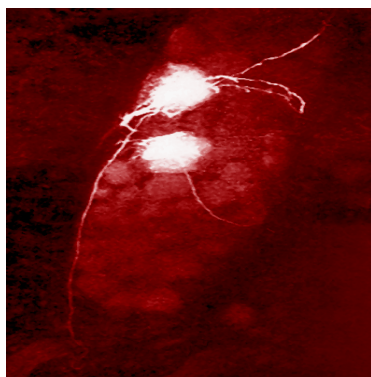
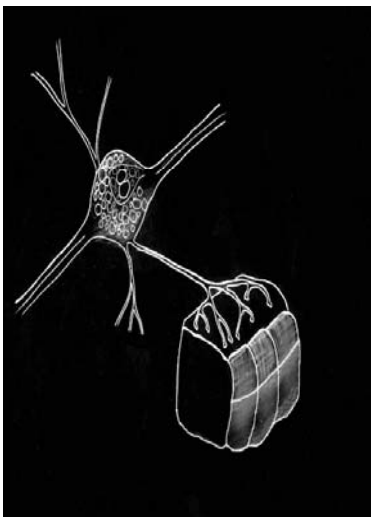


## Лекция 2. Нанобиотехнология возбудимой клетки

Во второй лекции будут представлены исследования, связанные с генерацией возбуждения в нервной клетке, обусловленные изменением мембранного потенциала, активацией ионных каналов, переносчиков и насосов. Особое внимание будет уделено мембранной теории возбуждения нервной клетки, связанной с изменением вязкости липидов и конформации белков в различных отделах миелинового нервного волокна. Будут представлены примеры новой концепции формирования возбуждения нервной системы – регуляция возбудимости с помощью рецепторов, локализованных в клетках глиии и Шванновских клетках.

## Церебральный ганглий и нервы пиявки

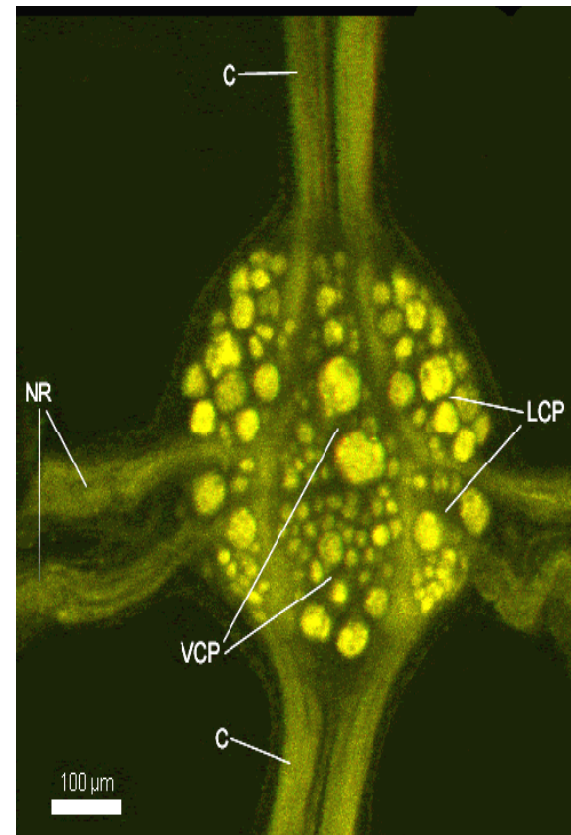
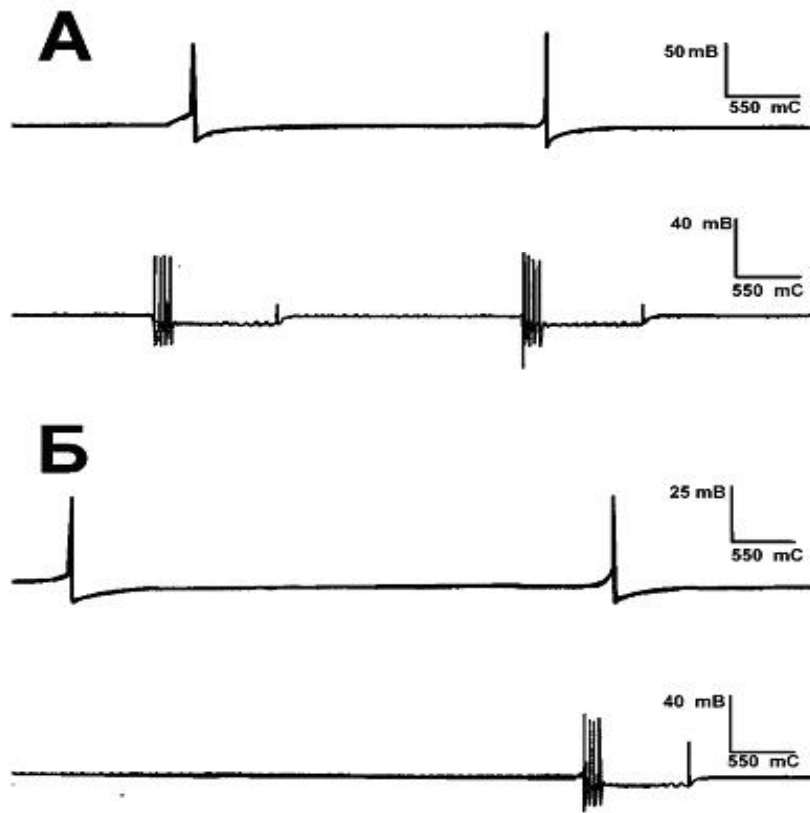


Механическая  
стимуляция

Химическая  
стимуляция

Температурная  
стимуляция

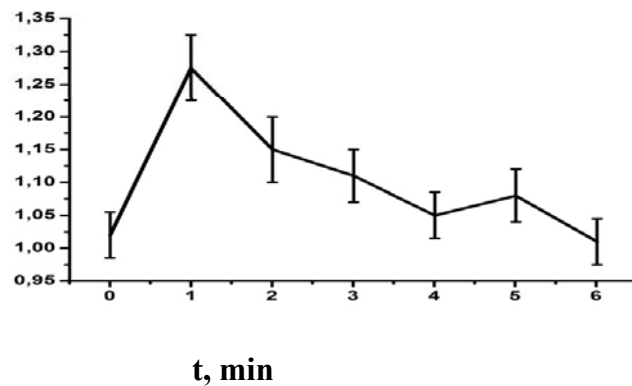
Вызванная (А) и спонтанная (Б) активность нейрона (vcp) при электростимуляции нейрона (lcp)



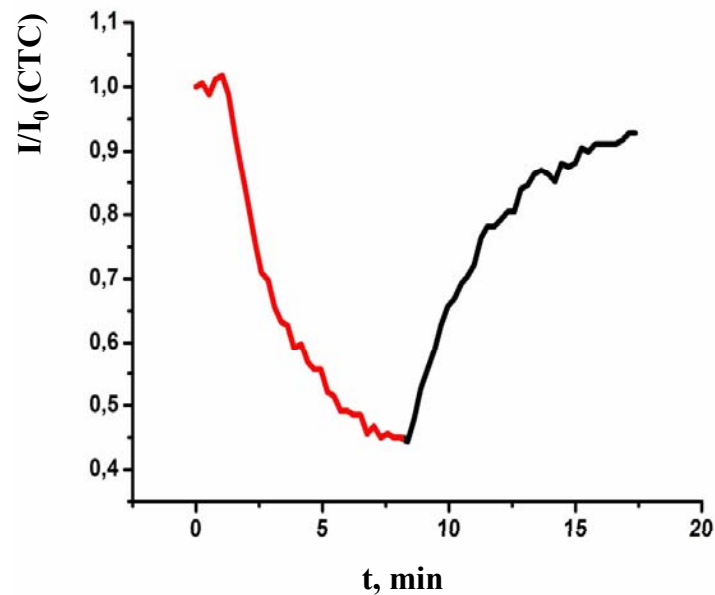
## Изменение амплитуды ПД и мембраносвязанного $\text{Ca}^{2+}$ аксона при термостимуляции



Nerve action potentials conduction

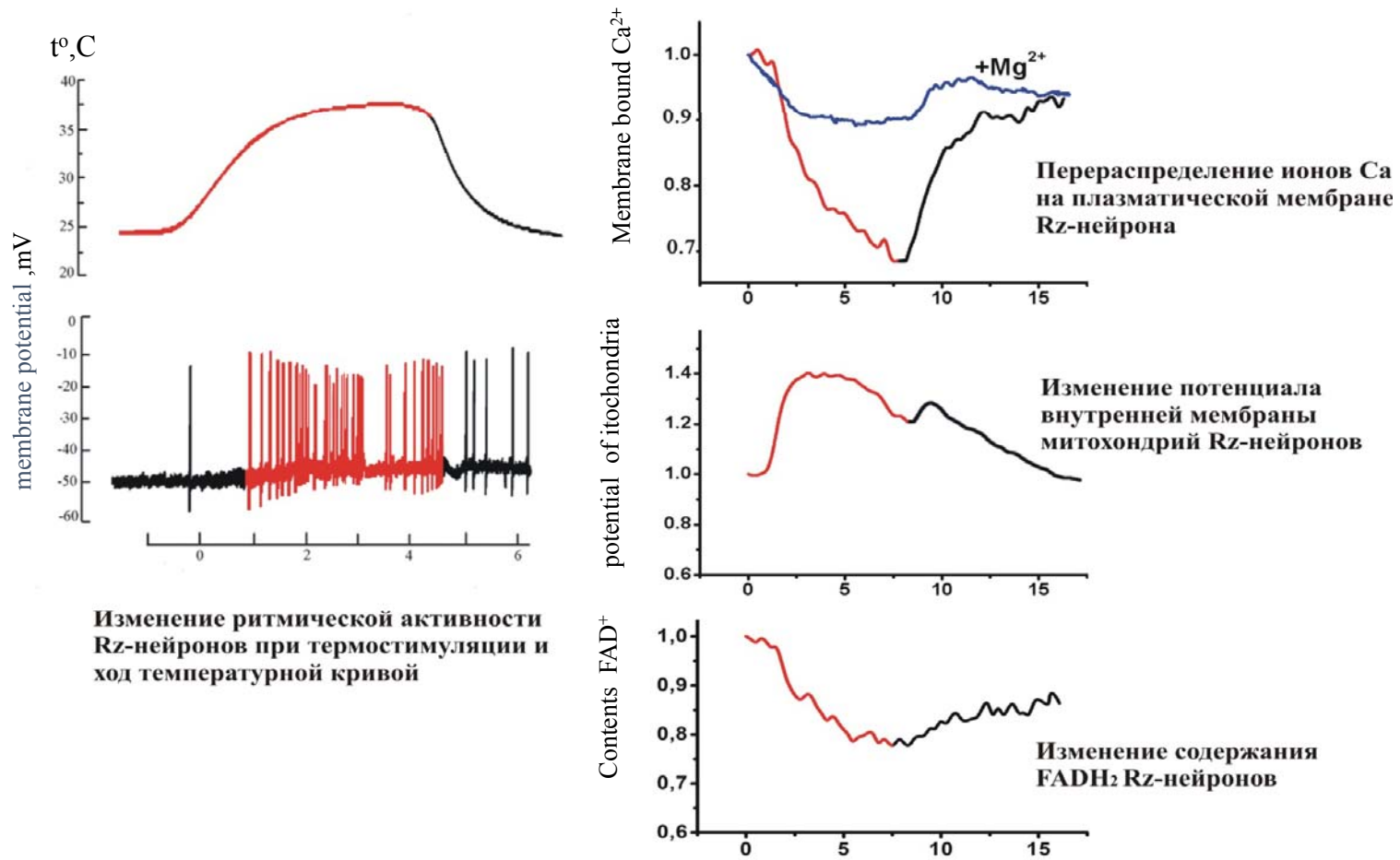


Частота следования ПД



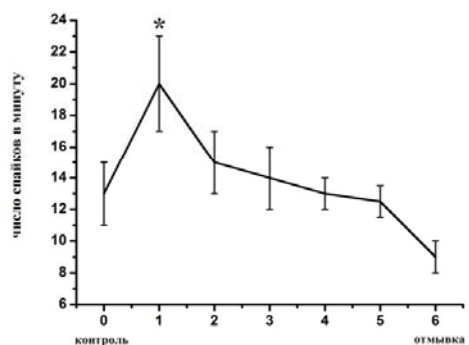
Содержание мембраносвязанного кальция при стимуляции (красный цвет)

**Изменения мембранного потенциала, поверхностного заряда (мембраносвязанный  $\text{Ca}^{2+}$ ) и потенциала внутренней мембраны митохондрии нейрона при стимуляции**

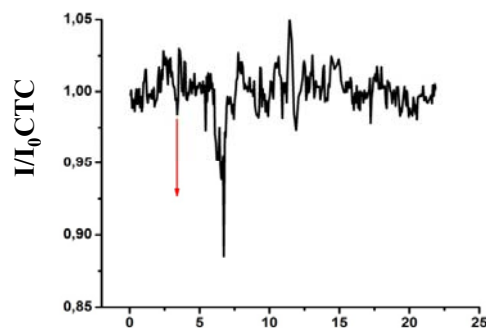


Для всех графиков по оси Ох - время, мин

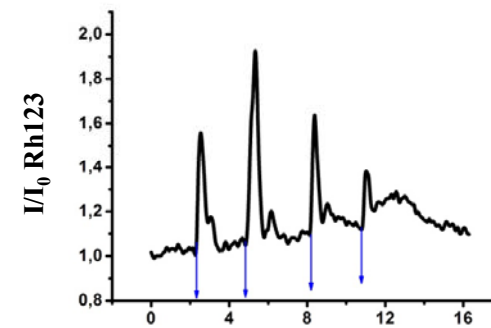
## Изменения состояния нейрона при химической (А) и механической (В) стимуляции



Часириа (imp/min) следования ПД  
**А**

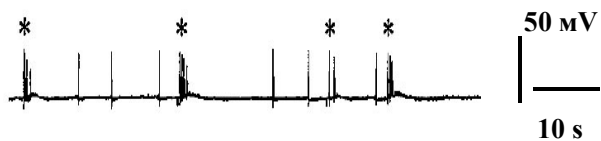


Содержание мембраносвязанного Ca<sup>2+</sup>



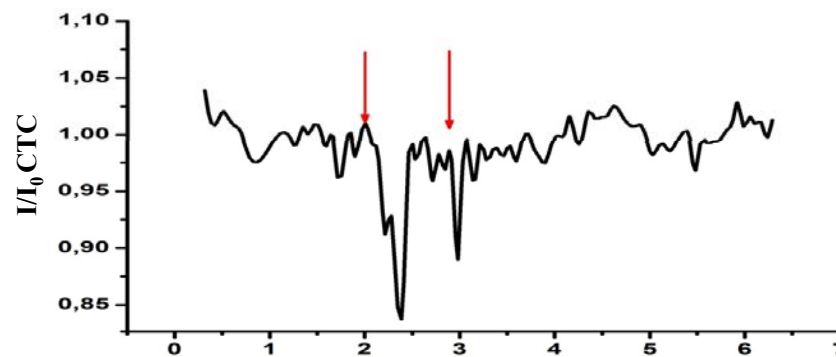
Потенциал внутренней мембраны митохондрии

## В



Частота (imp/min) следования ПД

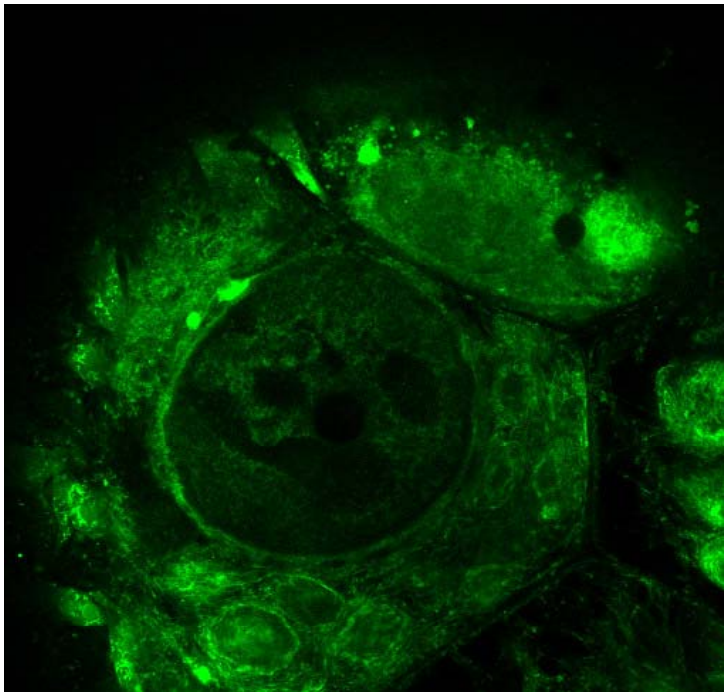
Стрелки отражают момент стимуляции



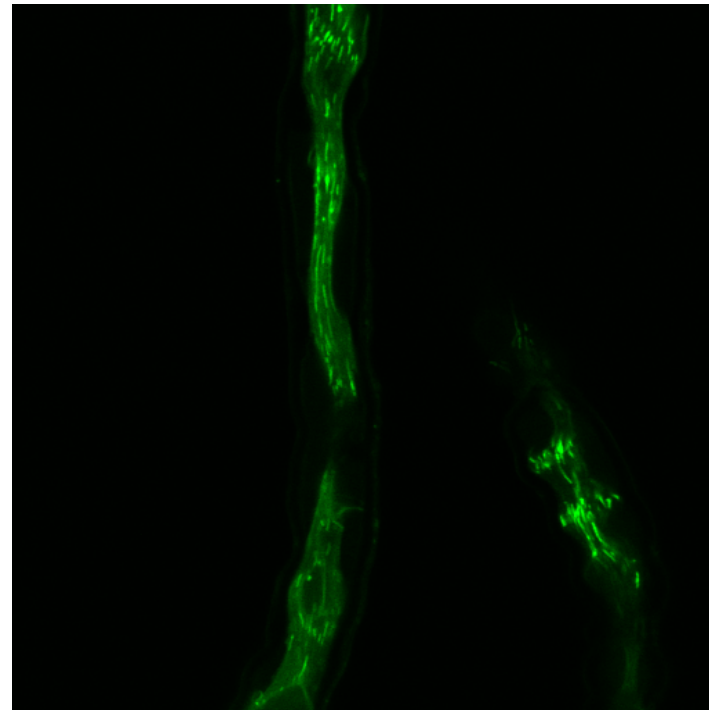
Содержание мембраносвязанного Ca<sup>2+</sup>

## Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия нервной клетки

Распределение митохондрий в  
нейронах в составе нервного ганглия  
пиявки *H. medicinalis*

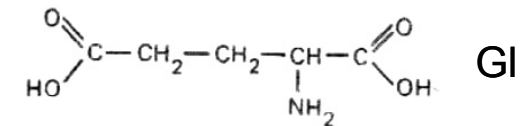
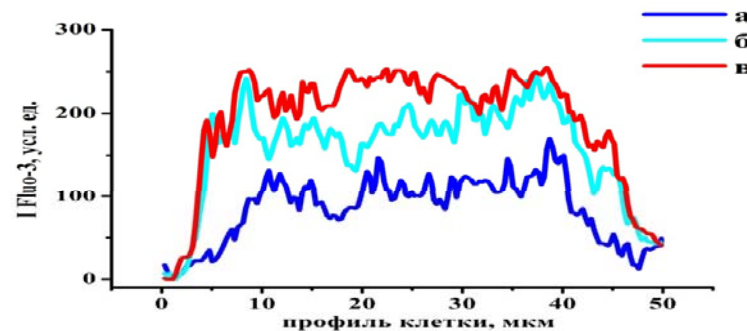


Распределение митохондрий в  
миелиновом нервном волокне лягушки  
*R. temporaria*



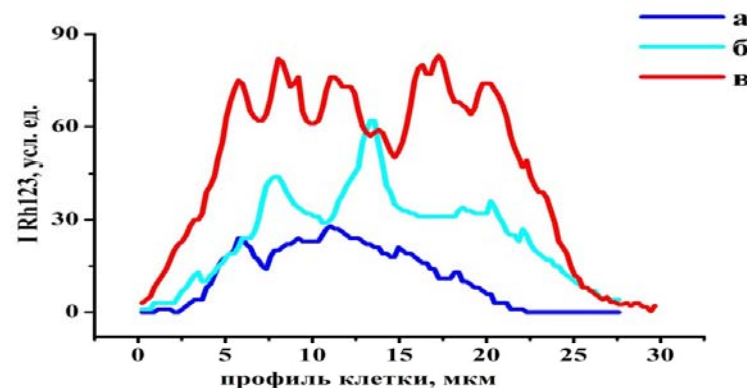
# Распределение внутриклеточного $\text{Ca}^{2+}$ (А) и потенциала внутренней мембраны митохондрии (В) вдоль нейрона (Rz) при действии глутамата

А.  $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$



GI ( $10^{-4}$  M) changes potential of Mh and it depend on localization Mh in a cell. Apparently, the given fact is connected to various  $\text{Ca}^{2+}$  influx in Mh [Collins, 2001].

В.



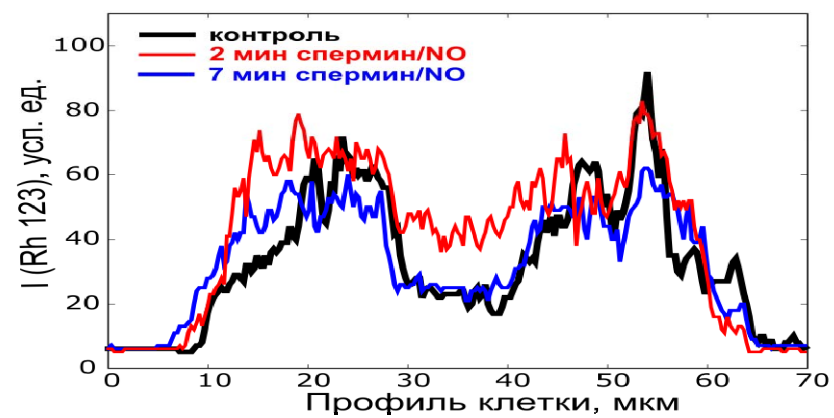
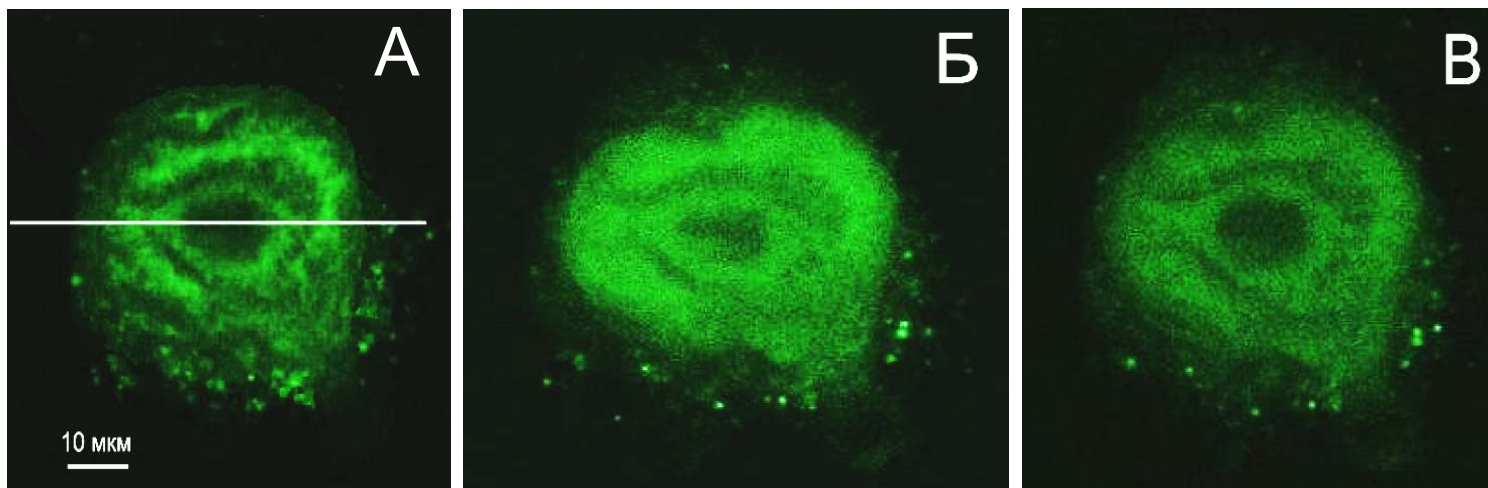


## Действие NO на распределение потенциала внутренней митохондриальной мембраны в клетке

А. Контроль

Б. 2 мин спермин/NO

В. 7 мин спермин/NO



# Мембранный потенциал и потенциал действия

## Мембранный потенциал нервной клетки

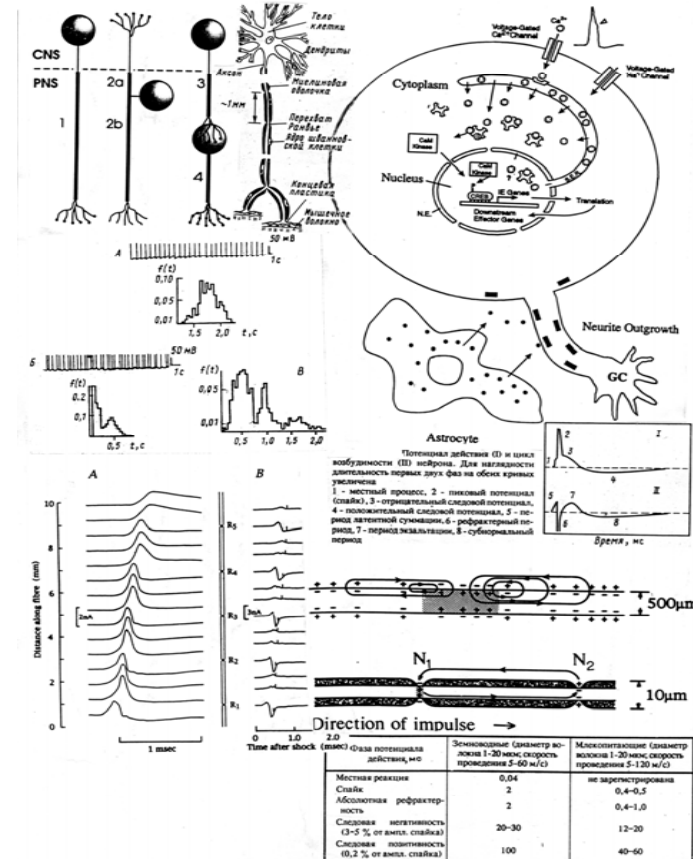
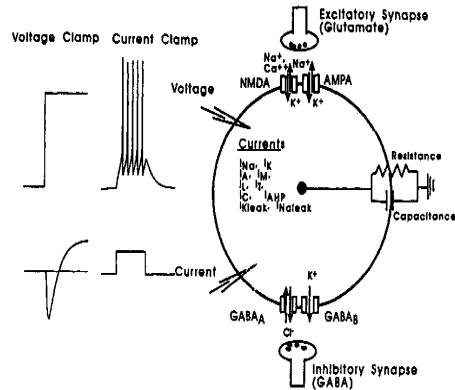
### А. Пассивный (электротонический):

1. Характеристика мембраны:  $V = IR(1 - e^{-t/RC})$ ;
2. кабельные свойства мембраны:

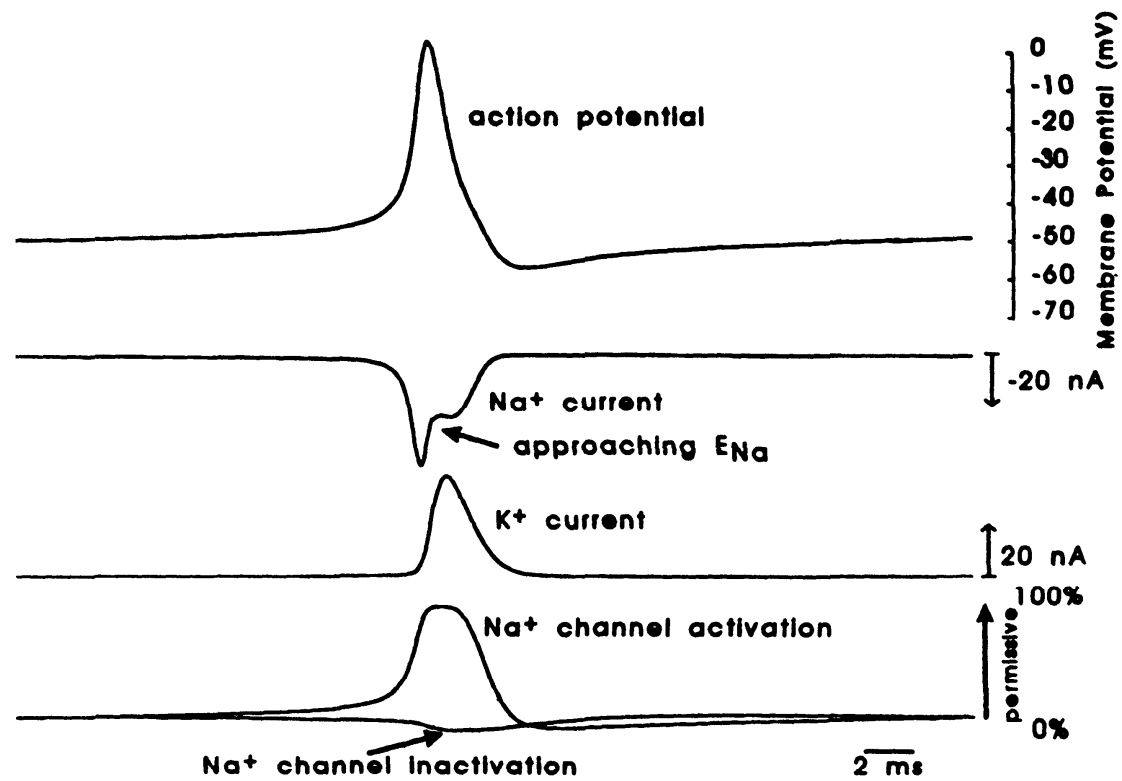
$$V(x) = V_0 e^{-x/\lambda}$$

### Б. Активный

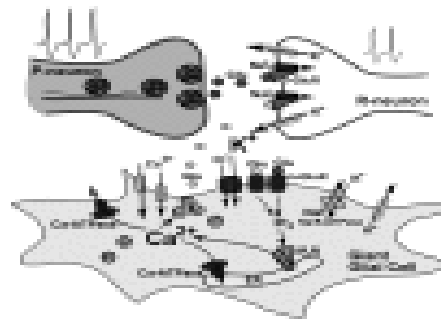
1. Локальный потенциал
2. Реперторный потенциал;
3. Постсинаптический потенциал (ВПСП, ИПСП)
4. Потенциал действия;
5. Следовая гиперполяризация
6. Следовая деполяризация



## Ионные токи и воротный механизм канала

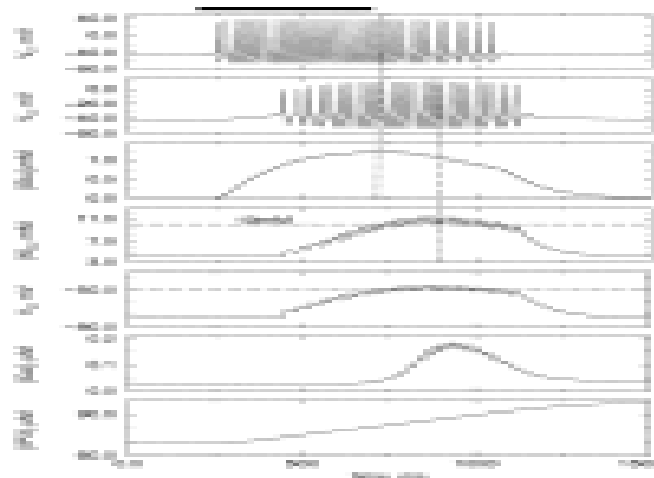


# Модель межклеточных взаимодействий



$$W \frac{d[K]_W}{dt} = (I_{KR} + I_{KG})/F - J_{\text{pump}} + \gamma_W([K]_0 - [K]_W),$$

$[K]_W$ ) - диффузия иона между компартментами экстраклеточной среды;  $W$



$$W_G \frac{d[Ca]}{dt} = \eta_{ER}(J_{cER} - J_{pER} + J_{eER}) + (1 - \eta_{ER})(J_{cM} - J_{pM}) + \gamma_G([Ca]_0 - [Ca]).$$

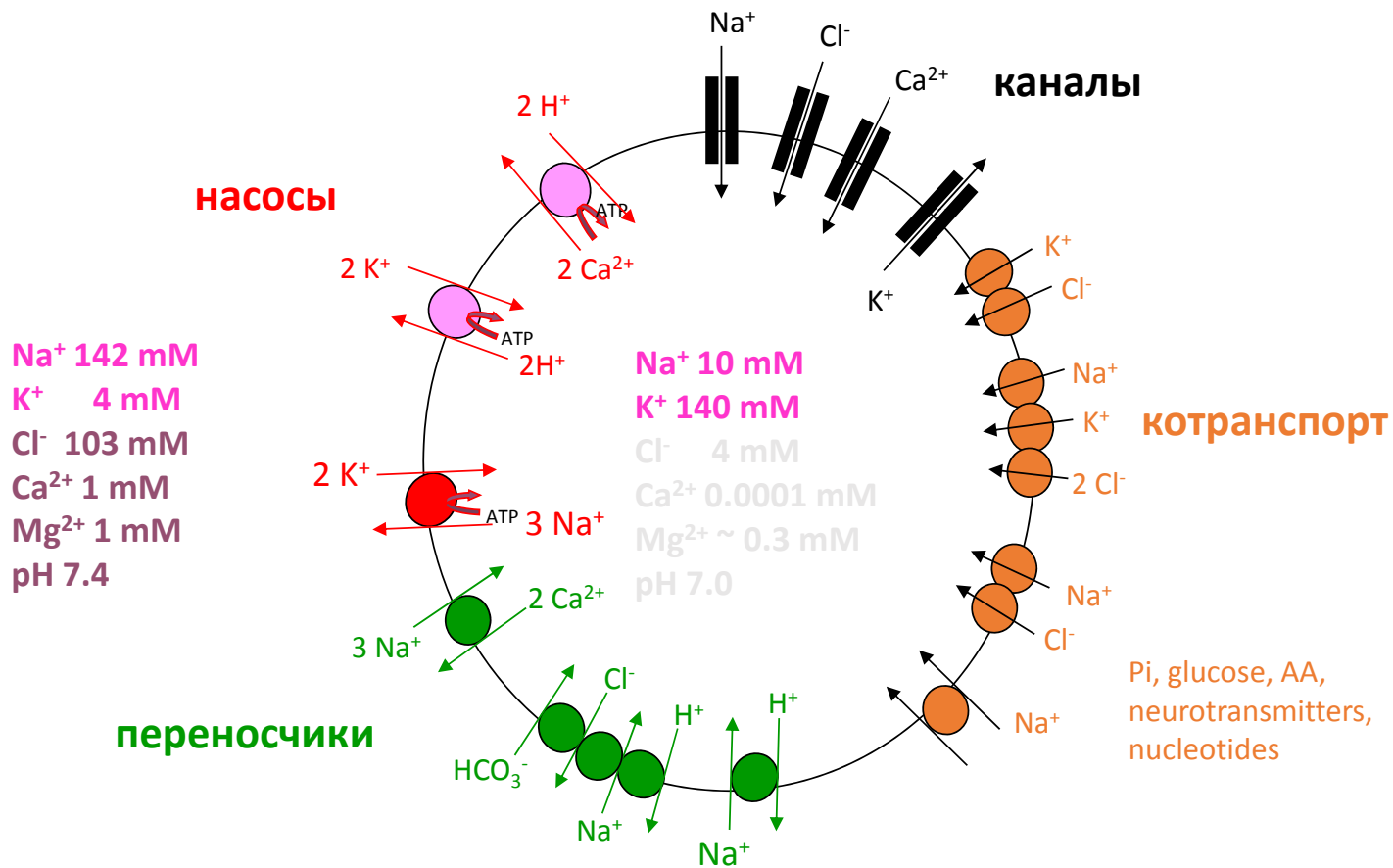
$$J_{cER} = -c_1 v_1 m_{\infty}^3 n_{\infty}^3 q^3 ([Ca] - [Ca]_{ER}),$$

$$J_{pER} = \frac{v_3 [Ca]^2}{k_3 + [Ca]^2},$$

$$J_{eER} = -c_1 v_2 ([Ca] - [Ca]_{ER}),$$

Проведение ПД от Р-нейрона регулируется как внешним сигналом, так и активностью R-клетки.

## Мембранный транспорт ионов

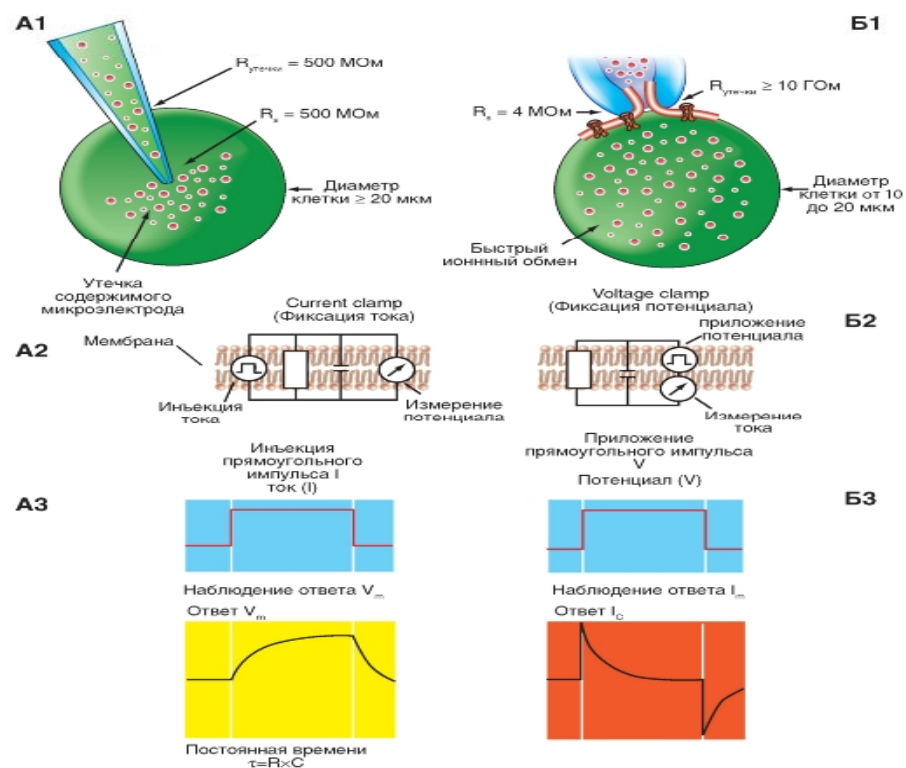


20% генома человека кодирует ионные транспортеры плазматической мембраны клеток

# Ионный канал

- *Ионный канал - это интегральный белок, образующий в мембране регулируемую пору для обмена клетки с окружающей средой ионами  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ , а также водой*

**Ионный канал - это интегральный белок, образующий в мембране регулируемую пору для обмена клетки с окружающей средой ионами  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cl^-$ , а также водой**



Сравнение методов регистрации с помощью обычного микроэлектрода (А) и с помощью *patch-пипетки* (Б)

# Функции ионных каналов

- **Потенциал-управляемые каналы** (потенциал-чувствительные, потенциал-зависимые, потенциал-активируемые, voltage-gated).
- Потенциал-зависимые натриевые каналы активируются под действием сдвига электрического потенциала мембраны, превышающего критический уровень деполяризации. Именно такого типа потенциал-управляемые натриевые и калиевые каналы обеспечивают генерацию нервного импульса (*тетродотоксин-чувствительные натриевые каналы, потенциал-активируемые К-каналы, калиевые Kdr-каналы, задержанного выпрямления, кальциевые каналы пресинаптических окончаний аксонов*).



# Структура и блокаторы Потенциалозависимого ионного канала

тетродотоксин (TTX), сакситоксин (STX), токсин морской анемоны (ATX), батрахотоксин (BTX), токсин скорпиона (ScTX), тетраэтиламмоний (ТЭА), 4-аминопиридин (4-АП)

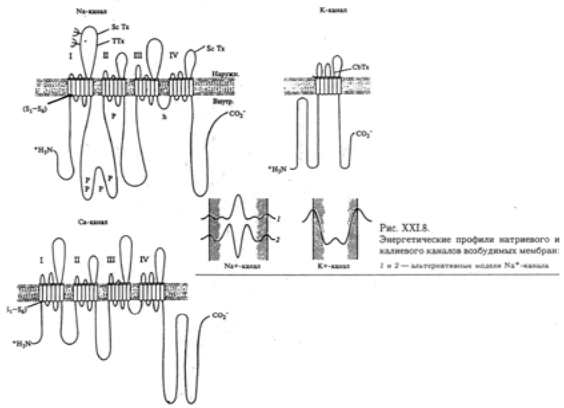
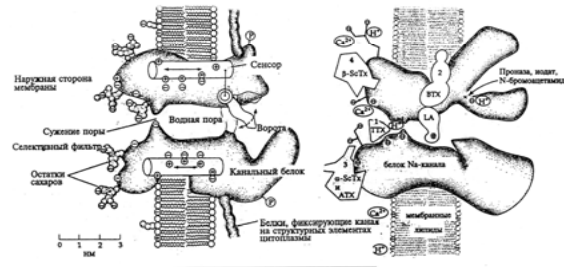
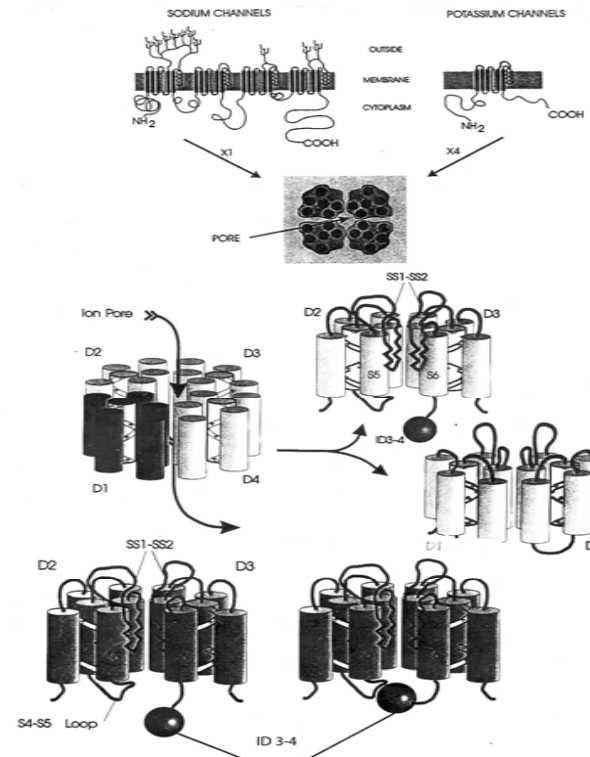
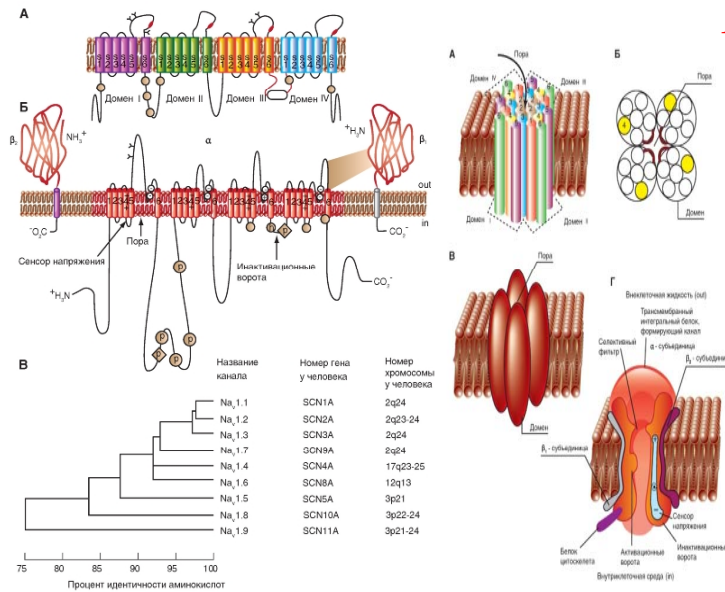


Рис. XXI.14. Предсказание топологии мембранных белков (по В. Ниле, 1992). Предполагаемое внутримембранное расположение шестидесяти пяти основных субъединиц потенциалзависимых ионных каналов. Мембранные фрагменты обозначены римскими I, II, III и IV. Показаны также участки, в которых располагаются гликолипидные группы (G), участки фосфорилирования (P), а также зоны взаимодействия с токсинами скорпиона (ScTX), харидотоксином (ChTX), сенсор напряжения (+) и функциональный блок (n), ответственный за инактивацию проводимости.



## Потенциалозависимый Na<sup>+</sup>-канал



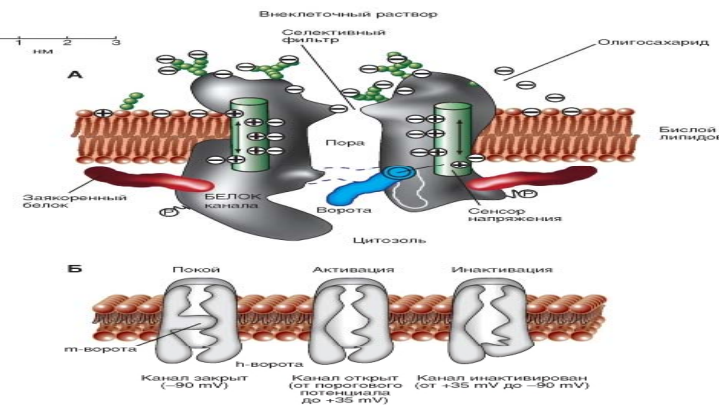
А - порообразующая  $\alpha$ -субъединица. Основные структуры  $\alpha$ -субъединицы показаны как трансмембранные цилиндры, представляющие собой  $\alpha$ -спиральные сегменты. Жирные линии демонстрируют цепи полипептида каждой субъединицы с длиной, приблизительно пропорциональной числу остатков аминокислот.  $\alpha$ -Субъединица состоит из четырех доменов (DI-DIV), каждый из которых состоит из шести сегментов (S1-S6). Сегмент S4 - предполагаемый сенсор напряжения.

Б - полная структура канала, включающая  $\alpha$ -субъединицу и  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -субъединицы. Внеклеточные участки  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -субъединиц показаны как складки.  $\Psi$  - участки вероятного гликозилирования; Р - места фосфорилирования протеинкиназой А (круги) и протеинкиназой С (ромбы); h - инактивационная частица в петле инактивационных ворот.

В - подобие последовательности аминокислот и филогенетические взаимоотношения  $\alpha$ -субъединиц потенциалуправляемых Na<sup>+</sup>-каналов. Показано сравнение аминокислотной идентичности для Na<sup>+</sup>-каналов Na<sub>v</sub>1.1-Na<sub>v</sub>1.9. Даны номер гена и номер хромосомы у человека

А - канал представляет собой трансмембранную макромолекулу с порой, проходящей насквозь через ее центр. Функциональные области ионного канала - селективный фильтр, ворота и сенсор напряжения - обнаружены в ходе электрофизиологических экспериментов.

Б - модель работы потенциалуправляемого Na<sup>+</sup>-канала, имеющего активационные (или m-ворота) и инактивационные (или h-ворота). В состоянии покоя канал закрыт вследствие закрытия активационных ворот. Смещение мембранного потенциала в положительную область (до порогового значения) вызывает открытие активационных ворот. При достижении максимального для конкретной клетки потенциала канал инактивируется, т.е. происходит закрытие инактивационных ворот

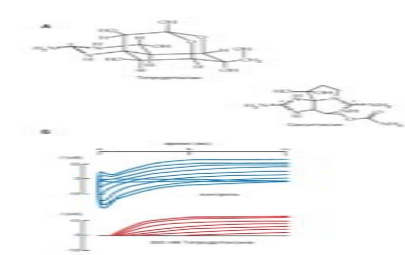
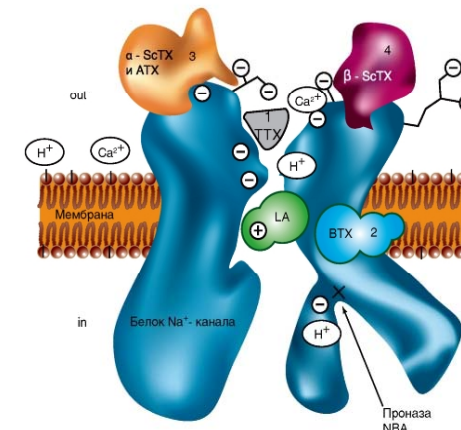


# Блокаторы натриевого канала

А - химическая структура блокаторов поры Na<sup>+</sup>-каналов - тетродотоксина и сакситоксина.

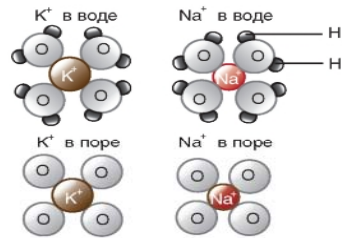
Б - типичное блокирующее действие тетродотоксина на Na<sup>+</sup>ток. Суммарный ток, включающий входящий Na<sup>+</sup>-ток и выходящий ток, возникающий при разных степенях деполяризации относительно поддерживаемого потенциала (Б1). Полное ингибирование входящего Na<sup>+</sup>-тока тетродотоксином в концентрации 300 нМ (Б2). **Аритмия, анестезия, синдром Лиддла и т.д.**

| Место связывания                               | Токсин   | Домены и сегменты                     | Физиологический эффект  |
|--|--|---------------------------------------|---|
| Место связывания 1                             | Тетродотоксин (tetrodotoxin)<br>Сакситоксин (saxitoxin)<br>μ-Конотоксин (p-conotoxin)                            | IS2-S6, IIS2-S6,<br>IIIS2-S6, IVS2-S6 | Блок ионного канала →<br>ингибирование ионного<br>транспорта  |
| Место связывания 2                             | Вератридин (veratridine)<br>Батрахотоксин (batrachotoxin)<br>Граянотоксин (grayanotoxin)<br>Аконитин (aconitine) | IS6, IVS6                             | Постоянная активация  |
| Место связывания 3                             | α-Токсины скорпиона (α-scorpion toxins),<br>Токсины морских анемонов (sea anemone toxins),<br>δ-Atracotoxins     | IS5-IS6, IVS3-S4,<br>IVS5-S6          | Медленная инактивация;<br>усиление постоянной<br>активации  |
| Место связывания 4                             | β-токсины скорпиона<br>(β-scorpion toxins)   | IIS1-S2, IIS3-S4                      | Временная повторяющаяся<br>проходящая активность и<br>блок ⇒ сдвиг<br>потенциал-зависимой<br>активации в более<br>негативные потенциалы |
| Место связывания 5                             | Бреветоксин (brevetoxins)<br>Цикуатоксин (ciguatoxins)   | IS6, IVS5                             | Повторяющаяся<br>активность; постоянная<br>активация ⇒ сдвиг<br>потенциал-зависимой<br>активации в более<br>негативные потенциалы       |
| Место связывания 6<br>?                        | δ-конотоксин (δ-Conotoxin),<br>Пиретроиды (Pyrethroids),<br>ДДТ (DDT)  | Не установлены                        | Повторяющаяся<br>активность и/или блок;<br>замедление активации,<br>инактивация и<br>деактивация  |
| Место связывания<br>для местных<br>анестетиков | Местные анестетики,<br>Антиаритмические препараты,<br>Антиэпилептические<br>препараты,<br>DPI 201-106            | IS6, IIIS6, IVS6                      | Продление потенциала<br>действия.<br>Блок ионного канала  |



**A**

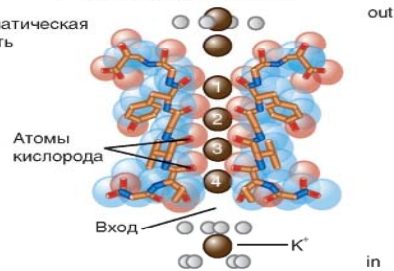
K<sup>+</sup> и Na<sup>+</sup> ионы в воде и в поре K<sup>+</sup> – канала



**Б**

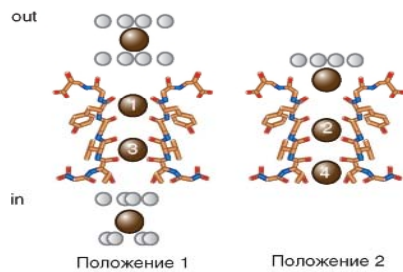
K<sup>+</sup> ионы в поре K<sup>+</sup> – канала

Экзоплазматическая поверхность



**В**

Движение ионов через селективный фильтр



## Механизмы ионной селективности и проведения ионов K<sup>+</sup> через K<sup>+</sup>-канал

Дегидратация K<sup>+</sup> за 10 нс!

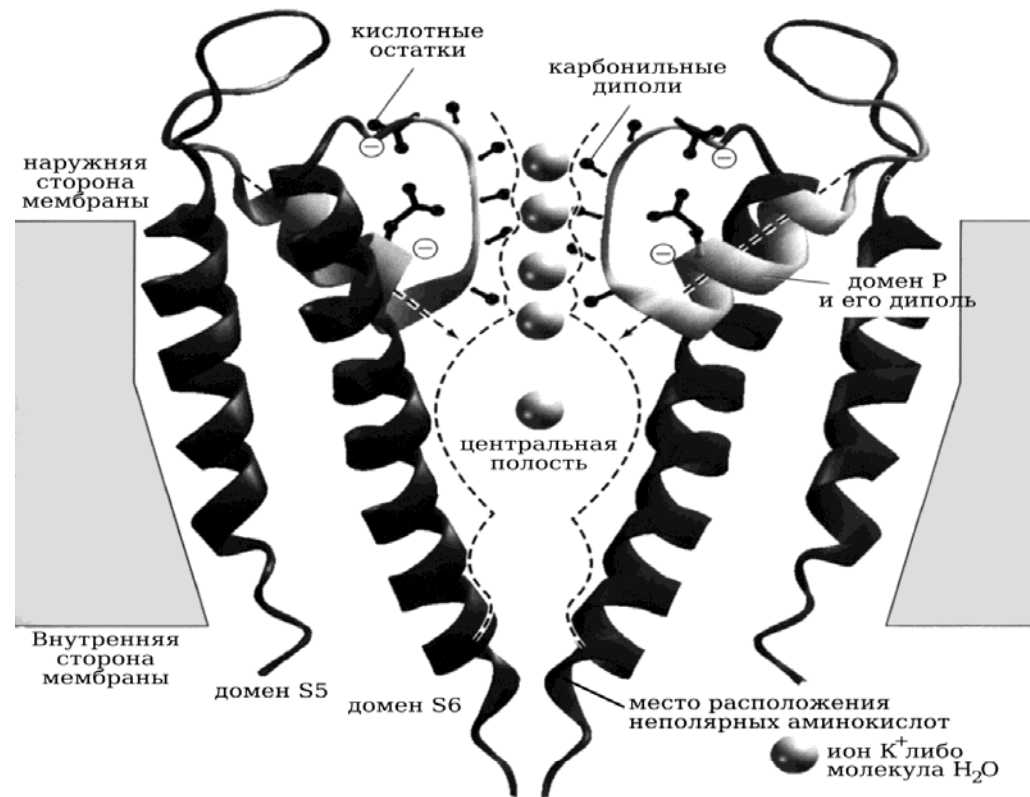
A - схема гидратированных и дегидратированных ионов Na<sup>+</sup> и K<sup>+</sup> в растворе и в поре K<sup>+</sup>-канала.

Б - схема электронной плотности, полученная с высоким разрешением методом рентгеновской кристаллографии, демонстрирует ионы K<sup>+</sup>, проходящие через селективный фильтр.

В - интерпретация карты электронной плотности, демонстрирующая два альтернативных состояния, при которых ионы K<sup>+</sup> двигаются через канал

# Движение иона в канале

$10^8$  ионов K за 1 секунду; центральная полость – 10 А



# Распределение ионных каналов и проведение ПД

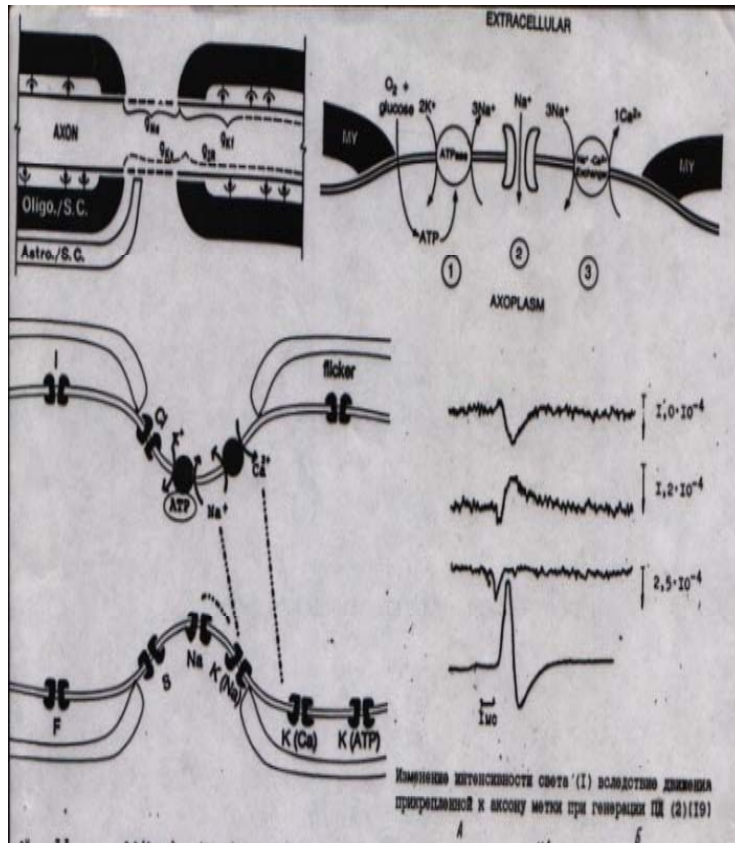


TABLE 13-1. Ionic channels in peripheral myelinated nerve\*

| Channel type | Conductance (pS) |                             |           |                         | Deactivation $\tau$ (ms) | Activation $E_{1/2}$ (mV)                       | Inactivation $\tau$ (ms)        | Blocker <sup>b</sup> $K_{1/2}$ (M) |                                    | Function <sup>c</sup>                             | References  |
|--------------|------------------|-----------------------------|-----------|-------------------------|--------------------------|---|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|-------------|
|              | Ri               | High- $K_o$                 | Paranodal | Nodal                   |                          |   |                                 | TEA                                | Other                              |   |             |
| Na           | Toad             | 7-11                        |           | 1000                    |                          | -37   |                                 | 4n TTX                             | AP rising phase                    | 1, 8, 10  |             |
|              | Rat              | 9-13                        |           |                         |                          |   |                                 | 8 $\mu$ Bup<br>LA                  |                                    |   |             |
|              | Human            | 13                          |           |                         |                          |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
| $K_v$        | Toad             | 8                           | 23        | +++                     | +++                      | 10-200  | -75 (KCl)<br>10 s (-40 mV)      | 0.6 m                              | 7 n DTX, 4-AP                      | AP repolarization                                 | 1, 4, 6-8,  |
|              | Rat              | 11                          | 33        | 30 $\mu$ m <sup>2</sup> | 5 $\mu$ m <sup>2</sup>   | (-120 to<br>-70 mV)                             | -58 (Ri)<br>24 s (+40 mV)       |                                    | MCDP, Ba,<br>Cs, Phlor, CTX        | 2nd phase<br>(cf. component f <sub>2</sub> )      | 11          |
|              | Human            |                             | 34        | +++                     | +                        |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
| $K_v$        | Toad             |                             | 30        | +++                     | +                        | 5   |                                 | 1 m                                | 4-AP; $K_v$ & $K_v$ similar        | AP repolarization                                 | 1, 6-8, 11  |
|              | Rat              | 19                          | 55        | 12 $\mu$ m <sup>2</sup> | 2 $\mu$ m <sup>2</sup>   |   | 1'                              | 140'                               | 10-100 $\mu$ (-60 mV)              | 1st phase;  |             |
|              | Human            |                             |           | ++                      | +                        |   |                                 |                                    | 3-10 m (+40 mV)                    | (cf. component f <sub>2</sub> )                   |             |
| $K_S$        | Toad             | 7                           |           | +                       | +                        |   | >10 s                           | 3-9 m                              | No Cs                              | Neuromodulation, resting potential                | 1, 8, 11    |
|              | Rat              | 10                          |           | -                       | 110 $\mu$ m <sup>2</sup> | 130'  | -76'                            |                                    |                                    |   |             |
|              | Human            | 7-9                         |           | +                       | +                        |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
| $K_{SD}$     | Human            | 18                          |           | +                       | +                        | >100  | >-100                           |                                    |                                    |   | 8           |
| $K_C$        | Toad             | 75                          | 132       | ++                      |                          | <5  | $C_{50} > 10^{-4}$ M<br>E > -50 | 0.2 m                              | No CTX                             | AP repolarization,<br>neuromodulation?            | 2, 4, 8, 11 |
|              | Rat              |                             | 249       |                         |                          |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
|              | Human            |                             | 200       |                         |                          |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
| $K_{ATP}$    | Toad             |                             | 44        | +                       |                          |   | Run-down                        | 4.2 m                              | 35 $\mu$ ATP, Glib,<br>Ba, no 4-AP | Links metab. to excitability,<br>protection of MP | 2, 5, 11    |
|              | Rat              |                             | 63        |                         |                          |   |                                 |                                    |                                    |   |             |
| $K_{Ca}$     | Toad             | 34                          | 90        |                         | ++                       | $K_{1/2} = 33$ mM<br>No<br>Na ( $\beta = 2.9$ ) |                                 | 21 m                               | Ba, Cs                             | Posttetanic hyperpolarization                     | 9           |
|              | Toad             | 19                          | 49        | +++                     | non-voltage-activated    | No  | No                              | 23 m                               | 160 n Bup, Cs, Ba, Zn,<br>LA       | Resting potential in thin fibers?                 | 3, 10       |
| Cl           | Toad             | 28 (-80 mV)<br>100 (+40 mV) |           |                         | ++                       | Skew  | -80 to +20                      | No                                 | Zn, ATP, Mg                        | Stabilizer of resting potential                   | 5           |

\*Data from sciatic nerve of *Xenopus* measured at  $15 \pm 2^\circ$  C in Ringer (Ri) or high-potassium solution (high- $K_o$ ), mammalian channels measured at  $22^\circ$  C; r and b correspond to data of rat and human channels.

<sup>b</sup>Abbreviations: AP, action potential; 4-AP, 4-aminopyridine; Bup, bupivacaine; CTX, charybotoxin; DTX, dendrotoxin; Glib, glibenclamide; LA, local anesthetic; MCDP, mast cell degranulating peptide; MP, membrane potential; Phlor, phloretin; TTX, tetrodotoxin.

<sup>c</sup>References: 1, Jonas et al. (1989); 2, Jonas et al. (1991); 3, Koh et al. (1992); 4, Koh et al. (1993); 5, Koh (unpublished); 6, Dobois (1981); 7, Bräu et al. (1990); 8, Schulz et al. (1993); 9, Koh et al. (1994); 10, Nau et al. (1993); 11, Safonov et al. (1993).

# Ca<sup>2+</sup>-канал

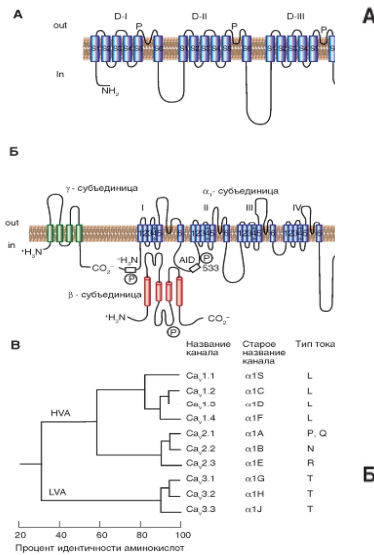
Сродство к Ca<sup>2+</sup> – 10<sup>-6</sup> M;  
 скорость транспорта 10<sup>6</sup> в секунду;  
 Ca<sup>2+</sup> - антагонисты при гипертонии

комплекс белков, образованный из α<sub>1</sub>-субъединицы и вспомогательных α<sub>2</sub>δ-, β- и γ-субъединиц.

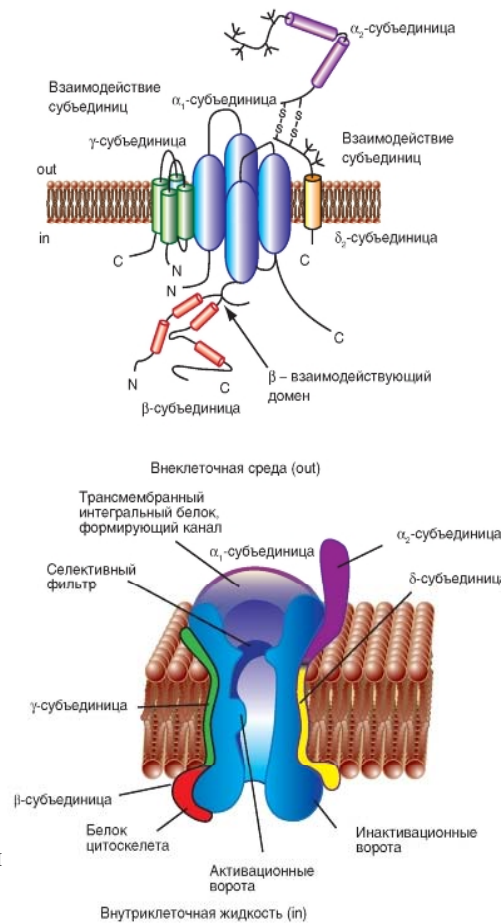
Субъединица α<sub>1</sub> формирует проводящую пору, она содержит сенсор напряжения и аппарат ворот канала. Петля между трансмембранными сегментами S5 и S6 в каждом домене определяет селективность и проводимость ионного канала. Селективный фильтр Ca<sup>2+</sup>-канала тестирует Ca<sup>2+</sup> на входе в канал.

Эти события достаточно редки по сравнению с входами ионов Na<sup>+</sup>, количество которых во внеклеточной среде примерно в 100 раз больше. Хотя ионы Ca<sup>2+</sup> и Na<sup>+</sup> имеют идентичный диаметр (2 Å), канал может выбирать Ca<sup>2+</sup> в большей степени, чем Na<sup>+</sup>, в соотношении 1000:1.

*Пора содержит специфическое место, образованное 4 P-петлями. Каждая содержит глутаминовый остаток. Атомы кислорода не от карбонильных, а карбоксильных групп аминокислот.*



А - γ-субъединица изображена как трансмембранный белок с четырьмя сегментами с внутриклеточным N- и C-концами. Первая половина γ-субъединицы взаимодействует с α<sub>1</sub>-субъединицей. Первая внеклеточная петля содержит заряженные остатки и участки гликозилирования. Определены взаимодействующие участки α<sub>2</sub>δ- и β-субъединица (β-взаимодействующий домен) с α<sub>1</sub>-субъединицей.  
 Б - модель потенциалуправляемого Ca<sup>2+</sup>-анала. Показана основная α<sub>1</sub>-субъединица, формирующая пору и дополнительные α<sub>2</sub>-, δ-, γ- и β-субъединицы

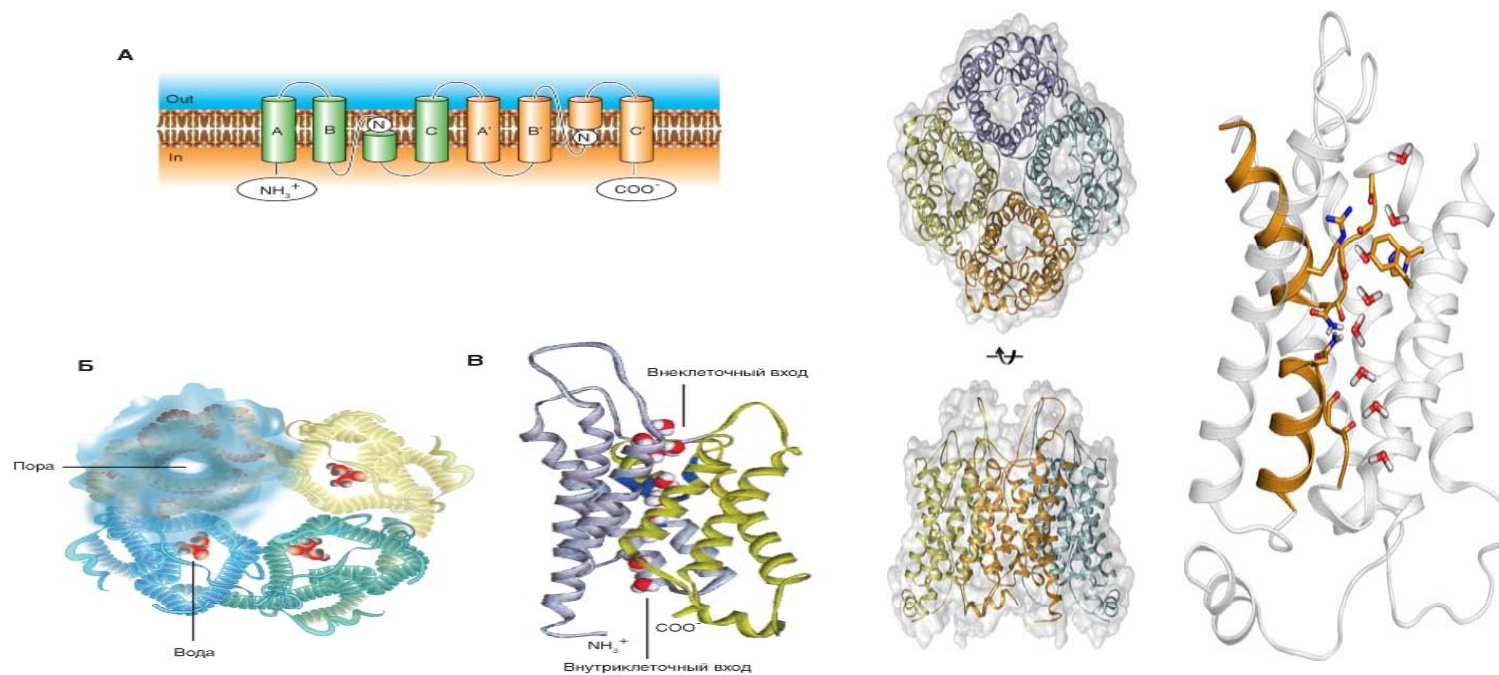


## Молекулярная организация канала для воды - аквапорина.

*Жажда, концентрирование мочи, регуляция температуры, выделение пота и слез, катаракта)*

А - структура одной субъединицы аквапорина в мембране. Б - структурная модель белка-тетрамера. В - вид поры сбоку

гомотетрамер, транспорт молекул воды за счет градиента; каждая субъединица образует пору; перенос  $3 \cdot 10^6$  молекул воды в секунду; селективность поры - ограничение размера (в узком месте 3 Å; электростатическое отталкивание (положительный аргинин)); ориентация диполей воды





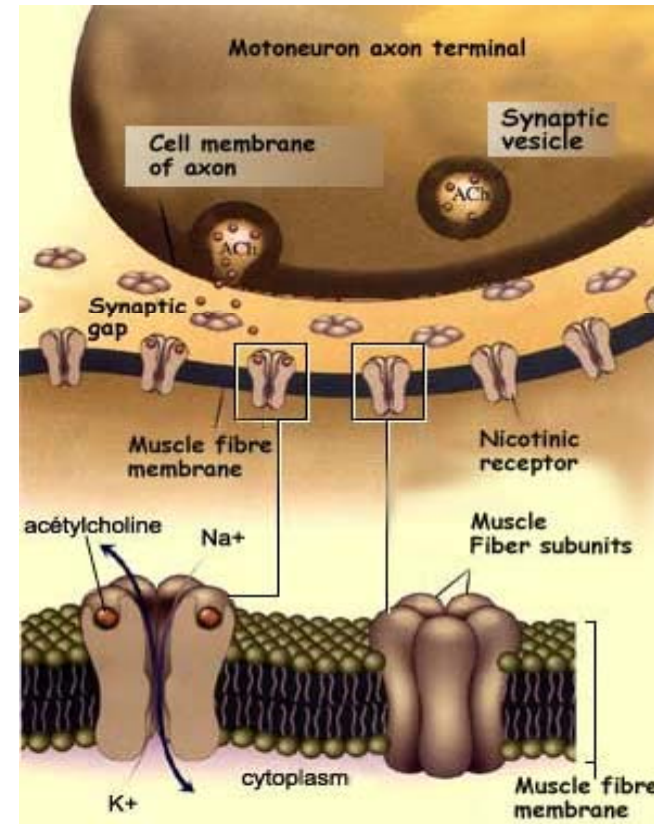
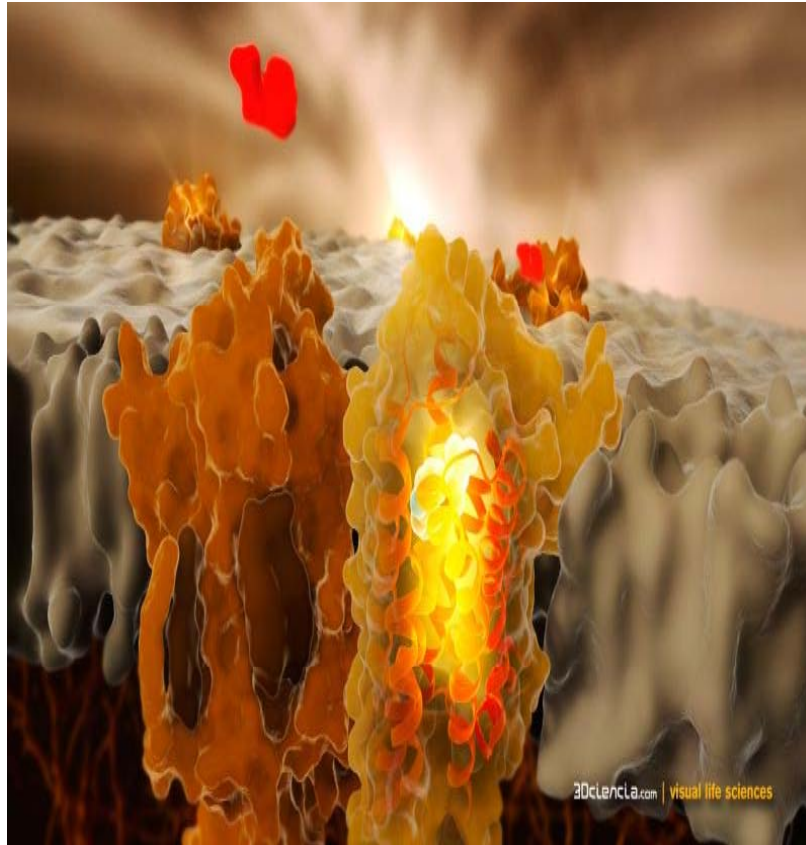
# Лиганд-управляемый канал

- А. специфичность
- 1. насыщение канала при физиологических концентрациях медиатора
- 2. локализация канала в клетках ткани, в которой наблюдается его биологическое действие
- 3. селективность лиганд специфичен для данного сайта канала
- Б. функции канала
- 1. узнавание лиганда
- 2. инициация первой стадии клеточного ответа
- ( активация канала; «вторичный мессенджер»)
- В. Действие медиатора
  - $R + L = RL = Q$  ( биологический эффект)
- Теория занятости – клеточный ответ зависит от концентрации связанных рецепторов ( аналогична М-М)
- $K_m = K_d = [R][L]/[RL]$   $Q/Q_{max} = [RL]/ [R]$   $Q = Q_{max} [L]/ K_d + [L]$
- Гипотеза « плавающего рецептора»

Активируются при связывании с рецепторным участком канала специфического лиганда. Локализованы в химических синапсах и трансформируют химический сигнал, высвобождающихся нейромедиаторов, в электрический локальный потенциал.

*Примеры: каналы с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами nAChR), серотониновыми рецепторами (5-HT<sub>3</sub>), глициновыми, ГАМК-рецепторами (GABA<sub>A</sub> и GABA<sub>B</sub>).*

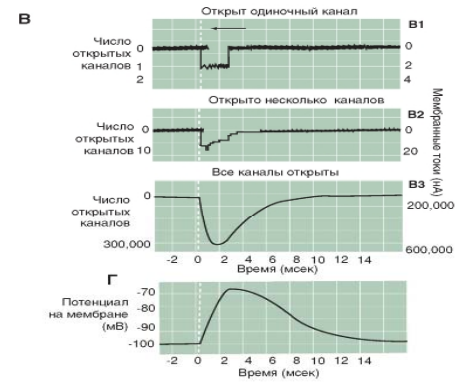
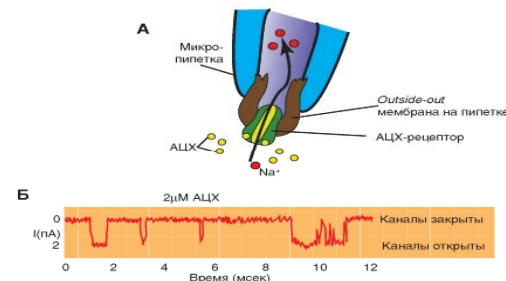
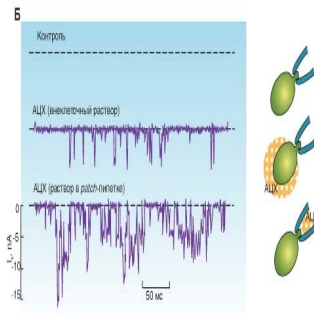
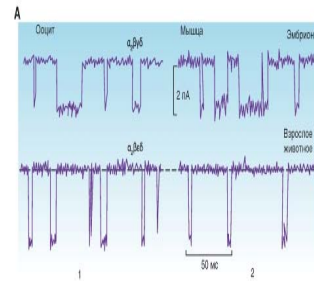
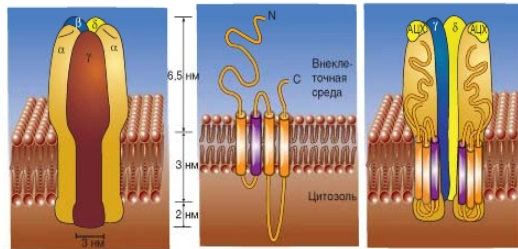
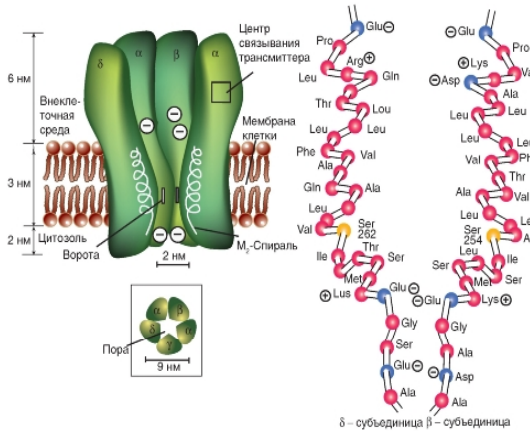
# Ацетилхолиновый канал - рецептор



# Структура n-холинорецептора и токов АХ-ионные каналы

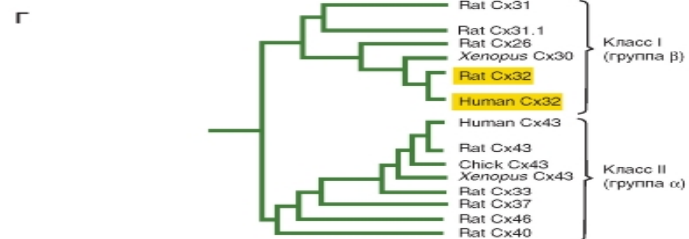
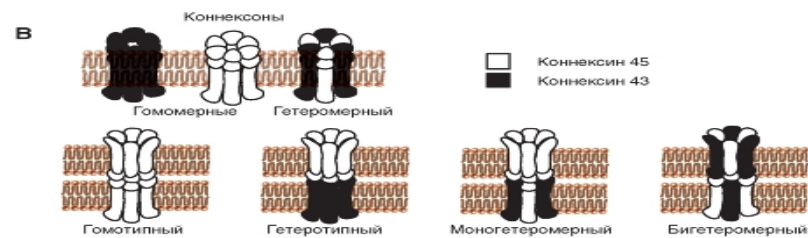
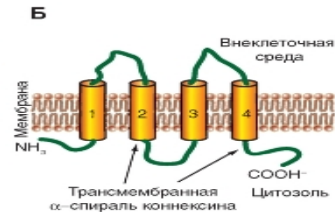
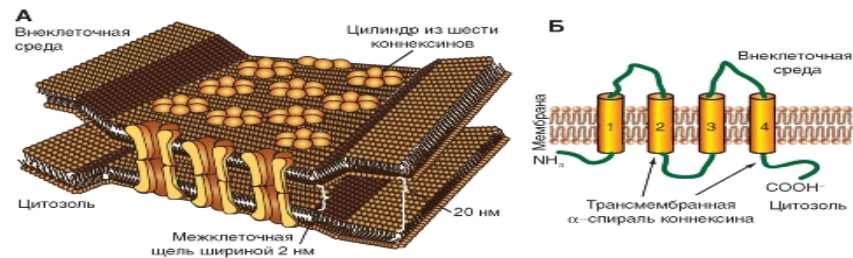
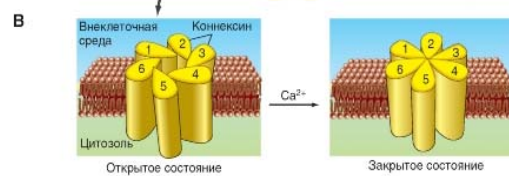
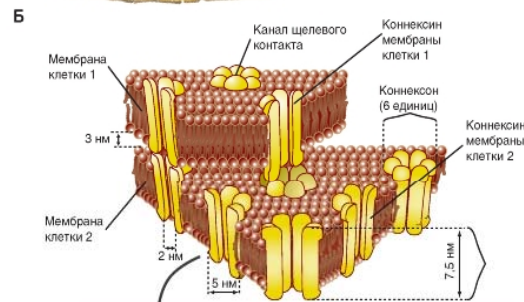
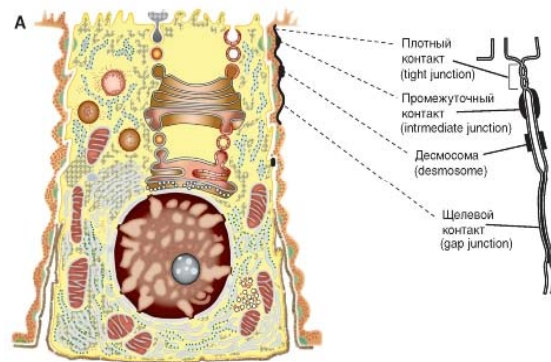
А - ток через одиночный ионный канал n-холинорецептора, экспрессированного в ооцит ксенопуса (1) и мембрану эмбриональных и зрелых мышечных клеток (2). Б - входящий K<sup>+</sup>-ток через K<sup>+</sup>-канал, активируемый АЦХ (регистрация в конфигурации *cell-attached*)

**Активация ацетилхолинового рецептора - ионотропного одиночного ионного канала в нервномышечном синапсе**



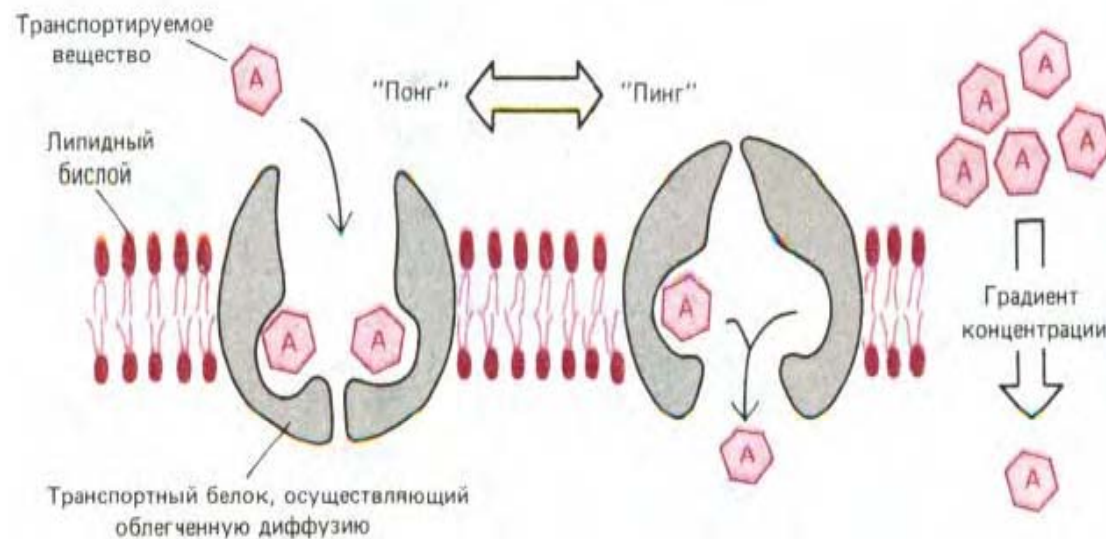
# Межклеточные контакты и структура щелевого контакта.

А - типы межклеточных контактов. Б - модель структуры щелевого контакта, включающая липидный бислой двух соседних клеток, содержащий коннексоны, каждый из которых построен из шести коннексинов. В - в увеличенном виде представлено открытое и закрытое состояние канала коннексона

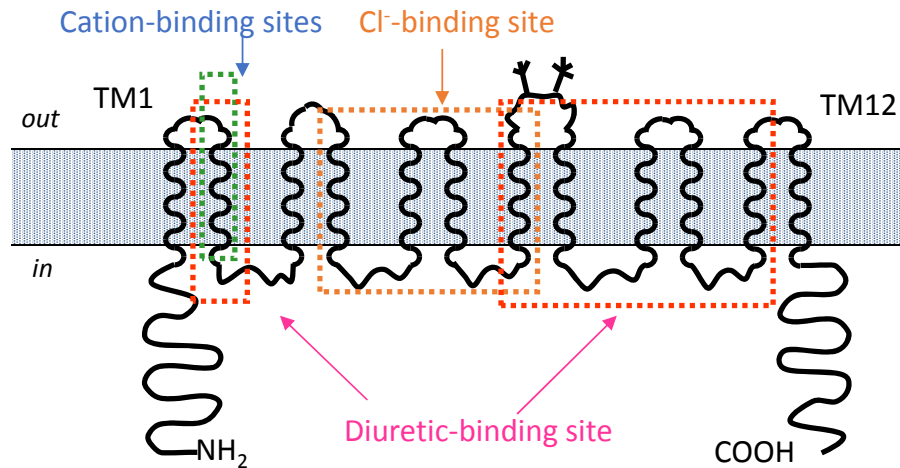


# Модель работы белка-переносчика

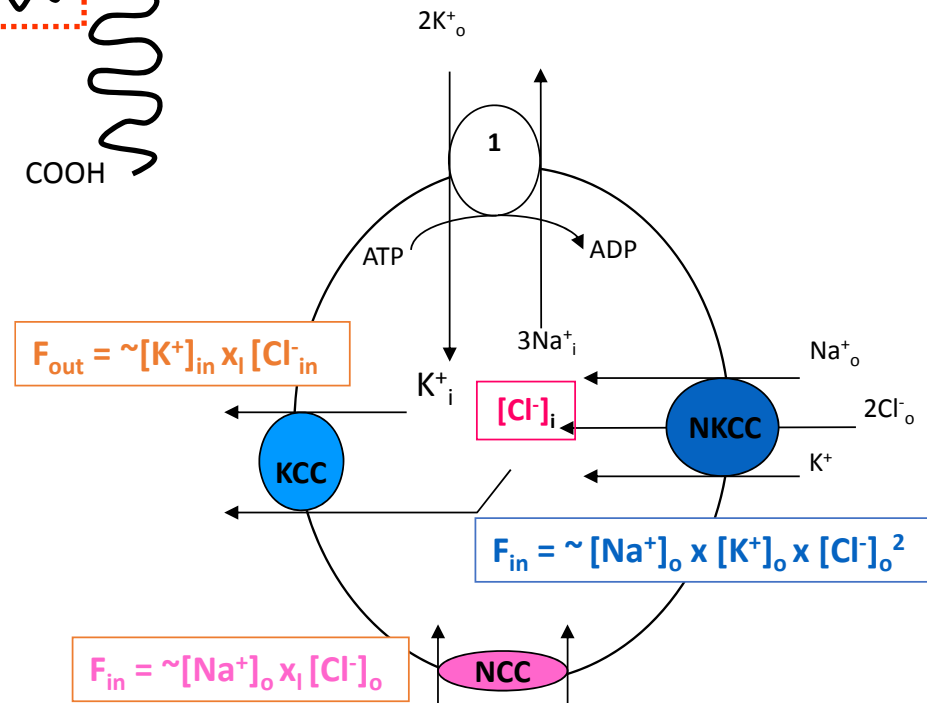
Белок-переносчик может существовать в двух конформационных состояниях: в состоянии «понг» участки связывания для А открыты с наружной стороны бислоя; в состоянии «пинг» те же участки оказываются открытыми с другой стороны. Переход между двумя состояниями осуществляется случайным образом и полностью обратим. Поэтому при более высокой концентрации А с наружной стороны бислоя с белком-переносчиком будет связываться большее число молекул А в состоянии «понг», что приведет к транспорту вещества А по градиенту его концентрации.



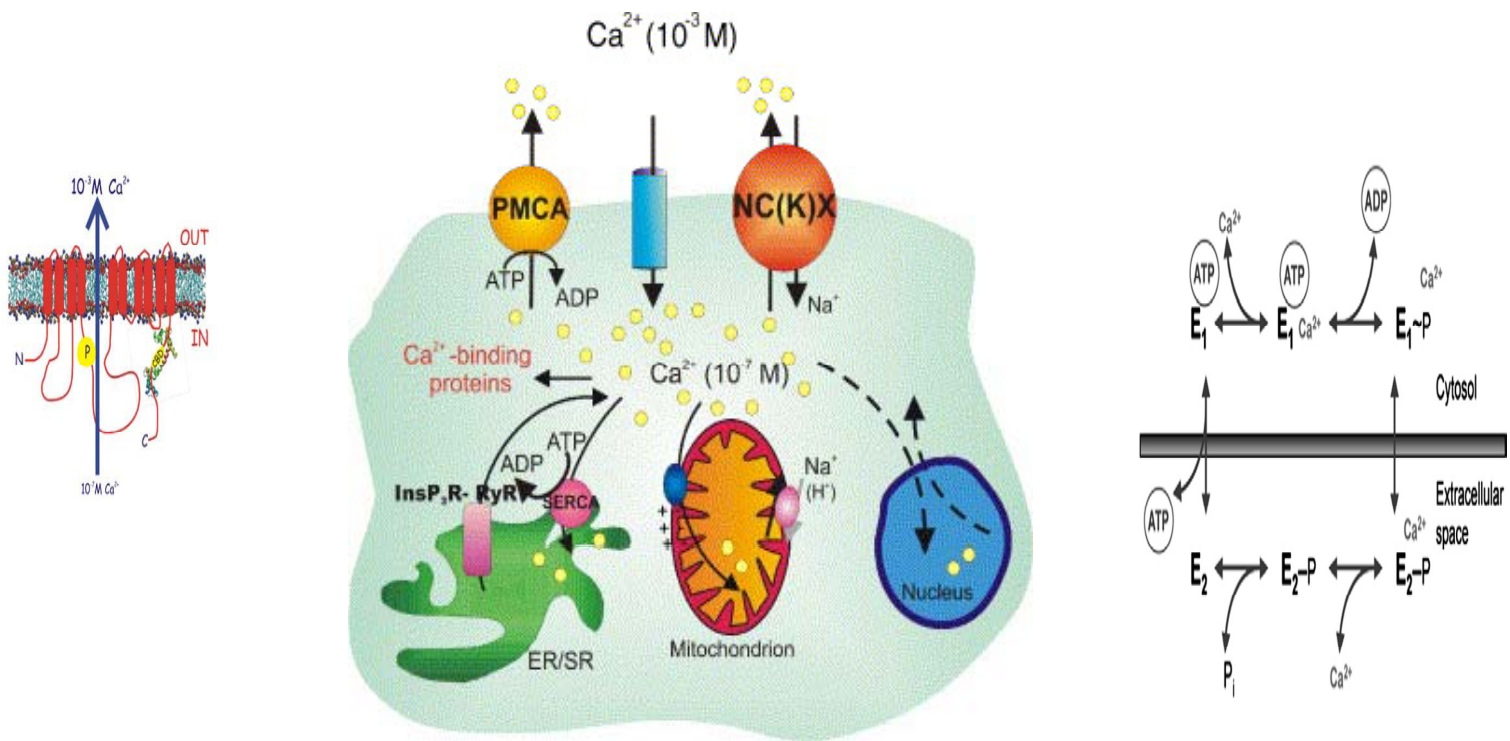
# Структура и функция Cl<sup>-</sup> зависимых переносчиков (CCCs)



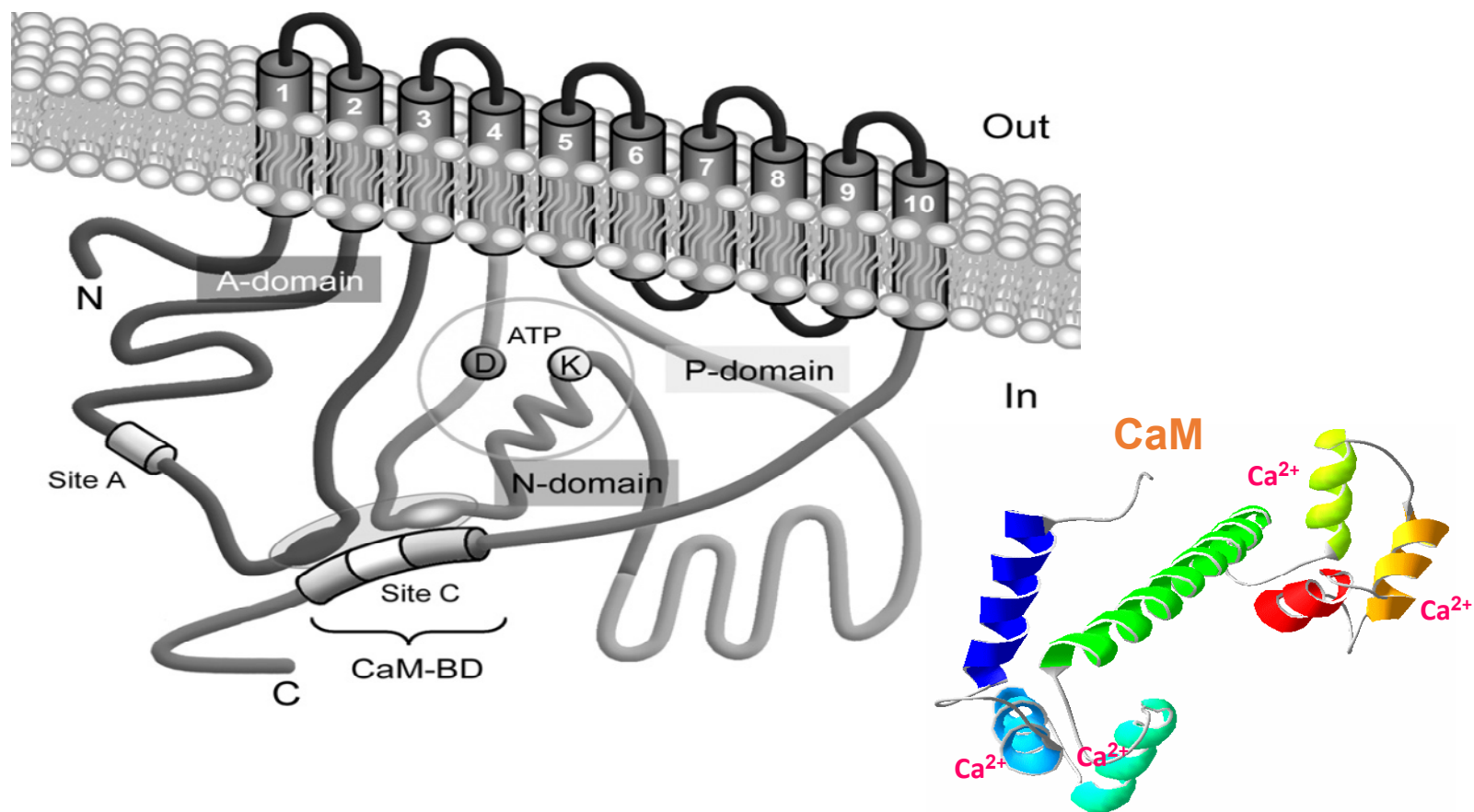
- NKCC1** – ubiquitous
- NKCC2** – renal epithelial cells
- NCC** – renal epithelial cells
- KCC1, KCC3** – ubiquitous
- KCC2** – neurons
- KCC4** – epithelial cells



## Na/Ca –переносчик (NC(K)X) и Ca<sup>2+</sup>-АТРаза (PMCA) плазматической мембраны

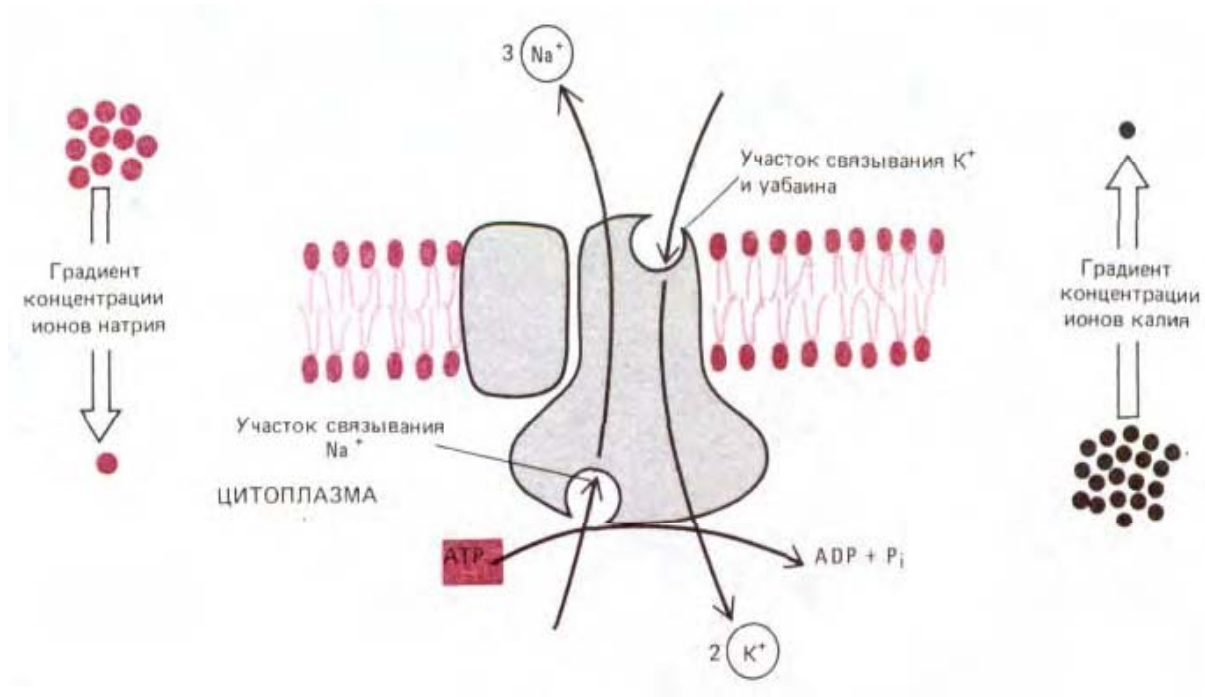


Са-АТФ-аза плазматической мембраны регулируется калмодулином (CaM)

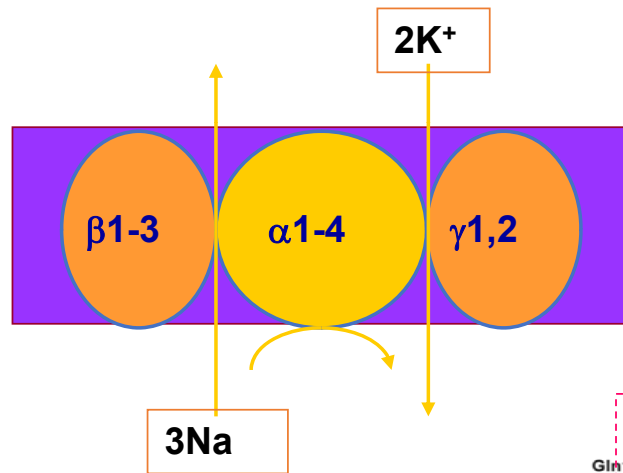




# Натриевый насос - Na/ K-АТРаза



# Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТРаза и оубаин



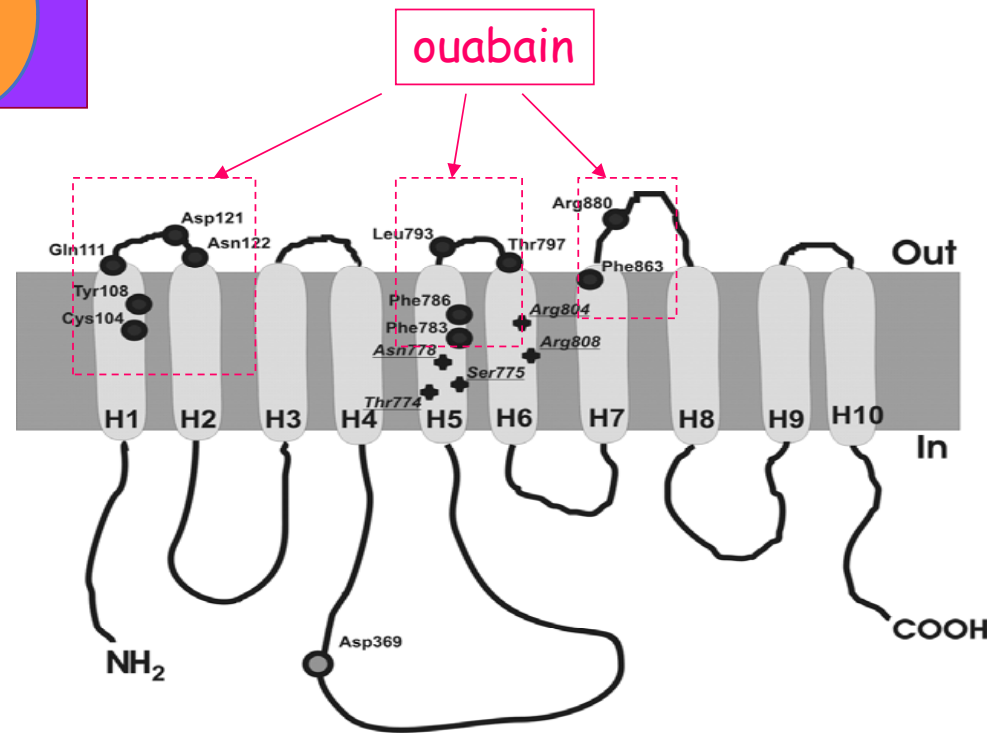
## Number of copies

human erythrocytes ~10<sup>3</sup>/cell

duct salt glands ~3 · 10<sup>7</sup>/cells

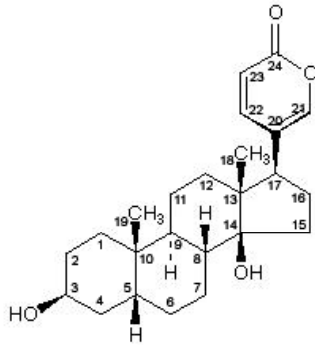
## maximal turnover rate

100 cycles per sec

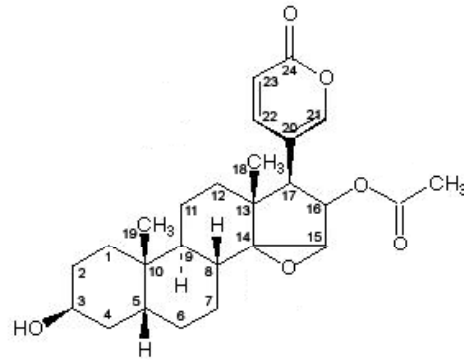


## Bufadienolides

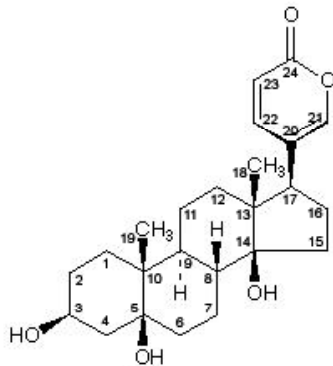
**Bufalin**



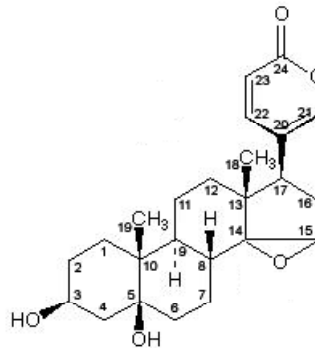
**Cinobufagin**



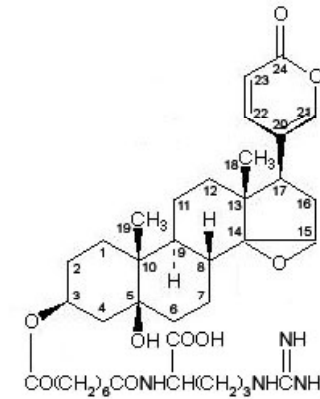
**Telobufotoxin**



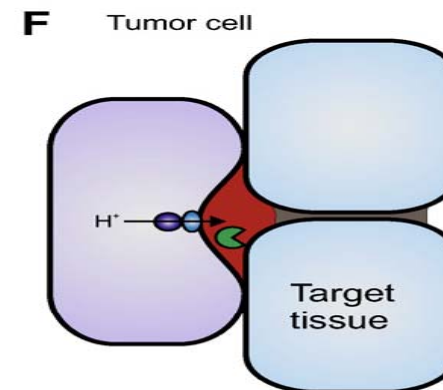
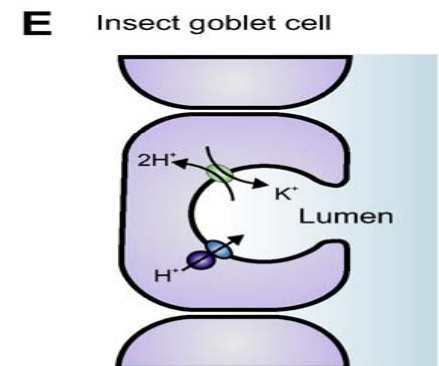
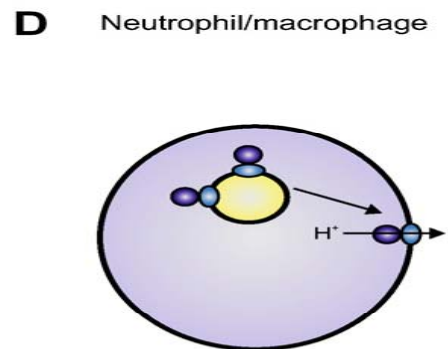
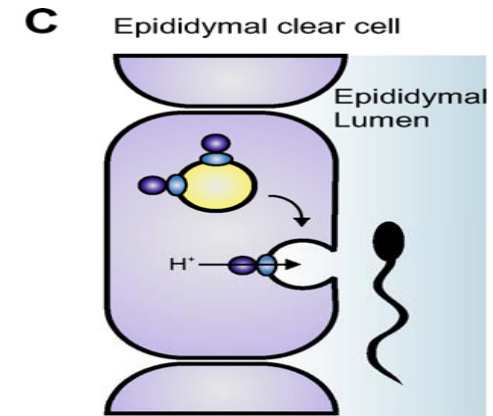
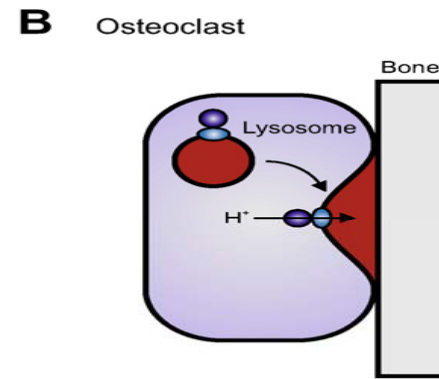
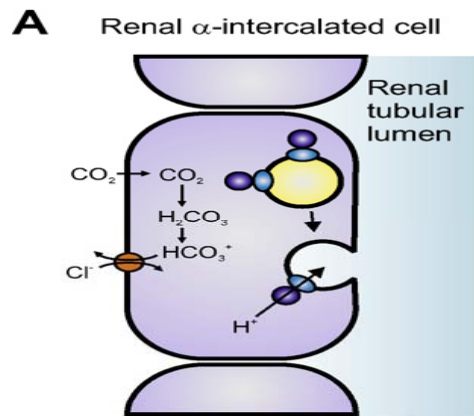
**Marinobufagenin**



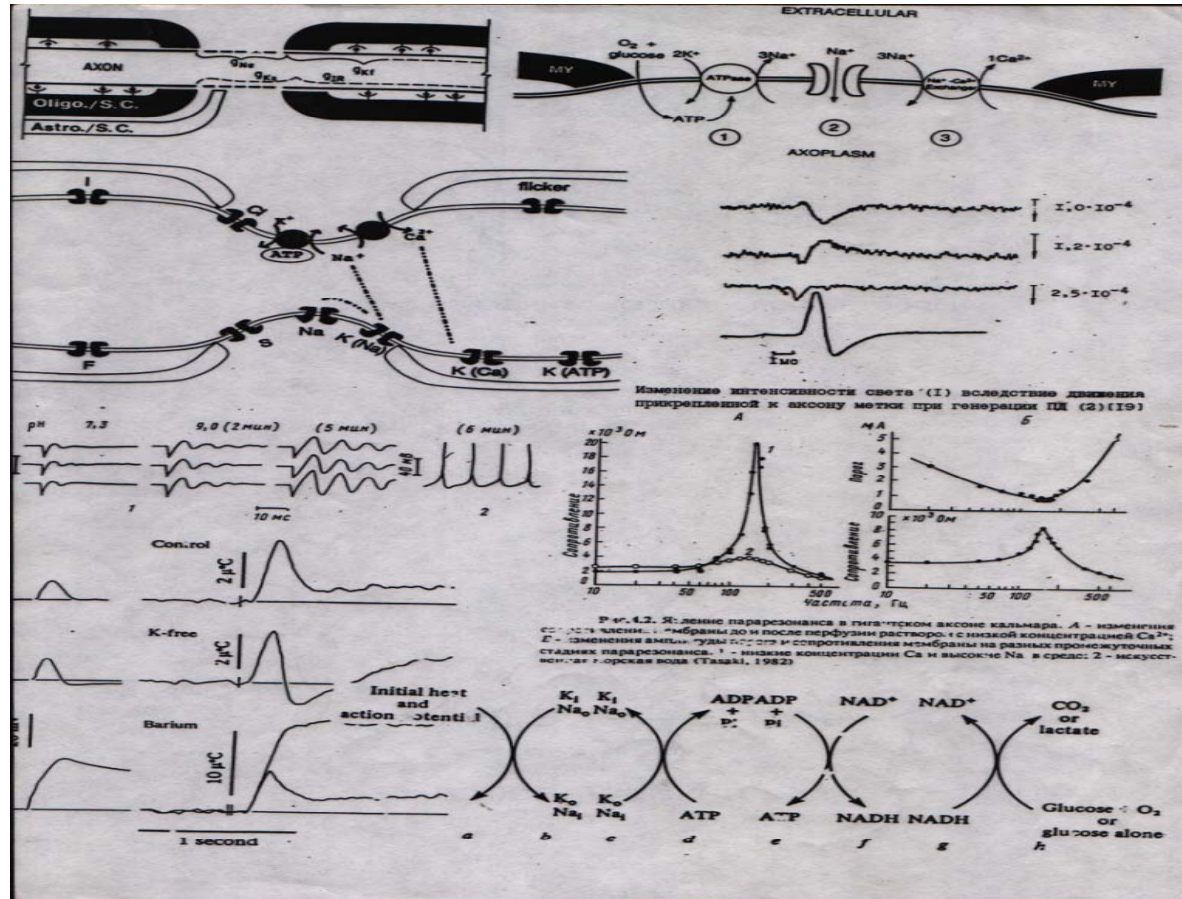
**Marinobufotoxin**



# Протонная помпа - $H^+$ -АТФаза в клетках



# Физико-химические изменения в аксоне при потенциале действия

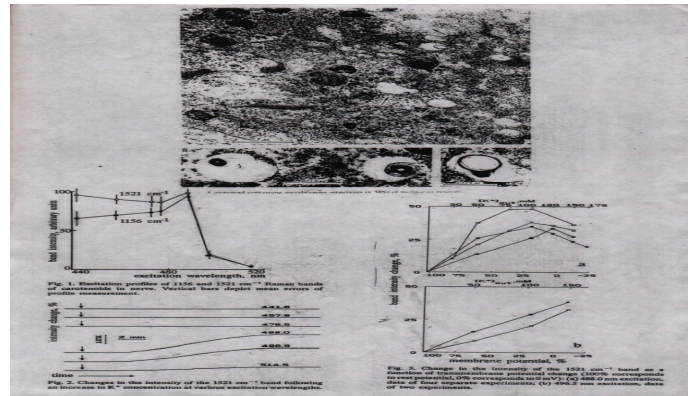
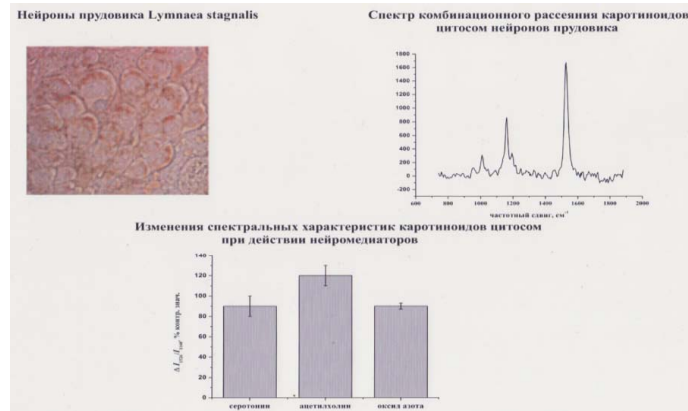
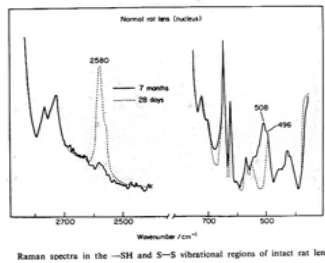
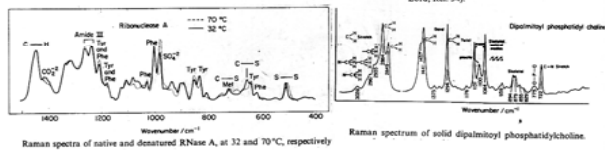
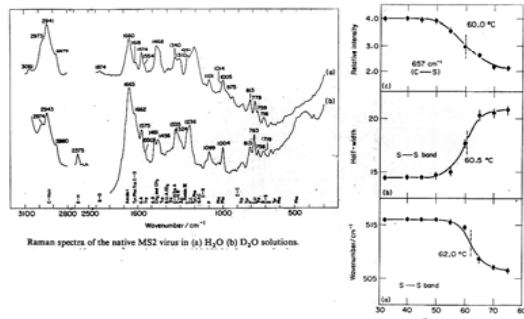


## Физико-химические свойства мембраны в различные фазы ПД

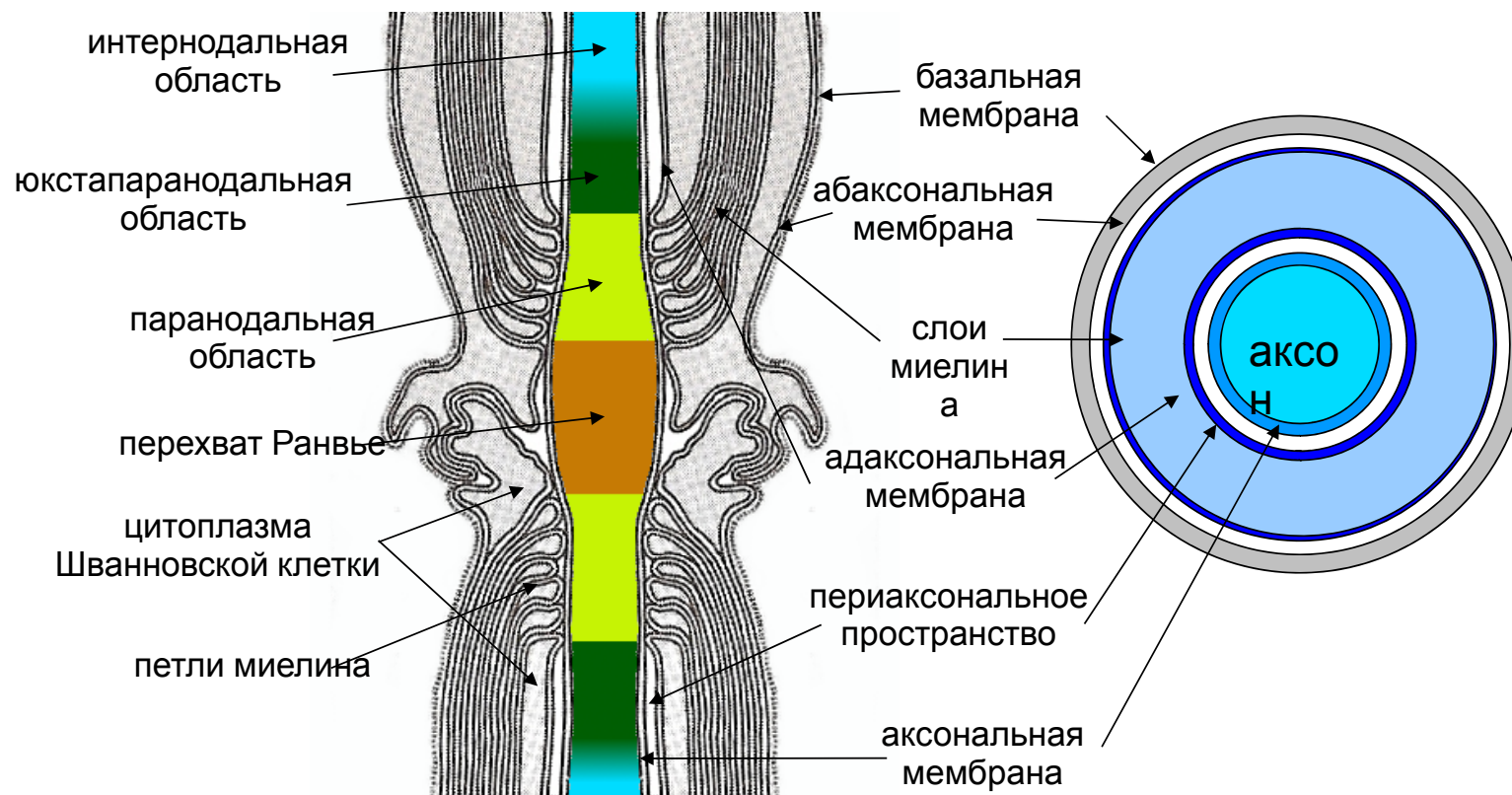
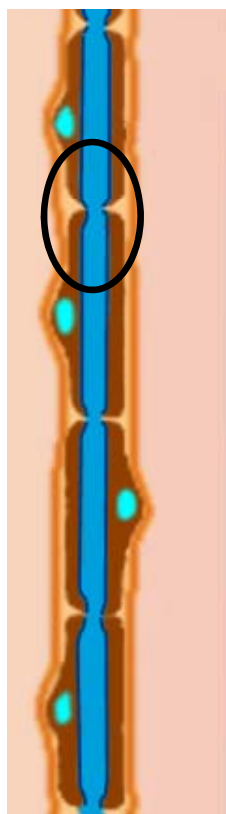
| Физический процесс   | Фаза потенциала действия        | Возможные изменения мембраны  |
|--|---------------------------------|---|
| Положительная теплопродукция, 10-12 мккал/г за 25 мсек.                              | деполяризация                   | Уменьшение энтропии и увеличение упорядоченности компонентов мембраны |
| Усиление рассеяния света (под углом 90 °) за мкс                                     | деполяризация                   | Увеличение вязкости липидов   |
| Уменьшение рассеяния света ( под углом 10-25 °) за 25 мс                             | деполяризация                   | Увеличение гидратированности мембранных белков                        |
| Ослабление интенсивности поляризованного света за 40 мс (увеличение $n_o - n_{но}$ ) | деполяризация                   | Увеличение толщины или ориентированности белков мембраны              |
| Увеличение интенсивности поляризованного света за 2 мс (снижение $n_o - n_{но}$ )    | гиперполяризация                | Дислокация белков в мембране  |
| Перераспределение зарядов в мембране(воротный ток), 0,13 пкА/ мк <sup>2</sup>        | Изменение проводимости мембраны | Конформационные изменения: перемещения фиксированных заряженных групп |

# Физико-химические свойства аксолеммы

## Анализ спектров комбинационного рассеяния белков и липидов



# Строение миелинового нервного волокна





# Морфология и структуры нервной клетки

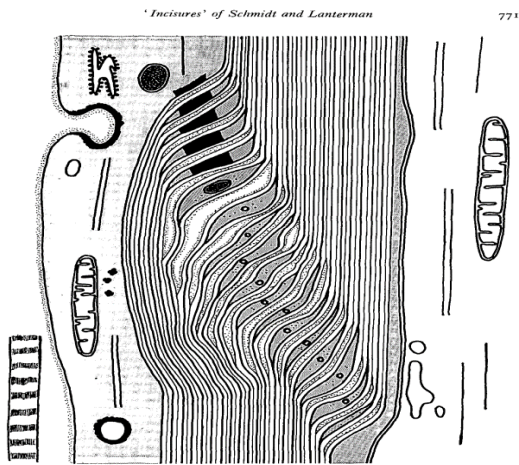
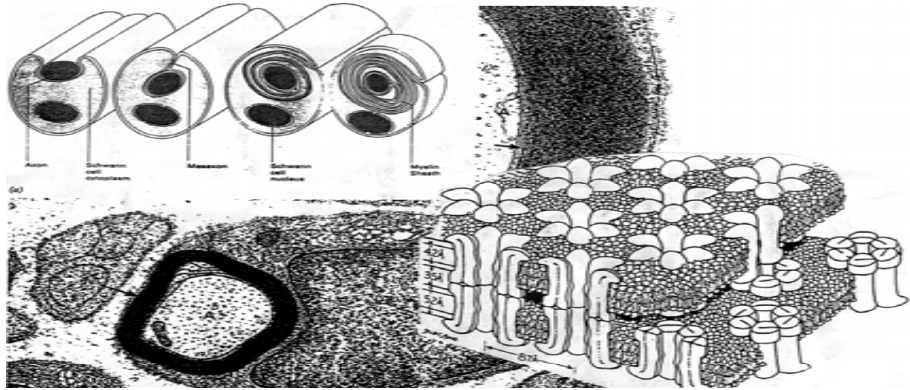
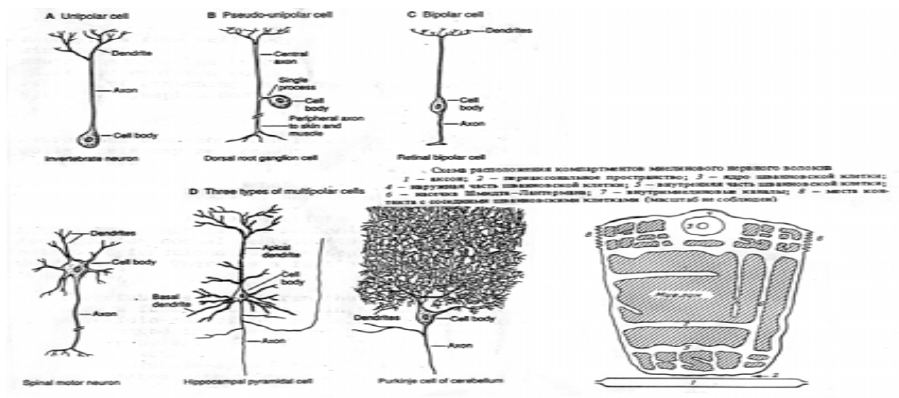
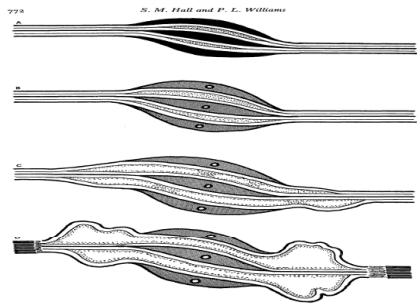
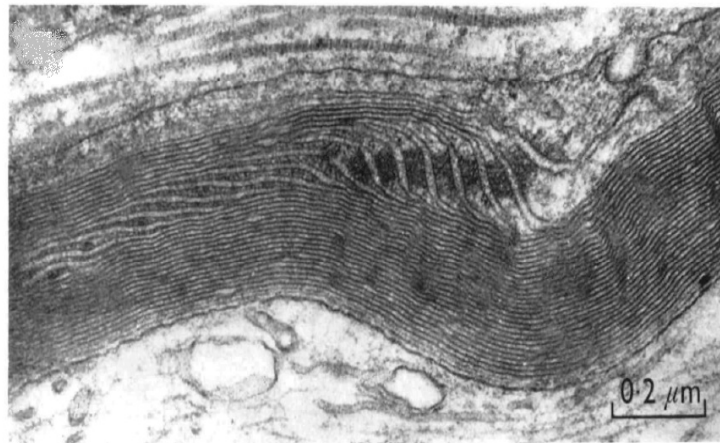
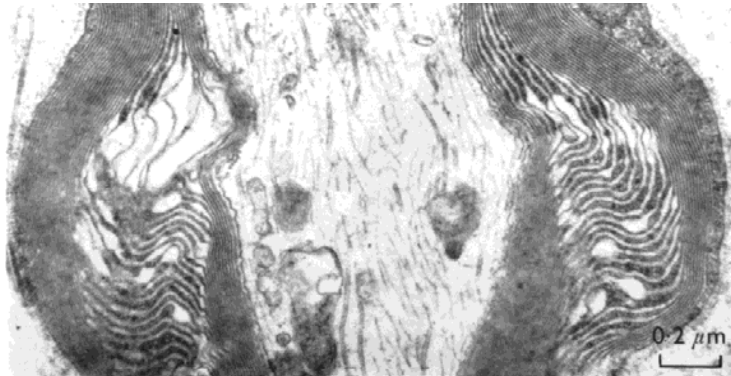


Fig. 1. A formalized diagram showing the principal structural features of an incisure in a mature sciatic nerve fibre of the mouse in the moderately open condition. The various elements shown are described throughout the text.



# Структура миелина



рентгеноструктурный анализ нервного волокна в области насечек миелина

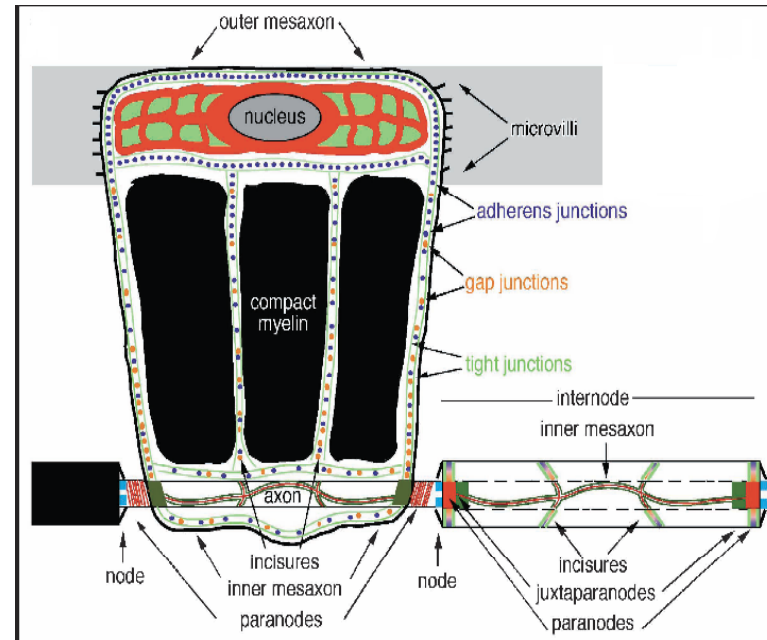
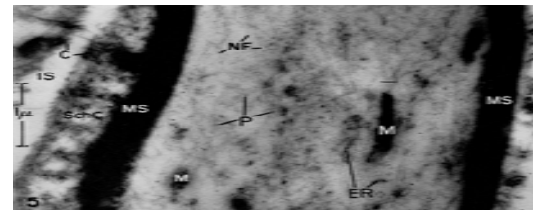
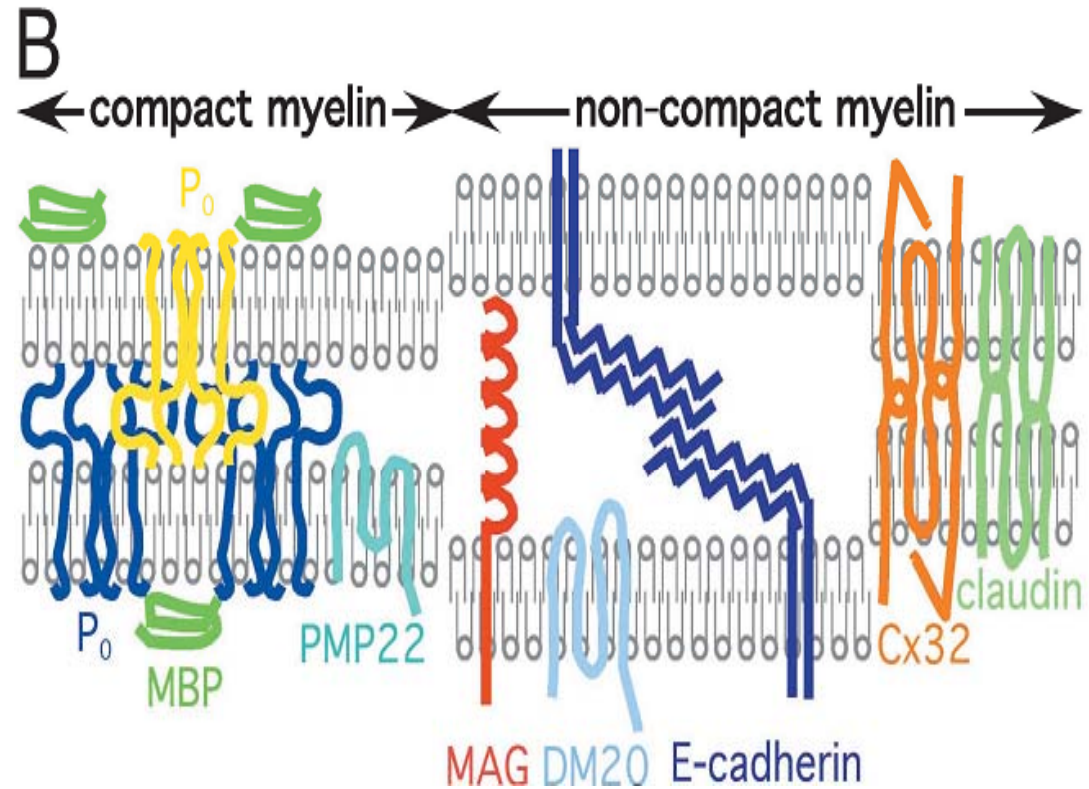
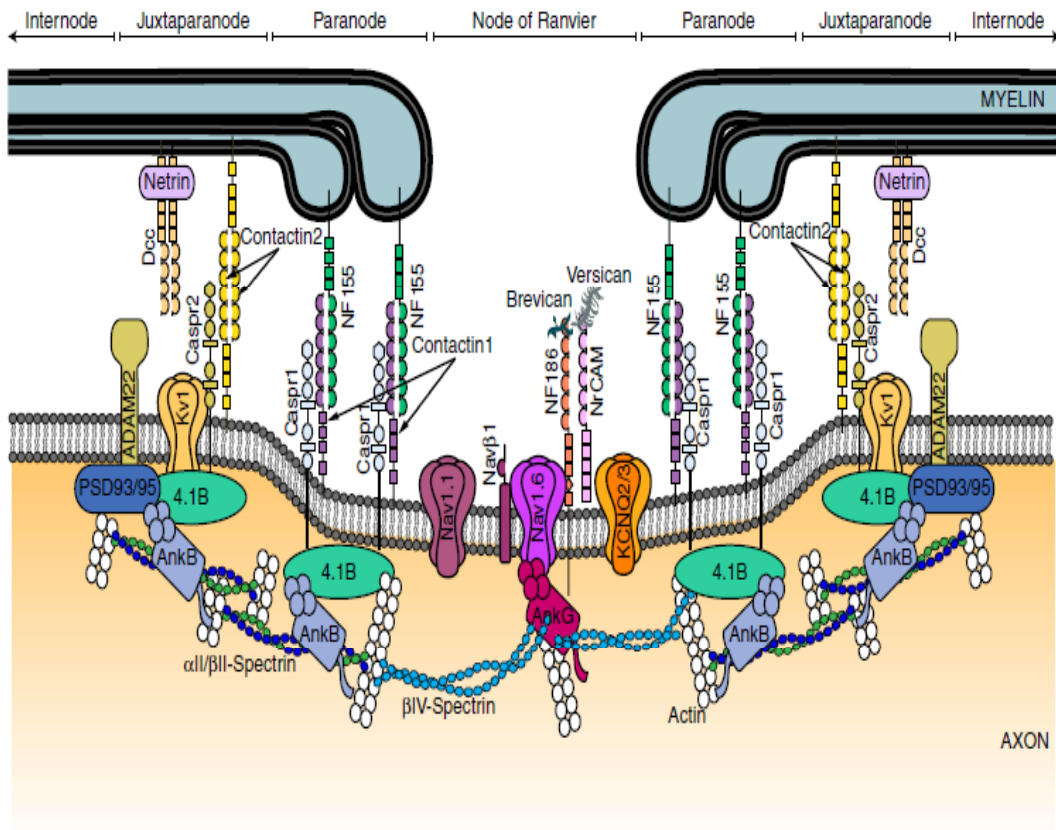


схема миелинового нервного волокна, компактный и некомпактный миелин

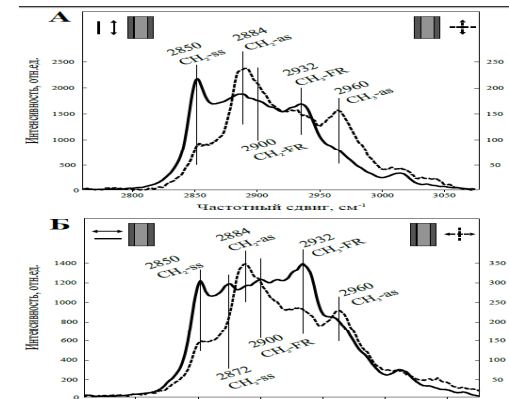
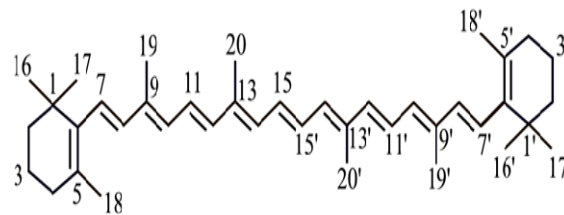
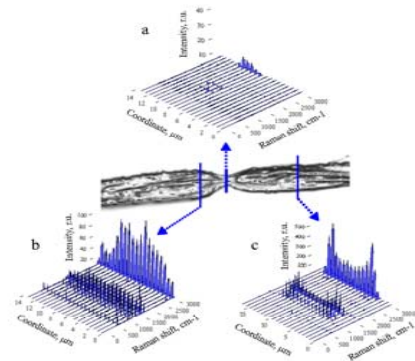
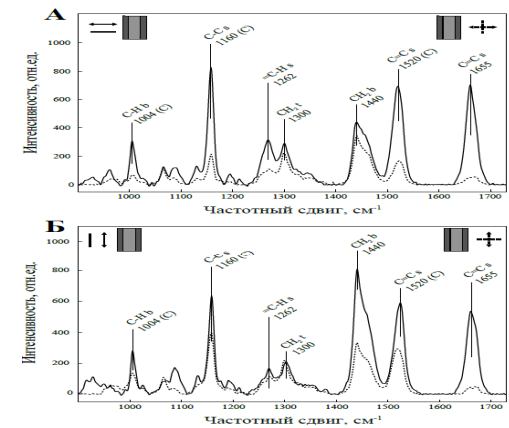
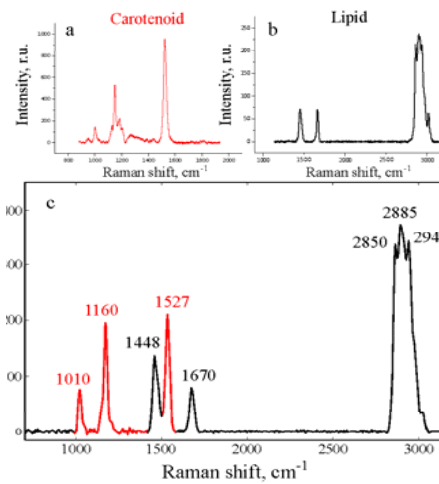
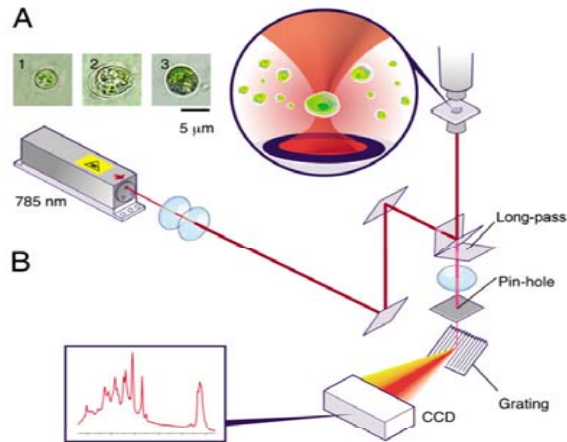


# Организация миелина в нервном волокне

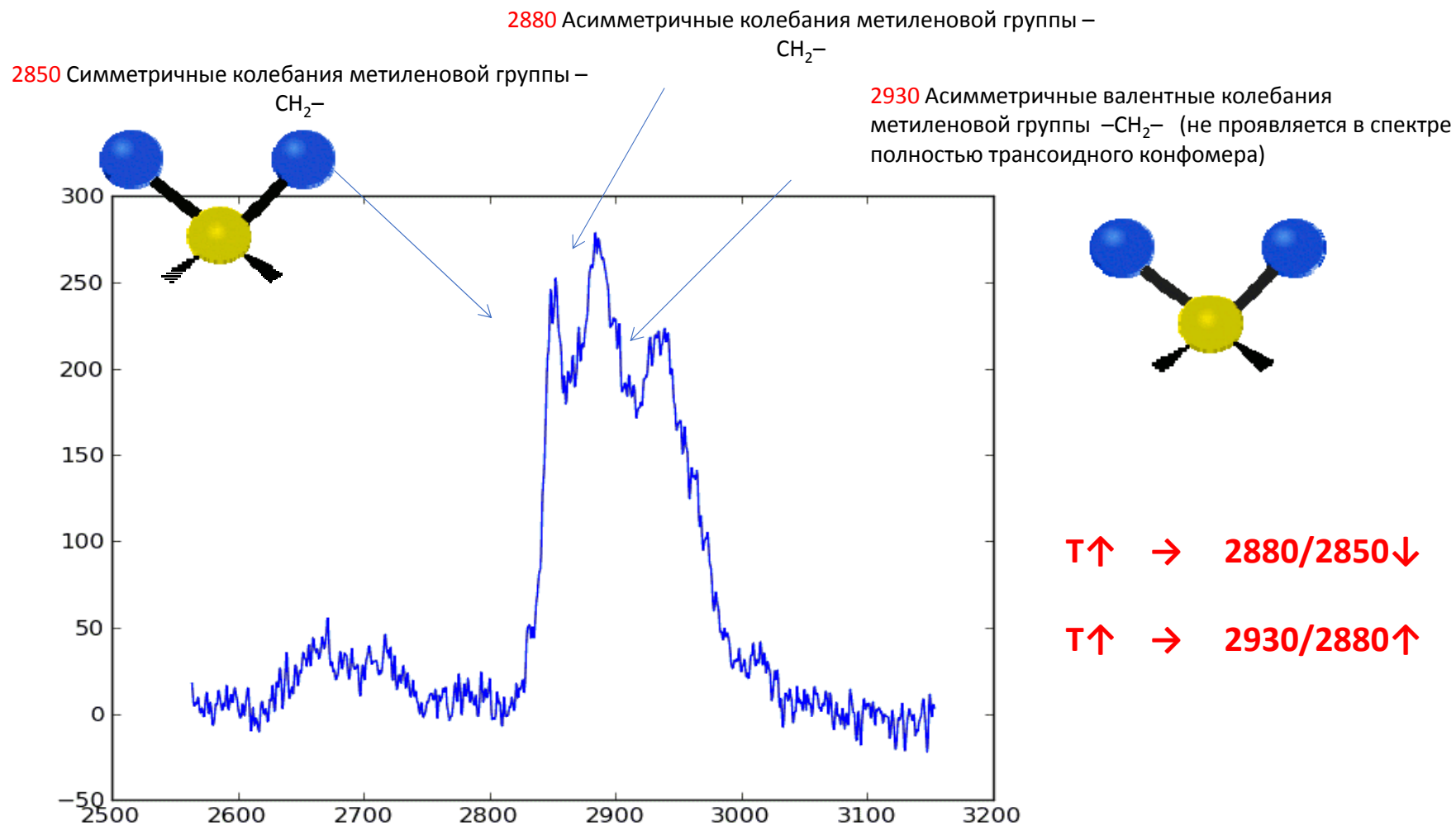
Перехват Ранвье (слева) ; Миелин (справа)



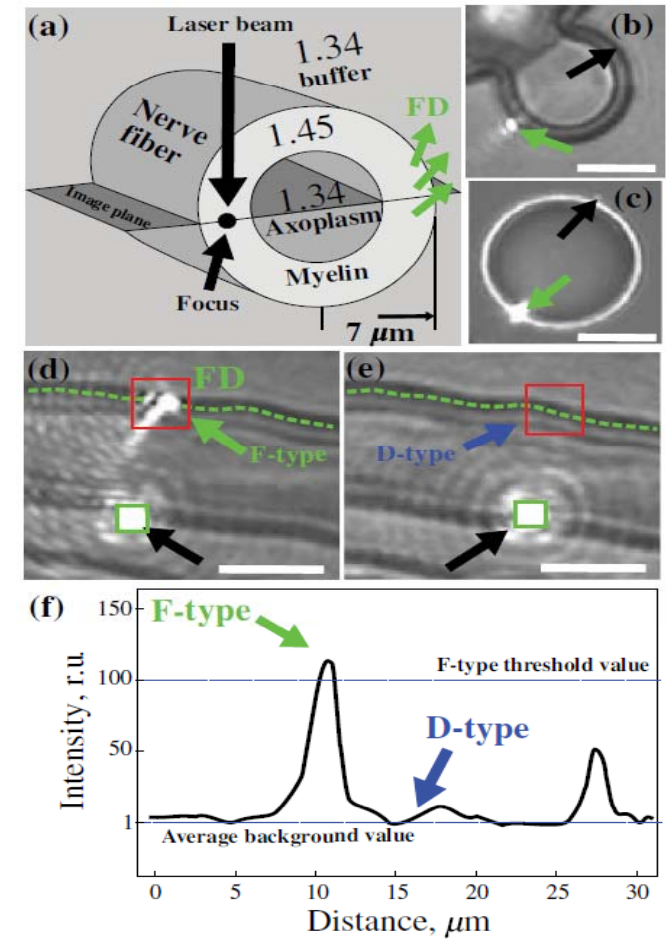
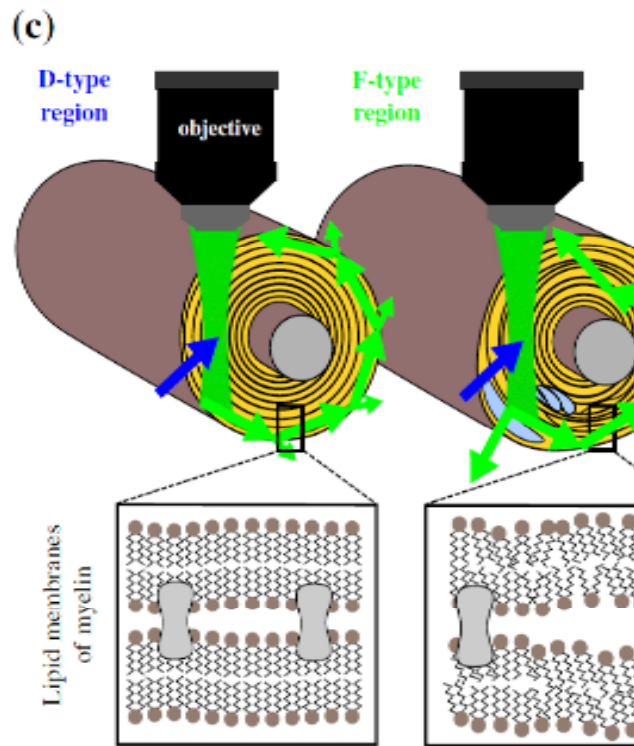
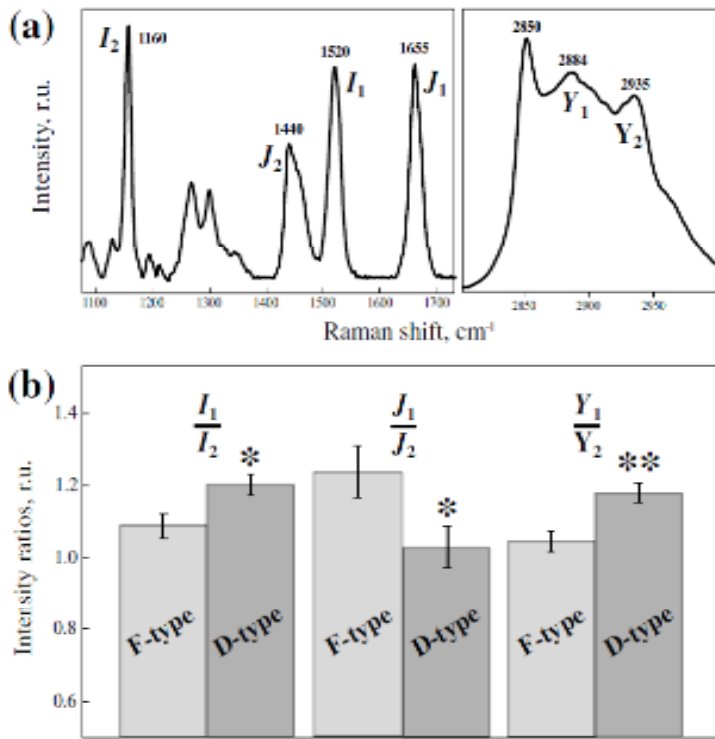
# Спектроскопия комбинационного рассеяния миелинового нервного волокна



# Область 2800-2950 $\text{cm}^{-1}$ спектра КР нервного волокна характерна для жирных кислот

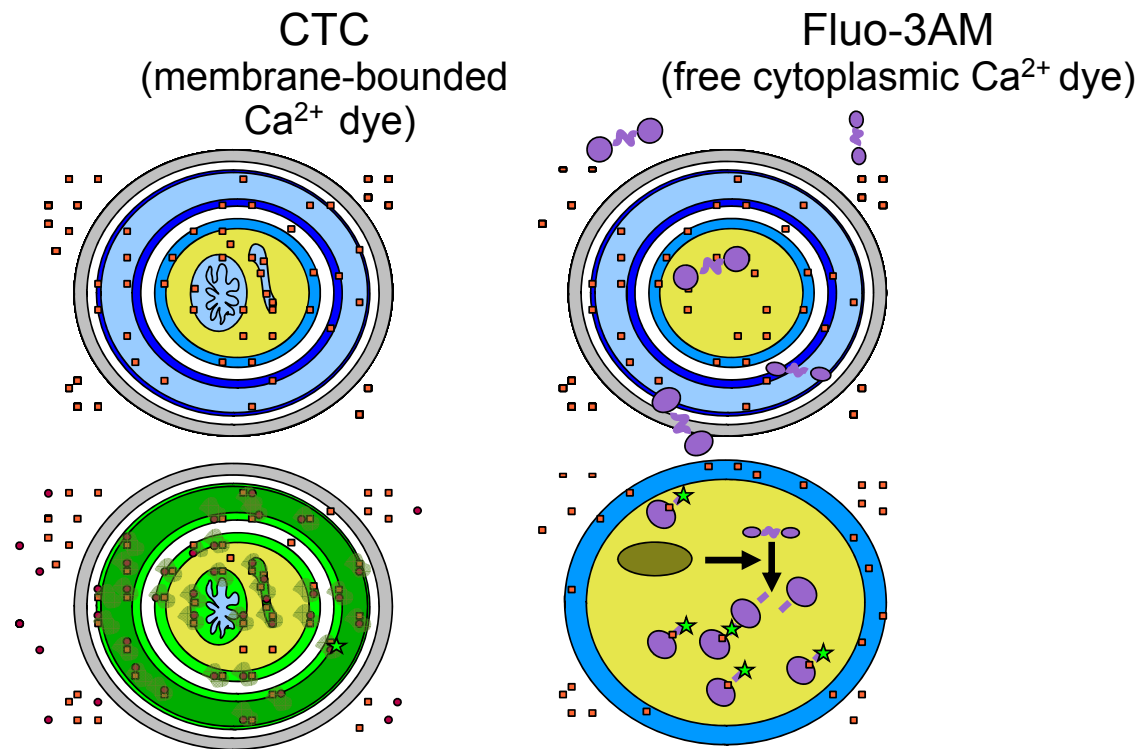


# Спектроскопия комбинационного рассеяния миелинового нервного волокна

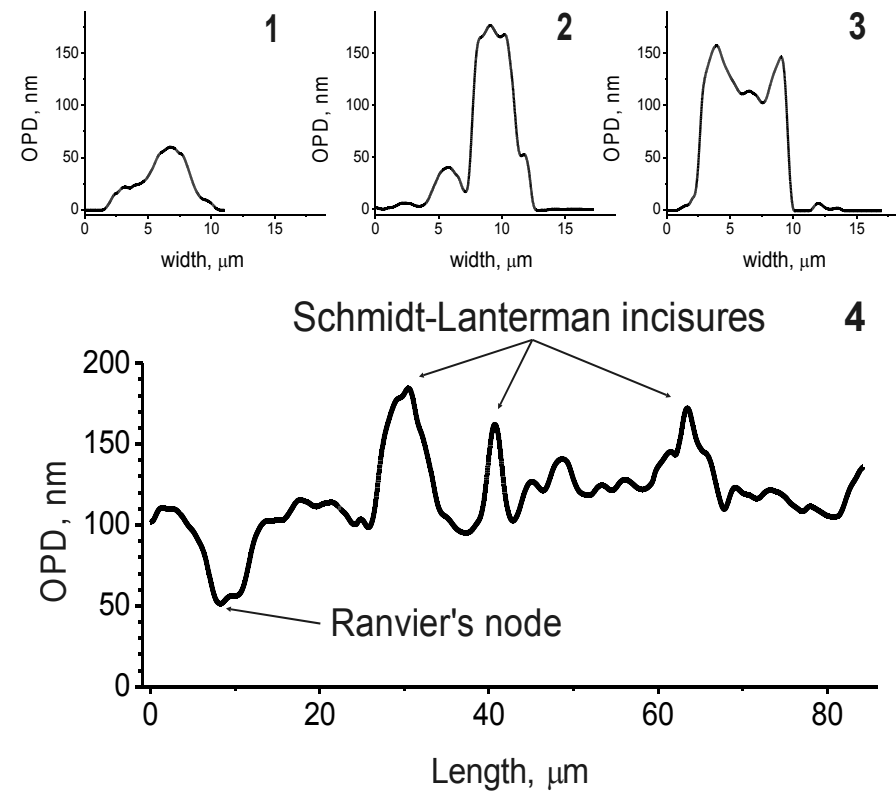
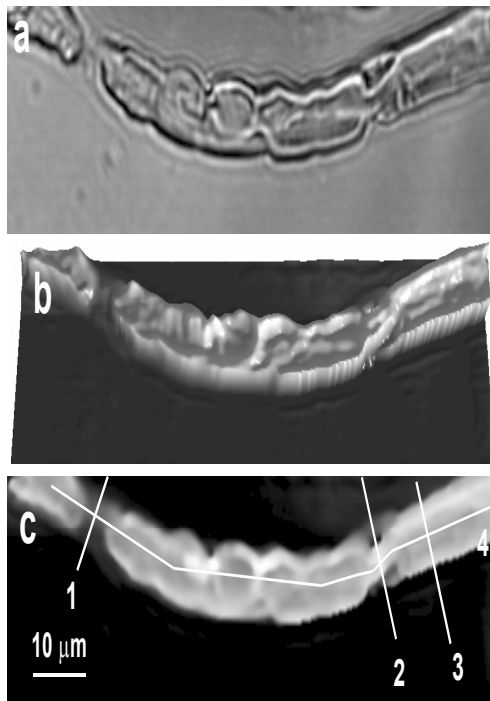


**Fig. 2** (a) Typical Raman spectra of nerve fiber myelin with assignments of bands used for calculations. (b) Comparison of intensity ratios between F-type and D-type regions of myelin. (c) The interpretation of the differences in Raman spectra. Values were compared using Student *t* test, \* and \*\* denote statistics  $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ , respectively.

# Использование флуоресцентных зондов хлортетрациклин и Fluo-3AM для исследования перераспределения $\text{Ca}^{2+}$ в нервном волокне



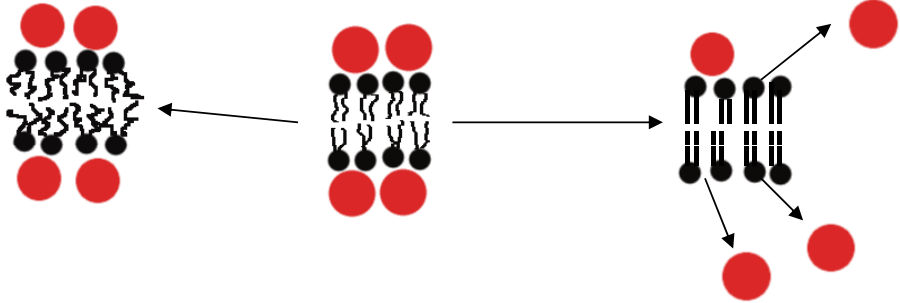
# Лазерная интерференционная микроскопия (ЛИМ) миелинового нервного волокна



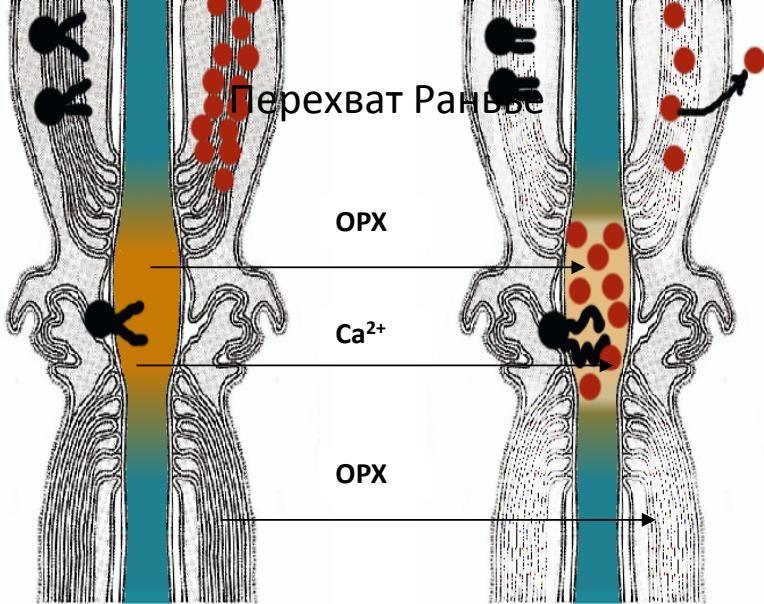


Перехват Ранвье

Интернодальная область



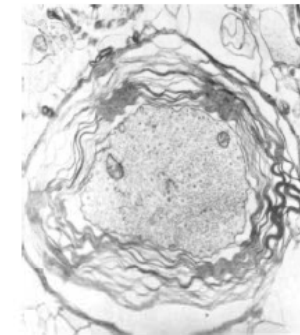
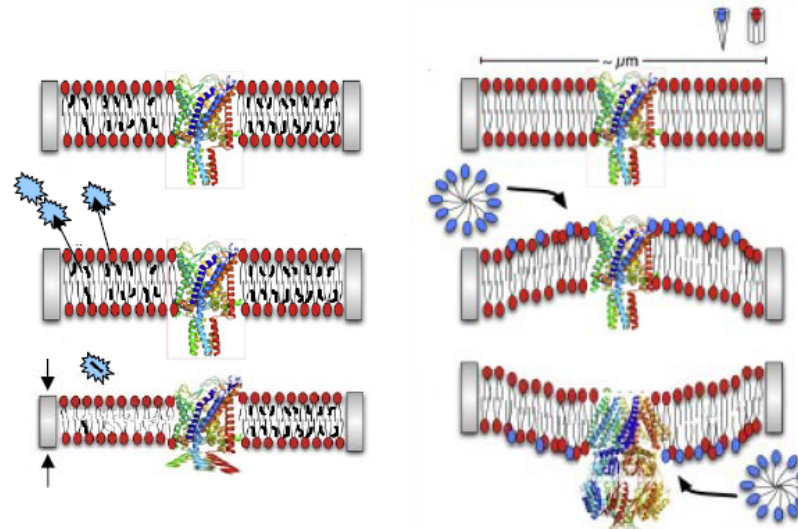
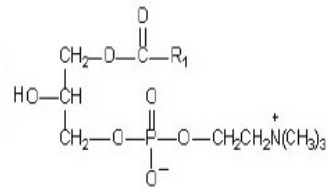
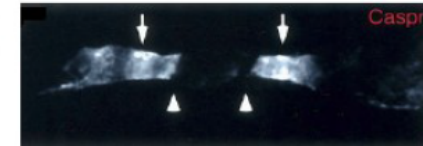
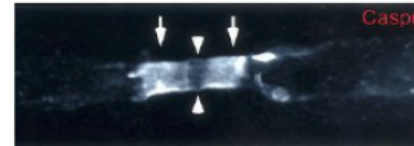
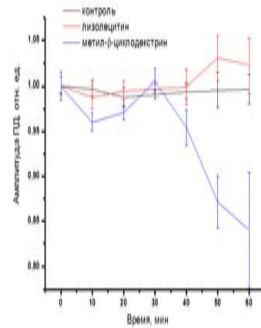
ВОЗБУЖДЕНИЕ



# Лизолецитин и метил-β-циклодекстрин

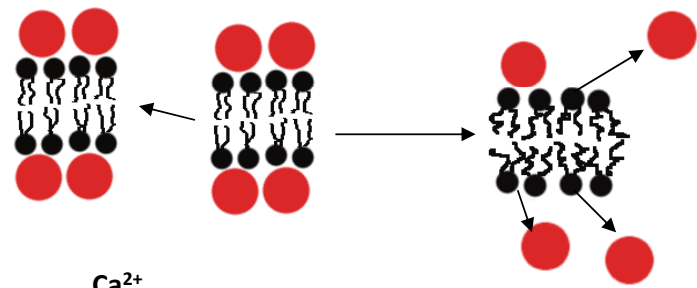
Лизолецитин – лизофосфолипид, который встраивается в плазматические мембраны, действует как детергент, вызывая солюбилизацию мембранных белков и липидов.

Метил-β-циклодекстрин – циклический олигосахарид способствует экстракции холестерина из мембран. По данным некоторых исследователей разрушает липидные рафты в мембране клетки.

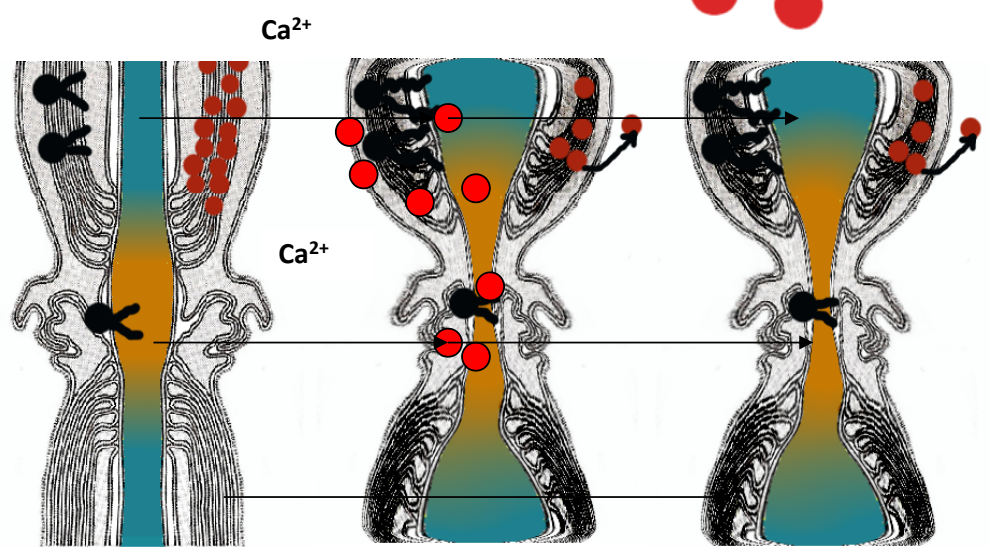


Перехват Ранвье

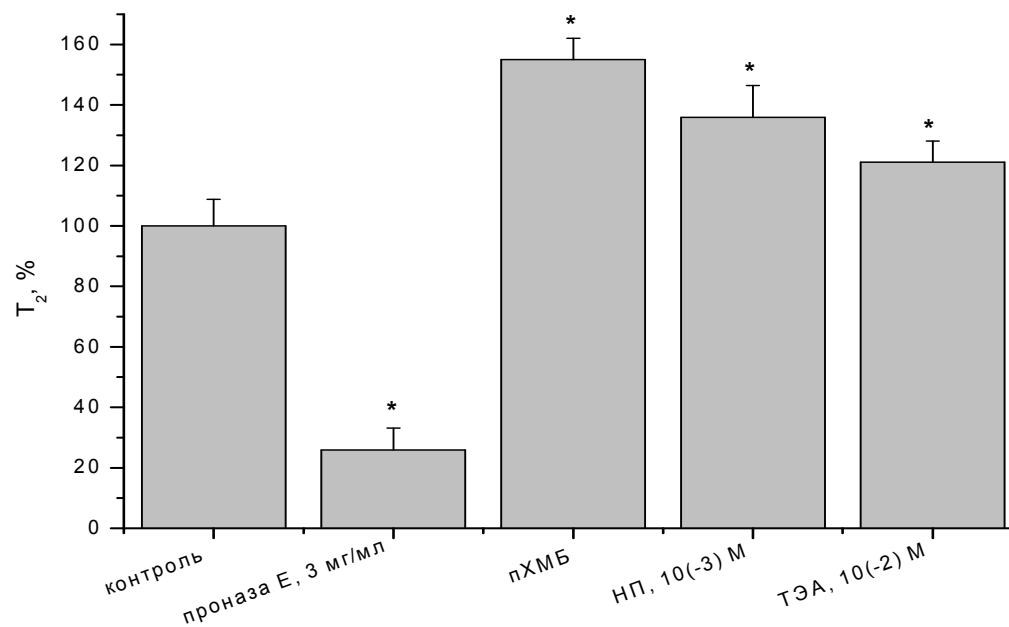
Интернодальная область



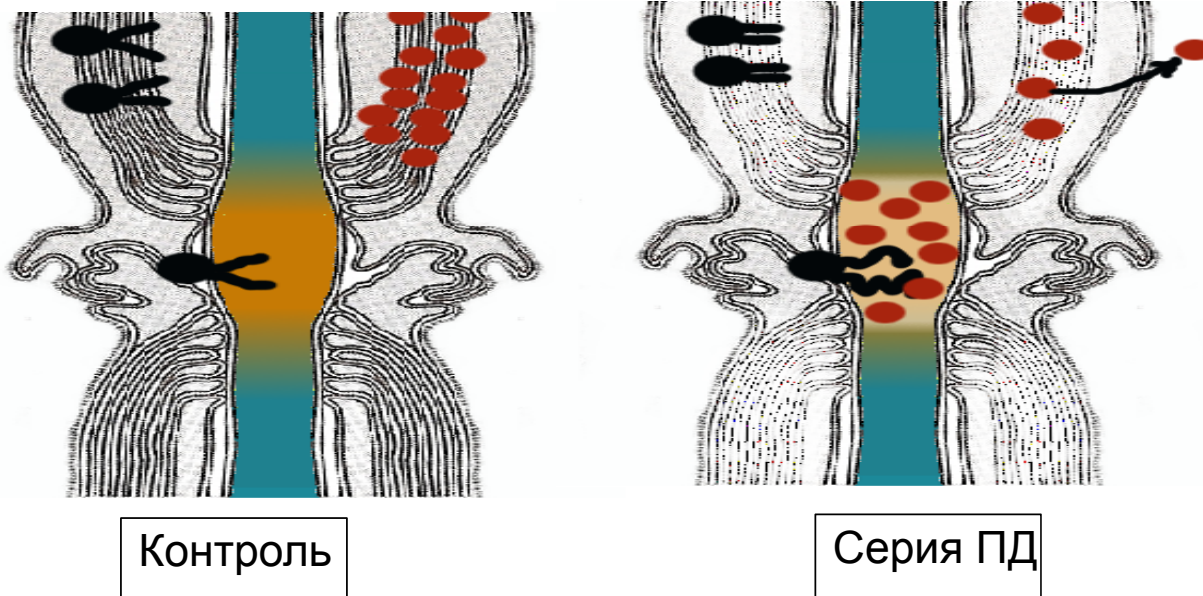
ЭКСТРАКЦИЯ  
ХОЛЕСТЕРИНА



**Связанная вода.** Изменение времени спин-спиновой релаксации  $T_2$  воды в структурах миелина нерва при действии проназы, тиолового реагента (пХМБ) и блокатора К-канала (ТЭА)



# Заключение



1. Состояние мембран изменяется в процессе возбуждения в миелине и перехвате Ранвье различным образом
2. Понижение уровня холестерина в миелине при возбуждении приводит к нарушению процессов изменения упорядоченности липидов не только в миелине, но и перехвате Ранвье
3. Гидролиз пептидных экстраклеточных участков белков (периаксональное пространство) меняет морфологию, увеличивает вязкость миелина и снижает долю связанной воды (в интернодальной области)