

Лекция 21

КОЛЕБАНИЯ И ПЕРИОДИЧЕСКИЕ ПРОСТРАНСТВЕННЫЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕЛИЧИНЫ pH И ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ВДОЛЬ КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЫ ГИГАНТСКИХ ВОДОРОСЛЕЙ *CHARA CORALLINA*

Нелинейная динамика концентрации протонов и потенциала. Кинетическая модель работы протонной АТФазы. Уравнение, описывающее динамику концентрации протонов во внешней среде. Вывод уравнения для динамики потенциала. Колебания в локальной системе. Структуры pH и потенциала в распределенной системе. Схема взаимодействия процессов фотосинтеза и ионных потоков, приводящая к нелинейной динамике

Существует немного объектов, на которых можно экспериментально наблюдать и воспроизводить нелинейные явления на уровне отдельной клетки. К таким объектам относятся гигантские клетки (несколько см длиной) водоросли *Nitella* и *Chara Corallina*, вдоль клеточной мембраны которых при освещении светом образуются периодические зоны с разным значением pH. Возможность наблюдать переходные процессы возникновения структур и управлять процессом, меняя режимы освещения объекта и оказывая электрические воздействия на клеточную мембрану, хорошая изученность процессов на субклеточном уровне, делает клетки *Nitella* и *Chara Corallina* уникальным модельным объектом для изучения нелинейных явлений в биологических системах, как экспериментальными методами, так и методами математического моделирования. Содержание настоящей лекции основано на результатах, полученных в работах Т.Ю. Плюсониной, А.И. Лавровой и др. на кафедре биофизики Биологического факультета МГУ (Плуснина и др., 2005; Лаврова и др., 2005; Plusnina et al., 2008).

Клетки водорослей *Chara corallina* и *Nitellopsys abtusa* обладают большими размерами (диаметром 0.6-1.0 мм и длиной 40-80 мм), и имеют более простое строение по сравнению с клетками высших растений или животных. На свету в течение 10-40 минут вдоль мембраны клетки возникают устойчивые зоны с различными величинами pH и электрического потенциала, между которыми циркулируют токи порядка 1 мкА. (Fisahn et al., 1989; Bulyshev et al., 2001). При освещении значение pH в «щелочной» зоне увеличивается до 9.5-10 от исходного уровня pH = 7-8 в темноте, тогда как в «кислой» зоне значение pH уменьшается до 6-6.5. Таким образом, разница в значениях pH образованных структур может достигать 2.5-3 единиц.

Локальные изменения величин трансмембранного потенциала и pH вблизи мембраны могут носить колебательный характер, при освещении клетки *Nitella* могут возникать как спонтанные незатухающие колебания трансмембранного потенциала, так и затухающие колебания. Колебания могут быть связаны с зонами разного pH, но могут возникать и независимо от зонообразования. (Fisahn et al., 1986; Fisahn et al., 1989)

Первоначально наблюдаемые явления связывали со структурной неоднородностью мембран. В последнее время все большее число исследователей склоняется к тому, что такие явления обусловлены спецификой работы транспортных систем клетки: АТФаз, каналов, антипортеров и т.д. и неоднородным распределением потоков. С этой точки зрения зоны различной кислотности вдоль клеточной мембраны являются примером диссипативных структур (лекция 16) в живых системах.

Возникновение зон может быть описано с помощью моделей реакция-диффузия тьюринговского типа, при этом реагентами являются ионы водорода и бикарбонат-ионы

HCO_3^- (Toko et al., 1985; Toko et al. 1988; Lionetti et al., 1994). Их взаимодействие и различия в коэффициентах диффузии могут обеспечить образование чередующихся зон с разными величинами pH.

В работах Т.Ю. Плюсониной и А.И. Лавровой разработана модель, описывающая связь процессов трансмембранного и латерального (вдоль мембраны) переноса протонов и распределения потенциала вдоль мембраны. Для описания трансмембранного переноса протонов используются данные о каталитическом цикле работы АТФазы и ион-проводящих каналов. Распределение потенциала вдоль мембраны описывается исходя из кабельных свойств клеточной мембраны. При построении модели предполагали, что основным процессом, определяющим нелинейный характер изменений мембранного потенциала, является перенос ионов, в частности протонов, через мембрану. В модели подробно описана кинетика протонного переноса, а потоки других ионов учтены в виде общего дополнительного члена.

Кинетическая модель работы протонной АТФазы (помпы)

Протонная помпа «откачивает» ионы H^+ из цитоплазмы во внеклеточную среду. Схема предполагаемого строения H^+ -АТФазы изображена на рис. 21.1.

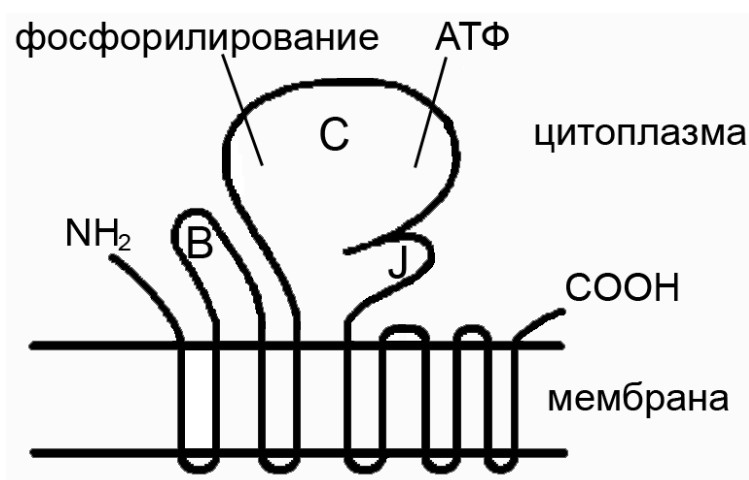


Рис.21.1. Предполагаемое строение растительной H^+ -АТФазы (Morsomme et al., 2000). С-домен – большая цитоплазматическая петля, участвующая в процессах присоединения АТФ и фосфорилирования. В-домен – малая цитоплазматическая петля, J-домен участвует в транслокации протонов из цитоплазмы во внешнюю среду

По пассивным каналам ионы H^+ возвращаются в клетку. Существуют предположения, что АТФаза и протонные каналы структурно связаны между собой в единую транспортную систему. Чтобы определить конкретный вид потока протонов через H^+ -АТФазу рассмотрим кинетическую схему работы фермента (рис. 21.2).

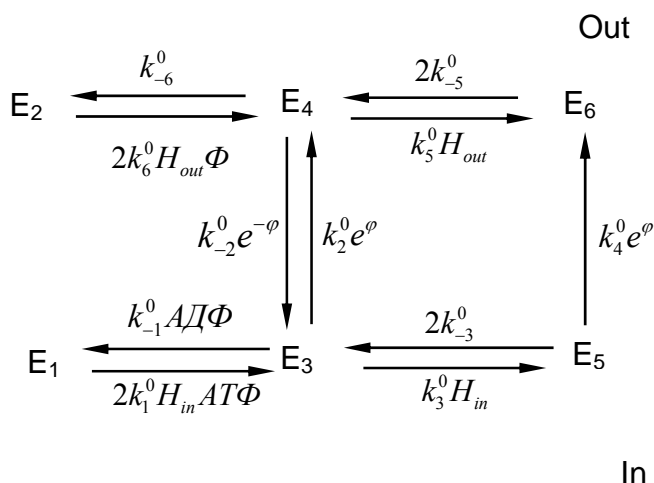


Рис.21.2. Кинетическая схема работы протонной АТФ-азы. Out – внешняя сторона мембраны, In – внутренняя сторона мембраны, H_{in} – концентрация протонов в цитоплазме, H_{out} – концентрация протонов снаружи клетки. $E_1, E_2, E_3, E_4, E_5, E_6$ – конформационные состояния фермента. $k_2^0 e^{\varphi}$, $k_{-2}^0 e^{-\varphi}$, $k_4^0 e^{\varphi}$ – потенциалзависимые константы переноса протона с внутренней одной мембраны на другую, $k_1^0, k_{-1}^0, k_3^0, k_{-3}^0$ – константы присоединения и отсоединения протонов из цитоплазмы, $k_5^0, k_{-5}^0, k_6^0, k_{-6}^0$ – константы присоединения и отсоединения протонов снаружи клетки

Предполагается, что фермент имеет два сайта связывания субстрата (протонов). Связывание протона одним сайтом не зависит от связывания другого протона другим сайтом. Константы k_1 (моль · с¹ · м³) и k_{-1} (с¹) характеризуют присоединение и отщепление протона, множитель 2 (в выражениях $2k_{-1}, 2k_1 H_i$) характеризует равновероятную возможность связывания субстрата любым из сайтов, либо отсоединения от любого из сайтов. Константы k_2 (с¹), k_3 (с¹) характеризуют перенос протона через мембрану во внешнюю среду, k_{-2} (с¹) – перенос протонов в клетку. Предполагается, что вероятность переноса протонов через мембрану зависит от трансмембранного потенциала φ . Вероятности переноса соответствуют кинетическим константам электрогенного перехода k_{-2} , k_2 и k_3 . В модели зависимость константы переноса протона с одной стороны мембраны на другую от потенциала φ учтена в следующем виде:

$$k_{-2} = k_{-2}^0 \exp\left(-\frac{F\varphi}{2RT}\right), k_2 = k_2^0 \exp\left(\frac{F\varphi}{2RT}\right) \text{ и } k_3 = k_3^0 \exp\left(\frac{F\varphi}{2RT}\right).$$

Предполагается, что вероятность переноса с внешней стороны мембраны на внутреннюю двух протонов мала, поэтому переход из E_5 в E_6 , соответствующий переносу второго протона, в данной схеме не рассматривается.

На основании кинетической схемы (рис. 21.2) можно записать систему кинетических уравнений:

$$\frac{d[H_o]}{dt} = k_{-1}[E_3] - 2k_1[H_o][E_1] - k_1[H_o][E_3] + 2k_{-1}[E_5] \quad (21.1)$$

$$\frac{d[E_1]}{dt} = k_{-1}[E_3] - 2k_1[H_o][E_1]$$

$$\frac{d[E_2]}{dt} = k_{-1}[E_4] - 2k_1[H_i][E_2]$$

$$\frac{d[E_3]}{dt} = 2k_1[H_o][E_1] - k_{-1}[E_3] + 2k_{-1}[E_5] - k_1[H_o][E_3] - k_{-2}[E_3] + k_2[E_4]$$

$$\frac{d[E_4]}{dt} = 2k_1[H_i][E_2] - k_{-1}[E_4] + 2k_{-1}[E_6] - k_1[H_i][E_4] + k_{-2}[E_3] - k_2[E_4]$$

$$\frac{d[E_5]}{dt} = k_3[E_6] + k_1[H_o][E_3] - 2k_{-1}[E_5]$$

$$[E_1] + [E_2] + [E_3] + [E_4] + [E_5] + [E_6] = E_0,$$

где $[H_o]$ – концентрация протонов в среде (моль·м⁻³), $[H_i]$ – концентрация протонов в цитоплазме (моль·м⁻³). В данной модели $[H_i]$ является параметром, $[E_1]$ – $[E_6]$ концентрации фермента в различных конформационных состояниях (моль·м⁻³). $[E_1]$ – концентрация фермента в активном состоянии, $[E_2]$ – в неактивном состоянии, $[E_3]$, $[E_4]$ – концентрации фермента, в состоянии, когда один из сайтов занят субстратом, $[E_5]$, $[E_6]$ – концентрации фермента, в состоянии, когда два сайта заняты субстратами. E_0 – полная концентрация фермента

Первое уравнение системы (21.1) описывает изменение концентрации протонов $[H_o]$ снаружи клетки за счет работы АТФазы. Последнее уравнение следует из допущения о постоянстве суммарной концентрации фермента во всех состояниях Н⁺-АТФазы. Остальные пять уравнений описывают изменение концентраций различных форм фермента.

Уравнение, описывающее динамику концентрации протонов во внешней среде

Предполагается, что изменение концентрации каждой из форм АТФазы происходит намного быстрее, чем изменение концентрации протонов во внешней среде. Поэтому состояние фермента в любой из форм можно рассматривать как квазистационарное и свести уравнения, описывающие изменения концентраций всех форм фермента к алгебраическим. Далее предполагается, что процессы переноса протонов с одной стороны мембраны на другую ($E_4 \leftrightarrow E_3$; $E_6 \rightarrow E_5$; рис. 21.2) происходят гораздо медленнее по сравнению с процессами присоединения и отщепления протонов ($E_1 \leftrightarrow E_3$; $E_3 \leftrightarrow E_5$; $E_2 \leftrightarrow E_4$; $E_4 \leftrightarrow E_6$; рис. 21.2). Эта иерархия времен процессов (см. лекция 6) позволяет

упростить первое уравнение системы (21.1), описывающее изменение концентрации протонов во внешней среде. Окончательно, уравнение для концентрации протонов во внешней среде примет вид:

$$\frac{dH_0}{dt} = E_0 k_{-2} \frac{\frac{H_0}{K_1} e^{\psi} (1-n)}{2q \frac{H_0}{K_1} + e^{2\psi} (1 + \frac{H_0}{K_1})^2 (n+1)}, \quad (21.2)$$

где $\psi = \frac{\varphi F}{2RT}$, $n = \frac{1}{K_3 h_i + 1}$, $q = \frac{(1+h_i)^2 K_2 n}{h_i}$, $h_i = \frac{[H_i]}{K_1}$, $K_1 = \frac{k_{-1}}{k_1}$, $K_2 = \frac{k_{-2}}{k_2}$, $K_3 = \frac{k_3}{2k_2}$.

Общее изменение концентрации протонов снаружи мембраны клетки зависит не только от потока через АТФазу, но и от обмена протонов между средой и клеткой. Кроме того, происходит диффузия протонов вдоль мембраны клетки. Поскольку длина клетки водоросли *Chara corallina* (4-6 см) во много раз превышает ее диаметр (~1 мм), будем рассматривать диффузию протонов вдоль одной пространственной координаты r .

Общее уравнение для суммарного изменения концентрации протонов снаружи клетки в безразмерных переменных выглядит следующим образом:

$$\frac{\partial h_0}{\partial \tau} = \frac{h_0 e^{\psi} (1-n)}{2q h_0 + e^{2\psi} (1+h_0)^2 (n+1)} - \gamma h_0 + D_1 \frac{\partial^2 h_0}{\partial r^2} \quad (21.3)$$

Где $h_0 = \frac{[H_0]}{K_1}$, $\tau = \frac{t}{t_0}$, $t_0 = \frac{K_1}{k_{-2}[E_0]}$, $r = \frac{x}{L}$, L – длина клетки (м).

Первый член описывает поток протонов через АТФазу, второй член γh_0 – обмен протонов между средой и клеткой за счет убыли протонов от поверхности клетки во внешнюю среду и пассивного потока через протонные каналы, не связанные с АТФазой, внутрь клетки. $D_1 = \frac{Dt_0}{L^2}$, где D – коэффициент диффузии протонов ($\text{м}^2 \cdot \text{с}^{-1}$) вдоль поверхности клетки.

Вывод уравнения динамики потенциала

Уравнение распределения трансмембранного потенциала запишем исходя из кабельных свойств мембраны клетки с учетом ионных токов через мембрану, как это делалось при написании уравнения для распространения нервного импульса (лекция 14):

$$\frac{p}{2R_i} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} = -(I_{ATP} + I_l) + C \frac{\partial \varphi}{\partial t}, \quad (21.4)$$

где полный ток через мембрану ($\frac{p}{2R_i} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2}$) равен сумме емкостного ($C \frac{\partial \varphi}{\partial t}$) и ионного (I) токов. В нашем случае, ионный ток (I) состоит из тока протонов через АТФазу (I_{ATP}) и тока утечки (I_l), включающего в себя потоки остальных ионов.

Здесь φ – трансмембранный потенциал, R_i – сопротивление цитоплазмы (Ом·м); C – емкость мембраны (мкФ·м²), $I_{ATP} = E_0 k_{-2} \frac{\frac{H_0}{K_1} e^{\psi} (1-n)}{2q \frac{H_0}{K_1} + e^{2\psi} (1 + \frac{H_0}{K_1})^2 (n+1)} Fp$ – ток через Н⁺-АТФазу (А·м²); I_l – ток утечки, включающий потоки других ионов (А·м²), F – число Фарадея (Кл·моль⁻¹), p – диаметр клетки (м). Ток утечки записывается как $I_l = \bar{g}(\varphi - \varphi_0)$,

где \bar{g} – проводимость пассивных каналов, (Ом⁻¹·м²); φ_0 – потенциал покоя на плазматической мембране.

Таким образом, уравнение изменения трансмембранного потенциала ψ вдоль клетки водоросли в безразмерных переменных имеет вид:

$$\frac{\partial \psi}{\partial \tau} = \frac{-h_0 e^{\psi} (1-n)}{2qh_0 + e^{2\psi} (1+h_0)^2 (n+1)} z - g(\psi - \psi_0) + D_2 \frac{\partial^2 \psi}{\partial r^2} \quad (21.5)$$

где $\psi = \frac{\varphi F}{2RT}$, $\bar{g} = \frac{gt_0}{C}$, $z = \frac{pF^2 K_1}{CRT}$, $\psi_0 = \frac{\varphi_0 F}{2RT}$, $D_2 = \frac{pt_0}{2L^2 R_i C}$.

Система уравнений изменения трансмембранного потенциала и концентрации протонов снаружи клетки окончательно принимает вид:

$$\frac{\partial h_0}{\partial \tau} = \frac{h_0 e^{\psi} (1-n)}{2qh_0 + e^{2\psi} (1+h_0)^2 (n+1)} - \gamma h_0 + D_1 \frac{\partial^2 h_0}{\partial r^2} \quad (21.6)$$

$$\frac{\partial \psi}{\partial \tau} = \frac{-h_0 e^{\psi} (1-n)}{2qh_0 + e^{2\psi} (1+h_0)^2 (n+1)} z - g(\psi - \psi_0) + D_2 \frac{\partial^2 \psi}{\partial r^2}.$$

В качестве условия на границах принимается отсутствие потока Н⁺ и градиента потенциала на торцах клетки:

$$\frac{\partial h_0}{\partial r}(0, \tau) = \frac{\partial h_0}{\partial r}(1, \tau) = 0, \quad \frac{\partial \psi}{\partial r}(0, \tau) = \frac{\partial \psi}{\partial r}(1, \tau) = 0.$$

В работах (Плюснина и др., 2005; Лаврова и др., 2005; Plusnina et al., 2008) проведено детальное исследование динамических свойств локальной системы (21.6) без диффузии и при наличии диффузионных членов. Идентификация модели по экспериментальным

данным позволила сопоставить модельные режимы с нелинейными явлениями, наблюдаемыми в эксперименте. Рассмотрим наиболее интересные результаты.

Колебания в локальной системе.

В экспериментах (Fisahn et al., 1986; Fisahn et al., 1989) наблюдали локальные затухающие и незатухающие колебания мембранного потенциала и pH вблизи поверхности клетки *Nitella* при одинаковых условиях эксперимента (интенсивность освещения $20 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$). Затухающие колебания мембранного потенциала с периодом 2 минуты наблюдались при изменении темновых условий на световые. Незатухающие колебания с периодом около 15 минут возникали спонтанно на свету. На рис. 23.3 приведен фазовый портрет точечной системы, где при разных начальных условиях могут реализоваться два устойчивых режима – устойчивый фокус и устойчивый предельный цикл, бассейны притяжения которых разделены неустойчивым предельным циклом. В зависимости от начальных значений h_0 и ψ при одном и том же наборе параметров могут существовать затухающие и незатухающие колебания потенциала и концентрации протонов. Напомним, что модельную системы такого типа мы рассматривали в лекции 8 при изучении субкритической бифуркации Хопфа.

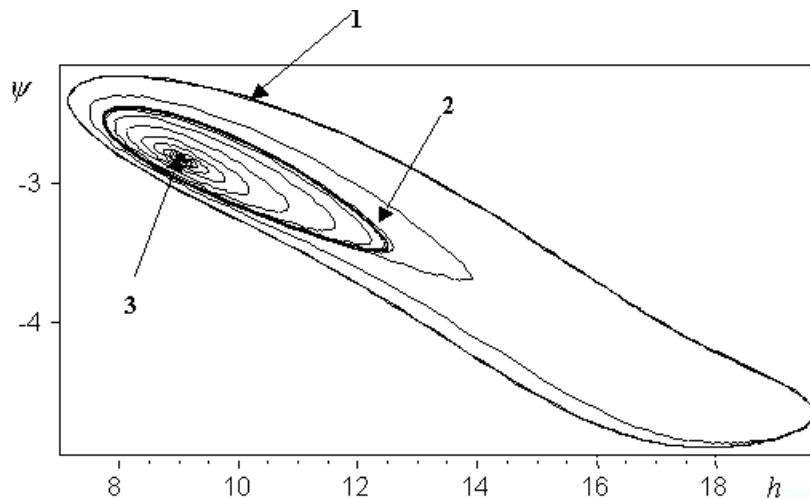


Рис. 21.3 Фазовый портрет системы (21.6), демонстрирующий существование устойчивых стационарных режимов. 1 - устойчивый предельный цикл (незатухающие колебания), 2 - неустойчивый предельный цикл, 3 - устойчивый фокус (затухающие колебания). Параметры системы: $z = 0.6$, $n = 0.9$, $q = 0.001$, $\gamma = 0.0085$, $g = 0.03$, $\psi_0 = -1.28$, $h_i = 0.3$

Структуры в распределенной системе

При исследовании системы (21.6) с учетом диффузии в результате линейного анализа были получены параметры, при которых в системе возникает Тьюринговская неустойчивость. Найденные параметры использовали для численного счета. В качестве

начальных условий принимали малые отклонения от стационарных значений. Было показано, что при некотором критическом значении параметра h_i в системе возникают диссипативные структуры, соответствующие зонам с различным значением рН в реальной системе (рис. 21.4а,б). При уменьшении параметра h_i (что соответствует увеличению интенсивности света) амплитуда структур растет, что и наблюдается в эксперименте (Bulychev et al., 2001).

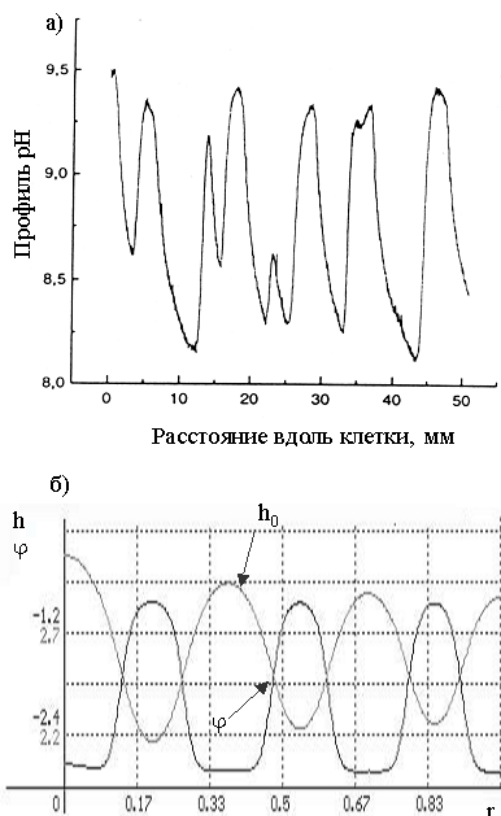


Рис.21.4. а - Профиль рН вдоль клетки водоросли *Chara corallina*. Экспериментальные данные (Bulychev et al., 2001). б - Профиль рН и потенциала вдоль клетки водоросли *Chara corallina*, полученный на модели. Параметры системы: $z = 0.65$, $n = 0.9$, $q = 0.001$, $\gamma = 0.01$, $g = 0.035$, $\psi_0 = -1.301$, $h_i = 0.67$, $D_1 = 1.44 \cdot 10^{-3}$, $D_2 = 3.6 \cdot 10^{-4}$

Зависимость процессов от интенсивности света. Явление гистерезиса

В большинстве экспериментов процесс образования зон зависит от интенсивности освещения. В работах (Bulychev et al., 2003; Булычев, 2002) была исследована зависимость величины структур рН от интенсивности освещения. В области значений интенсивностей от 1 до 100 Вт/м² изменение освещенности сказывается в основном на числе щелочных и кислых зон, но слабо влияет на перепады рН между этими зонами. При освещении светом интенсивности ~ 1 Вт/м² и ниже характер формирования рН зон меняется. При одном и том же значении интенсивности света может реализоваться как однородное распределение рН так и зоны рН в зависимости от того, увеличивается интенсивность света в

эксперименте или уменьшается. Наблюдения двух устойчивых профилей рН в опытах на отдельных клетках были дополнены объединенными данными, полученными на разных клетках (рис. 21.5).

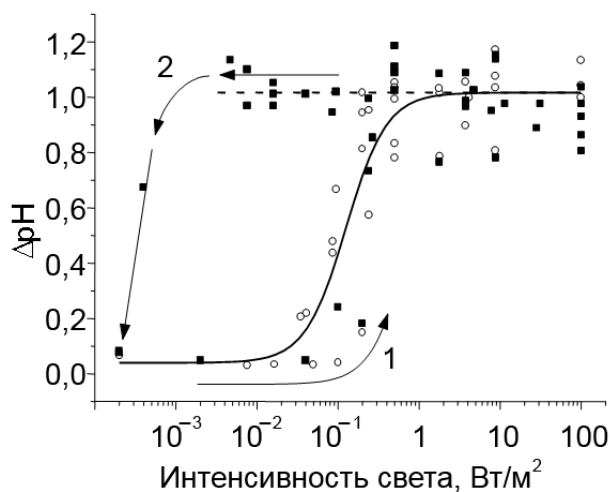


Рис.21.5. Гистерезис в распределении рН вблизи клеточной мембраны *Chara carollina*. Значения ΔрН на цитоплазматической мембране, полученные при освещении светом, интенсивность которого повышалась для каждого последующего эксперимента (светлые кружки) и понижалась (черные квадраты) (Bulychev et al., 2003)

Экспериментальные результаты, показанные на рис. 21.5, демонстрируют существование двух состояний в распределении рН при одной и той же величине интенсивности света. Переход от гомогенного стационарного состояния (структуры отсутствуют) к состоянию с высокой амплитудой пиков рН происходит при увеличении интенсивности света для каждого последующего эксперимента. В интервале 10⁻²-1 Вт/м² амплитуда структур рН постепенно возрастает. Дальнейшее увеличение интенсивности не приводит к возрастанию ΔрН.

Когда измерения начинаются с больших интенсивностей света, обеспечивающих возникновение структур, и интенсивность света для каждого последующего измерения постепенно уменьшается, амплитуда ΔрН практически не меняется вплоть до величины 5·10⁻³ Вт/м². Таким образом, переход к гомогенному стационарному состоянию (отсутствие структур) в этом случае происходит при более низких интенсивностях – наблюдается явление гистерезиса.

Результаты эксперимента были воспроизведены численно на модели (21.6), параметры модели были подобраны в соответствии с литературными данными (Лаврова и др., 2005). На рис. 21.6 на трехмерном графике представлена эволюция во времени пространственных структур величины h , соответствующей концентрации протонов вблизи внешней поверхности мембраны.

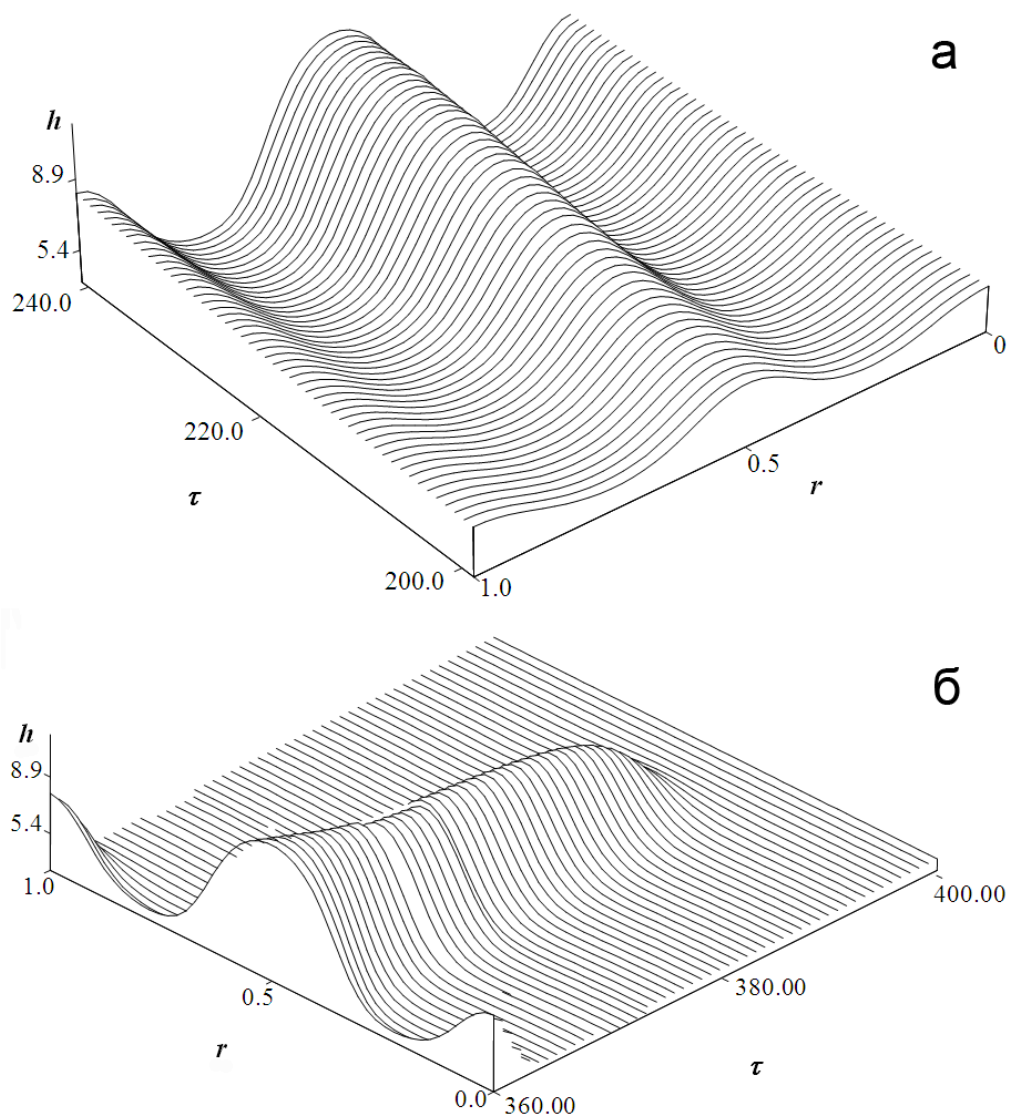


Рис. 21.6. Результаты численного эксперимента. *а* – рост структур со временем при пороговом значении интенсивности света; *б* – уменьшение амплитуды структур со временем при значении интенсивности света, ниже пороговой (Лаврова и др., 2005)

На рис. 21.7 представлены результаты модельного эксперимента, имитирующего реальный эксперимент, результаты которого представлены на рис. 21.5.

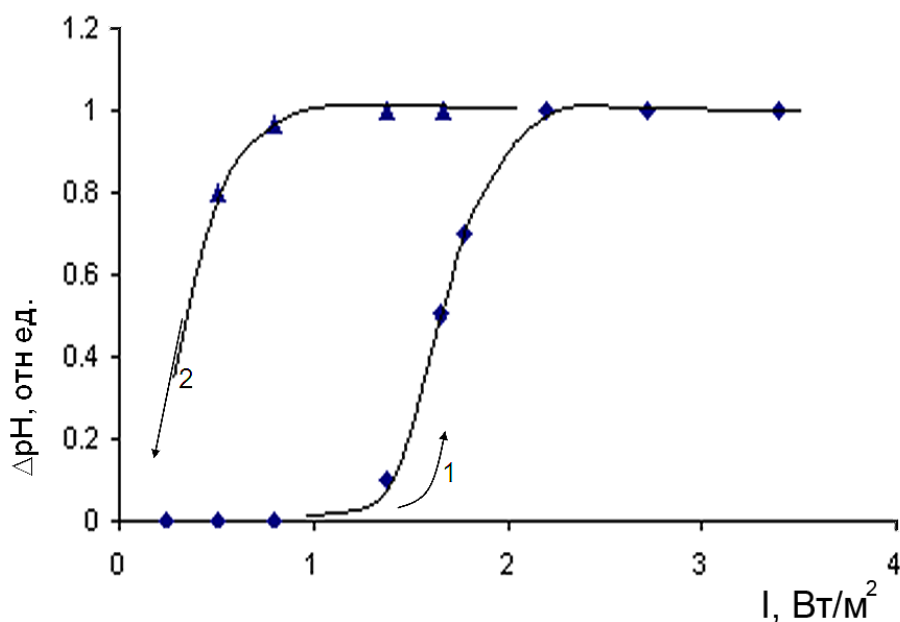


Рис. 21.7. Изменение максимального перепада рН между кислотными и щелочными зонами при увеличении (стрелка 1) и уменьшении (стрелка 2) интенсивности света. Результат моделирования (Лаврова и др, 2005)

Механизм описанного явления гистерезиса в распределении рН может быть связан с инерционными свойствами системы. Для образования устойчивых рН зон (диссипативных структур) необходимо определенное время. Структуры начинают расти при достижении значения управляющего параметра (интенсивности света) его критической величины. Чем ближе значение параметра к критической величине, тем больше времени требуется для установления структур. Вблизи точки бифуркации время роста структур может на несколько порядков превышать время роста структур при удалении от точки бифуркации.

Поскольку интервалы времени, через которые изменялась интенсивность света были ограничены (30 мин. в лабораторном эксперименте, 40000 шагов в численном счете) структуры сначала «не успевали» вырасти, а затем «не успевали» исчезнуть. Поэтому, при увеличении параметра интенсивности через равные промежутки времени наблюдалось постепенное увеличение амплитуды структур, пока не достигалось их максимальное значение. При уменьшении параметра интенсивности света величина амплитуды начинала уменьшаться лишь при значениях интенсивности света гораздо ниже критического (рис. 21.8). Таким образом, в системе, возникает «псевдогистерезис», обусловленный инерционными свойствами системы. Изменение баланса между потоками в ответ на включение и выключение света происходит с запаздыванием вследствие постепенного подстраивания параметров транспортной системы к изменению внешних условий.

Схема взаимодействия процессов фотосинтеза, ионных потоков, и сопровождающих изменений характеристик системы, приводящая к нелинейной динамике

Построенная модель позволяет сделать предположения о механизмах взаимодействия протонного переноса через АТФазу и каналы с мембранным потенциалом и оценить их роль в возникновении неоднородного распределения и колебаний трансмембранного потенциала и рН вблизи мембраны клетки водоросли (рис. 21.8). Рассмотрим последовательность процессов.

При освещении, в результате процессов фотосинтеза, за счет потока протонов в тилакоиды (стадия 0) наблюдается защелачивание стромы хлоропластов (стадия 1). Через мембрану хлоропластов осуществляется поток протонов из цитоплазмы внутрь хлоропластов (стадия 2). Вследствие этого происходит защелачивание цитоплазмы (стадия 3), которое приводит к увеличению потока протонов через каналы внутрь клетки (стадия 4). Увеличение пассивного потока протонов внутрь клетки вызывает деполяризацию мембраны и увеличение концентрации протонов внутри клетки. Это, в свою очередь, ведет к увеличению потока протонов через АТФазу (стадия 6), что, наоборот, сопровождается понижением мембранного потенциала (гиперполяризация). Поток через АТФазу приводит к повышению концентрации протонов в примембранном слое снаружи клетки (стадия 7), которое вызывает уменьшение потока протонов из клетки через АТФазу и увеличение потока через протонные каналы внутрь (стадия 8), затем цикл повторяется.

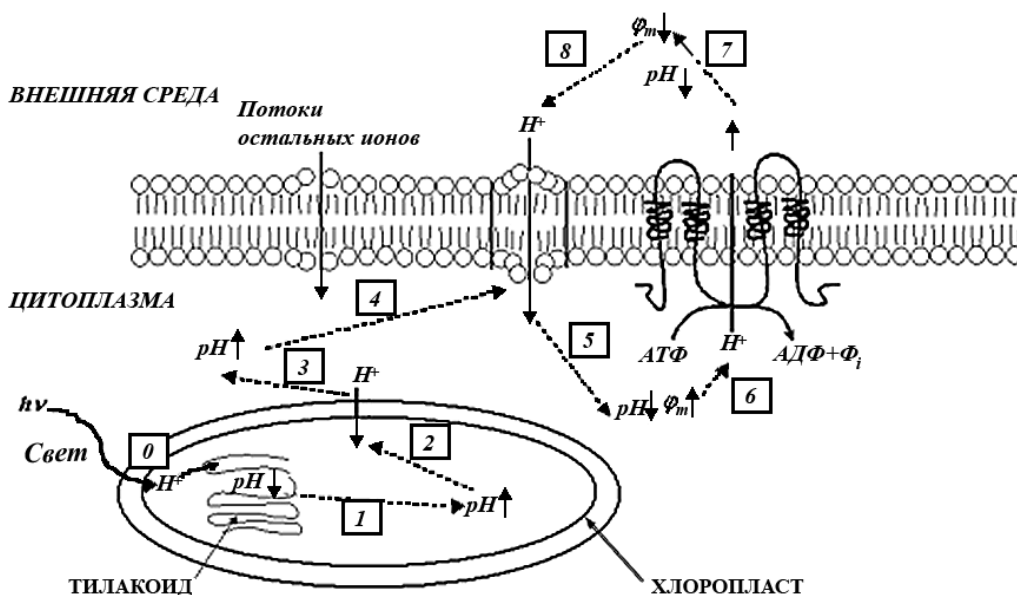


Рис.21.8. Схема взаимодействия процессов вблизи мембраны клетки водоросли *Chara corallina*. Пунктирными стрелками обозначена регуляция процессов, ϕ_m – мембранный потенциал (масштабы не соблюдены).

0. Свет инициирует процессы фотосинтеза, рН тилакоида понижается.

1. рН хлоропласта повышается.
2. Повышение рН внутри хлоропластов инициирует поток протонов из цитоплазмы в хлоропласты.
3. Поток протонов из цитоплазмы в хлоропласты приводит к повышению рН цитоплазмы и деполяризации мембранного потенциала.
4. Активация протонных каналов цитоплазматической мембраны.
5. Увеличение потока протонов через каналы приводит к понижению рН цитоплазмы и деполяризации мембранного потенциала.
6. Увеличение протонного потока через АТФазу.
7. Увеличение потока протонов через АТФазу приводит к понижению рН снаружи клетки и гиперполяризации мембранного потенциала.
8. Увеличение потока через протонные каналы. Цикл повторяется (со стадии 5).

Таким образом, модель позволяет прояснить механизмы, приводящие к наблюдаемым нелинейным пространственно-временным режимам. Как известно, в результате процессов фотосинтеза, происходит накопление протонов внутри хлоропластов (Hansen, 1987). Вследствие этого может происходить защелачивание цитоплазмы, которое приводит к открытию каналов и увеличению пассивного потока протонов внутрь клетки, что вызывает деполяризацию мембраны и увеличение концентрации протонов внутри клетки. Это, в свою очередь, ведет к увеличению потока протонов через АТФазу, что, наоборот, сопровождается понижением мембранного потенциала (гиперполяризация). Поток через АТФазу приводит к повышению концентрации протонов снаружи клетки, которое вызывает ее ингибирование и активацию протонных каналов, и цикл повторяется. Таким образом, световой сигнал вызывает активацию протонных каналов, что в дальнейшем приводит к активации АТФазы. Далее процессы активного и пассивного транспорта взаимно усиливают друг друга, то есть между ними возникает положительная обратная связь, и в системе реализуются колебания потенциала и протонов. За счет разнонаправленных протонных потоков через каналы и АТФазу могут возникать локальные участки закисления и защелачивания, которые различаются по величине трансмембранного потенциала в примембранной области снаружи клетки. Устойчивые рН зоны образуются за счет различия в коэффициентах диффузии протонов (D_1) и потенциала (D_2) между этими участками.

Потенциалозависимые АТФазы и каналы существуют на мембранах разных типов клеток, поэтому можно предположить, что потенциалозависимое изменение рН является одним из основных регуляторов нелинейной пространственно-временной динамики в примембранной области.

Литература

- Bulychev A.A., Polezhaev A.A., Zykov S.V., Plusnina T.Yu., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B., Jatnos W., Zykov V.S., Muller S.C.. Light-triggered pH banding profile in *Chara* revealed with a scanning pH microprobe and its relation to self-organization phenomena. *J. Theor. Biol.* **212**(3): 275-294, 2001
- Bulychev A.A., Zykov S.V., Rubin A.B. and Muller S.C. Transitions from alkaline spots to regular bands during pH pattern formation at the plasmalemma of *Chara* cells. *Eur. Biophys. J.* **32**:144-153, 2003
- Fisahn J., McConnaughey T., Lucas W.J. Oscillations in extracellular current, external pH and membrane potential and conductance in the alkaline bands of *Nitella* and *Chara*. *J. Exp. Bot.* **40** (11): 1185-1193, 1989
- Fisahn J., Mikschl E., Hansen U.-P. Separate oscillations of the electrogenic pump and of a K⁺-channel in *Nitella* as revealed by simultaneous measurement of membrane potential and of resistance. *J. Exp. Bot.*, **37**(1): 34-47, 1986
- Hansen U.-P., Kolbowski J. and Dau H. Relationship between photosynthesis and plasmalemma transport. *J. Exp. Bot.* **38**(12): 1965-1981, 1987
- Leonetti M. and Pelce P. On the theory of pH bands in characean algae. *C. R. Acad. Sci. Paris* **317**(9): 801-805, 1994
- Morsomme P. and Boutry M. The plasma membrane H⁺-ATPase: Structure, function, and regulation. *Biochem. Biophys. Acta* **1465**: 1-16, 2000
- Plusnina T.Yu., Lavrova A.I., Price C.B., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B. Nonlinear dynamics near the cell membrane of *Chara corallina*. *J. Biol. Syst.* **16**(2): 197-217, 2008
- Toko K, Hayashi K., Yoshida T., Fujiyoshi T., Yamafuji K. Oscillation of electric spatial patterns emerging from the homogeneous state in characean cells. *Eur. Biophys. J.* **16**(1): 11-21, 1988
- Toko K., Chosa H., Yamafuji K. Dissipative structure in the Characeae: Spatial pattern of proton flux as a dissipative structure in characean cells. *J. Theor. Biol.* **114**(1):125-175, 1985
- Булычев А.А., Черкашин А.А., Рубин А.Б., Мюллер С.С. Распределение кислых и щелочных зон на поверхности клеток *Chara corallina* при стационарном и локальном освещении. *Физиология растений* **49**: 805-813, 2002
- Лаврова А.И., Плюснина Т.Ю., Булычев А.А., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Моделирование гистерезиса в распределении рН вблизи мембраны клетки водоросли *Chara Corallina*. *Биофизика* **50**(6): 1088-1094, 2005
- Плюснина Т.Ю., Лобанов А.И., Лаврова А.И., Старожилова Т.К., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Новые пространственно-временные режимы в системе реакция-электродиффузия. *Биофизика* **47**(2): 277-282, 2002
- Плюснина Т.Ю., Лаврова А.И., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. Моделирование неоднородного распределения и колебаний трансмембранного потенциала и рН вблизи внешней стороны мембраны клетки водоросли *Chara Corallina*. *Биофизика* **50**(3): 492-499, 2005