

ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ ВОЗБУДИМЫХ ТКАНЕЙ

Кафедра нейротехнологий ИББМ НН

Проф. Мухина И.В.

Лекция №2

2024

Мембранный потенциал покоя (МПП)

- ***МПП - трансмембранная разность потенциалов между наружной и внешней мембраной.***
- Мембранный потенциал покоя можно определить как

$$E_m = E_i - E_o,$$

где E_m – мембранный потенциал,

E_i – потенциал на внутренней стороне мембраны,

E_o - потенциал на наружной стороне мембраны.

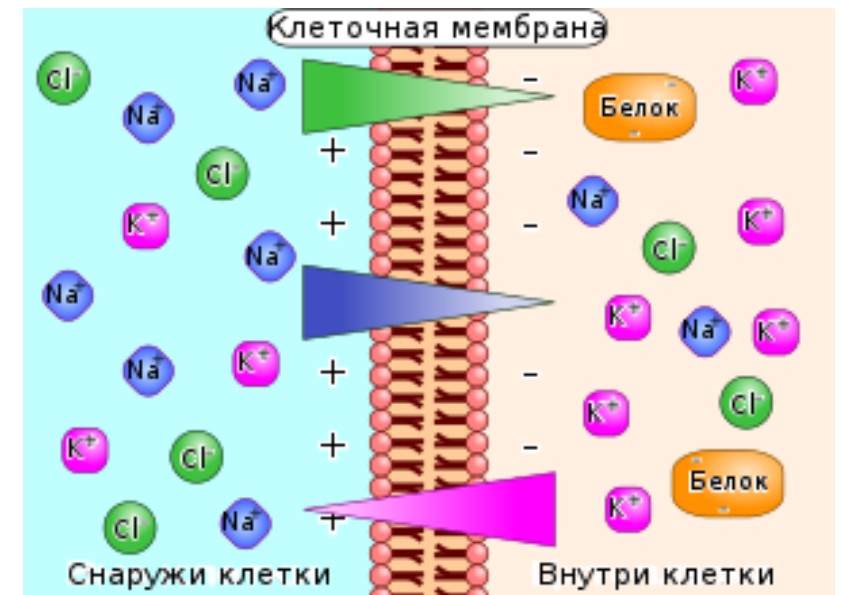
Поскольку потенциал снаружи можно принять за 0, то мембранный потенциал покоя равен E_i . Он **отрицателен**, так как внутренняя мембрана заряжена отрицательно по сравнению с наружной.

- При создании мембранного потенциала покоя важную роль играют процессы простой диффузии через белковые каналы в мембране и первично активного транспорта.
- Поддержание трансмембранного потенциала (МПП) предопределено:
 - **1. Электрохимическим градиентом для K^+ , Na^+ , Cl^- ;**
 - **2. Избирательно высокой проницаемостью мембраны для K^+ ;**
 - **3. Наличием активного транспорта (Na^+, K^+ - насоса) в мембране.**

1. Электрохимический градиент для ионов

Градиент составляют два компонента:

- - электрический (статический - в результате того, что мембрана непроницаема для анионов клетки - **глутамата, аспартата, органических фосфатов, белков**, на внутренней поверхности мембраны образуется избыток отрицательно заряженных частиц, а на наружной – избыток положительно заряженных частиц);
- - химический градиент концентрации ионов по обе стороны мембраны (концентрация внутри K^+ клетки больше, чем вне, а для ионов Na^+ наоборот).



Мембранный потенциал, при котором суммарный ионный ток через мембрану равен нулю (число выходящих ионов сравнивается с числом входящих ионов в клетку), называется **потенциалом равновесия для определенного иона** или **равновесным потенциалом** и рассчитывается согласно уравнению **Нернста**:

$$E_x = (R \cdot T / z \cdot F) \cdot \ln ([X]_o / [X]_i),$$

- где R – газовая постоянная
- T – температура по Кельвину
- z – валентность иона
- F – константа Фарадея
- $[X]_o / [X]_i$ - концентрации ионов снаружи и внутри клетки.
- **E_x – равновесный потенциал**

Концентрация ионов и **равновесный потенциал** для некоторых ионов скелетной мышцы (37°C)

Ионы	Внеклеточная концентрация (ммоль/л)	Внутриклеточная концентрация (ммоль/л)	Равновесный потенциал (мВ)
K^+	4,5	160	-95
Na^+	144	7	+80
Ca^{2+}	1,3	0,0001-0,00001	+125 до +310
H^+	$4 \cdot 10^{-5}$ (pH 7,4)	10^{-4} (pH 7,4)	-24
Cl^-	114	7	-80
HCO_3^-	28	10	-27

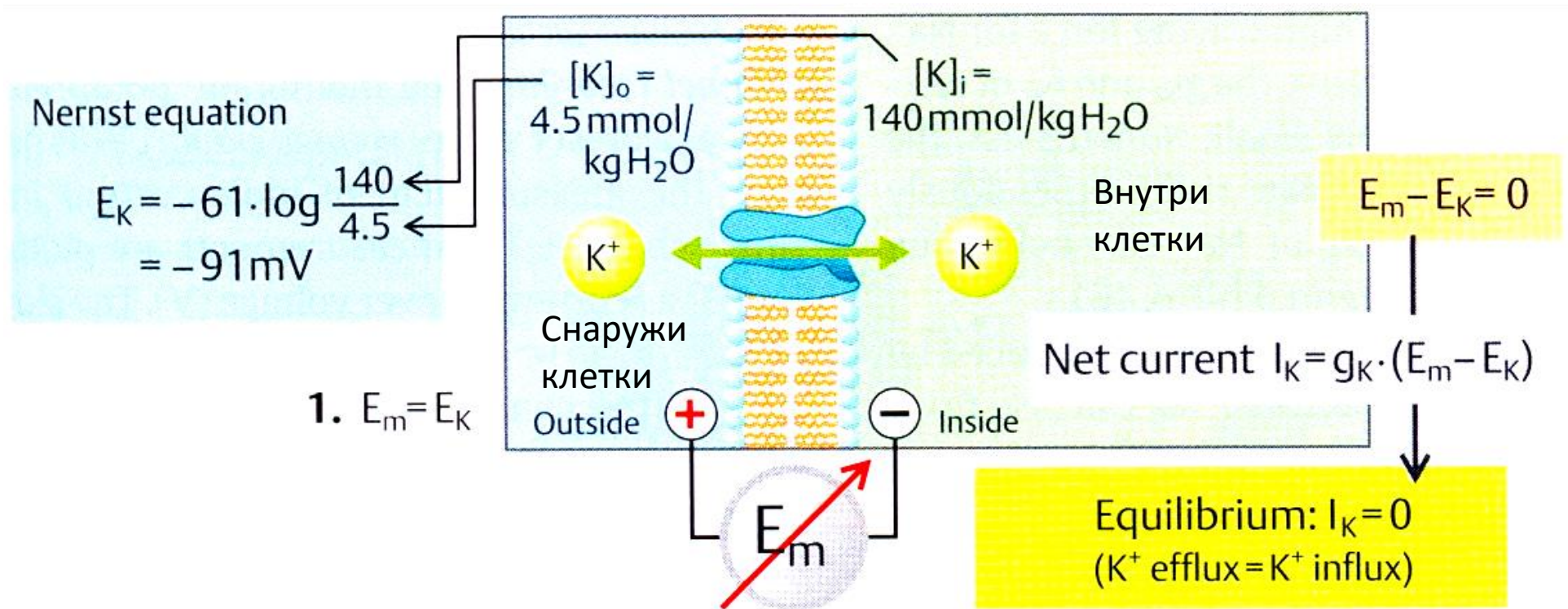
Расчетное значение мембранного потенциала покоя с учетом нескольких ионов согласно формуле Goldman-Hodgkin-Katz (1963) равно:

$$E_{\text{rest}} = 61 \log \frac{P_K[K^+]_o + P_{Na}[Na^+]_o + P_{Cl}[Cl^-]_i + \dots}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_o + \dots}$$

- где P_K, P_{Na}, P_{Cl} – коэффициент мембранной **проницаемости** для ионов;
- $[K^+]_o, [Na^+]_o, [Cl^-]_o$ – внеклеточная концентрация ионов;
- $[K^+]_i, [Na^+]_i, [Cl^-]_i$ – внутриклеточная концентрация ионов.
- 61 – постоянная при $t=37^\circ\text{C}$, 58 - при 20°C .

Электрoхимический потенциал и ионные токи.

- 1 – состояние покоя;
- 2 – гиперполяризация мембраны;
- 3 – деполяризация мембраны



(S. Silbernagl, 2002)

2. Высокая избирательная проницаемость мембраны для ионов K^+ , Na^+ , Cl^-

В изолированном гигантском аксоне кальмара проницаемость для ионов составляет:

$K^+ - Na^+ - Cl^-$

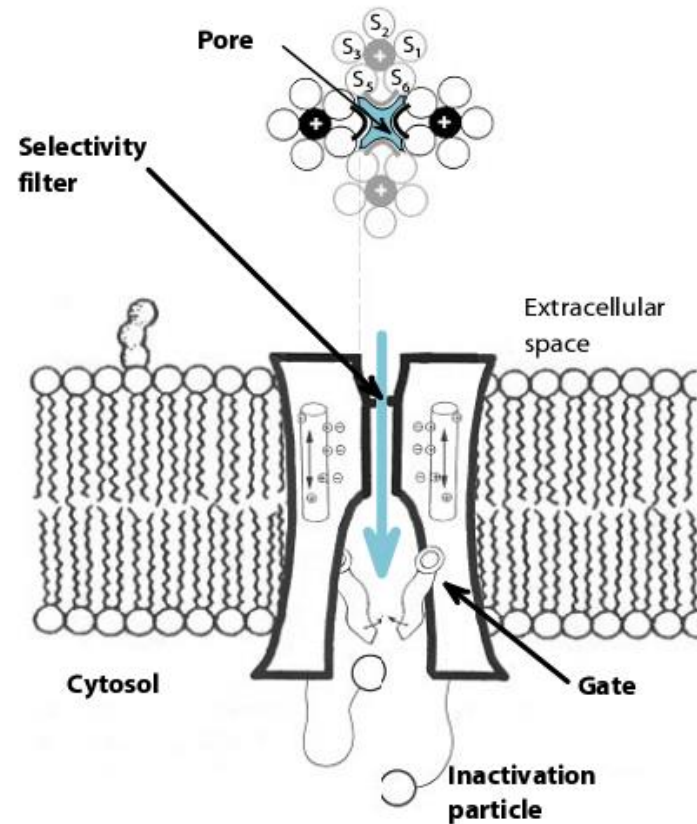
1 : 0,04 : 0,45

Селективность каналов обусловлена тем, что каждый канал имеет:

- устье,
- селективный фильтр,
- воротной механизм (gate).

Проводимость одиночного открытого канала стабильна.

Суммарная проницаемость мембраны определяется соотношением открытых и закрытых каналов



Наружный диаметр натриевого канала – 8 нм, внутренний – 0,5 нм.
Расстояние между каналами – 140 нм.

Ток через канал: 1 пА/мс, заряд = 10^{-15} кл = 6000 Na^+
Повышение $[Na^+] = 10^{-5}$, очень мало для изменения изотоничности цитоплазмы.

Ионные каналы

- Ионные каналы - это интегральные мембранные белки, образующиеся в виде сборок нескольких отдельных белков.
- Такие сборки из "нескольких субъединиц" обычно включают кольцевое расположение идентичных или гомологичных белков, плотно упакованных вокруг **заполненной водой поры в плоскости мембраны** или липидного бислоя.
- Для большинства управляемых напряжением ионных каналов порообразующие субъединицы называются **α -субъединицами**, в то время как вспомогательные субъединицы обозначаются **β , γ и так далее**.

Особенности ионных каналов, которые отличают их от других типов белков-переносчиков ионов:

1. Скорость переноса ионов по каналу очень высока (часто 10^6 ионов в секунду или больше).
2. Ионы проходят по каналам **по их электрохимическому градиенту**, который является функцией концентрации ионов и мембранного потенциала, «**пассивно**» без ввода (или помощи) метаболической энергии (например, АТФ, механизмов совместного переноса или механизмов активного переноса).

Проводимость канала

прямо пропорциональна току, проходящему через канал и обратно пропорциональна потенциалу:

$$g = I_{\text{ion}} / (E_m - E_x),$$

где I - ток через одиночный канал (пА),

E_m - мембранный потенциал (мВ);

E_x - равновесный потенциал (мВ);

g – проводимость канала, измеряется в **пикосименсах, пСм**.

НАПРИМЕР:

потенциал +20 мВ продуцировал ток около 2,2 пА, соответственно проводимость канала ($g = I/V$) составит 2,2 пА/20 мВ = 110 пСм.

Величина тока, проходящего через ионный канал, является прямым отражением того, как быстро проникающие ионы движутся через канал. Но ток ионов зависит не только от свойств канала, но также от трансмембранного потенциала.

При одном и том же потенциале на мембране канал с высокой проводимостью переносит много тока, канал с низкой проводимостью проводит малый ток.

Значение мембранного потенциала покоя (E_m) зависит от:

1. вклада открытых каналов для каждого иона – K^+ , Na^+ , Cl^- ;
2. работы насоса.

Поскольку в условиях равновесия все каналы закрыты, кроме калиевого канала, то $E_m = E_K$.

Но если открыто много каналов для разных ионов, то:

$$E_m = \frac{g_K \times E_K + g_{Na} \times E_{Na} + g_{Cl} \times E_{Cl}}{g_K \times g_{Na} \times g_{Cl}},$$

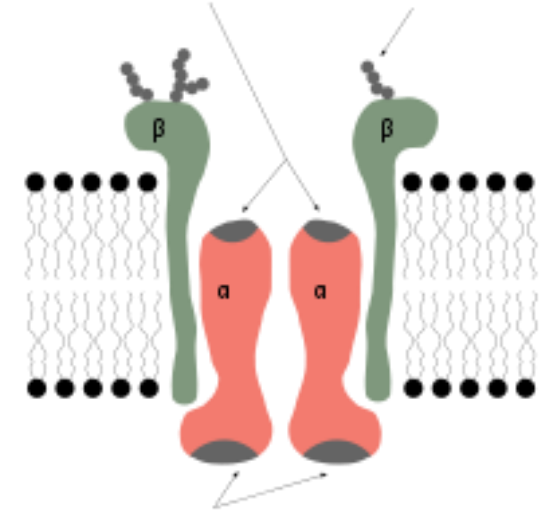
где

E_m – мембранный потенциал;

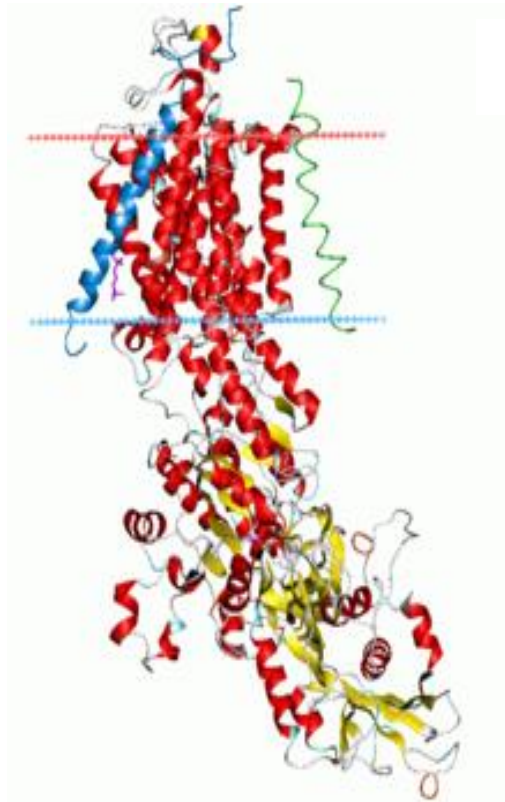
$g_{Na, K, Cl}$ – проводимость канала.

3. Наличие активного транспорта (Na^+ , K^+ - насоса) в мембране

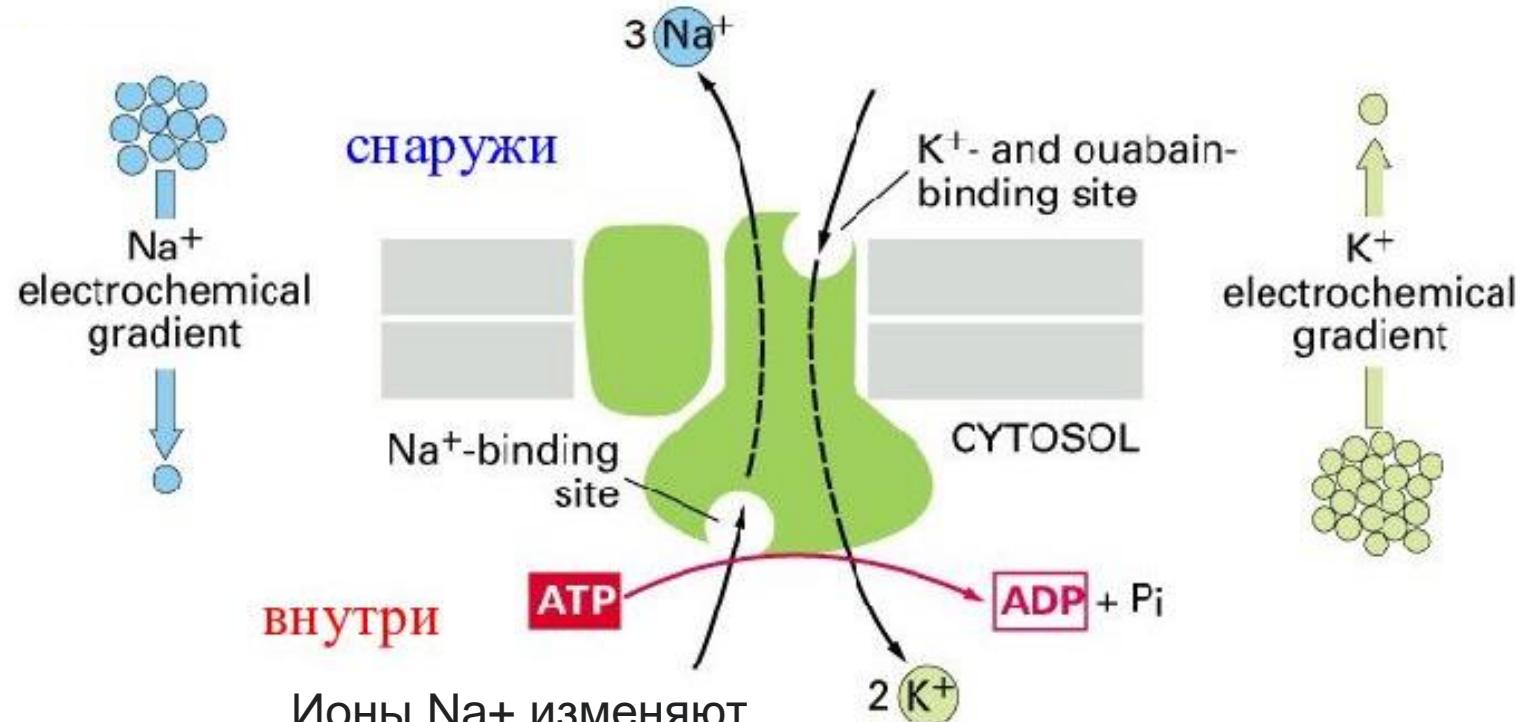
Na/K -насос был открыт в 1957 году профессором [Йенсом Кристианом Скоу](#) в университете Аархуса, который в 1997 получил за своё открытие Нобелевскую премию.



Внеклеточное пространство

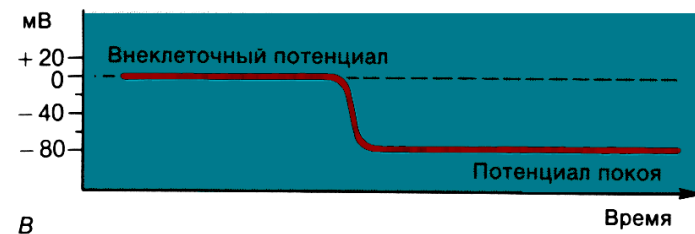
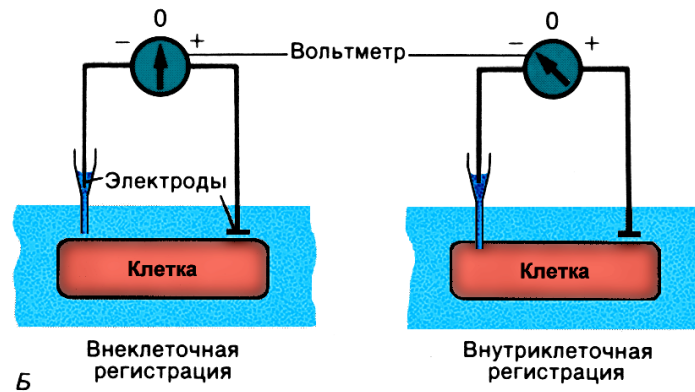
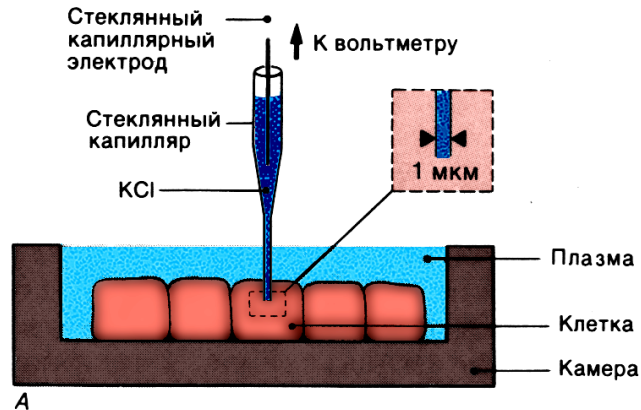


Внутриклеточное пространство



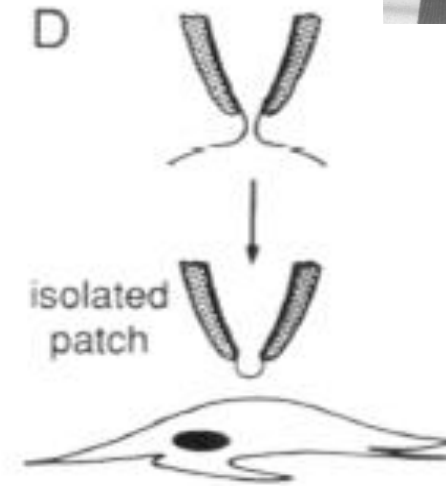
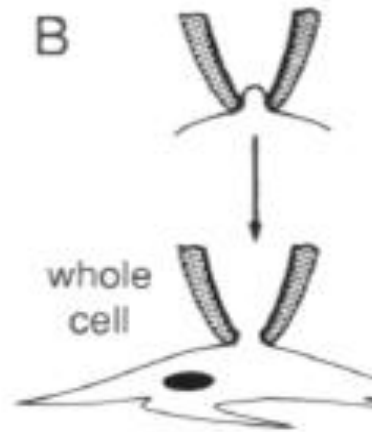
Ионы Na^+ изменяют конформацию активного центра АТФ-азы

Методы регистрации МПП

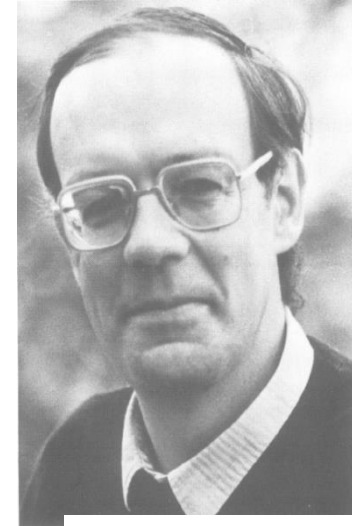


- Обнаружить МПП можно с помощью второго опыта Гальвани (ток покоя).
- Для измерения потенциала покоя используют микроэлектродную технику ("patch-clamp").

PATCH-CLAMP

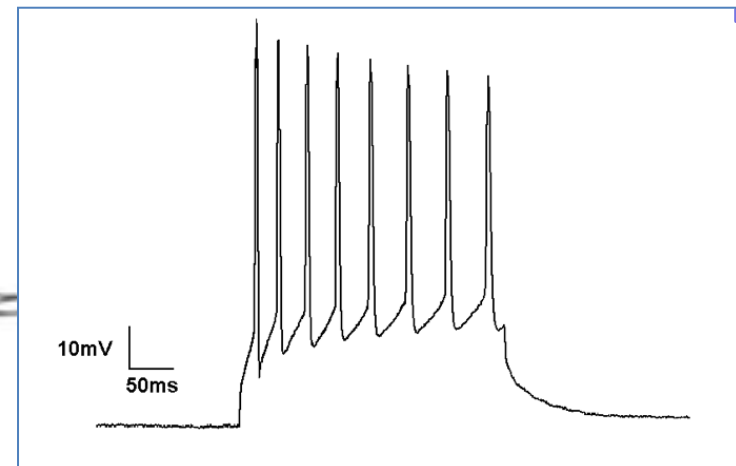


E. Neher



B. Sakmann

Nobel Price -1991



- Для пэтч-кламп регистрации необходимо, чтобы кончик стеклянной пипетки с внутренним диаметром около 1 мкм плотно контактировал с мембраной исследуемой клетки. При удачном подведении, благодаря легкому присасыванию, между клеточной мембраной и стеклом пипетки создается сопротивление больше 10^9 Ом (отсюда возник термин "гигаомный контакт", gigaohm seal).
- Когда пипетка соединена с соответствующим усилителем, можно зарегистрировать небольшие токи, проходящие через участок мембраны, находящейся внутри кончика пипетки. Такая конфигурация пэтч-кламп метода называется cell attached (контакт с клеткой)

В результате мы имеем возможность точного измерения **амплитуд** токов одиночных ионных каналов и можем провести **анализ кинетики** каналов.

