

9 Перенос веществ через мембраны

9.1 Основные понятия

Основное понятие при описании явления переноса ионов – это *поток ионов* через мембрану. Потоки могут возникать самопроизвольно, без затраты энергии клеткой – это *пассивный перенос* (транспорт) ионов. Если перенос ионов происходит только при одновременном расходе энергии клеткой, говорят об *активном транспорте*.

Основная количественная характеристика, используемая при описании переноса ионов или незаряженных молекул (неэлектролитов) через мембраны – это *поток*. Поток *частиц* Φ_n (моль/с) через площадь S измеряется числом частиц, которые пересекают эту площадь (например, мембрану клетки) за секунду. Поток *вещества* Φ измеряют не в числе частиц, а в числе *киломолей* данного вещества (или *киломолей* данных ионов). *Плотность потока* (J , моль/с·м²) – это количество вещества (в киломолях), переносимого за секунду через единицу площади, расположенной *нормально к направлению потока*.

Между потоками, выраженными этими двумя способами, имеется очевидное соотношение:

$$\Phi_n = \Phi \cdot N_A \quad (0.1)$$

$$J_n = J \cdot N_A \quad (0.2)$$

Положительным считается направление потока из замкнутого контура наружу. Таким образом, поток из клетки в окружающую среду имеет знак «+», а поток в клетку имеет знак «-» (см. рис. 9.1).

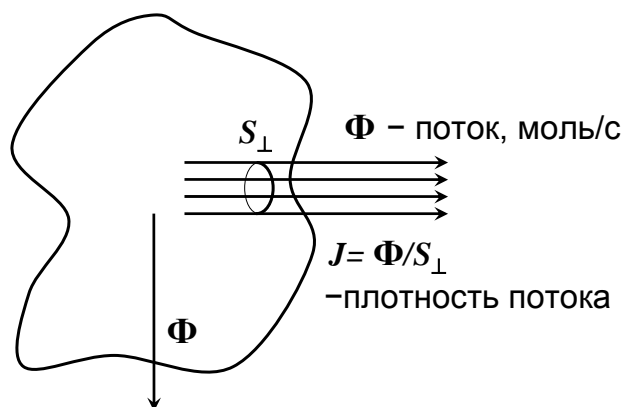


Рис. 9.1. Поток ионов из клетки.

Величина J зависит от концентраций переносимых частиц по сторонам мембраны C_1 и C_2 , а в случае ионов – также и от разности потенциалов между водными фазами, омывающими мембрану φ_1 и φ_2 : $\Delta\varphi = \varphi_2 - \varphi_1$

В конечном счете, эти две характеристики (потенциал и концентрация) влияют на поток потому, что от них зависит энергия ионов (молекул) в данном растворе. Энергия моля ионов данного вида в среде носит, как известно, название *электрохимического потенциала* иона и равна:

$$\mu = \mu^0 + RT \ln C + zF\varphi \quad (0.3)$$

где R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, C – молярная концентрация, z – безразмерный заряд иона, F – число Фарадея, φ – потенциал в данной области среды.

Величина μ^0 (стандартный химический потенциал) определяется энергией взаимодействия иона с молекулами среды.

9.2 Пассивный транспорт

Самопроизвольные процессы сопровождаются *уменьшением свободной энергии системы*. Перенос ионов через мембрану из области μ_2 в область с μ_1 происходит самопроизвольно при $\mu_2 > \mu_1$. Такой транспорт называют *пассивным* (это, так сказать, перенос "под гору") (рис. 9.2).

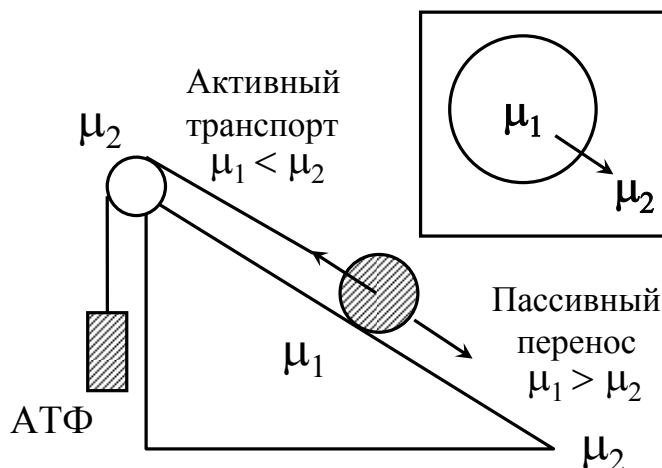


Рис. 9.2. Активный и пассивный ионный транспорт.

В случае незаряженных молекул (неэлектролитов) процесс переноса частиц обусловлен их *диффузией*, которая приводит к суммарному потоку вещества из области большей в область меньшей *концентрации*. В отсутствие различия концентраций по сторонам мембраны неэлектролиты через мембрану не переносятся, но ионы могут переноситься под влиянием *электрического поля*; это явление, как известно, называется *электрофорезом*. В общем случае электрофорез и диффузия сочетаются и говорят об *электродиффузии* ионов через мембраны.

Ниже мы увидим, что в конечном счете направление и величина потока ионов зависит от *разности электрохимических потенциалов* иона по сторонам мембраны:

$$\Delta\mu = RT \ln \frac{C_2}{C_1} + zF\phi_m \quad (0.4)$$

В случае пассивного транспорта величина разности электрохимических потенциалов, взятая с обратным знаком, $-\Delta\mu = -RT \ln \frac{C_2}{C_1} - ZF\psi_m$ есть движущая сила потока ионов.

Для неэлектролитов

$$\Delta\mu = RT \ln \frac{C_2}{C_1} \quad (0.5)$$

В отсутствие различия концентраций C_1 и C_2 неэлектролиты через мембрану не переносятся, но ионы могут переноситься под влиянием электрического поля

$$\Delta\mu = zF\Delta\phi \quad (0.6)$$

9.2.1 Облегченная диффузия

Пассивный перенос может происходить непосредственно через липидный бислой мембран (простая электродиффузия), через водные каналы (поры) в мембране или с помощью подвижных переносчиков, растворенных в липидной фазе мембран. Следует подчеркнуть, что как направление, так и скорость процесса в присутствии переносчиков или каналов все равно диктуется законами электродиффузии; поэтому для этих двух механизмов применяют термин *облегченная (facilitated) диффузия* (рис. 9.3).

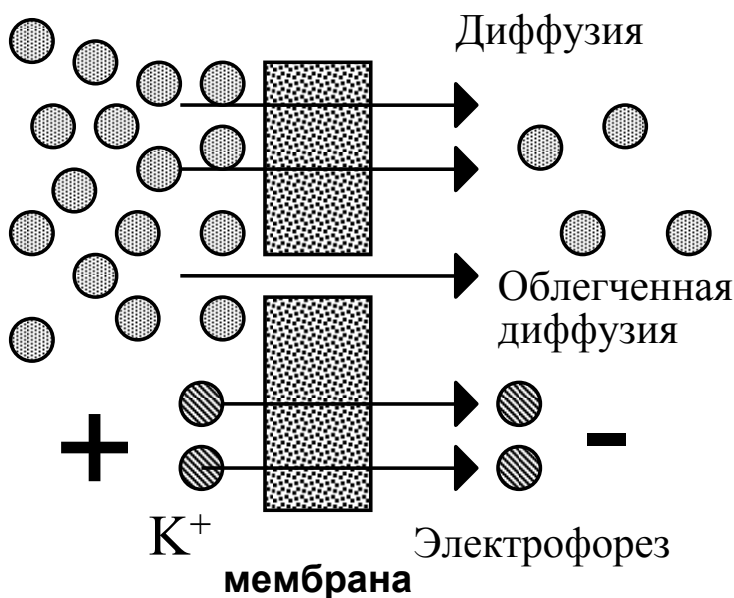


Рис. 9.3. Диффузия и электрофорез

Между обычной диффузией и переносом с помощью подвижного переносчика (а часто и по каналам) имеется важное различие. Скорость обычной диффузии, при прочих равных условиях, прямо пропорциональна концентрации переносимого вещества. В случае переноса с участием переносчика или через узкую пору существует *предельная* скорость переноса, которая наступает, когда все молекулы переносчика (или все каналы) окажутся занятыми переносимыми молекулами. Поэтому такой транспорт называют *насыщаемым (saturable)* (см. рис. 9.4).

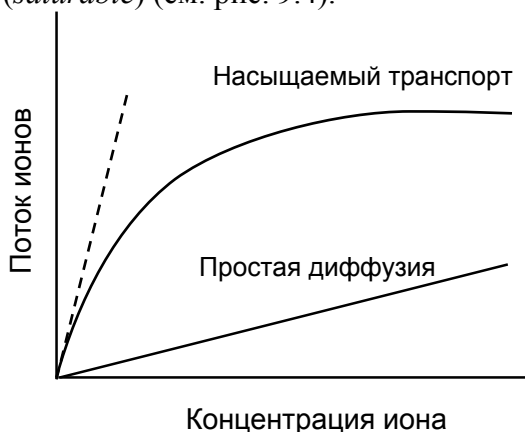


Рис. 9.4. Насыщаемый и ненасыщаемый транспорт ионов

9.3 Активный транспорт

Поток молекул может быть направлен в сторону более высокой концентрации, также как и поток катионов – в сторону с большим потенциалом (перенос ионов "в гору", т. е. из

области с μ_1 в область с μ_2 при $\mu_1 < \mu_2$) может происходить лишь за счет одновременной *затраты энергии* в сопряженном процессе. Такой транспорт называют *активным*. Различают *первичный* и вторичный (или *сопряженный*) активный транспорт. Известны четыре типа молекулярных машин, осуществляющих первичный активный транспорт ионов.

9.3.1 Кальций-транспортная АТФаза (Са-АТФаза)

Это белок, входящий в состав мембран саркоплазматического ретикулаума скелетных мышц и сердца, а также мембран эритроцитов и других клеточных мембран. При гидролизе одного моля АТФ Са-АТФаза переносит через мембрану (внутри пузырьков саркоплазматического ретикулаума или наружу из клетки) 2 моля Ca^{2+} , причем ионы кальция могут переноситься из области более низких (10^{-7} М) в область более высоких концентраций (10^{-3} М). Изменение электрохимического потенциала ионов Ca^{2+} при таком процессе равно:

$$\Delta\mu = \Delta\mu_o + RT \ln \frac{10^{-3}}{10^{-7}} + 2F\Delta\varphi \quad (0.7)$$

Поскольку внутри цистерн саркоплазматического ретикулаума потенциал примерно равен внутриклеточному ($\Delta\varphi = 0$), а μ_o примерно одинаково для ионов кальция в водных растворах (если в растворах нет Ca^{2+} -связывающих соединений), т.е. μ^o , то можно считать, что при 37°C :

$$\Delta\mu = RT \ln 10^4 = 23,2 \text{ кДж/моль.}$$

Изменение свободной энергии при переносе двух молей Ca^{2+} равно 46,4 кДж/моль, что приблизительно равно энергии гидролиза макроэргической связи АТФ при физиологических концентрациях АТФ, АДФ и ортофосфата. Более подробно о работе и строении Ca^{2+} -АТФазы можно познакомиться в разделе 3.9.

9.3.2 Na-K-АТФаза

Этот фермент содержится во всех клеточных мембранах и осуществляет перенос двух ионов K^+ в клетку и трех ионов Na^+ из клетки при гидролизе одной молекулы АТФ. При этом на перенос ионов калия энергия почти не затрачивается, поскольку калий переносится хотя и в сторону большей концентрации, но зато в область меньшего потенциала. Например, в случае мышечного волокна, помещенного в физиологический раствор отношение концентраций внутри- и внеклеточного калия $[\text{K}^+]_i/[\text{K}^+]_o = 48$, а разность потенциалов $\varphi_m = \varphi_i - \varphi_o = -88 \text{ мВ}$. Отсюда легко подсчитать, что при 37°C :

$$\Delta\mu = RT \ln 48 - 0,088zF = 9,761 - 8,491 = 1,27 \text{ кДж/моль}$$

На перенос двух молей ионов K^+ энергии расходуется вдвое больше – 2,54 кДж, но все равно составляет лишь немногим более 1/20 энергии гидролиза АТФ. Напротив, на перенос ионов Na^+ расходуется много энергии, т.е. эти ионы переносятся не только в область более высоких концентраций, но и в область более высокого потенциала. Основываясь на данных таблицы 3.6.1, оценим изменение свободной энергии при переносе трех молей Na^+ из мышечной клетки в окружающий раствор при 37°C :

$$\Delta G = 3\Delta\mu = 3(RT \ln 1,9459 + 0,088zF) = 14,72 + 25,47 = 40,2 \text{ кДж/моль}$$

Таким образом, основная энергия гидролиза АТФ идет на перенос ионов Na^+ , поэтому Na-K-АТФазу можно назвать натриевой помпой (насосом).

Таблица 9.1.

Содержание ионов калия, натрия и хлора внутри (*in*) клеток (*out*), равновесные мембранные потенциалы для этих ионов (φ_K , φ_{Na} , φ_{Cl}) и потенциалы покоя (φ_r) и действия (φ_a)

| Клетки | K^+ <i>in</i> | K^+ <i>out</i> | Na^+ <i>in</i> | Na^+ <i>out</i> | Cl^- <i>in</i> | Cl^- <i>out</i> | φ_K | φ_{Na} | φ_{Cl} | φ_r | φ_a |
|------------------|--------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-------------|----------------|----------------|-------------|-------------|
| Аксон каракатицы | 340 | 10,4 | 49 | 463 | 114 | 592 | -88 | +57 | -42 | -60 | +50 |
| Аксон кальмара | 360 | 10,0 | 69 | 425 | 157 | 496 | -90 | +46 | -29 | -60 | +35 |
| Мотонейрон кошки | 150 | 5,5 | 15 | 150 | 9 | 125 | -90 | +60 | -70 | -70 | +30 |
| Мышечное волокно | (48:1) | | (1:7) | | (1:64) | | -98 | +49 | -105 | -88 | +30 |

9.3.3 H^+ -АТФаза

На рисунке 9.5 дана структура H -АТФазы по современным представлениям. Этот фермент, или лучше сказать ферментный комплекс (состоящий из нескольких субъединиц), входит в состав всех энергопреобразующих мембран, т.е. внутренней мембраны митохондрий, мембран хлоропластов и хроматофоров фотосинтезирующих растений и бактерий, а также клеточных мембран бактерий. Все эти мембранные структуры участвуют в синтезе АТФ, причем H^+ -АТФаза участвует в этом процессе, выполняя функцию АТФ-синтетазы. При наличии АТФ и не слишком высоких различиях электрохимического потенциала ионов водорода по сторонам мембраны H^+ -АТФаза осуществляет активный перенос протонов. В митохондриях протоны переносятся из матрикса в окружающую среду; гидролиз одного моля АТФ сопровождается переносом обычно двух молей H^+ . В результате этого происходит защелачивание матрикса (создается ΔpH на мембране) и генерируется мембранный потенциал φ_m со знаком "-" внутри митохондрий. Более подробно эти процессы рассматриваются в статье: Виноградов А.Д. Преобразование энергии в митохондриях, *Соросовский Образовательный Журнал*, 1999, № 96, с. 11–19.

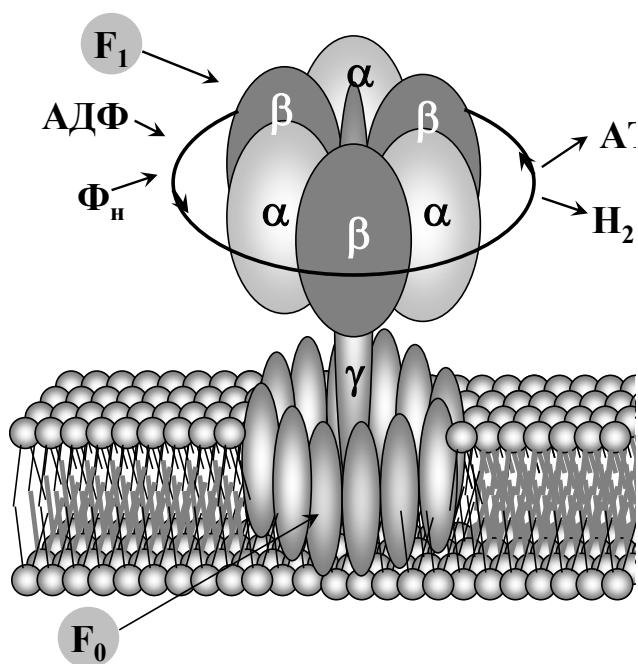


Рис. 9.5. Пространственное строение H -АТФ синтазного комплекса.

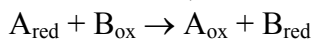
9.3.4 Протонные помпы электрон-транспортных систем

Согласно хемоосмотической теории окислительного фосфорилирования, в определенных участках дыхательной цепи митохондрий, хлоропластов и бактериальных клеток происходит трансмембранный перенос протонов, сопряженный с переносом электронов через данный участок дыхательной цепи; последний называется *пунктом сопряжения*. Перенос пары электронов через пункты сопряжения сопровождается переносом двух протонов через мембрану.

Механизм сопряжения различен в разных участках дыхательной цепи. На рисунке 9.6 показано сопряжение переноса электронов на участке «петли коэнзима Q» с переносом протонов. Хорошо видно, что молекула убихинола Q при восстановлении двумя электронами (от дыхательного комплекса I или II и от гема b_H) забирает два протона из матрикса митохондрий, превращаясь в убихинон (QH_2), который затем диффундирует к наружной поверхности мембраны и там отдает два электрона (гему b_L и железосерному комплексу Реске), а два протона выделяет в межмембранное пространство.

Образующийся убихинол (Q) диффундирует к внутренней поверхности мембраны, и цикл повторяется. Таким образом перенос двух электронов через данный участок дыхательной цепи сопровождается переносом двух протонов через мембрану, из матрикса в межмембранное пространство, а затем – в цитозоль. При этом происходит защелачивание матрикса (повышение pH до 0,6 единиц по сравнению с окружающей средой) и одновременно на мембране создается разность потенциалов со знаком «минус» в матриксе (до -175 мВ).

Как известно, изменение свободной энергии окислительно-восстановительной реакции



составляет

$$\Delta G = nF(E_A - E_B), \quad (0.8)$$

где E_A и E_B окислительно-восстановительные потенциалы донора ($A_{ox} \rightarrow A_{red}$) и акцептора ($B_{ox} \rightarrow B_{red}$) электронов. Эта энергия и обеспечивает перенос протонов из области более низкого μ_1 в область высокого μ_2 значения электрохимического потенциала протона. Очевидно, что

$$\mu_2 - \mu_1 \leq \Delta G = nF(E_A - E_B) \quad (0.9)$$

Случай равенства означает обратимость процесса. Более подробно строение и механизм работы других участков дыхательной цепи, где осуществляется перенос протонов через мембрану, рассматриваются в статье: Виноградов А. Д. Преобразование энергии в митохондриях, *Соросовский Образовательный Журнал*, 1999, № 96, с. 11–19.

9.4 Сопряженный транспорт

Создаваемое мембранными насосами неравновесное распределение ионов может приводить в движение *вторичные процессы* переноса ионов и молекул за счет различных механизмов *сопряжения*. Классическим примером служит сопряженный перенос аминокислот и сахаров через мембраны клеток эпителия. Клеточные мембраны эпителиоцитов различаются по строению и функции на базальной (обращенной в сторону кровяного русла) и апикальной сторонах (обращенной в просвет кишечника, почечных канальцев и т.д.). Базальная, плоская мембрана содержит Na-K-АТФазу, которая создает $\Delta\mu_i$ на мембране, т.е. обеспечивает низкую концентрацию иона натрия в клетке и поддерживает отрицательный потенциал внутри клетки. Апикальная мембрана, представленная ворсинками (щеточной каемкой), содержит белковые переносчики ионов Na^+ , особенность которых состоит в том, что они способны переносить Na^+ только *вместе* с молекулами аминокислот или углеводов. Na^+ переносится в клетку *пассивно*, т.е. в сторону уменьшения электрохимического потенциала. Молекулы сахара или

аминокислоты переносятся *активно*, т.е. в сторону их более высокой концентрации. Суммарное изменение свободной энергии в этом процессе, разумеется, направлено в сторону ее снижения.

9.5 Перемещения иона в мембране

9.5.1 Кинки

Возможность изменения конфигурации цепей жирных кислот имеет большое значение для растворения в липидном слое и переноса через него различных молекул и ионов. Ион попадает в полость внутри липидного бислоя, образуемую за счет соответствующих изгибов окружающих цепей жирных кислот.

Такая полость называется кинком (от английского слова *kink* – петля, изгиб). Кинки образуются в результате теплового движения молекул и ион может перемещаться в липидном слое мембраны, перескакивая из одного кинка в соседний. Это схематически изображено на рисунке 9.6.

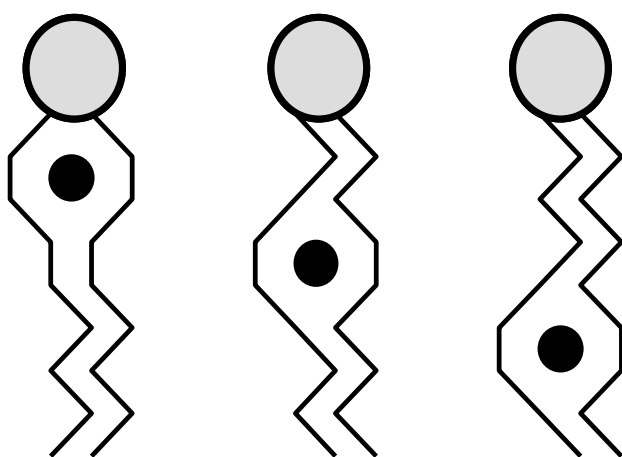


Рис. 9.6. Передвижение иона в липидном слое мембран. Ион перемещается, совершая скачки между петлями (кинками) жирнокислотных цепей.

9.5.2 Диффузия как результат хаотического блуждания молекул

Случайные тепловые движения молекул приводят к тому, что вещества переносятся из области более высоких концентраций в область более низких. Это и есть *диффузионный перенос*.

Обычно процесс диффузии рассматривают как результат случайных блужданий частицы (молекулы или иона) под влиянием тепловых соударений с молекулами окружающей среды. Частица под влиянием тепловых соударений с окружающими молекулами совершает хаотические скачки. Они происходят, разумеется, в любом направлении, а следовательно перемещение частицы при каждом скачке представляет собой вектор, который может быть представлен в виде суммы составляющих по трём направлениям. Выберем одно из них и обозначим его как направление оси X . В случае переноса ионов через биомембраны за ось X можно принять ось, нормальную к мембране и направленную изнутри везикулы (например, клетки) наружу (рис. 9.7).

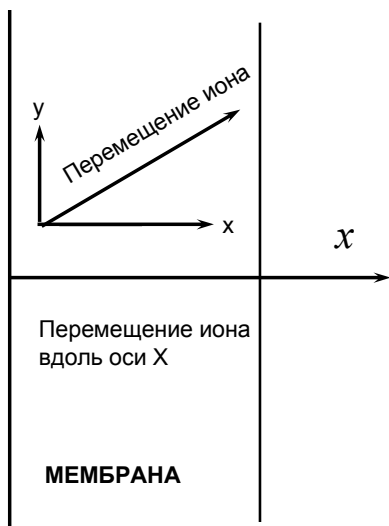


Рис. 9.7. Выбор направления потока при трансмембранном переносе ионов. Рассматривается только составляющая вдоль оси X.

Как же перемещается ион в толще липидного слоя мембраны?

Мы уже говорили, что такое перемещение возможно благодаря перестройке конфигурации жирнокислотных цепей и образованию нового "кинка". Ион движется, как бы перескакивая от кинка к кинку, как это изображено на рис. 9.89.

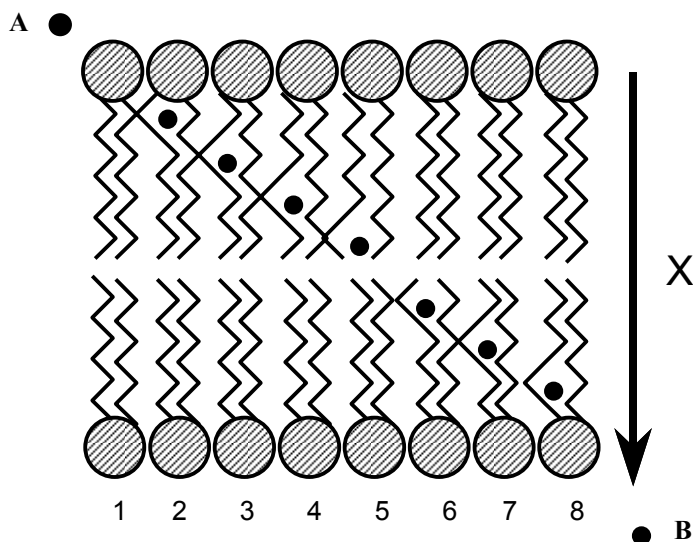


Рис. 9.8. Движение иона поперёк мембраны путём перескакивания из одного "кинка" в другой. Ион движется в направлении X. На рисунке показаны не разные молекулы фосфолипидов в бислое, а разные стадии процесса переноса иона поперёк мембраны; 2–8 — изменение во времени положения иона в мембране.

Причина образования новых кинков и скачков иона – тепловые удары окружающих молекул.

Понятно, что не всякое взаимодействие с окружающими молекулами вызывает изменение координаты нашей частицы. Чтобы раздвинуть цепи жирных кислот и перескочить в новую петлю, молекула должна обладать достаточной кинетической энергией. В сплошной среде, такой как липидный слой мембраны, ион находится как бы в потенциальной яме. Выскочить из неё можно, только преодолев определённый энергетический барьер (рис. 9.9). Однако в результате хаотического теплового движения окружающих молекул и самого иона время от времени становится возможен перескок частицы из одной "ямы" в другую, соседнюю "яму". Вероятность такого перескока зависит от глубины ямы и температуры.

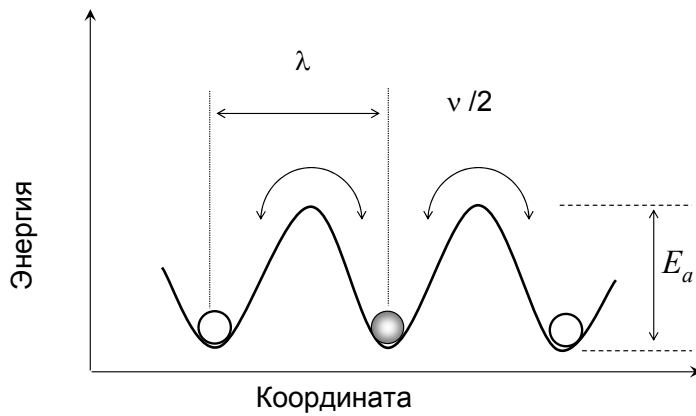


Рис. 9.9. Схема переноса ионов в мембране в результате случайных скачков иона между энергетическими "ямами".

9.5.3 Вывод основного уравнения диффузии

Введём следующие обозначения:

ν – частота перескоков частицы в соседнее устойчивое положение, с^{-1} . Слева направо каждую секунду частица будет "прыгать" в среднем $\nu/2$ раз; столько же скачков каждая частица сделает в среднем справа налево.

λ – расстояние между двумя соседними энергетическими "ямами", т.е. длина пробега молекулы при каждом "скачке".

Представим себе, что через мембрану мы провели плоскость S , нормальную к оси X (рис. 9.10).

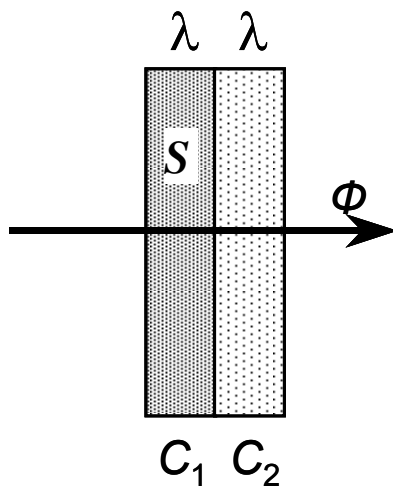


Рис. 9.10. Диффузионный поток ионов через мембрану; S — площадь нормальная к направлению потока, l — длина пробега молекулы при каждом скачке. C_1 и C_2 — молярные концентрации ионов слева и справа от мембраны в слоях толщиной l .

Каждую секунду слева направо будут переноситься все частицы в объёме λS , что соответствует $C_1 S \lambda (\nu/2)$ киломолей вещества, где C_1 – концентрация вещества слева от плоскости S , $\text{кмоль}/\text{м}^3$; λ – длина пробега молекулы при каждом "скачке". Это и будет *однаправленный поток* ионов через площадь S .

$$\Phi = C_1 S \lambda \frac{\nu}{2} \quad (0.10)$$

Аналогичным образом находим *однаправленный поток* частиц (например, ионов K^+) справа налево

$$\Phi = C_2 S \lambda \frac{\nu}{2} \quad (0.11)$$

Разница между этими потоками даёт нам общую величину потока ионов в направлении оси X :

$$\Phi = S\lambda \frac{v}{2}(C_1 - C_2) \quad (0.12)$$

$$J = \lambda \frac{v}{2}(C_1 - C_2) \quad (0.13)$$

Последнее уравнение заслуживает того, чтобы задержать на нём наше внимание. Казалось бы, как может случайное перемещение каждой частицы приводить к направленному суммарному потоку ионов? А между тем, всё дело в концентрациях. Ионы уходят из области с большей концентрацией в область с меньшей концентрацией именно в силу совершенно хаотического движения каждой частицы. Статистика оказывается движущей силой потока.

К сожалению, точное значение средней концентрации в тонких слоях, прилегающих к плоскости S , неизвестны, как и их разность $(C_1 - C_2)$. Чтобы выйти из положения, заменим отношение $(C_2 - C_1)/\lambda$ на производную функцию (dC/dx) ; в результате получаем:

$$J = -\lambda^2 \frac{v}{2} \left(\frac{C_2 - C_1}{\lambda} \right) = - \left(\lambda^2 \frac{v}{2} \right) \frac{dC}{dx} \quad (0.14)$$

Это уравнение стоит сравнить с хорошо известным из физики эмпирическим уравнением диффузии (которое описывает так называемый первый закон Фика):

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad (0.15)$$

Мы видим, что коэффициент диффузии D на самом деле зависит всего-то от частоты "перескоков" молекулы (v) и расстояния (λ), на которое молекула "прыгает" при каждом перескоке.

$$D = \lambda^2 \frac{v}{2} \quad (0.16)$$

9.6 Поток ионов через мембрану.

9.6.1 Проницаемость

Величина (dC/dx) , входящая в уравнение (0.14), не поддаётся непосредственному экспериментальному определению; в самом деле, как нам измерить *градиент концентрации* иона внутри липидного слоя мембраны? Чтобы перейти к величинам, измеряемым в опыте, нужно решить дифференциальное уравнение (0.14), т.е. провести разделение переменных и интегрирование. Эту процедуру можно осуществить при одном важном условии: одинаковости плотности потока при различных координатах плоскости S , через которую проходит поток.

Подумаем о физическом смысле такого постоянства потока. Если добавить в среду, омывающую клетку, какое-нибудь новое соединение (или изменить концентрацию одного из имеющихся), то *в первый момент* градиент концентрации (dC/dx) возникнет только около внешней поверхности мембраны и только там "хлынет" поток ионов в мембрану. Но затем поток установится, приняв некоторое постоянное значение, и величина потока в разных "срезах" мембраны будет одинаковой. Найдем зависимость величины такого установившегося во времени потока от концентраций ионов у левой C_{m1} и правой C_{m2} границ мембраны. Для этого проинтегрируем уравнение (0.15), предварительно разделив переменные:

$$J = -D \frac{dc}{dx}$$

$$Jdx = -Ddc$$

$$J(l - 0) = -D(C_{m2} - C_{m1}) \quad (0.17)$$

Откуда:

$$J = \frac{D}{l}(C_{m1} - C_{m2}) \quad (0.18)$$

Увы, концентрации ионов внутри мембраны, хотя бы и на границе с водной фазой (C_{m1} и C_{m2}), нам неизвестны; однако их можно найти, если известны концентрации ионов в окружающей водной среде (C_1 и C_2 , рис. 9.11)).

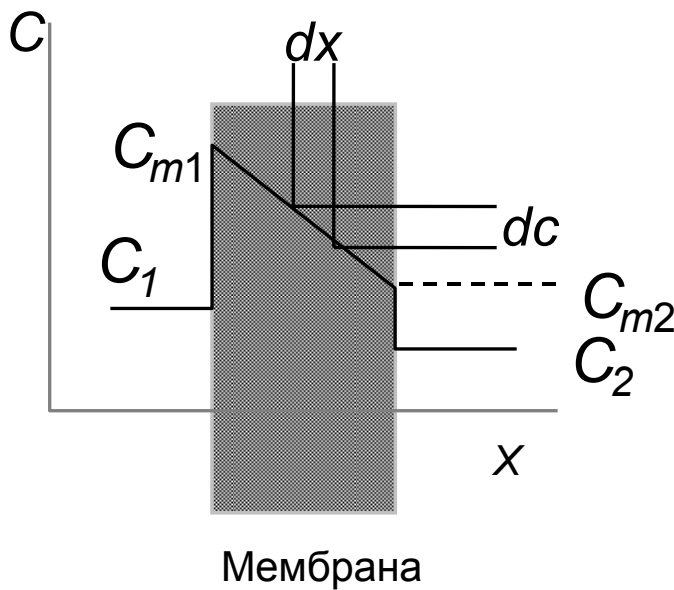


Рис. 9.11.

Концентрационный профиль мембраны, т.е. зависимость концентрации иона от координаты оси X , нормальной к плоскости мембраны. C_{m1} и C_{m2} — концентрации иона в мембране на границе с водной фазой C_1 и C_2 концентрации иона в водной фазе у границ с мембраной. Градиент концентрации иона — это тангенс угла наклона концентрационной кривой в данном месте мембраны (т.е. при данном x).

Можно считать, что ионы распределяются между фазами по закону:

$$\frac{C_{m1}}{C_1} = \frac{C_{m2}}{C_2} = K \quad (0.19)$$

где K — коэффициент распределения иона между мембранной и водной фазами. Очевидно, что данное уравнение предполагает, что мембрана симметрична в том смысле, что коэффициенты распределения ионов одинаковы на обеих границах мембраны. Подставив величины C_{m1} и C_{m2} из уравнения (0.19) в уравнение (0.18), получаем окончательно:

$$J = \frac{DK}{l}(C_1 - C_2) \quad (0.20)$$

Это уравнение аналогично известному второму закону Фика:

$$J = P(C_1 - C_2) \quad (0.21)$$

где эмпирический коэффициент P называют коэффициентом проницаемости или просто проницаемостью.

Итак:

$$P = \frac{DK}{l} \quad (0.22)$$

Связь коэффициента проницаемости с другими величинами в последнем уравнении полна глубокого физического смысла. В самом деле проницаемость:

1. Прямо пропорциональна коэффициенту диффузии иона D в веществе мембраны. Последняя величина связана с геометрическими размерами иона и вязкостью мембраны. Для сферических частиц коэффициент диффузии связан с вязкостью среды h и радиусом иона r уравнением Стокса:

$$D = kT / 6\pi\eta r \quad (0.23)$$

В более вязкой среде диффузия затруднена, и проницаемость вязкой мембраны ниже, чем проницаемость мембраны с более "жидким", или лучше сказать, более текучим липидным слоем.

2. Прямо пропорциональна коэффициенту распределения иона K в системе мембрана/вода, т.е. гидрофобности иона. Поэтому жирорастворимые лекарства проникают в клетки в общем-то лучше, чем водорастворимые.

3. Обратна пропорциональна толщине мембраны l .

9.6.2 Роль примембранных слоёв воды

Проницаемость мембран для многих веществ ограничена не только липидным бислоем и даже не только всей белково-липидной мембраной, но и прилегающими к мембране неперемешивающимися слоями воды.

Обратимся к рисунку 9.12.

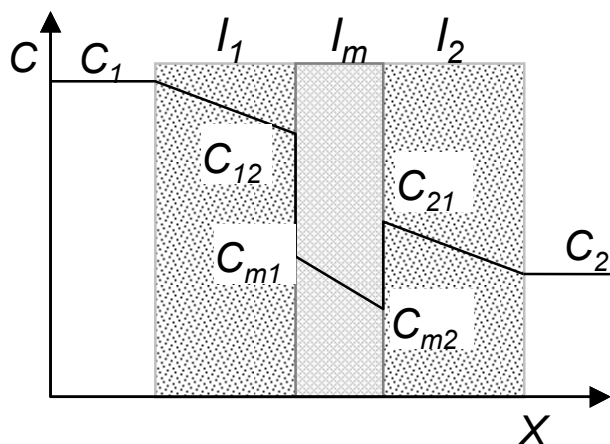


Рис. 9.12. Поток ионов через мембрану с прилегающими неперемешивающимися слоями воды. C — концентрации иона; X — координата; l_1 и l_2 — толщина слоёв примембранной воды; C_1 и C_2 — концентрации иона в водной фазе.

На этом рисунке дана зависимость концентрации иона C от его координаты X .

Концентрации иона в различных участках системы обозначены следующим образом:

C_1 — в перемешиваемом водном растворе слева от мембраны, а также в неперемешиваемом водном слое у левой его границы;

C_{12} — в неперемешиваемом водном слое слева от мембраны у его правой границы;

C_{m1} и C_{m2} — в мембране у её левой и правой границ;

C_{21} — в неперемешиваемом водном слое справа от мембраны у его левой границы;

C_2 — в перемешиваемом водном растворе справа от мембраны, а также в неперемешиваемом водном слое у его правой границы;

Толщина левого неперемешиваемого слоя воды обозначена как l_1 , правого — как l_2 , толщина мембраны как l_m . Потоки вещества через левый и правый примембранный слой воды равны, в соответствии с уравнением (0.21):

$$\begin{aligned} J_1 &= P_1(C_1 - C_{12}) \\ J_2 &= P_2(C_{21} - C_2) \end{aligned} \quad (0.24)$$

А поток через саму мембрану равен:

$$J_m = P_m(C_{12} - C_{21}) \quad (0.25)$$

В стационарных условиях (т.е. при установившемся, постоянном во времени потоке):

$$J_1 = J_m = J_2 \quad (0.26)$$

(принцип непрерывности потока), откуда:

$$\begin{aligned} J &= P_1(C_1 - C_{12}) \Rightarrow \frac{J}{P_1} = C_1 - C_{12} \\ J &= P_2(C_{21} - C_2) \Rightarrow \frac{J}{P_2} = C_{21} - C_2 \\ J &= P_m(C_{m1} - C_{m2}) \Rightarrow \frac{J}{P_m} = C_{m1} - C_{m2} \end{aligned} \quad (0.27)$$

Сложив эти уравнения, получим:

$$\frac{J}{P_1} + \frac{J}{P_2} + \frac{J}{P_m} = C_1 - C_2 \quad (0.28)$$

С другой стороны, если рассматривать систему из мембраны вместе с прилегающими слоями воды как единое целое, то поток ионов через эту систему J будет связан с проницаемостью системы в целом P уже известным нам уравнением $J = P(C_1 - C_2)$; откуда:

$$\frac{J}{P} = C_1 - C_2 \quad (0.29)$$

Сопоставив уравнения (0.28) и (0.29), получаем:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2} + \frac{1}{P_m} \quad (0.30)$$

Величину $1/P$ назовем *сопротивлением потоку*. Теперь становится ясным физический смысл уравнения (0.30):

Сопротивление потоку в системе последовательных элементов равно сумме сопротивлений каждого из них.

Иначе говоря, величины $1/P$ ведут себя так же, как последовательно соединенные электрические сопротивления.

Относительный вклад мембраны и примембранной воды в общее сопротивление потоку. Обозначим отношение сопротивления потоку для двух примембранных слоёв воды к сопротивлению потоку самой мембраны через, скажем, букву α :

$$\alpha = \left(\frac{1}{P_1} + \frac{1}{P_2} \right) : \frac{1}{P_m} = \frac{P_m}{P_a} \quad (0.31)$$

Эта величина может служить количественной характеристикой вклада примембранной воды в сопротивление потоку. От чего же она зависит?

Чтобы это понять, заменим в последнем уравнении P на DK/l (см. уравнение (0.22)). Получаем:

$$\alpha = \frac{D_m K}{D_a} \cdot \frac{l_a}{l_m} \quad (0.32)$$

(K для водных слоёв равен, естественно, единице). Если жидкость внутри клетки и в межклеточной среде интенсивно движется, то толщина примембранных слоёв воды ($l_a = l_1 + l_2$) имеет порядок величины 0,3–1 мкм, т.е. превышает толщину самой мембраны более чем в 100–300 раз. С другой стороны, вязкость мембраны примерно в 10–100 раз выше вязкости воды, а значит, коэффициенты диффузии иона в воде и в мембране относятся друг к другу как 30–100 к единице.

Подставив эти, весьма впрочем приблизительные, цифры в уравнение (0.32), мы получим интересную формулу:

$$\frac{K}{100} \cdot 100 \leq \alpha \leq \frac{K}{10} \cdot 300 \quad (0.33)$$

$$\alpha \cong K(1 \div 30)$$

Оказывается, всё дело в коэффициенте распределения вещества в системе мембрана/вода, т.е. решающую роль играет *липофильность* иона (молекулы). В случае таких ионов, как K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , K имеет значения более 10^{-14} , и примембранные слои жидкости *практически не влияют* на общую проницаемость: основная барьерная функция принадлежит липидному бислою. В случае нейтральных молекул, таких как, скажем, кислород, K близко к единице, и роль примембранных слоёв воды становится заметной.

Особенно резко начинает сказываться сопротивление потоку водных слоёв, если жидкость в клетке и межклеточной среде плохо перемешивается. В этом случае l_a возрастает до 20–500 мкм и основным препятствием на пути диффундирующего газа становятся водные слои. Поскольку движение жидкости в клетке и вне её зависит от тканевого метаболизма, может сложиться не совсем верное впечатление, что перенос молекул через мембрану – процесс активный, зависящий от энергетики клетки. На самом же деле, активным является перемешивание жидкостей, а сам по себе перенос кислорода через мембрану и примембранные слои воды – процесс чисто диффузионный и затраты энергии не требует.

9.7 Диффузия ионов при наличии электрического поля.

9.7.1 Мембранные потенциалы

Между различными участками живой клетки и окружающей средой могут существовать разности потенциалов. Некоторые из этих потенциалов схематически даны на рис. 9.13.

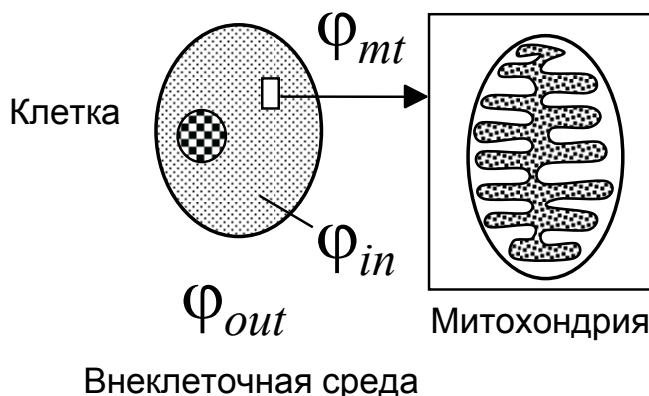


Рис. 9.13. Электрические потенциалы внутри живой клетки: $j\theta$ — потенциал вне клетки, ji — потенциал внутри клетки, jx — потенциал внутри матрикса митохондрий.

Между водными фазами, разделяемыми мембранами, имеются разности потенциалов, называемые *трансмембранными* или же просто *мембранными потенциалами*. Клеточный

мембранный потенциал φ_m определяют как разность потенциалов между внутриклеточным содержимым φ_i и окружающей средой φ_o . Митохондриальный потенциал φ_{mx} – это разность потенциалов между матриксом митохондрий φ_x и внутриклеточной средой φ_i . Таким образом,

$$\varphi_m = \varphi_i - \varphi_o; \quad \varphi_{mx} = \varphi_x - \varphi_i, \quad (0.34)$$

где φ_m – это клеточный мембранный потенциал, а φ_{mx} – мембранный потенциал митохондрий.

Кроме трансмембранной разности потенциалов может существовать разность электрических потенциалов между липидной фазой мембраны и омывающим водным раствором – так называемый *межфазный потенциал*. Если на поверхности мембраны имеются заряженные химические группы, например, остатки фосфорной кислоты, то возникает разность потенциалов между поверхностью мембраны и окружающей средой, так называемый *поверхностный потенциал*. Более подробно межфазные и поверхностные потенциалы будут рассмотрены позже, а сейчас мы рассмотрим, как повлияет на перенос ионов наличие на мембране трансмембранного потенциала.

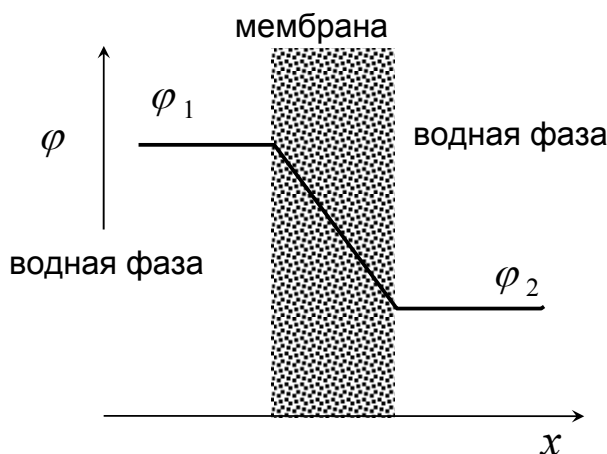


Рис. 9.14. Профиль потенциала в однородной мембране.

На рис. 9.14. дан схематически профиль электрического потенциала в однородной липидной мембране, окружённой раствором солей. Из-за высокой электропроводности солевых растворов вся разность потенциалов в системе падает на липидном слое мембраны, который представляет собой хороший электрический изолятор. Внутри мембраны, если она однородна по своим свойствам, электрический потенциал падает

линейно, как это изображено на рис. 9.15. Это означает, что величина $\frac{d\varphi}{dx} = -E_x$

постоянна внутри мембраны. (Более подробно этот вопрос мы разберём в следующем разделе). По такому же линейному закону изменяется энергия иона, по мере его продвижения поперёк мембраны.

Эти рассуждения основаны, впрочем, на подходе к мембране, как к совершенно однородному телу. Однако липидная часть мембраны состоит всего-то из двух слоёв молекул фосфолипидов, причём размеры подвижных звеньев цепей жирных кислот в этих молекулах соизмеримы с размерами ионов, которые передвигаются внутри мембраны. Это заставляет при рассмотрении переноса ионов в мембране отказаться от полностью макроскопического подхода к явлениям и рассматривать процессы на микроскопическом, т.е. на молекулярном уровне.

9.7.2 Изменение величины потенциальных барьеров для движения иона при наличии внешнего электрического поля

В отсутствие электрического поля в однородной мембране высота барьеров и глубина ям повсюду одинаковы, именно поэтому вероятность случайного перескока иона слева направо равна вероятности его перескока справа налево. Однако эта картина изменяется, если на мембрану наложено электрическое поле (9.15).

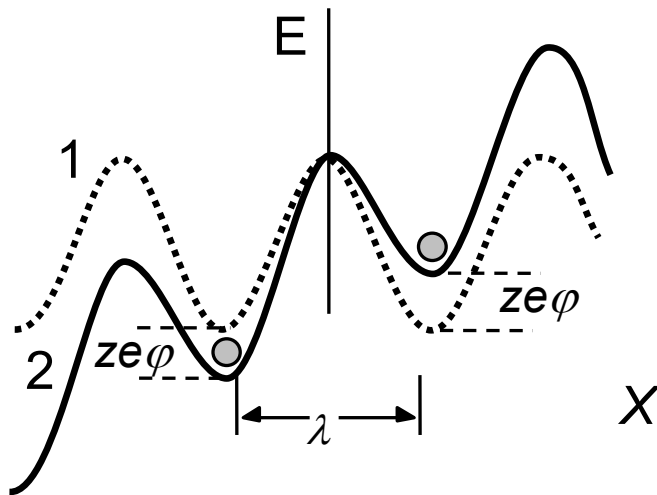


Рис. 9.15. Профили энергии иона в мембране в отсутствие (1) и при наличии (2) электрического поля.

Из электростатики известно, что наличие поля E_x , направленного вдоль оси X , означает изменение потенциала вдоль этой оси:

$$E_x = -\frac{\partial\varphi}{\partial x} \quad (0.35)$$

Это в свою очередь означает изменение энергии иона в зависимости от координаты той ямы или того барьера, где этот ион в данный момент находится. Если потенциал в каком-то месте равен φ , то это добавляет к энергии иона слагаемое, равное ze , где ze – электрический заряд иона, а e – элементарный заряд, т.е. заряд протона. Величина z – это зарядовое число, или, что то же самое, *безразмерный заряд* иона. Дополнительная энергия, сообщаемая иону при наличии внешнего электрического поля, изменяет энергетический профиль мембраны. Для положительных ионов (катионов) уровень всех барьеров и ям повышается в направлении роста потенциала.

Обозначим через φ разность потенциалов между ямой и соседним слева барьером. При одинаковых по всей мембране и симметричных ямах и барьерах разность потенциалов между каждым из барьеров и соседней слева ямой также будет равна φ (рис. 9.15). Пусть энергия иона в потенциальной яме исходно была E , а потенциал был равен нулю. При наличии потенциала в соседней яме энергия иона в ней будет выше на величину $ze\varphi$, где e – элементарный заряд, т.е. заряд протона, а z – зарядовое число (безразмерный заряд) иона (для K^+ или Na^+ $z = 1$, для Cl^- $z = -1$, для Ca^{2+} $z = 2$ и т.д.). Это значит, что если на мембрану наложено электрическое поле, такое что между соседними ямами создаётся разность потенциалов 2φ , то частота перескоков иона из ямы налево возрастает (для положительного иона) и становится равной:

$$v_{\leftarrow} = v_0 e^{-\frac{E-ze\varphi}{kT}} \quad (0.36)$$

а частота перескоков (положительного) иона направо уменьшается и становится равной:

$$v_{\rightarrow} = v_0 e^{-\frac{E+ze\varphi}{kT}} \quad (0.37)$$

Если количество ионов в двух соседних ямах окажется одинаковым, то суммарный диффузионный поток частиц в мембране будет нулевым, но при наличии электрического поля в мембране вероятность перескока каждого иона налево и направо будет тем не менее разной, что приведет к переносу ионов через мембрану (*электрофорез*).

В более общем случае движение ионов по законам диффузии (в сторону меньшей концентрации) и вследствие электрофореза накладывается одно на другое и мы говорим об *электродиффузии ионов*.

Рассмотрим ионные потоки при электродиффузии. Для этого, как мы это уже делали, поведём через мембрану плоскость S так, чтобы она прошла посередине между двумя соседними энергетическими ямами (рис. 9.16).

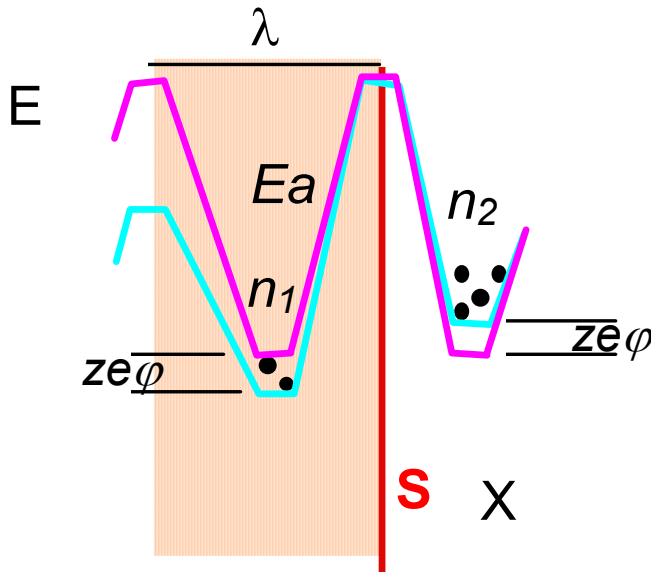


Рис. 9.16. Потоки ионов через барьер:

n_1 — концентрация ионов слева от плоскости S в объеме s , n_2 — то же, справа от мембраны.

Поток ионов слева направо пропорционален n_1 и зависит от высоты барьера справа (энергия активации равна $E+ze\varphi$); поток ионов справа налево пропорционален n_2 и зависит от высоты барьера слева (энергия активации равна $E-ze\varphi$)

Поток ионов слева направо будет равен числу ионов N_1 в объеме $S\lambda$ слева от плоскости S , умноженному на частоту скачков направо ($v_0/2$) и умноженному на вероятность “успешного” скачка:

$$\Phi_{n \rightarrow} = N_1 \frac{v_0}{2} e^{-\frac{E+ze\varphi}{kT}} \quad (0.38)$$

Аналогично, поток ионов справа налево будет равен:

$$\Phi_{n \leftarrow} = N_2 \frac{v_0}{2} e^{-\frac{E-ze\varphi}{kT}} \quad (0.39)$$

где N_2 – число ионов в объеме $S\lambda$ справа от плоскости S .

Число ионов N в каждом случае равно произведению концентрации ионов n частиц/м³ на объем $S\lambda$ (т.е. $N = nS\lambda$).

Суммарный поток в направлении оси X очевидно равен:

$$\Phi_n = S\lambda \frac{v_0}{2} \left(n_1 e^{-\frac{E+ze\varphi}{kT}} - n_2 e^{-\frac{E-ze\varphi}{kT}} \right) \quad (0.40)$$

а плотность потока равна:

$$J_n = \lambda \frac{v_0}{2} \left(n_1 e^{-\frac{E-ze\varphi}{kT}} - n_2 e^{-\frac{E+ze\varphi}{kT}} \right) \quad (0.41)$$

Для упрощения этого и многих последующих уравнений стоит ввести величину *безразмерного потенциала*:

$$\psi = \frac{e}{kT} \varphi \quad (0.42)$$

Кроме того, вынесем за скобки величину $e^{-\frac{E}{kT}}$. В целях упрощения записей используем величину безразмерной энергии:

$$W = \frac{E}{kT} \quad (0.43)$$

Теперь уравнение (0.41) приобретает такой вид:

$$J = \lambda \frac{V_o}{2} e^{-W} (n_1 e^{-z\psi} - n_2 e^{+z\psi}) \quad (0.44)$$

9.7.3 Однobarьерная модель ионного транспорта

Локальные концентрации ионов в микроучастках мембраны (n_1 и n_2), так же как и локальные изменения потенциала, невозможно определить экспериментально, поэтому уравнение (0.44) пока может дать мало пользы. Его дальнейшие преобразования имеют целью получить в правой части уравнения реальные опытные величины трансмембранного потенциала и концентраций ионов в водной фазе. Такие преобразования в теоретической биофизике проводятся при использовании тех или иных допущений о внутренней структуре мембран. Мы рассмотрим здесь два крайние случая:

- 1) Имеется *один* барьер для ионов в центре мембраны (однobarьерная модель ионного транспорта).
- 2) Число барьеров в мембране очень велико, и в отсутствие поля все они одинаковы по величине (многобарьерная модель).

Рассмотрим *однobarьерную модель*. Ионы в яме слева от мембраны находятся в липидной фазе и распределяются между этой фазой и соседней водной фазой. Мы можем поэтому выразить концентрации ионов в “ямах” $C_{m1} = n_1$ и $C_{m2} = n_2$ через их концентрации в водной фазе C_1 и C_2 , используя величину коэффициента распределения

$$K = \frac{C_{m1}}{C_1} = \frac{C_{m2}}{C_2} \quad (0.45)$$

$$J = \lambda \frac{V_o}{2} e^{-W} K (C_1 e^{-z\psi} - C_2 e^{+z\psi}) \quad (0.46)$$

- 3) Заменяем выражение $\frac{\lambda^2 V_o}{2} e^{-W}$ на коэффициент диффузии D . Получаем:

$$J = \frac{DK}{\lambda} (C_1 e^{-z\psi} - C_2 e^{+z\psi}) \quad (0.47)$$

В нашем случае величина λ (перемещение иона вдоль оси X при каждом “скачке”) равна толщине мембраны l . Это позволяет заменить величину $\frac{DK}{\lambda}$ в уравнении (0.47) на

коэффициент проницаемости $P = \frac{DK}{l}$. Окончательное уравнение потока при однobarьерной модели переноса иона выглядит теперь таким образом:

$$J = P(C_1 e^{-z\psi} - C_2 e^{+z\psi}) \quad (0.48)$$

При однобарьерной модели мембранного транспорта величина трансмембранного потенциала ψ_m равна разности потенциалов между двумя соседними “ямами”; таким образом, в уравнении (0.48) $\psi = \frac{\psi_m}{2}$, где ψ_m – (транс)мембранный потенциал в безразмерной форме.

9.7.4 Электродиффузия иона в однородной среде

Теперь рассмотрим *многобарьерную модель* ионного транспорта. Вернёмся к уравнению (0.44). Если исходить из переноса иона внутри мембраны по механизму кинков, то проще всего предположить, что мембрана однородна и ион при движении преодолевает *множество* одинаковых ям, разделенных барьерами одинаковой высоты. При этом разность потенциалов между соседними ямами невелика; это позволяет заменить величины $e^{-z\psi}$ и $e^{+z\psi}$ приближенными значениями $(1 - z\psi)$ и $(1 + z\psi)$.

Уравнение (0.44) приобретает такой вид:

$$J = \lambda \frac{V_o}{2} e^{-W} (C_{m1} - C_{m1} z\psi - C_{m2} - C_{m2} z\psi) \quad (0.49)$$

После небольшой перегруппировки получаем:

$$J = \lambda \frac{V_o}{2} e^{-W} [C_{m1} - C_{m2} - z\psi (C_{m1} + C_{m2})] \quad (0.50)$$

При малых величинах можно считать, что

$$\frac{C_{m2} - C_{m1}}{\lambda} = \frac{dC_m}{dx} \quad (0.51)$$

Аналогично, разность потенциалов между соседними барьерами ψ (как и между соседними ямами), расстояние между которыми, как мы помним, равно λ , связана с градиентом потенциала вдоль оси X очевидным соотношением:

$$\frac{2\psi}{\lambda} = \frac{d\psi}{dx} \quad (0.52)$$

Кроме того, полезно ввести понятие средней концентрации иона в области данной ямы:

$$C_m = \frac{C_{m1} + C_{m2}}{2} \quad (0.53)$$

Подставив эти величины в уравнение (0.50), получаем:

$$J = -\lambda^2 \frac{V_o}{2} e^{-W} \left(\frac{dC_m}{dx} + zC_m \frac{d\psi}{dx} \right) \quad (0.54)$$

Подставим в полученное уравнение коэффициент диффузии:

$$J = -D \left(\frac{dC_m}{dx} + zC_m \frac{d\psi}{dx} \right) \quad (0.55)$$

Мы вывели важнейшее уравнение, которое будем называть *основным уравнением электродиффузии*.

Нужно подчеркнуть, что уравнение электродиффузии, хотя и было выведено для конкретного случая движения ионов в липидной фазе мембран, но относится к любой

сплошной среде, включая и водные растворы. Так что обычно его пишут без индекса при концентрации (т.е. пишут C , а не C_m).

9.7.5 Диффузия и электрофорез

Очень интересно проанализировать уравнение (0.55) в двух частных случаях:

Случай 1. Частицы не заряжены (нейтральные молекулы) или в мембране не существует электрического поля (отсутствует трансмембранная разность потенциалов). В этом случае равны нулю либо заряд z , либо градиент потенциала $\frac{d\psi}{dx}$, либо обе эти величины. Во всех

вариантах второе слагаемое в скобках равно нулю и мы получаем уже известный нам закон Фика для диффузии молекул в сплошной среде (см. рис. 9.17 вверху):

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad (0.56)$$

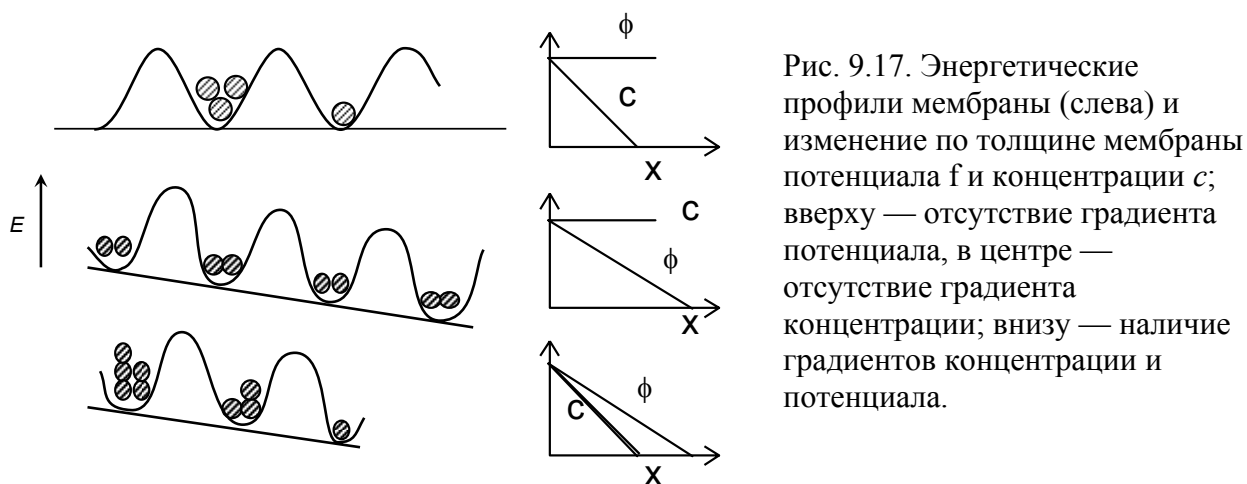
Случай 2. Внутри мембраны нет градиента концентрации ионов (это обычно означает, что по сторонам мембраны концентрации ионов в водной фазе равны). В этом случае равно нулю первое слагаемое в скобках в уравнении (0.55) и поток ионов равен:

$$J = -DzC \frac{d\psi}{dx} = -DzC \frac{F}{RT} \frac{d\phi}{dx} = C \frac{D}{RT} zF \cdot E_x \quad (0.57)$$

где E_x – напряженность электрического поля в направлении X .

Таким образом, поток положительных ионов пропорционален напряженности электрического поля (рис. 9.17 в центре).

Перенос ионов в электрическом поле называется *электрофорезом*. Очевидно, что чем выше поле, тем сильнее поток ионов, а это значит, что тем больше скорость движения каждого иона.



В общем случае мы имеем комбинацию диффузии и электрофореза, которую можно назвать *электродиффузией* (рис. 9.17 внизу).

9.7.6 Скорость перемещения ионов в электрическом поле.

Между плотностью потока ионов, движущихся под действием электрического поля, и скоростью движения каждой частицы существует очень простая зависимость. Чтобы её получить, обратимся к рис. 9.18.

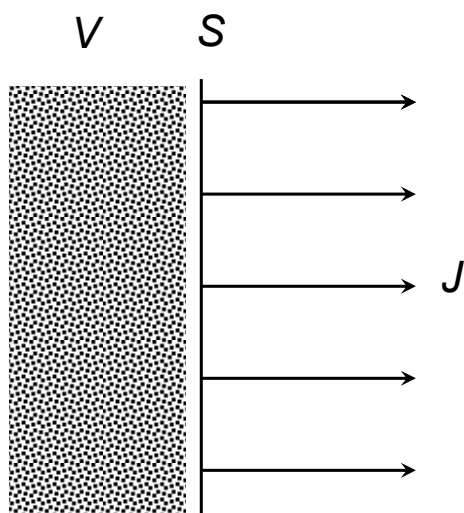


Рис. 9.18. Связь между величиной плотности потока J и скоростью движения каждой частицы v .

Поскольку каждую секунду через площадь s проходит vsC киломолей частиц (C — молярная концентрация), то поток J , а плотность потока J .

Предположим через некую плоскость S ионы движутся в направлении X под действием электрического поля. За одну секунду каждый ион проходит расстояние $1v$, м, где v — скорость перемещения иона, м/с. Отложив это расстояние влево от плоскости S , мы получим объём $1vS$, в котором содержится $1vSn$ частиц, или $1vSC$ киломолей вещества. Это количество вещества и переносится за секунду через плоскость S . Таким образом, поток равен:

$$\Phi = vSC \quad (0.58)$$

а плотность потока мы получим, разделив это уравнение на площадь потока S :

$$J = vC \quad (0.59)$$

Таким образом, поток равен произведению концентрации вещества на скорость движения частиц в направлении потока.

Приравняем правые части двух уравнений (0.57) и (0.59), а затем найдем выражение для скорости перемещения частиц:

$$v = \frac{D}{RT} zF \cdot E_x \quad (0.60)$$

Величина $zF \cdot E_x$ представляет собой силу, действующую на моль ионов с зарядом zF , где z — безразмерный заряд иона, а F — число Фарадея. Таким образом поток пропорционален электрической силе, действующей на ионы. Коэффициент пропорциональности

$$U = \frac{D}{RT} \quad (0.61)$$

называется *подвижностью*. Поскольку поток и общий заряд движущихся частиц пропорциональны друг другу, подвижность не зависит от того, идет ли речь об одной частице, моле частиц или каком-либо ином количестве частиц в рассматриваемой системе. Подвижность есть подвижность. Она пропорциональна коэффициенту диффузии, входящему в уравнение Фика.

9.7.7 Электродиффузия как сумма диффузии и электрофореза

Введение величины электрофоретической подвижности позволяет несколько упростить выражения в уравнении электрофореза (0.57):

$$J = -zFCU \frac{d\phi}{dx} \quad (0.62)$$

а вместе с тем изменить форму написания основного электродиффузионного уравнения (0.55):

$$J = -D \frac{dC}{dx} - zFCU \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.63)$$

Это уравнение известно под названием *уравнения Нернста-Планка*. Сравнение этого уравнения с уравнением Фика для диффузии (0.56) и уравнением электрофореза (0.62) показывает, что суммарный поток в случае электродиффузии складывается алгебраически из диффузионного и электрофоретического потоков. Иными словами, *диффузионное и электрофоретическое движение ионов происходят независимо друг от друга*.

9.7.8 Уравнение Теорелла

Теорелл постулировал, что поток определяется тремя величинами: концентрацией носителя C , подвижностью носителя U и движущей силой потока X .

$$J = C \cdot U \cdot X \quad (0.64)$$

При этом, в соответствии с законами термодинамики необратимых процессов, движущая сила потока равна градиенту электрохимического потенциала в направлении потока, взятому с обратным знаком:

$$X = -\frac{d\mu}{dx} \quad (0.65)$$

Чтобы найти эту первую производную, вспомним уравнение электрохимического потенциала (0.3). В однородной среде, где первая производная химического сродства по координате равна нулю,

$$\frac{d\mu}{dx} = RT \frac{d \ln C}{dx} + zF \cdot \frac{d\varphi}{dx} = \frac{RT}{C} \frac{dC}{dx} + zF \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.66)$$

Подставив это выражение в уравнение (0.64), получаем

$$J = -RTU \frac{dC}{dx} + zFCU \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.67)$$

$$J = -D \left(\frac{dC}{dx} + \frac{zF}{RT} C \cdot \frac{d\varphi}{dx} \right) \quad (0.68)$$

Или, с учетом уравнения (0.61)

$$J = -D \frac{dC}{dx} - zFCU \cdot \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.69)$$

Нетрудно видеть, что мы получили уравнение Нернста-Планка (0.63). Это подтверждает правильность предложенного Теореллом уравнения (0.64).

9.7.9 Связь между потоком ионов и электрическим током в среде

Поскольку каждый ион несёт заряд равный ze , то между плотностью потока J , частиц $\cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$, и плотностью электрического тока j , $\text{А} \cdot \text{м}^{-2}$, существует простая связь:

$$j = zeJ \quad (0.70)$$

При равномерной концентрации иона в среде (т.е. при нулевом градиенте концентрации) уравнение для плотности тока может быть получено из уравнений (0.62) и (0.70):

$$j = -z^2 e^2 C u \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.71)$$

Это уравнение полезно сопоставить с известным из физики законом Ома для сплошных сред:

$$j = -\sigma \frac{d\varphi}{dx} \quad (0.72)$$

где σ , Ом^{-1} , – удельная электропроводность среды. Таким образом, использованная выше теория случайных блужданий с учётом изменения энергетического профиля в электрическом поле позволяет не только вывести закон Ома, но и раскрывает содержание удельной электропроводности, если она обусловлена переносом одного иона:

$$\sigma = -z^2 e^2 C u \quad (0.73)$$

Если в среде, будь то липидный слой мембран или водные растворы, имеется несколько ионов, то общая электропроводность будет суммой вкладов всех ионов:

$$\sigma = e^2 \sum_i z_i^2 C_i u_i \quad (0.74)$$

9.8 Поток ионов через мембрану

9.8.1 Решение уравнения Нернста-Планка в приближении Гольдмана

Электродиффузионное уравнение Нернста-Планка

$$J = -D \left(\frac{dC}{dx} + C \frac{d\psi}{dx} \right) \quad (0.75)$$

содержит три переменные C , u и x . Чтобы решить это уравнение, необходимо знать связь между C и x , u и x или C и u . Наиболее оправдано физически *приближение Гольдмана*, при котором напряженность электрического поля внутри мембраны считается постоянной при всех $0 < x < l$. Постоянство поля позволяет произвести замену:

$$-E = \frac{d\varphi}{dx} = \frac{\Delta\varphi}{l} \Rightarrow \frac{d\psi}{dx} = \frac{\Delta\psi}{l} \quad (0.76)$$

где $\Delta\psi$ – безразмерный потенциал.

После подстановки этого выражения в уравнение (0.75) произведем разделение переменных и интегрирование:

$$\int_0^l dx = \int_{c_{m2}}^{c_{m1}} \frac{de}{J/D + C\Delta\psi/l}; \quad l = -\frac{l}{\Delta\psi} \ln \frac{J/D + C_{m2}\Delta\psi/l}{J/D + C_{m1}\Delta\psi/l} \quad (0.77)$$

Заметим, что поток мы считаем постоянным при всех x (принцип неразрывности потока), что верно для стационарного состояния системы.

Преобразовав уравнение (0.77), выразим поток J через остальные величины:

$$J = \frac{D}{l} \Delta\psi \frac{C_{m1} - C_{m2} e^{\Delta\psi}}{e^{\Delta\psi} - 1} \quad (0.78)$$

Как уже говорилось ранее, концентрации иона внутри мембраны (C_{m1} при $x = 0$ и C_{m2} при $x = l$) нам неизвестны, и желательно выразить их через концентрации в водной фазе C_1 и C_2 ,

используя коэффициент распределения $K = \frac{C_{m1}}{C_1} = \frac{C_{m2}}{C_2}$:

$$J = \frac{DK}{l} \Delta\psi \frac{C_1 - C_2 e^{\Delta\psi}}{e^{\Delta\psi} - 1} \quad (0.79)$$

Заменим DK/l коэффициентом проницаемости P :

$$J = P \Delta\psi \frac{C_1 - C_2 e^{\Delta\psi}}{e^{\Delta\psi} - 1} \quad (0.80)$$

Это – *уравнение Гольдмана* для потока ионов через мембрану. Величина $\Delta\psi$ называется внутримембранным скачком потенциала. Она дана здесь в безразмерной форме. Чтобы перейти к величине потенциала в вольтах, надо использовать уравнение:

$$\psi = \frac{zF}{RT} \varphi \quad (0.81)$$

9.8.2 Электропроводность мембраны

При равенстве концентраций по сторонам мембраны ($C_1 = C_2 = C$) поток ионов через нее будет равен, согласно уравнению (0.80),

$$J = -P \Delta\psi C = -P \frac{zF}{RT} \Delta\varphi C \quad (0.82)$$

Ионный ток через единицу площади мембраны можно выразить через плотность потока ионов как $j = JzF$, если J выражена в молях на m^2 . Отсюда

$$j = -PC \frac{z^2 F^2}{RT} \Delta\varphi \quad (0.83)$$

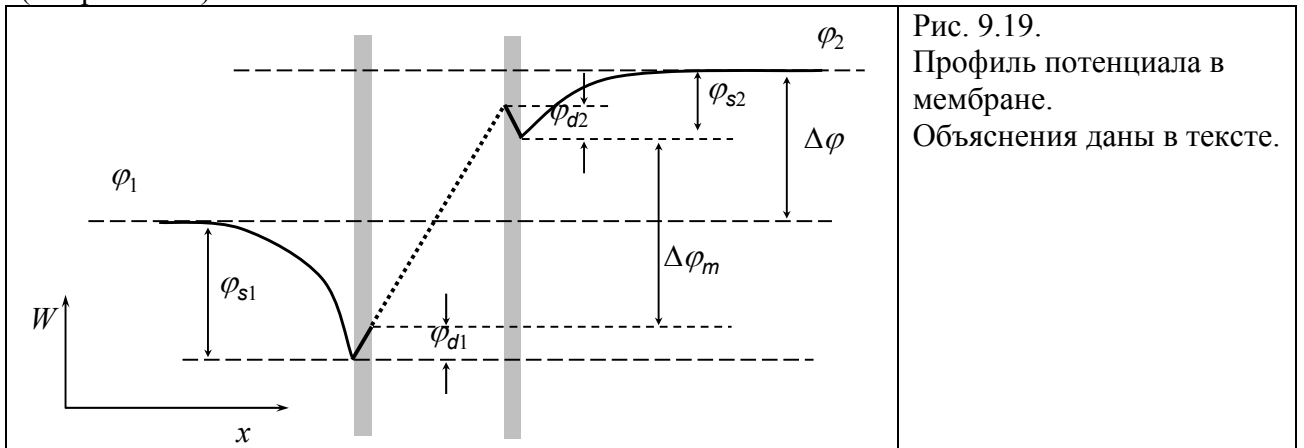
Величина $G = -(j / \Delta\varphi)$ носит название *удельной проводимости* мембраны и имеет размерность $Om^{-1} \cdot B^{-1} \cdot m^{-2}$.

Таким образом, удельная проводимость мембраны прямо пропорциональна концентрации иона по ее сторонам и коэффициенту проницаемости мембраны для этого иона.

$$G = PC \frac{z^2 F^2}{RT} \quad (0.84)$$

9.9 Профиль потенциала в мембране

Внутримембранный скачок потенциала не обязательно равен мембранному потенциалу, т.е. разности потенциалов между водными фазами по двум сторонам мембраны. Связь между этими величинами станет ясной, если мы рассмотрим электрический профиль мембраны, т.е. изменение потенциала вдоль оси X , нормальной к поверхности мембраны (см. рис. 9.19).



Очевидно, что мембранный потенциал зависит от величины дипольных потенциалов, создаваемых полярными головками фосфолипидов на поверхности мембраны, а также от разности скачков потенциала на поверхности, создаваемых поверхностными зарядами (в частности, заряженными фосфолипидами). Лишь пренебрегая дипольными потенциалами и в условии симметричной (по плотности поверхностных зарядов на двух поверхностях) мембраны мы можем считать мембранный потенциал равным внутримембранному скачку потенциала. Последний создает электрическое поле внутри мембраны, которое определяет электрофоретический компонент движущей силы ионных потоков.

Здесь уместно остановиться на связи между величиной трансмембранного потенциала $\Delta\varphi$, которую мы использовали до сих пор, и так называемым *мембранным потенциалом*, измеряемым физиологами с помощью микроэлектродов. Как известно, он равен разности потенциалов между внутриклеточным содержимым и окружающей средой. Мы будем обозначать его как φ_m . Обычно в физике за положительное направление потока принимают направление из замкнутого контура наружу. Физиологи также считают положительным направление потока из клеток наружу. Таким образом, сторона 1 на рис. 9.20 это внутренняя часть клеток, а сторона 2 – наружная. В физиологической литературе внутриклеточный потенциал часто обозначают как φ_i , а внеклеточный – как φ_o (от английских слов *inside* и *outside*). Теперь сопоставим обозначения

$$\varphi_m = \varphi_i - \varphi_o = \varphi_1 - \varphi_2$$

В случае симметричных мембран:

$$\varphi_m = \varphi_i - \varphi_o = \varphi_1 - \varphi_2 = -\Delta\varphi$$

Разумеется, это же относится и к безразмерным потенциалам: $\psi_m = -\Delta\psi$. Используя индексы *i* (внутренняя среда) и *o* (наружная среда) можно записать уравнение (0.80) в таком виде:

$$J = P\psi_m \frac{C_i - C_o e^{-\psi_m}}{1 - e^{-\psi_m}} \quad (0.85)$$

Преобразования дают:

$$J = P\psi_m \frac{C_i e^{\psi_m} - C_o}{e^{\psi_m} - 1} \quad (0.86)$$

Уравнения (0.85) и (0.86) относятся к симметричным мембранам.

Что значит "по градиенту"?

Здесь уместно коснуться терминологии. В биохимической литературе время от времени встречается выражение "перенос ионов по градиенту концентрации" или "перенос ионов по градиенту потенциала"; при этом иногда говорят о "градиенте концентрации иона на мембране", имея в виду разность концентрации ионов по сторонам мембраны. Нелишне в связи с этим вспомнить, что градиент функции, например, градиент концентрации C определяется как вектор:

$$\Delta C = \frac{\partial C}{\partial x} \mathbf{e}_x + \frac{\partial C}{\partial y} \mathbf{e}_y + \frac{\partial C}{\partial z} \mathbf{e}_z \quad (0.87)$$

где \mathbf{e}_x , \mathbf{e}_y , \mathbf{e}_z – единичные векторы осей x, y, z в прямоугольной декартовой системе координат. В мембранах за направление x принимается нормаль к поверхности раздела

фаз. Для однородной мембраны можно считать, что: $\frac{\partial e}{\partial y} = \frac{\partial e}{\partial z} = 0$ и точно также

$$\frac{\partial \psi}{\partial y} = \frac{\partial \psi}{\partial z} = 0.$$

Поэтому в однородной мембране $\Delta C = \frac{\partial C}{\partial x} \mathbf{e}_x$; $\Delta \psi = \frac{\partial \psi}{\partial x} \mathbf{e}_x$. В этих условиях поток

пропорционален градиенту концентрации (уравнение (0.56)), или градиенту потенциала (уравнение (0.62)), которые взяты с *обратным знаком*. Если говорить о направлении, то потоки направлены как раз *против* градиентов.

Однако в русском языке слово "по" не только указывает направление ("по ходу поезда"), но и означает "в соответствии с" (например, "по закону"). Если придавать словам "по градиенту" смысл "в соответствии с тем, какой градиент существует в мембране" и иметь при этом в виду уравнения (0.56) и (0.62), то выражение "по градиенту" становится приемлемым, тем более, что оно компактно. В сущности, оно эквивалентно используемому в популярных статьях на английском языке выражению *down-hill* ("вниз с горы"), которое вполне оправдано, потому что поток направлен в сторону убыли свободной энергии (электрохимического потенциала), а его величина пропорциональна этой убыли в расчете на единицу длины пути, т.е. крутизне "горы" (см. уравнение (0.65)). В противоположность этому, выражения "градиент концентрации на мембране", "градиент pH на мембране" или "градиент потенциала на мембране" нам кажутся неприемлемыми. На мембране (т.е. между водными растворами, разделяемыми мембраной) существует *разность* концентраций, pH и потенциалов (Δc , ΔpH , ψ_m), которая *создает* соответствующий градиент в мембране (т.е. внутри мембраны), но не есть этот градиент. Величины ΔC , ΔpH , ψ_m являются движущей силой потоков, но апосредованно, создавая соответствующие градиенты концентраций и потенциалов внутри мембраны и в мембранных слоях водного раствора.