

Список литературы

1. Бобров А. В. Электрическое поле в коре больших полушарий при медленном компоненте ее прямого ответа.— Физиол. журн. СССР, 1971, 57, № 5, с. 656—664.
2. Ройтбак А. И., Махек И., Павлик В., Бобров А. В., Очерашвили И. В. Изменения концентрации внеклеточного калия и медленный отрицательный потенциал в коре мозга.— Нейрофизиология, 1980, 12, № 5, с. 459—463.
3. Ройтбак А. И., Надарейшвили К. Ш., Моисеенко К. И. Попытка анализа электрических потенциалов коры больших полушарий с помощью локального рентгеновского облучения.— В кн.: Современные проблемы деятельности и строения центральной нервной системы.— Тбилиси: Мецниереба, 1968, с. 173—192.
4. Ройтбак А. И., Фанарджян В. В., Мелконян Д. С., Мелконян А. А. Глиальное происхождение медленного отрицательного потенциала прямого ответа коры: микроэлектродное исследование и математический анализ.— Нейрофизиология, 1982, 14, № 1, с. 76—84.
5. Ройтбак А. И., Фанарджян В. В., Мелконян Д. С., Мелконян А. А. Глиальное происхождение отрицательных сдвигов потенциала поверхности коры мозга при ее тетаническом раздражении: микроэлектродное исследование и математический анализ.— Там же, 1983, 15, № 5, с. 509—516.
6. Bures J., Buresova O., Krivanek J. The mechanism and applications of Leao's spreading depression of electroencephalographic activity.— Prague: Academia, 1974.—410 p.
7. Burns B. D., Grafstein B. The function and structure of some neurones in the cat's cerebral cortex.— J. Physiol., 1952, 118, p. 412—433.
8. Cordingley G. E., Somjen G. G. The clearing of excess potassium from extracellular space in spinal cord and cerebral cortex.— Brain Res., 1978, 151, N 2, p. 291.
9. Lux H. D., Neher E. The equilibration time course of $[K^+]_o$ in cat cortex.— Exp. Brain Res., 1973, 17, N 2, p. 190—205.
10. Somjen G. G. Electrophysiology of neuroglia.— Ann. Rev. Physiol., 1975, 37, p. 163—190.

Ин-т физиологии им. И. С. Бериташвили
АН ГрузССР, Тбилиси

Поступила 29.04.84

УДК 577.37:591.044.2.577.352.5

З. А. Сорокина, И. В. Чижмаков, Г. Б. Еляков,
Э. П. Козловская, Е. В. Вожжова

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ИНАКТИВАЦИИ БЫСТРЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ С ПОМОЩЬЮ НЕЙРОТОКСИНА ИЗ АКТИНИИ *RADIANTUS* *MACRODACTYLUS* И РАЗЛИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ

Одним из наиболее удобных инструментов исследования молекулярных механизмов процесса инактивации быстрых натриевых каналов являются полипептидные нейротоксины, содержащиеся в яде различных видов скорпионов и в стрекательных клетках кишечнорастворимых (морских актиний). Нейротоксины воздействуют только на наружную поверхность плазматической мембраны. В условиях фиксации потенциала они резко замедляют инактивацию натриевых каналов и делают ее неполной. При этом процесс натриевой активации и ионная селективность каналов не претерпевают существенных изменений, а потенциалозависимость активации и инактивации у некоторых объектов сдвигается в область более отрицательных мембранных потенциалов [7—9, 15, 16, 20, 26, 27, 29].

Двойственность эффекта нейротоксинов на процесс инактивации натриевых каналов не находит пока удовлетворительного объяснения ни в одной из существующих на сегодняшний день феноменологических моделей (Ходжкина — Хаксли, Армстронга — Безаньи и Курт-ней — Хилле). Предполагается лишь, что каналы могут находиться в различных функциональных состояниях [12].

В Тихоокеанском Институте биорганической химии ДВНЦ АН СССР из актиний *Radiantus macrodactylus* выделен, и очищен новый токсин (РТХ-III). Настоящая работа посвящена исследованию его

действия на входящий натриевый ток в мембране нейронов млекопитающего. Мы поставили перед собой задачу попытаться изучить молекулярные механизмы двойственного влияния токсина на процесс инактивации натриевых каналов. В данной статье приведены результаты аналитического анализа граф-состояния (топологической схемы) модифицированных нейротоксином натриевых каналов и опытов по влиянию на модифицированные каналы различных химических реагентов, вызывающих специфическую блокаду определенных функциональных групп белков.

Методика. Опыты проводились в условиях внутриклеточной перфузии с использованием метода фиксации потенциала на мембранах изолированных нейронов спинальных ганглиев крыс 14—21-дневного возраста [6]. Изоляция клеток из ганглиев осуществлялась по модифицированному методу [2]. Ганглии предварительно обрабатывали при температуре 34 °С проназой (2 мг/мл на растворе следующего состава: NaCl — 125 ммоль, KCl — 3 ммоль, глюкоза — 10 ммоль, трис-HCl — 20 ммоль, pH 7,25), а затем коллагеназой (1 мг/мл на нормальном рингеровском растворе). После тщательной промывки они находились до опыта при температуре 6 °С. Непосредственно перед экспериментом клетки изолировали механически стальными иглами. Они оставались живыми в течение 3—4 сут. После посадки на диализную пору и прорыва мембраны, ограниченной этой порой, при деполяризационном смещении мембранного потенциала регистрировались входящие натриевые токи, аналогичные описанным в литературе [2, 7]. Они оставались без изменений на протяжении 40—60 мин.

Рингеровский раствор, омывающий снаружи диализируемые клетки, содержал (в ммоль/л) NaCl — 125, CaCl₂ — 2,0, MgCl₂ — 2,0, трис-HCl или Hepes-NaOH — 20,0, pH 7,36. В некоторых случаях для изменения натриевого трансмембранного ионного градиента применяли раствор, содержащий 60 ммоль NaCl, в котором остальной NaCl замещали эквимольным количеством трис-HCl. Для внутриклеточной перфузии нейронов применяли раствор трис-F 150 ммоль/л, pH 7,2.

Для выделения нейротоксинов использовали стрекательные клетки актиний *Radiantus macrodactylus*, обитающих в Индийском океане. Их получали по методу, предложенному ранее [4], и хранили в лиофилизированном состоянии или в растворе (на нормальном растворе Рингера) в морозильнике. Исследуемые нейротоксины и химические реагенты добавляли (при сохранении осмолярности растворов) либо во внутренний, либо во внешний раствор. В работе использовали также тетродотоксин фирмы «Sanryo» (Япония), *n*-хлормеркурибензоат и *N*-этилмалемид фирмы «Reanal» (BNP), проназу («Serva», ФРГ) и коллагеназу («Sigma», США).

Опыты проводили при комнатной температуре 20—22 °С.

Результаты и их обсуждение. При колоночном фракционировании экстрактов стрекательных клеток актиний получено четыре различных токсичных компонента. В работе мы использовали один из них — RTX-III.

На рис. 1, I, представлены записи входящего натриевого тока до и после действия RTX-III в различных концентрациях. Здесь и в последующих опытах калиевые токи отсутствовали, так как внутри- и внеклеточные растворы не содержали ионов калия. Мембранный потенциал поддерживали на уровне —100 мВ и измерения проводили при максимуме вольт-амперной характеристики пиковых значений тока. Как видно, в ответ на ступенчатую деполяризацию мембраны развивается быстрый входящий ток, который полностью и обратимо блокирует ТТХ в концентрации $3 \cdot 10^{-7}$ моль/л и исчезает при удалении ионов натрия из внеклеточного раствора. Действие RTX-III на нейроны качественно сходно с влиянием на них нейротоксинов, выделенных из других видов актиний [7]. Начиная с концентрации 10^{-8} моль/л RTX-III замедляет процесс инактивации быстрых натриевых каналов, а часть каналов переводит в неинактивирующуюся форму. Процесс активации каналов и пиковые значения входящего тока остаются при этом без изменений. Эффект RTX-III развивается быстро, приблизительно за 1,5—2 мин. Он полностью обратим, если сразу после его

развития начать отмывку рингеровским раствором без токсина. Более продолжительное действие РТХ-III и, особенно, максимальные концентрации нейротоксина значительно нарушают восстановление нормальной кинетики натриевого тока.

Кинетика инактивации модифицированного РТХ-III натриевого тока описывается уравнением:

$$I_{Na}(t) = Ae^{-t/\tau_1} + Be^{-t/\tau_2} + C, \quad (1)$$

где A — часть тока, текущего через немодифицированные каналы, инактивирующиеся с постоянной времени τ_1 , B — модифицированная

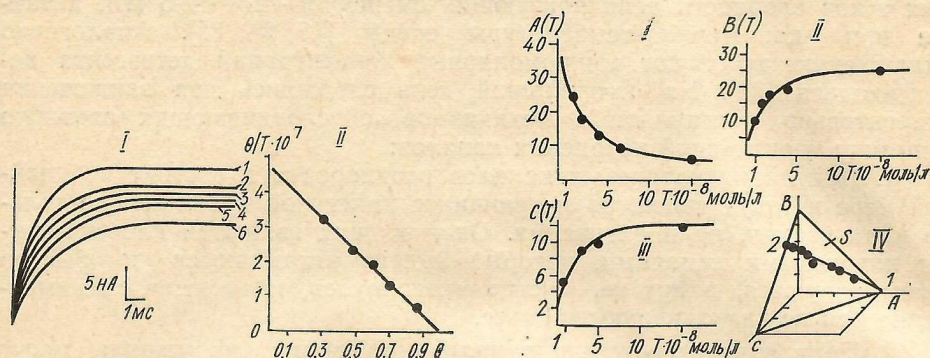


Рис. 1. Влияние различных концентраций нейротоксина РТХ-III на входящий натриевый ток в мембране спинальных нейронов крысы.

I — кривые натриевого входящего тока до (I) и после приложения нейротоксина в концентрациях: 2 — $1 \cdot 10^{-8}$, 3 — $2 \cdot 10^{-8}$, 4 — $3 \cdot 10^{-8}$, 5 — $5 \cdot 10^{-8}$, 6 — $1,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л. II — график Скетчарда зависимости доли модифицированных натриевых каналов от концентрации токсина.

Рис. 2. Зависимость различных компонентов входящего натриевого тока, модифицированного нейротоксином, от его концентрации.

I, II, III — доля компонент A, B и C натриевого тока при разных концентрациях нейротоксина. IV — трехмерный график одновременного изменения различных компонент модифицированного натриевого тока при разных концентрациях нейротоксина.

компонента тока, активирующаяся с постоянной времени τ_2 и C — неинактивирующаяся компонента модифицированного тока. Представляя временную зависимость входящего натриевого тока в рингеровском растворе без токсина и с токсином в полулогарифмических координатах можно экстраполяцией к нулю определить компоненты A и B . Компонента C измерялась непосредственно. Доля модифицированных токсином каналов $\theta(T)$ определялась из выражения:

$$\theta(T) = \frac{B(T) + C(T)}{A(T) + B(T) + C(T)}, \quad (2)$$

где (T) — концентрация токсина.

Значения A, B и C колебались от опыта к опыту. Кроме того, они зависели от концентрации нейротоксина. При ее увеличении уменьшалась компонента тока, текущего через немодифицированные каналы и росли значения B и C (рис. 2).

Зависимость доли модифицированных каналов от концентрации нейротоксина в координатах Скетчарда представляет собой прямую линию (рис. 1, II). Эти данные указывают на присутствие в мембране нейронов млекопитающего одного типа рецепторов РТХ-III и позволяют считать, что связь между концентрацией введенного в раствор токсина и вызываемым ею изменением кинетики натриевого тока (доза-эффект) описывается адсорбционной изотермой Ленгмюра, справедливой для мономолекулярного процесса на однородной поверхности:

$$\theta(T) = \frac{T}{K_d + T}, \quad (3)$$

где K_d — константа диссоциации комплекса РТХ-III — канал. Для представленного на рис. 1 опыта $K_d = 2 \cdot 10^{-8}$ моль/л. Среднее значение

ние K_d для всех исследованных нейронов составляет $2,3 \pm 0,4 \cdot 10^{-8}$ моль/л. Эта величина близка к K_d , полученным для нейротоксинов других видов актиний [7, 15].

Следует заметить, что сложный, многокомпонентный характер процесса инактивации наблюдается и у многих интактных мембран без воздействия нейротоксинов. Примером их могут быть миелинизированные нервные волокна земноводных, гигантские аксоны кальмаров и нейроны моллюсков (виноградной улитки, *Helix pomatia*). В ряде работ последних лет показано, что более отчетливо многокомпонентность процесса инактивации можно наблюдать при генерации натриевых токов в области деполяризующих смещений -15 — $+5$ мВ, а также при понижении температуры среды [18, 24, 25]. Аналогично охлаждению действуют микромолярные концентрации детергента дезоксихолата [28]. На сегодняшний день сложились два заключения относительно молекулярных механизмов, обуславливающих сложную кинетику инактиваций натриевых каналов:

1. Популяция натриевых каналов неоднородна и состоит по крайней мере из двух типов, различающихся кинетикой процессов не только инактивации, но и активации. Одни из них являются классическими натриевыми каналами, которые быстро открываются и быстро инактивируются, а другие, быстро активируясь, инактивируются медленно или не инактивируются вовсе.

2. Популяция натриевых каналов однородна, но каналы могут быть в различных конформационных состояниях как в покое, так и при активации и инактивации. Вследствие этого процесс инактивации может осуществляться с разными скоростями, что, в свою очередь, изменяет временной ход инактивации натриевого тока.

Множественность состояний натриевого канала постулирована также Армстронг с сотр. и Неймке с сотр. [13, 14, 23] на основании большого экспериментального материала, полученного при исследовании связи между воротными и ионными токами, а также изучения эффектов избирательного устранения натриевой инактивации путем химических воздействий на внутреннюю сторону мембраны.

С целью выяснения возможных механизмов, обуславливающих многокомпонентный характер процесса инактивации модифицированных РТХ-III натриевых каналов нами был применен графо-аналитический метод, позволяющий рассмотреть одновременные изменения различных компонентов тока при разных концентрациях токсина (рис. 2, 1, II, III) в трехмерном фазовом пространстве координат A , B , C (рис. 2, IV). Поскольку при любой концентрации нейротоксина сумма модифицированных и немодифицированных каналов постоянна, то график, описывающий изменения всех трех компонент тока, A , B и C , будет лежать на плоскости, описываемой уравнением: $A(T) + B(T) + C(T) = \text{const} = \alpha$.

На рис. 2, IV это плоскость S . При концентрации токсина, равной нулю, компоненты B и C будут отсутствовать: $B(0) = C(0) = 0$, а компонента A будет максимальна, что соответствует точке 1. При насыщающей концентрации токсина нормальная, немодифицированная компонента A , будет стремиться к нулю, что соответствует точке 2. Весь процесс оказывается на прямой линии, соединяющей точку 1 с точкой 2, лежащей на одной плоскости.

Таким образом, уравнение, описывающее процесс взаимодействия нейротоксин — канал, должно в координатах A , B , C давать прямую линию и в то же время описывать зависимость доза — эффект изотермой Ленгмюра. Мы предположили, что кинетику процесса взаимодействия нейротоксина РТХ с натриевыми каналами можно описать следующим уравнением:

$$T + A \xrightleftharpoons[K_2]{K_1} B \xrightleftharpoons[K_4]{K_3} C. \quad (4)$$

Рассматривая состояние динамического равновесия, можно найти зависимость всех трех компонент A , B и C от концентрации токсина и определить из уравнения (4) долю модифицированных каналов, как функцию концентрации токсина. Из уравнения (4) следует:

$$\Theta = \frac{T}{\frac{K_2 K_4}{K_1(K_4 + K_3)} + T} = \frac{T}{K_d + T}. \quad (5)$$

Вид зависимости $\theta(T)$ полностью совпадает с изотермой Ленгмюра, представленной на рис. 1, II в координатах Скетчарда. Из уравнения

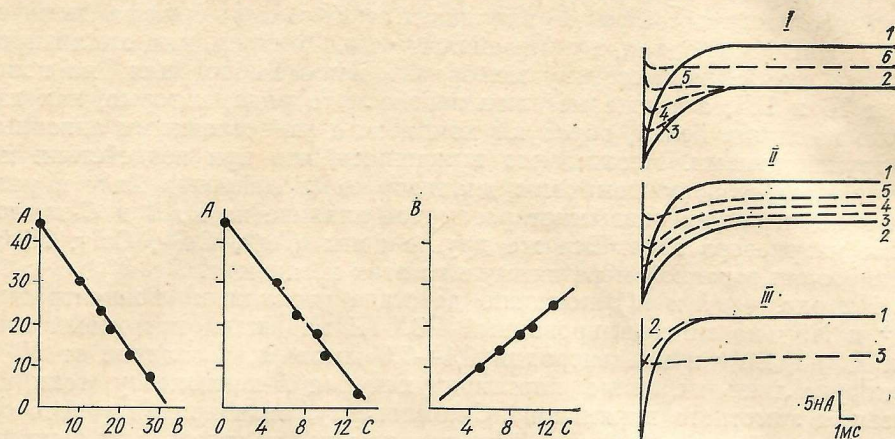


Рис. 3. Взаимозависимость различных компонент модифицированного натриевого тока при разных концентрациях нейротоксина.

Рис. 4. Влияние различных концентраций Zn^{2+} и Ni^{2+} на модифицированные нейротоксином входящие натриевые токи.

I — влияние Zn^{2+} : 1 — кривая тока до приложения нейротоксина; 2 — с нейротоксином; 3–6 — после введения в перфузирующий раствор Zn^{2+} в концентрации 2, 5, 7 и 10 ммоль/л соответственно. II — влияние Ni^{2+} . Концентрации Ni^{2+} те же, что Zn^{2+} на I. III — влияние Zn^{2+} : 1 — кривая тока до введения Zn^{2+} ; 2 — после введения в перфузирующий раствор 7 ммоль/л Zn^{2+} ; 3 — после приложения РТХ-III на фоне Zn^{2+} . Концентрации РТХ-III во всех опытах $1.5 \cdot 10^{-7}$ моль/л.

(4) также следует линейность следующих зависимостей:

$$A(B), \quad C(A), \quad C(B)$$

$$A(B) = \alpha - B \left(1 + \frac{K_3}{K_4} \right) \quad (6)$$

$$C(A) = \alpha - A \left(1 + \frac{K_4}{K_3} \right) \quad (7)$$

$$C = \frac{K_4}{K_3} B. \quad (8)$$

На рис. 3 представлены экспериментально полученные зависимости $A(B)$, $C(A)$ и $C(B)$ при разных концентрациях РТХ-III, которые, как видим, действительно линейные. Экспериментальный график граф-состояния (рис. 2, IV) не явно включает в себя три линейные зависимости (6), (7) и (8) как три проекции прямой (1, 2) на плоскости (CA) , (BA) и (CB) .

Таким образом, все следствия из уравнения (4) согласуются с экспериментальными результатами. Вывод, который отсюда следует, однозначен: замедление кинетики инактивации и ее отсутствие определяются только двумя состояниями одного и того же канала, модифицированного нейротоксином.

Из экспериментальных данных с использованием уравнения (4) мы рассчитали соотношения между константами скоростей всех четы-

рех компонент:

$$\frac{K_2}{K_1} = 3 \cdot 10^{-8} \text{ моль/л} \cdot \frac{K_3}{K_4} = \frac{1}{2}.$$

В состоянии динамического равновесия часть каналов находится в *B* конформации, что приводит к замедлению кинетики инактивации, а часть — в конформации *C*, что обуславливает отсутствие инактивации. При аддитивном сложении обоих эффектов мы получаем наблюдаемую в опыте картину.

Мы попытались произвести «химический» анализ свойств различных компонентов модифицированного нейротоксином натриевого тока. Были исследованы эффекты влияния блокаторов различных химических групп. Их вводили в омывающий клетки раствор, или апплицировали на внутреннюю сторону мембраны. Наш выбор пал на ионы групп IB и IIB, а также металлы переходного ряда, которые, как известно из химии белка, образуют комплекс с определенными анионными группировками. Неожиданно выяснилось, что при воздействии на внутреннюю сторону мембраны диализируемых нейронов Zn^{2+} в разных концентрациях оказывают различное влияние на *A*, *B* и *C*-компоненты натриевого тока. Все же другие ионы (Ag^+ , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) блокировали в равной мере каждую из этих компонент.

На рис. 4 (*I* и *II*) показано действие различных концентраций Zn^{2+} и Ni^{2+} на модифицированный РТХ-III входящий натриевый ток. Как видно, Zn^{2+} в концентрации 0,1—7,0 ммоль/л, в отличие от Ni^{2+} , блокирует лишь медленно инактивирующуюся *B*-компоненту тока, не оказывая заметного влияния на *C*-компоненту, инактивация у которой отсутствует. Полная блокада *B*-компоненты наблюдалась с концентрациями Zn^{2+} 7 ммоль/л. Более высокие концентрации начинали подавлять также и *C*-компоненту тока. С концентрацией Zn^{2+} 10 ммоль/л натриевый ток исчезал совсем. Аналогичные результаты были получены и в том случае, если блокировали входящий натриевый ток интактного нейрона различными концентрациями Zn^{2+} , а затем подвергали его действию РТХ-III (рис. 4, *III*).

Известно, что ионы цинка влияют на инактивационные ворота и вызывают блокирующее действие на натриевые и калиевые токи [17, 22]. Механизм этого процесса обусловлен тем, что Zn^{2+} связывается белками посредством имидазольных и *SH*-групп белка [1, 3, 5, 10, 11]. Из этих двух реактивных групп важную функциональную роль должна играть *SH*-группа, поскольку ей присуща очень высокая лабильность, исключительная реакционная способность и большое разнообразие химических реакций, в которые она вступает. Это побудило нас исследовать влияние различных *SH*-блокаторов.

Нами было исследовано действие на внутреннюю сторону мембраны нейронов двух специфических реагентов на *SH*-группы белков *n*-хлормеркурибензоата и *N*-этилmaleида. В концентрациях 0,15—1,5 ммоль/л их действие на *B* и *C*-компоненты модифицированного РТХ-III натриевого тока оказалось идентичным Zn^{2+} .

В опытах с *SH*-реагентами и Zn^{2+} нельзя было не обратить внимания на следующие два момента. Во-первых, концентрации, в которых они оказывали влияние на *B* и *C*-компоненты натриевого тока, довольно велики по сравнению с теми, которые применяются при работе с ферментами (0,1—1 мкмоль/л). Возможно, что это обусловлено своеобразием реакционной способности *SH*-групп, связанных с инактивацией натриевого тока. Реакционноспособность свободных *SH*-групп белков варьирует в очень широких пределах под влиянием различных факторов [1, 10, 11]. Различают поэтому три типа *SH*-групп: высокореакционноспособные, «вяло» реагирующие и «замаскированные» или «скрытые» [10]. Последние обнаруживаются только после денатурации белка, когда разрушается его вторичная или третичная структура. Основными факторами, лежащими в основе различной реакционноспособности *SH*-групп, являются: а) локализация в

трехмерной структуре молекулы белка и стерическая доступность; б) особенность микроокружения, т. е. характер функциональных групп, расположенных в непосредственной близости от *SH*-группы в третичной, вторичной или первичной структуре белка и в) ионные и гидрофобные взаимодействия, образование разного рода внутримолекулярных водородных связей и ионных пар с соседними группами белка.

Во-вторых, нам не удалось обнаружить защитного действия *SH*-содержащего соединения, цистеина, который, будучи введен в раствор с *SH*-блокаторами, должен был бы устранить или снизить их действие. Обычно *SH*-соединения берутся в избытке. Максимальная же концентрация цистеина в наших опытах составляла 25 ммоль/л. Более высокие концентрации цистеина в перфузирующем растворе получить не удалось, так как он выпадал в осадок. По-видимому, в наших условиях такой концентрации недостаточно и надо использовать другие соединения, как β -меркаптоэтанол или дитиотреитол.

Итак, как видим, что блокаторы *SH*-групп белка оказывают различное влияние на *B* и *C*-компоненты модифицированного натриевого тока. Казалось бы, эти данные свидетельствуют о том, что натриевые каналы действительно неоднородны. Однако против такого заключения говорят следующие два факта: а) одновременное действие блокаторов и нейротоксина РТХ-III полностью аддитивно; б) своеобразие реакционной способности *SH*-групп белка может обусловить эффект различных концентраций блокаторов.

На сегодняшний день известно, что *SH*-группы белка принимают участие в поддержании его третичной и четвертичной структуры [3, 10]. Причем, в этом процессе более важны трудно реагирующие группы, поскольку только они вовлекаются во внутримолекулярные взаимодействия. Поскольку в наших опытах концентрации *SH*-блокаторов были сравнительно велики, то вполне возможно, что именно такие группы связаны с процессом инактивации натриевых каналов.

Приведенные экспериментальные данные дают нам, по-видимому, все основания для следующих заключений:

Процесс инактивации модифицированных РТХ-III натриевых каналов является двухкомпонентным, вследствие того, что каналы находятся в разных конформационных состояниях.

Конформационные состояния каналов можно разделить «химически», воздействуя на внутреннюю поверхность мембраны определенными концентрациями Zn^{2+} и таких соединений, как *n*-ХМБ и *N*-этилmaleмид. Возможно, поэтому, что они обусловлены различной реакционной способностью *SH*-групп, входящих в состав инактивационных ворот каналов.

Z. A. Sorokina, Yu. V. Chizhnikov, G. B. Elyakov,
E. P. Kozlovskaya, E. V. Vozhzhova

A STUDY OF SODIUM CHANNEL INACTIVATION MECHANISM BY A TOXIN FROM SEA ANEMONE *RADIANTUS* *EACRODACTILYS* AND BY VARIOUS CHEMICAL AGENTS

The effect of neurotoxin from sea anemone *Radianthus macrodactylus* (PTX-III) on the sodium inward current was studied by the method of intracellular dialysis and potential fixation in experiments with isolated neurons of spinal ganglia of 14-21 day old rats. It is shown that RTX-III, similar to neurotoxins from the other sea anemone species inhibits the inactivation of fast, TTX-blocked sodium channels and makes it incomplete. The dependence of the fraction of the toxin-modified channels upon the toxin concentration is described by the Langmuir adsorption isotherm with $K_d = \pm 2.3 \cdot 10^{-8}$ mol/l at the holding potential — 100 mV. To investigate molecular mechanisms of dual neurotoxin action on the inactivation the channel graph-states are analyzed before and after RTX-III modification, and the influence of different chemical reagents causing a specific blockage of definite functional groups of proteins are studied. It is found that Zn^{2+} and SN-blockers (*n*-chloromercuribenzoate, *N*-ethylmaleimide), being applied in

certain concentrations to the inner side of the membrane, block only slowly inactivated channels, having no effect on noninactivated ones. The action of blockers and neurotoxin RTX-III is completely additive. An analysis of the data obtained permits concluding that the two-component inactivation of modified RTX-III sodium channels may proceed from the fact that the latter are at different conformation states, which is reflected in different reactivity of the protein SH-groups.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Бреслоу Е. Комплексы металлов с белками.— В кн.: Неорганическая биохимия. М.: Мир, 1978, ч. 1, с. 274—299.
2. Веселовский Н. С., Костюк П. Г., Цындренко А. Я. Разделение ионных токов, ответственных за генерацию потенциала действия в соматической мембране нейронов спинальных ганглиев новорожденных крыс.— Докл. АН СССР, 1979, 249, № 6, с. 1466—1469.
3. Гауровиц Ф. Химия и биология белков.— М.: Изд-во иностр. лит., 1953.—453 с.
4. Зыкова Т. А., Козловская Э. П., Еляков Г. Б. Выделение и некоторые физико-химические свойства нейротоксина I из актинии: *Homostichantus duerdemi*.— В кн.: Пятый Всесоюз. симпоз. по химии и физике белков и пептидов: Тез. докл. Баку, 1980, с. 70.
5. Ионы металлов в биологических системах / Под ред. Х. Зигеля, М.: Мир, 1982.—168 с.
6. Крышталъ О. А., Пидопличко В. И. Внутриклеточная перфузия гигантских нейронов улитки.— Нейрофизиология, 1975, 7, № 3, с. 327—329.
7. Крышталъ О. А., Осипчук Ю. В., Еляков Г. Б., Козловская Э. П. Действие токсона из актинии *Homostichantus duerdemi* на натриевый входящий ток в нейронах млекопитающих.— Там же, 1982, 14, № 4, с. 402—409.
8. Можаява Г. Н., Наумов А. П., Носырева Е. Д. Взаимодействие токсинов скорпиона с натриевыми каналами мембраны перехвата Ранвье. Эксперименты по методике фиксации потенциала.— Механизмы действия токсинов, 1978, вып. 6, с. 9—27.
9. Можаява Г. Н., Наумов А. П., Солдатов Н. М., Гришин Е. В. Действие токсинов скорпиона *Buthus eupeus* на натриевые каналы перехвата Ранвье.— Биофизика, 1979, 24, № 2, с. 235—241.
10. Торчинский Ю. М. Сера в белках.— М.: Наука, 1977.—302 с.
11. Фриман Г. Н. Комплексы металлов с аминокислотами и пептидами.— В кн.: Неорганическая биохимия. М.: Мир, 1978, т. 1, с. 151—204.
12. Ходоров Б. И. Воротные токи в мембране нервного волокна. Фармакологический анализ.— Успехи физиол. наук, 1983, 14, № 3, с. 68—97.
13. Armstrong C. M., Bezanilla F. Inactivation of the sodium channel. Gating current experiments.— J. Gen. Physiol., 1977, 70, N 5, p. 567—591.
14. Armstrong C. M., Gilly W. F. Fast and slow steps in the activation of sodium channels.— Ibid., 1979, 74, N 6, p. 691—713.
15. Bergman G., Dubois J. M., Rojas E., Rathmayer W. Decreased rate of sodium conductance inactivation in the node of Ranvier by a polypeptide toxin from sea anemone.— Biochim. et. biophys. acta, 1976, 455, N 1, p. 174—184.
16. Berhanin J., Giglio J. R., Leopold P. et al. Tity's serrulatus venom contains two classes of toxins. Tity's toxin is a new tool with a very high affinity for studying the Na⁺ channel.— J. Biol. Chem., 1982, 257, N 21, p. 12553—12558.
17. Bezanilla F., Armstrong C. M. Inactivation of the sodium channel. Sodium current experiments.— J. Gen. Physiol., 1977, 70, N 5, p. 549—567.
18. Chiu S. Y. Inactivation of sodium channels: sodium second order kinetics in myelinated nerve.— J. Physiol., 1977, 273, N 3, p. 573—596.
19. Gillespie J. I., Meves H. The effect of scorpion venoms on the sodium currents of the squid giant axon.— J. Physiol., 1980, 308, N 2, p. 479—499.
20. Koppenhöfer E., Schmidt H. Die Wirkung von Scorpiongift auf die Ionenströme des ranvierschen Schnurrings.— Pflügers Arch., 1968, 303, N 6, S. 133—149.
21. Matteson D. R., Armstrong C. M. Evidence for a population of slowly inactivating sodium channels in squid axon at low temperature.— J. Gen. Physiol., 1982, 79, N 5, p. 739—758.
22. Meves H. The effect of zinc on the late displacement current in squid axons.— J. Physiol., 1976, 254, N 3, p. 787—801.
23. Neumcke B. W., Nonner W., Stämpfli R. Gating currents in excitable membranes.— Intern. Rev. Biochem., 1978, 19, N 1, p. 129—155.
24. Ochs G., Bromm B., Schwarz J. R. A three-state model for inactivation of sodium permeability.— Biochem. et biophys. acta, 1982, 645, N 2, p. 243—252.
25. Sigworth F. J. Covariance of nonstationary sodium current fluctuations at the node of Ranvier.— Biophys. J., 1981, 34, N 1, p. 111—133.
26. Warashina A., Fujita S. Effect of sea anemone toxins on the sodium inactivation process in crayfish axons.— J. Gen. Physiol., 1983, 81, N 3, p. 305—324.