

УДК 577.3

МОДЕЛЬ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА НА БИОМЕМБРАНЕ
КЛЕТКИ ПРИ ПЕРЕНОСЕ НЕСКОЛЬКИХ ИОНОВ СИСТЕМОЙ
АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА

А.В. Мелких, В.Д. Селезнев

*Уральский государственный технический университет, 620002, Екатеринбург, ул.
Мира, №19*

Построена модель стационарного электрического потенциала на биомембране клеток, учитывающая конформационные изменения в транспортной АТФ-азе. Системой активного транспорта переносится одновременно N положительных ионов. Модель позволяет независимо находить как концентрации ионов внутри клетки, так и мембранный электрический потенциал. Показано, что для нахождения потенциала необходимо учитывать непроникающие анионы внутри клетки. Обсуждается влияние положительных ионов, не переносимых системами активного транспорта, на величину потенциала. Полученные результаты согласуются с экспериментальными данными для различных клеток.

Ключевые слова: биомембраны, активный транспорт ионов, электрический потенциал.

Существование разности электрических потенциалов между внутриклеточной средой и окружающим клетку пространством является одним из основных свойств клеток. Стационарная разность потенциалов, а так же различные концентрации ионов по обе стороны биомембраны поддерживаются за счет систем активного транспорта ионов.

В литературе существуют модели, связывающие потенциал внутри клетки φ_0 (в окружающей среде предполагается, что $\varphi = 0$) с концентрациями основных типов ионов внутри и вне клетки и с проницаемостями биомембраны для различных типов ионов. Например, для транспорта ионов Na^+ и K^+ величина φ_0 описывается формулой Гольдмана-Ходжкина-Катца [1].

Недостатком такого подхода является необходимость знания концентраций ионов внутри клетки для нахождения величины внутриклеточного потенциала.

В работах [2,3] авторами построена статистическая модель активного транспорта однозарядных ионов на основе конформона с односторонним сорбционным центром, в которой получен результат, хорошо согласующийся с экспериментальными данными для протонов. Такой результат нуждается в обобщении на N-местный сорбционный центр для ионов с величиной заряда Z . С другой стороны, одна из трудностей моделирования мембранного потенциала клетки состоит в том, что как внутри клетки, так и в окружающей ее среде содержится достаточно большое количество видов ионов. Некоторые из них переносятся системами активного транспорта, но большинство пассивно проникают через биомембрану. Вообще говоря, для получения величины мембранного потенциала необходим учет всех видов ионов.

Рассмотрим сначала случай, когда раствор внутри и вне клетки содержит два вида ионов: один отрицательный и один положительный.

1

Пусть N положительных ионов переносятся системой активного транспорта из клетки во внешнюю среду за один акт превращения конформона. Таким образом, в окружающем клетку пространстве будет накапливаться положительный заряд, а внутри клетки - отрицательный.

В общем случае биомембрана пассивно проницаема как для отрицательных, так и для положительных ионов.

Как известно, системы активного транспорта ионов работают за счет энергии гидролиза АТФ. Статистическая модель работы транспортной АТФ-азы в электрическом поле предложена в работе [2]. Транспортная АТФ-аза моделируется в виде конформона с двумя возможными состояниями, связанными с различной локализацией ионного сорбционного центра.

Одно из этих состояний конформона отвечает локализации сорбционного центра внутри клетки, другое - вне клетки.

Таким образом, в случае прихода иона в сорбционный центр начинается многостадийная каталитическая реакция гидролиза АТФ (или обратная реакция $\text{АДФ} + \text{Ф} \rightarrow \text{АТФ}$), в результате которой энергия АТФ передается конформону (или забирается из него). Конформон, находившийся в равновесном состоянии, переходит в возбужденное состояние, которому соответствует иная локализация сорбционного центра. В результате этого процесса сорбционный центр вместе с N ионами оказывается перенесенным на другую сторону биомембраны. Такой процесс в реальности происходит вследствие последовательности конформационных изменений транспортной АТФ-азы, которая в данной модели представлена в виде конформона с двумя возможными состояниями.

Для того, чтобы найти величину φ_0 , а так же величины концентраций ионов обоих типов вдали от биомембраны (внутри и вне клетки), рассмотрим баланс каждого типа ионов в стационарном состоянии. Если имеется раствор только из двух типов ионов, то их концентрации на большом удалении от биомембраны должны быть равны между собой. Это следует из того факта, что система в целом является электронейтральной.

Обозначим через n_{in} - концентрацию ионов каждого знака внутри клетки, а через n_{out} - концентрацию ионов во внешней среде.

В соответствие с [2] можно записать вероятность застать конформон на верхнем уровне (внутри клетки) f_k в виде:

$$f_k = \frac{\text{EXP}\left(-\frac{Q}{kT}\right)}{\text{EXP}\left(-\frac{Q}{kT}\right) + 1}; \quad 1 - f_k = \frac{1}{\text{EXP}\left(-\frac{Q}{kT}\right) + 1}, \quad (1)$$

где Q - разность уровней энергии конформона. Для упрощения примем эту величину равной теплоте реакции гидролиза АТФ.

Разность химических потенциалов для неравновесной системы АТФ-АДФ в приближении слабых растворов можно записать в виде:

$$\Delta\mu_A = Q + kT \ln \left(\frac{f_{in}}{1 - f_{in}} \right),$$

где Q - теплота реакции гидролиза АТФ ($Q \approx 21$ кДж/моль [4]), f_{in} - вероятность нахождения системы АТФ-АДФ на верхнем уровне (в форме АТФ). Отсюда получим для f_{in} выражение:

$$f_{in} = \frac{EXP \left(\frac{\Delta\mu_A - Q}{kT} \right)}{1 + EXP \left(\frac{\Delta\mu_A - Q}{kT} \right)}. \quad (2)$$

При нахождении вероятности переноса ионов с одной стороны биомембраны на другую необходимо учитывать тот факт, что их перенос происходит в электрическом поле.

Тогда, поскольку при переносе N ионов с одной стороны биомембраны на другую АТФ (АДФ) является частью транспортной АТФ-азы в соответствии с распределением Больцмана можно записать для f_{in} выражение:

$$f_{in} = \frac{EXP \left(\frac{\Delta\mu_A + ZN\phi_0 e - Q}{kT} \right)}{1 + EXP \left(\frac{\Delta\mu_A + ZN\phi_0 e - Q}{kT} \right)}, \quad (3)$$

величина $1 - f_{in}$ будет соответствовать вероятности расположения АТФ-азы вместе с ионным центром вне клетки.

Результирующий поток ионов согласно [2] может быть записан в виде:

$$J = v_{1L} f_{in} (1 - f_k) N - v_{1R} (1 - f_{in}) f_k N.$$

Величину v_{1i} можно оценить по формуле:

$$v_{1i} = \frac{1}{4} n_i^N v_t \delta^2 EXP \left(-\frac{E}{kT} \right),$$

где n_i - концентрация ионов, v_t - средняя тепловая скорость ионов, δ - характерный размер сорбционного центра, E - величина энергетического барьера, отделяющего сорбционный центр от раствора. Здесь предполагается,

что частота срабатывания насоса пропорциональна n^N . Таким образом, результирующий поток ионов, создаваемый транспортной АТФ-азой, будет равен:

$$J_a = \frac{1}{4} v_t \delta^2 \text{EXP}\left(-\frac{E}{kT}\right) \frac{\text{EXP}\left(\frac{\Delta\mu_A + ZN\varphi_0 e - Q}{kT}\right) n_{in}^N - \text{EXP}\left(\frac{-Q}{kT}\right) n_{out}^N}{\left[1 + \text{EXP}\left(\frac{\Delta\mu_A + ZN\varphi_0 e - Q}{kT}\right)\right] \left[1 + \text{EXP}\left(-\frac{Q}{kT}\right)\right]} \quad (4)$$

Так же как и в работе [2] будем пренебрегать пассивным потоком ионов через биомембрану того компонента, который переносится активно. Это сделано из предположения о высокой эффективности действия ионных насосов. В противном случае значительная часть энергии АТФ будет теряться, что не соответствует данным об ионных насосах.

Таким образом, будем считать, что пассивно переносятся только отрицательные ионы, которые будем полагать однозарядными. Тогда имеем для них согласно распределению Больцмана:

$$n_{in}^- = n_{out}^- \text{EXP}\left(\frac{\varphi_0 e}{kT}\right). \quad (5)$$

Кроме того, необходимо учесть, что внутри клетки находятся органические анионы (с зарядом Z_A и концентрацией n_A), для которых биомембрана непроницаема. При отсутствии активного транспорта ионов они создают потенциал Доннана. Как внутри, так и вне клетки вдали от биомембраны среда является электронейтральной. Эти условия можно записать в виде:

$$\begin{aligned} Zn_{in}^+ &= n_{in}^- + Z_A n_A, \\ Zn_{out}^+ &= n_{out}^-. \end{aligned} \quad (6)$$

В стационарном состоянии активный поток (4) станет равным нулю. Учитывая (4-6), получим уравнение для максимально возможной (из соображений эффективности) величины мембранного потенциала при одновременном переносе N ионов с зарядом Z каждого:

$$\exp\left(\frac{Z\varphi_0 e}{kT}\right) \frac{n_A}{n_{out}^-} + \exp\left(\frac{(Z+1)\varphi_0 e}{kT}\right) = Z \exp\left(-\frac{\Delta\mu_A}{NkT}\right). \quad (7)$$

Вообще говоря, уравнение (7) представляет собой уравнение степени $(Z+1)$. В общем случае оно может быть решено численно. Однако можно рассмотреть частный случай, когда второе слагаемое в (7) значительно меньше первого. Такая ситуация близка к действительности ввиду того, что $\varphi_0 < 0$ и по величине $\gg kT$. Тогда для такого частного случая получим:

$$\varphi_{0\max} = -\frac{\Delta\mu_A}{NZe} + \frac{kT}{Ze} \ln \frac{Zn_{out}^-}{n_A}. \quad (8)$$

Для величин $N = 1$ и $Z = 1$ имеем результат $\varphi_{0\max} = -(400-450)$ мВ (поскольку величина $\Delta\mu_A$ составляет от 40 до 50 кДж/моль), что больше, чем для протонных насосов [5]. При переносе двух ионов Ca^{2+} ($N = 2$, $Z = 2$) получим $\varphi_{0\max} = -(80-90)$ мВ, что так же согласуется с экспериментальными данными.

Однако, для того, чтобы провести полноценное сравнение с экспериментальными данными необходимо рассматривать работу всех насосов, действующих в клетке. В частности, в большинстве клеток наибольшую долю среди катионов составляют Na^+ и K^+ . Эти ионы переносятся системой активного транспорта - $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФ-азой, переносящей три иона натрия из клетки и два иона калия в клетку.

Рассуждая аналогично, получим формулу для активного потока ионов натрия (С-константа):

$$J_a = \frac{1}{4} v_t C \delta^2 \text{EXP}\left(-\frac{E}{kT}\right) \frac{\text{EXP}\left(\frac{\Delta\mu_A + \varphi_0 e - Q}{kT}\right) (n_{Na}^{in})^3 (n_K^{out})^2 - \text{EXP}\left(\frac{-Q}{kT}\right) (n_{Na}^{out})^3 (n_K^{in})^2}{\left[1 + \text{EXP}\left(\frac{\Delta\mu_A + ZN\varphi_0 e - Q}{kT}\right)\right] \left[1 + \text{EXP}\left(-\frac{Q}{kT}\right)\right]}.$$

Поскольку проницаемость натриевых каналов значительно меньше, чем калиевых, то предположим, что пассивный поток натрия мал (будем им пренебрегать). Калий же, несмотря на то, что он переносится системой

активного транспорта и легко проникает через биомембрану [5], будем считать распределенным по Больцману. То есть

$$n_K^{in} = n_K^{out} \text{EXP}\left(-\frac{\varphi_0 e}{kT}\right).$$

Пренебрегая другими компонентами и учитывая непроникающие анионы внутри клетки, получим для потенциала:

$$\varphi_{0\max} = \frac{kT}{e} \ln \left(\sqrt{\left(\frac{n_A}{2n_{Cl}^{out}}\right)^2 + \frac{n_K^{out}}{n_{Cl}^{out}} + \frac{n_{Na}^{out}}{n_{Cl}^{out}} \exp\left(-\frac{\Delta\mu_A}{3kT}\right)} - \frac{n_A}{2n_{Cl}^{out}} \right). \quad (9)$$

Подставляя значения, например, для мышечных клеток [6,7] (в мМ/л):

$n_K^{out} = 4$, $n_{Na}^{out} = 145$, $n_{Cl}^{out} = 120$, $n_A = 155$, получим $\varphi_{0\max} = -90$ мВ, что полностью соответствует экспериментальным данным.

Из формулы (9) в частности следует, что потенциал на биомембране зависит, во-первых, от разности химических потенциалов АТФ-АДФ (в случае $\Delta\mu_A = 0$ имеем потенциал Доннана). Во-вторых, потенциал существенно зависит от концентрации непроникающих ионов внутри клетки (их вклад в величину потенциала существенно больше при наличии активного транспорта ионов). В-третьих, потенциал сильно зависит от концентрации пассивных ионов в окружающей среде. Чем больше пассивных ионов, тем меньше потенциал. Графики этих зависимостей изображены на рис.1,2.

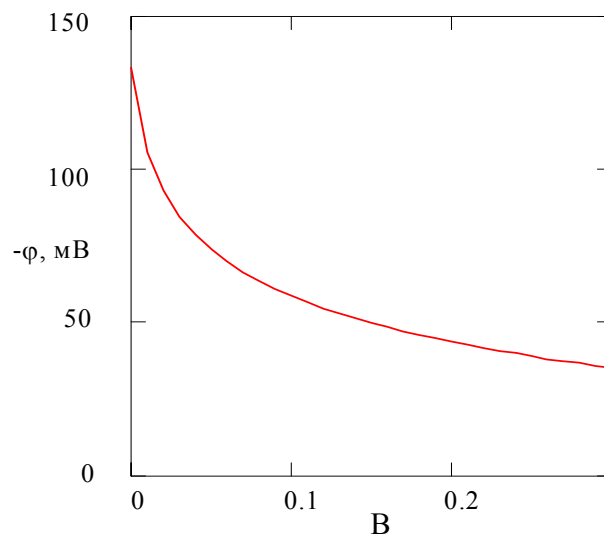


Рис.1

Зависимость потенциала на биомембране от доли ионов калия во внешней среде $B = \frac{n_K^{out}}{n_{Cl}^{out}}$

при работе Na⁺-K⁺-насоса (доля непроникающих ионов внутри клетки $A = \frac{n_A}{n_{Cl}^{out}} = 1$).

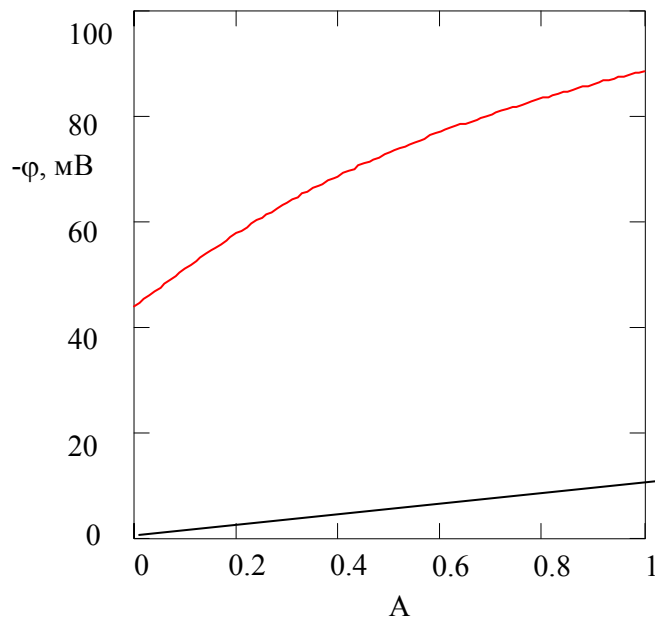


Рис.2

Зависимость потенциала на биомембране от доли непроникающих ионов внутри клетки $A = \frac{n_A}{n_{Cl}^{out}}$ при $B = 0.025$ (нижняя кривая – потенциал Доннана при отсутствии активного транспорта ионов).

Поскольку для Na⁺-K⁺-АТФ-азы получено, что увеличение доли пассивного иона (K⁺) приводит к снижению потенциала, то логично предположить, что такой же эффект будет наблюдаться и для других насосов. Поэтому рассмотрим трехкомпонентную систему, в которой существуют два положительных иона и один отрицательный. Пусть один однозарядный положительный ион переносится системой активного транспорта (модель протонного насоса).

Уравнения баланса для активно переносимого иона и отрицательного иона остаются в силе. Добавится уравнение для потока пассивного положительного иона. Граничные условия для концентраций должны выглядеть следующим образом:

$$n_{in}^{1+} + n_{in}^{2+} = n_{in}^{-} + n_A,$$

$$n_{out}^{1+} + n_{out}^{2+} = n_{out}^{-}.$$

Тогда можно записать уравнения баланса для всех пассивных видов ионов. Рассуждая совершенно аналогично двухкомпонентной системе, получим максимум величины φ_0 :

$$\varphi_{0\max} = \frac{kT}{e} \ln \left(\sqrt{\left(\frac{n_A}{2n_{Cl}^{out}} \right)^2 + \frac{n_2^{out}}{n_{Cl}^{out}} + \frac{n_1^{out}}{n_{Cl}^{out}} \exp\left(-\frac{\Delta\mu_A}{kT}\right)} - \frac{n_A}{2n_{Cl}^{out}} \right).$$

Исследуем полученную зависимость на предмет влияния доли пассивного компонента во внешней среде. В частном случае, когда пассивный положительный компонент отсутствует ($n_2 = 0$) имеем максимальный потенциал.

В случае, когда отсутствует активный компонент ($n_1 = 0$), получим очень малый потенциал (потенциал Доннана). При промежуточных долях пассивного компонента зависимость изображена на рис.3.

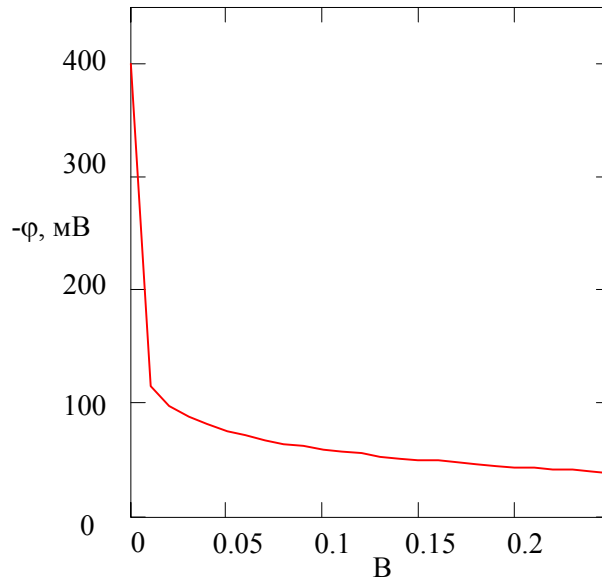


Рис.3

Зависимость потенциала на биомембране от доли пассивных ионов во внешней среде

для протонного насоса $B = \frac{n_2^{out}}{n_{Cl}^{out}}$ (доля непроникающих ионов внутри клетки $A = 1$).

Таким образом, клетка оказывается чрезвычайно чувствительной даже к малым значениям примеси положительных ионов в окружающей среде и уже при добавлении к двухкомпонентной смеси 10% примеси потенциал на биомембране значительно уменьшается (≈ 50 мВ). Такой эффект, как известно, не наблюдается для протонных насосов.

Избежать указанного противоречия можно, предположив, что все дополнительные положительные ионы внешней среды либо не проникают через мембрану за время жизни клетки, либо в той или иной степени переносятся из клетки активными механизмами, компенсирующими их слабое проникновение внутрь клетки за счет пассивного транспорта. Оба этих варианта соответствуют тому, что по дополнительным положительным ионам не наступает

равновесного распределения типа (5). Косвенным подтверждением этого факта служит то, что при $\varphi_0 = -(200-250)$ мВ, наблюдаемом на протонных насосах, для двухзарядных ионов отношения концентраций для равновесного распределения Больцмана (5) достигало бы слишком больших значений ($\approx e^{16}$), что противоречит экспериментальным данным.

В заключение необходимо отметить, что несмотря на множество известных систем активного транспорта ионов, возможности переноса ионов не исчерпываются этими специализированными системами. Дело в том, что при переносе различных веществ в клетку, в их составе могут переноситься и ионы, которые затем внутри клетки могут перейти в раствор. Совершенно не обязательно, что реакция связывания (и обратная) ионов будет происходить за счет энергии АТФ. Это может быть и энергия переносимого вещества, которое каталитически распадается внутри клетки.

Возможно так же, что при делении клетки происходит связывание определенных ионов, что приведет к их начальному перераспределению по сравнению с внешней средой.

Фактически такие механизмы являются скрытым активным транспортом различных видов ионов (в том числе и сложных органических). Такой вид активного транспорта должен быть учтен в каждом конкретном случае.

Таким образом, в результате построения статистической модели активного транспорта ионов в биомембранах удалось получить величину внутриклеточного потенциала φ_0 и отношение концентраций ионов внутри и вне клетки. Эти величины определяются разностью химических потенциалов системы АТФ-АДФ (аналог ЭДС), а так же числом и зарядом одновременно переносимых ионов. В общем случае для нахождения потенциала необходим учет всех компонентов ионов, включая внутренние непроникающие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Goldman D.E. // J. Gen. Phys. 1943. V.27. p. 37.
2. Мелких А.В., Селезнев В.Д.// Биофизика. 1999. Т. 44, вып. 3. стр. 474-478.
3. Мелких А.В., Селезнев В.Д.// Биофизика. 1998. Т. 43, вып.3. стр. 475-479.
4. Биохимическая термодинамика, ред. М. Джоунс. М.: Мир, 1982. 440 с.
5. Рубин А.Б., Биофизика. Т.2. М.: Высшая школа, 1987. 302 с.
6. Физиология и патофизиология сердца Т.1 под ред. Н.Сперелакиса, М.: Медицина, 1990. 622 с.
7. Титомир Л. Электрический генератор сердца. М.: Наука, 1980. 369 с.

THE MODEL OF CELL BIOMEMBRANE ELECTRICAL POTENTIAL IN
THE CASE OF SOME IONS ARE TRANSPORTED BY ACTIVE TRANSPORT
SYSTEM

Melkikh A.V., Seleznev V.D.

Urals state technical university, 620002, Ekaterinburg, Mira street, №19

Stationary model of electrical potential on cell biomembrane is created. This model takes into account conformational changes in transport ATPase. N positive ions are transported by system of active transport. The model allows to obtain ions concentrations into the cell and membrane electrical potential independently. It is shown that to obtain electrical potential it need to consider organic negative intracellular ions. Positive ions not transported by active transport systems contribution in potential value is discussed. Obtained results are in a good agreement with experimental data for different cells.

Key words: biomembranes, active transport of ions, electrical potential.