

ЭЛЕКТРОГЕННЫЙ ОБМЕН ИОНОВ НАТРИЯ И ПРОТОНОВ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОМ КАНАЛЕ Na^+, K^+ -АТФАЗЫ

В.Ю. Ташкин

*Лаборатория биоэлектрохимии ИФХЭ РАН,
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 31, корп. 4;
e-mail: vse_tash@mail.ru*

Na^+, K^+ -АТФаза переносит три иона натрия из клетки и два иона калия – в клетку за счет гидролиза одной молекулы АТФ за один цикл. Доступ ионов к местам связывания, расположенных в глубине мембраны, осуществляется через т. н. каналы доступа – структуры, напоминающие колодцы или ионные каналы, выход из которых в раствор с одной стороны мембраны закрыт. Информацию о строении каналов доступа можно получить, изучая электрические токи, вызванные обменом ионов натрия между раствором и центрами связывания в условиях, когда белок не может совершить полный цикл, т. е. в отсутствие ионов калия и АТФ. В физиологических условиях удается зафиксировать лишь ток, вызванный обменом третьего иона натрия между раствором и центром связывания, в то время как два других вклада в электрический ток не дают. Согласно одной из гипотез, обмен двух из трех ионов натрия между раствором и центром связывания в физиологических условиях не сопровождается переносом заряда, поскольку происходит в обмен на протоны. Такой транспорт можно изучать с помощью электрических измерений в условиях низкой концентрации этих ионов или высоких значениях рН, где он становится электрогенным. Этому и посвящена данная работа.

Измерения проводились методом адмиттанса на модельной системе - БЛМ с адсорбированными на ней мембранными фрагментами с Na^+, K^+ -АТФазой. Регистрировался сигнал, вызванный быстрым увеличением концентрации протонов в среде при фотоллизе т. н. caged- H^+ . Были обнаружены значительные приращения адмиттанса и в контрольных опытах на мембране без адсорбированных МФ. Для выделения сигналов, вызванных функционированием $\text{Na}, \text{K}, \text{ATP}$ -азы, было предложено использовать конкуренцию между ионами натрия и протонами за места связывания – если концентрация одного из конкурирующих ионов высока, сигнал, вызванный перемещением другого иона, должен исчезать. С использованием этого подхода получены частотные зависимости приращения емкости и проводимости мембраны, вызванные функционированием Na^+, K^+ -АТФазы в ответ на быстрое фотоактивируемое закисление среды при разных рН и концентрациях ионов натрия. При рН 7.8-8 повышение концентрации Na^+ вызывало уменьшение приращений емкости, при рН ниже 7.5 – увеличение, причем при концентрации натрия 1-4 мМ при всех рН достигалось плато. По-видимому, при этой концентрации достигается насыщение сайтов связывания Na^+ . Контрольные эксперименты, в которых белок ингибировался ванадатом, показали независимость приращений емкости от концентрации Na^+ , откуда следует, что эффект натрия вызван исключительно Na^+, K^+ -АТФазой. Разница приращений емкости между плато и нулевой концентрацией натрия была взята как эффект протонов на приращения емкости. Зависимость эффекта протонов от рН имеет немонотонный вид – растет между рН 7.2 и 7.4 и падает при рН от 7.4 до 8, проходя через 0 при рН 7.6. Полученные результаты были объяснены на основе модели конкуренции между ионами натрия и протонами за одни и те же места связывания, что позволило определить рК по крайней мере одного сайта связывания протона (7.8).