

УДК 577.352.4 + 591.047

**МОДЕЛИРОВАНИЕ ИОННОГО ТРАНСПОРТА В НАНОМЕТРОВЫХ КАНАЛАХ
С ЗАРЯЖЕННЫМИ МАКРОМОЛЕКУЛАМИ КЛАУДИНА:
НЕЛОКАЛЬНО-ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЙ ПОДХОД**

А. А. Рубашкин¹ ✉, Д. В. Конев², А. Б. Цыганов³

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии РАН
194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4*

²*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики РАН
142432, Московская обл., Черноголовка, пр. академика Семенова, 1*

³*ООО «Интро-Микро» 191036, Россия, Санкт-Петербург, Лиговский пр., 29, лит. А, пом. 12-Н*

✉ E-mail: andrey.rubashkin@gmail.com

Поступила в редакцию 13.11.15 г.

Разработана математическая модель ионного транспорта в плотных контактах (ПК) между мембранами эпителиальных клеток на основе нелокально-электростатической теории ионной сольватации. Показано, что Na^+/Cl^- (зарядовая) селективность в ПК обусловлена комбинацией двух эффектов: диэлектрического исключения ионов из них и электростатического вытеснения Cl^- . Приведены зависимости селективности в ПК от концентрации фиксированных зарядов и от изменения корреляционной длины воды в ПК. Величины Na^+/Cl^- селективности совпадают с экспериментальными данными, имеющимися в литературе по эпителиальному транспорту. Развитая теория применима и к другим биоэлектрохимическим системам, в которых ионы пересекают фазовую границу, например, к транспорту ионов через биомембраны.

Ключевые слова: ионный транспорт, плотные контакты между мембранами, зарядовая селективность, макромолекулы клаудина, нелокальная электростатика.

DOI: 10.18500/1608-4039-2015-15-4-149-159

**MODELLING OF ION TRANSPORT IN NAOMETRIC CHANNELS WITH CHARGE CLAUDIN
MACROMOLECULES: NONLOCAL ELECTROSTATIC APPROACH**

A. A. Rubashkin¹ ✉, D. V. Konev², A. B. Tsyganov³

¹*Federal state budgetary institution of science, Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences
4, Tikhoritskii ave., St.-Petersburg, 194064, Russia*

²*Federal state budgetary institution of science, Institute of Problems of Chemical Physics,
Russian Academy of Sciences*

1, Academician Semenov ave., Chernogolovka, Moscow Region, 142432, Russia

³*Intro-Micro LLC*

Office 12-N, 29-A, Ligovskii ave., St.-Petersburg, 191036, Russia

✉ E-mail: andrey.rubashkin@gmail.com

Received 13.11.15

It was developed a mathematical model of ion transport in tight junction (TJ) between the membranes of epithelial cells on the basis of nonlocal-electrostatic theory of ion solvation. It is shown that the Na^+/Cl^- (charge) selectivity in TJ arise due to a combination of two effects: the dielectric exclusion of ions from them and electrostatic displacement Cl^- . There are presented the dependences of the selectivity in TJ on the concentration of the fixed charged groups and changes in the correlation length of the water in TJ. The values of Na^+/Cl^- selectivity calculated by our model agree with the experimental data on the epithelial transport, available in the literature.

Key words: ion transport, tight junction between membranes, charge selectivity, claudin macromolecules, nonlocal electrostatics.

DOI: 10.18500/1608-4039-2015-15-4-149-159

ВВЕДЕНИЕ

С ростом энергопотребления современного общества всё большую актуальность приобретают проблемы исчерпаемости традиционных энергоресурсов (ископаемого топлива) и повышения эффективности использования возобновляемых источников энергии. Одним из перспективных направлений

развития современных технологий преобразования энергии могут по праву считаться исследования в области биоэлектрохимии и биотопливных элементов. Начало этому направлению было положено с открытием способности некоторых видов бактерий поддерживать восстановительные процессы на электродах, обеспечивающие практически значимый уровень мощности прямого преобразования химической

энергии в электрическую [1, 2]. Несмотря на то что первые упоминания о биоэлектрохимических эффектах датируются ещё началом XX века [3], лишь спустя 100 лет появились первые электрохимические устройства, в которых химическая энергия, запасённая в органических соединениях, преобразуется в электрическую при непосредственном участии микроорганизмов [4]. Ключевой проблемой биоэлектрохимии является механизм взаимодействия живой клетки с электродом, главным образом механизм переноса заряда через клеточную мембрану [5]. В этом же русле находится тематика настоящей работы. В данной работе развита теория ионного транспорта в плотных контактах между эпителиальными клетками. Однако эта теория применима и к другим биоэлектрохимическим системам, в которых ионы пересекают фазовую границу (см. например, [5]).

Плотные контакты (Tight Junctions (TJ))* в монослоях эпителиальных клеток представляют собой каналы шириной порядка 40 Å между плоскопараллельными плазматическими мембранами, заполненные различными макромолекулами, основными из которых являются белковые молекулы клаудина (claudin) [6–8].

С точки зрения физической химии монослой эпителиальных клеток является мембраной, порами которой служат межклеточные каналы, через которые происходит транспортировка как макромолекул, так и ионов электролита. Барьер, образуемый в плотных контактах молекулами клаудина, контролирует эти потоки. Трансмембранные молекулы клаудина – это белки массой ≈ 25 кДа, имеющие две внеклеточные петли, которые находятся в плотных контактах между клетками и несут набор заряженных аминокислот [6–8].

В работе [6] было показано, что белковые молекулы клаудина (Claudin) создают Na^+/Cl^- (зарядовую) селективность в плотных контактах между эпителиальными клетками MDCK (Мадин-Дарбу собачьи почечные клетки). Изученные в [6] клетки были в 4–5 раз более проницаемы для Na^+ , чем для Cl^- . Замена положительно заряженной аминокислоты на отрицательно заряженную увеличивало Na^+ проницаемость плотных контактов по сравнению с Cl^- . Наоборот, замена отрицательно заряженных аминокислот положительными в трёх позициях первого домена клаудина-15 обращало зарядовую селективность от Na^+ к Cl^- . Анализируя эти эксперименты, авторы [6] сделали вывод о том, что молекулы кла-

удина, несущие отрицательно заряженные аминокислотные радикалы, создают каналы в плотных контактах, обладающие свойством зарядовой селективности за счёт электростатического вытеснения анионов из плотных контактов между клетками.

Таким образом, в науке о трансэпителиальном транспорте возникла проблема, которая была сформулирована в [7] следующим образом: «Какого вида структура может одновременно быть столь проницаема для крупных молекул и столь селективна для ионов?». Чтобы пропускать крупные макромолекулы, диаметр пор должен быть порядка 30 Å. Концентрация NaCl физиологического раствора $c_0 = 0.15$ М, при этом дебаевская длина в свободном объёме раствора ~ 8 Å. Поэтому исследователи в этой области не понимают, как крупные поры могут создавать зарядовую селективность, им кажется, что в таких крупных порах не должно быть большой дискриминации Cl^- при $c_0 = 0.15$ М. Для объяснения этого была предложена модель системы пор большого и малого диаметров [7–10], согласно которой крупные нейтральные молекулы проходят через крупные поры, а ионы – через малые.

Мы считаем эту модель ошибочной, поскольку нет физических причин, по которым ионы не могут двигаться через крупные поры в плотных контактах. Решение проблемы мы видим в том, что плотные контакты между мембранами эпителиальных клеток представляют собой фазу, отличную от свободного раствора. В работах [11–13] сравнивались теоретические формулы с экспериментальными данными по связанному водно-солевому транспорту в плотных контактах роговицы глаза кролика. В результате сопоставления теории с экспериментом было показано, что величина коэффициентов распределения ионов n между плотными контактами и свободным раствором составляет порядка 0.2. Качественное объяснение зарядовой селективности в плотных контактах состоит в следующем: поскольку величина n в них меньше единицы, то дебаевская длина в плотных контактах должна быть больше, чем в свободном растворе. Поэтому электростатическое воздействие заряженных аминокислот на ионы Na^+ и Cl^- распространяется в плотных контактах на большие расстояния, и крупные поры в плотных контактах также должны обладать зарядовой селективностью.

Целью нашей работы является установление общего механизма, который лежит в основе Na^+/Cl^- селективности в плотных контактах между эпители-

*Мы должны пояснить перевод английского термина «tight junction» как «плотный контакт» (ПК), который утвердился в русскоязычной научной литературе по эпителиальному транспорту, хотя с точки зрения физической химии более приемлемым был бы перевод «узкие соединения». В ПК эпителиальные клетки максимально сближены и сшиты специальными белками. Когда ПК были открыты, ещё не были изучены их транспортные свойства, и считалось, что они непроницаемы для макромолекул. Возможно, по этой причине и появился такой неудачный перевод английского термина «tight junction». В данной работе мы вынуждены пользоваться им, поскольку он является общепринятым в русскоязычной биологической литературе.

альными клетками. Согласно нашей гипотезе, транспорт ионов в этой системе определяется энергией пересольватации ионов при их переходе из свободного раствора в плотный контакт. Поэтому основной задачей является определение энергии пересольватации. К исследуемой системе мы будем применять методы нелокальной электростатики [14–17], чтобы оценить энергию пересольватации и коэффициенты распределения ионов. Будет показано, что коэффициенты распределения ионов в плотных контактах значительно меньше единицы. Поэтому комбинация диэлектрического исключения ионов из плотных контактов в сочетании с доннановским вытеснением Cl^- (из-за взаимодействия с фиксированными зарядами макромолекул в плотных контактах) приводит к Na^+/Cl^- селективности в плотных контактах.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Применим нелокально-электростатическую теорию ионной сольватации [14–17] к моделированию ионного транспорта в плотных контактах между эпителиальными клетками. Наш подход к этому электрохимическому явлению основывается на предположении о том, что механизм управления транспортом ионов в плотных контактах определяется изменением энергии сольватации ионов δW при их переходе из свободного раствора в плотный контакт. В соответствии с нелокальной электростатикой энергия δW зависит как от радиусов ионов, так и от параметров воды в плотных контактах (корреляционных длин, коротковолновой и статической диэлектрических проницаемостей), причём, согласно [18], данные параметры для воды вокруг протеинов отличаются от объёмных. В плотных контактах (ПК) это приводит к диэлектрическому исключению ионов из ПК, а в сочетании с доннановским вытеснением Cl^- – к большой Na^+/Cl^- селективности в ПК. Энергия δW во всех этих системах будет вычисляться по формулам нелокально-электростатической теории [14–17], использующей многомодовую модель сольватации иона. Эта формула хорошо аппроксимирует расчётную величину энергии сольватации иона W к её экспериментальным значениям. В нашем случае локализации иона в середине ПК расстояние между ионом и ограничивающими стенками канала (20 Å) значительно больше радиусов ионов Na^+ и Cl^- , поэтому электростатическая энергия этих ионов состоит из двух слагаемых. Первое и большее из этих слагаемых определяется энергией пересольватации иона из-за его переход в среду с другими параметрами, поскольку корреляционная длина воды в ПК отличается от объёмной.

Второй и меньший эффект, влияющий на энергетику иона в канале, обусловлен ролью ограничивающих стенок канала. Роль этого эффекта в изменении энергии иона при его переходе в середину канала для случая нелокальной электростатики была изучена в [19].

Расчёт изменения энергии сольватации при переходе иона из свободного раствора в плотный контакт

Приведём формулы для моделей нелокального диэлектрического отклика растворителя (заполняющего всё пространство) $\epsilon(k)$, на которые будем ссылаться в дальнейшем изложении. В литературе эти модели называются «приближениями нескольких (1, 2 или 3) дискретных мод» или «полусными моделями» [16]. В этих формулах k – волновой вектор, $\epsilon_1, \epsilon_2, \epsilon_3$ – диэлектрические проницаемости, а $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ – корреляционные длины, соответствующие электронным (индекс 1), инфракрасным (индекс 2) и дебаевским (индекс 3) степеням свободы. Численные значения диэлектрических проницаемостей для воды: $\epsilon_1 = 1.8, \epsilon_2 = 5, \epsilon_3 = \epsilon_S = 78$, а корреляционных длин: $\lambda_1 = 0.5 \text{ \AA}, \lambda_2 = 1 \text{ \AA}$, тогда как величина наибольшей из корреляционных длин λ_3 обычно используется в качестве подгоночного параметра, который для предварительных оценок обычно принимается равным 3–5 Å.

В трёхмодовой модели $\epsilon(k)$ имеет вид [16]

$$\frac{1}{\epsilon(k)} = 1 - \frac{1 - 1/\epsilon_1}{1 + (k\lambda_1)^2} - \frac{1/\epsilon_1 - 1/\epsilon_2}{1 + (k\lambda_2)^2} - \frac{1/\epsilon_2 - 1/\epsilon_3}{1 + (k\lambda_3)^2}. \quad (1)$$

Поскольку λ_1 мало, то в знаменателе второго члена в правой части (1) $1 \gg (k\lambda_1)^2$ для интервала значений k , дающих основной вклад в энергию сольватации. При этом модель (1) переходит в двухмодовую модель [14], в которой $\epsilon(k)$ имеет вид

$$\frac{1}{\epsilon(k)} = \frac{1}{\epsilon_1} - \frac{1/\epsilon_1 - 1/\epsilon_2}{1 + (k\lambda_2)^2} - \frac{1/\epsilon_2 - 1/\epsilon_3}{1 + (k\lambda_3)^2}. \quad (2)$$

Приведём формулы для энергий сольватации в теории Корнышева для модели, когда заряд иона равномерно распределён по поверхности сферы радиуса, совпадающего с радиусом иона (борновская модель иона). Энергия выражается через вспомогательную функцию $f(y)$:

$$f(y) = 1 - (1 - \exp(-y))/y. \quad (3)$$

Значения параметров для воды в формуле (2): $\epsilon_1 = 1.8, \epsilon_2 = 5, \epsilon_3 = \epsilon_S = 78; \lambda_2 = 1 \text{ \AA}. \epsilon_S$ – статическая диэлектрическая проницаемость, $\lambda_3 = \Lambda_0$ – корреляционная длина в цепочках водородной связи,

величина которой в свободном растворе равна $\Lambda_0 = \lambda_3 = 3-5 \text{ \AA}$.

В двухмодовой модели [14] $\varepsilon(k)$ имеет вид (2), а энергия сольватации W_0 зависит от радиуса иона r_i :

$$W_0(r_i) = (e^2/2r_i)[C_1 + C_2f(2r_i/\lambda_2) + C_3f(2r_i/\Lambda_0)], \quad (4)$$

где e – заряд электрона, r_i – радиус иона, который выбирается по шкале Гуарари и Адриана [20]. Коэффициенты C_i ($i = 1, 2, 3$) определяются через диэлектрические константы:

$$C_1 = 1 - 1/\varepsilon_1 = 0.444; C_2 = 1/\varepsilon_1 - 1/\varepsilon_2 = 0.352;$$

$$C_3 = 1/\varepsilon_2 - 1/\varepsilon_3 = 0.191.$$

Значения параметров в формуле (4) – $\varepsilon_1 = 1.8$, $\varepsilon_2 = 5$, $\varepsilon_3 = \varepsilon_S = 78$; $\lambda_2 = 1 \text{ \AA}$, $\Lambda_0 = 3-5 \text{ \AA}$, а функция $f(y)$ в (4) определяется формулой (3).

Корреляционная длина Λ_{TJ} в плотных контактах больше, чем Λ_0 в свободном растворе, из-за наличия в них белковых макромолекул клаудина. Тогда энергия сольватации W_{TJ} в плотных контактах зависит от радиуса иона и от корреляционной длины Λ_{TJ} :

$$W_{TJ}(r_i) = (e^2/2r_i)[C_1 + C_2f(2r_i/\lambda_2) + C_3f(2r_i/\Lambda_{TJ})]. \quad (5)$$

Изменение стандартного химического потенциала иона при его переходе из свободного раствора в плотные контакты равно разнице энергий сольватации иона δW между свободным раствором и плотными контактами:

$$\delta W(r_i) = W_0(r_i) - W_{TJ}(r_i), \quad (6)$$

поэтому коэффициенты распределения иона связываются с величиной δW :

$$n(r_i) = \exp[-\delta W(r_i)/kT]. \quad (7)$$

Пользуясь формулами (6)–(7), определим коэффициенты распределения Na^+ и Cl^- и их энергии пересольватации с помощью соотношений (8):

$$n_{\text{Na}^+} = n(r_{\text{Na}^+}); n_{\text{Cl}^-} = n(r_{\text{Cl}^-}); \delta W_{\text{Na}^+} = \delta W(r_{\text{Na}^+}); \quad (8)$$

$$\delta W_{\text{Cl}^-} = \delta W(r_{\text{Cl}^-}).$$

Расчёт Na^+/Cl^- селективности в плотных контактах

Из условия равенства электростатических потенциалов ионов в свободном растворе и в плотных контактах получим выражения для их концентраций в плотных контактах:

$$c_{\text{Na}^+}^{TJ} = n_{\text{Na}^+} c_0 \exp(-e\varphi_{TJ}/kT); \quad (9)$$

$$c_{\text{Cl}^-}^{TJ} = n_{\text{Cl}^-} c_0 \exp(e\varphi_{TJ}/kT).$$

Запишем условие электронейтральности в плотных контактах как

$$c_{\text{Na}^+}^{TJ} + [\text{NH}_3^+] = c_{\text{Cl}^-}^{TJ} + [\text{COO}^-], \quad (10)$$

где квадратными скобками обозначены концентрации положительно и отрицательно заряженных фиксированных центров, обусловленных диссоциацией аминокислотных остатков макромолекул клаудина. Подставляя выражения для концентраций из (9) в (10) и решая (10) относительно потенциала, получим для него:

$$\varphi_{TJ} = -(kT/e) \times \quad (11a)$$

$$\times \ln \left\{ X_f / (2n_{\text{Na}^+}) + \left[(X_f / (2n_{\text{Na}^+)})^2 + n_{\text{Cl}^-} / n_{\text{Na}^+} \right]^{1/2} \right\},$$

$$\varphi_{TJ} = -(kT/e) \times \quad (11b)$$

$$\times \ln \left\{ -Y_f / (2n_{\text{Na}^+}) + \left[(Y_f / (2n_{\text{Na}^+)})^2 + n_{\text{Cl}^-} / n_{\text{Na}^+} \right]^{1/2} \right\},$$

где введены безразмерные результирующие концентрации фиксированных отрицательно (X_f) и положительно (Y_f) заряженных центров по отношению к концентрации c_0 в свободном растворе:

$$X_f = ([\text{COO}^-] - [\text{NH}_3^+]) / c_0, Y_f = ([\text{NH}_3^+] - [\text{COO}^-]) / c_0, \quad (12)$$

причём величина X_f положительна, если преобладают отрицательно заряженные центры.

Отношение миграционных потоков Na^+ и Cl^- в плотных контактах имеет вид

$$j_{\text{Na}^+}^{TJ} / j_{\text{Cl}^-}^{TJ} = (D_{\text{Na}^+}^{TJ} / D_{\text{Cl}^-}^{TJ}) (c_{\text{Na}^+}^{TJ} / c_{\text{Cl}^-}^{TJ}), \quad (13)$$

где в первой скобке – отношение коэффициентов диффузии ионов в плотных контактах. В экспериментальной литературе по транспорту ионов в плотных контактах в качестве меры Na^+/Cl^- селективности используется величина $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$, равная отношению потоков (13). Получим для этой величины формулу (14), подставив в выражение (13) концентрации ионов из соотношения (9), а отношение коэффициентов диффузии в плотных контактах будем считать равным их отношению для свободного раствора, которое согласно [21] равно 0.66:

$$P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-} = 0.66(n_{\text{Na}^+}/n_{\text{Cl}^-}) \exp(-2e\varphi_{TJ}/kT). \quad (14)$$

Уравнение Пуассона и дебаевская длина в плотных контактах

Используя выражения (9) для концентраций ионов в плотных контактах, запишем уравнение Пуассона в них как

$$\nabla^2 \Phi = -(L_D)^{-2} [n_{\text{Na}^+} \exp(-\Phi) - n_{\text{Cl}^-} \exp(\Phi) - X_f], \quad (15)$$

где $\Phi = e\varphi/kT$ – безразмерный электростатический потенциал в плотных контактах, а дебаевская длина L_D в свободном растворе определяется (в системе единиц СГСЭ) как

$$L_D = [\varepsilon_S kT / (8\pi e^2 c_0)]^{1/2}. \quad (16)$$

Введём потенциал Ψ как отклонение от потенциала Φ_{TJ} , определяемого по формуле (11): $\Psi = \Phi - \Phi_{TJ}$, где $\Phi_{TJ} = e\varphi_{TJ}/kT$. Подставляя эти безразмерные потенциалы в (15) и считая, что $\Psi \ll 1$, получим:

$$\nabla^2 \Psi = -(L_{TJ})^{-2} \Psi,$$

где дебаевская длина в плотных контактах L_{TJ} рассчитывается по формуле

$$L_{TJ} = L_D \{2/[n_{Na^+} \exp(-\Phi_{TJ}) + n_{Cl^-} \exp(\Phi_{TJ})]\}^{1/2}. \quad (17)$$

Коэффициенты распределения в (17) вычисляются по формуле (7), а Φ_{TJ} – по (11). Если параметры воды в плотных контактах такие же, как и в свободном растворе, то $n_{Na} = n_{Cl} = 1$, при этом формула (17) переходит в

$$L_{TJ}^{(n=1)} = L_D \{2/[\exp(-\varphi_{Don}/kT) + \exp(\varphi_{Don}/kT)]\}^{1/2}, \quad (18)$$

где доннановский потенциал φ_{Don} в плотных контактах рассчитывается как

$$\varphi_{Don} = -(kT/e) \ln \left\{ X_f/2 + \left[(X_f/2)^2 + 1 \right]^{1/2} \right\}. \quad (19)$$

Отношение проницаемостей для случая $n_{Na} = n_{Cl} = 1$ рассчитывается как

$$(P_{Na^+}/P_{Cl^-})|_{n=1} = 0.66 \exp(-2e\varphi_{Don}/kT), \quad (20)$$

а концентрации Na^+ и Cl^- вместо формулы (9) рассчитываются как

$$c_{Na^+} = c_0 \exp(-e\varphi_{Don}/kT); \quad c_{Cl^-} = c_0 \exp(e\varphi_{Don}/kT). \quad (21)$$

Эффект влияния стенок канала на энергию иона в плотных контактах

Обсудим влияние стенок, ограничивающих канал, на электростатическую энергию иона в канале. В [19] были получены формулы (как для нелокальной электростатики, так и в локальном варианте) для изменения энергии иона $W_2(d)$ при его переходе в середину узкого плоского канала ширины d за счёт отличия диэлектрической проницаемости воды в канале ε_{eff} от диэлектрической проницаемости ε_m вещества, окружающего канал:

$$W_2(d) = \frac{e^2}{4\pi\varepsilon_0 d \varepsilon_{im}} \ln \left(\frac{1 + \varepsilon_{eff}/\varepsilon_m}{2} \right), \quad (22)$$

где ε_{eff} является функцией расстояния d и корреляционной длины воды Λ_{TJ} :

$$\varepsilon_{eff} = \left[1/\varepsilon_S + (1/\varepsilon_2 - 1/\varepsilon_S) e^{-d/\Lambda_{TJ}} \right]^{-1}, \quad (23)$$

где $\varepsilon_S = 78$ – диэлектрическая проницаемость воды, а $\varepsilon_2 = 5$. Расчёт $W_2(d)$ по этим формулам при $d = 40 \text{ \AA}$, $\varepsilon_m = 2$ и максимальной корреляционной длине воды $\Lambda_{TJ} = 9 \text{ \AA}$, которую мы использовали при сопоставлении наших модельных результатов с экспериментом, даёт $W_2(d)/kT = 0.58$. Эта величина значительно меньше, чем изменение энергии сольватации иона при его переходе в канал, для параметров, используемых в данной работе. Если же считать, что параметры воды в ПК такие же, как и в свободном растворе, а энергия иона в ПК определяется только эффектом стенок канала, то, учитывая энергию, рассчитываемую по формуле (22), получим для коэффициентов распределения ионов вместо (7):

$$n(d) = \exp\{-W_2(d)/kT\}. \quad (24)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменения разницы энергий сольватации δW_{Na^+} и δW_{Cl^-} (формулы (6), (8)) для Na^+ (сплошные кривые) и Cl^- (штриховые кривые) между свободным раствором и плотными контактами как функция корреляционной длины воды Λ_{TJ} в них представлены на рис. 1 в единицах kT для двух значений корреляционной длины воды Λ_0 в свободном растворе. Энергии сольватации W_0 и W_{TJ} рассчитывались по формулам (4) и (5) соответственно. Как видно из рис. 1, энергии пересольватации δW_{Na^+} и δW_{Cl^-} увеличиваются с ростом Λ_{TJ} во всех случаях. Коэффициенты распределения n_{Na^+} и n_{Cl^-} ионов в плотных контактах (рис. 2), рассчитанные по формулам (7)–(8), уменьшаются с ростом Λ_{TJ} , причём это уменьшение происходит значительно медленнее для $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$. В дальнейшем выбирается именно это значение Λ_0 в свободном растворе (5 \AA), поскольку двухмодовая модель диэлектрической функции лучше аппроксимирует экспериментальные данные по энергиям сольватации при больших значениях корреляционной длины воды [14]. Отношение корреляционных длин Λ_{TJ}/Λ_0 , при котором рассчитанная по формуле (14) величина Na^+/Cl^- селективности в плотных контактах совпадает с экспериментально найденной в [6], равно 1.8. Для этой величины на рис. 1 и 2 нанесены точки на кривых 3 и 4 (при $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$ и $\Lambda_{TJ} = 9 \text{ \AA}$), которые соответствуют изменению энергий сольватации $\delta W_{Na^+} = 3.62 kT$ и $\delta W_{Cl^-} = 3.3 kT$ и коэффициентам распределения $n_{Na^+} = 0.027$ и $n_{Cl^-} = 0.037$. Электростатическая энергия

иона в середине канала, обусловленная влиянием стенок канала, при $\Lambda_{TJ} = 9 \text{ \AA}$ равна $0.58 kT$, как мы уже отметили, что значительно меньше приведенных величин изменения энергии δW за счёт изменения корреляционной длины воды в канале.

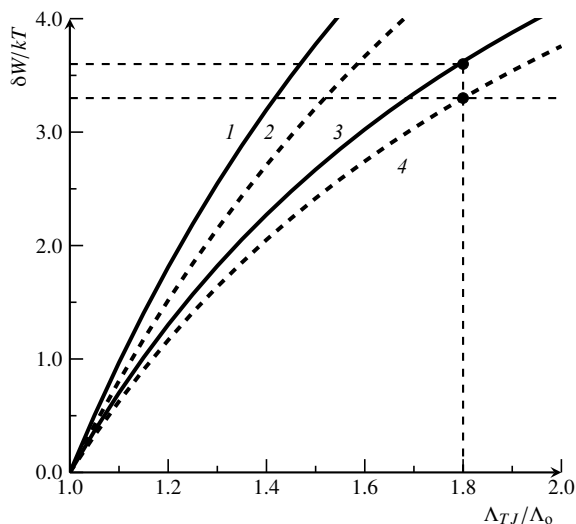


Рис. 1. Зависимость разницы δW энергий сольватации иона (в единицах kT) между свободным раствором и плотными контактами (TJ) между эпителиальными клетками от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в них, рассчитанная по формулам (4)–(6) и (8). Сплошные кривые 1, 3 соответствуют Na^+ , штриховые – 2, 4 для Cl^- . Кривые 1, 2 соответствуют корреляционной длине в свободном растворе $\Lambda_0 = 3 \text{ \AA}$, кривые 3, 4 для $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$

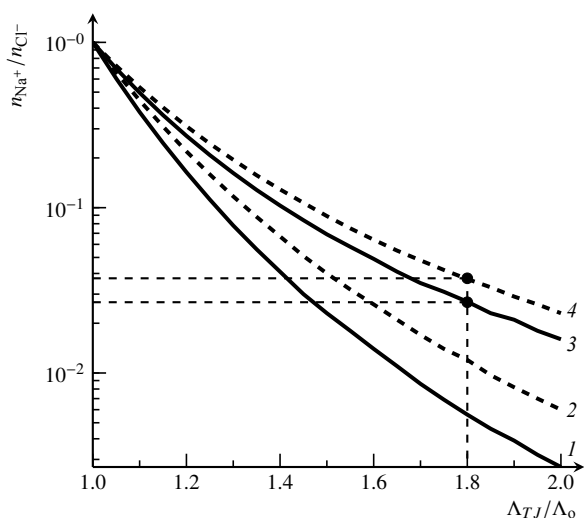


Рис. 2. Зависимость коэффициентов распределения n_{Na} и n_{Cl} для Na^+ и Cl^- в плотных контактах от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в них, рассчитанные по формулам (7)–(8). Сплошные кривые 1, 3 соответствуют Na^+ , штриховые – 2, 4 для Cl^- . Кривые 1, 2 соответствуют корреляционной длине в свободном растворе $\Lambda_0 = 3 \text{ \AA}$, кривые 3, 4 для $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$

Следствием этого роста энергий пересольватации δW в плотных контактах и как следствие уменьшение коэффициентов распределения ионов является значительное увеличение дебаевской длины

экранирования и уменьшение концентраций ионов в них, что приводит к возникновению значительной Na^+/Cl^- селективности.

На рис. 3 показано изменение разницы электростатических потенциалов φ_{TJ} между плотными контактами и свободным раствором (сплошные кривые 1–3) при увеличении корреляционной длины Λ_{TJ} в них, рассчитанные по формуле (11) для трёх значений параметра X_f , определённого по формуле (12). Параметр X_f – это разность относительных концентраций отрицательно и положительно заряженных аминокислот в белках, формирующих плотные контакты. Потенциал φ_{TJ} растёт по абсолютной величине при увеличении Λ_{TJ} , а также растёт с увеличением концентрации X_f , что иллюстрируется переходом от кривой 1 к кривой 3. Потенциал $\varphi_{TJ} = -129.8 \text{ мВ}$ соответствует точке на кривой 2, для которой параметры равны: $X_f = 0.07$ и $\Lambda_{TJ}/\Lambda_0 = 1.8$. Доннановский потенциал φ_{Don} , рассчитанный по формуле (19), для максимальной концентрации, соответствующей кривой 3 ($X_f = 0.1$), показан штриховой горизонтальной линией 4, $\varphi_{Don} = -1.3 \text{ мВ}$. Подчёркнём, что φ_{Don} не зависит от корреляционной длины в плотных контактах и соответствует формуле (11) при подстановке в неё для коэффициентов распределения значений $n_{\text{Na}^+} = n_{\text{Cl}^-} = 1$.

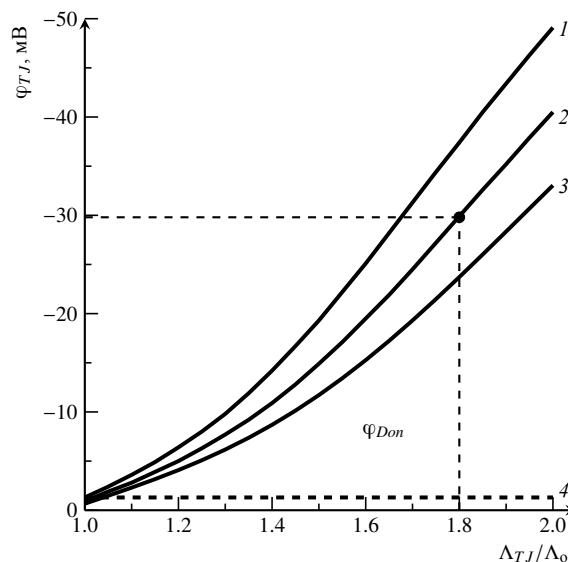


Рис. 3. Зависимости изменения электростатического скачка потенциала φ_{TJ} между плотными контактами и свободным раствором от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в плотных контактах, рассчитанные по формуле (11) для различных значений параметра X_f : $X_f = 0.05$ для кривой 1; $X_f = 0.07$ для кривой 2; $X_f = 0.1$ для кривой 3. Штриховая кривая 4 соответствует доннановскому потенциалу φ_{Don} , рассчитанному по формуле (19) при $X_f = 0.1$. Корреляционная длина в свободном растворе $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$, а параметр X_f определяется по формуле (12) – это относительная результирующая концентрация фиксированных отрицательно заряженных аминокислот в плотных контактах. Концентрация c_0 равна концентрации физиологического раствора NaCl ($c_0 = 0.15 \text{ M}$)

Увеличение потенциал φ_{TJ} , показанное на рис. 3, в соответствии с формулой (14) приводит к возникновению значительной Na^+/Cl^- селективности в плотных контактах.

На рис. 4 показан рост дебаевской длины экранирования L_{TJ} в плотных контактах, рассчитанной по формуле (17), по сравнению с её значением в свободном растворе L_D при увеличении корреляционной длины воды Λ_{TJ} . При увеличении концентрации X_f фиксированных зарядов L_{TJ} уменьшается, что иллюстрируется переходом от кривой 1 к кривой 3. Точка на кривой 2 соответствует $(L_{TJ}/L_D) = 4.6$. Дебаевская длина L_D в свободном растворе концентрации $c_0 = 0.15$ М равна 8 \AA .

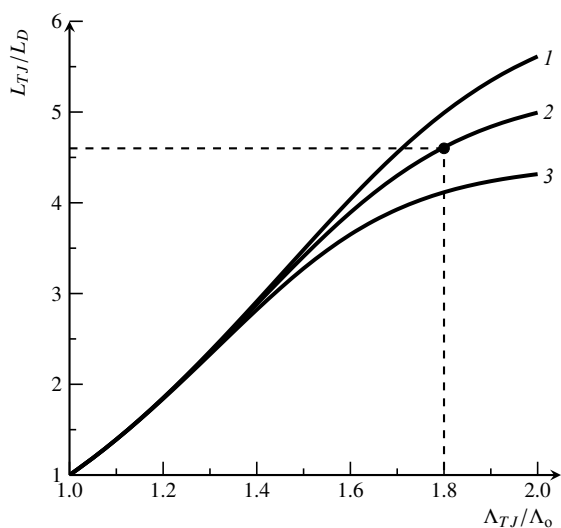


Рис. 4. Зависимости изменения дебаевской длины L_{TJ} в плотных контактах по отношению к дебаевской длине L_D в свободном растворе ($L_D = 8 \text{ \AA}$ при $c_0 = 0.15$ М) от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в плотных контактах, рассчитанные по формуле (17). Значения параметра X_f : $X_f = 0.05$ для кривой 1; $X_f = 0.07$ для кривой 2; $X_f = 0.1$ для кривой 3. Параметры λ_{04} , c_0 такие же, как на рис. 3.

На рис. 5 показано уменьшение концентраций ионов c_{TJ} в плотных контактах, рассчитанных по формулам (9), (11a) при увеличении корреляционной длины воды Λ_{TJ} . Увеличение концентрации X_f фиксированных отрицательных зарядов в плотных контактах приводит к росту концентрации Na^+ , что иллюстрируется переходом от кривой 1 к кривой 3, и к уменьшению концентрации Cl^- (переход от кривой 1' к кривой 3' – штриховые кривые). Точки на кривых 2 и 2', для которых $X_f = 0.07$, относятся к концентрациям $c_{\text{Na}^+} = 0.082c_0$ и $c_{\text{Cl}^-} = 0.012c_0$, что соответствует намного большей дискриминации Cl^- в плотных контактах по сравнению с Na^+ , чем когда коэффициенты распределения Na^+ и Cl^- в плотных контактах равны единице. В последнем случае $c_{\text{Na}^+} = 1.04c_0$ и $c_{\text{Cl}^-} = 0.97c_0$, которые получены по формулам (21).

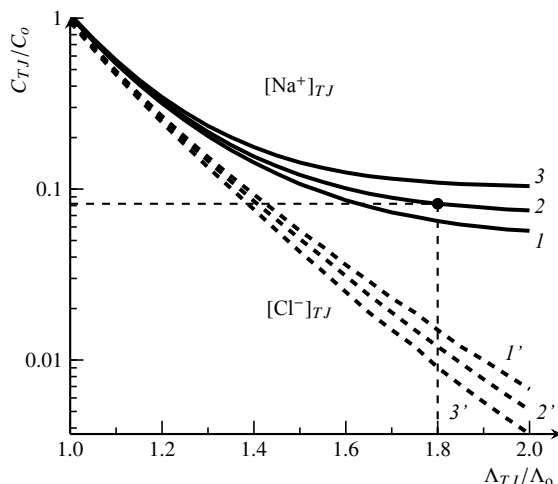


Рис. 5. Зависимость относительных концентраций c_{TJ} (для Na^+ – сплошные кривые 1, 2, 3; для Cl^- – штриховые кривые 1', 2', 3') в плотных контактах от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в них, рассчитанные по формулам (9). Значения параметра X_f : $X_f = 0.05$ для кривых 1, 1'; $X_f = 0.07$ для кривых 2, 2'; $X_f = 0.1$ для кривых 3, 3'. Параметры λ_{04} , c_0 такие же, как на рис. 3.

Зависимость отношения проницаемостей $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ в плотных контактах между эпителиальными клетками для ионов Na^+ и Cl^- показана на рис. 6 от изменения корреляционной длины Λ_{TJ}

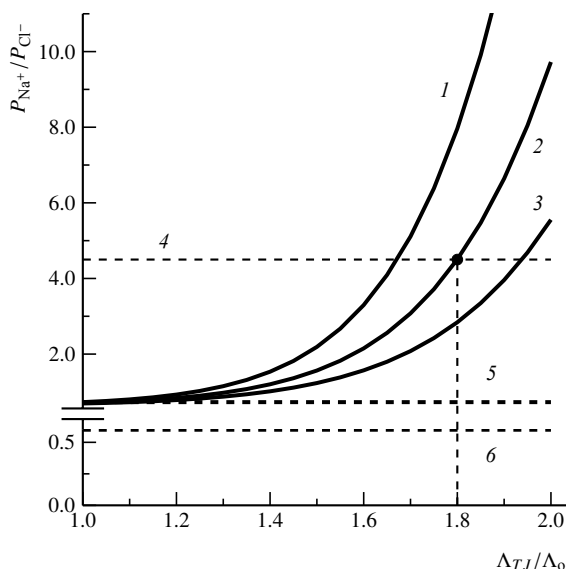


Рис. 6. Зависимость отношения проницаемостей $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ ионов Na^+ и Cl^- в плотных контактах между эпителиальными клетками от изменения корреляционной длины Λ_{TJ} в них. Корреляционная длина в свободном растворе $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$. Величина $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ рассчитана по формуле (14). Значения параметра X_f для кривых 1, 2, 3 указаны в подписи к рис. 3, а. Пунктирная горизонтальная линия 4 соответствует экспериментальной измеренной в [6] величине $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ для плотных контактов клеток МДСК. Штриховая кривая 5 рассчитана по формуле (20) при $X_f = 0.1$ и соответствует $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$, когда n_{Na^+} и n_{Cl^-} равны 1. Пунктирная горизонтальная линия 6 соответствует случаю, когда нет Na^+/Cl^- селективности плотных контактов. При этом отношение проницаемостей $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-} = 0.66$ равно отношению коэффициентов диффузии Na^+ и Cl^- .

в них и на рис. 7 от изменения результирующей концентрации X_f фиксированных отрицательных зарядов. Величина P_{Na^+}/P_{Cl^-} рассчитана по формуле (14), в которой электростатический потенциал в плотных контактах φ_{TJ} вычисляется по формуле (11a), а коэффициенты распределения ионов n_{Na^+} и n_{Cl^-} – по формулам (7)–(8). Отношение P_{Na^+}/P_{Cl^-} растёт, как с ростом корреляционной длины в плотных контактах, так и с увеличением концентрации X_f . Горизонтальная пунктирная линия 4 на рис. 6 и рис. 7 соответствует экспериментально определённой в работе [6] величине $P_{Na^+}/P_{Cl^-} = 4.5$ для плотных контактов клеток MDCK. Штриховая линия 5 на рис. 6 соответствует величине $(P_{Na^+}/P_{Cl^-})|_{n=1} = 0.73$, вычисленной по формуле (20) для $X_f = 0.1$ при условии $n_{Na^+} = n_{Cl^-} = 1$, что означает очень слабую дискриминацию Cl^- .

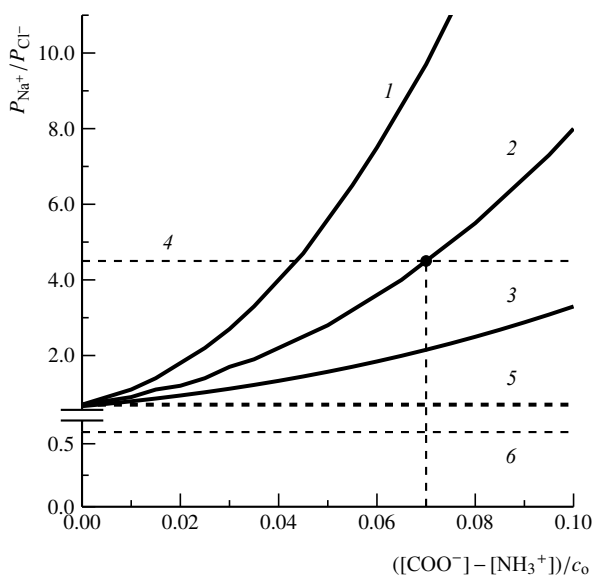


Рис. 7. Зависимость Na^+ / Cl^- селективности P_{Na}/P_{Cl} от изменения относительной результирующей концентрации X_f фиксированных отрицательно заряженных аминокислот в плотных контактах. Величина P_{Na}/P_{Cl} рассчитана по формуле (14). Значения параметра Λ_{TJ} / Λ_0 , при котором построены кривые 1, 2, 3: $\Lambda_{TJ} / \Lambda_0 = 2$ для кривой 1; $\Lambda_{TJ} / \Lambda_0 = 1.8$ для кривой 2; $\Lambda_{TJ} / \Lambda_0 = 1.6$ для кривой 3. Корреляционная длина в свободном растворе $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$. Пунктирные горизонтальные линии 4 и 6 соответствуют описанию на рис. 6. Штриховая линия 5 рассчитана как функция X_f по формуле (20) и соответствует P_{Na}/P_{Cl} , когда n_{Na} и n_{Cl} равны 1

Рассчитаем теперь величину P_{Na^+}/P_{Cl^-} в предположении, что корреляционная длина воды в ПК такая же, как в свободном растворе ($n_{Na^+} = n_{Cl^-} = 1$), а энергия иона, находящегося в середине канала, определяется эффектом вытеснения из-за наличия стенок. Используя формулы (14), (22), (24), получим $P_{Na^+}/P_{Cl^-} = 0.78$ при $X_f = 0.1$, т. е. только на 7% больше, чем 0.73 – селективность, полученную только за счёт электростатического вытеснения Cl^- .

Сравнение этого результата с расчётом, представленным на рис. 6 и рис. 7, показывает, что основным эффектом в создании Na^+/Cl^- селективности является пересольватация иона, вызванная изменением параметров воды в плотных контактах.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Увеличение корреляционной длины воды в плотных контактах по сравнению с её величиной в свободном растворе приводит к возникновению энергии пересольватации ионов при их переходе в плотные контакты, как это видно из рис. 1. Следствием этого является значительная дискриминация Cl^- по сравнению с Na^+ при условии, что в плотных контактах находятся фиксированные отрицательно заряженные центры, образованные в результате диссоциации ионогенных аминокислот межмембранных белков.

Далее мы будем сравнивать теоретические результаты, представленные выше, с экспериментальными данными работ [6–8]. Результирующая концентрация фиксированных зарядов в плотных контактах рассчитана из условия, что на один заряженный центр приходится объём $\Delta V = 1.6 \cdot 10^5 \text{ \AA}^3$ (куб с ребром 54 \AA), что соответствует данным [6–8] по топологии размещения заряженных аминокислотных остатков молекул клаудина в плотных контактах. Относительная концентрация этих центров равна: $X_f = 1/(N_A \Delta V c_0) = 0.07$. В [8] приведена таблица значений отношения проницаемостей плотных контактов P_{Na^+}/P_{Cl^-} для различных типов эпителиальных клеток, согласно которой разброс P_{Na^+}/P_{Cl^-} составляет от 0.6 до 10. Приведённые на рис. 6–8 графики покрывают этот диапазон. Плотные контакты, для которых $P_{Na^+}/P_{Cl^-} < 0.66$, считаются катионселективными, поскольку отношение коэффициентов диффузии Na^+ и Cl^- в свободном растворе равно 0.66. На рис. 6–7, приведённых выше, пунктирная линия 6, а на рис. 8 – штриховая линия 3 соответствуют этой величине 0.66. В работе [6] было показано, что белковые молекулы клаудина создают Na^+/Cl^- селективность в плотных контактах между эпителиальными клетками. Изучаемые плотные контакты MDCK клеток были в 4.5 раза более проницаемы для Na^+ , чем для Cl^- . Точки на кривых 2 на рис. 6, 7 соответствуют этой величине. Повышение концентрации фиксированных отрицательно заряженных аминокислот в плотных контактах путём замены положительно заряженной аминокислоты отрицательно заряженной (мутация K65D) приводило к увеличению Na^+ проницаемости плотных контактов по сравнению с Cl^- . Сплошные кривые на рис. 6, 7, построенные с учётом изменения энергии

сольватации ионов при их переходе в плотные контакты, соответствуют этому выводу. Штриховые линии 5, 6 на этих рисунках, рассчитанные по формуле (20) в предположении, что энергия сольватации не меняется, показывают, что в этом случае селективность мала.

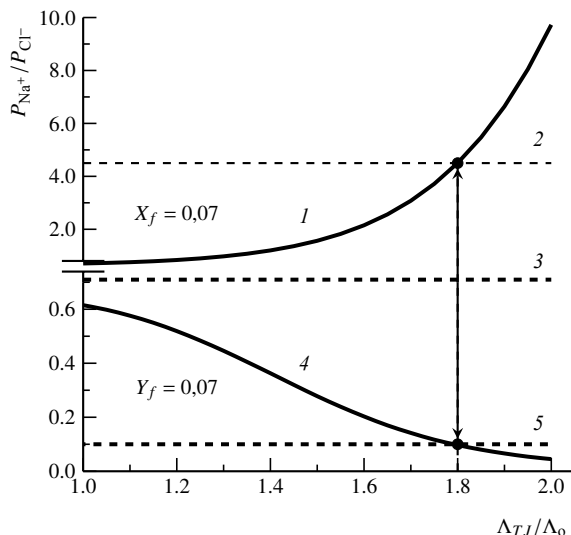


Рис. 8. Зависимость $\text{Na}^+ / \text{Cl}^-$ селективности $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ от изменения корреляционной длины L_{TJ} в плотных контактах для случаев, когда в них находятся отрицательные (кривая 1) и положительные (кривая 4) фиксированные заряженные центры. Корреляционная длина в свободном растворе $\Lambda_0 = 5 \text{ \AA}$. Значения параметров: $X_f = 0.07$ для кривой 1; $Y_f = 0.07$ для кривой 4. X_f – относительная результирующая концентрация фиксированных отрицательно заряженных аминокислот в плотных контактах. Y_f – то же, когда преобладают положительные фиксированные заряды (формулы (12)). Величина $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ рассчитана по формуле (14), а электростатический потенциал в ней по (11а) или (11б). Пунктирные горизонтальные линии 2 и 5 соответствуют экспериментально измеренным в [6] величинам $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ для плотных контактов клеток MDCK. Штриховая горизонтальная линия 3 соответствует случаю, когда нет $\text{Na}^+ / \text{Cl}^-$ селективности плотных контактов. При этом отношении проницаемостей $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-} = 0.66$ равно отношению коэффициентов диффузии Na^+ и Cl^-

В работе [6] представлены результаты экспериментов по замене отрицательно заряженных аминокислот положительными в позициях первого домена клаудина-15. Показано, что такая замена обращала зарядовую селективность от Na^+ к Cl^- . Переход от

кривой 1 на рис. 8 к кривой 4 иллюстрирует смену катионной селективности плотных контактов на анионную, когда меняется знак заряда фиксированных центров в них. Концентрация заряженных центров в ПК одинакова для кривых 1 и 4 ($0.07c_0$), но заряды этих центров различаются знаком. Для кривой 1 это отрицательные фиксированные заряды в плотных контактах, а для кривой 4 – положительные. Область выше штриховой горизонтальной линии 3 на рис. 8 соответствует случаю, когда плотные контакты более проницаемы для Na^+ , и, наоборот, область ниже линии 3 – когда они более проницаемы для Cl^- .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе представлена математическая модель, количественно оценивающая Na^+/Cl^- селективность плотных контактов, которые являются каналами толщиной порядка 40 \AA между эпителиальными клетками и заполнены макромолекулами клаудина, несущими фиксированные отрицательно заряженные аминокислоты. Применение нелокально-электростатической теории для расчёта энергии пересольватации и коэффициентов распределения ионов в плотных контактах позволило вывести соотношения для отношения проницаемостей ионов $P_{\text{Na}^+}/P_{\text{Cl}^-}$ в зависимости от концентрации фиксированных заряженных аминокислот и параметров воды в них. Расчёт по этому выражению находится в согласии с экспериментальными данными по изучению трансэпителиального транспорта, имеющимися в литературе [6–8]. Разработанная теория может быть применима к моделированию ионного транспорта в мембранах, поры которых заполнены заряженными макромолекулами. Развитая теория применима и к другим биоэлектрохимическим системам, в которых ионы пересекают фазовую границу, например, к транспорту ионов через биомембраны.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-03-00221).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bond D. R., Holmes D. E., Tender L. M., Lovley D. R. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments // Science. 2002. Vol. 295. P. 483–485.
2. Kim H. J., Park H. S., Hyun M. S., Chang I. S., Kim M., Kim B. H. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens* // Enzyme Microb. Technol. 2002. Vol. 30. P. 145–152.
3. Potter M. C. On the difference of potential due to the vital activity of microorganisms // Proc. Univ. Durham Phil. Soc. 1910. Vol. 3. P. 245–249.
4. Tender L., Gray S., Groveman E., Lowy D., Kauffma P., Melhado R., Tyce R., Flynn D., Petrecca R., Dobarro J. The first demonstration of a microbial fuel cell as a viable power supply: Powering a meteorological buoy // J. Power Sources. 2008. Vol. 179. P. 571–575.
5. Rabaey K., Boon N., Siciliano S. D., Verhaege M., Verstraete W. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer // Appl. Environ. Microbiol. 2004. Vol. 70. P. 5373–5382.

6. Colegio O. R., Van Itallie C. M., McCrea H. J., Rahner C., Anderson J. M. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002. Vol. 283. P. C142–C147. DOI: 10.1152/ajpcell.00038.2002.

7. Van Itallie C. M., Anderson J. M. The molecular physiology of tight junction pores // *Physiology*. 2004. Vol. 19. P. 331–338. DOI: 10.1152/physiol.00027.2004.

8. Anderson J. M., Van Itallie C. M. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009. Vol. 1. P. a002584-1–a002584-16. DOI: 10.1101/cshperspect.a002584.

9. Shen L., Weber C. R., Raleigh D. R., Yu D., Turner J. R. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo // *Annu. Rev. Physiol.* 2011. Vol. 73. P. 283–309. DOI: 10.1146/annurev-physiol-012110-142150.

10. Günzel D., Yu A. S. Claudins and the modulation of tight junction permeability // *Physiol. Rev.* 2013. Vol. 93. P. 525–569. DOI: 10.1152/physrev.00019.2012.

11. Рубашкин А. А. Модель электроосмоса для случая протекания жидкости в плотных контактах эпителиальных клеток // Докл. АН. 2006. Т. 407, № 3. С. 408–410.

12. Rubashkin A. A., Iserovich P., Hernandez J. A., Fischbarg J. Epithelial fluid transport: protruding macromolecules and space charges can bring about electro-osmotic coupling at the tight junctions // *J. Membr. Biol.* 2005. Vol. 208. P. 251–263. DOI: 10.1007/s00232-005-0831-y.

13. Fischbarg J., Dikce F. P., Iserovich P., Rubashkin A. A. The Role of the Tight Junction in Paracellular Fluid Transport across Corneal Endothelium. Electro-osmosis as a Driving Force // *J. Membr. Biol.* 2006. Vol. 210. P. 117–130. DOI: 10.1007/s00232-005-0850-8.

14. Kornyshev A. A., Volkov A. G. On the evaluation of standard Gibbs energies of ion transfer between two solvents // *J. Electroanal. Chem.* 1984. Vol. 180. P. 363–381. DOI: 10.1016/0368-1874(84)83594-7.

15. Rubinstein A., Sabirianov R. F., Mei W. N., Namavar F., Khoynzhad A. Effect of the ordered interfacial water layer in protein complex formation: A nonlocal electrostatic approach // *Phys. Rev. E*. 2010. Vol. 82. P. 021915-1–021915-7. DOI: http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.82.021915.

16. Воротынцев М. А., Корнышев А. А. Электростатика сред с пространственной дисперсией. М.: Наука, 1993. 240 с.

17. Paillusson F., Blossey R. Slits, plates, and Poisson-Boltzmann theory in a local formulation of nonlocal electrostatics // *Phys. Rev. E*. 2010. Vol. 82. P. 052501-1–052501-4. DOI: http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.82.052501.

18. Ebbinghaus S., Kim S. J., Heyden M., Yu X., Heugen U., Gruebele M., Leitner D. M., Havenith M. An extended dynamical hydration shell around proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. Vol. 104. P. 20749–20752. DOI: 10.1073/pnas.0709207104.

19. Корнышев А. А., Цицуаивили Г. И., Яроуцук А. Э. Эффект структуры полярного растворителя в теории диэлектрического исключения ионов из пор полимерных мембран. Расчёт свободной энергии переноса заряда из объёма растворителя в пору // *Электрохимия*. 1989. Т. 25. С. 1037–1044.

20. Gourary B. S., Adrian F. J. Wave Functions for Electron-Excess Color Centers in Alkali Halide Crystals // *Solid State Phys.* 1960. Vol. 10. P. 127–247. DOI: 10.1016/S0081-1947(08)60702-X.

21. Справочник по электрохимии / под ред. А. М. Сухотина. Л.: Химия, Ленингр. отд-ние, 1981. С. 424.

REFERENCES

1. Bond D. R., Holmes D. E., Tender L. M., Lovley D. R. Electrode-reducing microorganisms that harvest energy from marine sediments. *Science*, 2002, vol. 295, pp. 483–485.

2. Kim H. J., Park H. S., Hyun M. S., Chang I. S., Kim M., Kim B. H. A mediator-less microbial fuel cell using a metal reducing bacterium, *Shewanella putrefaciens*. *Enzyme Microb. Technol.*, 2002, vol. 30, pp. 145–152

3. Potter M. C. On the difference of potential due to the vital activity of microorganisms. *Proc. Univ. Durham Phil. Soc.*, 1910, vol. 3, pp. 245–249.

4. Tender L., Gray S., Groveman E., Lowy D., Kauffina P., Melhado R., Tyce R., Flynn D., Petrecca R., Dobarro J. The first demonstration of a microbial fuel cell as a viable power supply: Powering a meteorological buoy. *J. Power Sources*, 2008, vol. 179, pp. 571–575.

5. Rabaey K., Boon N., Siciliano S. D., Verhaege M., Verstraete W. Biofuel cells select for microbial consortia that self-mediate electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, vol. 70, pp. 5373–5382.

6. Colegio O. R., Van Itallie C. M., McCrea H. J., Rahner C., Anderson J. M. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2002, vol. 283, pp. C142–C147. DOI: 10.1152/ajpcell.00038.2002.

7. Van Itallie C. M., Anderson J. M. The molecular physiology of tight junction pores. *Physiology*, 2004, vol. 19, pp. 331–338. DOI: 10.1152/physiol.00027.2004.

8. Anderson J. M., Van Itallie C. M. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb Perspect. Biol.*, 2009, vol. 1, pp. a002584-1–a002584-16. DOI: 10.1101/cshperspect.a002584.

9. Shen L., Weber C. R., Raleigh D. R., Yu D., Turner J. R. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. *Annu. Rev. Physiol.*, 2011, vol. 73, pp. 283–309. DOI: 10.1146/annurev-physiol-012110-142150.

10. Gunzel D., Yu A. S. Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol. Rev.*, 2013, vol. 93, pp. 525–569. DOI: 10.1152/physrev.00019.2012.

11. Rubashkin A. A. A model of electro-osmosis in a leaky tight junction of epithelial cells. *Dokl. Biochem. Biophys.*, 2006, vol. 407, pp. 71–73 (in Russian). DOI: 10.1134/S1607672906020074.

12. Rubashkin A. A., Iserovich P., Hernandez J., Fischbarg J. Epithelial fluid transport: protruding macromolecules and space charges can bring about electro-osmotic coupling at the tight junctions. *J. Membr. Biol.*, 2005, vol. 208, pp. 251–263. DOI: 10.1007/s00232-005-0831-y.

13. Fischbarg J., Dikce F. P., Iserovich P., Rubashkin A. A. The Role of the Tight Junction in Paracellular Fluid Transport across Corneal Endothelium. Electro-osmosis as a Driving Force. *J. Membr. Biol.*, 2006, vol. 210, pp. 117–130. DOI: 10.1007/s00232-005-0850-8.

14. Kornyshev A. A., Volkov A. G. On the evaluation of standard Gibbs energies of ion transfer between two solvents. *J. Electroanal. Chem.*, 1984, vol. 180, pp. 363–381. DOI: 10.1016/0368-1874(84)83594-7.

15. Rubinstein A., Sabirianov R. F., Mei W. N., Namavar F., Khoynzhad A. Effect of the ordered interfacial water layer in protein complex formation: A nonlocal electrostatic approach. *Phys. Rev. E*, 2010, vol. 82, pp. 021915-1–021915-7. DOI: http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.82.021915.

16. Vorotyntsev M. A., Kornyshev A. A. *Elektrostatika sred c prostranstvennoi dispersiei* [Electrostatics of media with spial dispersion]. Moscow, Nauka Publ., 1993, 240 p. (in Russian).

17. Paillusson F., Blossey R. Slits, plates, and Poisson-Boltzmann theory in a local formulation of nonlocal electrostatics. *Phys. Rev. E*, 2010, vol. 82, pp. 052501-1–052501-4. DOI: http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevE.82.052501.

18. Ebbinghaus S., Kim S. J., Heyden M., Yu X., Heugen U., Gruebele M., Leitner D. M., Havenith M. An extended dynamical

hydration shell around proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, vol. 104, pp. 20749–20752. DOI: 10.1073/pnas.0709207104.

19. Kornyshev A. A., Tsitsuashvili G. I., Yaroshchuk A. E. Polar structure effect in the theory of dielectric removal of ions from polymer membrane pores. Calculation of the free energy of charge transfer from solvent bulk into pore. *Sov. Electrochem.*, 1989, vol. 25, pp. 923–931 (in Russian).

20. Gourary B. S., Adrian F. J. Wave Functions for Electron-Excess Color Centers in Alkali Halide Crystals. *Solid State Phys.*, 1960, vol. 10, pp. 127–247. DOI: 10.1016/S0081-1947(08)60702-X.

21. *Spravochnik po elektrokhimii*, pod red. A. M. Sukhotina. [Electrochemistry Hand-Book. Ed. A. M. Suhotin]. Leningrad, Chemistry Publ., 1981, pp. 424 (in Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рубашкин Андрей Александрович – канд. хим. наук, старший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург. Служебный телефон: 8-(812)297–38–02, e-mail: andrey.rubashkin@gmail.com

Конов Дмитрий Владимирович – канд. хим. наук, старший научный сотрудник, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка, Моск. обл. Служебный телефон: 8-(496)522–16–81, e-mail: dkfrvzh@gmail.com

Цыганов Александр Борисович – канд. физ.-мат. наук, директор, ООО «Интро-Микро», Санкт-Петербург. Служебный телефон: 8-(911)925–25–34, e-mail: alexbt@mail.ru