

Академия наук Украины  
Институт кибернетики имени В. М. Глушкова

На правах рукописи

КОСИЦКИЙ Николай Николаевич

УДК 612:613.735

**ВЛИЯНИЕ ПОДВИЖНОСТИ ДИПОЛЕЙ СРЕДЫ  
ИОННОГО КАНАЛА НА ЕГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ**

15.13.09 — управление в биологических и медицинских системах (включая применение вычислительной техники)

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук**

Киев 1992

76 26. 393

Работа выполнена в Институте биохимии им. А. В. Палдина АН Украины.

Научный руководитель: доктор биологических наук  
ДЕМЧЕНКО А. П.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
профессор РЕШОДЬКО Л. В.,  
доктор физико-математических наук ХАРКЯНЕН В. Н.

Ведущая организация: Институт физиологии им. А. А. Бомольца АН Украины

ЛНБ України ім. В. Стефаника



00825624 (R)

Защита состоится 27 января 1993 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании специализированного совета Д 016.45.05 при Институте кибернетики имени В. М. Глушкова АН Украины по адресу:  
252028 Киев 28, проспект Науки, 41.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-техническом архиве института.

Автореферат разослан 25 декабря 1992 г.



Ученый секретарь  
специализированного совета

КОЗАК Л. М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

А к т у а л ь н о с т ь п р о б л е м ы.

Структуры, образующие пути для раздельного прохождения ионов натрия и калия через биологические мембраны, называются, соответственно, натриевыми и калиевыми каналами. Ионные каналы представляют собой водные поры молекулярных размеров, образованные интегральными белковыми макромолекулами, встроенными в мембрану. Каждый вид каналов образуется своей макромолекулой, имеющей внутреннюю структуру, приспособленную для проведения данного вида ионов. В открытом состоянии канал характеризуется высокой ионной избирательностью, называемой селективностью канала, и сохраняет при этом высокую проводимость. Каким образом натриевый канал способен быстро различать такие очень близкие по своим физико-химическим характеристикам ионы, как ионы  $Na^+$  и ионы  $K^+$  и управлять их прохождением через ионный канал: пропускать первые и, практически полностью, отсеивать последние? Молекулярные механизмы управления селективностью ионных каналов остаются мало изученными до настоящего времени. Представляется естественным предположить, что именно структуры атомарных размеров должны обеспечивать идентификацию объектов атомарных размеров, каковыми являются ионы натрия или калия.

В последние годы большое внимание уделяется изучению динамического поведения белков: конформационным переходам и обуславливающим их факторам, измерению времени характерных движений. Учет молекулярной динамики каналформирующей среды дает возможность существенно продвинуться в понимании функционирования ионных каналов.

Актуальность работы обусловлена большим количеством экспериментальных данных по селективности и проводимости различных типов каналов, которые нуждаются в теоретическом осмысливании и выяснении общих молекулярных механизмов их функционирования, позволяющих управлять их работой.

Ц е л ь и з а д а ч и р а б о т ы. Целью настоящей работы является теоретическое исследование механизмов управления функционированием ионных каналов на основе структурно-физического моделирования процесса прохождения ионов.

Были поставлены следующие конкретные задачи исследования:

I. Создать структурно-динамическую модель ионного канала. Изучить зависимость селективности канала от размеров и зарядовых

характеристик селективного фильтра и определить эффективность этих параметров для управления функционированием канала.

2. На основе полученных результатов провести численный расчет рядов селективности натриевых каналов.

3. Изучить влияние динамики полярных групп среды натриевого канала на его селективную функцию и определить условия, при которых учет подвижности зарядов должен наиболее существенно проявляться на функционировании канала.

4. Описать зависимость величины тока, проходящего через одиночный канал, от концентрации проникающих ионов.

**Научная новизна.** Предложен метод учета влияния подвижности дипольных групп ионных каналов на их проницаемость и селективность. Построена модель, описывающая селективность натриевых каналов перехвата Ранвье лягушки с учетом геометрических размеров и электрических параметров селективного фильтра.

**Теоретическое и практическое значение.** Полученные данные расширяют существующие представления о молекулярных механизмах функционирования ионных каналов и позволяют разрабатывать новые подходы для управления проницаемостью биологических и искусственных мембран.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Геометрические размеры и заряды селективного фильтра эффективно управляют селективностью и проницаемостью ионных каналов. В условиях одинакового "сродства" центров связывания к проникающим ионам наиболее влияющими на селективность канала параметрами являются ширина поперечного сечения фильтра и величина зарядов центра связывания.

2. Проницаемость определяется как внутренней структурой канала, так и величиной проходящего через канал тока и может изменяться более чем на порядок при изменении величины канального тока. Наиболее существенные изменения проницаемости ионного канала испытывает в случае близости величин частоты дипольных релаксаций каналформирующего белка и частоты прохождения ионов через канал.

3. Насыщение ионного тока в натриевых каналах обусловлено снижением проницаемости канала в результате взаимодействия проникающих ионов с подвижными диполями внутренней среды канала.

Работа докладывалась на теоретических семинарах в Институте физиологии АН Украины (1989), Институте теоретической физики АН Украины (1988) и Институте биохимии АН Украины

(1991); на рабочем совещании "Физика, макромолекулярных систем и молекулярная электроника" (Киев, 1988); II Всесоюзной конференции по "Нейронаукам" (Киев, 1988); III Симпозиуме СССР-ФРГ "Возбудимые мембраны" (Киев, 1987); II Симпозиуме "Кинетика процессов переноса зарядов в гомогенных и гетерогенных системах" (Батуми, 1989); II Всесоюзной конференции "Математические методы в биологии и медицине" (Пушкино, 1987);

Диссертация состоит из введения, шести глав, выводов, списка литературы включающего 112 наименований и содержит 90 машинописных страниц, 15 рисунков, 4 таблицы. По теме диссертации опубликовано 11 работ.

#### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Понятие о селективном фильтре канала.

Ионная селективность обусловлена двумя основными механизмами. Во-первых, это эффект "сит". Применительно к нашему случаю: ион, больший чем самое узкое место в канале, не может пройти через канал. Во-вторых, это специфическое связывание между ионом и каналом, которое отражает "сродство" иона и канала (Eisenman, 1961). Наличие взаимодействия с несколькими центрами связывания и взаимодействие с полярными динамическими группировками должны учитываться при более полном описании ионного транспорта. Большинство исследователей сейчас полагают, что селективный фильтр располагается во внутренней узкой части канала и что энергетический профиль взаимодействия иона с каналом имеет более сложную структуру.

#### ТРЕХЦЕНТРОВАЯ МОДЕЛЬ КАНАЛА

Если полагать, что в центре связывания натриевого канала находится атом кислорода карбонильной группы, то взаимодействие иона с центром связывания можно описывать двухчастичным модельным потенциалом. Характерной особенностью всех так называемых молекулярных потенциалов является наличие минимума потенциальной энергии. Положение минимума соответствует контактному расположению взаимодействующих частиц. При дальнейшем сближении частиц возникает сильное отталкивание и потенциальная энергия резко возрастает. Для частиц атомарных размеров можно полагать контактный радиус равным сумме кристаллографических радиусов взаимодействующих атомов. Вторым существенным параметром потенциала взаимодействия является глубина потенциальной ямы в точке минимума энергии. Мы воспользовались величиной  $E_m = 0.01$  Ккал/Моль, взятой из работы Левита (1979).

Гипотетическую структуру трехцентрового селективного фильтра для простоты предположим симметричной относительно среднего центра связывания, а сами центры - тождественными, имеющими одинаковый заряд  $q_i = -0.3e$ . На рис. I изображено продольное сечение селективного фильтра натриевого канала. Отрицательно заряженные центры связывания обозначены большими кружками. Проникающий катион изображен маленьким кружком, а связанные с ним молекулы воды - треугольниками.

Энергию взаимодействия катиона  $i$ -го вида с тремя центрами связывания  $j=1,2,3$  опишем потенциалом Ленарда-Джонса с учетом кулоновского слагаемого:

$$W_i(R) = \sum_j A_j / R_{ij}^{12} - B_j / R_{ij}^6 + \frac{q_i \cdot q_j}{\epsilon \cdot R_{ij}}$$

где  $\epsilon$  - диэлектрическая постоянная среды, величины параметров  $A_j$  и  $B_j$  зависят от сорта ионов.

В дальнейшем для нахождения траектории иона вдоль канала для каждого значения  $y$  нас будут интересовать минимальные значения энергии  $w(x)$ . При этом варьируемыми параметрами будут служить координаты  $y$  и  $z$ . Мы полагаем поперечное сечение селективного фильтра в самом узком месте прямоугольным с размером  $3 \times 5 \text{ \AA}$  (Hille, 1976). Ширина фильтра в направлении оси  $OZ$  (перпендикулярно плоскости рис. I) полагается равной  $3 \text{ \AA}$ . Воспользуемся двумерным приближением, зафиксировав координату  $z$ . Движение иона происходит в плоскости рис. I.

Полученные профили потенциальной энергии представлены на Рис. I. В общем случае, как показано для ионов калия, профиль состоит из трех барьеров и двух ям. Природа крайних барьеров носит электростатический характер. Средний узкий барьер возникает из-за стерических затруднений для более крупных ионов  $\text{NH}_4^+$  и  $\text{K}^+$  в узком месте селективного фильтра.

#### Расчет проницаемости ионов

Для расчета модельной проницаемости ионов по заданному профилю потенциальной энергии воспользуемся электродиффузионным уравнением для потока частиц, базирующимся на уравнении Нернста-Планка.

Диффузионный поток ионов через канал, имеющих заряд  $q_i$ , определяется уравнением (Levit M., 1988)

$$J_i = -D_i \cdot S \cdot \left[ \frac{dc_i}{dx} + \frac{q_i}{kT} \cdot c_i \cdot \frac{d(\varphi + W_i)}{dx} \right] \quad (I)$$

Введенная нами неоднородность мембраны учитывается в зависящей

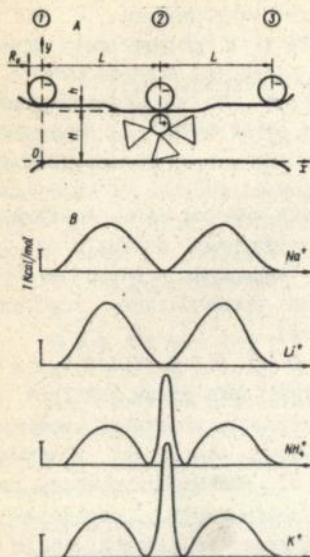


Рис.1 Структурная модель селективного фильтра натриевого канала:  
 А - продольный разрез селективного фильтра.  
 В - модельные энергетические профили ионов Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> и K<sup>+</sup> в натриевом канале

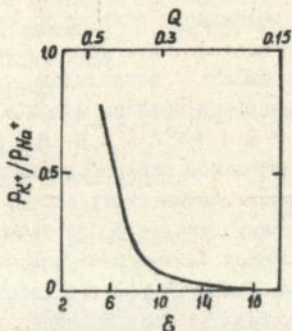


Рис.2 Зависимость относительной проницаемости натриевого канала от величины зарядов центров связывания (верхняя шкала) и от величины диэлектрической постоянной среды (нижняя шкала)

ТАБЛИЦА 1. Отношение проницаемостей для одновалентных катионов в натриевом канале перехвата Ранвье лягушки

Вид ионов ( i )	Проницаемость $P_i/P_{Na^+}$	
	Эксперимент	Расчет по модели
Li <sup>+</sup>	0.93	0.94
Na <sup>+</sup>	1.0	1.0
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.16	0.15
K <sup>+</sup>	0.08	0.1

от координаты иона части потенциала  $\psi_i(x)$ , описывающего взаимодействие иона с внутренними структурами в канале.

Используя определение проницаемости  $P_i$  в пределе малых полей ( $e\varphi \ll kT$ ), решение уравнения (I) можно записать так:

$$J_i = \frac{zeD_i \cdot (C_i^{(1)} - C_i^{(2)})}{\int_0^{\lambda} \exp\left(\frac{W_i(x)}{kT}\right) dx} = P_i \cdot (C_i^{(1)} - C_i^{(2)}) \quad (2)$$

Это выражение в дальнейшем использовалось для расчета селективности модельного фильтра и сравнения полученных результатов с экспериментом. Интеграл в знаменателе выражения, определяющего проницаемость, вычислялся численно для произвольного профиля потенциальной энергии ионов в канале  $W_i(x)$ .

#### ДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ИОННОГО КАНАЛА

Дипольное экранирование электростатического взаимодействия в натриевом канале складывается из двух факторов. Величина момента постоянных диполей среды канала, в основном, определяет величину статической диэлектрической постоянной  $\epsilon_0$ . Динамическая часть диэлектрической постоянной, которую мы обозначим через  $n^2$ , определяется электронной поляризацией атомов и подвижностью диполей. Когда взаимодействующие заряды иона и центра связывания неподвижны, то все диполи среды успевают переориентироваться и вносят свой вклад в ослабление взаимодействия иона с центром. Высокие значения статической диэлектрической постоянной среды канала ( $\epsilon_0 = 10-30$ ) свидетельствуют о хорошем дипольном экранировании взаимодействия иона с селективным фильтром и соответствуют высоким скоростям дипольных релаксаций. При изменении электрического поля, воздействующего на диполь, происходит релаксация диполя к новому положению равновесия. В нашем случае роль переменного электрического поля выполняет электрическое поле иона, проникающего внутрь канала. Если полагать, что через одиночный канал в открытом состоянии за одну секунду проходит  $v_T = 10^7 \frac{\text{ионов}}{\text{с}}$ , то можно считать, что вблизи конкретного центра связывания мгновенно возникает поле, которое воздействует на окружающие дипольные группировки в течение времени

$$\tau_T = \frac{1}{v_T} < 10^{-7} \text{ с.}$$

Тогда применительно к нашему случаю выражение, определяющее значение диэлектрической постоянной среды канала, можно представить следующим образом:

$$\epsilon = \epsilon(\nu_T) = \epsilon_0 - \frac{\epsilon_0 - n^2}{1 + (\nu_R / \nu_T)^2} \quad (3)$$

Использование выражения (3) для  $\epsilon(\nu)$  при расчете профилей потенциальной энергии позволяет учесть влияние динамики среды канала на его селективную функцию. При вычислении энергетического профиля иона в канале величина  $\epsilon$  полагалась не постоянной, а зависящей от частоты следования ионов через канал. Статическая структура зарядов селективного фильтра остается неизменной. Кроме этого, теперь в модели учитываются движения полярных групп в канале, скоординированные с прохождением ионов.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

Влияние структуры селективного фильтра на его проницаемость

Для сравнения результатов модельных исследований с данными электрофизиологического эксперимента необходимо произвести расчет величин, непосредственно измеряемых в эксперименте. В начале семидесятых годов Хилле (1972) измерил ряд селективности натриевого канала, начальная часть которого приведена в табл. I. На первом этапе работы исследовалось влияние геометрических параметров селективного фильтра на его проницаемость. На рис. I представлены профили потенциальной энергии, вычисленные на ЭВМ для различных ионов при прохождении через селективный фильтр. Для хорошо проникающих ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Li}^+$  профиль является двухбарьерным, причем высота барьеров определяется различиями в кулоновской энергии притяжения катионов к анионным центрам. В случае плохо проникающих ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{NH}_4^+$  возникает дополнительный стерический барьер, который тем выше, чем больше радиус проникающего иона. Изучались возможности модельного селективного фильтра по описанию калий/натриевой селективности в натриевом канале.

Как и следовало ожидать, менее всего отношение  $R_{\text{K}^+} / R_{\text{Na}^+}$  зависит от величины смещения крайних центров  $h$ . Небольшое значение  $h = 0.5A$  выбрано для получения близкой к эксперименту величины  $R_{\text{Li}^+} / R_{\text{Na}^+}$ . Кроме того, при малых значениях  $h$  обеспечивается максимальный ориентирующий эффект, облегчающий вхождение ионно-водного кластера в наиболее узкую часть фильтра. При больших значениях  $h$  крайние барьеры на профилях потенциальной энергии исчезают, что приводит к резкому увеличению проницаемости ионов  $\text{Na}^+$  и ионов  $\text{Li}^+$ . В то же время величина среднего барьера,

определяющего проницаемость ионов  $K^+$  и  $NH_4^+$ , практически не изменяется. В результате относительные проницаемости ионов  $K^+$  и  $NH_4^+$  становятся соответственно равными  $P_{K^+}/P_{Na^+} = 0.02$  и  $P_{NH_4^+}/P_{Na^+} = 0.01$ , что не согласуется с экспериментом. Из этого следует, что широкая пора, имеющая на своей поверхности центры связывания, не может обеспечить достаточный селективирующий эффект.

Достаточно резко величина  $P_{K^+}/P_{Na^+}$  зависит от ширины сечения селективного фильтра  $h$ . При увеличении ширины фильтра всего на 0.1A он полностью теряет свою натриевую селективность, что отражает факт сильной зависимости селективности от стерического соответствия размеров иона и поры (эффект "сита").

Зависимость проницаемости канала от продольных размеров селективного фильтра  $L$  значительно более плавная. Подобранные нами размеры  $L = 10-15A$  соответствуют независимым экспериментальным оценкам (Danko, 1986). При увеличении расстояния между центрами связывания крайние барьеры становятся очень широкими и их интегральный вклад в проницаемость канала начинает преобладать над вкладом от очень узкого центрального барьера. Канал утрачивает натрий/калиевую селективность  $P_{K^+}/P_{Na^+} = 1$ . При больших длинах узкой части канала эффективный коэффициент диффузии ионов через канал становится малым и происходит резкое снижение его пропускной способности.

Сильное влияние на  $P_{K^+}/P_{Na^+}$  оказывает вариация зарядов анионных центров  $q_1$ , что формально эквивалентно изменению диэлектрической постоянной среды канала  $\epsilon$  (рис.2). При увеличении заряда центра связывания  $q_1$  или соответственно уменьшения  $\epsilon$  проницаемость канала резко падает, а селективность становится калиевой, т.е. величина  $P_{K^+}/P_{Na^+} > 1$ . Если полагать  $q_1 = -0.3e$ , что соответствует одноцентровому представлению взаимодействия катиона с диполем одиночной карбонильной группы, то для описания натриевой селективности необходимо полагать  $\epsilon > 10$ .

В табл. I дано сравнение экспериментальных величин относительной проницаемости натриевого канала с теоретическими. Расчет проводился с использованием модели селективного фильтра, представленной на рис. I, со следующими значениями параметров:

$$h = 5A, \quad h = 0.5A, \quad L = 15A, \quad q_1 = q_2 = q_3 = -0.3e, \quad \epsilon = 10, \quad \rho_0 = 1.4A$$

Как видим, профили потенциальной энергии, представленные на рис. I, хорошо соответствуют значениям измеряемой селективности, приведенным в табл. I.

Наиболее сильное влияние на селективность оказывают ширина канала и его электрические свойства. Предпринятое численное описание рядов селективности натриевого канала отличается от концепции "сита", в которой меньшие ионы проходят всегда, а большие никак проникнуть через канал не могут. В нашей модели вероятность прохождения иона через фильтр зависит от размера иона и определяется высотой центрального стерического барьера. Даже большой ион имеет, хотя и очень малую, вероятность проникновения через мембрану. Обратим внимание на то, что в нашей модели меньший по размеру ион лития хуже проходит через канал, нежели больший по размеру ион натрия. Этот неожиданный экспериментальный результат впервые нашел естественное объяснение в рамках нашей модели.

Исходя из сильной зависимости проницаемости канала от величины зарядов селективного фильтра представляется интересным изучение диэлектрических свойств среды канала. Значение диэлектрической постоянной  $\epsilon$  внутри канала определяется подвижностью и величиной момента электрических диполей, выстилающих внутреннюю поверхность канала.

**Влияние динамических параметров селективного фильтра на проницаемость**

Взаимодействие ионов с подвижными диполями среды канала должно влиять на профиль потенциальной энергии иона в канале и тем самым изменять его проницаемость. Когда частота релаксаций  $\nu_n$  значительно превышает частоту прохождения ионов через канал  $\nu_T$ , диполи успевают переориентироваться по направлению к иону и тем самым ослабить взаимодействие иона с центром связывания (рис.3, правая часть). В этом случае осуществляется высокая натрий-калиевая селективность, поскольку центральный стерический барьер для ионов калия имеет не электростатическую природу и его высота очень мало зависит от соотношения частот  $\nu_T$  и  $\nu_n$ . Крайние барьеры как для ионов  $K^+$ , так и для ионов  $Na^+$  низкие, поскольку притяжение иона к центру связывания ослаблено взаимодействием с диполями.

В случае  $\nu_T \gg \nu_n$  высота крайних барьеров сравнивается и даже может превышать высоту центрального барьера, поскольку диполи, окружающие центр связывания, не успевают отрелаксировать при появлении иона в канале (рис.3, левая часть).

Мы полагаем, что геометрические параметры модели остались неизменными. Рассмотрим результаты влияния динамики среды на проницаемость и селективность канала. Зависимость проводимости

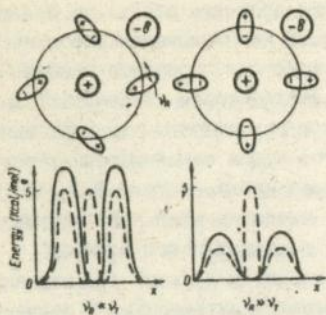


Рис.3 Влияние частоты дипольных релаксаций в канале на высоту энергетических барьеров ионов натрия (————) и ионов калия (-----)

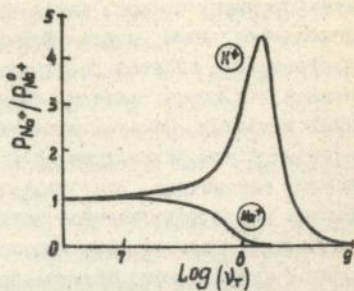


Рис.4 Зависимость селективной функции натриевого канала от частоты прохождения ионов через канал

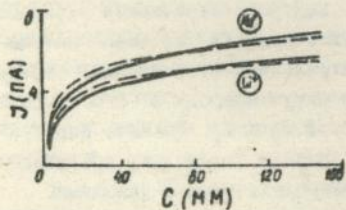


Рис.5 Зависимость величины тока через канал от концентрации проникающих ионов: (-----) — аппроксимация функцией Лэнгмюра

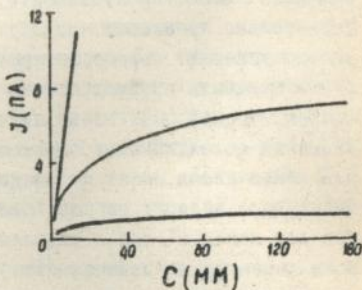


Рис.6 Зависимость величины тока через канал от концентрации проникающих ионов при различных значениях частоты дипольных релаксаций  $\nu_d$

ионов  $\text{Na}^+$  и селективной функции для ионов  $\text{K}^+$  в натриевом канале от частоты прохождения  $\nu_T$  ионов изображено на рис.4. С ростом  $\nu_T$  селективность натриевого канала падает (отношение  $P_{\text{K}^+}/P_{\text{Na}^+}$  растет). При дальнейшем увеличении  $\nu_T$  селективность опять возрастает (отношение  $P_{\text{K}^+}/P_{\text{Na}^+}$  уменьшается). Проницаемость натриевого канала для ионов натрия монотонно уменьшается с ростом  $\nu_T$ . Различный характер этих зависимостей обусловлен несколько отличной природой энергетического профиля для ионов  $\text{Na}^+$ , чем для ионов  $\text{K}^+$ . Снижение проницаемости канала при увеличении  $\nu_T$ , как для ионов  $\text{K}^+$ , так и ионов  $\text{Na}^+$ , обусловлено совокупным увеличением высот крайних электростатических барьеров (рис.3). Возрастание  $\nu_T$  вызывает постепенный переход от энергетического профиля, изображенного в правой части рис.3, к профилю, изображенному в левой части рис.3. Положение максимума проницаемости для ионов калия (рис.4) определяется высотой стерического барьера, который отсутствует в энергетическом профиле ионов натрия. В момент сравнения высот крайних и среднего барьеров возникает максимум относительной калиевой проницаемости и канал обладает минимальной селективностью. Уменьшение проницаемости при дальнейшем увеличении  $\nu_T$  связано с тем, что определяющую роль в транспорте как ионов натрия, так и ионов калия через канал начинают играть высоты крайних электростатических барьеров. При этом высота среднего барьера слабо зависит от электростатических взаимодействий и поэтому не изменяется при увеличении  $\nu_T$ .

Таким образом, исходя из наличия в среде ионного канала электрических дипольных групп мы исследовали влияние подвижности этих групп атомов на проницаемость и селективность канала. Важным фактором, учитывающим динамику канала и определяющим его функционирование, является отношение частоты релаксаций и частоты прохождения ионов. При исследовании одного типа каналов и достаточно адекватных условиях проведения эксперимента мы можем полагать частоту дипольных релаксаций в канале постоянной величиной. В таком случае регулирующее влияние внутренней динамики канала может проявляться в экспериментах при изменении частоты прохождения ионов через канал. Одним из простейших способов изменения частоты следования ионов является изменение трансмембранной разности концентраций ионов. Представляет интерес исследовать, как отразится на поведении ионного канала учет его динамики при росте концентрации проникающих ионов.

## КОНЦЕНТРАЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ В КАНАЛАХ

Величина эффективного заряда центра связывания зависит от подвижности электрических диполей внутри канала. В данном случае механизм влияния на проницаемость канала является весьма похожим на протонирование заряженной аминокислотной группы: ослабление взаимодействия иона и центра связывания. Но экранирование электростатического взаимодействия поворотом заряженных диполей имеет более мягкий характер.

\*Рассмотрим зависимость проницаемости канала от тока через канал в рамках нашей модели. Трансмембранный ток пропорционален величине частоты прохождения ионов через канал  $\nu_i$ :

$$j = e * \nu_i \quad (4)$$

где  $e$  - заряд протона.

При увеличении тока через канал величина  $\nu_i$  тоже возрастает, что вызывает уменьшение проницаемости мембраны. Корреляция времени релаксации дипольных групп в канале и времени нахождения ионов вблизи этих групп существенно влияет на проводящую функцию канала.

Возрастание величины тока, проходящего через одиночный канал вызывает, в соответствии с выражением (4), увеличение частоты следования ионов через канал  $\nu_i$ . При увеличении величины  $\nu_i$  проницаемость канала для ионов  $Na^+$  уменьшается. Увеличение величины  $\nu_i$  происходит при увеличении трансмембранной разности потенциалов или при возрастании разности концентраций проникающего иона по обе стороны мембраны. В то же время сопутствующее уменьшение проницаемости канала препятствует увеличению канального тока. При фиксированной температуре, т.е. при заданной частоте внутриканальных дипольных релаксаций, величина тока через открытый канал ограничена частотой дипольных релаксаций в канале.

В случае, когда дипольные релаксации внутри канала очень быстрые, мы можем наблюдать линейное возрастание тока с возрастанием концентрации проникающего иона. Этот случай изображен на рис.5, когда величина  $\nu_r = 10^{10} \text{сек}^{-1}$ . При меньших значениях  $\nu_r$  наблюдается насыщение тока. Теоретически насыщение тока возможно и в каналах с высокой дипольной подвижностью, но оно может наступить только при больших токах через одиночный канал. Так, при значении величины  $\nu_r = 10^{10} \text{сек}^{-1}$  величина тока насыщения принимает значение  $j_{\text{max}} = 35 \text{ПА}$ . С другой стороны, можно сказать, что в случае высокой подвижности полярных групп в натриевом канале токовое насыщение должно наблюдаться при высоких (до одного моля)

концентрациях ионов. Эквивалентная константа диссоциации  $K_D$  увеличивается при возрастании  $\nu_n$ . Это свидетельствует о том, что канал с большой скоростью дипольных релаксаций обладает лучшей проводимостью. Такие зависимости наблюдались в экспериментах (Begenisich, Cahalan, 1980), хотя конкретные значения токов насыщения определяются типом канала даже внутри класса натриевых каналов.

Если релаксации осуществляются намного быстрее движения иона через канал ( $\nu_n \gg \nu_T$ ), эффективный потенциальный профиль иона в канале становится стационарным и селективная функция не зависит от динамических свойств канала. Канал, в структуру которого включены диполи с высокой ориентационной подвижностью, не должен проявлять сильную тенденцию к насыщению тока. Статическая модель ионного транспорта через биологические каналы в своем простейшем приложении дает прямо пропорциональную зависимость величины тока через канал от концентрации проникающих ионов. Коэффициент пропорциональности является проницаемостью канала  $P$ , которая является характеристикой канала и предполагается постоянной величиной. В динамической модели проницаемость определяется как внутренней структурой канала, так и величиной проходящего тока. Проницаемость канала является нелинейной функцией проходящего тока.

Концентрационные зависимости тока через одиночный натриевый канал для ионов  $Na^+$  и ионов  $Li^+$  представлены на рис. 4. Характерной особенностью этих кривых является наличие участков насыщения. Эти зависимости можно хорошо описывать лэнгмювскими функциями.

Уровень тока насыщения для ионов  $Li^+$ , имеющих меньшую проницаемость, чем ионы  $Na^+$  ( $P_{Li^+} / P_{Na^+} = 0.93$ ), на 1.2 ПА ниже, чем для ионов  $Na^+$ . Величина тока насыщения  $j_{max}$  также зависит от значения диэлектрической постоянной  $\epsilon_0$ . Для больших значений  $\epsilon_0$  ток насыщения увеличивается, а соответствующая константа диссоциации уменьшается.

Возвращаясь к проблеме селективности натриевого канала, заметим, что в реальных условиях управлять прохождением ионов через мембрану канал должен в открытом состоянии, когда на релаксации дипольных групп воздействует суммарный поток ионов через канал. Исходя из нашей модели для ионов калия в натриевом канале при низких значениях величин токов, проходящих через канал, наблюдается высокая проницаемость и рассчитанная селективность не соответствует экспериментально наблюдаемой. Таким образом, только в открытом состоянии, когда через него проходит значительный натриевый ток, натриевый канал имеет высокую калиевую селективность.

## ВЫВОДЫ

Разработанная трехцентровая динамическая модель ионного канала позволяет изучать влияние параметров селективного фильтра на функционирование ионных каналов и позволила провести численное описание селективности и проницаемости натриевого канала, которое хорошо согласуется с экспериментальными данными.

1. При увеличении ширины селективного фильтра всего на 0.1А происходит исчезновение центрального стерического барьера, а при значительном увеличении расстояния между центрами связывания ( $L > 25A$ ) крайние барьеры становятся очень широкими и канал утрачивает калий/натриевую селективность. Из этого следует, что широкая или очень длинная порá, имеющая на своей поверхности центры связывания, не может обеспечить достаточный селективирующий эффект.

2. Для успешного описания ряда селективности натриевого канала необходимо полагать, что величина диэлектрической постоянной среды ионного канала  $\epsilon > 10$ , поскольку эффективный заряд центров связывания оказывает сильное влияние на селективную функцию натриевого канала.

3. Проницаемость меньших по размеру, чем натрий, ионов лития через натриевый канал меньше, чем проницаемость собственно ионов натрия, что согласуется с экспериментальными данными.

4. Калий/натриевая селективность натриевого канала имеет не-монотонный характер зависимости от частоты прохождения через канал проникающих ионов  $\nu_T$  и частоты дипольных релаксаций  $\nu_n$ .

5. Проницаемость натриевого канала для ионов натрия монотонно растет с ростом частоты дипольных релаксаций  $\nu_n$  и монотонно уменьшается с увеличением  $\nu_T$ . Для выполнения селективной и проводящей функции в канале необходимо соответствие времени релаксаций заряженных аминокислотных групп и времени нахождения иона в канале.

6. Величина тока насыщения увеличивается при повышении частоты дипольных релаксаций в канале с повышением температуры, а при фиксированной температуре величина тока через открытый канал ограничена частотой дипольных релаксаций в канале.

7. Максимальные значения тока насыщения для хорошо проникающих ионов натрия выше, чем для хуже проходящих через натриевый канал ионов лития.

Основные результаты работы опубликованы в следующих изданиях:

1. Зайтман Г.А., Косицкий Н.Н., Пятигорский Б.Я. Проблемно-ориентированный вычислительный комплекс для идентификации нелинейных биологических систем // Автометрия. - 1981. - №4. - С.37.
  2. Исследование на имитационной модели спектра флуктуации мембранного потенциала на передачу нейронами афферентных потоков / В.Я.Пятигорский, В.А.Чинаров, Н.Н.Косицкий, Р.А.Васильева // Тез. Всесоюз. конф. по физиолог. кибернетике. - Кишинев, 1981. - С.181.
  3. Структурно-динамическая модель фосфолипидного бислоя мембран и белок-мембранных взаимодействий / А.П.Демченко, З.Н.Воловик Е.Г. Костржевская, Н.Н.Косицкий и др. // Тез. докл. "Пятого Биохимического съезда". - Киев, 1986. - С.104.
  4. Демченко А.П., Косицкий Н.Н., Тесленко В.И. Дисперсия диэлектрической постоянной и селективность ионных каналов // Докл. АН УССР. - 1987. - № II. - С.67-70.
  5. Косицкий Н.Н., Тесленко В.И., Чинаров В.А. / Моделирование энергетического профиля двумерного канала // Тез. докл. Третьей Всесоюз. конф. "Математические методы в биологии". - Пушкино, 1987. - С.157.
  6. Косицкий Н.Н., Тесленко В.И. / Трехцентровая модель селективного фильтра натриевых каналов биологических мембран // Биолог. мембраны. - 1987. - № II. - С.1174-1179.
  7. Внутримолекулярная динамика и функция белков / А.П.Демченко, З.Н.Воловик, О.И.Каменчук, Н.Н.Косицкий, А.С.Ладохин // Вестн. АН УССР. - 1988. - № 2. - С.34-41.
  8. Расчет энергетической структуры потенциал-зависимых ионных каналов мелитин-мембранного комплекса / А.П.Демченко, Н.Н.Косицкий Н.А.Пивоварова, В.А.Чинаров // Тез. докл. Второй Всесоюз. конф. "Нейронауки". - Киев, 1988. - С.87.
  9. Демченко А.П., Косицкий Н.Н., Чинаров В.А. Селективный перенос ионов через биологические мембраны и его физические модели // Тез. докл. Второго Всесоюз. симпоз. "Кинетика переноса зарядов в гомогенных и гетерогенных средах" памяти чл.-корр. АН СССР проф. Р.Р.Догонадзе. - Батуми, 1989. - С.32.
  10. Косицкий Н.Н., Чинаров В.А. Моделирование ионного транспорта в биологических мембранах с учетом релаксационных свойств канала // Тез. докл. Всесоюз. симпоз. "Ионные каналы в биологических мембранах" - М., 1990. - С.37.
- II Demchenko A.P., Kositski N.N., Teslenko V.I. The influence of dynamics of ionic channel protein on its selectivity function // Biophys. Chem. - 1990. - 35. - P.25-35.

Подп. в печ. 02.12.92. Формат 60x84/16. Бум. писч. бел. Офс.печ.  
Усл.печ.л. 0.93. Усл.кр.-отт. 1,05. Уч.-изд.л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ 1827. Бесплатно.

Редакционно-издательский отдел с полиграфическим участком  
Института кибернетики имени В.М.Глушкова АН Украины  
252207 Киев 207, проспект Академика Глушкова, 40

Подп. в печ. 02.12.92. Формат 60×84/16. Бум. писч. бел. Офс. печ. Усл.  
печ. л. 0,93. Усл. кр.-отг. 1,05. Уч.-изд. л. 1,0. Зак. 1827. Тир. 100 экз.  
Бесплатно.

Редакционно-издательский отдел с полиграфическим участком  
Института кибернетики имени В. М. Глушкова АН Украины  
252207 Киев 207, проспект Академика Глушкова, 40

ЛИБ. ИМ. В. ГЛУШКОВА  
АН УССР

469846

AB 26.393

**AB 26.393**