

Саморегуляція в іонних каналах біологічних мембран

Г. А. Абгарян¹, Г. Є. Вайнреб, В. М. Харкянєн

Відділення фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України
252650, Київ, пр. Науки, 46

¹ Єреванський державний університет, Вірменія

Розвинуто теоретичний підхід, що дозволяє моделювати процеси потенціал- і концентраційної залежностей параметрів іонного каналу. Можливі два варіанти: дискретний і неперервний підходи. Перший простіший у застосуванні, описує ряд експериментально відомих ефектів і дозволяє у наглядній формі дати фізичне обґрунтування потенціалчутливості іонного каналу, не вдаючись до поняття сенсора напруги — особливої структури, що безпосередньо «відчуває» прикладену до мембрани напругу. Неперервний підхід є більш загальним і описує всі ефекти, що описуються дискретним, але він складніший при моделюванні. Його застосування є необхідним при описанні ефектів, зумовлених деформацією самих конформаційних станів каналу аж до таких кардинальних явищ, як зміна їх кількості.

Вступ. Іонний канал — це білкова макромолекула, що пронизує мембрану та формує там водну пору [1, 2]. Відомо, що молекула-каналоутворювач включає до 4000 амінокислотних залишків, і пора формується чотирма гомологічними субодинацями. Кожна з них складається з п'яти (іноді — семи) гідрофобних елементів і одного позитивного зарядженого сегмента (S4), який слугує сенсором напруги. Цей сенсор «відчуває» зовнішні електричні поля і визначає кінетику каналу (ймовірність відкритого (закритого) стану, час життя тощо) як функцію мембранного потенціалу. Було показано, що такі властивості, як іонна селективність, проникність, провідність визначаються взаємодією між обмеженою кількістю заряджених амінокислотних залишків і іонів, що проходять крізь канал [1—6]. Важливий приклад прояву такої взаємодії — зсув залежності кінетичних параметрів відкритого стану від напруги під дією різних факторів, а саме: зміна типу проникаючих іонів [7]; зміна іонних концентрацій в калієвих [8] та кальцієвих [1] каналах; зміна ефективного заряду воріт [9].

Існує ще ряд експериментів, які свідчать про наявність взаємодії іонів з каналом (див., наприк-

лад, [10—15]). Якби електричне поле (мембранний потенціал) діяло безпосередньо на сенсор напруги, то неможливо було б пояснити ці експерименти. Ми мусимо взяти до уваги дію іонів, що проходять крізь канал, на цей сенсор. Дійсно, інтенсивність зовнішніх полів у каналі становить 10^5 В/см, у той час як поля в безпосередній околиці іона сягають 10^9 В/см. У даній роботі ставиться за мету розвинути теоретичний підхід, який дав би практичні засоби для моделювання вказаних ефектів. Для рішення поставленої задачі розглянемо функціонування іонного каналу детальніше. Існують деякі заряджені групи в каналі, що рухаються під дією термічних флуктуацій і можуть закривати шлях для іонів або залишати його вільним. З іншого боку, пересування іона можна уявити аналогічним чином, оскільки він теж рухається під дією термічних флуктуацій. Цей рух можна описувати у рамках як неперервної (рівняння дифузії), так і дискретної моделей. Будемо розглядати такий іонний канал, де рух іонів лімітується двома бар'єрами, тоді як самі іони локалізуються у середині каналу в одному місці — так звана модель з одним місцем зв'язування (див. рис. 1).

Неперервна модель. Як уже згадувалося, з фізичної точки зору має місце тісна аналогія між

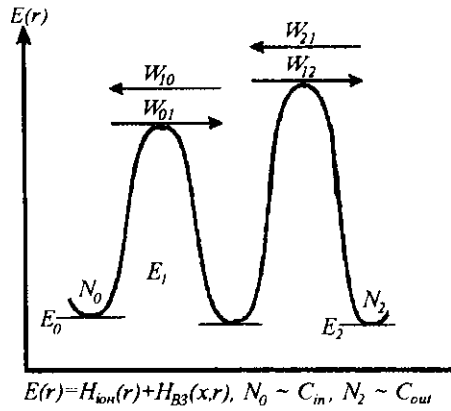


Рис. 1. Енергетичний профіль $E(r)$ іона в каналі у випадку одного місця зв'язування

рухом іонів і рухом заряджених структурних груп каналу (воріт) — обидва носять броунівський характер. Причому ці рухи можна розглядати як передемпровані, з чого випливає, що обидві змінні (x — конформаційна і r — іонна) можуть бути описані рівняннями Ланжевена [16]:

$$\begin{aligned} \tau_x \dot{x} &= -\frac{\partial H(x, r)}{\partial x} + f_x(t); \\ \tau_r \dot{r} &= -\frac{\partial H(x, r)}{\partial r} + f_r(t), \end{aligned} \quad (1)$$

де $H(x, r)$ — гамільтоніан системи іон + канал. Причому

$$H(x, r) = H_{\text{кан}}(x) + H_{\text{ион}}(r) + H_{\text{БЗ}}(x, r), \quad (2)$$

де $H_{\text{кан}}(x)$ — енергія структурних груп каналу, що визначається конформацією каналу без іона; $H_{\text{ион}}(r)$ — енергія іона в каналі без урахування взаємодії з конформаційними ступенями свободи; $H_{\text{БЗ}}(x, r)$ — енергія взаємодії іона з конформаційними ступенями свободи.

Однак канал є відкритою системою і кількість іонів там може змінюватися від нуля до числа, що дорівнює кількості місць зв'язування іонів у каналі. Таким чином, при описанні необхідно врахувати, що кількість рівнянь для іонної змінної r в (1) може варіювати. Зручнішим у цьому випадку є описання мовою функцій розподілу (ФР). Розглянемо канал, іонний профіль $E(r, x) = H_{\text{ион}}(r) + H_{\text{БЗ}}(r, x)$ якого зображено на рис. 1. Місця зв'язування 0 і 2 — зовнішні і їх заселеності N_0 і N_2 визначаються концентраціями іонів-носіїв в оточуючих мембрану розчинах C_{out} і C_{in} відповідно. У середині каналу (місце зв'язування 1) може знаходитися не більше одного іона — він там є або канал порожній. Отже, виходячи з цієї (іонної) змінної функція розподілу

являє собою дискретний набір відповідних функцій. Конформаційна ж змінна надалі визначає рухи дифузійного типу (1а). У такому випадку замість системи стохастичних диференціальних рівнянь типу (1) можна записати систему рівнянь Чепмена — Колмогорова для ФР [16]:

$$\begin{aligned} \frac{\partial P_0(x, t)}{\partial t} &= \frac{1}{\tau_x} \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{\partial H_0(x)}{\partial x} P_0 + kT \frac{\partial P_0}{\partial x} \right] + \\ &+ P_1 \omega_{10} - P_0 \omega_{01}; \\ \frac{\partial P_1(x, t)}{\partial t} &= \frac{1}{\tau_x} \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{\partial H_1(x)}{\partial x} P_1 + kT \frac{\partial P_1}{\partial x} \right] + \\ &+ P_0 \omega_{01} - P_1 \omega_{10}, \end{aligned} \quad (3)$$

де індекси 0 відносяться до порожнього каналу, у той час як індекси 1 — до заповненого іоном. Величини ω_{ij} визначають швидкості переходів каналу з порожнього в заповнений стан і навпаки. При цьому ФР (без урахування конформаційних змінних ці функції називають функціями стану [17]) $P_i(x)$ нормуються відомим чином:

$$\sum_i \int P_i(x, t) dx = 1. \quad (4)$$

З урахуванням того, що рух іонів у каналі носить термоактиваційний характер, та використовуючи відповідну теорію абсолютних швидкостей реакції Ейрінга [18], неважно знайти зв'язок між константами швидкостей ω_{ij} та константами швидкостей переходів іонів у каналі W_{ij} :

$$\begin{aligned} \omega_{01} &= N_0 W_{01} + N_2 W_{21}; \\ \omega_{10} &= W_{10} + W_{12}. \end{aligned} \quad (5)$$

Величини W_{ij} , у свою чергу, визначаються виразом:

$$W_{ij} = \Omega_i \exp \left[\frac{E_i - E_{ij}}{kT} + ze \frac{\phi_i - \phi_{ij}}{kT} \right], \quad (5a)$$

де Ω_i — характерна частота коливань іона в ямі i ; k — стала Больцмана; T — абсолютна температура; e — елементарний заряд; z — валентність іона; ϕ_i (ϕ_{ij}) — електричний потенціал, індукований прикладеною до мембрани напругою.

Ключовим моментом у викладеному підході є той факт, що наша система характеризується щонайменше двома масштабами часу: іонним та конформаційним. Перший визначає характерний час знаходження іона у каналі, тобто $\approx 10^{-7}$ с, тоді як конформаційний масштаб — у межах воротних процесів — $\approx 10^{-3}$ с. Таким чином, ці масштаби різняться і можуть бути розділені. Безумовно, ми обмежилися тільки повільними воротними процесами

ми, але саме вони для нас найцікавіші. Грунтуючись на вищенаведеному, розділемо повільні та швидкі змінні, розглядаючи поведінку системи за часів, характерних для повільної змінної, і більших.

Тут можна використати принцип підпорядкування Хакена [19]. Для цього необхідно розбити ФР $P_i(x, t)$ на дві частини: на абсолютну функцію розподілу для конформаційної змінної $\rho(x, t)$:

$$\rho(x, t) = P_0(x, t) + P_1(x, t) \quad (6)$$

та стаціонарну ймовірність знайти іонний канал з іоном ($N(x)$) або без нього ($1-N(x)$) при умові, що конформаційна змінна фіксована на значенні x . Отже, ФР $P_i(x, t)$ можна записати у вигляді:

$$\begin{aligned} P_1(x, t) &= \rho(x, t)N(x); \\ P_0(x, t) &= \rho(x, t)[1 - N(x)]. \end{aligned} \quad (7)$$

Вилучення швидкої змінної означає, по-перше, що ми беремо стаціонарне значення функції N , і, по-друге, що в системі (3) іонні переходи встигають релаксувати до стаціонарного стану за часи, що вивчаються. Це дає

$$P_1\omega_{10} = P_0\omega_{01}. \quad (8)$$

Використовуючи це співвідношення та систему (5), отримуємо

$$N(x) = \frac{N_0W_{01} + N_2W_{21}}{W_{10} + W_{12} + N_0W_{01} + N_2W_{21}}. \quad (9)$$

Підставимо цей вираз у систему (3), просумуємо її рівняння, задіємо ієрархію часів через вираз (8) і отримаємо еволюційне рівняння для ФР конформаційної змінної x :

$$\frac{\partial \rho(x, t)}{\partial t} = \frac{1}{\tau_x} \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{\partial U}{\partial x} \rho + kT \frac{\partial \rho}{\partial x} \right], \quad (10)$$

де

$$\begin{aligned} -\frac{\partial U(x)}{\partial x} &= \langle F_x \rangle = \\ &= - \left[\frac{\partial H_0(x)}{\partial x} (1 - N(x)) + \frac{\partial H_1(x)}{\partial x} N(x) \right] \end{aligned} \quad (11)$$

— середня по іонних змінних сила, що діє на конформаційну групу. Тут ми використали очевидний факт, що

$$\begin{aligned} H_0(x) &= H_{\text{кан}}(x); \\ H_1(x) &= H_{\text{кан}}(x) + H_{\text{ос}}(x). \end{aligned}$$

Для ефективного конформаційного потенціалу отримуємо вираз:

$$U(x) = H_{\text{кан}}(x) + \int \frac{\partial H_{\text{ос}}(x)}{\partial x} N(x) dx. \quad (12)$$

Отже, у системі з ієрархією часів, коли іонні змінні є швидкими, систему (1) можна замінити одним стохастичним диференціальним рівнянням для повільної конформаційної змінної x (див. (10) і зв'язок між стохастичним диференціальним рівнянням та Фоккера — Планка у [16]):

$$\tau_x \dot{x} = -\frac{\partial H_{\text{кан}}(x)}{\partial x} - \frac{\partial H_{\text{ос}}(x)}{\partial x} N(x) + \sqrt{2kT\tau_x} \xi(t). \quad (13)$$

Потенціал $H_{\text{кан}}(x)$ є предметом вивчення молекулярної структури іонних каналів, а потенціал $H_{\text{ос}}(x)$ залежить від того, де в каналі знаходиться іон, з якою групою і як він взаємодіє. У рамках нашого підходу ми розглядатимемо ситуацію, коли із структурою взаємодіє іон, що знаходиться в місці зв'язування 1. Зміна структури відображається у зміні іонного профілю $E(r)$ локально, тобто внаслідок іон-конформаційної взаємодії змінюються енергії потенціальних бар'єрів E_{01} (E_{12}) або ями E_1 . Наприклад,

$$E_{12} = E_{12}^0 + H_{\text{ос}}(x), \quad E_{12}^0 = \text{const}. \quad (14)$$

Через цю локальність у виразі для $H_1(x)$ в (11) енергія взаємодії $H_{\text{ос}}(x)$ не є функцією координати вздовж іонного каналу r .

Із рівняння (10) виходить, що кінетика іонного каналу визначається ефективним конформаційним потенціалом $U(x)$ (рис. 2). Справді, стаціонарна функція розподілу для конформаційної змінної x має таку форму:

$$\rho_{\text{ст}}(x) = C \exp \left[-\frac{U(x)}{kT} \right], \quad (15)$$

де C — коефіцієнт нормування. Форма потенціалу

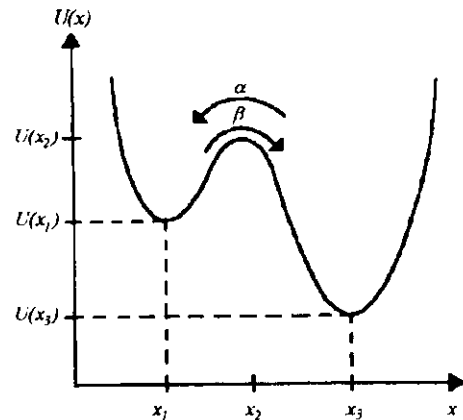


Рис. 2. Ефективний конформаційний потенціал $U(x)$, що повністю визначає кінетику воротних процесів

$U(x)$, його потенціалчутливість можуть бути охарактеризовані через константи швидкостей α і β експериментально, як це зроблено Ходжкіним та Хакслі [20]. Ці константи в термінах потенціалу $U(x)$ знаходяться із виразів [16]:

$$\begin{aligned} \alpha &= \alpha_0 \exp \left[\frac{U(x_3) - U(x_2)}{kT} \right]; \\ \beta &= \beta_0 \exp \left[\frac{U(x_1) - U(x_2)}{kT} \right]. \end{aligned} \quad (16)$$

Стани x_1 і x_3 можуть визначати відкритий та закритий стани іонного каналу. У такому випадку йдеться про описання воротних процесів (активації та інактивації), а ймовірність відкритого стану $n(t)$ можна знайти інтегруванням функції розподілу r :

$$n(t) = \int_{-\infty}^{x_2} \rho(x, t) dx. \quad (17)$$

Для цієї ймовірності має місце добре відоме балансне рівняння

$$\frac{dn}{dt} = \alpha(1 - n) - \beta n. \quad (18)$$

Таким чином, за допомогою інтегрування (17) неважко перейти від неперервної моделі (10) до дискретної (18), з якою вже звикли працювати електрофізіологи.

Однак неперервна модель має ряд переваг, які стають значними, коли в процесі зміни керуючих параметрів (іонних концентрацій C_{in} і C_{out} та напруги на мембрані ϕ) змінюються положення x_1 і x_3 або навіть кількість конформацій іонного каналу. Так, раніше було показано [21—24], що внаслідок іон-конформаційної взаємодії в іонному каналі можуть відбуватися переходи типу моностабільність — бістабільність або й складніші переходи [23]. Іншим прикладом необхідності застосування

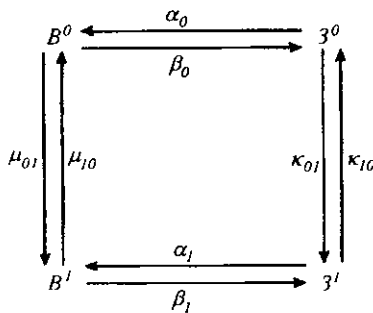


Рис. 3. Кінетична схема, за якою описується функціонування каналу з урахуванням іон-конформаційної взаємодії у дискретній моделі

неперервної моделі є немонотонні концентраційні залежності кінетики калієвих каналів, що спостерігалися в експерименті на клітинах GH_3 головного мозку щурів [25]. Неперервна модель може бути корисна також для пояснення нетривіальних вольт-амперних характеристик [13].

При цьому згадана модель не завжди зручна для використання експериментаторами і доцільно перейти від неї до дискретної моделі у разі, коли вимога до неперервності конформаційної змінної не є принциповою, як це було викладено вище. Льюїгер був одним із перших, хто врахував взаємодію між структурою та іонами, що проходять крізь канал. Ми використаємо і розвинемо ці ідеї у контексті нашого підходу.

Дискретна модель. У рамках дискретної моделі канал може знаходитися у двох станах — закритому і відкритому, швидкості переходу між якими позначимо, як це прийнято, починаючи з Ходжкіна і Хакслі [20], через α і β (див. рис. 2). Розглядати відповідні рухи (іонів та воріт) у рамках дискретної моделі зручно за допомогою кінетичної схеми (рис. 3). Замість функцій $P_i(x, t)$ будемо використовувати набір функцій $(P(K^i, t))$, оскільки конформаційній змінній притаманні лише два значення: $K = B$ — відкритий стан, $K = Z$ — закритий стан. Кінетична схема описується системою балансових рівнянь:

$$\begin{aligned} dP(B^0, t)/dt &= P(B^1, t)\mu_{10} + P(Z^0, t)\alpha_0 - \\ &\quad - P(B^0, t)(\beta_0 + \mu_{01}); \\ dP(B^1, t)/dt &= P(B^0, t)\mu_{01} + P(Z^1, t)\alpha_1 - \\ &\quad - P(B^1, t)(\beta_1 + \mu_{10}); \\ dP(Z^0, t)/dt &= P(B^0, t)\beta_0 + P(Z^0, t)\kappa_{10} - \\ &\quad - P(Z^0, t)(\kappa_{01} + \alpha_0); \\ dP(Z^1, t)/dt &= P(B^1, t)\beta_1 + P(Z^0, t)\kappa_{01} - \\ &\quad - P(Z^1, t)(\kappa_{10} + \alpha_1). \end{aligned} \quad (19)$$

При цьому має місце нормування:

$$P(B^0, t) + P(B^1, t) + P(Z^0, t) + P(Z^1, t) = 1, \quad (20)$$

а константи швидкостей μ і κ пов'язані з константами W_{ij} (порівняйте з (5)) співвідношеннями:

$$\begin{aligned} \mu_{01} &= N_0 W_{01}^B + N_2 W_{21}^B; \\ \mu_{10} &= W_{10}^B + W_{12}^B; \\ \kappa_{01} &= N_0 W_{01}^Z + N_2 W_{21}^Z; \\ \kappa_{10} &= W_{10}^Z + W_{12}^Z. \end{aligned} \quad (21)$$

Введемо ймовірність відкритого стану каналу $n(t)$. Вона визначає ймовірність знаходження каналу у відкритому стані незалежно від того, є в ньому іон чи немає. Тому ця величина визначається наступним співвідношенням:

$$n(t) = P(B^0, t) + P(B^1, t). \quad (22)$$

Щоб отримати рівняння для ймовірності відкритого стану каналу, будемо вважати, що переходи між закритими і відкритими станами проходять набагато повільніше, ніж переходи іона через канал:

$$\alpha, \beta \ll W_{ij}.$$

По аналогії з (7) запишемо:

$$\begin{aligned} P(B^0, t) &= n(t)N_0^B; \\ P(Z^0, t) &= (1 - n(t))N_0^Z, \\ P(B^1, t) &= n(t)N_1^B; \\ P(Z^1, t) &= (1 - n(t))N_1^Z, \end{aligned} \quad (23)$$

де

$$1 - n(t) = P(Z^0, t) + P(Z^1, t) \quad (24)$$

— ймовірність того, що канал знаходиться у закритому стані; N^i — ймовірність того, що в каналі немає іона ($i = 0$) або він є ($i = 1$), за умови знаходження каналу відкритому (індекс B) або закритому (індекс Z) станах. Ці умовні ймовірності — стаціонарні величини і можуть бути знайдені із системи рівнянь:

$$\begin{aligned} N^B{}_i \mu_{10} - N^B{}_0 \mu_{01} &= 0; \\ N^Z{}_1 \kappa_{10} - N^Z{}_0 \kappa_{01} &= 0 \end{aligned} \quad (25a)$$

та умов нормування

$$\begin{aligned} N^B{}_0 + N^B{}_1 &= 1; \\ N^Z{}_0 + N^Z{}_1 &= 1. \end{aligned} \quad (25b)$$

Сумуючи перші два рівняння системи (19), отримуємо:

$$\begin{aligned} dn(t)/dt &= (1 - n(t)) [N^Z{}_0 \alpha_0 + N^Z{}_1 \alpha_1] - \\ &- n(t) [N^B{}_0 \beta_0 + N^B{}_1 \beta_1]. \end{aligned} \quad (26)$$

Враховуючи рівняння (25), можна записати одержане у вигляді (18), де

$$\begin{aligned} \alpha &= (1 - N^Z) \alpha_0 + N^Z \alpha_1; \\ \beta &= (1 - N^B) \beta_0 + N^B \beta_1. \end{aligned} \quad (27)$$

— ефективні константи переходів каналу з одного стану в інший з урахуванням взаємодії іонів, що проходять крізь канал, з воротними структурами — іон-конформаційної взаємодії. Тут ми використали позначення $N^3 \equiv N^Z{}_1$, $N^B \equiv N^B{}_1$, які неважко виразити в явному вигляді через концентрації (числа заповнення N_0 і N_2) і константи швидкостей W_{ij} (див. (21) і (25)):

$$N^Z = \frac{N_0 W^Z{}_{01} + N_2 W^Z{}_{21}}{W^Z{}_{10} + W^Z{}_{12} + N_0 W^Z{}_{01} + N_2 W^Z{}_{21}}; \quad (28a)$$

$$N^B = \frac{N_0 W^B{}_{01} + N_2 W^B{}_{21}}{W^B{}_{10} + W^B{}_{12} + N_0 W^B{}_{01} + N_2 W^B{}_{21}}. \quad (28b)$$

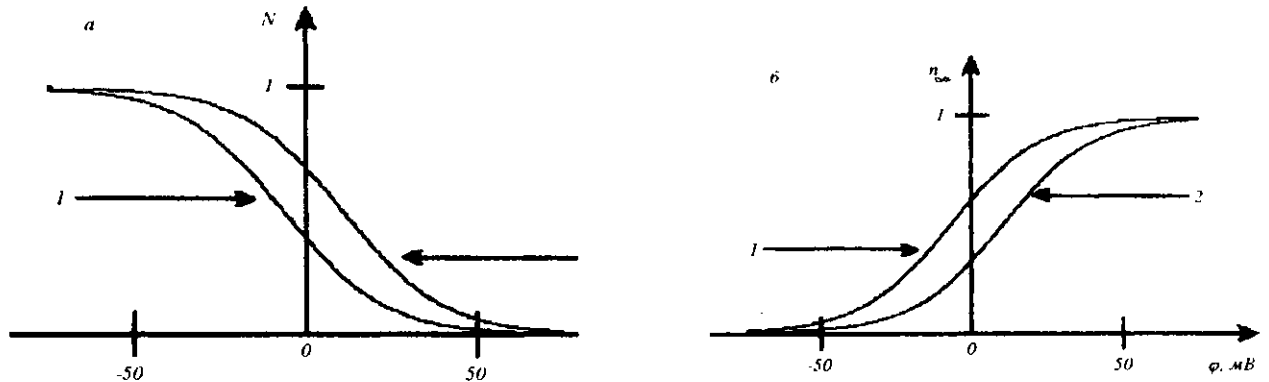


Рис. 4. Моделювання потенціал- і концентраційної чутливостей іонного каналу, які зумовлені іон-конформаційною взаємодією. Різні криві відповідають різним зовнішнім концентраціям іонів-носіїв: 1 — $C_{out} = 100$ ммоль/л; 2 — $C_{out} = 300$ ммоль/л (a — ймовірність заселеності каналу іоном N (однакова для закритого і відкритого каналів, $N^Z = N^B$, див. нижче «Параметри») змінюється від 1 до 0 при збільшенні напруги на мембрані ϕ ; b — потенціалчутливість ймовірності відкритого стану n_{∞} забезпечується іон-конформаційною взаємодією через $N(\phi)$, що визначає і експериментально відомі зсуви при зміні іонних концентрацій). Параметри: $\alpha_0 = 100$, $\beta_0 = 0,1$, $\alpha_1 = 0,1$, $\beta_1 = 100$, $\kappa_B = 0,01$, $\eta_B = 0,0001$, $\kappa_Z = 0,01$, $\eta_Z = 0,0001$, $\delta = 0,85$, $C_{in} = 100$ ммоль/л

Таким чином, ефективні константи переходів α і β отримуємо, усереднюючи абсолютні константи α_0, α_1 і β_0, β_1 по іонних змінних N^3 і N^B (див. рівняння (27)), які визначають частку абсолютної константи в ефективній константі.

Отримані результати неважко узагальнити на випадок, коли в каналі не одне місце зв'язування, а більше. При цьому рівняння (18) залишається справедливим, а ефективні константи швидкостей можна переписати у загальнішому, ніж (27), вигляді:

$$\begin{aligned} \alpha &= \sum_i F_i^3 \alpha_i; \\ \beta &= \sum_i F_i^B \beta_i, \end{aligned} \quad (29)$$

де F_i^L — функції стану іонного каналу, що визначають кількість іонів, які знаходяться у каналі, і місце їх локалізації. Методику обчислення цих функцій у загальному випадку каналу з фіксованою структурою наведено у роботі [17].

Зазначимо, що рівняння (18) зовнішньо схоже на класичне рівняння Ходжкіна — Хакслі [20] для ймовірності відкритого стану каналу, але на відміну від нього містить у собі явну залежність констант переходів α і β від концентрації іонів в оточуючих мембрану розчинах. Як вже згадували вище, така залежність спостерігається експериментально.

Такий підхід дає можливість показати, що потенціалчутливість іонного каналу може визначатися виключно іон-конформаційною взаємодією без застосування поняття сенсора напруги. У цьому випадку не потрібно, щоб абсолютні константи швидкостей α_0, α_1 і β_0, β_1 залежали від напруги на мембрані ϕ . Із рівняння (18) отримуємо вираз для стаціонарного значення ймовірності $n(t)$:

$$n_\infty = \frac{\alpha}{\alpha + \beta}. \quad (30)$$

Ми змоделивали іонний канал за вищевикладеним методом. Використовуючи вираз (5а), переписемо рівняння (28) для ймовірностей N^L :

$$N^3 = \frac{N_0 e^{-2\delta\phi} + N_2 \eta^3 e^{(1-2\delta)\phi}}{\kappa^3 (1 + \eta^3 e^{-\phi}) + N_0 e^{-2\delta\phi} + N_2 \eta^3 e^{(1-2\delta)\phi}}; \quad (31a)$$

$$N^B = \frac{N_0 e^{-2\delta\phi} + N_2 \eta^B e^{(1-2\delta)\phi}}{\kappa^B (1 + \eta^B e^{-\phi}) + N_0 e^{-2\delta\phi} + N_2 \eta^B e^{(1-2\delta)\phi}}; \quad (31b)$$

де $\phi = ze\phi/kT$; k і η — структурні параметри; δ визначає долю напруги на мембрані, що приходить на бар'єр 12. Результати моделювання відображені на рис. 4. Вони свідчать про те, що

іон-конформаційна взаємодія може бути інструментом саморегуляції в іонному каналі. Ці результати неважко зрозуміти, аналізуючи наявні формули. Справді, підставляючи в (30) вирази (27), маємо:

$$n_\infty = \left[1 + \frac{(1 - N^B)\beta_0 + N^B\beta_1}{(1 - N^3)\alpha_0 + N^3\alpha_1} \right]^{-1}. \quad (32)$$

Із виразів (31) випливає, що величини N^L ($L = B$ або 3) за певних умов ($0,5 < \delta < 1$) змінюються від одиниці до нуля при зміні напруги від мінус до плюс нескінченності.

Таким чином, ймовірність відкритого стану при цьому набуває значення при великих від'ємних напругах

$$n_\infty = \frac{\alpha_1}{\alpha_1 + \beta_1} \quad (33a)$$

та при великих додатніх напругах

$$n_\infty = \frac{\alpha_0}{\alpha_0 + \beta_0}. \quad (33b)$$

Якщо $\alpha_0 \ll \beta_0$ і $\alpha_1 \gg \beta_1$, то модель описуватиме процеси інактивації, а при $\alpha_0 \gg \beta_0$ і $\alpha_1 \ll \beta_1$ — процеси активації.

Отже, дискретний підхід, як і неперервний, теж може описувати залежність функціонування іонного каналу від іонних концентрацій. Більш того, він наглядно дозволяє зрозуміти, яким чином реалізується саморегуляція в іонному каналі. Справді, виявляється, що потенціалчутливість може реалізуватися через іонний потік, а не через так званий сенсор напруги, як це прийнято вважати [1]. З фізичної точки зору, перше є природнішим, оскільки взаємодія іонів зі структурою набагато сильніша, аніж структури з зовнішніми електричними полями.

Висновки. У даній роботі викладено загальний підхід урахування іон-конформаційної взаємодії у каналах біомембран. Ця взаємодія може відігравати ключову роль у саморегуляції каналу. Неперервний підхід є принциповим при описанні каналів, у яких кількість конформаційних станів може змінюватися [23—24] або у випадках нетривіальних концентраційних залежностей [25].

Дискретний підхід простіший і зручніший, він у змозі наглядно продемонструвати механізм потенціалчутливості через іонний потік і ефекти простих концентраційних залежностей кінетики каналу.

Розвинутий формалізм легко може бути узагальнено і використано для описання багатьох експериментальних даних.

Г. А. Абгарян, Г. Е. Вайнреб, В. М. Харкьянен

Саморегуляция в ионных каналах биологических мембран

Резюме

Развит теоретический подход, позволяющий моделировать процессы потенциал- и концентрационной зависимости параметров ионного канала. Возможны два варианта: дискретный и непрерывный подходы. Первый более простой в применении, описывает ряд экспериментально известных эффектов и дает возможность в наглядной форме физически обосновать потенциалчувствительность ионного канала, не прибегая к понятию сенсора напряжения — особенной структуры, непосредственно «чувствующей» приложенное к мембране напряжение. Непрерывный подход — более общий и описывает все эффекты, описываемые дискретным, однако он сложнее при моделировании. Его применение необходимо при описании эффектов, обусловленных деформацией самих конформационных состояний канала вплоть до таких кардинальных явлений, как изменение их количества.

G. A. Abgarian, G. E. Weinreb, V. N. Kharkyanen

Self-regulation in ion channels of biological membranes

Summary

We develop a theoretical approach that allows to model processes of both potential- and concentrational dependencies of ion channel parameters. Two variants are possible: discrete and continuous approaches. The first one is simpler in applications and describes a set of experimental effects and allows to give in a natural form physical grounds for potential sensitivity of ion channel. In this case we don't need a term of voltage sensor, a special structure which directly «feels» the membrane voltage. The continuous approach is more general and describes all effects described by discrete approach but it is more complicated for using. This approach we have to use for description of effects that are caused by deformations of the conformational states including so drastic phenomena such as a changing of the number of channel conductivity states.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hille B. Ionic channels of excitable membranes.—Washington: Sinauer Associates inc., 1992.— P. 607.
- Imoto K. Ion channels: molecular basis of ion selectivity // FEBS Lett.—1993.—325, N 1, 2.—P. 100—103.
- Demchenko A. P., Kositsky N. N., Teslenko V. I. The influence of dynamics of ionic channel protein on its selectivity function // Biophys. Chem.—1990.—35.—P. 25—35.
- Warshel A., Aqvist J. Electrostatic energy and macromolecular function // Ann. Rev. Biophys. Chem.—1991.—20.—P. 267—298.
- Partenskii M. B., Jordan P. C. Theoretical perspectives on ion-channel electrostatics: continuum and microscopic approaches // Quart. Revs Biophys.—1992.—25, N 4.—P. 477—510.
- Jordan P. C. Interactions of ions with membrane proteins // Thermodynamics of membrane receptors and channels / Ed. M. B. Jackson.— Boston: CRC press, 1993.—P. 27—80.
- Shuba Y. M., Teslenko V. I., Savchenko A. N., Pogorelaya N. H. The effect of permeant ions on single calcium channel activation in mouse neuroblastoma cells: ion-channel interaction // J. Physiol.—1991.—443.—P. 25—44.
- White P. J., Martin S., Thiel G. Characterisation of ion channels from *Acetabularia* plasma membrane in planar lipid bilayer // J. Membrane Biol.—1993.—133.—P. 145—160.
- Logothetis D. E., Kammen B. F., Lindpaintner K. et al. Gating charge differences between two voltage-gated K⁺ channels are

due to the specific charge content of their respective S4 regions // Neuron.—1993.—10.—P. 1121—1129.

- Schagina L. V., Grinfeldt A. E., Lev A. A. Concentration dependence of bidirectional flux ration as a characteristic of transmembrane ion transporting mechanism // J. Membrane Biol.—1983.—73.—P. 203—216.
- Magura I. S., Zachar J., Prevarkaya N. B. Interaction of sodium ions with potassium channels of mollusc neuronal somatic membrane // Gen. Physiol. Biophys.—1985.—4.—P. 93—96.
- Зильбертер Ю. И., Бурнашев Н. А., Папин А. А., Ходоров Б. И. Взаимодействие ионов калия с воротными структурами АТР-чувствительных калиевых каналов миокардиальных клеток // Биол. мембраны.—1987.—4, № 7.—С. 738—746.
- Fahlke C., Ruppersberg J. P. Saturation effects and rectifier properties of sodium channels in human skeletal muscle // Eur. Biophys. J.—1988.—16.—P. 307—312.
- Кононенко Н. И., Щербатко А. Д. Влияние ионов кальция на деактивацию кальциевого тока в нервных клетках виноградной улитки // Докл. АН СССР.—1989.—395, № 4.—С. 993—997.
- Цеев В.Э., Гелетюк В. И., Казаченко В. Н., Ильясов Ф. Э. Связь активности быстрого К⁺-канала с величиной тока через него // Биол. мембраны.—1992.—9, № 5.—С. 518—527.
- Гардинер К. В. Стохастические методы в естественных науках.—М.: Мир, 1986.—526 с.
- Чызмаджев Ю. А., Айтьян С. Х. Ионный транспорт через селективные каналы биологических мембран // Итоги науки и техники.— М.: ВИНТИ, 1982.—С. 6—81.— (С. Биофизика мембран; Т. 2).
- Эйринг Г. Эрри Д. У. Термодинамика и химическая кинетика // Теор. и мат. биология.—М.: Мир, 1968.—С. 60—110.
- Хакен Г. Синергетика.—М.: Мир, 1980.
- Hodgkin A. L., Huxley A. F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // J. Physiol.—1952.—117.—P. 500—544.
- Chinarov V. A., Gaididei Yu. B., Kharkyanen V. N., Sit'ko S. P. Ion pores in biological membranes as self-organized bistable systems // Phys. Rev. A.—1992.—46, N 8.—P. 5232—5241.
- Weinreb G. E. Effects of ion-conformational interaction in biomembrane channels // Phys. Alive.—1994.—2.—P. 26—34.
- Kharkyanen V. N., Panchouk A. S., Weinreb G. E. Self-organization effects induced by ion-conformational interaction in biomembrane channels // J. Biol. Phys.—1994.—19.—P. 259—272.
- Weinreb G. E., Kharkyanen V. N. A new phenomenon induced by ion-conformational interaction in the channels of biomembranes // Biophysics.—1995.—40, N 1.—P. 83—91.
- Грищенко А. В., Березецкая Н. М., Вайнреб Г. Е. и др. Влияние внеклеточной концентрации ионов калия на функционирование потенциал-зависимых калиевых каналов в клетках ГН₃ гипофиза крысы // Нейрофизиология.—1995.—27, № 2.—С. 110—115.
- Lauger P., Stephan W., Frehland E. Fluctuations of barrier structure in ionic channels // Biochim. et Biophys. Acta.—1980.—602.—P. 167—180.
- Лейгер П. Конформационные переходы в ионных каналах // Регистрация одиночных каналов / Под ред. Б. Сакмана, Э. Неераю.—М.: Мир, 1987.—С. 226—241.

УДК 535.343.2

Надійшла до редакції 25.06.96