

**РОЛЬ СТРУКТУРИ САРКОМЕРУ В СИНХРОНІЗАЦІЇ РОБОТИ
ПОПЕРЕЧНИХ МІСТКІВ: ТЕОРЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ СХІДЧАСТИХ ЗМІН
ДОВЖИНИ У ПРОСТОРОВО РОЗПОДІЛЕНІЙ СТОХАСТИЧНІЙ МОДЕЛІ**

А. Міщенко, Г. Тарадіна

*Донецький національний університет імені Василя Стуса
вул. Академіка Янгеля, 4, Вінниця 21007, Україна
e-mail: a.mishchenko@donnu.edu.ua*

Низка фізіологічних властивостей м'яза реалізується завдяки взаємозв'язку структури та функції. Однак багато аспектів цих взаємовідносин залишаються нез'ясованими. Приклад такого зв'язку – це стрибкоподібні зміни довжини саркомерів. У рамках просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру були відтворені стрибкоподібні зміни його довжини в ізотонічному режимі. Статистика сходинок у траєкторії зміни довжини, яка була отримана в моделі, подібна до такої, що спостерігається в експерименті. Проаналізовано молекулярний механізм формування сходинок. Сходинки, що спостерігаються у траєкторії, є проявом синхронної роботи поперечних містків півсаркомеру. В основі механізму, що синхронізує роботу окремих поперечних містків, лежать обмеження, які накладає структура ґратки півсаркомеру на взаємодію міозину з актином. Ключове обмеження стосується взаємних відстаней між поперечними містками та зв'язувальними центрами на актині. У дискретній ґратці, де поперечні містки та зв'язувальні центри розташовані періодично, ця відстань також буде дискретною величиною. Завдяки залежності кінетики від деформації всі містки півсаркомеру поділяють на низку дискретних груп із різними хімічними властивостями. Ще одна необхідна умова для виникнення синхронізації – нелінійність залежних від деформації констант швидкості переходів у механохімічному циклі, що сполучені з виконанням робочого ходу поперечного містка. Кількісно показано зв'язок параметрів стрибкоподібного руху з параметрами ґратки півсаркомеру, а саме, періодичністю розташування поперечних містків і зв'язувальних центрів на товстих і тонких філаментах, відповідно.

Ключові слова: саркомер, східчасті зміни довжини, просторово розподілена модель, геометрія ґратки саркомеру, молекулярний механізм

Головним компонентом скоротливого апарату м'язів є молекули міозину, що взаємодіють із молекулами актину, створюючи роботу. В поперечносмугастих м'язах молекули міозину є частиною структури саркомеру; це обмежує їхнє просторове положення, модулює їхню взаємодію з молекулами актину. Робота і властивості цих молекул як складової саркомеру можуть значним чином відрізнитися від таких для сукупності ізольованих молекул. Спільне функціонування в межах однієї структури створює колективні ефекти в роботі цих молекул. Прикладом цього є стрибкоподібні зміни довжини саркомерів [7–10]. На відміну від м'язового волокна, скорочення якого в стаціонарному режимі відбувається по лінійній траєкторії, на рівні саркомерів процес скорочення має стрибкоподібний характер: швидкі зміни довжини чергуються з паузами, де довжина саркомеру майже не змінюється. Розмір сходинок у такій траєкторії кратний значенню 2,7 нм. Це значення збігається з періодичністю розташування актинових мономерів уздовж тонкого філамента. Аналогічне

стрибокподібне ковзання також спостерігають на рівні окремих пар актинового та міозинового філаментів [6].

Такий характер скорочення означає, що містки півсаркомеру мають діяти синхронно. Однак молекулярний механізм такої синхронізації, роль структури саркомеру в ній, а також кількісний зв'язок із мікроскопічними параметрами окремих поперечних містків і параметрами структури залишаються нез'ясованими. Експериментальні дослідження механізму на такому рівні організації, зрозуміло, стикаються з об'єктивними труднощами.

Східчастий режим скорочення було отримано теоретично в деяких моделях [3, 9]. Характерною особливістю цих моделей був їхній дискретний характер, у сенсі дискретності значень відстаней між містками та зв'язуючими центрами на актині. У роботі [3] розмір сходинок приблизно дорівнював величині робочого ходу. Синхронізацію роботи містків пояснювали наявністю координації в їхній роботі, яка базується на механічній взаємодії зв'язаних поперечних містків через тонкий філамент. У роботі [9] розмір сходинок становив 7 нм, що, як зазначено в цій роботі, приблизно дорівнювало різниці періодичності розташування поперечних містків і зв'язувальних центрів на товстих і тонких філаментах [9]. Недоліком теоретичних досліджень у наведених роботах є: 1) відсутність кількісного збігу розміру сходинок з експериментальним значенням; 2) відсутність пояснення зв'язку між величиною сходинок і геометричними параметрами ґратки саркомеру; 3) відсутність аналізу механізму утворення сходинок, розмір яких у кілька разів більший, ніж розмір елементарної сходинок (2,7 нм).

Метою даної роботи було в рамках просторово розподіленої стохастичної моделі півсаркомеру відтворити режим східчастих змін довжини півсаркомеру, що є подібним до експериментального; запропонувати молекулярний механізм таких східчастих змін довжини, з'ясувати природу синхронізації роботи поперечних містків, знайти зв'язок між розміром сходинок та мікроскопічними параметрами, що характеризують структуру саркомеру чи/та властивості окремих поперечних містків.

Матеріали та методи

Модель. У роботі була використана раніше розроблена нами просторова розподілена модель півсаркомеру [1]. Ця модель була побудована в рамках підходу, запропонованого в роботі [2]. Модель розглядає роботу м'яза на рівні півсаркомеру, деталізуючи роботу останнього до рівня механохімічного стану окремих поперечних містків, однієї пари товстого й тонкого філаментів (рис. 1). Також модель враховує наявність еластичності скорочувальних філаментів. Параметри механічної частини моделі обирали на основі параметрів моделей [2, 4]. На відміну від моделі [2], в роботі [1] як кінетичну частину моделі було використано кінетичну частину моделі з роботи [4], що дає змогу, крім механіки скорочення, більш адекватно відтворити також і механіку розтягування м'язового волокна. З іншими деталями реалізації моделі та її параметрами можна ознайомитись у роботі [1]. Тут ми коротко розглянемо тільки ті моменти моделі [1], які є важливими з точки зору даного дослідження. Поперечні містки на товстому філаменті та зв'язувальні центри на тонкому розташовані з періодами $l_{mn} = 14,3$ нм та $l_{an} = 5,5$ нм, відповідно. Жорсткість товстого й тонкого філаментів становить $k_{mn} = 6060$ пН/нм і $k_{an} = 11818$ пН/нм для сегментів завдовжки l_{mn} та l_{an} , відповідно (рис. 1). Кожен поперечний місток має у своєму складі еластичний елемент, жорсткість якого $k_{cb} = 7,5$ пН/нм. Загалом налічується $N=20$ поперечних містків на товстому філаменті та $M=150$ зв'язувальних центрів на тонкому. За умови повного перекриття міозину актином, кожен із поперечних містків характеризується своєю відстанню до найближчого зв'язувального центра праворуч Δ , а також деформацією ϵ_i його еластич-

ного елемента. Величини Δ та ε_i лінійно пов'язані між собою, ε_i залежить від поточного i -го хімічного стану містка ($\varepsilon_i = \Delta - d$ для $i = 1,2$ та $\varepsilon_i = \Delta$ для $i = 3,4$). Сила, що генерується зв'язаним поперечним містком, дорівнює $k_{cb}\varepsilon_i$.

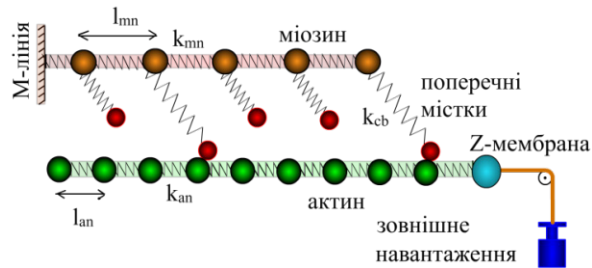


Рис. 1. Механічна модель півсаркомеру

Важливе припущення моделі – це залежність від деформації ε_i швидкості хімічних взаємодій між даним містком і актином. Механохімічний цикл поперечних містків (рис. 2) включає чотири стани: вільний стан 1 (об'єднує $M\cdot ATP$, $M\cdot ADP\cdot P$ та $M\cdot ADP$), слабозв'язаний стан 2 (або $A\cdot M\cdot ADP\cdot P$), перший сильнозв'язаний стан 3 (або $A\cdot M\cdot ADP$), другий сильнозв'язаний стан 4 (або $A\cdot M$). Якщо при зв'язуванні головка поперечного містка розташована точно над зв'язувальним центром ($\Delta = d$), то у слабозв'язаному стані місток не генерує сили, оскільки його деформація дорівнює нулю ($\varepsilon_2 = \Delta - d = 0$). Перехід у перший сильнозв'язаний стан пов'язаний з виконанням робочого ходу, який збільшує деформацію еластичного елемента поперечного містка на $d=4$ нм. Деформація поперечного містка, який має $\Delta = d$, після переходу $2 \rightarrow 3$ буде дорівнювати $\varepsilon_3 = \Delta = d$.

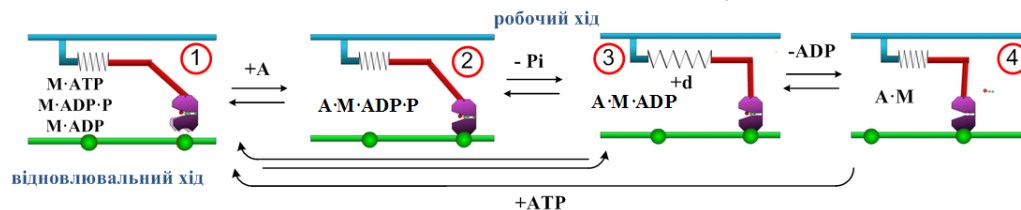


Рис. 2. Чотиристадійний механохімічний цикл поперечних містків. На схемі використано такі позначення: М – міозин, А – актин, Р – неорганічний фосфат, АТФ – АТФ, АДФ – АДФ

У подальшому як незалежну змінну на всіх графіках величин, що залежать від деформації еластичного елемента поперечного містка, ми будемо використовувати величину деформації містка у слабозв'язаному стані – ε_2 . Це спрощує візуальне порівняння величин, що залежать від ε_i з різними i . Далі для спрощення замість ε_2 ми також будемо використовувати позначення ε ($\varepsilon \equiv \varepsilon_2$). На відміну від деформацій у інших зв'язаних станах, ε_2 не включає в себе деформації завдяки внутрішнім конфірмаційним змінам містка (d).

Константи швидкостей k_{ij} переходів $i \rightarrow j$ у механохімічному циклі на рис. 2 в загальному випадку є функцією деформації ε_i . Залежності констант швидкостей $k_{ij}(\varepsilon)$ наведені на рис. 3, а (врахуйте, що, наприклад, крива $k_{34}(\varepsilon_3)$ може бути отримана з $k_{34}(\varepsilon)$ зміщенням її вправо на 4 нм).

Разом із графіками $k_{ij}(\varepsilon)$ для подальшого аналізу буде корисно представити стаціонарні заселеності поперечних містків для цих констант швидкостей при різних ε . Із рис. 3, б можна побачити, якими будуть в ізометричному режимі стаціонарні співвідношення між кількістю містків у різних хімічних станах, якщо всі вони мають деформацію ε .

Симуляція ізотонічного скорочення. У даній роботі в рамках моделі [1] проводили симуляцію ізотонічного скорочення. Скороченню передувала активація півсаркомеру в ізометричному режимі. Під час симуляції реєстрували траєкторію зміни довжини півсаркомеру, а також динаміку механохімічних станів окремих поперечних містків півсаркомеру. На основі динаміки стану популяції містків обчислювали динаміку розподілів $n_i(\varepsilon)$ заселеності поперечних містків у різних хімічних станах залежно від їхньої деформації.

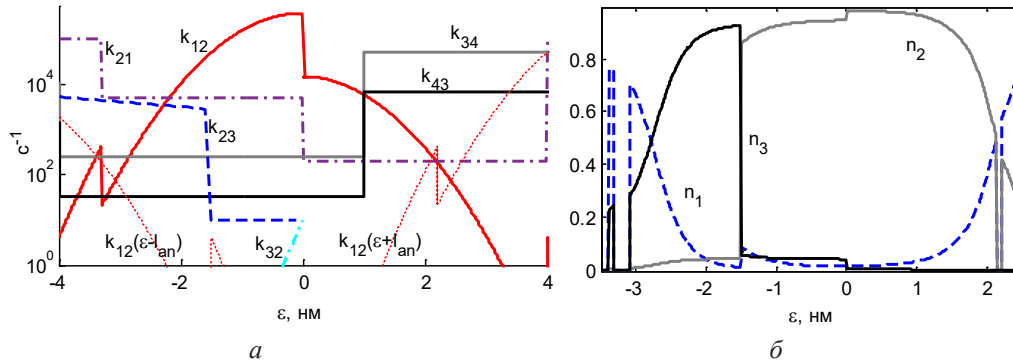


Рис. 3. Константи швидкостей k_{ij} деяких переходів $i \rightarrow j$ (а) і стаціонарні розподіли заселеності $n_i(\varepsilon)$ містків у вільному стані та двох перших зв'язаних, в ізометричному режимі (б). Заселеність стану n_4 не показана, оскільки він є малозаселеним

Аналіз траєкторій. Для автоматичної ідентифікації сходинок у траєкторії переміщення актину використовували два методи. Перший – це самостійно розроблена процедура, що використовує дискретне вейвлет перетворення. Другий метод був реалізований з використанням процедури, запропонованої в роботі [5]. Ідентифікацію повторно проводили для 500 реалізацій траєкторій (кожна тривалістю 0,5 с), що були отримані для певного значення ізотонічного навантаження. Результати представляли у вигляді нормованих гістограм розподілу розміру сходинок.

Чисельна реалізація. Для симуляції кінетичних переходів окремих поперечних містків у моделі півсаркомеру використовували метод Монте-Карло. Модель була реалізована у вигляді багатопоточного консольного додатку, написаного мовою C++ (Visual Studio 2008; Microsoft). Процедура для автоматичної ідентифікації сходинок траєкторій була реалізована в пакеті MATLAB (MathWorks).

Дискретність набору деформацій. Для подальшого аналізу результатів, отриманих у рамках моделі, також необхідно розглянути її деякі властивості, що впливають з її визначення. На відміну від моделей типу класичної моделі Хакслі, де відстань Δ є безперервною величиною, в моделях із дискретною ґраткою півсаркомеру відстань від поперечного містка до найближчого зв'язувального центру праворуч або ліворуч буде дискретною величиною (відповідно, деформації еластичних елементів містків також будуть дискретними величинами). Встановимо характеристики дискретної множини Δ .

Припустимо, що ми маємо безконечно довгі товстий і тонкий філаменти, які є абсолютно жорсткими. Якщо ми оберемо на товстому філаменті місток із номером i , то уздовж міозину можна знайти місток із номером $i + n_{cb}$, який буде мати таку ж відстань Δ до найближчого праворуч зв'язувального центру на актині, як i у i -го містка. Всі містки з i -го по $(i + n_{cb} - 1)$ -й будуть мати унікальні відстані Δ , далі (починаючи з містка $i + n_{cb}$) цей набір Δ (патерн) буде повторюватися.

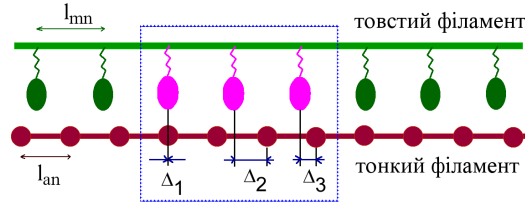


Рис. 4. Патерн можливих значень величини Δ . У прикладі на рисунку період патерну становить $n_{cb} = 3$ (містки, що виділені рамкою). У межах патерну всі містки мають різні відстані Δ_i . Містки праворуч або ліворуч від виділеного патерну будуть мати такі самі набори Δ_i

Величина періоду n_{cb} може бути отримана шляхом розв'язання рівняння:

$$l_{mn} n_{cb} = l_{an} n_{bs}, \quad (1)$$

де n_{cb} і n_{bs} – невідомі цілі числа, причому вони мають бути найменшими з можливих. Інакше кажучи, нам необхідно знайти, в яке мінімальне ціле число (n_{cb}) відстаней l_{mn} укладеться ціле число (n_{bs}) відстаней l_{an} . Усі n_{cb} унікальних відстаней будуть залежати від поточного взаємного зміщення $\Delta_{\chi_{hs}}$ між товстим і тонким філаментами, однак у будь-якому разі два будь-які найближчі значення в цьому наборі завжди відрізняються на s . Величина s дорівнює:

$$s = l_{mn} / n_{bs} = l_{an} / n_{cb} \quad (2)$$

У разі нашої моделі періодичність патерну поперечних містків становить $n_{cb} = 5$, можливі відстані Δ у дискретному наборі йдуть із кроком $s=1,1$ нм.

Також слід зазначити, що фактична структура множини дискретного набору деформацій може залежати від кількості поперечних містків і ступеня перекриття актину й міозину, якщо ця кількість не кратна n_{cb} .

Наслідком дискретності відстаней $\Delta \in (-d; l_{an} - d)$ буде дискретність деформацій та кінетичних властивостей поперечних містків. Оскільки константи хімічних переходів $k_{ij}(\epsilon_i)$ залежать від деформації еластичного елемента ϵ_i , ми будемо мати у півсаркомері скінченний набір груп містків, кожна з яких має однакові кінетичні властивості. При зсувах актину щодо міозину на величину $\Delta_{\chi_{hs}}$ деформації всіх зв'язаних містків змінюються на $\Delta_{\chi_{hs}}$ (це твердження є точним лише стосовно півсаркомеру з жорсткими філаментами, у разі еластичних філаментів воно має приблизний характер), а отже, й кінетичні властивості містків кожної з груп також змінюються. Яким чином будуть відбуватися ці зміни, можна оцінити з рис. 3. Із рис. 3, б видно, що весь діапазон ϵ можна умовно розділити на кілька інтервалів, при переході між якими будуть відбуватися різкі якісні зміни кінетичних властивостей поперечних містків із відповідними змінами в заселеності. Так, у групах містків, деформація яких лежить у діапазонах $\epsilon < -2,8$ нм та $\epsilon > 2,2$ нм, будуть переважати вільні містки. Причому при $\epsilon < -2,8$ нм наявні зв'язані містки представлені майже виключно слабозв'язаними містками, а при $\epsilon > 2,2$ нм – сильнозв'язаними у стані 3. У діапазоні $-2,8 < \epsilon < -1,5$ нм переважають сильнозв'язані містки 3, в діапазоні ж $-1,5 < \epsilon < 2,2$ нм – слабозв'язані.

Циклічний характер набору деформацій вільних містків. У моделі [1] передбачається, що вільні містки зв'язуються тільки з найближчим зв'язувальним центром праворуч або ліворуч. Якщо деформація, яку необхідно отримати містку для зв'язування з найближчим зв'язувальним центром праворуч $\epsilon_1 \in (0; l_{an})$, тоді деформація, яку йому треба отримати для зв'язування з найближчим центром ліворуч, дорівнює $\Delta - l_{an} \in (-l_{an}; 0)$. Якщо виконується умова

$$k_{12}(\epsilon_1) > k_{12}(\epsilon_1 - l_{an}), \quad (3)$$

відповідно [1], місток буде зв'язуватися з центром праворуч зі швидкістю $k_{12}(\epsilon_1)$, у протилежному разі – з лівим зі швидкістю $k_{12}(\epsilon_1 - l_{an})$. Виходячи з умови (3), можемо визначити

інтервал ε_1 , на якому вільний місток здатен зв'язуватися зі зв'язувальним центром праворуч або ліворуч. Якщо інтервал ε_1 , де місток зв'язується з правим зв'язувальним центром, становить $(0; \varepsilon_1^{\max} \leq l_{an})$ (інтервал зв'язування з лівим центром тоді буде $(\varepsilon_1^{\max} - l_{an}; 0)$), розподіл $n_1(\varepsilon_1)$ для вільних містків, що є функцією, визначеною в діапазоні $\varepsilon_1 \in (\varepsilon_1^{\max} - l_{an}; \varepsilon_1^{\max})$, буде підкорятися періодичним граничним умовам:

$$n_1(\varepsilon_1^{\max}) = n_1(\varepsilon_1^{\max} - l_{an}). \quad (4)$$

Розглянутий випадок, коли (3) виконується лише на одному інтервалі, можливий за умови монотонного зменшення $k_{12}(|\varepsilon_1|)$ при зростанні $|\varepsilon_1|$. Наприклад, якщо $k_{12}(\varepsilon_1)$ – парна функція (Гаусова крива), тоді з (3), $\varepsilon_1^{\max} = -l_{an}/2$. У загальному ж випадку може бути більш ніж один інтервал, на якому виконується нерівність. Так, у моделі [1] є кілька точок перетину $k_{12}(\varepsilon_1 > 0)$ з $k_{12}(\varepsilon_1 + l_{an})$, рис. 3, а, але один з інтервалів, на якому виконується (3), порівняно невеликий, і далі для простоти ми знехтуємо ним. Тож при подальшому аналізі будемо вважати, що в моделі [1] $\varepsilon_1^{\max} \approx 2,4$ нм, а граничні умови мають вигляд:

$$n_1(2,4 \text{ нм}) = n_1(-3,1 \text{ нм}). \quad (5)$$

Результати і їхнє обговорення

Східчасті траєкторії, статистика сходинок. На рис. 5 показано фрагменти траєкторій змін довжини півсаркомеру в ізотонічному режимі. У часовому масштабі хімічних перетворень окремих містків скорочення актину має стрибкоподібний характер, причому кожна зі сходинок виникає після хімічних перетворень окремих містків, усі сходинки мають малу амплітуду ($< 0,5$ нм; на рис. 5 ці миттєві зміни довжини виглядають як «шум») [1]. Але якщо розглянути ті самі траєкторії у більшому часовому масштабі, можна виявити інші сходинки, з величиною, що значно перевищує розмір елементарних сходинок ($< 0,5$ нм; на рис. 5 деякі з цих сходинок позначені стрілками, разом із зазначенням їхньої висоти). Ці великі сходинки (далі будемо називати їх великомасштабними) утворюються з безлічі елементарних сходинок однакового напрямку, що здійснюються синхронно у часі. Великомасштабні сходинки чергуються з ділянками траєкторії, де актин залишається майже нерухомим (рис. 5). Візуально отримані траєкторії схожі з траєкторіями, отриманими в експерименті, в якому реєстрували східчасті траєкторії ковзання ізольованої пари актинового та міозинового філаментів [6].

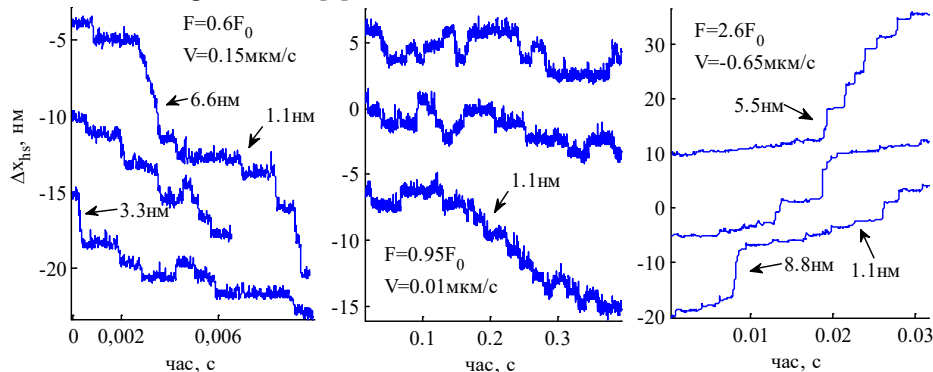


Рис. 5. Фрагменти траєкторій зміни довжини півсаркомеру (Δx_{hs}) в ізотонічному режимі для трьох різних значень зовнішнього навантаження F . Значення F (в одиницях ізометричної сили F_0), разом зі значенням середньої швидкості зміни довжини півсаркомеру V ($V > 0$ – скорочення, $V < 0$ – розтягування) зазначені на графіках. Стрілками показані деякі з великомасштабних сходинок із зазначенням їхньої приблизної висоти

Для отриманих траєкторій була виконана автоматична ідентифікація великомасштабних сходинок. Власний алгоритм ідентифікації з використанням вейвлет аналізу й алгоритм із роботи [5] дали аналогічні результати. На рис. 6 показані гістограми величини великомасштабних сходинок, які, аналогічно експериментальним [8], мають полімодальний характер. Величина сходинок залежно від зовнішнього навантаження може досягати 6,6 нм і більше, однак вона завжди кратна величині 1,1 нм, яка збігається зі значенням величини s нашої моделі. В експерименті величина найменшої сходинок становить 2,7 нм [8]. Як і в експерименті [8], при збільшенні швидкості ковзання відбувається збільшення кількості великих сходинок щодо малих (рис. 6). Сходінки у траєкторії спостерігаються як при скороченні, так і при розтягуванні півсаркомеру, однак їхній напрямок є протилежним рис. 6. При навантаженнях, що є близькими до ізометричного, крім сходинок прямого напрямку, також спостерігаються зворотні сходінки.

Також ми отримали гістограми великомасштабних сходинок, зробивши в моделі скорочувальні філаменти абсолютно жорсткими. Ці гістограми не відрізнялися від наведених на рис. 6.

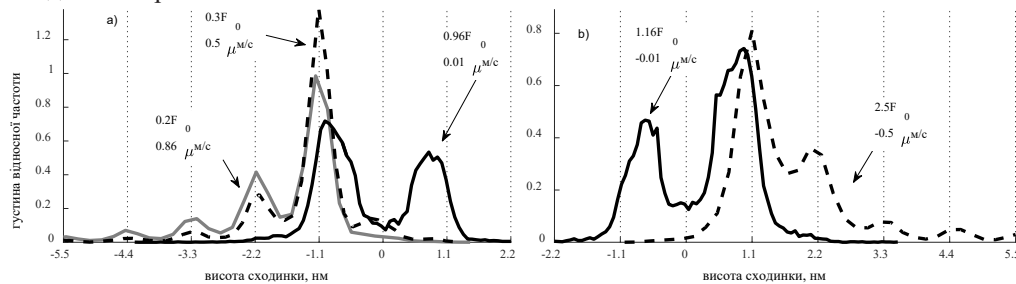


Рис. 6. Гістограми розподілу величини великомасштабних сходинок у траєкторії зміни довжини півсаркомеру при різних зовнішніх навантаженнях F . Для кожної кривої вказано значення F в одиницях ізометричної сили F_0 , а також середня швидкість ковзання. Негативні сходінки призводять до скорочення півсаркомеру, позитивні – до розтягування. Сходінки ідентифікувались автоматично за допомогою процедури, яка використовує вейвлет аналіз

Молекулярний механізм формування великомасштабних сходинок. Тепер розглянемо, які молекулярні події супроводжують формування великомасштабних сходинок у траєкторії. Для того щоби полегшити такий аналіз, було зменшено рівень випадкового шуму, що пов'язаний у моделі з випадковістю кінетичних переходів містків. Для цього кількість містків була збільшена до $N=10\ 000$. За відсутності шуму траєкторії складаються тільки з елементарних великомасштабних сходинок 1,1 нм. На рис. 7 показано фрагменти траєкторій такого півсаркомеру, на яких наявні великомасштабні сходінки.

Повна висота сходинок (плато і фази швидкої зміни довжини) на рис. 7 як при скороченні, так і при розтягуванні, становить 1,1 нм. Однак при скороченні амплітуда плато становить лише $\approx 5\%$ від загальної амплітуди сходинок, тоді як при розтягуванні вона вже сягає $\approx 45\%$.

Для того щоби пояснити спостережувані на рис. 7 зміни довжини, розглянемо динаміку стану півсаркомеру на рівні дискретних груп поперечних містків із різними деформаціями. На рис. 8 показана динаміка дискретних розподілів заселеності містків у вільному та двох перших зв'язаних хімічних станах (стан 4 є слабозаселеним, тому не розглядається). Відповідно до змін довжини півсаркомеру (див. врізання на рис. 8, *a-g*) відбувається зміщення розподілів заселеності вздовж осі деформації ϵ , при скороченні розподіли зміщуються вліво (рис. 8, *a-g*, тут зміщення всього розподілу можна бачити по зміні положення

однієї із груп містків, наприклад, групи 3), а при розтягуванні – вправо (рис. 8, *h-n*). Переміщуючись, кожна із груп містків проходить певний цикл перетворень, протягом якого відбувається перерозподіл заселеності між різними хімічними станами (при малих швидкостях ковзання це співвідношення при різних ε буде приблизно таким, як на рис. 3, *b*).

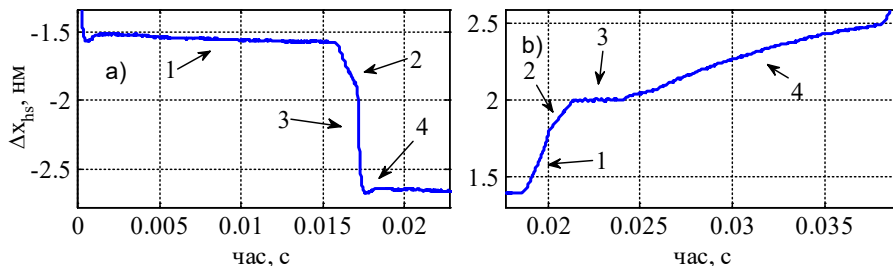


Рис. 7. Фрагменти траєкторії зміни довжини півсаркомеру ($N=20000$) в ізотонічному режимі: *a* – скорочення півсаркомеру: 1 – плато великомасштабної сходинок; 2 – перша більш повільна фаза скорочення; 3 – друга швидка фаза скорочення; 4 – перехідна фаза перед початком виходу на нове плато; *b* – розтягування півсаркомеру: 1 – фаза східчастого розтягування; 2 – уповільнення східчастого розтягування; 3 – плато; 4 – пришвидшення розтягування на плато

При скороченні діапазон можливих ε при таких переміщеннях праворуч обмежений границею ≈ 2.4 нм, саме тут у силу періодичних граничних умов (5) будуть з'являтися вільні містки, здатні зв'язуватися з правими зв'язувальними центрами. Величина границі ε ліворуч залежить від констант швидкостей, які відповідають за відрив зв'язаних містків із негативними ε , а також від швидкості скорочення.

При скороченні діапазон можливих ε ліворуч обмежений значенням $-3,1$ нм, нові групи містків з'являються на цій границі, потім рухаються вправо, проходячи зворотний цикл перетворень, поки повністю не відірвуться на правій границі діапазону ε .

Аналіз динаміки внутрішнього стану півсаркомеру під час східчастої зміни його довжини (рис. 8, *a-g*) дає таку картину формування великомасштабної сходинок та плато при скороченні на мікроскопічному рівні:

- Повільний дрейф на **плато** (рис. 8, *a-b*), обумовлений повільним збільшенням сили завдяки повільним зв'язуванням $1 \rightarrow 2$ у слабозв'язаний стан з $\varepsilon > 0$ нм (група містків 1 на рис. 8, *a-b*), а також повільним переходам $2 \rightarrow 3$ (виконання робочого ходу) для містків, що перебувають у діапазоні $-1,5 < \varepsilon < 0$ (група містків 2 і 3 на рис. 8, *a-b*).

- **Перша повільна фаза сходинок** починається з появи вільних містків на границі $\varepsilon \approx 2,4$ нм (група 6 на рис. 8, *c*, ця група виникає з групи містків 5, рис. 8, *a-b*, в силу граничних умов (5)). Зв'язуючись у слабозв'язаний стан, вони збільшують силу півсаркомеру та пришвидшують його скорочення. Також відзначимо, що містки групи 6, які вже перейшли у слабозв'язаний стан, можуть пришвидшувати ймовірність переходу $1 \rightarrow 2$ вільних містків своєї групи (позитивний зворотний зв'язок), бо, скорочуючи півсаркомер, вони зближують їх із правими зв'язувальними центрами (що, у свою чергу, збільшує для них $k_{12}(\varepsilon)$ (рис. 3, *a*)).

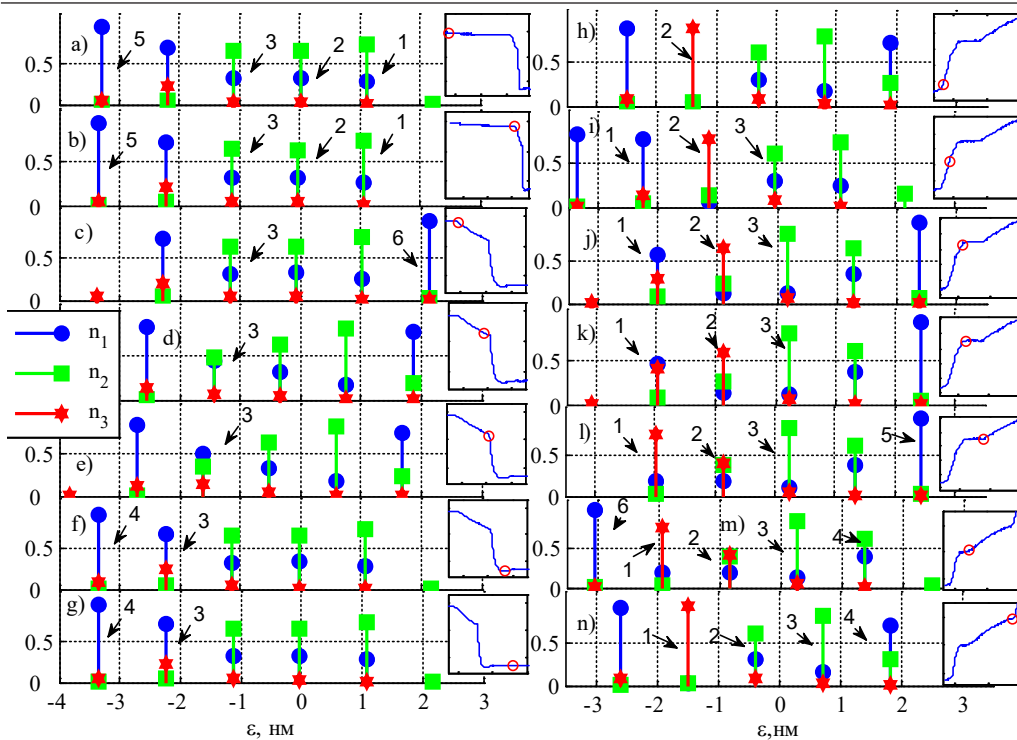


Рис. 8. Динаміка дискретних розподілів $n_i(t, \epsilon)$ заселеності поперечних містків у різних хімічних станах i , протягом здійснення півсаркомером великомасштабної сходинки при скороченні (a-g) та при розтягуванні (h-n). Розподіли, що показані на графіках (a-g), відповідають різним моментам часу. На врізаннях на кожному з графіків показано траєкторії з рис. 7. На кожній із цих траєкторій маркером вказано довжину півсаркомеру в той же момент часу, для якого побудований і розподіл. Заселеності для деяких із дискретних груп містків позначено стрілками з номерами (пояснення див. у тексті)

- Після першої фази сходинки розподіли $n_i(\epsilon)$ значно зміщуються вліво (рис. 8, c-b). Це, зокрема, збільшує негативну деформацію слабозв'язаних містків групи 3, в кінці першої фази деформація цих містків опиняється біля межі $\epsilon \approx -1,5$ нм (рис. 8, d), за якою відбувається різке збільшення $k_{23}(\epsilon)$ (рис. 3, a). Перетин цієї межі (рис. 8, e), запускає **другу фазу східчастого скорочення** – слабозв'язані містки групи 3 починають швидко переходити в сильнозв'язаний стан (рис. 8, e-f), виконуючи робочий хід. Ці переходи, у свою чергу, призводять до різкого зростання позитивної сили півсаркомеру та його різкого скорочення. Якщо при $\epsilon < -1,5$ нм константа $k_{23}(\epsilon)$ продовжує зростати, тут також працює позитивний зворотний зв'язок.

- Невеличке скорочення в кінці сходинки – результат зменшення кількості сильнозв'язаних містків у групах 3 і 4 (рис. 8, f-g).

При розтягуванні (рис. 8, h-n) події розгортаються зворотним чином до подій при скороченні. **Сходинка** у траєкторії розтягування – результат зменшення сили півсаркомеру внаслідок зменшення кількості сильнозв'язаних містків, після перетину однією з груп містків границі $\epsilon \approx 1,5$ нм (група містків 2 на рис. 8, h-i). Це зменшення кількості сильнозв'язаних містків – результат зменшення k_{23} при перетині $\epsilon > 1,5$ нм (рис. 3, a). **Уповільнення швидкості розтягування в кінці сходинки** – результат поступового збільшення

сили, що виникає завдяки двом групам містків, які перетинають границі $\varepsilon \approx -2,5$ (група містків 1 на рис. 8, *i-k*) та $\varepsilon = 0$ нм (група містків 3 на рис. 8, *i-k*). У цих групах збільшується кількість слабозв'язаних поперечних містків. **Коротке плато після сходинки** (рис. 7, *b*, ділянка 3) – результат подальшого збільшення кількості сильнозв'язаних містків у групі 1 (рис. 8, *k-l*). Дивлячись на механізм сходинки при розтягуванні в цілому (рис. 8, *h-n*), можна представити його як зменшення сили у групі містків 2 протягом усієї сходинки, яке модулюється більш короткотривалими змінами сили протягом різних фаз сходинки завдяки іншим групам. **Пришвидшення дрейфу** на плато (рис. 7, *b* ділянка 4) пов'язано з зупинкою росту сили завдяки групам 1 і 3 (рис. 8, *m-n*) на фоні продовження зменшення сили завдяки групі 2 (рис. 8, *m-n*), кінетика цієї стадії визначається кінетикою хімічних змін у групі 2.

Величина сходинок. З наведеного аналізу також стає зрозумілим, чому повна амплітуда сходинок на рис. 7 збігається зі значенням періоду s . Періодичний характер траєкторій також означає періодичність змін стану популяції поперечних містків. Ця зміна відбувається у просторі ε та часі. Дискретність розподілів заселеності поперечних містків накладає обмеження на величину періоду просторових змін, механохімічний стан популяції поперечних містків може повторитися тільки при зміщеннях розподілів на величину, яка кратна відстані s (відстані між сусідніми стовпчиками розподілів).

У нашій моделі цикл змін розподілів триває доти, доки кожна з груп містків не займає місце сусідньої групи (з найближчим значенням ε до її власного), яке вона мала на початку циклу (наприклад, група 2, в кінці циклу (рис. 8, *f*), займе місце групи 3, яке вона мала на початку циклу (рис. 8, *f*), тому сумарна амплітуда сходинки буде збігатися зі значенням s . Теоретично також можливий сценарій, коли цикл буде тривати кілька s , у такому разі величина мінімальної великомасштабної сходинки буде у стільки ж разів більшою за s .

У формуванні великомасштабних сходинок, які є більшими за мінімальну (1,1 нм) в ціле число разів (рис. 6), ключову роль може відігравати шум. Кожна з таких великих сходинок складається з кількох мінімальних, що трапляються в часі майже одна за одною. Відносна кількість таких великих сходинок починає збільшуватися зі збільшенням швидкості скорочення чи розтягування. Півсаркомер скорочується з великою швидкістю при навантаженнях, що є значно меншими за ізометричне. Малі навантаження будуть збільшувати ймовірність хімічних переходів, що призводять до скорочення, також такі переходи в середньому буде викликати більше скорочення довжини, ніж при великих навантаженнях. Це зменшує тривалість пауз великомасштабних сходинок і робить більш ймовірною подію, коли декілька хімічних переходів, що викликають скорочення, виникнувши один за одним, перекинуть групу містків із деформаціями, що є близькими до $\varepsilon \approx -1,5$ нм через це граничне значення. При навантаженнях, які є значно більшими за ізометричне, буде, навпаки, зростати ймовірність і величина механічної реакції хімічних переходів, що призводять до розтягування, а це, знову ж таки, зумовлює збільшення ймовірності перетину $\varepsilon \approx -1,5$ нм зліва направо.

Відмінність мінімальної величини великомасштабних сходинок, отриманих у моделі (1,1 нм), від експериментального значення (2,7 нм) пов'язана з вибором параметрів l_{an} та l_{mn} у моделі. Під час розробки моделі [1] не стояла мета отримати східчасті зміни довжини, подібні до експериментальних. Але обравши інші l_{an} та l_{mn} , відповідно до (1) та (2), ми легко можемо отримати висоту сходинки, що в тому числі дорівнює і 2,7 нм. Крім того, як ми бачили, часові характеристики окремих фаз сходинки, а також їхній вклад у загальну амплітуду сходинки залежать від $k_{ij}(\varepsilon)$, тож сценарій молекулярного механізму, отриманий у рамках моделі [1], не є єдино можливим. Узагальнення механізму потребують подальших більш систематичних досліджень.

1. У рамках моделі [1] отримано траєкторії зміни довжини півсаркомеру в ізотонічному режимі, які мають східчасту форму. Статистика сходинок, а також її залежність від швидкості ковзання, подібна до такої, що спостерігається в експерименті.

2. Наявність сходинок є проявом синхронної роботи поперечних містків півсаркомеру. У разі скорочення сходинок виникають завдяки синхронному виконанню робочого ходу великою групою поперечних містків, а також синхронному зв'язуванню групи вільних. Під час розтягання сходинок виникають унаслідок синхронних відривів містків зі сильнов'язаного стану.

3. Синхронізація стає можливою завдяки дискретності деформацій еластичних елементів поперечних містків, яка наявна в моделі з дискретною ґраткою (на відміну від моделей типу моделі Хакслі, де деформація – безперервна величина). За наявності залежності констант швидкостей механохімічного циклу від деформації, ця дискретність призводить до формування груп містків із різними хімічними властивостями.

4. Ще однією необхідною умовою синхронізації є нелінійність залежних від деформації поперечних містків констант швидкості механохімічного циклу. Синхронні переходи групи містків, що мають однакову деформацію, виникають унаслідок різних змін їхніх хімічних властивостей. Вони відбуваються під час ковзання півсаркомеру, яке змінює константи швидкості.

5. Для наявності східчастих змін довжини саркомеру, швидкі синхронні переходи мають бути сполучені зі значними змінами деформації поперечних містків (наприклад, робочий хід) чи жорсткості півсаркомеру (відриви, зв'язування поперечних містків)

6. Додатковим фактором, який підсилює синхронність, може бути наявність позитивних зворотних зв'язків між змінами довжини під час синхронного переходу та його швидкістю.

7. Величина кроку зміни довжини півсаркомеру є кратною періодові дискретного набору деформацій еластичного елемента поперечних містків, яка, у свою чергу, залежить від періодичності розташування поперечних містків і зв'язувальних центрів на товстих і тонких філаментах відповідно.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Мищенко А. М., Беспалова С. В.* Пространственно распределенная модель полусаркомера с эластичным актином и миозином: зависимость скорость – сила // *Физика живого*. 2008. Т. 2. С. 38–57.
2. *Daniel T., Trimble A., Chase P.* Compliant realignment of binding sites in muscle: transient behavior and mechanical tuning // *Biophys. J.* 1998. Vol. 4. P. 1611–1621.
3. *Duke T.* Molecular model of muscle contraction // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999. Vol. 6. P. 2770–2775.
4. *Getz E., Cooke R., Lehman S.* Phase transition in force during ramp stretches of skeletal muscle // *Biophys J.* 1998. Vol. 6. P. 2971–2983.
5. *Little M., Steel B., Bai F.* et al. Steps and bumps: precision extraction of discrete states of molecular machines // *Biophys. J.* 2011. Vol. 2. P. 477–485.
6. *Liu X., Pollack G.* Stepwise sliding of single actin and Myosin filaments // *Biophys. J.* 2004. Vol. 1. Pt 1. P. 353–8.
7. *Nagornyak E., Pollack G., Blyakhman F.* Step size in activated rabbit sarcomers is independent of filament overlap // *J. Mech. Med. Biol.* 2004. Vol. 04. P. 485–498.

8. Pollack G., Blyakhman F., Liu X., Nagomyak E. Sarcomere Dynamics, Stepwise Shortening and the Nature of Contraction // Sliding Filament Mechanism in Muscle Contraction: Fifty Years of Research. Boston, MA. Springer US. 2005. P. 113–126.
9. Smith D., Mijailovich S. M. Toward a unified theory of muscle contraction. II: predictions with the mean-field approximation // Ann. Biomed. Eng. 2008. Vol. 8. P. 1353–1371.
10. Yakovenko O., Blyakhman F., Pollack G. Fundamental step size in single cardiac and skeletal sarcomeres // Am J Physiol Cell Physiol. 2002. Vol. 3. P. C735–42.

Стаття: надійшла до редакції 28.02.17

доопрацьована 11.07.17

прийнята до друку 13.09.17

THE ROLE OF SARCOMERE STRUCTURE IN CROSS-BRIDGES ACTIVITY SYNCHRONIZATION: TEORETICAL ANALYSIS OF STEPWISE LENGTH CHANGES IN SPATIALLY EXPLICIT STOCHASTIC MODEL

A. Mishchenko, G. Taradina

Vasyl' Stus Donetsk National University
4, Akademik Yanhelia St., Vinnytsia 21007, Ukraine
e-mail: a.mishchenko@donnu.edu.ua

Different aspects of relationship between sarcomere structure and muscle function are still poorly understood. Example of such relationship is sarcomeres stepwise contraction. Spatially explicit stochastic model of half-sarcomere was used to investigate molecular mechanism of its stepwise sliding under isotonic condition. A steps length distribution that was retrieved in model is similar to that obtained in the experiment. Molecular mechanism of stepwise sliding was analyzed. Stepwise filament sliding is the result of synchronous activity of the cross-bridges. Mechanism is based on a restrictions imposed by sarcomere lattice geometry on actin-myosin interactions. The key restriction concerns of mutual distances of cross-bridges and actin binding sites. In discrete sarcomere lattice with periodically disposed cross-bridges and actin sites those distances are also discrete. Due to strain dependency of cross-bridge kinetic their population is divided on discrete set of groups with different kinetic properties. Another necessary condition needed for the synchronization is nonlinearity of rate constants of chemical transition that is coupled with cross-bridge power stroke. Quantitative relationship between steps length in stepwise trajectory and thick and thin filaments geometry was shown. Step length was related with periodicities of cross-bridges and actin sites.

Keywords: sarcomere, stepwise length changes, spatially explicit model, sarcomere lattice geometry, molecular mechanism