

потенциала. К моменту t_2 потенциал $\Phi = \Phi_2$, но Na-ток не включается, пока не пройдет некоторый отрезок времени Δt . Но за это время действие стимула прекращается и начинается падение потенциала. Если к моменту времени $t = t_2 + \Delta t$ он не станет меньше Φ_2 , т. е.

$$\Phi(t_2 + \Delta t) = \Phi_0 + \tilde{\Phi} \left[\exp\left(\frac{g}{C} t_0\right) - 1 \right] \exp\left[-\frac{g}{C}(t_2 + \Delta t)\right] \geq \Phi_2, \quad (11.30)$$

то включается Na-ток, дающий спайк, и наблюдается картина развития потенциала, показанная на рис. 11.20.

Из уравнения (11.30) можно получить соотношение между силой тока I и длительностью его действия, согласующееся с опытом количественно.

На основе принятой модели показано, что развитие спайка на мембране аксона начинается с того момента, когда мембранный потенциал достигает значения, при котором проводимость отрицательна и превышает по абсолютной величине проводимость мембраны.

§ 11.4. Ионные каналы

Изложенные модельные теории генерации импульса являются феноменологическими и не раскрывают соответствующие молекулярные механизмы.

Каким же образом ионы переносятся через мембрану аксона (ср. § 10.6)? Посредством специальных переносчиков или по каналам в мембране? Опыт решает эту альтернативу в пользу каналов.

Установлено, что в мембранах аксонов и мышечных клеток имеются три отдельных транспортных системы — Na^+ -, K^+ - и Ca^{2+} -каналы. Свойства их сходны друг с другом, что дает основания полагать, что эти каналы возникли в результате эволюции одной исходной системы.

Проницаемость одиночных каналов и их число, приходящееся на единицу поверхности, определяются по связыванию токсинов, блокирующих каналы,— прежде всего *тетродотоксина* и *сакситоксина*, а также с помощью анализа флуктуаций ионных токов. Число каналов, приходящихся на 1 мкм^2 мембраны, составляет несколько сот. Каждый открытый канал имеет проводимость $1\text{--}10 \text{ пСм}$. Пропускная способность Na^+ -канала $\sim 10^7$ ионов в 1 с , K^+ -канала $\sim 10^6$ ионов в 1 с . Схема строения канала, согласно современным представлениям, показана на рис. 11.21. Роль канала выполняет макромолекула некоего белка, создающая пору в двухслойной липидной мембране. У входа в канал снаружи имеется узкий селективный фильтр для ионов, у внутренней, выходной стороны расположены так называемые «ворота», управляемые конформационно-лабильным сенсором. Изменение конформации этой части белка контролируется внутримембранным электрическим полем. Сенсор открывает или закрывает «ворота». Для поведения системы определяющую роль играют электростатические заряды. Внутренняя поверхность канала, по-видимому, выстлана гидрофильными группами, благодаря чему канал проницаем для ионов. Можно думать, что для функционирования канала существенны и конформационные события в билипидной части мембраны — кинки (см. с. 339).

Схема эта гипотетична, так как «канальные белки» до сих пор не выделены и не исследованы. Тем не менее эта схема согласуется с опытными фактами. Ионный канал можно трактовать как своего рода «векторный фермент», катализирующий перенос иона. Активность этого фермента регулируется электрическим полем.

Ионные каналы высоко селективны. Можно, однако, заблокировав К-каналы тетраэтиламмонием, заставить Na-каналы переносить другие катионы. Можно проделать это и с К-каналами. В табл. 11.2 приведены относительные проницаемости каналов для различных катионов. Таблица демонстрирует селективность каналов. Сечение Na-каналов, определяемое из этих данных, примерно $0,3 \times 0,5 \text{ нм}^2$. Наблюдаются большие различия проницаемостей для ионов близких размеров. Гидроксилмин $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{OH}$ и гидразин $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{NH}_2$ проходят сквозь Na-канал, а метиламин $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_3$ не проходит. Хилле считает, что в наиболее узкой части канала имеются атомы кислорода, один из которых заряжен отрицательно. Катионы с OH^- и NH_2 -группами скользят через канал, образуя водородные связи с O^- , группа CH_3 к этому не способна. Ионы проходят через канал один за другим.

Натриевый канал плотно закрывается одной молекулой тетродоксина (яд из японской рыбы фугу, *Spheroides porphyreus*) или сакситоксина (яд из красного планктона *Gonyaulax*). Соответственно эти яды парализуют нервную проводимость. Пользуясь ими, удалось определить число каналов на единицу поверхности мембраны и изучить «ток ворот» (см. далее).

Ходжкин и Хаксли установили экспоненциальную зависимость между начальным изменением мембранного потенциала ϕ и пиковым значением g_{Na} . Изменению ϕ на 4–6 мВ в сторону деполаризации отвечает e -кратное повышение g_{Na} . Можно думать, что это изменение есть результат влияния электрического поля на расположение каких-то ионов в канале. Считая, что проводимость g_{Na} пропорциональна доле этих ионов, смещенных полем, получаем

$$g_{\text{Na}} = \frac{g_{\text{Na, max}}}{1 + b \exp(-z\alpha\phi\mathcal{F}/RT)}, \quad (11.31)$$

где z — валентность гипотетического иона, α — число, выражающее долю напряжения ϕ , действующую на ион, b — множитель,

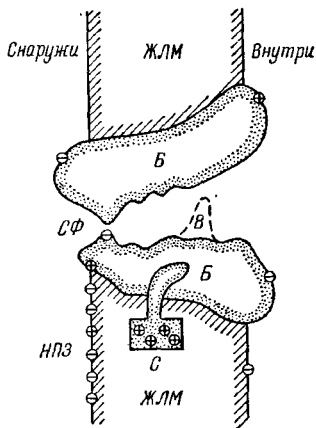


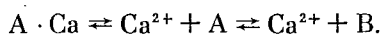
Рис. 11.21. Схема строения ионного канала: ЖЛМ — жидкая липидная мембрана, Б — белок, С — «сенсор», СФ — селективный фильтр, НПЗ — наружные поверхностные заряды, В — «ворота»

не зависящий от ϕ . Среднее опытное значение $z\alpha$ по различным данным равно 3,5. Ходжкин и Хаксли предполагали, что эти гипотетические ионы определяют активацию и инактивацию Na- и K-каналов. Предположительно это ионы Ca^{2+} . Действительно, изменение концентрации Ca^{2+} сильно влияет на возбудимость нервных и мышечных клеток. Построена модельная теория, количественно объясняющая форму кривой $g_{\text{Na}}(\phi)$ и смещение этой

Т а б л и ц а 11.2. Относительные проницаемости Na- и K-каналов перехватов Раввье для одновалентных катионов (Хилле, 1972)

Ион	Кристаллографический радиус иона, нм	$P_{\text{ион}}/P_{\text{Na}}$ в Na-канале	$P_{\text{ион}}/P_{\text{K}}$ в K-канале
Литий	0,120	0,93	0,018
Натрий	0,190	1,00	0,010
Калий	0,266	0,09	1,00
Таллий	0,280	0,33	0,300
Рубидий	0,296	—	0,910
Аммоний	0,300	0,16	0,130
Гидроксиламин	0,330	0,94	0,025
Гидразин	0,333	0,59	0,029
Цезий	0,338	—	0,077

кривой при изменении концентрации ионов Ca^{2+} , блокирующих каналы. Предполагается, что в мембране имеются активирующие частицы, способные находиться в двух состояниях А и В, причем переходы $A \rightleftharpoons B$ связаны с совершением работы в электрическом поле. Такие переходы могут состоять в перемещении заряженной молекулы, в поворотах диполей или в изменении конформации макромолекулы. В состоянии А частица образует комплекс $A \cdot \text{Ca}$ с Ca^{2+} , в состоянии В — способствует прохождению ионов Na^+ по каналу. Модель отвечает схеме



Решение соответствующих кинетических уравнений дает

$$\ln [\text{Ca}^{2+}] - \frac{z\alpha\phi\mathcal{F}}{RT} = \text{const}, \quad (11.32)$$

и величина $\Delta\phi$ при e -кратном изменении концентрации Ca^{2+} равна $RT/(z\alpha\mathcal{F})$, что дает 7 мВ при $z\alpha = 3,5$ в хорошем согласии с опытом.

На основе сходных представлений удастся рассмотреть и инактивацию мембраны.

Опыт показывает, что при изменении проводимости мембраны аксона, при ее возбуждении, действительно происходят структурные изменения. Наблюдались изменения рассеяния света (Коген, Хилле, Кейнес), флуоресценции (Тасаки и др.), двулучепреломления мембраны (Берестовский), вызванные изменением ϕ . Свойства отдельных каналов изучены Ермишкиным.

Прямые доказательства перемещения заряженных частиц, входящих в структуру мембраны, под действием поля были получены Армстронгом и Безанилья.

Структурная перестройка канала при изменении внешнего электрического поля проявляется в наличии «тока ворот». Измерения проводились на аксонах, в которых внутренняя среда замещалась бескальциевым раствором, а из внешнего раствора удалялись ионы натрия. Проводимость каналов подавлялась тетродотоксином. Для усреднения больших флуктуаций использовался накопитель. Опыт состоял в том, что к волокну, предварительно гиперполяризованному до -90 или -100 мВ, прикладывался поперечный прямоугольный импульс. В начале и в конце импульса наблюдались переходные токи, направленные наружу и внутрь аксона. Для учета тока заряжения емкости аналогичные измерения проводились для отрицательного импульса напряжения. Результаты первого и второго опытов складывались алгебраически. Таким способом выделялась малая асимметричная компонента тока смещения — ток ворот. Этот ток зависит от времени экспоненциально, его время релаксации близко к времени релаксации переменной m в модели Ходжкина — Хаксли (с. 370). Поэтому можно думать, что ток ворот действительно связан с частицами, открывающими и закрывающими Na-канал. Были получены и другие факты, подтверждающие это положение.

Конформационные изменения канала под действием электрического поля или химических медиаторов называют воротными; как уже сказано, они регулируют прохождение ионов — «ток ворот». Эти изменения происходят за время от 30 мкс до 10 мс. Они имеют стохастический характер. Суть модели Ходжкина — Хаксли состояла в том, что для активации каждого Na⁺-канала в процессе деполяризации необходимы три «воротные m -частицы»; для инактивации нужна одна «воротная h -частица». Можно показать, что эта модель эквивалентна наличию восьми различающихся конформационных состояний Na⁺-каналов и пяти состояний K⁺-каналов. Только одно из восьми состояний Na⁺-канала является проводящим. Однако эта модель остается феноменологической, и имеются данные, ей противоречащие.

Измерение воротного тока производится следующим образом. Ионные токи уменьшают, насколько это возможно. После этого изменяют электрическое поле, чем вызывается внутримембранное перемещение зарядов, и наблюдают ток. Его основная составляющая, по-видимому, относится к активации Na⁺-каналов (Кейнес).

Действие поля на воротные механизмы определяется прямым его влиянием на компоненты мембраны. Именно эти компоненты изображены на рис. 11.21 как сенсор.

Из всего сказанного следует, что изучение ионных каналов в мембранах есть одна из важных задач современной биофизики. Многие здесь еще совершенно не ясно.