

Сопряженный транспорт

Число систем, обеспечивающих процесс транспорта веществ и ионов через клеточные мембраны, несоизмеримо больше, чем число "молекулярных насосов", отвечающих за первичный ионный транспорт. Например, во внутренней мембране митохондрий дыхательная цепь и H^+ - АТФ - фаза обеспечивают при своей работе перенос одного-единственного иона-протона, что приводит к появлению разности электрохимических потенциалов этого иона по сторонам мембраны. В дальнейшем перенос катионов в матрикс: кальция, стронция, в некоторых условиях - калия, синтетических проникающих катионов, - осуществляется, в сущности, пассивно: за счет электрофореза, т.е. движения под действием электрического поля в мембране. Перенос проникающих кислот: уксусной, угольной, фосфата жирных кислот - осуществляется по градиенту концентрации этих соединений в недиссоциированной форме, т.е. тоже пассивно, за счет диффузии. В целом процесс переноса, скажем, кальция или фосфата в митохондрии является активным процессом, т.к. идет против диктуемого законами термодинамики уменьшения концентрации веществ в результате переноса. Но этот процесс на самом деле состоит из активной стадии, обеспечиваемой первичным ионным транспортом (в данном случае протона), и пассивной стадии, облегчаемой чаще всего наличием переносчика в мембране. Такой транспорт ионов и веществ, как уже говорилось, называется сопряженным (или вторичным активным) транспортом.

Рассмотрим несколько примеров вторичного активного транспорта.

Сопряженный транспорт ионов

На рис. схематически изображено несколько видов сопряженного транспорта.

Сопряжение транспорта ионов через мембранный потенциал.

При работе дыхательной цепи митохондрий происходит выброс протона из матрикса в окружающую среду (см. раздел), сопровождающийся появлением на мембране перепада электрохимического потенциала протона . Такие "энергизованные" митохондрии обладают способностью накапливать ионы кальция и ортофосфата, что связано с наличием электрического потенциала () и градиента рН ($pH = - \quad H^+$) на мембране, а также с тем, что мембраны митохондрий проницаемы для иона кальция и ортофосфата. Ионы кальция идут при этом внутрь митохондрий под влиянием градиента электрического потенциала (внутри энергизованных митохондрий знак потенциала "минус"). Получается, что процесс переноса кальция сопряжен с активным транспортом протонов через мембранный потенциал. Повреждение митохондриальных мембран приводит к снижению потенциала на мембране, прекращению аккумуляции ионов кальция митохондриями и даже выходу этих ионов из матрикса в протоплазму.

Сопряжение через рН

Сопряжение через рН имеет место при транспорте фосфата внутрь энергизованных митохондрий. Белковый переносчик фосфата на внутренней мембране митохондрий осуществляет процесс обмена, так что в целом перенос фосфата не сопровождается переносом заряда и с точки зрения стехиометрии эквивалентен диффузии через мембрану недиссоциированной фосфорной кислоты. Направление диффузии этой кислоты определяется градиентом концентрации водородных ионов, так как фосфорная кислота диссоциирует при нейтральных рН и ее перенос через мембрану означает перенос протонов. Процесс этот происходит из области большей в область меньшей концентрации H^+ . Получается, таким образом, что в конечном счете причина

транспорта фосфата внутрь митохондрий - это движение протонов наружу при энергизации митохондрий. При этом сопряжение транспорта фосфата и протонов опосредовано появлением градиента рН на мембране.

Сопряжение на переносчике

Сопряжение на переносчике характерно для процесса транспорта сахаров и аминокислот внутрь клетки из окружающей среды. Перенос сахаров и аминокислот в тонком кишечнике сопряжен с транспортом a^+ 1, и это сопряжение осуществляется непосредственно на переносчике (рис.). В пользу этого говорят два факта. С одной стороны, такой перенос происходит с значительной скоростью лишь в присутствии ионов натрия. При этом транспорт сахаров и аминокислот из просвета кишки может осуществляться даже против их концентрационного градиента при наличии достаточного градиента электрохимического потенциала ионов натрия. При изучении кинетики переноса сахаров и аминокислот выяснилось, что обычно ионы натрия уменьшают K_i , как это показано на рис. для 6-дезоксиглюкозы. В случае -глюкозы в кишечнике хомяка введение аС1 в просвет тонкой кишки вызывало снижение K_i с 0,5 моль/л (в отсутствие a^+ 2) до 0,003 моль/л (при a^+ 3 = 0,145 моль/л). Это подтверждает необходимость a^+ 4 в просвете кишечника для связывания глюкозы с переносчиком в мембране эпителиоцитов.

Таким образом, можно считать, что во всех случаях сопряженный транспорт осуществляется благодаря наличию в мембране переносчиков (как правило, каналов белковой природы), которые обеспечивают движение нейтральных молекул или ионов в направлении уменьшения электрохимического потенциала. Сопряжение же ионных потоков (или потоков ионов и нейтральных молекул) обеспечивается либо:

1. Свойствами переносчика, который может осуществлять перенос одного компонента только в обмен на второй компонент ("сопряжение на переносчике").

2. Требованием сохранения электронейтральности суммарного процесса; если электронейтральность не соблюдается, то происходит быстрое изменение мембранного потенциала, которое приостанавливает ионный поток (мы это назвали "сопряжением на потенциале").

3. Требованием сохранения кислото-основной нейтральности: если имеет место суммарный перенос не соли, а кислоты или основания, то создается градиент рН, останавливающий поток (см. раздел 4.18). Мы это назвали "сопряжением на ΔpH 5".

В везикулярных системах, к которым относятся клетки и органеллы, перенос ионов и веществ, регистрируемый в эксперименте и имеющий значение для жизнедеятельности клетки, всегда сопряженный и протекает с учетом требований 2 и 3. В то же время свойства переносчика не всегда соответствуют пункту 1, хотя внешне может дело выглядеть таким образом, будто процесс сопряжения происходит именно на переносчике. Например, хорошо известно, что через мембраны эритроцитов может происходить обмен анионами: Cl⁻ на OH⁻ или Cl⁻ на HCO₃⁻ (см. рис). Механизм всего процесса легче всего представить себе как обмен на переносчике: слева направо переносчик переносит хлор, справа налево - гидроксил и бикарбонат. В действительности, перенос происходит, по-видимому, через одни и те же каналы, причем по каждому каналу в любом направлении, но с разной скоростью, могут переноситься все названные ионы. Сопряжение же обеспечивается принципом электронейтральности (см. пункт 2 и раздел 4.18).

Кинетика сопряженного транспорта

Величина ионного потока в среде, в том числе ионного потока через мембрану, согласно уравнению Теорелла (см. уравнение), пропорциональна концентрации иона,

подвижности иона и взятому с обратным знаком градиенту концентрации иона в направлении переноса. Последняя величина является движущей силой потока и может быть обозначена как X , а произведение двух первых назовем феноменологическим коэффициентом и обозначим через a . Тогда

$$J = LX$$

6

Итак, величина потока равна произведению феноменологического коэффициента на движущую силу потока (или, как обычно ее называют, термодинамическую силу).

В случае, если имеет место сопряжение, то на величину потока иона А оказывает влияние поток иона В, а следовательно, величины a и X для В. Онзагер сделал предложение, что взаимное влияние потоков А и В может быть описано уравнением:

$$J_A = L_{11} X_A + L_{12} X_B; J_B = L_{21} X_A + L_{22} X_B$$

7

Физический смысл уравнения заключается в том, что величина влияния потока В на поток А пропорциональна движущей силе потока В и наоборот. Очевидно, что при нулевой термодинамической силе наличие иона В не скажется на потоке А, который будет происходить как бы в отсутствие В. Всякая функция вблизи нулевого значения связана с аргументом приблизительно линейно, поэтому уравнение Онзагера очевидно, но лишь для небольших значений X_A и X_B . Для трех ионов уравнение имеет вид:

$$J_A = L_{11} X_A + L_{12} X_B + L_{13} X_C; J_B = L_{21} X_A + L_{22} X_B + L_{23} X_C; J_C = L_{31} X_A + L_{32} X_B + L_{33} X_C$$

Рассмотрим простейшую систему сопряженных потоков двух одновалентных ионов А и В. Принцип электронейтральности требует, чтобы в стационарном состоянии суммарный поток однозаряженных ионов был равен нулю:

8

$$j_A + j_B = 0$$

(для катиона и аниона уравнение имеет вид $j_A = j_B$ 9). Из уравнений и следует, что:

10

$$(L_{11} + L_{21}) X_A + (L_{12} + L_{22}) X_B = 0$$

Для произвольных значений X_A и X_B в уравнениях соблюдение этого условия возможно лишь если:

11

$$L_{11} + L_{21} = L_{12} + L_{22} = 0; L_{11} = -L_{21}; L_{22} = -L_{12}$$

Дальнейшее выяснение связи потоков с движущими силами требует уточнения соотношения между коэффициентами L_{12} и L_{21} , которые отражают взаимное влияние ионных потоков. Интуитивно кажется наиболее вероятным, что поток А так же влияет на поток В как поток В на поток А. Математически это выражается в том, что $L_{12} = L_{21}$, или, в общем случае $L_{ij} = L_{ji}$ 12, т.е. в симметрии матрицы типа () относительно диагонали. В термодинамике необратимых процессов доказывается, что последнее соотношение, называемое соотношением Онзагера, вытекает из обратимости процессов переноса вблизи равновесия (таким образом термины: микроскопическая обратимость,

принцип взаимности и соотношение Онзагера, - могут считаться синонимами). Так или иначе, соотношение Онзагера существенно упрощает вычисление потоков ионов в случае сопряженного транспорта. Действительно, для нашей системы из двух ионов получаем (см.):

$$13 \quad L_{12} = L_{21} = L; L_{11} = L_{22} = -L$$

Таким образом, потоки ионов А и В равны:

$$14 \quad j_A = L(X_A - X_B); j_B = L(X_B - X_A)$$

Физический смысл последнего уравнения предельно ясен: величина сопряженного потока ионов пропорциональна разности движущих сил потоков каждого из ионов.

Практическое применение данного закона к расчету потоков ионов через мембрану возможно в той мере, в которой нам известны величины L, X_A, X_B . Когда ионы пересекают мембрану, высвобождается некоторое количество энергии, которое, в расчете на моль, равно разности электрохимических потенциалов данного иона по сторонам мембраны $\Delta\mu$ 15. С точки зрения термодинамики стационарных состояний, именно диссоциация энергии в тепло и является движущей силой необратимых процессов, включая ионный транспорт. Чем больше разность электрохимических потенциалов, или иными словами, чем выше перепад свободной энергии, тем больше движущая сила (термодинамическая) процесса. Итак, $X_A = \Delta\mu_A; X_B = \Delta\mu_B$ 16. Этот постулат позволяет нам записать уравнение в виде:

$$17 \quad j = L(\Delta\mu_A - \Delta\mu_B)$$

Особенность электронейтрального сопряжения транспорта заключается в том, что величина потока не зависит от мембранного потенциала, т.к. суммарный электрический ток через мембрану равен нулю. Таким образом, поток каждого из ионов определяется только законом диффузии, поэтому:

$$18 \quad \Delta\mu_A = RT \ln(A_2 / A_1); \Delta\mu_B = RT \ln(B_2 / B_1)$$

где А и В - концентрации ионов А и В по сторонам мембраны 1 и 2. Сопряженный поток равен:

$$19 \quad j_A = -j_B = LRT \ln \frac{A_2 B_1}{A_1 B_2}$$

В состоянии равновесия потоки ионов одного знака и заряда равны нулю и, следовательно:

$$20 \quad A_2 B_1 = A_1 B_2$$

Если повторить все рассуждения для сопряженного потока катиона и аниона, то получится уравнение:

$$21 \quad A_1 B_1 = A_2 B_2$$

которое представляет собой уравнение Доннана (см.). Такое совпадение в какой-то мере подтверждает справедливость сделанных выше допущений. Кроме того, в опытах по изучению сопряженных потоков Cl^- , OH^- или Cl^- , HCO_3^- в эритроцитах скорости выхода ионов H^+ при изменении внеклеточных концентраций хлора согласуется с уравнением , которое справедливо также и во многих других случаях.