

## РОЛЬ СДВИГОВ МЕМБРАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ НА НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЯХ ПРОВЕДЕНИЯ СИГНАЛА В КЛЕТКАХ НИЗШИХ ЭУКАРИОТ

© *И. В. Шемарова*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург;  
электронный адрес: irina@lis.mail.iephb.ru*

В обзоре обобщаются данные о природе мембранных потенциалов и их участии в передаче сигналов об изменении температуры, ионного состава окружающей среды, а также механических, световых и хемотаксисных сигналов в клетках низших эукариот.

**Ключевые слова:** одноклеточные микроорганизмы, внутриклеточная сигнализация, мембранный потенциал, ионные каналы, внутриклеточный кальций.

**Принятые сокращения:** АТФ — аденозинтрифосфат, АЦ — аденилатциклаза, ГТФ — гуанозинтрифосфат, МП — мембранный потенциал, ПД — потенциал действия, ПМ — плазматическая мембрана, цАМФ — циклический аденозинмонофосфат, цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат,  $[Ca^{2+}]_i$  — внутриклеточная концентрация кальция, G-белки — гуаниннуклеотидсвязывающие белки, GPCR — рецепторы, сопряженные с G-белками.

Во многих типах клеток процесс передачи информации начинается с воздействия раздражителя на чувствительные к нему рецепторы или ионные каналы. В результате происходит конформационное изменение структуры рецепторных белков (в том числе и канальных), сопровождающееся изменением МП и появлением трансмембранных токов, обеспечивающих начальные этапы передачи сигнала в клетку. Биоэлектрические реакции имеют важное значение в жизнедеятельности клеток разного филогенетического уровня. Наиболее подробно функциональная роль сдвигов МП изучена в рецепторных клетках млекопитающих. Она состоит в импульсной передаче электрического сигнала с ПМ рецепторной клетки на ПМ нервной клетки, прямо или опосредованно связанной с эффектором. Это обеспечивает информационную связь между пространственно отдаленными органами и физиологический ответ организма на раздражитель. Однако помимо передачи информации внутрь клетки и между клетками под контролем МП находятся структурная лабильность липидного матрикса ПМ, функционирование мембрано-связанных ферментных систем, работа систем пассивного и активного транспорта, т. е. функции, характерные для всех типов эукариотических клеток. В современных моделях транспорта ионов через плазмалемму клеток ПМ рассматривают как ведущий фактор сопряжения активностей основных ионных транспортеров, в число которых включают  $H^+$ -насос,  $K^+$ -каналы,  $Cl^-$ -каналы и неселективные катионные каналы,  $Na^+/K^+$ -обменник и некоторые другие МП — также одна из форм конвертируемой энергии в клетках, по величине его стационарных уровней можно судить как о степени энергезированности ПМ, так и о физиологическом состоянии клеток.

Значительно меньше известно о функциональном значении МП и его сдвигов в жизнедеятельности клеток низ-

ших эукариот. В настоящее время достаточно четко показано, что простейшие, так же как и растительные клетки, имеют большой МП (Батуева, 1968; Oami, Takahashi, 2003; Пятыхин и др., 2005). Установлено, что изменение МП — важный фактор регуляции клеточного метаболизма, активности ферментов, объема клетки и т. д. Не исключено, что, как и у многоклеточных, у протистов деполяризация мембраны выполняет триггерную роль в запуске широкого спектра внутриклеточных сигнальных событий.

Исследование электрических и физико-химических свойств мембран одноклеточных организмов представляет большой интерес и в эволюционном плане, так как дает возможность понять, на каком этапе развития живого мира и в связи с какими функциями появляются такие свойства поверхностных структур, как избирательная проницаемость к ионам, способность изменять эту избирательность спонтанно (проявлять ритмическую электрическую активность) или при раздражении (переход в состояние возбуждения). Одной из самых привлекательных проблем электрогенеза клеток низших эукариот представляется проблема участия МП в передаче сигналов, которые в клетках высших эукариот реализуются при участии нервной системы.

В настоящем обзоре основное внимание будет сфокусировано на участии МП в передаче сигналов об изменении физико-химических свойств окружающей среды, а также механических, световых и хемотаксисных сигналов.

### **О механизме возникновения мембранного потенциала в клетках низших эукариот**

Вопросы различной проницаемости мембран одноклеточных организмов к ионам как основы для возникновения МП долгое время оставались вне области внимания

физиологов ввиду методических трудностей и подчас невозможности количественных оценок тех или иных параметров на микрообъектах (Батуева, 1968). Первые попытки внутриклеточного измерения МП у протистов были предприняты Эттишем и Петерфи еще в 1925 г. (Ettisch, Peterfi, 1925; цит. по: Батуева, 1968). Авторы начали исследовать потенциал покоя у *Amoeba proteus* в растворах культивирования простейших. На основании анализа концентрационной цепи и допущения, что потенциал покоя амёб представляет собой диффузионный потенциал, исследователи пришли к выводу о том, что разность потенциалов, равная нулю, является суммой потенциалов, существующих в данной цепи. В 1937 г. была предпринята новая попытка исследовать потенциал покоя амёб, используя те же методические условия (Buchtal, Peterfi, 1937; цит. по: Батуева, 1968). Авторы получили величины потенциала покоя 0.5—1.5 мВ отрицательной и положительной полярности и обнаружили увеличение отрицательного потенциала в гипотонических средах и положительного — в гипертонических. Исследования биопотенциалов у амёб были продолжены Умратом (Umrath, 1953, 1956; цит. по: Батуева, 1968). Автор цитируемой работы получил среднюю величину потенциала покоя *A. proteus* –18 мВ (при колебаниях от –8 до –65 мВ) и наблюдал изменение этой величины и поведения животных при пропускании через мембрану электрического тока.

Почти одновременно с этими работами были проведены измерения МП у других видов простейших. В частности, был исследован МП у инфузории *Paramecium caudatum* (Kamada, 1940; Yamaguchi, 1960; цит. по: Батуева, 1968). В работах были обнаружены значительные колебания величин МП (от –10 до –70 мВ при средней величине –25 мВ). Нестабильность величины МП была отмечена и у жгутиконосца *Noctiluca scintillans* (Hisada, 1957). Анализируя причины столь значительного разброса величины МП у протистов, наиболее вероятными авторы признают неконтролируемую и разную степень повреждения микроорганизмов концентрационными растворами электролитов, находящихся в микроэлектроде.

Обсуждение вопроса о природе биопотенциалов у протистов началось позже, когда были получены сведения об ионном составе их цитоплазмы, а также о некоторых электрических и физико-химических свойствах поверхностных структур и цитоплазмы. Прототипом для исследования природы биопотенциалов у эукариотических микроорганизмов послужили нервные клетки высших позвоночных.

Согласно современным представлениям, разность потенциалов между внутренней частью живых клеток и внешней средой возникает благодаря избирательной проницаемости поверхностных структур и ионным градиентам. На основании сходства ионного состава клеток высших и низших эукариот, содержания в них основных потенциалобразующих ионов, а также механизмов распределения ионов между цитоплазмой и внешней средой можно предположить существование общих механизмов возникновения МП у тех и других типов клеток.

Известно, что МП в клетках разных типов — нервных, мышечных волокон (Hodgkin, Huxley, 1952), адипоцитах (Lucero, Rappone, 1989), растительных клетках (Gaffey, Mulins, 1958) и др. — примерно соответствует по величине калиевому равновесному потенциалу. Из одновалентных катионов наиболее проникающими через мембраны протистов являются  $K^+$  и  $H^+$  (Батуева, 1968; Harold, 1977). Если предположить, что МП протистов также явля-

ется в основном «калиевым» потенциалом, то должна существовать линейная зависимость между величиной МП и логарифмом концентрации калия в наружной среде. Указания на существование такой зависимости имеются у нескольких авторов (Tasaki, Kamiya, 1964; Band, Irvine, 1965; Kinosita, Murakami, 1967). С другой стороны, на примере *P. caudatum* было показано, что натрий оказывает на МП протистов такое же влияние, как и калий. В смешанных растворах KCl и NaCl получены аналогичные результаты, в то время как влияние на МП двухвалентных катионов было менее выраженным. На основании этих данных был сделан вывод об отсутствии избирательной проницаемости к калию у парамеций и выдвинута гипотеза о том, что МП у микроорганизмов является «суммарным катионным», а не «калиевым равновесным» (Yamaguchi, 1960; цит. по: Батуева, 1968).

Вопрос о природе ПД у протистов представляется более сложным. ПД возникают у опалин, инфузорий, амёб, одноклеточных водорослей (Tasaki, Kamiya, 1964; Hinrichsen, Schultz, 1988; Hegemann, 1997; Sobierajska et al., 2006) при раздражении клеток и имеют ряд особенностей. На многих специализированных клетках высших позвоночных показано значительное увеличение проводимости мембраны во время ПД, сходные результаты были получены и при изучении клеток протистов (см. обзор: Батуева, 1968). Интересно, что величина ПД у эукариотических микроорганизмов (на примере жгутиконосца *Noctiluca miliaris*), представляющего собой кратковременное увеличение отрицательного потенциала, так же как и величина потенциала покоя, не зависит от концентрации  $Na^+$  в среде. Сделано предположение о том, что эти ПД связаны с увеличением относительной проницаемости мембраны к  $K^+$  и возникают таким же путем, как «гиперполяризационные ответы» у нервных волокон (Hisada, 1957; Chang, 1960). Импульсная активность не обнаружена у амёб *A. proteus* и *Chaos chaos* при вне- и внутриклеточном раздражении электрическим током (Bruce, Marschall, 1965). Установлено, что относительная проницаемость их мембран к ионам  $Na^+$  и  $K^+$  не изменяется при разнообразном солевом составе среды, а также при значительных кратковременных смещениях МП (Батуева, Лев, 1967). Это навело авторов на мысль об отсутствии у простейших механизмов, обеспечивающих изменение избирательной ионной проницаемости для этих ионов.

К настоящему времени сложившиеся ранее представления о возбудимости клеток низших эукариот, механизмах селективности ионных каналов и управления изменениями трансмембранного электрического поля претерпели существенные изменения. Толчком к развитию сложившихся взглядов послужили современные данные относительно ионного обмена у отдельных видов протистов, электрогенеза их мембран, механизмов сопряжения генерации ПД с изменением поведения клеток (Kuriu et al., 1996; Sudhandiran, Shaha, 2003; Sugino et al., 2005; Sobierajska et al., 2006, и др.). Однако до сих пор не сделано окончательных выводов относительно молекулярной природы возникающих у протистов МП и их сдвигов. Неясными остаются и вопросы селективной ионной проницаемости ПМ, а также многие аспекты проблемы передачи информации при участии путей, в которых важную роль играет электрическое звено трансдукции сигнала.

Неожиданным оказалось, что, как и у высших животных, изменение МП лежит в основе таксисного поведения клеток, а также их реакций на механические и термические воздействия.

### Участие первичных биоэлектрических реакций в передаче сигналов об изменении температуры окружающей среды

Многие одноклеточные организмы изменяют свое поведение при понижении температуры окружающей среды. Однако сигнальные механизмы терморепреции не совсем ясны (Imada, Oosawa, 1999). Природу этого процесса изучали на нескольких протистологических объектах, но основные достижения заключаются в расшифровке связи между изменением температуры, плавательного поведения и биоэлектрическими процессами в клетках инфузорий. Так, первоначально было обнаружено, что у *Paramecium* перемена температуры приводит к изменению траектории и скорости их плавания (Oosawa, Nakaoka, 1977). На основании электрофизиологических исследований было сделано заключение о том, что в основе этого поведения лежит способность ПМ в ответ на изменение температуры индуцировать медленную деполяризацию, которая при достижении определенной пороговой величины в свою очередь способна активировать потенциалуправляемые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы в мембране ресничек (Nakaoka et al., 1984). Эти каналы входят в структуру моторного аппарата инфузорий и ответственны за регуляцию частоты и направления биения ресничек — процессов, обеспечивающих ответы клеток на изменение физико-химических свойств окружающей среды посредством коррекции характера их плавательного поведения (Franciolini, Petris, 1989; Hennessey et al., 2002).

Измерения МП показали, что медленная деполяризация в ответ на понижение температуры сопровождается уменьшением  $\text{K}^{+}$ -проводимости (Inoue, Nakaoka, 1990; Kuriu et al., 1997). Как оказалось, у инфузорий, так же как и у более высокоорганизованных организмов, в том числе и позвоночных, мембранные электрические процессы обусловлены взаимодействием разнонаправленных трансмембранных токов (в данном случае  $\text{K}^{+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$ ; Oami, Takahashi, 2002).

В дальнейшем на примере децилированных парамеций было установлено, что понижение температуры среды индуцирует транзистентное увеличение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в передней области клетки и что это повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  является следствием входа в цитоплазму внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ . Увеличения  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  и деполяризации ПМ в ответ на охлаждение не отмечалось при удалении внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  из среды (Kuriu et al., 1996). Предварительное измерение МП показало, что реверсивный потенциал, индуцированный холодом, был более отрицательным, чем потенциал покоя, и зависел от концентрации внеклеточного  $\text{K}^{+}$  (Nakaoka et al., 1987; Inoue, Nakaoka, 1990). Исходя из этих данных предполагается, что индуцированная холодом деполяризация ПМ включает в себя как понижение  $\text{K}^{+}$ -проводимости, так и увеличение  $\text{Ca}^{2+}$ -проводимости.

У парамеций обнаружены два типа электроуправляемых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, активируемых де- или гиперполяризацией, которые могут активироваться изменением температуры среды. Интересно, что они имеют один и тот же механизм инактивации, но отличаются друг от друга локализацией и селективной проницаемостью для двухвалентных ионов. Так, к инактивации обеих субпопуляций  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов приводит повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  (Brehm, Eckert, 1978; Preston et al., 1992a). Аналогичные результаты были получены в отношении инактивации кальциевых каналов в нейронах голожаберного моллюска аплизии и виноградной улитки (Eckert, Tillotson, 1981; Plant, Standen, 1981),

из чего можно предположить существование единого механизма «токотокзависимой инактивации»  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов в клетках беспозвоночных животных. Важно подчеркнуть, что этот механизм кардинальным образом отличается от «потенциалзависимой инактивации» других типов электроуправляемых ионных каналов.

Явление инактивации  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, чувствительных к холоду, подробно изучалось на примере парамеций. Обнаружено, что угасание индуцированного холодом  $\text{Ca}^{2+}$ -тока может быть вызвано применением ионов, конкурирующих с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ . Установлено, что активируемые деполяризацией  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы локализируются в мембране ресничек и проницаемы для  $\text{Ba}^{2+}$  и  $\text{Sr}^{2+}$  (Eckert, Brehm, 1979), в то время как активируемые гиперполяризацией  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы локализируются в мембране сомы и не проницаемы для этих ионов (Preston et al., 1992b). Ионная селективность  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, активируемых химическими и механическими стимулами, сходна с таковой каналов, активируемых холодом. Однако по ряду электрофизиологических и кинетических характеристик эти каналы отличаются друг от друга (Preston et al., 1992b).

Показано, что кальциевые каналы парамеций, чувствительные к теплу, так же как и хемоуправляемые кальциевые каналы, проницаемы для многих двухвалентных катионов, в частности для  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$ . При этом установлено, что ионы  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  не оказывают ингибирующего действия на  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы, а ионы  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  оказывают. Что лежит в основе инактивирующего действия  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  не совсем ясно, но исходя из данных, полученных на нейронах улитки, можно предположить, что такое действие  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  и  $\text{Ni}^{2+}$  на  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы обусловлено взаимодействием этих ионов с белками, локализованными возле внутреннего устья  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов. Это взаимодействие может сопровождаться такими конформационными изменениями в структуре каналов, что они из проводящего состояния переходят в непроводящее (Костюк, 1986).

Кальциевые каналы, активируемые холодом, имеют сходную с теплоактивируемыми  $\text{Ca}^{2+}$ -каналами кинетику активации, но отличаются от последних кинетикой  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой инактивации и ионной проницаемостью (Imada, Oosawa, 1999).

Таким образом, можно полагать, что молекулярной основой терморепреции у парамеций служат отличающиеся друг от друга субпопуляции холодо- и теплочувствительных ионных каналов. Их значение состоит в индукции деполяризующих рецепторных потенциалов, которые являются триггерами для активации электроуправляемых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и генерации ПД. Многие аспекты проблемы передачи термосенсорных сигналов у инфузорий еще неясны. Так, до сих пор неизвестен механизм модуляции активности терморегулируемых каналов. Предстоит выяснить и природу тока, индуцированного изменением внешней температуры, а также определить возможную роль G-белков и системы вторичных мессенджеров в трансдукции электрического сигнала в химический (Nakaoka et al., 1997).

О том, как передаются сигналы об изменении температуры окружающей среды в клетках других видов протистов, известно мало. Предполагается, что в передаче холодовых сигналов в клетках миксомицетов *Dictyostelium discoideum* вовлекается цГМФ (Darcy et al., 1994), но более вероятным представляется механизм электрической передачи этих сигналов, основанный на комплексной кодировке входящего сигнала при участии

осцилляций МП. Полагают, что сходные механизмы термотрансдукции имеют место и у других эукариотических микроорганизмов.

У высших эукариот за передачу холодовых сигналов отвечают специализированные терморцепторные нервные окончания, возбуждаемые низкой температурой и передающие сигнал в центральную нервную систему. Такие окончания представляют собой конечные ветвления дендрита нейронов, обладающих чувствительными к холоду специализированными ионными каналами (Viana et al., 2002). Авторы цитируемой работы показали, что воздействие холода на культивируемые сенсорные нейроны приводит к закрытию особых потенциалуправляемых  $K^+$ -каналов (предположительно относящихся к подсемейству двухпортовых доменных  $K^+$ -каналов), что в свою очередь вызывает деполяризацию ПМ и генерацию ПД. В данном случае ПД является результатом преобразования холодового сигнала в электрический импульс, который в условиях *in vivo* передается по центростремительным нервам в кору головного мозга.

Важно подчеркнуть, что у многоклеточных организмов передача сигналов об изменении температуры внешней среды всегда осуществляется с помощью специализированных клеток нервной системы. Рецепторные клетки, прототипами которых являются клетки эукариотических микроорганизмов, воспринимают и трансформируют термосигналы в электрические импульсы, которые по аксонам нервных клеток передаются в центральную нервную систему. Распознавание этих импульсов происходит в специализированных центрах головного мозга, где образуются потенциалы, соответствующие раздражению терморцепторов (Hensel, 1976; Carpenter, 1981; Spray, 1986; Maingret et al., 2000; Reid, Flonta, 2001). Наибольшее количество термочувствительных рецепторов у позвоночных сосредоточено в клетках кожи, языка, носа и глаз. Именно импульсы, поступающие в нервную систему от этих клеток, являются первоначальным источником информации об изменении температуры окружающей среды (Hensel, Iggo, 1971; Yarnitsky, Ochoa, 1991; Han et al., 1998; Craig, 2000; Viana et al., 2002).

В заключение этого раздела хотелось бы отметить, что помимо структурных различий в системе передачи сигналов об изменении температуры окружающей среды в клетках низших и высших эукариот существуют и различия на молекулярном уровне. Основное из них — разные типы активируемых изменением МП температурочувствительных ионных каналов. В клетках простейших — это преимущественно  $Ca^{2+}$ -каналы, в клетках высших эукариот — это  $K^+$ -каналы нескольких типов (подробнее см.: Viana et al., 2002). Объединяющими моментами в передаче сигналов об изменении температуры в клетках различного филогенетического уровня являются триггерная роль МП в индукции ПД и отсутствие специализированных молекул, активирующих терморцепторы.

### Роль ионных каналов и сдвигов МП в передаче механических сигналов

Вопрос о том, как клетки эукариотических микроорганизмов узнают и преобразуют механические сигналы в электрические, интересует биологов уже давно. К настоящему времени появились сведения о механочувствительных каналах, активируемых МП, как основных эле-

ментах механосенсорного трансдукционного пути у простейших, но эта область пока еще остается белым пятном в науке. Значительно больше известно о механизмах распознавания механических сигналов (в том числе гравитационных, звуковых, а также сигналов об изменении давления) в клетках позвоночных. Более того, у позвоночных животных описаны пути трансдукции триггерных сигналов в центральную нервную систему, где происходят их декодирование и переклочение афферентной сигнальной импульсации на эфферентную. Если исходить из представлений о том, что простейшие являются эволюционными предшественниками клеток *Metazoa*, возможно считать, что уже эукариотические микроорганизмы содержат ключевые компоненты специализированных механосенсорных трансдукционных путей, имеющихся у высших эукариот. Очевидно, что эволюция механизмов механотрансдукции шла по пути создания специализированных клеток, наиболее эффективно активирующихся механическим стимулом одной модальности — давлением, вибрацией, гравитацией и др. Уже у одноклеточных организмов все эти сигналы эффективно воспринимаются и распознаются, хотя способы их приема и трансдукции пока мало изучены. В связи с этим представляется интересным сравнить механизмы приема и передачи механических стимулов определенной модальности в клетках высших и низших эукариот.

Понимание механотрансдукции продвинулось дальше всего в изучении рецепторных клеток органов слуха и равновесия позвоночных. Эти клетки способны реагировать возбуждением, сопровождаемым появлением рецепторного потенциала, в ответ на акустическую вибрацию или изменение положения тела. Осуществляется это следующим образом. Под действием звуковой волны или смещения гравитационного вектора происходит деформация рецепторных клеток органов слуха либо равновесия: в первом случае — из-за движения базилярной мембраны, на которой они находятся, во втором — из-за перемещения жидкости или известковых кристаллов в полостях полукружных каналов либо мешочков органа равновесия (вестибулярного аппарата). В результате возникает возбуждение, передающееся в головной мозг. Молекулярная основа акустической и гравитационной рецепции изучена пока недостаточно. Очевидно, что главную роль в возбуждении слуховых и гравирецепторов, как и при возбуждении других типов чувствительных нейронов, играют ионные каналы мембраны. Прежде всего это  $Na^+$ - и  $K^+$ -каналы: первые работают постоянно и откачивают из нейронов ионы  $Na^+$ , вторые активируются после воздействия на клетки стимула и накачивают в цитоплазму ионы  $K^+$ . Кроме того, в индукцию рецепторных потенциалов слуховых (волосковых) клеток включены и специализированные механочувствительные ионные каналы (Corey et al., 2004). Подобные каналы идентифицированы в клетках самых разных тканей и тем не менее имеют много общих черт, например: характерный диапазон единичной канальной проводимости, лежащий в интервале от 25 до 35 пСм; проницаемость как для одно-, так и для двухвалентных катионов; способность блокироваться низкими (микромольными) концентрациями гадолиния (Hu, Sachs, 1997; Sachs, Morris, 1998).

Основными ионами, которые пропускают механочувствительные катионные каналы, являются  $Ca^{2+}$  и  $K^+$ . Проницаемость этих каналов для  $Ca^{2+}$  особенно важна, поскольку именно ионы  $Ca^{2+}$  в качестве вторичных посредников участвуют в регуляции большинства быстроте-

кающих клеточных процессов, в том числе ионного транспорта, благодаря чему изменяются локомоторная активность, размер и форма клеток. Кроме механочувствительных каналов, которые пропускают одно- и двухвалентные катионы, существуют строго  $K^+$ -каналы. Эти каналы не так широко распространены, как неселективные механочувствительные катионные каналы. Их особенностью является разная чувствительность к ионам  $Ca^{2+}$ : одни из них чувствительны к ионам  $Ca^{2+}$ , а другие нет. Примечательно, что каналы, не чувствительные к ионам  $Ca^{2+}$ , могут быть активными и без механической стимуляции. Предполагается, что именно они вносят вклад в поддержание потенциала покоя. Что касается катионных каналов, чувствительных к ионам  $Ca^{2+}$ , то среди них обнаружены крупные  $K^+$ -каналы, которые отличаются степенью отклика на механический стимул (растяжение). Эти каналы пока идентифицированы только у крыс и кроликов в собирательных трубочках почек. Они реагируют на любое из трех воздействий: изменение потенциала, концентрацию цитозольного  $Ca^{2+}$  и растяжение мембраны (Sachs, Morris, 1998).

Интересно, что подобные механочувствительные катионные каналы обнаружены и в клетках низших эукариот — инфузорий и жгутиконосцев. Они активируются под действием механических стимулов либо при изменении направления движения клеток (ориентации). У инфузорий *Paramecium* эти каналы неравномерно распределены в ПМ сомы. В мембране задней части клеток наиболее высока плотность  $K^+$ -каналов, а в передней, напротив,  $Ca^{2+}$ -каналов (Ogura, Machemer, 1980). При вертикальной ориентации клеток под действием гравитационной силы мембрана в задней части клетки деформируется и тем самым активирует механочувствительные  $K^+$ -каналы, что приводит к гиперполяризации мембраны сомы и увеличению скорости биения ресничек (Machemer, 1998), а следовательно, к увеличению скорости плавания. Когда тело клетки направлено вниз, отмечаются противоположные процессы, индуцируемые активацией механочувствительных  $Ca^{2+}$ -каналов. Увеличение проводимости этих каналов приводит к деполяризации ПМ сомы, результатом чего являются уменьшение моторной активности клеток и замедление скорости движения клеток (Machemer, 1998).

Эксперименты с использованием тетраэтиламмония — блокатора потенциалуправляемых  $K^+$ -каналов — показали, что у парameций основной вклад в сдвиг МП при изменении направления гравитационного вектора вносят не  $K^+$ , а  $Ca^{2+}$ -каналы (Machemer, Deitmer, 1985). Исследования, проведенные этими авторами, показали, что колебания потенциала, возникающие в результате переориентации клеток при изменении гравитационного вектора, обусловлены флуктуацией  $Ca^{2+}$ -токов, создаваемых открытием или закрытием одиночных механочувствительных  $Ca^{2+}$ -каналов. При этом их проводимость при тестирующем потенциале 1.5 мВ составляет в среднем 124 пСм (максимально 425 пСм). Сравнение свойств  $Ca^{2+}$ -каналов *Paramecium*, чувствительных к изменению гравитационного поля, и механочувствительных  $Ca^{2+}$ -каналов (40 пСм) волосковых клеток позвоночных (Howard et al., 1988) обнаружило много общего (подробнее см.: Gebauer et al., 1999). При этом отмечено, что механорецепторные  $Ca^{2+}$ -каналы парameций проявляют значительно большую чувствительность к колебаниям гравитационного поля, чем аналогичные каналы в клетках позвоночных (Gebauer et al., 1999). Полученные результаты

позволили исследователям сделать вывод о том, что восприятие гравитационного поля осуществляется особыми механочувствительными клетками, среди которых свободноживущие организмы являются наиболее чувствительными сенсорами гравитации. Сделанные выводы были подтверждены при изучении механизма гравитаксисной ориентации у жгутиконосца *Euglena gracilis* (Richter et al., 2001). Обнаружено, что перемена траектории движения эвглен при изменении гравитационного вектора сопровождается сдвигами МП, причем после гравитаксисной стимуляции клеток имеет место глубокая деполяризация ПМ, за которой возникает фаза реполяризации, сопровождающаяся коротким периодом гиперполяризации. Авторы интерпретируют полученные результаты в соответствии с вышеописанной «токовой моделью гравитаксиса», предложенной проф. Мачемером в 1989 г. (Machemer, 1989).

Механочувствительные катионные каналы имеют важное значение и в регуляции объема клеток (Christensen, 1987). Они активируются при повышении осмотического давления и служат в первую очередь для запуска механизмов внутриклеточной регуляции ионного транспорта и воды. Предполагается, что в клетках высших эукариот передачу сигналов об изменении механического давления на ПМ осуществляют сигнальные пути, в структуру которых входят механочувствительные каналы, подобные «дегенеринам» (Chelur et al., 2002),  $K^+$ -каналы типов TREK и TRAAK (Pate et al., 2001) и несколько типов каналов из семейства TRP (transient receptor potential channels), активируемых временным изменением МП (Montell et al., 2002). У низших эукариот (на примере почкующихся дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*) продемонстрировано наличие канала Yvclp с проводимостью около 400 пСм, гомологичного истинным TRP-каналам. В связи с этим представляется интересным сравнить осмосенсорные пути одноклеточных и многоклеточных организмов, в структуру которых входят механочувствительные каналы, подобные TRP.

Прежде всего следует отметить, что TRP-каналы являются лигандуправляемыми. У многоклеточных они активируются стимуляцией GPCR или рецепторов тирозинкиназного типа (Clapham, 2003); у дрожжей, по-видимому, — мембранным сенсором Sholp (Maeda et al., 1995). Взаимодействие лиганда с рецептором в случае дрожжей активация Sholp (механизм активации неизвестен) приводит к сдвигу МП, который является достаточным для перехода канала в открытое состояние. В этом состоянии каналы чувствительны к механическому воздействию и могут пропускать в клетку потенциалобразующие ионы  $Na^+$  и  $Ca^{2+}$ . Другой важной особенностью TRP-каналов является то, что реализация с их помощью физиологического ответа всегда осуществляется при тесном взаимодействии структурных элементов клетки (цитоскелета) и системы вторичных посредников (Maeda et al., 1995; Clapham, 2003). Еще одной важной чертой TRP-каналов является их триггерная роль в освобождении депонированного, так называемого «емкостного»,  $Ca^{2+}$ , участвующего в дальнейшей передаче сигнала уже в качестве вторичного мессенджера. Так как у дрожжей отсутствует механизм модуляции канальной активности посредством процессов фосфорилирования, вышеприведенная черта TRP-каналов в сигнальной трансдукции этих микроорганизмов имеет особо важное значение.

Данные относительно движения ионов  $Ca^{2+}$  из вакуоли *S. cerevisiae* в цитоплазму через одиночные TRP-по-

добные  $V_{\text{vclp}}$ -каналы были получены путем измерения трансмембранных электрических токов с помощью метода фиксации потенциала. Показано, что осмотическое давление внутри вакуоли порядка 10—50 мм ртутного столба, вызванное введением в вакуоль осмолитов (сорбитола, NaCl или KCl), активирует выходящие  $\text{Ca}^{2+}$ -токи, зависящие преимущественно от осмолярности раствора. Активация каналов отмечалась и при высоких внутриклеточных концентрациях  $\text{Ca}^{2+}$  ( $10^{-5}$ — $10^{-4}$  М), что авторы связывают с возникновением обратной положительной связи, обусловленной активацией воротного механизма CIRC («кальцийзависимого освобождения кальция»). Этой модели соответствует и кинетика внутримембранного асимметричного смещения зарядов («воротных токов»), сопровождающего переход каналов в открытое состояние и обратно. Однако при анализе кинетики работы  $V_{\text{vclp}}$ -каналов у дрожжей становится ясно, что их превращения носят значительно более сложный характер и включают в себя несколько конформационных состояний, связанных взаимными переходами (Bertl, Slayman, 1990; Palmer et al., 2001).

Таким образом, приведенные в этом разделе данные свидетельствуют о том, что у одноклеточных эукариот в качестве универсального механорецептора выступает вся клеточная поверхность, воспринимающая сигнал с помощью специализированных механочувствительных ионных каналов. Преобразование механических сигналов определенной модальности в электрические, инициирующие физиологический ответ, происходит вследствие изменений МП.

### Роль ионных каналов и изменений МП в передаче световых сигналов

В этом разделе обзора представляется интересным сравнить механизм передачи сигнала в специализированных фоторецепторных клетках позвоночных и клетках свободноживущих одноклеточных микроорганизмов. Фоторецепция у позвоночных и беспозвоночных животных обеспечивается с помощью различных молекулярных механизмов, хотя начальные звенья сигнального пути у них совпадают. Суть фототрансдукции состоит в следующем. Квант света инициирует фотолиз родопсина, представляющего собой зрительный пигмент, хромофором в котором служит 11-цисретиналь. В результате световозбуждения меняется конформация родопсина, вследствие чего, с одной стороны, он приобретает способность связывать трансдуцин (у позвоночных), с другой — превращается в проводник электрического заряда, что приводит к нарастанию амплитуды раннего рецепторного потенциала (как у позвоночных, так и у беспозвоночных). На следующем этапе передачи светового сигнала происходит активация системы вторичных посредников — цГМФ у позвоночных и ионов  $\text{Ca}^{2+}$  у беспозвоночных. В первом случае это происходит через механизм прямой активации трансдуцином фосфодиэстеразы, стимулирующей гидролиз внутриклеточного цГМФ, следствием чего является диссоциация связанного с мембраной цГМФ. В результате катионные каналы, «потерявшие» нуклеотид, закрываются,  $\text{Na}^+$ -проводимость мембран снижается и она гиперполяризуется. У беспозвоночных в результате фотолиза родопсина увеличивается проницаемость неселективных катионных каналов ПМ, мембрана деполяризуется, а внутриклеточная концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  возрастает. Увеличение

внутриклеточной концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  оказывает возвратное блокирующее действие на  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы, что в свою очередь приводит к понижению активности светочувствительных каналов (Nagel et al., 2003).

Несмотря на обширную литературу, во многих работах, посвященных исследованию роли ионных каналов и светоактивируемых токов, фоторецепторная клетка до сих пор рассматривается как «черный ящик». Для нее описывается зависимость выходных характеристик (например, потенциала на ПМ) от входных параметров — интенсивности световой вспышки, ее продолжительности и др. Эти работы дают представление о феноменологии фоторецепторного ответа, однако не отвечают на вопрос о том, каким образом клетка преобразует фоторецепторные токи в биохимический стимул, активирующий специализированные сигнальные каскады белков. В то же время в многочисленных работах по биохимии фоторецепции исследуются процессы, которые служат биохимической основой фототрансдукции — преобразования энергии светового кванта в электрофизиологический ответ фоторецепторной клетки. Но и они не дают ответа на поставленный вопрос.

Уже ранние исследования электрофизиологических характеристик светочувствительных клеток позвоночных обнаружили различия в их ответе и ответе нейронов на раздражение. Так, было показано, что в отличие от последних возбуждение (освещение) фоторецепторных клеток приводит не к деполяризации, а к гиперполяризации ПМ. Кроме того, в отличие от обычных нейронов ПД в фоторецепторе не возникает, а вызванное светом более или менее локальное изменение проводимости ПМ наружного сегмента фоторецептора затем распространяется по всей фоторецепторной клетке, достигая синаптического окончания, где оно модулирует количество выделяемого в синаптическую щель нейромедиатора. Эти наблюдения легли в основу работ, посвященных изучению избирательной чувствительности ионных каналов светочувствительных клеток (палочек и колбочек) к свету.

Установлено, что при действии света происходит сдвиг МП (который в покое составляет и в палочках, и в колбочках примерно 30 мВ) в отрицательную сторону, в результате возникает гиперполяризация мембраны. Изменение МП в этом случае, как уже отмечалось выше, обусловлено закрытием  $\text{Na}^+$ -каналов при сохранении  $\text{K}^+$ -потенциала. В отсутствие света через ПМ непрерывно течет  $\text{Na}^+$ -ток, что, напротив, приводит к смещению потенциала в положительную сторону и восстановлению (поддержанию) ионного гомеостаза.

У беспозвоночных организмов, в том числе и у одноклеточных водорослей, в ответ на световой стимул возникает не гипер-, а деполяризующий рецепторный потенциал (Zuker, 1996; Nagel et al., 2003). Объясняется это преобладанием  $\text{Ca}^{2+}$ -компоненты в фоторецепторных токах беспозвоночных. Наиболее подробно изучена передача светового сигнала у плодовой мушки *Drosophyla melanogaster* (Zuker, 1996; Hardie, 2001), значительно меньше известно о том, каким образом осуществляется фототрансдукция у одноклеточных эукариот (Litvin et al., 1978; Holland et al., 1997; Braun, Hegemann, 1999; Nagel et al., 2003; Говорунова и др., 2004). Большой вклад в изучение этой проблемы внесли отечественные (Синешкоков, Говорунова, 2001; Говорунова и др., 2004) и немецкие (Nagel et al., 2003, 2005) ученые. Исследователи обнаружили у одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* светооткрываемый катионный канал, представляющий собой

уникальный родопсиноподобный белок, который в отличие от родопсинов млекопитающих содержит мотив последовательностей, характерных для рецепторов, сопряженных с G-белками. Недавно было установлено, что этот белок, названный ChR2, является неселективным катионным каналом и участвует у хламидомонад в генерации фототоков (Sineshchekov et al., 2002). Установлено, что при наличии во внеклеточной среде 80 мМ  $\text{Ca}^{2+}$  (pH 9; -100 мВ) активация канала приводит к появлению тока с двумя компонентами. Один — быстрый низкоамплитудный (примерно 0.3 мкА) — отмечался сразу после светового воздействия, второй — медленный высокоамплитудный (около 1 мкА) — через некоторое время, что, по мнению авторов (Nagel et al., 2003), может быть связано с активацией  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых Cl-каналов, как это имеет место в клетках позвоночных животных (Takahashi et al., 1987; Gomez-Hernandez et al., 1997). Воротные механизмы канала изучены еще недостаточно, но предполагается, что по аналогии с другими родопсинами ChR2 хламидомонад открывается в результате конформационного изменения белка, вызванного индуцированной светом изомеризацией *all-trans*-ретиная (Nagel et al., 2003). С эволюционной точки зрения представляет интерес отсутствие взаимодействия гидрофобной C-терминальной половиной молекулы родопсина, содержащей последовательности GPCR, с нисходящими мишенями этого пути (гуанилатциклазой). Так как у теплокровных животных GPCR и гуанилатциклаза являются важными составляющими в передаче сигнала от световозбужденного родопсина, можно полагать, что мотив, содержащий последовательности GPCR у *Ch. reinhardtii*, функционально неактивен и не может влиять на уровень цГМФ через гуанилатциклазный амплифицирующий механизм, широко распространенный в клетках позвоночных. Ранее у *Ch. reinhardtii* были обнаружены светочувствительные каналы, названные ChR1, которые функционируют как протонная помпа. Эти каналы вносят лишь незначительный вклад в общий фоторецепторный ток, генерируемый на сильное освещение клеток (Sineshchekov et al., 2002).

Как уже отмечалось, характерным ответом мембраны беспозвоночных на световой стимул является деполяризация мембраны. Одним из исключений является реакция на синий свет дрожжевых микроорганизмов *Neurospora crassa*, которые на данный стимул отвечают гиперполяризацией (Bieszke et al., 1999). Это свойство ПМ мицелиальных клеток *N. crassa* роднит их со светочувствительными клетками млекопитающих, которые сходным образом реагируют на световой стимул. Интересно, что в дрожжевых микроорганизмах световозбуждение мембраны и изменение МП инициируют не быстро развивающиеся во времени фототаксисные поведенческие реакции, а программируемые клеточные процессы — рост и дифференцировку (Linden et al., 1997). Это может быть связано с необходимостью усиления контроля над достаточно примитивной циркадной регуляцией жизненного цикла, имеющей место у этих микроорганизмов.

Недавно у *N. crassa* был идентифицирован ген *nop-1*, кодирующий светочувствительный белок NOP-1, гомологичный родопсинам архей. Установлено, что NOP-1 содержит последовательности, характерные для 7-транс-мембранных доменов GPCR, и консервативные остатки аминокислот, важные для связывания ретиная и функционирования протонного насоса (Bieszke et al., 1999). Авторы исследования на основании результатов эволюционного анализа последовательностей генов, кодирую-

щих фоточувствительные белки, хромосомного картирования гена *nop-1*, фенотипического анализа мутантов  $\Delta$  *nop-1* и результатов, полученных с помощью некоторых других методов, пришли к заключению о том, что NOP-1 и опсины архей имеют общее эволюционное происхождение, что позволяет предположить существование прямой связи в процессе сопряжения генерации МП с функционированием NOP-1 (в качестве протонного насоса).

Многие факты указывают на то, что анцестральный светочувствительный белок у протистов первоначально выполнял функцию только протонного транспортера и не участвовал в передаче световых сигналов. Сочетание в светочувствительных белках современных видов протистов энергетической и сигнальной функций является значительным эволюционным достижением.

Светочувствительные белки не обнаружены у инфузорий и некоторых других исследованных видов простейших, однако наличие характерных физиологических ответов, вызываемых изменением освещенности этих клеток, предполагает их существование. Например, у инфузорий *Blepharisma japonicum* и *Stentor coeruleus* при внезапном понижении интенсивности освещенности возникает типичная фотофобная реакция — моментальное изменение направления движения в сторону, противоположную от источника света (Kim et al., 1984; Sobierajska et al., 2006). Фотофобная реакция является разновидностью фототаксиса и широко распространена среди свободноживущих микроорганизмов. Наиболее подробно исследованы механизмы фотофобной реакции у одноклеточных водорослей, обладающих примитивным фоторецепторным аппаратом (Diehn, 1976; Witman, 1993; Kreimer, Witman, 1994). У инфузорий отсутствуют родопсины, однако, так же как и у одноклеточных водорослей (растительных жгутиконосцев), световой сигнал у них передается при участии каскада быстрых  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых электрических реакций ПМ (Machemer, De Peyer, 1977; Fabczak et al., 1993). Возможно, этот каскад у инфузорий играет роль универсального триггерного сигнального механизма, который инициируется не только световым, но и другими деполяризующими стимулами.

К настоящему времени у низших эукариот (на модели одноклеточных жгутиковых водорослей) описаны только два каскада фотоэлектрических реакций, непосредственно вовлеченных в цепь трансдукции сигнала при фототаксисе и фотофобной реакции. Один каскад включает в себя светочувствительные рецепторы родопсинового типа (только у жгутиконосцев), потенциалуправляемые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы (у инфузорий и жгутиконосцев), ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в качестве вторичного посредника и  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимые эффекторные белки (Kim et al., 1984; Beck, Uhl, 1994; Barsanti et al., 2000; Nagel et al., 2003; Говорунова и др., 2004). Другой каскад, обнаруженный у жгутиконосца *E. gracilis*, представлен рецепторной фотоактивируемой аденилатциклазой PAC, цАМФ и, по-видимому, эффекторами, управляемыми цАМФ-зависимой киназой (Ntefidou et al., 2003).

Важно отметить, что, несмотря на имеющиеся биохимические различия светоактивируемых сигнальных механизмов, передача световых сигналов у разных видов одноклеточных эукариот имеет значительное функциональное сходство. Это проявляется в генерации фототоков, изменении МП, активации потенциалуправляемых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и в конечном счете в изменении фототаксисного поведения клетки.

### Роль неселективных катионных каналов и изменения проницаемости мембраны в передаче хемотаксисных сигналов

Эволюционными предшественниками вкусовых и обонятельных рецепторных клеток позвоночных служат клетки свободноживущих микроорганизмов, способные генерировать электрический импульс в ответ на пищевое или химическое раздражение (см. таблицу). Особенностью этого вида рецепции как у высших, так и у низших эукариот являются механизмы химического усиления сигнала, связанные с активацией АЦ и синтезом циклических нуклеотидов.

У позвоночных животных запахи выявляются структурой, содержащей примерно 100 000 обонятельных нейронов, аксоны которых проецируются через тонкий участок фронтального черепа в обонятельную луковицу. Обонятельные клетки содержат реснички, на поверхности которых расположены специализированные рецепторы, принадлежащие к семейству GPCR, которые взаимодействуют с молекулами одоранта. Связывание лиганда вызывает освобождение  $\alpha$ -субъединицы из активированного G-белка и синтез цАМФ, что приводит к открыванию циклонуклеотидзависимых катионных каналов ПМ, повышению проницаемости мембраны для одно- и двухвалентных ионов и деполяризации мембраны. Затем деполяризующий рецепторный потенциал передается по аксону обонятельного нейрона в центральную нервную систему. Методом пэтч-клампа были зарегистрированы одорантиндуцированные токи в изолированных обонятельных клетках млекопитающих и изучены точный временной ход, а также место возникновения обонятельного ответа. Полученные экспериментальные данные согласуются с идеей о том, что изменение проводимости мембраны под действием одоранта обусловлено системой вторичных посредников.

К настоящему времени установлено, что деполяризация ПМ, вызываемая молекулами пахучих веществ,

обусловлена открыванием неселективных катионных каналов и дополнительным протеканием тока через  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемые  $\text{Cl}^-$ -каналы. Как уже отмечалось выше, неселективные катионные каналы в обонятельных клетках позвоночных открываются внутриклеточным цАМФ. Интересно, что как ионные каналы в фоторецепторных клетках (открываемые цГМФ), так и каналы в обонятельных клетках тоже проницаемы для ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ .

У одноклеточных организмов механизм передачи сигналов, индуцируемых молекулами отпугивающих химических веществ (репеллентов), изучен в значительно меньшей степени. Рецепторы, имеющие биохимическое сходство с метаболотропными пуринергическими рецепторами, обнаружены у инфузорий и трипаносом (Inverso et al., 1995; Mimikakis et al., 1998; Kim et al., 1999). У инфузорий связывание этих рецепторов с внеклеточным АТФ или ГТФ, выполняющих у простейших функцию хемореппеллента, приводит к временной деполяризации ПМ, что в свою очередь вызывает реверсию биения ресничек (Clark et al., 1993). Следствием этого является физиологическая «реакция избегания», которая служит частью адаптивного механизма инфузорий на раздражение, вызванное в данном случае репеллентами (Kim et al., 1999; Kuruvilla, Hennessey, 1999; Hennessey, Kuruvilla, 2000).

Долгое время молекулярный механизм трансдукции сигнала, индуцированного хемореппеллентами, у протистов оставался совершенно непонятным. Наконец, с помощью генетического анализа и электрофизиологических исследований мутанта парамеций *gin A* (негативного по ГТФ) было доказано участие внутриклеточного  $\text{Ca}^{2+}$  в передаче сигналов, идущих от пуринергических рецепторов (Mimikakis et al., 1998). Недавно появились первые доказательства вовлечения в хемосенсорный сигнальный путь инфузорий фосфолипазы C (Rosner et al., 2003). Авторы цитируемой работы приводят биохимические доказатель-

#### Характеристика биоэлектрических процессов, сопряженных со сдвигами МП, у протистов и в хеморецепторных клетках млекопитающих при возбуждении

Характеристика процесса	У протистов	В хеморецепторных клетках
Индукторы сдвигов МП	Внеклеточный стимул	Медиатор
Область передачи сигнала	Распределение внутри клетки и на ее поверхности	На границе между клетками
Потенциал на мембране при передаче сигнала	Рецепторный потенциал, ПД	Рецепторный потенциал
Характер биоэлектрического ответа	Градуальный или фазный электрический импульс	Величина потенциала пропорциональна количеству медиатора
Тип генерируемого электрического сигнала	Самораспространяющийся электрический сигнал, локальная биоэлектрическая реакция	Ритмические изменения аналогового типа
Изменение мембранной проницаемости	Преимущественно не зависит от МП	Не зависит от МП
Направление распространения	Не задано	Постоянное (предыдущая клетка—последующая)
Усиление сигнала	Есть (работает как усилитель)	Есть
Путь распространения	В пределах клетки	10—20 нм



ства наличия у *Tetrahymena thermophila* пуриnergического Р2У-подобного рецептора и обосновывают гипотезу о передаче сигнала через механизм, сходный с таковым у млекопитающих. Согласно этой гипотезе, в сигнальную сеть белков, вовлекаемых в передачу сигнала, включены фосфолипаза С, АЦ, цАМФ и, возможно, индуцибельная синтаза оксида азота (Rosner et al., 2003). Таким образом у одноклеточных организмов, как и в обонятельных клетках позвоночных, может существовать сопряжение между электрической и биохимической ветвями пути передачи информации о присутствии в среде хеморепеллентов, обладающих свойствами лигандов обонятельных рецепторов, однако эти предположения нуждаются в дальнейшем экспериментальном обосновании.

Пищевые стимулы, как и стимулы, вызванные пуриnergическими соединениями, конвертируются у протистов в МП. Эта биоэлектрическая реакция клеток одноклеточных микроорганизмов сближает их не только с обонятельными, но и со вкусовыми клетками высших эукариот. Известно, что у млекопитающих определенные аминокислоты, сахара и вещества с горьким вкусом воздействуют на рецепторы, сопряженные с G-белками, локализованные в ПМ вкусовых бугорков рецепторных нейроэпителиальных клеток. Такое воздействие, как и в случае раздражения обонятельных рецепторов, приводит к активации АЦ, синтезу цАМФ и открыванию цАМФ-зависимых катионных каналов ПМ. Вызванная этим деполяризация мембраны в свою очередь генерирует рецепторные потенциалы, трансформирующиеся в ПД. Соли и кислоты могут воздействовать непосредственно на ионные каналы в рецепторной клетке вкусового бугорка и тем самым изменять электрическую проводимость мембраны.

Примером, иллюстрирующим сходство во влиянии пищевого раздражителя на ионную проницаемость ПМ специализированных клеток высших эукариот и протистов, может служить индуцированная глюкозой деполяризация ПМ у ряда низших грибов и простейших, приводящая к изменению функциональной активности клеток (Fingerle, Gradmann, 1982; Zilberstein, Dwyer, 1985; Izumo et al., 1988; Ginsburg, 1999). Так, у низшего гриба *Physarum polycephalum* внесение в среду культивирования 1 мМ глюкозы вызывает быструю деполяризацию мембраны (Fingerle, Gradmann, 1982). Показано, что у этих микроорганизмов важную роль в генерировании МП играет электрогенная протонная помпа (Fingerle, Gradmann, 1982). Участие H<sup>+</sup>-АТФазы в изменении проводимости мембраны отмечено в клетках миксомицетов *Dyctiostelium discoideum* и ряда паразитических простейших (Van Duijn, Vogelzang, 1989; Ginsburg, 1999). Исследование морских простейших показало, что и у этих микроорганизмов H<sup>+</sup>-помпа ответственна за поддержание МП и градиента рН, которые используются клетками в качестве движущей силы для трансмембранного транспорта глюкозы и удаления Ca<sup>2+</sup> из клетки (Ginsburg, 1999). У гемоспоридий *Plasmodium falciparum* помимо электрогенной протонной помпы обнаружены также Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>- и Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-антипортеры, которые тоже могут вносить вклад в изменение МП (Ginsburg, 1999).

Интересно, что уже у прокариот транспорт сахаров и аминокислот сопровождается изменением МП. На примере *E. coli* было показано, что в результате связывания D-глюкозы происходит гиперполяризация мембраны. Транспорт глюкозы внутрь клетки приводит к деполяризации, а ее метаболизм — к гиперполяризации ПМ (Szmelcman, Adler, 1976). Примечательно, что в клетках

мутантных штаммов, не имеющих белков, связывающих глюкозу, отсутствуют сколь-либо выраженные колебания МП. Сходные изменения МП, связанные с хемотаксисом, были обнаружены у некоторых простейших (Kuwayama et al., 1993, 1995). Следует отметить, что изменение проводимости мембраны, вызванное пищевым (химическим) стимулом, у бактерий и низших эукариот происходит значительно медленнее, чем генерация ПД в нейронах. Объясняется это качественным различием в ионных механизмах генерации ПД в возбудимых клетках высших позвоночных и клетках низших эукариот. Так, у высших позвоночных механизм генерации ПД тесно связан с активностью Na<sup>+</sup>- и K<sup>+</sup>-каналов, а у беспозвоночных, в том числе у протистов, — Ca<sup>2+</sup>-, K<sup>+</sup>- и Cl<sup>-</sup>-каналов (Martin et al., 2005; Salas-Casas et al., 2006). Кроме того, в клетках протистов активность ионных каналов, за небольшим исключением, регулируется клеточным метаболизмом (гидролизом АТФ) и практически не зависит от циклических нуклеотидов, как это имеет место в каналах с быстрой проводимостью у позвоночных.

При исследовании роли сдвигов МП в механизме развития хемотаксиса у протистов было установлено, что изменение проводимости мембраны является важным фактором в регуляции Ca<sup>2+</sup>-гомеостаза — ключевого звена хемосенсорного пути у большинства изученных видов эукариотических микроорганизмов. Наиболее подробно исследован этот сигнальный путь у миксомицетов *D. discoideum*, поэтому представляется интересным сравнить его с аналогичным путем во вкусовых клетках млекопитающих.

Хемосенсорный путь у *D. discoideum*, как и во вкусовых клетках, начинается от рецепторов, сопряженных с G-белками. Однако стимуляция хеморецепторов *D. discoideum* приводит не к активации АЦ и синтезу цАМФ (как во вкусовых клетках млекопитающих), а к активации гуанилатциклазы и синтезу цГМФ (Kuwayama et al., 1993, 1995), ответственному за регуляцию уровня Ca<sup>2+</sup> в клетке (Nebl et al., 2002). При исследовании мутантов *stmF*, негативных по цГМФ-специфичной фосфодиестеразе, было показано, что цГМФ необходим для входа внеклеточного Ca<sup>2+</sup> в клетки (Lusche et al., 2005). С другой стороны, установлено, что повышение [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> подавляет активность гуанилатциклазы и тем самым понижает физиологические ответы, инициируемые цГМФ (Valkema, Van Haastert, 1994). В возбудимых клетках млекопитающих цГМФ является важным модулятором активности ионных каналов ПМ. Циклонуклеотидрегулируемые каналы обнаружены в зрительных рецепторах, кардиомиоцитах, протоковых клетках почек, семенниках и некоторых других (McCoy et al., 1995). Установлено, что в рецепторной мембране возбудимых клеток неселективные циклонуклеотидрегулируемые каналы активируются цГМФ, при этом, как правило, увеличивается проницаемость мембраны для ионов Na<sup>+</sup>, что приводит к выходу K<sup>+</sup> из клетки, усилению входящего тока и гиперполяризации ПМ (McCoy et al., 1995; Lusche et al., 2005). Предполагается, что у *D. discoideum* также имеются неселективные цГМФ-активируемые каналы, функция которых состоит в обеспечении регуляции процессов раннего электрогенеза преимущественно через механизм входа в клетку ионов Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> (Lusche et al., 2005). При этом роль МП в сигнальной функции, направленной на регуляцию долговременных реакций у миксомицетов, по-видимому, незначительна. На это указывает отсутствие нарушений координации дифференцирующихся в плодовое тело клеток при деполяризации ПМ (Van Duijn et al., 1990). В то же время сдвиг МП на на-

чальных этапах проведения сигнала имеет значение для проявления клетками двигательной активности (Miller, Koshland, 1977; Cook et al., 1994).

По-видимому, электрогенный цГМФ-зависимый хемосенсорный путь имеется и в клетках инфузорий, обладающих потенциалуправляемыми ионными каналами. На примере *Paramecium tetraurelia* была продемонстрирована корреляционная зависимость между связыванием клетками внеклеточного ГМФ, осцилляциями  $[Ca^{2+}]_i$  и плавающим поведением, управляемым изменением МП (Mimikakis et al., 1998).

В клетках протистов обнаружены электрогенные звенья сигнальных путей, активируемых некоторыми аминокислотами, в том числе и глутаматом (Preston, Usherwood, 1988). Хемосенсорный путь у *P. tetraurelia*, стимулируемый глутаматом, мы рассматриваем здесь в качестве грубого аналога пути, запускаемого этим соединением во вкусовых клетках млекопитающих. Установлено, что связывание L-глутамата с клеточной поверхностью *P. tetraurelia* приводит к гиперполяризации ПМ (Preston, Usherwood, 1988). Авторами было показано, что эта биоэлектрическая реакция клетки всегда носит кратковременный характер, даже в случае длительного присутствия L-глутамата в среде. Удаление глутамата из среды вызывает вторичный биоэлектрический ответ в виде гиперили деполяризации ПМ. Децилирование клеток приводит к сохранению положительного потенциала, индуцированного глутаматом. Полученные данные говорят о том, что механизмы регуляции электрогенной стадии в передаче хемосенсорного сигнала у инфузорий связаны с ионными каналами, расположенными преимущественно в ресничках. По-видимому, ключевую роль в обеспечении механизмов реполяризации мембраны ресничек играют специализированные  $K^+$ -каналы, в физиологических условиях активируемые деполяризацией мембраны (Oami, Takahashi, 2002).

В электрогенезе клеток простейших принимают участие и другие аминокислоты, но они запускают сигнальные пути, не связанные с хемотаксисом (Viera et al., 1996).

Представляется интересным сравнить пути распознавания кислого вкуса в специализированных вкусовых клетках теплокровных и содержания протонов в окружающей среде в клетках низших эукариот, обладающих лишь примитивными механизмами электрогенной регуляции.

У млекопитающих кислый вкус вызывается высокой концентрацией протонов, которые могут проникать во вкусовые клетки через амилоридблокируемые каналы и вызывать деполяризацию мембраны (Gilbertson et al., 1992). Другой механизм, ведущий к деполяризации, является следствием блокады  $K^+$ -каналов протонами (Kinnamon et al., 1988). В дополнение к воздействию на реснички вкусовых клеток протоны могут проникать через вкусовые поры (околоклеточный путь) к базолатеральным участкам мембраны рецепторной клетки, действуя там на более широкий спектр ионных каналов, включая и те, которые не блокируются амилоридом (Lindemann, 1996). По-видимому, этот электрогенный механизм является общим на ранних этапах восприятия кислого вкуса не только у млекопитающих, но и у более низкоорганизованных животных.

У протистов также имеются примитивные электрофизиологические механизмы передачи сигналов о степени закисленности окружающей среды (через индукцию сдвигов МП), а также сигнальные пути, регулируемые

ацидофикацией или защелачиванием цитоплазмы (Aerts et al., 1987; Gross et al., 1988; Pintsch et al., 2001; Bollo et al., 2006). На примере нескольких видов простейших и низших грибов было показано, что при смещении pH в кислую среду происходят активация электрогенного  $H^+$ -насоса, представленного  $H^+$ -АТФазой плазмалеммы, гиперполяризация ПМ и индукция сигнальных путей, в структуру которых входит биоэлектрическое звено трансдукции сигнала (Gross et al., 1988; Viera, Cabantchik, 1995; Pintsch et al., 2001; Van Der Heyden, Docampo, 2002). Напротив, временное закисление цитоплазмы в связи с инактивацией  $H^+$ -насоса (в начальный момент изменения МП) запускает протонную сигнальную систему, которая в свою очередь имеет отношение к регуляции клеточного метаболизма, объема клеток, дифференцировке и экспрессии ряда генов (Zilberstein, Dwyer, 1985; Wang et al., 1990; Hilti et al., 1999; Yamada, Sameshima, 2004). Следует отметить, что существенный вклад в формирование АТФ-зависимого протонного градиента вносят анионы  $Cl^-$  (Giglione, Gross, 1995; Viera et al., 1995). Показано, например, что в среде, свободной от  $Cl^-$ , клетки *Leishmania major* подвергаются длительной ацидофикации и гиперполяризации (7—10 мВ). Внесение в бесхлорную среду соединения DCCD, являющегося ингибитором  $H^+$ -АТФазы, приводит к глубокой деполяризации ПМ. Однако насыщение среды  $Cl^-$  служит достаточным условием для сдвига потенциала в положительную сторону и восстановления МП (Viera et al., 1995). Полученные данные говорят о том, что ионы  $Cl^-$  участвуют в рассеивании МП, генерируемого в этих клетках  $H^+$ -насосом. У *P. tetraurelia* ионы  $Cl^-$  не принимают участия в подавлении гиперполяризации, индуцированной входящим  $K^+$ -током. В этих клетках гиперполяризация обратимо подавляется амилоридом и понижением  $[Ca^{2+}]_i$  (Preston et al., 1992b). У *Trypanosoma cruzi*, напротив, активность  $H^+$ -насоса и соответственно электрогенность мембраны находятся под контролем  $K^+$ - и  $Cl^-$ -каналов (Van Der Heyden, Docampo, 2000). Пока все еще мало данных о том, как возникают и передаются рецепторные потенциалы под воздействием кислого стимула в клетках низших эукариот. Однако вышепредставленные примеры изменения проводимости мембраны в кислых условиях при участии электрогенной  $H^+$ -АТФазы и ионных каналов, а также индукция физиологических ответов вследствие изменения внутриклеточного pH могут свидетельствовать о том, что в клетках низших эукариот, как и во вкусовых нейронах млекопитающих, имеются альтернативные сигнальные пути, регулируемые по крайней мере процессами внутриклеточного гомеостаза.

И наконец, в завершение раздела, посвященного сравнению действия химических (применительно к нейронам — вкусовых) раздражителей на клетки высших и низших эукариот, хотелось бы уделить некоторое внимание вопросам, касающимся путей распознавания степени солености среды (у протистов) и соленого вкуса (у теплокровных).

Общепринято считать, что у млекопитающих соленый вкус передается непосредственным током  $Na^+$  (или других одновалентных катионов) по каналам в апикальной мембране вкусовой клетки, открытым в состоянии покоя (Avenet, Lindemann, 1991). В соленой пище  $Na^+$  присутствует в более высокой концентрации, чем в слюне, поэтому он просто диффундирует внутрь вкусовых клеток по своему электрохимическому градиенту. Возникающая в результате этого деполяризация приводит к вы-

бросу нейромедиатора в химических синапсах, образованных вкусовыми клетками на отростках афферентных нейронов. Na<sup>+</sup>-каналы вкусовых клеток не являются потенциалзависимыми, они сходны с эпителиальными Na<sup>+</sup>-каналами, блокируемыми амилоридом (Shimada et al., 2004).

Клетки протистов, обладающие Na<sup>+</sup>-каналами, как и специализированные клетки позвоночных, способны реагировать изменением МП на повышение концентрации Na<sup>+</sup> в окружающей среде. Na<sup>+</sup>-зависимый электрогенез ПМ был выявлен у инфузорий *Euplotes vannus* и *Paramecium caudatum* (Kruppel, 1993; Oami, Takahashi, 2004). В электрофизиологических экспериментах было установлено, что низкая концентрация Na<sup>+</sup> (4—8 мМ) в окружающей среде не изменяет потенциал мембраны *P. caudatum* (Oami, Takahashi, 2004). При этом клетки сохраняют выбранное направление движения. Повышение концентрации Na<sup>+</sup> в среде приводит к деполяризации ПМ и потенциалу действия, что внешне проявляется в резком изменении направления движения парамеций — в так называемой реакции избегания, обусловленной реверсией биения ресничек (см. выше). Однако Na<sup>+</sup>-зависимая деполяризация нехарактерна для большинства клеток низших эукариот, поэтому даже при многократном увеличении содержания ионов Na<sup>+</sup> в среде потенциал покоя клеток не меняется, а внутриклеточная концентрация Na<sup>+</sup> увеличивается лишь незначительно (Батуева, Лев, 1967; Biagini et al., 2000; Malchow et al., 2004). Как правило, возбуждение мембраны под действием химического стимула у протистов связано с наличием Ca<sup>2+</sup>-каналов и Ca<sup>2+</sup>-зависимых механизмов регуляции МП (Franciolini, Petris, 1989; Kruppel, Lueken, 1990; Scott, Docampo, 2000).

### Заключение

Возникновение градиентов биоэлектрических потенциалов имеет важное значение в жизнедеятельности клеток эукариот. Изменение МП лежит в основе регуляции активности многих внутриклеточных систем, в том числе и информационных. Неожиданным оказалось, что уже в клетках низших эукариот изменение МП является начальным звеном в передаче механических, температурных и химических сигналов, а также сигналов, обеспечивающих фото- и гравитропические реакции.

Сравнение механизмов, приводящих к изменению градиентов МП в клетках высших и низших эукариот, показало, что основные системы пассивного и активного транспорта, ответственные за формирование трансмембранных токов, имеются уже у протистов. Электрогенез этих клеток, как и электрогенез клеток млекопитающих, обеспечивается работой K<sup>+</sup>-каналов, анионных каналов (аминокислотных и хлорных), неселективных катионных каналов, в том числе и каналов временного рецепторного потенциала, Ca<sup>2+</sup>-каналов (включая потенциалуправляемые) при решающем участии электрогенного H<sup>+</sup>-насоса. Обращает на себя внимание отсутствие у изученных видов протистов (за исключением инфузорий) селективных Na<sup>+</sup>-каналов, Na<sup>+</sup>-насоса и Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-обменника, из чего можно заключить, что у большинства эукариотических микроорганизмов отсутствуют механизмы генерации короткоживущего высокоамплитудного ПД, характерного для возбуждаемых клеток позвоночных.

Для клеток низших эукариот типичны медленные изменения МП, которые преимущественно связаны с функ-

ционированием Ca<sup>2+</sup>-каналов ПМ и электрогенного H<sup>+</sup>-насоса, представленного H<sup>+</sup>-АТФазой ПМ. Изменение проницаемости мембраны для ионов Ca<sup>2+</sup> индуцируется широким спектром стимулов (термических, химических, механических и др.) и приводит к повышению [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, т. е. к формированию Ca<sup>2+</sup>-сигнала — реального посредника между биоэлектрическим и последующими звеньями Ca<sup>2+</sup>-зависимых сигнальных путей. Сопряжение электрического и химического звеньев сигнализации носит универсальный характер и сохраняется на протяжении всей эволюции механизмов внутриклеточной сигнализации эукариот. Эволюционным достижением является появление у многоклеточных организмов электроуправляемых сигнальных путей, не сопряженных и не перекрещивающихся с Ca<sup>2+</sup>-зависимыми путями. Разделение электрофизиологической и сигнальной функций ионов Ca<sup>2+</sup> связано с появлением в возбуждаемых клетках Na<sup>+</sup>-каналов и связанных с ними транспортных механизмов, способных обеспечить генерацию ПД без взаимодействия с Ca<sup>2+</sup>-регулируемыми системами. Этот прогресс в функциональном развитии внутриклеточных сигнальных систем закрепился в эволюции, о чем может свидетельствовать отсутствие примеров распространения ПД через Ca<sup>2+</sup>-каналы в аксонах высших позвоночных.

Очевидно, что эволюция сигнальных свойств и появление новых функций у мембран связаны с переходом к многоклеточности, но нет сомнений и в том, что изменение избирательной ионной проницаемости при действии различных стимулов является пусковым сигналом для начала множества внутриклеточных процессов, имеющих место уже у протистов.

### Список литературы

- Батуева И. В. 1968. О механизме возникновения и функциональной роли мембранного потенциала у простейших. Успехи соврем. биол. 66 : 387—402.
- Батуева И. В., Лев А. А. 1967. Электрохимические свойства плазмалеммы *Amoeba proteus*. Зависимость мембранного потенциала от концентрации ионов K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> в растворах хлоридов и сульфатов. Цитология. 9 : 680—691.
- Говорунова Е. Г., Джанг К.-Х., Синещиков О. А. 2004. Фототаксис зеленых водорослей: новый класс родопсиновых рецепторов. Биофизика. 49 : 278—293.
- Костюк П. Г. 1986. Кальций и клеточная возбудимость. М.: Наука.
- Пятыгин С. С., Воденев В. А., Опритов В. А. 2005. Сопряжение генерации потенциала действия в клетках растений с метаболизмом: современное понимание проблемы. Успехи соврем. биол. 125 : 520—528.
- Синещиков О. А., Говорунова Е. Г. 2001. Родопсиновые рецепторы фототаксиса зеленых жгутиковых водорослей. Биохимия. 66 : 1609—1622.
- Aerts R. J., De Wit R. J., Van Lookeren Campagne M. M. 1987. Cyclic AMP induces a transient alkalization in *Dictyostelium*. FEBS Lett. 220 : 366—370.
- Avenet P., Lindemann B. 1991. Noninvasive recording of receptor cell action potentials and sustained currents from single taste buds maintained in the tongue: the response to mucosal NaCl and amiloride. J. Membr. Biol. 124 : 33—41.
- Band R. N., Irvine B. 1965. The electrokinetic characteristics of some small amoebae. Exp. Cell Res. 39 : 121—128.
- Barsanti L., Passarelli V., Walne P. L., Gualtieri P. 2000. The photoreceptor protein of *Euglena gracilis*. FEBS Lett. 482 : 247—251.
- Beck C., Uhl R. 1994. On the localization of voltage-sensitive calcium channels in the flagella of *Chlamydomonas reinhardtii*. J. Cell Biol. 125 : 1119—1125.

- Bertl A., Slayman C. L. 1990. Cation-selective channels in the vacuolar membrane of *Saccharomyces*: dependence on calcium, redox state, and voltage. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87 : 7824—7828.
- Biagini G. A., Lloyd D., Kirk K., Edwards M. R. 2000. The membrane potential of *Giardia intestinalis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 192 : 153—157.
- Bieszke J. A., Braun E. L., Bean L. E., Kang S., Natvig D. O., Borkovich K. A. 1999. The *nop-1* gene of *Neurospora crassa* encodes a seven transmembrane helix retinal-binding protein homologous to archaeal rhodopsins. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 8034—8039.
- Bollo M., Bonansea S., Machado E. E. 2006. Involvement of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in the calcium signaling in epimastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *FEBS Lett.* 580 : 2686—2690.
- Braun F. J., Hegemann P. 1999. Direct measurement of cytosolic calcium and pH in living *Chlamydomonas reinhardtii* cells. *Eur. J. Cell Biol.* 78 : 199—208.
- Brehm P., Eckert R. 1978. Calcium entry leads to inactivation of calcium channel in *Paramecium*. *Science.* 202 : 1203—1206.
- Bruce D. L., Marshall J. M. 1965. Some ionic and bioelectric properties of the amoeba *Chaos chaos*. *J. Gen. Physiol.* 49 : 151—178.
- Carpenter D. O. 1981. Ionic and metabolic bases of neuronal thermosensitivity. *Fed. Proc.* 40 : 2808—2813.
- Chang J. J. 1960. Electrophysiological studies of a non-luminescent form of the dinoflagellate *Noctiluca miliaris*. *J. Cell Comp. Physiol.* 56 : 33—42.
- Chelur D. S., Ernststrom G. G., Goodman M. B., Yao C. A., Chen L., O'Hagan R., Chalfie M. 2002. The mechanosensory protein MEC-6 is a subunit of the *C. elegans* touch-cell degenerin channel. *Nature.* 420 : 669—673.
- Christensen O. 1987. Mediation of cell volume regulation by Ca<sup>2+</sup> influx through stretch-activated channels. *Nature.* 330 : 66—68.
- Clapham D. E. 2003. TRP channels as cellular sensors. *Nature.* 426 : 517—524.
- Clark K. D., Hennessey T. M., Nelson D. L. 1993. External GTP alters the motility and elicits an oscillating membrane depolarization in *Paramecium tetraurelia*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90 : 3782—3786.
- Cook S. P., Brokaw C. J., Muller C. H., Babcock D. F. 1994. Sperm chemotaxis: egg peptides control cytosolic calcium to regulate flagellar responses. *Develop. Biol.* 165 : 10—19.
- Corey D. P., Garcia-Anoveros J., Holt J. R., Kwan K. Y., Lin S. Y., Vollrath M. A., Amalfitano A., Cheung E. L., Derfler B. H., Duggan A., Geleoc G. S., Gray P. A., Hoffman M. P., Rehm H. L., Tamasauskas D., Zhang D. S. 2004. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. *Nature.* 432 : 723—730.
- Craig A. D. 2000. The functional anatomy of lamina I and its role in post-stroke central pain. *Prog. Brain Res.* 129 : 137—151.
- Darcy P. K., Wilczynska Z., Fisher P. R. 1994. The role of cGMP in photosensory and thermosensory transduction in *Dictyostelium discoideum*. *Microbiology.* 140 : 1619—1632.
- Diehn B. 1976. Photomovement of microorganisms. *Photocem. Photobiol.* 23 : 455—456.
- Eckert R., Brehm P. 1979. Ionic mechanisms of excitation in *Paramecium*. *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 8 : 353—383.
- Eckert R., Tillotson D. L. 1981. Calcium-mediated inactivation of the calcium conductance in caesium-loaded giant neurones of *Aplysia californica*. *J. Physiol.* 314 : 265—280.
- Fabczak S., Fabczak H., Tao N., Song P. S. 1993. Photosensory transduction in ciliates. I. An analysis of light-induced electrical and motile responses in *Stentor coeruleus*. *Photochem. Photobiol.* 57 : 696—701.
- Fingerle J., Gradmann D. 1982. Electrical properties of the plasma membrane of microplasmidia of *Physarum polycephalum*. *J. Membr. Biol.* 68 : 67—77.
- Franciolini F., Petris A. 1989. Evolution of ionic channels of biological membranes. *Mol. Biol. Evol.* 6 : 503—513.
- Gaffey C. T., Mulins L. J. 1958. Ion fluxes during the action potential in *Chara*. *J. Physiol.* 144 : 505—524.
- Gebauer M., Watzke D., Machemer H. 1999. The gravikinetic response of *Paramecium* is based on orientation-dependent mechanotransduction. *Naturwissenschaften.* 86 : 352—356.
- Giglione C., Gross J. D. 1995. Anion effects on vesicle acidification in *Dictyostelium*. *Biochem. Mol. Biol.* 36 : 1057—1065.
- Gilberston T. A., Avenet P., Kinnamon S. C., Roper S. D. 1992. Proton currents through amiloride-sensitive Na channels in hamster taste cells. Role in acid transduction. *J. Gen. Physiol.* 100 : 803—824.
- Ginsburg H. 1999. The permeability properties of the parasite cell membrane. *Novartis Found Symp.* 226 : 99—108.
- Gomez-Hernandez J. M., Stuhmer W., Parekh A. B. 1997. Calcium dependence and distribution of calcium-activated chloride channels in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol.* 502 : 569—574.
- Gross J. D., Peacey M. J., Von Strandmann R. P. 1988. Plasma membrane proton pump inhibition and stalk cell differentiation in *Dictyostelium discoideum*. *Differentiation.* 38 : 91—98.
- Han Z. S., Zhang E. T., Craig A. D. 1998. Nociceptive and thermoreceptive lamina I neurons are anatomically distinct. *Nat. Neurosci.* 1 : 218—225.
- Hardie R. C. 2001. Phototransduction in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* 204 : 3403—3409.
- Harold F. M. 1977. Ion currents and physiological functions in microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 31 : 181—203.
- Hegemann P. 1997. Vision in microalgae. *Planta.* 203 : 265—274.
- Hennessey T. M., Kim D. Y., Oberski D. J., Hard R., Rankin S. A., Pennock D. G. 2002. Inner arm dynein 1 is essential for Ca<sup>2+</sup>-dependent ciliary reversals in *Tetrahymena thermophila*. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 53 : 281—288.
- Hennessey T. M., Kuruvilla H. G. 2000. Electrophysiology of *Tetrahymena*. *Methods Cell Biol.* 62 : 363—377.
- Hensel H. 1976. Functional and structural basis of thermoreception. *Prog. Brain Res.* 43 : 105—118.
- Hensel H., Iggo A. 1971. Analysis of cutaneous warm and cold fibres in primates. *Pflugers Arch.* 329 : 1—8.
- Hiltl N., Baumann D., Schweingruber A. M., Bigler P., Schweingruber M. E. 1999. Gene *ste20* controls amiloride sensitivity and fertility in *Schizosaccharomyces pombe*. *Curr. Genet.* 35 : 585—592.
- Hinrichsen R. D., Schultz J. E. 1988. *Paramecium*: a model system for the study of excitable cells. *Trends Neurosci.* 11 : 27—32.
- Hisada M. 1957. Membrane resting and action potentials from a protozoan, *Noctiluca scintillans*. *J. Cell. Physiol.* 50 : 57—71.
- Hodgkin A. L., Huxley A. F. 1952. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117 : 500—544.
- Holland E. M., Harz H., Uhl R., Hegemann P. 1997. Control of phobic behavioral responses by rhodopsin-induced photocurrents in *Chlamydomonas*. *Biophys. J.* 73 : 1395—1401.
- Howard J., Roberts W. M., Hudspeth A. J. 1988. Mechano-electrical transduction by hair cells. *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 17 : 99—124.
- Hu H., Sachs F. 1997. Stretch-activated ion channels in the heart. *J. Mol. Cell Cardiol.* 29 : 1511—1523.
- Imada C., Oosawa Y. 1999. Thermoreception of *Paramecium*: different Ca<sup>2+</sup> channels were activated by heating and cooling. *J. Membr. Biol.* 168 : 283—287.
- Inoue T., Nakaoka Y. 1990. Cold-sensitive responses in the *Paramecium* membrane. *Cell Struct. Funct.* 15 : 107—112.
- Inverso J. A., Song Y., Santos-Buch C. A. 1995. Plasma membrane ATP receptors in *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes. *Receptor.* 5 : 197—206.
- Izumo A., Tanabe K., Kato M. 1988. The plasma membrane and mitochondrial membrane potentials of *Plasmodium yoelii*. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 91 : 735—739.
- Kim I. H., Prusti R. K., Song P. S., Hader D. P., Hader M. 1984. Phototaxis and photophobic responses in *Stentor coeruleus*. Action spectrum and role of Ca<sup>2+</sup> fluxes. *Biochim. biophys. acta.* 799 : 298—304.

- Kim M. Y., Kuruvilla H. G., Raghu S., Hennessey T. M. 1999. ATP reception and chemosensory adaptation in *Tetrahymena thermophila*. *J. Exp. Biol.* 202 : 407—416.
- Kinnamon S. C., Dionne V. E., Beam K. G. 1988. Apical localization of K<sup>+</sup> channels in taste cells provides the basis for sour taste transduction. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 85 : 7023—7027.
- Kinosita H., Murakami A. 1967. Control of ciliary motion. *Physiol. Rev.* 47 : 53—82.
- Kreimer G., Witman G. B. 1994. Novel touch-induced, Ca<sup>2+</sup>-dependent phobic response in a flagellate green alga. *Cell Motil. Cytoskeleton.* 29 : 97—109.
- Kruppel T., Lueken W. 1990. Calcium-dependent sodium current in the marine ciliate *Euplotes vannus*. *J. Membr. Biol.* 116 : 79—86.
- Kuriu T., Nakaoka Y., Oosawa Y. 1996. Cold-sensitive Ca<sup>2+</sup> influx in *Paramecium*. *J. Membr. Biol.* 154 : 163—167.
- Kuriu T., Nakaoka Y., Oosawa Y. 1997. Cold-induced decrease of K<sup>+</sup> conductance and its inhibition by a calmodulin antagonist, W-7, in *Paramecium tetraurelia*. *Cell Struct. Funct.* 22 : 579—583.
- Kuruvilla H. G., Hennessey T. M. 1999. Chemosensory responses of *Tetrahymena thermophila* to CB2, a 24-amino-acid fragment of lysozyme. *J. Comp. Physiol. A.* 184 : 529—534.
- Kuwayama H., Ishida S., Van Haastert P. J. 1993. Non-chemotactic *Dictyostelium discoideum* mutants with altered cGMP signal transduction. *J. Cell Biol.* 123 : 1453—1462.
- Kuwayama H., Viel G. T., Ishida S., Van Haastert P. J. 1995. Aberrant cGMP-binding activity in non-chemotactic *Dictyostelium discoideum* mutants. *Biochim. biophys. acta.* 1268 : 214—220.
- Lindemann B. 1996. Taste reception. *Physiol. Rev.* 76 : 718—766.
- Linden H., Ballario P., Macino G. 1997. Blue light regulation in *Neurospora crassa*. *Fungal. Genet. Biol.* 22 : 141—150.
- Litvin F. F., Sineshchekov O. A., Sineshchekov V. A. 1978. Photoreceptor electric potential in the phototaxis of the alga *Haematococcus pluvialis*. *Nature.* 271 : 476—478.
- Lucero M. T., Pappone P. A. 1989. Voltage-gated potassium channels in brown fat cells. *J. Gen. Physiol.* 93 : 451—472.
- Lusche D. F., Kaneko H., Malchow D. 2005. cGMP-phosphodiesterase antagonists inhibit Ca<sup>2+</sup> influx in *Dictyostelium discoideum* and bovine cyclic-nucleotide-gated-channel. *Eur. J. Pharmacol.* 513 : 9—20.
- Machemer H. 1989. Cellular behaviour modulated by ions: electrophysiological implications. *J. Protozool.* 36 : 463—487.
- Machemer H. 1998. Mechanisms of gravireception and response in unicellular systems. *Adv. Space Res.* 21 : 1243—1251.
- Machemer H., Deitmer J. W. 1985. Mechanoreception and ciliates. *Progress in Sensory Physiology.* 5 : 81—118.
- Machemer H., De Peyer J. 1977. Swimming sensory cells: electrical parameters, receptor properties and motor control in ciliated *Protozoa*. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.* 1977 : 86—110.
- Maeda T., Takekawa M., Saito H. 1995. Activation of yeast PBS2 MAPKK by MAPKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor. *Science.* 269 : 554—558.
- Maingret F., Lauritzen I., Patel A. J., Heurteaux C., Reyes R., Lesage F., Lazdunski M., Honore E. 2000. TREK-1 is a heat-activated background K<sup>+</sup> channel. *EMBO J.* 19 : 2483—2491.
- Malchow D., Lusche D. F., Schlatterer C. 2004. A link of Ca<sup>2+</sup> to cAMP oscillations in *Dictyostelium*: the calmodulin antagonist W-7 potentiates cAMP relay and transiently inhibits the acidic Ca<sup>2+</sup>-store. *BMC Develop. Biol.* 4 : 7.
- Martin R. E., Henry R. I., Abbey J. L., Clements J. D., Kirk K. 2005. The «permeome» of the malaria parasite: an overview of the membrane transport proteins of *Plasmodium falciparum*. *Genome Biol.* 6 : R26.
- McCoy D. E., Guggino S. E., Stanton B. A. 1995. The renal cGMP-gated cation channel: its molecular structure and physiological role. *Kidney Int.* 48 : 1125—1133.
- Miller J. B., Koshland D. E. 1977. Sensory electrophysiology of bacteria: relationship of the membrane potential to motility and chemotaxis in *Bacillus subtilis*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 74 : 4752—4756.
- Mimikakis J. L., Nelson D. L., Preston R. R. 1998. Oscillating response to a purine nucleotide disrupted by mutation in *Paramecium tetraurelia*. *Biochem. J.* 330 : 139—147.
- Montell C., Birnbaumer L., Flockerzi V. 2002. The TRP channels, a remarkably functional family. *Cell.* 108 : 595—598.
- Nagel G., Szellas T., Huhn W., Kateriya S., Adeishvili N., Berthold P., Ollig D., Hegemann P., Bamberg E. 2003. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 100 : 13 940—13 945.
- Nagel G., Szellas T., Kateriya S., Adeishvili N., Hegemann P., Bamberg E. 2005. Channelrhodopsins: directly light-gated cation channels. *Biochem. Soc. Trans.* 33 : 863—866.
- Nakaoka Y., Kurotani T., Itoh H. 1987. Ionic mechanism of thermoreception in *Paramecium*. *J. Exp. Biol.* 127 : 95—103.
- Nakaoka Y., Tanaka T., Kuriu T., Murata T. 1997. Possible mediation of G-proteins in cold-sensory transduction in *Paramecium*. *J. Exp. Biol.* 200 : 1025—1030.
- Nakaoka Y., Tanaka H., Oosawa F. 1984. Ca<sup>2+</sup>-dependent regulation of beat frequency of cilia in *Paramecium*. *J. Cell Sci.* 65 : 223—231.
- Nebi T., Kotsifas M., Schaap P., Fisher P. R. 2002. Multiple signalling pathways connect chemoattractant receptors and calcium channels in *Dictyostelium*. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 23 : 853—865.
- Ntefidou M., Iseki M., Watanabe M., Lebert M., Hader D. P. 2003. Photoactivated adenylyl cyclase controls phototaxis in the flagellate *Euglena gracilis*. *Plant Physiol.* 133 : 1517—1521.
- Oami K., Takahashi M. 2002. Identification of the Ca<sup>2+</sup> conductance responsible for K<sup>+</sup>-induced backward swimming in *Paramecium caudatum*. *J. Membr. Biol.* 190 : 159—165.
- Oami K., Takahashi M. 2003. K<sup>+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> conductance responsible for the prolonged backward swimming in K<sup>+</sup>-agitated mutant of *Paramecium caudatum*. *J. Membr. Biol.* 195 : 85—92.
- Oami K., Takahashi M. 2004. Membrane potential responses of *Paramecium caudatum* to external Na<sup>+</sup>. *Zool. Sci.* 21 : 1091—1097.
- Ogura A., Machemer H. 1980. Distribution of mechanoreceptor channels in the *Paramecium* surface membrane. *J. Comp. Physiol.* 135 : 233—242.
- Oosawa F., Nakaoka Y. 1977. Behavior of micro-organisms as particles with internal state variables. *J. Theor. Biol.* 66 : 747—761.
- Palmer C. P., Zhou X. L., Lin J., Loukin S. H., Kung C., Saimi Y. 2001. A TRP homolog in *Saccharomyces cerevisiae* forms an intracellular Ca<sup>2+</sup>-permeable channel in the yeast vacuolar membrane. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 7801—7805.
- Patel A. J., Lazdunski M., Honore E. 2001. Lipid and mechano-gated 2P domain K<sup>+</sup> channels. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13 : 422—428.
- Pintsch T., Satre M., Klein G., Martin J. B., Schuster S. C. 2001. Cytosolic acidification as a signal mediating hyperosmotic stress responses in *Dictyostelium discoideum*. *BMC Cell Biol.* 2 : 9.
- Plant T. D., Standen N. B. 1981. Calcium current inactivation in identified neurones of *Helix aspersa*. *J. Physiol.* 321 : 273—285.
- Preston R. R., Saimi Y., Kung C. 1992a. Calcium-dependent inactivation of the calcium current activated upon hyperpolarization of *Paramecium tetraurelia*. *J. Gen. Physiol.* 100 : 253—268.
- Preston R. R., Saimi Y., Kung C. 1992b. Calcium current activated upon hyperpolarization of *Paramecium tetraurelia*. *J. Gen. Physiol.* 100 : 233—251.
- Preston R. R., Usherwood P. N. 1988. L-glutamate-induced membrane hyperpolarization and behavioural responses in *Paramecium tetraurelia*. *J. Comp. Physiol. A.* 164 : 75—82.
- Reid G., Flonta M. L. 2001. Physiology. Cold current in thermoreceptive neurons. *Nature.* 413 : 480.
- Richter P., Lebert M., Korn R., Hader D. P. 2001. Possible involvement of the membrane potential in the gravitactic orientation of *Euglena gracilis*. *J. Plant Physiol.* 158 : 35—39.
- Rosner B. N., Bartholomew J. N., Gaines C. D., Riddle M. L., Everett H. A., Rulapaugh K. G., Nickerson L. E., Marshall M. R., Kuruvilla H. G. 2003. Biochemical evidence for a P2Y-like receptor in *Tetrahymena thermophila*. *J. Comp. Physiol. A.* 189 : 781—789.

- Sachs F., Morris C. E. 1998. Mechanosensitive ion channels in nonspecialized cells. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 132 : 1—77.
- Salas-Casas A., Ponce-Balderas A., Garcia-Perez R. M., Cortez-Reynosa P., Gamba G., Orozco E., Rodriguez M. A. 2006. Identification and functional characterization of EhCIC-A, an *Entamoeba histolytica* CIC chloride channel located at plasma membrane. *Mol. Microbiol.* 59 : 1249—1261.
- Scott D. A., Docampo R. 2000. Characterization of isolated acidocalcisomes of *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 275 : 24 215—24 221.
- Shimada S., Yamamura H., Ueda T., Yamamoto T., Ugawa S. 2004. Functional analysis of acid sensing ion channels. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi.* 24 : 243—246.
- Sineshchekov O. A., Jung K. H., Spudich J. L. 2002. Two rhodopsins mediate phototaxis to low- and high-intensity light in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 99 : 8689—8694.
- Sobierajska K., Fabczak H., Fabczak S. 2006. Photosensory transduction on unicellular eukaryotes: a comparison between related ciliates *Blepharisma japonicum* and *Stentor coeruleus* and photoreceptor cells of higher organisms. *J. Photochem. Photobiol. B.* 83 : 163—171.
- Spray D. C. 1986. Cutaneous temperature receptors. *Annu. Rev. Physiol.* 48 : 625—638.
- Sudhandiran G., Shaha C. 2003. Antimonial-induced increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> through non-selective cation channels in the host and the parasite is responsible for apoptosis of intracellular *Leishmania donovani* amastigotes. *J. Biol. Chem.* 278 : 25 120—25 132.
- Sugino K., Tominaga T., Allen R., Naitoh Y. 2005. Electrical properties and fusion dynamics in *in vitro* membrane vesicles derived from separate parts of the contractile vacuole complex of *Paramecium multimicronucleatum*. *J. Exp. Biol.* 208 : 3957—3969.
- Szmelcman S., Adler J. 1976. Change in membrane potential during bacterial chemotaxis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 73 : 4387—4391.
- Takahashi T., Neher E., Sakmann B. 1987. Rat brain serotonin receptors in *Xenopus* oocytes are coupled by intracellular calcium to endogenous channels. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 84 : 5063—5067.
- Tasaki I., Kamiya N. 1964. A study in electrophysiological properties of carnivorous amoebae. *J. Cell. Physiol.* 63 : 365—380.
- Valkema R., Van Haastert P. J. 1994. A model for cAMP-mediated cGMP response in *Dictyostelium discoideum*. *Mol. Biol. Cell.* 5 : 575—585.
- Van der Heyden N., Docampo R. 2000. Intracellular pH in mammalian stages of *Trypanosoma cruzi* is K<sup>+</sup>-dependent and regulated by H<sup>+</sup>-ATPases. *Mol. Biochem. Parasitol.* 105 : 237—251.
- Van der Heyden N., Docampo R. 2002. Proton and sodium pumps regulate the plasma membrane potential of different stages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 120 : 127—139.
- Van Duijn B., Vogelzang S. A. 1989. The membrane potential of the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum* is mainly generated by an electrogenic proton pump. *Biochim. biophys. acta.* 983 : 186—192.
- Van Duijn B., Vogelzang S. A., Ypey D. L., Van der Molen L. G., Van Haastert P. J. 1990. Normal chemotaxis in *Dictyostelium discoideum* cells with a depolarized plasma membrane potential. *J. Cell Sci.* 95 : 177—183.
- Viana F., De la Pena E., Belmonte C. 2002. Specificity of cold thermotransduction is determined by differential ionic channel expression. *Nat. Neurosci.* 5 : 254—260.
- Vieira L. L., Cabantchik Z. I. 1995. Amino acid uptake and intracellular accumulation in *Leishmania major* promastigotes are largely determined by an H<sup>+</sup>-pump generated membrane potential. *Mol. Biochem. Parasitol.* 75 : 15—23.
- Viera L. I., Senisterra G. A., Disalvo E. A. 1995. Changes in the optical properties of liposome dispersions in relation to the interlamellar distance and solute interaction. *Chem. Phys. Lipids.* 81 : 45—54.
- Wang M., Roelfsema J. H., Williams J. G., Schaap P. 1990. Cytoplasmic acidification facilitates but does not mediate DIF-induced prestalk gene expression in *Dictyostelium discoideum*. *Develop. Biol.* 140 : 182—188.
- Witman G. B. 1993. *Chlamydomonas* phototaxis. *Trends Cell Biol.* 3 : 403—408.
- Yamada Y., Sameshima M. 2004. Cell shape regulation and co-translocation of actin and adenosyl homocysteinase in response to intermediate hypertonicity. *FEMS Microbiol. Lett.* 238 : 417—422.
- Yarnitsky D., Ochoa J. L. 1991. Warm and cold specific somatosensory systems. Psychophysical thresholds, reaction times and peripheral conduction velocities. *Brain.* 114 : 1819—1826.
- Yoshimura K. 1996. A novel type of mechanoreception by the flagella of *Chlamydomonas*. *J. Exp. Biol.* 199 : 295—302.
- Zhou X. L., Batiza A. F., Loukin S. H., Palmer C. P., Kung C., Saimi Y. 2003. The transient receptor potential channel on the yeast vacuole is mechanosensitive. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 100 : 7105—7110.
- Zilberstein D., Dwyer D. M. 1985. Protonmotive force-driven active transport of D-glucose and L-proline in the protozoan parasite *Leishmania donovani*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 82 : 1716—1720.
- Zuker C. S. 1996. The biology of vision of *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 93 : 571—576.

Поступила 29 XI 2006

THE ROLE OF MEMBRANE POTENTIAL SHIFTS AT THE INITIAL STAGES OF SIGNAL TRANSDUCTION IN UNICELLULAR EUKARYOTES

I. V. Shemarova

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, St. Petersburg;  
e-mail: irina@lis.mail.iephb.ru

The review summarizes current data about the origin of membrane potentials and their contribution to the signal transduction about changes in temperature, ionic composition of the medium, and chemo-, photo-, gravitaxis signals in unicellular eukaryotes.

Key words: unicellular eukaryotes, intracellular signaling, membrane potential, ionic channels, intracellular calcium.