

МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕОДНОРОДНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И КОЛЕБАНИЙ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА И pH ВБЛИЗИ ВНЕШНЕЙ СТОРОНЫ МЕМБРАНЫ КЛЕТКИ ВОДОРΟΣЛИ *Chara corallina*

© 2005 г. Т.Ю. Плюснина, А.И. Лаврова, Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
119899, Москва, Воробьевы горы

E-mail: plusn@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.09.04 г.

После доработки 22.11.04 г.

Предложена математическая модель потенциалозависимого протонного переноса через мембрану клетки водоросли *Chara corallina*. Модель представляет собой систему двух дифференциальных уравнений в частных производных, переменными которой являются концентрация протонов вблизи внешней стороны клеточной мембраны и трансмембранный потенциал. Модель описывает экспериментально наблюдаемое неоднородное распределение трансмембранного потенциала и pH вдоль мембраны и колебания потенциала и pH во времени. Предложен механизм возникновения пространственной и временной неоднородности потенциала и pH.

Ключевые слова: клеточная мембрана, протонная АТФаза, протонные каналы, мембранный потенциал.

Для многих живых организмов экспериментально показано, что вдоль внешней поверхности плазматической мембраны могут возникать участки, различающиеся по значениям pH и трансмембранного потенциала [1–6]. Так, для корней, корневых волосков и пыльцевых трубок многих растений показано, что неравномерное распределение потенциала играет важную роль в процессах дифференциации тканей и роста [1–4]. Также было обнаружено, что пространственное распределение электрических потоков протонов у зигот водорослей *Pelvetia*, *Fucus* определяет дальнейшую структуру клетки [5].

Клетки водорослей *Chara corallina* и *Nitellopsis obtusa* являются очень удобным объектом для изучения такого рода нелинейных электрофизиологических явлений, так как 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. В семействе *Characeae* в результате освещения в течение 10 – 40 мин вдоль мембраны возникают устойчивые зоны с различными величинами pH и электрического потенциала [7,8], между которыми циркулируют токи порядка 1 мкА.

Изменения величин трансмембранного потенциала и pH вблизи мембраны могут носить колебательный характер. Так, в работах [9,10] было показано, что при освещении клетки *Nitella* могут возникать как спонтанные затухающие колебания трансмембранного потенциала, так и затухающие колебания. Колебания могут быть связаны с зонами, но могут возникать и независимо от зонообразования [10–12]. Поскольку подобные явления, как указывалось выше, имеют место в клетках и органах других организмов, можно предположить, что существует общий механизм возникновения пространственно-временной неоднородности в примембранной области клетки, связанный с процессами переноса ионов и изменений трансмембранного потенциала.

Первоначально наблюдаемые явления связывали со структурной неоднородностью мембран. В последнее время все большее число исследователей склоняется к тому, что такие явления обусловлены, по-видимому, специфической работой транспортных систем клетки: АТФаз, каналов, антипортеров и т.д. и неоднородным распределением потоков [13–16]. С этой точки зрения такие зоны, по-видимому,

являются примером диссипативных структур в живых системах.

Предложен ряд математических моделей [13–16], в которых рассматриваются возможные механизмы зонообразования. Модель [13], основанная на электрических характеристиках плазмалеммы, описывает неоднородное распределение потенциала, однако в ней не учитывается изменение концентрации ионов снаружи и внутри клетки. Другая модель [14] описывает появление структур рН при превышении некоторого порога интенсивности света и дальнейшее увеличение их числа с повышением интенсивности. В модели рассматриваются активный и пассивный потоки протонов. Специфика их работы обуславливает появление различных зон рН. Моделирование процесса установления чередующихся зон рН вдоль клетки *Chara* получило дальнейшее развитие в работе [15], где рассматривали потоки протонов H^+ и бикарбонат-ионов HCO_3^- через мембрану и стационарное электрическое поле, создаваемое этими ионами. В работе [16] была разработана модель, где также рассматривались потоки H^+ и HCO_3^- . Предполагалось, что их взаимодействие и различия в коэффициентах диффузии дает основной вклад в образование чередующихся зон с разными величинами рН. В работах [14–16] потоки ионов описывались феноменологически.

В данной работе предлагается модель процессов переноса протонов и распределения потенциала вдоль мембраны. Для описания переноса протонов используются данные о каталитическом цикле работы АТФазы [17] и каналов. Распределение потенциала вдоль мембраны описывается исходя из кабельных свойств клетки. Модель позволяет исследовать влияние трансмембранного потенциала на ионные потоки и оценить их вклад в описанные выше нелинейные режимы.

МОДЕЛЬ

При построении модели мы предполагали, что основным процессом, определяющим нелинейный характер изменений мембранного потенциала, является перенос ионов, в частности протонов, через мембрану. Авторами [18,19] было показано, что величина потока протонов через АТФазу намного выше, чем величина потоков всех остальных ионов. Авторами [20,21] утверждается, что основной вклад в общий поток ионов через мембрану дают протоны, поэтому в модели мы учитывали конкретную кинетику именно протонного переноса.

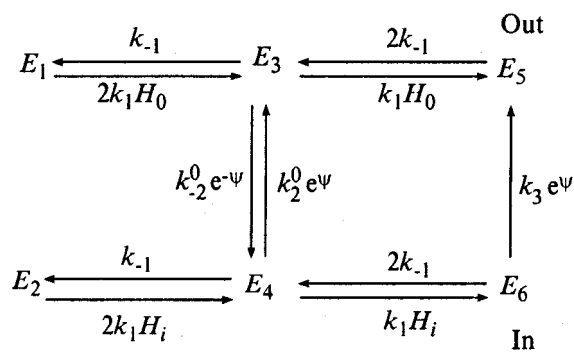


Рис. 1. Кинетическая схема работы фермента, в которой реализуются шесть конформационных состояний: Out – внешняя сторона мембраны, In – внутренняя сторона мембраны, H_i – концентрация протонов в цитоплазме, H_0 – концентрация протонов снаружи клетки. $E_1, E_2, E_3, E_4, E_5, E_6$ – конформационные состояния фермента. $k_2^0e^{-\psi}$, k_2e^{ψ} , k_3e^{ψ} – потенциалозависимые константы переноса протона с внутренней стороны мембраны на внешнюю.

Существует большое количество экспериментальных данных о работе протонной АТФазы [19–22]. Протонная помпа «откачивает» ионы H^+ из цитоплазмы во внеклеточную среду, а по пассивным каналам ионы H^+ возвращаются в клетку. Существуют предположения, что АТФаза и протонные каналы структурно связаны между собой в единую транспортную систему [22].

Кинетическая модель работы протонной АТФазы. Чтобы определить конкретный вид потока протонов через H^+ -АТФазу, рассмотрим кинетическую схему работы фермента (рис. 1). 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·с⁻¹·м⁻³; k_{-1} , с⁻¹ характеризуют присоединение и отщепление протона, множитель 2 (в выражениях $2k_{-1}$, $2k_1H_i$) характеризует равновероятную возможность связывания субстрата любым из сайтов, либо отсоединения от любого из сайтов. Константы k_2 , с⁻¹; k_3 , с⁻¹, характеризуют перенос протона через мембрану во внешнюю среду, k_{-2} , с⁻¹ – перенос протонов в клетку. Предполагается, что вероятность переноса протонов через мембрану зависит от трансмембранного потенциала ψ [18,23–25]. Вероятности переноса соответствуют кинетическим константам электрогенного перехода k_{-2} , k_2 и k_3 . Поэтому в модели константы переноса

протона с одной стороны мембраны на другую зависят от потенциала φ следующим образом:

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

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

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

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 получена следующая система кинетических уравнений:

$$\frac{d[H_0]}{dt} = k_{-1}[E_3] - 2k_1[H_0][E_1] - k_1[H_0][E_3] + 2k_{-1}[E_5],$$

$$\frac{d[E_1]}{dt} = k_{-1}[E_3] - 2k_1[H_0][E_1],$$

$$\frac{d[E_2]}{dt} = k_{-1}[E_4] - 2k_1[H_0][E_2], \quad (1)$$

$$\frac{d[E_3]}{dt} = 2k_1[H_0][E_1] - k_{-1}[E_3] + 2k_{-1}[E_5] - k_1[H_0][E_3] - k_{-2}[E_3] + k_2[E_4],$$

$$\frac{d[E_4]}{dt} = 2k_1[H_0][E_2] - k_{-1}[E_4] + 2k_{-1}[E_6] - k_1[H_0][E_4] + k_{-2}[E_3] - k_2[E_4],$$

$$\frac{d[E_5]}{dt} = k_3[E_6] + k_1[H_0][E_3] - 2k_{-1}[E_5],$$

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

где $[H_0]$ – 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 (1) описывает изменение концентрации протонов $[H_0]$ снаружи клетки за счет работы АТФазы. Последнее уравнение следует из допущения о постоянстве концентрации фермента во всех состояниях Н⁺-АТФазы. Остальные пять уравнений описывают изменение концентраций различных форм фермента.

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 мы предположили, что процессы переноса протонов с одной стороны мембраны на другую ($E_4 \leftrightarrow E_3$; $E_6 \leftrightarrow E_5$; рис. 1) 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. 1), что позволило упростить уравнение для изменения концентрации протонов во внешней среде. Окончательно уравнение примет вид:

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

$$\text{где } \psi = \frac{\varphi F}{2RT}, \quad n = \frac{1}{K_3 h_i + 1}, \quad q = \frac{(1+h_i)^2 K_2 n}{h_i},$$

$$h_i = \frac{[H_i]}{K_1}, \quad K_1 = \frac{k_{-1}}{k_1}, \quad K_2 = \frac{k_{-2}}{k_2}, \quad K_3 = \frac{k_3}{2k_2}.$$

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 x .

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

$$\frac{\partial h_0}{\partial \tau} = \frac{h_0 e^{\psi(1-n)}}{2q h_0 + e^{2\psi} (1+h_0)^2 (n+1)} - \gamma h_0 + D_1 \frac{\partial^2 h_0}{\partial x^2}, \quad (3)$$

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 вдоль поверхности клетки, м²·с⁻¹.

Вывод уравнения изменения потенциала. Уравнение распределения трансмембранного потенциала запишем исходя из кабельных свойств мембраны клетки с учетом ионных токов через мембрану [26].

$$\frac{p}{2R_i} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2} = + (I_{\text{АТФ}} + I_l) + C \frac{\partial \varphi}{\partial t}, \quad (4)$$

где полный ток через мембрану $\left(\frac{p}{2R_i} \frac{\partial^2 \varphi}{\partial x^2}\right)$ равен

сумме емкостного $\left(C \frac{\partial \varphi}{\partial t}\right)$ и ионного (I) токов.

В нашем случае ионный ток, I , состоит из тока протонов через АТФазу $I_{\text{АТФ}}$ и тока утечки I_l , включающего в себя потоки остальных ионов. Здесь φ - трансмембранный потенциал, В; R_i - сопротивление цитоплазмы, Ом·м; C - емкость мембраны, мкФ·м⁻²,

$$I_{\text{АТФ}} = E_0 k_{-2} \frac{\frac{H_0}{K_1} e^{\psi(1-n)}}{2q \frac{H_0}{K_1} + e^{2\psi} \left(1 + \frac{H_0}{K_1}\right)^2 (n+1)} Fp -$$

ток через Н⁺-АТФазу, А·м⁻²; I_l - ток утечки, включающий потоки других ионов, А·м⁻², F - число Фарадея, Кл·моль⁻¹, p - диаметр клетки, м. Ток утечки записывается как $I_l = \bar{q}(\varphi - \varphi_0)$, где \bar{q} - проводимость пассивных каналов, Ом⁻¹·м⁻²; φ_0 - потенциал покоя на плазматической мембране, В.

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

$$\frac{\partial \psi}{\partial \tau} = \frac{-h_0 e^{\psi(1-n)}}{2qh_0 + e^{2\psi}(1+h_0)^2(n+1)} z - g(\psi - \psi_0) + D_2 \frac{\partial^2 \psi}{\partial r^2}, \quad (5)$$

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

$$D_2 = \frac{pt_0}{2L^2 R_i C}$$

Таким образом, система уравнений изменения трансмембранного потенциала и концентрации протонов снаружи клетки окончательно примет вид:

$$\frac{\partial h_0}{\partial \tau} = \frac{h_0 e^{\psi(1-n)}}{2qh_0 + e^{2\psi}(1+h_0)^2(n+1)} - \gamma h_0 + D_1 \frac{\partial^2 h_0}{\partial r^2}, \quad (6)$$

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

Предполагается, что на торцах клетки потоки протонов отсутствуют. Тогда в качестве условия на границах принимаем отсутствие потока Н⁺ и градиента потенциала на торцах клетки:

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

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

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для того, чтобы определить допустимые пределы изменения кинетических параметров АТФазы в модели, мы провели идентификацию параметров модельного тока через мембрану по экспериментальной вольт-амперной кривой (зависимости тока через мембрану от величины трансмембранного потенциала), приведенной в работе [18] (рис. 2), используя пакет программ DBSolve 7.0. В результате процедуры идентификации были получены следующие значения параметров: $K_1 = 5,02 \cdot 10^{-7}$ моль·м⁻³, $k_{-2} = 3,36 \cdot 10^9$ с⁻¹, $n = 0,912$, $q = 0,0948$. Остальные параметры были взяты из литературы: $E_0 = 5 \cdot 10^{-12}$ моль·м⁻³ [18], $p = 1$ мм [7,8], $\bar{g} = 3,12$ Ом⁻¹·м⁻² [27], $\varphi_0 = -220$ мВ [21], $[H_i] = 10^{-7}$ моль·м⁻³ (рН 7) [28]. Это позволило нам оценить безразмерные параметры модели: $K_2 = 8,484 \cdot 10^{-4}$, $K_3 = 0,996$, $g = 0,0359$. Поскольку рН цитоплазмы может меняться в пределах 7,1 + 7,8 [28], то $[H_i]$ меняется в пределах $1,6 \cdot 10^{-8} + 7,9 \cdot 10^{-8}$ моль·м⁻³. Тогда параметры n и q будут меняться

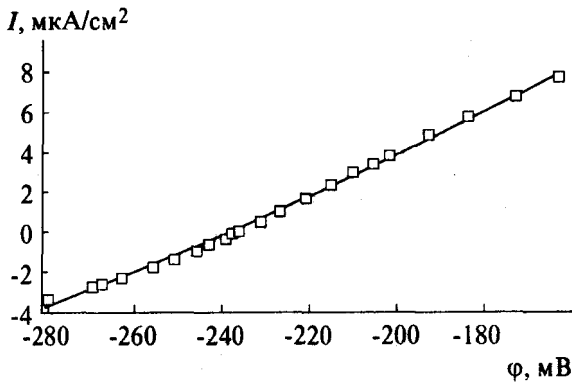


Рис. 2. Вольт-амперная характеристика ионного тока через мембрану клетки *Chara corallina*. Квадратиками обозначены экспериментальные точки [18], сплошной линией – модельная кривая. Выражение для ионного тока, с помощью которого проводилась идентификация:

$$I = E_0 k_{-2} \frac{\frac{H_0}{K_1} e^{\psi(1-n)}}{2q \frac{H_0}{K_1} + e^{2\psi} \left(1 + \frac{H_0}{K_1}\right)^2 (n+1)} - Fp + \bar{g}(\psi - \psi_0).$$

в пределах $n = 0,501 + 0,909$, $q = 0,001 + 0,9$. Равновесный потенциал тока утечки ψ_0 меняется в пределах $-100 + 10$ мВ [27], тогда $\psi_0 = -4,1 + 0,2$.

В большинстве экспериментов [8,16,29] процесс зонообразования зависит от интенсивности освещения. В экспериментах [28] было показано, что при освещении клетки рН цитоплазмы увеличивается, т.е. концентрация протонов в цитоплазме уменьшается. Поэтому в модельных экспериментах мы предположили, что увеличение интенсивности света соответствует умень-

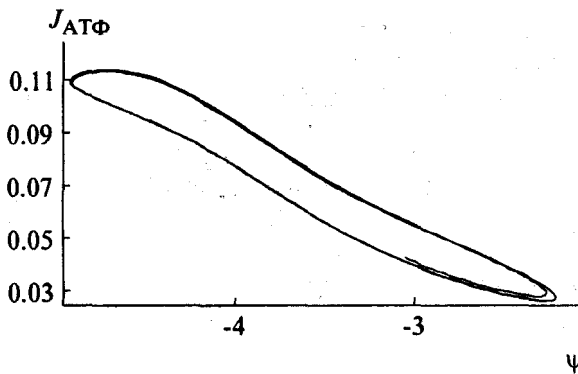


Рис. 4. Существование предельного цикла. Зависимость потока через АТФазу $J_{ATФ}$ от потенциала ψ . $J_{ATФ} = \frac{h_0 e^{\psi(1-n)}}{2qh_0 + e^{2\psi}(1+h_0)^2(n+1)}$. Параметры системы: $z = 0,65$, $n = 0,9$, $q = 0,001$, $\gamma = 0,01$, $g = 0,035$, $\psi_0 = -1,301$, $h_i = 0,3$.

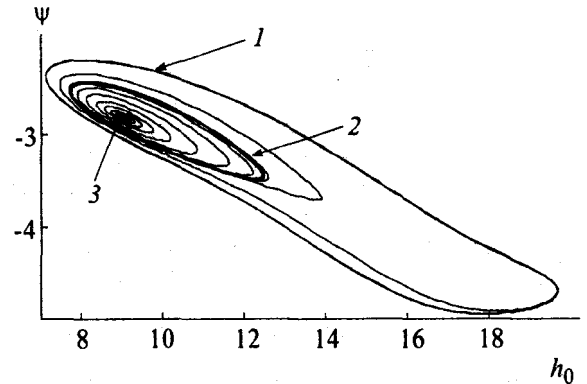


Рис. 3. Существование трех состояний: 1 – устойчивый предельный цикл (незатухающие колебания), 2 – неустойчивый предельный цикл, 3 – устойчивый фокус (затухающие колебания) системы: $z = 0,6$, $n = 0,9$, $q = 0,001$, $\gamma = 0,0085$, $g = 0,03$, $\psi_0 = -1,28$, $h_i = 0,3$.

шению параметра h_i (концентрация протонов в цитоплазме).

С помощью пакета программ MathCAD был проведен линейный анализ системы (6). Были найдены условия, при которых возможно существование колебательных режимов в точечной системе.

Авторы [9,10] наблюдали затухающие и незатухающие колебания мембранного потенциала и рН 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. 3 приведен фазовый портрет точечной системы, где при разных начальных условиях могут реализоваться три состояния. 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, что соответствует экспериментальным данным [9,10].

Авторы работ [19,20] экспериментально показали, что при гиперполяризации потенциала ток через АТФазу увеличивается, а при деполяризации уменьшается. В нашей модели исследовалась такая зависимость. На рис. 4 приведен фазовый портрет системы зависимости потока через АТФазу от мембранного потенциала. Видно, что при увеличении потока через АТФазу, $J_{ATФ}$, потенциал на мембране ψ понижается, т.е. происходит гиперполяризация

трансмембранного потенциала, и наоборот, при уменьшении потока через АТФазу потенциал на мембране растет.

Далее была исследована система (6) с учетом диффузии. В результате линейного анализа были получены параметры, при которых в системе возникает Тьюринговская неустойчивость. Найденные параметры использовались для численного счета. Решение системы дифференциальных уравнений в частных производных проводилось с помощью программы, разработанной в [30]. В качестве начальных условий принимались малые отклонения от стационарных значений. В численном исследовании 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. 5а,б). При уменьшении параметра h_i (что соответствует увеличению интенсивности света) амплитуда структур растет. Этот результат согласуется с экспериментальными данными [16]. Таким образом, модель описывает как колебательные режимы, так и возникновение пространственной неоднородности, обнаруженные в экспериментах [7–10,29].

ОБСУЖДЕНИЕ

Построенная модель описывает колебания рН и потенциала и образование зон с различной величиной рН и потенциала вдоль мембраны клеток семейства водорослей *Characeae*. В отличие от других моделей, где описываются либо только ионные потоки [14,16], либо только изменение трансмембранного потенциала [13], в данной модели описывается потенциалозависимый перенос ионов через клеточную мембрану, основанный на конкретной кинетике работы АТФазы. Модель позволяет сделать некоторые предположения о механизмах взаимодействия протонного переноса через АТФазу и каналы с мембранным потенциалом (рис. 6) и оценить их вклад в возникновение неоднородного распределения и колебаний трансмембранного потенциала и рН вблизи мембраны клетки водоросли.

Как известно, в результате процессов фотосинтеза происходит накопление протонов внутри хлоропластов [31]. Вследствие этого может происходить защелачивание цитоплазмы [28], которое приводит к переходу протонных каналов цитоплазматической мембраны в открытое состояние и, как следствие, к увеличению потока протонов через каналы [32]. Увеличение пассивного потока протонов внутрь клетки вызывает деполяризацию мембраны и

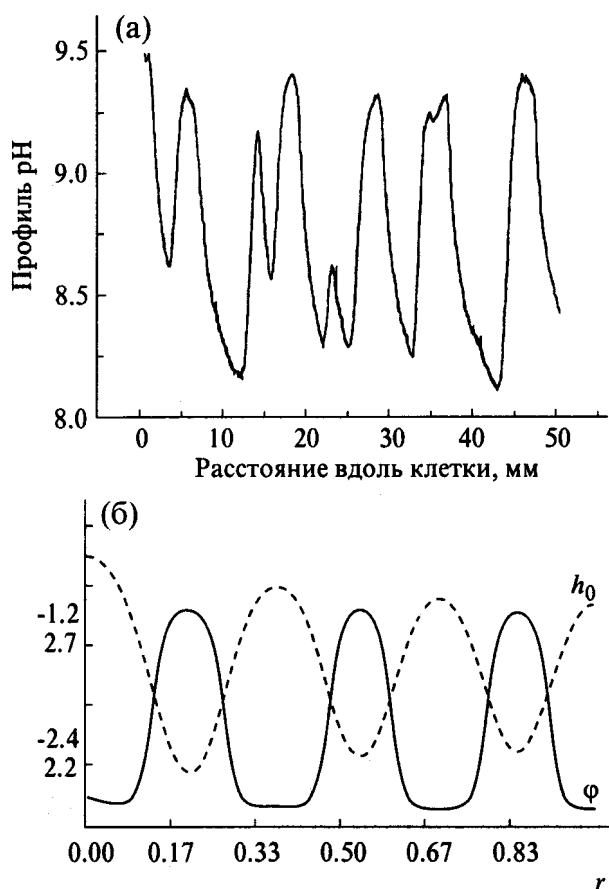


Рис. 5. (а) – Профиль рН вдоль клетки водоросли *Chara corallina*. Экспериментальные данные [16]. (б) – Профиль рН и потенциала вдоль клетки водоросли *Chara corallina*, полученный на модели. Параметры системы: $z = 0,65$, $n = 0,9$, $q = 0,001$, $\gamma = 0,01$, $g = 0,035$, $\psi_0 = -1,301$, $h_i = 0,67$, $D_1 = 1,44 \cdot 10^{-3}$, $D_2 = 3,6 \cdot 10^{-4}$.

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 (рис. 6). 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, т. е. 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,

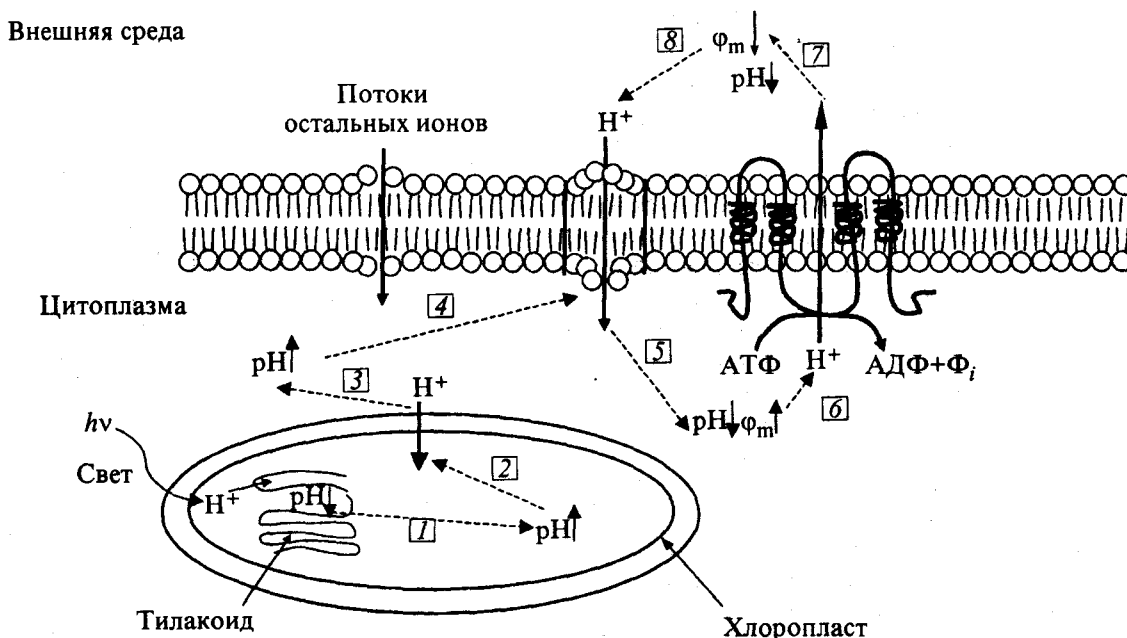


Рис. 6. Возможная схема процессов вблизи мембраны клетки водоросли *Chara corallina*. Пунктирными стрелками обозначена регуляция процессов, Φ_m – мембранный потенциал (масштабы не соблюдены). 1 – Свет инициирует процессы фотосинтеза, pH тилакоида понижается, pH хлоропласта повышается. 2 – Повышение pH внутри хлоропластов инициирует поток протонов из цитоплазмы в хлоропласты. 3 – Поток протонов из цитоплазмы в хлоропласты приводит к повышению pH цитоплазмы и деполаризации мембранного потенциала. 4 – Активация протонных каналов цитоплазматической мембраны. 5 – Увеличение потока протонов через каналы приводит к понижению pH цитоплазмы и деполаризации мембранного потенциала. 6 – Активация протонной АТФазы. 7 – Увеличение потока протонов через АТФазу приводит к понижению pH снаружи клетки и гиперполяризации мембранного потенциала. 8 – Активация протонных каналов. Цикл повторяется (со стадии 5).

которые различаются по величине трансмембранного потенциала в примембранной области снаружи клетки. Устойчивые pH 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 pH является одним из основных регуляторов нелинейной пространственно-временной динамики в примембранной области.

Более строгий учет изменений концентрации протонов внутри клетки позволит в дальнейшем связать описанные нелинейные процессы на мембране с внутриклеточным метаболизмом.

Авторы благодарят А.А. Булычева, А.А. Черкашина, А.А. Полежаева и А.И. Лобанова за полезные обсуждения, а также Т.К. Старжилову за предоставленную программу для вычислительных экспериментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 03-04-04000.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weisenseel M.H., Dorn A., Jaffe L.F. // *Plant. Physiol.* 1979. V. 64. P. 512–518.
2. West P., Morris B.M., Reid B., Appiah A.A., Osborne M.C., Campbell T.A., Shepherd S.A., Gow N.A.R. // *MPMI.* 2002. V. 15. P. 790–798.
3. Serikawa K.A., Porterfield D.M., Smith P.J.S., Mandoli D.F. // *Planta.* 2000. V. 211. P. 474–483.
4. Miller A.L., Raven J.A., Sprent J.I., Weisenseel M.H. // *Plant, Cell and Environment.* 1986. V. 9. P. 79–83.
5. Feijo J.A., Sainhas J., Hackett G.R., Kunkel J.G., Hepler P.K. // *J. Cell Biol.* 1999. V. 144. P. 483–496.
6. Gibbon B.C., Kropf D.L. // *Protoplasma.* 1991. V. 163. P. 43–50.
7. Fisahn J., Lucas W. // *J. Membrane Biol.* 1995. V. 147. P. 275–281.
8. Walker N.A., Smith F.A. // *J. Exp. Botany.* 1977. V. 28. P. 1190–1206.
9. Fisahn J., Hansen U.P., Mikschl E. // *J. Exp. Botany.* 1986. V. 37. P. 34–47.
10. Fisahn J., Lucas W.J. // *J. Exp. Botany.* 1989. V. 40. P. 1185–1193.
11. Boels H.D., Hansen U.P. // *Plant Cell Physiol.* 1982. V. 23. P. 343–346.
12. Hansen U.-P. // *J. Membrane Biol.* 1978. V. 41. P. 197–224.

13. Toko K., Hayashi K., Yoshida T., Fujiyoshi T., Yamafuji K. // *Eur. Biophys. J.* 1988. V. 1. P. 11–21.
14. Toko K., Chosa H., Yamafuji K. // *J. Theor. Biol.* 1985. V. 114. P. 127–175.
15. Leonetti M., Pelce P. // *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris.* 1994. V. 317. P. 801–805.
16. Bulychev A.A., Polezhaev A.A., Zykov S.V., Pljusnina T.Yu., Riznichenko G.Yu., Rubin A.B., Jantoss W., Zykov V.S., Muller S.C. // *J. Theor. Biol.* 2001. V. 7. P. 275–94.
17. Morsomme P., Boutry M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1465. P. 1–16.
18. Takeuchi Y., Kishimoto U., Ohkawa T., Kami-ike N. // *J. Membrane Biol.* 1985. V. 86. P. 17–26.
19. Tazawa M. // *J. Plant Res.* 2003. V. 116. P. 419–442.
20. Shartzner S.A., Fisahn J., Lucas W.J. // *Comp. Rend. Acad. Sci. Paris.* 1992. V. 315. P. 247–254.
21. Sanders D., Hansen U.P., Slayman C.L. // *Procl. Natl. Acad. Sci. USA.* 1981. V. 78. P. 5903–5907.
22. Fisahn J., Lucas W. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 3261–3265.
23. Kishimoto U., Kami-ike N., Takeuchi Y., Ohkawa T. // *J. Membrane Biol.* 1984. V. 80. P. 175–183.
24. Lauger P., Stark G. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1970. V. 211. P. 458–466.
25. Lauger P. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1979. V. 552. P. 143–161.
26. Hodgkin A.L., Huxley A.F. // *J. Physiol.* 1952. V. 117. P. 500–544.
27. Кольс О.Р., Максимов Г.В., Раденович Ч.Н. // *Биофизика ритмического возбуждения.* М.: Изд-во МГУ, 1993.
28. Felle H., Bertl A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1986. V. 848. P. 176–182.
29. Lucas W. J., Nuccitelli R. // *Planta.* 1980. V. 150. P. 120–131.
30. Плюснина Т.Ю., Лобанов А.И., Лаврова А.И., Старожилова Т.К., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. // *Биофизика.* 2002. Т. 47, вып. 2. С. 277–282.
31. Jagendorf A.T., Uribe E. // *Procl. Natl. Acad. Sci. USA.* 1966. V. 55. P. 170–178.
32. Vanselow K.H., Kolbowski J., Hansen U.-P. // *J. Exp. Botany.* 1989. V. 40. P. 239–245.

Modelling of Pattern Formation and Oscillations in pH and Transmembrane Potential Near the Cell Membrane of *Chara corallina*

T.Yu. Plyusnina, A.I. Lavrova, G.Yu. Riznichenko, and A.B. Rubin

*Department of Biophysics, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University,
Vorob'evy Gory, Moscow, 119899 Russia*

A mathematical model of potential-dependent proton transfer across the membrane of *Chara corallina* cells is considered. To construct the model, partial differential equations describing the system dynamics in time and in space were used. The variables of the model are the proton concentration and membrane potential. The model describes the experimentally observed inhomogeneous distribution of transmembrane potential and pH along the membrane and oscillations of the potential and pH in time. A mechanism of the distribution of pH and membrane potential along the *Chara corallina* cell is suggested.

Key words: cell membrane, proton ATPase, proton channels, membrane potential