

$$j_{m, \text{вн}} = j_{m, \text{нар}}$$

Суммарный поток через мембрану был бы равен нулю.

Однако, обнаружено с помощью амперметра, что в условиях опыта (отсутствие градиентов электрического потенциала и концентрации) через кожу лягушки течет электрический ток I, следовательно происходит односторонний перенос заряженных частиц. Установлено, что ток через кожу течет от внешней среды к внутренней.

Методом меченых атомов было показано, что поток натрия внутрь больше потока наружу $j_{m, \text{вн}} > j_{m, \text{нар}}$. Для этого в левый раствор экспериментальной камеры были включены радиоактивные изотопы Na^{22} , а в правый – Na^{24} . Изотоп Na^{22} распадается с излучением жестких γ -квантов. Распад Na^{24} сопровождается мягким β -излучением. Регистрация γ и β -излучения показала, что поток Na^{22} больше потока Na^{24} .

Эти экспериментальные данные неопровержимо свидетельствовали о том, что перенос ионов натрия через кожу лягушки не подчиняется уравнению пассивного транспорта. Следовательно, имеет место активный перенос.

§ 8. Электрогенные ионные насосы

Согласно современным представлениям, в биологических мембранах имеются **ионные насосы**, работающие за счет свободной энергии гидролиза АТФ, – специальные системы интегральных белков (транспортные АТФазы).

В настоящее время известны три типа электрогенных ионных насосов, осуществляющих активный перенос ионов через мембрану (рис. 2.11).

Перенос ионов транспортными АТФазами происходит вследствие сопряжения процессов переноса с химическими реакциями, за счет энергии метаболизма клеток.

При работе $\text{K}^+ \text{-Na}^+$ -АТФазы за счет энергии, освобождающейся при гидролизе каждой молекулы АТФ, в клетку переносится два иона калия и одновременно из клетки выкачиваются три иона натрия. Таким образом, создается повышенная по сравнению с межклеточной средой концентрация в клетке ионов калия и пониженная натрия, что имеет огромное физиологическое значение.

В Ca^{2+} -АТФазе за счет энергии гидролиза АТФ переносятся два иона кальция, а в H^+ -помпе – два протона.

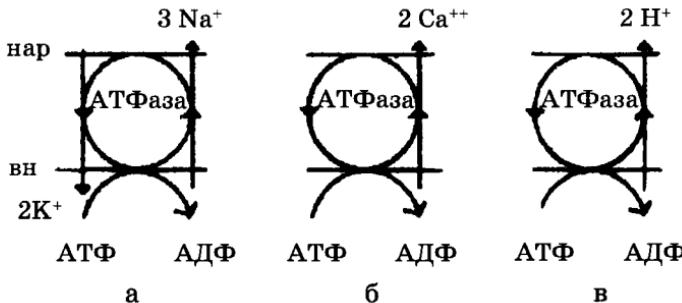


Рис. 2.11. Виды ионных насосов:

а – $\text{K}^+ \text{-Na}^+$ -АТФаза в цитоплазматических мембранах
($\text{K}^+ \text{-Na}^+$ -насос);

б – Ca^{2+} -АТФаза (Ca^{2+} -насос);

в – H^+ -АТФаза в энергосопрягающих мембранных митохондрий,
хлоропластов (H^+ -насос, или протонная помпа)

Молекулярный механизм работы ионных АТФаз до конца не изучен. Тем не менее прослеживаются основные этапы этого сложного ферментативного процесса. В случае $\text{K}^+ \text{-Na}^+$ -АТФазы (обозначим ее для краткости Е) насчитывается семь этапов переноса ионов, сопряженных с гидролизом АТФ. Обозначения E^1 и E^2 соответствуют расположению активного центра фермента на внутренней поверхности мембранны соответственно (аденозиндинифосфат – АДФ, неорганический фосфат – Р, звездочкой обозначен активный комплекс):

- 1) $\text{E} + \text{ATF} \longrightarrow \text{E}^* \text{ATF},$
- 2) $\text{E}^* \text{ATF} + 3\text{Na} \longrightarrow [\text{E}^* \text{ATF}]^* \text{Na}_3,$
- 3) $[\text{E}^* \text{ATF}]^* \text{Na}_3 \longrightarrow [\text{E}^1 - \text{P}]^* \text{Na}_3 + \text{ADF},$
- 4) $[\text{E}^1 - \text{P}]^* \text{Na}_3 \longrightarrow [\text{E}^2 - \text{P}]^* \text{Na}_3,$
- 5) $[\text{E}^2 - \text{P}]^* \text{Na}_3 + 2\text{K} \longrightarrow [\text{E}^2 - \text{P}]^* \text{K}_2 + 3\text{Na},$
- 6) $[\text{E}^2 - \text{P}]^* \text{K}_2 \longrightarrow [\text{E}^1 - \text{P}]^* \text{K}_2,$
- 7) $[\text{E}^1 - \text{P}]^* \text{K}_2 \longrightarrow \text{E} + \text{P} + 2\text{K}.$

На схеме видно, что ключевыми этапами работы фермента являются: 1) образование комплекса фермента с АТФ на внутренней поверхности мембранны (эта реакция активируется ионами магния); 2) связывание комплексом трех ионов натрия; 3) фосфорилирование фермента с образованием аденоzinдинифосфата; 4) переворот (флип-флоп) фермента внутри мембранны; 5) реакция ионного обмена натрия на калий, происходящая на внешней поверхности мембранны; 6) обратный переворот фер-

ментного комплекса с переносом ионов калия внутрь клетки и 7) возвращение фермента в исходное состояние с освобождением ионов калия и неорганического фосфата (Р). Таким образом, за полный цикл происходят выброс из клетки трех ионов натрия, обогащение цитоплазмы двумя ионами калия и гидролиз одной молекулы АТФ.

Вторичный активный транспорт ионов. Помимо ионных насосов, рассмотренных выше, известны сходные системы, в которых накопление веществ сопряжено не с гидролизом АТФ, а с работой окислительно-восстановительных ферментов или фотосинтезом. Транспорт веществ в этом случае является вторичным, опосредованным мембранным потенциалом и/или градиентом концентрации ионов при наличии в мембране специфических переносчиков. Такой механизм переноса получил название вторичного активного транспорта. Наиболее детально этот механизм рассмотрен Питером Митчелом (1966 г.) в хемиосмотической теории окислительного фосфорилирования. В плазматических и субклеточных мембранах живых клеток возможно одновременное функционирование первичного и вторичного активного транспорта. Примером может служить внутренняя мембрана митохондрий. Ингибиция АТФазы в ней не лишает частицу способности накапливать вещества за счет вторичного активного транспорта. Такой способ накопления особенно важен для тех метаболитов, насосы для которых отсутствуют (сахара, аминокислоты).

В настоящее время достаточно глубоко исследованы три схемы вторичного активного транспорта. Для простоты рассмотрен транспорт одновалентных ионов с участием молекул-переносчиков. При этом подразумевается, что переносчик в нагруженном или ненагруженном состоянии одинаково хорошо пересекает мембрану. Источником энергии служит мембранный потенциал и/или градиент концентрации одного из ионов. Схемы показаны на рис. 2.12. Однонаправленный перенос иона в комплексе со специфическим переносчиком получил название унипорта. При этом через мембрану переносится заряд либо комплексом, если молекула переносчика электронейтральна, либо пустым переносчиком, если перенос обеспечивается заряженным переносчиком. Результатом переноса будет накопление ионов за счет снижения мембранныго потенциала. Такой эффект наблюдается при накоплении ионов калия в присутствии валиномицина в энергизированных митохондриях.

Встречный перенос ионов с участием одноместной молекулы-переносчика получил название антипорта. Предполагается при

этом, что молекула-переносчик образует прочный комплекс с каждым из переносимых ионов. Перенос осуществляется в два этапа: сначала один ион пересекает мембрану слева направо, затем второй ион – в обратном направлении. Мембранный потенциал при этом не меняется. Что же является движущей силой этого процесса? Очевидно, разность концентраций одного из переносимых ионов. Если исходно разность концентрации второго иона отсутствовала, то результатом переноса станет накопление второго иона за счет уменьшения разности концентраций первого. Классическим примером антипорта служит перенос через клеточную мембрану ионов калия и водорода с участием молекулы антибиотика нигерицина.

Совместный односторонний перенос ионов с участием двухместного переносчика называется симпортом. Предполагается, что в мембране могут находиться две электронейтральные частицы: переносчик в комплексе с катионом и анионом и пустой переносчик. Поскольку мембранный потенциал в такой схеме переноса не изменяется, то причиной переноса может быть разность концентраций одного из ионов. Считается, что по схеме симпорта осуществляется накопление клетками аминокислот. Калий-натриевый насос (см. рис. 2.11) создает начальный градиент концентрации ионов натрия, которые затем по схеме симпорта способствуют накоплению аминокислот. Из схемы симпорта следует, что этот процесс должен сопровождаться значительным смещением осмотического равновесия, поскольку в одном цикле через мембрану переносятся две частицы в одном направлении.

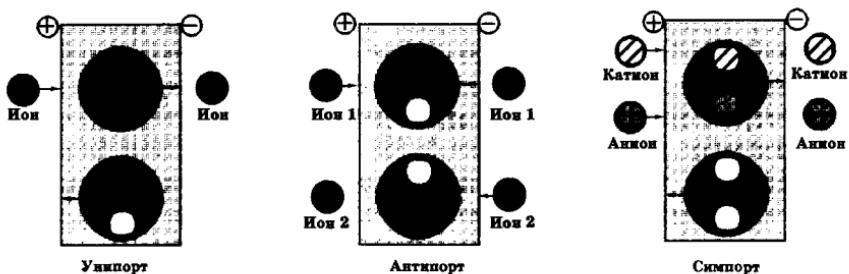


Рис. 2.12. Основные схемы вторичного активного транспорта ионов

В процессе жизнедеятельности границы клетки пересекают разнообразные вещества, потоки которых эффективно регулируются. С этой задачей справляется клеточная мембрана с

встроенными в нее транспортными системами, включающими ионные насосы, систему молекул-переносчиков и высокоселективные ионные каналы.

Такое обилие систем переноса на первый взгляд кажется излишним, ведь работа только ионных насосов позволяет обеспечить характерные особенности биологического транспорта: высокую избирательность, перенос веществ против сил диффузии и электрического поля. Парадокс заключается, однако, в том, что количество потоков, подлежащих регулированию, бесконечно велико, в то время как насосов всего три (см. рис. 2.11). В этом случае особое значение приобретают механизмы ионного сопряжения, получившие название вторичного активного транспорта, в которых важную роль играют диффузные процессы. Таким образом, сочетание активного транспорта веществ с явлениями диффузационного переноса в клеточной мембране – та основа, которая обеспечивает жизнедеятельность клетки.

§ 9. Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран

Бимолекулярный слой фосфолипидов составляет основу любой клеточной мембраны. Непрерывность его определяет барьерные и механические свойства клетки. В процессе жизнедеятельности непрерывность бислоя может нарушаться с образованием структурных дефектов типа сквозных гидрофильных пор. Вполне естественно ожидать при этом изменения всех функций клеточной мембраны, включая проницаемость и стабильность. Ранее эти проблемы обсуждались раздельно, однако создание модели липидной поры позволяет рассмотреть их с единых позиций. Важен тот факт, что липидные поры, помимо проницаемости, оказались причастными к стрессовым воздействиям внешних сил на уровне клеточных мембран.

Фосфолипиды, составляющие основу клеточных мембран, относятся к жидким кристаллам. Как в любом реальном кристалле, в пленке из фосфолипидов могут быть дефекты, в месте которых и развиваются основные события структурных перестроек. Виды дефектов многообразны, но и наиболее естественным для бислоя является дефект типа сквозной гидрофильной поры. Эти поры и будут предметом дальнейшего рассмотрения (рис. 2.13).

Липидные поры и стабильность мембран. Очевидное внешнее сходство любой шаровидной клетки с мыльным пузырем,