

В. С. МАРКИН, Е. А. ЛИБЕРМАН

ТРАНСПОРТ ИОНОВ ЧЕРЕЗ ФОСФОЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ В МОДЕЛИ ПЕРЕНОСЧИКОВ С УЧЕТОМ НЕПОДВИЖНЫХ СЛОЕВ ЖИДКОСТИ

(Представлено академиком А. И. Фрумкин^{ым} 1 III 1971)

Исследование ионного транспорта через искусственные фосфолипидные мембраны в последние годы стало весьма актуальной задачей благодаря открытию того факта, что небольшие добавки разобщителей окислительно-фосфорилирования, а также ряда антибиотиков, существенно повышают проводимость мембран. Было предложено для механизма ионного транспорта — механизм переносчиков (¹⁻⁴) и механизм эстафеты (^{5, 6}), а также обобщенная модель (^{7, 8}), обладающая свойствами того и другого механизма. В настоящей работе мы еще раз остановимся на механизме переносчиков.

Почти во всех опытах с разобщителями окислительного фосфорилирования наблюдается характерная колоколообразная зависимость проводимости мембран от концентрации переносимого иона с максимумом, расположенным в районе pK соответствующего разобщителя. Первые теоретические работы по переносчикам не дали такой зависимости (⁹). Поэтому в работах (¹⁻⁴) была введена существенно новая деталь — гетерогенная реакция переносимого иона с частицей переносчика. В результате удалось объяснить немонотонную зависимость проводимости от концентрации ионов, причем внутри мембраны механизм переноса может быть либо диффузионным, либо активационным. Как показано в работе (³), оба подхода дают близкие результаты, которые просто совпадают в случае малых долей. Расчет одного из этих вариантов был повторен в работе (¹⁰). В настоящей работе будет рассмотрена еще одна причина, которая приводит к немонотонной зависимости проводимости от концентрации ионов.

Вблизи поверхности мембраны всегда имеется неподвижный слой раствора, который не захватывается конвекцией. Его толщина h исчисляется десятками долями миллиметра (¹¹). Здесь перенос веществ осуществляется диффузией, и их концентрации могут отличаться от объемных. За счет этих неподвижных слоев можно осуществить такой же циклический транспорт ионов, как и за счет поверхностной реакции.

Пусть в растворе имеются ионы A с валентностью z_A , которые не проникают через мембрану. Кроме того, в растворе присутствуют жирорастворимые ионы T с валентностью z_T , которые могут давать комплекс $L \equiv AT$, с зарядом $z_L = z_A + z_T$. Комплекс также растворим в мембране. Концентраций этих ионов в объеме раствора будем обозначать соответствующими буквами A , T и L . Они связаны уравнением диссоционного равновесия $AT = \zeta L$. Следовательно, $T = b\zeta / (A + \zeta)$ и $L = bA / (A + \zeta)$, где b — суммарная концентрация переносчика в растворе. Как и в предыдущих работах, примем для мембраны трехконденсаторную схему (рис. 1). Внешняя разность потенциалов, приложенная к мембране, распределяется между границами и объемом мембраны (⁴). Под действием поля константы переходов ионов изменяются в $\exp(\pm z\beta\phi_i)$ раз, где β обозначает число Фарадея, деленное на газовую постоянную и абсолютную температуру. Рассматривая прохождение постоянного тока, находим проводимость мем-

браны в малых полях:

$$\begin{aligned}
 g = \beta F \left\{ z_T^2 k_1 v_T \left(k_4 + k_6 + \frac{k_2 k_6 A}{k_2} + 2v_L \right) \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{h \xi} \right) T + \right. \\
 + z_L^2 k_5 v_L \left(k_2 + k_3 A + \frac{k_2 k_4}{k_6} + 2v_T \right) \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{h \xi} \right) L + \\
 + 2z_A^2 v_T v_L \frac{k_5}{k_6} \left[k_4 \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{h \xi} \right) + k_1 (k_4 + k_6) + \frac{k_4 k_5 A}{\xi} \right] L \left. \right\} \times \\
 \times \left\{ \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{h \xi} \right) [k_3 A (k_6 + 2v_L) + (k_2 + 2v_T)(k_6 + 2v_L + k_4)] + \right. \\
 + 2k_1 v_T (k_4 + k_6 + 2v_L) + \frac{2v_L k_5 A}{\xi} (k_2 + 2v_T + k_3 A) + \\
 \left. + 2k_1 k_3 v_L A + \frac{2k_4 k_5 v_T A}{\xi} \right\}^{-1}, \quad (1)
 \end{aligned}$$

где D_T и D_L — коэффициенты диффузии в воде.

Чтобы проанализировать эту длинную формулу, рассмотрим несколько частных случаев. Предположим, что ионов A в растворе нет, $A = 0$. Тогда

нет и комплексов L . Единственным проникающим ионом оказывается ион T , и формула для проводимости упрощается:

$$g = \frac{\beta F z_T^2 T}{2h/D_T + 2/k_1 + k_2/(k_1 v_T)}. \quad (2)$$

Это проводимость для единственного проникающего иона, которая была подробно исследована в работе (12). Проводимость пропорциональна концентрации ионов T , деленной на сумму сопротивлений отдельных стадий. Последний член в этой формуле кроме величины $1/v_T$ содержит еще множитель k_2/k_1 , поскольку именно во столько раз концентрация ионов в

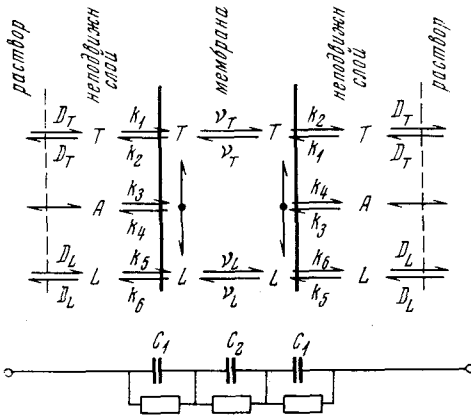


Рис. 1. Механизм ионных переходов в мембране и эквивалентная электрическая схема

воде отличается от концентрации в мембране. Отсюда хорошо видно, что если какая-нибудь стадия является быстрой, то соответствующий член просто исчезает из формулы.

Рассмотрим другой частный случай. На границе мембраны происходит обмен ионами T , A и L . Предположим, что обмен ионами T и L идет медленно по сравнению с другими стадиями. Тогда, считая константы k_1 , k_2 , k_3 , k_6 в формуле (1) малыми по сравнению с $k_3 A$ и k_4 , мы можем ее упростить:

$$g = \beta F z_A^2 v_T v_L \frac{k_5}{k_6} k_4 L / (k_3 A v_L + k_4 v_T + 2v_T v_L). \quad (3)$$

Это известная формула для проводимости на переносчиках, обсуждавшаяся в (1, 2, 7, 9). В таком механизме «карусель» из переносчиков «крутится» внутри мембраны, подхватывая переносимый ион на одной стороне мембраны и выбрасывая его на другой (рис. 2а).

Однако в формуле (1) заложена и еще одна «карусель». Чтобы яснее понять ее природу, предположим, что обмен ионами A на границе мембраны идет медленно. Тогда членами, содержащими константы k_3 и k_4 , в формуле (1) можно пренебречь. Только что рассмотренная «карусель» в этом

случае полностью исчезает:

$$g = \beta F \left\{ z_T^2 k_1 v_T (k_6 + 2v_L) T + z_L^2 k_5 v_L (k_2 + 2v_T) L \right\} \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{\zeta h} \right) + \\ + 2z_A^2 k_1 k_5 v_T v_L L \left\{ (k_2 + 2v_T) (k_6 + 2v_L) \left(\frac{D_T}{h} + \frac{D_L A}{\zeta h} \right) + \right. \\ \left. + 2k_1 (k_6 + 2v_L) v_T + \frac{2k_5 v_L A}{\zeta} (k_2 + 2v_T) \right\}^{-1}. \quad (4)$$

В таком варианте ионы проходят насквозь из одного раствора в другой. Если бы неподвижных слоев не было, т. е. $h = 0$ или $D = \infty$, то мы имели бы просто прямое прохождение ионов **T** и **L**:

$$g = \frac{\beta F z_T^2 T}{2/k_1 + k_2/(k_1 v_T)} + \\ + \frac{\beta F z_L^2 L}{2/k_5 + k_6/(k_5 v_L)}. \quad (5)$$

Действительно, формула распалась на два независимых слагаемых, описывающих прямое прохождение каждого из ионов через мембрану. Проводимость в этом случае пропорциональна полной концентрации переносчика в растворе. Разумеется проводимость зависит и от концентрации ионов **A**. Легко убедиться, что эта зависимость монотонна, так что проводимость плавно изменяется от одного предельного значения до другого, причем может как убывать, так и возрастать в зависимости от того, какие ионы, **T** или **L**, создают большую проводимость.

В рассмотренном варианте циклического переноса иона **A** нет, «карусель» здесь не крутится. Поэтому мы рассмотрим противоположный случай, когда роль неподвижных слоев жидкости наиболее эффективна. Будем считать, что коэффициенты диффузии в воде D малы или, что эквивалентно, велика толщина неподвижных слоев h . Тогда из формулы (4) получаем

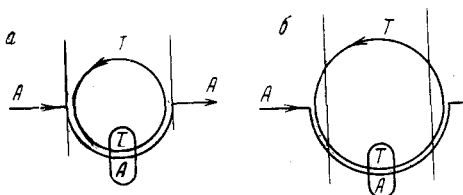


Рис. 2. Циклический перенос ионов. а — «большая карусель», б — «малая карусель»

$$g = \frac{\beta F z_A^2 k_1 k_5 v_T v_L \zeta L}{k_1 v_T (k_6 + 2v_L) \zeta + k_5 v_L (k_2 + 2v_T) A} = \frac{\beta F z_A^2}{1/v_T [T] + 2/(k_1 T) + 1/v_L [L] + 2/(k_5 L)}. \quad (6)$$

При выводе этой формулы мы пренебрегли диффузией ионов **T** и **L** в неподвижных слоях. Следовательно, в цепи в конечном счете переносятся только ионы **A**. Их перенос имеет циклический характер и осуществляется с помощью переносчиков **T**. Следовательно, в этом случае так же крутится «карусель», но в отличие от предыдущей она захватывает раствор электролита в неподвижных слоях (рис. 2б). Такую «карусель» будем называть большой в отличие от предыдущей малой. Возникновение «большой карусели» объясняется тем, что при наличии неподвижных слоев появилась возможность сдвинуть по мембране концентрацию ионов **T** и **L** в растворе у поверхности мембраны относительно равновесной концентрации.

Формула для проводимости (6), особенно в конечном виде, очень наглядна. Поскольку в «карусели» все стадии проходятся последовательно, то в знаменателе стоит сумма сопротивлений всех стадий. Член $1/v_T [T]$ описывает сопротивление объема мембраны. Слагаемое $2/(k_1 T)$ описывает сопротивление границ для частиц **T**; поскольку граница проходит дважды, то это слагаемое входит с коэффициентом 2. Таков же смысл слагаемых, описывающих прохождение ионов **L**.

Рассмотрим теперь зависимость проводимости (6) от концентрации переносимых ионов **A**. Легко убедиться в том, что эта зависимость не моно-

тонна (рис. 3а). Кривая имеет максимум, расположенный в точке

$$A_m = \zeta \sqrt{k_1 v_T (k_3 + 2v_L) / k_3 v_L (k_2 + 2v_T)}. \quad (7)$$

Если частицы Т и L проходят через мембрану примерно одинаково, то радикал близок к единице и максимум проводимости достигается при концентрации, соответствующей рК переносчика. Напомним, что в «малой карусели», действующей в пределах мембраны, проводимость также имела максимум, расположенный в точке



$$A_m = \sqrt{\frac{\zeta v_T}{k_3} \left(\frac{k_4}{v_L} + 2 \right)}. \quad (8)$$

Рис. 3. Зависимость проводимости мембраны от концентрации переносимого иона. а — действует одна «карусель», б — действуют одновременно две карусели

Как указано в работах (1, 2), при довольно разумных предположениях эта точка может совпадать с рК переносчика.

В общем случае, когда все каналы в мембране работают со сравнимой интенсивностью, могут действовать одновременно обе «карусели». Если их максимумы достаточно далеко отстоят друг от друга, то кривая зависимости проводимости от концентрации А может иметь два максимума (рис. 3б).

Эксперимент показывает, что при введении в раствор разобщителей окислительного фосфорилирования проводимость мембран носит преимущественно протонный характер. Это позволяет утверждать, что прохождение разобщителей затруднено либо на границе мембраны, либо в неподвижных слоях*.

Авторы приносят благодарность Ю. А. Чизмаджеву за обсуждение работы.

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
1 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. С. Маркин, Л. И. Кришталлик и др., Биофизика, 14, 256 (1969).
² В. С. Маркин, В. Ф. Пастушенко и др., Биофизика, 14, 462 (1969). ³ В. С. Маркин, Мол. биол., 3, 610 (1969). ⁴ В. С. Маркин, В. А. Ключков и др., Биофизика, 16, 626 (1971). ⁵ В. Г. Левич, В. С. Маркин, Ю. А. Чизмаджев, Вестн. АН СССР, № 9, 60 (1969). ⁶ Ю. А. Чизмаджев, В. С. Маркин, Р. Н. Куллин, Биофизика, 16, 2, 3 (1971). ⁷ L. J. Bruner, Biophysik, 6, 241 (1970). ⁸ С. Х. Айтъян, В. Г. Левич и др., ДАН, 193, 1402 (1970). ⁹ J. Sandblom, G. Eisenman, J. L. Walker, J. Phys. Chem., 71, 3862, 3871 (1967). ¹⁰ P. Lauger, G. Stark, Biochim. et biophys. acta, 211, 458 (1970). ¹¹ К. Феттер, Электрохимическая кинетика, М., 1967. ¹² О. Н. Le Blanc, Biochim. et biophys. acta, 193, 350 (1969). ¹³ О. Н. Le Blanc, J. Membr. Biol., 4, 227 (1971).

* *Примечание при корректуре.* Только что появилась работа (13), в которой анализируется «большая карусель».