

Laskutehtäviä, neurobiologia, kevätlukukausi 2008/KK/JV

1. Nernstin yhtälön sovelluksia

Tyypillisiä kysymyksiä, jotka ratkaistaan laskemalla Nernstin potentiaali, kun ionin pitoisuus solussa ja solun ulkopuolella tunnetaan:

- Missä potentiaalissa (kalvojännitteessä) ioni on tasapainossa kalvon yli?
- Missä potentiaalissa tietyn ionilajin nettoliike kanavien läpi = 0 ?
- Missä potentiaalissa yhden ionilajin virta kääntyy?
- Mihin suuntaan kalvojännite siirtyy, kun tietyn ionin kanavia avataan solukalvolla?
(Jännite siirtyy kohti ko. ionin tasapainopotentiaalia, joka lasketaan Nernstin yhtälöllä.)

Kaikki nämä kysymykset saavat ratkaisun, kun tarkasteltavalle ionilajille lasketaan tasapainopotentiaali Nernstin yhtälöllä käyttäen tunnettuja (tai oletettuja) pitoisuuksia solussa ja solunulkoisessa tilassa.

Tyypillisiä kysymyksiä, joiden ratkaisemiseksi lasketaan ionin pitoisuus solussa käyttämällä Nernstin yhtälöä:

- Ionin solunulkoinen pitoisuus ja tasapainopotentiaali tunnetaan (esim. tiedetään kalvojännite, jossa ionin kantama virta kääntyy; tai: 'ioni on passiivisesti jakaantunut kalvon yli' = tasapainopotentiaali ja lepokalvojännite samat) ja kysytään sisäistä pitoisuutta.
- Tasapainopotentiaali on ilmaistu tavalla tai toisella ja kysytään onko solu kuljettanut ioniä sisään tai ulos. (Laske tällöin tasapainopotentiaalista sisäinen pitoisuus ja vertaa tätä passiivisen jakauman pitoisuuteen.) Tämä on tärkeä menetelmä aktiivisen ionisäätelyn osoittamiseksi.

Alla olevissa laskuissa käytetään lukuarvoina seuraavia oletuksia:

Hermosolun solunsisäiset (i, in) ja solunulkoiset (o, out) ionipitoisuudet ovat:

$[K^+]_i = 140 \text{ mM}$	$[K^+]_o = 4 \text{ mM}$
$[Na^+]_i = 10 \text{ mM}$	$[Na^+]_o = 150 \text{ mM}$
$[Cl^-]_i = 8 \text{ mM}$	$[Cl^-]_o = 125 \text{ mM}$
$[Ca^{2+}]_i = 0,1 \text{ }\mu\text{M}$	$[Ca^{2+}]_o = 1,5 \text{ mM}$
$[HCO_3^-]_i = 20 \text{ mM}$	$[HCO_3^-]_o = 25 \text{ mM}$
$pH_i = 7,2$	$pH_o = 7,3$

Lepopotentiaali on -80 mV. Lämpötila on 37 °C.

Tehtävä 1. Laske edellä annettuja ionijakaumia vastaavat tasapainopotentiaalit.

Tehtävä 2. Kuinka positiiviseksi kalvojännite voi teoriassa korkeintaan tulla aktiopotentiaalihin huipun aikana (ts. mikä on aktiopotentiaalihin maksimiarvon yläraja)? Entä mikä on aktiopotentiaalihin maksimiamplitudin yläraja (kun lepopotentiaali on -80 mV)?

Tehtävä 3. Oletetaan, että lepotilassa solukalvo on läpäisevä ainoastaan kaliumioneille. Miten lepopotentiaali muuttuu, jos solunulkoinen kaliumpitoisuus kasvatetaan tasolle 8 mM, 16 mM, 32 mM, 64 mM, 128 mM? (Koetekninen huomautus: tällöin joudutaan vähentämään vastaava määrä natriumioneja.)

Tehtävä 4. Mihin suuntaan (ulos vai sisään) esimerkkisolun solukalvon kuljetusmekanismit ovat kuljettaneet Cl^- -ioneja, HCO_3^- -ioneja, H^+ -ioneja? Mihin suuntiin nämä ionit liikkuisivat lepokalvojännitteen tasolla, jos niille avautuisi kulkureitti solukalvon läpi?

Tehtävä 5. Solukalvon jännite lukitaan arvoihin -100 mV, -40 mV, +50 mV ja +100 mV. Mihin suuntiin kulkevat näiden jännitteiden vallitessa Cl^- -virta, K^+ -virta, Na^+ -virta, Ca^{2+} -virta?

Sitten vielä muutama lisätehtävä Nernstin yhtälöön liittyen. Näihin pitäisi edellisten tehtävien jälkeen pystyä vastaamaan nopeasti. Käytä näissä tehtävissä tarpeen mukaan edellisten tehtävien tuloksia apuna.

Tehtävä 6. Mikä on solun kalvojännitteen teoreettinen minimi ja maksimi kaikissa olosuhteissa (kun pitoisuudet ovat taulukon mukaisia).

Tehtävä 7. Solun ulkokalvolla aktivoituu hetkellisesti ionikanavapopulaatio, jolloin havaitaan sisäänpäin suuntautuva virta kalvon yli kalvojännitteen ollessa lepokalvojännitteen tasolla (-80 mV). Kun kalvojännite on poikkeutettu koeteknisesti arvoon -60 mV, vastaava virta suuntautuu solusta ulospäin. Mitä ionia kyseinen kanavapopulaatio päästää lävitseen? (Oletus: kanava on täysin valikoiva kyseisen ionilajin suhteen).

Tehtävä 8. Mille tasolle solunulkoinen kaliumpitoisuus $[K^+]_o$ olisi nostettava, jotta kaliumionit olisivat tasapainossa kalvon yli lepokalvojännitteen -80 mV tasolla? (Muut ionipitoisuudet taulukon mukaisia.)

2. Goldman-Hodgkin-Katz -jänniteyhtälön sovelluksia

Yhtälön nimi lyhennetään usein GHK-yhtälö tai sitä kutsutaan vakiokenttäyhtälöksi, 'constant field [voltage] equation'. (Nimitys juontaa juurensa siitä, että Goldmanin alunperin julkaisemassa yhtälön johdossa oli mukana oletus vakioisesta sähkökentästä kalvossa. Sama yhtälö saadaan myös ilman tätä oletusta, joten nimen sisältöön ei kannata kiinnittää huomiota.)

GHK-yhtälöä soveltamalla voidaan vastata mm. kysymyksiin, jotka koskevat kalvojännitteen tasoja sekä kalvovirran suuntaa ja kääntymistä, kun kyseessä on useamman ionilajin yhteisvaikutus ja ionilajien väliset permeabiliteettisuhteet tunnetaan. Toisaalta GHK-yhtälön avulla voidaan laskea suhteellisia permeabiliteetteja mitatuista jännite- tai virtavasteista.

Tehtävä 9. Oletetaan, että edellä käsitellyn hermosolun lepotentiaalin poikkeama E_K :sta johtuu Na^+ -ionien (vähäisestä) läpäisevyydestä. Laske permeabiliteettisuhde P_{Na}/P_K lepotilassa.

Tehtävä 10. Edellä käsitellyn hermosolun dendriitissä avautuu epäspesifejä kationikanavia siten että permeabiliteettisuhde P_{Na}/P_K saa arvon 1. Mihin arvoon kalvopotentiaali tällöin pyrkii?

Tehtävä 11. Hermosolun dendriitissä avautuu joukko glutamaattiherkkiä kationikanavia (joilla permeabiliteettisuhde P_{Na}/P_K on noin 1) ja samanaikaisesti inhibitorisia (GABA-herkkiä) kanavia, jotka lisäävät Cl^- -läpäisevyyden 10-kertaiseksi Na^+ - ja K^+ -ioneihin verrattuna. Mihin arvoon kalvojännite nyt asettuu?

Tehtävä 12. Tutkit jännitelukituksen avulla ärsyttävien glutamaattiherkkien postsynaptisten ionikanavien kationiläpäisevyyttä. Havaitset voimakkaan glutamaatin aktivoiman sisäänpäin suuntautuvan virran, kun lukitset jännitteen arvoon -80 mV, mutta jännitteessä +10 mV glutamaattialtistus ei tuota lainkaan havaittavaa virtaa, ja jännitteessä +40 mV virran suunta on ulospäin. Mikä on tämän kanavatyypin Na^+-K^+ -permeabiliteettisuhde eli P_{Na}/P_K , kun tiedetään että muut ionit eivät osallistu virran kanton?

Tehtävä 13. Suoritat tämän jälkeen yllä olevan kokeen, mutta olet poistanut Na^+ -ionit solunulkoisesta (ja solunsisäisestä) liuoksesta. Minkälaisia virtoja havaitset yllä mainituilla jännitearvoilla?