

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXIII, 20

SECTIO AA

1968

Z Katedry Fizyki Ogólnej Wydziału Mat. Fiz. Chem. UMCS
Kierownik: doc, dr Danuta Stachórska

Jadwiga SKIERCZYŃSKA

**Równanie Goldmana i jego stosowalność w elektrofizjologii
komórek roślinnych**

Уравнение Гольдмана и его применение в электрофизиологии
растительных клеток

Goldman's Equation and Its Application in the Electrophysiology of Plant Cells

Komórki roślinne — podobnie jak i zwierzęce — wykazują zdolność selektywnego gromadzenia jonów; koncentracja jonów K i Cl bywa wewnątrz komórek o dwa rzędy wyższa od koncentracji tych jonów w ośrodku zewnętrznym [3, 10, 12, 17].

Proces przenikania jonów poprzez warstwę oddzielającą cytoplazmę od zewnętrznego ośrodka nie jest dotychczas znany. Wyjaśnienie tego zjawiska jest dziś jednym z podstawowych problemów biofizyki komórki.

Cytoplazma komórki — jak wykazują doświadczenia [15, 18] — jest zawsze elektryczna względem zewnętrznego ośrodka. Różnica potencjałów elektrycznych w cytoplazmie i na zewnątrz komórki jest ściśle związana z koncentracjami jonów w tych dwu ośrodkach [1, 2, 20]. Jednym z równań opisujących tę zależność jest równanie Goldmana.

Niniejsza publikacja zawiera omówienie tego równania i dyskusję nad próbami jego zastosowania do wyjaśnienia wysokiej koncentracji jonów w komórkach roślinnych.

RÓWNANIA PRZEPLYWU JONÓW PRZEZ MEMBRANE

Zgodnie z teorią membranową, główną rolę w procesie przenikania jonów do komórki odgrywa błona komórkowa. Z rozważań termodynamiki procesów nieodwracalnych dla pojedynczego punktu wewnątrz błony można napisać następującą zależność: *

* Kirkwood J. G.: Ion Transport Across Membranes. New York 1954, s. 119.

$$\Phi_i = -\frac{1}{r_{ii}} \left(\frac{d\bar{\mu}_i}{dx} + \sum_{j=1, j \neq i}^n r_{ij} \Phi_j \right) \quad (1),$$

gdzie Φ_i — całkowity strumień składnika i

$\bar{\mu}_i$ — potencjał elektrochemiczny składnika i

r_{ii}, r_{ij} — współczynniki oporowe, będące funkcją koncentracji składników i i j (c_i, c_j),

dla $j = n$, Φ_n jest lokalnym „przepływem metabolizmu”;

zatem

$-\frac{r_{in}}{r_{ii}} \Phi_n$ — przedstawia transport aktywny, to jest transport zachodzący kosztem energii metabolizmu w kierunku przeciwnym do kierunku gradientu potencjału elektrochemicznego;

$-\frac{1}{r_{ii}} \frac{d\bar{\mu}_i}{dx}$ — określa wielkość strumienia transportowanego biernie,

czyli drogą dyfuzji; kierunek tego przepływu jest zawsze zgodny z kierunkiem gradientu potencjału elektrochemicznego.

Pozostałe składniki sumy $\sum_{j=1, j \neq i}^n \frac{r_{ij}}{r_{ii}} \Phi_j$ dla $j \neq n$ są biernymi składnikami

kami przepływu, wytworzonymi w wyniku współoddziaływania między cząsteczkami danego strumienia oraz oddziaływania strumienia cząsteczek i ze strumieniami innych, przenikających przez błonę, cząsteczek.

Równanie (1) jest równaniem bardzo ogólnym i z praktycznego punktu widzenia mało użytecznym. Podstawowym zadaniem teorii membrany jest wyprowadzenie z tego równania bardziej użytecznych form podanych w nim zależności. Uzyskuje się to poprzez prze całkowanie równania (1) po grubości membrany (powiedzmy od $x = 0$ do $x = d$); daje to w wyniku zależność między strumieniem Φ_i , potencjałami E_1 (w punkcie $x = 0$) i E_2 (w punkcie $x = d$) i koncentracjami c_{i1} i c_{i2} . Warto odnotować, że bardzo istotnym, często ignorowanym, zagadnieniem teorii membrany jest analiza zjawisk występujących na granicy roztwór — membrana.

W zależności od założeń przyjmowanych przy całkowaniu otrzymuje się różne postacie równań końcowych. Omówię kilka najczęściej stosowanych założeń.

1. Zakłada się, że składnik i znajduje się w stanie równowagi termodynamicznej (nie podając żadnych założeń odnośnie membrany i wzajemnych oddziaływań),

czyli przyjmuje się, że

$$\mu_{i_1} = \mu_{i_2}$$

przy tym założeniu otrzymujemy szeroko stosowane dziś w elektrofizjologii komórek równanie Nernsta

$$E_{12} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{f_{i_1} c_{i_1}}{f_{i_2} c_{i_2}}$$

gdzie iloczyny $f_{i_1} c_{i_1}$, $f_{i_2} c_{i_2}$ są aktywnościami danego składnika i w obszarach o koncentracji c_{i_1} , c_{i_2} i $E_{12} = E_2 - E_1$.

2. Przyjmuje się, że różnica potencjałów na membranie uwarunkowana jest istnieniem tylko dyfuzyjnego transportu jonów, przy czym transport ten jest niezależny, tj. nie występuje oddziaływanie między poszczególnymi strumieniami i cząsteczkami. Rozwiązanie równania (1) wymaga przyjęcia dalszych upraszczających założeń.

Mogą być one następujące :

a) gradient koncentracji każdego jonu jest w membranie liniowy, otrzymujemy wtedy równanie Hendersona

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{\sum_j P_j z_j^{-1} (c_{j_2} - c_{j_1})}{\sum_j P_j (c_{j_2} - c_{j_1})} \ln \frac{C_1}{C_2} ;$$

b) gradient potencjału jest stały wewnątrz membrany, w tym przypadku otrzymujemy równanie Goldmana

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1^+ + C_2^-}{C_2^+ + C_1^-} ;$$

c) w każdym punkcie membrany spełniony jest warunek elektro-neutralności, założenie to prowadzi do równania Plancka

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1^+ + p C_2^-}{C_2^+ + p C_1^-} ;$$

gdzie

$$p = \left[\frac{\ln \frac{A_2}{A_1} - \frac{F E_{12}}{RT}}{\ln \frac{A_2}{A_1} + \frac{F E_{12}}{RT}} \right] \times \left[\frac{A_1 - A_2 \left[\exp \frac{F E_{12}}{RT} \right]}{A_1 \left[\exp \frac{F E_{12}}{RT} \right] - A_2} \right]$$

$$A_1 = \sum_j c_{j_1} ; \quad A_2 = \sum_j c_{j_2} .$$

W powyższych równaniach znak (+) albo (—) wskazuje, że sumowanie jest brane tylko po kationach albo tylko po anionach:

$$C_{1,2}^+ = \sum^+ P_j c_{j,1,2} \quad C_{1,2}^- = \sum^- P_j c_{j,1,2} ,$$

gdzie P_j — współczynnik przenikalności błony dla j jonu; zawiera on iloczyn ruchliwości jonu j w błonie i współczynnika podziału jonu j między membraną i zewnętrznym roztworem (k_j), a $k_j = \frac{c_j'}{c_j}$ gdzie c_j' — koncentracja jonu w błonie, c_j — koncentracja jonu w zewnętrznym roztworze.

W wyliczeniach opartych na bardziej skomplikowanych modelach, np. takich, w których błona jest przepuszczalna dla jonów obu znaków albo dla dwuwartościowych kationów, przyjmuje się zwykle, że współczynnik podziału k_j jest równy 1.

Równanie Goldmana — ze względu, być może, na jego prostotę — jest bardzo popularne wśród eksperymentatorów. Prześledźmy krótko wprowadzenie tego równania.

WYPROWADZENIE RÓWNANIA GOLDMANA

Zakładając, że mamy do czynienia tylko z niezależnym biernym przepływem, otrzymujemy z równania (1)

$$\Phi_i = - \frac{1}{r_{ii}} \frac{d\bar{\mu}_i}{dx} \quad \text{gdzie} \quad \bar{\mu}_i = RT \ln c_i + z_i F E ;$$

R — stała gazowa, F — stała Faradaya, z_i — wartościowość jonu i , czyli

$$\Phi_i = - \frac{RT}{r_{ii} c_i} \frac{dc_i}{dx} - \frac{z_i F}{r_{ii}} \frac{dE}{dx} \quad (2)$$

Przy założeniu, że nie występuje gradient potencjału elektrycznego $\left(\frac{dE}{dx} = 0\right)$ równanie (2) musi przyjąć formę równania Ficka [7, s. 11]:

$$\Phi_i = - D \frac{dc_i}{dx}, \quad \text{stad} \quad D = \frac{RT}{r_{ii} c_i}$$

Przyjmując natomiast, że nie istnieje gradient koncentracji $\left(\frac{dc_i}{dx} = 0\right)$, można równanie (2) napisać w postaci:

$$\Phi_i = - z_i c_i u_i \frac{dE}{dx}, \quad \text{gdzie} \quad u_i \text{ — ruchliwość jonu}$$

i stąd

$$c_i u_i = \frac{F}{r_{ii}}, \quad \text{czyli} \quad r_{ii} = \frac{F}{c_i u_i}$$

(zauważmy, że z powyższego wynika, iż $\frac{F}{c_i u_i} = \frac{RT}{Dc_i}$, czyli $D = \frac{u_i RT}{F}$; ostatnie równanie jest równaniem Einsteina, wiążącym współczynnik dyfuzji z ruchliwością elektryczną jonu). Podstawiając do (2) otrzymane wartości na r_{ii} , mamy:

$$\Phi_i = -u_i \frac{RT}{F} \frac{dc_i}{dx} - u_i z_i c_i \frac{dE}{dx} \quad (3)$$

Otrzymane równanie całkujemy po grubości błony, tj. w granicach $x = 0$, $x = d$ ($x = 0$, $x = d$ są współrzędnymi punktów leżących wewnątrz błony, tuż przy jej powierzchniach). Zakładamy przy tym, że wewnątrz membrany pole jest stałe, czyli $\frac{dE}{dx} = \frac{E_{12}}{d}$; ponadto $\Phi_i = \text{const.}$, $u_i = \text{const.}$ i dla $x = 0$ $c_i = c_{i0}$, a dla $x = d$ $c_i = c_{id}$.

Równanie (3) można napisać w postaci:

$$\frac{dc_i}{dx} = -\frac{z_i F}{RT} \frac{E_{12}}{d} c_i - \frac{F \Phi_i}{u_i RT}$$

Ponieważ rozwiązanie równania kształtu $\frac{dy}{dx} = Ay + B$ ma zawsze formę $y = Ke^{Ax} - \frac{B}{A}$,
to

$$c_i = K \exp\left(-\frac{z_i F E_{12}}{RT d} x\right) - \frac{\Phi_i d}{z_i u_i E_{12}},$$

gdzie K jest stałą, określoną z warunków granicznych.

$$\text{Dla } x = 0 \quad c_{i1} = K - \frac{\Phi_i d}{z_i u_i E_{12}}$$

$$\text{i stąd} \quad K = c_{i1} + \frac{\Phi_i d}{z_i u_i E_{12}}$$

Dla $x = d$

$$c_{i2} = \left(c_{i1} + \frac{\Phi_i d}{z_i u_i E_{12}}\right) \exp\left(-\frac{z_i F E_{12}}{RT} d\right) - \frac{\Phi_i d}{z_i u_i E_{12}}$$

Mnożąc obie strony przez $\frac{z_i F E_{12}}{RT}$ i porządkując poszczególne wyrazy otrzymujemy

$$\Phi_i = -\frac{z_i u_i E_{12}}{d} \left(\frac{c_{i1} - c_{i2} \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)}{1 - \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)} \right)$$

Wprowadzając współczynnik przenikalności $P_i = \frac{D_i}{d} = \frac{u_i RT}{F d}$ mamy:

$$\Phi_i = -z_i P_i \frac{F E_{12}}{RT} \left(\frac{c_{i1} - c_{i2} \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)}{1 - \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)} \right)$$

Powyższe równanie nazywamy równaniem przepływu Goldmana.

Z równania przepływu łatwo otrzymać wzór na gęstość prądu elektrycznego przenieszonego przez jony i

$$I_i = z_i F \Phi_i = -z_i^2 P_i \frac{F^2 E_{12}}{RT} \left(\frac{c_{i1} - c_{i2} \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)}{1 - \exp\left(\frac{z_i F E_{12}}{RT}\right)} \right)$$

Ażeby otrzymać wyrażenie na E_{12} jako funkcję koncentracji jonów, wartościowości i współczynnika przenikalności, zakładamy

$$\sum_i I_i = 0$$

Wtedy dla $z_i = \pm 1$

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{C_1^+ + C_2^-}{C_2^+ + C_1^-} \quad (4)$$

gdzie

$$C_1^+ = \sum_i P_i c_{i1} \quad \text{dla} \quad z_i = +1$$

$$C_1^- = \sum_i P_i c_{i1} \quad \text{dla} \quad z_i = -1 \quad \text{itp.}$$

a dla

$$z_i = +1, +2$$

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{C_1^+ - C_2^+ + \sqrt{M}}{2C_2^+ + 8C_2^{2+}} \right) \quad (5)$$

$M = (C_1^+ + C_2^+)^2 + 4C_1^+C_2^+ + 16C_1^+C_2^{2+} + 16C_2^+C_1^{2+} + 64C_1^{2+}C_2^{2+}$
gdzie

$$C_2^{2+} = \sum_i P_i c_{i2} \quad \text{dla } z_i = +2 \quad \text{itd.}$$

Z równań na gęstość prądu i różnicę potencjałów w poprzek błony można otrzymać równanie oporu elektrycznego

$$r = \frac{\Delta E_{12}}{I} \quad \text{i} \quad r_0 = \lim_{I \rightarrow 0} (r) \quad [7]$$

Przyjmując, że napięcie E_{12} uwarunkowane jest dyfuzją tylko jonów K, Na i Cl, równanie (4) piszemy w postaci

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K]_1 + \alpha[Na]_1 + \gamma[Cl]_2}{[K]_2 + \alpha[Na]_2 + \gamma[Cl]_1} \quad (4b)$$

gdzie $[K]_n$, $[Na]_n$, $[Cl]_n$ — stężenie odpowiednich jonów z zewnętrznym ($n = 1$) i wewnętrznym ($n = 2$) środowisku.

Równanie Goldmana (4) i (5) określa zależność między różnicą potencjałów i koncentracją jonów po obu stronach błony, przy założeniu — jak to nadmieniano poprzednio — że ta różnica potencjałów jest wytworzona tylko w wyniku dyfuzyjnego przepływu jonów.

Fakt, że różnica koncentracji, która warunkuje przepływ dyfuzyjny, pozostaje stała (mimo iż całkowity strumień jonów danego rodzaju może być różny od zera), wyjaśniano działaniem pomp jonowych; pompy jonowe przetransportowują jony w kierunku przeciwnym od kierunku przepływu dyfuzyjnego, przy czym transport ten nie wpływa bezpośrednio na różnicę potencjałów. Stosując język elektrofizjologów, powiemy, że pompy jonowe są neutralne, inaczej — nieelektrogeniczne.

Gdyby przepływ aktywny był elektrogeniczny, oznaczałoby to, że związki będące nośnikami transportowanych jonów są podczas ruchu przez błonę naładowane. W tym przypadku należałoby do równania Goldmana dodać jeszcze jedno wyrażenie do licznika i mianownika.

Do dziś, niestety, nie wiemy, czy pompy jonowe są neutralne czy też nie; eksperymentalne rozstrzygnięcie tego problemu jest bardzo trudne.

FAZA DONNANA A RÓWNANIE GOLDMANA

Z licznych badań zmian szybkości absorpcji jonów przez ściankę komórki jako funkcji czasu wynikało, że ścianka jest ujemnie naładowana fazą Donnana, tj. obszarem zawierającym niedyfundujące aniony, które

należą do danej fazy i stanowią jej część strukturalną [2, 3]. Anionami tymi są prawdopodobnie karboksylowe grupy pektyn. Teoretyczna analiza właściwości elektrycznych ujemnie naładowanej fazy Donnana prowadzi do wniosku, że między tą fazą a przylegającym do niej elektrolitem istnieje skok potencjału, przy czym potencjał fazy Donnana jest ujemny względem otaczającego elektrolitu.

W r. 1961 Walker i Hope [7] przeprowadzili analizę stosowności równania Goldmana dla przypadku komórek roślinnych, uwzględniając istnienie w ścianie komórkowej ujemnych ładunków.

Założyli oni, że:

a) współczynnik przenikalności jonu ma wartość stałą dla całego obszaru między wodniczką a zewnętrznym elektrolitem;

b) $E_{12} = E_{1s} + E_{s2}$, gdzie E_{1s} — różnica potencjałów (dalej skrót: r. p.) między zewnętrznym ośrodkiem a ścianką, a E_{s2} — r. p. między ścianką a cytoplazmą. Całkowita r. p. między zewnętrznym ośrodkiem a cytoplazmą jest więc sumą r. p. w dwu obszarach, przy czym w każdym z tych obszarów pole elektryczne jest stałe;

c) aktywność jonu w ścianie wyraża się wzorem $a_j = a_{j1} \exp\left(\frac{z_j F E_{1s}}{RT}\right)$ i jest równa aktywności w granicznych punktach, leżących wewnątrz obszarów spadku potencjałów.

Przyjmując te założenia łatwo wykazać, że zmodyfikowana forma równania (4) będzie miała postać

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \left[\frac{C_1^+ + C_2^- \exp\left(\frac{F E_{1s}}{RT}\right)}{C_2^+ + C_1^- \exp\left(\frac{F E_{1s}}{RT}\right)} \right] \quad (10)$$

Zakładając, że przy transporcie jonów istotną rolę odgrywają tylko jony K^+ , Na^+ i Cl^- , równanie (10) można napisać w formie identycznej z równaniem (4b), mianowicie

$$E_{12} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K]_1 + \alpha [Na]_1 + \gamma [Cl]_2}{[K]_2 + \alpha [Na]_2 + \gamma [Cl]_1}$$

gdzie $\alpha = \frac{P_{Na}}{P_K}$ i $\gamma = \frac{P_{Cl} \exp\left(\frac{F E_{1s}}{RT}\right)}{P_K}$

ZMIANY E_{12} PRZY ZMIANIE KONCENTRACJI JONÓW

Równanie (4) po raz pierwszy zastosowali — do opisu potencjału spoczynkowego komórek (nerwowych) — Hodgkin i Katz

w r. 1949 [6]. Następnie było ono z powodzeniem stosowane do komórek mięśniowych [5, 8]. W jednej z tych ostatnich prac $\alpha = 0,027$, $\gamma = 0,25$, a w drugiej $\alpha = 0,05$, $\gamma = 0,17$.

Do badań zjawisk elektrycznych w komórkach roślinnych równanie to wprowadzili Hope i Walker w r. 1961 [7]. Określali oni zmiany E_{12} dla komórek *Chara australis*, wywołane zmianami koncentracji Na, K, Cl i Ca w zewnętrznym ośrodku. Przeprowadzone przez nich doświadczenia wykazały, że podczas nieobecności jonów Ca równanie Goldmana dobrze opisuje zależność napięcia E_{12} od koncentracji jonów w całym niemal obszarze stosowanych przez nich zmian koncentracji, tj. od stężenia 1 mM do 0,1 mM (w doświadczeniach zmieniano stosunek $\frac{[Na]_1}{[K]_1}$ przy utrzymywaniu całkowitej koncentracji Na Cl + K Cl stałej i równej 1,1 mM). Zaobserwowane bardzo silne odchylenie danych doświadczalnych od krzywej teoretycznej, występujące dla granicznych — w badanym zakresie — wartości $[Na]_1$ i $[K]_1$, mogły być spowodowane — jak sądzili autorzy — zmianami przenikalności jonów przy zmianach E_{12} , $[K]_1$ i $[Na]_1$, bądź też zmianami $[K]_2$ i $[Na]_2$. Przy pomiarach zakładano, że wielkości te pozostają podczas doświadczeń stałe.

Małe zmiany E_{12} , zaobserwowane przy zastępowaniu Cl_1 innymi anionami, wykazały, że wpływ jonów Cl na wartość E_{12} jest znikomo mały, a zatem składnik $\gamma [Cl]_n$ w równaniu [6] może być pomijany. Otrzymane przez Hope'a i Walkera wartości współczynników w równaniu Goldmana wynosiły odpowiednio 0,06 i 0.

W środowisku zawierającym jony Ca — jak stwierdzili Hope i Walker — wpływ $[Na]_1$ i $[K]_1$ na wartość E_{12} znacznie maleje i zależność E_{12} od koncentracji jonów nie daje się opisać ani równaniem Goldmana, uwzględniającym tylko jony K, Na i Cl (wzór 4), ani równaniem Goldmana, uwzględniającym prócz jonów K, Na, Cl również jony Ca (wzór 5). Spanswick [16] wyjaśnia ten efekt występowaniem w tych warunkach szczególnie intensywnego transportu aktywnego.

Wszystkie wymienione eksperymenty, wykonane przez Hope'a i Walkera, zostały powtórzone (z uwzględnieniem poprawki na napięcie elektryczne tonoplastu *) przez Spanswicka, Stolaraka i Williamsa dla komórek *Nitella flexilis* [16]. Otrzymane przez nich wyniki całkowicie pokrywały się z wynikami otrzymanymi przez Hope'a i Walkera, inna była tylko wartość współczynnika α . Wartości wyliczonych przez nich współczynników wynosiły $\alpha = 0,24$, $\gamma = 0$.

* Napięcie tonoplastu — jak wykazały te prace — nie ulega zmianie przy zmianie koncentracji jonów w ośrodku zewnętrznym.

A zatem — jak wynikało z tych prac — różnica potencjałów E_{12} w środowisku nie zawierającym jonów Ca może być wyjaśniona dyfuzją jonów K i Na.

Intrygujące w tej sytuacji były jednak wyniki prac Kishimoto, Tazawa i Worobiewa wykazujące, że zmiana składu jonowego wodniczki, czy to drogą mikroiniekcji roztworów KCl i NaCl [25], czy też drogą perfuzji soku komórkowego [22, 21] nie wpływa w zasadzie na wartość E_{12} między zewnętrznym ośrodkiem a cytoplazmą.

Można mieć zastrzeżenie co do tego, czy słuszne jest, stosowane w tych pracach, podstawianie do wzoru Goldmana na miejsce aktywności jonów w cytoplazmie, aktywności określanej w wodniczce komórki. Biorąc jednak pod uwagę bardzo małą różnicę potencjałów między wodniczką a cytoplazmą [10, 23, 24], stałość tej różnicy potencjałów przy zmianie koncentracji jonów w zewnętrznym ośrodku [16] oraz bardzo łatwą wymianę jonów K i Na między tymi dwoma ośrodkami [10], należy przyjąć, że różnice aktywności jonów K (także Na) w tych dwu ośrodkach nie mogą być duże.

Worobiew i współprac. [24] powtórzyli ostatnio doświadczenia Hope'a i Walkera [7], wykonując równoległe z pomiarami E_{12} pomiar aktywności jonów K i Na w wodniczce komórki.

Aby uzyskać znaczne zmiany stężeń tych jonów w cytoplazmie, pracowali oni z komórkami roślin hodowanych w środowisku pozbawionym K, Na lub Cl. Przyjmując — jak to wynikało z wyżej wymienionych prac [7, 16] — że rola Cl w tworzeniu się E_{12} jest nieistotna, wykazali oni, że wartość E_{12} — wyliczona z wzoru (4) przy uwzględnianiu zmian wewnętrznej aktywności jonów oraz określana bezpośrednio z pomiarów — są zupełnie różne.

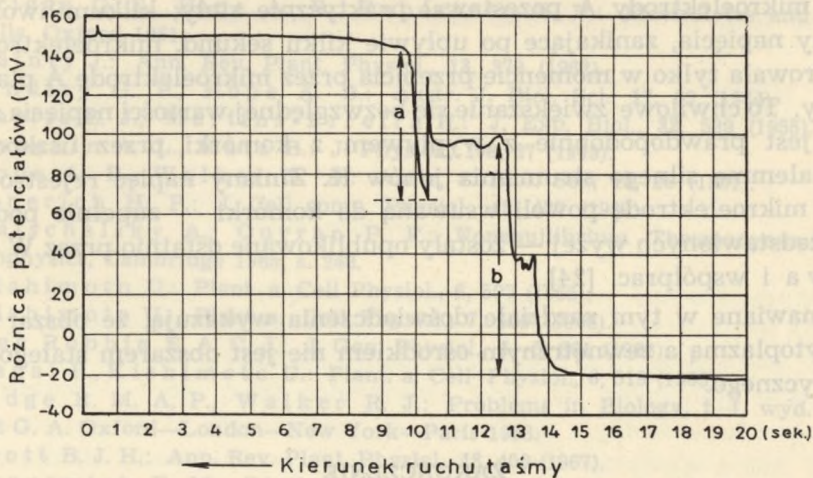
Uzyskane obserwacje wykazują, że równanie kształtu (4) — podobnie jak i równanie (5) — nie opisuje w należyty sposób zależności między wartością E_{12} i koncentracjami jonów. Być może, przenikalności jonów przez błonę nie są stałe. Możliwość zmian przenikalności przy zmianie wartości E_{12} i koncentracji wydaje się zupełnie prawdopodobna, tym bardziej że — jak stwierdzono — obniżanie się potencjału podczas procesu pobudzenia jest wynikiem wzrostu przenikalności błony dla jonów Cl.

Poprawki na zmiany przenikalności jonów nie były dotychczas wprowadzane do równania Goldmana — i jak wynika z analizy niżej opisanych eksperymentów — nie należy raczej oczekiwać, że przyczynią się one do zlikwidowania stwierdzonych niezgodności tego równania z danymi eksperymentalnymi.

ZMIANY NAPIĘCIA REJESTROWANE PRZEZ MIKROELEKTRODĘ POWOLI WSUWANĄ DO KOMÓRKI

Eksperymenty przeprowadzono w r. 1965—1966 na międzywęzłowych komórkach *Charace australis*. Komórki ~ 3 cm długości i 0,8—1 mm średnicy odcinane były od sąsiednich międzywęzłowych i nibyliściowych komórek i umieszczane w roztworze o składzie K 0,1 mM, Na 0,1 mM, Ca 0,2 mM, Cl 1,3 mM. Do badań stosowano szklane mikroelektrody, napełnione 0,3 M KCl o średnicy końca wynoszącej $\sim 10 \mu$ i połączone z elektrycznym układem pomiarowym poprzez kalomelowe elektrody. Napięcie mierzono elektrometrem o oporze wyjściowym $> 10^{14} \Omega$ i rejestrowano na samopisie typu QU/CRD10 (technika pomiaru opisana w [19]).

Jak wykazały przeprowadzone doświadczenia, mikroelektroda wsuwana bardzo wolno do wnętrza komórki, zanim wykaże wartość poten-



Ryc. 1. Zmiany potencjału (określone względem potencjału wodniczki) rejestrowane przez mikroelektrodę bardzo powoli wsuwaną do komórki; a — skok potencjału na granicy: zewnętrzny ośrodek — ścianka komórkowa; b — skok potencjału na plazmalemmie

cjału cytoplazmy, rejestruje uprzednio skok napięcia na ścianie komórkowej.

Rejestrowane napięcie na ścianie wynosi ~ 70 mV. Istnienie jego było przewidziane w pracach m. in. Dainty'ego [3], jak to już nadmieniono uprzednio. Doświadczalnie po raz pierwszy zostało ono niezależnie od siebie zarejestrowane w trzech ośrodkach: w japońskim przez Kiskimoto [13], w moskiewskim przez Worobiewa i Kurellę [25] i w angielskim przez Skierczyńską [19].

Zmiany napięcia, rejestrowane przez mikroelektrodę wolno wsuwaną do komórki, przedstawia ryc. 1. Po skoku potencjału na granicy: zewnętrzny ośrodek — ścianka, obserwowany jest dół potencjału, którego głębokość sięga ~ 20 mV, oddzielający obszar pierwszego skoku potencjału od plazmalemmy. Skok potencjału na plazmalemmie ma wartość bliską 120 mV. Podawane liczbowe wartości napięć są w istocie napięciami między cieczą zawartą w mikroelektrodzie a zewnętrznym roztworem, tj. zawierają w sobie nieznannej wielkości potencjał dyfuzyjny, jaki istnieje przy końcu mikroelektrody.

Rejestracje zmian napięć przy powolnym wsuwaniu mikroelektrody przeprowadzane były dla 6 komórek, dla każdej komórki kilkakrotnie. Wykresy tych zmian były podobne do przedstawionego na ryc. 1.

W omawianych pomiarach określano przeważnie napięcia względem umieszczonej we wnętrzu komórki mikroelektrody B. Potencjał tej mikroelektrody, jak wykazały pomiary kontrolne, podczas całego procesu wbijania mikroelektrody A pozostawał praktycznie stały; kilkumiliwoltowe zmiany napięcia, zanikające po upływie kilku sekund, mikroelektroda B rejestrowała tylko w momencie przebicia przez mikroelektrodę A plazmalemmy. To chwilowe zwiększanie się bezwzględnej wartości napięcia związane jest prawdopodobnie z wypływem z komórki przez uszkodzoną plazmalemmę silnego strumienia jonów K. Zmiany napięć rejestrowane przez mikroelektrodę powoli wsuwaną do komórki — zupełnie podobne do przedstawionych wyżej — zostały opublikowane ostatnio przez W o r o b i e w a i współprac. [24].

Omawiane w tym rozdziale doświadczenia wykazują, że obszar między cytoplazmą a zewnętrznym ośrodkiem nie jest obszarem stałego pola elektrycznego.

ZAKOŃCZENIE

Stosowalność równania Goldmana do opisu zależności między napięciem na błonie komórkowej a koncentracjami jonów we wnętrzu i na zewnątrz komórki pozostawała dotychczas problematyczna.

W odniesieniu do komórek zwierzęcych spełniane ono było na ogół dość dobrze, chociaż można cytować prace, które i w tym przypadku wykazywały wyraźną niezgodność danych eksperymentalnych z teorią [14].

W komórkach roślinnych zgodność była dużo gorsza; obserwowane rozbieżności usiłowano tłumaczyć głównie zmiennością określanych eksperymentalnie parametrów występujących w tym równaniu, przede wszystkim zmiennością przenikalności jonów przez błonę.

Doświadczenia określające w komórkach roślinnych rozkład potencjału elektrycznego w obszarze między zewnętrznym ośrodkiem a cytoplazmą wykazały, wydaje się, istotną przyczynę niezgodności doświadczeń z równaniem Goldmana.

Rozkład potencjału w rozważanym obszarze nie pokrywa się z rozkładem zakładanym przy wyprowadzeniu tego równania. Równanie Goldmana wyprowadzone zostało na fałszywym w przypadku komórek roślinnych założeniu, dotyczącym obrazu pola elektrycznego w warstwie ścianki i plazmalemmy, toteż raczej nie należy oczekiwać jego zgodności z doświadczalnymi pomiarami.

PIŚMIENNICTWO

1. Aikman D. P., Dainty J.: *Some Contemporary Studies in Marine Science*, Ed. H. Barnes, London 1966.
2. Briggs G. E., Hope A. B., Robertson R. N.: *Electrolytes and Plant Cells*, Oxford 1961.
3. Dainty J.: *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **13**, 379 (1962).
4. Findlay G. P., Hope A. B.: *Austr. J. Biol. Sci.*, **17**, 62 (1964).
5. Harris E. J., Martins-Ferreira H.: *J. Exp. Biol.*, **32**, 539 (1955).
6. Hodgkin A. L., Katz B.: *J. Physiol.*, **108**, 37 (1949).
7. Hope A. B., Walker N. A.: *Austr. J. Biol. Sci.*, **14**, 26 (1961).
8. Jenerich H. P.: *J. Cell comp. Physiol.*, **42**, 427 (1953).
9. Katschalsky A., Curran P. F.: *Nonequilibrium Thermodynamics in Biophysics*, Cambridge 1965, s. 248.
10. Kishimoto U.: *Plant a. Cell Physiol.*, **6**, 507 (1965).
11. Kishimoto U.: *Plant a. Cell Physiol.*, **7**, 559 (1966).
12. Mac Robbie E. A. C. J.: *J. Gen. Physiol.*, **4—5**, 861 (1962).
13. Nagai R., Kishimoto U.: *Plant. a. Cell Physiol.*, **6**, 519 (1965).
14. Ridge R. M. A. P., Walker R. J.: *Problems in Biology*, t. I, wyd. Ker-
kut G. A. Oxford—London—New York—Paris 1963.
15. Scott B. J. H.: *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **18**, 409 (1967).
16. Spanswich R. M., Stolarek J., Williams E. J.: *J. Exp. Bot.*, **18**,
1 (1967).
17. Spanswich R. M., Williams E. J.: *J. Exp. Bot.*, **44**, 193 (1964).
18. Skierczyńska J.: *Kosmos A* **96**, 43 (1969).
19. Skierczyńska J.: *J. Exp. Bot.*, **19**, 389 (1968).
20. Тарусов В. Н.: *Основы биофизики и биофизической химии*, ч. 1, Мос-
ква 1960.
21. Tazawa M.: *Plant a. Cell Physiol.*, **5**, 33 (1964).
22. Tazawa M., Kishimoto U.: *Plant a. Cell Physiol.*, **5**, 45 (1964).
23. Walker N. A.: *Austr. J. Biol. Sci.*, **8**, 476 (1955).
24. Воробьев Л. Н., Раденович Ч. Н., Хитров Ю. А., Яглова П. Т.:
Биофизика, **12**, 1016 (1967).
25. Воробьев Л. Н., Курелла Г. А.: *Биофизика*, **10**, 788 (1965).
26. Воробьев Л. Н., Ли Су-юнь, Ради М. Ридван: *Биофизика*, **13**,
49 (1968).

РЕЗЮМЕ

Анализируется несоответствие экспериментальных результатов с уравнением Гольдмана. Измерения потенциалов при медленном введении в клетку микроэлектрода позволяют предполагать, что причина этих несовпадений заключается в неправильном предположении о постоянном электрическом поле в стенке клетки и плазмалемме.

SUMMARY

The investigations showed a disagreement between Goldman's equation and the experimental results. Potential measurements by the microelectrode slowly inserted into the cell suggest that the reason of this disagreement is an incorrect assumption of the existence of a constant electric field in the cell wall and in the plasmalemma.