

С. Х. АЙТЬЯН, Ю. А. ЧИЗМАДЖЕВ

ПРОНИЦАЕМОСТЬ НАТРИЕВОГО КАНАЛА БИОМЕМБРАН ПРИ НАЛИЧИИ ФИКСИРОВАННОГО АНИОННОГО ЦЕНТРА

(Представлено академиком А. Н. Фрумкинм 10 XI 1974)

Как показано в экспериментальных работах (1), в селективном центре натриевого канала биомембран имеется фиксированный отрицательный заряд. А так как транспортируемые ионы заряжены положительно, то естественно предположить, что энергетический профиль (2, 3) будет характеризоваться потенциальной ямой в области селективного центра (рис. 1).

Схематически представленный здесь энергетический профиль иона в канале отражает взаимодействие иона определенного сорта с теми молекулярными группами мембран, которые образуют ионный канал. Кроме этих взаимодействий в свободную энергию иона в канале будут давать вклад внешнее электрическое поле и кулоновское ион-ионное отталкивание, если в канале находится более одной подвижной заряженной частицы. Учет внешнего электрического поля не представляет особых трудностей и сводится к включению в кинетические константы, приведенные на рис. 1, зависящих от поля множителей. Иными словами, наложение внешнего поля деформирует исходное силовое поле канала, но этот деформированный энергетический профиль является внешним фактором, не зависящим от положения иона или характера заполнения канала. Качественно иная ситуация возникает при учете кулоновского взаимодействия между двумя ионами, находящимися в канале (6). Чтобы пояснить это, рассмотрим случай, когда слева от мембраны имеются катионы А концентрации А, а справа — В концентрации В с одинаковой зарядностью z. Основным в задачах об однорядном транспорте является состояние канала (2-7). Рассмотрим, например, состояние (АОА) и (АОВ), когда в граничных ямах находятся частицы, а центральная яма вакантна. Переход иона А из левой ямы в центральную при исходном состоянии (АОА) или (АОВ) будет затруднен по сравнению с переходом из исходного состояния (АОО). Выход же из центральной ямы в левую при исходном состоянии (ОАА) или (ОАВ) облегчен по сравнению с исходным состоянием (ОАО). Это происходит благодаря изменению уровня энергии потенциальных ям на величину кулоновского взаимодействия. Например, уровень центральной ямы для иона А при состоянии (АОВ) приподнимается на величину $z^2 e^2 / 2\epsilon\delta$ по сравнению с уровнем в состоянии (АОО). Здесь ϵ — эффективная диэлектрическая постоянная в области канала, δ — расстояние между ямами. Сдвиг потенциального профиля приводит к изменению кинетических констант. В описанном примере эти измененные константы будут иметь вид

$$\dot{k}_3^A = k_3^A \exp\left(-\frac{z^2 e^2}{4\epsilon\delta kT}\right) \equiv k_3^A \alpha; \quad \dot{k}_4^A = k_4^A \exp\left(\frac{z^2 e^2}{4\epsilon\delta kT}\right) \equiv k_4^A \alpha^{-1}. \quad (1)$$

Таким образом, кинетические константы теперь зависят от состояния канала. Это лишний раз подчеркивает, что задача не допускает описания в терминах «чисел заполнения» отдельных ям, а требует рассмотрения состояний канала как целого.

Итак, введем тройные функции состояния $F(X_1 X_2 X_3)$, описывающие вероятности различных состояний канала, где $(X_1 X_2 X_3)$ — состояние ка-

нала. Каждый из X_1 , X_2 и X_3 может принимать значения A , B и O . Всего состояний возможно $3^3=27$, но семь из них (BBA), (BAA), (BOA), (OBA), (BAO), (ABA) и (BAB) неосуществимы ввиду того, что в левом растворе нет ионов B , а в правом — A , а движение по каналу односторонне. Для решения задачи в стационарном случае можно воспользоваться методом направленных парциальных диаграмм⁽⁸⁾. На рис. 2а показана базовая диаграмма переходов между реальными состояниями канала. Точками на рис. 2а изображены различные состояния канала, а направленные ли-

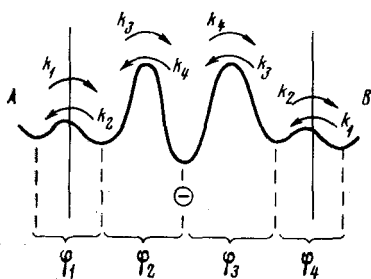


Рис. 1

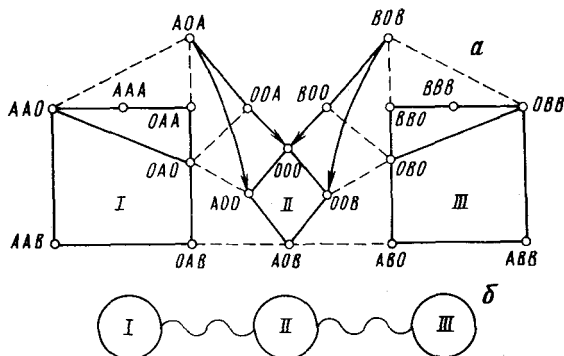
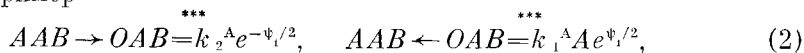


Рис. 2

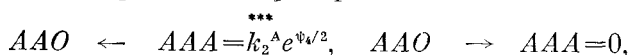
Рис. 1. Энергетический профиль иона в канале с фиксированным зарядом в селективном центре

Рис. 2. а — базовая диаграмма переходов между состояниями канала, б — приведенная диаграмма

нии, соединяющие различные состояния, изображают соответствующие переходы, например



где $k_1 \equiv k_1 \alpha^3$, $k_2 \equiv k_2 \alpha^{-3}$, ψ_n — безразмерный скачок потенциала на n -м барьере. На линиях на базовой диаграмме (рис. 2а), по которым переход возможен в обе стороны, стрелки не проставлены. Стрелки на базовой диаграмме (рис. 2а) оставлены лишь там, где имеют место макроскопически необратимые переходы. Например:



так как в правом растворе нет частиц A . На базовой диаграмме (рис. 2а) сплошными линиями обозначены переходы между раствором и входным участком (константы k_1 и k_2), а пунктирной — между входными участками и селективным центром (константы k_3 и k_4).

Согласно методу⁽⁸⁾, вероятность любого из реальных состояний системы, например состояния i , равна отношению суммы направленных парциальных диаграмм, сходящихся в состояние i , построенных на основе базовой диаграммы, к сумме всех направленных парциальных диаграмм всех состояний, т. е.

$$F(i) = \frac{\sum_j \text{направленных парциальных диаграмм } i \text{ состояния}}{\sum_j \sum \text{направленных парциальных диаграмм } j \text{ состояния}}. \quad (3)$$

Парциальные диаграммы получают из базовой (рис. 2а) разрывом минимального количества связей так, чтобы полученная диаграмма не содержала циклов. Направленные парциальные диаграммы строятся из парциальных ориентированием всех линий в сторону нужного узла. Алгебра-


ическое значение направленной парциальной диаграммы равно произведению значений всех входящих в нее направленных линий.

Если базовая диаграмма достаточно сложна (например, рис. 2а), то прямое суммирование направленных парциальных диаграмм является очень громоздкой задачей. Поэтому рассмотрим случай, когда все переходы разбиваются на две группы — быстрые и медленные. Пусть входные участки канала находятся в равновесии с соответствующим раствором, а замедлен обмен с центральной ямой:

$$k_1^{**A}, k_1^{***B}, k_2^A, k_2^B \gg k_3^A, k_3^B, k_4^A, k_4^B; \quad (4)$$

$$\kappa = \frac{\max \{k_3^A, k_3^B, k_4^A, k_4^B\}}{\min \{k_1^{**A}, k_1^{***B}, k_2^A, k_2^B\}}$$

Тогда базовая диаграмма рис. 2а разобьется на три быстрых поддиаграммы: I—(ААО, ААА, ОАА, ОАО, ОАВ, ААВ), II—(АОА, ООА, ООО, ВОО, ВОВ, АОО, ООВ, АОВ) и III—(ВВО, ВВВ, ОВВ, ОВО, АВВ), связанные между собой медленными стадиями (пунктирные линии на рис. 2а). В этом случае вычисление вероятности любого состояния значительно упрощается. Ограничимся рождением старших членов в разложении по малому параметру κ . Не углубляясь в обоснование вычислительной процедуры, сформулируем основные правила. Вместо базовой диаграммы (рис. 2а) введем приведенную диаграмму (рис. 2б), построенную из быстрых поддиаграмм I, II, III, соединенных медленными стадиями. Волнистая линия на рис. 2б описывает всю совокупность медленных переходов — пунктирных линий — между различными состояниями из быстрых поддиаграмм. Аналитическое выражение для волнистой линии представляет собой сумму вкладов от каждой пунктирной линии, причем каждый пунктир, кроме константы скорости, характеризуется статистическим весом внутри быстрой поддиаграммы того состояния, из которого исходит соответствующая линия. Например,



$$= f_I(AAO) k_4^A e^{\psi_3/2} + f_I(OAO) k_4^A (e^{-\psi_2/2} + e^{\psi_3/2}) + f_I(OAA) k_4^A e^{-\psi_2/2} + f_I(OAB) k_4^A e^{-\psi_2/2}, \quad (5)$$

где $f_M(i)$ — вероятность состояния i в M -й быстрой поддиаграмме ($i \in M$), вычисленная согласно правилу (3), примененному к M -й быстрой поддиаграмме, взятой отдельно. К приведенной диаграмме (рис. 2б) применимы все те правила вычислений, которые были сформулированы ранее для случая базовой диаграммы.

Полная вероятность состояния i , принадлежащего M -й быстрой поддиаграмме, вычисляется как произведение вероятности состояния i внутри соответствующей поддиаграммы $f_M(i)$ на вероятность реализации самой быстрой подсистемы M в приведенной диаграмме $f(M)$

$$F(i) = f_M(i) f(M). \quad (6)$$

Полученное решение является слишком громоздким. Поэтому рассмотрим несколько частных случаев, варьируя энергетический профиль и вклад кулоновского взаимодействия.

1. Пусть кинетические константы входных участков канала удовлетворяют соотношению

$$\alpha^3 K_{AA}, \quad \alpha^3 K_{BB} \sim 1, \quad (7)$$

где $K \equiv k_1/k_2$. Это соотношение означает, что энергетический выигрыш, вызванный сродством, компенсируется кулоновским отталкиванием. В этом случае канал будет находиться в трех основных состояниях (ОАО), (ОВО), (АОВ). Отметим также, что $F(AAO) \sim \alpha F(OAO)$, $F(OBB) \sim \alpha F(OBO)$.

Исходя из выражений для тройных функций можно написать односторонние потоки ионов А и В через мембрану:

$$j_A = N[k_4^A F(OAO) + k_4^A F(AAO)] e^{\psi_2/2} = Nk_3^A K_A A e^{\psi/2} G, \\ j_B = N[k_4^B F(OBO) + k_4^B F(OBB)] e^{-\psi_2/2} = Nk_3^B K_B B e^{-\psi/2} G, \quad (8)$$

где

$$G^{-1} = \frac{K_A A e^{\psi_1} (\xi_A e^{\psi_2} + \alpha^2 K_B B e^{-\psi_4}) e^{(\psi_1 - \psi_2 + \psi_4)/2}}{1 + \alpha^3 K_A A e^{\psi_1}} + \\ + \frac{K_B B e^{-\psi_4} (\xi_B e^{-\psi_2} + \alpha^2 K_A A e^{\psi_1}) e^{-(\psi_1 - \psi_2 + \psi_4)/2}}{1 + \alpha^3 K_B B e^{-\psi_4}}, \quad (9)$$

j_A и j_B — односторонние потоки ионов А и В через мембрану с учетом кулоновских эффектов, j_A направлено слева направо, j_B — справа налево, N — количество каналов на единицу поверхности мембраны, $\xi = k_3/k_4$.

Интересно отметить, что маловероятное состояние (ААО) дает такой же по величине вклад в односторонний поток, что и состояние (ОАО). Это происходит за счет того, что константа скорости выхода иона из цент-

ральной ямы в правую при состоянии (ААО) — k_4^A в α^{-1} раз больше соответствующей константы k_4^A при состоянии (ОАО). Это говорит о том, что даже при сильном кулоновском взаимодействии ионов в канале (низкой диэлектрической постоянной) не всегда можно ограничиваться рассмотрением только одночастичных состояний, как это делалось в работах (9, 10).

2. Пусть

$$\alpha^3 K_A A, \quad \alpha^3 K_B B \ll 1, \quad (10)$$

т. е. входные участки имеют меньшее сродство к транспортируемым ионам, чем в случае (7). Односторонние потоки имеют вид (8) с блокировочным фактором

$$G^{-1} = K_A \xi_A A e^{(\psi - \psi_3)/2} + K_B \xi_B B e^{-(\psi - \psi_2)/2} + \\ + (K_A A e^{\psi_1} + K_B B e^{-\psi_4} + \alpha^2 K_A K_B A B e^{\psi_1 - \psi_4}) (e^{-\psi_2/2} + e^{\psi_2/2}) e^{-(\psi_1 - \psi_4)/2}. \quad (11)$$

В этом случае (10) состояния (ААО) и (ОBB) не вносят заметного вклада в поток, так как $F(AAO) \ll \alpha F(OAO)$, $F(OOB) \ll \alpha F(OBO)$.

3. Пусть

$$\alpha^3 K_A A, \quad \alpha^3 K_B B \gg 1. \quad (12)$$

В этом случае канал имеет большее сродство к переносимым ионам, чем в случае (7), и основной вклад в потоки будут давать состояния (ААО) и (ОBB). Потоки (8) будут иметь при этом блокировочный фактор

$$G^{-1} = \alpha^{-3} \{ [1 + \alpha^4 (K_A A e^{\psi_1} + K_B B e^{-\psi_4})] (\xi_A e^{-(\psi_1 - \psi_2 - \psi_4)/2} + \\ + \xi_B e^{-(\psi_1 + \psi_3 - \psi_4)/2} + \alpha^2 (K_A A e^{(\psi - \psi_2)/2} + K_B B e^{-(\psi - \psi_3)/2}) \}. \quad (13)$$

Во всех случаях (7), (10) и (12) отношение односторонних потоков, как видно из выражений (8), подчиняется соотношению Уссинга, а потенциал реверсии имеет обычный гольдмановский вид.

Из выражений для односторонних потоков еще не виден процесс эволюции состояний канала при переносе иона через мембрану. Этот вопрос должен быть предметом специального исследования.

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
10 XI 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ B. Hille, J. Gen. Physiol., v. 51, 221 (1968). ² Ю. А. Чизмаджев, Б. И. Ходоров, С. Х. Айгьян, ДАН, т. 213, 722 (1973). ³ Yu. A. Chizmadjev, B. I. Khodorov, S. Kh. Aityan, Bioelectrochemistry and Bioenergetics, v. 1, 241 (1974). ⁴ Ю. А. Чизмаджев, В. С. Маркин, Р. Н. Кушлин, Биофизика, т. 16, 230 (1971). ⁵ K. Heckmann, Zs. phys. Chem. (N. F.), B. 44, 184 (1965). ⁶ С. Х. Айгьян, Ю. А. Чизмаджев, ДАН, т. 213, 1427 (1973). ⁷ Ю. А. Чизмаджев, С. Х. Айгьян, ДАН, т. 216, 678 (1974). ⁸ T. L. Hill, J. Theoret. Biol., v. 10, 442 (1966). ⁹ P. Läuger, Biochim. et biophys. acta, v. 311, 423 (1973). ¹⁰ K. Heckmann, B. Lindemann, J. Schnakenberg, Biophys. J., v. 12, 683 (1972).