УДК 621.386:616-073.7(045)

О. М. Ключко, канд. біол. наук, доц.

РОЗРОБЛЕННЯ ЕЛЕМЕНТІВ ДЛЯ ТЕЛЕВІЗІЙНИХ СИСТЕМ З ВИКОРИСТАННЯМ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

Інститут електроніки та систем управління НАУ, e-mail: iesy@nau.edu.ua

На основі отриманих експериментальних даних про електрохімічні властивості мембран нейронів та молекулярних комплексів у їх складі і особливо глутамат-керованих електричних трансмембранних струмів та їх блокаторів розглянуто можливості їх застосування під час конструювання радіотехнічних наноелементів для створення нових типів телевізійних систем.

Ключові слова: телевізійні системи, сигнали, електричні струми, нейрон, керування, нанотехнологія.

Вступ. У сучасну епоху нанотехнологій привабливою є ідея створення елементів для телевізійних та інших технічних систем, новітніх комп'ютерів на основі знань про фізико-хімічні властивості природних утворень, які можна назвати природними аналогами радіотехнічних і телевізійних пристроїв. У цій роботі наводимо результати експериментів з вивчення хемокерованих електричних трансмембранних струмів (ТЕХ-струмів) у мембранах нейронів головного мозку ссавців (ГМС). Спробуємо показати, що розглянуті об'єкти – молекули каналорецепторних комплексів (КРК), мембрани нейронів, нейрони гіпокампа самі по собі можуть використовуватися у телевізійних, інших технічних системах майбутнього як різноманітні нанопристрої, такі як наногенератори, випрямлячі нанострумів, логічні елементи, елементи пам'яті та інші.

Згідно з класичними уявленнями в живому організмі співіснують два механізми передавання інформації – за допомогою електричних імпульсів та активування електричних процесів деякими хімічними речовинами-агоністами. Обидва механізми пов'язані між собою, їх дослідження відображені у численних наукових працях з біофізики протягом останніх десятиліть та сформували сучасні уявлення про фізичні й хімічні механізми функціонування мозку. У цій роботі наведено неопубліковані раніше дані авторських досліджень деяких механізмів формування іонних ТЕХ-струмів (активованих глутаматом, каінатом, деяких інших агоністів) у мембранах гіпокампу щура, тобто у тому відділі головного мозку, який безпосередньо пов'язаний з процесами пам'яті. Наведено також дані досліджень дії ряду блокаторів глутаматного каналорецепторного комплексу (гКРК). Під час аналізу результатів експериментів дискутується питання щодо використання отриманих даних для створення окремих елементів сучасних біокомп'ютерів.

Постановка завдання. Дослідити фізико-хімічні властивості молекулярних комплексів поверхневих мембран нейронів – гКРК, електричні струми на мембранах з метою застосування цих знань для розроблення наноелементів під час створення нових типів телевізійних та інших технічних систем.

Методи експериментального дослідження ТЕХ-струмів на мембранах нейронів. Поширеними та достатньо розробленими методами дослідження ТЕХ-струмів через мембрани нейронів ГМС є методи фіксації потенціалу та фіксації концентрації на мембрані нейронів. Ці електрофізіологічні методи дослідження ТЕХ-струмів у різноманітних модифікаціях достатньо описані в публікаціях науковців Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця [1 – 5], у якому автор цієї роботи виконувала експериментальні дослідження. Схему експериментальної установки, на якій були отримані подані нижче результати, показано на рис. 1.

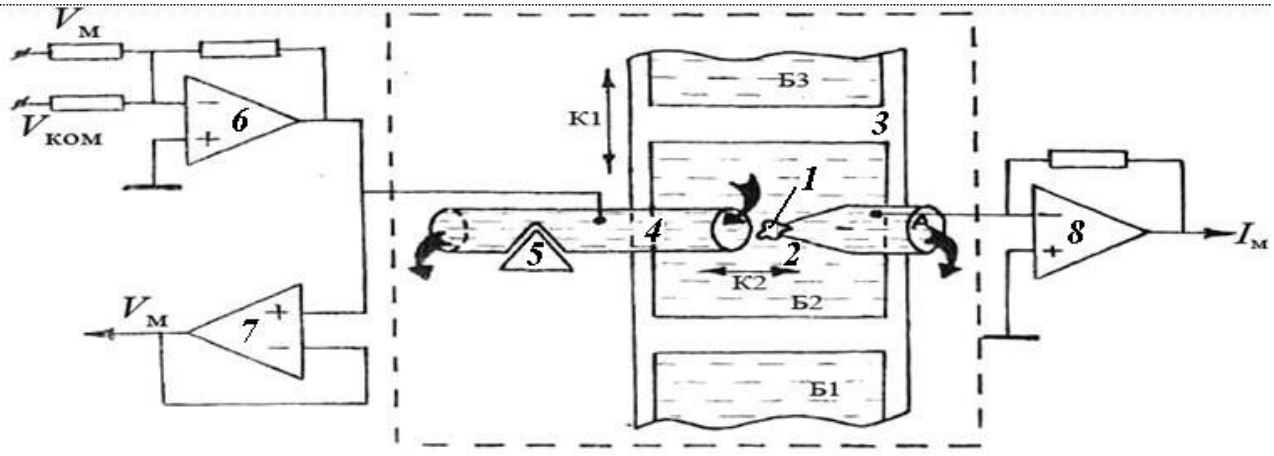


Рис. 1. Схематичне зображення експериментальної установки:
1 – нейрон на порі скляної мікропіпетки; *2* – піпетка, заповнена розчином А для внутрішньоклітинної перфузії; *3* – пересувна кювета Б з різними розчинами для аплікації (Б1, Б2, Б3) у 3 різних камерах; *4* – трубка, в якій клітина *1* переносилася з однієї камери в іншу; *5* – електромагнітний клапан; *6* – підсилювач підтримуваного потенціалу $V_м$ та команди $V_{ком}$; *7* – вимірювач потенціалу; *8* – підсилювач реєстрованих ТЕХ-струмів; $I_м$ – ТЕХ-струм

На схематичному зображенні експериментальної установки (рис. 1) стрілка К1 – показує напрямок переміщення камер з цими розчинами. У трубці *4* також відбувались аплікації речовин на поверхню мембрани під час виконання наступних процедур; клітина *1* на мікропіпетці *2* вводилася в трубку *4* (стрілка К2 показує напрямок переміщення); з відкриттям електромагнітного клапана *5* здійснювалась швидка аплікація розчину Б2, який всмоктується в трубку за рахунок від'ємного гідростатичного тиску; темними стрілками показано напрямок руху розчинів при аплікації в трубці *4* та мікропіпетці *2* при посадці клітини на пору; пунктирна лінія обмежує механічну частину схеми експериментальної установки.

Методика проведення експерименту. Ізольовані нейрони, або скло з культивованими нейронами вміщували в камеру з прозорим дном, заповнену позаклітинним розчином Б2 (рис. 1). Для експерименту брали нейрони гіпокампу мозку щурів, оскільки ця структура мозку відповідає за процеси пам'яті, і дослідження нейронів гіпокампу є особливо важливим для вирішення завдань створення пристроїв пам'яті нових типів. Потім під контролем інвертованого мікроскопа нейрон поміщали на скляну мікропіпетку з діаметром отвору 3–4 мкм. Культивовані нейрони при цьому спочатку підтягували до мікропіпетки за допомогою негативного гідростатичного тиску, створюваного всередині неї, а потім відривали обережним рухом піпетки мікроманіпуляторами. Частину мембрани нейрона, повернену до отвору піпетки, проривали, а нейрон перфузували розчином, який заповнював мікропіпетку. При деполяризації мембрани нейрона в інтервалі від мінус100 – 30 мВ у цих умовах спостерігали електрозбуджені струми: вхідний ТТХ-чутливий натрієвий і вихідний калієвий.

Після стабілізації струмів витоку на мембрану нейрона можна було аплікувати різні речовини (рис. 1). Для цього нейрон на кінці мікропіпетки, не виймаючи з розчину Б2, вводили в отвір скляної трубки, що також був заповненим розчином Б2. У заповненій розчином трубці нейрон можна було переносити в експериментальні камери, заповнені розчином для аплікації без пошкодження мембрани. На іншому кінці трубки розміщувалося джерело від'ємного гідростатичного тиску, яке подавалося на систему за допомогою електромагнітного клапана. При відкриванні клапана розчин для аплікації засмоктувався в отвір трубки і надходив до мембрани нейрона. Час повної зміни позаклітинного розчину в експериментах становив близько 20 мс. У разі зворотного перенесення клітини в камеру з розчином Б речовини після аплікації можна було видалити (відмити).

Записи іонних ТЕХ-струмів проводилися синхронно з відкриванням електромагнітного клапана. Після посилення на каскаді зі змінним коефіцієнтом передачі (1–100) сигнал

надходив на фільтр низьких частот (частота зрізу 1 кГц), а потім на контрольний осцилограф. Одночасно сигнал надходив на аналого-цифровий перетворювач, а з нього – в пам'ять ПК, куди записували дані в цифровому вигляді. Схему алгоритму проведення експерименту з реєстрації ТЕХ-струмів показано на рис. 2.

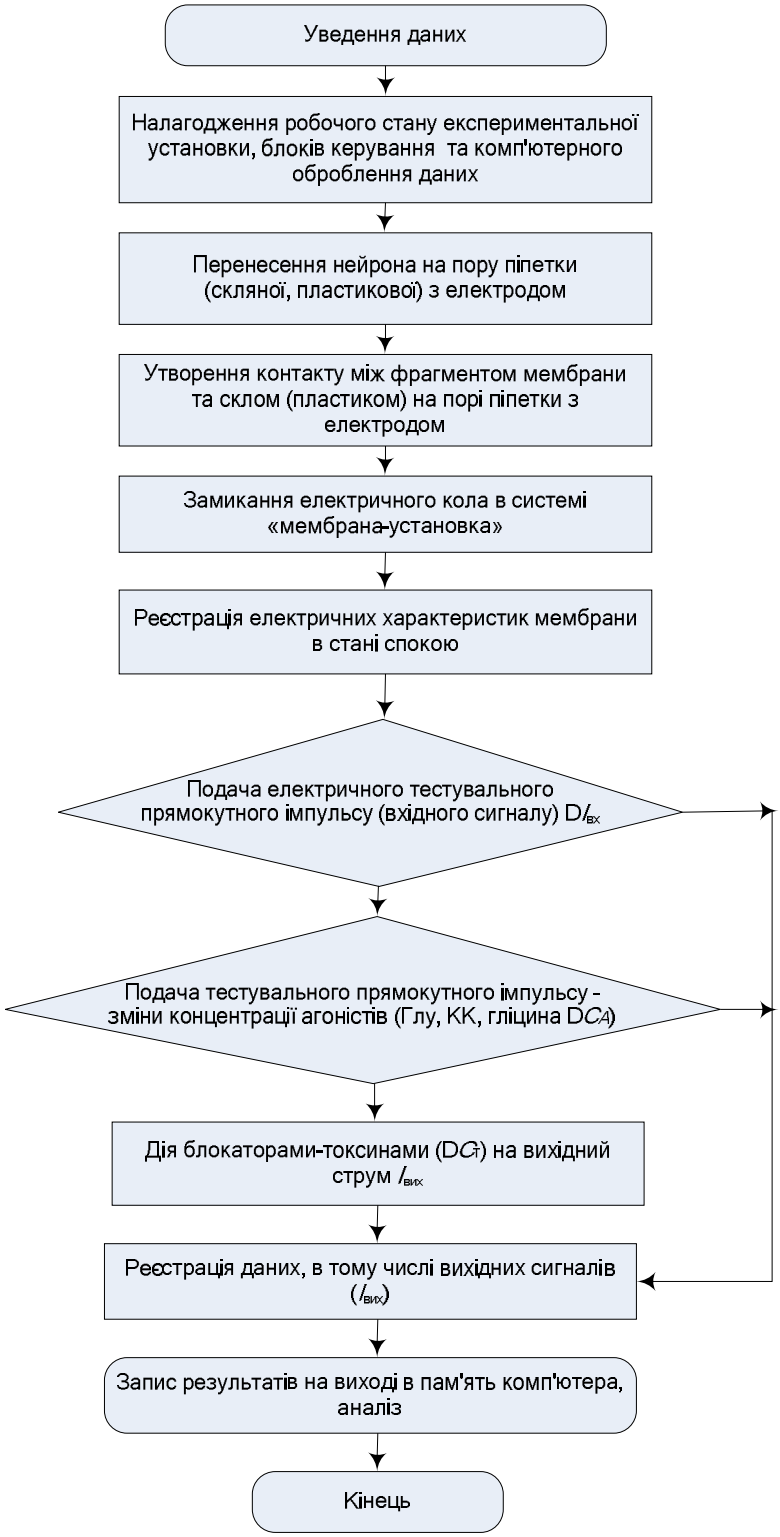


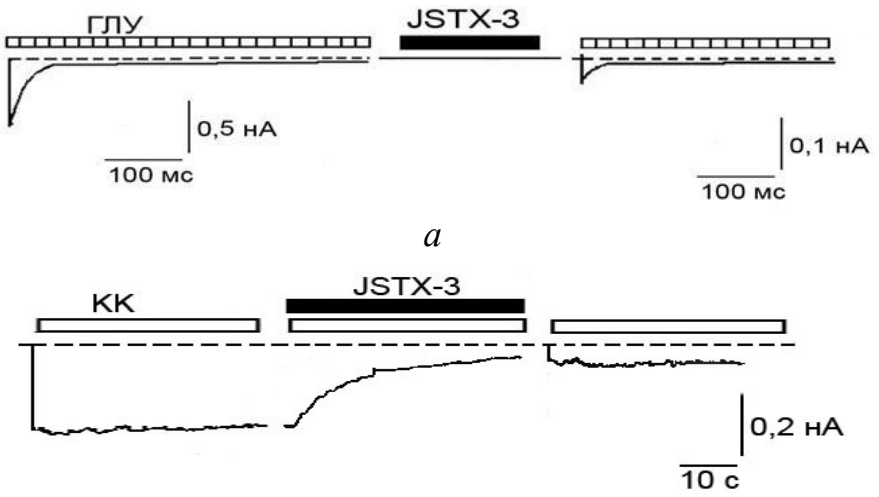
Рис. 2. Схема алгоритму експериментального процесу дослідження ТЕХ-струмів на нейронах гіпокампу методами фіксації потенціалу на мембрані та фіксації концентрацій аплікованих речовин: $I_{вх}$ – вхідний струм, що подається на вхід мембрани (наприклад, тестувальний прямокутний імпульс); $I_{вих}$ – струм-відповідь, що реєструють на виході після дії на мембрану вхідного сигналу

Електричні струми у природних нанооб'єктах та дія на них блокаторами. В експериментах з реєстрації ТЕХ-струмів на мембранах нейронів ГМС при дії на них блокаторами можна бачити, що ряд нанооб'єктів природного походження демонструють функції радіо- або електротехнічних елементів. Такими об'єктами у дослідах були 1) нейрони самі по собі, 2) фрагменти їх поверхневих мембран; 3) КРК мембран.

Каналорецепторні комплекси являють собою комплекс білкових молекул, який є електроактивним у тому сенсі, що через нього можуть проходити електричні струми у вигляді потоку іонів – ТЕХ-струми. Каналорецепторний комплекс має дві функціонально важливі частини – канальну та рецепторну. Струми через КРК проходять крізь канальну частину (канал) унаслідок активації його рецепторної частини (рецептор). У свою чергу, для того, щоб виникнув струм, рецептор має бути активованим молекулою речовини, що має загальну назву «агоніст» (А). Протягом останніх десятиліть отримано численні результати досліджень виникнення електричних імпульсів на нейронах ГМС у відповідь на електричний подразнювальний імпульс (електроактивовані струми), або у відповідь на хімічний подразнювальний вплив (хемоактивовані струми). На нашу думку, ці дані можуть бути застосовані при створенні окремих елементів, вузлів телевізійних систем, комп'ютерів, інших технічних пристроїв, оскільки ці дані характеризують молекулярні механізми виникнення елементарних струмів, з якими у промисловості вже стало можливим працювати в епоху нанотехнологій.

На початку досліджень базувалося на стандартній парадигмі виникнення ТЕХ-струмів через КРК. Вважали, що струми $I_{вих}$, реєстровані під час експерименту, формуються внаслідок проходження електричних зарядів (іонів) через канал молекули гКРК, які вбудовані в мембрану нейрона гіпокампа. Вважали також, що молекула гКРК із зовнішнього боку мембрани має рецепторний локус для агоніста А (глутамата та каїната), сполучений з каналом, по якому починають протікати іони після приєднання молекули А (виникає струм). Молекула КРК могла перебувати у 3 основних станах: 1) спокою, 2) активації, 3) інактивації, яким відповідали стани каналу: 1) закритий, 2) відкритий, 3) закритий (інактивований). В експериментах досліджували дію молекул–блокаторів ТЕХ-струмів, які являли собою токсини павуків-аранеід N.clavata та A.lobata (позначали, як Т - токсин). Молекула блокатора також приєднувалась до частини КРК із зовнішнього боку мембрани, її локус зв'язування до локусу зв'язування А на початку експериментів був невідомий. Надалі наводимо інформацію лише про дії блокаторів з отрути павука Nephila clavata, де цільна отрута позначена як JSTX-ЦЯ, а виділений із нього токсин – JSTX-3. Молекули цих блокаторів ТЕХ-струмів можна розглядати як відповідні інструменти для дослідження гКРК, а за спроби створити штучну наносистему КРК, що генерує ТЕХ-струм, пропонуємо її застосувати як фактор керування ТЕХ-струмами.

В експериментах досліджено близько 300 нейронів гіпокампа ГМС. Усі досліджені нейрони виявили електрозбудливість. Деполяризувальне зміщення мембранного потенціалу від мінус 100 до мінус 30 мВ ініціювало трансмембранні іонні струми: вихідний калієвий струм та вхідний ТТХ-чутливий натрієвий. В мембранах також можна було активізувати вхідні іонні струми за підтримуваних потенціалів від мінус 100 до +20 мВ при аплікації таких агоністів, як *L*-глутамат (Глу) та каїнат (КК) (рис. 3). КК-керовані струми в експериментах досліджували частіше з таких причин. При взаємодії рецептора молекули КРК та молекули агоніста КК активувалися вхідні стаціонарні струми з амплітудою, яка була сталою протягом десятків мілісекунд (рис. 3, *б*, 4). Такий характер струмів був зручним для дослідження кінетики дії блокаторів, інших характеристик. Водночас, як було показано у попередніх експериментах, молекули агоністів Глу і КК діють на один і той же тип молекул КРК (гКРК).



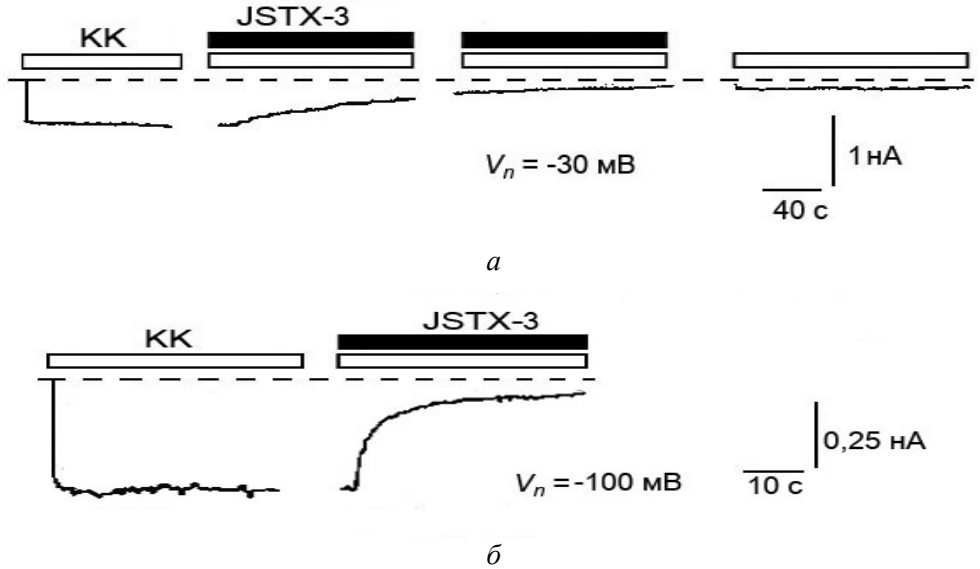
а

б

Рис. 3. Блокування токсином JSTX-3: *а* – глутаматактивованих; *б* – каінатактивованих іонних струмів

Після отримання контрольної відповіді на КК токсином JSTX-3 впливали на фоні КК-активованого струму. Концентрація ГЛУ та КК – 1 ммоль/л, JSTX-3 – 10–4 моль/л. Підтримуваний потенціал – 50 мВ. Записи рис. 3, *а* і *б* зроблені на різних нейронах.

У грунтовних дослідженнях різних аспектів дії зазначених блокаторів ТЕХ-струмів на гКРК були всебічно вивчені механізми та різні характеристики дії блокаторів. Наприклад, дія всіх досліджених блокаторів залежала від підтримуваного на мембрані потенціалу (рис. 4).



а

б

Рис. 4. Потенціалозалежність дії JSTX-3

Швидкість блокування токсином зменшувалася при значенні підтримуваного потенціалу мінус 30 мВ (рис. 4, *а*) порівняно з аналогічним експериментом за мінус 100 мВ (рис. 4, *б*). Записи зроблено послідовно на одному нейроні, посилення (рис. 4, *б*) змінено порівняно з (рис. 4, *а*). Концентрація КК – 1 ммоль/л, JSTX-3 – 10^{-4} моль/л

Обговорення та висновки. Наведені дані, на нашу думку, можуть бути експериментальним обгрунтуванням застосування підходів нанобіоніки у процесі розроблення нанопристроїв для радіотехнічних і телевізійних систем. Ґрунтовне вивчення механізмів взаємодії молекул КРК, А, Т дасть змогу змоделювати на молекулярному рівні функціонування таких нанопристроїв, як наногенератори, випрямлячі нанострумів, логічні

елементи, елементи пам'яті та ін. Маючи нанорозміри (будучи молекулами та комплексами молекул), такі пристрої мають функції, адекватні тим, що натепер виконують пристрої-аналоги з макророзмірами. Дія молекул-блокаторів на ТЕХ-струми в цих системах дає змогу керувати роботою таких нанопристроїв. Відповідно, якщо така наносистема інкорпорована як підсистема у технічну традиційного типу (радіотехнічну або телевізійну систему), то керовані ТЕХ-струми можуть забезпечити взаємозв'язок підсистем.

Важливим для біонічних моделей є те, що всі розглянуті ефекти реєструвалися на мембранах нейронів гіпокампу щура, тобто на такій структурі мозку, яка еволюційно пов'язана з процесами пам'яті. У світлі таких підходів виглядає реальною ідея розроблення «біокомп'ютера» –комп'ютера нового типу, у якому функціональні елементи штучно створені на основі описаних та подібних до них результатів.

У наступних публікаціях сподіваємося надати повніші дані.

Список літератури

1. *Костюк П. Г.* Кальций и клеточная возбудимость / П. Г. Костюк. – М.: Наука, 1986. – 254 с.
2. *Костюк П. Г.* Механизмы электрической возбудимости нервной клетки / П. Г. Костюк, О. А. Крышталь. – М.: Наука, 1981. – 204 с.
3. *Pharmacological* properties of amino – acid receptors in isolated hippocampal neurons / O. Krishtal, N. Kiskin, A. Tsyndrenko, E. Klyuchko // Walter de Gruyter – Berlin (Germany), Receptors and ion channels. – 1987. – P. 127–137.
4. *Чижмаков И. В.* Исследование механизма действия градиента осмотического давления на входящий натриевый ток / И. В. Чижмаков // Биологические мембраны. – 1988. – Т.5, №5, – С. 517–527.
5. *Jabs R.* Synaptic transmission onto hyppocampal glial cells with hGFAP promoter activity / R. Jabs, T. Pivneva, K. Huttmann // Journal of Cell Science. – 2005. – V.118. – P. 3791–3803.
6. *Сигворс Ф.* Регистрация одиночных каналов / Ф. Сигворс, Б. Сакман, Э. Неер – М.: Мир, 1987. – 448 с.

Е. М. Ключко

Разработка элементов для телевизионных систем с использованием нанотехнологий

На основе полученных экспериментальных данных об электрохимических свойствах мембран нейронов и молекулярных комплексов в их составе и особенно глутамат-управляемых электрических трансмембранных токов и их блокаторов рассмотрены возможности их применения при конструировании радиотехнических наноэлементов для создания новых типов телевизионных систем.

E. M. Klyuchko

Development of elements for television systems with use of nanotechnologies

On the base of obtained experimental data about electrochemical properties of neuron membranes and molecular complexes in them, and especially glutamate-controlled electrical transmembrane currents and their blockers there are discussed the possibilities of their use for the construction radiotechnical nanoelements for the development of new types of television systems.