

MEMBRÁNOK PERMEABILITÁSA CARRIER MEDIÁLT TRANSPORT-FOLYAMATOKBAN

SCHUBERT ANDRÁS

ATE, Fizika Tanszék, Gödöllő

Bevezetés

A „carrier hipotézis” általánosan elfogadott feltételezés a biológiai membránokon mutató transzportanomáliák értelmezésére. E modell szerint a transzportálódó anyag, amely szabad állapotba igen kis mértékben, vagy egyáltalán nem képes áthaladni a membránon, a membrán egy komponensével, a „carrier”-rel kémiai reakcióba lép, és a permeábilis reakciótermék formájában jut át a membránon. A membrán másik oldalán egy szétkapcsolódási reakció következik be, és a transzportálódó anyag ismét szabad állapotba kerül. Természetesen ebben az egyszerű formában egy anyag nettó transzportja csak koncentráció- (ill. kémiai potenciál-) gradiens esetén játszódik le, és a koncentrációk kiegyenlítődése után egyensúly áll be, akárcsak a szabad diffúzió során. A carrier tehát nem befolyásolja az egyensúlyi állapotot, csak a sebességet, ilyen értelemben a transzport katalizátoraként működik.

Más a helyzet az ún. „aktív transzportok” esetén, amikor a membrán valamely anyagot az anyagcsere energiájának felhasználásával a koncentrációviszonyoktól nagymértékben függetlenül transzportál; ezáltal képes a sejt egyes anyagok bekonzentrálására, mások eltávolítására.

Jelen dolgozatban a carrier mediált transzport (a továbbiakban CMT) első, passzív formájával foglalkozunk. Megvizsgáljuk, hogy a carrier működésére vonatkozó különböző feltételezések hogyan tükröződnek a membrán permeabilitásában, és milyen lehetőségek vannak az egyes modellek elkülönítésére.

1. §. Membránok permeabilitása

A membránpermeabilitás klasszikus definíciójának [4, 12] a

$$j_A = P_A \Delta c_A \quad (1-1)$$

összefüggést tekinthetjük, ahol j_A az A komponens áramsűrűsége a membránon keresztül $\text{kg} \cdot \text{A} / \text{m}^2 \cdot \text{s}$ egységben, Δc_A az A anyag partikuláris sűrűségé-

nek ($\text{kg}\cdot A/\text{m}^3\cdot\text{elegy}$) különbsége a membrán által elválasztott I és II részek között:

$$\Delta\varrho_A = \varrho_A^I - \varrho_A^{II}; \quad (1-2)$$

ekkor P_A a membrán permeabilitása az A anyagra.

Ha a

$$\bar{j}_A = j_A/M_A, \quad (1-3)$$

$$N_A = \varrho_A/M_A \quad (1-4)$$

moláris mennyiségekkel kívánunk dolgozni, ahol M_A az A komponens moláris tömege ($\text{kg}\cdot A/\text{mól}\cdot A$), akkor (1-1) helyett

$$\bar{j}_A = P_A \Delta N_A \quad (1-5)$$

is írható. Itt a j_A moláris áramsűrűség egysége $\text{mól}\cdot A/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, az N_A moláris koncentrációé $\text{mól}\cdot A/\text{m}^3\cdot\text{elegy}$; azonnal belátható, hogy P_A értéke (1-1) és (1-5) alapján is azonos, egysége pedig m/s .

A permeabilitás ilyen értelmezése az irodalomban mindenütt megtalálható, kevés szó esik azonban alkalmazhatóságának feltételeiről, amik pedig igen szigorúak. A permeabilitás fenti definíciója csak akkor értelmes és egyértelmű, ha

- (i) a transzport időben állandó (stacioner);
- (ii) a membránon való áthaladás során az A anyag nettó kémiai konverziója zérus;
- (iii) az A anyag j_A fluxusának létrehozásáért csak az A anyag koncentrációkülönbsége felelős, azaz elhanyagolhatjuk a külső (gravitációs, elektromos stb.) erők, a hőmérséklet-, nyomás- stb. különbségek és a diffúziós keresztteffektusok szerepét.

Ad (i): Valódi instacioner folyamatok esetén j_A a membrán belsejében térben és időben változó értékeket vesz fel, amit a $\varrho_A^I, \varrho_A^{II}$, ill. N_A^I, N_A^{II} peremfeltételek mellett a kezdeti feltétel — a membránon belüli koncentrációeloszlás a kezdeti időpillanatban — is alapvetően meghatároz. A permeabilitás (1-1) és (1-5) definíciói tehát ekkor értelmüket veszítik. A definíció azonban kiterjeszthető a „kvázistacioner” esetre, amikor az I és/vagy a II térrészbeli koncentrációk lassan változnak, azaz, ha a membránban a stacioner állapot beállására jellemző τ relációs idő, melynek nagyságát a $\tau \simeq d/2P_A$ módon becsülhetjük, lényegesen kisebb a külső térrészben végbemenő változásokra jellemző időnél. Ilyenkor úgy tekinthetjük, hogy minden pillanatban az aktuális I és II-beli koncentrációknál megfelelő stacioner állapot áll fenn.

Ad (ii): Ha a transzportálódó anyag a membránon való áthaladás közben termelődik, vagy fogy, a membrán I, ill. II térrész felőli határfelületén áthaladó fluxus nyilvánvalóan különbözni fog. Ilyenkor kétféleképpen járhatunk el:

(a) a permeabilitást megegyezésszerűen az I, vagy a II határfelületre, vagy más kiválasztott felületre értelmezzük;

(b) a permeabilitási viszonyokat nem egyetlen komponensre, hanem egy olyan komponenscsoportra vonatkoztatjuk, amelyre összességében tekintve fennáll az (ii) követelmény.

A (b) eset egy gyakori formája valamely A komponensre vonatkozó totális mennyiségek: a j_A^t , $\bar{j}_A^t$ totális áramsűrűségek, a ϱ_A^t , N_A^t totális sűrűségek ill. moláris koncentrációk használata. Ezek a mennyiségek az A komponens szabad és összes kötött formáira vonatkozó megfelelő mennyiségek összegét jelentik. A totális permeabilitást

$$j_A^t = P_A^t \Delta \varrho_A^t, \quad (1-6)$$

$$\bar{j}_A^t = \bar{P}_A^t \Delta N_A^t \quad (1-7)$$

módon értelmezzük.

Ad (iii): Az itt felmerülő lehetőségek közül most csak a diffúziós kereszt-effektusok figyelembevételét mutatjuk be. Ha az N -komponensű elegyben található többi komponens koncentrációkülönbsége is hozzájárul az A anyag fluxusának kialakításához, akkor a

$$j_A = \sum_{B=1}^N P_{AB} \Delta \varrho_B, \quad (A = 1, \dots, N), \quad (1-8)$$

$$\bar{j}_A = \sum_{B=1}^N \bar{P}_{AB} \Delta N_B, \quad (A = 1, \dots, N) \quad (1-9)$$

összefüggéseket írhatjuk fel. Szokásos az (1-8) és (1-9) tömör

$$\underset{\sim}{J} = \underset{\sim}{P} \cdot \underset{\sim}{\Delta \varrho}, \quad (1-10)$$

$$\underset{\sim}{\bar{J}} = \underset{\sim}{\bar{P}} \cdot \underset{\sim}{\Delta N} \quad (1-11)$$

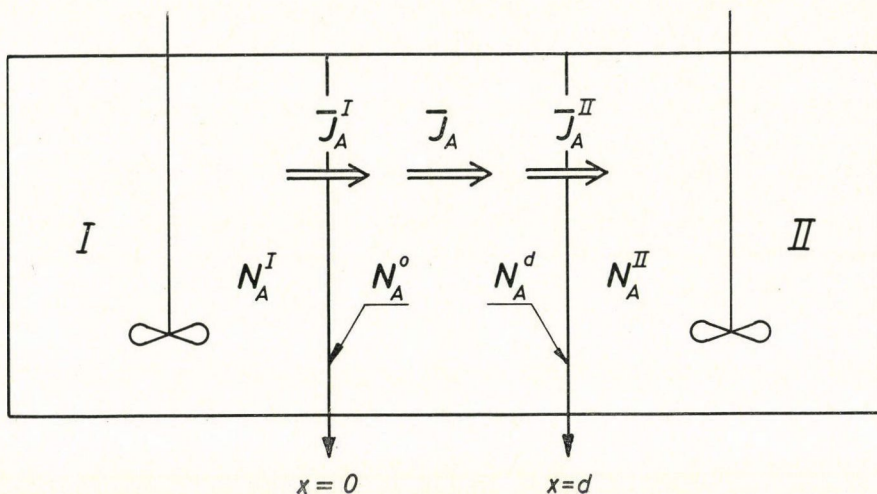
mátrixalakban történő felírása, ahol J , $\bar{J}$, $\Delta \varrho$ és ΔN N -dimenziós vektorok, P és $\bar{P}$ $N \times N$ típusú négyzetes mátrixok. Az (1-1), (1-5) komponensenkénti egyetlen permeabilitási együtthatója helyett tehát most a permeabilitási együtthatók N^2 számú elemből álló mátrixával jellemezhetjük a membránt. Megjegyzendő még, hogy ebben az esetben a $\underset{\sim}{P}$ és $\underset{\sim}{\bar{P}}$ mátrixok nem azonosak, közöttük a

$$\underset{\sim}{\bar{P}} = \underset{\sim}{M}^{-1} \cdot \underset{\sim}{P} \cdot \underset{\sim}{M} \quad (1-12)$$

összefüggés teremt kapcsolatot, ahol $\underset{\sim}{M}$ a moláris tömegekből alkotott diagonális mátrix, $\underset{\sim}{M}^{-1}$ pedig az inverze.

1. táblázat

Membrán permeabilitása egy komponens stacioner transzportjára kémiai reakció nélkül.
Lineáris eset.



Egyensúlyi megoszlás:

$$N_A^{0,eq} = \kappa_A^I N_A^{I,eq}, \\ N_A^{d,eq} = \kappa_A^{II} N_A^{II,eq}.$$

Felületi átadás:

$$\bar{j}_A^I = h_A^I (\kappa_A^I N_A^I - N_A^0), \\ \bar{j}_A^{II} = h_A^{II} (N_A^d - \kappa_A^{II} N_A^{II}).$$

Diffúzió:

$$\bar{j}_A = (D_A/d)(N_A^0 - N_A^d).$$

Stacionaritás:

$$\bar{j}_A = j_A = \bar{j}_A^{II}.$$

$$\bar{j}_A = \left(\frac{d}{D_A} + \frac{1}{h_A^I} + \frac{1}{h_A^{II}} \right)^{-1} (\kappa_A^I N_A^I - \kappa_A^{II} N_A^{II}); \\ P_A = \left(\frac{d}{D_A} + \frac{1}{h_A^I} + \frac{1}{h_A^{II}} \right)^{-1} \frac{\kappa_A^I N_A^I - \kappa_A^{II} N_A^{II}}{N_A^I - N_A^{II}}.$$

Speciális esetek:

(A) $\kappa_A^I = \kappa_A^{II} \equiv \kappa_A$:

$$\bar{j}_A = \kappa_A \left(\frac{d}{D_A} + \frac{1}{h_A^I} + \frac{1}{h_A^{II}} \right)^{-1} (N_A^I - N_A^{II}); \quad P_A = \kappa_A \left(\frac{d}{D_A} + \frac{1}{h_A^I} + \frac{1}{h_A^{II}} \right)^{-1}.$$

(B) $h_A^I, h_A^{II} \rightarrow \infty$:

$$\bar{j}_A = \frac{D_A}{d} (\kappa_A^I N_A^I - \kappa_A^{II} N_A^{II}); \quad P_A = \frac{D_A}{d} \frac{\kappa_A^I N_A^I - \kappa_A^{II} N_A^{II}}{N_A^I - N_A^{II}}.$$

2. táblázat

Membrán permeabilitása egy komponens transzportjára a nemlineáris diffúzió néhány esetében [3].

$\kappa_A^I = \kappa_A^{II} = \kappa_A$; $h_A^I, h_A^{II} \rightarrow \infty$; kémiai reakció nincs

(A) Helyfüggő diffúziós együttható: $D_A = D_A^\circ(1 + f(x))$;

$$P_A = \kappa_A D_A^\circ \left[\int_0^d \frac{dx}{1 + f(x)} \right]^{-1}.$$

(B) Koncentrációfüggő diffúziós együttható: $D_A = D_A^\circ(1 + f(N_A))$;

$$P_A = \frac{\kappa_A D_A^\circ}{d} \left[1 + \frac{1}{\Delta N_A} \int_{N_A^I}^{N_A^{II}} f(N_A) dN_A \right].$$

(C) Gradiensfüggő diffúziós együttható: $D_A = D_A^\circ \left(1 + f\left(\frac{dN_A}{dx}\right) \right)$;

$$P_A = \frac{\kappa_A D_A^\circ}{d} \left[1 + f\left(\frac{\Delta N_A}{d}\right) \right].$$

(D) Hely- és koncentrációfüggő diffúziós együttható: $D_A = D(x, N_A)$.

(i) Szimmetrikus eset: $D(x, N_A) = D_1(x) \cdot D_2(N_A)$;

$$P_A = \frac{\kappa_A}{d} \int_{N_A^I}^{N_A^{II}} D_2(N_A) dN_A \left[\int_0^d \frac{dx}{D_1(x)} \right]^{-1}.$$

(ii) Aszimmetrikus eset: ha a diffúziós együttható egyidejűleg függ a helytől és a koncentrációtól, és a szimmetrikus eset követelménye nem teljesül, akkor a membrán a két irányban eltérő permeabilitást mutat.

2. §. *A CMT mechanizmusa*

A CMT-ra vonatkozó alapvető posztulátumok:

(i) A transzportálódó anyag szabad állapotban igen csekély mértékben vagy egyáltalán nem képes áthaladni a membránon;

(ii) a carrier és a komplex nem léphet ki a membránból.

Az (i) feltétel követelménye kétféle okból következhet be:

(a) a transzportálódó anyag megoszlási egyensúlya a membrán és a külső vizes fázisok között erősen az utóbbi javára van eltolva;

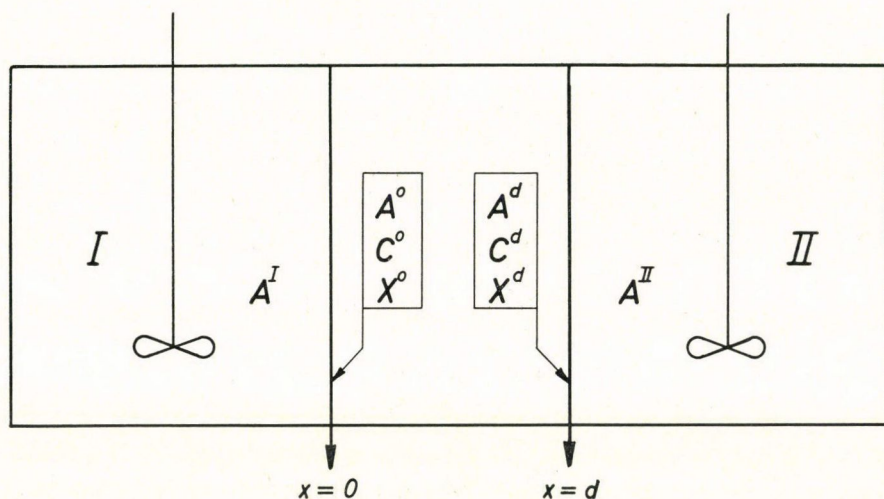
(b) a transzportálódó anyag membránbeli mobilitása kicsiny.

A (ii) feltétel teljesülése mindenképpen azt kívánja, hogy a carrier és a komplex egyensúlyi megoszlása döntő mértékben a membrán felé kedvezzen.

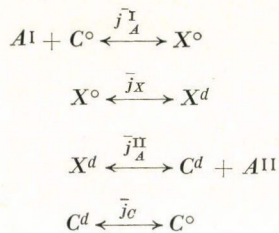
Az (i) feltétel teljesülésének kétféle módja kétféle CMT modell megalkotását teszi szükségessé. Az (a) esetben, minthogy a transzportálódó anyag nem lép be a membránba, a carrier pedig nem lép ki onnan, fel kell tennünk, hogy a kettőjük között lejátszódó reakció egy felületi rétegben megy végbe. Ebben a modellben a két felületi reakciót és a membránon keresztüli

3. táblázat

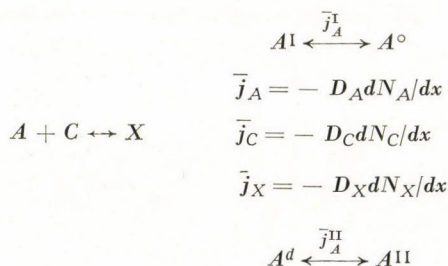
A CMT diszkrét és folytonos modellje

 A — a transzportálódó anyag C — a carrier X — a komplex

(A) Diszkrét modell:



(B) Folytonos modell:



transzlokációt diszkrét lépésekként vesszük figyelembe. A (b) esetben a diffúzió és akémiai reakció térben folytonosan megy végbe a membrán belsejében. A diszkrét modell skémája tehát:

kapcsolódási reakció az I felületen — transzlokáció — szétkapcsolódási reakció a II felületen;

a folytonos modellé pedig:

bejutás a membránba az I felületen — diffúzió és kémiai reakció a membrán belsejében — kilépés a membránból a II felületen keresztül.

A részfolyamatok sebességi viszonyaitól függően a két modellben különféle speciális esetek állhatnak elő. A diszkrét modell diffúziólimitált határesetében a felületi reakciók pillanatszerűnek tekinthetők és a komponensek koncentrációviszonyai mindig a kémiai egyensúlynak felelnek meg. A reakciólimitált határesetben a transzlokációs lépés tart állandó egyensúlyt. A folytonos modellben a felületi átadás, a diffúzió és a kémiai reakció közül kerül ki a sebességmeghatározó lépés. A szokásos feltételezés szerint a felületi átadás nem sebességmeghatározó, vagyis az egyes komponenseknek a felület két oldalán mérhető koncentrációi között mindenkor a megoszlási egyensúlynak megfelelő arányok állnak fenn. Ezen felül most is előállhat a diffúziólimitált, vagy a reakciólimitált határeset.

Figyelemreméltó, hogy ha a folytonos modellben a kémiai reakció sebessége a diffúzióhoz képest növekszik, akkor a reakció nagyrészt egy, a felülethez közeledő tartományban játszódik le, és határesetben teljesen a felületre szorul. Ezért a diffúziólimitált határesetben a két modell eredményei egybeesnek. Amíg azonban a diszkrét modell esetében a felületi reakció a rendszer speciális egyensúlyi viszonyainak a következménye, addig a folytonos modellben ugyanez a speciális sebességi viszonyok eredményeként adódik.

Külön-külön mindkét modellnek kiterjedt irodalma van (a diszkrét modellre vonatkozóan összefoglaló képet ad [12], a folytonosra [7]), a két modell összevetése azonban ritka [1]. Természetesen, amíg a szokásos diffúziólimitált határesetre szorítkozunk, az eredmények egybeesése miatt a megkülönböztetésnek — bár az elvi különbözőség ekkor is fennáll — kevés a gyakorlati jelentősége. Amikor azonban a kémiai reakció is sebességmeghatározó szerepet játszhat, akkor a két modell különválik, és a kinetikus vizsgálatok sikere a modell helyes megválasztásától függhet.

A két modell matematikai leírásának nehézségében alapvető különbség mutatkozik. A diszkrét modellben a felületi reakciók és a transzlokációs lépések együttesen egy kémiai reakciórendszerrel analóg módon kezelhetők. Ez instacioner esetben egy elsőrendű közönséges differenciálegyenlet-rendszert eredményez (a független változó az idő), amely stacioner esetben az időderiváltak eltűnése miatt algebrai egyenletrendszerre redukálódik. A szokásos és kézenfekvő feltételek mellett (állandó külső koncentrációk, megoszlási egyensúly a felületi reakcióréteg, valamint a membrán, ill. a külső fázisok között) ezek az egyenletek lineárisak, úgy, hogy matematikai kezelésük semmilyen nehézséget nem okoz.

4. táblázat

A CMT modelljeinek matematikai leírása

Modell/eset	Diszkrét	Folytonos
Instacioner	elsőrendű közönséges differenciálegyenletrendszer (független változó: t)	másodrendű parciális differenciálegyenlet-rendszer (a diffúzió egyenletei nemlineáris forrástaggal)
Stacioner	lineáris algebrai egyenlet-rendszer	nemlineáris másodrendű közönséges differenciálegyenlet-rendszer (független változó: x ; peremfeltételek a felületi átadás törvényei szerint)

A folytonos modellben a membránreakciót (általában nemlineáris) forrástagként kell beírni a diffúzió egyenleteibe, amihez a felületi átadás összefüggései a peremfeltételeket szolgáltatják. Instacioner esetben tehát a diffúzió parabolikus típusú másodrendű parciális differenciálegyenlet-rendszeréhez jutunk: ez stacioner esetben másodrendű közönséges differenciálegyenletrendszerre redukálódik (független változó: x), amely a nemlinearitás miatt csak igen speciális esetekben vezet jól értékelhető megoldásokra.

A fentiek alapján nyilvánvalóak a matematikai kezelhetőség szempontjából a diszkrét modell előnyei. Ha figyelembe vesszük, hogy a biológiai membránok permeabilitására vonatkozó kísérleti adatok is inkább a diszkrét modell feltételeinek teljesülését látszanak igazolni (klasszikus példaként hozhatjuk a membránpermeabilitás és a lipid/víz megoszlási hányados közötti pozitív korrelációt [2]), akkor a folytonos modell létjogosultsága is kérdésessé válhat. Más esetekben azonban, pl. az oxigénnek hemoglobin által mediált diffúziója esetében (melynek részletes kinetikai analízisét l. [11]-ben), vagy mesterséges membránokon keresztül történő transzportok esetében gyakran a folytonos modell tűnik alkalmasabbnak.

3. §. A CMT kinetikája

A CMT előző paragrafusban tárgyalt mindkét modellje alapul szolgálhat a CMT kinetikai leírásához, ha posztuláljuk az egyes elemi lépések kinetikai törvényeit. A jelzett indokok alapján a diszkrét modell által szolgáltatott eredményeket vizsgáljuk általánosabb formában, és a folytonos modell módszerét csak speciális példákön illusztráljuk.

Diszkrét modell

A reakciószkéma a 3. táblázat (A) esetének felel meg. A jelölésmód egyszerűsítése érdekében legyen

$$\begin{aligned} N_1 &\equiv N_C^o; N_2 \equiv N_C^d; \\ N_3 &\equiv N_X^o; N_4 \equiv N_X^d; \\ \bar{j}_1 &\equiv \bar{j}_A^I; \bar{j}_2 \equiv \bar{j}_C; \bar{j}_3 \equiv \bar{j}_X; \bar{j}_4 \equiv \bar{j}_A^{II}. \end{aligned} \quad (3-1)$$

A legegyszerűbb kinetikai leírás:

$$\begin{aligned} \bar{j}_1 &= k_{+1} N_A^I N_1 - k_{-1} N_3; \\ \bar{j}_2 &= k_{+2} N_2 - k_{-2} N_1; \\ \bar{j}_3 &= k_{+3} N_3 - k_{-3} N_4; \\ \bar{j}_4 &= k_{+4} N_4 - k_{-4} N_A^{II} N_2; \end{aligned} \quad (3-2)$$

ami tömören a

$$\bar{j} \approx \mathbf{k} \cdot N \quad (3-3)$$

alakba is írható, ahol

$$\bar{j} = \{\bar{j}_1, \bar{j}_2, \bar{j}_3, \bar{j}_4\}; \quad (3-4)$$

$$N = \{N_1, N_2, N_3, N_4\}; \quad (3-5)$$

$$\mathbf{k} \approx \begin{bmatrix} k_{+1} N_A^I & 0 & -k_{-1} & 0 \\ -k_{-2} & k_{+2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & k_{+3} & -k_{-3} \\ 0 & -k_{-4} N_A^{II} & 0 & k_{+4} \end{bmatrix}. \quad (3-6)$$

A rendszer sztöchiometriai mátrixa

$$\nu = \begin{bmatrix} -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix}. \quad (3-7)$$

Ha az N_A^I és N_A^{II} koncentrációkat rögzített értékűeknek tekintjük, akkor a fenti rendszer egy elsőrendű reakciórendszerként kezelhető, és az N_1, N_2, N_3, N_4 koncentrációkra a

$$\frac{d}{dt} N \approx \nu \cdot \mathbf{k} \cdot N \approx \mathbf{C} \cdot N \quad (3-8)$$

lineáris elsőrendű közönséges differenciálegyenlet-rendszer írható fel, amelynek C együttható mátrixa (3-6), (3-7) és (3-8) alapján

$$C \approx \begin{bmatrix} -k_{+1}N_A^I - k_{-2} & k_{+2} & k_{-1} & 0 \\ k_{-2} & -k_{+2} - k_{-4}N_A^{II} & 0 & k_{+4} \\ k_{+1}N_A^I & 0 & -k_{-1} - k_{+3} & k_{-3} \\ 0 & k_{-4}N_A^{II} & k_{+3} & -k_{-3} - k_{+4} \end{bmatrix}. \quad (3-9)$$

Az

$$N_i(t=0) = N_{i0}, \quad (i = 1, 2, 3) \quad (3-10)$$

kezdeti feltételek ismeretében (3-8) könnyen megoldható. Eredményül azt kapjuk, hogy mind a koncentrációk, mind a fluxusok monoton, exponenciális módon közelednek stacioner értékükhöz. Bár eszerint a stacioner állapot csak végtelen idő után állna be, természetesen a stacionaritás gyakorlatilag jó közelítéssel már véges idő után bekövetkezik. Mivel az 1. §-ban mondottak értelmében a permeabilitási viszonyokat csak stacioner rendszerekben tanulmányozhatjuk, a továbbiakban mi is rendszerünk stacioner viselkedését fogjuk vizsgálni.

Stacioner állapotban a koncentrációk időderiváltjai eltűnnek:

$$dN_i/dt = 0, \quad (i = 1, 2, 3, 4), \quad (3-11)$$

a $\bar{j}_i$ fluxusok pedig azonos értékűek lesznek:

$$\bar{j}_1 = \bar{j}_2 = \bar{j}_3 = \bar{j}_4 = \bar{j}_A. \quad (3-12)$$

A carrier totális mennyiségének megmaradását a membránban

$$\sum_{i=1}^4 N_i = 2N_C^t = \text{állandó} \quad (3-13)$$

fejezi ki.

A permeabilitás meghatározását a következő gondolatmenet alapján végezzük: mivel (3-13) miatt a (3-11) egyenletek közül csak három független, felírjuk tehát (3-11) három tetszőlegesen kiválasztott egyenletét és (3-13)-at, és kifejezzük belőlük az N_1 , N_2 , N_3 , N_4 koncentrációk stacioner értékeit. (3-12) miatt a (3-2) egyenletek bármelyikébe helyettesítjük is be az így kapott koncentrációkat, $\bar{j}_A$ értékét kapjuk meg a kinetikus együtthatók, N_C^t , valamint N_A^I és N_A^{II} kifejezésében. Innen a permeabilitás az (1-5) definíció alapján közvetlenül meghatározható.

Esetünkben tehát pl.

$$\begin{bmatrix} -k_{+1}N_A^I - k_{-2} & k_{+2} & k_{-1} & 0 \\ k_{-2} & -k_{+2} - k_{-4}N_A^{II} & 0 & k_{+4} \\ k_{+1}N_A^I & 0 & -k_{-1} - k_{+3} & k_{-3} \\ 1 & 1 & 1 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} N_1 \\ N_2 \\ N_3 \\ N_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 2N_C^t \end{bmatrix} \quad (3-14)$$

írható. A stacioner koncentrációk innen

$$N_i = 2N_C^t \frac{W_i}{W}, \quad (i = 1, 2, 3, 4) \quad (3-15)$$

lesznek, ahol

$$\begin{aligned} W_1 &= k_{-1}k_{-3}(k_{-4}N_A^{II} + k_{+2}) + k_{+2}k_{+4}(k_{-1} + k_{+3}), \\ W_2 &= k_{+3}k_{+4}(k_{+1}N_A^I + k_{-2}) + k_{-1}k_{-2}(k_{-3} + k_{+4}), \\ W_3 &= k_{-3}k_{-4}N_A^{II}(k_{+1}N_A^I + k_{-2}) + k_{+1}k_{+2}N_A^I(k_{-3} + k_{+4}), \\ W_4 &= k_{+1}k_{+3}N_A^I(k_{-4}N_A^{II} + k_{+2}) + k_{-2}k_{-4}N_A^{II}(k_{-1} + k_{+3}), \\ W &= W_1 + W_2 + W_3 + W_4. \end{aligned} \quad (3-16)$$

A stacioner fluxus pl. a

$$j_A = \frac{2N_C^t}{W} (k_{+2}W_2 - k_{-2}W_1) \quad (3-17)$$

módon fejezhető ki. Az eredmények további részletezése szükségtelenül bonyolult lenne, ugyanis rendszerünkben néhány, az együtthatókra vonatkozó plauzibilis egyszerűsítést engedhetünk meg. Ha feltételezzük, hogy az I és II felületeken lejátszódó reakciók megfelelő kinetikus együtthatói egyenlőek (vagyis a két felületen ugyanaz a reakció játszódik le ellentétes irányban, azonos körülmények között):

$$\begin{aligned} k_{+1} &= k_{-4} = k, \\ k_{-2} &= k_{+4} = Kk, \end{aligned} \quad (3-18)$$

(K az egyensúlyi állandó), valamint hogy a C és X komponensek transzlokációja a lineáris diffúzió kinetikájának megfelelően történik:

$$\begin{aligned} k_{+2} &= k_{-2} = P, \\ k_{+3} &= k_{-3} = rP, \end{aligned} \quad (3-19)$$

(P a carrier „belső permeabilitási együtthatója”, r a „mobilitási arány” [2]), akkor (3-16) helyett

$$\begin{aligned} W_1 &= Pk[rK(kN_A^{II} + P) + K(rP + Kk)], \\ W_2 &= Pk[rK(kN_A^I + P) + K(rP + Kk)], \\ W_3 &= Pk[rN_A^{II}(kN_A^I + P) + N_A^I(rP + Kk)], \\ W_4 &= Pk[rN_A^I(kN_A^{II} + P) + N_A^{II}(rP + Kk)], \\ W &= Pk\{[k(rN_A^I + K) + 2rP](N_A^{II} + K) + [k(rN_A^{II} + K) + \\ &\quad + 2rP](N_A^I + K)\} \end{aligned} \quad (3-20)$$

írható, azaz a korábbi nyolc kinetikus együttható helyett csak négy független paraméter (K, k, r, P) szerepel. Itt jegyezzük meg, hogy k a felületi reakció sebességi együtthatója, ezért mértékegysége $m^4/\text{mól} \cdot \text{s}$.

A stacioner fluxus (3–17) szerint

$$\bar{j}_A = \frac{2N_C^t}{W} rKP^2k^2 \Delta N_A, \quad (3-21)$$

vagyis a permeabilitás

$$P_A = \frac{2N_C^t}{W} rKP^2k^2. \quad (3-22)$$

W értékét (3–20) alapján behelyettesítve kapjuk meg P_A -t K, k, r, P, N_C^t, N_A^I és N_A^{II} kifejezésében:

$$\begin{aligned} P_A = 2N_C^t rPKk \{ [k(rN_A^I + K) + 2rP] (N_A^{II} + K) + [k(rN_A^{II} + K) + \\ + 2rP] (N_A^I + K) \}^{-1} = 2N_C^t rPKk \{ k[(rN_A^I + K)(N_A^{II} + K) + \\ + (rN_A^{II} + K)(N_A^I + K) + 2rP(N_A^I + N_A^{II} + 2K)] \}^{-1}. \end{aligned} \quad (3-23)$$

Az irodalomban megtalálható CMT kinetikai összefüggések többsége a permeabilitás (3–23) kifejezéséből speciális esetként lezármaztatható. Egyszerű összefüggésekhez juthatunk a kinetikus paraméterek speciális értékei, ill. nagyságrendi viszonyai mellett.

5. táblázat

Membránpermeabilitás a CMT kinetikus paramétereire vonatkozó speciális esetekben (3–23) alapján

(A) $r = 1$; a carrier és a komplex mobilitása azonos

$$\begin{aligned} P_A = N_C^t PKk \{ k(N_A^I + K)(N_A^{II} + K) + P(N_A^I + N_A^{II} + 2K) \}^{-1} \\ = N_C^t PK \left\{ \left(N_A^I + K + \frac{P}{k} \right) \left(N_A^{II} + K + \frac{P}{k} \right) - \left(\frac{P}{k} \right)^2 \right\}^{-1} \end{aligned}$$

(B) $k \rightarrow \infty$; diffúziólimitált határeset

$$P_A = 2N_C^t PK \{ (rN_A^I + K)(N_A^{II} + K) + (rN_A^{II} + K)(N_A^I + K) \}^{-1}$$

(i) $r \rightarrow 0, P \rightarrow \infty, (rP)$ véges; a komplex mozgása a sebességmeghatározó

$$P_A = 2N_C^t (rP) (N_A^I + N_A^{II} + 2K)^{-1}$$

(ii) $r = 1$; a carrier és a komplex mobilitása azonos

$$P_A = N_C^t PK \{ (N_A^I + K)(N_A^{II} + K) \}^{-1}$$

(iii) $r \rightarrow \infty, P$ véges; a carrier mozgása a sebességmeghatározó

$$P_A = 2N_C^t PK \{ N_A^I(N_A^{II} + K) + N_A^{II}(N_A^I + K) \}^{-1}$$

(C) $P \rightarrow \infty$; reakciólimitált határeset

$$P_A = N_C^t Kk (N_A^I + N_A^{II} + 2K)^{-1}$$

Ha az N_A^I , N_A^{II} koncentrációk értékeit választjuk meg speciális módon, akkor a permeabilitás (3–23) kifejezésének újabb egyszerűsített eseteihez juthatunk.

6. táblázat

Membránpermeabilitás N_A^I és N_A^{II} értékeire vonatkozó speciális esetekben (3–23) alapján

(A) $N_A^I, N_A^{II} \ll K$; látszólagos FICK típusú diffúzió

$$P_A = N_A^I r P k (kK + 2rP)$$

(B) $N_A^I, N_A^{II} \gg K$;

$$P_A = N_A^I r P K k \{k N_A^I N_A^I + P(N_A^I + N_A^{II})\}^{-1}$$

(C) $N_A^I \simeq N_A^I = N_A$; kicserélődési fluxus

$$P_A = N_A^I r P K k \{[k(rN_A + K) + 2rP] (N_A + K)\}^{-1}$$

(D) $N_A^{II} = 0$; egyirányú fluxus

$$P_A = 2N_A^I r P K k \{[kK(1 + r) + 2rP] N_A^I + 2K(kK + rP)\}^{-1}$$

A (C) és (D) alatt jellemzett két eset, a kicserélődési fluxus és az egyirányú fluxus főként a CMT izotópos nyomjelzéses vizsgálatai kapcsán nyert gyakorlati értelmet: az első akkor jelentkezik, amikor kis mennyiségű izotóp transzportját vizsgáljuk a jelzetlen A anyag N_A egyensúlyi koncentrációja mellett, az utóbbi akkor, ha az izotóp az N_A^I koncentrációjú I térrészből az A anyagot nem tartalmazó II térrészbe áramlik. Természetesen a rendszer szimmetriája miatt az egyirányú fluxus kifejezése ellenkező irányban is azonos lenne, továbbá a (3–23) szerinti általános eset tekinthető egy $I \rightarrow II$ és egy $II \rightarrow I$ irányítású egyirányú fluxus különbségeként. Az ilyen felbontás azonban esetünkben merőben formális, és csak olyan esetekben indokolt, ha a két irányban a transzport mechanizmusa különböző (pl. egyes aktív transzport-folyamatok esetén). A passzív CMT vizsgálatában az egyirányú fluxus egy viszonylag könnyen megvalósítható kísérleti elrendezésnek felel meg, amely más elrendezésekkel (pl. a kicserélődési fluxusnak megfelelővel) összekapcsolva lehetőséget nyújt az egyes kinetikai paraméterek meghatározására.

Így pl. a diffúziólimitált határesetben

$$P_A \text{ (kicserélődési)} = N_A^I r P K \{rN_A + K\} (N_A + K)^{-1},$$

$$P_A \text{ (egyirányú)} = 2N_A^I r P K \{K(rN_A + K) + K(N_A + K)\}^{-1}. \quad (3-24)$$

A kétféle permeabilitás hányadosa:

$$q = \frac{P_A \text{ (kicserélődési)}}{P_A \text{ (egyirányú)}} = \frac{K}{2} \left[\frac{1}{rN_A + K} + \frac{1}{N_A + K} \right]. \quad (3-25)$$

E hányadost az N_A függvényében vizsgálva K és r értékei meghatározhatók. Ha történetesen K értékét valamilyen független mérés alapján már ismerjük, akkor egyszerűen

$$r = -2K \left(\frac{dq}{dN_A} \right)_{N_A=0} \quad (3-26)$$

vagy

$$r = \frac{3 - 4q(K)}{4q(K) - 1}, \quad (3-27)$$

ahol $q(K)$ a q értéke az $N_A = K$ helyen. Hasonló módszereket a mobilitási arány meghatározására a kísérleti irodalomban is találhatunk [8, 12]. Még egyszerűbb összefüggéshez juthatunk a reakciólimitált határesetben:

$$P_A \text{ (kicszerélődési)} = \frac{N_C^t K k}{2(N_A + K)}, \quad (3-28)$$

$$P_A \text{ (egyirányú)} = \frac{N_C^t K k}{N_A + 2K}, \quad (3-29)$$

$$q = \frac{1}{2} \frac{N_A + 2K}{N_A + K}. \quad (3-30)$$

K értéke pl. a

$$K = -1/2 \left(\frac{dq}{dN_A} \right)_{N_A=0} \quad (3-31)$$

módon határozható meg.

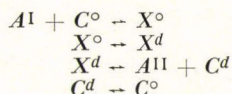
Ha a vizsgált A anyagon kívül egy másik B anyag is részt vehet a reakciórendszerben, akkor a lehetséges effektusok száma megsokszorozódik. B reagálhat a C carrierrel, vagy az X komplexszel, és a keletkező új komplexek maguk is mobilisak, vagy pedig immobilisak lehetnek. Az összes lehetőség sorra vétele túlságosan hosszadalmas lenne, ezért csak néhány jellegzetes esetet vizsgálunk meg.

A 7. táblázatban részletezett lehetőségek közül jónéhánynak a megvalósulása kísérletileg bizonyított. A kinetikus összefüggéseket és a permeabilitásokat a reakciószkhémák alapján teljesen hasonló módon határozhatjuk meg, mint azt egyetlen komponens transzportjára vonatkozóan tettük. A leíráshoz természetesen a figyelembe vett új reakciólépésekkel megnövekedett számú kinetikus paraméter szükséges.

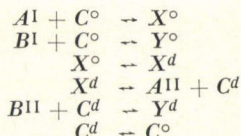
7. táblázat

Egy B anyag hatásmechanizmusai egy A anyag CMT-jára

Az eredeti reakcióskéma:

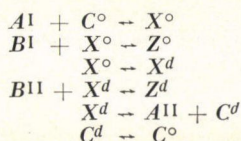


(A) Kompetitív gátlás:



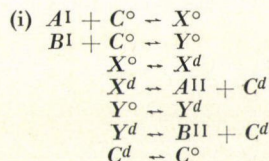
Az inhibitor (B) a carrierrel (C) immobilis komplexet (Y) képez. Az inhibíció az A anyag mennyiségének növelésével visszazorítható.

(B) Nem kompetitív gátlás:

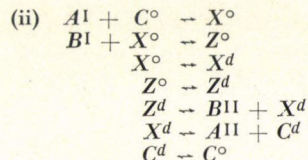


Az inhibitor (B) az X komplexszel immobilis Z vegyületet képez. Az inhibíció az A anyag mennyiségének növelésével nem szorítható vissza.

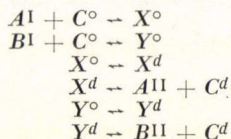
(C) Együttes-, vagy ellentranszport („co-flow”, „counterflow”):



Az A és B anyagok a koncentrációviszonyoktól függően egyező, vagy ellentétes irányban áramlanak. Az egyik anyag transzportja nem független a másik anyag koncentrációviszonyaitól (közvetett csatolás). Ha pl. A diffúziós egyensúlyban van és B -ből koncentrációkülönbséget hozunk létre, ez A -nak ellentétes irányú transzportját indukálja.

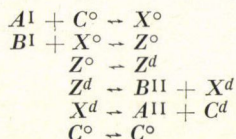


D) Obligát ellentranszport:



A szabad carrier immobilis. A carrier cirkulációját a B segítségével képzett Y komplex biztosítja. A csak ekvivalens mennyiségű B -nek ellenkező irányú transzportjával együtt tud a membránon áthaladni.

(E) Obligát együttes transzport:



Az X komplex immobilis, és csak azáltal mobilizálódik, hogy B -vel Z komplexet képez. A csak ekvivalens mennyiségű, vele együtt transzportálódó B -vel együtt tud a membránon áthaladni.

Folytonos modell

Mint azt korábban említettük, matematikai nehézségek miatt nem lehetséges a folytonos modell alapján a CMT kinetikájának olyan általános tárgyalását adni, mint azt a diszkrét modell alapján megtehettük. Amennyiben valamely rendszerre a folytonos modell alkalmazása látszik indokoltnak, az aktuális lehetőségek szerint kell egy olyan egyszerűsített modellt felállítani, amelyre ha egzakt megoldást nem is, de közelítő megoldást legalábbis kapunk.

Példaként tekintsük a kicserélődési fluxus, ill. az ahhoz tartozó permeabilitás meghatározását a folytonos modell alapján az $r = 1$ esetben. Feltételezzük még azt is, hogy az A anyagra az I és II felületeken állandó megoszlású egyensúly áll fenn, a κ megoszlási együttható értéke mindkét felületen azonos; az egyszerűség kedvéért tekintsük κ -t egységnyiinek.

A jellemző kinetikai paraméterek: D_A , D_C és D_X az A , C és X anyagok diffúziós együtthatói a membránban,

$$D_C = D_X = D; \quad (3-22)$$

Az $A + C \rightleftharpoons X$ reakciót a k sebességi együttható és a K egyensúlyi állandó jellemzi, amivel a reakciósebesség a

$$\bar{j}_r = k(N_A N_C - K N_X) \quad (3-33)$$

alakba írható.

A stacioner transzportra vonatkozó differenciálegyenlet-rendszer:

$$D_A \frac{d^2 N_A}{dx^2} = D_B \frac{d^2 N_B}{dx^2} = -D_C \frac{d^2 N_C}{dx^2} = \bar{j}_r. \quad (3-34)$$

Közvetlen peremfeltételek csak az A anyagra vannak:

$$N_A(x=0) = N_A^I; \quad N_A(x=d) = N_A^{II}, \quad (3-35)$$

míg a többi feltétel figyelembevétele körülményesebb. Mivel sem a C carrier, sem az X komplex nem léphet ki a membránból, a carrier totális fluxusa zérus:

$$\bar{j}_C = -D_C \frac{dN_C}{dx} - D_X \frac{dN_X}{dx} = 0. \quad (3-36)$$

3-32) miatt azonban ez azt is jelenti, hogy

$$\frac{d}{dx}(N_C + N_X) = 0, \quad (3-37)$$

$$N_C + N_X = N_C^I = \text{állandó}. \quad (3-38)$$

Az A anyag totális fluxusa a stacionaritás miatt állandó:

$$\bar{j}_A^t = -D_A \frac{dN_A}{dx} - D_x \frac{dN_x}{dx} \equiv D\alpha = \text{állandó}, \quad (3-89)$$

ahonnan

$$N_x = -\frac{D_A}{D} N_A - \alpha x - \beta, \quad (3-40)$$

ill. (3-38) miatt

$$N_c = N_c^t + \frac{D_A}{D} N_A + \alpha x + \beta \quad (3-40)$$

következik (β integrálási állandó).

Ha most figyelembe vesszük az A anyag nettó kémiai konverziójának zérus voltát kifejező

$$\int_0^d \bar{j}_r dx = 0 \quad (3-42)$$

feltételt, akkor az integrálszámítás középértéktételéből következik, hogy a membrán belsejében van egy olyan ξ pont, ahol

$$\bar{j}_r(\xi) = 0. \quad (3-43)$$

Ebben a ξ pontban egyensúlyi koncentrációviszonyok uralkodnak, azaz

$$N_c(\xi) = \frac{KN_c^t}{K + N_A(\xi)}, \quad (3-44)$$

$$N_x(\xi) = \frac{N_A(\xi)N_c}{K + N_A(\xi)}. \quad (3-45)$$

Az egyensúlyi pont adatai segítségével (3-40) és (3-41) az

$$N_c = N_c(\xi) + \frac{D_A}{D} (N_A - N_A(\xi)) + \alpha(x - \xi); \quad (3-46)$$

$$N_x = N_x(\xi) - \frac{D_A}{D} (N_A - N_A(\xi)) + \alpha(x - \xi) \quad (3-47)$$

alakba írható.

A kicserélődési fluxus definíciója alapján a rendszer jó közelítéssel szimmetrikusnak tekinthető, vagyis

$$\xi \simeq \frac{d}{2};$$

$$N_A(\xi) \simeq \frac{1}{2} (N_A^I + N_A^{II}) \equiv \hat{N}_A; \quad (3-48)$$

$\tilde{N}_C$ és $\tilde{N}_X$ értékei (3-44) és (3-45)-ből számíthatók ki. Végülis tehát

$$N_C = \tilde{N}_c + \frac{D_A}{D} (N_A - \tilde{N}_A) + \alpha \left(x - \frac{d}{2} \right), \quad (3-49)$$

$$N_X = \tilde{N}_x - \frac{D_A}{D} (N_A - \tilde{N}_A) - \alpha \left(x - \frac{d}{2} \right), \quad (3-50)$$

amit (3-34)-be helyettesítve N_A -ra a

$$\begin{aligned} \frac{D_A}{k} \frac{d^2 N_A}{dx^2} = & \left[\frac{D_A}{D} (\tilde{N}_A - K) - \tilde{N}_c + \alpha \frac{d}{2} \right] N_A - \frac{D_A}{D} N_A^2 - \\ & - \alpha x N_A - K \alpha x + K \left(\tilde{N}_x + \frac{D_A}{D} \tilde{N}_A + \alpha \frac{d}{2} \right) \end{aligned} \quad (3-51)$$

differentiálegyenlethez jutunk a (3-35) peremfeltételekkel, és a (3-42), ill. a belőle következő

$$\left(\frac{dN_A}{dx} \right)_{x=0} = \left(\frac{dN_A}{dx} \right)_{x=d} \quad (3-52)$$

mellékfeltételekkel. Ez utóbbi teszi lehetővé, hogy az ismeretlen α paraméter értékét, és végül a keresett $j_A^t = D\alpha$ kicserélődési fluxus értékét meghatározzuk.

A (3-51) egyenlet bonyolult nemlineáris alakja azt eredményezi, hogy megoldása zárt alakban nem állítható elő, csak numerikus, vagy közelítő módszerekkel kezelhető, vagy pedig a feltételek további specializációjával próbálhatunk egyszerűbb megoldáshoz jutni.

Egy szélsőséges lehetőség a diffúziólimitált határeset, amikor $k \rightarrow \infty$ miatt D_A/k és ezzel (3-51) baloldala zérushoz tart, és (3-51) az

$$F(N_A, x, \alpha) = 0 \quad (3-53)$$

algebrai egyenletté redukálódik, ahol F a (3-51) egyenlet jobboldalát jelöli. A (3-35) peremfeltételek figyelembe vételével azt kapjuk, hogy

$$\alpha = \frac{1}{d} \left[\frac{D_A}{D} + \frac{KN_c^t}{(\tilde{N}_A + K)^2} \right] \Delta N_A, \quad (3-54)$$

vagyis

$$j_A^t = P_A^0 \Delta N_A + \frac{PKN_c^t}{(\tilde{N}_A + K)^2} \Delta N_A, \quad (3-55)$$

ahol

$$P_A^0 = D_A/d; \quad P = D/d \quad (3-56)$$

az A anyag, ill. a carrier „belső permeabilitása”. (3–55) első tagja egy közön-séges szabad FICK típusú diffúciónak felel meg, míg a második tag a carrier mediált rész, melyre a permeabilitás

$$P_A = \frac{PKN_c^t}{(\tilde{N}_A + K)^2} \quad (3-57)$$

megegyezésben a diszkrét modellből számítható értékkel (vö. 5. tábla (B-ii) aleset). A totális permeabilitás

$$P_A^t = P_A^o + P_A. \quad (3-58)$$

A másik — reakciólimitált — határesetben a D_A/D hányados tart zérus-hoz. Ezzel megszabadulhatunk (3–51) négyzetes tagjától, de a kapott

$$\frac{D_A}{k} \frac{d^2 N_A}{dx^2} = \left(-\tilde{N}_c + \alpha \frac{d}{2} \right) N_A - \alpha x N_A - K \alpha x + K \left(\tilde{N}_x + \alpha \frac{d}{2} \right) \quad (3-59)$$

differenciálegyenlet még mindig nem vezet egyszerű megoldásra.

Bonyolult, de zárt alakú megoldásra juthatunk, ha a reakciósebességet (3–33) helyett a linearizált

$$\dot{j}_r = k[(\tilde{N}_A \tilde{N}_C + \tilde{N}_A \tilde{N}_C) - K(N_X + \tilde{N}_X)] \quad (3-60)$$

kifejezéssel közelítjük. Az erre vonatkozó eredményeket [1, 7] tartalmazza)

8. táblázat

A kicserélődési fluxusnak megfelelő permeabilitás az $r = 1$ esetben

(A) Diszkrét modell

(i) Általános eset:

$$P_A^t = P_A^c + \frac{N_c^t PK}{\left((N_A + K) \left(N_A + K + \frac{2P}{k} \right) \right)}$$

(ii) Diffúziólimitált határeset:

$$P_A^t = P_A^c + \frac{N_c^t PK}{(N_A + K)^2}$$

(iii) Reakciólimitált határeset:

$$P_A^t = P_A^o + \frac{1}{2} \frac{N_c^t K k}{N_A + K}$$

B) Folytonos modell

(i) Általános eset: l. (3–51), zárt alakú megoldás nem adható. Linearizált sebességi egyenletet feltételezve [1]:

$$P_A^t = PKN_c^t \left\{ \left(1 + \frac{1}{\chi} \right) (\tilde{N}_A + K) \left[\tilde{N}_A + K + \frac{P}{P_A^o} \frac{KN_c^t}{(\tilde{N}_A + K)(1 + \chi)} \right] \right\}^{-1}$$

ahol

$$z = \frac{d}{2A} \operatorname{cth} \frac{d}{2A} - 1; \quad A = \left[\frac{k(\tilde{N}_A + K)}{P} + \frac{k\tilde{N}_c}{P_A^\circ} \right]^{-1}$$

(ii) Diffúziólimitált határeset:

$$P_A^t = P_A^\circ + \frac{N_c^t PK}{(\tilde{N} + K)^2}$$

(iii) Reakciólimitált határeset: l. (3–59), zárt alakú megoldás nem adható.

4. §. A CMT kinetikájának grafikus analízise

A CMT kinetikus vizsgálatának értékelési módszerei közül a grafikus analízis a legelterjedtebb [10]. A kinetikus paraméterek meghatározására szolgáló diagramokat a transzportkinetika többnyire az enzimkinetikából vette át; leggyakrabban itt is a Lineweaver—Burk-féle kettős reciprok ábrázolással [9] találkozhatunk: $1/\bar{j}_A - 1/N_A$, amely a korábban vizsgált transzportmodellek némelyikére valóban lineáris összefüggést ad. Már az enzimkinetikában is kitűnt azonban, hogy a kettős reciprok ábrázolás nem a legszerencsésebb linearizálási eljárás, mert korlátos számú és természetesen kisebb-nagyobb szórást mutató mérési pontok esetén ebben az eljárásban a legnagyobbak az értékelés hibalehetőségei. Célszerűbb az Eadie-féle $v - v/[S]$, vagy a Hofstee-féle $[S]/v - [S]$ diagramok használata [5, 6]. A transzportkinetikai vizsgálatok során e két utóbbi eljárás némi módosításával igen szemléletes ábrázolásokhoz juthatunk: $P_A - \bar{j}_A$ az első, $1/P_A - N_A$ a második esetben. A továbbiakban e két diagramtípus alkalmazásait fogjuk bemutatni.

Mielőtt azonban ismertetnénk az egyes kinetikai modelleknek megfelelő diagramokat, célszerű a kinetikai egyenleteket dimenziómentes alakba írni, hogy ezáltal megszabaduljunk az individuális paraméterek (N_c^t , k , K , D stb.) értékeitől. A $\bar{j}_A$ fluxus és az N_A koncentráció helyett alkalmas módon dimenziómentes φ_A és γ_A mennyiségeket vezetünk be, és

$$\varphi_A = \pi_A \Delta \gamma_A \quad (4-1)$$

módon definiáljuk a π_A dimenziómentes permeabilitást. A továbbiakban a π_A értékét határozzuk meg a γ_A^I , γ_A^{II} , φ_A valamint egyéb dimenziómentes paraméterek (pl. az r mobilitási arány) függvényében.

Permeabilitás — fluxus diagramok

A dimenziómentes permeabilitások 9. táblázatbeli kifejezése alapján π_A és π_A^* a γ_A^I , γ_A^{II} , r és σ mennyiségek függvényei, azonban ezek a kifejezések egyik változóban sem lineárisak. A 9. táblázat (i), ill. (ii) kinetikus egyenletei

9. táblázat

A CMT dimenziómentes jellemzői

A kinetikai egyenlet: $\varphi_A = \pi_A \Delta \gamma_A$, (i),
 vagy $\varphi_A^* = \pi_A^* \Delta \gamma_A$, (ii),
 ahol $\gamma_A = N_A/K$
 $\varphi_A = \bar{j}_A/kKN_\ell^I$
 $\varphi_A^* = \bar{j}_A/2rPN_\ell^I$
 $\pi_A = P_A/kN_\ell^I$
 $\pi_A^* = KP_A/2rPN_\ell^I$

Bevezetve a

$$\sigma = 2rP/Kk$$

mennyiséget,

$$\varphi_A^* = \varphi_A/\sigma$$

$$\pi_A^* = \pi_A/\sigma$$

írható.

(3—23) alapján a CMT általános esetében

$$\pi_A = \sigma \{[(r\gamma_A^I + 1)(\gamma_A^{II} + 1) + (r\gamma_A^{II} + 1)(\gamma_A^I + 1) + \sigma(\gamma_A^I + \gamma_A^{II} + 2)]\}^{-1} = \sigma \pi_A^*.$$

A diffúziólimitált határesetben: $\sigma = 0$, $\varphi_A = 0$, $\pi_A = 0$;

$$\pi_A^* = \{(\gamma_A^I + 1)(\gamma_A^{II} + 1) + (r\gamma_A^I + 1)(\gamma_A^I + 1)\}^{-1}.$$

A reakciólimitált határesetben: $\sigma \rightarrow \infty$, $\varphi_A = 0$, $\pi_A = 0$;

$$\pi_A = (\gamma_A^I + \gamma_A^{II} + 2)^{-1}.$$

Általános esetben tehát (i) és (ii) bármelyike, a reakciólimitált határesetben csak (i), a diffúziólimitált határesetben csak (ii) használható.

alapján a γ_A^I vagy a γ_A^{II} koncentrációk értékei a φ_A , ill. φ_A^* fluxusok segítségével kifejezhetők, pl.

$$\gamma_A^I = \frac{\varphi_A}{\pi_A} + \gamma_A^{II} = \frac{\varphi_A^*}{\pi_A^*} + \gamma_A^{II}. \quad (4-2)$$

Ezt az összefüggést π_A , ill. π_A^* kifejezésébe helyettesítve a dimenziómentes permeabilitásokat γ_A^{II} , r , σ és φ_A függvényeként kapjuk meg:

$$\pi_A = \frac{\delta - (2r\gamma_A^{II} + r + 1 + \sigma)\varphi_A}{2(\gamma_A^{II} + 1)(r\gamma_A^{II} + 1 + \sigma)},$$

$$\pi_A^* = \frac{1 - (2r\gamma_A^{II} + r + 1 + \sigma)\varphi_A^*}{2(\gamma_A^{II} + 1)(r\gamma_A^{II} + 1 + \sigma)}, \quad (4-3)$$

vagyis ezek az összefüggések a φ_A , ill. φ_A^* változóknak lineárisak. A (4—3) összefüggéseket úgy kell érteni, hogy γ_A^{II} , r és σ rögzített értékei mellett γ_A^I és ezáltal φ_A értékét változtatjuk, és a $\pi_A = \varphi_A/\Delta\gamma_A$ értéket ábrázoljuk φ_A függvényében. Mivel egy adott kísérleten belül r és σ állandónak tekinthető, csak γ_A^{II} állandóságát kell biztosítanunk. Különböző, de egyenként rögzített

10. táblázat

Permeabilitás—fluxus összefüggések a CMT kinetikus paramétereire vonatkozó speciális esetekben (vö. 5. táblázat)

$$(A)r=1; \pi_A = \frac{\sigma - (\gamma_A^{\text{II}} + 2 + \sigma)\varphi_A}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)(\gamma_A^{\text{II}} + 1 + \sigma)};$$

$$\pi_A^* = \frac{1 - (2\gamma_A^{\text{II}} + 2 + \sigma)\varphi_A^*}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)(\gamma_A^{\text{II}} + 1 + \sigma)}.$$

Speciálisan, ha $\sigma = 1$ (l. 4/1. ábra):

$$\pi_A = \pi_A^* = \frac{1 - (2\gamma_A^{\text{II}} + 3)\varphi_A}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)(\gamma_A^{\text{II}} + 2)}.$$

$$(B)\sigma = 0; \pi_A^* = \frac{1 - (2r\gamma_A^{\text{II}} + r + 1)\varphi_A^*}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)(r\gamma_A^{\text{II}} + 1)};$$

(i) $r \rightarrow 0$; (rP) véges (l. 4/2. ábra):

$$\pi_A^* = \frac{1 - \varphi_A^*}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)};$$

(ii) $r = 1$; (l. 4/3. ábra):

$$\pi_A^* = \frac{1 - 2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)\varphi_A^*}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)^2};$$

(iii) $r \rightarrow \infty$; P véges (l. 4/4. ábra):

$$\pi_A = \frac{1 - (2\gamma_A^{\text{II}} + 1)\varphi_A^{**}}{2\gamma_A^{\text{II}}(\gamma_A^{\text{II}} + 1)};$$

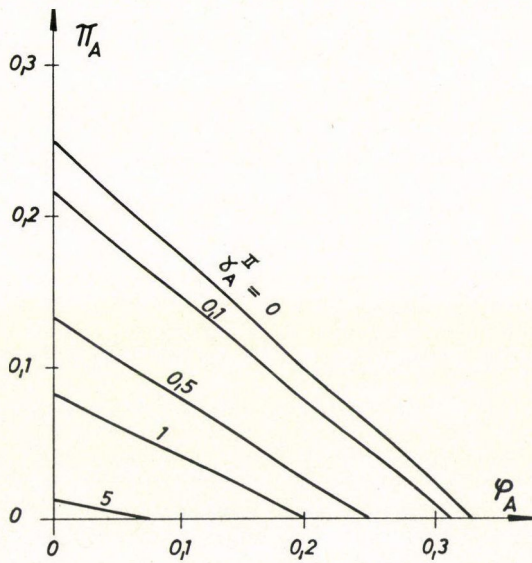
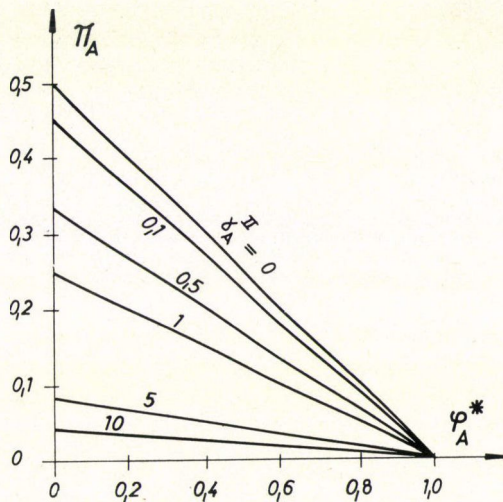
$$\varphi_A^{**} = \bar{J}_A^{**}(2PN_c^t; \pi_A^{**} = KP_A)2PN_c^t;$$

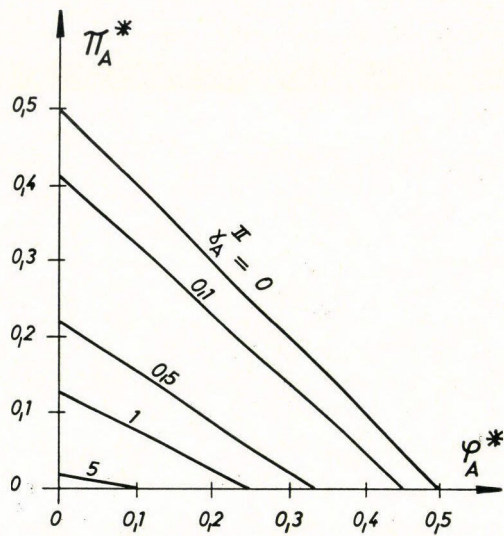
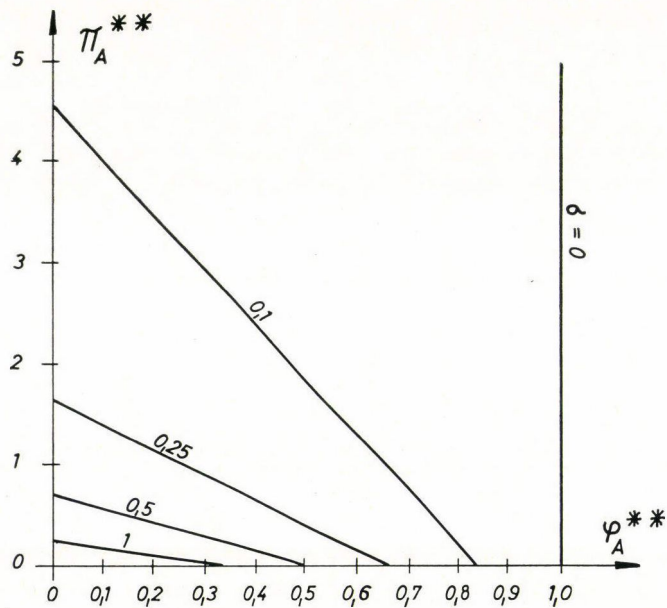
(C) σ ; (l. 4/5. ábra):

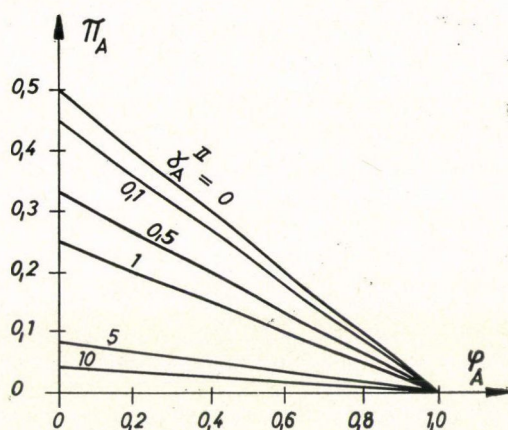
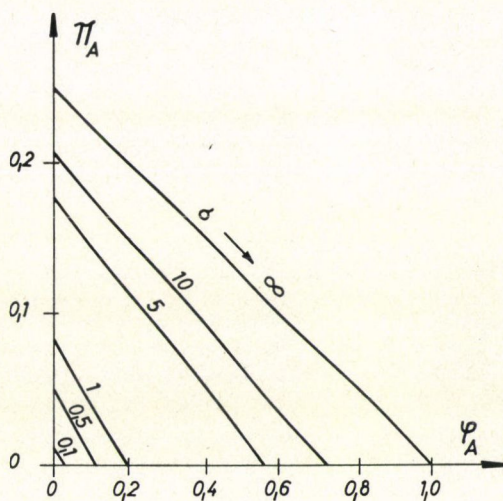
$$\pi_A = \frac{1 - \varphi_A}{2(\gamma_A^{\text{II}} + 1)}.$$

γ_A^{II} értékek segítségével a $\pi_A - \varphi_A$ (ill. $\pi_A^* - \varphi_A^*$) diagramon egy egyenes-sereget kapunk, melynek adataiból a kinetikus paraméterek meghatározhatók. A különböző speciális esetekre vonatkozó összefüggések a (4–3) általános kifejezésből könnyen lezármasztathatók.

A permeabilitás σ -tól és r -től való függésének illusztrációjaképpen a 4/6. ábrán a $\pi_A - \varphi_A$, ill. $\pi_A^* - \varphi_A^*$ diagramokat adjuk meg $r = 1$, $\gamma_A^{\text{II}} = 1$ rögzített értékek mellett σ különböző értékeire, a 4/7. ábrán $\sigma = 1$, $\gamma_A^{\text{II}} = 1$ esetében r értékét változtatjuk (ekkor természetesen $\pi_A = \pi_A^*$, $\varphi_A = \varphi_A^*$).

4/1. ábra. $r=1$; $\sigma=1$ 4/2. ábra. $r=0$; $\sigma=0$

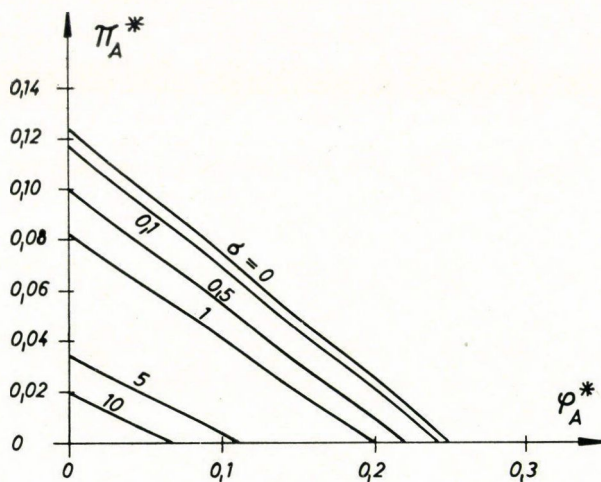
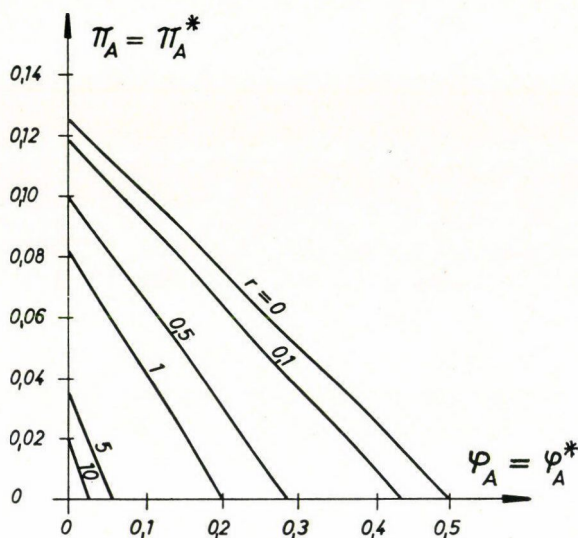
4/3. ábra. $r = 1$; $\sigma = 0$ 4/4. ábra. $r \rightarrow \infty$; $\sigma = 0$

4/5, ábra. $\sigma \rightarrow \infty$ 4/6a ábra. $r = 1$; $\gamma_A^{II} = 1$

A (4—3) egyenletek, ill. a 4/1—4/7. ábrák azt mutatják, hogy a permeabilitás értéke a fluxus növekedésével lineárisan csökken. Ez a CMT jólismert szaturációs jellegét tükrözi. A

$$\gamma_{A,\max} = \frac{\sigma}{2r\gamma_A^{II} + r + 1 + \sigma} \quad (4-4)$$

$$\gamma_{A,\max}^* = \frac{1}{2r\gamma_A^{II} + r + 1 + \sigma},$$

4/6b ábra. $r = 1$; $\gamma_A^{II} = 1$ 4/7. ábra. $\sigma = 1$; $\gamma_A^{II} = 1$

fluxusértékeknél végtelen koncentrációkülönbség ($\gamma_A^I \rightarrow \infty$, $\gamma_A^{II} = \text{állandó}$) véges ($\varphi_{A,\max}$, ill. $\varphi_{A,\max}^*$ nagyságú) fluxust hoz létre, azaz a permeabilitás zérussá válik.

Reciprok permeabilitás — koncentráció diagramok

Az $1/\pi - \gamma$ diagramok különösképpen akkor alkalmasak a CMT kinetikai jellemzésére, ha csak egy koncentrációértékkel kell számolni, tehát pl. a $\gamma_A^I \simeq \gamma_A^{II} = \gamma_A$ esetben (kicserélődési fluxus), vagy a $\gamma_A^{II} = 0$ esetben (egy-

11. táblázat

Reciprok permeabilitás—koncentráció összefüggések a CMT kinetikus paramétereire vonatkozó speciális esetekben (vö. 5. táblázat)

$$(A) \ r = 1; \text{ Egyirányú fluxus: } 1/\pi_A = \frac{2 + \sigma}{\sigma} \gamma_A^I + \frac{2(\sigma + 1)}{\sigma}, \quad (4/8a \text{ ábra})$$

$$1/\pi_A^* = (2 + \sigma)\gamma_A^I + 2(\sigma + 1). \quad (4/8b \text{ ábra})$$

$$\text{Kicserélődési fluxus: } 1/\pi_A = \frac{2}{\sigma} (\gamma_A + 1)(\gamma_A + \sigma + 1), \quad (4/9a \text{ ábra})$$

$$1/\pi_A^* = 2(\gamma_A + 1)(\gamma_A + \sigma + 1). \quad (4/9b \text{ ábra})$$

$$(B) \ \sigma = 0; \text{ Egyirányú fluxus: } 1/\pi_A^* = (r + 1)\gamma_A^I + 2. \quad (4/10a \text{ ábra})$$

$$\text{Kicserélődési fluxus: } 1/\pi_A^* = 2(\gamma_A + 1)(r\gamma_A + 1). \quad (4/10b \text{ ábra})$$

$$\text{Ha } r \rightarrow \infty, \ P \text{ véges; } \pi_A^{**} \equiv KP_A/2PN_C^I.$$

$$\text{Egyirányú fluxus: } 1/\pi_A^{**} = \gamma_A^I. \quad (4/11a \text{ ábra})$$

$$\text{Kicserélődési fluxus: } 1/\pi_A^{**} = 2\gamma_A(\gamma_A + 1). \quad (4/11b \text{ ábra})$$

$$(C) \ \sigma \rightarrow \infty; \text{ Egyirányú fluxus: } 1/\pi_A = \gamma_A^I + 2. \quad (4/12a \text{ ábra})$$

$$\text{Kicserélődési fluxus: } 1/\pi_A = 2\gamma_A + 2. \quad (4/12b \text{ ábra})$$

írányú fluxus). A dimenziómentes permeabilitás 9. táblázatbeli kifejezése alapján egyirányú fluxus esetében

$$1/\pi_A = \frac{r + 1 + \sigma}{\sigma} \gamma_A^I + \frac{2(\sigma + 1)}{\sigma},$$

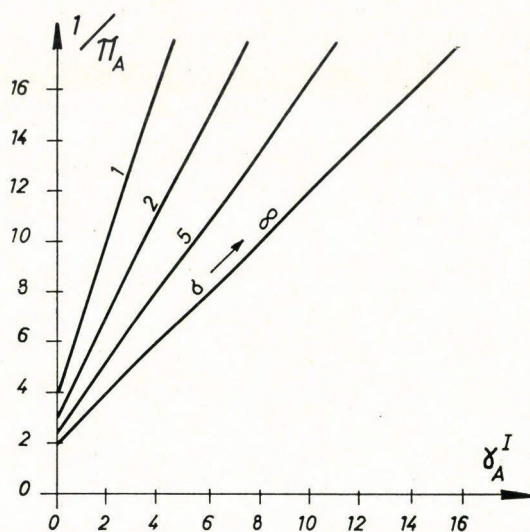
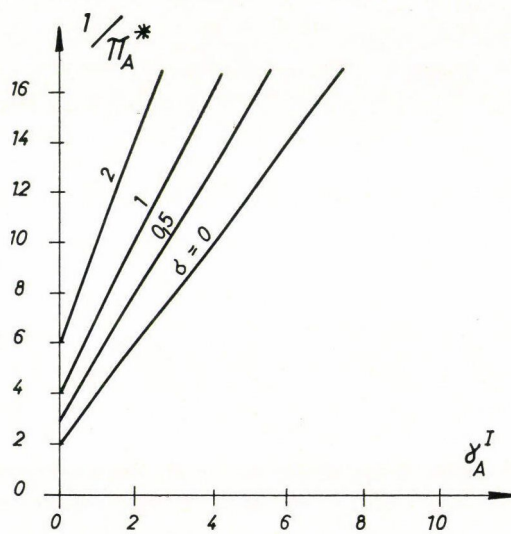
$$1/\pi_A^* = (r + 1 + \sigma)\gamma_A^I + 2(\sigma + 1); \quad (4-5)$$

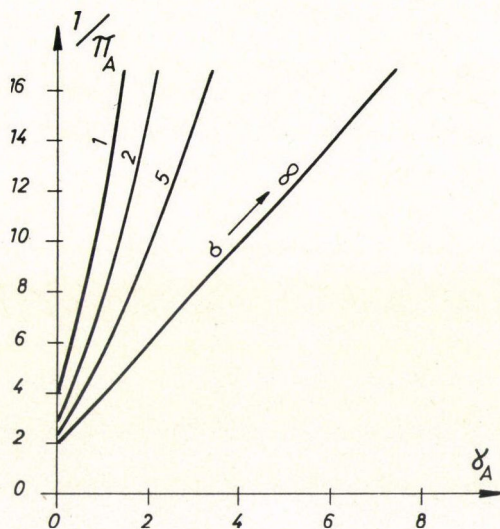
kicserélődési fluxus esetében

$$1/\pi_A = \frac{1}{\sigma} [2(\gamma_A + 1)(r\gamma_A + \sigma + 1)],$$

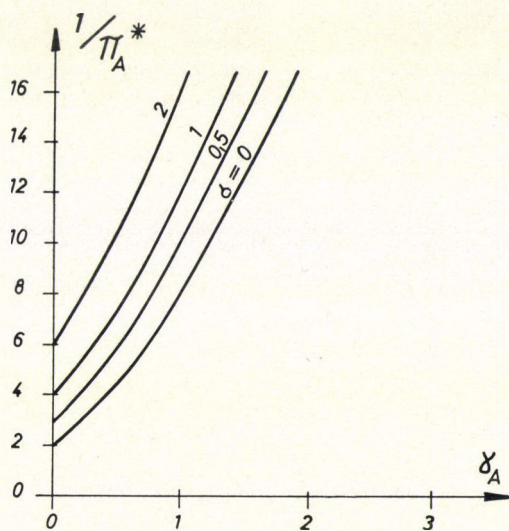
$$1/\pi_A^* = 2(\gamma_A + 1)(r\gamma_A + \sigma + 1). \quad (4-6)$$

A reciprok permeabilitás — koncentráció összefüggés tehát csak az egyirányú fluxusra lesz általános esetben lineáris, a kicserélődési fluxusra vonatkozóan csak egyes speciális esetekben.

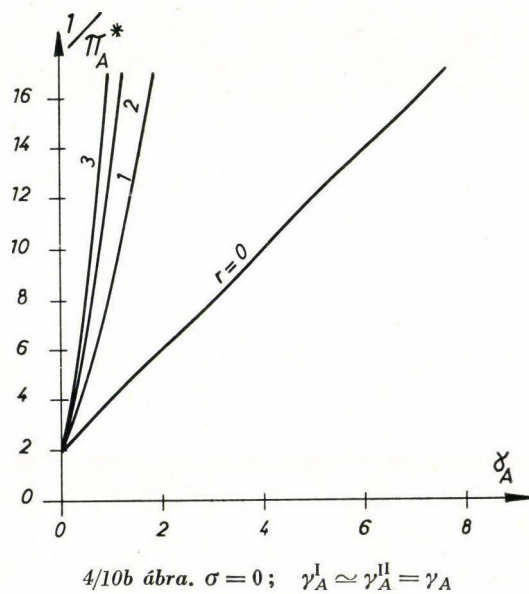
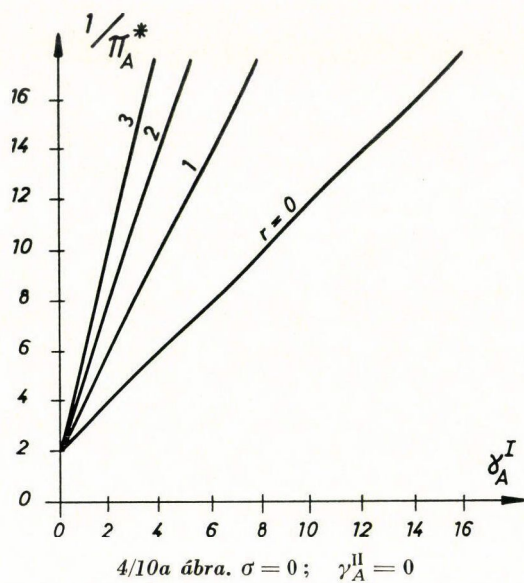
4/8a ábra. $r=1$; $\gamma_A^{II}=0$ 4/8b ábra. $r=1$; $\gamma_A^{II}=0$

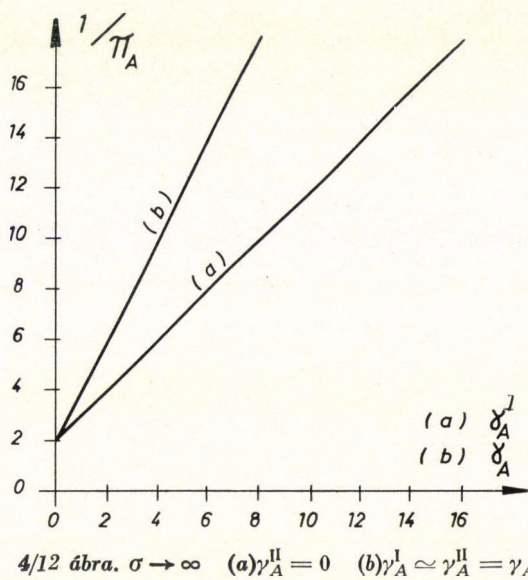
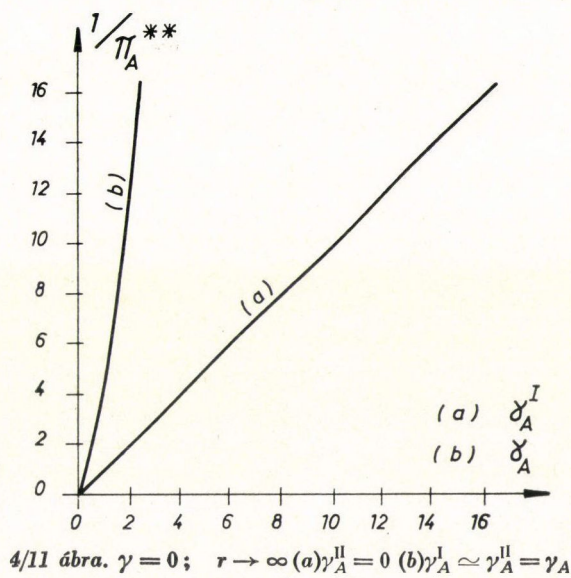


4/9a ábra. $r = 1$; $\gamma_A^I \simeq \gamma_A^{II} = \gamma_A$



4/9b ábra. $r = 1$; $\gamma_A^I \simeq \gamma_A^{II} = \gamma_A$





Összefoglalás

A felsorolt és elemzett példák alapján teljesebb képet nyerhetünk arról, hogy milyen segítséget nyújthat a kinetikus analízis a transzportmechanizmus jellegének eldöntésében. A mechanizmus ismeretében azután módunkban áll, hogy a kinetikai mérések alapján a transzport számos jellemző paraméterét meghatározzuk. Ugyanakkor a vizsgálatból az is kitűnik, hogy még az általunk vizsgált igen egyszerű modell is a megvalósulás rendkívül sokféle lehetőségét rejtí magában. Ezért a kinetikus analízisből levont következtetésekben nagyon körültekintőnek kell lennünk. Sajnos a rendelkezésre álló mérési módszerek gyakran nem elég pontosak ahhoz, hogy belőlük kellően megbízható következtetéseket vonjunk le. Más vizsgálati módszerekkel kiegészítve azonban a kinetikus analízis mindig alkalmas arra, hogy értékes információkat szolgáltatson a transzportjelenségek megismeréséhez.

IRODALOM

1. BLUMENTHAL, R., KATCHALSKY, A.: *Biochim. Biophys. Acta* **173**, 357 (1969).
2. COLLANDER, R., BARLUND, H.: *Acta Botan. Fennica* **11**, 1 (1933).
3. CRANK, J.: „The Mathematics of Diffusion”, Oxford (1956).
4. DAVSON, H., DANIELLI, J. F.: „The Permeability of Natural Membranes”, Cambridge (1943), 2nd ed. (1952).
5. EADIE, G. S.: *J. Biol. Chem.* **146**, 85 (1942).
6. HOFSTEE, B. J. H.: *Science* **116**, 24 (1949).
7. KATCHALSKY, A., OSTER, G.: in „The Molecular Basis of Membrane Function”. D. C. TOSTESON (Ed.), Prentice-Hall, N. J. pp. 1—44 (1969).
8. KOIYK, A.: *Biochim. Biophys. Acta* **135**, 122 (1967).
9. LINEWEAVER, H., BURK, D.: *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 658 (1934).
10. NEAME, K. D., RICHARDS, T. G.: „Elementary Kinetics of Membrane Carrier Transport”, Blackwell, Oxford (1972).
11. SNELL, F. M.: *J. Theoret. Biol.* **8**, 469 (1965).
12. STEIN, W. D.: „The Movement of Molecules across Cell Membranes”, Academic Press, NY. (1967).