

Г. Е. Вайнреб

ИОННЫЙ КАНАЛ ВОЗБУДИМОЙ МЕМБРАНЫ КАК САМООРГАНИЗУЮЩАЯСЯ ПЕРАВНОВЕСНАЯ СИСТЕМА. 2. МОДЕЛИРОВАНИЕ ИОННЫХ КАНАЛОВ, СОДЕРЖАЩИХ НЕСКОЛЬКО «ВОРОТНЫХ ЧАСТИЦ»

В основе данной работы лежит идея о самоорганизации ионных каналов в процессе прохождения через них ионных потоков. Используя полученные ранее результаты о моделировании воротных процессов (активации и инактивации каналов), предложен подход, позволяющий в рамках данной теории моделировать одиночный ионный канал, содержащий несколько «воротных частиц». Получено качественное соответствие теории Ходжкина - Хаксли.

Введение. Классическая теория возбудимых мембран Ходжкина — Хаксли (теория Х—Х) [1] была эмпирически разработана в 1952 году. Она основана на кинетических уравнениях, связывающих ток через мембрану с приложенным к ней электрическим напряжением. Коэффициенты, входящие в уравнения, найдены путем аппроксимации экспериментальных данных. В основе физической интерпретации теории лежит понятие «воротных частиц», каждая из которых обладает независимой от других кинетикой регуляции тока через одиночный ионный канал. Существуют два типа «частиц» (или воротных процессов): открывающие ионный канал при деполяризации мембраны (активация) и закрывающие его (инактивация). Таким образом, модель Х—Х дает, во-первых, достаточно полное описание возбудимых мембран и, во-вторых, наглядное представление о функционировании ионных каналов. Однако попытки воротных токов, самих «частиц», не дали однозначных результатов [2—4]. Более того, «частиц» в обычном понимании, ответственных за воротные процессы, видимо, не существует [5]. Микроскопической интерпретации теория Х—Х не получила.

Следует отметить, что вышеуказанный подход, содержащий понятие вероятности открытого состояния канала [1], основывается на представлении о его дискретных уровнях проводимости (открыто — закрыто). Открытие метода пэтч-клэмп [6] позволило в дальнейшем экспериментально обнаружить такие уровни. Тем не менее какой-либо интерпретации этого фундаментального свойства одиночных каналов теория Х—Х не содержит. В современных теоретических подходах обычно довольствуются постулированием дискретных уровней проводимости [7, 8] и лишь в работе [9] впервые был предложен подход, позволивший дать микроскопическую интерпретацию. Развивая идеи работы [9], в первой части настоящей работы рассмотрена проблема моделирования воротных процессов в ионных каналах, однако вопрос о моделировании в рамках данной теории одиночного канала, содержащего несколько «воротных частиц», остается открытым. Решение этой задачи и является целью второй части настоящей работы.

Описание модели. Приведем лишь краткое описание модели с учетом поставленных целей, поскольку подробное рассмотрение развиваемого подхода представлено в первой части данной работы и в [9]. Схематическое изображение модели приведено на рис. 1 из части 1.

В отличие от [9] ограничение подвижности одного из барьеров (ϵ_{01} или ϵ_{12}) здесь снимается — оба барьера в одиночном энергетическом профиле канала являются подвижными:

$$\epsilon_{01} = \epsilon_{01}(X) = \epsilon_{01}^0 + X/X_0; \quad (1)$$

$$\epsilon_{12} = \epsilon_{12}(Y) = \epsilon_{12}^0 + Y/Y_0; \quad (2)$$

где ϵ_{ij}^0 — постоянная часть энергетического барьера; X и Y — некоторые

конформационные координаты, определяющие положение подвижной молекулярной группы; X_0 и Y_0 — характерные смещения вышеуказанных молекулярных групп, при которых вероятности перехода через соответствующий барьер изменяется в e раз. В дальнейшем для удобства будем пользоваться безразмерными конформационными переменными $x = X/X_0$, $y = Y/Y_0$.

Поведение системы определяется (см. [9, 10], часть 1) уравнением баланса для средней заселенности места связывания N

$$\frac{dN}{dt} = N_0 W_{01} + N_2 W_{21} - N (W_{12} + W_{10}) \quad (3)$$

и эволюционными уравнениями для конформационных переменных

$$\omega_x^{-2} \frac{d^2 x}{dt^2} + \tau_x \frac{dx}{dt} + x = x_\infty N(t) + \zeta_x(t); \quad (4)$$

$$\omega_y^{-2} \frac{d^2 y}{dt^2} + \tau_y \frac{dy}{dt} + y = y_\infty N(t) + \zeta_y(t). \quad (5)$$

(Все обозначения соответствуют таковым части 1.)

Заметим, что уравнение (3) записано в предположении о малости N (одноионный потенциальный профиль). Благодаря этому предположению мы вправе также воспользоваться приближением Гольдмана (см. часть 1):

$$\psi = \psi_{12} - \psi_{10} \approx \psi_1 - \psi_0 \approx \psi_2 - \psi_1. \quad (6)$$

Стационарные решения системы (3—5). Стационарные решения динамической части системы (без учета случайных сил $\zeta_x(t)$ и $\zeta_y(t)$) записываются в следующем виде:

$$N = \frac{N_0 W_{01} + N_2 W_{21}}{W_{10} + W_{12}}; \quad (7)$$

$$x = x_\infty N(x, y); \quad y = y_\infty N(x, y). \quad (8)$$

Преобразуем первое уравнение, используя определения W_{ij} :

$$N = \frac{I_l e^{-\psi} + I_r \eta e^{x-y}}{1 + \eta \exp[x - y - \psi]}, \quad (9)$$

где величины $I_l = N_0 \frac{\Omega_0}{\Omega_1} \exp(\epsilon_0 - \epsilon_1)$, $I_r = N_2 \frac{\Omega_2}{\Omega_1} \exp(\epsilon_2 - \epsilon_1)$ — накачки

характеризуют односторонние ионные потоки из окружающих растворов в канал. Удобно ввести новую переменную $n \equiv (y_\infty - x_\infty)N$, для которой, используя уравнения (8—10), получаем соотношение

$$n = \kappa \frac{I_l e^{-\psi} + I_r \eta e^{-n}}{1 + \eta e^{-\psi-n}}, \quad (10)$$

где $\kappa = y_\infty - x_\infty$.

Математически тождественное уравнение получено в части 1, работе [10], где показано, что оно описывает поведение a -системы. Из работы [10] следует, что для существования трех решений (10) необходимо выполнение ряда условий. В частности,

$$I_l e^{-\psi} - I_r e^\psi > 0; \quad (11)$$

$$\kappa > 0. \quad (12)$$

Первое указывает на то, что система является односторонне бистабильной, т. е. три решения существуют лишь при ионном потоке определенного направления (см. [14]). (Условие односторонней бистабильности

не связано с конкретной модельной реализацией. Действительно, для смены знака тока необходимо, чтобы одно из его значений при определенных параметрах стало равным нулю. Однако в системах, где транспорт является пассивным и определяется термодинамическими силами типа разности $I_l e^{-\psi} - I_r e^{\psi}$ (которые не зависят от конформационных переменных!), поток равен нулю лишь при условии равенства нулю этой силы. Но в таком случае и второй уровень проводимости станет равным нулю. То есть при этом система окажется вне области бистабильности (нет различных уровней проводимости). Другое направление потока переведет систему либо в область моностабильности, либо в другую (если она существует) область бистабильности.) Реализация второго возможна в трех вариантах

$$y_{\infty} > x_{\infty} \geq 0; \quad (13a)$$

$$0 \geq y_{\infty} > x_{\infty}; \quad (13б)$$

$$y_{\infty} \geq 0 \geq x_{\infty}. \quad (13в)$$

Анализ вариантов (13). Допустим, что система находится в области бистабильности и возможны два устойчивых стационарных значения потока ионов через канал $J(x, y)$ при заданных управляющих параметрах I_l, I_r, ψ . Используя выражение для потока (см. часть I)

$$J(x, y) = \Omega_1 \exp[\epsilon_{12}^0 - \epsilon_1] e^{-\psi/2} \frac{I_l e^{-\psi} - I_r e}{e^y + \eta e^{-\psi + x}}, \quad (14)$$

а также выражения (8), запишем отношение между значениями соответствующих уровней следующим образом:

$$\frac{J_I}{J_{III}} = \frac{e^{y_{\infty} N_{III}} + \eta e^{-\psi + x_{\infty} N_{III}}}{e^{y_{\infty} N_I} + \eta e^{-\psi + x_{\infty} N_I}}. \quad (15)$$

(Здесь индексы I и III соответствуют соотношениям $N_{III} > N_{II} > N_I$.)

Как следует из первой части настоящей работы, система, описываемая уравнением (10), при увеличении напряжения на мембране ψ переходит из состояния n_{III} (т. е. N_{III}) в состояние n_I (т. е. N_I). Это означает, что вероятность ее нахождения в состоянии n с ростом ψ увеличивается.

Из вышеизложенного следует, что в ситуации, когда справедливо неравенство (13a), для потоков имеет место соотношение $J_I \gg J_{III}$. Такой случай соответствует активации ионного канала. При реализации (13б) $J_I \ll J_{III}$, что соответствует инактивации. Таким образом, введение дополнительного подвижного барьера в энергетический профиль канала с тем же характером изменения в a - или i -систему не изменяет ее функциональных свойств. Например, если в a -системе барьер ϵ_{01} станет подвижным с положительным знаком изменения ($x_{\infty} > 0$), то, согласно (13a), такая система будет так же, как и исходная a -система, описывать активацию.

Если же подвижность второго барьера имеет иной характер (другой знак конформационной переменной) — случай (13в), то такая система должна описывать одновременно как активацию, так и инактивацию. В этом смысле можно говорить о модели ионного канала. В таком качестве эта система рассмотрена в следующих разделах.

Функция распределения. Структурные элементы ионного канала постоянно подвергаются воздействию случайной силы, характер которой может быть обусловлен функциональной динамикой макромолекул, образующих ионный канал в мембране. Для описания таких систем вводится понятие функции распределения $F(x, y, t)$, определяющей вероятность нахождения системы в том или ином состоянии [11].

Следуя [9], можно воспользоваться адиабатическим принципом исключения быстрых переменных для $N(t)$ и перейти в (3) к квазиста-

циональному режиму ($dN/dt=0$). Оставшиеся эволюционные уравнения (4), (5) будут определять временное развитие системы. Такая система, как известно [11], может быть потенциальной при соблюдении равенства

$$\frac{\partial}{\partial x}[-y + y_{\infty}N] = \frac{\partial}{\partial y}[-x + x_{\infty}N]. \quad (16)$$

Но поскольку из уравнения (9) следует, что $\partial N/\partial x = -(\partial N/\partial y)$, то очевидно, что для переменных (x, y) система может быть потенциальной при выполнении условия $x_{\infty} = -y_{\infty}$. Замена переменных $x = \alpha \tilde{x}$ и $y = \beta \tilde{y}$ (α и β — константы) позволяет масштабированием (так, что $x_{\infty}\beta = -y_{\infty}\alpha$) сделать систему потенциальной в общем случае.

Это позволяет записать стационарную функцию распределения в следующем виде:

$$F_s(x, y) = Ce^{-U(x, y)}, \quad (17)$$

где C — нормировочный множитель, а потенциальная функция $U(x, y)$ определяется уравнениями:

$$-\frac{\partial U}{\partial x} = -x + x_{\infty}N; \quad -\frac{\partial U}{\partial y} = -y + y_{\infty}N \quad (18)$$

и задается выражением

$$U(x, y) = \frac{x^2}{2\alpha} + \frac{y^2}{2\beta} + \gamma [(I_1 e^{-\psi} - I_2 e^{\psi}) \ln(1 + \eta e^{x-y-\psi}) - I_1 e^{-\psi}(x - y - \psi + \ln \eta)], \quad (19)$$

где $\gamma = y_{\infty}/\beta$.

(Заметим, что поскольку здесь все величины размерности энергии даны в единицах $k_B T$, то нормировочный множитель в экспоненте выражения (17) опущен.)

Потенциальная функция $U(x, y)$ в определенном интервале значений параметров обладает свойством аддитивности, т. е.

$$U(x, y) = U_1(x) + U_2(y), \quad (20)$$

где слагаемые являются потенциальными функциями для систем, описываемых одной конформационной переменной, т. е. для «воротных частиц». В этом случае решение (17) записывается, согласно (20), как произведение

$$F_s(x, y) = F_{s1}(x) \cdot F_{s2}(y). \quad (21)$$

(Это уравнение по смыслу означает независимость подсистем $F_{s1}(x)$ и $F_{s2}(y)$.)

Как видно из (19), такая ситуация реализуется в случае, когда

$$\eta e^{x-y-\psi} \gg 1 \quad (22a)$$

с соответствующими функциями распределения

$$F_{s1}(x) = C_1 \exp \left[\gamma I_1 e^{\psi} x - \frac{x^2}{2\alpha} \right]; \quad (22б)$$

$$F_{s2}(y) = C_2 \exp \left[-\gamma I_2 e^{\psi} y - \frac{y^2}{2\beta} \right], \quad (22в)$$

и в случае, когда

$$\eta e^{x-y-\psi} \ll 1, \quad (23a)$$

с функциями

$$F_{s1}(x) = C_1 \exp \left[\gamma I_1 e^{-\psi} x - \frac{x^2}{2\alpha} \right]; \quad (23б)$$

$$F_{s2}(y) = C_2 \exp \left[-\gamma I_2 e^{-\psi} y - \frac{y^2}{2\beta} \right] \quad (23в)$$

(нормировочные коэффициенты C_1 и C_2 являются функциями параметров задачи).

И только при $\eta e^{x-y-\psi} \approx 1$ аддитивность не имеет места.

Таким образом, аддитивные свойства потенциальной функции $U(x, y)$ свидетельствуют о независимости составных частей («воротных частиц») системы (ионного канала) в силу выражения (21). Такое предположение лежит в основе теории X—X [1—4].

Сопоставление с моделью X—X. Как уже указывалось во введении, общепризнанной и наиболее полно описывающей ионные каналы

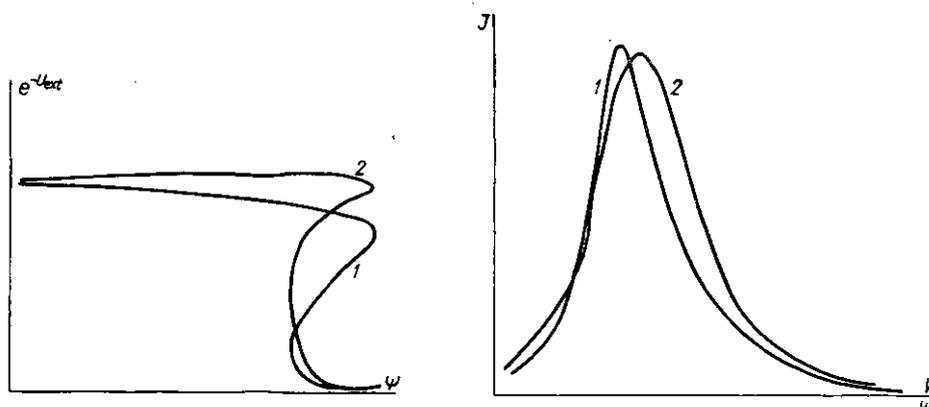


Рис. 1. Сравнение функций распределения в точках экстремумов: 1 — график точного выражения (19); 2 — график приближенного выражения (23). Параметры: $I_i=0,22$; $I_r=0,005$; $\eta=9$; $y_\infty=7$; $\alpha=1$; $\beta=1,5$

Рис. 2. Стационарная вольтамперная характеристика мембраны: 1 — кривая рассматриваемой модели; 2 — кривая, соответствующая модели Ходжкина—Хаксли. Параметры: $I_i=0,1$; $I_r=0,01$; $y_\infty=10$; $\eta=15$; $\alpha=1$; $\beta=2$

возбуждаемых мембран является эмпирическая модель Ходжкина — Хаксли [1, 3, 8]. Поэтому сравнение с ней рассматриваемой модели может послужить критерием адекватности последней.

Рассмотрим канал, состоящий из одной активирующей и одной инактивирующей частиц. Согласно подходу X—X, ток, проходящий через мембрану с такими каналами, задается уравнением

$$J(t) = \tilde{g} \cdot m(t) \cdot h(t) \cdot (V - V_p), \quad (24)$$

где \tilde{g} — постоянная, равная максимальной проводимости мембраны; $m(t)$ — вероятность открытого состояния активирующей «частицы», $h(t)$ — то же для инактивирующей «частицы» (произведение этих вероятностей определяет вероятность открытого состояния всего ионного канала, где активация и инактивация — независимы); V — напряжение на мембране; V_p — его равновесное значение для данного типа каналов.

В настоящей главе представлены результаты численных расчетов и показано, что предлагаемая модель адекватна модели X—X, описываемой уравнением (24).

1. В конце предыдущей главы мы уже отметили, что функция распределения (17) может быть представлена в виде произведения (21) в двух предельных случаях. На рис. 1 изображены графики стационарной функции распределения в точках экстремумов как функции напряжения ψ . Кривая 1 изображает точное выражение функции (19), а кривая 2 — ее приближение произведением (23) в предельном случае (22a). (Второй предельный случай (23a) не изображен, поскольку при данных параметрах не имеет места.)

Таким образом, вероятность открытого состояния в модели приблизительно равна произведению соответствующих вероятностей a - и i -систем и, следовательно, подвижности энергетических барьеров независи-

мы. Необходимо отметить, что отклонение от независимости «воротных частиц» является экспериментально доказанным фактом [2].

2. На рис. 2 сравниваются стационарные вольтамперные характеристики мембраны с ионными каналами вышеуказанного типа предлагаемой модели и модели X—X. Качественное совпадение кривых очевидно.

3. На рис. 3, а, представлена вольтамперная характеристика пиковых значений тока на мембране при ступенчатом переключении напряжения от равновесного значения к различным деполяризующим значениям. На рис. 3, б, приведен пример развития во времени тока через мембрану при одном переключении напряжения, изображенном на рис. 3, а. Характерные зависимости и здесь совпадают с известными из эксперимента [2].

Заключение. Используя подход, разработанный в [9] и развитый в предыдущей части, оказывается возможным построить модель ионного канала с одним местом связывания. Дискретные уровни проводи-

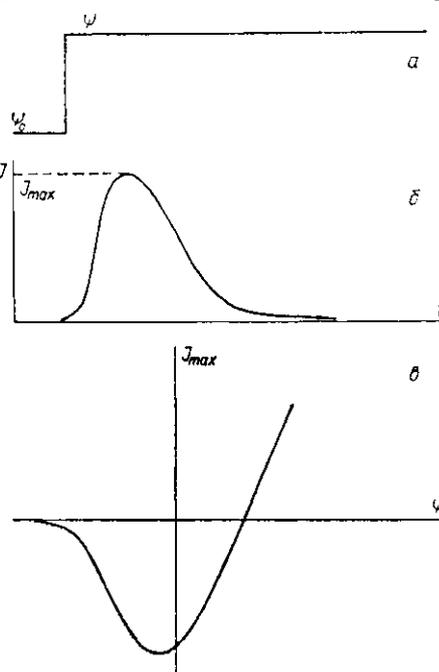


Рис. 3. Изучение токов в ионных каналах, зависящих от времени, методом фиксации потенциала: а — зависимость напряжения на мембране от времени; б — развитие ионного тока во времени при переключении напряжения, изображенного в пункте а; в — вольтамперная характеристика пиковых значений тока как функций ψ (при неизменном ψ_0). Расчет производили численным решением нестационарного уравнения Фоккера—Планка, соответствующего системе (4–5). Параметры: $I_1=0,12$; $I_2=0,002$; $\eta=14$; $y_\infty=-15$; $\tau_v=1$; $\psi_0=2$; $\tau_x=50$; $\alpha=1$; $\beta=2$; $\psi=[-1,5 \ 3]$

мости в таком канале обуславливаются тем, что в определенном интервале значений управляющих параметров (концентрации ионов, напряжения на мембране) возможны две устойчивые конформации каналообразующего белка и существует область бистабильности. Ее наличие вызвано самосогласованным взаимодействием конформационных степеней свободы каналообразователя и проходящего ионного потока. Такое взаимодействие оказывается основополагающим в функционировании ионного канала и впервые корректно учтено в [9]. Учет ион-конформационного взаимодействия позволяет объяснить также воротные процессы.

Как уже указывалось в части I, в однояционном ионном канале входной барьер ответствен за инактивацию, а выходной — за активацию. При наличии обоих подвижных барьеров возможно сочетание этих процессов. Необходимым условием при этом является неравенство (12). Более того, весь проведенный анализ остается справедливым в случае многокомпонентности энергетических барьеров. Например, наличие нескольких активирующих «частиц» в канале может быть описано, если принять, что $y=y_1+\dots+y_m$.

Это соответствует ситуации, когда энергетический профиль формируется несколькими молекулярными группами белковой макромолекулы, компактно сгруппированными в ионном канале.

Таким образом, указан способ моделирования ионных каналов, содержащих произвольное количество «воротных частиц». Последние, согласно вышеизложенному, могут при определенных условиях эволюционировать как независимые, что соответствует подходу Ходжкина и Хаксли.

Анализ стационарных и временных характеристик позволяет говорить об удовлетворительном качественном соответствии представленной модели $X-X$ (см. пп. 1—3 предыдущего раздела). Ряд характерных явлений (конечная область бистабильности, вольтамперная характеристика одиночного канала, односторонняя бистабильность и др.) позволяет экспериментально проверить основные положения модели.

Автор благодарит В. Н. Харкянена за плодотворные обсуждения и полезные советы, а также Н. М. Березецкую за помощь в проведении численных расчетов.

Резюме. В роботі запропоновано модель одиночного іонного каналу, що дозволяє описувати дискретні рівні провідності та воротні процеси. Кількість конформаційних перемінних, які описують іон-конформаційну взаємодію, дорівнює числу «воротних частинок». Розвинутий в роботі синергетичний підхід дає можливість відтворювати властивості збуджуваних мембран, що описуються теорією Ходжкіна — Хакслі. Поряд з цим моделі притаманні специфічні властивості, які дають можливість для її експериментальної апробації.

Summary. A model of single-ion channel allowing us to describe discrete conductivity levels and gate processes is suggested. A number of conformational variables describing ion-conformational interaction is equal to the number of «gate particles». Synergetic approach developed in the paper enables us to reproduce the properties of excited membranes described by Hodgkin—Huxley theory. Along with this the model has special properties making possible its experimental approbation.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *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.
2. *Мембраны. Ионные каналы* / Под ред. Ю. А. Чизнадзева.— М.: Мир, 1981.— 320.
3. *Костюк П. Г., Крышталь О. А.* Механизмы электрической возбудимости нервной клетки.— М.: Мир, 1981.— 204 с.
4. *Рубин А. Б.* Биофизика.— М.: Высш. шк., 1987.— Кн. 2.— 304 с.
5. *A structural parts involved in activation and inactivation of the sodium channel* / W. Stuhmer, F. Conti, H. Suzuki et al. // *Nature.*—1989.—333, N 6226.— P. 597—603.
6. *Регистрация одиночных каналов* / Под ред. Б. Сакмана, Э. Неера.— М.: Мир, 1987.— 448 с.
7. *Lauger P.* Dynamics of ion transport systems in membranes // *Physiol. Rev.*—1987.—67, N 4.— P. 1236—1331.
8. *Ciani S.* Coupling between fluxes in one particle pores with fluctuating energy profiles. A theoretical study // *Biophys. J.*—1984.—46.— P. 247—252.
9. *Гайдидей Ю. Б., Харкянен В. Н., Чинаров В. А.* Синергетическая модель функционирования потенциалозависимых ионных каналов в биомембранах.— Киев, 1988.— 40 с. (Препринт / АН УССР. Ин-т теор. физики; № 123Р).
10. *Синергетическая модель ионного транспорта в потенциалозависимых каналах биомембран* / Г. Е. Вайнреб, Ю. Б. Гайдидей, В. Н. Харкянен, В. А. Чинаров // *Физика многочастичных систем.*—1990.— Вып. 18.— С. 172—197.
11. *Гардинер К. В.* Стохастические методы в естественных науках.— М.: Мир, 1986.— 526 с.

Межотрасл. науч.-инж. центр по физике живого и микроволн. резонанс. терапии «Відгук» при КМ Украины, Киев

Получено 15.04.91