

BACTERIAL ELECTRIC MOTOR

V. P. SKULACHEV

Bacterial mobility is a result of rotation of a flagellum by means of a diminutive electric motor composed of several protein molecules. These molecules form the basal body inlaid in the cell wall in the place of attachment of the flagellum. Rotation is supported by flow of the H^+ or Na^+ ions from the medium to the bacterial cell.

Движение бактерий есть результат вращения жгутика посредством миниатюрного электродвигателя, сделанного из нескольких молекул белка. Эти молекулы образуют базальное тело, помещенное в бактериальную стенку в месте прикрепления в ней жгутика. Ротор мотора приводится в движение потоком ионов H^+ или Na^+ снаружи внутрь бактерии.

ЭЛЕКТРОДВИГАТЕЛЬ БАКТЕРИЙ

В. П. СКУЛАЧЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ

Движение бактерий — одно из самых поразительных явлений природы. Его исследование нанесло сокрушительный удар по нашему высокомерному снобизму вроде того, что биологическая эволюция, имея в своем распоряжении миллиарды лет, так и не смогла изобрести колесо, пока не появился человек. Выяснилось, что бактерии, древнейшие и наиболее просто устроенные живые клетки, изобрели для своего движения устройство, куда более сложное, чем колесо, а именно ротор, вращающийся под действием электрического поля. По существу речь идет об электродвигателе субмикронного размера, собранном из нескольких белковых молекул.

Давно известно, что многие виды бактерий способны плыть сквозь толщу воды. Скорость такого движения может достигать 150 микрон в секунду, то есть за одну секунду бактерия покрывает расстояние, примерно в сто раз превышающее ее длину. Первоначально движение бактерий пытались объяснить в рамках общепринятой парадигмы, предполагающей, что совершение всех видов механической работы живыми существами происходит за счет энергии гидролиза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Этот постулат, казалось бы, подтверждался повсеместностью распространения в природе АТФ-зависимого движения. Открытое В.А. Энгельгардом на мышцах животных, оно было затем продемонстрировано на сперматозоидах и двигательных реакциях растения (росянки). Когда выяснилось, что бактерии, подобно сперматозоидам, движутся посредством жгутиков (флагелл), это послужило еще одним доводом в пользу мысли об АТФ-зависимом движении бактерий.

Однако аналогия между сперматозоидами и бактериями оказалась поверхностной. Различались уже сами размеры жгутиков и их строение. Во много раз более крупный жгутик сперматозоида — весьма сложное, окруженное мембраной образование, в котором находят микротрубочки и сократительные белки, расщепляющие АТФ. Бактериальный жгутик имеет в поперечнике всего около 0,01 микрона. Он сделан из одного-единственного белка — флагеллина молекулярной массой от 20 до 60 килодальтон (kDa) в зависимости от вида бактерии. Окончились неудачей все попытки найти у флагеллина способность расщеплять АТФ. Не числится за ним и каких-то других ферментативных активностей. Работы последних лет показали, что бактериальный жгутик вращается вокруг длинной оси (в отличие от

биения без истинного поворота на 360° в случае жгутика сперматозоида). Источником энергии для вращения служит не АТФ, а электрическое поле или ионный градиент на внутренней мембране бактериальной клетки. Что же касается самого двигателя бактериального жгутика, называемого базальным телом, то он сделан из нескольких белков и закреплен в стенке клетки.

СТРОЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЖГУТИКА И БАЗАЛЬНОГО ТЕЛА

Сам по себе жгутик бактерии устроен просто: это жесткая полая трубка в форме, как правило, левой спирали длиной несколько микрон (иногда до 20), крепящаяся к базальному телу. Часто между базальным телом и жгутиком вставлен искривленный участок трубки, сделанный не из флагеллина (белка жгутика), а из так называемого белка крюка (рис. 1, *а*). Базальное тело выполнено из нескольких белков, число которых не до конца ясно. Оно состоит из четырех основных деталей: 1) стержня, стыкующегося с крюком или прямо со жгутиком, 2) двух дисков, нанизанных на стержень, 3) группы белковых комплексов (от 10 до 16 в зависимости от вида бактерий), локализованных во внутренней мембране и окружающих расположенный в той же мембране диск М, и 4) белкового колпачка, утопленного в цитозоль. Кроме того, бактерии, имеющие кроме внутренней и внешнюю мембрану, располагают двумя дополнительными дисками, а также неккими белковыми структурами, находящимися во внешней мембране вблизи базального тела. Именно этот более сложный тип базального тела изображен на рис. 2.

При разрушении бактериальной клетки удается выделить комплекс, состоящий из жгутика, крюка и стержня с дисками (рис. 1, *а*, *б*). На ультратонких срезах через бактериальную клетку можно видеть жгутик и большую часть деталей базального тела (рис. 1, *в*). На сколах замороженных бактерий обнаруживаются также белковые комплексы, окружающие диск М (рис. 1, *г*). У некоторых бактерий есть всего один жгутик, у других их может быть до нескольких десятков. При движении бактерии ее жгутик совершает истинное вращение вокруг своей оси. Лучшей иллюстрацией этого может быть простой опыт. Наблюдая под микроскопом движение бактерий, мы заметили, что бактерии, плавая в капле воды, иногда зацепляются своим жгутиком за какие-то микроскопические неровности предметного стекла, после чего их поступательное движение становится невозможным. Вместо этого бактерия, как бы пойманная за жгутик, начинает вращаться сама. Мы выбрали в поле зрения асимметричную, напоминающую полумесяц бактерию, прикрепившуюся к стеклу рощим из “спины” жгутиком. Оказалось, что такая бактерия вращается, обратив к наблюдателю свою “впалую грудь”, никогда не показывая ему “сутулой спины” (рис. 3).

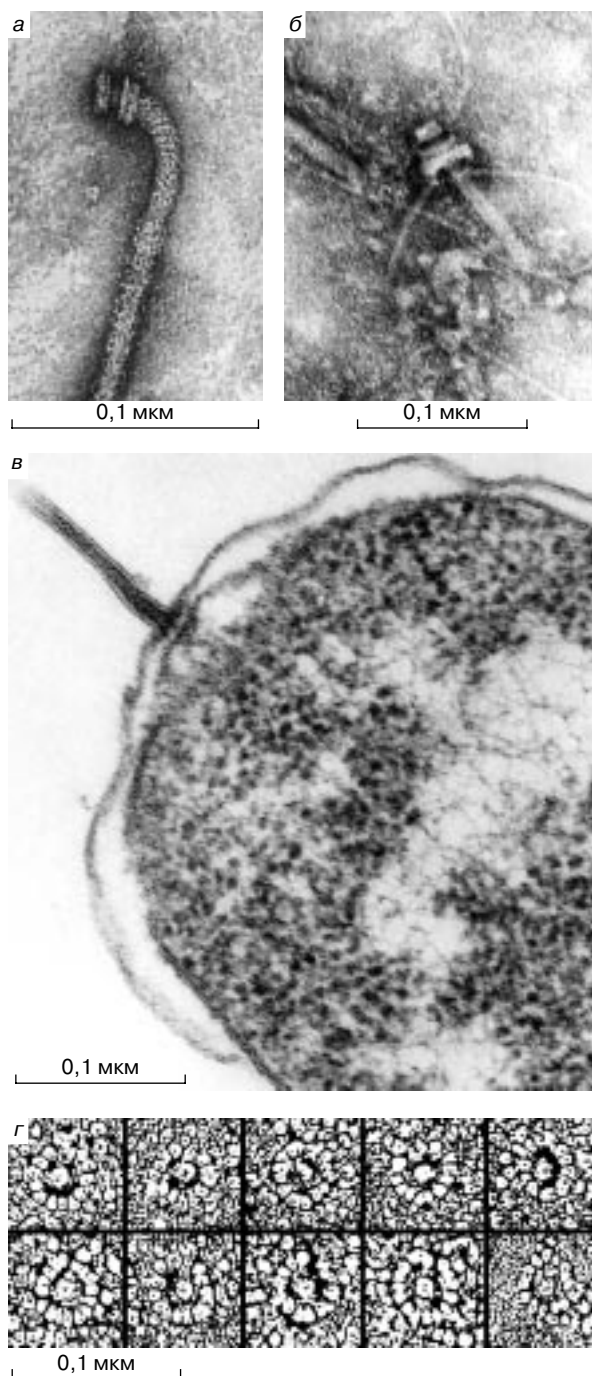


Рис. 1. Структура базального двигателя: *а* – жгутик с базальным телом, полученный из кишечной палочки (фото А. Метлиной); *б* – то же, из морского вибриона (фото А. Метлиной); *в* – срез через клетку морского вибриона. Видны часть бактериальной клетки, окруженной двумя мембранами, начальная часть жгутика с базальным телом (фото Л. Бакеевой); *г* – скол, прошедший по внешней поверхности внутренней мембраны стрептококка в область базального тела. Приведены микрофотографии десяти базальных тел (фото С. Хана)

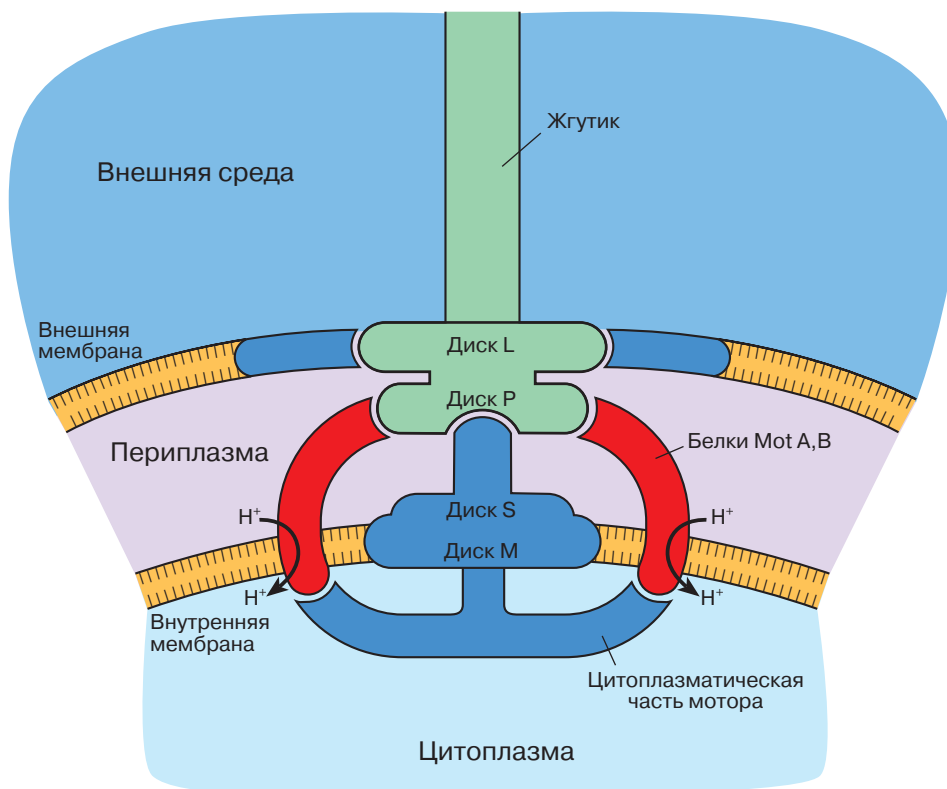
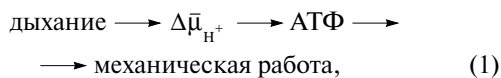


Рис. 2. Схема устройства базального тела бактерии, имеющей внешнюю и внутреннюю мембраны. Вращающиеся части показаны зеленым цветом, неподвижные – синим, а белки Mot, вызывающие вращение за счет потока H^+ , – красным. Желтым цветом показаны мембраны

Обеспечение мышечной работы или вращения жгутика сперматозоида энергией дыхания описывается уравнением:



где $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ – разность электрохимических потенциалов ионов водорода на мембране митохондрий (о том, что такое $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, подробно рассказано в предыдущих номерах журнала). Оказалось, что эта схема не в состоянии описать бактериальное движение. Дж. Адлером в США было показано, что мутант бактерий, не способный превращать $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ в АТФ, полностью сохраняет подвижность за счет энергии дыхания. Такую же ситуацию наблюдал в нашей лаборатории А.Н. Глаголев на другом виде бактерий, отравленных олигомицином – ингибитором фермента, катализирующего синтез АТФ за счет $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$. На той же системе удалось запустить движение при отсутствии дыхания, создав искусственно $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ на бактериальной мембране. При этом скорость движения была пропорциональна величине $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$. Опыт ставили следующим образом. Бактерии, вы-

ращенные в среде с ионами K^+ , помещали в бескальциевую среду, содержащую калиевый переносчик валиномицин, а также цианид (ингибитор дыхания) и олигомицин (ингибитор взаимопревращения энергии $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ и АТФ). В этих условиях, когда ни дыхание, ни гидролиз АТФ не могли образовывать $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, единственным источником энергии оказывался искусственно созданный градиент ионов K^+ между бактерией и средой. Выход K^+ из бактерии генерировал на бактериальной мембране разность электрических потенциалов “правильного” направления (внутри клеток знак “минус”). Оказалось, что этот градиент способен поддерживать движение бактерий в течение нескольких минут, необходимых для выравнивания концентраций K^+ внутри и снаружи клетки. Именно таким должен был бы быть ответ бактерии, если принять, что жгутик вращается за счет переноса ионов H^+ из среды внутрь клетки: выход K^+ создавал поле, благоприятное для переноса ионов H^+ в направлении снаружи внутрь через вращающийся жгут “мотор”.

Но если наше предположение верно, то бактерии, отравленные цианидом и олигомицином, можно привести в движение и совсем иным способом –

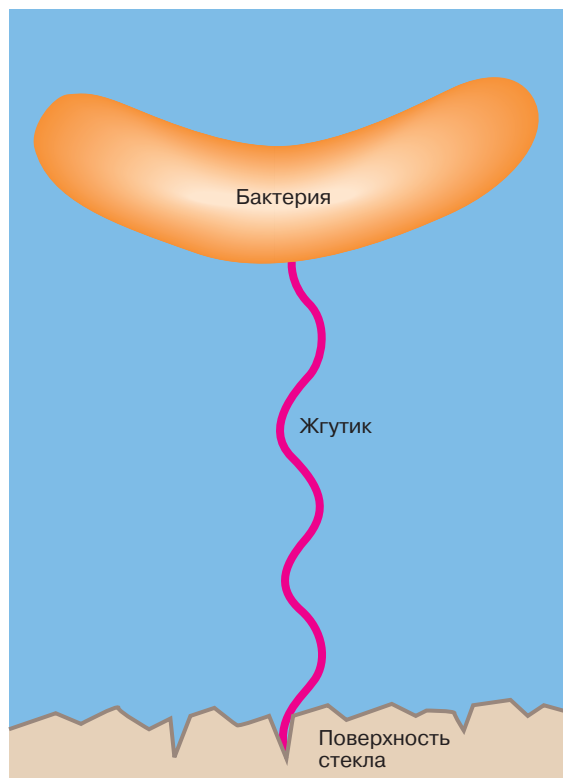
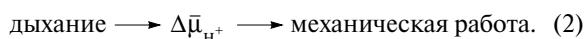


Рис. 3. Схема опыта, доказывающего, что при работе бактериального мотора жгутик претерпевает вращение вокруг своей собственной оси

просто подкислив среду. В этом случае ионы H^+ также имели бы тенденцию перемещаться из среды в клетку, хотя никакого электрического поля подкисление среды само по себе создать не может. Опыт подтвердил и эту гипотезу. Добавление небольшого количества соляной кислоты к клеткам, обезвреженным цианидом и олигомицином, вызывало движение, исчезающее по мере выравнивания концентраций ионов H^+ по ту и другую сторону бактериальной мембраны. Ни градиент K^+ , ни градиент кислотности не вызывали подвижности, если бактерии были обработаны веществом, повышавшим проводимость мембраны для ионов H^+ . В этом случае ионы H^+ поступали в клетку, минуя “мотор”.

В результате этих опытов мы сформулировали вывод о том, что вращение бактериального жгутика поддерживается непосредственно $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, без участия АТФ:



Устройство, вращающее бактериальную флагеллу, мы назвали протонным мотором.

Впоследствии в нашей и одной из японских лабораторий было показано, что некоторые морские бактерии используют “натриевый мотор”, где ис-

точником энергии движения служит разность электрохимических потенциалов ионов натрия ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$). У морского вибриона *Vibrio alginolyticus* бывают два типа жгутиков в зависимости от внешних условий. Если бактерия живет в морской воде, то у нее есть только один крупный жгутик, имеющий “натриевый мотор”. Если же бактерия оказывается вне морской среды, то она обрастает множеством более мелких жгутиков, снабженных “протонными моторами”.

Дыхание создает $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ (или $\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$) за счет откачки ионов H^+ или Na^+ из бактериальной клетки во внешнюю среду. Соответственно вращение жгутика обеспечивается обратным потоком ионов H^+ или Na^+ из среды в клетку. Возвращаясь назад, ионы H^+ (Na^+) движутся “под гору”, то есть в сторону их меньшей концентрации и от плюса к минусу. Такой процесс привел бы только к увеличению энтропии и образованию тепла, если бы не участие каких-то структур мотора. Эти структуры превращают часть потенциальной энергии $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ или $\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$ в механическую работу по вращению жгутика и как следствие — перемещению бактериальной клетки в пространстве. Вращение предполагает наличие ротора и статора, а перенос ионов H^+ и Na^+ — ионных каналов или переносчиков этих ионов.

Проблема переноса была решена, когда удалось получить в достаточном количестве так называемые белки Mot (от motor). Именно они образуют белковые комплексы, окружающие диск M. Как оказалось, белки Mot способны к транспорту ионов H^+ в случае H^+ -мотора или же ионов Na^+ в случае Na^+ -мотора.

Сложнее обстоит дело с ротором и статором. Очевидно, что жгутик есть вращающийся элемент системы. Остается открытым вопрос, вращается ли что-либо еще, то есть какие-то компоненты базального тела, или все они детали статора. Долгое время ротором считался диск M, поскольку это единственная деталь мотора, находящаяся во внутренней бактериальной мембране, несущей $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ и $\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$. Однако недавно было показано, что перенос определенных веществ (в частности, витамина B_{12}) через внешнюю мембрану бактерии осуществляется за счет энергии $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ на внутренней мембране. В процессе участвует белок TonB, протянутый сквозь всю периплазму от одной мембраны к другой. Этот прецедент натолкнул нас на мысль (см. рис. 2), что, может быть, один из белков Mot выполняет ту же функцию, используя $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ для вращения жгутика или какого-то из дисков, локализованных в периплазме либо во внешней мембране (один из белков Mot действительно сильно выдается в периплазму). Тогда мы можем избежать предположения о роторной функции диска M, что неизбежно должно было бы создавать для клетки большие проблемы. Вращение диска M

(плоский цилиндр диаметра около 10 нм) в мембране, несущей очень большую напряженность электрического поля (около 200 кВ на см), должен был бы резко увеличить вероятность электрического пробоя этой мембраны. Вот почему мы склонны отнести диск М к статору, а вращение объяснить ритмичными движениями в периплазме одного из белков Mot, заставляющими вращаться какой-то из дисков в периплазме или внешней мембране. Движения белка Mot, в свою очередь, должны вызываться переносом ионов H^+ (Na^+). В целом такую систему можно было бы уподобить велосипеду, где поступательное движение ног велосипедиста приводит к вращательному движению колес.

Однако следует подчеркнуть, что изложенная гипотеза не более чем одно из возможных объяснений устройства бактериального мотора. В целом ситуация весьма далека от ясности, и самые разные предположения имеют право на существование. Формулируя такие предположения, следует учитывать некоторые уже измеренные параметры мотора.

1. Скорость вращения обычно колеблется между 5 и 50 оборотами в секунду.

2. Для одного оборота жгутика необходимо пропустить в клетку несколько сотен ионов H^+ (Na^+).

3. Вращение может вызываться любой из составляющих $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$), то есть электрическим полем или разностью концентраций ионов H^+ (Na^+).

4. Существуют два пороговых значения $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$). Ниже первого порога вращения не происходит. Между первым и вторым порогами скорость вращения есть линейная функция $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$). Выше второго порога дальнейшее увеличение $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$) уже не приводит к ускорению движения.

5. Мотор снабжен переключателем направления вращения, так что бактерия может плыть как жгутиком вперед, так и жгутиком назад при одном и том же направлении $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ ($\Delta\bar{\mu}_{Na^+}$). Это последнее обстоятельство служит ключом к пониманию биологической функции движения бактерий.

ЗАЧЕМ БАКТЕРИЯМ ДВИГАТЬСЯ

Движение бактерий позволяет им выбрать оптимальные условия существования. Несмотря на малый размер, бактерии располагают множеством датчиков, регистрирующих параметры внешней и внутренней среды. Они измеряют температуру среды, освещенность, рН снаружи и внутри клетки, концентрации многих метаболитов, а к изменениям вязкости среды бактерии чувствительнее, чем все известные в технике вискозиметры. Датчики — особые белки-рецепторы, локализованные, как правило, во внутренней бактериальной мембране. С рецепторов сигнал передается на особые белки,

имеющиеся в цитозоле. Эти последние взаимодействуют с каким-то из белков базального тела, ответственным за переключение направления вращения мотора.

Сигналы могут быть двух родов. Одни вызывают переключение, другие запрещают его. Если бактерия плывет в благоприятном направлении (например, в сторону увеличения концентрации глюкозы), то рецептор глюкозы связывает этот сахар и посылает сигнал, запрещающий изменение направления движения. Если же концентрация глюкозы падает, то рецептор теряет глюкозу и посылает противоположный сигнал. В результате бактерия меняет направление движения и получает шанс попасть в более благоприятные для нее условия.

Существует сложная система обработки и интерпретации сигналов, между которыми устанавливается жесткая иерархия. В целом этот механизм позволяет бактерии неплохо ориентироваться в среде обитания. Поэтому когда наблюдаешь за движением бактерий под микроскопом, создается впечатление, что каждая из них куда-то спешит по каким-то только ей известным делам. Совсем иначе выглядит поле зрения микроскопа с так называемыми тенями бактерий. “Тени” — это как бы выпотрошенные клетки, из которых удален цитозоль со всеми белками, в том числе и с теми, которые передают сигналы рецепторов. В то же время мембраны “теней” по-прежнему целы, так как способны самозалечиваться после механических повреждений. Создав $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ можно привести “тени” в движение. Но это движение всегда в каком-то одном направлении. Сигналы не поступают на мотор, и жгутик вращается в одну и ту же сторону. Под микроскопом вместо кипения жизни вы видите зрелище, достойное фильма ужасов, где покойники встают из своих гробов. “Тени” плывут по прямой, чтобы остановиться, когда $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ снизится и уйдет под пороговую величину.

ГДЕ ЕЩЕ В БИОЛОГИИ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ МОТОРЫ

Моторы, питаемые $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, используются не только у бактерий, снабженных жгутиками. На том же принципе устроен механизм скольжения многоклеточных цианобактерий по твердой поверхности. Цианобактерии лишены жгутиков, и тем не менее их движение поддерживается энергией $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$. По видимому, их моторы вращают белковые тяжи, спрятанные в периплазме.

Так же, вероятно, вращаются хлоропласты в клетках некоторых эукариотических водорослей. Но, пожалуй, самый экстравагантный пример движения за счет $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ можно найти у простейших, живущих в кишечнике термита. Эти одноклеточные эукариоты вступили в симбиоз с подвижными бактериями. В

результате сотни бактерий прикрепилась снаружи к оболочке простейшего. Вращение их жгутиков приводит в движение клетку-хозяина, причем этот хозяин каким-то неизвестным образом может синхронизировать и регулировать направление вращения бактериальных жгутиков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Движение бактерий обусловлено вращением их жгутиков, осуществляемым за счет работы устройства, представляющего собой миниатюрный электродвигатель. Этот электродвигатель локализован в так называемом базальном теле, к которому крепится жгутик. Он сделан из нескольких белковых молекул и встроен в стенку бактериальной клетки. Ротор мотора приводится в движение потоком заряженных частиц: ионов H^+ или Na^+ , перемещающихся через клеточную мембрану из среды внутрь клетки.

Размер двигателя менее 0,1 микрона, в то время как длина жгутика несколько микрон. Трудно представить, что столь маленькое устройство может найти применение, чтобы перемещать в пространстве организм, построенный из множества крупных эукариотических клеток. Вот почему эукариоты выбрали иной механизм движения, построенный на использовании энергии АТФ для сокращения множества белковых (актомиозиновых) филаментов. Лишь некоторым одноклеточным эукариотам удалось применить бактериальный механизм движения.

Для этого они “посадили себе на спину” множество бактерий, жгутики которых движут эукариотическую клетку (ситуация, как если бы океанский лайнер плыл с помощью винтов моторных лодок). Но такая попытка оказалась эволюционным тупиком.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Скулачев В.П.* Биоэнергетика: Мембранные преобразователи энергии. М.: Высш. шк., 1989.
2. *Скулачев В.П.* Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989.

* * *

Владимир Петрович Скулачев, действительный член Российской академии наук, президент Российского биохимического общества, директор Института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ. Лауреат Государственной премии СССР, премии им. А.Н. Баха Президиума АН. Основатель отечественной школы энергетики биологических мембран. В течение многих лет читает курс биоэнергетики для студентов биологического факультета МГУ. Автор фундаментальных работ по энергетике клетки, 300 статей в российских и международных журналах, шести монографий и одного учебника.