

УДК 577.352.4 + 591.047

ТЕОРИЯ ИНВЕРСИИ ЗАРЯДОВОЙ СЕЛЕКТИВНОСТИ В КАТИОН-ИЛИ АНИОН-СЕЛЕКТИВНЫХ ПЛОТНЫХ КОНТАКТАХ МЕЖДУ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ: НЕЛОКАЛЬНО-ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

© 2021 г. А.А. Рубашкин*, П. Исерович**, М.А. Воротынцев***, ****, *****

*Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий просп., 4

**Медицинский центр Государственного университета Нью-Йорка,
11203, Бруклин, Нью-Йорк, Кларксон авеню, 450, США

***Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
119071, Москва, Ленинский просп., 31

****Институт проблем химической физики РАН,
142432, Черноголовка Московской области, просп. Академика Семенова, 1

*****ICMUB, UMR 6302 CNRS – Université de Bourgogne, Dijon, France

E-mail: andrey.rubashkin@gmail.com

Поступила в редакцию 29.11.2019 г.

После доработки 29.11.2019 г.

Принята к публикации 24.09.2020 г.

Развита теория инверсии зарядовой селективности плотных контактов между эпителиальными клетками при изменении знака фиксированного в них заряда. На основе метода нашей работы, учитывающей эффект полости иона, рассчитаны изменения энергий сольватации ионов при их переходе в плотных контактах. Выведена формула для определения зависимостей отношения проницаемостей Na^+ и Cl^- в плотных контактах от концентрации и знака фиксированных в плотных контактах зарядов, а также от корреляционной длины воды. Развита теория согласуется с имеющимися в литературе экспериментальными данными по инверсии Na^+/Cl^- -селективности для клеток почки собаки Майдин-Дэрби при экспрессии в плотных контактах белковых молекул клаудина-15 с измененным знаком заряда аминокислотных остатков.

Ключевые слова: эпителиальные клетки, плотные контакты, инверсия зарядовой селективности, нелокальная электростатика, энергия сольватации иона, эффект полости иона.

DOI: 10.31857/S0006302921010117

Инверсия зарядовой селективности в плотных контактах (ПК) между эпителиальными клетками от Na^+ -селективных к Cl^- -селективным при экспрессии в ПК клаудинов-15, в которых отрицательно заряженные группы заменены на положительно заряженные, была экспериментально обнаружена в работах [1, 2]. Этот эффект качественно объяснялся в работах [1–4] электростатическим взаимодействием между зарядами молекул клаудина и ионами Na^+ и Cl^- . При этом теория инверсии зарядовой селективности в ПК не была развита, как и теория Na^+ -селективности в ПК. В работе [4] была предложена модель систе-

мы двух типов пор, образованных клаудинами в ПК. В ней ионы двигались только через поры малого радиуса, что с точки зрения авторов работы [4] объясняло существование зарядовой селективности в ПК. Через поры большого радиуса в этой модели могли двигаться только молекулы больших размеров. Однако не было представлено объяснение, почему ионы не могут попадать в крупные поры. С нашей точки зрения построить адекватную теорию зарядовой селективности в ПК невозможно, если не учитывать, что энергия сольватации ионов в ПК отличается от ее значения в свободном растворе, как это предполагалось в наших с коллегами работах [5–7]. Однако специалисты по эпителиальному транспорту до сих пор не учитывают эффект изменения энергий сольватации ионов при их переходе в ПК.

Сокращения: ПК — плотные контакты между эпителиальными клетками (TJ — tight junctions), MDCK-клетки — клетки почки собаки Майдин-Дэрби (Madin-Darby canine kidney cells).

Теория диэлектрического вытеснения ионов из пор была построена в работах [8, 9] на основе нелокально-электростатической теории [10], которой была посвящена монография [11]. В работах [8, 9] были получены формулы, связывающие изменение энергии сольватации ионов при их переходе в поры, от параметров системы. В частности, предполагалось изменение корреляционной длины воды в поре. Однако, в отличие от представленной нами работы, в работах [8, 9] авторы использовали только однополюсную модель диэлектрического отклика воды без учета эффекта переэкранирования, а также не учитывали эффект вырезания растворителя из объема, занятого ионом. Кроме этого, наша модель отличается от указанных работ наличием фиксированного в ПК объемного заряда, обусловленного диссоциацией ионогенных групп молекул клаудина в ПК.

При описании ионного и водного транспорта через монослой эпителиальных клеток мы с коллегами показали в работе [5], используя классическую формулу Борна, что коэффициенты распределения ионов между свободным раствором и ПК значительно меньше единицы. В работах [6, 7] это было доказано методами нелокальной электростатики. Однако при этом не учитывался эффект переэкранирования диэлектрической функции воды (см. работу [12]). Также в работах [6, 7] не учитывался и эффект вырезания растворителя из объема, занятого ионом (эффект полости иона), теория которого была создана в работе [13], а затем недавно развита в работах [14–16]. Описание воды как нелокальной диэлектрической среды [16] использовано в данной работе для расчета высоты энергетического барьера для проникновения Na^+ и Cl^- в ПК. Молекулы клаудина в ПК [1], несущие ионогенные группы, влияют на этот процесс как за счет своих зарядов, что было экспериментально показано в работе [1], а теоретически в работах [5–7], так и за счет изменения структуры воды внутри ПК, влияя на корреляционную длину воды $\Lambda_{\text{ПК}}$ в ПК [6, 7]. Эффект увеличения корреляционной длины Λ рядом с белками был исследован в работе [17], где было показано существование протяженной области вокруг белков с увеличенной Λ . Этот эффект приводит к изменению энергий сольватаций (W_{Na} и W_{Cl}) ионов Na^+ и Cl^- в ПК по сравнению с их значениями в объемной воде. Эти энергии сольватации ионов как в свободном растворе, так и в ПК были рассчитаны нами как по формулам предложенного в нашей работе [16] подхода, так и по теории [12], которая предполагает, что полярная среда (вода) занимает все пространство, включая пространственную область, занятую ионом. Ссылки на статьи по нелокальной электростатике можно найти в монографии [11] и в работе [16]. Наша процедура [16] позволяет получить простое ана-

литическое выражение для электростатического вклада в энергию сольватации ионов. На основе этого подхода нами рассчитаны значения изменений энергий сольватации ионов ΔW_{Na} и ΔW_{Cl} при их переходе в ПК. При этом использовалась модель для плотности заряда иона $\rho(r)$, которая является функцией от расстояния от центра иона (см. работы [12] и [18]). Развита теория описывает как эффект возникновения зарядовой селективности в ПК, так и эффект ее обращения при замене знака фиксированных в них зарядов. Показано, что модели, игнорирующие эффект пересольватации ионов при их переходе в ПК, неспособны объяснить эффект возникновения зарядовой селективности.

МОДЕЛЬ

Na^+/Cl^- -селективность в плотных контактах, коэффициенты распределения ионов и скачок электростатического потенциала между плотными контактами и свободным раствором. Расположение клаудинов и их зарядов внутри ПК можно найти в работе [3], посвященной молекулярной физиологии пор в ПК, ограниченных двумя плоскопараллельными плазматическими мембранами, расстояние между которыми не менее 40 Å. Белковые молекулы клаудинов имеют, петли, расположенные внутри ПК. Заряженные аминокислотные остатки, находящиеся на этих петлях, создают фиксированный объемный заряд, определяющий существование Na^+ -селективности или Cl^- -селективности в ПК. Из-за наличия в ПК белковых молекул корреляционная длина воды в них $\Lambda_{\text{ПК}}$ превышает ее значение в Λ_0 в свободном растворе ($\Lambda_0 = 3$ Å), однако это превышение не больше, чем в 1.6 раза, как это будет показано ниже. Поэтому для иона, находящегося в центре ПК, расстояние до мембраны, ограничивающую ПК, значительно превышает как радиус иона, так и $\Lambda_{\text{ПК}}$. По этой причине основной вклад в изменение энергии иона при его переходе в центр ПК связан с изменениями свойств растворителя в ПК, а не с влиянием мембран, ограничивающих ПК. Мы показали это в работе [7], пользуясь формулами, выведенными в работах [8, 9].

Условие электронейтральности в ПК может быть записано в виде

$$[c_{\text{Na}}]_{\text{ПК}} - [c_{\text{Cl}}]_{\text{ПК}} + Z_f c_f = 0,$$

где первый и второй члены равны концентрациям Na^+ и Cl^- в ПК, а третий член — произведение концентрации c_f заряженных аминокислотных остатков молекул клаудина в ПК на их зарядовое число Z_f ($Z_f = -1$ или 1).

Изменения энергий сольватации иона ΔW связано с разностью энергий сольватации в ПК и в свободном растворе: $\Delta W = W(\Lambda_{\text{ПК}}) - W(\Lambda_0)$, и оно равно изменению химического потенциала иона $\Delta\mu$, взятому с обратным знаком ($\Delta W = -\Delta\mu$). Отметим, что в предыдущих работах [6, 7] была введена величина $\delta W = W(\Lambda_0) - W(\Lambda_{\text{ПК}})$, равная изменению химического потенциала иона $\Delta\mu$.

Если ввести n_{Na} и n_{Cl} — коэффициенты распределения ионов Na^+ и Cl^- в ПК, связанные с изменением энергий сольватации ΔW_{Na} и ΔW_{Cl}

при переходе этих ионов в ПК из свободного раствора по формулам:

$$n_{\text{Na}} = \exp(F\Delta W_{\text{Na}}/RT); n_{\text{Cl}} = \exp(F\Delta W_{\text{Cl}}/RT), \quad (1)$$

то уравнение, описывающее условие электронейтральности, примет следующий вид:

$$n_{\text{Na}} c_0 \exp(-F\Delta\phi/RT) - n_{\text{Cl}} c_0 \exp(F\Delta\phi/RT) + Z_f c_f = 0,$$

в котором первый и второй члены — это концентрации Na^+ и Cl^- в ПК, c_0 — концентрация NaCl в свободном растворе ($c_0 = 0.15 \text{ M}$), $\Delta\phi$ — разность электростатических потенциалов между ПК и свободным раствором, которая определяется из предыдущего уравнения как:

$$\Delta\phi = -(RT/F) \ln \left\{ -Z_f X_f / 2n_{\text{Na}} + \left[(Z_f X_f / 2n_{\text{Na}})^2 + n_{\text{Cl}} / n_{\text{Na}} \right]^{1/2} \right\}, \quad (2)$$

где $X_f = c_f / c_0$ — относительная концентрация заряженных групп молекул клаудина в ПК. Формула для Na^+/Cl^- -селективности в ПК ($P_{\text{Na}}/P_{\text{Cl}}$) по-

лучается как отношение концентраций ионов в ПК умноженное на отношение коэффициентов диффузии $D_{\text{Na}}/D_{\text{Cl}}$:

$$P_{\text{Na}}/P_{\text{Cl}} = (D_{\text{Na}}/D_{\text{Cl}}) [n_{\text{Na}} \exp(-F\Delta\phi/RT) / [n_{\text{Cl}} \exp(F\Delta\phi/RT)]],$$

подставляя в которую выражение (2), получим для селективности ПК:

$$P_{\text{Na}}/P_{\text{Cl}} = (D_{\text{Na}}/D_{\text{Cl}}) (n_{\text{Na}}/n_{\text{Cl}}) \left\{ -Z_f X_f / 2n_{\text{Na}} + \left[(Z_f X_f / 2n_{\text{Na}})^2 + n_{\text{Cl}} / n_{\text{Na}} \right]^{1/2} \right\}^2. \quad (3)$$

Это выражение связывает селективность с плотностью заряда X_f , обусловленного заряженными аминокислотными остатками молекул клаудина внутри поры. Также селективность связана с коэффициентами распределения ионов n_{Na} и n_{Cl} , которые зависят от энергий пересольватации ΔW ионов при их переходе в ПК из свободного раствора. Формулы для ΔW приведены ниже.

Расчет изменения энергий сольватации ионов ΔW при их переходе в плотные контакты. Расчет ΔW без учета эффекта полости иона. Для расчета коэффициентов распределения ионов по формуле (1) необходимо знать изменения энергий сольватации при переходе этих ионов в ПК. В рамках развитой в [12] теории энергия сольватации ионов W в зависимости от корреляционной длины растворителя Λ рассчитывается по формуле

$$W(\Lambda) = (1/\pi) \int_0^\infty [1 - 1/\epsilon(k, \Lambda)] [\rho_{\text{SBS}}(k)]^2 dk, \quad (4)$$

в которой $\epsilon(k, \Lambda)$ — диэлектрический отклик растворителя вокруг иона, k — волновой вектор, $\rho_{\text{SBS}}(k)$ — Фурье-образ плотности размытого за-

ряда иона $\rho(r)$, связанный с ним формулой (SBS - размытая борновская сфера):

$$\rho(k) = (4\pi/k) \int_0^\infty r \rho(r) \sin kr dr,$$

где $\rho(r)$ — размытый заряд иона как внутри, так и снаружи его борновской сферы [12]:

$$\rho_{\text{SBS}}(r) = (eN_{\text{SBS}} / 8\pi) \exp(-|r - a|/\eta), \quad (5a)$$

$$0 < r < \infty,$$

где r — расстояние от центра иона, a — координата максимума плотности заряда иона, η — ширина размытия заряда иона. Нормировочный коэффициент N_{SBS} рассчитывается как:

$$N_{\text{SBS}} = \left\{ \eta \left[a^2 + \eta^2 (2 - \exp(-a/\eta)) \right] \right\}^{-1}. \quad (5b)$$

Фурье-образ от $\rho(r)$ определяется по формуле

$$\rho_{\text{SBS}}(k) = \frac{\pm e N_{\text{SBS}} D(k)}{2k} g_1(k), \quad (5b)$$

в которой вспомогательные функции $D(k)$ и $g_1(k)$ определяются следующим образом:

$$D(k) = \frac{1}{1 + (k\eta)^2},$$

$$g_1(k) = 2k \left\{ \frac{a\eta}{k} \sin(ka) + D(k)\eta^3 [2 \cos(ka) - \exp(-a/\eta)] \right\}.$$

Параметры в формулах плотности заряда иона (5а) и (5б) соответствуют используемым в работе [12]: радиусы ионов r_i для расчетов были выбраны по шкале Гуарри и Адриана [19]: $r_{\text{Na}} = 1.17 \text{ \AA}$, $r_{\text{Cl}} = 1.64 \text{ \AA}$, а величины максимума плотности размытия заряда a и ее ширина η составляют $a = r_i - 0.35 \text{ \AA}$, $\eta = 0.35 \text{ \AA}$. Отметим, что выход заряда иона за пределы его борнов-

ской сферы уменьшает расчетное значение энергии сольватации иона, как это было показано нами в [18]. Формулы (4) и (5в) кроме работы [12] также использовались в работе [20].

Выражение для расчета изменения энергий сольватации ионов $\Delta W = W(\Lambda_{\text{ПК}}) - W(\Lambda_0)$ при их переходе в ПК получается, если дважды применить формулу (4):

$$\Delta W = (1/\pi) \int_0^\infty [1/\varepsilon(k, \Lambda_0) - 1/\varepsilon(k, \Lambda_{\text{ТJ}})] [\rho_{\text{SBS}}(k)]^2 dk, \quad (6)$$

где корреляционная длина воды в ПК обозначена как $\Lambda_{\text{ТJ}}$.

Поскольку в теории [12] не учитывается эффект вырезания растворителя из объема, занятого ионом, то формулы (4)–(6) применимы только для этого случая.

Расчет ΔW с учетом эффекта полости иона. Как было показано в нашей работе [16], при расчете энергии сольватации иона W с учетом эффекта вырезания растворителя из объема, занятого ионом, необходимо весь внутренний заряд иона q_{cav} , находящийся в полости иона, поместить на его борновскую сферу радиуса r_i . При этом формула (4) имеет вид

$$W(\Lambda) = (1/\pi) \int_0^\infty [1 - 1/\varepsilon(k, \Lambda)] [q_{\text{cav}} \sin kr_i / kr_i]^2 dk,$$

где $q_{\text{cav}} \sin kr_i / kr_i$ – Фурье-образ заряда, находящегося на борновской сфере.

В работе [16] мы вывели эту формулу для случая, когда весь заряд иона заключен внутри сфе-

ры радиуса r_i , однако можно обобщить предыдущую формулу и на случай, когда часть плотности заряда иона ρ_{ext} выходит за пределы его борновской сферы, что и было выведено нами в работе [21]:

$$W(\Lambda) = (1/\pi) \int_0^\infty [1 - 1/\varepsilon(k, \Lambda)] [q_{\text{cav}} \sin kr_i / kr_i + \rho_{\text{ext}}(k)]^2 dk, \quad (7)$$

где $\rho_{\text{ext}}(k)$ – Фурье-образ плотности размытого заряда иона $\rho_{\text{ext}}(r)$, находящейся за пределами его борновской сферы ($r > r_i$):

$$\rho_{\text{ext}}(r) = \rho_{\text{SBS}}(r) = \rho_0 (4\pi\eta)^{-1} \exp(-(r - r_i)/\eta), \quad (8a)$$

$$\rho_0 = q_{\text{ext}}(r_i^2 + 2r_i\eta + 2\eta^2)^{-1} \quad r > r_i,$$

где q_{ext} – часть заряда иона, находящаяся за пределами его борновской сферы, причем сумма q_{ext} и заряда внутри полости q_{cav} равна полному заряду иона: $q_{\text{ext}} + q_{\text{cav}} = \pm e$.

Тогда для $\rho_{\text{ext}}(k)$ можно получить следующее выражение:

$$\rho_{\text{ext}}(k) = q_{\text{ext}} k^{-1} (1 + k^2 \eta^2)^{-2} (r_i^2 + 2r_i\eta + 2\eta^2)^{-1} [f_1 \cos kr_i + f_2 \sin kr_i]$$

$$f_1 = k\eta(r_i + 2\eta + r_i k^2 \eta^2); \quad (8б)$$

$$f_2 = r_i + \eta + r_i k^2 \eta^2 - k^2 \eta^3.$$

Так как мы рассчитываем энергию сольватации как по теории, учитывающей эффект вырезания растворителя из полости иона, так и по теории, не учитывающей этот эффект, то нам надо иметь формулы, связывающие заряд q_{ext} с параметрами модели размытого заряда иона (формулы (5а) и (5б)). Используемые параметры r_i , η в формулах плотности заряда иона (8а) и (8б) такие же, как и выписанные выше рядом с формулой

(5в). Заряды внутри полости иона q_{cav} и вне полости q_{ext} связаны с этими параметрами r_i , a , η по формулам:

$$\begin{aligned} q_{\text{cav}} &= \pm e (N_{\text{SBS}} / N_2); \\ q_{\text{ext}} &= \pm e (1 - N_{\text{SBS}} / N_2), \end{aligned}$$

в которой нормировочный коэффициент N_{SBS} определяется формулой (5б), а параметр N_2 связан с ним формулой

$$N_2 = \left\{ (N_{\text{SBS}})^{-1} - 0.5 \eta \exp[(a - r_i) / \eta] [r_i^2 + 2r_i \eta + 2\eta^2] \right\}^{-1}.$$

Эта формула получается интегрированием плотности распределения заряда иона, задаваемого формулой (5а), как это было показано нами в работе [18], в которой был объяснен смысл параметра N_2 . Заряд q_{cav} полости иона, рассчитанный по последним формулам, при значениях параметров r_i , a , η : $a = r_i - 0.35 \text{ \AA}$, $\eta = 0.35 \text{ \AA}$,

$r_{\text{Na}} = 1.17 \text{ \AA}$, $r_{\text{Cl}} = 1.64 \text{ \AA}$ равен для Na^+ : $q_{\text{cav}} = 0.51e$, а для Cl^- : $q_{\text{cav}} = -0.61e$.

Применяя формулу (7) для расчета изменения энергий сольватации ионов $\Delta W = W(\Lambda_{\text{ПК}}) - W(\Lambda_0)$ при их переходе в ПК по теории, учитывающей эффект ионной полости, получим выражение:

$$\Delta W = (1 / \pi) \int_0^\infty [1 / \varepsilon(k, \Lambda_0) - 1 / \varepsilon(k, \Lambda_{\text{TJ}})] [q_{\text{cav}} \sin kr_i / kr_i + \rho_{\text{ext}}(k)]^2 dk. \quad (9)$$

Для трехмодовой модели диэлектрической функции воды, учитывающей эффект пере-

экранирования, $1/\varepsilon(k)$ согласно работе [12] имеет вид:

$$\frac{1}{\varepsilon(k, \Lambda)} = 1 - \frac{C_1}{1 + (k \lambda_1)^2} - \frac{C_2}{1 + (k \lambda_2)^2} - C_3 \left\{ 1 + k^2 \left[\frac{A + Bk^2}{G(k)} - \frac{\Lambda^2}{1 + (k \Lambda)^2} \right] \right\} \frac{1}{1 + (k \lambda)^2}.$$

Параметры в этой формуле, как и функцию $G(k)$, можно найти в работе [12]. Используя дважды последнее соотношение, получим для разности обрат-

ных диэлектрических откликов воды формулу, которая использовалась в формулах (6) и (9) для расчета изменения энергий сольватации ионов:

$$\frac{1}{\varepsilon(k, \Lambda_0)} - \frac{1}{\varepsilon(k, \Lambda_{\text{TJ}})} = -C_3 k^2 \Lambda_0^2 \left(\frac{(\Lambda_{\text{TJ}} / \Lambda_0)^2}{1 + (k \Lambda_{\text{TJ}})^2} - \frac{1}{1 + (k \Lambda_0)^2} \right) \frac{1}{1 + (k \lambda)^2}. \quad (10)$$

Приведем параметры в выражении (10), которые использовались нами для расчетов ΔW : $C_3 = 0.19$; $\lambda = 0.15 \text{ \AA}$ (λ – вспомогательный параметр и не является корреляционной длиной). Значение Λ_0 корреляционной длины воды для свободного раствора: $\Lambda_0 = 3 \text{ \AA}$. Функция $[1/\varepsilon(k, \Lambda_0) - 1/\varepsilon(k, \Lambda_{\text{TJ}})]$, задаваемая формулой (10), использовалась для расчетов ΔW в подынтегральных выражениях формул (6) и (9).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Величины Na^+/Cl^- -селективности и электростатического потенциала в ПК связаны с коэффициентами распределения ионов, как это следует из формул (2) и (3), а они зависят от изменения энергий сольватации ΔW по формулам (1). Поэтому значения $P_{\text{Na}}/P_{\text{Cl}}$ и $\Delta \phi$ различаются, если рассчитывать ΔW по теории, учитывающей эф-

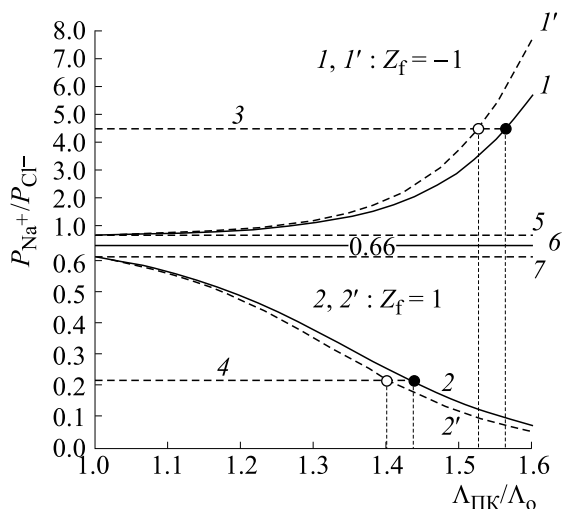


Рис. 1. Зависимости P_{Na^+}/P_{Cl^-} — отношения проницаемости Na^+ в плотных контактах между эпителиальными клетками к проницаемости Cl^- в ПК от изменения корреляционной длины $\Lambda_{ПК}$ в ПК, рассчитанные по формуле (3) при $\Lambda_0 = 3 \text{ \AA}$. Коэффициенты n_{Na} и n_{Cl} в формуле (3) связаны по формулам (1) с изменениями энергий сольватации ионов ΔW . Сплошные кривые 1 и 2 соответствуют теории, учитывающей эффект вырезания растворителя из объема иона (эффект полости иона), для которого ΔW рассчитывается по формулам (8) и (9). Расчет для штриховых кривых 1' и 2' не учитывает этот эффект (ΔW определено по формулам (5) и (6)). Кривые 1 и 1' рассчитаны для случая, когда в ПК находятся отрицательно заряженные ($Z_f = -1$) аминокислотные остатки молекул клаудина с относительной концентрацией $X_f = c_f/c_0 = 0.06$. Для кривых 2 и 2' в ПК положительно заряженные ($Z_f = 1$).

фект полости иона (формула (9)), или по теории, в которой этот эффект отсутствует (формула (6)). Сплошные кривые 1 и 2 на рис. 1 — 3 соответствуют расчету с учетом эффекта полости иона, а штриховые кривые 1' и 2' — без учета этого эффекта.

На рис. 1 приведены рассчитанные по формуле (3) кривые 1, 1' и 2, 2', которые показывают отношения проницаемости Na^+ в ПК между эпителиальными клетками к проницаемости Cl^- в них при изменении корреляционной длины в ПК. Сплошная горизонтальная линия 6 соответствует случаю, когда отсутствует Na^+/Cl^- -селективность ПК, а отношение проницаемостей Na^+ и Cl^- в ПК равно отношению коэффициентов диффузии Na^+ и Cl^- : $D_{Na^+}/D_{Cl^-} = 0.66$. Область выше этой линии соответствует Na^+ -селективности в ПК, наоборот, область ниже линии 6 соответствует Cl^- -селективности. Кривые 1 и 1' рассчитаны для случая, когда в ПК находятся отрицательно

заряженные аминокислотные остатки молекул клаудина ($Z_f = -1$) с относительной концентрацией $X_f = c_f/c_0 = 0.06$, рассчитанной из условия, что на один заряженный центр приходится объем $\Delta V_f = 40 \times 40 \times 120 \text{ \AA}$, что соответствует данным работы [3] по топологии размещения заряженных аминокислотных остатков молекул клаудина в ПК, а концентрация X_f равна $1/(N_A \Delta V_f c_0)$ (N_A — число Авогадро, $c_0 = 0.15 \text{ M}$). В этом случае в ПК имеется Na^+ -селективность, которая увеличивается с ростом корреляционной длины воды в них (кривые 1 и 1' на рис. 1). Кривые 2 и 2' рассчитаны, когда в ПК находятся положительно заряженные группы ($Z_f = 1$) при той же относительной концентрации фиксированных зарядов в ПК. Поскольку обе эти кривые находятся в области ниже линии 6, то в этом случае в ПК имеется Cl^- -селективность. При положительных значениях Z_f в ПК отношение P_{Na^+}/P_{Cl^-} уменьшается с ростом корреляционной длины воды в ПК (кривые 2 и 2' на рис. 1), т.е. обратная величина P_{Cl^-}/P_{Na^+} увеличивается.

Согласно экспериментальным значениям Na^+/Cl^- -селективности для клеток почки собаки Майдин-Дэрби (Madin-Darby canine kidney cells, MDCK), измеренным в работе [1], отношение P_{Na^+}/P_{Cl^-} при экспрессии в ПК немутированных белковых клаудинов-15 составляло от 4 до 5 (штриховая линия 3). Также в работе [1] была осуществлена экспрессия в ПК клаудинов-15, в которых отрицательно заряженные группы были заменены положительно заряженными. При этом зарядовая селективность ПК обращалась, они становились Cl^- -селективными, чему соответствует штриховая линия 4 на рис. 1. По точкам пересечения прямых 3 и 4 с расчетными кривыми P_{Na^+}/P_{Cl^-} определены значения корреляционной длины воды $\Lambda_{ПК}$ в ПК. Для случая, когда в ПК находятся отрицательные фиксированные заряды (рис. 1, кривая 1) корреляционная длина ($\Lambda_{ПК} = 1.56$) больше, чем корреляционная длина ($\Lambda_{ПК} = 1.44$) в ПК с положительно заряженными аминокислотными остатками (рис. 1, кривая 2). Возможно, это связано с существованием нелинейных эффектов в окрестности ионов, которые сильнее для отрицательных ионов, как это было показано в работе [20]. Для расчета селективности по теории, не учитывающей эффект полости иона, получается заниженный результат для $\Lambda_{ПК}$, однако разница с расчетами по теории, учитывающей этот эффект, не превышает 3%. Если в формуле (3) для P_{Na^+}/P_{Cl^-} положить $n_{Na} = n_{Cl} = 1$, т.е. считать, что изменения энергий сольватации ионов равны нулю, то в ПК будет незначительная зарядовая селективность. Этому случаю соответ-

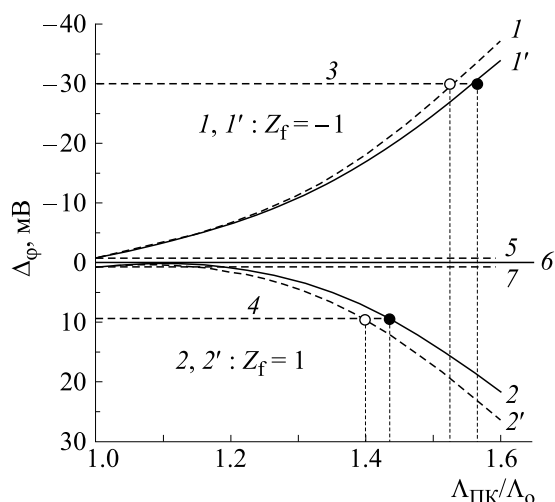


Рис. 2. Зависимости электростатического потенциала $\Delta\phi$ в ПК между эпителиальными клетками от изменения корреляционной длины $\Lambda_{ПК}$ в ПК, рассчитанные по формуле (2). Сплошная горизонтальная линия 6 соответствует нулевому потенциалу. Нумерация других линий соответствует нумерации на рис. 1.

ствуют штриховые прямые линии 5 ($Z_f = -1$) и 7 ($Z_f = 1$), построенные при той же концентрации X_f , что и кривые 1 и 2.

На рис. 2 представлены зависимости электростатического потенциала $\Delta\phi$ в ПК от корреляционной длины воды как для положительно, так и для отрицательно заряженных фиксированных групп в ПК, построенные по формуле (2). При замене отрицательно заряженных фиксированных групп положительными $\Delta\phi$ также меняет знак, однако нет симметрии кривых 1 и 2 относительно оси абсцисс. Это связано с различием изменения энергий сольватаций Na^+ и Cl^- . На рис. 3 представлены зависимости изменений энергии сольватации ионов в ПК. Из рис. 3 видно, что как для Na^+ , так и для Cl^- ΔW по абсолютной величине существенно больше единицы и, следовательно, коэффициенты распределения этих ионов между свободным раствором и ПК значительно меньше единицы.

ВЫВОДЫ

В данной работе развита теория инверсии зарядовой селективности при изменении знака заряда аминокислотных остатков в ПК, описывающая экспериментальные результаты работы [1] по экспрессии клаудинов в ПК. Выполненные расчеты селективности по нелокально-электростатической теории с учетом эффекта полости иона подтверждают выводы, сделанные нами ранее в работах [6, 7] при анализе зарядовой селективности в ПК на основе простой модели сольватации

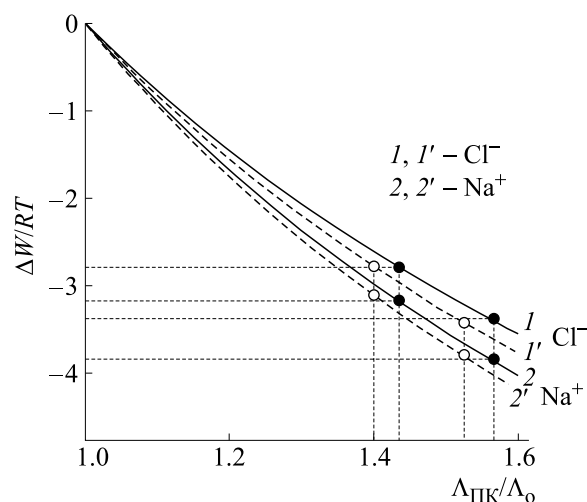


Рис. 3. Зависимости изменения ΔW энергий сольватации Na^+ и Cl^- при переходе этих ионов в ПК между эпителиальными клетками от изменения корреляционной длины $\Lambda_{ПК}$ в ПК. Кривые 1 и 1' представляют энергию пересольватации Na^+ , кривые 2 и 2' — энергию пересольватации Cl^- . Сплошные кривые 1 и 2 рассчитаны по формулам (8) и (9) и соответствуют нашей теории, учитывающей эффект вырезания растворителя из объема, занятого ионом (эффект полости иона). Штриховые кривые 1' и 2' рассчитаны по формулам (5) и (6), не учитывающим этот эффект.

ионов, не учитывающей этого эффекта. Причиной значительной величины зарядовой селективности в ПК является сочетание двух факторов: 1) наличия в них заряженных групп, фиксированных в объеме ПК и 2) большого энергетического барьера для входа ионов из раствора внутрь ПК, обусловленным уменьшением их энергий сольватации в ПК. Расчеты по модели, не учитывающей эффект полости иона, дают завышенные значения как Na^+/Cl^- -селективности в ПК (при отрицательном заряде фиксированном в ПК), так и для Cl^-/Na^+ -селективности (при положительном заряде в ПК) по сравнению с расчетами по теории, учитывающей этот эффект. Однако качественно результаты расчетов по этим двум моделям совпадают. Теории, не учитывающие эффекта изменения сольватации ионов при их переходе в ПК, не могут объяснить существование большой Na^+/Cl^- - или Cl^-/Na^+ -селективности в ПК.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Госзадания № АААА-А17-117032350032-3 (А.А. Рубашкин) и при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Госзадание № АААА-А20-120101090002-4 (М.А. Воротынцев).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. O. R. Colegio, C. M. Van Itallie, H. J. McCrea, et al., *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **283**, C142 (2002).
2. C. M. Van Itallie, A. S. Fanning, and J. M. Anderson, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **285**, F1078 (2003).
3. C. M. Van Itallie and J. M. Anderson, *Physiology* **19**, 331 (2004).
4. J. M. Anderson and C. M. Van Itallie, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **1**, a002584 (2009).
5. A. A. Rubashkin, P. Iserovich, J. A. Hernandez, et al., *J. Membr. Biol.* **208**, 251 (2005).
6. A. A. Рубашкин и П. Исерович, *Цитология* **60**, 136 (2018).
7. А. А. Рубашкин, Д. В. Конев и А. Б. Цыганов, *Электрохимическая энергетика* **15**, 149 (2015).
8. А. А. Корнышев, Г. И. Цицуашвили и А. Э. Ярошук, *Электрохимия* **25**, 1037 (1989).
9. А. А. Корнышев, Г. И. Цицуашвили и А. Э. Ярошук, *Электрохимия* **25**, 1045 (1989).
10. R. R. Dogonadze and A. A. Kornyshev, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II* **70**, 1121 (1974).
11. М. А. Воротынцев и А. А. Корнышев, *Электростатика сред с пространственной дисперсией* (Наука, М., 1993).
12. A. A. Kornyshev and G. Sutmann, *J. Phys. Chem.* **104**, 1524 (1996).
13. M. A. Vorotyntsev, *J. Phys. C: Solid State Physics* **11**, 3323 (1978).
14. M. A. Vorotyntsev and A. A. Rubashkin, *Phys. Chem. Liquids* **55**, 141 (2017).
15. М. А. Воротынцев, А. А. Рубашкин и А. Е. Антипов, *Электрохимия* **54**, S54 (2018).
16. М. А. Воротынцев и А. А. Рубашкин, *Chem. Phys.* **521**, 14 (2019).
17. S. Ebbinghaus, S. J. Kim, M. Heyden, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104** (52), 20749 (2007).
18. A. A. Rubashkin and M. A. Vorotyntsev, *Curr. Phys. Chem.* **6**, 120 (2016).
19. B. S. Gourary and F. J. Adrian, *Solid State Phys.* **10**, 127 (1960).
20. M. V. Fedorov and A. A. Kornyshev, *Mol. Phys.* **105**, 1 (2007).
21. A. A. Rubashkin, P. Iserovich, and M. A. Vorotyntsev, *J. Mol. Liq.* **317**, 113884 (2020).

A Theory on Reversal of Charge Selectivity in Cation- or Anion-Selective Tight Junctions between Epithelial Cells: Nonlocal Electrostatic Approach

A.A. Rubashkin*, P. Iserovich**, and M.A. Vorotyntsev***, ****, *****

**Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Tikhoretskii prosp. 4, St. Petersburg, 194064 Russia*

***Downstate Medical Center, State University of New York, 450 Clarkson Ave., Brooklyn, NY, 11203 USA*

****Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 31, Moscow, 119071 Russia*

*****Institute for Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, prosp. Akademika Semenova 1, Chernogolovka, Moscow Region, 142432 Russia*

******ICMUB, UMR 6302 CNRS, Université Bourgogne – Franche-Comté, Dijon, France*

A theory on reversal of charge selectivity in tight junctions between epithelial cells by changing the sign of the fixed charge in tight junctions is developed. With the method used in our work, taking into account the effect of the ion cavity, we calculated changes in ion solvation energies associated with the transferring of ions to tight junctions. A formula is derived to determine the dependences of the permeability ratio of Na^+ versus Cl^- in tight junctions on the concentration and the sign of fixed charges in tight junctions, as well as on the correlation length of water. The developed theory coincides with the experimental data available in the literature on reversal of Na^+/Cl^- selectivity for Madin-Darby canine kidney cells in the expression of claudin-15 protein molecules in tight junctions with a changed sign of the charge of amino acid residues.

Keywords: epithelial cells, tight junctions, reversal of charge selectivity, nonlocal electrostatics, ion solvation energy, ion cavity effect