

**POLITECHNIKA ŚLĄSKA
WYDZIAŁ CHEMICZNY
KATEDRA FIZYKOCHEMII I TECHNOLOGII POLIMERÓW**

Krzysztof Pawełek

PRACA DOKTORSKA

**Opis zjawisk transportu masy w kanałach wybranych membran
naturalnych i syntetycznych.**

Promotor: prof. dr hab. inż. Zbigniew J. Grzywna

GLIWICE 2012

Podziękowania

Autor pragnie wyrazić swoją ogromną wdzięczność panu Prof. dr hab. inż. Zbigniewowi J. Grzywnie za cenne rady, pomoc merytoryczną okazaną podczas realizacji pracy oraz umożliwienie skorzystania z rozległych kontaktów zagranicznych.

Cel Pracy

Procesy membranowe mają istotne znaczenie zarówno w przemyśle jak i w układach biologicznych. Celem niniejszej pracy jest próba opisu zjawisk zachodzących w kanałach wybranych membran naturalnych i magnetycznych. Dla membran naturalnych zaproponowano model transportu jonów potasowych przez filtr selektywny kanałów KcsA oraz dwa modele kinetyki bramkowania kanałów BK. W układach syntetycznych analizowano procesy zachodzące w membranach magnetycznych podczas procesu rozdziału powietrza na czysty azot i tlen. Uzyskane, w wyniku przeprowadzonych badań, modele w sposób jakościowy i ilościowy generują dane zgodne z danymi eksperymentalnymi oraz tłumaczą zjawiska zachodzące w modelowanych systemach.

Spis treści

<i>Podziękowania</i>	2
Cel Pracy	3
1. Wstęp	7
2. Studia literaturowe	11
2.1. Dyfuzja: Obraz mikroskopowy	11
2.1.1. Jednowymiarowe błądzenie przypadkowe	12
2.1.2. Błądzenie przypadkowe z dryfem	15
2.1.3. Błądzenie przypadkowe w dwóch i trzech wymiarach	17
2.2. Dyfuzja: obraz fenomenologiczny	17
2.2.1. Pierwsze prawo Ficka	18
2.2.2. Drugie Prawo Ficka	19
2.3. Łańcuchy Markowa	21
2.3.1. Macierz przejść	21
2.3.2. Absorpcyjne skończone łańcuchy Markowa	22
2.4. Kanały jonowe oraz jonowe kanały potasowe	24
2.4.1. Kanał KcsA	27
2.4.2. Kanały BK	28
2.4.2.1. Budowa kanału BK	29
2.4.2.2. Czujnik napięciowy	31
2.4.2.3. Połączenie <i>VSD</i> z bramką	32
2.4.2.4. Czujnik wapniowy i jego połączenie z bramką aktywacyjną	33
2.4.2.5. Bramka aktywacyjna	34
2.4.2.6. Modele bramkowania kanałów BK	35
2.5. Membrany magnetyczne	38
3. Materiały i metody	42
3.1. Pomiary i układy eksperymentalne	42
3.2. Warunki pomiaru prądów jonowych płynących przez kanały BK metodą <i>patch-clamp</i>	42
3.3. Identyfikacja stanów kanałowych na podstawie pomiaru prądów jonowych w kanałach BK	43
3.4. Pomiar przenikalności powietrza przez membrany magnetyczne	44

3.5.	Analiza pamięci dalekozasięgowej Hursta.....	45
3.6.	Metody symulacyjne adresowane do membran magnetycznych	46
3.6.1.	Wyznaczanie struktury granulek w membranie magnetycznej	46
3.6.2.	Ocena jakości struktur powstałych w membranach magnetycznych	49
3.6.3.	Wyznaczanie strumieni azotu i tlenu przez modelowane membrany magnetyczne .	51
3.7.	Wyniki doświadczalne	55
3.7.1.	Analiza danych eksperymentalnych otrzymanych dla kanałów BK	55
3.7.2.	Analiza danych eksperymentalnych transportu azotu i tlenu w kanałach magnetycznych	57
4.	Badania własne	62
4.1.	Model przewodnictwa jonów K^+ przez filtr selektywny.....	62
4.1.1.	Opis modelu transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KCSA.....	63
4.1.2.	Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA - bez oddziaływań elektrostatycznych	67
4.1.3.	Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA – model z oddziaływaniami elektrostatycznymi między jonami potasowymi.....	69
4.1.4.	Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA - model z oddziaływaniami elektrostatycznymi między jonami K^+ , a grupami karbonylowymi.	71
4.1.5.	Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA – efekty synenergetyczne.....	77
4.1.6.	Wnioski płynące z modelu transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA	80
4.2.	Model kinetyki bramkowania kanału BK	81
4.2.1.	Opis modelu kinetyki bramkowania kanału BK.....	81
4.2.2.	Model kinetyki bramkowania kanału BK -Model 1	84
4.2.3.	Model kinetyki bramkowania kanału BK - Model 2.....	90
4.2.4.	Kinetyka kanału BK – analiza wygenerowanych przebiegów prądowych	93
4.2.5.	Wnioski wynikające z zaproponowanych modeli kinetyki bramkowania kanału BK	97
4.3.	Model transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membrany magnetyczne.....	100
4.3.1.	Wyznaczanie parametrów modelu.....	100
4.3.2.	Wyniki modelowania transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membranę magnetyczną	106
4.3.2.1.	Określenie struktur utworzonych w membranie przez granulki magnetyczne	106
4.3.2.2.	Wyznaczanie strumieni azotu i tlenu przez membranę magnetyczną	107

4.3.3. Wnioski płynące z modelu transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membrany magnetyczne	113
5. Podsumowanie pracy	115
Literatura	117

1. Wstęp

Procesy membranowe, w swoim najbardziej popularnym zastosowaniu, służą do selektywnego rozdziału składników mieszanin ciekłych oraz gazowych. Dzięki bogatym właściwościom separacyjnym, membrany umożliwiają rozdzielanie cząstek o rozmiarach w zakresie od kilku nanometrów do kilkudziesięciu mikrometrów.

Głównym kryterium podziału membran jest siła napędowa, która umożliwia transport cząstek przez membranę. Może być nią różnica ciśnień po obu stronach membrany (mikrofiltracja, ultrafiltracja, odwrócona osmoza, nanofiltracja), różnica potencjałów chemicznych (dializa, hemodializa, dializa dyfuzyjna, perwaporacja) lub różnica potencjału elektrochemicznego (elektrodializa, elektrodializa membranowa) [1].

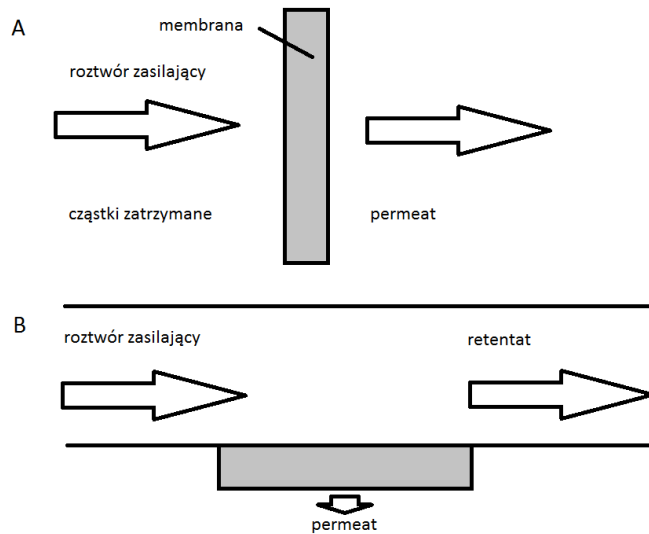
Można też podzielić membrany ze względu na mechanizm rozdziału mieszanin:

- efekt sitowy - w tym przypadku następuje konwekcyjny przepływ rozpuszczalnika przez pory obecne w membranie (mikrofiltracja, ultrafiltracja, częściowo nanofiltracja oraz dializa),
- mechanizm dyfuzyjny - substancja rozdzielana rozpuszcza się w ścianie membrany, dyfunduje w całej objętości membrany oraz desorbuje na jej przeciwległej ścianie,
- mechanizm jonowymienny - rozdział cząstek zachodzi dzięki różnej szybkości migracji składników jonowych w membranie jonowymiennej,
- mechanizm reakcyjno-dyfuzyjny - rozdział cząstek zachodzi na drodze selektywnej, odwracalnej reakcji wymiennej określonego składnika z kolejnymi grupami aktywnymi polimerowego „szkieletu” membrany; albo na drodze dyfuzji kompleksu składnika z przenośnikiem do granicy z roztworem odbierającym, gdzie składnik ten zostaje uwolniony.

Membrany oprócz podziału według mechanizmu rozdzielania, można podzielić także ze względu na budowę. Rozróżniamy zatem membrany:

- porowate - przeznaczone do mikrofiltracji, ultrafiltracji i nanofiltracji. Są to membrany działające w oparciu o efekt sitowy.
- „ciągłe” – przeznaczone do perwaporacji oraz separacji par i gazów. Ich działanie opiera się na mechanizmie typu sorpcja-dyfuzja-desorpcja.
- ciekłe – do tej grupy należą membrany oparte o żele polimerowe z grupami funkcyjnymi zdolnymi do oddziaływania z wybranym składnikiem (membrany jonowymienne, dializa jonowymienna, dyfuzja wymienna).

Procesy membranowe są przeprowadzane w dwóch ogólnych konfiguracjach: jednokierunkowej i krzyżowej (rysunek (1)).



Rysunek 1. Dwa typy układów strumienie-membrana w popularnych procesach separacji membranowej:
A - jednokierunkowy, B – krzyżowy

Głównymi wielkościami (parametrami) charakteryzującymi proces rozdzielania składników mieszanin ciekłych i gazowych za pomocą membran są:

a.) strumień J_i - masa składnika przepływająca przez jednostkę powierzchni membrany na jednostkę czasu:

$$J_i = \frac{P_i}{L} \Delta F \quad (1)$$

$$[\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}, \text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}, \text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}]$$

gdzie:

p_i - współczynnik przenikalności (jego sens fizyczny oraz nazwa zależą od rodzaju bodźca termodynamicznego użytego do rozdziału substancji)

L - grubość membrany

ΔF - różnica wartości bodźca termodynamicznego między stroną zasilaną membrany, a stroną permeatu

b.) przenikalność – wartość współczynnika przenikalności zależy od właściwości membrany: dla membran porowatych od promienia porów i ich struktury w membranie, a w membranach

„ciągłych”, od rozpuszczalności i współczynników dyfuzji indywidualnych składników w membranie

c.) selektywność – zdolność membrany do selekcji składników strumienia zasilającego. Wielkość tę określa się zwykle według następującego równania definiującego współczynnik separacji [1]:

$$\beta_{ij} = \frac{c_i^II / c_j^II}{c_i^I / c_j^I} \quad (2)$$

gdzie:

c_i^I oraz c_j^I - stężenia albo ciśnienia cząstkowe składnika i oraz j w strumieniu zasilającym

c_i^II oraz c_j^II - stężenia albo ciśnienia cząstkowe składnika i oraz j w permeacie

Procesy membranowe, jako procesy rozdzielania, posiadają wiele zalet, wśród których należy wymienić:

- ciągły sposób prowadzenia procesu,
- możliwość łączenia z innymi procesami rozdzielania wstępnego,
- możliwość prowadzenia procesu w temperaturze otoczenia, co ma bardzo pozytywny wpływ na możliwość separacji substancji wrażliwych na temperaturę,
- brak wymogu stosowania dodatkowych substancji mogących obciążać środowisko,
- niskie zapotrzebowanie na energię i małe koszty instalacji,
- duże możliwości szerokiego doboru membran o wybranych właściwościach.

Oczywiście oprócz zalet procesy membranowe wiążą się też z pewnymi niedogodnościami, wśród których należy wymienić: w wielu wypadkach nie najwyższą selektywność (membrany syntetyczne) spowodowaną charakterem zjawisk zachodzących w membranach, możliwość degradacji membran czynnikami środowiskowymi oraz zmniejszanie ich wydajności spowodowane powstałymi w czasie procesu zabrudzeniami.

Procesy membranowe są szeroko stosowane w przemyśle do rozdzielania składników gazów oraz cieczy w procesach technologicznych.

Membrany i procesy membranowe są powszechne w funkcjonowaniu organizmów żywych. Najbardziej znaną membraną biologiczną jest błona komórkowa. Główną rolą błony komórkowej jest oddzielenie wnętrza komórki (cytoplazmy) od otoczenia. Z chemicznego punktu widzenia błona komórkowa działa jak membrana oddzielająca dwa roztwory chemiczne o różnym składzie, umożliwiając transport tylko niektórym cząstkom z lub do komórki. Proces transportu cząstek neutralnych lub jonów przez błonę komórkową odgrywa istotną rolę w wielu procesach fizjologicznych ważnych dla życia komórki [2].

Rozróżnia się przynajmniej dwa typy transportu przez membrany komórkowe. Pierwszy z nich to transport aktywny, w którym proces migracji cząstek z lub do komórki zachodzi przeciwie do gradientu potencjału elektrochemicznego. Taki proces wymaga dostarczenia energii, najczęściej w postaci hydrolizy wiązania fosforanowego w cząsteczce ATP. Przykładem białka pełniącego rolę aktywnego transportera jest pompa sodowo-potasowa, która w jednym cyklu, przy użyciu jednej cząstki ATP transportuje trzy jony sodowe na zewnątrz oraz dwa jony potasowe do wnętrza komórki [3]. Transport aktywny z reguły jest procesem wolnym, osiągającym prędkości w granicach do 100 cykli na sekundę [4].

Drugim rodzajem transportu cząstek przez błonę komórkową jest transport pasywny. Zachodzi on zgodnie z gradientem potencjału elektrochemicznego, więc nie wymaga dodatkowego dostarczania energii. Transport pasywny może zachodzić na trzy sposoby: z użyciem wyspecjalizowanych nośników, które wiążą się z transportowaną cząstką i pomagają jej pokonać hydrofobowe wnętrze membrany, z użyciem nośników na stałe zakotwiczonych w membranie lub za pomocą białek tworzących w membranie pory, tzw. białka kanałowe [2]. Jednym z najbardziej znanych typów białek kanałowych są kanały jonowe, które umożliwiają przepływ jonów przez membranę komórkową.

2. Studia literaturowe

2.1. Dyfuzja: Obraz mikroskopowy

Dyfuzja jest procesem losowej migracji cząstek wywołanym ruchami termicznymi ośrodka, w którym cząstki się znajdują. Cząstce o temperaturze absolutnej T można przypisać średnią energię kinetyczną względem danej osi wynoszącą [5].

$$\overline{E_{K,x}} = \frac{kT}{2} \quad (3)$$

(gdzie k jest stałą Boltzmanna).

W 1905 roku Einstein wykazał, że ta zależność jest prawdziwa niezależnie od wielkości cząstki. Cząstka o masie m oraz prędkości v_x posiada względem osi x chwilową energię kinetyczną wynoszącą:

$$E_{K,x} = \frac{mv_x^2}{2} \quad (4)$$

Prędkość cząstki w ośrodku fluktuuje na skutek przypadkowych zderzeń z cząstkami otoczenia. Energia kinetyczna, jako bezpośrednio związana z prędkością, także wykazuje losowe zmiany swej wartości.

Oznaczając średnią energię kinetyczną względem osi x jako $\langle E_{K,x} \rangle$ z równania (3) i równania (4) otrzymujemy zależność:

$$\frac{\langle mv_x^2 \rangle}{2} = \frac{kT}{2} \quad (5)$$

Zależność ta mówi, że średnia energia kinetyczna cząstki przypadająca na jeden stopień swobody wynosi zawsze $kT/2$. Jeśli przyjmiemy masę cząstki jako wielkość stałą możemy z równania (5) wyznaczyć średnią prędkość kwadratową:

$$\langle v_x^2 \rangle = \frac{kT}{m} \quad (6)$$

oraz pierwiastek średniej prędkości kwadratowej:

$$\langle v_x^2 \rangle^{1/2} = \left(\frac{kT}{m} \right)^{1/2} \quad (7)$$

Warto w tym miejscu zwrócić uwagę na wartości średnich prędkości cząstek w temperaturze pokojowej. Np. pierwiastek ze średniej prędkości kwadratowej dla jonu potasowego K^+ (masa molowa jonu potasowego: 39.0953 [g/mol], stała Boltzmanna: $1.3806 \cdot 10^{-23}$ [$m^2 \text{ kg s}^{-2}$]) wynosi w temperaturze $T=300$ [K]: $\langle v_x^2 \rangle^{1/2} = 2.53$ [m/s].

Oznacza to, że gdyby jon potasowy umieścić w próżni, pokonałby odległość 2.53 [m] w czasie 1 [s]. Jeżeli jon potasowy znajduje się w środowisku wodnym (np. takim jakie panuje w cytoplazmie), średnie odległości, które jest w stanie pokonać są oczywiście dużo mniejsze na skutek przypadkowych zderzeń z cząstkami ośrodka. Takie przypadkowe zderzenia zmieniają wektor prędkości cząstki oraz powodują odchylenia od średnich wartości prędkości i położenia.

Ruch o takim charakterze nazywamy ruchem Browna [5], a jego molekularną realizację - błędzeniem przypadkowym.

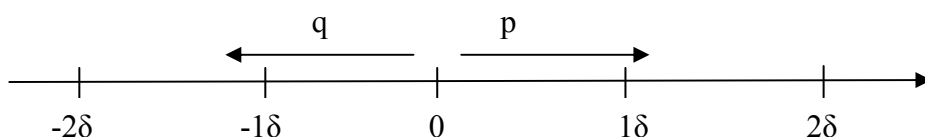
2.1.1. Jednowymiarowe błędzenie przypadkowe

Szczegółowe informacje odnośnie błędzenia przypadkowego można znaleźć w [5; 7; 8].

Na początek rozważmy najprostszy przypadek błędzenia cząstki, a więc przypadek jednowymiarowy (rysunek (2)). Niech początkowo ($t=0$) cząstka znajduje się w pozycji $x=0$.

W każdej jednostce czasu τ cząstka pokonuje dystans wynoszący $\delta = \pm v_x \tau$. Dla uproszczenia przyjmijmy δ oraz τ jako wielkości stałe.

W każdym kroku czasowym cząstka może poruszyć się w prawo z prawdopodobieństwem $P(x + \sigma, \tau) = p$ lub w lewo z prawdopodobieństwem $P(x - \sigma, \tau) = q$. Wszystkie zderzenia cząstki z cząstkami ośrodka mają charakter losowy, a zatem prawdopodobieństwa ruchu w prawo i w lewo, w przypadku braku siły zewnętrznej, są sobie równe i wynoszą $p=q=1/2$.



Rysunek 2. Cząstka wykonująca jednowymiarowe błędzenie przypadkowe wykonuje w jednostce czasu przypadkowe skoki w prawo (z prawdopodobieństwem p), bądź w lewo (z prawdopodobieństwem q).

Każda cząstka dyfundująca przez jednorodny ośrodek porusza się niezależnie od innych cząstek, ponieważ cząstki nie oddziałują ze sobą.

Zastanówmy się, jakie konsekwencje wynikają z takiego obrazu jednowymiarowego błędzenia przypadkowego.

Rozważmy zespół N cząstek dyfundujących po osi x z pozycji $\delta=0$.

Pozycja i -tej cząstki w kroku czasowym n może być zapisana jako:

$$x_i(n) = x_i(n-1) \pm \delta \quad (8)$$

Znając pozycje cząstek w n -tym kroku czasowym można wyznaczyć średnie odchylenie cząstek od pozycji początkowej:

$$\langle x(n) \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i(n) \quad (9)$$

Podstawiając równanie (8) do równania (9) otrzymujemy:

$$\langle x(n) \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [x(n-1) \pm \delta] = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N [x(n-1)] = \langle x(n-1) \rangle \quad (10)$$

Wartość $\pm\delta$ zeruje się ze względu na równe prawdopodobieństwa ruchu w obydwu kierunkach.

Z równania (10) wynikają dwie ciekawe własności jednowymiarowego błędzenia przypadkowego. Pierwsza: bez względu na ilość wykonanych kroków średnia pozycja cząstek równa się pozycji początkowej. Druga: rozkład populacji cząstek względem pozycji początkowej jest symetryczny.

Wielkością charakteryzującą rozkład zmiennej losowej względem wartości średniej jest wariancja.

Wariancja zmiennej losowej X dana jest wzorem:

$$Var(X) = E[(X - \mu)^2] \quad (11)$$

gdzie:

μ - wartość oczekiwana

E - estymator wartości średniej

Przy pomocy wariancji można wyznaczyć odchylenie standardowe:

$$\sigma = (Var(X))^{1/2} \quad (12)$$

W rozpatrywanym przypadku błędzenia przypadkowego populacji cząstek po osi x odchylenie standardowe wynosi:

$$\sigma = \{E[x(n) - \mu]^2\}^{1/2} \quad (13)$$

Estymatorem wartości oczekiwanej jest średnia arytmetyczna położenia cząstek, która w rozpatrywanym przypadku wynosi 0.

Pozwala to uprościć równanie (13) do postaci:

$$\sigma = \{E[x(n)]^2\}^{1/2} = \langle x^2(n) \rangle^{1/2} \quad (14)$$

Wyznamy zatem wielkość $\langle x^2(n) \rangle$. W tym celu można użyć wzoru nr (8).

$$\langle x^2(n) \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2(n) = x_i^2(n-1) \pm 2\delta x_i(n-1) + \delta^2 = \langle x^2(n-1) \rangle + \delta^2 \quad (15)$$

Z powyższego wynika, że jeżeli $\langle x^2(0) \rangle = 0$ to:

$$\langle x^2(1) \rangle = \delta, \langle x^2(n) \rangle = 2\delta^2 \dots \langle x^2(n) \rangle = n\delta^2 \quad (16)$$

oraz

$$\langle x^2(n) \rangle^{1/2} = \sqrt{n\delta} \quad (17)$$

Z równań (16) i (17) wynika kolejna ważna własność jednowymiarowego błędzenia przypadkowego. Średni kwadrat położenia rośnie proporcjonalnie do liczby kroków czasowych, a pierwiastek średniego kwadratu położenia proporcjonalnie do pierwiastka z liczby kroków czasowych.

Czas jest związany z krokiem czasowym za pomocą następującej relacji:

$$t = \tau n \quad (18)$$

Przy pomocy równania (18) można przedstawić powyższe wnioski za pomocą zapisu:

$$\langle x^2(t) \rangle = \frac{t}{\tau} \delta^2 = \frac{\delta^2}{\tau} t = 2Dt \quad (19)$$

oraz

$$\langle x^2(t) \rangle^{1/2} = \sqrt{\frac{t}{\tau} \delta^2} = \sqrt{\frac{\delta^2}{\tau} t} = \sqrt{2Dt} \quad (20)$$

Wielkość $\frac{\delta^2}{2\tau}$, czyli stosunek kwadratu elementarnego przemieszczenia cząstki do jednostkowego kroku czasowego, nazywamy współczynnikiem dyfuzji i oznaczamy jako:

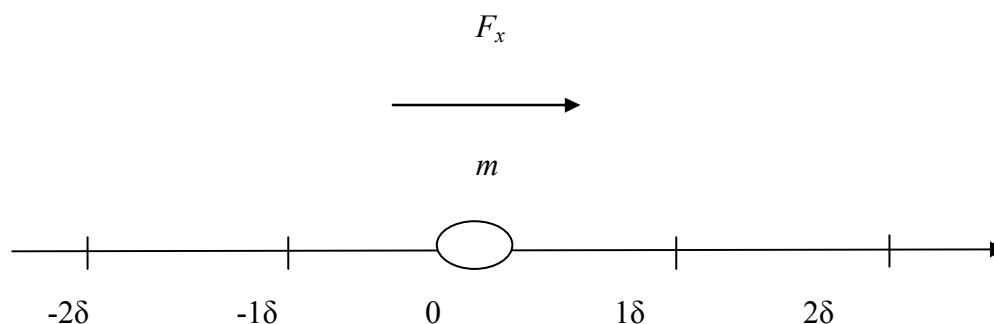
$$D = \frac{\delta^2}{2\tau} \quad (21)$$

Współczynnik dyfuzji jest ważnym parametrem charakteryzującym szybkość procesu dyfuzyjnego. Związany z szerokością rozkładu prawdopodobieństwa znalezienia cząstki w określonej pozycji mówi o szybkości transportu masy, im większa wartość tym szybszy proces.

2.1.2. Błądzenie przypadkowe z dryfem

Dotychczas rozważano proces błądzenia przypadkowego, w którym jedyną siłą działającą na cząstkę była siła pochodząca z ruchów termicznych ośrodka. Przeanalizujmy teraz sytuację, gdy na cząstkę działa dodatkowa siła, pochodząca z przyłożonego pola zewnętrznego. Taką siłę nazywamy siłą dryfu. Przyłożone pole może mieć różny charakter np. pole elektryczne, grawitacyjne, naprężeń, magnetyczne itp.

Rozważmy przypadek jednowymiarowej dyfuzji cząstki po osi x . Niech na cząstkę działa siła F_x pochodząca z zewnętrznego pola, tak jak pokazano na rysunku (3).



Rysunek 3. Cząstka o masie m , będąca pod działaniem zewnętrznej siły F_x .

Zgodnie z drugim prawem dynamika Newtona, siła F_x działająca na cząstkę nadaje jej stałe przyśpieszenie a wynoszące $a=F_x/m$.

Podobnie, jak w przypadku błądzenia przypadkowego bez siły zewnętrznej, w każdym kroku czasowym cząstka może poruszać się w prawo, bądź w lewo z prędkością $+v_x$ lub $-v_x$.

Cząstka rozpoczynająca błądzenie w punkcie początkowym x_0 z prędkością początkową $+v_x$ pokona dystans:

$$\delta_+ = +v_x\tau + \frac{1}{2}a\tau^2 \quad (22)$$

a rozpoczynając ruch z prędkością $-v_x$ dystans:

$$\delta_- = -v_x\tau + \frac{1}{2}a\tau^2 \quad (23)$$

Ponieważ ruchy w prawo i w lewo są równie prawdopodobne, średni dystans przebyty przez cząstkę wynosi:

$$\delta = \frac{1}{2}a\tau^2 \quad (24)$$

a wypadkowa prędkość dryfu:

$$v_d = \frac{1}{2}a\tau = \frac{F_x}{2m}\tau \quad (25)$$

Oznaczmy jako współczynnik oporu wyrażenie:

$$f = \frac{2m}{\tau} \quad (26)$$

Pozwala to zapisać równanie (25) w postaci:

$$v_d = \frac{F_x}{f} \quad (27)$$

Następnie pomnóżmy licznik i mianownik równania (26) przez $\left(\frac{\delta}{\tau}\right)^2$, co wraz z zależnością $v_x = \frac{\delta}{\tau}$ oraz równaniami (5) i (21) daje:

$$D = \frac{kT}{f} \quad (28)$$

Zależność ta znana jest jako relacja Einsteina-Smoluchowskiego [5].

Po podstawieniu równania (28) do równania (27) otrzymujemy końcowy wzór na prędkość dryfu:

$$v_d = \frac{D}{kT}F_x \quad (29)$$

Taką samą relację na prędkość dryfu (równanie (29)) można otrzymać w oparciu o teorię błędzenia przypadkowego ze stałą prędkością dryftu oraz stałymi krokami: czasowym i przestrzennym, gdy jako prawdopodobieństwa skoku w prawo i w lewo przyjmiemy następujące wyrażenia[5]:

$$p = \frac{1}{2} + \frac{F_x\sigma}{4kT} \quad (30)$$

$$q = \frac{1}{2} - \frac{F\sigma}{4kT} \quad (31)$$

gdzie: F oznacza zewnętrzną siłę działającą na cząstkę, a σ długość skoku.

2.1.3. Błądzenie przypadkowe w dwóch i trzech wymiarach

Wszystkie wymienione własności jednowymiarowego procesu błądzenia przypadkowego spełnione są także w przypadku błądzenia cząstki w przestrzeniach 2 lub 3 wymiarowych.

W przypadku błądzenia w $|R^2$ należy rozważyć ruch cząstki w płaszczyźnie (x,y) , a w przypadku $|R^3$, ruch w przestrzeni (x,y,z) .

Jeśli $\langle x^2 \rangle = 2Dt$ to zachodzi także $\langle y^2 \rangle = 2Dt$ oraz $\langle z^2 \rangle = 2Dt$.

Wprowadźmy wektor wodzący $\vec{r} = x^2 + y^2$ (przypadek dwuwymiarowy) lub $\vec{r} = x^2 + y^2 + z^2$ (przypadek trójwymiarowy), co pozwoli zapisać równanie (19) jako:

$$\langle \vec{r}^2 \rangle = 4Dt \text{ (przypadek 2D)} \quad (32)$$

$$\langle \vec{r}^2 \rangle = 6Dt \text{ (przypadek 3D)} \quad (33)$$

Z powyższych zależności wynika, że średnia z kwadratu długość wektora wodzącego jest liniowo zależna od czasu, ze współczynnikiem proporcjonalności równym $2D$, $4D$ i $6D$, odpowiednio dla przestrzeni jedno-, dwu- i trzy- wymiarowej.

2.2. Dyfuzja: obraz fenomenologiczny

Makroskopowo, dyfuzja jest procesem wyrównywania się stężeń w przestrzeni na skutek różnicy potencjału chemicznego substancji w różnych jej punktach [9].

2.2.1. Pierwsze prawo Ficka

Rozpatrzmy najpierw najprostszy przypadek dyfuzji jednowymiarowej (rysunek (4)).

Pierwsze prawo Ficka mówi, że strumień masy jest wprost proporcjonalny do gradientu stężeń:

$$\vec{J} = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (34)$$

gdzie:

D - współczynnik dyfuzji

Choć pierwsze prawo Ficka jest prawem empirycznym, można wykazać jego zasadność na podstawie mikroskopowego opisu procesu dyfuzji.

W tym celu jako $N(x)$ oznaczmy liczbę cząstek znajdujących się w pozycji x , a jako $N(x+\delta)$ liczbę cząstek znajdujących się w pozycji $x+\delta$, gdzie δ jest elementarnym krokiem przestrzennym.

Wypadkowy strumień cząstek przechodzących przez jednostkową płaszczyznę A umieszczoną między punktami x i $x+\delta$ oraz w jednostkowym czasie τ wynosi:

$$\vec{J}_x = - \frac{(qN(x+\delta) - pN(x))}{\tau A} \quad (35)$$

Pomnóżmy równanie (35) przez δ^2 :

$$\vec{J}_x \delta^2 = \frac{-(qN(x+\delta) - pN(x))}{\tau A} \delta^2 \quad (36)$$

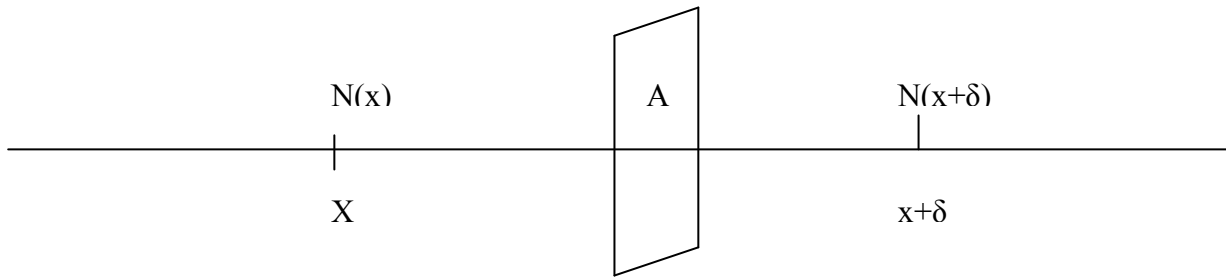
i wyliczmy \vec{J}_x podstawiając jednocześnie $q=p=1/2$:

$$\vec{J}_x = \frac{-\delta^2}{2\tau} \frac{1}{\delta} \left(\frac{N(x+\delta)}{\delta A} - \frac{N(x)}{\delta A} \right) \quad (37)$$

Wielkość $\frac{\delta^2}{2\tau}$ jest współczynnikiem dyfuzji D . Wyrażenie $\frac{N(x)}{\delta A}$ rozpoznajemy jako $C(x)$, a wyrażenie $\frac{N(x+\delta)}{\delta A}$ jako $C(x+\delta)$. Podstawiając te zależności do zależności (37) otrzymujemy:

$$\vec{J}_x = -D \frac{(C(x+\delta) - C(x))}{\delta} \quad (38)$$

Jeśli krok elementarny dąży do zera, czyli $\delta \rightarrow 0$, to równanie (38) przyjmuje postać pierwszego prawa Ficka – równanie (34).



Rysunek 4. Cząstki dyfundujące przez płaszczyznę A . W czasie t w pozycji x znajduje się $N(x)$ cząstek, a w pozycji $x+\delta$, $N(x+\delta)$ cząstek. W czasie $t+\tau$ połowa cząstek z pozycji x przeskoczy do pozycji $x+\delta$, a połowa z cząstek z pozycji $x+\delta$, do pozycji x .

2.2.2. Drugie Prawo Ficka.

Drugie prawo Ficka opisuje ewolucję gęstości prawdopodobieństwa znalezienia cząstek w danym punkcie czasu i przestrzeni.

Wyprowadźmy drugie prawo Ficka z zasady zachowania masy przy użyciu pierwszego prawa Ficka [5].

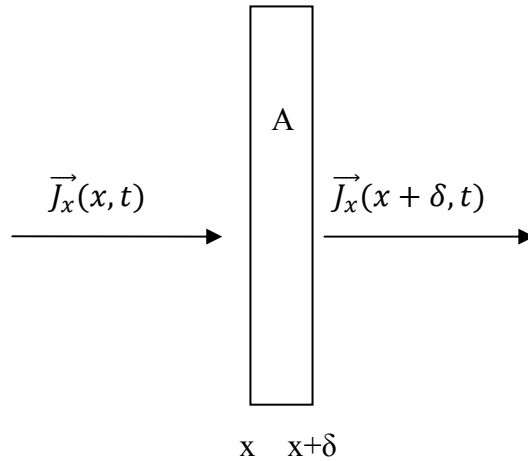
Rozważmy obszar A pokazany na rysunku (5). Wyznaczmy ilość cząstek wchodzących oraz wychodzących z obszaru A w jednostce czasu τ . Ilość ta wynosi odpowiednio $J_x(x, t)A\tau$ oraz $J_x(x + \delta, t)A\tau$. Zgodnie z zasadą zachowania masy, jeśli tylko cząstki nie są niszczone bądź tworzone w obrębie obszaru A , ilość masy tam się znajdująca, przypadająca na jednostkę objętości obszaru A - $V=\delta A$, zmienia się zgodnie z wypadkową ilością cząstek wchodzących i wychodzących z obszaru A w jednostce czasu τ . Możemy zapisać szybkość przyrostu masy w obszarze A następująco:

$$\frac{c(x, t+\tau)-c(x, t)}{\tau} = \frac{1}{\tau} \frac{[J_x(x+\delta)-J_x(x)]\tau A}{\delta A} = \frac{[J_x(x+\delta)-J_x(x)]}{\delta} \quad (39)$$

W granicach, gdy $\tau \rightarrow 0$ oraz $\delta \rightarrow 0$ otrzymujemy:

$$\frac{\partial c(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c(x, t)}{\partial x^2} \quad (40)$$

Równanie to znane jest jako drugie prawo Ficka.



Rysunek 5. Wyprowadzenie drugiego prawa Ficka z zasady zachowania masy.

Rozważmy jednowymiarowy przypadek ruchu cząstki po osi x z prawdopodobieństwem skoku w prawo wynoszącym p oraz w lewo wynoszącym q .

Położenia takiej cząstki w kroku czasowym n mogą być opisane za pomocą zmiennej losowej X_n .

Zdefiniujmy następnie funkcję:

$$p_r(x, t) = \text{Praw}(X_n = x) \text{ w czasie } t = \tau n \quad (41)$$

Funkcja ta opisuje prawdopodobieństwo przebywania cząstki w pozycji x w czasie t .

Rozkład prawdopodobieństwa $p_r(x, t)$ spełnia równanie różnicowe postaci:

$$p_r(x, t + \tau) = p p_r(x - \delta, t) + q p_r(x + \delta, t) \quad (42)$$

Rozwińmy funkcję $p_r(x, t)$ w szereg Taylora względem zmiennej x i t :

$$\begin{cases} p_r(x, t + \tau) = p_r(x, t) + \tau \frac{\partial p_r(x, t)}{\partial t} + O(\tau^2) \\ p_r(x + \delta, \tau) = p_r(x, t) \pm \delta \frac{\partial p_r(x, t)}{\partial x} + \frac{1}{2} \delta^2 \frac{\partial^2 p_r(x, t)}{\partial x^2} + O(\delta^3) \end{cases} \quad (43)$$

Podstawiając równanie (43) do równania (42) otrzymujemy:

$$\frac{\partial p_r(x, t)}{\partial t} = \left[(q - p) \frac{\delta}{\tau} \right] \frac{\partial p_r(x, t)}{\partial x} + \frac{1}{2} \left(\frac{\delta^2}{\tau} \right) \frac{\partial^2 p_r(x, t)}{\partial x^2} + O(\tau) + O\left(\frac{\delta^4}{\tau}\right) \quad (44)$$

W granicy, gdy $\tau \rightarrow 0$ oraz $\delta \rightarrow 0$ otrzymujemy:

$$\frac{\partial p_r(x, t)}{\partial t} = -c \frac{\partial p_r(x, t)}{\partial x} + \frac{1}{2} D \frac{\partial^2 p_r(x, t)}{\partial x^2} \quad (45)$$

Jest to równanie Fokkera-Plancka ze stałym współczynnikiem dyfuzji D i dryfu C [6]. Jeśli zauważymy równoważność gęstości prawdopodobieństwa $p_r(x,t)$ ze stężeniem ułamkowym substancji $C(x,t)$, równanie (45) można sprowadzić do równania (40) otrzymując drugiego prawo Ficka (dla $C=0$) lub równanie dyfuzji ze stałym dryfem (dla $C \neq 0$).

2.3. Łańcuchy Markowa

Nim zaczniemy definiować łańcuchy Markowa zdefiniujmy samo pojęcie procesu Markowa.

Proces Markowa to ciąg zdarzeń, w którym prawdopodobieństwo każdego zdarzenia zależy jedynie od wyniku poprzedniego. W ujęciu matematycznym, procesy Markowa to takie procesy stochastyczne, które spełniają własność Markowa. Własność Markowa zakłada, że prawdopodobieństwo przejścia układu między dwoma stanami zależy jedynie od aktualnie zajmowanego stanu, a nie od sposobu, w jakim ten stan został osiągnięty [10].

Łańcuch Markowa jest przykładem realizacji procesu Markowa na dyskretnej przestrzeni stanów.

Aby zbudować proces będący procesem Markowa musimy zdefiniować przestrzeń stanów, po których będzie on przebiegał:

$$S = \{s_1, s_2 \dots \dots s_r\} \quad (46)$$

Układ zaczyna swoją ewolucję z dowolnego ze stanów przestrzeni S . Następnie porusza się po przestrzeni stanów, przechodząc kolejno ze stanu S_i do stanu S_j . Prawdopodobieństwo takiego przejścia oznaczamy jako p_{ij} . Prawdopodobieństwo to zależy jedynie od stanu S_i

2.3.1. Macierz przejść

Łańcuchy Markowa mogą być opisane za pomocą tzw. macierzy przejść (jeśli łańcuch Markowa jest jednorodny) Konstrukcja macierzy przejść polega na zapisaniu wszystkich możliwych stanów układu oraz prawdopodobieństw przejść między nimi. Przykładowa macierz przejść wygląda następująco:

$$Q_{ij} = \begin{pmatrix} p_{11} & \dots & p_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ p_{n1} & \dots & p_{nn} \end{pmatrix} \quad (47)$$

Elementy macierzy przejścia p_{ij} określają prawdopodobieństwa przejścia ze stanu S_i do stanu S_j .

Zdefiniujmy macierz $S_{ij}^{(t)}$ jako macierz opisującą stan układu w czasie t :

$$S_{ij}^{(t)} = \begin{pmatrix} S_{11} & \cdots & S_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ S_{n1} & \cdots & S_{nn} \end{pmatrix} (t) \quad (48)$$

oraz macierz $S_{ij}^{(0)}$ jako macierz opisującą stan początkowy.

$$S_{ij}^{(0)} = \begin{pmatrix} S_{11} & \cdots & S_{1n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ S_{n1} & \cdots & S_{nn} \end{pmatrix} (0) \quad (49)$$

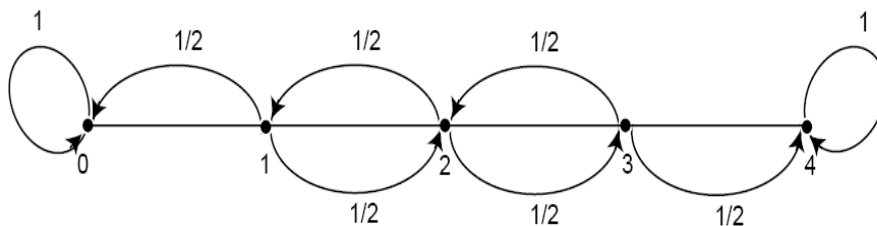
Stan układu w dowolnym czasie t można wyznaczyć znając stan jego początkowy oraz macierz przejść, w następujący sposób:

$$S_{ij}^{(t)} = S_{ij}^{(0)} Q_{ij}^t \quad (50)$$

2.3.2. Absorpcyjne skończone łańcuchy Markowa

Absorpcyjny łańcuch Markowa jest zdefiniowany jako łańcuch Markowa, w którym przynajmniej jeden stan jest absorpcyjny tzn. prawdopodobieństwo pozostania w nim, p_{ii} , wynosi 1.

Przykład absorpcyjnego łańcucha Markowa pokazany został na rysunku (6).



Rysunek 6. Przestrzeń stanów wraz z zaznaczonymi sposobami oraz odpowiednimi prawdopodobieństwami przejść. W podanym przykładzie stany 0 oraz 4 są stanami absorpcyjnymi. Gdy układ zajmie jeden z tych stanów, nie jest w stanie już go opuścić.

Absorpcyjne łańcuchy Markowa mogą zostać opisane za pomocą odpowiedniej macierzy, która w tym przypadku wygląda następująco:

$$p_{i,j} = \begin{matrix} & TR & ABS \\ TR & (Q & R) \\ ABS & (0 & I) \end{matrix} \quad (51)$$

gdzie: Q jest macierzą przejść, R jest macierzą zawierającą prawdopodobieństwa przejść ze stanów nieabsorpcyjnych do stanów absorpcyjnych, I jest macierz jednostkową, a 0 oznacza macierz zerową (TR – stany przejściowe, ABS – stany absorpcyjne)

Średnia liczba kroków potrzebnych do zakończenia łańcucha Markowa, czyli osiągnięcia stanu absorpcyjnego jest zawarta w tak zwanej macierzy fundamentalnej [11].

$$\bar{N} \equiv \sum_{k=0}^{\infty} \bar{Q}^k = (\bar{I} - \bar{Q})^{-1} \quad (52)$$

$$\bar{N} = \begin{bmatrix} state & 1 & 2 & \cdot & \cdot & N_S \\ 1 & n_{11} & \cdot & \cdot & \cdot & n_{1j} \\ 2 & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & n_{ij} & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ N_S & n_{i1} & \cdot & \cdot & \cdot & n_{N_S N_S} \end{bmatrix} \quad (53)$$

Elementy macierzy N - n_{ij} określają ile razy układ znajdzie się w stanie S_j nim osiągnie stan absorpcyjny, rozpoczynając swoją ewolucję ze stanu S_i .

Średnia liczba kroków - $\langle n_i \rangle$ potrzebnych do tego, aby układ osiągnął stan absorpcyjny, rozpoczynając swoją ewolucję ze stanu S_i wynosi:

$$\langle n_i \rangle = \sum_{j=1}^{j=N_s} n_{ij} \quad (54)$$

Całkowita liczba kroków - $\langle n \rangle$ potrzebnych do osiągnięcia stanu absorpcyjnego (średnia po wszystkich możliwych stanach początkowych S_i) wynosi:

$$\langle n \rangle = \frac{1}{154} \sum_{i=1}^{i=154} \langle n_i \rangle \quad (55)$$

Całkowita liczba kroków - $\langle n \rangle$ jest wielkością charakterystyczną dla danego absorpcyjnego łańcucha Markowa.

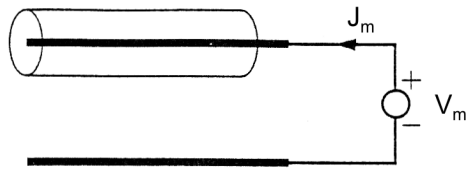
2.4. Kanały jonowe oraz jonowe kanały potasowe

Kanały jonowe są to białka błonowe, które umożliwiają transport różnych jonów przez membrany komórkowe, dzięki tworzenie hydrofilowej ścieżki w hydrofobowej warstwie lipidowej. Selektywne kanały jonowe mogą pracować bardzo wydajnie, osiągając strumienie cząstek rzędu 10^8 s^{-1} [4]. Wspólnymi cechami kanałów jonowych są: wysoka selektywność, wysoka przepuszczalność oraz wyspecjalizowane mechanizmy regulacji pracy.

Historia badań nad kanałami jonowymi sięga roku 1952, kiedy to Hodgkin i Huxley, w oparciu o pomiary aktywności prądowej wykonane na aksonie olbrzymim kałamarnicy, zaproponowali model matematyczny opisujący tworzenie się potencjału czynnościowego i jego propagację w neuronach [12]. W modelu tym układ błony komórkowej jest reprezentowany przez układ elektryczny, w którym membrana komórkowa modelowana jest pojemnością elektryczną, a bramkowane napięciowo kanały jonowe (których istnienie w tym okresie nie było znane) nieliniowymi przewodnościami elektrycznymi (zależnymi od napięcia – bramkowanie i od czasu – inaktywacja).

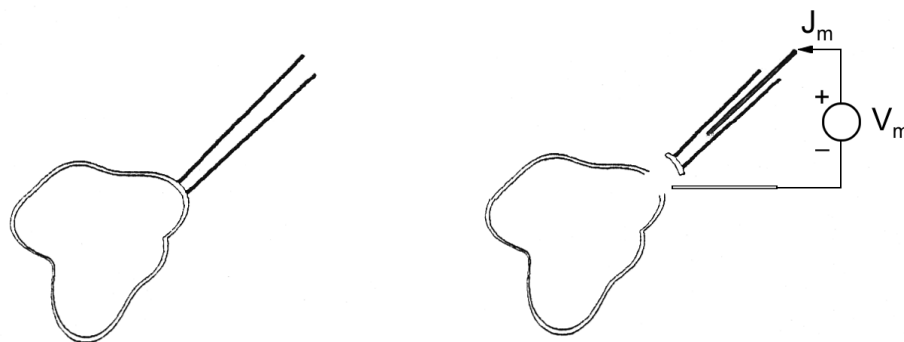
Hodgkin and Huxley udowodnili istnienie niezależnych ścieżek transportu jonów K^+ oraz Na^+ , które dzisiaj rozpoznajemy jako kanały potasowe oraz sodowe. Zidentyfikowali także tetrameryczną strukturę kanału potasowego. Pokazali, że strumień jonów ma charakter elektrodyfuzyjny z odpowiednim potencjałem Nernsta, zmieniając zaś kompozycję zewnętrznego roztworu, wyznaczyli względne przewodnictwo danej ścieżki jonowej względem innych jonów obecnych w roztworze. Dla ścieżki sodowej wyznaczona sekwencja wygląda następująco: $\text{K}^+ \geq \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+ \gg \text{Na}^+ \geq \text{Li}^+$ [13].

Jedną z technik pomiarowych służących do badania własności kanałów jonowych jest technika *voltage-clamp* [14], która polega na mierzeniu prądów jonowych przepływających przez określoną makroskopową powierzchnię błony przy ustalonej wartości potencjału membranowego. Układ do pomiarów prądów (w aksonach) przedstawiony został schematycznie na rysunku (7).



Rysunek 7. Schemat układu do pomiaru prądów jonowych w kanałach metodą voltage-clamp.

Metoda *voltage-clamp* służy głównie do pomiaru sumarycznego prądu przepływającego przez membranę całej komórki. W celu badania prądów przepływających przez pojedyncze kanały rozwinięto metodę *patch-clamp* (rysunek (8)) [15]. Metoda ta polega na utworzeniu trwałego mechanicznego i elektrycznego kontaktu między końcówką szklanej pipety (o średnicy około $1\mu\text{m}$ i oporności kontaktu ok. 10^9 Ohm) i badanej części błony komórkowej (tzw. łatki) oraz rejestracji prądów jonowych przepływających przez przylegającą do pipety powierzchnię membrany, przy ustalonym napięciu między elektrodami pomiarowymi. Mała powierzchnia łatki (na tak małej powierzchni mogą znajdować się tylko pojedyncze kanały) umożliwia uzyskiwanie charakterystyk prądów jonowych dla pojedynczych kanałów.



Rysunek 8. Schemat do pomiaru prądów jonowych metodą patch-clamp.

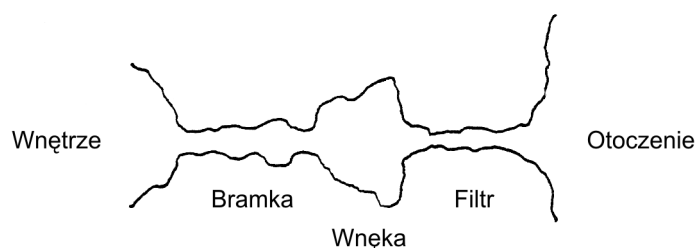
Dzięki badaniom typu *patch-clamp* potwierdzona została wysoka selektywność poszczególnych rodzajów kanałów dla poszczególnych jonów. Uzyskana z tych pomiarów szybkość transportu jonów okazała się być zbliżoną do wartości obserwowanej w swobodnej dyfuzji w wodnych roztworach elektrolitów o grubości warstwy równej grubości błony. Sugeruje to, że w wielu kanałach jonowych transport jonów osiąga limit transportu dyfuzyjnego [16].

Do niedawna dokładna struktura kanałów jonowych nie była znana. Dopiero pod koniec lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku udało się skryształizować i przeprowadzić

badania rentgenograficzne niektórych kanałów potasowych, w tym szczególnie warta uwagi jest praca odnośnie struktury kanału potasowego KcsA z błony bakterii *Streptomyces lividans* [17].

Poznana struktura kanału KcsA posłużyła jako podstawa do stworzenia modeli innych kanałów jonowych, szczególnie kanałów potasowych [18].

Ogólny obraz wyłaniający się z przeprowadzonych badań wygląda tak, jak pokazano na rysunku (9).



Rysunek 9. Schematyczny przekrój kanału jonowego.

Główne wnioski, które płyną z poznanej struktury niektórych kanałów jonowych są następujące: kanał jonowy jest rodzajem poru w membranie o zmiennej szerokości wzdłuż jego osi. Składa się z trzech głównych części - bramki aktywacyjnej (część białka odpowiedzialna za otwarcie lub zamknięcie kanału), komory centralnej (miejsce, w którym jony „czekają” na wejście do filtra) oraz filtra selektywnego (część odpowiedzialna za selektywność kanału).

Znanych jest wiele różnych rodzajów kanałów jonowych (potasowe, sodowe, wapniowe itd.), które mogą być bramkowane na różne sposoby:

- bramkowane napięciowo
- bramkowane ligandem
- bramkowane światłem
- bramkowane mechanicznie
- bramkowane cyklicznymi nukleotydami
- bramkowane temperaturą

Jednym z rodzajów kanałów jonowych są kanały potasowe. Są one najbardziej rozpowszechnionym typem kanałów jonowych. Znajdują się w komórkach prawie wszystkich organizmów żywych, od prostych bakterii, do komórek eukariotycznych roślin i zwierząt [19]. Odgrywają bardzo ważną rolę w wielu różnych procesach biologicznych np. w formowaniu impulsu elektrycznego w komórkach nerwowych i mięśniowych, w regulacji objętości cytoplazmy, w wydzielaniu niektórych hormonów [20].

Kanały potasowe należą do białek błonowych i są odpowiedzialne za pasywny transport jonów potasowych przez błonę komórkową.

Znany obecnie bardzo dużą ilość różnego typu kanałów potasowych różniących się strukturą, selektywnością, mechanizmem aktywacji i deaktywacji oraz obecności lub brakiem dodatkowych domen białkowych odpowiedzialnych np. za proces inaktywacji.

W pewnym zakresie charakterystyka transportu jonów przez wąskie pory została określona przy pomocy modeli kinetycznych opartych o klasyczne metody modelowania ciągłego (np. równanie Poissona – Boltzmanna, teoria Poissona-Nernsta-Planca, równania oparte o różne operatory dyfuzji) [21; 22; 23; 24; 25; 26], oraz o metody symulacyjne (metody Dynamiki Brownowskiej, metody dynamiki molekularnej, metody łańcuchów Markowa) [16; 18; 27; 28; 29; 30; 31; 32; 33; 34; 35; 36; 37; 38].

Pomimo istnienia szerokiego spektrum różnych modeli, dalsze badania kinetyki transport jonów przez kanały są konieczne w celu lepszego poznania ich struktury i funkcjonowania.

2.4.1. Kanał KcsA

Prokariotyczny kanał KcsA jest kanałem potasowym, aktywowanym wewnętrznym stężeniem jonów H^+ , a jego bramkowanie modulowane jest napięciem transmembranowym [13; 19; 20; 39]. Kanał KcsA zbudowany jest z czterech identycznych podjednostek, z których każda składa się z dwóch α -helis połączonych około 30 aminokwasowym łącznikiem. Światło kanału KcsA składa się z wewnętrznego poru, rozpoczynającego się od wejścia do kanału, dużej komory centralnej oraz tzw. filtra selektywnego. Dzięki filtrowi selektywnemu, kanały potasowe charakteryzują się bardzo dużą selektywnością jonów potasowych względem innych jonów obecnych w cytoplazmie oraz w obszarze między komórkowym [13].

Filtr selektywny, jako najważniejsza część kanału KcsA odpowiedzialna za jego selektywność, w dużym stopniu determinuje szybkość transportu jonów potasowych na zewnątrz komórki [20]. Z tego względu w wielu badaniach skupiono się głównie na poznaniu jego dokładnej struktury jak i mechanizmów w nim zachodzących.

Transport jonów potasowych przez filtr selektywny odbywa się w trzech krokach: dehydratacji jonów potasowych na wejściu do filtra, transport jonów przez filtr i ponownej hydratacji po wyjściu z kanału [16]. Proces dehydratacji jonów potasowych odgrywa bardzo ważną rolę w selektywności kanałów potasowych. W świetle najnowszych badań uważa się, że ułożenie przestrzenne grup karbonylowych w obszarze filtra selektywnego naśladuje geometrię hydratacji jonów potasowych, dzięki czemu wydajnie obniża barierę potencjału, którą jony muszą pokonać. Mechanizm ten jest uważany za główne źródło wysokiej selektywności kanałów potasowych względem innych jonów znajdujących się w cytoplazmie [20; 40].

Ustalono, że w filtrze selektywnym jednocześnie znajdują się dwa jony potasowe oraz dwie cząsteczki wody, które ustawione naprzemiennie tworzą „kolejkę” w kierunku wyjścia z kanału [16]. Przesunięcie tej kolejki powodowane istnieniem gradientu potencjału elektrochemicznego między komorą centralną (obszarem przed wejściem do filtra, gdzie stężenie jonów potasowych jest bardzo wysokie), a obszarem na zewnątrz komórki (niskie stężenie jonów potasowych) powoduje transport jonów potasowych do przestrzeni między komórkowej. Dokładne zrozumienie mechanizmów zachodzących w filtrze selektywnym, co jest ważną częścią niniejszej pracy, ma ogromne znaczenie dla rozwoju teorii dotyczących całej rodziny potasowych kanałów jonowych. Kanał KcsA jest jednym z najprostszych kanałów. Jego opis pozwala na dokładne zrozumienie mechanizmów zachodzących w innych białkach kanałowych, naświetla mechanizmy odpowiedzialne za selektywność oraz tłumaczy wiele z obserwowanych makroskopowo własności licznych układów kanałowych.

2.4.2. Kanały BK

Kanały BK charakteryzują się wysoką przewodnością (ok. 100-300 pS) [41; 42; 43].

Występują w wewnętrznych komórkach włosów w ślimaku (anatomiczna część ucha wewnętrznego ssaków), w mięśniach szkieletowych oraz w tkance mięśniowej gładkiej [44].

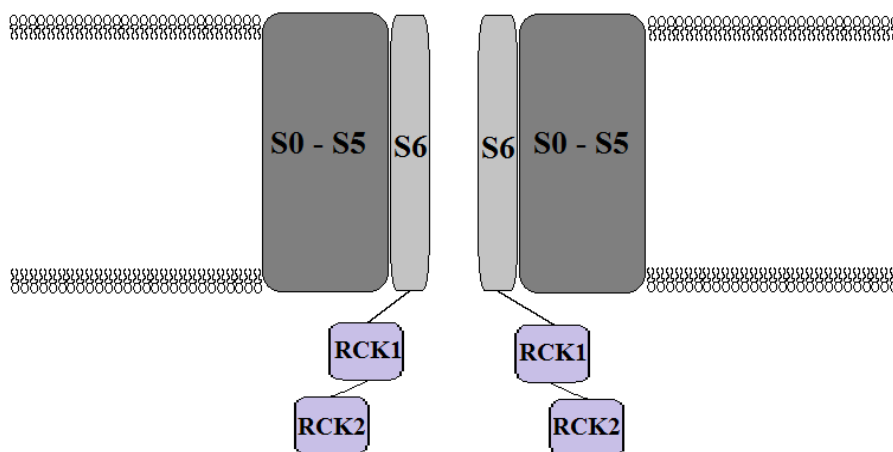
Kanały BK posiadają skomplikowany mechanizm bramkowania tzn. mogą być aktywowane zarówno poprzez depolaryzację błony komórkowej, jak i podwyższenie wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{2+} . Dzięki tym własnościom aktywacja kanałów BK w komórkach doprowadza do repolaryzacji błony (dzięki transportowi jonów K^+ na zewnątrz komórki) oraz zamykania bramkowanych napięciowo kanałów Ca^{2+} , w celu redukcji ilości jonów Ca^{2+} wchodzących do komórki. Główną rolą kanałów BK jest zatem regulowanie potencjału membranowego oraz stężenia jonów Ca^{2+} w drodze ujemnego sprzężenia zwrotnego [44]. Aktywność kanałów BK wpływa zatem m.in. na kontrolowanie przedziału czasu między poszczególnymi „wystrzałami” neuronów oraz ich częstotliwości [45], modulowanie wydzielania neurotransmiterów [46] oraz endokryny [47], regulacje częstotliwości działania komórek włosów układu słuchowego [44]. Ze względu na duże znaczenie kanałów BK w fizjologii, ich niepoprawne działanie może doprowadzić do epilepsji, osłabienia ruchowego, utraty słuchu powodowanej szumem, nadciśnienia, nietrzymania moczu oraz nadczułości pęcherza moczowego [44].

Innym czynnikiem regulującym prace kanałów BK jest wewnątrzkomórkowe stężenie jonów Mg^{2+} [48]. Przez pewien czas nie było wiadomo, czy jony magnezu wiążą się do tych samych miejsc aktywnych co jony wapniowe, czy też aktywacja kanału BK jonami Mg^{2+} wiąże się z dodatkowym mechanizmem bramkowania. W 2001 roku, dwa niezależne badania wykazały, że milimolowe stężenie jonów Mg^{2+} aktywuje kanał poprzez wiązanie się jonów magnezowych do słabo spowinowaconego miejsca wiązania, które jest niezależne od ścieżki aktywacji jonami Ca^{2+} [48]. Warto w tym miejscu zauważyć, że aktywacja kanału BK w drodze bramkowania jonami wapniowymi następuje już przy dużo niższych stężeniach jonów Ca^{2+} (w zakresie mikromolowym) [49; 50] dzięki obecności silnie spowinowaconych miejsc wiązania. Każda jednostka budująca tetrameryczny kanał BK posiada przynajmniej dwa miejsca wiązania jonów Ca^{2+} : jedno w cytoplazmatycznej części zwanej „ogonem Ca^{2+} ” [51] oraz drugie, także w cytoplazmatycznej jednostce RCK1 [50]

2.4.2.1. Budowa kanału BK

Bramkowane napięciowo oraz jonami wapniowymi kanały BK są białkami strukturalnymi składającymi się z jednostki α lub/i jednostki β . Jednostka α jest jednostką główną tworzącą strukturę kanału, a jednostka β , jeżeli jest obecna, pełni funkcje regulatorowe np. może

inaktywować kanał. Pojedynczy kanał BK jest tetrametrem zbudowanym z czterech identycznych jednostek kodowanych przez gen Slo1 [44]. Każda jednostka składa się z dwóch głównych części: membranowej oraz cytoplazmatycznej. Część membranowa zbudowana jest z siedmiu segmentów S0-S6, a część cytoplazmatyczną stanowi duża C-końcowa domena [44] (rysunek (10)).



Rysunek 10. Schemat budowy kanału BK. Segmenty S0-S6 tworzą część membranową, zaś segmenty RCK1 i RCK2 długi cytoplazmatyczny „ogon”.

Dotychczas nie udało się skryształizować kanału BK i wyznaczyć jego dokładnej struktury przestrzennej. W badaniach używa się zatem modeli homologicznych. W odniesieniu do części membranowej stosuje się znaną strukturę krystalograficzną kanału $K_v1.2$ [52], a do części cytoplazmatycznej, strukturę bramkowanego napięciowo, sześć transmembranowego, kanału K^+ z *Escherichia coli* oraz bramkowanego jonami wapniowymi kanału MthK z *Methanobacterium thermoautotrophicum* [53; 54].

Na bazie modeli homologicznych oraz znanej sekwencji genu Slo1, uważa się, że część membranowa kanału BK zawiera segmenty S1-S4 nazywane czujnikiem napięciowym (VSD – Voltage Sensor Domain) oraz segmenty S5-S6, które tworzą światło kanału (PGD – Pore-Gate Domain). Dodatkowym segmentem w części membranowej, który nie występuje w kanałach $K_v1.2$ jest segment oznaczony jako S0, zawierający N-koniec skierowany do przestrzeni międzykomórkowej [55] oraz dodatkowy długi łańcuch łączący segment S0 oraz S1.

Część cytoplazmatyczna kanału BK może być podzielona na oddzielne dwie części [56], obydwie będące homologami jednostek RCK [54] kanału MthK, oznaczone jako RCK1 (S7,

S8) i RCK2 (S9-S10). W czwartorzędowej strukturze kanału MthK osiem jednakowych jednostek RCK układa się w oktameryczny pierścień, który nazywany jest pierścieniem bramkującym (gating ring). Każda jednostka RCK połączona jest z dwiema sąsiednimi jednostkami połączeniem twardym lub elastycznym. Podobną konfigurację przestrzenną zaproponowano dla kanału BK [53], chociaż uważa się, że istnieją pewne różnice we wzajemnych położeniach segmentów RCK1 i RCK2 oraz w ich usytuowaniu względem części membranowej.

2.4.2.2. Czujnik napięciowy

Z badań eksperymentalnych wiadomo, że czułość kanału BK na napięcie zmienia się wraz ze zmianą stężenia jonów Ca^{2+} . Początkowo brano pod uwagę dwa mechanizmy mogące stać za wrażliwością kanałów BK na zmiany napięcia. Pierwszy mechanizm opierał się na założeniu, że kanał BK bramkowany jest tylko jonami wapniowymi, a zmiany napięcia wpływają wyłącznie na efektywność wiązania jonów Ca^{2+} . Drugi mechanizm zakładał, że mechanizm bramkowania napięciowego jest niezależny od bramkowania jonami wapniowym. Ostatecznie, po identyfikacji podjednostki *VSD*, drugi pogląd zyskał przewagę. Szczególnie segment S4 zawierający kilka regularnie rozmieszczonych grup Arg, wydaje się być decydującym w mechanizmie bramkowania napięciowego [57]. Makroskopowe pomiary prądu jonowego w przypadku braku jonów Ca^{2+} [58] oraz pomiary prądu bramkowania (gating current) [57] potwierdziły przypuszczenie, że kanały BK, podobnie jak kanały K_v , bramkowane są napięciowo przy pomocy podjednostki *VSD*.

Warto w tym miejscu zauważyć, że mimo podobnego mechanizmu bramkowania, kanały BK są mniej czułe na zmiany napięcia niż kanały K_v , co wynika z dużo mniejszej ilości ładunku bramkującego (gating charge) znajdującego się w podjednostce *VSD*. W kanale K_v typu Shaker efektywny ładunek bramkujący wynosi 12-13 C [59], a w kanale WT BK tylko 2.32 [60].

2.4.2.3. Połączenie VSD z bramką

W odpowiedzi na depolaryzację błony cztery czujniki napięciowe w kanałach BK przesuwają się z pozycji nieaktywnej do pozycji aktywnej. Rejestruje się to jako prąd bramkowania [58]. Aktualnie uważa się, że każdy z czujników może się aktywować niezależnie od pozostałych tak, że ich wspólna aktywacja nie jest konieczna do tego, aby kanał się odtworzył. Potwierdzeniem powyższego są pomiary prądów płynących przez kanał w ujemnym zakresie potencjałów ($\leq 20\text{mV}$), w którym wszystkie czujniki napięciowe znajdują się głównie w stanie zamkniętym. Nawet w takich warunkach rejestruje się prąd resztkowy [61], co świadczy o możliwości otwarcia bramki i przepływie jonów potasowych. Horrigan et al. zaproponował allosteryczny model (model HCA) opisujący wzajemne relacje między bramką aktywacyjną, a czujnikiem napięciowym [61]. W modelu tym czujniki napięciowe mogą przechodzić ze stanów nieaktywnych do aktywnych zarówno w stanach otwarcia jak i zamknięcia kanału. Aktywacja czujników napięciowych promuje aktywację kanału przez destabilizację stanów zamkniętych, ale nie jest obowiązkowa. Model ten pokazuje, że w kanałach BK zachodzą dwie zmiany konformacyjne. Pierwsza jest związana z czujnikiem aktywacyjnym, a druga z bramką aktywacyjną. Co ważne, żadna nie jest konieczna do wystąpienia drugiej. Wpływają za to na siebie poprzez oddziaływania allosteryczne, gdzie VSD „przyłączając się” się do miejsca allosterycznego czujnika, promuje otwarcie bramki.

Na przeciwnym biegunie do modeli allosterycznych używanych do opisu kanału BK, znajdują się „modele obowiązkowe” używane do opisu kanałów K_v . Najprostszym takim modelem jest model Hodgkina – Huxleya, w którym aktywacja czterech czujników napięciowych jest warunkiem koniecznym, aby kanał mógł przejść do stanu otwartego [13]. Gdy już to nastąpi bramka aktywacyjna musi się odtworzyć aktywując tym samym kanał.

Strukturalne podstawy oddziaływania między czujnikiem napięciowym, a bramką aktywacyjną w kanałach BK, nie zostały jeszcze dokładnie poznane. W kanałach K_v oddziaływania między łącznikiem S4-S5 oraz C-końcem segmentu S6 są istotne w oddziaływaniu czujnika napięciowego bramki aktywacyjnej [62]. Drugim ważnym czynnikiem wydają się być bezpośrednie oddziaływania między segmentem S4 i S5 [63]. Biorąc pod uwagę homologię pomiędzy kanałami BK i K_v , wydaje się, że podobne oddziaływania mogą być obecne także w kanałach BK. Z drugiej strony, obecny w kanałach BK segment, S0 oraz długi wewnątrzkomórkowy łącznik S0-S1, zwiększają masę domeny VSD potencjalnie wpływając na jej oddziaływania z PGD [64]. Innym efektem

modyfikującym oddziaływanie VSD-PGD w porównaniu do kanałów K_v , mogą być oddziaływania dużej domeny cytoplazmatycznej z czujnikiem napięciowym [64] oraz z bramką aktywacyjną poprzez oddziaływania domen RCK z segmentami S6 [65].

2.4.2.4. Czujnik wapniowy i jego połączenie z bramką aktywacyjną

Przyłączenie jonów Ca^{+2} promuje aktywację kanału BK z bardzo słabym wpływem na mechanizm aktywacji napięciowej [66]. W warunkach pomiarowych, w których wszystkie czujniki napięciowe są nieaktywne tzn. dla ujemnych wartości przyłożonego napięcia, prawdopodobieństwo otwarcia kanału rośnie kilka tysięcy razy w przedziale stężeń 0 – 100 $[\mu M]$ [57]. A więc oba sposoby aktywacji, zarówno zależny od napięcia jak i od stężenia jonów wapniowych, są równoległymi mechanizmami, niezależnie sprzężonymi z bramką aktywacyjną, choć może występować między nimi słabe oddziaływanie. Model MWC, który oryginalnie został zaproponowany jako model kooperatywnego wiązania się tlenu do hemoglobiny [58] został z powodzeniem zaadaptowany w celu odzwierciedlenia mechanizmu wiązania jonów wapniowych oraz ich wpływu na zmiany konformacyjne kanału BK. W modelu tym wiązanie jonów Ca^{2+} z dowolnym miejscem aktywnym powoduje zmiany konformacyjne bramki aktywacyjnej w kierunku aktywacji kanału, które jednocześnie wywołują zmiany konformacyjne innych miejsc aktywnych w domenach RCK, zwiększając ich powinowactwo względem jonów wapniowych. Ponieważ kanał w stanie otwarcia ma większe powinowactwo względem wiązania jonów Ca^{2+} niż kanał w stanie zamkniętym, energetycznie preferowanym stanem jest stan otwarcia ze związanymi jonami wapniowymi. Warto w tym miejscu zauważyć, że kanał BK może przejść do stanu otwartego, także w przypadku braku jonów Ca^{2+} mogących związać się z miejscami aktywnymi domen RCK [67]. Decydującym dowodem na taką własność kanału BK były pomiary prądów przy bardzo niskim stężeniu jonów wapniowych wynoszącym 0.5 $[nM]$. W takich warunkach kanał aktywował się szybciej niż w efekcie dyfuzji Ca^{2+} , a zatem kanał musiał się otworzyć nim zdążyły związać się jony wapniowe [58].

Sprzężenie między domenami RCK, a bramką aktywacyjną zachodzi prawdopodobnie poprzez 16 aminokwasowy łącznik, łączący domenę RCK1 z segmentem S6 [65]. Według homologicznego modelu opartego na kanale MthK, w którym jednostka cytoplazmatyczna

składa się z ośmiu jednakowych domen RCK tworzących pierścien aktywacyjny, wiązanie jonów wapniowych powoduje rozwarcie się pierścienia. Rozwierający się pierścień otwiera bezpośrednio kanał poprzez naprężenia powstające w łączniku łączącym go z bramką aktywacyjną [68]. W toku dalszych badań zwrócono jednak uwagę na pewne różnice między jednostkami cytoplazmatycznymi obu kanałów. Kanał BK jest bardziej czuły na stężenie jonów Ca^{2+} , struktura domen RCK jest mniej sztywna, oraz część domeny RCK1 może bezpośrednio oddziaływać z częścią membranową [64]. Różnice te sugerują, że oprócz mechanizmu sprzężenia między domenami RCK a bramką aktywacyjną, opartego na bezpośrednim ciągnięciu segmenty S6 za pomocą łącznika, istnieje także dodatkowy mechanizm oddziaływania części cytoplazmatycznej kanału z bramką. Oddziaływania między częścią domeny RCK1 (tzw. region AC), a częścią membranową, także promują wapniowo-zależną aktywację kanału BK.

2.4.2.5. Bramka aktywacyjna

Według kanonicznego modelu bramkowanych napięciowo kanałów K^+ , filtr selektywny o sygnaturze 'GYG' określa selektywność i przewodność kanału [69]. Hydrofobowe reszty aminokwasowe N-końca segmentu S6 tworzą wewnętrzne wejście do kanału blokując przepływ jonów K^+ , kiedy kanał znajduje się w stanie zamkniętym [70]. Ruch segmentu S6 wywołany działaniem bodźca lub w wyniku fluktuacji termicznych, w rejonie zawiasu Gly (w środku segmentu) [53] lub reszt Pro [71] zlokalizowanych na jego C-końcu, powoduje otwarcie bramki.

Powyższy mechanizm działania bramki aktywacyjnej, chociaż dobrze udokumentowany dla wielu kanałów potasowych, wydaje się niepełny do opisu kanałów BK. Uważa się, że w przeciwieństwie do zachowanej w procesie ewolucji struktury filtra selektywnego kanału BK, jego część tworząca światło kanału może się różnić w odniesieniu do innych bramkowanych napięciowo kanałów potasowych.

Kanały BK charakteryzują się znacząco większą przewodnością niż inne kanały K^+ , jednak ciągle zachowują wysoką selektywność. Niektóre badania wskazują, że za wysokie przewodnictwo kanałów BK może być odpowiedzialna wewnętrzna i zewnętrzna część tworząca światło kanału, ponieważ znajdujące się w tym miejscu ujemnie naładowane aminokwasy Glu przyciągają dodatnio naładowane jony K^+ (198, 199, 200, 201). Dodatkowo,

duże wejście do kanału od strony cytoplazmatycznej, oszacowane jako dwa razy większe (20Å) niż kanałów typu Shaker [72], oraz relatywnie duża część wewnętrzna (203-205), także sprzyja wysokiej przewodności kanałów BK.

2.4.2.6. Modele bramkowania kanałów BK

Kinetykę bramkowania można w najprostszy sposób zapisać następująco:



w której kanał losowo przeskakuje między dwoma stanami: otwartym (O) i zamkniętym (C), z odpowiednimi stałymi szybkości reakcji (k_o , k_c). Jeśli prawdopodobieństwa przeskoku nie zależą od poprzedniego stanu, to taki opis należy do rodziny modeli Markowa [73]. Dzięki wprowadzeniu techniki *patch-clamp* [15], stało się możliwe wykonywanie pomiarów prądów jonowych płynących przez pojedynczy kanał. Umożliwiło to wyznaczenie rozkładów prawdopodobieństwa długości czasów trwania stanów zamkniętych $f_c(t)$ oraz otwartych $f_o(t)$. W wielu przypadkach rozkład długości czasów otwarcia można w rozsądny sposób przybliżyć pojedynczą funkcją eksponencjalną. W odróżnieniu, rozkład czasów zamknięcia często wymaga przybliżenia sumą wielu funkcji eksponencjalnych. [74; 75].

$$f_c(t) = \sum_{i=1}^N c_i \lambda_i \exp(-\lambda_i t), s \quad (57)$$

gdzie współczynniki c_i mają własność:

$$\sum_{i=1}^N c_i = 1, \quad (58)$$

Często zależność (równanie (57)) może zostać zastąpiona pojedynczą funkcją typu “stretched exponential” [76] lub funkcją potęgową [76; 77; 78; 79; 80]. W przypadku zastosowania sumy wielu funkcji eksponencjalnych, rozkład taki odpowiada wielostanowym modelom Markowa. Modele tego typu zakładają, że kanał może znajdować się w wielu dyskretnych stanach, oddzielonych od siebie wysokimi barierami potencjału [76].

W modelach zawierających wiele stanów otwartych i zamkniętych istnieje możliwość allosterycznego aktywowania kanału. Przykładem mogą być niektóre modele kinetyki kanału BK [81; 82; 83].

Zaproponowany przez autorów: Horrigan, Cui i Aldrich [81] model HCA reprezentuje klasyczny, wielostanowy model Markowa opisujący napięciowo zależne bramkowanie kanału BK. Model ten opisuje w prawidłowy sposób zachowanie się kanału BK w zależności od przyłożonego napięcia, w przypadku zerowego stężenia jonów wapniowych. Główną cechą modelu HCA jest jego allosteryczny mechanizm aktywowania kanału. Odróżnia go to od wielu modeli bezpośredniego sprzężenia między stanami otwartymi i zamkniętymi zaproponowanych do opisu kinetyki bramkowania kanałów K_v (przykładem może być model Hodgkina - Huxleya) [12; 13]. W przypadku bezpośredniego sprzężenia między stanami zamkniętymi i otwartymi, aktywacja sensora napięciowego zawsze otwiera kanał. W modelach allosterycznych, aktywacja sensora nie otwiera bezpośrednio kanału, ale zwiększa prawdopodobieństwo, że to nastąpi [84].

Aktywacja kanału BK przy użyciu jonów wapniowych została ujęta w zaproponowanym przez autorów: Monod, Wyman i Changeux modelu VD-MWC [85]. Podobnie jak poprzednio, aktywacja przebiega na drodze allosterycznego oddziaływania między bramką, a czujnikiem, które zwiększa prawdopodobieństwo otwarcia kanału. Przyłączenie do któregośkolwiek z wielu miejsc wiązania jonów wapniowych obecnych w czujniku wapniowym powoduje zmiany konformacyjne w wyniku, których otwarcie kanału staje się bardziej prawdopodobne. W modelu tym, stan otwarcia ma większe powinowactwo do wiązania jonów wapniowych niż stan zamknięcia, a zatem przyłączenie jednego jonu wapniowego promuje przyłączanie następnych oraz zwiększa prawdopodobieństwo znalezienia kanału w stanie otwartym.

W literaturze zaproponowano wiele rozwinięć modeli HCA oraz MWC uwzględniających oba sposoby aktywacji kanału BK w jednym modelu [83; 86]. Wszystkie te modele są modelami wielostanowymi i, przy znajomości wartości wszystkich stałych szybkości reakcji, pozwalają na dokładny opis kinetyki bramkowania kanałów BK oraz są w stanie wygenerować przebiegi prądowe zgodne (statystycznie) z przebiegami eksperymentalnymi.

W wielu przypadkach wielostanowy rozkład czasów trwania wg modeli Markowa może zostać zredukowany do postaci pojedynczej funkcji typu „stretched exponential”. Obserwacja ta daje możliwość opisu kinetyki niektórych kanałów przy użyciu modeli fraktalnych [87; 88]

lub dyfuzyjnych [74; 75; 80; 89]. W ramach tych modeli, kanały istnieją w ciągłej przestrzeni stanów konformacyjnych, a nie w kilku dyskretnych stanach energetycznych, oddzielonych od siebie wysokimi barierami potencjału.

Klasycznym modelem dyfuzyjnym, opisującym kinetykę bramkowania kanałów potasowych jako proces dyfuzji po ogromnej ilości stanów konformacyjnych, jest model Millhauser [89]. Model ten przewiduje potęgowy rozkład czasów zamknięcia często obserwowany w niektórych typach kanałów potasowych. Rozwinięcie tego modelu dla ciągłej przestrzeni konformacyjnej, zostało zaproponowane przez Hänggię i Goychuka [74; 75]. Zaproponowany opis dobrze pokazuje zależność między charakterem rozkładów czasów trwania w zależności (wykładniczej lub potęgowej) od przyłożonego napięcia do membrany. Model ten tłumaczy także, eksponencjalną zależność między stałą szybkości otwierania się kanałów potasowych wynikającą z modelu Hodgkina-Huxleya.

Kolejnym rozwinięciem klasy modeli dyfuzyjnych w kierunku niemarkowskiej subdyfuzji zostało zaproponowane przez tych autorów w pracy [90]. W modelu tym autorzy pokazali, że subdyfuzyjna generalizacja jest w stanie odzwierciedlić główne własności rozkładów trwania czasów zamknięcia oraz przewidzieć funkcję autokorelacji występującą we fluktuacjach prądów jonowych przepływających przez kanały potasowe. Niemarkowskie rozszerzenia modeli kinetyki bramkowania kanałów potasowych podane zostały także przez innych autorów [88; 91; 92]. W tych pracach autorzy proponują alternatywny opis kinetyki bramkowania kanałów potasowych oparty na nieliniowej dynamice deterministycznej.

Wszystkie opisane modele poprawnie opisują liczne cechy kinetyki bramkowania kanałów potasowych. Niestety wiele z nich nie jest w stanie prawidłowo przewidzieć występowania korelacji dalekozasięgowych, które występują w eksperymentalnie zmierzonych przebiegach prądowych. Analiza pamięci dalekozasięgowej Hursta przebiegów prądowych rejestrowanych w kanałach BK została dobrze opisana w literaturze [93; 94; 95; 96; 97]. Zastosowana do szeregów czasowych zawierających kolejne długości czasów trwania stanów kanałowych często wykazuje charakterystykę podtrzymującą trend [98].

Wielu różnych autorów sprawdzało czy 3-, 4- i 11- stanowe modele Markowa kinetyki bramkowania kanałów BK są w stanie reprodukcować szeregi prądowe charakteryzujące się występowaniem pamięci dalekozasięgowej [93; 98]. Wszystkie próby wykazały jednak, że kilku stanowe modele Markowa nie są w stanie takiej pamięci wykazywać. Otwartym pytaniem pozostaje, czy kilkudziesięciostanowe modele Markowa dają taką możliwość?

Z dostępnych badań eksperymentalnych wynika, że pamięć dalekozasięgowa obecna w kanałowych przebiegach prądowych nie jest zależna od zewnętrznych czynników aktywujących [98; 99]. Sugeruje to, że mechanizm generujący pamięć dalekozasięgową jest związany z działaniem bramki aktywacyjnej i jest niezależny od aktywności czujników bodźców zewnętrznych.

2.5. Membrany magnetyczne

Problem rozdzielania powietrza na czysty tlen i azot oraz pozostałe gazy obecne w powietrzu ma duże znaczenie w przemyśle. Obecnie stosowane metody oparte są na destylacji kriogenicznej lub procesach membranowych [100].

Jako nową metodę wzbogacania powietrza w tlen zaproponowano metodę separacji membranowej z użyciem tzw. „membran magnetycznych” [101; 102; 103; 104; 113].

Membrany magnetyczne są to membrany polimerowe ze zdyspergowanym proszkiem neodymowym, który po namagnesowaniu wytwarza pole magnetyczne o indukcji B wynoszącej do 2.5 mT. Główna zasada działania membran magnetycznych bazuje na próbie wykorzystania fizykochemicznych różnic we własnościach tlenu i azotu w obecności pola magnetycznego. Cząsteczka singletowa tlenu jest paramagnetykiem o momencie magnetycznym wynoszącym $\mu_{O_2} = 2.95 \cdot \mu_0$, gdzie $\mu_B = 19.27 \cdot 10^{-24}$. [J/T].

Daje to wartość magnetycznego momentu dipolowego dla jednej cząsteczki tlenu wynoszącą $\mu_{O_2} = 2.73 \cdot 10^{-24}$ [J/T]. Cząsteczka azotu, w przeciwieństwie do cząsteczki tlenu nie ma własności paramagnetycznych, a posiada jedynie słabe własności diamagnetyczne. Podatność magnetyczna cząsteczki N_2 wynosi $\chi = -150.8 \cdot 10^{-6} \text{ mol}^{-1} = -2.5 \cdot 10^{-28} \text{ czastek}^{-1}$. W polu magnetycznym równym jednej Tesli daje to moment magnetyczny wynoszący tylko $\mu_{N_2} = 2.5 \cdot 10^{-28}$ [J/T]. Różnica między wartościami momentów magnetycznych cząsteczek tlenu i azotu jest zatem znacząca, co daje szanse skutecznego rozdzielania tych gazów.

W paramagnetycznej substancji, w obecności pola magnetycznego, indukowane momenty magnetyczne ustawiają się zgodnie z liniami pola, co skutkuje powstaniem siły przyciągającej paramagnetyk w kierunku źródła pola. Diamagnetyk w polu magnetycznym zachowuje się

w odwrotny sposób. Indukowane momenty magnetyczne układają się w kierunku przeciwnym do linii pola magnetycznego.

Czy jednak siły działające na cząsteczkę tlenu oraz azotu w polu magnetycznym indukowanym obecnością granulek magnetycznych w membranie są wystarczające, aby pokonać ruchy termiczne?

Aby odpowiedzieć na to pytanie rozważmy pole magnetyczne wytworzone przez magnetyczną sferę o promieniu R . Pole magnetyczne indukowane w tym przypadku opisane jest wzorem [105]:

$$B = -\mu_0 \nabla \Phi \quad (59)$$

gdzie:

$\mu_0 = 1.26 \cdot 10^{-6}$ [H/m] - stała magnetyczna próżni

Φ - potencjał pola magnetycznego

Potencjał magnetyczny Φ dla opisywanej sfery można wyznaczyć ze wzoru:

$$\Phi = \frac{|M|R^3}{3r^2} \cos\theta \quad (60)$$

gdzie: M oznacza magnetyzację (w przypadku granulki magnetycznej będącej magnesem neodymowym magnetyzacja może osiągnąć wartość $M=1.3$ [T], r jest odległością od środka sfery, a kąt θ oznacza kąt między wektorami \vec{M} i \vec{r}).

Wprowadzając do równania (60) moment magnetyczny sfery wynoszący:

$$\vec{\mu} = \frac{4}{3}\pi R^3 \vec{M} \quad (61)$$

(dla neodymowych granulek magnetycznych o średnicy $20 \mu\text{m}$ $\vec{\mu} = 4.33 \cdot 10^{-9}$ J/T).

otrzymujemy wzór na pole magnetyczne indukowane przez sferę:

$$\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \left[-\frac{\vec{\mu}}{r^3} + \frac{3|\mu|\cos(\theta)\vec{r}}{r^3} \right] \quad (62)$$

Możemy wyliczyć siłę działającą na paramagnetyczną cząstkę tlenu pochodzącą od pola indukowanego przez granulkę magnetyczną (jeżeli założymy, że ma ona w przybliżeniu kształt kuli) jako pochodną ze wzoru na energię oddziaływań magnetycznych [105]:

$$F = -\nabla(\vec{\mu}_{O_2} \cdot \vec{B}) = |\mu_{O_2}| \frac{dB_z}{dz} \quad (63)$$

gdzie: $B_z = B(\Phi = 0)$.

Pochodna B_z wynosi:

$$\frac{dB_z}{dz} = \frac{\mu\mu_0}{4\pi} \left[\frac{3}{r^4} - \frac{1}{r^4} \right] \quad (64)$$

W wytwarzanych membranach użyto granulek magnetycznych o granulacji rzędu 20-50 μm . Biorąc najmniejszą wartość, czyli $R=20 \mu\text{m}$, przy pomocy równań (63) i (64), możemy wyznaczyć siłę działającą na paramagnetyczną cząsteczkę tlenu w punkcie $r=R$ (w punkcie o maksymalnej wartości gradientu B_z) wynoszącą $F = 2.36 \cdot 10^{-18}$ [N].

Znając współczynnik lepkości polimeru, który można połączyć ze współczynnikiem dyfuzji za pomocą wzoru [7]:

$$D = \frac{kT}{\eta} \quad (65)$$

gdzie:

T – temperatura absolutna [K]

k – stała Boltzmannna

możemy wyznaczyć siłę dryfu działającą na cząsteczkę tlenu.

Z równania Langevina [7] prędkość związana z dryfem cząsteczki wynosi:

$$\bar{v} = \frac{F}{\eta} = \frac{FD}{kT} \quad (66)$$

co daje w rozpatrywanym przypadku wartość wynoszącą $\bar{v} = 0.62$ [$\mu\text{m/s}$].

Wyznaczona wielkość prędkości dryfu paramagnetycznej cząsteczki tlenu w polu magnetycznym indukowanym przez pojedynczą magnetyczną granulę jest stosunkowo niewielka. Przy grubości membrany wynoszącej $L=200 \mu\text{m}$ cząsteczka tlenu potrzebowałaby aż 5 min i 21s do jej pokonania. Wartość ta w rzeczywistości jest i tak jeszcze większa, ponieważ wyznaczona wartość prędkości dryfu odpowiada miejscu najsilniejszego oddziaływania z polem magnetycznym, czyli w punkcie, gdzie gradient pola jest największy. Jako, że gradient pola maleje z odległością jak r^4 , w rzeczywistości czas potrzebny do przebycia membrany o grubości $L=200 \mu\text{m}$ byłby dużo większy niż wyznaczone ok. 5 min. Nawet, jeżeli uwzględnimy wektorowe sumowanie się pól pochodzących od wszystkich granulek obecnych w membranie, to biorąc pod uwagę szybkość spadku wartości pola z odległością, dojdziemy do wniosku, że prędkość dryfu jest za mała, aby skutecznie wpłynąć na transport tlenu w membranie magnetycznej. Dla porównania wartość dyfuzyjnego time lagu dla rozpatrywanego układu wynosi ok. 6 s.

Do podobnego wniosku dojdziemy rozpatrując wnioski płynące z teorii błędzenia przypadkowego. W przypadku procesu błędzenia przypadkowego z dryfem prawdopodobieństwa skoków w prawo (p) i w lewo (q) dane są wzorami (30) i (31) [5].

Aby uzyskać znaczącą tendencję w ruchu w określonym kierunku np. $p=0.6$, biorąc pod uwagę wyznaczoną powyżej siłę dryfu wynoszącą $F = 2.36 \cdot 10^{-18}$ [N] potrzebowalibyśmy siatki o odległościach między sąsiednimi węzłami wynoszących $\sigma = 0.7$ [mm].

Odległość ta jest dużo większa niż grubość membrany. Jako ostateczne potwierdzenie małego wpływu dalekozasięgowych oddziaływań magnetycznych na zjawisku transportu cząsteczek tlenu w membranie magnetycznej rozważmy czysto energetyczne efekty.

Z zasady ekwipartycji energii wiemy, że średnia energia kinetyczna cząstki przypadająca na jeden stopień swobody wynosi:

$$\langle E_k \rangle = 0.5kT \quad (67)$$

W temperaturze absolutnej równej $T=300$ [K] średnia energia kinetyczna cząsteczki wynosi 10^{-21} [J] (stała Boltzmanna wynosi $k = 1.38 \cdot 10^{-23}$ [J/K]).

Jeżeli założymy, że paramagnetyczna cząsteczka tlenu umieszczona została w polu magnetycznym o indukcji równej jednej Tesli, to energia potencjalna związana z jej oddziaływaniem może być wyrażona wzorem (przy założeniu dokładnego ustawienia się momentu magnetycznego z liniami pola):

$$\phi = \vec{u} \cdot \vec{B} \quad (68)$$

Po podstawieniu do równania (68) wartości magnetycznego momentu dipolowego cząsteczki tlenu otrzymamy wartość ϕ rzędu 10^{-21} .

Wyliczona wielkość energii potencjalnej jest tego samego rzędu, co energia związana z ruchami termicznymi, a zatem oddziaływanie dalekozasięgowe między paramagnetyczną cząsteczką tlenu, a granulką magnetyczną może łatwo zostać pokonane przez fluktuacje termiczne.

Dla diamagnetycznej cząsteczki azotu, której magnetyczny moment jest jeszcze o kilka rzędów wielkości mniejszy niż dla cząsteczki tlenu, dalekozasięgowe oddziaływanie magnetyczne będzie miało jeszcze mniejszy wpływ na transport azotu przez membranę magnetyczną. W celu wyjaśnienia obserwowanego zjawiska rozdzielania azotu i tlenu przy pomocy membran magnetycznych, w niniejszej pracy skupiono się na oddziaływaniach bliskozasięgowych występujących między cząsteczkami tlenu, a granulkami magnetycznymi

(oddziaływanie z molekularnym polem Weissa). Zaproponowano istnienie kanałów magnetycznych wokół granulek magnetycznych oraz zjawisko agregacji w silnym polu magnetycznym. Powyższe koncepcje okazały się wystarczające do prawidłowego opisu zjawisk zachodzących w membranach magnetycznych oraz pozwoliły na odtworzenie mierzonych strumieni gazów oraz przewidzenie zachowania się układu w warunkach dotąd niestosowanych.

3. Materiały i metody

Materiały do badań kanałów BK, tj. ludzkie komórki nabłonka płuc uzyskano z Katedry Fizyki Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Materiały do badania kanałów magnetycznych (membrany magnetyczne) wytworzono w Zespole prof. Z.J. Grzywiny.

3.1. Pomiary i układy eksperymentalne

Pomiary prądów jonowych wykonano w Zespole Biofizyki SGGW (inż. A. Wawrzkiwicz oraz dr B. Dworakowska). Pomiary transportu powietrza przez membrany magnetyczne wykonano w Zespole prof. Z.J. Grzywiny na Politechnice Śląskiej (dr inż. A. Rybak).

3.2. Warunki pomiaru prądów jonowych płynących przez kanały BK metodą *patch-clamp*

Dokładny opis warunków pomiarowych można znaleźć w pracy [106].

Ludzkie komórki nabłonka oskrzeli zostały wyhodowane na szalce Petriego w medium Eagle (SIGMA) z dodatkami: 10% płodowej surowicy cielęcej, 100 jednostek/ml penicyliny oraz 100 µg/ml (PAA). Temperatura hodowli wynosiła 37°C, a stężenie CO₂ 5%.

Pomiary *patch-clamp* zostały wykonane w roztworze zawierającym 4 mM CaCl₂, 2mM EGTA, 10 mM HEPES, 135 mM glukonianu potasu przy pH=7.3.

Pomiary zrealizowano na łątkach z ludzkich komórek nabłonka oskrzeli w konfiguracji outside-out. Temperatura pomiaru wynosiła 20 – 25 °C. We wszystkich przypadkach, pomiary wykonano przy symetrycznym medium po obu stronach łątki.

Pipety pomiarowe zostały wykonane z borokrzemianowych kapilar o średnicy 1.2 mm. Pomiary prądów jonowych zostały wykonane przy użyciu rejestratora Axopatch 200B amplifier (Axon Instruments). Dane zostały przefiltrowane przy użyciu 10 kHz filtra dolnoprzepustowego oraz zdigitalizowane przy częstotliwości próbkowania wynoszącej 20 kHz za pomocą oprogramowania Clampex 7 software (Axon Instruments).

Pomiary otrzymane z pojedynczych kanałów zostały wstępnie przeanalizowane przy pomocy oprogramowania pClamp 7 software (Axon Instruments). Wykonano 5 pomiarów dla każdej ustalonej wartości napięcia: -80, -60, -40 -20, 20, 40, 60, 80 [mV]. Każdy pomiar został wykonany z użyciem innej łątki (razem otrzymano 40 przebiegów czasowych). Prąd kanałowy został zmierzony z najmniejszą długością trwania wynoszącą $\Delta t = 5 \cdot 10^{-5}$ [s]. Błąd pomiaru wynosił $\Delta I = 5 \cdot 10^{-4}$ pA. Każdy pomiar zawierał około $6 \cdot 10^6$ próbek.

3.3. Identyfikacja stanów kanałowych na podstawie pomiaru prądów jonowych w kanałach BK

Dokładny opis warunków identyfikacji stanów pomiarowych można znaleźć w pracy [106].

Badając eksperymentalne przebiegi prądowe, rozróżniono dwa stany, w których kanał może się znajdować: otwarty lub zamknięty. Wartość prądu granicznego rozdzielającego oba stany została wyznaczona według procedury opisanej w [78].

Rozkład gęstości prawdopodobieństwa prądu jonowego został przybliżony bezparametryczną funkcją gęstości z jądrem Epanechnikova oraz pokazany na wykresie w skali log-log. Otrzymana zależność miała charakter bimodalny i składa się z dwóch rozkładów unimodalnych, spełniających zależność potęgową. Przy użyciu metody regresji liniowej otrzymano przedziały, w których odpowiednie skalowania potęgowe są spełnione, a punkt przecięcia wskazywał na wartość prądu granicznego.

3.4. Pomiar przenikalności powietrza przez membrany magnetyczne

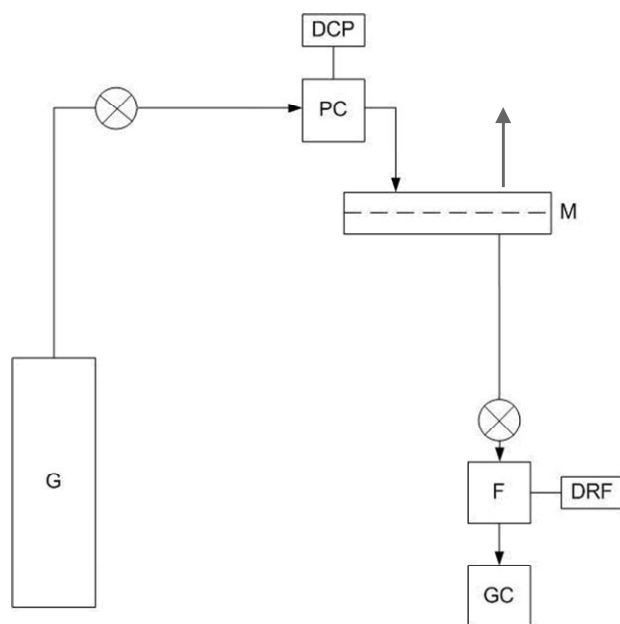
Dokładny opis syntezy membran magnetycznych oraz pomiarów przenikalności powietrza został przedstawiony w pracach [102; 104].

Membrany magnetyczne zostały przygotowane poprzez wylanie 3% roztworu etylocelulozy na szalkę Petriego wraz z dosypaniem do roztworu proszku magnetycznego w postaci neodymu lub ferrytu o granulacji z zakresu 20-50 μm i masie wynoszącej od 0.9 g do 1.6 g.

Następnie otrzymany roztwór odparowywano przez 24 h w obecności pola magnetycznego o indukcji 0 - 40 mT. Po 24 h otrzymane membrany były wyjęte z szalki Petriego, a następnie suszone w 40°C. Po wysuszeniu membrany zostały poddane dodatkowej magnetyzacji w impulsowym polu magnetycznym o wartości 2.5 T.

Następnie wykonane zostały pomiary przepuszczalności membran za pomocą pomiaru strumieni azotu i tlenu przy pomocy chromatografu gazowego.

Układ pomiarowy został pokazany schematycznie na rysunku (11).



Rysunek 11. Układ pomiarowy używany w eksperymentalnych pomiarach wartości strumieni azotu i tlenu przez membrany magnetyczne. G - pojemnik z gazem, PC – kontroler ciśnienia, DCP – cyfrowy kontroler ciśnienia, M – komora dyfuzyjna, F – przepływomierz, DRF – cyfrowy rejestrator wartości przepływu, GC- chromatograf gazowy.

3.5. Analiza pamięci dalekozasięgowej Hursta

Metoda R/S Hursta jest metodą pozwalającą na ocenę dalekozasięgowych korelacji w szeregach czasowych [95; 98]. Podstawowym kryterium oceny wspomnianej własności analizowanego szeregu czasowego stanowi wartość wykładnika Hursta (H). Wykładnik Hursta opisuje skalowanie zasięgu (R), związanego z szeregiem czasowym (w rozważanym przypadku takim procesem losowym jest błędzenie przypadkowe), znormalizowanym do zerowego średniego przyrostu:

$$R \propto t^H \quad (69)$$

Wykładnik Hursta może przyjmować wartości z zakresu 0 - 1 i daje możliwość oceny szeregów czasowych pod względem przewidywalności. Wykładnik Hursta przyjmuje wartość 0.5 dla procesu w pełni losowego (bez pamięci). W procesie losowym, jakim są ruchy Browna, zarówno odchylenie standardowe jak i zasięg R skalują się potęgowo z wykładnikiem równym 0.5. W takim przypadku nie ma żadnej korelacji między aktualną pozycją cząstki, a jej pozycją w poprzednim kroku czasowym.

Jeżeli wykładnik Hursta przyjmuje wartości z zakresu $0 < H < 0.5$ to odpowiadający mu szereg czasowy nazywamy „*anti-persistent*”. Oznacza to, że układ ma tendencję do zmieniania swojego trendu tzn. po spadku obserwowanej wartości, w kolejnym kroku czasowym bardziej prawdopodobny będzie jej przyrost, niż kolejny spadek. Podobnie sytuacja wygląda w przypadku wzrostów, po których spadki wartości są bardziej prawdopodobne. Co to oznacza w przypadku ruchów Browna cząstki?

W przypadku ruchów Browna cząstki po jednej osi, po każdym ruchu w prawo, bardziej prawdopodobny w następnym kroku czasowym, będzie krok w lewo (i na odwrót).

Jeśli wykładnik Hursta przyjmuje wartości z zakresu $0.5 - 1$, to taki szereg czasowy nazywamy „*persistent*” tzn. wykazujący tendencję do zachowywania trendu. Po każdym wzroście bardziej prawdopodobny jest kolejny wzrost, a po każdym spadku kolejny spadek.

W przypadku ruchów Browna oznacza to, że po wykonaniu kroku w prawo, cząstka ma tendencję do wykonania kolejnego kroku także w prawo, a po kroku w lewo, krok w lewo.

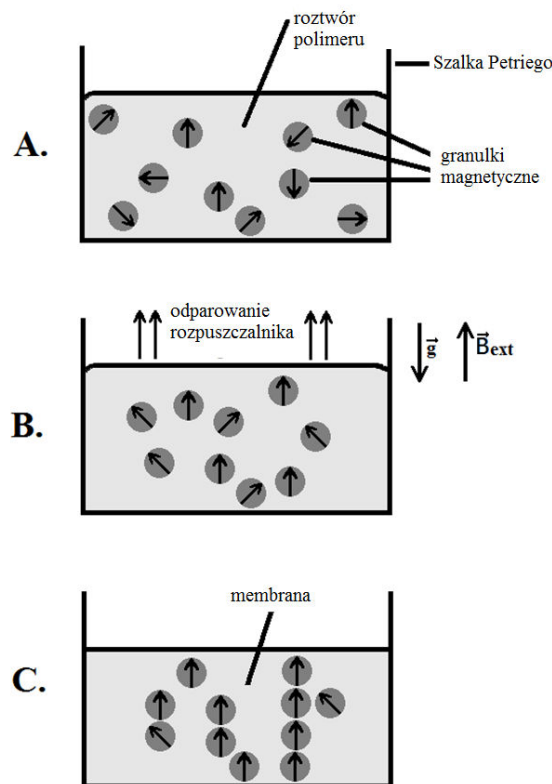
Procedurę wyznaczania wykładnika Hursta można znaleźć w pracach [95; 96; 97; 98].

3.6. Metody symulacyjne adresowane do membran magnetycznych

Jako metody symulacyjnej użyto dyskretnego błędzenia przypadkowego [5; 6; 7; 35].

3.6.1. Wyznaczanie struktury granulek w membranie magnetycznej

Procedura przygotowywania membran jest schematycznie pokazana na rysunku (12).



Rysunek 12. Kroki symulacyjne w procesie tworzenia membran magnetycznych. (A) Początkowo cząstki są równomiernie rozmieszczone w membranie. (B) Granulki, jak i odpowiednie momenty magnetyczne wykonują błędzenie przypadkowe w zewnętrznym polu: magnetycznym i grawitacyjnym. (C) Zakończenie procesu symulacji, utworzone agregaty w membranie.

W celu wyznaczenia rozkładu proszku magnetycznego w membranie wykonano serię symulacji opartych na metodach dyskretnego błędzenia przypadkowego. Membrany

polimerowe używane do wzbogacania powietrza w naszym Zespole mają następujące wymiary: średnica wynosi 7 cm, a grubość mieści się w zakresie od 100 do 300 μm . W celu wykonania serii symulacji tworzenia się struktur proszku magnetycznego w membranie, część rzeczywistej membrany o wymiarach 300 x 300 x 200 μm została przybliżona trójwymiarową siatką o stałym odstępem między węzłami zależnym od średniej granulacji danego proszku. Tak więc dla proszku o granulacji 30 μm użyto w symulacjach siatki o rozmiarach 30 x 30 x 6 węzłów. Ilość granulek magnetycznych użytych w symulacjach wyznaczona została ze znanej ilości masy dodanego proszku oraz przyjętej gęstości wynoszącej 7.5 kg/m^3 . Początkowo wszystkie granulki zostały równomiernie rozmieszczone w siatce oraz przypisano im losowy kierunek wektora momentu magnetycznego. Wektory momentu magnetycznego zostały umieszczone na dodatkowej siatce o odstępem wynoszącym 45 °C. Jako warunków brzegowych użyto warunku odbijającego dla każdej ścianki siatki. Następnie wykonano dwa procesy błędzenia przypadkowego z dryfem wynikającym z pola magnetycznego i grawitacyjnego. Pierwszy z nich dotyczył ruchu translacyjnego w przestrzeni (x,y,z) , a drugi, zmiany położenia wektora momentu magnetycznego przypisanego danej granulce magnetycznej.

Aby uprościć model założono, że wszystkie granulki magnetyczne są tej samej wielkości równej średniej granulacji danego proszku magnetycznego. Jako stałą przyjęto także wartość bezwzględną momentów magnetycznych. Wartość ta została oszacowana ze wzoru (70) i wynosiła $5.76 \cdot 10^{-11} [\text{A} \cdot \text{m}^2]$ (dla granulacji 30 [μm]) oraz $7.17 \cdot 10^{-12} [\text{A} \cdot \text{m}^2]$ (dla granulacji 15 [μm]).

$$\mu = \frac{\chi_v B_{\max} V}{\mu_o P} \quad (70)$$

gdzie:

$B_{\max} = 1.60 [\text{T}]$ - indukcja magnetyczna nasycenia

$u_o = 12.57 \cdot 10^{-7} [(\text{V} \cdot \text{s})/(\text{A} \cdot \text{m})]$ - przenikalność magnetyczna próżni

$\chi_v = 3.36 \cdot 10^{-3}$ - objętościowa podatność magnetyczna

$P = 1.05$ - przenikalność magnetyczna neodymu

$V = 1.41 \cdot 10^{-14} [\text{m}^3]$ (dla granulacji 30 [μm]) oraz $V = 1,76 \cdot 10^{-15} [\text{m}^3]$ (dla granulacji 15 [μm]) – objętość granulki magnetycznej

Symulacje zostały wykonane według poniższego schematu:

Wyznaczano wypadkowe pola potencjalne dla *i-tej* granulki:

$$U = U_{gravity} + U_{magnetic} \quad (71)$$

gdzie:

$$U_{gravity} = -mgh \quad (72)$$

(*m* – masa pojedynczej granulki magnetycznej, *g* – przyspieszenie ziemskie, *h* – wysokość względna)

$$U_{magnetic} = -\vec{\mu} \cdot (\vec{B}_{granules} + \vec{B}_{external}) \quad (73)$$

($\vec{B}_{granules}$ - indukcja magnetyczna pochodząca ze wszystkich granulek magnetycznych (oprócz *i-tej*),

$\vec{B}_{external}$ - indukcja pola zewnętrznego przyłożonego w poprzek membrany

Składowe wektora $\vec{B}_{granules}$ zostały wyznaczone ze wzoru:

$$\begin{aligned} B_x(x, y, z) &= \frac{\mu_0}{4\pi} \left(\frac{3(mx + ny + pz)x}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}} - \frac{m}{(x^2 + y^2 + z^2)^{3/2}} \right) \\ B_y(x, y, z) &= \frac{\mu_0}{4\pi} \left(\frac{3(mx + ny + pz)y}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}} - \frac{n}{(x^2 + y^2 + z^2)^{3/2}} \right) \\ B_z(x, y, z) &= \frac{\mu_0}{4\pi} \left(\frac{3(mx + ny + pz)z}{(x^2 + y^2 + z^2)^{5/2}} - \frac{p}{(x^2 + y^2 + z^2)^{3/2}} \right) \end{aligned} \quad (74)$$

gdzie:

m, n, p oznaczają składowe momentu magnetycznego w kierunkach *x, y, z*.

Następnie wykonano losowy krok w ruchu translacyjnym dla *i-tej* granulki. Prawdopodobieństwa skoku granulki w prawo (*p*) bądź w lewo (*q*) zostały wyznaczone jako proporcjonalne do czynników Boltzmanna w postaci:

$$B_f \approx \exp\left(\frac{-\Delta U}{kT}\right) \quad (75)$$

gdzie: ΔU – zmiana energii potencjalnej związana z przemieszczeniem się granulki magnetycznej, k – stała Boltzmann, T – temperatura bezwzględna.

Biorąc pod uwagę równanie (75) otrzymano następujące wzory na p i q :

$$p = \frac{\exp\left(\frac{-\Delta U_p}{kT}\right)}{\exp\left(\frac{-\Delta U_q}{kT}\right) + \exp\left(\frac{-\Delta U_p}{kT}\right)} \quad (76)$$
$$q = 1 - p$$

gdzie:

ΔU_q – zmiana energii potencjalnej związana z ruchem granulki z pozycji początkowej (x) do pozycji końcowej ($x-l$)

ΔU_p – zmiana energii potencjalnej związana z ruchem granulki z pozycji początkowej (x) do pozycji końcowej ($x+l$)

Następnie wykonano losową zmianę położenia wektora momentu magnetycznego. Prawdopodobieństwa, że dany kąt, względem danej osi, wzrośnie (p) lub zmaleje (q) o kąt wynoszący 45 stopni zostały wyznaczone analogicznie, jak w ruchu translacyjnym, przy użyciu wzorów (75) oraz (76).

3.6.2. Ocena jakości struktur powstałych w membranach magnetycznych

Rozkład granulek magnetycznych w membranie magnetycznej odgrywa bardzo ważną rolę w procesie rozdzielania tlenu i azotu.

W celu oceny wpływu warunków eksperymentalnych takich jak: masa dodanego proszku magnetycznego, jego granulacja oraz indukcja zewnętrznego pola magnetycznego na jakość danej membrany, zaproponowano następujący parametr Q (współczynnik jakości membrany).

Z praktycznego punktu widzenia, wprowadzenia współczynnika Q umożliwia prostą oraz szybką ocenę membran pod względem wpływu różnych parametrów na efektywność separacji azotu i tlenu przy udziale membran magnetycznych.

Zaproponowany współczynnik jakości ma postać:

$$Q = \frac{A_{granulek} \left(\sum_{l=1}^L \left(\frac{n_l}{n} \cdot D_l \cdot l \right) \right)}{V_{membrany}} \quad (77)$$

gdzie:

l – długość kanału magnetycznego w kierunku permeacji,

L – grubość membrany

n_l – liczba węzłów startowych w kanale magnetycznym, z których istnieje możliwość przemieszczenia się o odległość l bez opuszczania kanału

$A_{granulek}$ – pole powierzchni granulki magnetycznej

D_l – współczynnik dyfuzji, z jakim cząstka pokonuje w kanale odległość $\pm l$ w kierunku permeacji, uśredniony po wszystkich możliwych pozycjach startowych w obrębie kanałów magnetycznych (x,y,z) . Jest on wyrażony jako $D_l(x,y,z) = l^2/\tau_l$, gdzie τ_l jest średnim czasem potrzebnym, aby osiągnąć przemieszczenie $\pm l$ rozpoczynając błądzenie przypadkowe z punktu (x,y,z) (uśrednione po 1000 realizacji).

$V_{membrane}$ - objętość membrany

$A_{granules}$ - powierzchnia wszystkich granulek magnetycznych znajdujących się w membranie

Ze wzoru (77) wynika, że jakość membrany rośnie wraz ze wzrostem ilości kanałów magnetycznych, która jest proporcjonalna do powierzchni granulek. Dalsze czynniki obecne w równaniu (77) opisują przestrzenną konfigurację granulek magnetycznych w membranie. Czynniki $\frac{n_l}{n} l$ rośnie wraz ze wzrostem liczby ścieżek w obrębie kanałów magnetycznych umożliwiających cząstką błądzić w kierunku permeacyjnym bez przeszkód. Wartości $\frac{n_l}{n} l$, jak i wartości D_l są większe, jeżeli granulki magnetyczne w membranie tworzą struktury o charakterze kolumnowym tzn. granulki układają się jedna na drugiej w kierunku permeacyjnym tworząc niejako prostą drogę dla błądzących w kanałach magnetycznych cząstek azotu i tlenu.

Wszystkie nieznanne wartości w równaniu (77) zostały wyznaczone w dodatkowej symulacji opartej na błądzeniu przypadkowym, w której w każdym miejscu siatki umieszczono cząstkę i pozwolono jej błądzić przypadkowo po dostępnej strukturze proszku magnetycznego. Sprawdzano, czy z danego miejsca cząstka jest w stanie przemieścić się po osi z na odległość $\pm l$, następnie notowano liczbę kroków czasowych potrzebny do tego zdarzenia oraz z

otrzymanych danych wyznaczono wartości D_i . Warto także zauważyć, że współczynnik Q ma wymiar współczynnika dyfuzji [cm^2/s]. Wynika z tego, że jest on niejako przeskalowanym i uśrednionym, efektywnym współczynnikiem dyfuzji cząstek w kierunku permeacyjnym po strukturze utworzonej przez granulki magnetyczne.

Aby otrzymać miarę jakości membrany jako wielkość bezwymiarową, a jednocześnie jako relatywną ocenę struktury w odniesieniu do struktury referencyjnej, wyznaczone wartości Q zostały znormalizowane przez wyznaczoną wartość jakości Q_{ref} dla membrany o wymiarach o $300 \times 300 \times 200 \mu\text{m}$, w której wszystkie pozycje zostały zajęte przez granulki magnetyczne o granulacji $30 \mu\text{m}$.

Oznacza to, że struktura o wartościach $Q_{nor} < 1$ jest strukturą gorszą niż struktura w membranie referencyjnej. Gdy $Q_{nor} = 1$ to dana struktura jest równoważna ze strukturą referencyjną, a w przypadku, gdy $Q_{nor} > 1$, otrzymana struktura jest lepsza niż w membranie o wymiarach $300 \times 300 \times 200 \mu\text{m}$, w której wszystkie pozycje zostały zajęte przez granulki magnetyczne o granulacji $30 \mu\text{m}$.

3.6.3. Wyznaczanie strumieni azotu i tlenu przez modelowane membrany magnetyczne

Transport azotu i tlenu przez membranę magnetyczną zamodelowano za pomocą technik błędzenia przypadkowego. Przestrzeń dyfuzyjna została przedstawiona jako trójwymiarowa siatka o wymiarach $100 \times 100 \times 60$ węzłów, o stałym odstępem między węzłami wynoszącym $dx=3 \mu\text{m}$, co odpowiadało fizycznym wymiarom modelowanej siatki $300 \times 300 \times 180 \mu\text{m}$. Średnia granulacja proszku magnetycznego użytego w symulacjach wynosiła $9 - 45 \mu\text{m}$ (rysunek (13)).

Rozkład proszku magnetycznego został wyznaczony tak, jak to zostało opisane w podrozdziale 3.6.1. Jako kanał magnetyczny przyjęto węzły znajdujące się w bezpośrednim sąsiedztwie granulek magnetycznych.

Następnie na siatce wykonano błędzenie przypadkowe cząsteczek tlenu i azotu.

Warunek początkowy i brzegowe wyglądały następująco:

$$C(x, y, z, t = 0) = 0, C(x, y, z=0\mu\text{m}, t) = const, C(x, y, z=200\mu\text{m}, t) = 0$$

Pozostałe warunki brzegowe zostały założone jako warunki odbijające.

Warto w tym miejscu zauważyć, że znacznie utrudnionym zadaniem byłoby wykonanie symulacji odpowiadających eksperymentalnej liczbie cząsteczek tlenu i azotu w membranie. W warunkach ustabilizowanego przepływu liczba cząstek w membranie przyjmuje wartości rzędu 10^{13} . Liczba ta uniemożliwia wykonanie błędzenia przypadkowego każdej z cząstek osobno. Aby rozwiązać ten problem pojedyncze cząstki zastąpiono makrocząstkami (jedna makrocząstka zawierała wiele cząstek azotu lub tlenu). W przypadku, gdy symulacja oddaje warunki eksperymentalne, w których jako strumień zasilający zostało użyte powietrze syntetyczne, opis z użyciem makrocząstek musi zostać zastosowany z wielką ostrożnością. Problem stanowi w tym przypadku prawidłowe ujęcie prawdopodobieństwa spotkania się cząsteczek azotu i tlenu, co może powodować zjawisko ich agregacji. Aby to prawdopodobieństwo było wyznaczone poprawnie wyliczono najpierw prawdopodobieństwo spotkania się jednej cząsteczki azotu i jednej cząsteczki tlenu w obszarze kanału magnetycznego w sytuacji, gdyby błędzenie cząstek odbywało się po siatce o odległościach między węzłami równych średniej wielkości cząsteczek azotu i tlenu. Następnie tak dobrano ilość cząsteczek w jednej makrocząstce, by prawdopodobieństwo spotkania się dwóch makrocząstek, $p_{\text{spotkania makrocząstek}}$, (jednej zawierającej cząsteczki azotu i drugiej zawierającej cząsteczki tlenu), w sytuacji dyfuzji makrocząstek po siatce o odległości między węzłami $3 \mu\text{m}$, było równe $p_{\text{spotkania cząsteczek}}$.

Wyznaczona liczba makrocząstek wynosiła 45 makrocząstek tlenu oraz 225 makrocząstek azotu obecnych w membranie w stanie stacjonarnym, co odpowiadało liczbie 10^{12} cząsteczek na makrocząstkę.

Podczas błędzenia przypadkowego makrocząstki mogą zajmować pozycje w obszarze polimerowym lub w kanale magnetycznym. Współczynnik dyfuzji w obszarze polimerowym wynosi: $D_{\text{polymer}}=10^{-5} [\text{cm}^2/\text{s}]$ [107]

Współczynnik dyfuzji Knudsena w obrębie kanału magnetycznego o promieniu r został wyznaczony ze wzoru [108]:

$$D_k = \frac{2}{3} r \sqrt{\frac{8RT}{\pi M}} \quad (78)$$

gdzie:

R – stała gazowa [J/(mol K)],

T - temperatura absolutna [K],

M – masa molowa dyfundujących cząstek [kg/mol]

Prawdopodobieństwo wejścia tlenu do kanału zostało wyznaczone jako proporcjonalne do czynników Boltzmanna w postaci:

$$B_f \approx \exp\left(\frac{-\Delta U_{channel-polymer}}{kT}\right) \quad (79)$$

gdzie:

$$\Delta U_{channel-polymer} = U_{channel} - U_{polymer} = -\vec{\mu}_{O_2} \cdot \vec{B} \quad (80)$$

jest różnicą energii potencjalnej cząsteczki tlenu między obszarem polimeru, a kanałem magnetycznym, k jest stałą Boltzmanna, T oznacza temperaturę bezwzględną.

W celu uproszczenia modelu założono, że dalekozasięgowe oddziaływania magnetyczne mogą być pominięte, więc: $U_{polymer} = 0$.

Po wejściu do kanału magnetycznego cząsteczki wykonują w nim błędzenie przypadkowe. Jako, że współczynniki dyfuzji w kanale są większe niż współczynniki dyfuzji w polimerze, cząstki wykonują w nim przynajmniej kilka kroków przestrzennych (rozmiar kroku przestrzennego jest zawsze stały) na jeden krok czasowy w obszarze polimerowym. Dokładna liczba kroków czasowych jest zależna od współczynnika dyfuzji rozpatrywanej cząstki w kanale magnetycznym, w danych warunkach symulacji. Współczynniki dyfuzji w kanale, w którym transport podlega dyfuzji Knudsena są, nawet dla bardzo wąskiego kanału przynajmniej, kilka razy większe niż w części polimerowej. A więc, kiedy dyfundująca cząstka wchodzi w obszar kanału, to jest zdolna wykonać kilka skoków przypadających na jeden skok w obszarze polimerowym.

Prawdopodobieństwo wejścia do kanału (p_c) lub pozostania w części polimerowej (q_c) zostały wyznaczone z poniższych wzorów:

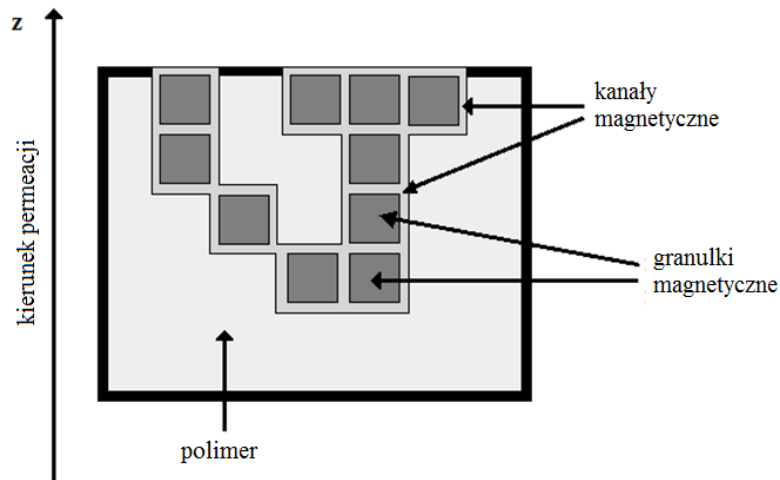
$$p_c = \frac{\exp\left(\frac{-\Delta U_{channel-polymer}}{kT}\right)}{1 + \exp\left(\frac{-\Delta U_{channel-polymer}}{kT}\right)} \quad (81)$$

$$q_c = 1 - p_c$$

Dla diamagnetycznego azotu zmiany energii potencjalnej związanej z polem magnetycznym są dużo mniejsze niż energia ruchów termicznych, a więc prawdopodobieństwa p_c i q_c dla azotu zostały założone jako stałe i równe 0.5.

Po wykonaniu określonej liczby kroków, dyfundująca cząstka miała możliwość powrotu do polimeru, bądź pozostania w obszarze kanału magnetycznego. Dodatkowo, ponieważ kanały są otwarte od strony permeatu, cząsteczki w czasie transportowania przez kanał magnetyczny mogą bezpośrednio z niego opuścić membranę. Odpowiednie prawdopodobieństwa zostały wyliczone zgodnie z równaniem (81).

Otrzymane w ww. symulacjach wartości strumieni azotu i tlenu są sparametryzowane i zależą od masy proszku magnetycznego, jego granulacji oraz indukcji przyłożonego pola magnetycznego podczas formowania membran.



Rysunek 13. Dwuwymiarowa, schematyczna reprezentacja modelu. Kanały magnetyczne tworzone są na granicy polimer – granulka magnetyczna.

Podczas błędzenia przypadkowego w kanale magnetycznym cząsteczki azotu i tlenu mogą się spotkać, co według [107] może prowadzić do ich agregacji. W symulacji fakt ten został ujęty w następujący sposób: kiedykolwiek dwie różne, błędzące przypadkowo w kanale

makrocząstki zajmą tą samą pozycję, zaczynają błędzić razem, jako agregat ze swoim własnym współczynnikiem dyfuzji.

Zakłada się, że agregaty istnieją tylko w obszarze silnego pola magnetycznego [104], które istnieje wyłącznie przy powierzchni granulek magnetycznych, czyli w obszarze kanałów magnetycznych. W czasie błędzenia w kanale agregat może się rozpaść pod wpływem drgań termicznych, w momencie opuszczania kanału lub, gdy napotka nieciągłość pola Weissa. Założono, że takie nieciągłości występują na styku dwóch granulek magnetycznych lub na styku domen magnetycznych w obrębie jednej granulki. Wszystkie te przyczyny mogą zostać zawarte w symulacjach przez uwzględnienie współczynnika stabilności $s = f(M, r)$, który jest funkcją magnetyzacji i wielkości granulek magnetycznych.

Wartość współczynnika stabilności waha się w zakresie 0 - 1 i opisuje prawdopodobieństwo, że agregat nie rozpadnie się po wykonaniu połowy kroków przestrzennych przypadających na jeden krok czasowy w obszarze polimeru.

Prawdopodobieństwo opuszczenia kanału przez makrocząstkę agregatu jest mniejsze niż prawdopodobieństwo opuszczenia kanału przez makrocząstkę tlenu ze względu na to, że makrocząstka agregatu jest większa niż makrocząstka tlenu [109]. Wynika z tego, że czas wymagany, by błędząca przypadkowo cząstka napotkała fluktuację wolnej przestrzeni, a tym samym mogła wykonać skok, zależy eksponencjalnie od rozmiaru (objętości) cząstki.

W rozpatrywanym przypadku prawdopodobieństwo wyjścia agregatu z kanału wynosi [107]:

$$P_{\text{aggregate}} = \frac{P_{O_2}}{7.29}. \quad (82)$$

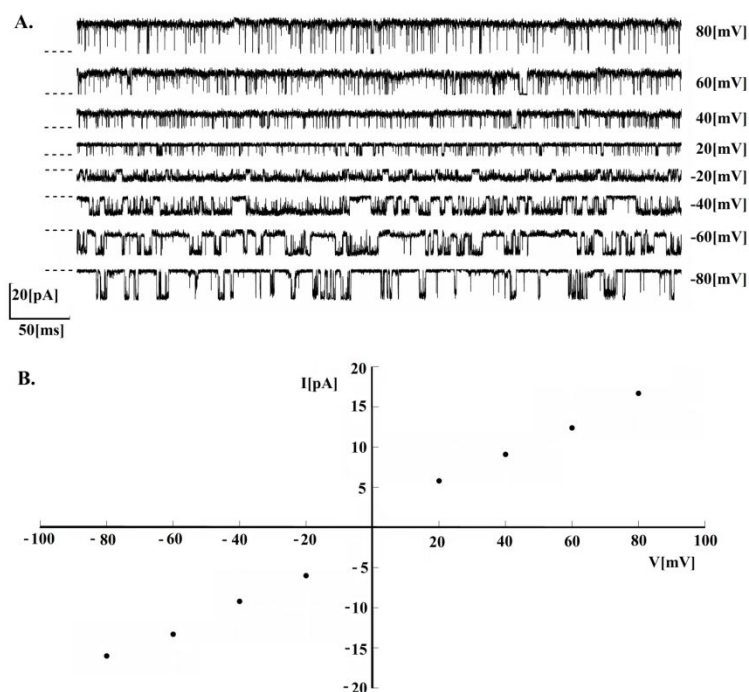
3.7. Wyniki doświadczalne

3.7.1. Analiza danych eksperymentalnych otrzymanych dla kanałów BK

Dokładny opis danych eksperymentalnych można znaleźć w pracy [106].

Przykładowe, zarejestrowane przebiegi prądów jonowych oraz ich zależność od napięcia zostały przedstawione na rysunku (14).

Jak można zauważyć na rysunku (14A), zależność natężenia prądu płynącego przez kanał do przyłożonego napięcia w kanałach BK jest charakterystyczna dla wielu, bramkowanych napięciowo, kanałów potasowych. Zgodnie z rysunkiem (14B) wartość potencjału, przy którym następuje odwrócenie strumienia jonów wynosiła 0 mV. W warunkach eksperymentalnych średnie przewodnictwo wynosiło 235.6 pS.



Rysunek 14. (A) Próbkę eksperymentalnych pomiarów prądów jonowych uzyskanych metodą patch-clamp z kanałów BK. Pomiary zostały wykonane przy różnych wartościach napięcia, ale przy ustalonym stężeniu jonów $[Ca^{2+}] = 2[mM]$. (B) Zależność napięciowo-natężeniowa dla pomiarów prądów jonowych przedstawionych w części A.

W tabeli (1) pokazano wartości prawdopodobieństwa otwarcia p_o i współczynnika Hursta H dla danych eksperymentalnych w zależności od przyłożonego napięcia, w warunkach stałego stężenia jonów Ca^{2+} wynoszącego 2 mM. Nie stwierdzono żadnego znaczącego wpływu wartości przyłożonego napięcia na wartości współczynnika H , co potwierdza przypuszczenie o braku takiego oddziaływania w przypadku kanałów BK. Obserwowane zmiany współczynnika H są małe (ok. 0.1) co jest zgodne z wartością odchylenia standardowego współczynnika Hursta [96]. Średni współczynnik kwadratowy r regresji

liniowej (użytej przy wyznaczaniu wartości H) dla eksperymentalnych przebiegów czasów trwania wynosił 0.992.

Tabela 1. Średnie, eksperymentalne wartości współczynników Hursta (H), prawdopodobieństwa otwarcia (p_o), oraz średnie długości czasów trwania stanów zamkniętych i otwartych (T_{open} and T_{closed}) wyznaczone dla $[Ca^{2+}] = 2[mM]$ przy różnych wartościach napięcia przyłożonego w poprzek membrany w kanałach BK.

V[mV]	$H \pm \Delta H$	$p_o \pm \Delta p_o$	$T_{open} \pm \Delta T_{open}$ [ms]	$T_{closed} \pm \Delta T_{closed}$ [ms]
-80	$0,70 \pm 0,05$	$0,17 \pm 0,02$	$0,70 \pm 0,10$	$0,46 \pm 0,10$
-60	$0,76 \pm 0,02$	$0,33 \pm 0,07$	$1,00 \pm 0,30$	$0,60 \pm 0,20$
-40	$0,63 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,03$	$1,30 \pm 0,15$	$0,80 \pm 0,10$
-20	$0,73 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,07$	$1,20 \pm 0,20$	$0,25 \pm 0,10$
20	$0,82 \pm 0,05$	$0,86 \pm 0,07$	$1,90 \pm 0,35$	$0,25 \pm 0,10$
40	$0,63 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,01$	$2,80 \pm 0,15$	$0,20 \pm 0,05$
60	$0,75 \pm 0,08$	$0,94 \pm 0,04$	$2,85 \pm 0,85$	$0,65 \pm 0,35$
80	$0,77 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,06$	$3,10 \pm 0,40$	$0,25 \pm 0,10$

Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami znanymi z literatury [98].

Analogicznie, wartość stężenia jonów wapniowych nie wpływają na wartość H [99].

3.7.2. Analiza danych eksperymentalnych transportu azotu i tlenu w kanałach magnetycznych

Idea użycia membran magnetycznych do rozdziału tlenu i azotu została oryginalnie zaprezentowana w pracach [102; 104; 107; 107]. Z pracy [107] możemy odczytać wartości strumieni tlenu i azotu dla sześciu wartości indukcji magnetycznej (zmierzonej pośrednio przez pomiar wartości indukcji magnetycznej przy ścianie membrany) w dwóch przypadkach: gdy oba gazy były przepuszczane przez membranę osobno oraz w przypadku, gdy przepuszczono je razem, w postaci powietrza syntetycznego. Jako punkt odniesienia podano także wartości strumieni dla membrany nienamagnesowanej, składającej się tylko z polimeru. Jako, że pomiary zostały wykonane dla membran o różnej grubości i dla różnych stężeń gazów od strony strumienia zasilającego, strumienie azotu i tlenu zostały znormalizowane względem stałej grubości membrany wynoszącej $L=200 [\mu m]$ (wykres (1), tabela (2)) oraz do grubości $L=200 [\mu m]$ i stężenia $C_o=1$ (wykres (2), tabela (3)).

Tabela 2. Wartości zmierzonych strumieni azotu i tlenu dla membrany polimerowej oraz membran magnetycznych o różnym stopniu magnetyzacji.

	B[mT]	Masa proszku [g]	J _{N2} w powietrzu	J _{O2} w powietrzu	J _{N2} czysty	J _{O2} czysty	$\left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$
Membrana polimerowa	---	---	2.24	0.68	2.84	3.84	
Membrana magnetyczna	0	1.30	5.81	1.53	5.03	7.91	
	0.18	1.10	5.11	1.64	4.33	6.43	
	0.29	1.20	5.47	2.01	4.66	7.26	
	0.50	1.30	5.29	2.31	4.32	6.33	
	0.79	1.38	7.52	4.68	3.90	6.99	
	1.25	1.49	8.85	6.92	2.18	7.80	

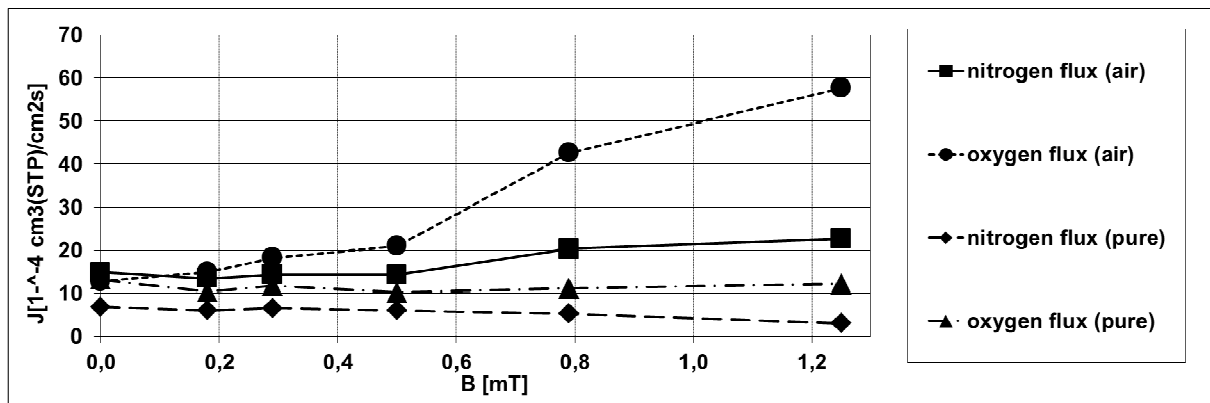
Tabela 3. Wartości zmierzonych strumieni azotu i tlenu dla membrany polimerowej oraz membran magnetycznych o różnym stopniu magnetyzacji. Pomiary zostały wykonane dla czystych gazów oraz dla mieszaniny. Warunek brzegowy $C(0,t)=C_0$ znormalizowano do $C_0=1$, a grubość membrany do $L=200\mu\text{m}$.

	B[mT]	Masa proszku [g]	J _{N2} w powietrzu	J _{O2} w powietrzu	J _{N2} czysty	J _{O2} czysty	$\left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$
Membrana polimerowa	---	---	4.48	6.18	4.00	5.45	
Membrana magnetyczna	0	1.30	14.90	12.79	6.89	13.18	
	0.18	1.10	13.45	14.94	6.09	10.37	
	0.29	1.20	14.38	18.25	6.56	11.71	
	0.50	1.30	14.31	20.98	6.08	10.20	
	0.79	1.38	20.32	42.55	5.34	11.09	
	1.25	1.49	22.69	57.65	3.03	12.18	

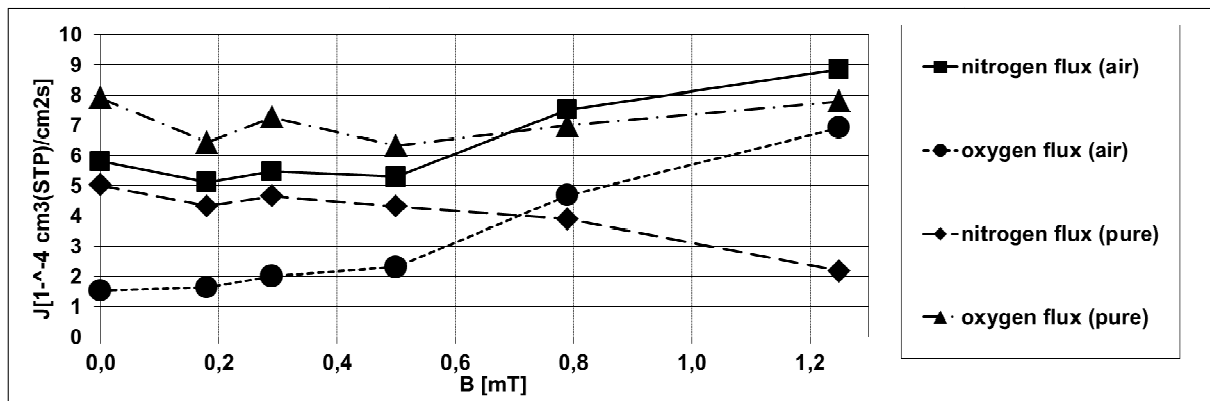
Rzeczywiste wartości stężeń C_o dla czystych składników oraz dla składników w mieszaninie pokazane są w tabeli (4).

Tabela 4. Stężenia azotu i tlenu na ściance od strony strumienia zasilającego.

C_{oN_2} w powietrzu	C_{oO_2} w powietrzu	C_{oN_2} czysty	C_{oO_2} czysty	$\left[\frac{cm^3_{STP}}{cm^3} \right]$
0.50	0.11	0.71	0.63	



Wykres 1. Wartości zmierzonych strumieni azotu i tlenu dla membran magnetycznych o różnym stopniu magnetyzacji. Pomiary zostały wykonane dla czystych gazów oraz dla mieszaniny.



Wykres 2. Wartości zmierzonych strumieni azotu i tlenu dla membran magnetycznych o różnym stopniu magnetyzacji. Pomiary zostały wykonane dla czystych gazów oraz dla mieszaniny. Warunek brzegowy $C(0,t)=C_o$ znormalizowano do $C_o=1$, a grubość membrany do $L=200\mu m$.

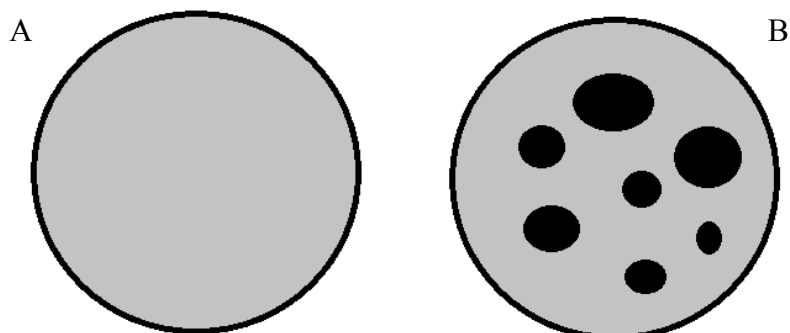
W oparciu o podwójnie znormalizowane dane eksperymentalne dla czystych składników możemy wyciągnąć następujące wnioski.

Porównując wartości strumieni azotu i tlenu dla czystej membrany polimerowej ($J_{N_2} = 4.00 \left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$, $J_{O_2} = 5.45 \left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$) z wartościami strumieni dla nienamagnetyzowanej membrany magnetycznej ($J_{N_2} = 6.89 \left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$, $J_{O_2} = 13.18 \left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$) możemy zaobserwować wzrost ich wartości po dodaniu do membrany polimerowej granulek magnetycznych. Jest to wynik o tyle zaskakujący, że dodanie granulek magnetycznych do membrany polimerowej zmniejsza efektywną powierzchnię przekroju, co powinno zmniejszać strumień, a nie zwiększać (rysunek (15)). Aby wytłumaczyć wzrost strumienia, który obejmuje zarówno diamagnetyczny azot jak i paramagnetyczny tlen można założyć postulowane w [107] istnienie kanałów magnetycznych. Przez kanał magnetyczny rozumie się przestrzeń na granicy międzyfazowej polimer-granulka magnetyczna, w której transport masy następuje z dużo większym współczynnikiem dyfuzji, niż w części polimerowej (rysunek (16)).

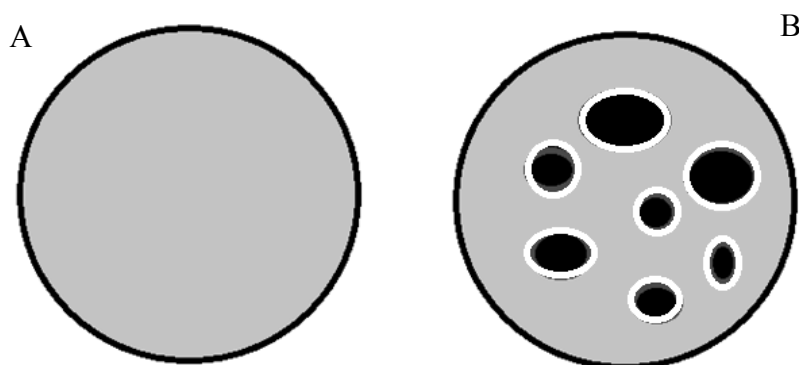
Następnie możemy zauważyć, że wzrost strumienia tlenu jest jednak wyraźnie większy (ok. 2.42 razy) niż dla azotu (ok. 1.72 razy). Biorąc pod uwagę, że wyznaczone z danych pomiarowych współczynniki dyfuzji obu gazów w membranie polimerowej mają podobną wartość, wynoszącą dla azotu $D_{N_2} = 0.8 \cdot 10^{-5} \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \right]$ oraz dla tlenu $D_{O_2} = 1.09 \cdot 10^{-5} \left[\frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \right]$, różnicy w przyspieszeniu transportu należy szukać w odmiennych własnościach magnetycznych obu gazów. Jeżeli założymy istnienie kanałów magnetycznych, to w celu zaobserwowania wzrostu strumienia tlenu, wystarczy założyć jego większe powinowactwo względem kanału.

Taki efekt może pochodzić od oddziaływań tlenu z polem Weissa. Pole Weissa jest to pole molekularne i przedstawia energię oddziaływań wymiany spinowej, która umożliwia w ferromagnetykach utrzymanie wspólnej orientacji elementarnych momentów magnetycznych. Typowe wartości pola Weissa leżą w zakresie od 100 do 1000 [T] [110; 111], co przy podstawieniu do równania (80) umożliwia utrzymanie cząsteczek tlenu przy powierzchni granulki magnetycznej (czyli w obrębie kanału magnetycznego o wysokim współczynnikiem dyfuzji) wbrew ruchom termicznym. Azot także ma możliwość przypadkowego wejścia do kanału, ale pokona w nim średnio mniejszą drogę. Po napotkaniu

fluktuacji wolnej przestrzeni polimeru, ma wyższe prawdopodobieństwo opuszczenia kanału niż tlen, który jest związany z powierzchnią magnetyczną granulki za pomocą pola Weissa.



Rysunek 15. (A) Jednorodna membrana polimerowa umożliwia transport cząstek przez całą powierzchnię poprzeczną membrany. (B) W membranie wypełnionej granulkami magnetycznymi (czarne pola) pole przekroju dostępne dla dyfundujących cząstek zmniejsza się.



Rysunek 16. (A) Jednorodna membrana polimerowa umożliwia transport cząstek przez całą powierzchnię poprzeczną membrany. (B). Wypełnienie membrany granulkami magnetycznymi powoduje zmniejszenie udziału części polimerowej, jednak powoduje powstanie przestrzeni międzyfazowej (kanał magnetyczny) na granicy granulka magnetyczna – polimer. Jeśli obszar ten ma dużo większy współczynnik dyfuzji, skutkuje to zwiększeniem rejestrowanych strumieni.

Wraz ze wzrostem magnetyzacji granulek magnetycznych umieszczonych w membranie

polimerowej obserwujemy spadek strumienia azotu od wartości $J_{N_2} = 6.89 \cdot 10^{-4} \left[\frac{cm^3_{STP}}{cm^2 \cdot s} \right]$ (dla

membrany nienamagnetyzowanej) do wartości $J_{N_2} = 3.03 \cdot 10^{-4} \left[\frac{cm^3_{STP}}{cm^2 \cdot s} \right]$ (dla membrany o

magnetyzacji równej 1.25 [T]). Dla czystego tlenu nie obserwuje się jakiegoś stałego trendu,

po początkowym spadku, strumień wraca do wartości dla membrany nienamagnetyzowanej. Owe obserwacje możemy wytłumaczyć kompresją kanału powodowaną wzajemnym przyciąganiem się granulek magnetycznych. Kompresja kanału powoduje wyraźny spadek strumienia czystego azotu, zaś ten sam efekt dla czystego tlenu jest mniejszy, ze względu na rosnące oddziaływanie z polem Weissa.

Oba gazy zachowują się odmiennie w przypadku powietrza syntetycznego – ich strumienie rosną wraz ze wzrostem magnetyzacji. Efekt ten można wytłumaczyć tworzeniem się agregatów magnetycznych o składzie 1 cząsteczka azotu – 1 cząsteczka tlenu, w obszarze silnego pola magnetycznego – w kanale magnetycznym [107].

4. Badania własne

Badania własne obejmują modelowanie transportu jonów potasowych przez membrany naturalne na podstawie danych doświadczalnych uzyskanych we współpracy z prof. Johnem Kozakiem z Chicago oraz prof. Krzysztofem Dołowym z Warszawy.

Modelowanie zjawiska rozdziału tlenu i azotu przy pomocy membran magnetycznych stanowi drugą część badań własnych.

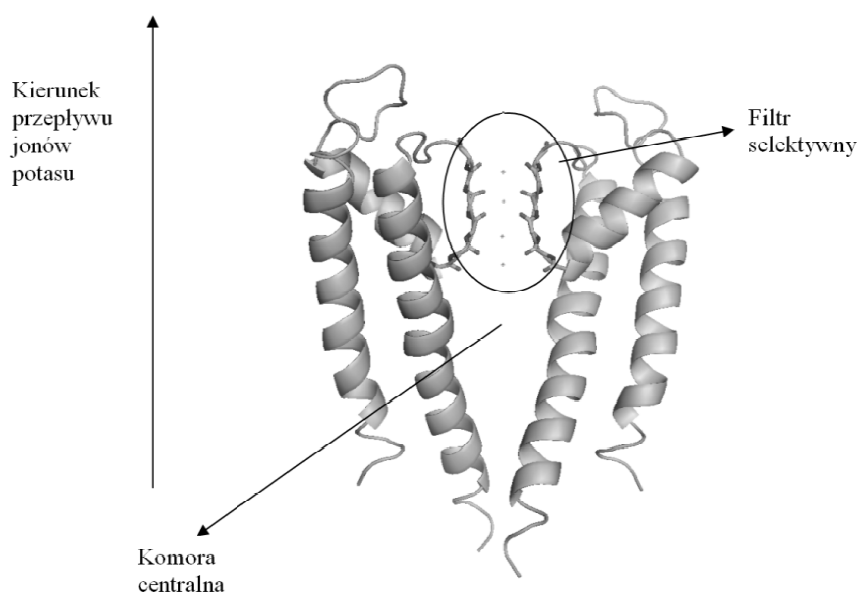
Dane doświadczalne dotyczące transportu azotu i tlenu przez membrany magnetyczne uzyskano z Zespołu prof. Zbigniewa J. Grzywny.

4.1. Model przewodnictwa jonów K^+ przez filtr selektywny

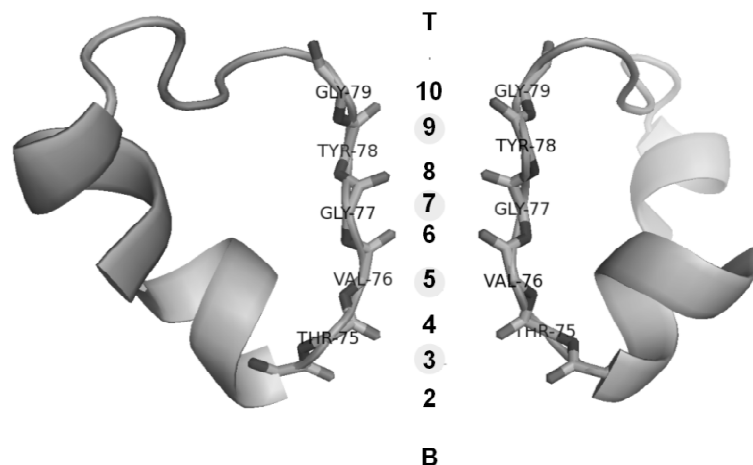
Od ok. 10 lat, tj. od czasu, kiedy R. Mackinnon wykonał badania strukturalne skrytalizowanego kanału potasowego wiadomo, jakie elementy strukturalne trzeba brać pod uwagę w realistycznym modelowaniu transportu jonów potasowych. W niniejszej pracy podjęto próbę takiego modelowania w przypadku transportu jonów potasowych przez filtr selektywny kanału KcsA.

4.1.1. Opis modelu transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KCSA

Struktura bramkowanego napięciowo kanału potasowego (KcsA) z zaznaczonym filtrem selektywnym oraz komorą centralną pokazana została na rysunku (17) [112]. Przestrzeń dyfuzyjna została opisana w formie jednowymiarowej siatki o 11 węzłach (rysunek (18)), co wynika z faktu, że jony potasowe dyfundują przez światło kanału, które może być efektywnie zrutowane na jedną oś. Jony potasowe dyfundują z cytoplazmy do przestrzeni międzykomórkowej [20]. Zarówno w cytoplazmie, jak i w przestrzeni międzykomórkowej, jony potasowe otoczone są cząsteczkami wody – są hydratowane. Jako, że jony potasowe są transportowane przez kanał w postaci dehydratowanej, muszą pokonać pewną barierę potencjału związaną z odczepieniem cząsteczek wody. Obecnie uważa się, że odpowiednie ułożenie przestrzenne grup karbonylowych w obszarze filtra selektywnego naśladuje geometrię hydratacji jonów potasowych, dzięki czemu wydajnie obniża barierę potencjału, którą jony muszą pokonać. Mechanizm ten jest uważany za główne źródło wysokiej selektywności kanałów potasowych względem innych jonów znajdujących się w cytoplazmie [40].



Rysunek 17. Struktura kanału potasowego KcsA z zaznaczonym kierunkiem przepływu jonów, filtrem selektywnym oraz komorą centralną



Rysunek 18. Struktura filtra selektywnego KcsA (pokazano tylko dwie podjednostki). Jako szare sfery zaznaczono miejsca wiązania się jonów potasowych (węzły o numerach nieparzystych), w których jony otoczone są 8 grupami karbonyłowymi w przeciwieństwie do węzłów parzystych, które otoczone są czterema grupami karbonyłowymi. Węzły parzyste dodane zostały w celu zapewnienia możliwości fluktuacji pozycji jonów potasowych względem miejsca wiązania. *B* oznacza warunek odbijający, a *T* warunek absorbujący.

Tabela 5. Przykładowa konfiguracja dwóch jonów potasowych (*K1*, *K2*) oraz dwóch cząsteczek wody (*H1*, *H2*) w obszarze filtra selektywnego. Symbol *X* oznacza miejsce wolne w siatce.

węzeł siatki	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	B	K1	H1	K2	H2	X	X	X	X	X	T

Z badań krystalograficznych wiadomo, że w filtrze selektywnym znajdują się cztery miejsca wiązania jonów potasowych (szare sfery na rysunku (18)) [20]. Średnio w kanale znajdują się dwa jony potasowe (oznaczone jako *K1* i *K2*) oraz dwie cząsteczki wody (*H1*, *H2*). Wszystkie cztery cząsteczki ułożone są naprzemiennie i patrząc od strony wejścia do kanału tworzą kolejkę: $K1 < H1 < K2 < H2$. Jako, że średnica wolnej przestrzeni w filtrze selektywnym jest porównywalna z wymiarami dyfundujących jonów potasowych oraz cząsteczek wody założono, że skoro cząsteczki mają skończoną objętość to nie mogą znajdować się równocześnie w jednym węźle siatki, ani nie mogą wzajemnie się przeskakiwać.

Dla jednowymiarowej siatki zilustrowanej na rysunku (18) istnieje 126 możliwych konfiguracji położeń czterech dyfundujących molekuł. Jako, że głównym celem modelu jest wyznaczenie średniej ilości kroków potrzebnych, do tego, aby jon potasowy opuścił filtr selektywny, zdefiniowano 28 dodatkowych konfiguracji, w których jon potasowy znajduje się

w pozycji 10, tuż przed opuszczeniem filtra. Biorąc pod uwagę odpowiednią kolejkę molekuł w filtrze oraz brak możliwości zajmowanie tej samej pozycji oraz wzajemnego przeskakiwania się, odpowiada to sytuacji, w której jedna z cząstek wody opuściła już przestrzeń dyfuzyjną.

Dokładną liczbę konfiguracji można wyznaczyć ze wzoru:

$${}^nC_k = \binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!} \quad (83)$$

gdzie: n oznacza liczbę dostępnych pozycji, które mogą być zajęte, a k liczbę cząstek, które chcemy umieścić w filtrze selektywnym.

A więc, w pierwszym przypadku mamy do dyspozycji dziewięć węzłów siatki (pozycje od 2 do 10, $n=9$) oraz cztery molekuly ($k=4$) co daje właśnie 126 konfiguracji. W drugim przypadku, gdy cząsteczka wody H_2 opuściła już filtr selektywny, a jon potasowy K^+ znajduje się w pozycji 10, pozostało osiem wolnych węzłów (pozycje od 2 do 9, $n=8$) oraz dwie molekuly, które muszą zostać rozmieszczone w siatce ($k=2$) z czego liczba dostępnych konfiguracji położeń wynosi 28.

W tabeli (5) pokazano przykładową konfigurację położeń czterech molekuł w siatce.

Na utworzoną siatkę nałożono następnie dwa warunki brzegowe. Od strony cytoplazmatycznej (B na rysunku (18)) użyto warunku odbijającego. Zastosowanie takiego warunku można wytłumaczyć wysokim stężeniem jonów potasowych we wnętrzu komórki. Kiedykolwiek jon potasowy chce opuścić siatkę w tym miejscu, jest natychmiast zastępowany nowym.

Innym powodem zastosowanie takiego warunku jest obserwacja, że przed wejściem do filtra selektywnego jon potasowy „czeka” w komorze centralnej, w której jest tylko jedno miejsce wiązania jonów potasowych. Jeżeli jest zajęte, jony będące już w kanale nie mogą go opuścić i powrócić do cytoplazmy. Oba przypadki zostały ujęte w modelu przez użycie warunku odbijającego dla jonów potasowych z pozycji B .

Od strony międzykomórkowej użyto warunku absorpcyjnego dla jonów potasowych, który wynika z ich niskiego stężenia w tym obszarze oraz warunek odbijający dla cząsteczek wody, jeżeli tylko owe odbicie jest możliwe, tzn. pozycja nr 10 nie jest zajmowana przez jon potasowy.

Będąc w obszarze filtra selektywnego jony potasowe oraz cząsteczki wody doznają licznych zderzeń wynikającymi z ruchów termicznych ośrodka - zarówno zderzeń z atomami budującymi filtr jak i między sobą. Jako, że światło kanału można sprowadzić do modelu jednowymiarowego, założono trzy możliwe ruchy molekuł w filtrze: w każdym kroku w łańcuchu Markowa, każda cząsteczka może przemieścić się w lewo (w kierunku cytoplazmy), w prawo (w kierunku przestrzeni międzykomórkowej) lub nie wykonać żadnego ruchu (zostać w tej samej pozycji). Możliwość zostania w tej samej pozycji, czyli nie wykonania żadnego ruchu wynika z małej różnicy skal między promieniem jonów potasowych, a długością filtra selektywnego oraz umożliwia efektywne uwzględnienie oddziaływań z grupami karbonyłowymi. W węzłach nieparzystych, otoczonych ośmioma grupami karbonyłowymi znajdują się studnie potencjału, które mogą „uwięzić” jony potasowe. Efektu tego nie można uzyskać zakładając możliwość ruchu tylko w prawo lub w lewo, ponieważ molekula znajdująca się w węźle nieparzystym musiałaby przemieścić się w następnym ruchu na pozycję parzystą (mniej preferowaną za względu na wyższy potencjał w tym miejscu). W kolejnym kroku, będąc w węźle parzystym, molekula byłaby otoczona studniami potencjału zarówno po swojej lewej, jak i prawej stronie, więc prawdopodobieństwa ruchu w obie strony byłyby takie same. Zatem, aby model mógł efektywnie oddziaływać z polem elektrostatycznym wytwarzanym przez grupy karbonyłowe konieczne jest zapewnienie cząstką możliwości zatrzymania się w danej pozycji na jeden-kilka kroków czasowych.

W tabeli (6) pokazano przykładową konfigurację czterech molekuł w siatce w krokach czasowych n oraz $n+1$ wraz ze sposobem przejścia między tymi konfiguracjami.

Tabela 6. Przykładowa konfiguracja czterech molekuł w siatce w krokach czasowych n oraz $n+1$ wraz ze sposobem przejścia między nimi.

konfiguracja w kroku czasowym n

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
B		K1	H1	K2	H2					T

← ← ← ←

konfiguracja w kroku czasowym $n+1$

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
B	K1	H1	K2	H2						

Liczbę możliwych sposobów przejść z jednej dozwolonej konfiguracji układu do innej można wyliczyć ze wzoru:

$$V = n^k \tag{84}$$

gdzie w rozpatrywanym modelu $n=3$, ponieważ założono trzy możliwe ruchy molekuł, a $k=4$, dlatego, że w filtrze jednocześnie znajdują się 4 cząsteczki.

W czasie transportu jonów potasowych przez filtr selektywny przynajmniej dwa rodzaje oddziaływań mają ogromne znaczenie na czas pierwszego przejścia jonów potasowych: jest to elektrostatyczne odpychanie między kationami potasowymi oraz elektrostatyczne przyciąganie się jonów potasowych z ujemnie naładowanymi grupami karbonyłowymi. W zaproponowanym modelu oba rodzaje oddziaływań zostały uwzględnione i porównane z czasami pierwszego przejścia w sytuacji bez oddziaływań.

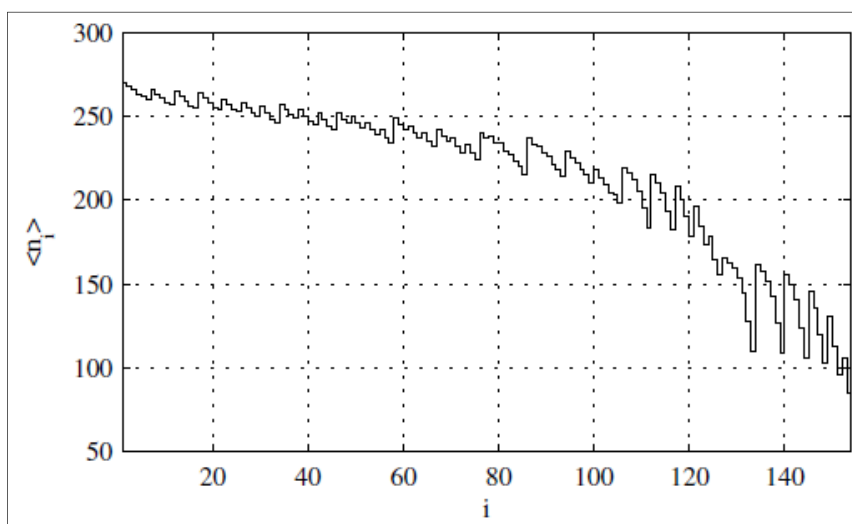
4.1.2. Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA - bez oddziaływań elektrostatycznych

Jako pierwszy przypadek rozważmy sytuację, w której cztery molekuły dyfundują przez filtr selektywny i nie oddziałują elektrostatycznie ze sobą ani z grupami karbonyłowymi. Jedynym rodzajem oddziaływań są oddziaływania wynikające z gradientu potencjału elektrochemicznego oraz ze skończonej objętości molekuł i jednowymiarowości modelu tzn. molekuły nie mogą zajmować tej samej pozycji ani nie mogą się wzajemnie przeskakiwać.

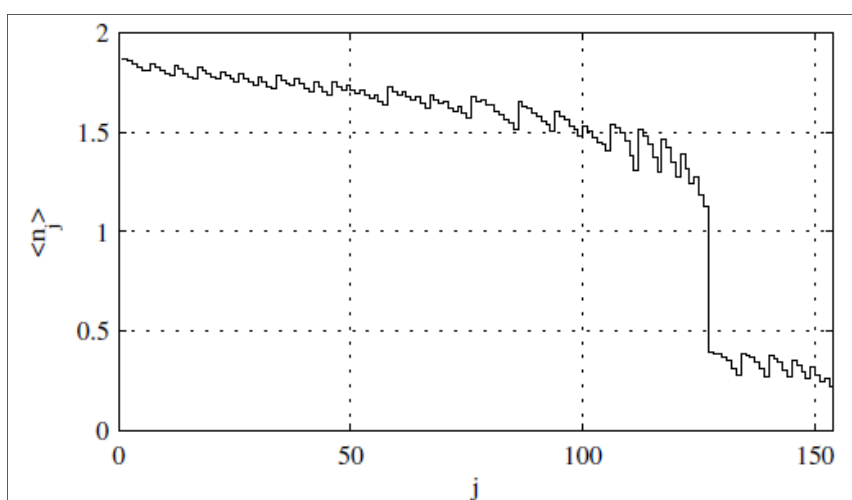
W takim przypadku, prawdopodobieństwo, że układ, będąc w jednym z dozwolonych stanów S_i przejdzie do dozwolonego stanu S_j , używając schematu przejścia α wynosi $1/81$, ponieważ wszystkie dozwolone schematy przejść są tak samo prawdopodobne.

Przy powyższych założeniach całkowita średnia ilość kroków potrzebnych, by jon potasowy opuścił kanał wynosi: $\langle n \rangle = 214.89$

Wartość ta jest wyliczona, jako średnia ze średniej ilości skoków układu, które są potrzebne, aby jon potasowy wyszedł z filtra, rozpoczynając swoją ewolucję z danej konfiguracji początkowej S_i (wykres (3)). Odpowiednio na wykresie (4) rozkład stanów, które układ zajmował w czasie swojej ewolucji, nim doszło do zakończenia łańcucha Markowa.



Wykres 3. Średnia ilość kroków $\langle n_i \rangle$ potrzebnych by jon potasowy opuścił kanał jako funkcja konfiguracji początkowej S_i



Wykres 4. Rozkład stanów S_j w czasie ewolucji układu.

Z powyższych wykresów wynika, że im dalsza jest pozycja jonu potasowego $K2$ w danym stanie początkowym w odniesieniu do pozycji absorbującej, tym większa ilość kroków jest potrzebna do terminacji łańcucha Markowa. Podobnie najczęściej przyjmowane są stany, w których jon potasowy $K2$ jest najbardziej oddalony od wyjścia z filtra selektywnego.

4.1.3. Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA – model z oddziaływaniami elektrostatycznymi między jonami potasowymi

Jony potasowe obdarzone są ładunkiem dodatnim, a więc występuje między nimi odpychająca siła Coulombowska.

W celu uwzględnienia tego rodzaju oddziaływań, zmodyfikowano prawdopodobieństwa przejścia układu ze stanu S_i do stanu S_j przy użyciu danego schematu przejścia α - $w_i(\alpha)$ tak, aby odzwierciedlały różnicę energii potencjalnej związanej z polem elektrostatycznym. Założono, że prawdopodobieństwa przejścia są proporcjonalne do współczynników Boltzmanna w postaci:

$$w_i(\alpha) \approx e^{-\beta \Delta V_{i,\alpha}} \quad (85)$$

gdzie:

$\Delta V_{i,\alpha}$ jest równe różnicy energii potencjalnej wynikającej z pola elektrostatycznego między dwoma danymi stanami: $\Delta V_{i,\alpha} = V_{\alpha,d2} - V_{i,d1}$ gdzie $V_{i,d1}$ oraz $V_{\alpha,d2}$ oznaczają odpowiednio energię potencjalną w stanie S_i (z odległością między jonami potasowymi wynoszącą $d1$), a stanem osiągniętym po przejściu α (o odległości oddzielającej jony potasowe równej $d2$).

Wartość energii elektrostatycznej związanej z oddziaływaniami między jonami potasowymi, w danej konfiguracji czterech molekuł w filtrze, można wyznaczyć ze wzoru:

$$V_C = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0\kappa r} \quad (86)$$

gdzie:

r – odległość pomiędzy jonami potasowymi [m]

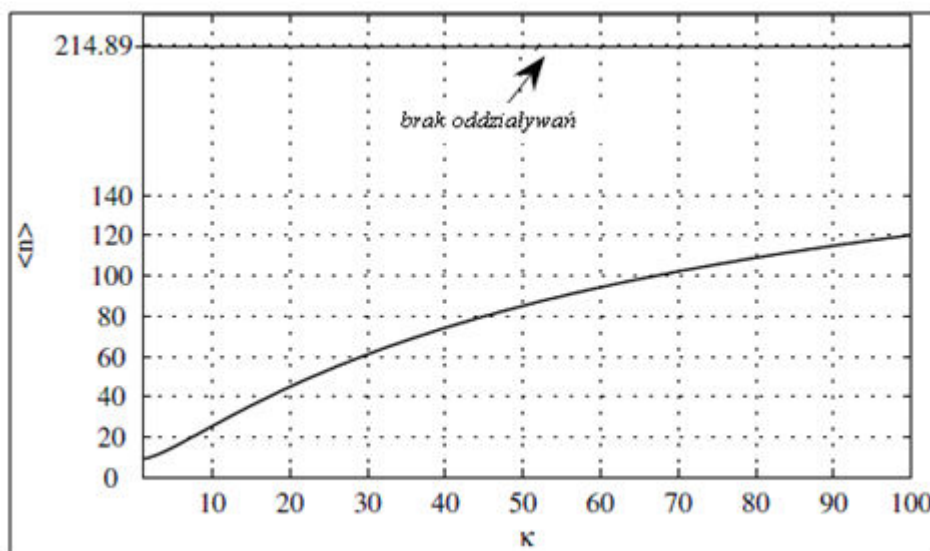
κ – stała dielektryczna związana z oddziaływaniem między jonami potasowymi

e – ładunek elementarny - $1.609 \cdot 10^{-19}$ [C]

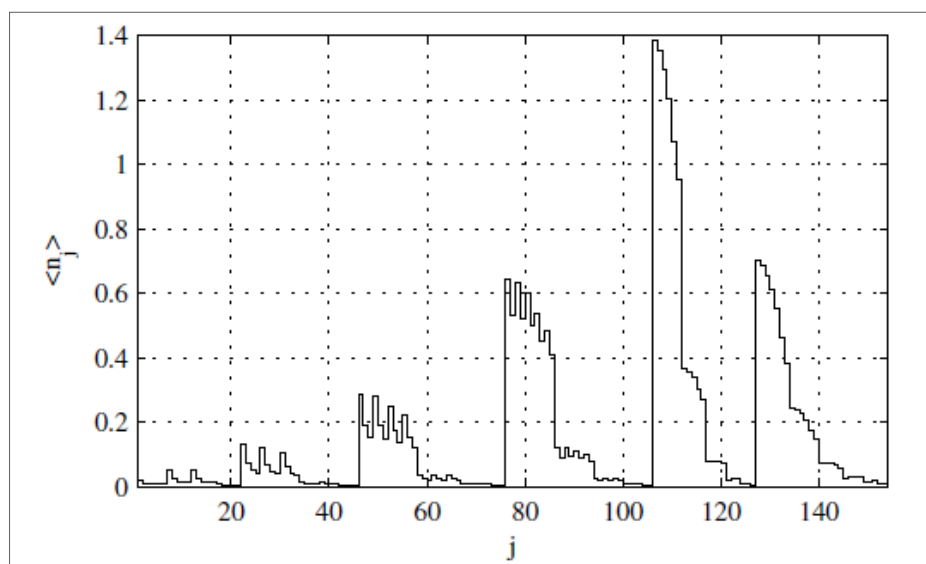
ϵ_0 – przenikalność elektryczna próżni - $8.85 \cdot 10^{-12}$ [F/m]

Jako, że siła oddziaływania Coulombowskiego zależy m.in. od wartości oddziaływujących ze sobą ładunków, odległości między nimi oraz od stałej dielektrycznej ośrodka, a owa stała jest trudna do wyznaczenia ze względu na obecność molekuly wody, która rozdziela sąsiadujące jony potasowe, na wykresie (5) pokazano całkowitą średnią ilość kroków potrzebnych, by jon potasowy K^+ opuścił kanał, jako funkcję stałej dielektrycznej ośrodka. Pozioma linia „brak oddziaływań” podana została, jako punkt odniesienia – odpowiada przypadkowi, gdy oddziaływania elektrostatyczne są stłumione.

Na kolejnym wykresie (6) pokazano odpowiedni rozkład zajmowania stanów S_j podczas ewolucji układu.



Wykres 5. Średnia ilość kroków $\langle n \rangle$ potrzebnych by jon potasowy opuścił kanał, jako funkcja stałej dielektrycznej ośrodka w przypadku uwzględnienia oddziaływań elektrostatycznych między jonami potasowymi. Pozioma linia, podana jako punkt odniesienia, wskazuje zachowanie układu w przypadku stłumienia oddziaływań Coulombowskich. Podany wykres odpowiada temperaturze układu równej $T=298.15^\circ\text{C}$ i odstępowi między węzłami siatki są równe 1.75 \AA .



Wykres 6. Rozkład stanów S_j w czasie ewolucji układu w przypadku uwzględnienia oddziaływań elektrostatycznych między jonami potasowymi.

Uwzględnienie w modelu oddziaływań Coulombowskich między jonami potasowymi, wyraźnie zmniejsza liczbę kroków potrzebnych, aby jon potasowy opuścił filtr selektywny. Im to oddziaływanie jest mocniejsze, (co odpowiada mniejszym wartościom stałej dielektrycznej) tym efekt zwiększenia efektywności transportu przez filtr jest większy (wykres (5)). Jednocześnie z następnego wykresu (6) widać, że w czasie swojej ewolucji układ preferuje stany, w których odległość pomiędzy jonami potasowymi jest największa. Odpowiada temu najniższa wartość energii potencjalnej związanej z oddziaływaniami elektrostatycznymi.

4.1.4. Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA - model z oddziaływaniami elektrostatycznymi między jonami K^+ , a grupami karbonyłowymi.

Filtr selektywny jest zbudowany z pięciu aminokwasów o sekwencji TVGYG (u prokariotów), z których każdy posiada grupę karbonylową. Ponieważ kanał potasowy

zbudowany jest z czterech identycznych podjednostek, łączna ilość grup karbonylowych, z których każda skierowana jest w kierunku światła kanału, wynosi 20. Wiązanie między atomem węgla i tlenu w grupie karbonylowej jest silnie spolaryzowane, a więc grupa ta obdarzona jest cząstkowym ładunkiem ujemnym i może oddziaływać elektrostatycznie z jonami potasowymi, które posiadają ładunek dodatni. Uważa się, że ułożenie przestrzenne grup karbonylowych w filtr selektywny, „naśladuje” otoczkę hydratacyjną jonów potasowych w cytoplazmie, co efektywnie ułatwia proces transportu jonów potasowych przez filtr selektywny i wpływa na jego selektywność.

Oddziaływanie między grupami karbonyłowymi a jonami potasowymi może zostać przybliżone, jako oddziaływanie typu jon-dipol elektryczny. Energia potencjalna takiego oddziaływania może zostać wyznaczona, jako multipolowe rozszerzenie klasycznego wzoru:

$$V_{id} = -\frac{e\mu \cos(\phi)}{4\pi\epsilon_0\kappa' l^2} \quad (87)$$

gdzie:

μ – moment dipolowy grupy karbonylowej [C-m]

κ' – stała dielektryczna oddziaływania elektrostatycznego między jonami K^+ , a grupami karbonyłowymi.

e – ładunek elementarny - $1.609e-19$ [C]

l – długość wektora \vec{l} opisującego pozycje dipola względem jonu potasowego

ϕ – kąt pomiędzy $\vec{\mu}$ a \vec{l}

Dla uproszczenia rozumowania założono, że efektywnie jon potasowy oddziałuje tylko z najbliższymi grupami karbonyłowymi. W celu wprowadzenia do modelu oddziaływań elektrostatycznych typu jon-dipol, podzielono węzły siatki na trzy grupy:

- węzły 2, 4, 6, 8, 10 - w tych węzłach jony potasowe otoczone są przez 4 grupy karbonyłowe w układzie „kwartetu”. Z rysunku (19) wynika, że ϕ wynosi π , a l^2 równa się $2R'$.

Podstawiając te wartości do równania (87), energia potencjalna związana z taką konfiguracją wynosi:

$$V_Q = \frac{4e\mu}{4\pi\epsilon_0\kappa' 2R'^2} \quad (88)$$

gdzie „4” w liczniku zostało wprowadzone, aby uwzględnić liczbę grup karbonylowych,

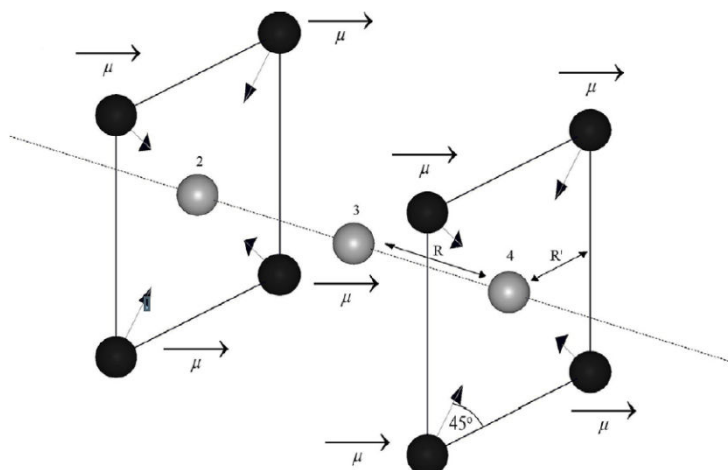
- węzły 3, 5, 7, 9 - w tych węzłach jony potasowe otoczone są przez 8 grup karbonylowych w układzie „oktetu”. Tym razem ϕ wynosi $\cos^{-1}\left(-\sqrt{2}R'/\sqrt{R^2+2R'^2}\right)$, a l^2 równa się $(R+2R'^2)$. Liczba „8” w liczniku oznacza 8 grup karbonylowych. Po podstawieniu tych wartości do równania (87), przyjmuje ono postać:

$$V_o = \frac{8e\mu\sqrt{2}R'}{4\pi\epsilon_0\kappa(R^2+2R'^2)^{3/2}} \quad (89)$$

- węzły 1, 11

W tych skrajnych węzłach jony potasowe otoczone są 4 grupami karbonylowymi. Energia potencjalna, związana z tymi położeniami, może być obliczona, jako połowa energii konfiguracji oktetowej, czyli:

$$V_{0.50} = 0.5V_o \quad (90)$$



Rysunek 19. Ustawienie dipoli pochodzących z grup karbonylowych w odniesieniu do światła kanału. Węzły siatki oznaczono jako szare, a atomy tlenu z grup karbonylowych jako czarne sfery. Strzałki, zakończone z obu stron grotem, oznaczają odległość R (odległość między węzłami siatki odpowiadająca połowie odległości między miejscami wiązania jonów potasowych w filtrze selektywnym) oraz odległość R' (odległość między środkiem kwadratu utworzonego z 4 grup karbonylowych, a środkiem jego boku odpowiadającemu połowie szerokości światła kanału).

Oddziaływania elektrostatyczne między jonami potasowymi a grupami karbonylowymi, podobnie jak w przypadku oddziaływań Coulombowskich, zostały uwzględnione w modelu przez odpowiednią modyfikację współczynników $w_i(a)$, które zostały wyznaczone zgodnie

z równaniem (85). Różnica energii potencjalnej, związanej z oddziaływaniami typu jon-dipol między dwoma danymi stanami układu, może zostać wyrażona, jako:

$$\Delta V_{i,\alpha} = V_\alpha - V_i = (V_{\omega,K1} + V_{\omega,K2}) - (V_{i,K1} + V_{i,K2}) \quad (91)$$

gdzie:

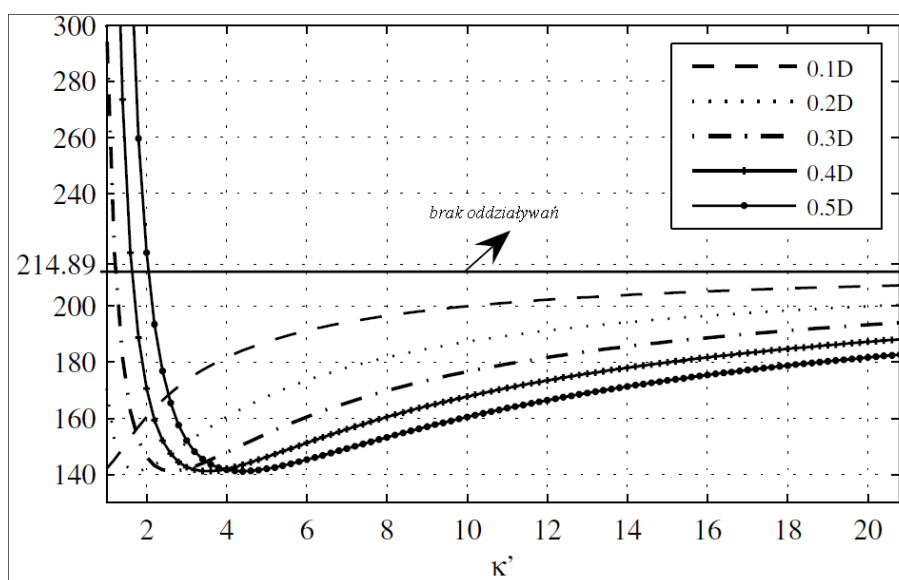
V_i – jest energią związaną ze stanem S_i

V_α – jest energią stanu, który zostanie osiągnięty przez układ po przejściu ze stanu S_i przy użyciu schematu przejścia α

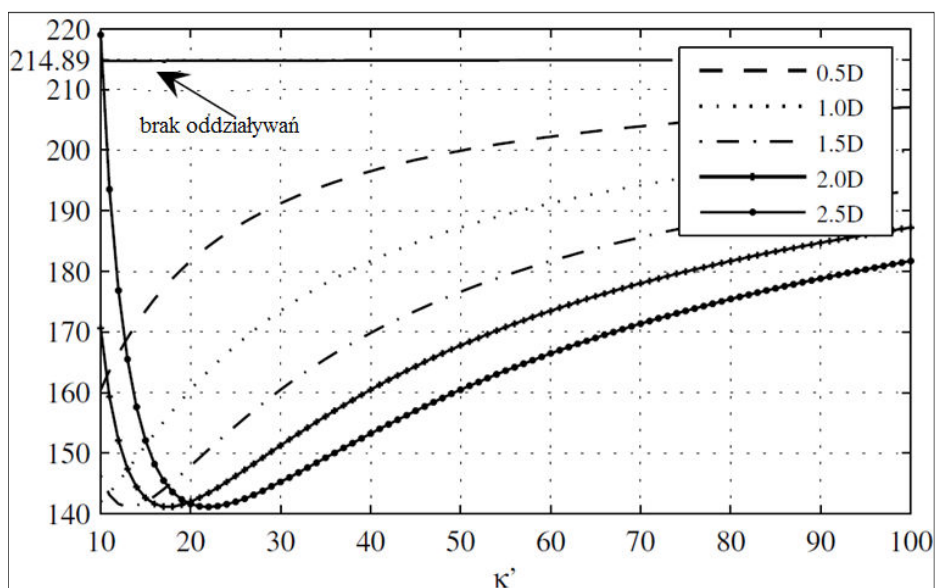
$V_{i,K1}, V_{i,K2}$ – oznacza odpowiednio energię pierwszego i drugiego jonu potasowego w stanie S_i

$V_{\alpha,K1}, V_{\alpha,K2}$ – oznacza odpowiednio energię pierwszego i drugiego jonu potasowego w stanie po przejściu α

Całkowita, średnia ilość kroków potrzebna do tego, aby jon potasowy opuścił kanał przy uwzględnieniu oddziaływań między jonami potasowymi a grupami karbonyłowymi, jest pokazana dla kilku wartości momentów dipolowych na wykresach (7) i (8), jako funkcja stałej dielektrycznej.

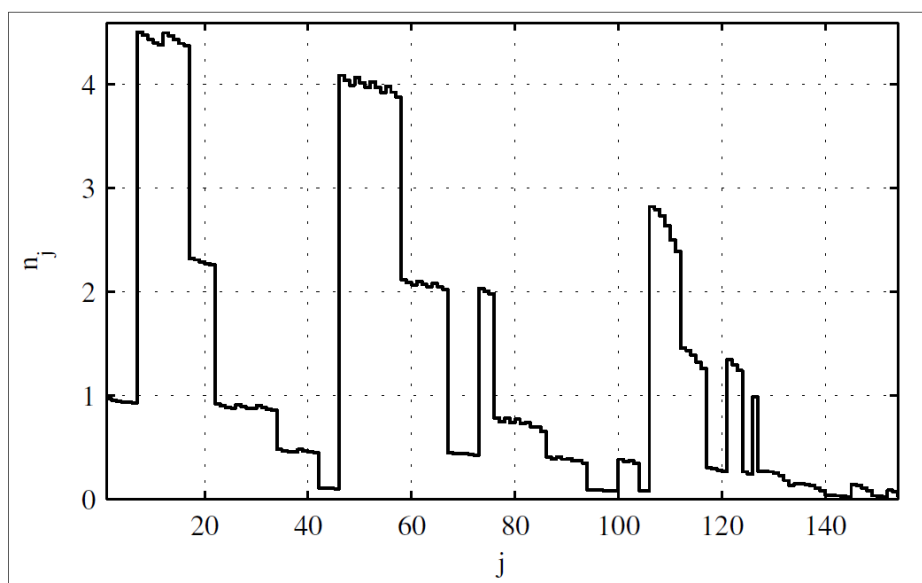


Wykres 7. Całkowita, średnia ilość kroków potrzebnych do opuszczenia filtra selektywnego przez jon potasowy, jako funkcja stałej dielektrycznej z uwzględnieniem oddziaływań między grupami karbonyłowymi a jonami potasowymi dla kilku wartości momentów dipolowych z zakresu (0 - 0.5 D). Pozioma linia podana została, jako punkt odniesienia - przypadek bez oddziaływań. Przedstawiony wykres odpowiada temperaturze równej $T=298.15$ °C oraz wartością $R'=2.60$ Å i $R=1.75$ Å.



Wykres 8. Całkowita, średnia ilość kroków potrzebnych do opuszczenia filtra selektywnego przez jon potasowy, jako funkcja stałej dielektrycznej z uwzględnieniem oddziaływań między grupami karbonyłowymi a jonami potasowymi, dla kilku wartości momentów dipolowych z zakresu (0.5 – 2.5 D). Pozioma linia podana została, jako punkt odniesienia - przypadek bez oddziaływań. Przedstawiony wykres odpowiada temperaturze równej $T=298.15\text{ }^{\circ}\text{C}$ oraz wartością $R'=2.60\text{ \AA}$ i $R=1.75\text{ \AA}$.

Dla bardzo wysokich wartości oddziaływania typu jon-dipol, czemu odpowiadają niskie wartości stałej dielektrycznej bądź duże wartości momentów dipolowych związanych z grupami karbonyłowymi, obserwuje się dużo wyższe wartości $\langle n \rangle$ niż w przypadku rozpatrywania układu bez uwzględnienia oddziaływań elektrostatycznych (lewa część wykresów (7) i (8)). Dla takich wartości parametrów, jony potasowe zostają „uwięzione” w studniach potencjału, zlokalizowanych w miejscach ich wiązania - układ ma małe prawdopodobieństwo opuszczenie stanów, które tym konfiguracjom odpowiadają.



Wykres 9. Rozkład stanów S_j w czasie ewolucji układu dla przypadku modelu z oddziaływaniami elektrostatycznymi między jonami potasowymi i grupami karbonyłowymi. Wykres odpowiada następującym wartościom parametrów: $\mu = 2.3 \text{ D}$, $\kappa' = 10$, $R = 1.75 \text{ \AA}$ i $R' = 2.60 \text{ \AA}$.

Uwięzienie jonów potasowych, przy wysokich wartościach rozważanego oddziaływania między jonami potasowymi a grupami karbonyłowymi, wynika także z zamieszczonego powyżej wykresu przedstawiającego rozkład stanów zajmowanych przez układ w czasie ewolucji (wykres (9)). Najbardziej preferowane są takie stany, w których przynajmniej jeden jon potasowy znajduje się w studni potencjału (miejsce wiązania), której odpowiada energia potencjalna V_o .

Patrząc na dalszy przebieg, zależność całkowitej średniej liczby kroków potrzebnych do terminacji łańcucha Markowa od stałej dielektrycznej, obserwuje się spadek wartości $\langle n \rangle$ poniżej wartości odpowiadającej przypadkowi bez oddziaływań aż do osiągnięcia minimum. Obserwowane minima odpowiadają następującym wartościom energii potencjalnej, związanej z konfiguracjami kwartetową i oktetową grup karbonyłowych, odpowiednio: $V_q = 1.623 \cdot 10^{-20} \text{ [J]}$ oraz $V_o = 1.195 \cdot 10^{-21} \text{ [J]}$.

Wraz z dalszym wzrostem wartości stałej dielektrycznej, obliczone wartości $\langle n \rangle$ zbiegają asymptotycznie do wartości odpowiadającej przypadkowi bez oddziaływań.

Podsumowując zachowanie układu, przy uwzględnieniu oddziaływań elektrostatycznych typu jon-dipol, można stwierdzić, że tego typu oddziaływania mogą wpływać zarówno korzystnie jak i niekorzystnie na szybkość transportu jonów potasowych (odwrotnie proporcjonalna do $\langle n \rangle$) przez filtr selektywny. Korzystnie - osiągając maksymalną szybkość w okolicach

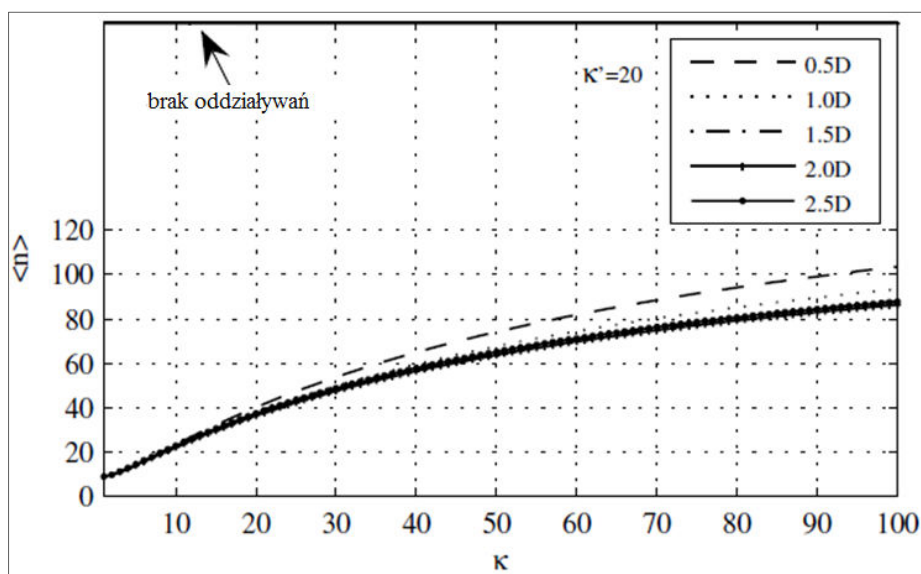
minimów na wykresach (7) i (8) oraz niekorzystnie - zatrzymując jony potasowe w obszarze filtra selektywnego, przy bardzo niskich wartościach stałej dielektrycznej lub dużych wartościach momentów dipolowych.

4.1.5. Model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA – efekty synergetyczne

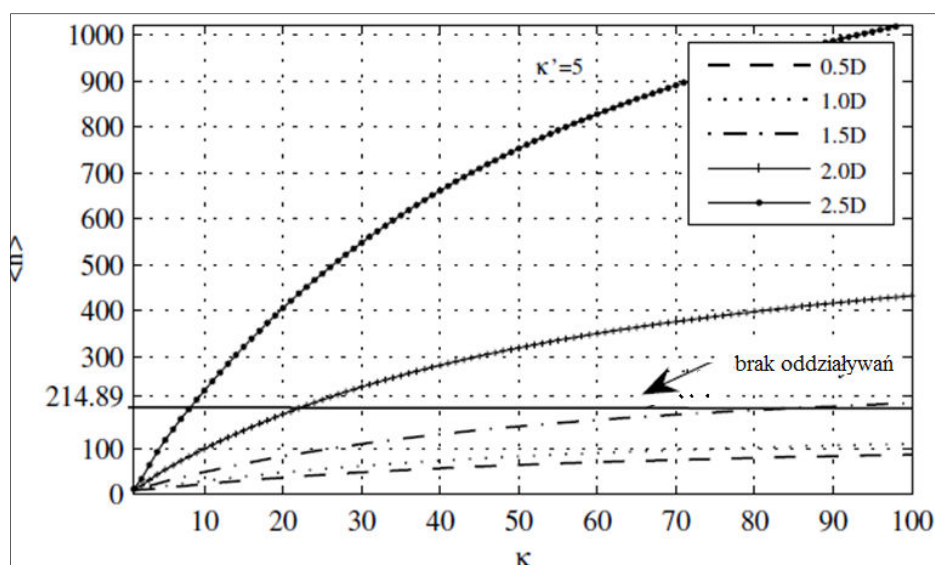
W poprzednich podrozdziałach rozpatrywano osobno wpływ oddziaływań elektrostatycznych między jonami potasowymi oraz jonami potasowymi i grupami karbonyłowymi na szybkość transportu przez filtr selektywny. Aby uwzględnić w modelu oba typy oddziaływań jednocześnie, musimy wyznaczyć całkowitą zmianę energii potencjalnej między danym stanem (S_i) a stanem, który zostanie osiągnięty przy pomocy danego przejścia α , a następnie wyznaczyć współczynniki $w_i(a)$ według równania (85).

$$\Delta V_{i,\alpha} = V_\alpha - V_i = (V_{\alpha,K1} + V_{\alpha,K2}) - (V_{i,K1} + V_{i,K2}) + (V_{\omega,d2} - V_{i,d1}) \quad (92)$$

Na wykresach (10) i (11) przedstawiono zależności $\langle n \rangle$, jako funkcje stałej dielektrycznej oddziaływania elektrostatycznego między jonami potasowymi dla kilku wartości momentów dipolowych związanych z grupami karbonyłowymi oraz dwóch wartości stałej dielektrycznej oddziaływań typu jon-dipol.



Wykres 10. Całkowita, średnia ilość kroków potrzebnych do opuszczenia filtra selektywnego przez jon potasowy, jako funkcja stałej dielektrycznej oddziaływania między jonami potasowymi, dla kilku wartości momentów dipolowych związanych z grupami karbonyłowymi z zakresu (0.5 - 2.5 D). Pozioma linia podana została, jako punkt odniesienia - przypadek bez oddziaływań. Przedstawiony wykres odpowiada temperaturze $T=298.15\text{ }^{\circ}\text{C}$, wartości $R'=2.60\text{ \AA}$ i $R=1.75\text{ \AA}$ oraz $\kappa'=20$.



Wykres 11. Całkowita, średnia ilość kroków potrzebnych do opuszczenia filtra selektywnego przez jon potasowy, jako funkcja stałej dielektrycznej oddziaływania między jonami potasowymi dla kilku wartości momentów dipolowych związanych z grupami karbonyłowymi z zakresu (0.5 - 2.5 D). Pozioma linia podana została, jako punkt odniesienia - przypadek bez oddziaływań. Przedstawiony wykres odpowiada temperaturze $T=298.15\text{ }^{\circ}\text{C}$, wartości $R'=2.60\text{ \AA}$ i $R=1.75\text{ \AA}$ oraz $\kappa'=5$.

W tym miejscu warto zwrócić uwagę, że każde z dwóch uwzględnionych oddziaływań elektrostatycznych inaczej wpływa na szybkość transportu jonów potasowych przez filtr selektywny. Oddziaływania typu jon-jon zwiększają efektywność transportu (mniejsze wartości stałej dielektrycznej κ na wykresach (10) i (11)). Przy założonym warunku odbijającym dla jonów potasowych po stronie cytoplazmy, ten typ oddziaływań wymusza konfigurację układu, w których separacja jonów potasowych jest największa, dzięki czemu jon K_2 szybciej osiąga warunek absorpcyjny po stronie przestrzeni międzykomórkowej.

Przeciwnie, oddziaływania jon-dipol, dla dużych wartości momentów dipolowych i małych stałej dielektrycznej, zmniejszają szybkość transportu jonów potasowych przez filtr selektywny poprzez efekt zatrzymywania jonów potasowych w pozycjach, w których są otoczone ośmioma grupami karbonylowymi (duże wartości momentów dipolowych na wykresie (11)). Jednak dla średnich wartości oddziaływania między jonami potasowymi a grupami karbonylowymi, uzyskujemy efekt zwiększenia szybkości transportu prawdopodobnie poprzez wymuszanie najbardziej efektywnych ścieżek ewolucji układu, aż do osiągnięcia przez jon K_2 stanu absorpcyjnego.

Jak już wspomniano we wcześniejszym fragmencie pracy, trudno jest precyzyjnie wyznaczyć wartości stałych dielektrycznych κ' oraz κ . Można jednak założyć, że wartość stałej dielektrycznej związanej z oddziaływaniami między jonami potasowymi, powinna być większa niż stała dielektryczna związana z oddziaływaniami typu jon-dipol, ponieważ w pierwszym przypadku między jonami potasowymi znajduje się cząsteczka wody, która może częściowo ekranować ich wzajemne oddziaływanie.

Z literatury wiadomo, że transport jonów potasowych przez filtr selektywny zachodzi blisko limitu dyfuzyjnego [16]. W rozpatrywanym modelu, odpowiada to przypadkowi bez oddziaływań elektrostatycznych, w którym całkowita, średnia ilość kroków potrzebnych by jon potasowy opuścił kanał, równa się 214.89 kroków. Jeżeli uwzględnimy oba typy oddziaływań, wartość ta odpowiada punktom przecięcia się zależności $\langle n \rangle$, jako funkcji stałej κ na wykresach (10) i (11) z poziomą linią przedstawiającą przypadek bez oddziaływań.

Tak rozumując, można wyznaczyć wartość κ' jako mniejszą od 20, ponieważ przy takiej wartości stałej dielektrycznej związanej z oddziaływaniem między grupami karbonylowymi a jonami potasowymi, nawet dla bardzo dużych wartości κ , nie obserwuje się przecięcia zależności $\langle n \rangle$ z poziomą linią reprezentującą transport dyfuzyjny bez oddziaływań elektrostatycznych (wykres (8)).

Jednak zmniejszając wartość κ' , owe przecięcia można już zaobserwować (wykres (11)). Dla, znanej z literatury, wartości momentu dipolowego związanego z grupą karbonylową, równej ok. $\mu=1.6D$ [112], można wyznaczyć wartość stałej dielektrycznej związanej z oddziaływaniami między jonami potasowymi, jako w przybliżeniu równą 60. Wyznaczone wartości κ i κ' zgadzają się z powyższymi założeniami odnośnie ich wzajemnej relacji tzn. $\kappa > \kappa'$. Biorąc pod uwagę, że oddziaływania Coulombowskie między jonami potasowymi zawsze zwiększają szybkość transport przez filtr selektywny (wykres (5)), a oddziaływania typu jon-dipol, w zależności od wartości stałej dielektrycznej κ' (wykresy (7) i (8)) albo ją zwiększają albo zmniejszają, aby uzyskać szybkość transport jonów potasowych charakterystyczną dla limitu dyfuzyjnego, oddziaływanie między jonami potasowymi a grupami karbonylowymi musi być relatywnie silne. Wtedy, efekt zatrzymywania jonów potasowych w pozycjach wiązania, zwiększa wartości $\langle n \rangle$ w odniesieniu do przypadku bez oddziaływań (temu przypadkowi odpowiadają właśnie małe wartości stałej dielektrycznej κ'), a więc efekt przyspieszenia transportu dzięki elektrostatycznemu odpychaniu się jonów, zostaje zrównoważony przez negatywne oddziaływania między jonami a grupami karbonylowymi.

4.1.6. Wnioski płynące z modelu transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA

W części niniejszej pracy, poświęconej transportowi jonów K^+ przez filtr selektywny kanału KcsA, zaprezentowano model oparty o skończone, absorpcyjne łańcuchy Markowa.

Głównymi cechami zaproponowanego modelu są: wprowadzenie asynchroniczności ruchu wszystkich cząstek w kanale oraz zawarcie w nim wielu istotnych szczegółów z budowy filtra selektywnego. Na podstawie modelu, opisano wpływ głównych oddziaływań elektrostatycznych, oddziałujących na transport jonów potasowych. Pokazano pozytywny wpływ oddziaływań odpychających między sąsiednimi jonami K^+ na zmniejszenie czasu potrzebnego do opuszczenia filtra selektywnego. Przeanalizowano także wpływ oddziaływań typu jon-dipol na efektywność transportu jonów potasowych. Z przeprowadzonej analizy wynika, że wpływ oddziaływań między grupami karbonylowymi a jonami potasowymi, może mieć zarówno pozytywny, jak i negatywny charakter, w zależności od siły oddziaływania. Jeśli oddziaływanie typu jon-dipol przyjmuje duże wartości, obserwuje się unieruchomienie

jonów potasowych w miejscach wiązania oraz znaczące wydłużenie czasu ewolucji układu, nim jon potasowy opuści kanał. Wraz ze spadkiem siły oddziaływania typu jon-dipol obserwujemy spadek wartości $\langle n \rangle$, aż do osiągnięcia minimum, w którym transport jonów jest najefektywniejszy. Po osiągnięciu minimum, następuje odwrócenie trendu, a zatem obserwowany jest wzrost liczby kroków czasowych wraz ze dalszym spadkiem siły oddziaływania między jonami K^+ , a grupami karbonyłowymi.

Biorąc pod uwagę obserwowaną eksperymentalnie szybkość transportu jonów potasowych przez filtr selektywny kanałów KcsA (osiągającą wartości charakterystyczne dla transportu dyfuzyjnego), a także dane krystalograficzne, oszacowano wartości wszystkich parametrów występujących w modelu.

Dodatkowo, analiza danych otrzymanych z zaproponowanego modelu pozwala wyciągnąć wniosek, że oba typy oddziaływań elektrostatycznych obecnych w filtrze selektywnym „znoszą się wzajemnie”, tzn. kanał działa w zakresie mocnych oddziaływań typu jon-dipol (zmniejszających szybkość transportu jonów potasowych), a jednocześnie, wartości oddziaływań typu jon-jon przyjmują wartości znoszące negatywny efekt wiązania jonów potasowych w obrębie konfiguracji oktetowej grup karbonyłowych.

Podsumowując, zaproponowany model pozwala na pełniejsze zrozumienie zjawisk zachodzących w obszarze filtra selektywnego, przewidywanie niektórych jego własności oraz pokazuje związek między budową kanału KcsA a efektywnością transportu jonów potasowych przez filtr selektywny.

4.2. Model kinetyki bramkowania kanału BK

4.2.1. Opis modelu kinetyki bramkowania kanału BK

Zaproponowano dwa modele kinetyki aktywacji kanałów BK. W obu przypadkach, dynamika konformacyjna bramki aktywacyjnej, została opisana jako dyskretny procesy błędzenia przypadkowego RC (współrzędna postępu reakcji) w przestrzeni konformacyjnej.

Współrzędna postępu reakcji RC , w tym przypadku, mogłaby zostać utożsamiona z kątem „zawiasu” obecnego w części bramkującej kanału BK. Jednak z powodu braku przekonujących dowodów, która część bramki aktywacyjnej faktycznie odpowiada za blokowania kanału BK, RC powinna być traktowana raczej, jako abstrakcyjna współrzędna postępu reakcji.

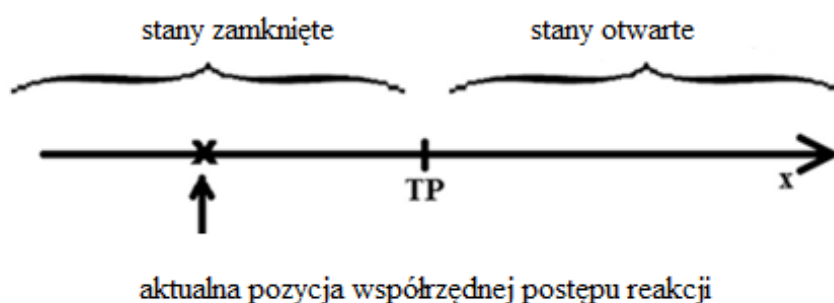
W zaproponowanych modelach wpływ sensorów na bramkę uwzględniony został, jako siła dryfu działająca na współrzędną postępu reakcji. Siła ta odpowiada oddziaływaniu allosterycznemu w wielostanowych modelach Markowa, adresowanych do opisu kinetyki kanałów BK.

Siła dryfu może nieliniowo zależeć od współrzędnej postępu reakcji, stężenia jonów wapniowych oraz przyłożonego napięcia $F_D = F_D([Ca^{2+}], V, RC)$. Jednak, biorąc pod uwagę założenie o niezależności RC od czynników aktywacyjnych, w niniejszej pracy sprawdzono tylko czy promowanie otwarcia kanału przez czynniki aktywujące, wpływa na wartość współczynnika Hursta. W zaproponowanych modelach siła dryfu została uwzględniona jako funkcja stała, nie zależna od RC oraz czynników aktywacyjnych.

Przestrzeń konformacyjna w świetle modeli dyfuzyjnych rozumiana jest jako ogromny zbiór energetycznie zbliżonych podstanów. Taki zbiór obserwowany jest jako jeden stan makroskopowy o danej energii, który odzwierciedla własności makroskopowe modelowanego kanału.

Zaproponowana przestrzeń dyfuzyjna została pokazana na rysunku (20). Jest ona podzielona na dwie części (punktem TP) odpowiadające makrostanowi zamkniętemu i otwartemu. Makrostany otwarty i zamknięty mogą się charakteryzować różnymi poziomami energetycznymi, co jest wynikiem tendencji kanału do przebywania w danym stanie, w określonych warunkach.

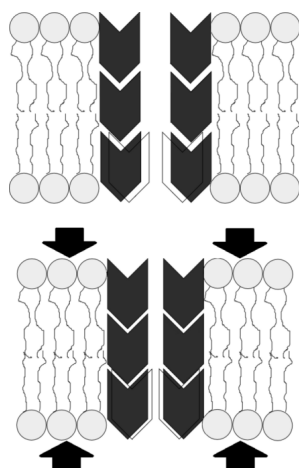
Jeśli współrzędna postępu reakcji, wykonując błądzenie przypadkowe po przestrzeni konformacyjnej, znajdzie się po lewej stronie punktu TP , to taki stan interpretowany jest jako zamknięty. Gdy współrzędna postępu reakcji znajdzie się po prawej stronie punktu TP , taki stan interpretowany jest jako otwarty.



Rysunek 20. Schematyczna ilustracja możliwych stanów bramki aktywacyjnej. Między stanami mogą zachodzić następujące przejścia: zamknięcia bramki ($O \rightarrow C$), otwarcia bramki ($C \rightarrow O$), oraz przejścia między stanami zamkniętymi ($C \rightarrow C$) i otwartym ($O \rightarrow O$). TP – punkt graniczny rozdzielający stany zamknięte od otwartych, x – współrzędna postępu reakcji RC .

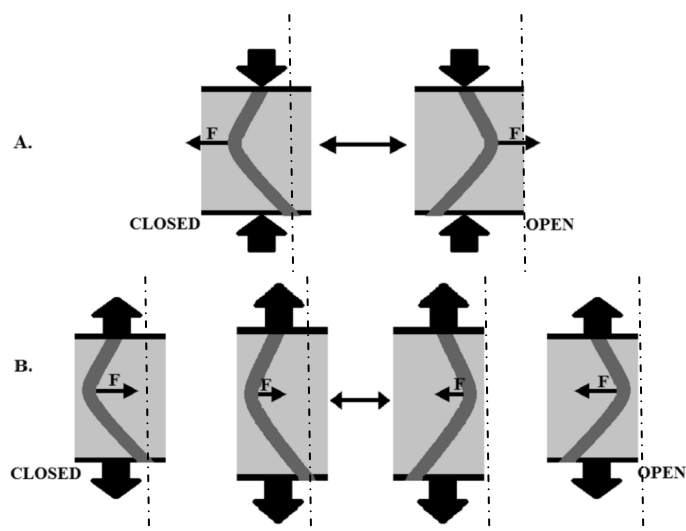
W jednym z zaproponowanych modeli, pamięć dalekozasięgowa jest wynikiem synchronicznych fluktuacji granic przestrzeni konformacyjnej (Model 1). Fluktuacja granic przestrzeni konformacyjnej może mieć źródło w fluktuacjach gęstości membrany komórkowej, w której kanał się znajduje. Powodują one ściszenie lub rozciągnięcie kanału BK, co ma wpływ na możliwości ruchu bramki aktywacyjnej (rysunek (21)).

Innym sposobem wprowadzenia fluktuacji gęstości membrany komórkowej jest wprowadzenie synchronicznej siły dryfu działającej na RC i promującej częstsze lub rzadsze zmiany stanu kanału (Model 2) (rysunek (22)).



Rysunek 21. Schematyczna ilustracja ukazująca lokalne zmiany gęstości membrany i ich wpływ na konformację kanału BK. Zakres dostępnych konformacji bramki aktywacyjnej może się zwiększyć lub zmniejszyć, jako wynik jej rozciągania lub ściszenia, co jest schematycznie pokazane jako ruch czarnych „diamentów”.

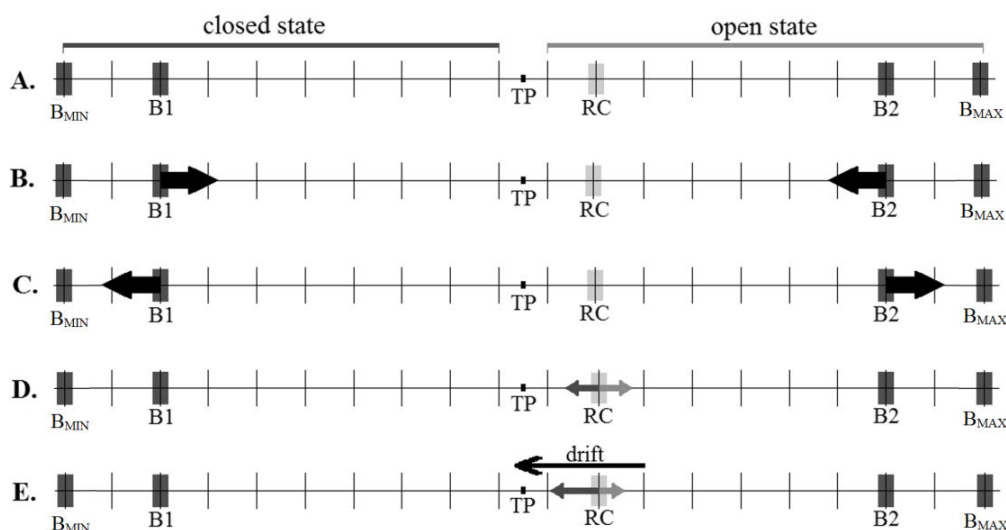
Takie podejście pozwala zachować zdolność układu do aktywacji pamięci dalekozasięgowej oraz pozwala utrzymać granice w niezmienniej pozycji (granice nieruchome). Warto zauważyć, że efekty działania siły ściskającej kanał są odwrotne w obu zaproponowanych modelach. W modelu 1 ściskanie kanału powoduje szybsze zmiany jego stanu (zmniejszenie przestrzeni dyfuzyjnej), a w modelu 2, promuje dłuższe przebywanie w danym stanie, ponieważ w wyniku ściskania segment S6 jest zakrzywiany, co przysuwa lub odsuwa jego koniec od światła kanału. Różnica ta może w przyszłości posłużyć do walidacji obu modeli



Rysunek 22. (A) Ściskanie membrany generuje siłę działającą na segment kanału powodując jego zginanie. Zginanie może prowadzić zarówno do konformacji zamkniętych jak i otwartych. (B) Rozciąganie membrany umożliwia relaksację zakrzywionych segmentów kanału.

4.2.2. Model kinetyki bramkowania kanału BK - Model 1

Parametry przestrzeni dyfuzyjnej modelu 1 pokazano na rysunku (23). Przestrzeń konformacyjna bramki aktywacyjnej została zrzutowana na przestrzeń jednowymiarową, która następnie została podzielona na dwie części odpowiadające makrostanowi otwartemu i zamkniętemu. Przejście między makrostanami wymaga pokonania bariery potencjału jak pokazano na rysunku (24A).



Rysunek 23. Schematyczna reprezentacja Modelu 1. (A). Jednowymiarowa siatka składa się z 20 węzłów – 10 węzłów reprezentuje stan zamknięty, a kolejne 10 - stan otwarty. Granice $B1$ i $B2$ mogą przemieszczać się symultanicznie w kierunku zmniejszenia (B) lub zwiększenia (C) przestrzeni dyfuzyjnej. Ruch RC może odbywać się bez (D) lub z (E) przyłożoną siłą dryfu.

Zakres ruchów RC jest ograniczony ruchomymi granicami $B1$ i $B2$. Ruch tych granic modeluje ściskanie i rozciąganie membrany spowodowane zmianami gęstości błony komórkowej. Ruch obu granic jest synchroniczny, co oznacza, że albo powoduje zwiększenie albo zmniejszenie przestrzeni konformacyjnej obu makrostanów oraz wykonywany jest w innej skali czasowej niż ruch RC (inna skala czasowa jest wynikiem dużo większej masy otoczenia bramki aktywacyjnej, które oddziałuje na jej granice, w porównaniu do masy fragmentów bramkujących). Ze względu na losowy charakter fluktuacji otoczenia, założono równe prawdopodobieństwa ruchu granic w kierunku powiększenia lub pomniejszenia przestrzeni dyfuzyjnej.

Różnica w skalach czasowych, w których odbywa się błędzenie RC oraz granic, zawarte jest w stosunku odpowiednich współczynników dyfuzji:

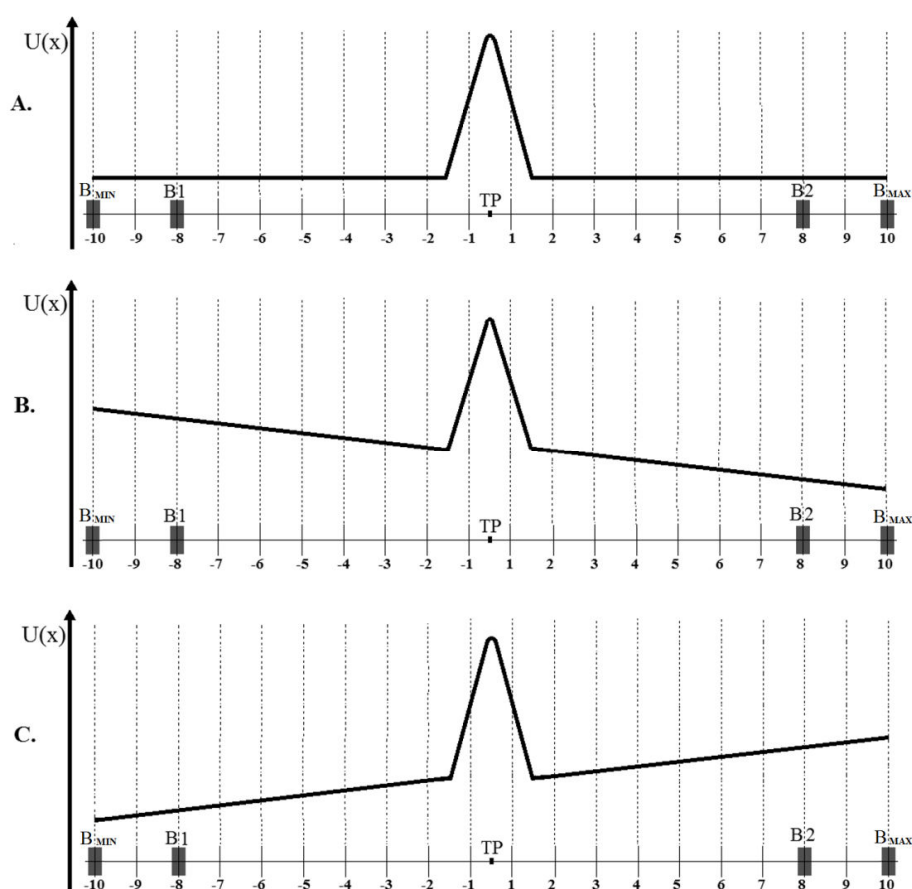
$$a = \frac{D_{RC}}{D_B}, \quad (93)$$

gdzie:

D_{RC} – współczynnik dyfuzji granic

D_B – współczynnik dyfuzji RC

W celu przetestowania niezależności wartości współczynnika Hursta od czynników aktywacyjnych, do modelu została dodana stała siła dryfu działająca na RC . Siła ta pochodzi z oddziaływania między czujnikami aktywacyjnymi a bramką. Dla dużych wartości potencjału membranowego np. $V = 80$ [mV] lub dla wysokich stężeń jonów wapniowych, preferowany jest stan otwarty, a więc siła dryfu jest skierowana w kierunku promującym otwarcie bramki aktywacyjnej (dla ujemnych wartościach potencjału lub niskich stężeń jonów Ca^{2+} siła skierowana jest w kierunku stanów zamkniętych). Powoduje to pochylenie potencjału przypisanego przestrzeni konformacyjnej, w zależności od siły przyłożonego bodźca (rysunek (24 B i C))



Rysunek 24. Schematyczna reprezentacja potencjału związanego z Modelem 1. (A) Brak wpływu czujników aktywacyjnych, żaden stan kanału nie jest preferowany. Taki przypadek opisany jest przez stały potencjał. Oddziaływanie allosteryczne czujników na bramkę aktywacyjną pojawia wprowadzone jest do modelu, jako stała siła dryfu działająca na RC , co jest zobrazowane, jako nachylenie potencjału w kierunku stanów otwartych (B) lub zamkniętych (C).

Prawdopodobieństwa ruchów bramki aktywacyjnej (RC) w kierunku stanów zamkniętych lub otwartych zostały wyznaczone z następujących równań:

$$p = \frac{1}{2} - \frac{\Delta U}{4kT} \quad (94)$$

$$q = \frac{1}{2} + \frac{\Delta U}{4kT} \quad (95)$$

gdzie:

k – stała Boltzmanna, T – temperatura absolutna, ΔU – zmiana energii potencjalnej między aktualną a sąsiednią pozycją RC .

Potencjał $U(x)$ opisano poniższym zestawem równań:

$$\left\{ \begin{array}{l} U(x) = (x - B1) \cdot A + U_{B1}; x \in \langle B1; TP - 1.5 \rangle \\ U(x) = (x - (TP - 1.5)) \cdot B + U_{TP-1.5}; x \in \langle TP - 1.5; TP \rangle \\ U(x) = (x - TP) \cdot (-B) + U_{TP}; x \in \langle TP; TP + 1.5 \rangle \\ U(x) = (x - (TP + 1.5)) \cdot A + U_{TP+1.5}; x \in \langle TP + 1.5; B2 \rangle \\ A = \frac{U_{TP-1.5} - U_{B1}}{TP - 1.5 - B1} \\ B = \frac{U_{TP} - U_{TP-1.5}}{TP - (TP - 1.5)} \end{array} \right. \quad (96)$$

gdzie: $B1$ i $B2$ są aktualnymi pozycjami granic przestrzeni konformacyjnej, TP oznacza punkt przejścia, U_{B1} , U_{TP} , $U_{TP-1.5}$ opisują wartość potencjału w odpowiednich punktach, a stałe A i B są nachyleniem funkcji $U(x)$ odpowiednio między punktami $B1$ i $TP-1.5$ oraz $TP-1.5$ i TP .

Zgodnie z równaniem (96), stała A reprezentuje siłę dryfu skierowaną w kierunku stanów otwartych lub zamkniętych, zaś stała B , siłę odpychającą pochodzącą od bariery potencjału między makrostanem otwartym a makrostanem zamkniętym.

Liczba węzłów przestrzeni konformacyjnej wynosi $2B_{MAX}$, gdzie B_{MAX} jest odbijającą granicą dla granic $B1$ i $B2$ oraz oznacza maksymalny rozmiar przestrzeni konformacyjnej. Przestrzeń konformacyjna jest dodatkowo ograniczona odbijającymi, ruchomymi granicami dla RC - $B1$ oraz $B2$, w których początkowe pozycje zostały ustalone odpowiednio w węzłach - $B_{MAX}/2$ i $B_{MAX}/2$.

Początkowa pozycja RC wynosi -1 , czyli opisuje kanał tuż po zamknięciu (najbliższy do TP stan zamknięty). Krok czasowy ruchu RC został przyjęty jako równy 1 , a ruchomych jako $t_B = 600$ (tj. $D_B = \frac{D_{RC}}{1000}$).

Wszystkie wartości modelu zostały wyznaczone metodą optymalizacji gradientowej podczas dopasowywania modelowych przebiegów prądowych do danych eksperymentalnych. Wartości parametrów były dopasowywane w kierunku minimalizacji błędu, aż do momentu, gdy względne błędy dopasowywania rozkładów zamkniętych i otwartych czasów trwania ($E_{dw,open}$), ($E_{dw,closed}$), prawdopodobieństwa otwarcia (E_{pop}) oraz współczynnika Hursta (E_H) były mniejsze niż 5%, a ich suma mniejsza niż 10%.

Całkowity błąd został wyznaczony z zastępującego wzoru:

$$E = E_H + E_{pop} + E_{dw,open} + E_{dw,closed} \quad (97)$$

gdzie:

$$E_H = \frac{|H_{exp} - H_{sim}|}{H_{exp}} \quad (98)$$

$$E_{pop} = \frac{|p_{op,exp} - p_{op,sim}|}{p_{op,exp}} \quad (99)$$

$$E_{dw,open} = \frac{|\chi_{exp,open}^2 - \chi_{sim,open}^2|}{\chi_{exp,open}^2} \quad (100)$$

$$E_{dw,closed} = \frac{|\chi_{exp,closed}^2 - \chi_{sim,closed}^2|}{\chi_{exp,closed}^2} \quad (101)$$

gdzie:

H_{exp} – współczynnik Hursta dla przebiegów eksperymentalnych utworzonych, jako kolejne długości czasów przebywania kanału w danym stanie

H_{sim} – współczynnik Hursta dla przebiegów symulacyjnych utworzonych, jako kolejne długości czasów trwania kanału w danym stanie

$p_{op,exp}$ – prawdopodobieństwo otwarcia kanału wyliczone z danych eksperymentalnych

$p_{op,sim}$ – prawdopodobieństwo zamknięcia kanału wyliczone z danych symulacyjnych

χ_{exp} i χ_{sim} – wielkości wyznaczone na podstawie znormalizowanych histogramów (eksperymentalnego i symulacyjnego) czasów trwania.

χ_{exp} zostało wyliczone, jako:

$$\chi_{\text{exp}}^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_i^2 \quad (102)$$

gdzie:

N – liczba podziałów histogramu czasów trwania

δ_i – odchylenie standardowe częstości odpowiadające danemu podziałowi dla 5 różnych pomiarów otrzymanym przy tych samych wartościach potencjału i stężenia jonów Ca^{+2} .

χ_{sim} wyliczone zostało jako:

$$\chi_{\text{sim}}^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (p_{i,\text{exp}} - p_{i,\text{sim}})^2 \quad (103)$$

gdzie:

N – liczba podziału histogramu

p_i – prawdopodobieństwo odpowiadające i -th podziałowi

Zależności między całkowitym błędem (E), a parametrami modelu zostały pokazane w Dodatku C pracy [106]

Wyznaczone metodą optymalizacji gradientowej wartości parametrów podane zostały w tabeli (7).

Tabela 7. Wartości parametrów użytych w Modelu 1.

Parametr	Wartość
B_{MAX}	14 [rcU]
B_{MIN}	-14 [rcU]
TP	0 [rcU]
Współczynnik dyfuzji współrzędnej postępu reakcji D_{RC}	10^4 [rcU ² /s]
Współczynnik dyfuzji granic D_{B}	$D_{\text{RC}}/600$
$U_{\text{TP}} - U_{\text{TP-1.5}}$	1.0 kT
Pozycja początkowa RC	-1 [rcU]
Pozycja początkowa B1, B2	Floor($B_{\text{MIN}}/2$), Floor($B_{\text{MAX}}/2$) [rcU] [*]

^{*}rcU – jednostkowa współrzędna postępu reakcji

Szczegóły przeprowadzonych symulacji (zarówno dla modelu 1 i 2) pokazane zostały w Dodatku B pracy [106]

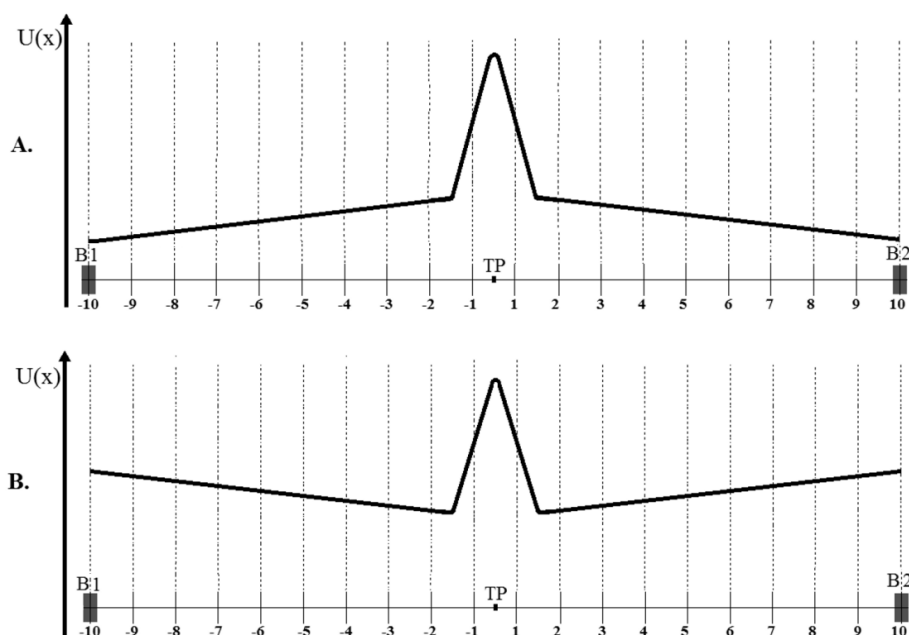
4.2.3. Model kinetyki bramkowania kanału BK - Model 2

Główną różnicą między modelem 2 a modelem 1 jest sposób, w jaki fluktuacje gęstości membrany komórkowej wpływają na kinetykę bramkowania. W modelu 1 zmiany gęstości membrany są ujęte, jako synchroniczne ruchy granic przestrzeni konformacyjnej, po której błądzi przypadkowo współrzędna postępu reakcji RC . W aktualnie prezentowanym modelu oddziaływania membrany komórkowej na białko kanałowe wprowadzone zostały jako synchroniczna siła, która działa po obu stronach przestrzeni konformacyjnej promując ruch w kierunku TP lub w kierunku granic. Wartości siły dryfu podlegają osobnemu procesowi błędzenia przypadkowego, w innej skali czasowej niż błędzenie RC .

Funkcja potencjału $U(x)$ przypisana przestrzeni konformacyjnej dla modelu 2 (rysunek (25)) ma następującą postać:

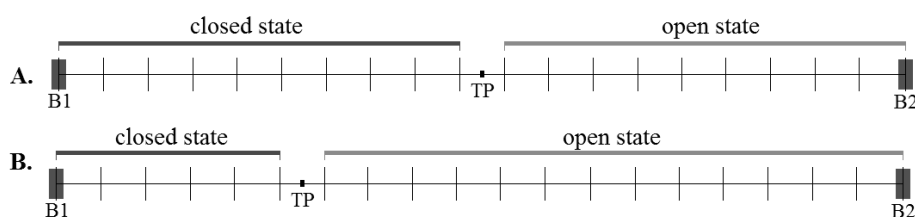
$$\left\{ \begin{array}{l} U(x) = (x - B1) \cdot A + U_{B1}; x \in \langle B1; TP - 1.5 \rangle \\ U(x) = (x - (TP - 1.5)) \cdot B + U_{TP-1.5}; x \in \langle TP - 1.5; TP \rangle \\ U(x) = (x - TP) \cdot (-B) + U_{TP}; x \in \langle TP; TP + 1.5 \rangle \\ U(x) = (x - (TP + 1.5)) \cdot (-A) + U_{TP+1.5}; x \in \langle TP + 1.5; B2 \rangle \\ A = \frac{U_{TP-1.5} - U_{B1}}{TP - 1.5 - B1} \\ B = \frac{U_{TP} - U_{TP-1.5}}{TP - (TP - 1.5)} \end{array} \right. \quad (104)$$

gdzie $B1$ i $B2$ oznaczają pozycje granic przestrzeni konformacyjnej, TP jest punktem przejścia między stanem zamkniętym i otwartym, U_{B1} , U_{TP} , $U_{TP-1.5}$ są odpowiednimi wartościami potencjału w danych punktach, a stałe A i B oznaczają odpowiednio wartość nachylenia potencjału między punktami $B1$ i $TP-1.5$ oraz $TP-1.5$ i TP . Stała A reprezentuje siłę dryfu działającą na RC pochodzącą od fluktuacji otoczenia bramki aktywacyjnej, a stała B jest siłą odpychającą pochodzącą od bariery potencjału między stanem zamkniętym oraz otwartym.



Rysunek 25. Schematyczna reprezentacja potencjału powiązane z Modelem 2. (A) Losowa siła promuje ruch *RC* w kierunku granic, co powoduje rzadsze zmiany stanu kanałowego. (B) Losowa siła powoduje częstsze przebywanie *RC* w pozycjach zbliżonych do *TP*, co jest obserwowane, jako skrócenie średnich czasów trwania w kanale danym stanie.

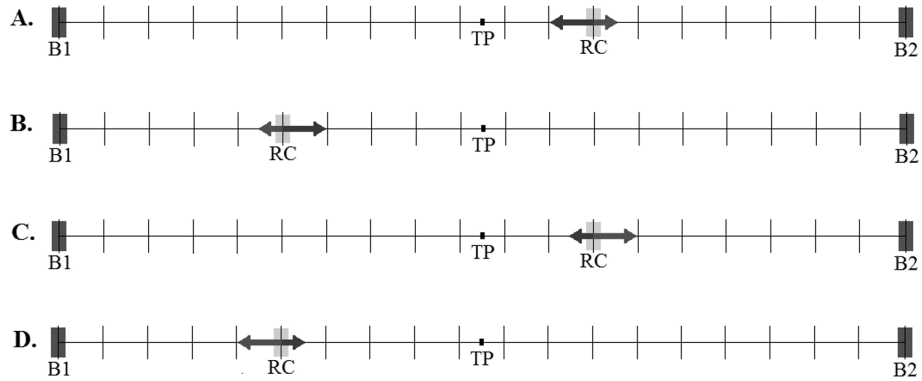
W modelu 2 wpływ aktywności czujników aktywacyjnych został uwzględniony przez zmiany lokalizacji punktu *TP*. Biofizyczną podstawą takiego założenia jest obserwacja, że wpływ czujników aktywacyjnych (z użyciem łącznika S5-S6) na bramkę, może polegać na przesunięciu części bramki aktywacyjnej w celu zwiększenia lub zmniejszenia ilości stanów zamkniętych lub otwartych. Wartość *TP* została tak dobrana, aby odpowiadała eksperymentalnym wartościom prawdopodobieństwa otwarcia bramki aktywacyjnej (rysunek (26)).



Rysunek 26. Schematyczna reprezentacja przestrzeni konformacyjnej użytej w Modelu 2. Pozycje granic *B1*, *B2* oraz punktu *TP* są stałe. (A) W przypadku braku czynnika aktywacyjnego, obie przestrzenie konformacyjne (zamknięta i otwarta) są tej samej wielkości. (B) W przypadku oddziaływania czynnika aktywacyjnego, pozycja punktu *TP* zmienia się tak, aby uzyskać odpowiednie prawdopodobieństwo otwarcia kanału – rozszerzenie jednej przestrzeni konformacyjnej kosztem drugiej.

Prawdopodobieństwa ruchów RC w kierunku granic (q_T) lub w kierunku TP (p_T) zostały wyznaczone z użyciem równań (94) i (95) (podstawiając: $p_T = p$ i $q_T = q$, gdy $RC < TP$ lub $p_T = q$ i $q_T = p$, gdy $RC > TP$) oraz potencjału opisanego równaniem (104).

Na rysunku (27) pokazano schematyczny obraz modelu 2.



Rysunek 27. Schematyczna reprezentacja Modelu 2. Współrzędna postępu reakcji posiada tendencję do ruchu w kierunku punktu TP (A, B) lub w kierunku granic (C, D).

Nachylenie potencjału (siła dryfu):

$$F_d = \pm \frac{U_{TP-1.5} - U_{B1}}{TP - 1.5 - B1} \quad (105)$$

jest kontrolowane przez oddzielny proces błędzenia przypadkowego parametru U_{B1} odbywającego się w skali 1200 razy wolniejszej niż skala czasowa błędzenia przypadkowego RC .

Wszystkie wartości parametrów dla modelu 2 zostały wyznaczone w analogiczny sposób jak dla modelu 1 i przedstawione w tabeli (8).

Tabela 8. Wartości parametrów użytych w Modelu 2.

Parametr	Wartość
B1	-18 [rcU]
B2	18 [rcU]
Współczynnik dyfuzji współrzędnej postępowania reakcji D_{RC}	10^4 [rcU ² /s]
Współczynnik dyfuzji siły dryfu D_{DF}	$D_{RC}/1200$
$U_{TP} - U_{TP-1.5}$	0.2kT
Pozycja początkowa RC	-1 [rcU]
Pozycja początkowa siły dryfu	0.00 [kT/rcU]
Przyrost siły dryfu $ \Delta k $	0.005 [kT/rcU]
Maksymalna wartość F_d	0.20 [kT/rcU]
Minimalna wartość F_d	-0.20 [kT/rcU]

4.2.4. Kinetyka kanału BK – analiza wygenerowanych przebiegów prądowych

Przy użyciu obu modeli wygenerowano 5 przebiegów prądowych, każdy o liczbie próbek wynoszącej $N = 6 \cdot 10^6$, dla 5 różnych wartości parametrów odpowiadających czynnikiem aktywacyjnym. Dla każdego przebiegu prądowego wyznaczono prawdopodobieństwo otwarcia, (p_o), średnią długość zajmowania stanu zamkniętego i otwartego oraz wartość współczynnika Hursta dla kolejnych wartości czasów przebywania w stanach zamkniętych i otwartych.

W celu potwierdzenia, czy obserwowana „pamięć Hursta” jest prawdziwą cechą generowanych serii czasowych, otrzymane dane zostały wymieszane, a następnie wyznaczono dla nich współczynniki Hursta.

Współczynnik r regresji liniowej dla przebiegów kolejnych czasów trwania dla modelu 1 wynosił 0.994 (0.996 dla odpowiedniego przebiegu wymieszanego), a dla modelu 2 - 0.987 (0.995 dla odpowiedniego przebiegu wymieszanego).

Tabela 9. Wartości charakterystyk pochodzących z czynników aktywacyjnych, wartości średnie i odchylenia standardowe (*SD*): prawdopodobieństw otwarcia kanału oraz współczynników Hursta (*H*) dla danych oryginalnych i potasowanych (*H_{sh}*), uzyskane, jako średnia z pięciu przebiegów eksperymentalnych (Model 1 i Model 2) dla różnych wartości czynników aktywacyjnych kanał BK.

Model 1					
F_d [kT/rcU]	$p_o \pm SD$	$H \pm SD$	$T_{open} \pm \Delta T_{open}$ [ms]	$T_{closed} \pm \Delta T_{closed}$ [ms]	$H_{sh} \pm SD$
0.40	0.15 ± 0.01	0.74 ± 0.02	0.32 ± 0.01	1.75 ± 0.15	0.51 ± 0.01
0.20	0.25 ± 0.01	0.79 ± 0.01	0.46 ± 0.02	1.38 ± 0.11	0.52 ± 0.01
0.00	0.50 ± 0.01	0.82 ± 0.01	0.74 ± 0.07	0.74 ± 0.07	0.52 ± 0.01
-0.20	0.74 ± 0.01	0.79 ± 0.01	1.25 ± 0.09	0.43 ± 0.20	0.51 ± 0.01
-0.40	0.85 ± 0.01	0.73 ± 0.01	1.62 ± 0.04	0.31 ± 0.01	0.53 ± 0.01
Model 2					
TP	$p_o \pm SD$	$H \pm SD$	$T_{open} \pm \Delta T_{open}$ [ms]	$T_{closed} \pm \Delta T_{closed}$ [ms]	$H_{sh} \pm SD$
14	0.16 ± 0.02	0.69 ± 0.01	0.63 ± 0.01	3.25 ± 0.44	0.51 ± 0.01
7	0.32 ± 0.02	0.71 ± 0.01	1.35 ± 0.08	2.93 ± 0.46	0.53 ± 0.01
0	0.50 ± 0.01	0.72 ± 0.02	2.16 ± 0.28	2.13 ± 0.25	0.52 ± 0.01
-7	0.68 ± 0.02	0.71 ± 0.01	2.87 ± 0.45	1.32 ± 0.08	0.52 ± 0.01
-14	0.85 ± 0.02	0.68 ± 0.01	3.79 ± 0.66	0.64 ± 0.02	0.51 ± 0.01

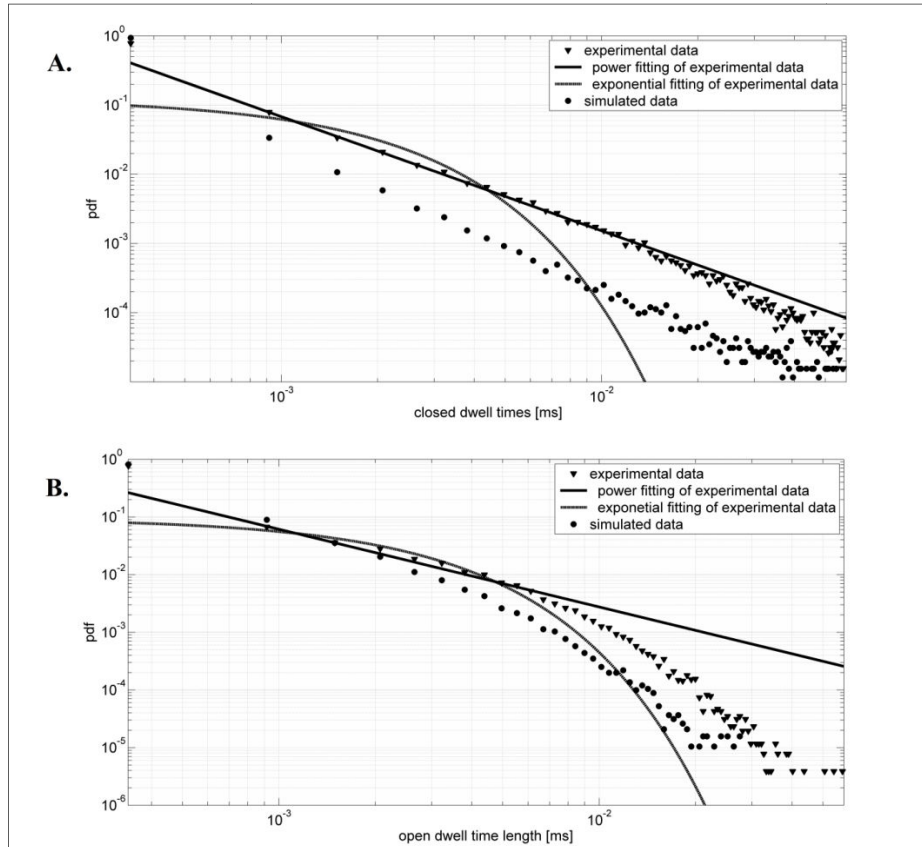
Otrzymane wartości charakterystyk generowanych przy pomocy modeli 1 i 2 potwierdzają, że oba modele są w stanie generować przebiegi czasowe o charakterystykach zgodnych z eksperymentalnymi. Przy pomocy regulacji parametrami F_d (Model 1) i TP (Model 2) możliwe jest otrzymanie odpowiednich prawdopodobieństw otwarcia kanału dla danych warunków eksperymentalnych.

Średnie długości czasów otwarcia, otrzymane przy pomocy modeli 1 i 2, są zgodne jakościowo (Model 1) oraz ilościowo (Model 2) z danymi eksperymentalnymi.

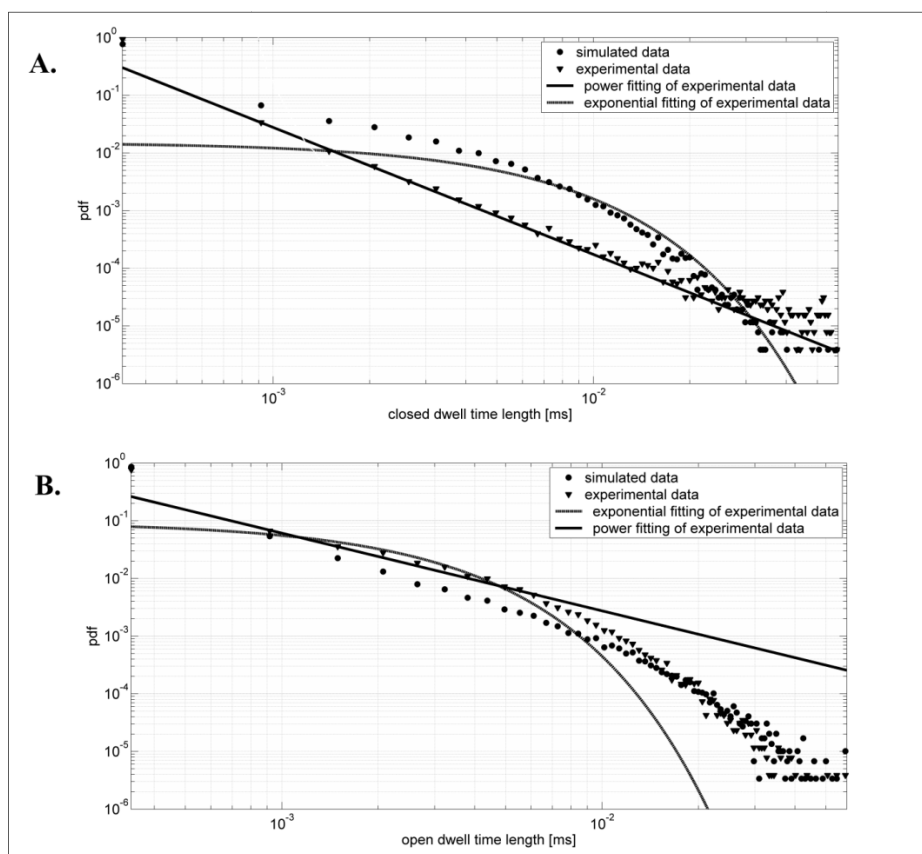
Wartości współczynników Hursta pokrywają się z wartościami wyznaczonymi dla danych eksperymentalnych oraz nie zależą od wartości p_o . Po „przetasowaniu” danych, wartości

współczynników Hursta zmniejszyły się do wartości $H_{sh} \approx 0.5$, co wskazuje, że generowana pamięć jest prawdziwą cechą modelowanego układu.

Rozkłady czasów trwania kanału w stanie zamkniętym oraz otwartym, wyznaczone dla otrzymanych przebiegów prądowych, zostały zaprezentowane na wykresach (12) i (13).



Wykres 12. Rozkłady czasów trwania stanów: zamkniętego (A) i otwartego (B) dla danych symulacyjnych uzyskanych z Modelu 1 oraz zmierzonych eksperymentalnie dla $[Ca^{2+}] = 2[mM]$ and $V = 80 [mV]$. Parametry użyte w symulacjach zamieszczone są w tabeli (7), a wartość siły dryfu została dobrana w taki sposób, aby uzyskać prawdopodobieństwa otwarcia kanału bliskie wartościom eksperymentalnym. Procedura dopasowywania została przeprowadzona we współrzędnych liniowych, a następnie wyniki zostały pokazane w skali logarytmicznej.



Wykres 13. Rozkłady czasów trwania stanów: zamkniętego (A) i otwartego (B) dla danych symulacyjnych uzyskanych z Modelu 2 oraz zmierzonych eksperymentalnie dla $[Ca^{2+}] = 2[mM]$ and $V = 80 [mV]$. Parametry użyte w symulacjach zamieszczone są w tabeli (8), a wartość siły dryfu została dobrana w taki sposób, aby uzyskać prawdopodobieństwa otwarcia kanału bliskie wartości eksperymentalnym. Procedura dopasowywania została przeprowadzona we współrzędnych liniowych, a następnie wyniki zostały pokazane w skali logarytmicznej.

Z wykresu (12) wynika, że Model 1 generuje przebiegi czasowe o potęgowym rozkładzie czasów trwania kanału w stanie zamkniętym. Wynik ten jest zgodny z eksperymentalnymi danymi dla kanałów potasowych przynajmniej w niektórych przypadkach [74; 75]. Przeciwnie, rozkład otwartych czasów trwania charakteryzuje się rozkładem z ogonem wykładniczym. W obu przypadkach krótkie czasy są zawyżone, a długie osiągają zbyt małe wartości.

Model 2 generuje przebiegi czasowe o zgodnym z eksperymentami rozkładzie trwania czasów otwarcia, ale rozkład trwania czasów zamkniętych charakteryzuje się tym razem ogonem wykładniczym.

Wysokość barier potencjału oddzielającej stan zamknięty od otwartego wynosi 1.0 kT (Model 1) i 0.2 kT (Model2), a współczynniki dyfuzji granic (Model 1) lub siły dryfu (Model 2) są mniejsze od współczynnika dyfuzji RC odpowiednio 600 oraz 1200 razy.

4.2.5. Wnioski wynikające z zaproponowanych modeli kinetyki bramkowania kanału BK

W części niniejszej pracy, poświęconej opisowi kinetyki bramkowania kanałów BK, zostały przedstawione dwa dyfuzyjne modele reprodukcujące ilościowo i jakościowo wszystkie ważne charakterystyki przebiegów prądowych rejestrowanych eksperymentalnie.

Konstrukcja obu modeli została oparta na wnioskach płynących z analizy pamięci dalekozasięgowej Hursta zastosowanej do eksperymentalnych przebiegów prądowych, przy stężeniu jonów wapniowych wynoszącym 2 [mM] oraz w zakresie napięć z przedziału (-80 ; +80) [mV]. Dodatkowo, analizę wsparto danymi otrzymanymi przez innych autorów [94; 98; 99], którzy sugerują istnienie pamięci dalekozasięgowej w sekwencji kolejnych czasów trwania stanów kanałowych.

Z badań eksperymentalnych wynika, że mechanizm odpowiedzialny za występowanie pamięci dalekozasięgowej nie jest związany z aktywnością czujników wapniowych oraz napięciowych, ale jest cechą dynamiki samej bramki aktywacyjnej. Biorąc pod uwagę biologiczny obraz kanałów BK, wydaje się, że efekty pamięci pochodzą od termicznych fluktuacji bramki aktywacyjnej, odpowiedzialnych za spontaniczne zmiany stanu kanałowego. Okazało się, że efekt fluktuacji termicznych jest niewystarczający do wytworzenia korelacji w przebiegach czasów trwania stanów kanałowych. Niezbędne okazało się wprowadzenie do modelu czynnika synchronicznego (synchroniczny ruch granic w Modelu 1 i synchroniczna siła dryfu w Modelu 2) oraz różnych skal czasowych ruchu poszczególnych segmentów modelowanego kanału BK.

W omawianej części badań pokazano, że synchroniczność zawarta w proponowanych modelach może mieć źródło w losowych zmianach gęstości membrany w obrębie kanału BK.

W przypadku zwiększenia lokalnej gęstości membrany, następuje ściskanie kanału zmniejszające dostępną przestrzeń konformacyjną bramki aktywacyjnej (Model 1) lub zmieniające rozkład przyjmowanych stanów (Model 2). Przeciwnie, zmniejszenie lokalnej gęstości umożliwia relaksację segmentów kanału oraz zwiększenie lub ujednorodnienie rozkładu stanów kanałowych,

Część kanału BK, odpowiedzialna za bramkowanie, posiada znacząco mniejszą masę niż fluktuujące otoczenia. Różnica ta objawia się w różnych skalach czasowych ruchu bramki aktywacyjnej oraz fluktuacjach granic (Model 1) i siły dryfu (Model 2).

Zgodnie z teorią błędzenia przypadkowego współczynnik dyfuzji jest dany zależnością:

$$D \propto v \cdot \delta = v^2 \cdot \tau \quad (106)$$

gdzie: v jest prędkością rozważanej cząstki, δ jest średnią drogą swobodną cząstki, a τ jest średnim czasem między zderzeniami cząstek z cząstkami ośrodka.

Częstość kolizji jest proporcjonalna do powierzchni obiektu (S), więc τ jest odwrotnie proporcjonalne do S . Biorąc to pod uwagę oraz proporcjonalność między masą i objętością ($m \sim V \sim S^{3/2}$) otrzymujemy:

$$\tau \propto m^{-2/3} \quad (107)$$

Zgodnie z podrozdziałem 2.1:

$$kT \propto \frac{1}{2}mv^2 \quad (108)$$

gdzie k jest stałą Boltzmanna, a T jest temperaturą bezwzględną.

Prosta „algebra” na wzorach (106 - 108) daje zależność między masą, a współczynnikiem dyfuzji:

$$m \propto \left(\frac{2kT}{D} \right)^{3/5} \quad (109)$$

Z równania (109) wynika, że stosunek współczynników dyfuzji zastosowany w naszych modelach do ujęcia różnicy w masach bramki aktywacyjnej i otoczenia kanału, jest faktycznie odwrotnie proporcjonalny do stosunku mas:

$$\frac{m_S}{m_{CG}} = \left(\frac{D_{CG}}{D_S} \right)^{3/5} \quad (110)$$

gdzie: S – „otoczenie”, CG – bramka aktywacyjna

Zaproponowane modele przewidują stosunek współczynników dyfuzji wynoszący:

$$\frac{D_S}{D_{CG}} = \frac{D_{RC}}{D_B} = 600, \quad \frac{D_S}{D_{CG}} = \frac{D_{RC}}{D_{DF}} = 1200 \text{ odpowiednio dla Modelu 1 i 2.}$$

Szczegółowe rozważania na temat, czy takie wartości stosunków współczynników dyfuzji, a zatem i mas bramki aktywacyjnej i fluktuującego otoczenia są fizyczne, zostały umieszczone w pracy [106].

W wyniku przeprowadzonej analizy wyznaczono stosunek mas fluktuującego otoczenia (m_s) i bramki (m) aktywacyjnej, jako równy:

$$\frac{m_s}{m} = \left(\frac{D}{D_s} \right)^{3/5} = 1.04 \cdot 10^5 \quad (111)$$

Wynik ten wskazuje, że fluktuacje zaledwie 2% całej objętości łątki użytej w pomiarach *patch-clamp* wystarczą do uzyskania, wprowadzonych w zaproponowanych modelach, różnic skal czasowych. Wynik ten potwierdza realność uczynionych w modelach założeń oraz, w pewnym sensie, potwierdza ich słuszność.

Oba modele powinny zostać poddane dalszej weryfikacji np. poprzez równoczesny pomiar fluktuacji prądów jonowych oraz grubości membrany w otoczeniu kanału BK. Zaproponowane modele przewidują korelację między tymi dwoma wielkościami. Pozytywna korelacja wskazywałaby na słuszność Modelu 1, a negatywna, na słuszność Modelu 2.

Wyniki zamieszczone w tabeli (9) pokazują dobrą zgodność danych eksperymentalnych oraz symulacyjnych wielkości charakteryzujących przebiegi prądowe, w szczególności:

- zaproponowane modele generują przebiegi o prawdopodobieństwach otwarcia kanału oraz średnich czasów trwania, które są zgodne z eksperymentalnymi, zmierzonymi w szerokim zakresie wartości czynników aktywujących,
- analiza Hursta użyta do analizy szeregów zbudowanych jako kolejne długości czasów trwania, dla danych eksperymentalnych wykazała występowanie pamięci dalekozasięgowej o wartościach współczynnika Hursta 0.77 (Model 1) i 0.70 (Model 2),
- po „przetasowaniu” szeregów czasów trwania, wartości współczynnika Hursta przyjmowały wartość ≈ 0.5 , co sugeruje, że obserwowana pamięć jest wewnętrzną cechą modelowanego układu,
- oba zaproponowane modele są w stanie wygenerować w wielu wypadkach rozkłady czasów trwania stanów zamkniętych i otwartych zgodne z eksperymentalnymi, zarówno na poziomie jakościowym jak i ilościowym.

Podsumowując, oba zaproponowane modele, mimo swojej prostoty umożliwiają pełniejsze poznanie dynamiki bramki aktywacyjnej kanałów BK oraz podają biofizyczną interpretację obserwowanych własności przebiegów prądowych. Zaproponowany mechanizm powstawania pamięci dalekozasięgowej wydaje się na obecnym poziomie wiedzy prawdopodobnym oraz możliwym do zweryfikowania eksperymentalnie w toku dalszych badań.

4.3. Model transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membrany magnetyczne

4.3.1. Wyznaczanie parametrów modelu

Model transportu azotu i tlenu przez membrany magnetyczne zawiera zestaw parametrów, które zostały przedstawione w tabeli (10).

Tabela 10. Lista parametrów użytych w modelu transportu azotu i tlenu przez membrany magnetyczne.

Parametr	Opis
$\mu_{O_2} = \mu_{aggregate}$	Moment magnetyczny cząsteczki tlenu $\mu_{O_2} = 2.95 \mu_B$, $\mu_B = 9.27 \cdot 10^{-24}$ [J/T] (magneton Bohra); założono, że moment magnetyczny agregatu równa się momentowi magnetycznemu cząstki tlenu
$D_{N_2, polymer}$	Współczynnik dyfuzji azotu w polimerze, $D_{N_2, polymer} = 0.8 \cdot 10^{-5}$ [cm ² /s] (wartość eksperymentalna z [107])
$D_{O_2, polymer}$	Współczynnik dyfuzji tlenu w polimerze, $D_{O_2, polymer} = 1.09 \cdot 10^{-5}$ [cm ² /s] (wartość eksperymentalna z [107])
$D_{N_2, channel}$	Współczynnik dyfuzji azotu w kanale magnetycznym, $D_{N_2, channel} = 1 \div 9 \cdot D_{N_2, polymer}$ (wartość zależna od magnetyzacji (B); dla $B \leq 1.25$ [mT] otrzymana przez dopasowanie do przebiegów eksperymentalnych, dla $B > 1.25$ [mT] – wyznaczona przez ekstrapolację danych eksperymentalnych)
$D_{O_2, channel}$	Współczynnik dyfuzji tlenu w kanale magnetycznym, $D_{O_2, channel} = 4 \div 53 \cdot D_{O_2, polymer}$ (wartość zależna od magnetyzacji (B); dla $B \leq 1.25$ [mT] otrzymana przez dopasowanie do przebiegów eksperymentalnych, dla $B > 1.25$ [mT] – wyznaczona przez ekstrapolację danych eksperymentalnych)
$D_{aggregate, channel}$	Współczynnik dyfuzji azotu w kanale magnetycznym, $D_{aggregate, channel} = 10 \cdot D_{O_2, polymer} \div 210$ (wartość zależna od magnetyzacji (B); dla $B \leq 1.25$ [mT] otrzymana przez dopasowanie do przebiegów eksperymentalnych, dla $B > 1.25$ [mT] – wyznaczona przez ekstrapolację danych eksperymentalnych)

B_w	Wartość indukcji pola Weissa $B_w = 200$ T (otrzymana przez dopasowanie do przebiegów eksperymentalnych)
s	Współczynnik stabilności w kanale magnetycznym, przyjmuje wartości od 0 do 1 (wartość zależna od magnetyzacji (B); dla $B \leq 1.25$ [mT] otrzymana przez dopasowanie do przebiegów eksperymentalnych, dla $B > 1.25$ [mT] – wyznaczona poprzez ekstrapolację danych eksperymentalnych)

Trzy wartości parametrów spośród wymienionych w tabeli (10) są znane [107]: μ_{O_2} , $D_{N_2, \text{polymer}}$, $D_{O_2, \text{polymer}}$. Pozostała część musi zostać wyznaczona przez dopasowanie przebiegów symulacyjnych do eksperymentalnych.

Warto w tym miejscu zaobserwować trzy rzeczy:

a.) Z powodu podobnych rozmiarów cząsteczek tlenu i azotu, zbliżonego sposobu oddziaływania z matrycą polimerową oraz pewnymi kłopotami technicznymi podczas realizacji błędzenia przypadkowego można założyć, że wartości współczynników dyfuzji cząsteczek azotu i tlenu w polimerze są jednakowe i nie zależą od magnetyzacji:

$$D_{\text{polymer}} = D_{N_2, \text{polymer}} = D_{O_2, \text{polymer}} = 1.0 \cdot 10^{-5} \text{ [cm}^2/\text{s]} \quad (112)$$

b.) Z powodu braku informacji na temat struktury agregatu założono, że posiada on taki sam moment magnetyczny jak cząsteczka tlenu.

c.) Dane eksperymentalne sugerują, że strumień czystego azotu początkowo rośnie, a następnie maleje wraz ze wzrostem magnetyzacji membrany. Odmiennie zachowuje się strumień czystego tlenu, który nieznacznie rośnie wraz ze wzrostem magnetyzacji.

Takie zachowanie może być wytłumaczone następującą obserwacją. Wzrost magnetyzacji membrany jest częściowo połączony ze wzrostem ilości masy proszku magnetycznego dodanego do membrany. Większa ilość granulek magnetycznych powoduje powstanie większej ilości kanałów magnetycznych w membranie, które zwiększają efektywność transportu cząstek. Ten efekt tłumaczy wzrost strumienia czystego azotu dla małych granulacji oraz nieznaczny wzrost strumienia czystego tlenu. Dla dużych magnetyzacji strumień azotu zaczyna jednak maleć. Strumień czystego tlenu nie rośnie tak szybko, jakby można się było spodziewać. Efekty te można wytłumaczyć dwoma przyczynami: spadkiem powierzchni przekroju dla transportowanych cząstek wskutek większej ilości masy proszku

magnetycznego w membranie oraz zmniejszeniem promienia kanału magnetycznego na skutek wzajemnego przyciągania się granulek do siebie.

W zaproponowany modelu efekty te ujęte są przez przyjęcie różnych wartościach współczynników dyfuzji cząsteczek azotu i tlenu w kanale.

Współczynniki dyfuzji azotu oraz tlenu w kanale można wyznaczyć z danych eksperymentalnych. Strumień czystego azotu kontrolowany jest tylko przez dwa parametry: $D_{N_2,channel}$ (nieznany) i $D_{N_2,polymer}$ (znany), natomiast strumień czystego tlenu jest kontrolowany przez cztery parametry: $D_{O_2,channel}$ (nieznany), B_W (nieznany), $D_{O_2,polymer}$ (znany) oraz μ_{O_2} (znany).

Aby zmniejszyć ilość nieznanymi parametrów można założyć, że dla membrany o zerowej magnetyzacji współczynniki dyfuzji cząsteczek azotu i tlenu w kanale są sobie równe (wynika to z podobnych mas obu cząsteczek). Dzięki temu można wyznaczyć wszystkie wartości nieznanymi parametrów przez dopasowanie wartości strumieni otrzymanych w symulacjach do wartości strumieni czystych składników w przypadku membrany o zerowej magnetyzacji.

W ten sposób wyznaczono współczynniki dyfuzji cząsteczek azotu i tlenu w membranie oraz wartość indukcji pola Weissa (200 T). Na wykresie (16) pokazano zależność wartości strumieni od indukcji pola Weissa dla składników czystych i w powietrzu. We wszystkich przypadkach (oprócz wartości strumieni dla czystego azotu) zależność ta ma charakter liniowy i rośnie wraz ze wzrostem wartości B_W . Jest to związane z mocniejszymi interakcjami cząsteczek tlenu oraz agregatu z powierzchnią granulek magnetycznych dla wysokich wartości indukcji pola Weissa.

Podobną procedurę zastosowano w celu wyznaczenia wartości współczynników dyfuzji cząsteczek azotu i tlenu w kanale dla wyższych wartości magnetyzacji membrany. Współczynniki dyfuzji azotu i tlenu zostały wyznaczone przez dopasowanie strumieni otrzymanych w symulacjach do strumieni eksperymentalnych (wykres (14)) przy założeniu, że wartość indukcji pola Weissa nie zmienia się z magnetyzacją.

Zaprezentowana na wykresie (14) zależność strumieni czystych składników od współczynnika dyfuzji w kanale jest liniowa. Im większy współczynnik dyfuzji, tym większe strumienie. Obraz ten jest zgodny z rozumieniem działania kanałów oraz ich wpływu na transport masy przez membrany magnetyczne. Warto w tym miejscu zauważyć, że wzrost

strumienia czystego tlenu jest wyraźnie większy niż wzrost strumienia czystego azotu. Jest to spowodowane interakcją cząsteczek tlenu z polem Weissa, co zwiększa czas ich przebywania w kanale i skraca czas transportu przez membranę magnetyczną (w kanale dyfuzja jest szybsza).

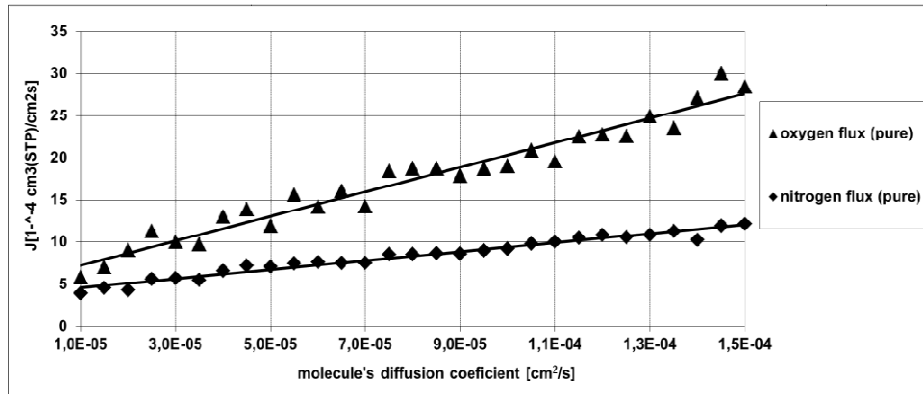
Znając wszystkie parametry modelu dla strumieni czystych składników, można wyznaczyć odpowiednie wartości parametrów dla składników w powietrzu.

Oprócz już analizowanych parametrów, w tym wypadku dochodzą jeszcze trzy: c (nieznany), $\mu_{agregat}$ (znany) oraz s (nieznany).

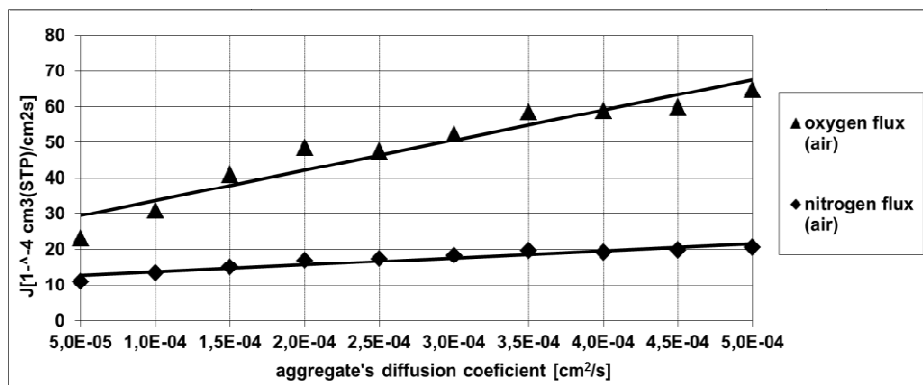
Wszystkie nieznane parametry zostały wyznaczone podobnie jak w przypadku strumieni czystych składników, poprzez dopasowanie otrzymanych w symulacjach strumieni do strumieni eksperymentalnych, zmierzonych dla składników w powietrzu. Na wykresie (15) pokazano zależność strumieni azotu i tlenu od współczynnika dyfuzji agregatu. Zależność ta ma charakter liniowy. Im większy współczynnik dyfuzji tym większe wartości strumieni. Po wykonaniu dopasowania okazało się, że dla danej magnetyzacji współczynnik dyfuzji agregatu jest większy niż współczynniki dyfuzji azotu i tlenu. Fakt ten jest nieoczekiwany ze względu na ok. 2x większą masę agregatu niż pojedynczych cząstek azotu oraz tlenu, co powinno skutkować mniejszym, a nie większym współczynnikiem dyfuzji. Zjawisko to można spróbować wytłumaczyć na dwa sposoby: nie jest znana dokładna struktura agregatu, możliwe więc, że jest on w stanie bardziej efektywnie pokonywać drogę w kanale magnetycznym poprzez lepsze dopasowanie się do powierzchni granulek magnetycznych, a tym samym mocniej oddziaływać z polem Weissa. Po drugie, agregat jest większy niż pojedyncze cząsteczki azotu i tlenu, dzięki czemu nie jest zatrzymywany we wszystkich mniejszych przestrzeniach utworzonych na granicy polimer – powierzchnia granulek magnetycznych, co umożliwia bardziej efektywny transport przez membranę.

Po wykonaniu dopasowania parametrów okazało się, że dla małych magnetyzacji, na bazie modelu nie jest możliwe otrzymanie wartości strumieni w powietrzu zgodnych z eksperymentalnymi. Aby poprawić dopasowanie strumieni w powietrzu, wprowadzono współczynnik stabilności s .

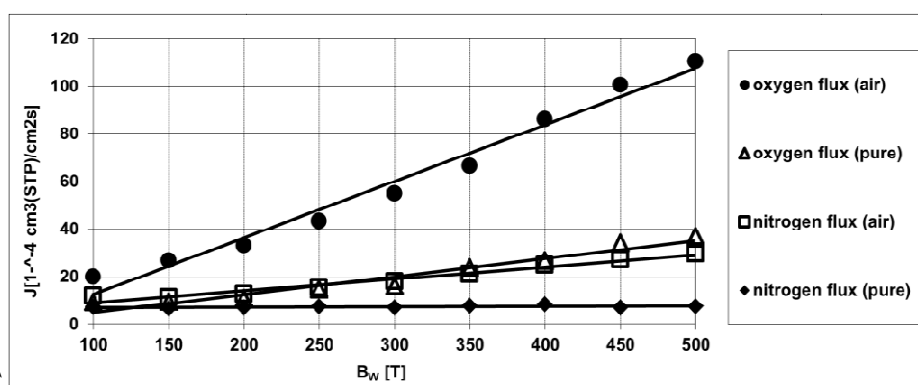
Wszystkie wyznaczone wartości parametrów w modelu zaprezentowano w tabeli (11).



Wykres 14. Strumienie czystych składników (azotu i tlenu) jako funkcja ich współczynnika dyfuzji w kanale magnetycznym. Symulacje zostały wykonane dla przykładowych struktur proszku magnetycznego o masie 1.3 [mg] i granulacji 30 [μm]. Pole Weissa posiadało indukcyjność równą 200 [T].



Wykres 15. Strumienie składników (azotu i tlenu) w powietrzu jako funkcja ich współczynnika dyfuzji w kanale magnetycznym. Symulacje zostały wykonane dla przykładowych struktur proszku magnetycznego o masie 1.3 [mg] i granulacji 30 [μm]. Pole Weissa posiadało indukcyjność równą 200 [T].



Wykres 16. Strumienie czystych składników oraz składników w powietrzu (azotu i tlenu) jako funkcja indukcyjności pola Weissa. Symulacje zostały wykonane dla przykładowych struktur proszku magnetycznego o masie 1.3 [mg] i granulacji 30 [μm]. Współczynniki dyfuzji w kanale wynosiły 4Dpolymer, 6Dpolymer i 10Dpolymer odpowiednio dla cząstek tlenu azotu i agregatu.

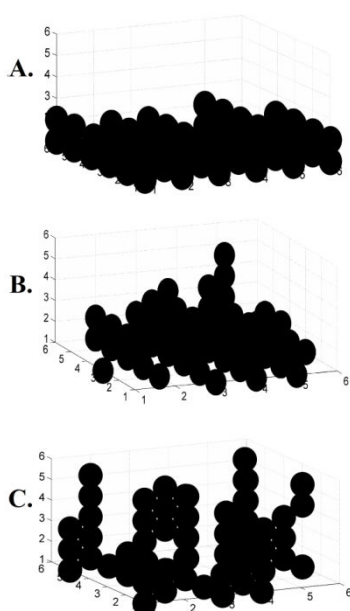
Tabela 11. Wartości współczynników dyfuzji azotu, tlenu i agregatu w kanale magnetycznym oraz wartości współczynnika stabilności (dla granulacji 30 [μm]) jako funkcja masy proszku magnetycznego i jego magnetyzacji

	Masa proszku magnetycznego [g]	B [mT]	$D_{N_2,channel}$	$D_{O_2,channel}$	$D_{aggregate,channel}$	s
Membrana polimerowa	---	---	---	---	---	---
Membrana magnetyczna	1.30	0	$9 D_{polymer}$	$9 D_{polymer}$	$12 D_{polymer}$	0
	1.10	0.18	$8 D_{polymer}$	$7 D_{polymer}$	$10 D_{polymer}$	0.81
	1.20	0.29	$8 D_{polymer}$	$6 D_{polymer}$	$10 D_{polymer}$	0.86
	1.30	0.50	$6 D_{polymer}$	$4 D_{polymer}$	$10 D_{polymer}$	0.90
	1.38	0.79	$4 D_{polymer}$	$8 D_{polymer}$	$30 D_{polymer}$	0.96
	1.49	1.25	$3 D_{polymer}$	$10 D_{polymer}$	$40 D_{polymer}$	0.97
	1.60	1.78	$3 D_{polymer}$	$15 D_{polymer}$	$64 D_{polymer}$	0.98
	1.70	2.43	$2 D_{polymer}$	$22 D_{polymer}$	$92 D_{polymer}$	0.98
	1.80	3.19	$2 D_{polymer}$	$31 D_{polymer}$	$126 D_{polymer}$	0.99
	1.90	4.07	$1 D_{polymer}$	$41 D_{polymer}$	$165 D_{polymer}$	0.99
2.00	5.06	$1 D_{polymer}$	$53 D_{polymer}$	$210 D_{polymer}$	0.99	

4.3.2. Wyniki modelowania transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membranę magnetyczną

4.3.2.1. Określenie struktur utworzonych w membranie przez granulki magnetyczne

Przykładowe otrzymane struktury dla trzech różnych wartości indukcji pola zewnętrznego pokazano na rysunku (28).



Rysunek 28. Przykładowe struktury granulek magnetycznych w membranie dla (A) $B_{\text{ext}} = 0$ [T], (B) $B_{\text{ext}} = 0.004$, (C) $B_{\text{ext}} = 0.040$. Masa użytego proszku magnetycznego wynosiła 1.3 [g].

Na rysunku (28A) pokazano przykładową strukturę, którą otrzymano w symulacji procesu tworzenia membrany w warunkach zerowej wartości zewnętrznego pola magnetycznego. W tym wypadku granulki magnetyczne wykazują tendencję do sedymentacji pod wpływem pola grawitacyjnego. Taka struktura nie jest korzystna z punktu widzenia roli kanałów magnetycznych w procesie rozdziału azotu i tlenu. Kanały magnetyczne w ten sposób utworzone są krótkie, co nie wpływa korzystnie na proces rozdziału.

Na rysunku (28B) pokazano strukturę otrzymaną dla niskich wartości pola zewnętrznego. Widać, że w tym przypadku proces sedymentacji granulek magnetycznych jest częściowo ograniczony przez tendencję granulek do ustawiania się zgodnie z liniami pola magnetycznego oraz ustawianiu się „jedna na drugiej”.

W przypadku, gdy pole magnetyczne osiąga bardzo duże wartości, proces sedymentacji jest prawie całkowicie ograniczony, co skutkuje powstawaniem pionowych struktur w membranie. Kierunek powstałych kanałów magnetycznych jest zgodny z kierunkiem transportu cząstek przez membranę, a zatem takie struktury są bardzo korzystne z punktu widzenia procesu rozdziału.

4.3.2.2. Wyznaczanie strumieni azotu i tlenu przez membranę magnetyczną

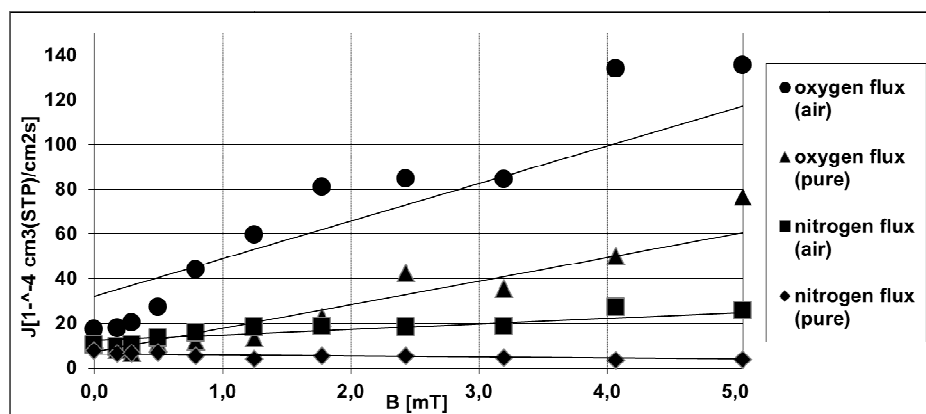
Przy użyciu wyznaczonych wartości parametrów w modelu, wyliczono wartości strumieni azotu i tlenu dla różnych wartości magnetyzacji membrany oraz wielkości granulek magnetycznych.

Wyniki zostały zaprezentowane w tabeli (12) oraz na wykresie (17).

Tabela 12. Wyznaczone w symulacjach strumienie azotu i tlenu dla membran utworzonych z proszków magnetycznych o granulacji 30 [μm] dla różnych wartości magnetyzacji. Symulacje zostały wykonane dla składników czystych i w powietrzu. Dane zostały znormalizowane do grubości membrany równej 200 [μm] oraz stężenia Co=1.

B[mT]	Masa proszku magnetycznego [g]	J _{N₂} w powietrzu	J _{O₂} w powietrzu	J _{N₂} czysty	J _{O₂} czysty
0	1.30	10.25	17.25	7.67	12.70
0.18	1.10	9.33	17.81	6.35	8.18
0.29	1.20	10.27	20.26	6.49	7.00
0.50	1.30	13.39	27.20	6.80	11.07
0.79	1.40	15.82	44.00	5.23	11.90
1.25	1.50	18.40	59.50	3.96	13.20
1.78	1.60	18.69	81.08	5.35	22.78
2.43	1.70	18.39	84.59	5.36	42.41
3.19	1.80	18.71	84.47	4.38	35.53
4.07	1.90	27.30	133.94	3.31	49.91
5.06	2.00	30.65	135.54	3.62	76.68

$$\left[\frac{10^{-4} \text{ cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$$



Wykres 17. Wyznaczone w symulacjach strumienie azotu i tlenu dla membran utworzonych z proszków magnetycznych o granulacji 30 [μm] dla różnych wartości magnetyzacji. Symulacje zostały wykonane dla składników czystych i w powietrzu. Dane zostały znormalizowane do grubości membrany równej 200 [μm] oraz stężenia Co=1.

Porównując wykresy (1) i (2) z wykresem (17) (granulacja 30 μm) można zaobserwować, że zaproponowany model przewiduje wartości strumieni, które są zgodne ilościowo i jakościowo ze zmierzonymi eksperymentalnie, szczególnie dla czystych składników. Małe rozbieżności

można zaobserwować dla strumieni składników w powietrzu. Wyznaczone strumienie azotu są w tym przypadku za niskie, a tlenu za wysokie. Różnice te wynikają z pewnych uproszczeń modelu, a szczególnie z liczby i struktury kanałów magnetycznych. Obydwe te różnice powodują, że w warunkach symulacji objętość kanałów magnetycznych jest mniejsza niż w rzeczywistości, co ma wpływ na wyznaczone wartości strumieni.

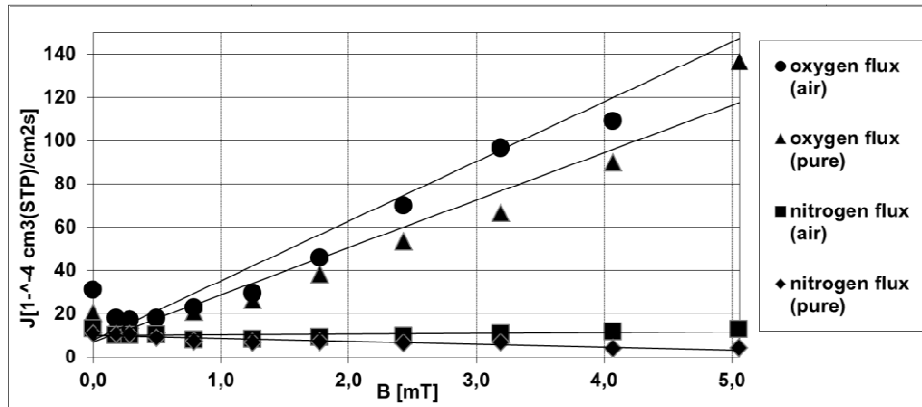
Na wykresie (18) oraz w tabeli (13) zaprezentowano wyniki symulacji dla membrany utworzonej z użyciem proszku magnetycznego o granulacji 15 μm . W tym przypadku wszystkie wzrosty wartości strumieni wraz ze wzrostem magnetyzacji są zachowane, tak jak w przypadku membrany z proszkiem o granulacji 30 μm .

Porównując wykresy (17) i (18) można zauważyć, że dla mniejszych rozmiarów granulek magnetycznych (granulacja 15 μm), wyznaczone strumienie są wyższe niż odpowiednie strumienie dla granulacji 30 μm . Jest to bezpośrednio związane z większą ilością kanałów magnetycznych utworzonych z proszku o mniejszych rozmiarach granulek.

Tabela 13. Wyznaczone w symulacjach strumienie azotu i tlenu dla membran utworzonych z proszków magnetycznych o granulacji 15 [μm] dla różnych wartości magnetyzacji. Symulacje zostały wykonane dla składników czystych i w powietrzu. Dane zostały znormalizowane do grubości membrany równej 200 [μm] oraz stężenia $\text{Co}=1$.

B[mT]	Masa proszku magnetycznego [g]	J_{N_2} w powietrzu	J_{O_2} w powietrzu	J_{N_2} czysty	J_{O_2} czysty
0	1.30	13.11	31.06	10.76	20.50
0.18	1.10	10.03	17.93	10.63	16.75
0.29	1.20	10.07	16.98	10.49	17.35
0.50	1.30	10.28	17.92	9.01	14.96
0.79	1.40	7.98	22.93	7.17	21.00
1.25	1.50	8.38	29.34	6.63	26.50
1.78	1.60	9.28	45.82	7.03	38.43
2.43	1.70	9.60	69.84	6.37	53.54
3.19	1.80	10.79	96.31	6.66	66.48
4.07	1.90	11.55	108.92	3.90	89.77
5.06	2.00	12.69	166.09	4.29	136.65

$$\left[\frac{10^{-4} \text{cm}^3_{STP}}{\text{cm}^2 \cdot \text{s}} \right]$$

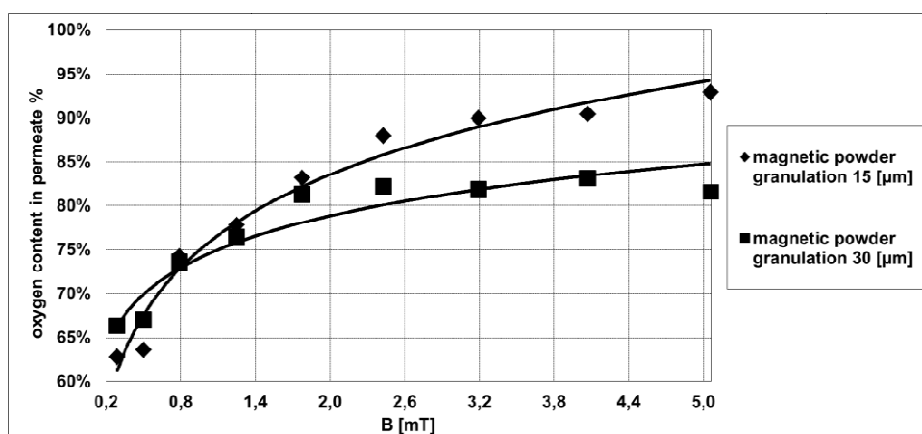


Wykres 18. Wyznaczone w symulacjach strumienie azotu i tlenu dla membran utworzonych z proszków magnetycznych o granulacji 15 [μm] dla różnych wartości magnetyzacji. Symulacje zostały wykonane dla składników czystych i w powietrzu. Dane zostały znormalizowane do grubości membrany równej 200 [μm] oraz stężenia Co=1.

Dodatkowo na wykresie (19) oraz w tabeli (14) umieszczono procentowe stężenie tlenu w permeacie w zależności od stopnia magnetyzacji membrany oraz granulacji proszku magnetycznego. Z zebranych danych wynikają dwie własności modelowanego układu. Po pierwsze, teoretyczne stężenia tlenu w permeacie otrzymane z czystych składników są wyższe niż otrzymane z powietrza. Po drugie, zarówno procentowe stężenie tlenu otrzymane ze składników czystych, jak i z powietrza, jest wyższe w przypadku granulacji 15 μm niż 30 μm dla wyższych wartości magnetyzacji. Wynika z tego, że z punktu widzenia procesu rozdzielania azotu i tlenu bardziej korzystne są membrany utworzone z dodatkiem proszku o mniejszych rozmiarach granulek magnetycznych. Potwierdzeniem tego faktu jest tendencja na wykresie (20), na którym przedstawiono zależność procentowego udziału tlenu w permeacie w zależności od granulacji proszku magnetycznego.

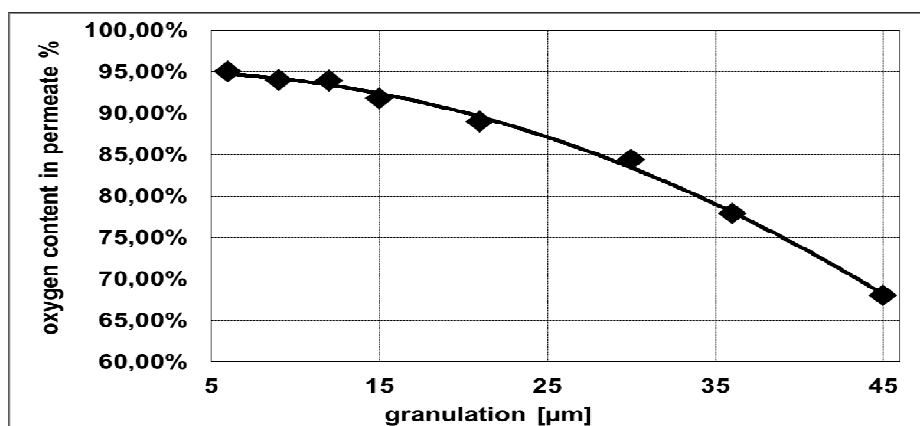
Tabela 14. Zawartość tlenu w permeacie wyznaczona dla składników czystych i w powietrzu. Dane korespondują ze wartościami strumieni zaprezentowanymi w tabeli (12) i na wykresie (17)

B [mT]	Masa proszku magnetycznego [g]	Zawartość O ₂ w permeacie %			
		30 [μm]		15 [μm]	
		powietrze	Składniki czyste	Powietrze	Składniki czyste
0	1.30	63.00	62.35	70.00	65.58
0.18	1.10	66.00	56.30	64.00	61.18
0.29	1.20	66.00	51.89	63.00	62.32
0.50	1.30	67.00	61.95	64.00	62.41
0.79	1.40	74.00	69.47	74.00	74.55
1.25	1.50	76.00	76.92	78.00	79.99
1.78	1.60	81.00	80.98	83.00	84.54
2.43	1.70	82.00	88.78	88.00	89.37
3.19	1.80	82.00	89.03	90.00	90.89
4.07	1.90	83.00	93.78	90.00	95.84
5.06	2.00	84.00	95.49	93.00	96.96



Wykres 19. Zawartość tlenu w permeacie wyznaczona dla składników w powietrzu w zależności od magnetyzacji membrany dla granulacji 15 i 30 [μm]. Wartość zewnętrznego pola magnetycznego wynosiła 30 [mT], a magnetyzacja membrany 5.06 [mT].

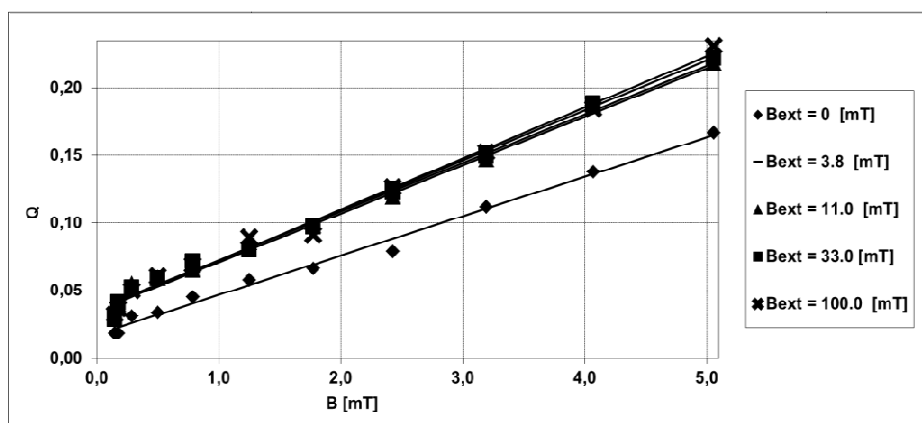
Przedstawione wyniki (tabela (14) oraz wykres (19)) wskazują na silną korelację między granulacją proszku magnetycznego a efektywnością rozdziály składników powietrza. Zależność ta przyjmuje charakter logarytmiczny. Biorąc pod uwagę asymptotyczne zachowanie się zależności procentowego udziału tlenu w permeacie od granulacji, można przewidzieć teoretyczne maksymalne możliwości wzbogacania powietrza w tlen przy udziale membran magnetycznych. Biorąc pod uwagę minimalne rozmiary domen magnetycznych rzędu kilkuset nanometrów, można oczekiwać, że przy pomocy membran magnetycznych, można uzyskać wzbogacenie powietrza w tlen na poziomie $> 95\%$ stężenia tlenu w permeacie.



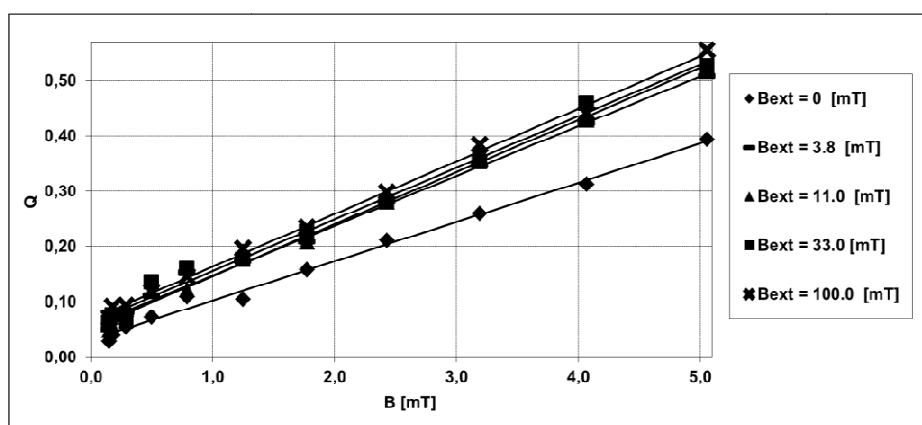
Wykres 20. Wyznaczone w symulacjach zawartości tlenu w permeacie w zależności od granulacji proszku magnetycznego.

Na wykresach (21) oraz (22) pokazano zależność między współczynnikiem jakości membrany, a jej magnetyzacją dla dwóch różnych granulacji. W obu przypadkach jakość membrany rośnie wraz z magnetyzacją, spadkiem rozmiarów granulek magnetycznych i z wielkością indukcji pola zewnętrznego.

Warto w tym miejscu zauważyć, że liniowy charakter zależności jakości membrany od jej magnetyzacji odzwierciedla logarytmiczną zależność stężenia procentowego tlenu w permeacie. Wynika z tego, że zaproponowany współczynnik jakości membrany jest skutecznym parametrem służącym do szybkiej oceny wpływu różnych parametrów procesu na efektywność rozdziály azotu i tlenu.



Wykres 21. Wyznaczone wartości jakości membran w zależności od ich magnetyzacji dla granulacji 30 [μm] dla kilku wartości indukcji pola zewnętrznego.



Wykres 22. Wyznaczone wartości jakości membran w zależności od ich magnetyzacji dla granulacji 15 [μm] dla kilku wartości indukcji pola zewnętrznego.

4.3.3. Wnioski płynące z modelu transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membrany magnetyczne

W przedstawionej części pracy doktorskiej odnośnie rozdziału powietrza przy użyciu membran magnetycznych pokazano, że model oparty na obecności w tego typu membranach kanałów magnetycznych jest wystarczający, aby prawidłowo przewidywać zachowanie się układów w różnych warunkach eksperymentalnych.

Pokazano także, jak różne wartości parametrów procesu wpływają na proces rozdziału azotu i tlenu.

Istotne wydaje się przewidywanie zachowania się układu w warunkach niebadanych eksperymentalnie. Pokazano, że dla małych wielkości granulek magnetycznych oraz dużych magnetyzacji możliwy jest rozdział azotu i tlenu dający procentowy udział tego drugiego w permeacie wynoszący ponad 96%.

Z tej części pracy można wyciągnąć także kilka praktycznych wniosków w celu poprawy aktualnie osiąganego procentowego zawartości tlenu w permeacie.

Zwiększenie ilości proszku magnetycznego w membranie, zmniejszenie jego granulacji oraz użycie silniejszych pól magnetycznych na pewno poprawi otrzymywane rezultaty. Dodatkowo, uporanie się z procesem sedymentacji cząstek magnetycznych powinno mieć pozytywny wpływ na możliwości rozdziału azotu i tlenu przy użyciu membran magnetycznych.

Z tej części badań wynika bardzo ważna rola kanałów magnetycznych utworzonych na granicy polimer-powierzchnia magnetyczna. Kanały, w zaproponowanym modelu, działają jak „autostrady”, które dzięki zwiększonym wartościom współczynników dyfuzji w kanale, ułatwiają transport cząsteczek tlenu przez membranę.

Dodatkowo, w pracy zwrócono uwagę na ważny udział zjawiska agregacji azotu i tlenu w silnych polach magnetycznych. Zjawisko to, choć niezupełnie jeszcze poznane, odgrywa ważną rolę w zrozumieniu działania membran magnetycznych.

5. Podsumowanie pracy

W niniejszej pracy przedstawiono kilka modeli adresowanych do opisu zjawisk transportu masy w kanałach wybranych membran naturalnych i syntetycznych. Membrany, jako granice rozdzielające dwa roztwory o różnych stężeniach substancji, są wszechobecne zarówno w organizmach żywych jak i w przemyśle. Warto zauważyć, że mimo dużej różnicy w budowie i właściwościach membran naturalnych i syntetycznych, można zjawiska zachodzące w obu typach membran opisać za pomocą tego samego aparatu pojęciowego. W niniejszej pracy wszystkie zaproponowane modele należą do rodziny modeli dyfuzyjnych, a proces migracji cząstek przez membrany został opisany w ramach teorii błędzenia przypadkowego oraz łańcuchów Markowa.

Pierwszy zaproponowany model - model transportu jonów K^+ przez filtr selektywny kanałów KcsA – w satysfakcjonujący sposób opisuje dyfuzję molekuł wody oraz jonów potasowych przez segment selektywny kanałów KcsA, uwzględniając główne rodzaje oddziaływań elektrostatycznych.

Następne modele - modele kinetyki bramkowania kanałów BK – pozwalają generować przebiegi prądowe o charakterystykach zgodnych z eksperymentalnymi oraz postulują istnienie pamięci dalekozasięgowej występującej w szeregach czasowych utworzonych, jako kolejne długości czasów trwania stanów kanałowych. Zaproponowane modele zostały oparte o dokładny obraz biologiczny kanałów BK, a wyniki uzyskane przy ich pomocy, porównane z danymi eksperymentalnymi.

W trzeciej części pracy przedstawiono model transportu cząsteczek azotu i tlenu przez membrany magnetyczne służące do wzbogacania powietrza w tlen. Dzięki porównaniu wyznaczonych strumieni azotu i tlenu ze strumieniami eksperymentalnymi, model potwierdza, postulowane wcześniej, istnienie kanałów magnetycznych jako głównego czynnika odpowiedzialnego za rozdział cząsteczek azotu i tlenu. Z modelu tego wynika również, że domniemane zjawisko agregacji składników powietrza w obecności silnych pól magnetycznych może być źródłem odmiennego zachowywania składników indywidualnych i w mieszaninie. Dodatkowo, model pozwala przewidywać efektywność membran w warunkach niedostępnych eksperymentalnie w zależności od wartości masy i granulacji proszku magnetycznego oraz wartości indukcji zewnętrznego pola magnetycznego.

Niniejsza praca została oparta na następujących publikacjach:

Pawelek, K., Kozak, J.J., Grzywna, Z.J. Asynchronous motion and transport of in the KcsA selectivity filter. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 2010, 389, 3013–3022. **IF=1.521**

Borys, P., Pawelek, K., Grzywna, Z.J. On the magnetic channels in polymer membranes. *Phys Chem Chem Phys*. 2011, 13, 17122-17129. **IF=3.573**

Wawrzekiewicz, A., Pawelek, K., Borys, P., Dworakowska, B., Grzywna, Z.J. On the simple random-walk models of ion-channel gate dynamics. *Eur Biophys J*. 2012, 41, 505-526. **IF= 2.139**

Krasowska, M., Rybak, A.; Dudek, G., Strzelewicz, A., Pawelek, K., Grzywna, Z.J., Structure morphology problems in the air separation by polymer membranes with magnetic particles. *Journal of Membrane Science*, 2012, 415–416, 864-870. **IF=3.850**

Sumaryczny IF w\w prac wynosi 11.083.

Literatura

1. **Ceynowa, J.** Membrany selektywne i procesy membranowe. *Membrany Teoria i Praktyka*. Toruń : Fundacja Rozwoju Wydziału Chemii, 2003.
2. **Chung, S.H., Andersen, O.S., Krishnamurthy, V.** *Biological Membrane Ion Channels. Dynamics, Structure and Applications*. New York : Springer, 2007.
3. **Koksy, A. A.** Na⁺, K⁺ –ATPASE. *A review journal of Ankara Medical School*. 2002, 24, 73-82.
4. **Jordan, P.C.** Fifty Years of Progress in Ion Channel Research. *IEEE Transactions on Nanobioscience*. 2005, 4, 3-9.
5. **Berg, H.C.** *Random Walks in Biology*. Princeton : Princeton University Press, 1983.
6. **Risken, H.** *The Fokker-Planck Equation: Methods of Solutions and Applications*. Berlin : 2nd edn. Springer - Verlag., 1996.
7. **Zauderer, E.** *Partial Differential Equations of Applied Mathematics*. Berlin : Springer, 1998.
8. **Dybiec, B., Gudowska-Nowak, E.** Discriminating between normal and anomalous random walks. *Phys. Rev. E*. 2009.
9. **Ben-Avraham, D., Havlin, S.** *Diffusion and Reactions in Fractals and Disordered Systems*. brak miejsca : Cambridge University Press, 2000.
10. **Gillespie, D., T.** *Markov Processes: An Introduction for Physical Scientists* . London : Academic Press, Inc, 1992.
11. **Meyn, S. P., Tweedie, R.L.** *Markov Chains and Stochastic Stability*, Cambridge University Press, 2005.
12. **Hodgkin, A. L, Huxley, A. F.** A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 1952, 117, 500–544.
13. **Hille, B.** *Ion Channels of Excitable membranes*. Sunderland : Sinauer, 2001.
14. **Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M.** *Principles of Neural Science*, . New York : 4th ed. pp.152-153. McGraw-Hill, 2000.
15. **Sakmann, B., Neher, N.** *Single-Channel Recording*. 2nd edn. Eds Plenum. : New York, 1995.
16. **Abad, E., Kozak, J.J.** Fluctuation assisted diffusion through ion channels. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. 2007, 380, 172-190.

17. **Doyle, D.A., Cabral, J.M., Pfuetzner, R.A., Kuo, A., Gulbis, J.M.; Cohe, S.L., Chait, B.T., MacKinnon, R.** The structure of the potassium channel: Molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science*. 1998, 280, 68-77.
18. **Sansom, M.S.P., Shrivastava, I.H., Bright, J.N., Tate, J.** Potassium channels: structures, models, simulations. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2002, 1565, 294–307.
19. **Heginbotham, L., Lu, Z., Abramson, T., MacKinnon, R.** Mutations in the K⁺ channel signature sequence. *Biophys. J.* 1994, 66, 1061–1067.
20. **MacKinnon, R.** Potassium channels. *FEBS Lett.* 2003, 555, 62.
21. **Piasecki, J., Allen, R. J., Hansen, J. P.** Kinetic Models of Ion Transport through a Nanopore. *Phys. Rev. E.* 2004.
22. **Nonner, W., Chen, D.P., Eisenberg, R.S.** Progress and prospect in permeation. *J Gen Physiol.* 1999, 113, 773-782.
23. **Nonner, W., Eisenberg, R.S.** Ion permeation and glutamate residues linked by Poisson-Nernst-Planck theory in L-type calcium channels. *Biophys J.* 1998, 75, 1287-1305.
24. **Cardenas, A.D., Coalson, R.D., Kurnikova, M.G.** Tree-dimensional Poisson-Nernst-Planck theory studies: Influence of membrane electrostatics on gramicidin A channel conductance. *Biophys J.* 2000, 79, 80-93.
25. **Hollerbach, U., Chen, D. P., Busath, D., Eisenberg, R.S.** Predicting function from structure using the Poisson-Nernst-Planck equations: Sodium current in the gramicidin A channel. *Langmuir.* 2000, 16, 5509-5514.
26. **Adcock, C., Smith, G.R., Sansom, M.S.** Electrostatics and the ion selectivity of ligand-gated channels. *Biophys J.* 1998, 75(3), 1211–1222.
27. **Kuyucak, S., Andersen, O.A., Chung, S.H.** Models of Permeation in Ion Channels. *Rep. Prog. Phys.* 2001, 64, 427-1472.
28. **Roux, B.** [aut. książki] J.M. Goodfellow. *Computer Modelling in Molecular Biology*. Weinheim : VCH, 1995, 113-169.
29. **Tieleman, D.P.; Hess, B.; Sansom, M.S.P.** Analysis and evaluation of channel models: simulations of alamethicin. *Biophys J.* 2002, 83, 2393–2407.
30. **Allen, T.W., Kuyucak, S., Chung, S.** Molecular Dynamics Study of the KcsA Potassium Channel. *Biophysical Journal.* 1999, 77, 2502–2516.
31. **Borys, P., Grzywna, Z. J.** A diffusive model of the ball and chain inactivation. *Biosystems.* 2008, 94, 267 - 269.
32. **Borys, P., Grzywna, Z. J.** Three dimensional ball and chain problem by the hyperbolic random walk. *Acta Physica Polonica B.* 2007, 5, 38.

33. **Małysiak, K., Grzywna, Z. J.** Electrostatic interactions during Kv1.2 N-type inactivation: random walk simulation. *European Biophysics Journal*. 2009, 38, 1003.
34. Małysiak, K., Grzywna, Z.J., On the possible methods for the mathematical description of the ball and chain model of ion channel inactivation. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2008, 13, 535-552.
35. **Gudowska-Nowak, E., Weron, K.** Random Walk Models of Electron Tunneling in a Fluctuating Medium. *Phys. Rev. E*. 2002.
36. **Gudowska-Nowak, E., Christophersen, P., Bennekou, P., Flyvbjerg, H.** Modeling Hysteresis Observed in a Voltage-Activated Ion Channel. *Biophys. J*. 2003, 84 488A.
37. **Gudowska-Nowak, E., Flyvbjerg, H., P., Bennekou; Christophersen, P.** Hysteresis in Channel Gating. *American Institute of Physics Conference Proceedings (Unsolved Problems of Noise and Fluctuations in Physics, Biology and High Technology)*. 2003, 665: 305-311.
38. **Gudowska-Nowak, E., Dybiec, B., Flyvbjerg, H.** Resonant Effects in a Voltage-Activated Channel Gating. *Proc SPIE*. 2004, 223-234.
39. **Morais-Cabral, J.H., Zhou, Y., MacKinnon, R.** Energetic optimization of ion conduction rate by the K⁺ selectivity filter. *Nature*. 2001, 414, 37-42.
40. **Rempe, S.B., Pratt, L.R.** Ion Hydration Studies Aimed at Ion Channel Selectivity. *Theoretical Chemistry & Molecular Physics*. 2000.
41. **Latorre, R., Miller, C.** Conduction and selectivity in potassium channels. *J. Membr. Biol*. 1983, 71, 11-30.
42. **Latorre, R., Oberhauser, A., Labarca, P., Alvarez, O.** Varieties of calcium-activated potassium channels. *Annu Rev Physiol*. 1989, 51, 385-399.
43. **Marty, A.** Ca²⁺-dependent K⁺ channels with large unitary conductance. *Trends Neurosc.* 1983, 6, 262-265.
44. **Cui, J, Yang, H, Lee, US.** Molecular mechanism of BK channel activation. *Cell Mol Life Sci*. 2008, 66, 852-875.
45. **Lancaster, B., Nicoll, R.A.** Properties of two calcium-activated hyperpolarizations in rat hippocampal neurones. *J Physiol (Lond)*. 1987, 389, 187–203.
46. **Roberts, W.M., Jacobs, R.A., Hudspeth, A.J.** Colocalization of ion channels involved in frequency selectivity and synaptic transmission at presynaptic active zones of hair cells. *J Neurosci*. 1990, 10, 3664–3684.
47. **Orio, P., Rojas, P, Ferreira, G., Latorre, R.,** New disguises for an old channel: MaxiK channel beta-subunits. *News Physiol Sci*. 2002, 17, 156–161.

48. **Shi, J., Cui, J.** Intracellular Mg^{2+} enhances the function of BK-type Ca^{2+} -activated K^{+} channels. *J Gen Physiol.* 2001;, 118, 589–606.
49. **Bao, L., Kaldany, C., Holmstrand, B.C.,; Cox, D.H.** Mapping the BKCa channel's "Ca $^{2+}$ bowl": side-chains essential for Ca $^{2+}$ sensing. *J Gen Physiol.* 2004, 123, 475–489.
50. **Xia, X.M., Zeng, X., Lingle, C.J.** Multiple regulatory sides in large-conductance calcium-activated potassium channels. *Nature.* 2002, 418, 880-884.
51. **Schreiber, M., Salkoff, L.** A novel calcium-sensing domain in the BK channel. *Biophys J.* 1997, 73, 1355–1363.
52. **Long, S.B., Campbell, E.B., Mackinnon, R.** Crystal structure of a mammalian voltage-dependent Shaker family K^{+} channel. *Science.* 2005, 309, 897–903.
53. **Jiang, Y., Lee, A., Chen, J., Cadene, M., Chait, B.T., MacKinnon, R.** Crystal structure and mechanism of a calcium-gated potassium channel. *Nature.* 2002, 417, 515-522.
54. **Jiang, Y., Pico, A., Cadene, M., Chait, B.T., MacKinnon, R.** Structure of RCK domain from the E. coli K^{+} channel and demonstration of its presence in the human. *Neuron.* 2001, 29, 593-601.
55. **Liu, G., Zakharov, S.I., Yang, L., Deng, S.X., Landry, D.W., Karlin, A., Marx, S.O.** Position and role of the BK channel alpha subunit S0 helix inferred from disulfide cross-linking. *J Gen Physiol.* 2008, 131, 537-548.
56. **Wei, A., Solaro, C., Lingle, C., Salkoff, L.** Calcium sensitivity of BK-type KCa channels determined by a separable domain. *Neuron.* 1994, 13, 671–681.
57. **Cui, J., Aldrich, R.W.** Allosteric linkage between voltage and Ca $^{2+}$ -dependent activation of BK-type mslo1 K^{+} channels. *Biochemistry (Mosc).* 2000, 39, 15612–15619.
58. **Cui, J, Cox, DH, Aldrich, RW.** Intrinsic voltage dependence and Ca $^{2+}$ regulation of mslo large conductance Ca-activated K^{+} channels. *J Gen Physiol.* 1997, 109, 647-673.
59. **Bezanilla, F.** The voltage sensor in voltage-dependent ion channels. *Physiol Rev.* 2000, 80, 555–592.
60. **Ma, Z., X.J., Loum, Horrigan, F.T.** Role of Charged Residues in the S1–S4 Voltage Sensor of BK Channels. *J Gen Physiol.* 2006, 127, 309–328.
61. **Horrigan, F.T., Aldrich, R.W.** Allosteric voltage gating of potassium channels II. Mslo channel gating charge movement in the absence of Ca $^{2+}$. *J Gen Physiol.* 1999, 114:305-336.
62. **Lu, Z., Klem, A.M., Ramu, Y.** Ion conduction pore is conserved among potassium channels. *Nature.* 2001, 413, 809–813.

63. **Soler-Llavina, G.J., Chang, T.H., Swartz, K.J.** Functional interactions at the interface between voltage-sensing and pore domains in the Shaker Kv channel. *Neuron*. 2006, 52, 623–634.
64. **Yang, H., Shi, J., Zhang, G., Yang, J., Delaloye, K., Cui, J.** Activation of Slo1 BK channels by Mg²⁺ coordinated between the voltage sensor and the RCK1 domains. *Nat Struct Mol Biol*. 2008.
65. **Niu, X., Qian, X., Magleby, K.L.** Linker-gating ring complex as passive spring and Ca²⁺-dependent machine for a voltage- and Ca²⁺-activated potassium channel. *Neuron*. 2004, 42, 745–756.
66. **Cox, D.H.** BKCa-Channel Structure and Function. In: Chung S-H, Andersen OS, Krishnamorthy V (2007) Biological Membrane Ion Channels. Dynamics, Structure and Application. New York : Springer, 2007, 171-210.
67. **Pallotta, B.S** N-bromoacetamide removes a calcium-dependent component of channel opening from calcium-activated potassium channels in rat skeletal muscle. *J Gen Physiol*. 1985, 86, 601–611.
68. **Ye, S., Li, Y., Chen, L., Jiang, Y.** Crystal structures of a ligand-free MthK gating ring: insights into the ligand gating mechanism of K⁺ channels. *Cell*. 2006, 26, 1161–1173.
69. **Atkinson, N.S., Robertson, G.A., Ganetzky, B.** A component of calcium-activated potassium channels encoded by the *Drosophila slo* locus. *Science*. 1991, 253, 551–555.
70. **Hille, B., Armstrong, C.M., MacKinnon, R.** Ion channels: from idea to reality. *Nat Med*. 1999, 5, 1105–1109.
71. **Webster, S.M., Del Camino, D., Dekker, J.P., G., Yellen.** Intracellular gate opening in Shaker K⁺ channels defined by high-affinity metal bridges. *Nature*. 2004, 428, 864–868.
72. **Brelidze, T.I., Magleby, K.L.** Probing the geometry of the inner vestibule of BK channels with sugars. *J Gen Physiol*. 2005, 126, 105–121.
73. **Fuliński, A., Grzywna, Z.J., Mellor, I., Siwy, Z., Usherwood, P.N.R.** Non-Markovian character of ionic current fluctuations in membrane channels. *Phys Rev E*. 1998, 58, 919-924.
74. **Goychuk, I., Hänggi, P.** Ion channel gating: A first-passage time analysis of the Kramers type. *PNAS*. 2002, 99, 3552–3556.
75. **Goychuk, I., Hänggi, P.** The role of conformational diffusion in ion channel gating. *Physica A*. 2003, 325, 9-18.
76. **Sansom, M.S.P., Ball, F.G., Kerry, C.J., McGee, R., Ramsey, R.L., Usherwood, P.N.R.** Markov fractal diffusion and related models of ion channel gating. A comparison with experimental data from two ion channels. *Biophys J*. 1989, 56, 1229-1243.

77. **Blatz, AL, Magleby, KL.** Quantitative description of three modes of activity of fast chloride channels from rat skeletal muscle. *J Physiol.* 1986, 378, 141-174.
78. **Mercik, S., Weron, K., Siwy, Z.** Statistical analysis of ionic current fluctuations in membrane channels. *Phys Rev E.* 1999, 60, 7343-7348.
79. **Läuger, P.** Internal motions in proteins and gating kinetics of ionic channels. *Biophys J.* 1988, 53, 877-884.
80. **Condat, CA, Jäckle, J.** Closed-time distribution of ionic channels. Analytical solution to a one-dimensional defect-diffusion model. *Biophys J.* 1989, 55, 915-925.
81. **Horrigan, F.T., Cui, J, Aldrich, R.W.** Allosteric voltage gating of potassium channels I. Mslo ionic currents in the absence of Ca^{2+} . *J Gen Physiol.* 1999, 114, 277-304.
82. **Horrigan, F.T., Cui, J., Aldrich, R.W.** Allosteric voltage gating of potassium channels I. Mslo ionic currents in the absence of Ca^{2+} . *J Gen Physiol.* 1999, 114, 277-304.
83. **Rothberg, B.S., Magleby, K.L.** Voltage and Ca^{2+} Activation of Single Large-Conductance Ca^{2+} -activated K^{+} Channels Described by a Two-Tiered Allosteric Gating Mechanism. *J Gen Physiol.* 2000, 116, 75-99.
84. **Rothberg, B.S.; Magleby, K.L.** Gating Kinetics of Single Large-Conductance Ca^{2+} - activated K^{+} channels in High Ca^{2+} Suggest a Two-Tiered Allosteric Gating Mechanism. *J Gen Physiol.* 1999, 114, 93-124.
85. **Cox, DH, Cui, J, Aldrich, RW.** Allosteric gating of a large conductance Ca -activated K^{+} channels. *J Gen Physiol.* 1997, 110, 257-281.
86. **Horrigan, F.T., Aldrich, R.W.** Coupling between voltage sensor activation, Ca^{2+} binding and channel opening in large conductance (BK) potassium channels. *J Gen Physiol.* 2002, 120, 267-305.
87. **Liebovitch, L.S., Toth, T.I.** Using Fractals to Understand the Opening and Closing of Ion Channels. *Ann Biomed Eng.* 1990, 18, 177-194.
88. **Liebovitch, L.S., Fishbarg, J., Koniarek, J.P.** Ion channel kinetics: a model based on fractal scaling rather than multistate Markov processes. *Mathematical Biosciences.* 1987, 83, 37-68.
89. **Millhauser, G.L., Salpeter, E.E., Oswald, R.E.** Diffusion models of ion-channel gating and the origin of power-law distributions from single-channel recording. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988, 85, 1503-1507.
90. **Goychuk, I., Hänggi, P.** Fractional diffusion modeling of ion channel gating. *Phys Rev E.* 2008, 70:051915.
91. **Grzywna, Z.J., Siwy, Z.** Chaos in ionic transport through membranes. *Int J Bifurcation and Chaos.* 1997, 1115-1123.

92. **Grzywna, Z.J., Siwy, Z., Fuliński, A., Mellor, I., Usherwood, P.N.R.** Chaos in the potassium current through channels of locust muscle membrane. *Cell Mol Biol Lett.* 1999, 4, 37-54.
93. **Campos de Oliveira, RA, Barbosa, CTF, Consoni, LHA, Rodrigues, ARA, Varanda, WA, Nogueira, RA** Long-term correlation in single calcium-activated potassium channel kinetics. *Physica A.* 2006, 364, 13-22.
94. **Bandeira, H.T., Barbosa, C.T.F., Campos De Oliveira, R.A., Aguiar, J.F., Nogueira, R.A.** Chaotic model and memory in single calcium-activated potassium channel kinetics. *Chaos.* 2008, 18, 477-484 .
95. **Hurst, H.E.** Long-term storage capacity of reservoirs. *Trans Am Soc Civ Eng.* 1951, 116, 770-808.
96. **Hurst, H.E., Black, R.P., Simaika, Y.M.** *Long-Term Storage, An Experimental Study.* London : Constable, 1965.
97. **Feder, J.** *Fractals.* New York : Plenum Press, 1988.
98. **Varanda, W.A., Liebovitch, L.S., Figueiroa, J.N., Nogueira, R.A.** Hurst Analysis Applied to the Study of Single Calcium-activated Potassium Channel Kinetics. *J Theor Biol.* 2000, 206, 343-353.
99. **Barbosa, CTF, Campos de Oliveira, RA, Nogueira, RA.** Calcium does not change memory in single calcium-activated potassium channel kinetics. *J Intell Fuzzy Syst.* 2007, 5, 477-484.
100. **Koros, W.J., Mahajan, R.** Pushing the limits on possibilities for large scale gas separation: which strategies? *J. Membrane Sci.* 2000, 175, 181-196.
101. **Strzelewicz, A., Grzywna, Z. J.** Studies on the air membrane separation in the presence of a magnetic field. *J.Membr.Sci.* 2007, 294, 60-67.
102. **Rybak, A., Grzywna, Z. J., Kaszuwara, W.** On the air enrichment by polymer magnetic membranes. *J. Membr. Sci.* 2009, 336, 79-85.
103. **Rybak, A., Krasowska, M., Strzelewicz, A., Grzywna, Z. J.** "Smoluchowski type" equations for modelling of air separation by membranes with various structure. *Acta Phys. Pol. B.* 2009, 40, 1447-1454.
104. **Grzywna, Z.J., Rybak, A., Strzelewicz, A.** Air enrichment by polymeric magnetic membran. [aut. książki] Y. Yampolskii, B. Freeman. *Membrane gas separation.* 159-182 : Chichester : John Wiley & Sons, 2010.
105. **Morrish, A. H.** *The Physical Principles of Magnetism.* New York : Wiley, 1965.

106. **Wawrzekiewicz, A., Pawelek, K., Borys, P., Dworakowska, B., Grzywna, Z.J.** On the simple random-walk models of ion-channel gate dynamics. *Eur Biophys J.* 2012, 41, 505-526.
107. **Borys, P., Pawelek, K., Grzywna, Z.J.** On the magnetic channels in polymer membranes. *Phys Chem Chem Phys.* 2011, 13, 17122-17129.
108. **Kruczek, B., Shemshakia, F., Lashkaria, S., Chapaniana, R., Frischb, H.L.** Effect of a resistance-free tank on the resistance to gas transport in high vacuum tube. *Journal of Membrane Science.* 2006, 2006, 280, 29-36 [8 page(s) (article)]
109. **Crank, J., Park, G.S.** *Diffusion in polymers.* London : Academic Press, 1968.
110. **Cullity, B.D., Graham, C. D.** *Introduction to Magnetic Materials,*. New Jersey, 2nd edn, : Wiley, 2009.
111. **Griffiths, D. J.** *Introduction to Electrodynamics.* New Jersey, 2nd edn : Prentice Hall, 1981.
112. **Pawelek, K., Kozak, J.J., Grzywna, Z.J.** Asynchronous motion and transport of in the KcsA selectivity filter. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications.* 2010, 389, 3013–3022.
113. **Krasowska, M., Rybak, A.; Dudek, G., Strzelewicz, A., Pawelek, K., Grzywna, Z.J.,** Structure morphology problems in the air separation by polymer membranes with magnetic particles. *Journal of Membrane Science,* 2012, 415–416, 864-870.