57].

Волны можно возбудить искусственно с помощью создания в подложке, на которой находится плазмодий, градиентов температуры или хемотактически активных веществ [58]. Иногда можно наблюдать циркуляцию волн по замкнутому контуру (источники типа ревербераторов).

Полный анализ волновых процессов требует большого числа одновременных измерений во многих точках плазмодия. В качестве простого примера на рис. 5а показана одномерная диаграмма распределения фаз изменения толщины плазмодия в 12 точках в разные моменты времени. Диаграмма построена по данным центрифужной киносъемки плазмодия, который мигрировал по узкой агаровой полоске, ограниченной с боковых сторон неадгезивным субстратом.

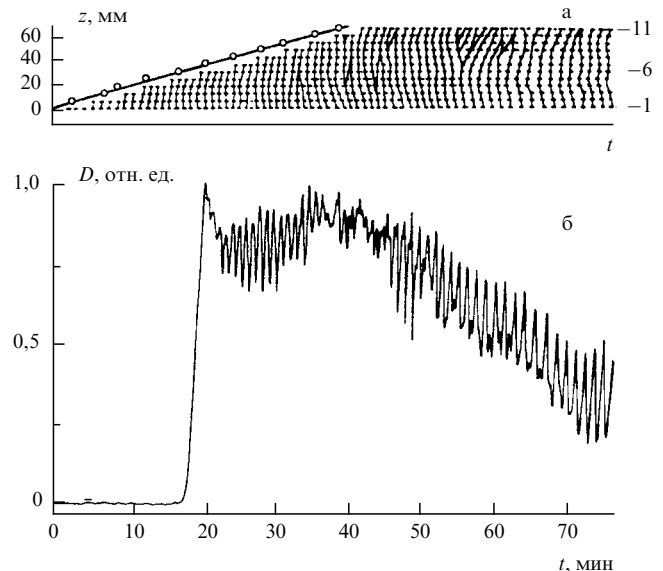


Рис. 5. (а) Фазовая диаграмма сократительной активности плазмодия вдоль направления миграции: ордината — координаты точек регистрации, пронумерованных справа; горизонтальные отрезки — фазы сокращения, смежные интервалы — фазы расслабления. (б) Колебание толщины плазмодия в шестой точке наблюдения: ордината — относительная оптическая плотность, абсцисса — текущее время [85]

На рис. 5б приведена одна из записей изменения оптической плотности изображения. Наклоны сплошных линий, соединяющих одинаковые фазы сокращения, определяют фазовые скорости волн, которые зависят от размеров плазмодия и в данном случае равны 2 см с^{-1} , что намного больше средней скорости продвижения фронта, равной 8 см ч^{-1} .

Наряду с колебаниями механических параметров, в плазмодии происходят одновременные и с тем же периодом колебания электрических потенциалов, колебания концентраций ионов Ca^{2+} [59, 60], H^+ [61], АТФ [62] и т.д. Возникает проблема: можно ли выделить группу существенных переменных, определяющих автоколеба-

ния в целом, т.е. можно ли найти простейший задающий генератор?

Важным свойством протоплазматических тяжей является их чувствительность к механическим воздействиям. При установившихся колебаниях продольной силы в изометрических условиях растяжение тяжа вызывает увеличение амплитуды колебаний силы, а в изотоническом режиме увеличение нагрузки приводит к увеличению амплитуды колебаний длины тяжа [63, 64].

Косвенно на важную роль механической системы в наблюдаемых автоколебаниях указывает также то, что колебания других параметров в плазмодии всегда сопровождаются механическими, тогда как обратное утверждение несправедливо.

Сильные извержения эндоплазмы при прокалывании тяжа предполагают существование в плазмодии избыточного гидростатического давления и, следовательно, натяжения эктоплазмы, прикрепленной к внешней мембране.

Так как все клеточные мембраны хорошо проницаемы к воде, в поддержании постоянной составляющей внутриклеточного давления должны обязательно участвовать осмотические силы. В этом смысле комплекс цитоскелета и связанной с ним мембраны можно рассматривать как единую систему, способную аккумулировать значительную механическую энергию.

В [65, 66] оценены основные эластоосмотические параметры плазмодия. В частности, для плазмодия, адаптированного к воде, внутренняя, осмотически активная концентрация составляет 70 мос М. Соответствующее этой концентрации осмотическое давление равно $1,7 \cdot 10^6$ дин см⁻².

Значительное уменьшение упругости и вязкости эктоплазмы, наблюдаемое при обработке тяжей плазмодия сильными аттрактантами, вызывает падение давления и уменьшение амплитуды и периода колебаний движущей силы [67–69]. Эти эксперименты позволили получить нижнюю оценку значения внутриклеточного давления в плазмодии, которая составила около 10^4 дин см⁻².

Наличие избыточного давления в клетке может сильно упростить проблему управления клеточной миграцией и объяснить направленный поток эндоплазмы в образующуюся псевдоподию, если рецепция аттрактантов вызывает локальное расслабление эктоплазмы. В этом случае ориентация клетки происходит не из-за локальных активных сокращений (как того требуют представления Маста и Аллена), а в результате поддержания глобального тонуса клетки и локального уменьшения модуля упругости в месте образования нового фронта. Последнее может происходить в результате связывания хемоаттрактантов с рецепторами и последующей активации различных актинсвязывающих белков.

На существенную роль механической системы плазмодия в наблюдаемых автоволновых явлениях указывают также данные о синхронизации колебаний в отдельных частях плазмодия. В настоящее время установлено [70, 71], что механизм синхронизации не связан с электрическими явлениями, как это происходит в возбудимых тканях.

Показано также, что обязательным условием синхронизации является наличие челночного потока протоплазмы [72–75]. Это обстоятельство является ключе-

вым при формулировке математических моделей автоволновой подвижности плазмодия.

6. Модель автоволновой подвижности плазмодия

6.1. Гидродинамическая модель течений протоплазмы в тяжах плазмодия

Впервые модели для автоколебательных челночных течений в изолированном тяже плазмодия были предложены для так называемых двухкамерных систем [76–78]. Эти дискретные модели описывают движения в двух объемах, соединенных жесткой трубкой и заполненных вязкой жидкостью.

Ниже мы рассмотрим две распределенные модели: одномерную и двумерную, более близкие к реальным объектам — изолированному длинному тяжу плазмодия [79–83] и плазмодию в виде тонкой пленки [84] (форма которой характерна для ранних стадий распластывания плазмодия). Во всех случаях предполагается, что клетка жестко прикреплена к поверхности.

Тяж рассматривается как длинная цилиндрическая трубка, заполненная несжимаемой эндоплазмой. В ее эктоплазматической стенке гомогенно распределены актомиозиновые фибриллы, прикрепленные к мембране.

Взаимодействие актина и миозина может регулироваться многими факторами, но для простоты мы будем рассматривать только ионы Ca²⁺. Спонтанное увеличение их концентрации в некотором сечении тяжа вызовет сокращение эктоплазмы, приводящее к уменьшению диаметра и выдавливанию эндоплазмы в соседние области.

Далее предполагается, что растяжение стенок в этих областях приводит к повышению в них концентрации Ca²⁺ и, таким образом, создаются условия для их сокращения. При определенных граничных условиях этот автоволновой процесс приведет к установлению бегущих или стоячих волн радиальных сокращений и периодическим потокам эндоплазмы.

Приведенное выше описание можно выразить в математической форме. Рассмотрим нестационарное осесимметричное течение несжимаемой вязкой жидкости (в первом приближении ньютоновской) по длинной цилиндрической трубке с вязкоупругими активными стенками (рис. 6а).

Так как число Рейнольдса в рассматриваемом случае мало ($Re \sim 10^{-6}$), то течение можно описать с помощью уравнения Пуазейля для потока в трубке с медленно меняющимся радиусом:

$$\frac{\partial P}{\partial z} = -\frac{8\mu}{R^2} V. \quad (6.1)$$

Здесь $V(z, t)$ — скорость эндоплазмы, усредненная по поперечному сечению тяжа, $P(z, t)$ — внутриклеточное давление, μ — вязкость эндоплазмы, R — средний радиус тяжа.

Для определения связи между $V(z, t)$ и малыми отклонениями радиуса $x(z, t)$ от его среднего значения ($x \ll R$) воспользуемся уравнением неразрывности

$$\frac{\partial v_z}{\partial z} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} (rv_r) = 0, \quad (6.2)$$

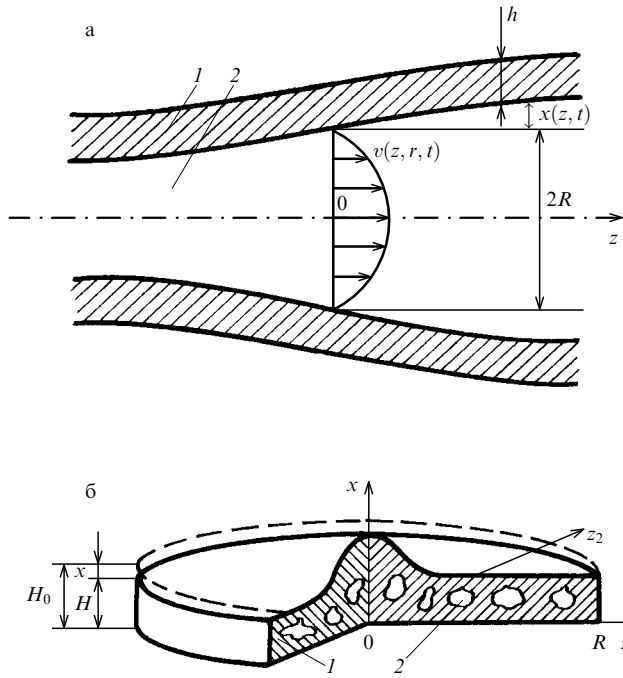


Рис. 6. Схема протоплазматического тяжа (а) и всего плазмодия в ранней стадии расплывания (б): (1) эктоплазма, (2) эндоплазма

где v_z и v_r — продольная и радиальная составляющие скорости эндоплазмы.

Интегрируя уравнение (6.2) по области поперечного сечения тяжа с учетом того обстоятельства, что характерная длина наблюдаемых в плазмодии волн $\lambda^* \gg R$, можно получить

$$\frac{\partial V}{\partial z} = -\frac{2}{R} v_r \Big|_{r=R} = -\frac{2}{R} \frac{\partial x}{\partial t}, \quad (6.3)$$

где

$$V(z, t) = \frac{1}{\pi R^2} \int_0^R 2\pi r v_z dr.$$

Дифференцирование выражения (6.1) по z с учетом (6.3) дает

$$\frac{\partial^2 P}{\partial z^2} = \frac{16\mu}{R^2} \frac{\partial x}{\partial t}. \quad (6.4)$$

Далее, пренебрегая радиальными силами инерции, действующими на элемент стенки, неоднородностью в распределении напряжения и деформации по толщине стенки, находим выражение, связывающее $x(z, t)$ с активной компонентой внутриклеточного давления. Реологические свойства стенки будем описывать на основе аналоговой схемы (см. рис. 12), экспериментальное обоснование которой дано в разделе 7.

Поведение аналоговой схемы описывается уравнением, связывающим среднее по толщине стенки полное окружное напряжение σ с активным напряжением σ_A , генерируемым актомиозиновыми взаимодействиями, и пассивным напряжением σ_n , зависящим от относительной деформации ε упругих (E_1, E_2) и вязкого (η)

элементов:

$$\tau_1 \frac{\partial \sigma}{\partial t} + \sigma = E_1 \left(\tau_2 \frac{\partial \varepsilon}{\partial t} + \varepsilon \right) + \tau_1 \frac{\partial \sigma_A}{\partial t} + \sigma_A, \quad (6.5)$$

где $\tau_1 = \eta/E_2$ и $\tau_2 = \eta(1/E_1 + 1/E_2)$ — характерные времена релаксации.

Если отношение толщины стенки h к радиусу тяжа R мало, то $x(z, t) = Re(z, t)$, а внутриклеточное давление и его активная компонента равны соответственно $P(z, t) = \sigma(z, t)h/R$ и $P_A(z, t) = \sigma_A(z, t)h/R$. С учетом этого, дифференцируя дважды уравнение (6.5) по z и принимая во внимание (6.4), имеем

$$\begin{aligned} \frac{16\mu\tau_1}{R^3} \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + \frac{16\mu}{R^3} \frac{\partial x}{\partial t} = \\ = \frac{E_1 h \tau_2}{R^2} \frac{\partial^3 x}{\partial t \partial z^2} + \tau_1 \frac{\partial^3 P_A}{\partial t \partial z^2} + \frac{E_1 h}{R^2} \frac{\partial^2 x}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 P_A}{\partial z^2}. \end{aligned} \quad (6.6)$$

Порядок уравнения (6.6) понижается, если $\tau_1 = 0$ (или $E_2 \rightarrow \infty$), т.е. если вязкоупругие свойства стенки описываются реологической моделью Кельвина. В этом случае внутриклеточное давление в зависимости от параметров стенки выражается как [85]

$$P(z, t) = \frac{E_1 h}{R^2} x + \frac{\eta h}{R^2} \frac{\partial x}{\partial t} + P_A(z, t). \quad (6.7)$$

Соответственно, уравнение (6.6) в кельвиновском приближении принимает вид

$$\frac{16\mu}{R^3} \frac{\partial x}{\partial t} = \frac{\eta h}{R^2} \frac{\partial^3 x}{\partial t \partial z^2} + \frac{E_1 h}{R^2} \frac{\partial^2 x}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 P_A}{\partial z^2}. \quad (6.8)$$

Уравнения (6.6) и (6.8) можно дополнить членами, учитывающими действие вязкоупругих сил, направленных вдоль стенок тяжа, который прикреплен к подложке и представляет собой натянутую балку. В этом случае в (6.7) возникает дополнительное пассивное давление.

С учетом радиальной симметрии за счет продольных составляющих вязкоупругих сил в кельвиновском приближении — это пассивное давление

$$P'(z, t) = \frac{E' I}{2\pi R} \frac{\partial^4 x}{\partial z^4} + \frac{\eta' I}{2\pi R} \frac{\partial^5 x}{\partial t \partial z^4} + \frac{\sigma'}{2\pi R} \frac{\partial^2 x}{\partial z^2}. \quad (6.9)$$

Здесь E' и η' — модуль Юнга и вязкость стенки для продольных деформаций, $I = \pi R h^3 / 6$ — момент инерции поперечного сечения стенки, $\sigma' = 2\pi R h E' \varepsilon'$ — продольное напряжение тяжа, где ε' — относительная продольная деформация стенки. Так как на практике значение ε' может достигать 0,1, то последний член в (6.9) будет играть главенствующую роль.

В случае рассмотрения автоволн в плазмодии с неизменными границами можно ограничиться условиями непротекания протоплазмы через торцы тяжа:

$$V \Big|_{z=0, L} = \frac{\partial P}{\partial z} \Big|_{z=0, L} = 0. \quad (6.10)$$

Это равенство в сочетании с (6.7) позволяют записать краевые условия для нашей задачи в виде

$$\left(\frac{\partial P_A}{\partial z} + \frac{E_1 h}{R^2} \frac{\partial x}{\partial z} + \frac{\eta h}{R^2} \frac{\partial^2 x}{\partial z \partial t} \right) \Big|_{z=0, L} = 0. \quad (6.11)$$

Можно использовать также упрощенные граничные условия [85]:

$$\frac{\partial x}{\partial z} \Big|_{z=0, L} = 0, \quad (6.12)$$

соответствующие тому экспериментальному факту, что колебания в тяже всегда происходят с образованием пучностей на его концах. Если тяж представляет собой замкнутый канал длиной L , то справедливы условия "сшивки":

$$x|_{z=0} = x|_{z=L}, \quad \frac{\partial x}{\partial z} \Big|_{z=0} = \frac{\partial x}{\partial z} \Big|_{z=L}. \quad (6.13)$$

6.2. Двумерная модель плазмодия

Расплавывающийся по поверхности плазмодий можно представить в виде пористой вязкоупругой пластины, поперечные размеры которой много больше ее толщины (рис. 6в) [84]. Поры (стохастически расположенные каналы), в которых движется протоплазма, образованы гелеобразными перемычками, пронизанными сетью актомиозиновых фибрилл. Перемычки связывают тонкую верхнюю мембрану с нижней мембраной, прочно прикрепленной к подложке.

Для описания течения протоплазмы в пористой среде можно воспользоваться уравнением Дарси:

$$\mathbf{V} = \frac{mH^2}{\mu} \nabla P. \quad (6.14)$$

Здесь $\mathbf{V}(t, z_1, z_2)$ — усредненная по вертикальной координате x горизонтальная скорость течения протоплазмы, $P(t, z_1, z_2)$ — внутриклеточное давление, $H(t, z_1, z_2)$ — толщина пластины, $m = \text{const} > 0$ — коэффициент пористости, равный отношению объема пор к объему пластины, μ — вязкость эндоплазмы, как и для тяжа.

Далее, проводя те же рассуждения, что и при выводе уравнения для тяжа, получаем в кельвиновском приближении уравнение для плазмодия в виде двумерной тонкой пластины:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = \frac{H_0^2 m}{\mu} \left(E \Delta x + \eta \Delta \frac{\partial x}{\partial t} \right) + \frac{H_0^3 m}{\mu} \Delta P_A, \quad (6.15)$$

где $x(t, z_1, z_2) = H_0 - H(t, z_1, z_2)$, $H_0 = \text{const} > 0$ — толщина пленки в отсутствие напряжения. Краевые условия для двумерного случая записываются в виде

$$\left(\nabla P_A + \frac{E}{H_0} \nabla x + \frac{\eta}{H_0} \nabla \frac{\partial x}{\partial t} \right) \Big|_{\mathfrak{S}} = 0 \quad (6.16)$$

(\mathfrak{S} — граница плазмодия).

6.3. Уравнения для активного напряжения и цепи управления

Ввиду схожести основных сократительных белков плазмодия и поперечно-полосатых мышц можно предположить, что качественные особенности их биохимического поведения одинаковы и полный механохимический цикл в плазмодии также состоит из множества элементарных стадий взаимодействия актина и миозина с низкомолекулярными компонентами и друг с другом [24, 25, 85]. На рис. 7 представлена упрощенная схема, где учитываются

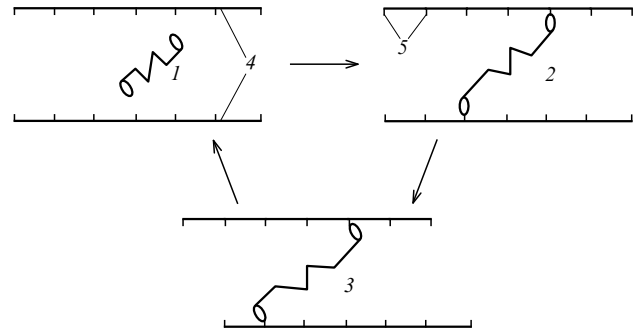
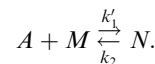


Рис. 7. Схема механохимического цикла взаимодействия димеров миозина с актиновыми нитями в амебодных клетках: (1) свободный димер миозина, (2) и (3) димеры, прикрепленные к актиновым нитям, (4) актиновые филаменты, (5) миозинсвязывающие центры актиновых нитей

только два состояния миозина: свободное и связанное (когда головки миозина прикреплены к двум соседним актиновым нитям). При утилизации новых порций АТФ цикл повторяется многократно и при наличии в межфиламентном пространстве многих олигомеров миозина скопление нитей становится макроскопическим.

Приведенный на рис. 7 механохимический цикл можно представить следующим образом:



Соответствующее кинетическое уравнение будет иметь вид

$$\frac{\partial n}{\partial t} = k'_1 a m - k_2 n, \quad (6.17)$$

где k'_1 и k_2 — эффективные константы скоростей прямого и обратного переходов, $a(z, t)$, $m(z, t)$ и $n(z, t)$ — числа свободных миозинсвязывающих центров связывания актиновых нитей (A), свободных (M) и связанных (N) олигомеров миозина соответственно. Очевидно, что $a = a_0 - n$, $m = m_0 - n$, где a_0 и m_0 — максимальные числа A и M . Для плазмодия известно, что $a_0 \gg m_0$ [86]. Следовательно, $a \approx a_0$.

Так как в вышеприведенном простейшем рассмотрении не учитываются тормозящие головки (как это делается в теории сокращения мышечных клеток [24]), то активное напряжение σ_A будет пропорционально n и уравнение (6.17) можно переписать в виде

$$\frac{\partial \sigma_A}{\partial t} = k_1 (\sigma_0 - \sigma_A) - k_2 \sigma_A, \quad (6.18)$$

где $k_1 = k'_1 a_0$, а σ_0 — максимальное активное напряжение, реализующееся, когда все миозиновые олигомеры одновременно участвуют в генерации силы.

В настоящее время хорошо установлено, что ритмические пульсации в плазмодии сопровождаются синхронными колебаниями концентрации ионов Ca^{2+} [59, 60]. Активацию сократительного аппарата можно объяснить тем, что константа k_1 в (6.18) зависит от концентрации свободных ионов Ca^{2+} .

В ряде работ (см., например, [87, 88]) отмечалось, что кальциевая активация плазмодияльных тяжей носит пороговый характер. Авторы [88] показали, что актив-

ное стационарное натяжение тяжа появляется при концентрации ионов Ca^{2+} , равной $c_1 = 6 \cdot 10^{-8}$ моль, и достигает максимума при $c_2 = 10^{-7}$ моль. Поэтому величину k_1 можно представить в виде функции

$$k_1 = k_1 f(c), \tag{6.19}$$

где c — концентрация ионов Ca^{2+} . Вид безразмерной функции активации $f(c)$ показан на рис. 8.

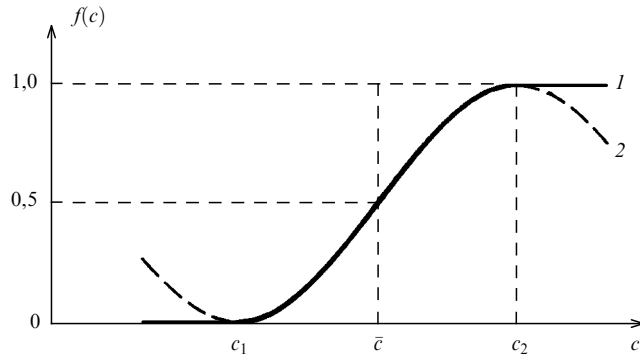


Рис. 8. Функции активации (1) и ее аппроксимация при $c_1 \leq c \leq c_2$ полиномом третьей степени (2)

С учетом (6.19) уравнение (6.18) для тонкостенных тяжей можно переписать в виде

$$\frac{\partial P_A}{\partial t} = k_1 f(c) (P_0 - P_A) - k_2 P_A, \tag{6.20}$$

где $P_0 = \sigma_0 h / R$ — максимально возможная активная компонента внутриклеточного давления.

Простейшее уравнение, связывающее деформацию и кальциевый гомеостаз (уравнение обратной связи), представим в виде

$$\frac{\partial c}{\partial t} = k_3 x (c_0 - c) - k_4 c. \tag{6.21}$$

Здесь c_0 — максимальная концентрация ионов Ca^{2+} в случае, если бы все ионы Ca^{2+} вышли из своих хранилищ.

Предполагается, что скорость входа ионов Ca^{2+} во внутрифибрилярное пространство возрастает прямо пропорционально x и что закачка Ca^{2+} в хранилища имеет кинетику первого порядка. Для упрощения мы не учитываем диффузию и снос Ca^{2+} потоком эндоплазмы и ограничиваемся выяснением возможности только гидродинамического взаимодействия между отдельными частями тяжа.

Так как концентрация ионов Ca^{2+} в норме колеблется в узком интервале $c_1 < c < c_2$ (см. рис. 8), уравнение (6.21) можно упростить:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = k_3 x - k_4 c. \tag{6.22}$$

Отметим, что вместо (6.22) для регуляции выхода ионов Ca^{2+} могут быть предложены и более сложные модели [76, 77]. В них, помимо регуляции, с помощью деформации рассматриваются возможности автокаталитического выхода Ca^{2+} из хранилищ, а также учитывается их перемещение в потоке протоплазмы.

Укажем также на работу [89], где строится модель автоколебаний концентрации ионов Ca^{2+} на основе чисто

биохимических реакций. При этом не учитывается роль деформаций и потока протоплазмы. С нашей точки зрения, замена (6.21) системой кинетических уравнений для биохимических превращений вполне возможна, но так или иначе необходимо учесть влияние на эти реакции механических напряжений.

6.4. Линейный анализ уравнений движения

Таким образом, базовые уравнения (6.6) (или (6.8)), (6.20), (6.21) или (6.22) с граничными условиями (6.11), (6.12) или (6.13) должны описывать автоколебания величин x , P_A и c в длинном отрезке (или в замкнутом) тяже плазмодия, а базовые уравнения (6.15), (6.20), (6.21) (или (6.22)) с граничными условиями (6.16) — в распластывающемся плазмодии.

В [90, 91] рассмотрены также основные математические проблемы, связанные с доказательством существования и единственности решения системы, обобщающей указанные уравнения, в которых коэффициенты могут быть функциями координат и времени. Была доказана сходимость явно-неявной разностной схемы для решения обобщенной задачи на ЭВМ. Все это позволило получить ряд интересных физических результатов, которые адекватны биологическим свойствам плазмодия *Physarum polycephalum*.

В наших работах [82–85] решения базовых уравнений строились по следующей схеме.

1. Сначала искали стационарные решения \bar{x} , \bar{P}_A , \bar{c} как для тяжа, так и для двумерной пленки. Они являются решениями системы нелинейных уравнений

$$\begin{aligned} \frac{Eh}{R^2} \bar{x} + \bar{P}_A &= P_T, \\ k_1 f(\bar{c}) P_0 - (k_1 f(\bar{c}) + k_2) \bar{P}_A &= 0, \\ k_3 \bar{x} - k_4 \bar{c} &= 0. \end{aligned} \tag{6.23}$$

Здесь P_T — константа интегрирования, имеющая смысл внутриклеточного давления. Необходимым условием его существования является неравенство осмотически активных концентраций клеточной и наружной сред [65, 66].

Клетка, регулируя количество воды внутри себя, может изменять P_T и, тем самым, \bar{x} , \bar{P}_A , \bar{c} . Выражаясь языком радиофизики, клетка выбирает, таким образом, рабочую точку на характеристике $f(c)$ (см. рис. 8). Если $f(c)$ монотонно возрастающая функция и P_T фиксировано, то (6.23) имеет единственное однородное в пространстве решение, т.е. \bar{x} , \bar{P}_A , \bar{c} являются истинными константами.

2. Затем исследовалась устойчивость системы, линеаризованной вблизи стационарного решения. Малые возмущения для тяжа или пленки задавались соответственно в виде

$$\begin{bmatrix} x \\ P_A \\ c \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \bar{x} \\ \bar{P}_A \\ \bar{c} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \alpha \\ \beta \\ \gamma \end{bmatrix} \exp(pt) \cos(Kz)$$

или

$$\begin{bmatrix} x \\ P_A \\ c \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \bar{x} \\ \bar{P}_A \\ \bar{c} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \alpha \\ \beta \\ \gamma \end{bmatrix} \exp(pt) \cos(K_1 z_1) \cos(K_2 z_2)$$

(в случае пленки могут также использоваться цилиндрические координаты). Здесь $\alpha \ll \bar{x}$, $\beta \ll \bar{P}_A$, $\gamma \ll \bar{c}$. Тогда дисперсионное уравнение, связывающее комплексную

частоту p с квадратом волнового числа $K^2 = K_1^2 + K_2^2$, записывается как

$$a_0 p^4 + a_1 p^3 + a_2 p^2 + a_3 p + a_4 = 0, \quad (6.24)$$

где

$$\begin{aligned} a_0 &= \frac{16\mu}{R} \tau_1, \\ a_1 &= \eta h K^2 + \frac{16\mu}{R} \left[1 + \tau_1 (k_1 f(\bar{c}) + k_2 + k_4) \right], \\ a_2 &= \left[E_1 h + \eta h (k_1 f(\bar{c}) + k_2 + k_4) \right] K^2 + \\ &+ \frac{16\mu}{R} \left[k_1 f(\bar{c}) + k_2 + k_4 + \tau_1 k_4 (k_1 f(\bar{c}) + k_2) \right], \\ a_3 &= \left[E_1 h (k_1 f(\bar{c}) + k_2 + k_4) + \eta h k_4 (k_1 f(\bar{c}) + k_2) + \right. \\ &+ \left. \tau_1 \frac{k_1 k_2 k_3 f'(\bar{c})}{k_1 f(\bar{c}) + k_2} R^2 P_0 \right] K^2 + \frac{16\mu}{R} k_4 (k_1 f(\bar{c}) + k_2), \\ a_4 &= \left[E_1 h k_4 (k_1 f(\bar{c}) + k_2) + \frac{k_1 k_2 k_3 f'(\bar{c})}{k_1 f(\bar{c}) + k_2} R^2 P_0 \right] K^2. \end{aligned}$$

Анализ уравнения (6.24), а также дисперсионного уравнения более низкого порядка, отвечающего кельвинскому приближению ($\tau_1 = 0$), показал, что в соответствии с критерием Раунса–Гурвица эти системы могут терять устойчивость лишь колебательным образом. Условием возбуждения колебаний будет

$$a_1 a_2 a_3 - a_0 a_3^2 - a_1^2 a_4 \leq 0. \quad (6.25)$$

На рис. 9а показано расположение инкрементной области ($\text{Re } p \geq 0$) для вышеприведенного, практически реализуемого случая. В качестве изменяемого параметра, характеризующего положительную обратную связь, выбран k_3 .

Типовые числовые значения остальных параметров для тяжа плазмодия представлены в [83, 85]. Более общие условия самовозбуждения колебаний даны в [43]. На

рис. 9б представлена зависимость $\omega = (\text{Im } p)^2$ от K^2 при условии $\text{Re } p = 0$, т. е. на границе потери устойчивости.

Из линейного анализа можно сделать следующие выводы.

1. Границы области устойчивости для упрощенной системы и зависимость ω^2 от K^2 мало отличаются от таковых для более сложных моделей. Поэтому для многих случаев с учетом невысокой точности измерений параметров в живых системах можно вполне пользоваться простейшими уравнениями движения (6.8) и (6.15).

2. Учет упругих сил, действующих вдоль стенок тяжа, замыкает инкрементную область сверху, что делает предложенную модель физически реализуемой.

3. Частота колебаний вблизи порога возбуждения мало меняется в зависимости от волнового числа. Так, для тяжа с характерными размерами $R = 0,25$ мм, $L = 0,3-60$ см период колебаний изменяется в пределах 60–600 с. Именно такие пределы изменения периода наблюдаются в экспериментах.

6.5. Квазигармонические автоволны

Если линейная теория допускает существование лишь одной длины волны с нарастающей амплитудой, то естественно ожидать, что в тяже длиной L должны установиться автоколебания с пучностями на его концах.

Применение метода Боголюбова–Митропольского в сочетании с методом Бубнова–Галеркина позволяет записать уравнения для медленно меняющихся амплитуд и фаз. Это дает приближенное выражение частоты автоколебаний для моды с номером n :

$$\begin{aligned} \omega_n^2 &= \frac{Eh(0, 5k_1 + k_2 + k_4)}{\eta h + 16\mu/RK_n^2} + (0, 5k_1 + k_2)k_4 \approx \\ &\approx \frac{E}{\eta} (0, 5k_1 + k_2 + k_4). \end{aligned} \quad (6.26)$$

Из формулы (6.26) видно, что зависимость ω_n от $K_n = \pi n/L$ (где $n = 1, 2, 3, \dots$) слабая, так как $\eta h \gg 16\mu/RK_n^2$. С учетом этого для определения порога самовозбуждения автоколебаний можно воспользоваться

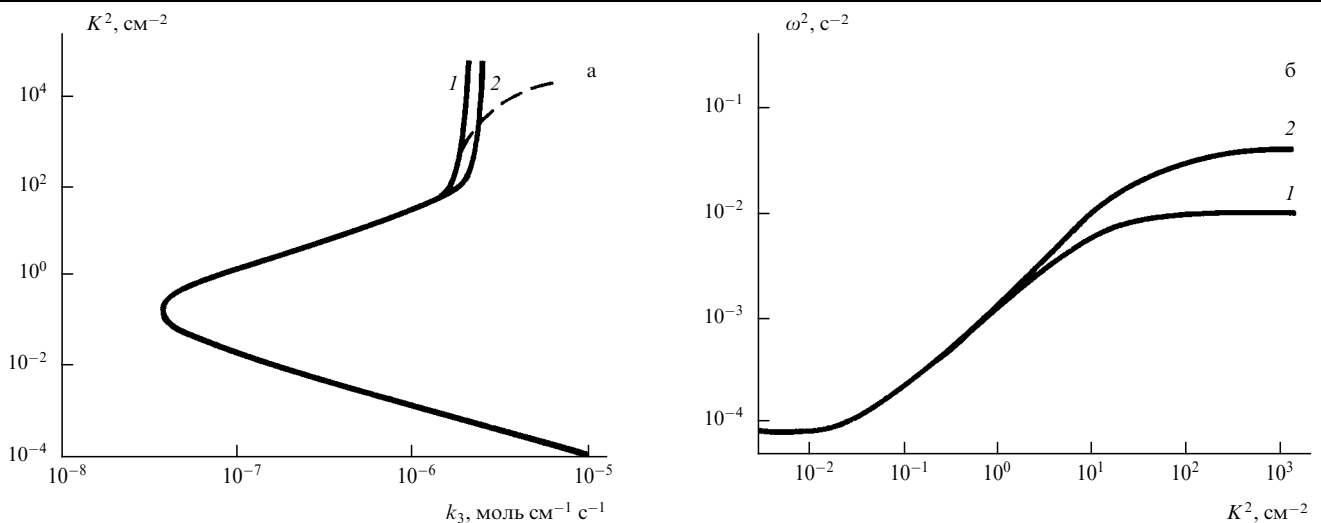


Рис. 9. (а) Границы областей потери устойчивости для моделей четвертого (1) и третьего (2) порядка: ордината — квадрат волнового числа K^2 , абсцисса — параметр положительной обратной связи k_3 . Штриховая линия, построенная с учетом (6.9), ограничивает область неустойчивости сверху. (б) Зависимости квадрата частоты ω^2 от квадрата волнового числа K^2 , соответствующие границам потери устойчивости кривых (1) и (2) на рис. 9а

ся линейным приближением. При этом численные оценки периода и амплитуды автоколебаний и сдвига фаз между искомыми переменными $x(z, t)$, $c(z, t)$, $P_A(z, t)$ хорошо согласуются с экспериментом.

6.6. Автомодаляция волн и квазистохастические режимы

Как отмечалось выше, поведение плазмодия вовсе не сводится к квазигармоническим стоячим автоволнам в тяжах. Зона активности фронта дискообразно расплывающегося плазмодия, а также других амебоидных клеток [20, 92] движется по периметру с периодом около 2 мин. Часто наблюдается и "второй" ритм активности с периодом 10–20 мин. Это проявляется в модуляции автоколебаний (рис. 10а).

С помощью пейтраферной киносъемки мы также регистрировали смену активности фронтов по периметру мигрирующего плазмодия с периодом второго ритма. Оказывается, что как для длинного тяжа, так и для пленки плазмодия все эти эффекты описываются решениями базовых систем, полученными на ЭВМ.

На рис. 10б представлены стоячие волны, полученные для модели тяжа, у которого неустойчивы первые четыре моды колебаний. При этом наблюдается модуляция всех переменных (результат нелинейного взаимодействия мод), а форма стоячей волны говорит о "двухкамерном" механизме челночного потока. Действительно, для каждого момента времени скорость потока между сокращающимися концами практически постоянна вдоль тяжа. Резкие вздутия на концах тяжа — это родоначальники появления фронтальных областей.

На рис. 10в показаны автоколебания в замкнутом в кольцо тяже в случае неустойчивости двух первых пространственных гармоник. Характер автоволн квазистохастический и зависит от вида начальных распределений. Условия шивания, очевидно, обеспечивают большое разнообразие возможных режимов (от "нулевого тона" до квазистохастических колебаний).

На рис. 11 показана динамика поверхности (изменение толщины) двумерного дискообразного плазмодия [93]. Типы поведения пленки также разнообразны. Действительно, все решения, повернутые на любой угол вокруг оси диска, равноправны.

Другой подход в объяснении вращения активности по периферии дискообразной ламеллы предложен Альтом [92, 94]. В его подходе предполагалось, что клетка имеет жесткую цилиндрическую сердцевину, а в кольцеобразном наружном слое распространяется автоволна, порождаемая взаимодействием всего двух существенных переменных: $L(\varphi, t)$, характеризующей деформацию кольцеобразного слоя, и $n(\varphi, t)$, описывающей плотность активной гелеобразной сети. Чтобы объяснить наблюдающийся на опыте квазистохастический характер вращения, предлагалось ввести в модель шумовые члены.

Отметим также работы последних лет, посвященные распространению механохимических волн на поверхности оплодотворенных яйцеклеток. Наиболее ярко распространяющаяся от точки искусственной стимуляции кольцеобразная волна перетяжки наблюдается на икринке лягушки [95]. Такие модели содержат волну концентрации свободных ионов Ca^{2+} , стимулирующую волну деформации [96, 97].

Безусловно, следующим шагом анализа моделей должен стать учет "податливости" граничных условий

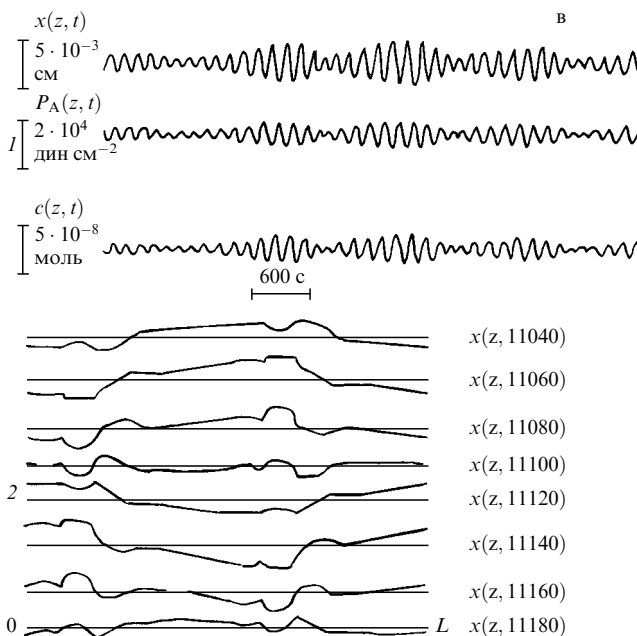
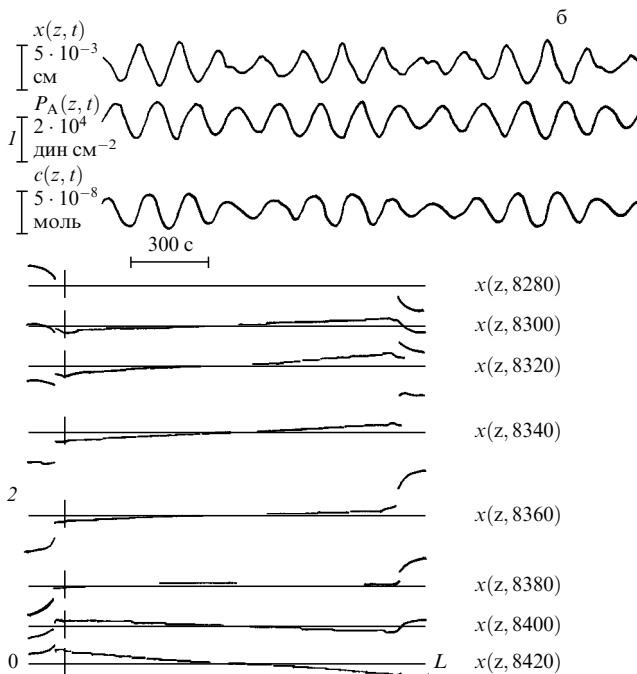
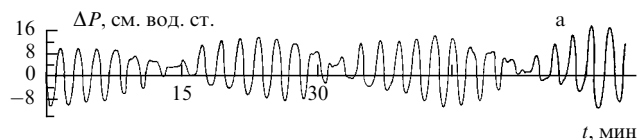


Рис. 10. Реальные и смоделированные автоколебания в отрезке тяжа: (а) типичный пример модулированных колебаний противодействия ΔP , останавливающего поток эндоплазмы в центральной части изолированного тяжа [112]; (б) решения модели в случае возбуждения первых четырех мод; (1) колебания $x(z, t)$, $P_A(z, t)$ и $c(z, t)$ в сечении $z = z' = 0, 15L$, (2) распределения $x(z, t)$ в фиксированные моменты времени (полученные через 20-секундные интервалы); (в) решения модели в случае неустойчивости первых двух мод для тяжа, замкнутого в кольцо

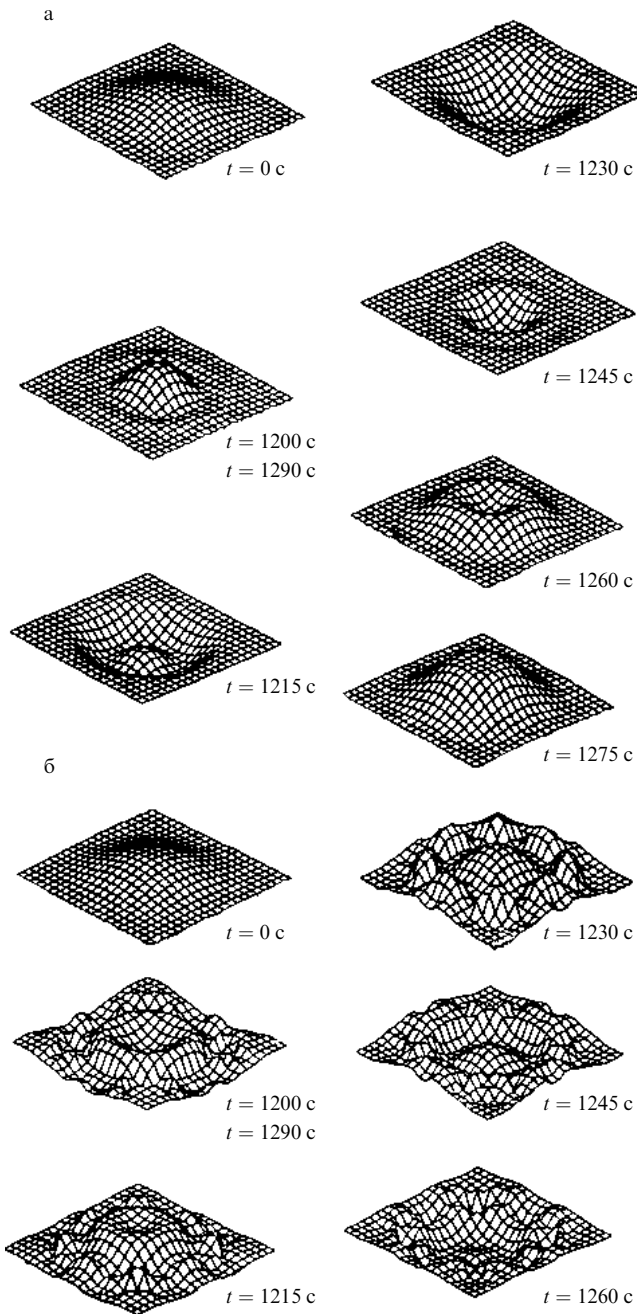


Рис. 11. Динамика рельефа поверхности распластанного плазмодия при малом (а) и большом (б) числе возбужденных гармоник. Система находится вблизи границы области устойчивости

не только по "внутренним причинам", но и из-за воздействий внешних факторов. Это будет продвижением к теории миграции амебодных клеток.

Именно объединение теории роста псевдоподий, теории фонтанирующих потоков в амебах, о которых говорилось выше, теории регулирования миграции клетки химическими факторами, которые она сама выделяет, и теории автоволновых потоков позволит построить цельную теорию подвижности.

С другой стороны, теория должна допускать переход к объяснению неавтономных режимов, когда клетка в целом испытывает разного рода внешние воздействия. Примеры таких неавтономных систем рассмотрены ниже.

7. Физические методы исследования клеточного движения

7.1. Клеточная тензометрия

При существующей экспериментальной технике довольно трудно исследовать механические свойства отдельных клеток. Прежде всего размеры большинства клеток и, особенно, их локальных частей, представляющих интерес, оказываются микроскопически малыми. Из-за дифракции света трудно с достаточной точностью регистрировать поля деформации при помощи оптической системы. Кроме того, необходимые для деформации силы также малы и их трудно контролировать и точно измерять.

В механических исследованиях отдельных клеток в настоящее время применяется, в основном, метод всасывания микропипеткой и метод сжатия клеток между двумя пластинами. Для определения механических свойств клеточных компонентов используются также магнитные частички [98]. Правда, недавно появилась работа [99], в которой авторы с помощью лазерной установки смогли измерить силу и перемещения, происходящие при взаимодействии одной миозиновой молекулы с актиновой нитью. В условиях малой нагрузки наблюдались дискретные "скачкообразные" перемещения в среднем на 11 нм, а в изометрическом режиме измерялась сила около $(3-4) \cdot 10^{-12}$ Н, что хорошо согласуется с теоретическими моделями мышечного сокращения [24].

Однако исследование механических свойств клеток остается сложной задачей и они изучены намного хуже, чем, например, электрические характеристики. В этом плане благодаря своим размерам протоплазматические тяжи плазмодия представляют уникальную возможность для исследования механических и термодинамических аспектов неммышечной подвижности.

Вязкоупругие характеристики плазмодимальных тяжей определялись по переходным процессам в ответ на их быстрые, контролируемые 1%-ные укорочения [85, 100]. Динамика изменения силы состояла из двух стадий. Во время укорочения тяжа, производимого за 30 мс, сила линейно во времени уменьшалась на величину, прямо пропорциональную укорочению. Затем происходило ее частичное восстановление, которое хорошо аппроксимировалось экспонентой с постоянной времени около 2 с (коэффициент регрессии составлял $0,9988 \pm 0,0007$).

Из-за нестационарности натяжения, свойственной тяжам, трудно точно определить асимптотическое значение силы, относящееся к окончанию стадии восстановления. Поэтому через 1 с тяж растягивался до своей первоначальной величины и по характеристикам обоих переходных процессов определялись коэффициенты вязкости и упругости. Суммарное время регистрации составляло 2 с, что на два порядка меньше периода автоколебаний и, таким образом, вычисленные коэффициенты можно считать мгновенными значениями, соответствующими определенной фазе автоколебаний.

Вязкоупругие свойства тяжа в одномерном приближении можно наглядно изобразить реологической схемой, приведенной на рис. 12. Решая простое дифференциальное уравнение, описывающее поведение этой модели при импульсной деформации, легко получить выражения для определения искомых характеристик.

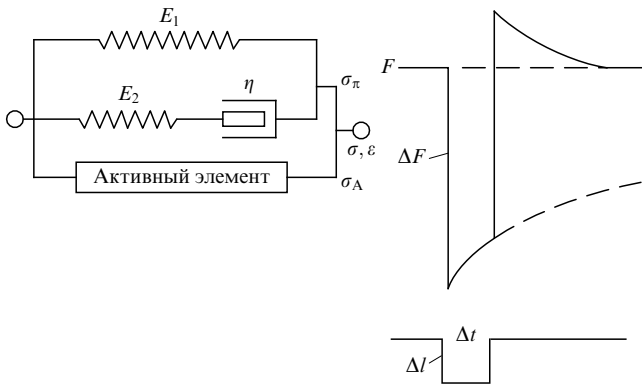


Рис. 12. Реологическая модель стенки протоплазматического тяжа и его силовой отклик на короткий импульс деформации\

Постоянная времени τ определяется формулой

$$\tau = \frac{\Delta t}{\ln(1 + F'_{t2}/F'_{t1})}, \quad (7.1)$$

где Δt — длительность импульса деформации, F'_{t1} и F'_{t2} — производные силы в моменты начала и окончания импульса деформации соответственно.

Коэффициенты упругости рассчитываются по формулам

$$E_2 = \frac{\Delta F}{\Delta l} \left[1 + \exp\left(-\frac{\Delta t}{\tau}\right) \right], \quad E_1 = \frac{\Delta F}{\Delta l} - E_2, \quad (7.2)$$

здесь ΔF — изменение силы в ответ на изменение длины Δl . Коэффициент вязкости определяется как

$$\eta = E_2 \tau.$$

На рис. 13 показаны изменения вязкоупругих параметров тяжа, происходящие в течение одного периода автоколебаний. Как видно из рисунка, они колеблются синхронно с изометрической силой, причем периодические изменения упругости, наличие которых отмечалось еще в [63, 64, 102], происходят только за счет изменения коэффициента упругости E_1 , который не зависит от фазы активности тяжа и отражает, по-видимому, чисто пассивные свойства.

Следует отметить, что мгновенные значения коэффициента упругости и силы, генерируемой тяжем, связаны линейной зависимостью. При активации тяжа, вызванного 20 %-ным растяжением, уже через несколько секунд происходит увеличение E_1 , и его новые значения вновь группируются около той же прямой.

Очевидно, что коэффициент упругости пропорционален числу поперечных связей в пучках микрофиламентов и, следовательно, изменения E_1 отражают изменения числа актомиозиновых комплексов.

Допустим, что регистрируемая сила определяется только напряжением стенок тяжа, толщина которых составляет около 10 % от диаметра. Тогда коэффициенты упругости и вязкости можно пересчитать в соответствующие модули эктоплазмы.

Так, вычисленный по данным рис. 13 продольный модуль Юнга в фазе максимального расслабления тяжа составляет $5 \cdot 10^5$ дин см⁻², а в фазе максимального сокращения — $5 \cdot 10^6$ дин см⁻². Соответствующие значения вязкости в этих фазах равны $2 \cdot 10^6$ и $4 \cdot 10^6$ дин с см⁻².

При моделировании миграции плазмодия реологическую схему нужно дополнить последовательным элемен-

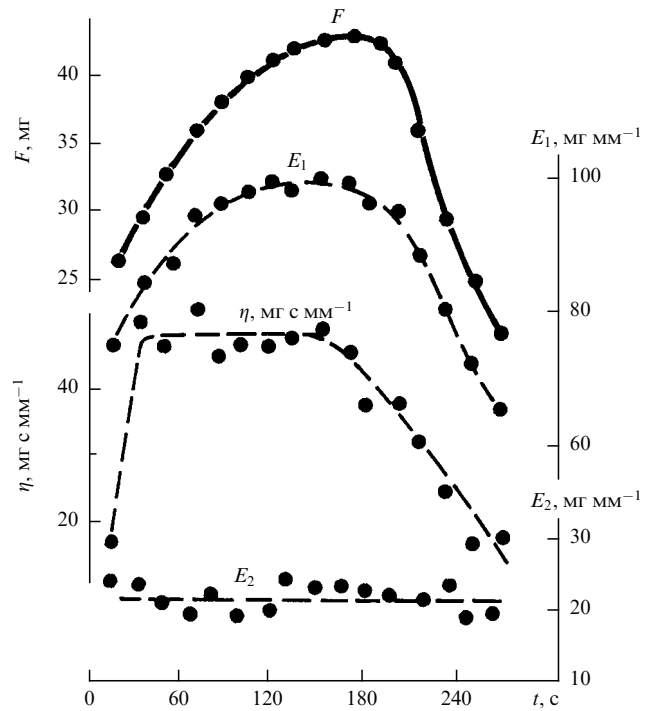


Рис. 13. Самопроизвольные изменения силы F и механических параметров E_1, η, E_2 тяжа, в течение одного периода автоколебаний. Длина и диаметр тяжа 5 и 0,7 мм соответственно

том вязкости, который определяется временем релаксации среднего уровня натяжения тяжа и составляет приблизительно 10^8 дин с см⁻². На временах порядка периода автоколебаний его можно не учитывать.

При построении математической модели (6.6) или (6.15), (6.20), (6.21) в первом приближении считалось, что эктоплазма изотропна и значения модулей, определенных в фазе максимального расслабления, соответствуют пассивным свойствам тяжа. Все активные свойства тяжа моделировались параллельным включением активного элемента (см. рис. 12).

7.2. Лазерная доплеровская анемометрия

Методы лазерной спектроскопии квазиупругого рассеяния широко используются для изучения динамических характеристик биологических объектов: коэффициентов диффузии, скоростей направленного движения (например, кровотока, перемещения микроорганизмов и течения протоплазмы в клетках) [103]. Мы остановимся здесь лишь на лазерной доплеровской анеметрии (ЛДА), впервые использованной для анализа внутриклеточных движений Мустасичем и Уером в 1974 г. [104].

Как известно, частота света, рассеянного на движущейся частице, вследствие эффекта Доплера изменяется на величину

$$\Delta\omega_D = (\mathbf{V}, \Delta\mathbf{K}), \quad (7.3)$$

где \mathbf{V} — скорость частицы, $\Delta\mathbf{K}$ — разность волновых векторов падающего и рассеянного света. Таким образом, доплеровский сдвиг частоты и скорость частицы связаны линейной зависимостью. При этом коэффициент пропорциональности зависит только от геометрии оптической схемы.

Основные сложности использования ЛДА для клеток связаны с тем, что, во-первых, скорости частиц могут быть очень малы (несколько микрометров в секунду); во-вторых, в измерительный объем, из которого собирается рассеянный свет, попадает сразу много неодинаковых частиц, движущихся с различными скоростями; в-третьих, лазерный пучок вследствие неоднородности материала клетки частично теряет когерентность; в-четвертых, так как $\Delta\omega_D$ может быть порядка единиц герц, сигнал на выходе оказывается смешанным с низкочастотными шумами, модулирующими интенсивность лазерного пучка.

В общем случае спектр сигнала на выходе ЛДА без учета шумовых составляющих дается формулой [105]

$$S(\omega) = I(\theta) \int W(|\mathbf{V}|) S_0 \left(\frac{\omega - (\mathbf{V}, \Delta\mathbf{K})}{|\mathbf{V}|/r_k} \right) dV. \quad (7.4)$$

Здесь $I(\theta)$ — индикатриса рассеяния лазерного пучка стенкой клетки, θ — угол рассеяния, $W(|\mathbf{V}|)$ — функция распределения частиц в канале по скоростям, r_k — радиус корреляции зондирующей волны в пределах измерительного объема, S_0 — фурье-образ функции корреляции поля зондирующей волны внутри канала.

Таким образом, результирующий спектр представляет собой суперпозицию уширенных спектров от отдельных частиц. Степень уширения спектра определяется временем пролета $T = r_k/V$ через область, в пределах которой поле зондирующей волны пространственно когерентно. К этому следует добавить, что внутриклеточные потоки нестационарны. Например, для *Physarum* за один период (1–3 мин) скорость необходимо измерять много раз.

С учетом вышесказанного простейшая однолучевая схема выдает на выходе сигнал, мощность которого можно считать пропорциональной лишь эффективному значению модуля скорости (рис. 14). Вместе с тем такая форма зависимости $P(t)$ позволяет определять с хорошей точностью значения периода T и, соответственно, времен τ_1 и τ_2 ($\tau_1 + \tau_2 = T$), когда течение происходит в разных направлениях. Это позволило быстро и надежно определять зависимости периода от температуры, световых воздействий и т.п. Результаты, представленные ниже (см. раздел 8), получены именно с помощью простейшей схемы. Заметим, что одновременное использование

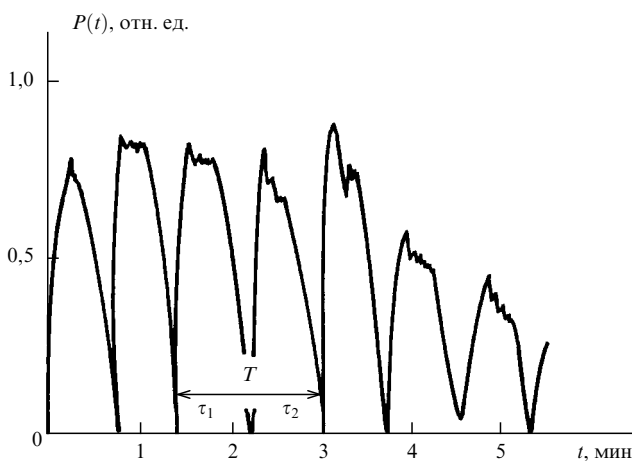


Рис. 14. Колебания мощности сигнала ЛДА на выходе интегратора

нескольких однолучевых схем позволило создать многоканальный ЛДА [106].

Перечислим требования, предъявляемые к ЛДА для изучения внутриклеточных движений:

1. Диапазон скоростей от единиц до сотен мкм s^{-1} .
2. Характерный размер измерительного объема, из которого извлекается информация, порядка 5 мкм.
3. Возможность производить измерения скоростей нестационарных потоков.
4. Интенсивность зондирующего излучения не должна превышать единиц мВт m^{-2} .
5. Длина волны $\lambda \approx 600$ нм (на нее живые клетки реагируют меньше, чем на сине-зеленую часть спектра).
6. Совместимость с устройствами, регистрирующими напряжения, мембранные потенциалы и т.п.

7.3. Лазерный доплеровский микроскоп

Перечисленным выше требованиям во многом удовлетворяют лазерные доплеровские микроскопы (ЛДМ), созданные в нескольких странах [107, 108]. Мы опишем здесь не уступающий зарубежным образцам знаменитый, сканирующий ЛДМ, который был разработан на физическом факультете МГУ А.В. Приезжев, В.Н. Глonti и С.Г. Проскуриным на базе люминесцентного микроскопа ЛЮАМ-Р1 [103, 109–111].

Лазерный луч, генерируемый одномодовым He–Ne-лазером ЛГ-79-1 (мощность 10–15 мВт), расщепляется на два одинаковых пучка и направляется в акустооптические модуляторы (АОМ), работающие в брэгговском режиме. На их выходе используются пучки, соответствующие +1 порядку дифракции. Частоты возбуждения генераторов АОМ равны $f_1 = 50$ мГц и $f_2 = f_1 + \Delta f$, где $\Delta f = 1$ кГц.

С помощью фокусирующей системы пучки пересекаются внутри прозрачного живого объекта и образуют измерительный объем. Объект помещается на термостатированном предметном столике, а управляемый ЭВМ шаговый двигатель позволяет осуществлять его сканирование в горизонтальном направлении. Внутри измерительного объема получается бегущая интерференционная картина.

Когда рассеивающая частица пересекает интерференционные полосы, доплеровский сдвиг $\Delta\omega_D$ зависит от направления ее движения и на выходе прибора воспроизводится запись знакопеременной скорости, свободной от влияния низкочастотных шумов лазера. Используя различные объективы, можно получать измерительный объем с характерными размерами 5–10 мкм. Кроме того, по интенсивности доплеровского сигнала можно находить распределение концентрации рассеивающих частиц поперек потока.

С помощью ЛДМ оказалось возможным исследовать нестационарные потоки протоплазмы внутри клеток со скоростями, начиная от нескольких микрометров в секунду (рис. 15а). При этом данные измерений поступают в ЭВМ и могут в любое время пройти дополнительную обработку и быть представленными в удобном виде (рис. 15б). Таким образом удалось определить профили челночных потоков в тяжах плазмодия, которые имеют неньютоновский характер (рис. 16).

Подчеркнем, что форму профиля, отличную от параболы, можно учесть в математических моделях, представленных нами выше. Изучение интенсивностей компонент доплеровского спектра показало, что плот-

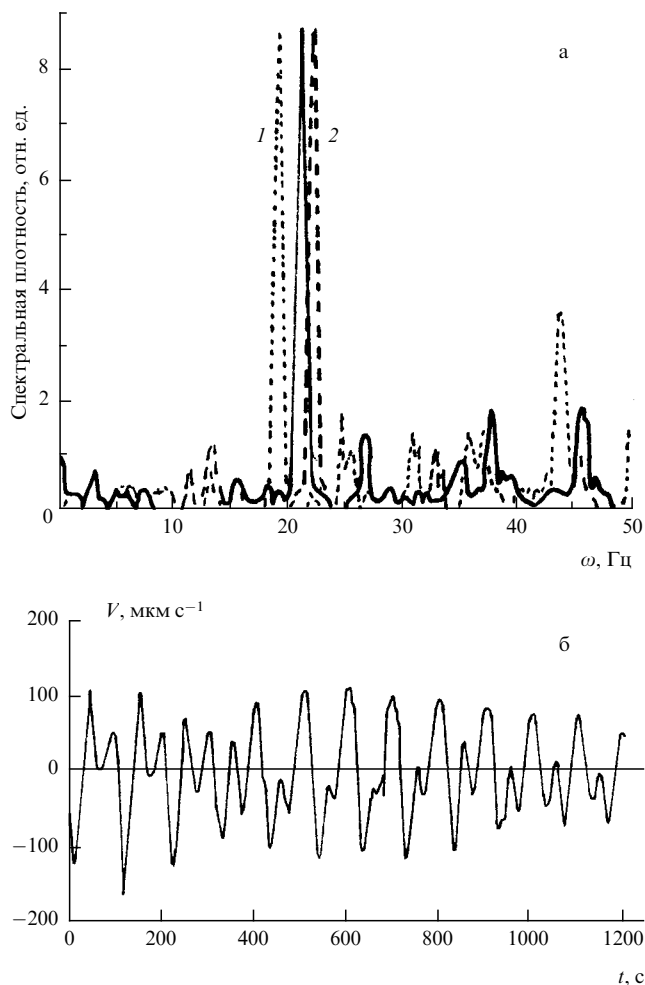


Рис. 15. (а) Доплеровские спектры, показывающие разрешение ЛДМ по скорости. В качестве объекта использовалась рассеивающая пленка. Пики 1 и 2 соответствуют скоростям $-2,0$ и $+1$ $\mu\text{m/s}$. (б) Временная зависимость скорости потока эндоплазмы на оси тяжа плазмодия

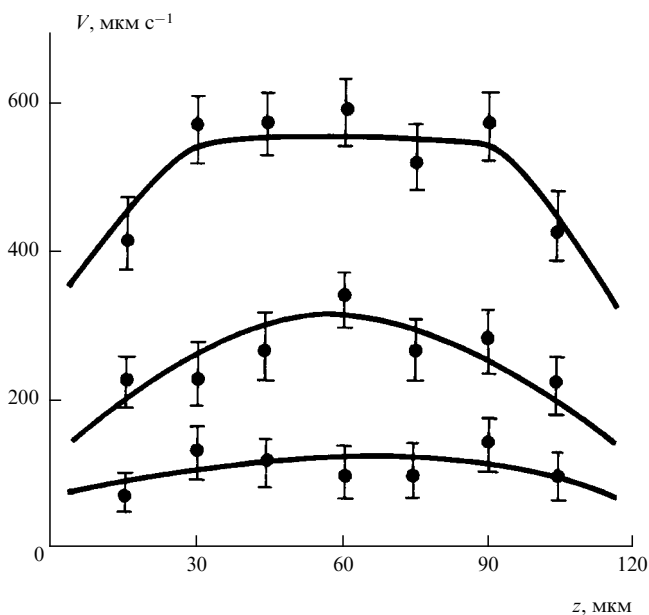


Рис. 16. Профили скорости пушпульного потока протоплазмы в тяже плазмодия, полученные в сканирующем режиме в различных фазах ускорения течения. Диаметр потока 120 μm

ность распределения рассеивателей поперек канала почти равномерна.

Заметим, что, в принципе, часть вышеприведенных результатов может быть получена с помощью других, но более трудоемких методов. Например, можно "покадрово" вводить в ЭВМ изображения с телемонитора или фильма, полученного с помощью цейтраферной киносъемки под микроскопом [112], и производить обработку треков отдельных рассеивателей. Однако это не идет в сравнение с простотой и удобством использования ЛДМ. Определение скорости с помощью ЛДМ может производиться одновременно с измерениями диаметров в нескольких сечениях тяжа и с записью силы, генерируемой тяжем [52, 56].

Ниже мы опишем результаты исследования двигательных реакций плазмодия *Physarum polycephalum* на различные внешние воздействия, полученные с использованием ЛДМ. Именно изучение нестационарных воздействий позволяет понять устройство этой замечательной самоорганизующейся живой машины и постоянно совершенствовать описывающие ее математические модели. Начнем наше изложение с описания реакции плазмодия на тепловые воздействия.

8. Нестационарные внешние воздействия как способ исследования автоколебаний в подвижности

8.1. Синхронизация челночного движения протоплазмы периодически меняющимся градиентом температуры

Хорошо известно, что белковые молекулы и живые клетки в целом сохраняют способность нормально функционировать в температурном диапазоне от 10 до 40 $^{\circ}\text{C}$. Плазмодий реагирует на вариации температуры окружающей среды изменением сократительной активности. Это прежде всего проявляется в изменении периода челночных течений, скорости и направления перемещения [58, 112]. С возрастанием температуры период челночных движений уменьшается.

Вольфарт-Боттерманн изучил ход зависимости периода автоколебаний как функцию температуры с помощью тензометрии [113], а авторы [114] более детально определили эту зависимость с помощью ЛДА (рис. 17), а также исследовали кинетику изменений периода при тепловых воздействиях.

Изучение эволюции периода во времени при скачкообразном тепловом воздействии дало следующие результаты [114]. Период реагирует на изменение температуры практически сразу. При понижении температуры от 21 до 17 $^{\circ}\text{C}$ период выходит на стационарный уровень через большой максимум за время около 1 ч, тогда как при повышении температуры он выходит на стационарный уровень всего за 3 мин.

Приведенные данные были интерпретированы в предположении, что резкое охлаждение вызывает усиление процессов гелеобразования в эндоплазме, что на начальном этапе влечет за собой резкое возрастание периода. Гелеобразование связано с полимеризацией цитоплазматического актина, находящегося под жестким контролем белков — ингибиторов этого процесса. С активизацией этих белков связана продолжительная адаптация к новому стационарному режиму.

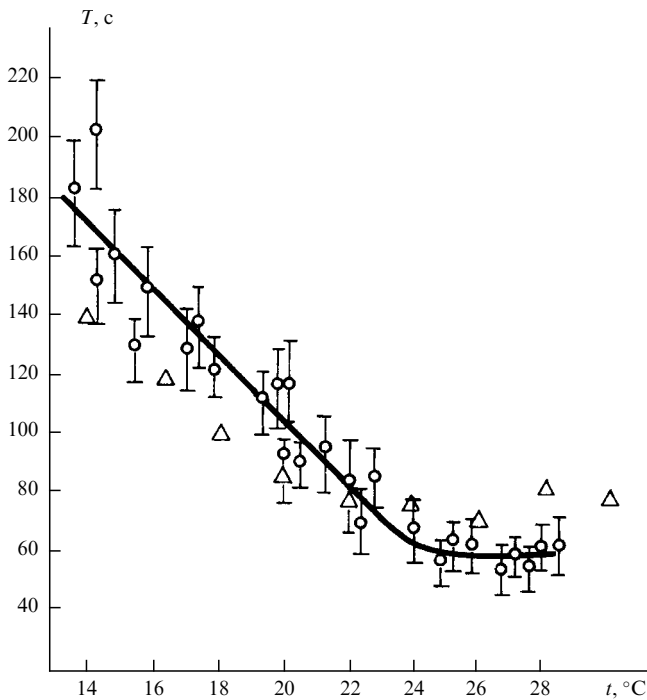


Рис. 17. Зависимость периода колебаний потока протоплазмы от температуры. Кружками отмечены средние значения, вертикальными отрезками — стандартные отклонения. Треугольники соответствуют данным, полученным в [113]

Как мы уже видели, тяж плазмодия является автоволновой системой, в которой периодически меняющийся градиент внутриклеточного давления вызывает челночное течение протоплазмы. При помещении тяжа в пространственно неоднородные температурные условия в нем меняются градиенты внутриклеточного давления.

Таким образом, ритмическое изменение величины и градиента температуры эквивалентно приложению периодического градиента внутриклеточного давления. Такое воздействие может привести к синхронизации автоволновых течений, что и было обнаружено [114].

Рисунок 18 демонстрирует процесс синхронизации. Плазмодий располагался в двухкамерном термостате так, что один конец помещался в первой камере, а

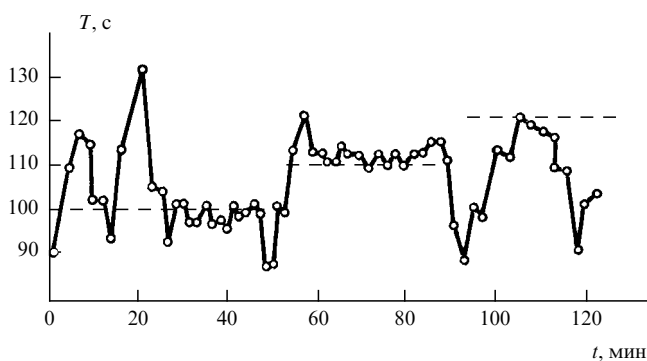


Рис. 18. Синхронизация колебаний скорости потока протоплазмы периодическим градиентным тепловым воздействием. Штриховая линия показывает период и продолжительность внешнего воздействия. При $T = 100$ с и $T = 110$ с устанавливался синхронный режим, при $T = 120$ с возникали биения

другой — во второй. Средняя температура в камерах поддерживалась около 19°C . Максимальное значение градиента температуры в цикле колебаний достигало $0,5^\circ\text{C cm}^{-1}$. Период колебаний градиента температуры изменялся дискретно с шагом 10 с. При каждом новом значении периода в течение 40 мин измерялись значения периода колебаний скорости потока.

Из рисунка видно, что режим синхронизации наступает при $T = 100$ с и $T = 110$ с (а также при любых периодах внутри этого интервала). Но уже при $T_0 = 120$ с синхронизация не наблюдается. Таким образом, плазмодий действительно является своеобразной автоволновой системой, способной к синхронизации внешним периодическим воздействием.

Добавим к сказанному, что, как отмечалось ранее, плазмодиальный осциллятор способен захватывать частоту периодически прикладываемого внешнего давления [74] и был осуществлен эксперимент по взаимной синхронизации двух тяжей плазмодия связанными гидродинамическими потоками [34, 52]. К сожалению, соответствующих математических моделей синхронизации до сих пор не построено.

8.2. Воздействие света на автоволновые режимы плазмодия

Физическим проблемам воздействия света на фотосинтезирующие клетки растений и фоторецепторы сетчатки посвящены тысячи работ. Значительно менее изучены реакции клеток, не обладающих столь специфическим и организованным механизмом фоторецепции.

Большие интенсивности и дозы облучения приводят к повреждению и гибели клеток, а на малые дозы клетки реагируют различным образом. В частности, амeboидные клетки обладают свойством фототаксиса. Это выражается в том, что они движутся в световом поле либо по градиенту освещенности, либо против него. Наиболее чувствительны клетки к синей области спектра.

Однако механизмы фоторецепции на синий свет во многом остаются загадкой [115]. Именно так обстоит дело с двигательной реакцией плазмодия *Physarum* на световые воздействия [116–118], хотя период челночных движений протоплазмы в этом организме существенно меняется при изменении режима его освещенности [119]. При этом такая реакция весьма специфична спектрально [120, 121], что создает возможности для исследования механизма действия света.

На рис. 19 приведены экспериментальные данные о реакции периода колебаний скорости протоплазмы на лазерное освещение с различными длинами волн, полученные с помощью ЛДА [121].

Из представленных кривых видно, что, во-первых, через время порядка 1 ч с момента включения света происходит адаптация, т.е. возвращение периода к тому значению, которое наблюдалось в темноте. Во-вторых, кинетика имеет ряд хорошо заметных относительных максимумов, положение которых мало зависит от длины волны облучения. В-третьих, из вставки к рис. 19а следует, что интегральный эффект имеет максимум при $\lambda = 460$ нм. Такой же спектр действия обнаруживают и другие клетки [122].

На рис. 19б представлены кривые изменения периода автоколебаний при различных длительностях экспозиции. Важной особенностью этих зависимостей является то, что после снятия освещения период уменьшается до

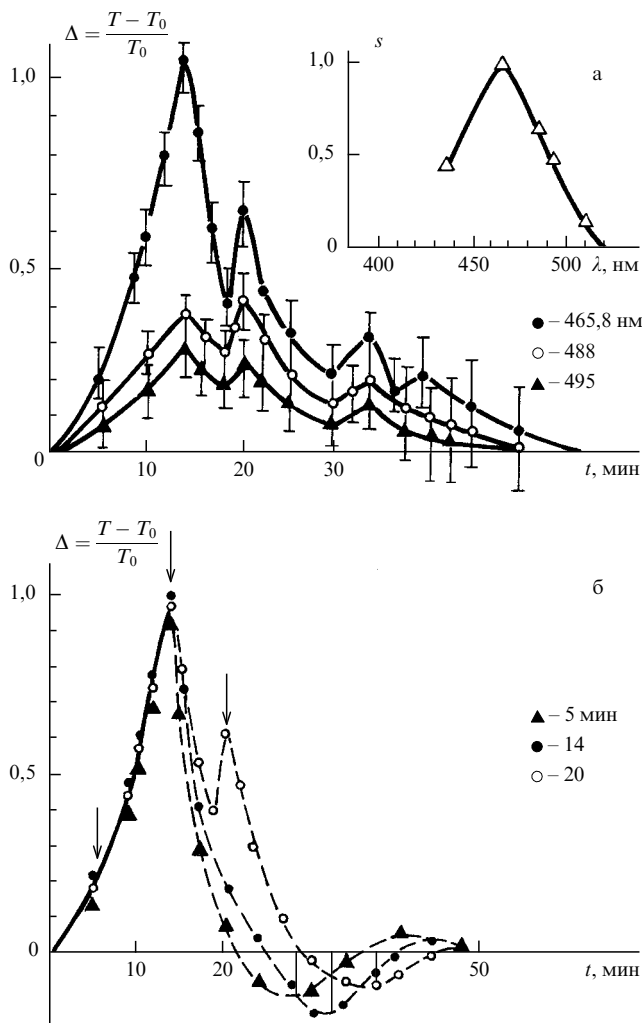


Рис. 19. Изменение относительного периода колебаний скорости движения протоплазмы плазмодия: (а) при непрерывном освещении монохроматическим светом; на вставке — зависимость интегрального эффекта (площадь под кривой $\Delta(t)$) от длины волны излучения; (б) при различных длительностях освещения и $\lambda = 465,8$ нм; стрелками обозначены моменты выключения света ($t = 0$ соответствует началу освещения). Плотность мощности излучения на образце составляла 4 Вт м^{-2} , T_0 — средний период до начала освещения, T — текущий период

значения, меньшего стационарного. Ниже мы сформулируем математическую модель, которая в некотором приближении может описать обнаруженные эффекты и стимулировать новые опыты по исследованию фотореакции амебодных клеток.

8.3. Математическая модель неавтономной системы

За основу нами взята автономная модель (6.8), (6.20), (6.22), описывающая автоволновые течения протоплазмы в телях плазмодия. Эффективные параметры модели k_i ($i = 1-4$) зависят от кинетики многих биохимических процессов. При всех прочих постоянных параметрах они определяют период челночных течений протоплазмы (6.24).

Первым шагом моделирования, выполненного Павловым с соавторами [123], было выяснение количественных зависимостей периода автоколебаний, получающихся непосредственно при решении системы наших базовых уравнений, от значений вышеупомянутых пара-

метров. При этом параметры выбирались так, чтобы не нарушалось условие самовозбуждения основного тона автоколебаний.

Наиболее сильное влияние на период оказывает параметр k_1 , определяющий запуск взаимодействия актина и миозина. Предварительный машинный эксперимент показал, что скачкообразное изменение k_1 приводит к быстрому (за время одного периода) установлению новой соответствующей частоты автоколебаний.

Поэтому было естественно предположить, что можно подобрать такую функцию времени $k_1(t)$, которая уже в качестве времязависимого коэффициента базовой системы определила бы нужное нам изменение периода во времени. Это было сделано с помощью аппроксимации квадратичными сплайнами кривой фотореакции при $\lambda = 465,8$ нм на рис. 19а и функции $T_0(k_1)$. Результаты моделирования представлены на рис. 20.

В качестве первого варианта решения задачи мы попытались подобрать такую схему биохимических процессов (начиная от возбуждения молекул фоторецептирующего пигмента плазмодия и кончая изменением концентрации активатора, пропорциональной k_1), которая может обеспечить нужный ход зависимости. Конечно, это не исключает того, что могут быть и другие варианты, но в любом случае моделирование позволяет проверить правдоподобность предлагаемой схемы и, таким образом, помочь целенаправленным поискам в эксперименте.

Очевидно, что функция k_1 , в свою очередь, может быть аппроксимирована разложением

$$k_1(t) - \bar{k}_1 = A \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) + B \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \sin(\Omega t + f) + C \exp(-\delta t). \tag{8.1}$$

Здесь \bar{k}_1 — стационарное значение в отсутствие освещения, δ^{-1} — время адаптации (порядка минут), которое,

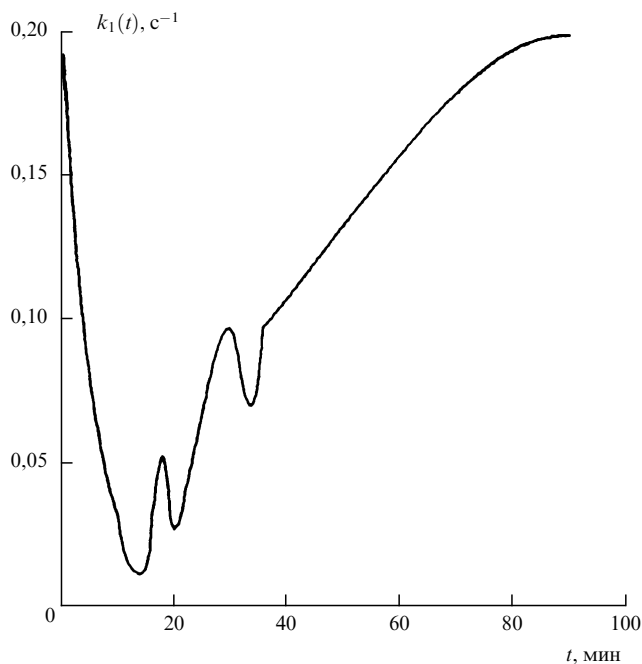


Рис. 20. Форма функции $k_1(t)$, найденная при моделировании фотореакции плазмодия

как оказалось, совпадает с временем закисления внутриклеточной среды [121]. Процесс адаптации также наблюдается при воздействии света на плазмодий и многие другие клетки, сенсibilизированные различными красителями [122].

Наиболее вероятными кандидатами на роль эндогенного фоторецептора плазмодия являются флавины [124], которые, будучи энергизованными светом и вступая во взаимодействие с мембранными белками, способствуют выработке специальных метаболитов. Это, скорее всего, — циклические нуклеотиды [125, 126].

В применении к модели мы предполагаем, что процесс закисления и действие циклических нуклеотидов уменьшают k_1 и, возможно, влияют на другие k_i . Так как функция $k_1(t)$ имеет, наряду с экспоненциально затухающими членами, периодически меняющийся, необходимо предположить существование активатора — второй переменной, связанной с ингибитором так, чтобы возникали автоколебания.

Так как все "действующие лица" пока точно не известны, остается предположить существование следующей вероятной схемы кинетических превращений:

$$\begin{aligned} \frac{\partial y_1}{\partial t} &= a_{10}D_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) - a_{11}y_1 - a_{12}y_2, \\ \frac{\partial y_2}{\partial t} &= a_{20}D_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) + a_{21}y_1, \\ \frac{\partial k_1}{\partial t} &= \frac{\gamma_1(\bar{y}_1 + y_1)}{\gamma_2 + \bar{y}_2 + y_2} - \delta k_1, \quad t > 0, \\ y_1(0) &= \bar{y}_1, \quad y_2(0) = \bar{y}_2, \quad k_1(0) = \bar{k}_1. \end{aligned} \quad (8.2)$$

Здесь \bar{y}_1 и \bar{y}_2 — концентрации активатора и ингибитора в отсутствие освещения соответственно, y_1 и y_2 — их отклонения от \bar{y}_1 и \bar{y}_2 при освещении, D_0 характеризует активность фоторецептора, τ — время его релаксации, коэффициенты a_{10} и a_{20} зависят от длины волны излучения.

Первые два уравнения в (8.2) могут рассматриваться как неавтономный линейный аналог систем вольтерровского типа. Третье уравнение является аналогом схемы Михаэлиса для реакции преобразования y_1 в "продукт" k_1 с участием ингибитора y_2 . В отсутствие света в стационарном режиме все производные равны нулю и k_1 соответствует значению периода в темноте.

Кривая 2 на рис. 21 показывает изменение периода, полученное при решении базовой модели (6.8), (6.20), (6.22), у которой параметр $k_1(t)$ определяется линеаризованной системой (8.2). Это решение достаточно удовлетворительно описывает искомую функцию, показанную на рис. 19а. Кроме того, линеаризованная модель качественно описывает и режимы, когда освещение включается на определенное время (ср. кривую 2 на рис. 21 с кривыми на рис. 19б).

Подчеркнем, что, хотя линейное приближение дает удовлетворительные результаты, выбор соответствующей нелинейной модели остается неоднозначным и требуется проведение новых натуральных экспериментов, например одновременного воздействия на плазмодий света и веществ, которые могут изменять те или иные стадии фотореакции.

Отметим также, что решения линеаризованной модели совпадают с нелинейной (8.2) лишь для малых изменений y_1 и y_2 около стационарных значений. Тем не менее возможность удовлетворительного объяснения

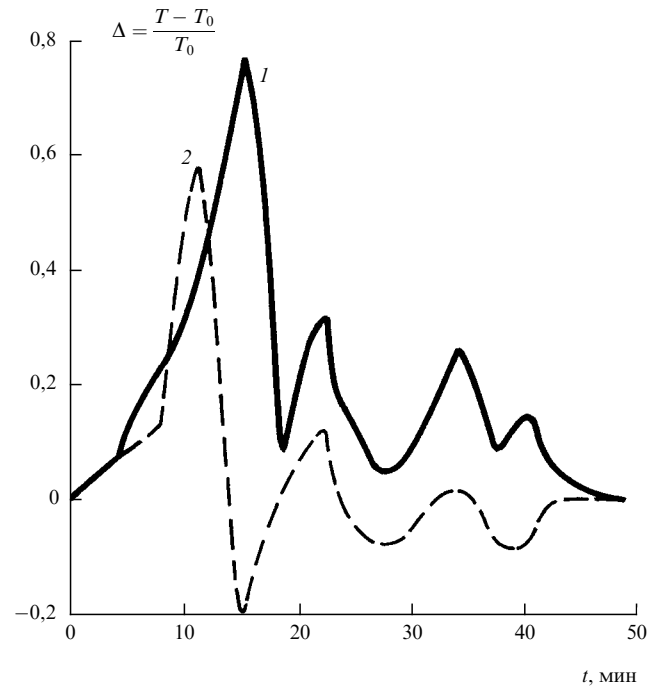


Рис. 21. Изменение относительного периода автоколебаний, полученное из линеаризованной модели: (1) при численном моделировании действия непрерывного освещения, (2) при 5-минутной длительности освещения

новых нетривиальных колебательных режимов поведения клетки на основе нашей базовой модели свидетельствует в пользу развиваемой теории.

9. Заключение

Можно считать, что к настоящему времени построены отдельные фрагменты теории амебодной подвижности. Главная задача на ближайшее будущее — соединение отдельных фрагментов в единое математическое описание, охватывающее самоорганизацию внутриклеточных движений и миграции клеток. Здесь не обойтись без привлечения идей управления движением, развиваемых в теории межклеточных взаимодействий и самоорганизации коллективов клеток. Состояние исследований в этом направлении описано в недавно вышедшем обзоре [127].

Не следует забывать, что многие тканевые клетки животных имеют амебодный тип подвижности и выяснение физики их движений является важной задачей как для теории, так и для медицинских приложений. Важно продвинуться в понимании самоорганизации процессов в актомиозиновой сети как автоволновой системе, понять регуляторную роль деформаций и напряжений в клетках и исследовать их взаимосвязь с другими управляющими системами.

С точки зрения синергетики важнейшей проблемой является определение оптимальной формы мигрирующей амебодной клетки и параметров соответствующих внутриклеточных движений. В связи с этим встает вопрос о поиске критерия оптимальности, который можно было бы сформулировать в рамках теории открытых неравновесных систем.

Для биофизиков-экспериментаторов сейчас открываются новые возможности изучения жизни клетки,

например, с помощью конфокальной микроскопии, флуоресцирующих зондов, оптоэлектронных усилителей, голографии и других оптических методов.

Следует отметить новый перспективный метод лазерной фазовой микроскопии [128]. Его использование, по видимому, должно сочетаться с лазерной доплеровской техникой, позволяющей определять динамические характеристики текущей протоплазмы.

Все это возможно, если аппаратура будет обслуживаться ЭВМ, а представление результатов будет осуществляться на том же уровне, на каком это делается в модельных экспериментах по молекулярной динамике.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 94-04-12233а).

Список литературы

1. Николис Г, Пригожин И *Самоорганизация в неравновесных системах* (М.: Мир, 1979)
2. Хакен Г *Синергетика. Иерархия неустойчивостей в самоорганизующихся системах* (М.: Мир, 1985)
3. Эбелинг В *Образование структур при необратимых процессах* (М.: Мир, 1979)
4. Васильев В А, Романовский Ю М, Яхно В Г *Автоволновые процессы* (М.: Наука, 1987)
5. Klimontovich Yu L *Statistical theory of open systems: A unified approach to kinetic systems* (Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1995)
6. Кадомцев Б Б *УФН* **164** 449 (1994)
7. Жаботинский А М *Концентрационные автоколебания* (М.: Наука, 1974)
8. Иваницкий Г Р, Кринский В И, Сельков Е Е *Математическая биофизика клетки* (М.: Наука, 1978)
9. Белинцев Б Н *Физические основы биологического формообразования* (М.: Наука, 1991)
10. Ахромеева Т С, Курдюмов С П, Малинецкий Г Г, Самарский А А *Нестационарные структуры и диффузионный хаос* (М.: Наука, 1992)
11. Кернер Б С, Осипов В В *Автосолитоны* (М.: Наука, 1991)
12. Карлов Н В, Кириченко Н А, Лукьянчук Б С *Лазерная термометрия* (М.: Наука, 1992)
13. Lackie J M *Cell movement and cell behaviour* (London: Allen & Unwin, 1986)
14. Блюменфельд Л А *Проблемы биологической физики* (М.: Наука, 1977)
15. Чернавский Д С, Хургин Ю И, Шноль С Э *Молек. биол.* **1** 419 (1967); **20** 13 (1987)
16. Mast S O J *Morphol. Physiol.* **41** 347 (1926)
17. Allen R D *Cell* **2** 135 (1961)
18. Grebecki A *Int. Rev. Cytology* **148** 37 (1994)
19. Trinkaus J P *Cells into organs* (N.J.: Prentice-Hall, 1984)
20. Смолянинов В В, Блюх Ж Л, в кн. *Немышечные формы подвижности* (Ред. Г М Франк) (Пушино: НЦБИ АН СССР, 1976) с. 5
21. Abercrombie M, Heaysman J E, Pegrum S M *Exp. Cell Res.* **67** 359 (1971)
22. Vasiliev Ju M, Gelfand I M, in *Locomotion of tissue cells* (Ciba Found. Symp.) **14** 311 (1971)
23. Weiss P *Exp. Cell Res. Suppl.* **8** 260 (1961)
24. Дещеревский В И *Математические модели мышечного сокращения* (М.: Наука, 1977)
25. Bagshaw V *Muscle Contraction* (London: Chapman & Hall, 1993)
26. Oster G F, Odell G M *Physica D* **12** 333 (1984)
27. Oster G F J. *Embriol. Exp. Morph. Suppl.* **83** 329 (1984)
28. Oster G F, Perelson A S *J. Math. Biol.* **21** 383 (1985)
29. Zhu C, Skalak R *Biophys. J.* **54** 1115 (1988)
30. Dimilla P A, Barbee K, Lauffenburger D A *Biophys. J.* **60** 15 (1991)
31. Dembo M, Harlow F, Alt W, in *Cell surface dynamics. Concepts and models* (Eds S Parlestone, Ch DeLisi, F M Wiegel) (N.Y.: Marcel Dekker, 1984) p. 495; Dembo M, Harlow F *Biophys. J.* **50** 109 (1986)
32. Alt W, in *Biomechanics of active movement and deformation of cells* (Ed. N Akkas) (Berlin: Springer-Verlag, 1990) p. 403
33. Evans E *Biophys. J.* **64** 1306 (1993)
34. Beylina S I, Matveeva N B, Priezhev A V et al., in *Self-organization. Autowaves and structures far from equilibrium* (Ed. V I Krinsky) (Berlin: Springer-Verlag, 1984), p. 218
35. Потапова О О, Бейлина С И, Заикин А Н, в кн. *Теоретические и математические проблемы морфогенеза* (Ред. А И Зотин) (М.: Наука, 1987), с. 86
36. Иваницкий Г Р, Медвинский А Б, Цыганов М А *УФН* **161** 13 (1991)
37. Oster G F, Perelson A S *J. Cell Sci. Suppl.* **8** 35 (1987)
38. Oster G F, Perelson A S, Tilney L G *J. Math. Biol.* **15** 259 (1982)
39. Perelson A S, Coutsiaris E A *J. Math. Biol.* **23** 361 (1986)
40. Tilney L G, Inone S *J. Cell Biol.* **93** 820 (1982)
41. Dembo M *Biophys. J.* **55** 1053 (1989)
42. Романовский Ю М, Черняева Е Б, в кн. *Термодинамика необратимых процессов* (Ред. А И Лопушанская) (М.: Наука, 1987) с. 152
43. Романовский Ю М *Мат. модел.* **8** 3 (1993)
44. Wohlfarth-Bottermann K E *J. Exp. Biol.* **81** 15 (1979)
45. Turing A M *Philos. Trans. R. Soc. London B* **237** 37 (1952)
46. Kirber M T, Walsh Jr J V, Singer J J *Pflugers Arch.* **412** 339 (1988)
47. Kolega J *J. Cell Biol.* **102** 1400 (1986)
48. Sandy J R, Meghji S, Farndale R W, Meikle M C *Biochem. Biophys. Acta* **1010** 265 (1989)
49. Ben-Ze'ev A, in *Cell and muscle motility* (Ed. J W Shay) (N.Y.: Plenum Press, 1985) vol. 6, p. 23
50. Barany K, Rokolya A, Barany M *BBRC* **260** 7126 (1988)
51. Белоусов Л В *Биологический морфогенез* (М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987)
52. Теплов В А, Бейлина С И, Евдокимов М В и др., в кн. *Автоволновые процессы в системах с диффузией* (Ред. М Т Грехова) (Горький: ИПФ АН СССР, 1981) с. 190
53. Grebecki A, Cieslowska M *Cytobiol.* **17** 335 (1978)
54. Stewart P A, Stewart B I *Exp. Cell Res.* **17** 44 (1959)
55. Stewart P A, Stewart B I *Nature* **192** 1206 (1961)
56. Ермаков В Г, Приезжев А В *Биофиз.* **29** 100 (1984)
57. Барановский З, в кн. [20] с. 47
58. Hejniewicz Z, Wohlfarth-Bottermann K E *Planta* **150** 144 (1980)
59. Теплов В А, Матвеева Н Б, Зинченко В П, в кн. *Биофизика живой клетки* (Ред. Г М Франк) (Пушино: НЦБИ АН СССР, 1973) т. 4, с. 110
60. Kuroda R, Hatano S, Hiramoto Y, Kuroda H *Protoplasma Suppl.* **1** 72 (1988)
61. Nakamura S, Kamiya N *Cell Struct. Funct.* **10** 133 (1985)
62. Ueda T, Matsumoto K, Akitaya T, Kobatake Y *Exp. Cell Res.* **162** 486 (1986)
63. Kamiya N, Yoshimoto Y, in *Aspects of cellular and molecular physiology* (Ed. K Hamaguchi) (Tokyo: Univ. Tokyo Press, 1972) p. 167
64. Теплов В А, Будницкий А А, в кн. [59] с. 165
65. Лайранд Д Б, Матвеева Н Б, Теплов В А *Анализ движения протоплазмы плазмодия миксомицета. Внутриклеточное гидростатическое давление и его роль в движении протоплазмы* (М: ВИНТИ, 1970) № 2001-70.
66. Layrand D B, Matveeva N B, Teplov V A, Beylina S I *Acta Protozoool.* **11** 339 (1972)
67. Матвеева Н Б, Бейлина С И, Теплов В А, Лайранд Д Б, Леднев В В *Регуляция таксиса плазмодия миксомицета* (М.: ВИНТИ, 1981) № 2112-81.
68. Матвеева Н Б, Бейлина С И, Теплов В А, Лайранд Д Б, в кн. *Немышечные двигательные системы* (М: Наука, 1981) с. 147
69. Teplov V A, Beylina S I, Matveeva N B, Layrand D B, in *Progress in Protozoology* (Warszawa, 1981) p. 363
70. Yoshimoto Y, Kamiya N *Protoplasma* **95** 89 (1978)
71. Achenbach U, Wohlfarth-Bottermann K E *Planta* **151** 574 (1981)
72. Achenbach U, Wohlfarth-Bottermann K E *Planta* **151** 584 (1981)
73. Yoshimoto Y, Kamiya N *Protoplasma* **95** 89 (1978)
74. Kishimoto U *J. Gen. Physiol.* **41** 1205 (1958)
75. Baranowski Z, Teplov V A *Cell Biol. Int. Rep.* **16** 1091 (1992)
76. Архангельская Т А, Барч Г, Колинко В Г, Романовский Ю М, в кн. *Динамика клеточных популяций* (Горький: ГГУ, 1984) с. 98
77. Odell G M *J. Embryol. Exp Morphol. Suppl.* **83** 261 (1984)
78. Oster G F, Odell G M *Cell Motility* **4** 469 (1984)
79. Романовский Ю М, Теплов В А, в кн. *Математические механизмы турбулентности* (Киев: ИМ АН УССР, 1986) с. 103
80. Романовский Ю М, Хорс Н П *Биофиз.* **27** 707 (1982)
81. Vasilyev V A, Romanovsky Yu M, Chernavsky D S, Yakhno V G *Autowave processes in kinetic systems. Spatial and temporal self-organization in physics, chemistry, biology and medicine* (Dordrecht: D. Reidel, 1987)
82. Romanovsky Yu M, Teplov V A, in *Thermodynamics and pattern formation in biology* (Eds I Lamprecht, A I Zotini) (Berlin: De Gruyter, 1988) p. 395

83. Teplov V A, Romanovsky Yu M, Latushkin O A *Biosystems* **24** 269 (1991)
84. Лагушкин О А, Нетребко Н Б, Романовский Ю М, Теплов В А, в кн. *Коллективная динамика возбудителей и структурообразования в биологических тканях* (Ред. В Г Яхно) (Горький: ИПФ АН СССР, 1988) с. 109
85. Теплов В А, Романовский Ю М *Механохимические распределенные автоколебания в клеточной подвижности. Автоволновые явления в сократительной активности плазмодия Physarum polyserphatum* (Пушкино: НЦБИ АН СССР, 1987).
86. Kessler D, Nachmias V T, Loewy A G *J. Cell Biol.* **69** 393 (1976)
87. Ueda T, Goetz von Olenhusen K, Wohlfarth-Bottermann K E *Cytobiol.* **18** 76 (1978)
88. Yoshimoto Y, Kamiya N *Cell Struct. Funct.* **9** 135 (1984)
89. Smith D A, Saldana R *Biophys. J.* **61** 368 (1992)
90. Павлов Д А, Потапов М М *Вестн. Моск. ун-та Вычисл. мат. киберн.* **1** 10 (1994)
91. Павлов Д А, Потапов М М *Вестн. Моск. ун-та. Вычисл. мат. киберн.* **2** 62 (1995)
92. Alt W, Tranquillo R T, in *Proc. 2nd Europ. Conf. in Mathematics Applid in Biology and Medicine* (Lion: World Scientific, 1995) [in press]
93. Pavlov D A, Romanovsky Yu M, Teplov V A, in *Biological motility* (Pushchino: Sci. Centre RAS Press, 1994) p. 258
94. Alt W, in [93] p. 61
95. Божкова В П, Воронов Д А, Романовский Ю М *Биофиз.* **38** 267 (1993)
96. Cheer A, Vincent J P, Nuccitelli R, Oster G *J. Theor. Biol.* **124** 377 (1987)
97. Vozhkova V P, Voronov D A, Romanovsky Yu M, Yagodka Yu Yu, in [93] p. 237
98. Ивенец И, Скейлак Р *Механика и термодинамика биологических мембран* (М.: Мир, 1982)
99. Finer J T, Simmons R M, Spudich J A *Nature* **368** 113 (1994)
100. Teplov V A *Protoplasma Suppl.* **1** 81 (1988)
101. Dembo M, in *Biomechanics of active movement and division of cells*. Nato ASI Ser. H: Cell Biology, 84 (Ed. N Akkas) (Berlin: Springer-Verlag, 1994)
102. Теплов В А, в кн. [84] с. 56
103. Приезжев А В, Тучин В В, Шубочкин Л И *Лазерная диагностика в биологии и медицине* (М.: Наука, 1989)
104. Mustacich R V, Ware B R *Phys. Rev. Lett.* **33** 617 (1974)
105. Евдокимов В, Колянко В Г, Порошина М Ю, Приезжев А В *Квант. электрон.* **12** 2052 (1985)
106. Евдокимов М В, Приезжев А В, Романовский Ю М *Автоматрия* **3** 61 (1982)
107. Johnson R P C, Dumdar G R A, Ross D A, in *Laser scattering spectroscopy of biological objects* (Eds J Stepanek, P Anzenbacher, B Selacek) (Amsterdam: Elsevier, 1987) p. 531
108. Tanaka I, Nishio I, Peetermans J, Gorti S, in *Laser applications in life sciences* (Eds S A Akhmanov, M Yu Poroshina, N I Koroteev, B Toleutaev) (Proc. SPIE, 1990) **1403** p. 280
109. Priezhev A V, Proskurin S G, in *Laser interferometry IV: Computer-aided interferometry* (Proc. SPIE, 1992) **1553** p. 502
110. Glonty V N, Priezhev A V, Proskurin S G, Romanovsky Yu M, in *Optics in medicine, biology and environmental research* (Eds Gert von Bally, Shyam Khanna) (Amsterdam: Elsevier, 1993) p. 161
111. Глонти В Н, Приезжев А В, Романовский Ю М, в кн. *Лазеры в народном хозяйстве* (М.: Изд-во МДНТП, 1988) с. 92
112. Камня Н *Движение протоплазмы* (М.: ИЛ, 1962)
113. Wohlfarth-Bottermann K E *J. Exp. Biol.* **67** 49 (1977)
114. Колянко В Г, Архангельская Т А, Романовский Ю М *Studia biophys.* **106** 215 (1985)
115. Крицкий М С, Чернышева Е К, в кн. *Молекулярные механизмы биологического действия оптического излучения* (Ред. А Б Рубин) (М.: Наука, 1988) с. 212
116. Schreckenbach T, in *Blue light effects in biological systems* (Ed. H Senger) (Berlin: Springer-Verlag, 1984) p. 463
117. Wohlfarth-Bottermann K E *Physarum Newslett.* **22** 1 (1990)
118. Rakoczy L, in *Blue light syndrome* (Ed. H Senger) (Berlin: Springer-Verlag, 1984) p. 570
119. Baranowski Z, Shraiden Z, Wohlfarth-Bottermann K E *Cell Biol. Int. Rep.* **6** 859 (1982)
120. Wohlfarth-Bottermann K E, Block I *Cell Biol. Int. Rep.* **5** 365 (1981)
121. Порошина М Ю, Приезжев А В, Романовский Ю М *Биофизика* **34** 980 (1989)
122. Belenikina N S, Strakhovkaya M G, Freikin G Ya *J. Photochem. Photobiol.* **10** 51 (1991)
123. Pavlov D A, Potapov M M, Romanovsky Yu M, in [93] p. 72
124. *Blue light effects in biological systems* (Ed. H Senger) (Berlin: Springer-Verlag, 1984)
125. Daniel J W *J. Cell Biol.* **87** 23a (1980)
126. Ueda T, Mori Y, Nikagaki I, Kobatake Y *J. Photochem. Photobiol.* **47** 271 (1988)
127. Иваницкий Г Р, Медвинский А Б, Цыганов М А *УФН* **164** 1041 (1994)
128. Tychinsky V, Norina S, Odintsov A, Popp F, Vyshenskaya T, in *Cell and biothissue optics* (Ed. V V Tuchin) (Proc. SPIE, 1994) **2110** p. 129

THE PHYSICAL BASES OF CELL MOVEMENT. THE MECHANISMS OF AMOEBOID MOTILITY SELFORGANIZATION

Yu.M. Romanovsky

*Physics Department, M. V. Lomonosov Moscow State University
Vorobievsky gory, 119899 Moscow
Tel. (7-095) 939-26 12, (7-095) 947-25 20
E-mail: romanov@lbp.phys.msu.su*

V.A. Teplov

*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Science
142292 Pushchino, Moscow region, Russia
Tel. (7-095) 923-96 68 (add. 359), (7-095) 925-59 84
E-mail: teplov@venus.iteb.serpukhov.su*

Structure formation and autowave processes in active media far from equilibrium are the subject of special division of the theory of nonlinear dynamic systems. In present review the protoplasm of amoeboid cells is considered as active medium, in which gel-like structures continuously appear and disappear as a result of assembly and disassembly of actomyosin network. The local parts of these structures can spontaneously contract and relax, causing rather complex circular- or shuttle-type flows of sol-like protoplasm. We consider the mathematical models of movements, wherein the appearing dissipative structure and the autowave processes cause each another. The main quantitative features of the protoplasm dynamics are shown to be explained by postulating the existence of positive feedback, between the local deformations and the free calcium level controlling the network contraction. The potentialities of different physical methods in order to determine the values of parameters used in the mathematical models is discussed.

PACS numbers: 87.22.Jb, **87.64**.-t, 82.40.Bj

Bibliography — 128 references

Received 23 Januar 1995