

УДК 577. 37

БИОФИЗИКА

М. П. БОРИСОВА, Л. Н. ЕРМИШКИН, А. Я. ЗИЛЬБЕРШТЕЙН

**ИССЛЕДОВАНИЕ ОДИНОЧНОГО КАНАЛА ПРОВОДИМОСТИ  
В ЛИПИДНОМ БИСЛОЕ**

*(Представлено академиком Г. М. Франком 25 I 1974)*

За последние четыре года в ряде работ <sup>(1-4)</sup> были описаны свойства одиночных каналов ионной проводимости, образуемых в бимолекулярных липидных мембранах бактериальным рибонуклеопротеидом <sup>(5)</sup> ЕИМ (excitability inducing material). Было показано, что проводящий канал избирательно проницаем для ионов щелочных металлов, причем коэффициенты проницаемости для них относятся как соответствующие подвижности в воде <sup>(3)</sup>. Канал имеет несколько состояний (от двух до четырех в зависимости от липидного состава мембраны) <sup>(4)</sup> с разной проводимостью. Канал переходит из состояния в состояние резким скачком. При больших потенциалах более вероятны состояния с меньшей проводимостью, поэтому вольт-амперная характеристика мембраны, содержащей много каналов ЕИМ, имеет участок с отрицательным дифференциальным сопротивлением <sup>(2)</sup>.

Настоящая работа была предпринята с целью детального изучения свойств одиночного канала проводимости, образованного ЕИМ в липидном бислое (мембранны из раствора 67% яичного лецитина, 30% холестерина и 3% фосфатидной кислоты в концентрации 20 мг смеси липидов в 1 мл *n*-декана). ЕИМ получали из *Aerobacter cloaceae* по методу, описанному Мюллером и др. <sup>(6)</sup>. Мембранны образовывали на отверстии площадью 0,2  $\text{мм}^2$  в стенке тефлонового стаканчика. Обычно растворы содержали 0,1  $M$   $\text{NaCl}$  и 5  $\text{mM}$  гистидинхлорида,  $\text{pH}$  6,8 (стандартный раствор). Ток

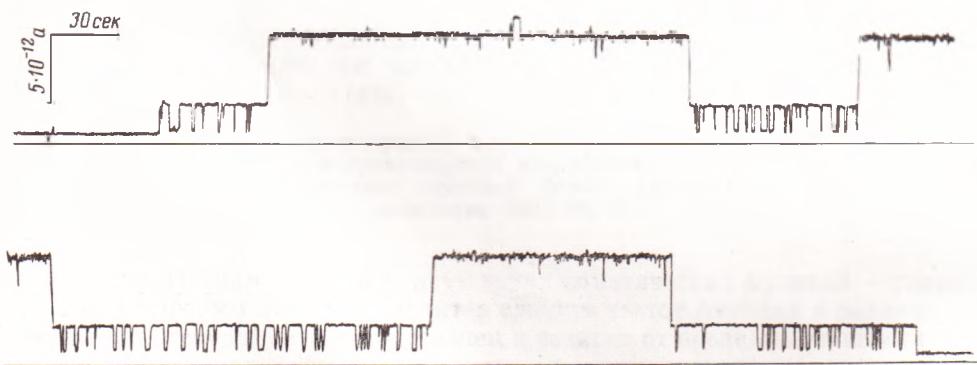


Рис. 1. Изменение во времени тока через мембрану с одним каналом ЕИМ. Нижняя запись — продолжение верхней. Растворы стандартные (см. текст). Напряжение на мембране 29 мв. Прямые линии отмечают нуль тока

через мембрану измеряли электрометрическим усилителем У1-2 и регистрировали потенциометром КСП-4. Потенциал внутреннего раствора принят равным нулю. Мембранный потенциал всюду указан как потенциал внешнего раствора. ЕИМ вводили во внешний раствор. Все измерения проведены при комнатной температуре (20—23°).

Типичная запись тока через одиночный канал при постоянном напряжении на мембране 29 мв приведена на рис. 1. Канал имеет три дискретных состояния I, II и III с проводимостями 10, 70 и 250 пмо (1 пмо =  $10^{-12}$  ом $^{-1}$ ). В начале записи виден ток через мембрану без проводящих каналов, которая имеет проводимость 20—25 пмо. Происходят частые переходы между состояниями I и II. Значительно реже происходят переходы между состояниями II и III. Непосредственные переходы канала между состояниями I и III не наблюдались. Средние времена жизни в состояниях I, II и III равны соответственно 0,8; 3,3 и 140 сек. На рис. 1 показана только часть записи, продолжавшейся 40 мин. За это время характер переходов не изменился, а величины проводимости канала в трех состояниях в конце измерения были такими же, как и в начале. За 40 мин. канал совершил более 500 переходов из состояния I в II и столько же обратных переходов. На рис. 2 приведены гистограммы, показывающие распределение времени жизни канала в состояниях I и II. Канал тот же, что и на рис. 1. Амплитуды и постоянные времени экспонент найдены из соответствующих графиков в полулогарифмическом масштабе

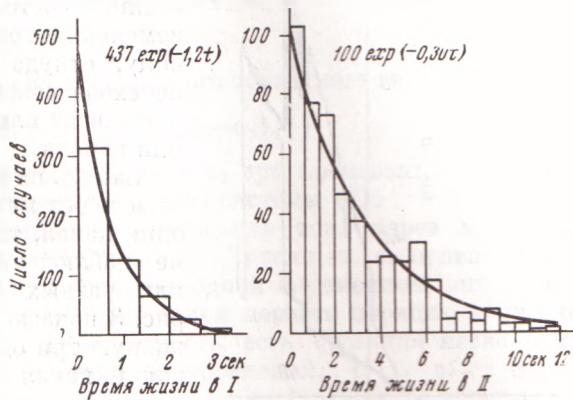


Рис. 2. Гистограммы времени жизни канала в состоянии I и II. Канал тот же, что и на рис. 1. Амплитуды и постоянные времени экспонент найдены из соответствующих графиков в полулогарифмическом масштабе

Рис. 3. Изменение во времени тока через мембрану с тремя каналами EIM. В момент, указанный стрелкой, включено постоянное напряжение 20 мв. Нижняя запись — продолжение верхней. Растворы стандартные. Тройки цифр около стрелок показывают комбинации состояний трех каналов в данный момент

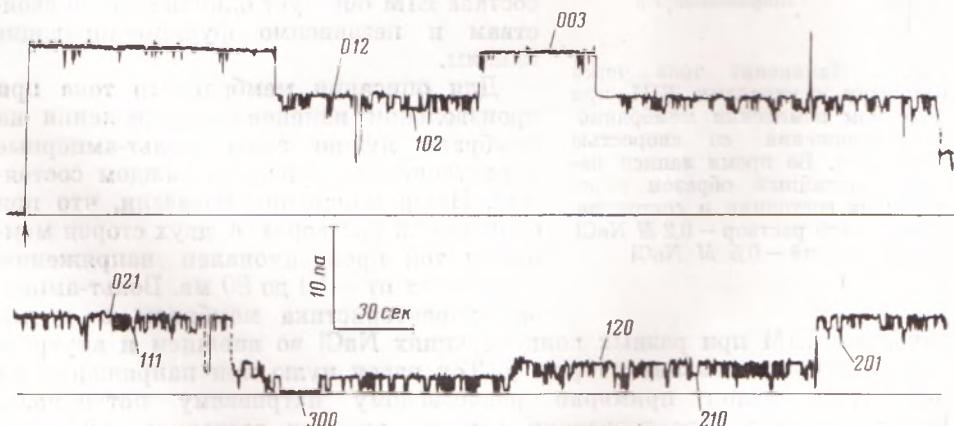


Рис. 3. Изменение во времени тока через мембрану с тремя каналами EIM. В момент, указанный стрелкой, включено постоянное напряжение 20 мв. Нижняя запись — продолжение верхней. Растворы стандартные. Тройки цифр около стрелок показывают комбинации состояний трех каналов в данный момент

в II равна  $1,2 \text{ сек}^{-1}$ , вероятность обратного перехода  $0,30 \text{ сек}^{-1}$ . Обе вероятности слабо зависят от мембранных потенциалов. Напротив, вероятности переходов между состояниями II и III сильно зависят от приложенного к мембране напряжения. Поскольку переходы между II и III очень редки, не удается количественно охарактеризовать эту зависимость. Каче-

ственno эта зависимость была исследована на мембране, содержащей около 20 каналов. После приложения 60 мв наблюдается спад тока во времени, связанный со сдвигом равновесия между состояниями II и III в сторону менее проводящего состояния II. О переключении состояний свидетельствует большей уровень шума тока. После скачкообразного изменения напряжения от 60 до 13 мв ток нарастает за счет перехода части каналов в высоко проводящее состояние III. При этом характер изменений тока близок к экспоненциальному, откуда следует, что вероятности перехода между состояниями II и III тоже не зависят или слабо зависят от предыстории канала.

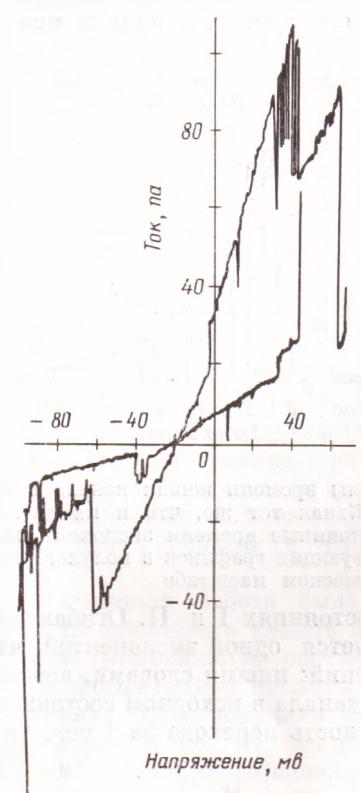


Рис. 4. Изменение тока через мембрану с каналами EIM при линейном изменении мембранныго напряжения со скоростью 25 мв/мин. Во время записи каналы случайным образом переходят из состояния в состояние. Внутренний раствор  $-0.2 M$   $NaCl$ , внешний  $-0.5 M$   $NaCl$

каналами EIM при разных концентрациях  $NaCl$  во внешнем и внутреннем растворах показана на рис. 4. Ток равен нулю при напряжении на мембране, равном примерно равновесному натриевому потенциалу. Вольт-амперные характеристики каналов во всех состояниях линейны. Ток через мембрану с большим числом каналов равен

$$I = n_1 I_1 + n_2 I_2 + n_3 I_3, \quad (1)$$

где  $n_1$ ,  $n_2$  и  $n_3$  — число каналов в состояниях I, II и III соответственно;  $I_1$ ,  $I_2$  и  $I_3$  — токи через канал в трех состояниях. В нашем случае  $I_3 = g_3(\varphi - \varphi_0)$ , где  $g_3$  и  $\varphi_0$  — функции концентраций проникающих ионов.

Переходы канала из состояния в состояние можно представить в виде линейного графа

$$(I) \xrightleftharpoons[\mathbf{v_{11}}]{\mathbf{v_{12}}} (II) \xrightleftharpoons[\mathbf{v_{22}}]{\mathbf{v_{23}}} (III).$$

Вероятности переходов между состояниями  $v_{ik}$  не зависят от времени жизни в исходном состоянии и мгновенно принимают новые значения при изменении напряжения на мембране. Если в мембране имеется постоянное число  $N$  каналов ( $n_1+n_2+n_3=N$ ), то в соответствии с графиком изменение во времени числа каналов в трех состояниях описывается системой уравнений

$$\begin{aligned}\dot{n}_1 &= -v_{12}n_1 + v_{21}n_2, \\ \dot{n}_2 &= v_{12}n_1 - (v_{23} + v_{21})n_2 + v_{32}n_3, \\ \dot{n}_3 &= v_{23}n_2 - v_{32}n_3.\end{aligned}\quad (2)$$

Окончательное выражение для мембранных токов имеет вид

$$I = (n_1g_1 + n_2g_2 + n_3g_3)(\varphi - \varphi_0), \quad (3)$$

где зависящие от времени значения  $n_1$ ,  $n_2$  и  $n_3$  при произвольном изменении мембранных потенциала определяются из системы (2).

Хочется отметить, что формальное описание тока через мембрану с ЕМ не совпадает с моделью Ходжкина — Хаксли, т. е. проводимость представляется не как степенная функция одной переменной, определяемой линейным дифференциальным уравнением первого порядка, и не как произведение таких функций. Проводимость есть функция нескольких переменных, связанных системой линейных уравнений.

Институт биологической физики  
Академии наук СССР  
Пущино-на-Оке

Поступило  
17 I 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> R. C. Bean, W. C. Shepherd et al., J. Gen. Physiol., v. 53, 741 (1969). <sup>2</sup> G. Ehrenstein, H. Lecar, R. Nossal, J. Gen. Physiol., v. 55, 119 (1970). <sup>3</sup> R. La Torre, G. Ehrenstein, H. Lecar, J. Gen. Physiol., v. 60, 72 (1972). <sup>4</sup> R. C. Bean, J. Membr. Biol., v. 7, 15 (1972). <sup>5</sup> L. D. Kushnir, Biochim. et biophys. acta, v. 150, 285 (1968). <sup>6</sup> P. Mueller, J. Phys. Chem., v. 67, 534 (1963).