

нение (10.17) и интегрирование от c_K^i до c_K^e дает

$$I_K = \frac{u_K \mathcal{F} \Delta \psi}{\Delta x} \frac{c_K^e - c_K^i \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}. \quad (10.19)$$

Коэффициент проницаемости мембраны для ионов K^+ равен

$$P_K = u_K RT / (\Delta x \mathcal{F}). \quad (10.20)$$

Из (10.19) и (10.20) следует

$$I_K = \frac{P_K \mathcal{F}^2 \Delta \psi}{RT} \frac{c_K^e - c_K^i \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}. \quad (10.21)$$

Общий ток равен сумме трех токов I_K , I_{Na} , I_{Cl} :

$$I = \frac{P_K \Delta \psi \mathcal{F}^2}{RT} \frac{w - y \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}{1 - \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)}, \quad (10.22)$$

где

$$w = c_K^e + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^e + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^e, \quad y = c_K^i + \frac{P_{Na}}{P_K} c_{Na}^i + \frac{P_{Cl}}{P_K} c_{Cl}^i.$$

При очень малом ионном токе I , т. е. при большом сопротивлении мембраны, $I \approx 0$, $w \approx y \exp(-\mathcal{F} \Delta \psi / RT)$, откуда

$$\Delta \psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{w}{y},$$

или

$$\Delta \psi = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln \frac{P_K c_K^i + P_{Na} c_{Na}^i + P_{Cl} c_{Cl}^e}{P_K c_K^e + P_{Na} c_{Na}^e + P_{Cl} c_{Cl}^i}. \quad (10.23)$$

Мы получили формулу Ходжкина — Катца. Она хорошо согласуется с опытом при больших c_K^e или малых c_K^i . При уменьшении c_K^e или увеличении c_K^i величина $\Delta \psi$ стремится к некоторому пределу. Произведение $P_K c_K^i$ ведет себя как постоянная величина; увеличение потенциала покоя $\Delta \psi$ приводит к уменьшению коэффициента проницаемости P_K . Для объяснения этих фактов построены теоретические модели, учитывающие необходимость преодоления активационных барьеров ионами, проходящими сквозь мембрану. Мы вернемся к этим вопросам в § 10.6 и 11.3.

§ 10.5. Активный мембранный транспорт

Повышенная концентрация ионов K^+ и пониженная концентрация ионов Na^+ внутри клетки определяются активным мембранным транспортом, происходящим в направлении, противоположном направлению падения электрохимического потенциала.

Активный транспорт — одна из важнейших особенностей жизненных процессов. Он разрешает противоречие между сохранением пространственной гетерогенности и метаболизмом — обменом веществом и энергией с окружающей средой.

Активный транспорт реализуется в результате сопряжения диффузионных потоков с экзергоническими реакциями, проходящими в толще мембраны. Перенос вещества происходит за счет свободной энергии, выделяемой при химических реакциях. Как правило, это энергия гидролиза АТФ. Указанное сопряжение не тривиально. Как уже говорилось (см. с. 312), коэффициенты сопряжения скалярных и векторных потоков в изотропной системе равны нулю, согласно принципу Кюри. Сопряжение

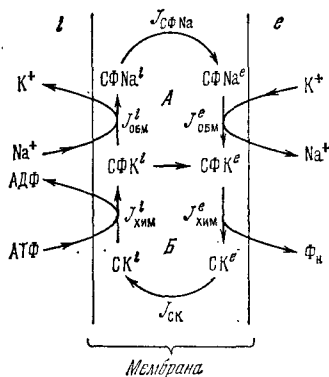
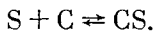


Рис. 10.7. Термодинамическая схема натриевого насоса. Индексы i и e относятся к внутренней и внешней сторонам мембраны; A — ионообменный, B — химический цикл

химических реакций с диффузией может быть косвенным, возникая в результате поддержания стационарного состояния (с. 322). С другой стороны, реализуется и прямое сопряжение вследствие анизотропии мембраны. Наконец, существует *транспорт, облегченный химической реакцией (facilitated transport)*. В этом случае транспорт ускоряется благодаря присутствию в мембране *переносчика (carrier)* — вещества, взаимодействующего с переносимыми ионами или молекулами. Ионы или молекулы образуют комплекс с переносчиком на внешней стороне мембраны. Этот комплекс расщепляется на внутренней стороне. Ни переносчик (C), ни его комплекс с переносимым веществом (S) не покидают мембрану. Внутри мембраны протекает реакция



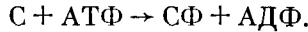
Через мембрану проходит поток реагента S. Из условия стационарности следует, что поток переносчика в мембране J_C компенсируется противоположным потоком комплекса J_{CS} :

$$J_C + J_{CS} = 0,$$

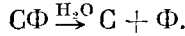
т. е. имеет место циркуляция C.

Рассмотрим в связи с этим *натриевый насос* — находящееся в клеточной мембране (в частности, в мембране нервной клетки) устройство, использующее свободную энергию АТФ для активного транспорта ионов Na⁺ и K⁺ в направлениях их возрастающих концентраций. В основе этого устройства действует фермент K, Na-активируемая АТФ-аза. Опишем натриевый насос в тер-

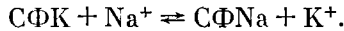
минах переносчиков, которые могут фосфорилироваться и дефосфорилироваться в разных областях мембраны:



Предположим, что АТФ и АДФ реагируют лишь на внутренней стороне мембраны. Фосфорилированный переносчик CF дефосфорилируется в результате некоего конформационного превращения



Допустим, что переносчик C — белок, имеющий большое химическое сродство к K^+ , а CF — белок, преимущественно связывающий Na^+ . Натриевый насос работает как система двух циклов, в которой один цикл движет другой цикл (рис. 10.7). Первый цикл имеет характер ионообменного:



Второй цикл — химический, в нем происходят реакции фосфорилирования и дефосфорилирования.

В стационарном состоянии

$$\frac{d\text{CK}^i}{dt} = -J_{\text{хим}}^i + J_{\text{СК}} = 0, \quad \frac{d\text{CK}^e}{dt} = J_{\text{хим}}^e - J_{\text{СК}} = 0,$$

т. е.

$$J_{\text{хим}}^e = J_{\text{хим}} = J_{\text{СК}}. \quad (10.24)$$

Для химического цикла получаем

$$\frac{d\text{CFNa}^i}{dt} = J_{\text{обм}}^i - J_{\text{CFNa}} = 0, \quad \frac{d\text{CFNa}^e}{dt} = J_{\text{CFNa}} - J_{\text{обм}}^e = 0,$$

т. е.

$$J_{\text{обм}}^i = J_{\text{обм}}^e = J_{\text{CFNa}} \quad (10.25)$$

и

$$\frac{d\text{CFK}^i}{dt} = J_{\text{хим}}^i - J_{\text{обм}}^i - J_{\text{CFK}} = 0, \quad (10.26)$$

$$\frac{d\text{CFK}^e}{dt} = J_{\text{CFK}} + J_{\text{обм}}^e - J_{\text{хим}}^e = 0,$$

т. е.

$$J_{\text{CFK}} = J_{\text{хим}}^i - J_{\text{обм}}^i = J_{\text{хим}}^e - J_{\text{обм}}^e. \quad (10.27)$$

Функция диссипации имеет вид

$$\begin{aligned} T\sigma = & J_{\text{СК}} \Delta\mu_{\text{СК}} + J_{\text{хим}}^i \mathcal{A}_{\text{хим}}^i + J_{\text{хим}}^e \mathcal{A}_{\text{хим}}^e + J_{\text{CFK}} \Delta\mu_{\text{CFK}} + \\ & + J_{\text{CFNa}} \Delta\mu_{\text{CFNa}} + J_{\text{обм}}^i \mathcal{A}_{\text{обм}}^i + J_{\text{обм}}^e \mathcal{A}_{\text{обм}}^e, \end{aligned} \quad (10.28)$$

где

$$\Delta\mu_{\text{СК}} = \mu_{\text{СК}}^e - \mu_{\text{СК}}^i, \quad \Delta\mu_{\text{CFK}} = \mu_{\text{CFK}}^e - \mu_{\text{CFK}}^i, \quad \Delta\mu_{\text{CFNa}} = \mu_{\text{CFNa}}^i - \mu_{\text{CFNa}}^e,$$

$$\mathcal{A}_{\text{хим}}^i = \mu_{\text{ATP}} + \mu_{\text{СК}}^i - \mu_{\text{ADP}} - \mu_{\text{CFK}}^i,$$

$$\mathcal{A}_{\text{хим}}^e = \mu_{\text{CFK}}^e + \mu_{\text{H}_2\text{O}} - \mu_{\text{СК}}^e - \mu_{\text{P}},$$

$$\mathcal{A}_{\text{обм}}^i = \mu_{\text{CFK}}^i + \mu_{\text{Na}}^i - \mu_{\text{CFNa}}^i - \mu_{\text{K}}^i,$$

$$\mathcal{A}_{\text{обм}}^e = \mu_{\text{CFNa}}^e + \mu_{\text{K}}^e - \mu_{\text{CFK}}^e - \mu_{\text{Na}}^e.$$

Следовательно,

$$T\sigma = J_{\text{хим}} (\mu_{\text{АТФ}} + \mu_{\text{H}_2\text{O}} - \mu_{\text{АДФ}} - \mu_{\text{Ф}}) + J_{\text{обм}} [(\mu_{\text{Na}}^i - \mu_{\text{Na}}^e) - (\mu_{\text{K}}^i - \mu_{\text{K}}^e)] = \\ = J_{\text{хим}} \mathcal{A}_{\text{хим}} + J_{\text{обм}} \mathcal{A}_{\text{обм}}. \quad (10.29)$$

Коэффициент полного обмена равен

$$\Gamma = \frac{[\text{K}^i][\text{Na}^e]}{[\text{K}^e][\text{Na}^i]}. \quad (10.30)$$

Феноменологические соотношения имеют вид

$$J_{\text{обм}} = L_{11} \mathcal{A}_{\text{обм}} + L_{12} \mathcal{A}_{\text{хим}}, \quad J_{\text{хим}} = L_{12} \mathcal{A}_{\text{обм}} + L_{22} \mathcal{A}_{\text{хим}}. \quad (10.31)$$

Если $L_{12} \neq 0$ и $\mathcal{A}_{\text{хим}} \neq 0$, то, так как при $J_{\text{обм}} = 0$

$$\mathcal{A}_{\text{обм}} = -RT \ln \Gamma = -\frac{L_{12}}{L_{11}} \mathcal{A}_{\text{хим}},$$

Γ отлично от единицы и $L_{11}, L_{22} > 0$. В случае эритроцитов

$$\Gamma = \exp\left(\frac{L_{12}}{L_{11}} \frac{\mathcal{A}_{\text{хим}}}{RT}\right) \approx 220.$$

Таким образом, работа натриевого насоса поддерживается сопряжением двух циклов — ионообменного и химического.

Феноменологическое описание показывает, что работа натриевого насоса возможна вблизи равновесия — в условиях линейности.

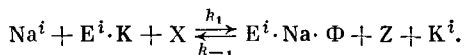
Перейдем к молекулярному рассмотрению. Как уже сказано, источником свободной энергии для активного транспорта служит АТФ. АТФ усиливает активный транспорт, будучи введена внутрь клетки, но не влияет на него, находясь во внешней среде. Из клеточных мембран удалось выделить К, Na-активируемую АТФ-азу. Этот фермент расщепляет АТФ только в присутствии ионов K^+ и Na^+ . Действие АТФ в мембране непосредственно связано с активным транспортом — глюкозид оубаин ингибирует АТФ-азу при той же концентрации, при которой он прекращает работу натриевого насоса. Гидролиз АТФ *in vitro* с помощью этой АТФ-азы происходит в две стадии. Вначале выделяется АДФ, а неорганический фосфат остается связанным с ферментом. Эта стадия активируется ионами Na^+ . Второй этап требует ионов K^+ и состоит в отщеплении фосфата от фермента. Сходная, но уже пространственная асимметрия свойственна насосу — на внутренней поверхности мембраны его активность зависит от c_{Na}^i , на внешней — от c_{K}^e . При расщеплении АТФ на мембранах наблюдается переход меченого фосфата из АТФ в фосфопротеиды мембраны. Кинетика действия АТФ-азы *in vitro* характеризуется S-образной зависимостью скорости реакции от концентраций Na^+ , K^+ и АТФ. Гидролиз одной молекулы АТФ в мембране сопровождается выходом из клетки двух-трех ионов Na^+ .

К, Na-активируемая АТФ-аза представляет собой тетрамерный белок с м. м. около 250 000. Белок содержит два типа субъеди-

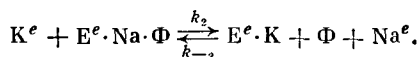
ниц: α (м. м. 84 000) и β (м. м. 57 000), по две каждого сорта. Лишь субъединица α присоединяет фосфорную метку из меченой АТФ. На основе этих фактов была предложена модель активного транспорта, определяемого конформационными превращениями АТФ-азы. Изменение конформации вызывает изменения сродства к катионам соответствующих активных центров. В одной конформации α -субъединица связывает Na^+ и β -субъединица — K^+ , а в другой — наоборот. Конформационное превращение сопровождается гидролизом АТФ, отщепленный фосфат первоначально присоединяется к α -субъединице. Мы вновь встречаемся здесь с электронно-конформационными взаимодействиями (см. с. 195).

Рассмотрим кинетическую модель процесса. Предположим, что имеются два типа активных центров, способных присоединять и обменивать Na^+ и K^+ . Первый тип центров неспецифичен, эти центры участвуют в пассивном транспорте. Центры второго типа принадлежат АТФ-азе и обеспечивают активный транспорт.

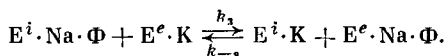
Фермент (E) катализирует гидролиз АТФ. Обозначим АТФ буквой X, АДФ (и АМФ) — буквой Z, фосфат — буквой Ф. Связь ионообменной реакции с ферментативной представим уравнением



Индекс i по-прежнему относится к внутренней, e — к внешней сторонам мембраны. На внешней стороне



Комплекс $\text{Na} \cdot \text{Ф}$, распадающийся на внешней стороне мембраны, перемещается к ней от места своего образования по градиенту концентрации. Если сродство обменных центров к ионам велико и свободные центры отсутствуют, то перемещение комплекса $\text{Na} \cdot \text{Ф}$ и обмен на K можно представить в виде обменной реакции



Таким образом, обобщенная сила, перемещающая ионы, — разность химических потенциалов продукта Z, которая поддерживается ферментативной реакцией.

Предположим далее, что обмен ионов на активных центрах и ферментативная реакция кооперативны — центры взаимодействуют друг с другом. Кооперативный обмен наблюдается, например, в цеолитах, где он определяется изменением структуры решетки вследствие обмена ионов. Соответственно введем в уравнение реакций стехиометрические коэффициенты ν , χ , η не равные 1.

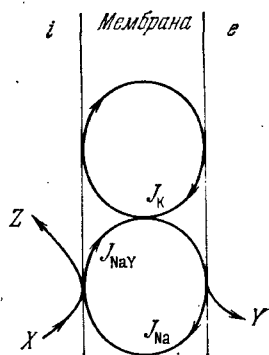


Рис. 10.8. Сопряжение ионных потоков с химической реакцией в мембране (Y — фосфат)

Описанная кинетическая модель согласуется с опытом и показывает, что специфическая роль белка-фермента в мембранном транспорте состоит в сопряжении транспорта с метаболизмом.

Мы не обсуждаем пока конкретные пути переноса ионов через мембраны. Ионы переносятся через специальные *каналы*, о которых пойдет речь далее (см. § 10.6, 11.4).

§ 10.6. Перенос заряженных частиц через мембраны

Электропроводность клеточных мембран составляет примерно $10^{-3} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$, для искусственных липидных мембран (см. с. 335) она значительно меньше — порядка $10^{-8} \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$. Эти величины на много порядков меньше, чем электропроводность $0,01 \text{ М КСI}$ в воде, равная $10^4 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$.

Низкая ионная электропроводность липидной мембраны, рассматриваемой как однородная среда, определяется низкой диэлектрической проницаемостью (2–3) липидов, неблагоприятной для внедрения заряженных частиц. Коэффициент распределения частиц между липидной и водной фазами равен $\exp(-W/RT)$, где W — энергия частицы в липиде, отсчитанная от энергии в воде. Она складывается из электростатической энергии и энергии гидрофобного взаимодействия

$$W = W_e + W_n. \quad (10.37)$$

Основным является первый член, равный для сферических частиц с радиусом a

$$W_e = \frac{q_0}{a} \left(\frac{1}{\varepsilon} - \frac{1}{\varepsilon_w} \right). \quad (10.38)$$

Здесь $q_0 = z^2 e^2 / 2kT$ (z — валентность иона, e — заряд электрона), ε — диэлектрическая проницаемость липида, $\varepsilon_w = 81$ — воды. При $T = 25^\circ \text{C}$ $z = 1$, $q_0 = 28,2 \text{ нм}$. Если $a = 0,2 \text{ нм}$, $\varepsilon = 3$, то $\exp(-W/RT) = 10^{-20}$.

Однако энергия иона в мембране снижается по крайней мере благодаря четырем факторам (Маркин, Пастушенко, Чизмаджев, 1977):

1. Мембрана имеет конечную толщину.
2. Ионы могут образовывать ионные пары внутри мембраны.
3. Мембрана может иметь поры (каналы) с высокой диэлектрической проницаемостью.
4. Ион может переноситься ионофором, переносчиком, увеличивающим эффективный радиус a .

Эти четыре эффекта схематически представлены на рис. 10.9. Рассмотрим их роль последовательно.

На границе между мембраной и водной фазой возникают *силы изображения*. Электростатическая энергия W_e иона в мембране несколько снижается и принимает вид кривой, показанной