

Untersuchungen zum Flussverhältnisexponenten
einer Single-File-Zweiplatzpore
am Beispiel des kompetitiven Kationentransportes durch den
Gramicidin-A-Kanal

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)
der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV
- Chemie und Pharmazie -
der Universität Regensburg



vorgelegt von

Jürgen Martin Keller
aus Mutterstadt

2004

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am:

21.12.2004

Die Arbeit wurde angeleitet von:

Prof. Dr. H.-H. Kohler

Prüfungsausschuss:

Prof. Dr. J. Daub	Vorsitzender
Prof. Dr. H.-H. Kohler	1. Gutachter
Prof. Dr. K. Heckmann	2. Gutachter
Prof. Dr. G. Schmeer	3. Prüfer

Aus urheberrechtlichen Gründen wird auf die Verwendung von Originalabbildungen aus der Literatur verzichtet. Stattdessen werden im Allgemeinen stark modifizierte und vereinfachende Darstellungen verwendet. Für detailliertere Informationen sind die den Abbildungen zu Grunde liegenden Literaturstellen angegeben.

Es gibt nichts Gutes, außer man tut es.

Erich Kästner

In Dankbarkeit

meinen Eltern Elvira und Egon,

meiner Frau Birgit,

meiner Schwester Susanne,

meiner Schwiegermutter Anna,

meinen Freunden Jürgen, Georg, Robert, Srdan

und

Jeschua.

Herrn Prof. Dr. Hans-Helmut Kohler danke ich von ganzem Herzen für die Möglichkeit, bei ihm meine Dissertation anzufertigen, für sein außergewöhnliches fachliches und menschliches Engagement und für seine Geduld. Von seinen umfangreichen Fachkenntnissen konnte ich in vielerlei Hinsicht gewinnen. Er ist mir in vielem ein Vorbild geworden.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Klaus Heckmann für seine freundliche Bereitschaft, die Aufgabe als Zweitgutachter zu übernehmen. Es ist mir eine besondere Freude, ihn als „Veteranen“ der Single-File Forschung für diese Aufgabe gewonnen zu haben.

Meinen Mitarbeitern im Arbeitskreis danke ich für die nette kollegiale Gemeinschaft und ihre Hilfsbereitschaft. Besonders danken möchte ich den Herren Dr. Stefan Woelki, Alexander Wagner, Dr. Armin Bauer, Dr. Harald Tremel, Dr. Christian Haider, Dr. Christoph Wittrock, Dr. Andreas Altmann und Dr. Adolf Heindl. Hervorzuheben ist Herr Dr. Woelki, der mir vor allem in Computerangelegenheiten stets hilfsbereit und engagiert zur Seite stand, selbst wenn er keine Zeit hatte.

Frau Bauer danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und für manch freundliches Wort.

Nicht zuletzt gilt mein herzlicher Dank den Herren Dr. Thomas Wenger, Prof. Dr. Josef Breu, Dr. Hans-Joachim Wittmann und Dr. Josef Freund, deren Freundschaft meine Zeit an der Universität Regensburg sehr bereichert hat.

Untersuchungen zum Flussverhältnisexponenten einer Single-File-Zweiplatzpore am Beispiel des kompetitiven Kationentransportes durch den Gramicidin-A-Kanal

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1-4
B	Aufbau und Transporteigenschaften von Biomembranen	5-11
C	Der Gramicidin-A-Kanal	12-37
C.1	Das Modellsystem Gramicidin-A	12
C.2	Vorkommen von Gramicidin	13
C.3	Bau von Gramicidin-A	13-26
C.4	Transport durch den Gramicidin-A-Kanal	26-37
D	Der Flussverhältnisexponent	38-43
D.1	Die Tracermethode zur Bestimmung des unidirektionalen Flusses	42-43
E	Experimentelle Befunde	44-49
F	Kinetisches Modell der Single-File-Zweiplatzpore	50-62
G	Zustandsgraphen und Bestimmung der Teilchenflüsse	63-69
H	Bisherige theoretische Beschreibung experimenteller Befunde	70-73
I	Numerische Ergebnisse	74-82
J	Vergleich von numerischen Ergebnissen und Experiment	83-86
K	Zusammenfassung	87-88
L	Anhang	89-128
L.1	Anhang I: Unabhängige kinetische Parameter	89-102
L.1.1	Relative Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$	90-95

L.1.2	<i>Nebenbedingung: Die Wegscheiderbedingung</i>	95-97
L.1.3	<i>Nebenbedingung: Modell interionischer Wechselwirkung</i>	97-102
L.2	Anhang II: Bedingung für die Identität der Zweissalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{t,1} = n_{t,2}$	102-106
L.3	Anhang III: Bedingung für Parallelverschiebung der Kurven $n_{t,i} = n_{t,i}(\lg(c_i / (\text{mol l}^{-1})))$	106-117
L.4	Anhang IV: Einige weitere Beobachtungen	118-128
M	Literatur	129-141

A Einleitung

Jeder Organismus besteht aus Zellen, die von ihrer Umgebung durch eine Zellmembran getrennt sind. Eukaryonten, das sind alle Lebewesen mit Zellen, die einen Zellkern aufweisen, besitzen zusätzlich zu der äußeren Plasmamembran auch Membranen, die Bereiche innerhalb der Zelle umschließen, wie den Zellkern oder die Organellen. Mit der Abgrenzung von Volumina von ihrer Umgebung entsteht auch die Notwendigkeit, für bestimmte Stoffe Transportwege durch die Biomembranen zu eröffnen. Insbesondere für Ionen wie H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} und Cl^- , die wichtige Funktionen in der Zelle erfüllen, stellen Biomembranen eine effektive Diffusionsbarriere dar. Verschiedene membrangebundene Eiweißmoleküle ermöglichen selektiven Ionenaustausch durch die Membran. Die große biologische Bedeutung des Transmembrantransportes kann man daran erkennen, dass ca. 30% der Proteine, die im Genom einer tierischen Zelle kodiert sind, Membranproteine sind, wobei durchschnittlich 15-30% aller Membranproteine Transportproteine sind. Viele Stoffwechselforgänge sind unmittelbar vom Transmembrantransport von Ionen abhängig. An Zellmembranen werden beispielsweise Konzentrationsdifferenzen von Ionen auf beiden Seiten der Membranen aufgebaut, die einen Energiespeicher darstellen. Die so gespeicherte Energie wird für verschiedene wichtige Prozesse in der Zelle gebraucht, wie zum Beispiel für verschiedene Transportprozesse, zur Übertragung von elektrischen Signalen in elektrisch erregbaren Zellen wie Nerven- und Muskelzellen oder zur Bildung des in der Zelle benötigten ATP [Adam 2003; Alberts 2002].

Einen wesentlichen Anteil am Ionentransport durch die biologische Membran haben Ionenkanäle. Diese Proteine bilden durch die Membran reichende Poren, die nur für bestimmte Ionen, z.B. K^+ -Ionen, und Wasser durchlässig sind [Alberts 2002; Hille 1992]. Angesichts der großen physiologischen Bedeutung der Ionenkanäle ist es nicht verwunderlich, dass etliche Erkrankungen mit der Fehlfunktion dieser Eiweise verbunden sind. Deshalb ist das Verständnis von Aufbau und Funktion von Ionenkanälen von großem medizinischem Interesse [Lehmann-Horn 1999; Hübner 2002].

Nervenzellen nutzen Ionenkanäle im Prozess der nervösen Reizleitung in hohem Ausmaß [Alberts 2002; Hille 1992]. Schon in den 50er Jahren finden A. L. Hodgkin und R. D. Keynes bei Experimenten am Riesenaxon des Tintenfischs *Sepia Officinalis*, dass die gerichteten Flüsse von K^+ -Ionen durch die äußere Membran des Nerven vom Zellaußenraum in die Zelle hinein und umgekehrt vom Zellinneren nach außen nicht unabhängig voneinander sind. Sie entwickeln ein erstes Modell zur Erklärung der Beobachtungen

und definieren einen Flussverhältnisexponenten, dessen Abweichung vom Wert 1 ein Maß für die wechselseitige Beeinflussung der Ionenwanderung durch die Membran darstellt. Zur Erklärung des Wertes 2,5 des von ihnen bestimmten Flussverhältnisexponenten entwickeln sie die Idee, dass die Kaliumionen durch die Zellmembran des Axons nur hintereinander in einer Reihe, sozusagen im „Gänsemarsch“, wandern können, zum Beispiel entlang einer Reihe von hintereinanderliegenden Bindungsplätzen oder durch Kanäle, die einen solch kleinen Innendurchmesser aufweisen, dass die Ionen nicht aneinander vorbei, sondern nur hintereinander durch die Pore wandern können. Die einmal eingenommene Reihenfolge der Ionen kann nicht mehr verändert werden [Hodgkin 1955]. Dieser Diffusionsmechanismus wird als Single-File Diffusion bezeichnet.

Grundlegende Arbeiten zum theoretischen Verständnis der Single-File Diffusion werden zunächst von K. Heckmann [Heckmann 1965, 1965a, 1968, 1970, 1972] und weiter von B. W. Urban, S. B. Hladky, J. Sandblom, G. Eisenman, B. Hille, W. Schwarz, S. K. Aityan, Y. A. Chizmadjev und H.-H. Kohler durchgeführt [Urban 1978, 1979; Sandblom 1983; Eisenman 1978, 1983, 1983a, 1984; Haeggund 1984; Hille 1978; Aityan 1977, 1985; Chizmadjev 1973, 1973a, 1974, 1977; Kohler 1977, 1979, 1980, 1980a, 1980d, 1983].

Mit Hilfe des kinetischen Modells der Single-File Diffusion können grundlegende Eigenschaften vieler Ionenkanäle qualitativ und teilweise quantitativ beschrieben werden [Hille 1978; Urban 1980; Kohler 1977]. Während anfangs unklar ist, ob das Modell der Single-File Diffusion die Verhältnisse bei der Ionenwanderung durch verschiedene Ionenkanäle im Prinzip richtig wiedergibt und andere Mechanismen wie gekoppelter Carriertransport [Horowicz 1968] vorgeschlagen werden, ist inzwischen auf vielfältige Weise experimentell erwiesen, dass tatsächlich viele Ionenkanäle, neben Kaliumkanälen auch Natrium-, Calcium- und Chlorid-Kanäle, sowohl strukturelle Merkmale als auch Transporteigenschaften der Single-File Diffusion aufweisen [Läger 1985; Sather 2003; Linsdell 1997; Ismailov 1997; DeFelice 2001; Kiss 1998; Ilan 2001; Roux 1995]. Ein jüngstes und prominentes Beispiel ist der KcsA-Kaliumionenkanal des Bakteriums *Streptomyces Lividans*, eines Prokaryonten. Der KcsA-Kanal ähnelt in seiner Porenstruktur sehr stark der von Kaliumkanälen von Eukaryonten, weshalb er ein Prototyp für Kaliumkanäle darstellt. Für dessen vollständige Strukturaufklärung mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse wird im Jahr 2003 der Chemienobelpreis an Roderick MacKinnon verliehen [Doyle 1998; Miller 2001; Nimigean 2002; Chung 2002].

Den zweiten Chemienobelpreis des Jahres 2003 erhält Peter Agre für die erstmalige Identifizierung eines Membranproteins, nach seiner Funktion als Aquaporin-1 bezeich-

net, das die lange vermutete Existenz spezieller Wassertransportwege durch die Biomembran bestätigt. Aquaporin-1 gehört zur biologisch bedeutenden und großen Proteinfamilie der Aquaporine. Die von diesen Eiweißen gebildeten transmembranen Poren sind für den selektiven Transport kleiner nichtionischer Moleküle durch die Biomembran verantwortlich. Für Ionen, einschließlich H^+ - und OH^- -Ionen, sind sie undurchlässig. Aquaporine teilen sich in zwei Untergruppen: Aquaporine im engeren Sinne, die ausschließlich für Wasser durchlässig sind - hierzu gehört Aquaporin-1 - und Aquaglyceroporine, durch die nur Wasser, Glycerin und andere kleine Moleküle hindurchtreten können [Agre 1998; Schmidt-Nielsen 1995; Whitembury 1997; Fu D. 2000; Berezhkovskii 2002; Chakrabarti 2004]. Der Wassertransport durch Aquaporine findet über einen Single-File Mechanismus statt [Schmidt-Nielsen 1995; Whitembury 1997; Berezhkovskii 2002; Fu D. 2000; Jensen 2003; Chakrabarti 2004]. Für das Aquaglyceroporin GlpF (Escherichia coli glycerol facilitator), das für Wasser, Glycerin und verschiedene Alditole (lineare Polyalkohole) permeable Poren bildet, ist Single-File Transport von Wasser und Glycerin nachgewiesen [Fu D. 2000; Jensen 2003; Chakrabarti 2004].

Auch in Bereichen außerhalb der Biologie findet man Single-File Diffusion. So zeigen Zeolithe und verschiedene Nanotubes Single-File Eigenschaften [Jobic 1997; Kaerger 1998; Hahn 1999; Chou 1999; Berezhkovskii 2002].

Im Bereich der Sensorik erfahren Ionenkanäle zunehmend technische Anwendung [Luo 1999; Cornell 1999; Sugawara 2002]. Auch in der Batterieentwicklung werden die Eigenschaften von Single-File Ionenkanälen genutzt [Kallidukil 2001].

Ein starker Hinweis auf Single-File Diffusion ist ein Flussverhältnisexponent größer als eins. Daher wird die experimentelle Bestimmung des Flussverhältnisexponenten für verschiedene Ionen unter verschiedenen Bedingungen eingesetzt, um die Transportmechanismen von Proteinen aufzuklären, aber auch, um grundlegende Eigenschaften des Single-File Diffusionsmechanismus zu untersuchen.

Letztes Ziel verfolgend, untersuchen L. V. Schagina et al. den Flussverhältnisexponenten an Gramicidin-A, einem einfach gebauten bakteriellen Eiweiß, das in biologischen und synthetischen Lipidmembranen kationenspezifische Single-File-Ionenkanäle bildet. Wegen seines einfachen Baus, seiner leichten Verfügbarkeit und seiner bei vielen Ionenkanälen aufzufindenden Transporteigenschaften dient Gramicidin-A als Modellsystem für die experimentelle und theoretische Untersuchung der Eigenschaften von Single-File-Ionenkanälen [Burkhart 1999; Wallace 1988; Hinton 1999].

L. V. Schagina et al. finden bei Tracerflussmessungen an Gramicidin-A in Gegenwart wässriger Salzlösungen zweier Alkaliionen in Mischung, dass die Flussverhältnis-

exponenten der Kationen gleich sind und zwischen jenen liegen, die man für die Lösungen der Ionen findet, in denen diese nicht in Mischung, sondern einzeln vorliegen [Lev 1988; Blasko 1988].

Der Versuch einer auf dem kinetischen Modell von Heckmann basierenden analytischen Beschreibung dieses Befundes gelingt S. K. Aityan et al. nur teilweise. Zwar kann die Gleichheit der Flussverhältnisexponenten reproduziert werden, jedoch nicht deren Lage zwischen den Flussverhältnisexponenten der einzeln vorliegenden Ionen [Aityan 1991]. Von L. V. Schagina et al. experimentell bestimmte Einzelkanal-Leitfähigkeitsverteilungen von Gramicidin-A in Gegenwart von NaCl und RbCl, wobei die Salze sowohl einzeln als auch gemeinsam in wässriger Lösung vorliegen, werden von S. K. Aityan et al. als Hinweis darauf interpretiert, dass Gramicidin-A in Gegenwart zweier durchtrittsfähiger Kationen in Abhängigkeit von deren Konzentrationen in zwei ineinander übergehenden Konformationen unterschiedlicher Ionenleitfähigkeit vorliegt [Schagina 1988a; Aityan 1991a]. Mit dieser zusätzlichen Annahme gelingt es S. K. Aityan et al., die experimentellen Flussverhältnisexponenten in quantitativ befriedigender Weise wiederzugeben [Aityan 1991a]. In der erstgenannten Beschreibung von S. K. Aityan et al., dem Modell eines Ionenkanals konstanter Konformation, werden einschränkende Annahmen gemacht. Daher ist die von S. K. Aityan et al. getroffene Schlussfolgerung, dass dieses Modell zur Beschreibung der von L. V. Schagina et al. gemessenen Flussverhältnisexponenten nicht geeignet ist und die Erweiterung des Modells durch die Annahme zweier ionenabhängiger Konformationen notwendig ist, kritisch zu betrachten. Aus diesem Grund wird in der vorliegenden Arbeit das erstgenannte Modell, nun unter Wegfall einschränkender Annahmen, hinsichtlich der experimentellen Ergebnisse von L. V. Schagina et al. untersucht.

B Aufbau und Transporteigenschaften von Biomembranen

Die Basisstruktur von Biomembranen besteht aus einer dreidimensional geschlossenen Lipiddoppelschicht. Unter Lipiden versteht man molekulare Bestandteile in biologischen Zellen, die wasserunlöslich, aber in organischen Lösungsmitteln löslich sind. Dazu gehören Fettsäuren, Triacylglycerole (Triglyceride), Polyisoprenoide, Steroide - wie zum Beispiel das Cholesterin - Glycolipide und Phospholipide. Glycolipide und Phospholipide sind amphiphile Moleküle, aufgebaut aus einem hydrophilen Molekülteil, dem sog. Kopf, und einem daran gebundenen lipophilen langgestreckten Molekülteil, dem sog. Schwanz. Sie bilden in wässrigem Milieu im Allgemeinen dreidimensional geschlossene, ca. 4-5 nm dicke Lipiddoppelschichten, in denen die Lipidmoleküle ihren hydrophoben Teil der wässrigen Phase ab- und ihren hydrophilen Kopf der wässrigen Phase zuwenden. Diese Lipidmembranen schließen sich bei Verletzung bzw. Öffnung der Doppelschicht von selbst wieder. Unter physiologischen Bedingungen sind die Doppelschichten flüssig, mit einer Viskosität vergleichbar mit der von Olivenöl. Sie stellen für andere Moleküle ein zweidimensional angeordnetes Lösungsmittel dar, wie zum Beispiel für das ebenfalls amphotere Cholesterin oder für Proteine, die sogenannten Membranproteine (Abbildung B-1). In der flüssigen Lipiddoppelschicht bewegen sich die darin enthaltenen Moleküle im Wesentlichen parallel zur Membran, bezeichnet als laterale Diffusion, neben molekularen Rotationsbewegungen um eine Achse senkrecht zur Membran, genannt Rotationsdiffusion. Der laterale Diffusionskoeffizient für Lipide liegt in der Größenordnung von $10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Der Wechsel eines Lipidmoleküls innerhalb der Membran von einer Lipidschicht zur gegenüberliegenden, transversale Diffusion oder auch Flip-Flop genannt, ist kinetisch gehemmt und findet pro Molekül nur einmal in einem Zeitraum von mehreren Stunden bis über einen Monat statt. Membranproteine sind an die Membran angelagert oder in diese eingebettet und in verschiedener Weise, jedoch im Wesentlichen über hydrophobe Wechselwirkungen mit der Membran verbunden. Biologische Membranen enthalten in Abhängigkeit von ihrer Funktion verschiedene Anteile von Lipidmolekülen und Proteinen. Zum Beispiel sind bei der Mehrzahl tierischer Plasmamembranen, das ist die äußere Zellmembran, ca. 50% der Masse Lipide. Wegen der viel kleineren Masse eines Lipidmoleküls im Vergleich zur Masse eines Proteins kommen in diesem Falle ca. 50 Lipidmoleküle auf ein Proteinmolekül. Bei der elektrisch isolierenden Myelinmembran von Nervenaxonen liegt der Massenanteil der Lipide bei ca. 75%. Bei

verschiedenen Membranen im Innern einer Zelle, wie z.B. den inneren Membranen von Mitochondrien oder Chloroplasten, beträgt der Massenanteil der Lipide nur ca. 25%. Die Lipide in Zellmembranen sind überwiegend Diacyl-Phospholipide. Weitere häufig vorkommende Membranlipide sind Diacyl-Glycolipide und das Cholesterin. Tierische Biomembranen enthalten Phospho- und Glycolipide, deren Fettsäuren charakteristischerweise aus unverzweigten, gesättigten und ungesättigten Kohlenstoffketten mit einer geradzahigen Anzahl von 14 bis 24, meist jedoch 16 und 18 Kohlenstoffatomen bestehen [Alberts 2002; Stryer 1985].

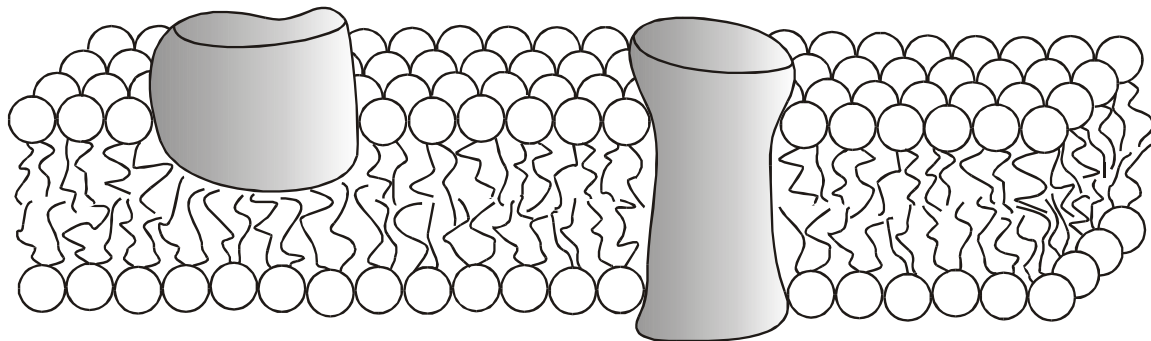


Abbildung B-1

Schematischer Aufbau einer Plasmamembran nach Singer und Nicholson (1972) [Adam 2003]. Eingezeichnet sind integrale Membranproteine, die in die Lipiddoppelschicht eingebettet sind.

Aufgrund ihres lipophilen Charakters sind die Lipiddoppelschichten der Biomembranen für Ionen praktisch impermeabel [Läger 1985; Adam 2003]. Beim Wechsel eines Ions von der Elektrolytbulkphase mit der hohen Dielektrizitätszahl des Wassers ($\epsilon \approx 80$) in die hydrophobe Lipidmembran geringer Dielektrizitätszahl ($\epsilon \approx 2$) muss gegen elektrostatische Kräfte Arbeit geleistet werden. Zudem besitzen die amphoteren Lipidmoleküle in oder nahe den Membranoberflächen ionische und/oder polare Bereiche (z. B. Phosphatidylcholine: Estergruppen, Phosphor-Sauerstoff-Bindungen, Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen, Ladungen der Phosphat- und Cholingruppe), die zur Bildung elektrischer Doppelschichten und zur Ausrichtung der Wassermoleküle an den Membranoberflächen beitragen. Daraus resultiert ein zusätzlicher Anteil zum elektrischen Feld, das ein durch

eine Biomembran permeierendes Ion durchlaufen muss [Flewelling 1986; Jordan 1983, 1984, 1989; Shinoda 1998; Bürsing 2001; Clarke 2001; Adam 2003; Duffin 2003]. Die wichtigsten energetischen Anteile, die den Durchtritt eines Ions wie Na^+ durch eine Lipidmembran bestimmen, sind die Born-Energie, die aus Bildkräften (Image Forces) und die aus dem Oberflächen-Dipolpotential resultierenden Energien [Flewelling 1986; Macey 1997; Schamberger 2002]. Befindet sich auf bzw. in der Membranoberfläche Ladung (viele biologische Membranen tragen aufgrund ihres Gehaltes an Phosphatidylserin negative Oberflächenladungen [Alberts 2002]), so kommt noch das daraus resultierende Oberflächenpotential hinzu. Born- und Bildenergie nehmen sowohl für Kationen als auch Anionen bis zur Membranmitte stark zu. Das durch das Oberflächen-Dipolpotential erzeugte elektrische Potential steigt bei Lipiddoppelschichten aus Phosphatidylcholin und -Ethanolaminen von der Elektrolytlösung kommend in Richtung Membranmitte im Bereich der Kopfgruppen an (was wegen der kurzen Distanz, innerhalb der das Potential ansteigt, eine sehr hohe Feldstärke von ca. 10^8 - 10^9 V m^{-1} zur Folge hat¹) und führt zu einem positiven Beitrag zum elektrischen Potential im Innern der Membran. Dort liefert das Dipolpotential einen Anionen stabilisierenden und Kationen destabilisierenden Anteil zur Gesamtenergie des betreffenden Ions [Flewelling 1986; Clarke 2001; Schamberger 2002]. Es gibt Versuche, experimentell Absolutwerte der Oberflächen-Dipolpotentiale verschiedener Lipiddoppelschichten (relativ zum elektrischen Potential der benachbarten Elektrolytbulkphase) zu bestimmen. Die Dipolpotentiale der gesättigten Lipide liegen typischerweise im Bereich von 220 bis 300 mV, die der einfach ungesättigten bei 120 bis 220 mV (Fehler der Absolutwerte ca. $\pm 40\%$) [Läger 1985; Clarke 1997, 2001; Peterson 2002; Schamberger 2002]. Diese an Doppelschichten ermittelten Werte sind in der Größenordnung von 100 mV kleiner als jene, die an Einzelschichten bestimmt sind. Es gibt Hinweise dafür, dass die an Doppelschichten bestimmten Dipolpotentiale mit einem systematischen Fehler behaftet sind und die an Einzelschichten bestimmten Werte eher den tatsächlichen Verhältnissen entsprechen [Clarke 2001; Schamberger 2002]. Das Energieprofil, das ein Kation beim Durchtritt durch eine Lipiddoppelschicht durchlaufen muß, ist in Abbildung B-2 schematisch dargestellt: Das Energiemaximum liegt im Bereich der Mittelebene zwischen den beiden Oberflächen der Membran. Ähnlich (jedoch mit einem niedrigeren Maximum) sieht der Verlauf der potentiellen Energie für ein Kation aus, das durch eine, die Lipidschicht durchdragen-

¹ Zum Vergleich: Bei einem Membranpotential von 100 mV und einer Membrandicke von 4 nm erhält man eine elektrische Feldstärke von $2,5 \cdot 10^7 \text{ V m}^{-1}$.

de, mit Wasser gefüllte Pore hindurchtritt. Die Höhe des Maximums steigt stark mit der Ionenladung [Levitt 1978; Jordan 1983, 1984, 1984a; Hladky 1984].

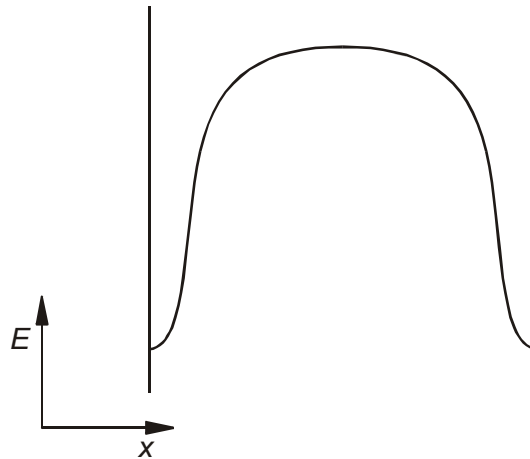


Abbildung B-2

Schematische Darstellung des Energieprofils, das ein Kation wie Na^+ beim Durchtritt durch eine ungeladene Lipiddoppelschicht (durch die senkrechten Begrenzungen gekennzeichnet) durchläuft. Einen ähnlichen Verlauf der potentiellen Energie erfährt ein Kation, das durch eine wassergefüllte Pore in der Lipidschicht hindurchtritt [Flewelling 1986; Levitt 1978; Jordan 1983, 1984, 1989; Adam 2003; Hladky 1984].

Messungen an Vesikeln aus einer Doppelschicht aus Phospholipiden (Diacylphospholipide mit einfach ungesättigten Kohlenwasserstoffketten) oder aus synthetischen Lipiden (Benzolsulfonate mit zwei gesättigten Kohlenwasserstoffketten) ergeben, dass die Permeabilitätskoeffizienten von Alkalikationen bei Kohlenwasserstoffketten mit 8 Kohlenstoffatomen bei ca. $10^{-10} \text{ cm s}^{-1}$, mit 16 Kohlenstoffatomen bei ca. $10^{-12} \text{ cm s}^{-1}$ liegen. Bei noch größeren Kettenlängen ändert sich der Wert nur noch wenig [Volkov 1997; Paula 1996; Hamilton 1990]. Modellrechnungen legen die Vermutung nahe, dass der Kationentransport durch die Lipiddoppelschicht teilweise über spontan gebildete, temporäre hydrophile Poren stattfindet. Dabei hat man sich die Poren so vorzustellen, dass die hydrophilen Lipidmolekülköpfe der Innenseite der Pore zugewandt und mit mindestens einer Schicht Hydratationswasser bedeckt sind. Anzahl und Lebensdauer der

Poren sinken stark mit zunehmender Länge der Kohlenwasserstoffketten der Lipidmoleküle. So ist der Transportmechanismus von Alkalikationen bis zu einer Kohlenstoffkettenlänge von ca. 12 bis 14 Kohlenstoffatomen dominiert vom Transport eines nackten Ions durch die kurzlebigen Poren, während er bei längerkettigen Lipiden von der Diffusion des hydratisierten Ions durch die Lipiddoppelschicht bestimmt wird. Protonen wandern bis zu einer Kettenlänge von ca. 16 bis 18 Kohlenstoffatomen überwiegend mit Hilfe des Grotthusmechanismus durch die Poren, bei einem Permeabilitätskoeffizienten von ca. $10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ bis $10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$, während sie bei längerkettigen Lipiden überwiegend als hydratisiertes Ion bei einem Wert des Permeabilitätskoeffizienten von ca. $10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$ durch die Membran diffundieren. Wasser und andere neutrale Moleküle diffundieren vorrangig direkt durch die Lipidphase, so dass die Porenbildung für den Transport dieser Moleküle keine größere Bedeutung besitzt. Dabei weist Wasser einen Permeabilitätskoeffizienten von ca. $10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$ auf [Volkov 1997; Paula 1996; Hamilton 1990]. Simulationsrechnungen bestätigen die Möglichkeit der Diffusion eines hydratisierten Protons durch eine Diacyl-Phospholipiddoppelschicht und auch die Existenz von Single-File-Wasserporen ausreichender Lebensdauer (ca. 93 ps in einer Lipiddoppelschicht aus einem gesättigten Diacylphospholipid mit Acylkettenlängen von 12 Kohlenstoffatomen), durch die Protonen hindurchtreten können. Bei der Bildung der hydrophoben Poren wird angenommen, dass die Lipidmoleküle ihre ursprüngliche parallele Orientierung beibehalten [Zahn 2001, 2002]. Halogenanionen diffundieren bei Kohlenstoffkettenlängen von 16 bis 24 Kohlenstoffatomen als hydratisierte Ionen mit einem Permeabilitätskoeffizienten von ca. $10^{-9} \text{ cm s}^{-1}$ bis $10^{-7} \text{ cm s}^{-1}$ wie die neutralen Moleküle überwiegend direkt durch die Phospholipiddoppelschicht. Die Permeation durch Membranporen stellt bei den Halogenanionen die Ausnahme dar [Paula 1998].

Es gibt auch Hinweise auf Verbindungen, die den Ionentransport durch eine Lipiddoppelschicht erleichtern, indem sie die Bildung von Poren in der Bilayerstruktur erleichtern. Diese Moleküle werden häufig auch als Ionophore bezeichnet [Hamilton 1990a].

Ein effektiver Ionentransport durch die Biomembran wird durch spezielle Transportproteine ermöglicht. Ihre Bedeutung kann man daran erkennen, dass durchschnittlich 15 bis 30% aller Membranproteine zu den Transportproteinen gehören [Alberts 2002]. Man kann die Transportproteine in zwei Klassen einteilen: Carrier- und Kanalproteine. Beide Klassen unterscheiden sich im Transportmechanismus: Carrier (auch als Permeasen oder Transporter bezeichnet) nehmen das oder die zu transportierenden Teilchen an einer der Membranoberflächen auf und entlassen diese auf der anderen Seite der Membran. Im aufnahmefähigen Zustand sind Carrier für die zu transportierenden Teilchen

immer nur von einer Seite der Membranoberfläche zugänglich. Sind die Carrier Transmembranproteine, Eiweißmoleküle, die die Membran vollständig durchmessen, so durchlaufen diese im Rahmen des Transportprozesses meist eine kinetisch reversible Folge verschiedener Konformationen. Kleine Carriermoleküle diffundieren innerhalb der Membran, analog zu einer Fähre, zwischen den Membranoberflächen hin und her, wobei die Teilchenaufnahme und -Abgabe an der Membranoberfläche stattfindet. Kanalproteine bilden die Lipiddoppelschicht durchdringende Poren, die in ihrem Inneren hydrophile Eigenschaften aufweisen. Diese ermöglichen den passiven Transport meist kleiner anorganischer Ionen durch die Membran hindurch. Im Gegensatz zum Carrier sind Kanäle also in allen Transportphasen grundsätzlich von beiden Seiten der Membran her zugänglich [Läger 1980, 1985]. Der Transport mittels transmembraner Carrierproteine kann sowohl aktiv („bergauf“) - dann werden Carrier auch als Pumpen bezeichnet - als auch passiv („bergab“) sein. Aktiv bedeutet, Transport in Richtung des Gradienten des elektrochemischen Potentials der transportierten Ionen, passiv Transport in entgegengesetzter Richtung. Die für den aktiven Transport notwendige Energie wird zum Beispiel durch parallel zum Transportprozess ablaufende chemische Reaktionen geliefert. Kleine, durch die Membran diffundierende Carriermoleküle und Kanäle vermitteln im Allgemeinen nur passiven Transport. Der passive Transport wird oft auch als erleichterte Diffusion bezeichnet. Unter bestimmten Voraussetzungen können verschiedene Ionenkanäle und kleine Carriermoleküle auch aktiven Transport zeigen: Hier wird der Teilchenfluss der einen Ionensorte gegen das Gefälle ihres elektrochemischen Potentials durch die Differenz des elektrochemischen Potentials einer anderen Ionensorte getrieben [Adam 1995].

Die meisten Kanalproteine, die in der Plasmamembran von Tier- und Pflanzenzellen das Cytosol mit dem Zelläußeren verbinden, bilden hoch selektive, durch die Membran reichende Poren, die sich öffnen und schließen können. Weil diese Proteine spezifisch anorganische Ionen transportieren, werden sie Ionenkanäle genannt. Diese Ionenkanäle ermöglichen den transmembranen passiven Transport hauptsächlich von Na^+ , K^+ , Ca^{2+} oder Cl^- . Vergleicht man die maximalen Transportraten von Carriern und Ionenkanälen, so findet man, dass durch Ionenkanäle bis zu 10^8 Ionen pro Sekunde hindurchtreten können, während die höchste von Ionencarriern vermittelte Transportrate um den Faktor 10^3 kleiner ist. Bislang wurden mehr als 100 Typen von Ionenkanälen beschrieben. Ionenkanäle sind notwendig für die Erregung von Muskelzellen und vermitteln die meisten Formen elektrischer Signalübertragung im Nervensystem. Ionenkanäle kommen in allen tierischen Zellen vor, werden aber auch in pflanzlichen Zellen und Mikroorganis-

men gefunden. Vermutlich sind Kaliumkanäle die am meisten vorkommenden Ionenkanäle. Sie kommen in der Plasmamembran fast aller tierischer Zellen vor. In typischen tierischen Zellen wird das Membranpotential an der Plasmamembran zum größten Teil durch passiven Ionentransport erzeugt [Läger 1985; Alberts 2002].

Ein prominentes Polypeptid, das schon über 50 Jahre als Modell für ionenselektive Single-File-Kanäle dient, ist das Antibiotikum Gramicidin-A. Es liegt auch den Untersuchungen dieser Arbeit zugrunde und wird im folgenden Kapitel vorgestellt.

C Der Gramicidin-A-Kanal

C.1 Das Modellsystem Gramicidin-A

Das Pentadecapeptid Gramicidin-A bildet in Lipiddoppelschichten durch Dimerisierung Ionenkanäle, die selektiv für kleine einwertige Kationen durchlässig sind (Zum Beispiel Alkalikationen, H^+ , NH_4^+ , Tl^+ , Ag^+ ; kleine organische Kationen wie Hydrazinium-, Formamidinium- und Methylammonium-Ionen [Hille 1992; Busath 1988; Seoh 1993]. Es gibt auch Hinweise für den Durchtritt von Guanidiniumionen [Busath 1988b; Hemsley 1991].).

Befinden sich auf beiden Seiten einer mit Gramicidin-A dotierten Lipiddoppelschicht aus Glycerolmonooleat verschiedene Ionenspezies, ergeben sich aus Nullstrompotentialmessungen steigende Ionenpermeabilitäten in der Folge $Li^+ < Na^+ < K^+ \lesssim Rb^+ < Cs^+ < NH_4^+ \ll H^+$. Dagegen ergibt sich aus Leitfähigkeitsmessungen einzelner Salze für die Ionenleitfähigkeiten die Reihenfolge $Li^+ < Na^+ < K^+ \approx NH_4^+ < Cs^+ \approx Rb^+ \ll H^+$. Ähnlich wie die Leitfähigkeiten verlaufen die Ionenbeweglichkeiten dieser Ionen in wässriger Lösung [Hladky 1984; Hille 1992].

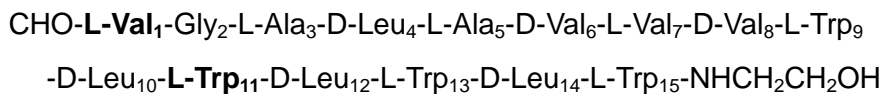
Im Vergleich zu anderen in der Natur vorkommenden Ionenkanälen ist der Gramicidin-A-Kanal einfach gebaut. Wie viele physiologisch wichtige Ionenkanäle zeigt er Single-File-Transport und ideale Ladungselektivität (permeabel für kleine einwertige Kationen, zweiwertige Kationen binden an den Kanal und blockieren diesen, Anionen werden vom Kanal in keiner Weise gebunden, blockieren nicht den Kationentransport und können nicht permeieren) [Bamberg 1977; Tian 1999; Wallace 1998]. Daher dient Gramicidin-A als Modellsystem zur Untersuchung der Prinzipien von Struktur und Funktion ionenselektiver Kanäle. Auch zur Untersuchung von grundlegenden Eigenschaften von Membranproteinen oder zur Klärung der Prinzipien der Protein-Lipid-Wechselwirkung werden Gramicidin-A und dessen natürliche oder synthetische Isomere als Modellsystem verwendet [Lundbaek 1999; Harroun 1999; Greathouse 1999; Koeppe 1996, 1999; Busath 1998; Hinton 1999]. Aus diesem Grunde ist Gramicidin einer der am besten untersuchten Ionenkanäle [Wallace 1998].

C.2 Vorkommen von Gramicidin

Zur Familie der natürlich vorkommenden linearen Gramicidine gehören im Wesentlichen 11, vermutlich 12 Pentadecapeptide, die vom Bodenbakterium *Bacillus Brevis* während seiner sporenbildenden Phase gebildet werden. Die relativen Anteile der vom Bakterium produzierten Gramicidine hängen unter anderem vom Nahrungsangebot für das Bakterium ab. Der Name „Gramicidin“ beruht auf dessen Eigenschaft, grampositive Bakterien zu töten [Wallace 1998; Townsley 2001; Koeppe 1985; Williams 1992; Hinton 1999].

C.3 Bau von Gramicidin-A

Die Hauptkomponente der Gramicidine ist das Gramicidin-A, kurz GA. Die Primärstruktur des aus 15 Aminosäuren bestehenden Gramicidin-A ist [Hille 1992; Hinton 1999]:



Die beiden Isomere Gramicidin-B und Gramicidin-C besitzen an der Position 11 statt des L-Tryptophan die Aminosäure L-Phenylalanin bzw. L-Tyrosin. Gramicidin-D, mit dem bisher die meisten Experimente durchgeführt wurden, ist die natürlich vorkommende Mischung der Gramicidine A, B und C, die beispielsweise ungefähr 80% Gramicidin-A, 5% Gramicidin-B und 15% Gramicidin-C [Wallace 1998; Salom 1998] oder auch 85% Gramicidin-A, 10% Gramicidin-B und 5% Gramicidin-C [Veatch 1974] enthalten kann. Die drei Gramicidin-Isomere kommen jeweils auch in einem Konstitutionsisomeren vor, in dem die Aminosäure L-Val₁ durch L-Ile substituiert ist. Daneben gibt es die Gramicidin-K-Familie, die aus den an der Ethanolaminschutzgruppe mit verschiedenen Fettsäuren veresterten Gramicidinen A, B, C, Ile₁-GA und Ile₁-GC besteht. Die Existenz von verestertem Ile₁-GB ist nicht nachgewiesen [Williams 1992]. Bei der Analyse einer natürlich vorkommenden Mischung linearer Gramicidine kann man ohne Unterscheidung zwischen den Val₁- und Ile₁-Isomeren zum Beispiel ca. 88% Gramicidin-A, 7% Gramicidin-B und 5% Gramicidin-C finden [Gross 1965]. Die in verschiedenen Untersuchungen vorgefundenen prozentualen Verhältnisse innerhalb der paarweise vorkommenden Konstitutionsisomere von Gramicidin-A, -B und -C sind in Tabelle C-1 angegeben. Der Anteil

von Gramicidin-K in der Gruppe der linearen Gramicidine liegt zwischen ca. 0,5% und 4% [Koepe 1985; Townsley 2001; Williams 1992].

Daneben gibt es viele teil- oder vollsynthetische Gramicidine, wie zum Beispiel die Gramicidine M, N und T, in denen alle vier Tryptophanmoleküle durch Phenylalanin, Naphthylalanin bzw. Tyrosin ersetzt sind [Markham 2001; Salom 1998; Girshman 1997].

Als Gramicidin-S wird ein weiteres, von *Bacillus Brevis* gebildetes cyclisches Decapeptid bezeichnet [Prenner 1999].

	Val ₁ -GA / Ile ₁ -GA	Val ₁ -GB / Ile ₁ -GB	Val ₁ -GC / Ile ₁ -GC
Anteile in %	60-80 / 40-20 [Ishii 1963] 95-96 / 4-5 [Arseniev 1985]	89 / 11 [Sarges 1965]	94,5 / 5,5 [Sarges 1965a]

Tabelle C-1

Prozentuale Zusammensetzung der jeweiligen Gramicidin-Spezies A, B bzw. C.

Auffällig ist, dass Gramicidin-A aus einer alternierenden Kette von L- und D-Aminosäuren aufgebaut ist, während natürliche Proteine im Allgemeinen ausschließlich aus L-Aminosäuren bestehen. Die Seitenketten der Aminosäuren sind allesamt hydrophob oder amphiphil und dienen der Verankerung des Ionenkanals in den lipophilen inneren Bereich der Lipiddoppelschicht durch hydrophobe Wechselwirkung. Wegen der Natur der Seitenketten und der beiden Schutzgruppen am aminoterminalen- und am carboxylterminalen Ende kann Gramicidin-A bei physiologischem pH (Durchschnittswerte bei Säugetierzellen: intrazellulär pH 7,2, extrazellulär pH 7,4 [Alberts 2002]) auch nicht als geladenes Molekül oder Zwitterion vorliegen. Gramicidin-A ist als stark hydrophobes Protein löslich in organischen Lösungsmitteln, während es mit weniger als 10 mg l⁻¹ nur wenig in Wasser löslich ist [Wallace 1998; Greathouse 1994].

Die alternierende Struktur von L- und D-Aminosäuren ermöglicht die Bildung einer β -Faltblattstruktur, bei der sich die Seitenketten der Aminosäuren auf derselben Seite

des β -Faltblattes befinden, im Gegensatz zur alternierenden räumlichen Anordnung der Seitenketten bei der gewöhnlichen, ausschließlich aus L-Aminosäuren gebildeten β -Faltblattstruktur. Diese Anordnung der Seitenketten geht mit einer helikalen Struktur Hand in Hand, mit den Torsionswinkeln und der Wasserstoffbrückenordnung eines β -Faltblattes, wobei die Peptidkette stärker gestreckt ist als bei einer gewöhnlichen α -Helix. Während die hydrophoben Seitenketten von der Helix weg nach außen gerichtet sind, ist der Innenbereich der entstehenden Helix durch die polaren Carbonylgruppen der Peptidkette geprägt [Tian 1999; Burkhardt 1998, 1999]. Wie allgemein in β -Faltblattstrukturen stellen Dipeptide die konstitutiven, sich wiederholenden Einheiten der verschiedenen Gramacidin-Sekundärstrukturen dar [North 1995; Hinton 1999].

Das strukturelle Erscheinungsbild des natürlich vorkommenden Gramacidin ist polymorph (Im Folgenden wird die allgemeine Bezeichnung Gramacidin verwendet, wenn nicht zwischen den in Gramacidin-D vorkommenden Gramacidin-Spezies unterschieden wird.). Es kommt in zwei grundsätzlichen Konformationen vor, die beide als Sekundärstruktur eine β -Faltblattstruktur aufweisen:

Es sind die doppelhelikale $\pi\pi^n$ -Helix, die mit verschiedener Anzahl n der Aminosäureseitenketten pro Helixwindung vorliegen kann und die monomere rechtsgängige β^n -Helix mit 6,3 bzw. 6,5 Seitenketten pro Windung. Der Porendurchmesser der doppelhelikalen Struktur steigt mit wachsendem n , während parallel dazu die Porenlänge abnimmt. Unter den $\pi\pi^n$ -Helizes gibt es rechtsgängige und linksgängige Spezies, mit paralleler oder antiparalleler Anordnung der beiden β -Faltblattstränge. Die β^n -Helix ist in der Lage, ein Dimer zu bilden, das aus zwei β^n -Helizes besteht, die in ihren aminoterminalen Bereichen über Wasserstoffbrückenbindungen miteinander verknüpft sind („Kopf an Kopf“ Orientierung) (Abbildungen C-1 und C-2) [Wallace 1998].

Die Mengenverhältnisse der verschiedenen, von Gramacidin eingenommenen Strukturen sind von den vorliegenden physikalischen und chemischen Bedingungen bestimmt, können jedoch auch von den Präparationsbedingungen abhängige metastabile Verteilungen sein:

In organischen Lösungsmitteln liegt das Polypeptid als eine Gleichgewichtsmischung verschiedener doppelhelikaler $\pi\pi^n$ -Helizes und monomerer β^n -Helizes vor. Die β -Helizes stehen im Gleichgewicht mit ihrem Dimeren. Die Lage des Gleichgewichts zwischen den verschiedenen doppelhelikalen Strukturen und der β -Helix wird von verschiedenen Faktoren bestimmt, beispielsweise von der Dielektrizitätszahl des Lösungsmittels und von dessen Fähigkeit, Wasserstoffbrücken auszubilden, von den Konzen-

trationsverhältnissen, der Gegenwart von Salzen, der Temperatur usw. [Wallace 1998; Kovacs 1999; Arndt 2002; Duax 2002; Arseniev 1985]. Gramicidin existiert unter bestimmten Bedingungen auch als Random Coil, wie zum Beispiel in Dimethylsulf-oxid/Aceton-Lösung [Roux 1990].

Gramicidin-Kristalle liegen in Abhängigkeit von den Präparationsbedingungen, wie zum Beispiel von der Wahl des Lösungsmittels, aus dem die Kristalle gewonnen werden und der Anwesenheit von Alkali- oder Erdalkalitionen, in der einen oder anderen parallelen oder antiparallelen doppelhelikalen $\pi\pi^n$ -Form vor, wobei n Werte von 5,6 , 6,4 oder 7,2 annehmen kann [Arseniev 1985; Wallace 1998; Burkhart 1998; Kovacs 1999; Duax 2002].

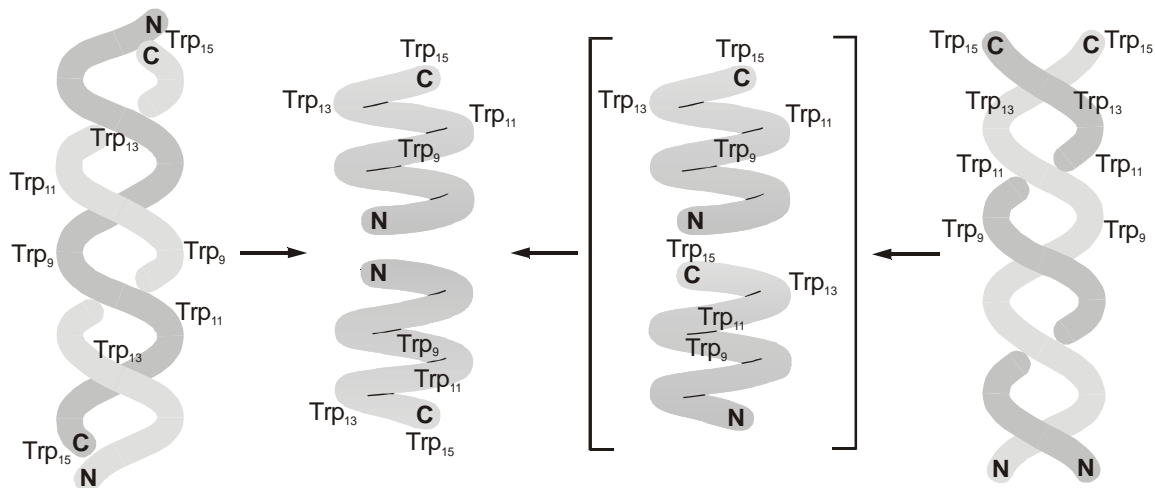


Abbildung C-1

Übergänge doppelhelikaler $\pi\pi^n$ -Helizes in die $\beta^{6.5}$ -Helix in Lipiddoppelschichten: Links eine antiparallele, rechts eine parallele doppelhelikale $\pi\pi^n$ -Helix, gehen in die in Lipiddoppelschichten stabile $\beta^{6.5}$ -Helix (Mitte links) über. Der in Klammern wieder-gegebene Zwischenzustand ist hypothetisch. Es sind die ungefähren Positionen der Aminosäure Tryptophan dargestellt. Die carboxylterminalen und die aminoter-
minalen Enden sind jeweils mit einem C bzw. N gekennzeichnet [Arumugam 1996].

In Lipiddoppelschichten, wie planaren Bilayern, Lipid-Multilayern, Vesikeln, Liposomen, Biomembranen und in Mizellen, bildet Gramicidin neben Doppelhelizes die einzelsträngige, rechtsgängige β^n -Helixstruktur, die im Gleichgewicht mit ihrem Dimeren, dem kationenselektiven Kanal, steht (Abbildungen C-1 und C-3) [Sawyer 1990; Salom 1998; Wallace 1998; Olah 1991; Katsaras 1992; Ketchem 1997; Hinton 1999; Allen 2003].

Urry et al. haben als erste erkannt, dass der transmembrane Gramicidin-Kanal aus zwei Gramicidin-Einzelsträngen aufgebaut ist, die als linksgängige einzelsträngige $\beta^{6.3}$ -Helizes über Wasserstoffbrückenbindungen an den aminoterminalen Enden „Kopf an Kopf“ miteinander verknüpft sind [Urry 1971, 1971b, 1982; Wallace 1998]. Inzwischen ist die Vorstellung Urrys dahingehend korrigiert, dass statt einer Linksgängigkeit eine Rechtsgängigkeit der β -Helizes von Gramicidin sowohl in Lipiddoppelschichten als auch in SDS- und Lysolecithin-Mizellen experimentell nachgewiesen ist [Nicholson 1989; Koeppe 1992; Arseniev 1985; Hing 1993; Ketchem 1994, 1997; Hinton 1999] (Abbildungen C-1 und C-2). Die experimentellen Ergebnisse unterscheiden sich unter anderem in der Anzahl n der Aminosäurereste pro Helixwindung. Man findet für n Werte von 6,3 oder 6,5 [Weinstein 1985; Sawyer 1990; Hinton 1996, 1999; Ketchem 1997; Wallace 1998; Fu R. 2000; Williams 1992; Allen 2003]. Im Folgenden wird diese Struktur als $\beta^{6.5}$ -Helix, β -Helix, (Gramidin-) Kanal oder Pore bezeichnet, ohne zwischen den $\beta^{6.5}$ - und $\beta^{6.3}$ -helikalen Strukturen zu unterscheiden.

Der β -helikale Peptideinzelstrang wird durch 10 intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen vom Typ einer parallelen β -Faltblattstruktur stabilisiert [Kovacs 1999]. Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie findet man, dass beim Gramicidin-Kanal die $\beta^{6.5}$ -helikalen Monomere sowohl in SDS-Mizellen als auch in Lipiddoppelschichten an ihren aminoterminalen Enden über 6 Wasserstoffbrücken miteinander verknüpft sind. In diesem Bereich bilden die Monomere miteinander eine antiparallele β -Faltblattstruktur [Wallace 1998; Kovacs 1999; Fu R. 2000; Arseniev 1985]. Auf Grund seiner einzelsträngigen β -helikalen Sekundärstruktur und der Dimerisierung über die aminoterminalen Helixbereiche besitzt der Gramicidin-Kanal kein Nettodipolmoment [Pomes 2002]. Die Carbonylsauerstoffatome des Gramicidin-Kanals sind leicht in Richtung der Helixachse orientiert und zeigen zusammen mit den Wasserstoffbrücken, über die sie mit den Peptidstickstoffatomen verbunden sind, alternierend in Richtung Kanalende und Kanalmitte [Ketchem 1997; Tian 1999]. Durch die Orientierung der Carbonylsauerstoffatome entsteht im Kanalinneren eine hydrophile Umgebung.

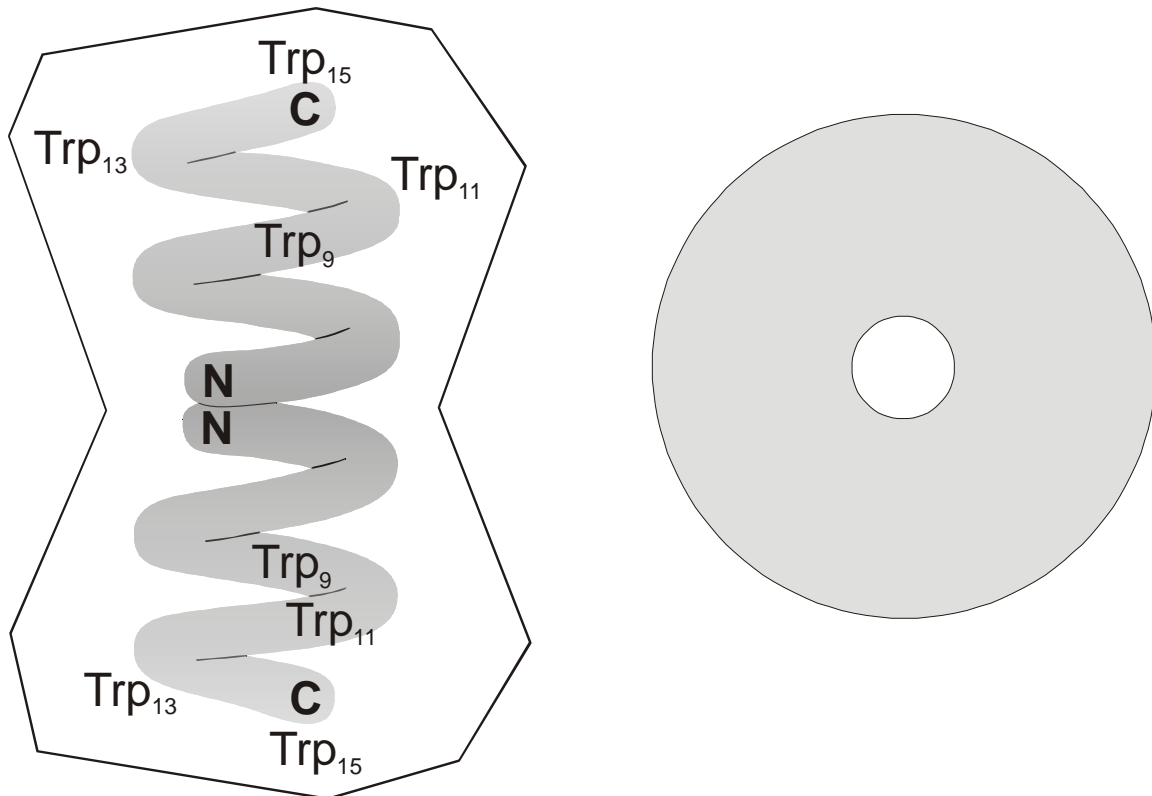


Abbildung C-2

Skizze des $\beta^{6.5}$ -helikalen Gramicidin-A-Kanals: Polypeptidrückgrat mit den ungefähren Positionen der Aminosäure Tryptophan und das Profil des Kanals. Die carboxylterminalen und die aminoterminalen Enden sind jeweils mit einem C bzw. N gekennzeichnet [Cross 1999]. Rechts Draufsicht in den Kanal zur Verdeutlichung der ungefähren Proportionen von Kanalinnen- und Außendurchmesser [Roux 2002]. Detailliertere Darstellungen der räumlichen Struktur siehe Cross (1999), Hinton (1999) und Roux (2002).

Sowohl die Tryptophan-Seitenketten als auch das Tyrosin an Position 11 in Gramicidin-C besitzen amphiphilen Charakter, weshalb sie sich bevorzugt an der Grenzschicht Lipid-doppelschicht-Wasser aufhalten (Abbildungen C-1 bis C-3). Sie dienen der Verankerung des Gramicidin-Kanals an der Lipid-Wasser Grenzschicht mit Hilfe von Wasserstoffbrücken und erniedrigen aufgrund ihres Dipolmoments die Energie eines Kations innerhalb des Ionenkanals [Dorigo 1999; Hu 1995; Busath 1998; Kovacs 1999; Thompson 2001]. Dagegen kann die hydrophobe, unpolare Phenylalanin-Seitenkette an Position 11 des Gramicidin-B keinen solchen Beitrag leisten [Becker 1991; Townsley 2001].

Der Gramicidin-A-Kanal besitzt eine Länge von 2,5 bis 2,6 nm und einen Innendurchmesser von ca. 0,4 nm [Olah 1991; North 1995; Ketchum 1997; Tian 1999; Kovacs 1999; Hinton 1999] (Abbildung C-2).

In hydratisierten Dimyristoylphosphatidylcholin-Lipiddoppelschichten (DMPC) findet man, dass die Achse des Gramicidin-A-Kanals und die Lipiddoppelschichtnormale parallel zueinander sind [Ketchum 1994; North 1995; Kovacs 1999; Hinton 1999]. Dem steht der experimentelle Befund gegenüber, dass in Liposomen aus Dimyristoylphosphatidylcholin der Winkel zwischen Kanalachse und Lipiddoppelschichtnormale bei ca. 15° liegt [Navedryk 1982].

Eine eindeutige Unterscheidung von doppelhelikalen gegenüber einzelsträngigen Spezies ist mit Hilfe der CD-Spektroskopie möglich [Kovacs 1999; Bano 1989, 1991; Killian 1988; Salom 1998]. Jedoch erlaubt der Nachweis einer β -helikalen Struktur mit Hilfe der CD-Spektroskopie oder mittels HPLC weder eine Aussage über die Lage des Gleichgewichts zwischen dem $\beta^{6.5}$ -helikalen Monomeren und dessen Dimeren noch über die Zugänglichkeit der jeweiligen Struktur für kleine einwertige Kationen [Killian 1988; Bano 1991].

In Lipiddoppelschichten ist die rechtsgängige $\beta^{6.5}$ -Helix für Gramicidin-A, -B und -C im Allgemeinen die thermodynamisch stabilste Form [Bano 1989, 1991; Killian 1988; Salom 1998; Kovacs 1999; Fu R. 2000]. Für gesättigte, einfach- und doppelt ungesättigte C₁₄- bis C₁₈-Diacylphosphatidylcholone, für Sojabohnen-Phosphatidylcholone (eine Mischung von Phosphatidylcholinen mit einem hohen Anteil an zweifach ungesättigten Acylseitenketten) und für Eigelb-Phosphatidylcholone (eine Mischung von Lecithinen, in denen das einfach ungesättigte Dioleoylphosphatidylcholin überwiegt), mit und ohne Sterolbeimengung, findet man, dass unabhängig von der Natur der Phospholipide und der Membranzusammensetzung die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur die thermodynamisch weitaus stabilste Struktur ist [Salom 1998; Girshman 1997].

Auch in Mizellen ist die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur thermodynamisch stabiler als die doppelhelikale [Bano 1989, 1991; Townsley 2001].

Sowohl in Lipiddoppelschichten als auch in Mizellen liegen die strukturellen Unterschiede zwischen den Gramicidinen A, B und C im Wesentlichen in den Konformationen der Seitenketten und nicht in der Konfiguration des Peptidrückgrates [Townsley 2001; Sawyer 1990; Hinton 1999].

Die thermodynamische Stabilität von β -helikaler und doppelhelikaler Struktur ist von der jeweiligen Gramicidin-Spezies abhängig [Becker 1991; Salom 1998]. In Tabelle C-2 sind für Gramicidin-A und -B die relativen Anteile der Doppelhelizes an der Gesamtmas-

se des vorliegenden Gramacidins im thermodynamischen Gleichgewicht in Abhängigkeit von der Temperatur angegeben. Es wird davon ausgegangen, dass Gramacidin nur als einzelsträngige β -Helix oder in doppelhelikaler Form vorliegt. Der Dimerisierungsgrad der β -Helizes bleibt unberücksichtigt [Salom 1998].

$x_{dh} = \frac{m_{dh}}{m_{ss} + m_{dh}}$		
Temperatur / [°C]	GA	GB
23	< 0.02	0.08
45	< 0.01	0.21
68	0.00	0.32

Tabelle C-2

Massenanteil x_{dh} der doppelhelikalen Dimere dh (double stranded **d**ouble **h**elix) an der Gramacidin-Gesamtmasse im thermodynamischen Gleichgewicht jeweils für Gramacidin-A (GA) und Gramacidin-B (GB) in Dioleoylphosphatidylcholin-Vesikeln für verschiedene Temperaturen. Es gilt $x_{dh} = m_{dh} (m_{ss} + m_{dh})^{-1}$, wobei m_{dh} die Masse aller doppelhelikalen Dimere und m_{ss} die Masse aller einzelsträngigen β^n -helikalen Monomere (**s**ingle **s**tranded) ist, unabhängig von deren Dimerisierungsgrad zu Ionenkanälen [Salom 1998].

Untersuchungen mit Gramacidin-A und verschiedenen Konstitutionsisomeren des Polypeptids zeigen, dass für die Bevorzugung der monomeren $\beta^{6.5}$ -helikalen Struktur gegenüber der doppelhelikalen in Lipiddoppelschichten insbesondere die Trp₉- und Trp₁₃-Seitenketten von Bedeutung sind. Das Gleichgewicht zwischen Doppel- und β -Helizes liegt fast vollständig auf der Seite der einzelsträngigen Helizes, wenn sich an den Positionen 9, 11 und 13 die Aminosäure Tryptophan befindet [Salom 1998; Wallace 1998]. In Lipiddoppelschichten erhöht sich im thermodynamischen Gleichgewicht das molare Verhältnis von doppelhelikaler zu β -helikaler Struktur mit der Anzahl der durch Phenylalanin substituierten Tryptophanmoleküle, wobei der Einfluss der Substitution davon

abhängig ist, welche Tryptophanmoleküle substituiert sind. Eine Ausnahme bildet hier nur das einfach Trp₁₅-substituierte Analog, das gegenüber Gramacidin-A keine Veränderung hinsichtlich der Stabilität der $\beta^{6.5}$ -Helix zeigt [Salom 1998; Becker 1991; Townsley 2001].

Experimentell findet man unter anderem mit Hilfe der Bildung von Heterodimeren, dass, wenn von einem Trp-Phe-substituierten Gramacidin-Isomeren die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur eingenommen wird, die Konformation des Peptidrückgrates von Art und Anzahl der Tryptophansubstitutionen nur wenig beeinflusst wird [Salom 1998; Becker 1991; Providence 1995; Markham 2001]. Gramacidin-M und Gramacidin-N bilden im thermodynamischen Gleichgewicht überwiegend eine doppelhelikale Struktur [Salom 1998; Becker 1991], wobei für Gramacidin-M gezeigt werden kann, dass nur der $\beta^{6.5}$ -helikale Kanal ionenleitend ist [Cotten 1999; Providence 1995; Markham 2001].

Für Diacylphosphatidylcholine mit zwei gleichen gesättigten Acylresten findet man experimentell, dass die β -helikale Struktur erst bei Acylkettenlängen ab 8 Kohlenstoff-Atomen gebildet wird. Dabei nimmt mit wachsender Kettenlänge der Anteil an doppelhelikalen Strukturen ab [Greathouse 1994]. Interessant ist der Vergleich der Länge eines Gramacidin-Kanals mit der Dicke des hydrophoben Anteils einer Lipiddoppelschicht in Abhängigkeit von der Acylkettenlänge der Lipidmoleküle. Die Abschätzung einer gesättigten all-trans-Acykette von 8 Kohlenstoffatomen ergibt bei ca. 0,125 nm pro CH₂-Gruppe eine Länge der hydrophoben Alkylkette von ca. $7 \cdot 0,125 \text{ nm} = 0,875 \text{ nm}$ und damit eine maximale Dicke des hydrophoben Anteils einer Lipiddoppelschicht von ca. 1,75 nm. Jedoch erst mit Acylketten aus 11 Kohlenstoffatomen erreicht die maximale Dicke des hydrophoben Bereiches einer Diacyllipiddoppelschicht mit ca. 2,5 nm ungefähr die Länge des Gramacidin-A-Kanals.

Leitfähigkeitsmessungen an gramacidindotierten Black-Lipid-Membranen aus einfach ungesättigten C_n-Diacylphosphatidylcholinen mit gleichen Acylketten der Länge *n* in Gegenwart von 0,1 molalen HCl-Lösungen ergeben für *n* = 18 und 20, dass das Gleichgewicht zwischen $\beta^{6.5}$ -helikalen Ionenkanälen und Doppelhelizes weit auf der Seite der Ionenkanäle liegt, während bei Acylketten mit 22 Kohlenstoffatomen ein größerer (nicht quantifizierter) Anteil an Doppelhelizes vorliegt (CD-spektroskopische Messungen an Vesikeln ergeben eine Verteilung von 43% an doppelhelikalen Strukturen und 57% an $\beta^{6.5}$ -Helizes [Galbraith 1998].). Mit wachsender Acylkettenlänge verschiebt sich auch das Gleichgewicht zwischen monomerer und dimerer $\beta^{6.5}$ -helikaler Struktur in Richtung des Monomeren. Im Fall des C₂₂-Diacylphosphatidylcholin überwiegen hinsichtlich der gemessenen H⁺-Leitfähigkeitscharakteristika zwei Kanaltypen: Doppelhelizes mit vier

verschiedenen Leitfähigkeitszuständen und der $\beta^{6.5}$ -helikale Ionenkanal mit zwei Zuständen, wobei der bei kürzerkettigen Lipiden überwiegend vorzufindende Standardzustand höherer Leitfähigkeit immer nur aus dem neu beobachteten mit geringerer Leitfähigkeit hervorgeht [Mobashery 1997]. Andere experimentelle Ergebnisse an Lipidvesikeln zeigen, dass bei Acylketten aus 12 bis 18, vermutlich bis 22 Kohlenstoffatomen die einzelsträngige Struktur im thermodynamischen Gleichgewicht weit überwiegt. Sowohl die prozentualen Anteile von einzelsträngiger und doppelsträngiger Struktur in der Lipiddoppelschicht unmittelbar nach der Probenbereitung als auch die Kinetik der Gleichgewichtseinstellung zwischen den Strukturen ist stark von den experimentellen Bedingungen abhängig [Killian 1988; Salom 1998].

Die Anteile von doppelhelikalen und einzelsträngigen $\beta^{6.5}$ -helikalen Strukturen in *frisch* hergestellten Lipiddoppelschichten und Mizellen werden von verschiedenen experimentellen Parametern und Vorgehensweisen bestimmt. Solche Faktoren sind zum Beispiel die Wahl des Lösungsmittels und der Konzentrationsverhältnisse in der Lösung, in der Gramicidin vor seinem Einbau in eine Lipiddoppelschicht oder in Mizellen gelöst wird, die Zusammensetzung der Lipidmembran oder der Mizellen, Grad der Sättigung und Länge der Acylketten der Lipidmoleküle, Eigenschaften der Phospholipidkopfguppen, Sterolanteil, Temperatur und Präparationstechnik der gramicidindotierten Lipiddoppelschichten oder Mizellen. Mit der Zeit stellt sich die Gleichgewichtszusammensetzung von Doppelhelizes und einzelsträngigen $\beta^{6.5}$ -Helizes ein, in der wie oben beschrieben die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur im Allgemeinen weit überwiegt. Die Gleichgewichtseinstellung kann jedoch einige Stunden bis einige Wochen in Anspruch nehmen oder fast vollständig kinetisch gehemmt sein [Bano 1989, 1991; Salom 1998; Killian 1988; Arumugam 1996; Lundbaek 1997; Girshman 1997]. Bei der Verwendung von Black-Lipid-Membranen (aus nicht zu langkettigen Lipiden, s.o.) ist es wegen der dort verwendeten Konzentrationsverhältnisse und Präparationstechnik unwahrscheinlich, dass neben $\beta^{6.5}$ -Helizes auch Doppelhelizes in nennenswerter Konzentration in der Lipiddoppelschicht vorkommen [Killian 1988; Sawyer 1990a; Galbraith 1998; Wallace 1998]. Untersuchungen von Gramicidin in Black-Lipid-Membranen werden mit Hilfe von Leitfähigkeitsmessungen durchgeführt. Dies bedeutet, dass nur ionenleitfähige Gramicidin-Spezies nachgewiesen werden können. Daher können mit dieser Methode keine Informationen über die Existenz und den Zustand nichtleitender Spezies gewonnen werden [Galbraith 1998; Wallace 1998; Sawyer 1990a].

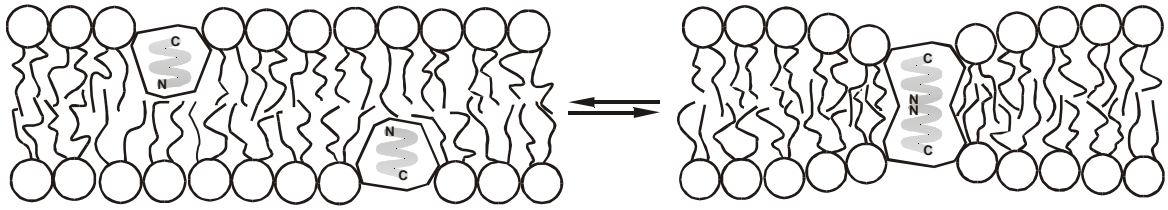


Abbildung C-3

In Lipiddoppelschichten steht das monomere einzelsträngige $\beta^{6.5}$ -helikale Gramicidin-Molekül im Gleichgewicht mit seinem Dimeren, dem Ionenkanal. Im Verlaufe der Dimerisierung paßt sich die Membran an die Dimension der hydrophoben Oberfläche des Proteins an („hydrophobic mismatch“) [Lundbaek 1996].

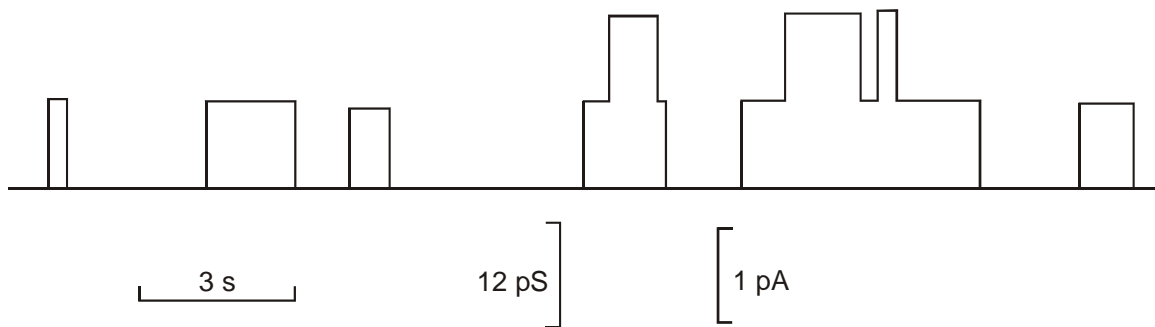


Abbildung C-4

Natriumströme durch den Gramicidin-A-Kanal. Skizze einer fiktiven Strom-Zeit-Kurve, in Anlehnung an experimentelle Ergebnisse von E. Bamberg und P. Läuger (1974) [Hille 1992]: In den Experimenten dieser Autoren liegt Gramicidin-A in geringer Konzentration in einer Lipiddoppelschicht aus Dioleoylphosphatidylcholin vor. Beiderseits der Membran befinden sich 1 M NaCl-Lösungen bei 25 °C. Die angelegte Spannung beträgt 90 mV. Die mittlere elektrische Kanalleitfähigkeit γ beträgt 12 pS. Während der Lebensdauer eines leitfähigen Gramicidin-Kanals können Natriumionen durch diesen hindurchtreten. So entsteht ein statistisch schwankender Stromverlauf, der sich aus Stufen nahezu konstanter Höhe zusammensetzt. Sind mehrere Kanäle gleichzeitig offen, misst man die Summe der Einzelströme.

Die Bildungs- und Zerfallsraten (reziproke Lebensdauer) eines β -helikalen Gramicidin-Dimeren hängt davon ab, wie gut die Länge des Kanals und die Dicke des hydrophoben Bereichs der Lipiddoppelschicht übereinstimmen. Je größer die Abweichung ist, um so

stärker muss die Membranoberfläche in der Umgebung des Ionenkanals gekrümmt sein, um sie an die Dimensionen des Proteins anzupassen (Abbildung C-3). Deshalb hängen die Reaktionsgeschwindigkeiten für Bildung und Zerfall eines Gramacidin-Dimeren wesentlich von der Oberflächenspannung der Membran ab [Mobashery 1997; Goulian 1998; Lundbaek 1997, 1999; Harroun 1999; Martinac 2002]. In einer Lipiddoppelschicht liegt die durchschnittliche Lebensdauer eines $\beta^{6.5}$ -helikalen Dimeren typischerweise in der Größenordnung von 1 s [Sawyer 1990a; Lundbaek 1997; Markham 2001]. Während dieser Zeit ist der Gramacidin-Kanal für Ionen mit statistisch leicht schwankender Leitfähigkeit permeabel (Abbildung C-4) [Sawyer 1989; Hille 1992; Mobashery 1997]. Es werden jedoch auch Leitfähigkeitswechsel (in Form von elektrischem Leitungsrauschen, „open channel conductance noise“, und bei Übergängen zwischen „Standardkanal“ und „Minis“ (s.u.)) und kurze Unterbrechungen des Ionenflusses („channel flicker“) während der Lebensdauer eines Dimeren beobachtet [Busath 1988; Sawyer 1989; Heinemann 1990; Mobashery 1997; Armstrong 2002; Miloshevsky 2004].

Durchschnittliche Lebensdauer, Bildungs- und Zerfallskinetik und Wahrscheinlichkeiten verschiedener Leitfähigkeitszustände des Gramacidin-Kanals sind von verschiedenen experimentellen Faktoren abhängig. Dies sind zum Beispiel die Zusammensetzung der Lipiddoppelschicht (Lipidspezies, organische Lösungsmittel, Tenside), das molare Verhältnis Gramacidin zu Lipid, die Spezies und Konzentration der permeierenden Ionen, die Ionenstärke der die Lipiddoppelschicht umgebenden Elektrolytlösung und die Spezies der darin vorhandenen Ionen, die Temperatur und die Membranspannung [Ring 1988, 1988a; Sawyer 1989; Lundbaek 1996, 1997; Girshman 1997; Sandblom 2001; Zhang 1992; Markham 2001; Rokitskaya 1997].

Gramacidin kann in seiner $\beta^{6.5}$ -helikalen Struktur einen Phasenübergang des Lipids von der Bilayerstruktur in die hexagonale H_{II} -Phase hervorrufen. Dieser Prozess wird von verschiedenen Faktoren, wie der Acylkettenlänge, dem verwendeten Lösungsmittel (in dem Gramacidin bei der Probenbereitung gelöst wird) und den molaren Verhältnissen von Gramacidin, Lipid und Wasser beeinflusst [Killian 1985, 1985a, 1988; Tournois 1987; Bouchard 1998]. Im Zusammenhang mit seiner Fähigkeit, in seiner einzelsträngigen $\beta^{6.5}$ -helikalen Struktur Phasenübergänge von lamellaren Lipidphasen in die hexagonale H_{II} -Phase hervorzurufen, steht auch die Eigenschaft von Gramacidin, Defekte in einer Lipiddoppelschicht zu begünstigen, sodass durch diesen Austausch von Wasser und Ionen stattfinden kann [Classen 1987; Tournois 1987; Greathouse 1994].

Die zwischenzeitlich aufgeworfene Frage, ob die Ionenpermeable molekulare Einheit aus vier oder zwei Gramacidin-Monomeren gebildet wird, ist zugunsten der ursprüng-

lichen Vorstellung des durch Dimerisierung gebildeten Ionenkanals beantwortet worden [Hinton 1999].

Es wird diskutiert, ob die doppelhelikale oder die einzelsträngige $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur den „aktiven“, für den transmembranen Kationentransport verantwortlichen Gramacidinkanal beschreibt [Burkhart 1998, 1999; 1999a; Duax 2002; Andersen 1999; Kovacs 1999]. Jedoch gibt es viele Hinweise, dass die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur korrekt ist. Nicht nur mit Hilfe von Circular dichroismus und NMR [Kovacs 1999; Hing 1993], sondern auch mit Hilfe von Kleinwinkel-Röntgenstreuung an Gramacidin in Lipiddoppelschichten von Phosphatidylcholinen (Gel- und flüssigkristalline Phase) [Katsaras 1992] und mit Hilfe von Röntgenstrukturanalyse von Gramacidin-A in Lipiddoppelschichten aus Dilauroyl-Phosphatidylcholin [Olah 1991] scheint die $\beta^{6.5}$ -helikale Struktur für den Ionenkanal bestätigt. Für Lipiddoppelschichten aus verschiedenen einfach und doppelt ungesättigten Diacylphosphatidylcholinen und unabhängig vom verwendeten Lösungsmittel findet man, dass die β -Helix die einzige stabile kationenleitende Struktur ist. Es gibt unter diesen Bedingungen keine Hinweise auf langlebige leitende Doppelhelizes [Girshman 1997; Salom 1998; Sawyer 1990a]. Auch in Leitfähigkeitsexperimenten mit Homo- und Heterodimeren, die aus zwei verschiedenen Gramacidin-Konstitutionsisomeren bestehen, findet man Hinweise auf die β -helikale Struktur des Ionenkanals [Apell 1977; O'Connell 1990; Becker 1991; Sham 2003]. Gibt man die beiden Isomere jeweils auf nur einer Seite der Lipiddoppelschicht in die Elektrolytlösung, findet man in symmetrischen NaCl-Lösungen und bei gleichbleibender Richtung des Membranpotentialanstiegs vier verschiedene Leitfähigkeitsmaxima, die so interpretiert werden können, dass diese die beiden β -helikalen Homodimere und die beiden in ihrer Orientierung bezüglich der Lipiddoppelschichtnormalen entgegengesetzt ausgerichteten β -helikalen Heterodimere anzeigen [Becker 1991].

Dennoch gibt es auch experimentelle Hinweise auf kationenpermeable Doppelhelizes [Wallace 2000]. Bei gramacidindotierten Lipiddoppelschichten aus langkettigen C_{22} -Diacylphosphatidylcholinen findet man mittels bereits oben erwähnter H^+ -Leitfähigkeitsmessungen neben β -Helizes auch doppelhelikale protonenleitende Kanäle [Mobashery 1997; Galbraith 1998].

Andere Messungen in Gegenwart von CsCl zeigen stufenförmige Stromimpulse zeitlich konstanter Stromstärke, deren Höhe und Dauer die Ionenleitfähigkeit und die Lebensdauer eines leitfähigen doppelhelikalen Gramicidin-Dimeren anzeigen. Dieses Signalmuster unterscheidet sich von dem des β -helikalen Gramicidin-Kanals durch eine stark verminderte Ionenleitfähigkeit und eine wesentlich größere Lebensdauer [Wallace 1998; Galbraith 1998].

Zusammenfassend wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass die in Lipiddoppelschichten gebildeten Kanäle im Wesentlichen dimere $\beta^{6.5}$ -Helizes sind [Galbraith 1998; Chiu 1999; Fu R. 2000].

C.4 Transport durch den Gramicidin-A-Kanal

In den 80er Jahren bildet sich die Vorstellung heraus, dass ein durch den Gramicidin-Kanal hindurchtretendes Kation ein zeitlich gemittelt Energieprofil mit lokalisierbaren Energieminima und -Maxima durchläuft.

Daneben stützen molekulardynamische Simulationen die Idee eines Mechanismus, bei dem bis zu vier Carbonylgruppen des Peptidrückgrates in der Nähe des Kations unter dessen Einfluss um ca. 20° bis 40° in das Kanalinnere ausgelenkt werden und so zusammen mit zwei Wassermolekülen eine Solvatationssphäre für das Kation darstellen. Diese lokale Deformation des Kanals folgt der Position des permeierenden Kations. Bei diesem Mechanismus existieren daher keine zeitlich und örtlich festen Energieminima und -maxima für das Kation.

Andere molekulardynamische Simulationen aus den 80er und 90er Jahren legen einen Transportmechanismus nahe, bei dem das Kation nicht zentrisch auf der Kanalachse durch die Pore foranschreitet, sondern etwas von der Kanalachse entfernt der helikalen Anordnung der Carbonylsauerstoffatome des Peptidrückgrates folgt. Dabei ist das Kation im inneren Bereich des Gramicidin-Kanals in seiner primären Solvatationssphäre von maximal zwei Carbonylsauerstoffatomen umgeben [North 1995; Tian 1996].

NMR-Messungen ergeben, dass der Gramicidin-A-Kanal ein lokal flexibler und dynamischer, in seiner zeitgemittelten Struktur jedoch schwer deformierbarer Ionenkanal ist. Dabei ist der Effekt von Alkalikationen auf die zeitlich gemittelte Konformation und Dynamik des Peptidrückgrates und damit auch der Carbonylgruppen nur klein. So liegen

die durch ein Kation verursachten Auslenkungen der ihm benachbarten Carbonylgruppen in der Größenordnung von nur wenigen Graden anstatt der oben erwähnten 20° bis 40°. Dieser Befund in Verbindung mit gemessenen Kation-Sauerstoff Abständen in Carboxylat-Modellverbindungen unterstützt die Vorstellung, dass insbesondere die kleineren Kationen wie Li^+ und Na^+ einer um die Kanalachse verlaufenden helikalen Trajektorie folgen [Tian 1996, 1999; Bechinger 1999; Roux 2002]. NMR-Untersuchungen an Gramicidin-A in hydratisierten Lipiddoppelschichten aus Dimyristoylphosphatidylcholin ergeben in Verbindung mit strukturellen Betrachtungen ein präzises Bild der Kationenbindung und des Durchtritts eines Kations durch den Ionenkanal [Tian 1999]. Die beiden im Ionenkanal für eine gegebene Ionensorte spiegelsymmetrisch zur Kanalmitte nahe den Poreneingängen liegenden Kationenbindungsbereiche sind durch Energieminima bei den $\text{Leu}_{10}\text{-Trp}_{11}$ -, $\text{Leu}_{12}\text{-Trp}_{13}$ - und $\text{Leu}_{14}\text{-Trp}_{15}$ -Carbonylsauerstoffatomen gegeben [Olah 1991; Tian 1999; Hinton 1996; Jing 1995; Roux 1995; Allen 2004]. Diese Carbonylsauerstoffatome befinden sich alle in der letzten Helixwindung nahe dem Poreneingang in einem Abstand von 0,97 nm, 1,10 nm und 1,27 nm von der Kanalmitte und zeigen mit einer kleinen Neigung zur Helixachse in Richtung der Grenzschicht zwischen Lipiddoppelschicht und wässriger Phase. In der Reihe der Kationen Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ wandert deren maximale Aufenthaltswahrscheinlichkeit vom Carbonylsauerstoffatom der $\text{Leu}_{10}\text{-Trp}_{11}$ Peptidbindung für Li^+ und Na^+ , über $\text{Leu}_{12}\text{-Trp}_{13}$ für K^+ nach $\text{Leu}_{14}\text{-Trp}_{15}$ für Cs^+ in Richtung Poreneingang. Die experimentell bestimmten Kationenbindungsplätze sind daher gemittelte Positionen erhöhter Aufenthaltswahrscheinlichkeiten im Gramicidin-Kanal. Mit Hilfe experimenteller Kationen-Bindungskonstanten ergibt sich für die in diesen Experimenten verwendeten 2,4 molalen Alkalichloridlösungen, dass der Gramicidin-A-Kanal durch Li^+ einfach und durch die anderen Kationen zu über 80% doppelt besetzt ist [Tian 1999; Hinton 1996; Jing 1995]. Die Vorstellung, dass sich der Kationenbindungsplatz über mehrere benachbarte Energieminima erstreckt, wird durch verschiedene molekulardynamische Simulationen qualitativ bestätigt: So werden für das K^+ -Ion im einfach besetzten Gramicidin-A-Kanal an jedem Kanalende zwei Minima unterschiedlicher Energie in einem Abstand von 1,13 nm und 0,97 nm von der Kanalmitte ermittelt [Allen 2004]. Der durch die Delokalisation vergrößerte Bereich erhöhter Aufenthaltswahrscheinlichkeit vermindert die Abnahme der Entropie bei der Bindung eines Kations aus der Bulkphase. Im Bindungsbereich am Kanalende ist das Kation in seiner primären Solvatationssphäre von drei bis fünf beweglichen Wassermolekülen und ein bis zwei Carbonylsauerstoffatomen umgeben, während es bei weiterer Permeation in den Single-File Bereich hinein schließlich nur noch von zwei axialen Wassermolekülen und zwei

Carbonylsauerstoffatomen solvatisiert ist. Dieser Mechanismus der schrittweisen Entfernung von Wassermolekülen aus der primären Hydratationssphäre und deren Substitution durch Carbonylsauerstoffatome in Verbindung mit dem geringen Einfluss eines Alkalis auf Struktur und Dynamik des Gramicidin-A-Kanals verhindert das Entstehen hoher, in einem Schritt aufzubringender Aktivierungsenergien. Dies bedeutet erhöhte Geschwindigkeitskonstanten für die Assoziation und Dissoziation eines Kations [Tian 1999].

	$K_{b, \text{strong}} / (\text{mol kg}^{-1})$		$K_{b, \text{weak}} / (\text{mol kg}^{-1})$
	Urry	Hinton	
Li^+ ¹⁾	14	32,2	0,77
Na^+ ¹⁾	40	36,9	4
K^+ ¹⁾	60	52,6	3
Rb^+ ²⁾	80	55,9 ³⁾	2,5
Cs^+ ¹⁾	80	54	4
Tl^+ ²⁾	1000	900 / 506	30

Tabelle C-3

Experimentell bestimmte Bindungskonstanten von Alkali- und Thalliumkationen an Gramicidin-A Ionenkanälen in mol kg^{-1} (Molalität).

Die „starke“ Bindungskonstante $K_{b, \text{strong}}$ gilt für den einfach besetzten, die „schwache“ Bindungskonstante $K_{b, \text{weak}}$ für den doppelt besetzten Ionenkanal.

¹⁾ [Tian 1999], ²⁾ [Jing 1995], ³⁾ [Hinton 1986]

In Übereinstimmung mit diesem Mechanismus schließen Andersen et al. aus der Analyse von Strommessungen an Gramicidin-A enthaltenden Lipiddoppelschichten in Gegenwart von Ammonium- und Alkalimetallionen bei hohen Membranspannungen, dass die partielle Dehydratation des in den Kanal eintretenden Ions und dessen Solvatation durch

Carbonylgruppen des Gramicidinmoleküls ein schneller Prozess und für die Permeation eines Ions durch den Ionenkanal nicht geschwindigkeitsbestimmend ist [Andersen 1996]. Die nur geringe Änderung von Konformation und Dynamik des Peptidrückgrates durch Alkalikationen verhindert große Bindungsenergien und damit große Bindungskonstanten zwischen Ion und Polypeptid. Gleichzeitig können die Wassermoleküle in der primären Solvatationssphäre des Kations auf dem Bindungsplatz ihre optimale Konfiguration einnehmen. Die gute Hydratation macht wiederum nur kleine Anpassungen der Peptidrückgratkonformation notwendig und bedeutet eine im Vergleich zu Verbindungen mit wenig flexiblen Liganden reduzierte Bindungsselektivität hinsichtlich des Ionenradius.

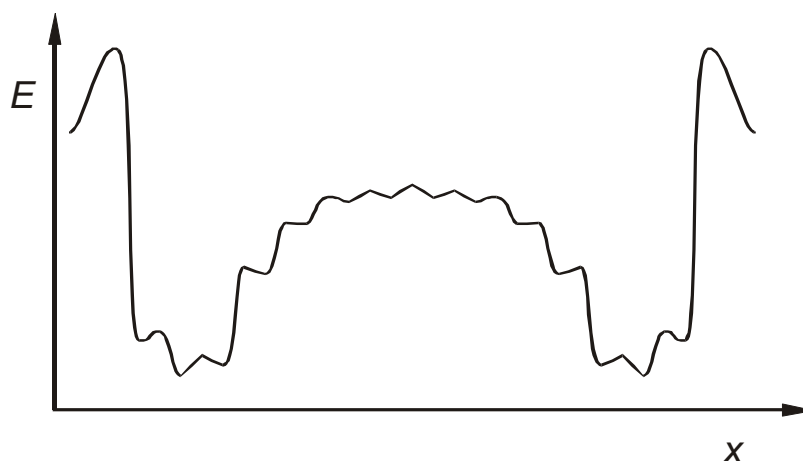


Abbildung C-5

Schematisch dargestelltes Energieprofil eines durch den Gramicidin-Kanal hindurchtretenden Alkaliions [Hille 1992; Tian 1999; Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urry 1986a; Thompson 2001; Allen 2004].

Das hat kleinere Aktivierungsenergien für die Dissoziation eines Kations zur Folge. Durch die beschriebenen Verhältnisse lässt sich die relativ zu komplexbildenden Verbindungen geringe Bindungsselektivität innerhalb der Gruppe der Alkalikationen verständlich machen [Tian 1996, 1999]. Als Beispiel sind in Tabelle C-3 für einige Ionen die Bindungskonstanten für den einfach und den doppelt besetzten Gramicidin-A-Kanal angegeben. Die Unterschiede in der Bindungsstärke der permeablen Kationen kann unter

anderem dadurch verursacht sein, dass die Abstände großer Kationen zu benachbarten Carbonylsauerstoffatomen im Mittel geringer sind als die der kleinen Kationen [Tian 1996]. In Abbildung C-5 ist das Energieprofil, das ein einzelnes Kation auf dem Weg durch den Gramacidin-Kanal zu durchlaufen hat, schematisch dargestellt. Die von F. Tian und T. A. Cross bestimmten drei Bereiche erhöhter Aufenthaltswahrscheinlichkeit an jedem Kanalende sind durch drei kleine Minima unterschiedlicher Energie skizziert.

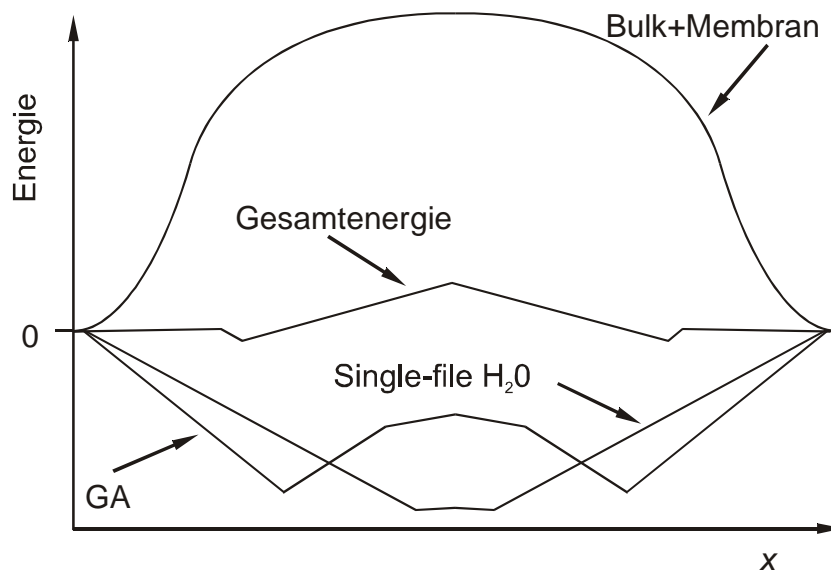


Abbildung C-6

Einzelbeiträge zur Gesamtwechselwirkungsenergie von K^+ im Gramacidin-A-Kanal (Skizze): wässrige KCl-Lösungen (Bulk) plus Lipiddoppelschicht, Gramacidin-A-Kanal (GA) und Wassermoleküle in der Pore (Single-File H_2O).

Aus molekulardynamischen Berechnungen [Allen 2004].

Das hohe Energiemaximum, das bei der Diffusion eines Kations durch eine Lipiddoppelschicht auftritt (Abbildung B-2), wird im Gramacidin-Kanal durch stabilisierende Wechselwirkungen des Kations vor allem mit den Carbonyl-Kohlenstoffatomen des Peptidrückgrates, den Dipolen der Tryptophanseitenketten und den Dipolmomenten der im Kanal befindlichen Wassermoleküle wesentlich reduziert [Jordan 1984; Hille 1992; Martinez 1993; Roux 1995; Allen 2004; Dorman 2004]. Molekulardynamische Berechnungen zeigen bei einer Analyse der Gesamtwechselwirkungsenergie eines Kaliumions hinsichtlich

der Beiträge der beiden wässrigen Kaliumchloridlösungen (Bulk) plus Lipiddoppelschicht (aus Dimyristoylphosphatidylcholin), des Gramicidin-A-Kanals (GA) und der Wassermoleküle in der Pore (Single-File H_2O) eine weitgehende Kompensation der hohen Energiebarriere, die aus der Wechselwirkung des Kations mit der Bulklösung und der Membran resultiert (Abbildung B-2), durch zwei energetische Beiträge: Die Stabilisierung des Kations erfolgt durch die Wechselwirkung mit dem Polypeptid und durch das in Single-File Anordnung vorliegende Porenwasser. In Abbildung C-6 sind die wesentlichen Energiebeiträge qualitativ dargestellt [Allen 2004]. Wegen der energetisch günstigen Wechselwirkungen können kleine einfach geladene Kationen mit einer hohen Durchtrittsrate, in der Größenordnung von 10^8 Ionen pro Sekunde (10 pA; entsprechend einer elektrischen Leitfähigkeit in der Größenordnung von 80-100 pS), durch den Gramicidin-Kanal diffundieren [Urban 1980; Finkelstein 1981; Eisenman 1983; Hladky 1984; Läuger 1985]. Der Einfluss des Oberflächen-Dipolpotentials einer Lipiddoppelschicht auf das Kation ist durch das Protein wesentlich reduziert. Dennoch findet man bei Membranen aus verschiedenen Lipiden zum Teil deutliche Unterschiede in den Bindungskonstanten und der Permeationskinetik eines Kations, die sich vermutlich zu einem großen Teil auf die unterschiedlichen Oberflächen-Dipolpotentiale zurückführen lassen [Jordan 1983; Kohler 1983; Busath 1998; Thompson 2001; Duffin 2003]. In Abhängigkeit von der theoretischen Beschreibung der Permeation eines Kations durch den Gramicidin-A-Kanal erhält man für die relative Höhe des Energiemaximums zwischen den Bindungsplatzbereichen an den Porenden verschiedene Resultate. Molekulardynamische Simulationen liefern im Allgemeinen zu hohe innere Energiebarrieren für den Ionendurchtritt und daher zu kleine Leitfähigkeiten [Chung 2002; Allen 2004]. Mit Hilfe eines speziellen molekulardynamischen Ansatzes gelingt es in den in Abbildung C-6 dargestellten Berechnungen, den experimentellen Ergebnissen nahezukommen [Allen 2004]. Verwendet man ein Porenmodell mit zwei Bindungsplätzen und drei Energiebarrieren, erhält man durch Parameteranpassung an experimentelle Ergebnisse meist eine niedrige Aktivierungsenergie, sodass der Platzwechsel innerhalb des Kanals im Allgemeinen viel schneller ist, als der Teilchenaussprung aus dem einfach besetzten Kanal (Abbildung C-5) [Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urry 1986a; Thompson 2001].

Zweifach und höher geladene Kationen, wie z.B. das in seinem Kristallradius mit dem K^+ -Ion vergleichbare Ba^{2+} , binden reversibel an die Öffnungen des Gramicidin-Kanals, sind jedoch nicht in der Lage, durch diesen hindurchzutreten. Vielmehr blockieren sie die Pore für einwertige Kationen. Diese Undurchlässigkeit des Gramicidin-Kanals für höher geladene Kationen beruht auf der großen Dehydratationsenergie und der hohen elektro-

statischen Energiebarriere im Inneren der Pore, die nicht ausreichend durch die Wechselwirkung mit den Carbonylsauerstoffatomen der Peptidkette und mit den Dipolmomenten der Tryptophanseitenketten des Gramacidin kompensiert werden [Tian 1999; Hladky 1984; Adam 2003; Hille 1992].

Experimentell findet man, dass der Gramacidin-Kanal für Anionen nicht permeabel ist und auch nicht durch Anionen blockiert werden kann. Zudem zeigen NMR-Experimente, dass die Spezies eines Anions keinen Einfluss auf das NMR-Spektrum von Gramacidin hat. Die Anionensorte scheint daher keinen Einfluss auf die Wechselwirkung eines Kations mit dem Gramacidin-Kanal zu haben. Ob Anionen innerhalb des Kanals energetisch günstige Wechselwirkungen erfahren, wird diskutiert. Jedoch zeigen NMR-Strukturuntersuchungen, dass im gesamten Gramacidin-Kanal die Carbonyl-Sauerstoffatome in geringem Ausmaß in Richtung der Helixachse ins Innere des Kanals orientiert sind, was bedingt, dass die Wasserstoffatome der Amidgruppen etwas nach außen gerichtet sind. Diese Konfiguration erleichtert die Solvatisierung von Kationen und erschwert die Solvatisierung von Anionen innerhalb des Gramacidin-Kanals [Ketchum 1997; Tian 1999; Roux 2002; Dorman 2004].

Die Ionenleitfähigkeit des Gramacidin-Kanals bzw. das Energieprofil, das ein permeierendes Ion innerhalb des Gramacidin-Kanals erfährt, wird im Wesentlichen von der Konformation der Peptidkette und von den Konformationen der Tryptophanseitenketten mit ihren Dipolmomenten bestimmt [Tian 1999; Dorigo 1999].

Fluktuationen des Peptidrückgrates und der Tryptophanseitenketten liegen zeitlich in der Größenordnung von ca. 10 ns, d.h. in der Zeitskala der Translationsbewegungen eines Kations zwischen zwei benachbarten, durch eine Dipeptideinheit getrennten Energie minima. Das bedeutet, ein Ion erfährt eine fluktuierende Struktur und ein fluktuierendes Wechselwirkungspotential. Es existiert vermutlich eine direkte Korrelation zwischen der Dynamik des Peptidrückgrates und der wegen des Single-File-Transportmechanismus hoch korrelierten Bewegungen der permeierenden Ionen und Wassermoleküle durch die Pore. Solche Fluktuationen und Korrelationen könnten helfen, die hohe Leitfähigkeit und guten Transporteigenschaften des Gramacidin-Kanals zu erklären [North 1995; Bechinger 1999; Hu 1995; Fischer 1981]. Die Interpretation von NMR-Untersuchungen an Gramacidin-A in hydratisierten Phospholipiddoppelschichten läßt die Möglichkeit zweier Konformationen der Carbonylgruppe von Val₁, die an einer der sechs intermolekularen Wasserstoffbrücken zwischen den $\beta^{6,5}$ -helikalen Gramacidin-Monomeren beteiligt ist, zu. Der schnelle Wechsel zwischen diesen beiden Orientierungen könnte eine Ursache für die beobachteten „channel flicker“ und das elektische Leitungsruschen des offenen

Gramicidin-Kanals („open channel conductance noise“) sein¹ [North 1995; Fu R. 2000]. Weiterhin findet man in molekulardynamischen Simulationen, dass die Seitenkette des Tryptophan-Moleküls an Position 9, die in NMR-Untersuchungen in zwei unterschiedlichen Konfigurationen gefunden wird, zwischen diesen beiden Orientierungen wechselt [Allen 2003].

Im Folgenden sei die Bedeutung der Tryptophanseitenketten für den Ionentransport eingehender betrachtet:

Die Tryptophanseitenketten sind mit ihren N-H-Gruppen in Richtung der benachbarten Grenzfläche zwischen Lipiddoppelschicht und wässriger Phase ausgerichtet und bilden mit Wassermolekülen und Lipidkopfgruppen Wasserstoffbrückenbindungen [Andersen 1998; Hu 1993, 1995; Providence 1995; Ketchum 1997; Salom 1998; Chiu 1999; Markham 2001]. Kationen in der Mitte des Gramicidin-A-Kanals und an ihren Bindungsplätzen nahe den Kanalenden werden durch elektrostatische Wechselwirkungen mit den elektrischen Dipolmomenten der Indolgruppen stabilisiert [Martinez 1993; Dorigo 1999; Hu 1995; Providence 1995; Thompson 2001; Markham 2001; Duffin 2003]. Thermische Bewegungen der Tryptophanseitenketten in der Zeitskala der Translationsbewegungen eines Kations innerhalb des Kanals haben ein fluktuierendes Wechselwirkungspotential im Bereich der Bindungsplätze zur Folge. Die kurzfristige Anhebung der Energiminima könnte die Bewegung des Kations aus dem Minimum des Bindungsplatzes heraus erleichtern, was zu einer erleichterten Passage des Ions durch den Gramicidin-Kanal und damit zu einer erhöhten Ionenleitfähigkeit beitragen würde [Hu 1995]. Für Na⁺ findet man mit Hilfe von ¹⁵N- und ¹³C-NMR Messungen, dass das Ion einen nur sehr geringen Einfluss auf die mittlere Orientierung der Tryptophan-Indolringe ausübt [Hu 1995; Tian 1999]. Substitutionsexperimente, in denen eine oder mehr Tryptophanseitenketten in Gramicidin-A durch andere Seitenketten ersetzt werden, zeigen die große Bedeutung der amphiphilen dipolaren Indolringe für Struktur und Transporteigenschaften des Gramicidin-Kanals. Substitution durch das weitgehend apolare und hydrophobe Phenylalanin erniedrigt die Leitfähigkeit in Diacylphosphatidylcholin-Doppelschicht-Membranen [Becker 1991; Thompson 2001; Townsley 2001]. Ersetzt man dagegen Tryptophan durch 5-Fluoro-Tryptophan, das im Vergleich zu Tryptophan ein betragsmäßig größeres Dipol-

¹ Als Ursache für die „channel flicker“ und das „open channel conductance noise“ werden auch andere Ursachen, wie Fluktuationen der Membranoberfläche nahe der Kanalöffnung und Bewegungen der β -helikalen Monomere relativ zueinander diskutiert [Heinemann 1990; Armstrong 2002; Miloshevsky 2004]. Möglicherweise könnten auch Fluktuationen der Single-File Wasserdipole im Kanal eine Ursache sein [Heinemann 1990; Allen 2004; Roux 1995; Pomes 2002; Chiu 1999, 1999a].

moment mit fast identischer Orientierung aufweist, so findet man in Diacylphosphatidylcholin-Doppelschicht-Membranen eine erhöhte Alkaliionenleitfähigkeit [Andersen 1998; Busath 1998; Thompson 2001; Townsley 2001], während in Glycerylmonooleat(GMO)-Membranen die Leitfähigkeit erniedrigt ist [Busath 1998; Thompson 2001]. Diese Beobachtungen können mit Hilfe der unterschiedlichen Oberflächen-Dipolpotentiale der Membranen aus Phosphatidylcholinen und Glycerylmonooleat erklärt werden [Thompson 2001; Duffin 2003]. Einfache oder mehrfache Tryptophansubstitution durch zum Beispiel Phenylalanin oder 5-Fluoro-Tryptophan verändert in schwer zu durchschauender Weise die Lebensdauer des durch Dimerisierung hervorgegangenen $\beta^{6.5}$ -helikalen Ionenkanals [Becker 1991; Andersen 1998]. Die Substitution von Trp₁₅ durch Gly₁₅ hat auf die Struktur des Gramicidin-Kanals in einer SDS-Mizelle nur wenig Einfluss, verändert jedoch die Orientierung von Trp₁₁. Für Gly₁₅-Gramicidin in Lipiddoppelschichten findet man, dass die Bindungskonstanten von Na⁺- und K⁺-Ionen sinken, die Leitfähigkeit für Na⁺-, K⁺- und Cs⁺-Ionen abnimmt und die Lebensdauer des Gramicidin-Kanals sich verringert [Hinton 1999; Sham 2003].

Weil in experimentellen Untersuchungen anstatt Gramicidin-A häufig Gramicidin-D, die natürliche Mischung der Gramicidine A, B und C, verwendet wird, ist ein Vergleich der Eigenschaften der drei Isomere von Interesse. Weil Gramicidin-B und -C aus der Hauptkomponente Gramicidin-A durch Substitution der Aminosäure Tryptophan an der Position 11 der Peptidkette durch Phenylalanin bzw. Tyrosin hervorgehen, spiegeln die Unterschiede in ihren Eigenschaften den Einfluß der Aminosäuresubstitution wieder. Gramicidin-A, -B und -C unterscheiden sich in ihren Kationenbindungskonstanten und den Aktivierungsenergien für den Ionentransport und damit in ihrer Ionenleitfähigkeit [Hinton 1988, 1988a]. Jedoch weisen alle drei Isomere in SDS-Mizellen fast identische Peptidrückgratkonformationen der $\beta^{6.5}$ -helikalen Struktur auf, die sich nur wenig von der in Lipiddoppelschichten unterscheiden. Damit ist eine unterschiedliche Peptidrückgratkonformation als Hauptursache für die voneinander abweichenden Eigenschaften auszuschließen. Hierfür sind vielmehr Größe und Orientierung des elektrischen Dipolmoments des Aminosäurerestes in Position 11 verantwortlich [Townsley 2001; Sawyer 1990; Hinton 1999]. Die Unterschiede in den Dipolmomenten von Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin finden ihre Parallele in der deutlich erniedrigten Leitfähigkeit von Gramicidin-B und der etwas niedrigeren Leitfähigkeit von Gramicidin-C im Vergleich zu Gramicidin-A. Dies kann dahingehend interpretiert werden, dass durch das Dipolmoment der Aminosäure die Aktivierungsenergie für den Ionendurchtritt erniedrigt wird [Becker 1991; Townsley 2001].

Insgesamt bestätigen die verschiedenen Substitutionsexperimente die Bedeutung der Tryptophanseitenketten für Struktur und Transporteigenschaften des Gramicidin-Kanals [Ketchem 1997; Hinton 1999].

Die hohe Protonenleitfähigkeit des Gramicidin-A-Kanals und das Fehlen eines Strömungspotentials bei Protonendurchtritt sind ein Hinweis dafür, dass hier nicht wie bei anderen Kationen ein Transport hydratisierter Protonen in Form von diskreten H_3O^+ -Ionen bzw. $\text{H}_{2n+1}\text{O}_n^+$ -Clustern vorliegt, sondern dass, ähnlich dem Grotthus-Mechanismus im Wasser, die Protonen über eine zusammenhängende Kette von Wassermolekülen durch den Ionenkanal transportiert werden. Dabei werden verschiedene Mechanismen diskutiert [Hille 1992; Pomes 2002; Rokitskaya 2002]. Der (Tracer-) Permeabilitätskoeffizient von Wasser durch einen einzelnen Gramicidin-Kanal liegt in der Größenordnung von $2 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$. Das Verhältnis von osmotischem Permeabilitätskoeffizienten zum Tracer-Permeabilitätskoeffizienten von Wasser ist größer als eins, was einem Flussverhältnisexponenten größer eins entspricht und auf einen Single-File-Diffusionsmechanismus des Wassers hinweist. Setzt man eine Single-File Anordnung der Wassermoleküle voraus, entspricht das Permeabilitätsverhältnis einer Anzahl von fünf bis sechs Wassermolekülen im Kanal [Finkelstein 1981]. Diese Ergebnisse sind in qualitativer Übereinstimmung mit Geometrie und Struktur des Gramicidin-Kanals. Simulationen des wassergefüllten Gramicidin-Kanals liefern im Innern des Kanals eine Reihe von acht bis neun Wassermolekülen, die einen Porendurchtritt von Protonen über den Grotthusmechanismus ermöglichen [Chiu 1999, 1999a; Pomes 2002]. Stömungspotentialmessungen und elektroosmotische Experimente ergeben, dass mit jedem durch den Gramidin-Kanal diffundierenden Na^+ , K^+ oder Cs^+ -Ion unabhängig von der Kationenspezies fünf bis neun Wassermoleküle transportiert werden [Pohl 2000; Tripathi 1998; Hladky 1984]. Die experimentellen Ergebnisse der Arbeitsgruppen unterscheiden sich teilweise deutlich. Eine Ursache liegt möglicherweise in den unterschiedlichen Eigenschaften der verwandten Lipide [Chiu 1999a]. Mit Hilfe molekulardynamischer Simulationen findet man, dass im Falle eines durch ein Kation einfach besetzten Gramicidin-Kanals sieben Wassermoleküle Platz finden, während sich bei Doppelbesetzung sechs Wassermoleküle zwischen den Kationen befinden [Allen 2004; Roux 1995; 2002]. Dabei nimmt ein Kation den Platz eines Wassermoleküls ein [Ketchem 1997].

Wassermoleküle und Kationen bewegen sich wegen der Single-File Eigenschaften des Gramicidin-Kanals in korrelierter Weise durch diesen hindurch. Diese Bewegungen sind mit Bewegungen des Peptidrückgrates korreliert, vor allem mit Auslenkungen der Carbonylgruppen in das Kanalinnere. Jedoch ändert sich trotz der Flexibilität des Peptid-

rückgrates dessen zeitlich gemittelte Struktur und Dynamik durch die Anwesenheit von Alkalikationen nur wenig [Bechinger 1999; Tian 1996; North 1995].

Molekulardynamische Simulationen zeigen interessante Eigenschaften des Wassers im Gramicidin-Kanal auf:

Die Wassermoleküle nehmen zwei bevorzugte Anordnungen ein, in denen sich ihre Dipolmomente jeweils parallel oder antiparallel zur Kanalachse zu einem Gesamtdipolmoment von ca. 15 Debye aufaddieren. Die beiden Orientierungen gehen ineinander über, wobei für die Umorientierung der Dipolkette eine Aktivierungsenergie von 8 - 12 kJ aufzubringen ist [Allen 2004; Pomes 2002]. Damit ein Kation in die Pore eintreten kann, müssen die Wasserdipolmomente so ausgerichtet sein, dass sie das Kation nicht elektrostatisch abstoßen. Parallel zur Bewegung des Kations in den Gramicidin-Kanal hinein passen sich die Wassermoleküle in ihrer Orientierung an die jeweilige Situation an, so dass ihr Gesamtdipolmoment betragsmäßig abnimmt. Befindet sich das Ion in der Kanalmitte, sind die Dipolmomente der Wassermoleküle in beiden Kanalhälften jeweils in Richtung des Kations entgegengesetzt orientiert, sodass ihr Gesamtdipolmoment gleich null ist. Diffundiert das Ion weiter zur gegenüberliegenden Kanalöffnung, wächst das Gesamtdipolmoment des Porenwassers in seinem Betrag wieder an, ist nun jedoch entgegengesetzt ausgerichtet. Diese Ergebnisse legen nahe, dass zwischen den Bewegungen eines Kations, das in die einfach besetzte Pore eintritt, und denen des bereits in der Pore befindlichen Kations eine Fernkopplung besteht, die durch die zwischen den Ionen befindlichen Wasserdipole und durch die interionische elektrostatische Wechselwirkung vermittelt wird. Eine Membranspannung hat einen großen Einfluß auf die räumliche Ausrichtung der Wasserdipole, was erhebliche Änderungen der Ionenleitfähigkeit des Kanals hervorrufen kann [Allen 2004].

Sowohl die Leitfähigkeit des Gramicidin-Kanals als auch die an ihm bestimmten Flussverhältnisexponenten von Alkalikationen sind vom verwendeten Membranlipid abhängig [Busath 1998; Läuger 1985; Kohler 1983; Duffin 2003]. Trägt man die an einem Gramicidin-Kanal während eines Zeitintervalls beobachteten Ionenleitfähigkeiten entsprechend ihrer Häufigkeit in einem Histogramm auf, so bildet die Mehrzahl der Ereignisse im Allgemeinen eine enge, der Gaußfunktion ähnliche Leitfähigkeitsverteilung. Daneben findet man stark reduzierte, zu einem geringeren Anteil auch erhöhte Leitfähigkeiten, die außerhalb dieser Verteilung liegen. Die Lebensdauer dieser Zustände liegt in der Größenordnung der „Standardkanäle“. Die für diese Ereignisse verantwortlichen sogenannten „minis“ sind jedoch keine Isomere hinsichtlich Primär- oder Sekundärstruktur des $\beta^{6.5}$ -helikalen Gramicidin-Kanals, sondern vermutlich Konformere. In diesen Zuständen

besitzt die Gramicidin-Pore asymmetrische Eigenschaften, wie richtungsabhängige Leitfähigkeiten (Rektifikation) und Nullstrompotentiale oder positionsabhängige Kationen-Bindungskonstanten [Busath 1988; Sawyer 1989]. Die Verteilung der Leitfähigkeitszustände wird von verschiedenen experimentellen Parametern beeinflusst. Dies sind zum Beispiel die Lipidspezies, das Lösungsmittel der Gramidin-Lösung, die Gegenwart von Tensiden oder die Temperatur [Sawyer 1989; Markham 2001; Läger 1985].

D Der Flussverhältnisexponent

Der kationenselektive, ca. 2,5 nm lange Gramicidin-Kanal ist mit seinem Innendurchmesser von ca. 0,4 nm so eng, dass Kationen und auch Wassermoleküle (Durchmesser von ca. 0,28 nm) nur in einer Reihe durch diesen hindurch diffundieren können, sozusagen im „Gänsemarsch“. Dieser Diffusionsmechanismus wird als Single-File-Diffusion bezeichnet. Die durch die Geometrie des Ionenkanals aufgezwungene Kopplung der Teilchenbewegungen kann durch das Verhältnis der gerichteten Flüsse \vec{j}_i und \overleftarrow{j}_i (von „links nach rechts“ und umgekehrt¹) der durch den Kanal hindurch diffundierenden Spezies i charakterisiert werden [Hodgkin 1955; Hille 1992]. Man beachte, dass die gerichteten Flüsse hier als skalare, nicht-negative Größen definiert sind. In dem Maße, in dem die Kopplung des Teilchentransportes durch den Gramicidin-Kanal und damit die Wechselwirkung zwischen den unidirektionalen Flüssen zunimmt, weicht der Quotient $\vec{j}_i/\overleftarrow{j}_i$ von seinem Wert bei freier, d.h. unabhängiger Diffusion ab. Der Nettofluss j_i ergibt sich gemäß Gleichung (D-1) aus der Differenz der unidirektionalen Flüsse.

$$(D-1) \quad j_i = \vec{j}_i - \overleftarrow{j}_i$$

Im thermodynamischen Gleichgewicht sind alle Nettoflüsse und damit auch j_i gleich Null. H. H. Ussing zeigt für die freie Diffusion durch eine Membran, dass der Quotient der unidirektionalen Flüsse \vec{j}_i und \overleftarrow{j}_i einer Ionensorte i bei konstantem Druck gegeben ist durch [Hodgkin 1955; Hille 1992]²

$$(D-2) \quad \frac{\vec{j}_i}{\overleftarrow{j}_i} = e^{\frac{z_i F(\phi_M - E_i)}{RT}} = \frac{a_i^{(l)}}{a_i^{(r)}} e^{\frac{z_i F\phi_M}{RT}}$$

Dabei ist z_i die Wertigkeit des Ions. E_i ist das der Nernst-Gleichung entsprechende Gleichgewichtspotential, das dem Verhältnis $a_i^{(r)}/a_i^{(l)}$ der Ionenaktivitäten in den Lösungen links und rechts der Membran entspricht:

¹ Die Pfeile bezeichnen hier keine dreidimensionalen Vektoren, sondern beziehen sich auf die Richtung der Kanalachse.

² Es werden hier immer stationäre Flüsse betrachtet.

$$(D-3) \quad E_i = \frac{RT}{z_i F} \ln \left(\frac{a_i^{(r)}}{a_i^{(l)}} \right)$$

F , R und T sind die Faradaykonstante, die Gaskonstante und die Temperatur. Φ_M ist das Membranpotential, das durch die Differenz $\varphi^{(l)} - \varphi^{(r)}$ der elektrischen Potentiale $\varphi^{(l)}$ und $\varphi^{(r)}$ der Bulklösungen links und rechts der Membran gegeben ist.

Um im Falle einer einzigen durchtrittsfähigen Spezies i gekoppelte Membranflüsse beschreiben zu können, führen A. L. Hodgkin und R. D. Keynes im Exponenten von Gleichung (D-2) einen zusätzlichen Faktor ein, den so genannten Flussverhältnisexponenten n_i [Hodgkin 1955]:

$$(D-4) \quad \frac{\bar{j}_i}{\underline{j}_i} = e^{n_i \frac{z_i F (\Phi_M - E_i)}{RT}} = \left(\frac{a_i^{(l)}}{a_i^{(r)}} \right)^{n_i} e^{n_i \frac{z_i F \Phi_M}{RT}}$$

Mit Hilfe der Differenz $\Delta\eta_i = \eta_i^{(r)} - \eta_i^{(l)} = RT \ln(a_i^{(r)} / a_i^{(l)}) + z_i F (\varphi^{(r)} - \varphi^{(l)})$ der elektrochemischen Potentiale der Ionenspezies i in den Elektrolytphasen links und rechts der Membran kann man Gleichung (D-4) formal vereinfachen zu:

$$(D-5) \quad \frac{\bar{j}_i}{\underline{j}_i} = e^{-n_i \frac{\Delta\eta_i}{RT}}$$

In der hier vorliegenden Arbeit wird die Definition des Flussverhältnisexponenten gemäß Gleichung (D-4) bzw. (D-5) für den Fall verschwindender Differenz $\Delta\eta_i$ des elektrochemischen Potentials der Ionenspezies i angewandt, sodass man aus Gleichung (D-5) für den Flussverhältnisexponenten n_i erhält [Kohler 1979]

$$(D-6) \quad n_i = -RT \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{\ln(\bar{j}_i / \underline{j}_i)}{\Delta\eta_i}$$

Weil im Grenzfall des thermodynamischen Gleichgewichts mit $\Delta\eta_i = 0$ das Verhältnis der unidirektionalen Flüsse $\bar{j}_i / \underline{j}_i$ den Wert 1 einnimmt, liefert die rechte Seite von Gleichung (D-6) in der Grenze den unbestimmten Ausdruck 0/0. Beziehung (D-6) ergibt mit Gleichung (D-1)

$$(D-7) \quad n_i = RT \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{\ln\left(1 - \frac{j_i}{\vec{j}_i}\right)}{\Delta\eta_i}$$

Nahe dem thermodynamischen Gleichgewicht gilt $j_i/\vec{j}_i \ll 1$. Mit der Näherung $\ln(1-x) \approx -x$ für $|x| \ll 1$ kann man daher schreiben

$$(D-8) \quad n_i = -RT \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{j_i}{\vec{j}_i \Delta\eta_i} = -RT \frac{1}{\lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \vec{j}_i} \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{j_i}{\Delta\eta_i}$$

Im Rahmen der linearen irreversiblen Thermodynamik gilt für den Nettofluss j_i

$$(D-9) \quad j_i = L_{ij} X_i = L_{ij} \frac{-\Delta\eta_i}{T}$$

Die Größe $X_i = -\Delta\eta_i/T$ ist eine verallgemeinerte thermodynamische Kraft. Der Proportionalitätsfaktor L_{ij} wird als phänomenologischer Koeffizient bezeichnet und ist unabhängig von X_i . Mit den Beziehungen (D-8), (D-9) und

$$(D-10) \quad \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \vec{j}_i = \vec{j}_i|_{\text{GG}}$$

wobei GG für thermodynamisches Gleichgewicht steht, folgt für den Flussverhältnis-exponenten

$$(D-11) \quad n_i = R \frac{L_{ij}}{\vec{j}_i|_{\text{GG}}}$$

Bei gegebener Temperatur kann der letzte Term der Gleichung (D-9) als eine Taylorreihenentwicklung des Nettoflusses j_i um den thermodynamischen Gleichgewichtszustand in der Variablen $\Delta\eta_i$ bis zum linearen Glied interpretiert werden. Die Berechnung des Flussverhältnisexponenten gemäß Gleichung (D-8) führt zu einer Division von j_i durch $\Delta\eta_i$, sodass der Quotient $j_i/\Delta\eta_i \sim L_{ij}$ nicht mehr von der Größe $\Delta\eta_i$ abhängig ist. Versteht man n_i als Grenzwert einer Reihenentwicklung von n_i in der Variablen $\Delta\eta_i$, so ist die aus der Division erhaltene Größe L_{ij} mit einer Entwicklung von n_i konsistent, die lediglich das von $\Delta\eta_i$ unabhängige absolute Glied (nullte Näherung von n_i) umfasst. Dementsprechend wird der im Nenner stehende unidirektionale Fluss \vec{j}_i in nullter Nähe-

nung formuliert, sodass gilt $\bar{j}_i = \bar{j}_i|_{\text{GG}}$. Beziehung (D-11) gilt daher nicht nur in der Grenze für $\Delta\eta_i \rightarrow 0$, d.h. im thermodynamischen Gleichgewicht, sondern ist auch im gesamten Gültigkeitsbereich der linearen irreversiblen Thermodynamik mit $\Delta\eta_i \neq 0$ anwendbar. Liegen verschiedene transportgekoppelte Ionenspezies i und $j \neq i$ vor, mit $i, j = 1, 2, \dots$, gilt in Erweiterung von Gleichung (D-9) für den Nettofluss j_i

$$(D-12) \quad j_i = L_{ii} X_i + \sum_{j \neq i} L_{ij} X_j = L_{ii} \frac{-\Delta\eta_i}{T} + \sum_{j \neq i} L_{ij} \frac{-\Delta\eta_j}{T}$$

Entsprechend der Onsager Beziehung gilt $L_{ij} = L_{ji}$. Gekoppelter Transport liegt vor, wenn diese „Kreuzkoeffizienten“ nicht alle Null sind. Für den Flussverhältnisexponenten n_i erhält man mit den Gleichungen (D-8) und (D-12)

$$(D-13) \quad n_i = \frac{R}{\bar{j}_i|_{\text{GG}}} \left[L_{ii} + \sum_{j \neq i} \left(L_{ij} \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{\Delta\eta_j}{\Delta\eta_i} \right) \right]$$

Aus Beziehung (D-13) folgt, dass der Flussverhältnisexponent n_i nur dann eine definierte Größe ist, wenn mit $\Delta\eta_i$ alle anderen $\Delta\eta_{j \neq i}$ gleichzeitig gegen Null gehen und für alle Grenzwerte gilt

$$(D-14) \quad \lim_{\Delta\eta_i \rightarrow 0} \frac{\Delta\eta_{j \neq i}}{\Delta\eta_i} = \frac{d\Delta\eta_{j \neq i}}{d\Delta\eta_i} \Big|_{\text{GG}} \neq \infty$$

Der zweite Term geht aus der Bestimmung des Grenzwertes nach L'Hôpital hervor. Daher muss man für den Fall, dass verschiedene transportgekoppelte Teilchenspezies $i, k = 1, 2, \dots$ vorliegen, für den Flussverhältnisexponenten n_i der Teilchensorte i schreiben

$$(D-15) \quad n_i = -RT \lim_{\substack{\Delta\eta_k \rightarrow 0 \\ k=1,2,\dots}} \frac{\ln\left(\frac{\bar{j}_i}{\bar{j}_i}\right)}{\Delta\eta_i} = RT \lim_{\substack{\Delta\eta_k \rightarrow 0 \\ k=1,2,\dots}} \frac{\ln\left(1 - \frac{j_j}{\bar{j}_i}\right)}{\Delta\eta_i}$$

Gleichzeitig muss Nebenbedingung (D-14) erfüllt sein. Liegt nur eine permeierende Spezies vor, gilt $i = k = 1$. Mit L'Hôpital erhält man auch:

$$(D-16) \quad n_i = -RT \left. \frac{d \ln(\bar{j}_i/\bar{j}_i)}{d \Delta \eta_i} \right|_{GG} = -RT \left. \frac{d(\bar{j}_i/\bar{j}_i)}{d \Delta \eta_i} \right|_{GG}$$

Sowohl zur experimentellen als auch rechnerischen Bestimmung des als Grenzwert definierten Flussverhältnisexponenten muss grundsätzlich etwas aus dem Gleichgewicht mit $\Delta \eta_k = 0$ ausgelenkt werden.

Allgemein kann der Flussverhältnisexponent n_i verwendet werden, um den Mechanismus, mit dem eine Teilchenspezies i durch eine Membran hindurch wandert, zu charakterisieren. Bei freier Diffusion nimmt n_i den Wert 1 an, ein Carriertransportmechanismus führt im Allgemeinen zu Werten kleiner 1 und Single-File-Diffusion ist durch Werte größer 1 charakterisiert [Kohler 1979, 1980d, 1983; Läger 1980].

Im Folgenden wird unter einem Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ der Flussverhältnisexponent für den Fall verstanden, dass nur die durchtrittsfähige Kationenspezies i in Lösung vorliegt (Einzelsalzlösung; engl.: single salt solution), unter einem Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$ entsprechend der Flussverhältnisexponent eines Kations i in der Lösung zweier durchtrittsfähiger Kationen verschiedener chemischer Spezies i und j (Zweisalzlösung oder Salzmischung; engl.: two salt solution). Dementsprechend wird in Abhängigkeit vom betrachteten Fall statt n_i die Schreibweise $n_{s,i}$ bzw. $n_{t,i}$ verwendet.

D.1 Die Tracermethode zur Bestimmung des unidirektionalen Flusses

Der unidirektionale Fluss \bar{j}_i bzw. \bar{j}_i einer chemischen Spezies i lässt sich nur bestimmen, wenn man die Teilchen i links und rechts der Membran durch Markierung voneinander unterscheiden kann. Technisch gibt man auf nur einer Seite der Membran in kleinen Mengen einen (nach Möglichkeit) idealen Tracer, der dieselben Transporteigenschaften wie die chemische Spezies i besitzt, der Lösung hinzu und bestimmt den Tracerfluss in die Lösung auf der gegenüberliegenden Seite der Membran. Tritt ein Tracerteilchen durch die Membran hindurch in die benachbarte Lösung, so kann dies im Experiment registriert werden. Wird wie in den in Kapitel E erwähnten Experimenten von L. V.

Schagina et al. als Tracer ein radioaktives, „heißes“ Isotop der Spezies i verwendet, so kann der Tracerfluss durch Zunahme der Radioaktivität in der jenseitigen Lösung quantitativ bestimmt werden [Schagina 1978, 1983, 1988, 1988a]. Durch R hren wird verhindert, dass sich Tracer, nachdem dieser durch die Membran diffundiert ist, vor der Membranoberfläche anreichert. Solange sich der Tracer noch nicht zu stark in der Nachbarlösung angereichert hat, ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tracerteilchen nach dem Porendurchtritt wieder in die Pore zurückspringt, ausreichend klein und kann daher vernachlässigt werden.

Im Folgenden sei der Tracer nur der linken Lösung zugegeben. Weil das „heiße“ Isotop als idealer Tracer (hochgestellter Index t) dieselben Transporteigenschaften besitzt wie das normale „kalte“ Isotop (hochgestellter Index c), verhält sich der unidirektionale Fluss \bar{j}_i^c zu \bar{j}_i^t wie die Konzentrationen $c_i^{c(l)}$ und $c_i^{t(l)}$ der Isotope. Daher gilt

$$(D-17) \quad \bar{j}_i^c = \frac{c_i^{c(l)}}{c_i^{t(l)}} \bar{j}_i^t$$

Analog lässt sich der unidirektionale Fluss $\bar{j}_i = \bar{j}_i^c + \bar{j}_i^t$ bestimmen. Mit $c_i^{(l)} = c_i^{c(l)} + c_i^{t(l)}$ gilt:

$$(D-18) \quad \bar{j}_i = \frac{c_i^{(l)}}{c_i^{t(l)}} \bar{j}_i^t$$

Kennt man den Tracerfluss \bar{j}_i^t , können mit Hilfe der Beziehungen (D-17) und (D-18) die unidirektionalen Flüsse \bar{j}_i^c und \bar{j}_i berechnet werden (Kapitel G).

E Experimentelle Befunde

Um den wechselseitigen Einfluss zweier durchtrittsfähiger Ionensorten bei der Diffusion durch den kationenselektiven Gramicidin-A-Kanal zu untersuchen, werden von L. V. Schagina und Mitarbeitern die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_t von Na^+ und Rb^+ in wässrigen Lösungen von NaCl und RbCl im Vergleich zu den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten n_s dieser Kationen mit Hilfe von Tracerflussmessungen untersucht [Lev 1988; Schagina 1983, 1988a].

In den erwähnten Experimenten sind die Konzentrationen auf beiden Seiten der Lipidmembran für ein gegebenes Salz gleich groß. Auf die symmetrische Konzentrationsverteilung Bezug nehmend, werden im Folgenden solche Lösungen als symmetrisch bezeichnet. Zur experimentellen Bestimmung des unidirektionalen Flusses eines Kations wird auf einer Seite ein radioaktives, sogenanntes „heißes“ Isotop des betreffenden Kations in kleinen Mengen als Tracer zugesetzt und dessen Durchtrittsrate bei Anlegen eines kleinen positiven oder negativen Membranpotentials ϕ_M bestimmt. Weil einwertige Kationen i mit einer Wertigkeit $z_i = 1$ untersucht werden, gilt für die entsprechenden Differenzen der elektrochemischen Potentiale¹

$$(E-1) \quad \Delta\eta_i = \eta_i^{(r)} - \eta_i^{(l)} = RT \ln \left(\frac{a_i^{(r)}}{a_i^{(l)}} \right) + z_i F (\phi^{(r)} - \phi^{(l)}) = F (\phi^{(r)} - \phi^{(l)})$$

Daraus folgt im Fall der Zweisalzlösungen

$$(E-2) \quad \frac{\Delta\eta_{j \neq i}}{\Delta\eta_i} = 1$$

Es werden zwei verschiedene Meßreihen an Zweisalzlösungen durchgeführt: In der ersten wird das Verhältnis der Salzkonzentrationen unter Konstanthaltung der Gesamtkonzentration bei 160 mmol l^{-1} variiert (Abbildung E-1), in der zweiten ist das Verhältnis $c_{\text{Rb}}/c_{\text{Na}}$ gleich $1/3$ (Abbildung E-2).

¹Angesichts der großen Standardabweichung der experimentellen Flussverhältnisexponenten können die geringen Tracerkonzentrationen gegenüber den viel größeren Konzentrationen der „kalten“ Isotope vernachlässigt werden. Mit der gleichen Begründung wird weiterhin angenommen, dass die Aktivitätskoeffizienten der Kationen auf beiden Seiten der Membran gleich gesetzt werden können.

Die Konzentrationen der untersuchten Einzelsalzlösungen liegen im Bereich der Konzentrationen der jeweiligen Salze in den Zweisalzlösungen.

Das verwendete Gramacidin-A ist nicht rein, sondern eine Mischung von 70 bis 85% Gramacidin-A, 5 bis 10% Gramacidin-B und 7 bis 20% Gramacidin-C. Vergleichsmessungen zeigen, dass diese Mischung dieselben Ergebnisse liefert wie gereinigtes Gramacidin-A [Schagina 1983, 1988]. Das Peptid ist in den genannten Experimenten in eine künstliche Lipiddoppelschicht aus Rinderhirnlipid (engl.: **ox brain lipid**, abgekürzt OBL) und Cholesterin eingelagert (OBL-Membran). Die Doppelschicht wird aus einer Lösung der Lipide im Gewichtsverhältnis 1:1 (entsprechend einem Verhältnis der Rinderhirnlipidstoffmenge zur Stoffmenge von Cholesterin von ca. 1:2) gebildet. Als Lösungsmittel dient eine Mischung von Chloroform, Tetradecan und Methanol im Volumenverhältnis von 4:3:2 [Lev 1988; Schagina 1983, 1988].

Der Betrag des angelegten Membranpotentials, $|\phi_M|$, liegt im Bereich von 0 bis 33 mV bzw. 50 mV. Innerhalb dieses Bereichs wird keine signifikante Spannungsabhängigkeit der Flussverhältnisexponenten gefunden [Schagina 1983, 1988a]. Daher kann Definition (D-6) bzw. (D-15) auf die experimentellen Flussverhältnisexponenten angewandt werden. Für die experimentellen Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten gilt somit Gleichung (D-11). Mit Bedingung (E-2) und Beziehung (D-13) erhält man für den Zweisalz-Flussverhältnisexponenten eine der Gleichung (D-11) entsprechende Beziehung, die wie Gleichung (D-11) nicht nur im symmetrischen Gleichgewicht, sondern auch im gesamten Gültigkeitsbereich der linearen irreversiblen Thermodynamik anwendbar ist:

$$(E-3) \quad n_{t,i} = \frac{R}{\bar{J}_i|_{GG}} \left(L_{ii} + \sum_{j \neq i} L_{ij} \right)$$

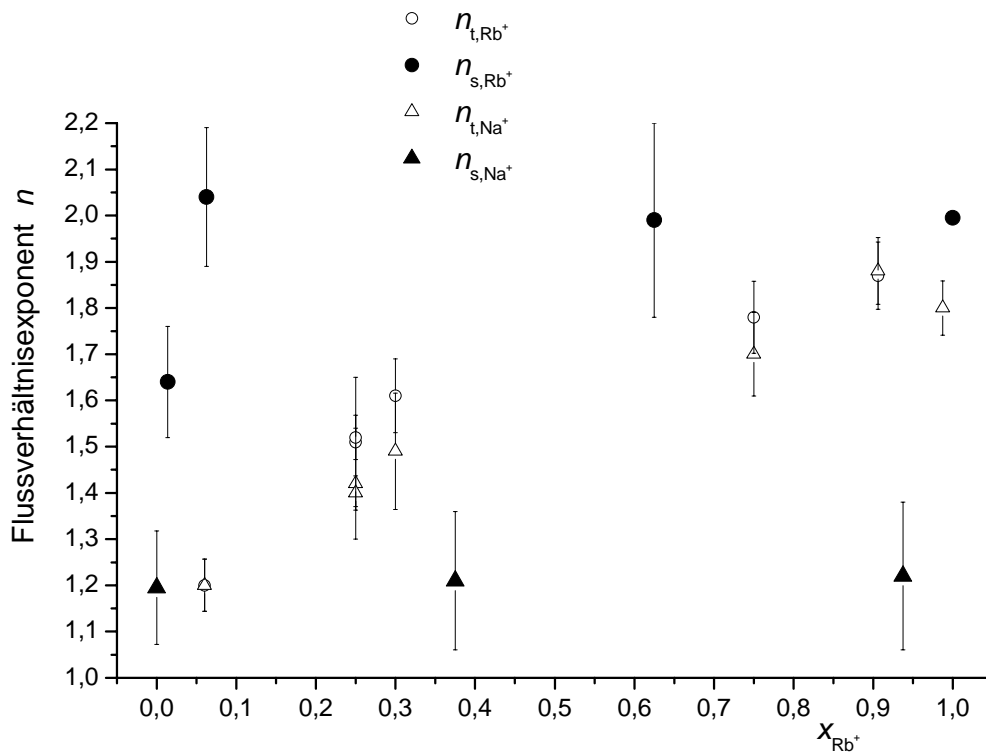


Abbildung E-1

Experimentelle Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_t von NaCl und RbCl in symmetrischen wässrigen Lösungen bei einer konstanten Gesamtkonzentration der Salze von 160 mmol^{-1} als Funktion des Rubidium-Stoffmengenanteils $x_{\text{Rb}} = c_{\text{Rb}} / (c_{\text{Na}} + c_{\text{Rb}})$. Daneben sind die Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten n_s von entsprechenden Einzelsalzlösungen abgebildet. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung wieder [Lev 1988; Schagina 1983, 1988a].

Wie aus Abbildung E-1 und Abbildung E-2 zu erkennen ist, ergeben sich für die Flussverhältnisexponenten der Kationen Werte größer als eins, was auf einen Single-File Transportmechanismus hinweist. In der Zweisalzlösung sind die Werte der Flussverhältnisexponenten der beiden Ionen im Rahmen der experimentellen Genauigkeit gleich und liegen zwischen den Werten, die sich für die Einzelsalzlösungen ergeben:

$$(E-4) \quad n_{s,\text{Na}} < n_{t,\text{Na}} = n_{t,\text{Rb}} < n_{s,\text{Rb}}$$

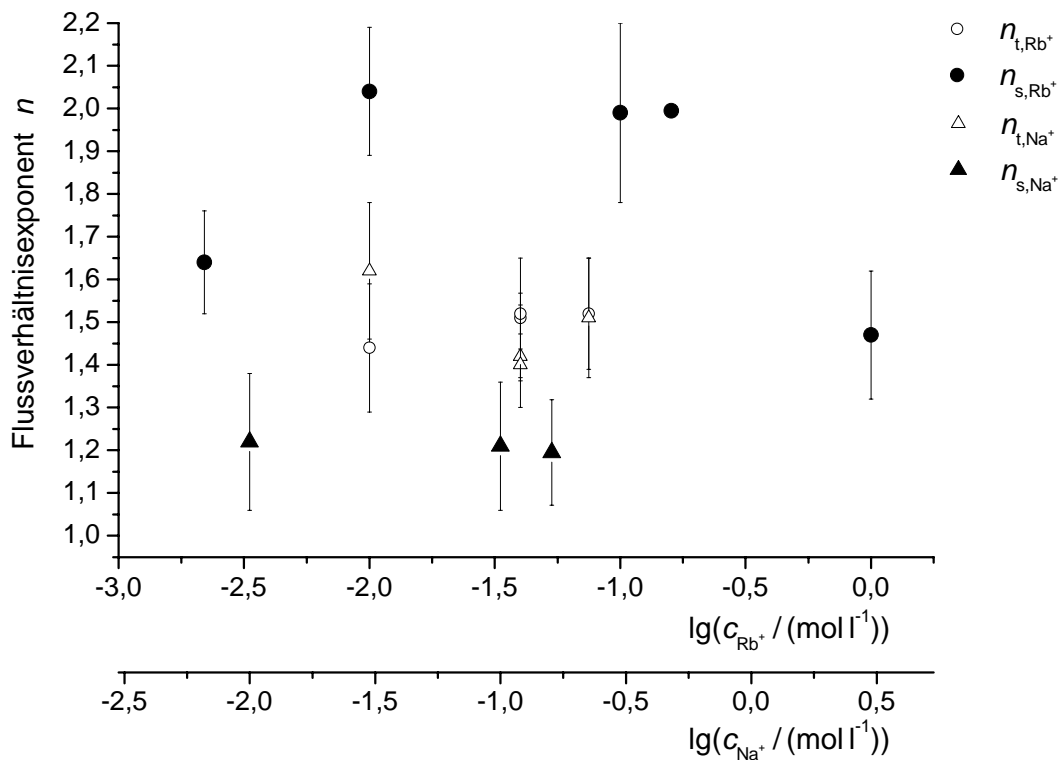


Abbildung E-2

Experimentelle Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_t von NaCl und RbCl in symmetrischen Lösungen bei einem Konzentrationsverhältnis $c_{\text{RbCl}}/c_{\text{NaCl}} = 1/3$ für verschiedene Salzkonzentrationen. Daneben sind für den angegebenen Konzentrationsbereich die entsprechenden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten n_s wiedergegeben. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung wieder [Lev 1988; Schagina 1983, 1988a].

Von Schagina und Mitarbeitern werden auch Einzelkanalleitfähigkeitsmessungen an Gramicidin-A durchgeführt [Schagina 1988a]. Hier ist das Peptid in einer künstlichen Lipiddoppelschicht aus Rinderhirnlipid und Cholesterin im Stoffmengenverhältnis 1:4 (entsprechend einem Gewichtsverhältnis von ca. 1:2) eingelagert. Diese Messungen ergeben für symmetrische Zweisalzlösungen von NaCl und RbCl die in Abbildung E-3 gezeigte Häufigkeitsverteilung der Einzelkanalleitfähigkeiten mit zwei Maxima. Diese liegen jeweils in der Nähe der Maxima, die sich für die entsprechenden Einzelsalzlösungen ergeben, in denen die jeweiligen Salze in denselben Konzentrationen vorliegen wie in den dazugehörigen Zweisalzlösungen.

In Tabelle E-1 und Tabelle E-2 sind die aus Abbildung E-3 entnommenen ungefähren Werte aufgeführt.

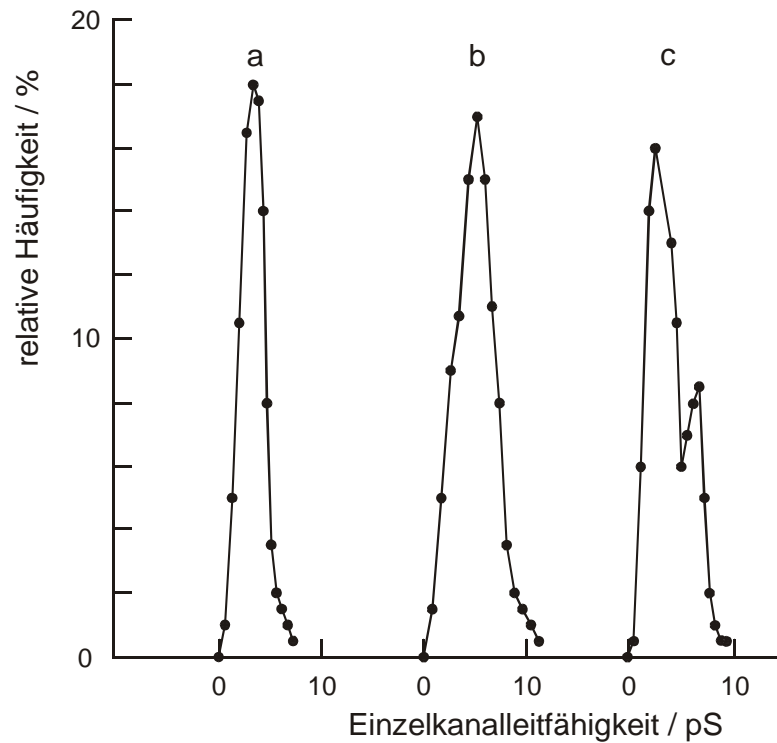


Abbildung E-3

Histogramme für Einzelkanalleitfähigkeitsmessungen von Gramicidin-A in Lipiddoppelschicht-Membranen aus Rinderhirnlipid und Cholesterin (Stoffmengenverhältnis 1:4, Gewichtsverhältnis 1:2) in Gegenwart wässriger Salzlösungen folgender Konzentrationen [Schagina 1988a; Aityan 1993]:

a) $0,12 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaCl}$

b) $0,04 \text{ mol l}^{-1} \text{ RbCl}$

c) $0,12 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaCl} + 0,04 \text{ mol l}^{-1} \text{ RbCl}$

Salz	$c / (\text{mmol l}^{-1})$	$G_{\text{mf}} / \text{pS}$	$O_r / \%$
NaCl	120	3,3	18
RbCl	40	5,2	17

Tabelle E-1

Ergebnisse von Einzelkanalleitfähigkeitsmessungen an Gramicidin-A in einer Lipidmembran aus Rinderhirnlipid und Cholesterin im Stoffmengenverhältnis 1:4 in Gegenwart von symmetrischen NaCl und RbCl Einzelsalzlösungen (siehe Abbildung E-3). Keine weitere Angaben zu den experimentellen Bedingungen [Schagina 1988a; Aityan 1993].

G_{mf} : häufigste Einzelkanalleitfähigkeit

(most frequent single channel conductance)

O_r : relative Häufigkeit von G_{mf} (relative frequency of occurrence of G_{mf})

$c_{\text{Na}} + c_{\text{Rb}} = 160 \text{ mmol l}^{-1}$	NaCl			RbCl		
	$c / (\text{mmol l}^{-1})$	$G_{\text{mf}} / \text{pS}$	$O_r / \%$	$c / (\text{mmol l}^{-1})$	$G_{\text{mf}} / \text{pS}$	$O_r / \%$
$c_{\text{Na}} / c_{\text{Rb}} = 3$	120	2,5	16	40	6,6	8,5

Tabelle E-2

Ergebnisse von Einzelkanalleitfähigkeitsmessungen an Gramicidin-A in einer Lipidmembran aus Rinderhirnlipid und Cholesterin im Stoffmengenverhältnis 1:4 in Gegenwart von symmetrischen NaCl und RbCl Zweisalzlösungen (siehe Abbildung E-3). Keine weitere Angaben zu den experimentellen Bedingungen [Schagina 1988a; Aityan 1993].

G_{mf} : häufigste Einzelkanalleitfähigkeit

(most frequent single channel conductance)

O_r : relative Häufigkeit von G_{mf} (relative frequency of occurrence of G_{mf})

F Kinetisches Modell der Single-File-Zweiplatzpore

Zur Beschreibung der Ionenpermeation durch den Gramacidin-A-Kanal wird häufig das kinetische Modell einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore verwendet. Dieses Modell beruht auf der von K. Heckmann, Y. A. Chizmadzhev und S. K. Aityan, B. W. Urban und S. B. Hladky und B. Hille und W. Schwarz entwickelten kinetischen Beschreibung der Ionenpermeation durch einen Single-File Ionenkanal [Heckmann 1965, 1965a, 1968, 1970, 1972; Chizmadjev 1973, 1973a, 1974, 1977; Kohler 1977, 1979 1980; Urban 1978, 1979; Hille 1978].

In dieser Beschreibung wird die Pore als eine durch die Membran reichende Reihe hintereinander liegender Plätze bzw. Energieminima betrachtet, entlang derer die Teilchen nach bestimmten Regeln mit Hilfe eines Sprungmechanismus von Platz zu Platz hindurch wandern: Jeder Bindungsplatz kann nur von einem Teilchen besetzt werden. Teilchensprünge finden nur auf unmittelbar benachbarte unbesetzte Plätze statt. Übergänge zwischen der Pore und den angrenzenden Lösungen sind nur von den Randplätzen aus bzw. auf diese möglich. Porensprünge werden durch Teilchen in der Lösung nicht beeinflusst. Es kann immer nur ein Teilchen springen, nie zwei oder mehr gleichzeitig. Dieser Mechanismus wird wegen der zweiten Annahme als Leerstellenmechanismus bezeichnet, in Abgrenzung zum von A. L. Hodgkin und R. D. Keynes vorgeschlagenen Knock-On-Mechanismus, bei dem benachbarte Teilchen durch das springende Teilchen verdrängt werden können [Hodgkin 1955; Heckmann 1965, 1965a, 1970]. Teilchensprünge werden mit Hilfe von Geschwindigkeitskonstanten nach Eyring beschrieben [Kohler 1979, 1980]. Damit wird vorausgesetzt, dass sich ein Teilchen so lange auf einem Porenplatz aufhält, dass die Porenplätze zusammen mit den darin befindlichen Teilchen einen lokalen thermodynamischen Gleichgewichtszustand einnehmen können. Die Übergangszustände der springenden Teilchen werden als kurzlebige Zwischenzustände betrachtet. Ein Teilchen springt frühestens nachdem der lokale Gleichgewichtszustand erreicht ist. Damit ist die oben genannte Forderung, dass immer nur ein Teilchen springt, präzisiert. Mit den genannten Annahmen können Porenzustände formuliert werden, die durch die Besetzungszustände der Plätze charakterisiert sind. Dabei sind die Übergänge zwischen den verschiedenen Porenzuständen eindeutig mit Sprüngen einzelner Teilchen verbunden. Die Übergänge zwischen den Porenzuständen werden mit Geschwindigkeitskonstanten 1. Ordnung beschrieben. Sind mit den Zustandswechsel Teilcheneinsprünge verbunden, so sind die Geschwindigkeitskonstanten propor-

tional der Aktivität der betreffenden Teilchensorte. Als Produkt einer Geschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung und der betreffenden Teilchenaktivität sind diese Geschwindigkeitskonstanten im stationären Zustand von pseudo-erster Ordnung. Die Geschwindigkeitskonstanten 1. und 2. Ordnung werden als unabhängig von den Teilchenaktivitäten in den Lösungen links und rechts der Membran betrachtet.

Druck und Temperatur werden im Folgenden als gegeben betrachtet. Im Modell der symmetrischen Zweiplatzpore erfährt ein Ion bei einem Membranpotential ϕ_M gleich Null im Kanal ein für seine Spezies charakteristisches Profil der freien Standardenthalpie mit drei Maxima und zwei den beiden Bindungsplätzen entsprechenden Minima. Die Differenzen zwischen den Energieminima und -Maxima sind gleich den freien Aktivierungsenthalpien der Sprünge des permeierenden Teilchens, wobei die Maxima den Übergangszuständen entsprechen. Der kurz als Energieprofil bezeichnete Potentialverlauf ist spiegelsymmetrisch zu einer in Kanalmitte senkrecht zur Diffusionsrichtung stehenden Ebene. Dieses Energieprofil ist in qualitativer Übereinstimmung mit dem in Abbildung C-5 schematisch dargestellten Wechselwirkungspotential, das auf verschiedenen Berechnungen und experimentellen Ergebnissen beruht [Finkelstein 1981; Urry 1986a; Tian 1999; Allen 2004]. In Abbildung F-1 sind die Energieprofile einer von einer einzigen Teilchenspezies einfach und doppelt besetzten Pore qualitativ wiedergegeben. Für den Fall der Doppelbesetzung steigt die Energiekurve in der Mitte gegen unendliche Werte, weil ein Knock-On-Mechanismus ausgeschlossen wird. Sind zwei Teilchen verschiedener chemischer Spezies in der Pore, so ist, wie in Abbildung F-2 skizziert, das zugehörige Energieprofil unsymmetrisch. Die Beschreibung des Gramacidin-Kanals mit Hilfe des Modells einer symmetrischen Zweiplatzpore ist aufgrund seines symmetrischen Baus und der beiden experimentell nachgewiesenen Bindungsplätze naheliegend. Dabei wird der mehr oder weniger kontinuierliche Prozess der Ionendiffusion durch den Kanal in drei Prozessschritte aufgeteilt, die als diskrete Platzwechselvorgänge beschrieben werden: Wechsel des Ions aus der Elektrolytlösung in den Kanal auf den lösungsnahen Bindungsplatz, Übergang zum benachbarten Bindungsplatz und, von diesem Bindungsplatz ausgehend, Ausprung in die benachbarte Elektrolytlösung.

Stellt man alle Zustände, die eine Pore einnehmen kann, graphisch dar und verbindet diese entsprechend den zwischen ihnen möglichen Übergängen analog zur Darstellung chemischer Reaktionen mit Pfeilen, so erhält man ein Übergangendiagramm, das einen Graphen darstellt [Heckmann 1969; Hill 1977, 1989; Kohler 1980b]. Die Pfeile geben die Richtung der Übergänge zwischen den Porenzuständen, den Punkten des Graphen, an. Somit stehen die Pfeile für geordnete Paare von Punkten des Graphen.

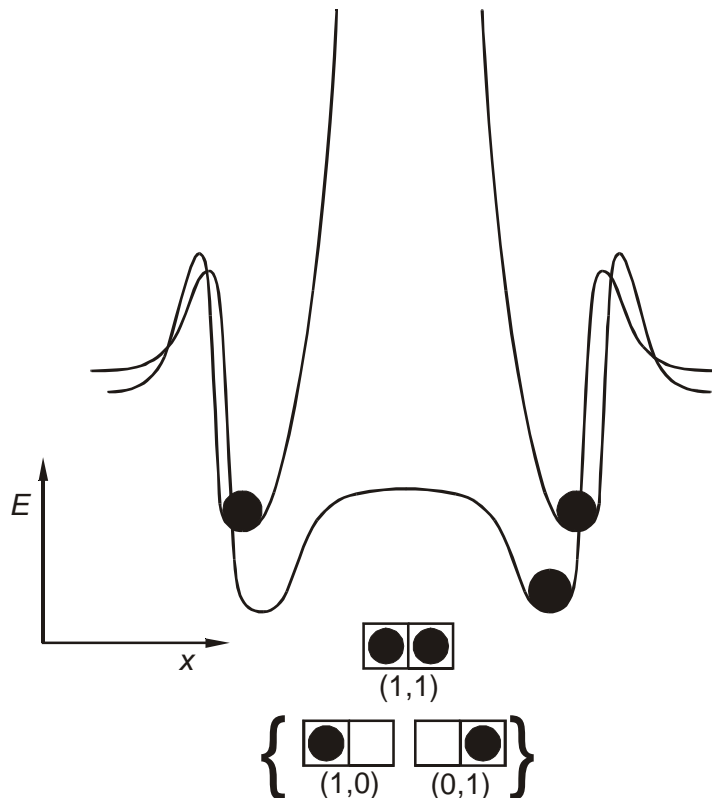


Abbildung F-1

Schematische Energieprofile eines Ions der chemischen Spezies 1 (schwarz gefüllter Kreis). Die interionische elektrostatische Abstoßung ist berücksichtigt. Unter den Energieprofilen sind die entsprechenden Zustände der einfach und doppelt besetzten Pore mit zugehöriger Bezeichnung abgebildet. Die einfach besetzten Porenzustände gehören zum gleichen Energieprofil.

Die Zustandswechsel werden mit den zugehörigen Geschwindigkeitskonstanten 1. Ordnung gewichtet. Weil die Pfeile als Verbindungslinien zwischen den Zuständen eine Richtung aufweisen und diesen gerichteten Kanten mit den Geschwindigkeitskonstanten Werte zugeordnet sind, gibt ein solches Übergangdiagramm einen gerichteten bewerteten (gewichteten) Graphen wieder [Hill 1977, 1989; Kohler 1980b].

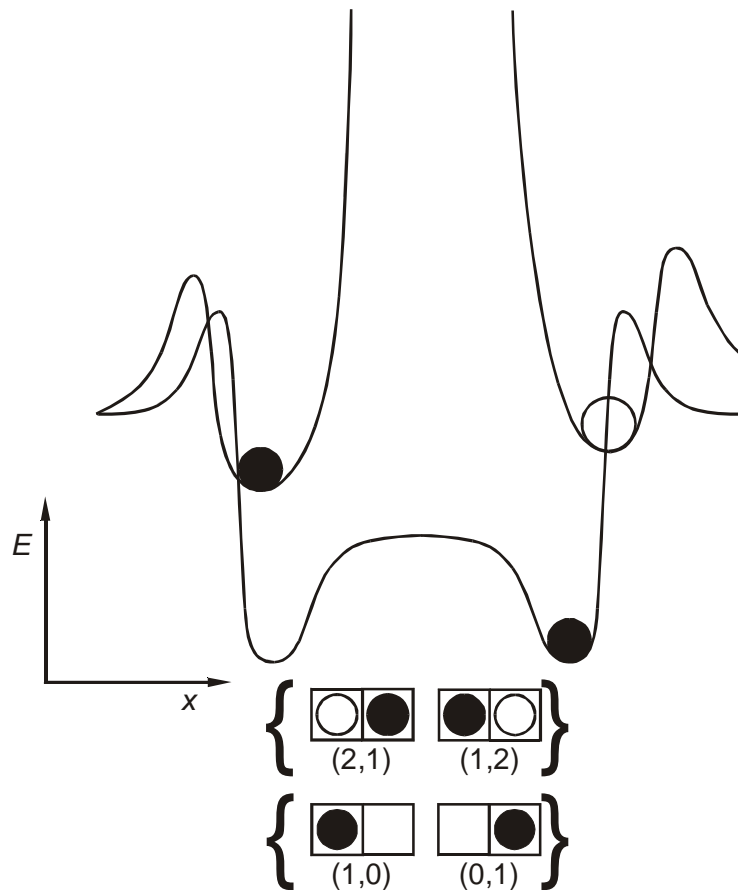


Abbildung F-2

Schematische Energieprofile für zwei verschiedene chemische Ionenspezies 1 (schwarz gefüllte Kreise) und 2 (ungefüllte Kreise) in der symmetrischen Zweiplatzpore. Für die Teilchensorte 1 ist der einfach besetzte Porenzustand dargestellt. Kommt ein zweites Teilchen der Spezies 2 hinzu, so resultiert ein unsymmetrisches Energieprofil. Die interionische elektrostatische Abstoßung ist berücksichtigt. Unter den Energieprofilen sind die entsprechenden Porenzustände mit Bezeichnung angegeben. Weil die Pore symmetrisch ist, ist das Energieprofil eines Porenzustandes spiegelsymmetrisch zum Profil des Porenzustandes, in dem die Teilchen ihre Position vertauscht haben.

Für eine symmetrische Single-File-Zweiplatzpore erhält man bei Diffusion einer einzigen Spezies i bei $\phi_M=0$ den in Abbildung F-3 dargestellten Vierpunktgraphen. Dabei werden, wie auch im Folgenden, ideale Lösungen vorausgesetzt. In dieser Abbildung sind die Geschwindigkeitskonstanten in der auch weiterhin verwendeten Bezeichnungsweise

wiedergegeben: Die Größen E , K und $A \cdot c$ sind als Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung definiert.

Ein Teilcheneinsprung in die Pore wird mit Hilfe einer Geschwindigkeitskonstanten pseudo-erster Ordnung $A \cdot c$ beschrieben, d.h. die Einsprungrate wird proportional zur Teilchenkonzentration der permeierenden Spezies in der Lösung, von der aus der Einsprung stattfindet, angenommen. Die Ionenkonzentrationen c werden mit einem tiefgestellten Index i für die springende Teilchenspezies i und einem hochgestellten, in runde Klammern gefaßten Index l bzw. r für die Konzentrationen links bzw. rechts der Membran gekennzeichnet.

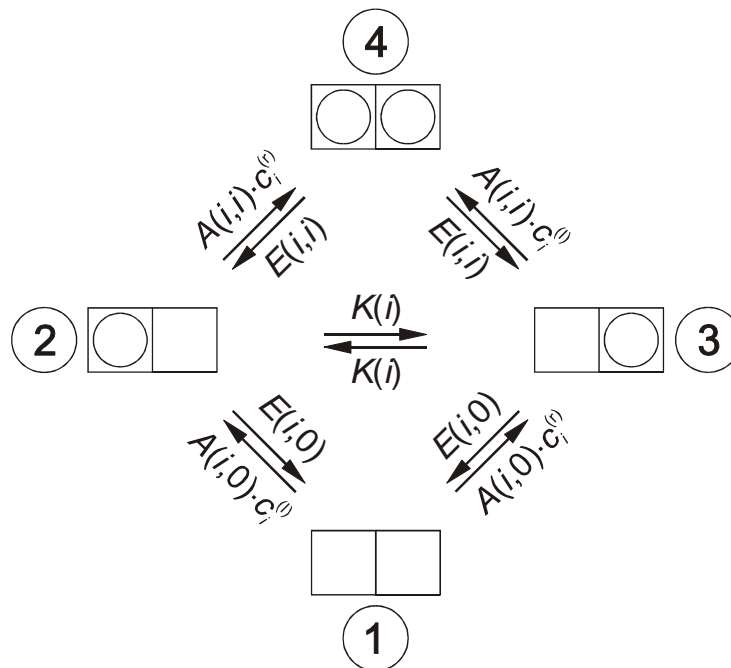


Abbildung F-3

Graph einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore in Gegenwart eines durchtrittsfähigen Teilchens der Spezies i , deren Teilchen als Kreise dargestellt sind. Den Porenzuständen (Punkte des Graphen) sind willkürlich Zahlen zugeordnet. Die Geschwindigkeitskonstanten für die durch Pfeile gekennzeichneten Zustandswechsel $\alpha \rightarrow \beta$ werden wie folgt bezeichnet (Näheres siehe Text): $A \equiv$ Einsprungrate 2. Ordnung, $E \equiv$ Aussprungrate 1. Ordnung, $K \equiv$ Platzwechselkonstante 1. Ordnung

Das Symbol A bezeichnet Einsprungkonstanten („access“ rate constants) in die leere bzw. die einfach besetzte Pore, E steht für Aussprungkonstanten („exit“ rate constants) bei einfach bzw. doppelt besetzter Pore und K bezeichnet die Platzwechselkonstante, jeweils bei Membranpotential $\Phi_M=0$. Diese Parameter treten in den Geschwindigkeitskonstanten bei $\Phi_M \neq 0$ als Faktoren auf und werden im Folgenden als reduzierte Geschwindigkeitskonstanten bezeichnet. Die Argumente von $A(\dots, \dots)$ und $E(\dots, \dots)$ sind so zu verstehen, dass das erste Argument - wie auch das Argument von $K(\dots)$ - das springende Teilchen bezeichnet, während das zweite Argument für das während des Übergangs auf dem benachbarten Platz vorhandene Teilchen steht. Eine Null bedeutet einen unbesetzten Nachbarplatz. Liegen mehrere Ionensorten vor, wie in den Abbildungen G-1 und G-2, enthält der entsprechende Graph auch „gemischte“ Porenzustände mit Ionen zweier verschiedener Spezies. Wie man aus diesen Abbildungen erkennt, erhöht sich die Anzahl der Zustände und Übergänge stark mit wachsender Anzahl der Teilchenspezies. Die zeitliche Änderung der Wahrscheinlichkeit p_α eines Porenzustands α wird allgemein durch die sogenannte Mastergleichung beschrieben [Heckmann 1969, 1972; Kohler 1979, 1980b]:

$$(F-1) \quad \frac{d p_\alpha}{d t} \equiv \dot{p}_\alpha = - \sum_{\beta} k_{\alpha\beta} p_\alpha + \sum_{\beta} k_{\beta\alpha} p_\beta \quad \alpha, \beta = 1, 2, \dots, N; \quad \beta \neq \alpha$$

Dabei ist N die Zahl der diskreten Zustände des Systems. Die Geschwindigkeitskonstante $k_{\alpha\beta}$ ist dem Übergang vom Zustand α in den Nachbarzustand β und die Konstante $k_{\beta\alpha}$ dem Übergang vom Zustand β in den zu β benachbarten Zustand α zugeordnet. Gleichung (F-1) gibt einen homogenen diskontinuierlichen (bzw. diskreten) Markoff-Prozess wieder [Kohler 1980b, 1983].

Im Folgenden werden nur stationäre Zustände betrachtet. Aus der Mastergleichung (F-1) folgt

$$(F-2) \quad - \sum_{\beta} k_{\alpha\beta} p_\alpha + \sum_{\beta} k_{\beta\alpha} p_\beta = 0 \quad \alpha, \beta = 1, 2, \dots, N; \quad \beta \neq \alpha$$

Die Zustandswahrscheinlichkeiten sind linear abhängig. Mit der Normierung

$$(F-3) \quad \sum_{\alpha=1}^N p_\alpha = 1$$

erhält man ein lineares inhomogenes Gleichungssystem, das die p_α eindeutig bestimmt [Kohler 1980b]. In vektorieller Schreibweise erhält man für die Mastergleichung

$$(F-4) \quad \dot{\bar{p}} = A \bar{p}$$

und im stationären Fall:

$$(F-5) \quad A \bar{p} = \bar{0}$$

Für den Zustandsvektor \bar{p} und die Übergangsmatrix A gilt [Heckmann 1969]:

$$(F-6) \quad \bar{p} = \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ \vdots \\ p_N \end{pmatrix}$$

$$(F-7) \quad A = \begin{pmatrix} -\sum_{\beta} k_{1\beta} & k_{21} & k_{31} & \dots & k_{N1} \\ k_{12} & -\sum_{\beta} k_{2\beta} & k_{32} & \dots & k_{N2} \\ k_{13} & k_{23} & -\sum_{\beta} k_{3\beta} & \dots & k_{N3} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ k_{1N} & k_{2N} & k_{3N} & \dots & -\sum_{\beta} k_{N\beta} \end{pmatrix}$$

In A sind die Summen der Elemente der einzelnen Spalten gleich Null, gleichbedeutend mit der Tatsache, dass die Summe der von einem Zustand α ausgehenden unidirektionalen Wahrscheinlichkeitsflüsse $\bar{j}_{\alpha\beta} = k_{\alpha\beta} p_\alpha$ ohne Verlust in die zu α benachbarten Zustände β übergeht. Dies ist in Übereinstimmung mit der Beziehung (F-3). Entsprechend addieren sich die unidirektionalen Wahrscheinlichkeitsflüsse $\bar{j}_{\alpha\beta} = k_{\alpha\beta} p_\alpha$ und $\bar{j}_{\beta\alpha} = k_{\beta\alpha} p_\beta$ in jedem Punkt α des Graphen zu Null auf, analog zur Knotenregel (1. Kirchhoffsches Gesetz), die in elektrischen Schaltkreisen die Ladungserhaltung in jedem (Verzweigungs-)Punkt beschreibt [Hill 1977]:

$$(F-8) \quad \dot{p}_\alpha = -\sum_{\beta} k_{\alpha\beta} p_\alpha + \sum_{\beta} k_{\beta\alpha} p_\beta = -\sum_{\beta} \bar{j}_{\alpha\beta} + \sum_{\beta} \bar{j}_{\beta\alpha} = \sum_{\beta} j_{\beta\alpha} = 0$$

Dabei sind die lokalen Nettowahrscheinlichkeitsflüsse $j_{\beta\alpha}$ als Differenz der unidirektionalen Wahrscheinlichkeitsflüsse definiert:

$$(F-9) \quad j_{\beta\alpha} = \bar{j}_{\beta\alpha} - \bar{j}_{\alpha\beta}$$

Die Spaltensumme Null in der Matrix A bedeutet zugleich, dass die N Gleichungen der Beziehungen (F-1) und (F-2) linear voneinander abhängig sind. Das lineare inhomogene Gleichungssystem aus den Gleichungen (F-2) und (F-3), mit dessen Hilfe die stationären Zustandswahrscheinlichkeiten bestimmt werden können, lautet in Vektornotation:

$$(F-10) \quad \tilde{A} \bar{p} = \bar{b}$$

mit

$$(F-11) \quad \bar{b} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 1 \end{pmatrix}$$

und

$$(F-12) \quad \tilde{A} = \begin{pmatrix} -\sum_{\beta} k_{1\beta} & k_{21} & k_{31} & k_{41} & \dots & k_{N1} \\ k_{12} & -\sum_{\beta} k_{2\beta} & k_{32} & k_{42} & \dots & k_{N2} \\ k_{13} & \dots & -\sum_{\beta} k_{3\beta} & k_{43} & \dots & k_{N3} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots \\ k_{1(N-1)} & k_{2(N-1)} & \dots & k_{(N-2)(N-1)} & -\sum_{\beta} k_{(N-1)\beta} & k_{N(N-1)} \\ 1 & 1 & \dots & 1 & 1 & 1 \end{pmatrix}$$

Hier wird - aufgrund der oben genannten linearen Abhängigkeit - die Bilanzgleichung für p_N weggelassen.

Die Zustandswahrscheinlichkeiten p_α können gemäß der Cramerschen Regel berechnet werden [Kohler 1980b]:

$$(F-13) \quad p_\alpha = \frac{|\tilde{A}_\alpha|}{|\tilde{A}|}$$

$|\tilde{A}|$ und $|\tilde{A}_\alpha|$ sind die aus den Matrizen \tilde{A} und \tilde{A}_α gebildeten Determinanten. \tilde{A}_α wird aus der Koeffizientenmatrix \tilde{A} gebildet, indem der Spaltenvektor Nummer α durch den Vektor \vec{b} ersetzt wird.

T. L. Hill zeigt, dass die stationären Zustandswahrscheinlichkeiten alternativ auch mit Hilfe der Diagramm- oder Graphenmethode bestimmt werden können [Hill 1977]. In diesem Fall gilt:

$$(F-14) \quad p_\alpha = \frac{D_\alpha}{D}$$

Dabei ist D_α die Summe der Gewichte $\hat{T}_{\alpha,t}$ aller auf den Zustand α gerichteten Bäume $T_{\alpha,t}$. Das Gewicht eines auf einen Zustand α gerichteten Baumes ist das Produkt von Geschwindigkeitskonstanten $k_{\delta\varepsilon}$ für Zustandsübergänge $\delta \rightarrow \varepsilon$ mit $\varepsilon \neq \delta$ und $\delta \neq \alpha$, wobei jeder Zustand δ genau einmal Ausgangszustand ist. (Das heißt, es sind Übergänge ausgeschlossen, in denen der Zustand α Ausgangszustand eines Zustandswechsels ist.) Weiterhin sind keine zyklischen Zustandsfolgen $\delta \rightarrow \varepsilon \rightarrow \delta$ und $\delta \rightarrow \varepsilon \rightarrow \dots \rightarrow \delta$ erlaubt. Daher ist der Zustand α für mindestens einen Übergang Zielzustand. Weiterhin folgt, dass für jeden Zustand δ genau eine Zustandsfolge $\delta \rightarrow \alpha$ bzw. $\delta \rightarrow \dots \rightarrow \alpha$ existiert. Der Baum $T_{\alpha,t}$ selbst ist die Menge der Pfeile bzw. der geordneten Punktepaare (δ, ε) , die die Übergänge $\delta \rightarrow \varepsilon$ kennzeichnen. Der Nenner D errechnet sich aus der Summe aller D_α :

$$(F-15) \quad \hat{T}_{\alpha,t} = \prod_{(\delta, \varepsilon) \in T_{\alpha,t}} k_{\delta\varepsilon} \quad \delta \neq \alpha$$

$$(F-16) \quad D_\alpha = \sum_t \hat{T}_{\alpha,t}$$

$$(F-17) \quad D = \sum_\alpha D_\alpha$$

Die Bestimmung der Zustandswahrscheinlichkeiten p_α mit Hilfe der Graphenmethode besitzt gegenüber ihrer Berechnung gemäß Gleichung (F-13) den Vorteil, dass die Bildung von Summanden vermieden wird, die sich schließlich wieder zu Null addieren [Heckmann 1969]. In dieser Arbeit werden die Zustandswahrscheinlichkeiten nach der Diagramm-Methode von T. L. Hill und auf der Grundlage eines Algorithmus nach Heckmann et al. bestimmt [Hill 1977; Heckmann 1969].

Der Flussverhältnisexponent einer chemischen Teilchenspezies i wird auf der Grundlage von Gleichung (D-15) berechnet. Die hierfür notwendigen Teilchenflüsse j_i und \bar{j}_i stellen, wie später in Kapitel G gezeigt, Linearkombinationen unidirektionaler Wahrscheinlichkeitsflüsse $\bar{j}_{\alpha'\beta'} = p_{\alpha'} k_{\alpha'\beta'}$ von ausgewählten Zuständen α' in bestimmte, dazu benachbarte Zustände β' dar [Hill 1977; Kohler 1979, 1980, 1980b].

Durch die Multiplikation einer Zustandswahrscheinlichkeit p_α mit der Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha\beta}$ wird im Graphen ein orientierter (gerichteter) zyklischer Weg C_v^\pm geschlossen, welcher aus der Zustandsfolge $\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \dots \rightarrow \alpha$ besteht und den Übergang $\alpha \rightarrow \beta$ enthält. Dabei besitzt der gerichtete Zyklus C_v^\pm eine willkürlich festgelegte positive (+) oder negative (–) Orientierung. Es wird für den stationären Zustand gezeigt, dass ein Wahrscheinlichkeitsfluss $\bar{j}_{\alpha\beta}$ als Funktion von Summen von gerichteten Zyklenflüssen $\bar{j}_{C_v^\pm}$ formulierbar ist [Hill 1977; Kohler 1979, 1980, 1980b]:

$$(F-18) \quad \bar{j}_{\alpha\beta} = \frac{D_\alpha k_{\alpha\beta}}{D} = \frac{\sum_v \pi_{C_v^\pm} F_{C_v}}{D} = \sum_v \bar{j}_{C_v^\pm}$$

Die Größe $\pi_{C_v^\pm}$ ist das Produkt aller Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha^*\beta^*}$ im gerichteten Zyklus C_v^\pm ($\alpha^*, \beta^* \in C_v^\pm$), während der Faktor F_{C_v} die Summe der Gewichte $\hat{f}_{C_v, \xi}$ aller auf den ungerichteten (nicht orientierten) Zyklus C_v ($\alpha - \beta - \dots - \alpha$) gerichteten, als Forests bezeichneten Teilgraphen $f_{C_v, \xi}$ ist:

$$(F-19) \quad F_{C_v} = \sum_{\xi} \hat{f}_{C_v, \xi}$$

Ein Forest $f_{C_v, \xi}$ zeigt analog zu einem auf einen einzelnen Zustand gerichteten Baum auf einen Zyklus C_v bzw. auf die den Zyklus bildenden Zustände. Weil ein Teilchenfluss j_i , \bar{j}_i oder \bar{j}_i als Linearkombination unidirektionaler Wahrscheinlichkeitsflüsse $\bar{j}_{\alpha\beta}$ formulierbar ist (Kapitel G), kann dieser mit Hilfe von Beziehung (F-18) auch als Funktion von Zyklenflüssen $\bar{j}_{C_v^\pm}$ dargestellt werden. Es kann gezeigt werden, dass die algebraische

Größe $\vec{j}_{C_v^\pm}$ gleich der Frequenz ist, mit der der gerichtete Zyklus C_v^\pm im stationären Zustand durchlaufen wird [Kohler 1980b]. Somit kommt den Zyklenflüssen eine physikalische Bedeutung zu.

Die in Kapitel D.1 erläuterte Tracermethode zur experimentellen Bestimmung unidirektionaler Flüsse kann auch zu deren theoretischen Ermittlung angewandt werden. Es wird ein idealer Tracer vorausgesetzt. Dies bedeutet, dass die Geschwindigkeitskonstante $k_{\alpha\beta}$ eines Zustandswechsels $\alpha \rightarrow \beta$, der mit dem Sprung eines Tracerteilchens verbunden ist, denselben Wert besitzt wie die Geschwindigkeitskonstante, die dem entsprechenden Zustandswechsel zugeordnet ist, bei dem statt des Tracers ein nicht markiertes Teilchen derselben chemischen Spezies wie die des Tracers springt. Der ideale Tracer wird auf einer Seite der Membran im Allgemeinen in so kleinen Mengen zugegeben, dass sich maximal ein Tracerteilchen in der Pore befindet [Kohler 1979, 1980] (Abbildungen G-1 und G-2). Tritt ein Tracerteilchen beim Durchlaufen einer zyklischen Zustandsfolge $\alpha \rightarrow \beta \rightarrow \dots \rightarrow \alpha$ durch die Pore hindurch, so ist die Transportzahl $M_{C_v^{t,\pm}}$ des Tracerzyklus $C_v^{t,\pm}$ gleich der Anzahl aller beim Durchlaufen der Zustandsfolge netto durch die Pore transportierten Teilchen, einschließlich des Tracerteilchens. Im Folgenden wird einem gerichteten Tracerzyklus die positive Orientierung zugewiesen, wenn beim Durchlaufen des Zyklus das Tracerteilchen von links nach rechts transportiert wird. Für $M_{C_v^{t,+}}$ wird die vereinfachte Schreibweise $M_{C_v^t}$ gewählt. Liegt nur eine einzige durchtrittsfähige chemische Teilchenspezies i vor, erhält man für das Verhältnis der unidirektionalen Teilchenflüsse im stationären Zustand¹ [Kohler 1979, 1980]:

$$(F-20) \quad \frac{\vec{j}_i}{\overleftarrow{j}_i} = e^{\frac{-n_i \Delta \eta_i}{kT}} = \frac{\sum_{\nu=1}^{\Omega} \pi_{C_v^{t,-}} F_{C_v^t} e^{\frac{-M_{C_v^t} \Delta \eta_i}{kT}}}{\sum_{\nu=1}^{\Omega} \pi_{C_v^{t,+}} F_{C_v^t}}$$

Hierbei ist $\Delta \eta_i = \eta_i^{(r)} - \eta_i^{(l)}$ die Differenz der elektrochemischen Potentiale der chemischen Spezies i in linker und rechter Lösung. Die Summen erstrecken sich über sämtliche Tracerzyklen C_v^t , mit $\nu = 1, \dots, \Omega$. Aus Gleichung (F-20) lässt sich ersehen, dass das Verhältnis der unidirektionalen Flüsse $\vec{j}_i / \overleftarrow{j}_i$ eine gewichtete Summe der Exponentialfunktionen $\exp(-M_{C_v^t} \Delta \eta_i / kT)$ ist und der Flussverhältnisexponent n_i als eine Art gewichtetes Mittel der Transportzahlen $M_{C_v^t}$ aller Tracerzyklen $C_v^{t,+}$ bzw. als die mittlere

¹Gleichung (F-20) wird unter Berücksichtigung der Wegscheiderbedingung (Anhang) unter anderem mit Hilfe der Beziehungen (F-14) und (G-2) und unter Anwendung der Gleichung (D-17) gewonnen.

Molekularität des unidirektionalen Teilchentransportes (d.h., die mittlere Anzahl der Teilchen, die bei einem Porendurchtritt „gemeinsam“ in einer Richtung durch den Kanal wandern) interpretiert werden kann [Heckmann 1972; Kohler 1979, 1980]. Der Wert von n_i liegt zwischen den minimal und maximal möglichen Werten von M_{C_i} [Kohler 1979, 1980]:

$$(F-21) \quad \min \left\{ M_{C_i} \mid \nu = 1, \dots, \Omega \right\} \leq n_i \leq \max \left\{ M_{C_i} \mid \nu = 1, \dots, \Omega \right\}$$

Liegt nur eine einzige durchtrittsfähige chemische Teilchenspezies i vor, findet man für eine m -Platz-Pore unter der Voraussetzung, dass während des Transportprozesses maximal eine Leerstelle auftritt, zwischen dem Betrag des Flussverhältnisexponenten n_i und der Anzahl m der Plätze folgenden Zusammenhang [Heckmann 1970, 1972; Kohler 1979, 1980]:

$$(F-22) \quad m - 1 \leq n_i \leq m$$

Bei ausreichend hohen Konzentrationen nimmt n_i den Grenzwert $n_i = m - 1$ an. Senkt man die Konzentrationen, nimmt die Einsprungrate ab und n_i kann seinen Maximalwert m annehmen. Für eine Zweiplatzpore bedeutet dies:

$$(F-23) \quad 1 \leq n_i \leq 2$$

Lässt man die Forderung von maximal einer Leerstelle fallen und setzt nur „ausreichend hohe“ Konzentrationen voraus („volle Poren“), können maximal zwei Leerstellen gleichzeitig vorliegen. Man erhält daraus als allgemeine Beziehung zwischen n_i und m :

$$(F-24) \quad \max(1, m - 3) \leq n_i \leq m - 1$$

Hierbei gilt

$$(F-25) \quad \begin{array}{ll} \max(1, m - 3) = 1 & m \leq 4 \\ \max(1, m - 3) = m - 3 & m \geq 4 \end{array}$$

Für $m=2$ erhält man mit $n_i=1$ den in Beziehung (F-23) für hohe Konzentrationen gültigen Grenzwert. Bei ausreichend niedrigen Konzentrationen ist die Pore im Mittel nur noch von maximal einem Teilchen besetzt, sodass keine Kopplung der Teilchenflüsse mehr stattfinden kann und der Flussverhältnisexponent mit $n_i=1$ den Grenzwert für freie Diffusion annimmt.

G Zustandsgraphen und Bestimmung der Teilchenflüsse

Wie in Kapitel F erläutert, werden die in dieser Arbeit durchgeführten Berechnungen auf der Grundlage graphentheoretischer Methoden nach T. L. Hill durchgeführt [Hill 1977]. Die Porenzustandswahrscheinlichkeiten p_α werden mit Hilfe von Gleichung (F-14) bestimmt, deren Kenntnis wie weiter unten erläutert die Berechnung der Teilchenflüsse j_i und \bar{j}_i^{\dagger} und damit des Flussverhältnisexponenten n_i auf der Grundlage von Beziehung (D-15) ermöglicht. Es werden die Flussverhältnisexponenten von Ionen sowohl in Einzelsalz- als auch Zweisalzlösung berechnet. Den symmetrischen Lösungen ist analog zu den Experimenten von L. V. Schagina und A. A. Lev et al. auf nur einer Seite, hier der linken, ein idealer Tracer („heißes“ Isotop) derjenigen chemischen Spezies in geringer Konzentration zugesetzt, deren Flussverhältnisexponent berechnet werden soll [Lev 1988; Schagina 1983, 1988a] (Kapitel D und I). Die den Berechnungen für die Einzelsalz- und Zweisalzlösungen zugrunde liegenden Graphen sind in Abbildung G-1 und Abbildung G-2 wiedergegeben. In Abbildung G-1, dem Übergangdiagramm für die Einzelsalzlösung, ist der Tracer die Teilchensorte 2, die der chemischen Spezies 1, dem „kalten“ Isotop, auf der linken Seite der Membran zugegeben ist. Im Fall der Zweisalzlösung ist der Spezies 2 in der linken Lösung als Tracer die Teilchensorte 3 zugegeben. Der zugehörige Graph ist in Abbildung G-2 dargestellt. Die Tracerteilchen besitzen als ideale Tracer dieselben Geschwindigkeitskonstanten wie die normalen Nichttracerteilchen. Da mit der Anzahl der Teilchensorten die Anzahl der Porenzustände und der zwischen ihnen bestehenden Übergänge stark anwächst, nimmt auch die Anzahl der zu bestimmenden Bäume, wie in Kapitel F erläutert, stark zu. Weil der Tracer nur in geringer Konzentration zugegeben wird, können Porenzustände mit mehr als einem Tracerteilchen ignoriert werden (Kapitel F und I). In beiden abgebildeten Graphen gilt entsprechend der in Kapitel F eingeführten Bezeichnungsweise für die reduzierten Geschwindigkeitskonstanten eines springenden Teilchens i :

$A(i,0)$: Einsprungkonstante 2. Ordnung in eine leere Pore

$A(i,i), A(i,j)$: Einsprungkonstante 2. Ordnung in eine mit i bzw. $j \neq i$ einfach besetzte Pore

$E(i,0)$: Ausprungkonstante 1. Ordnung aus einer einfach besetzten Pore

$E(i,i), E(i,j)$: Ausprungkonstante 1. Ordnung aus einer mit i bzw. i und $j \neq i$ doppelt besetzten Pore

$K(i)$: Platzwechselkonstante 1. Ordnung

$c_i^{(l)}, c_i^{(r)}$: Teilchenkonzentration der chemischen Spezies i in der Lösung links bzw. rechts der Membran

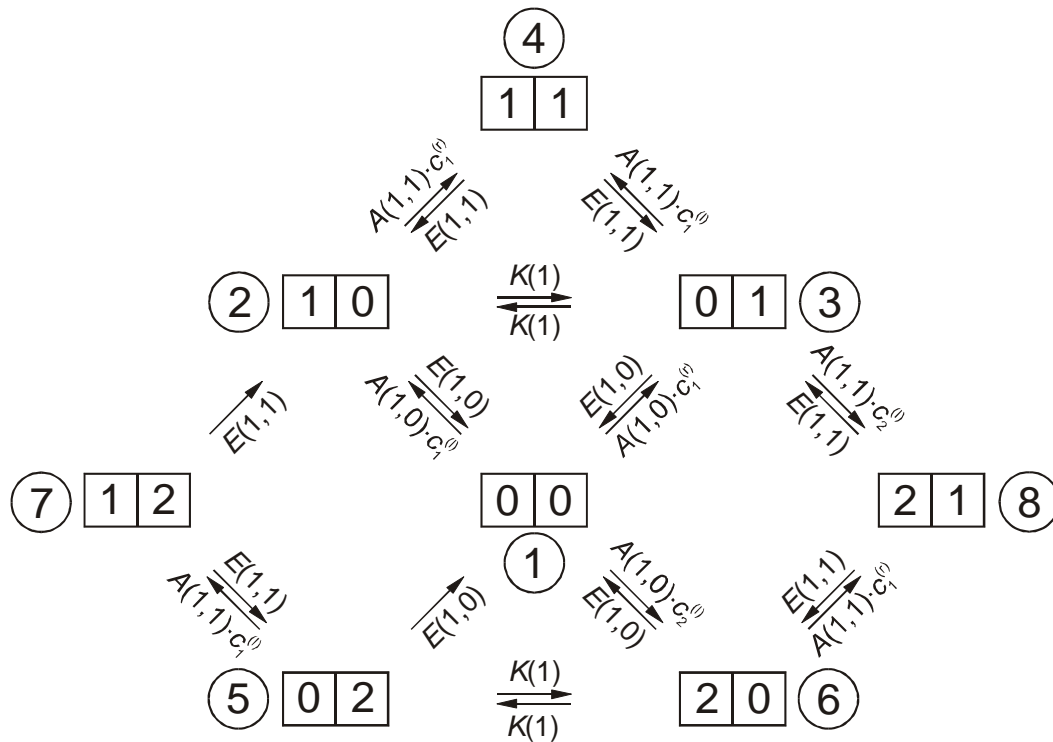


Abbildung G-1

Graph einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore für eine chemische Spezies 1 unter Zusatz eines idealen Tracers 2 auf der linken Seite der Membran.

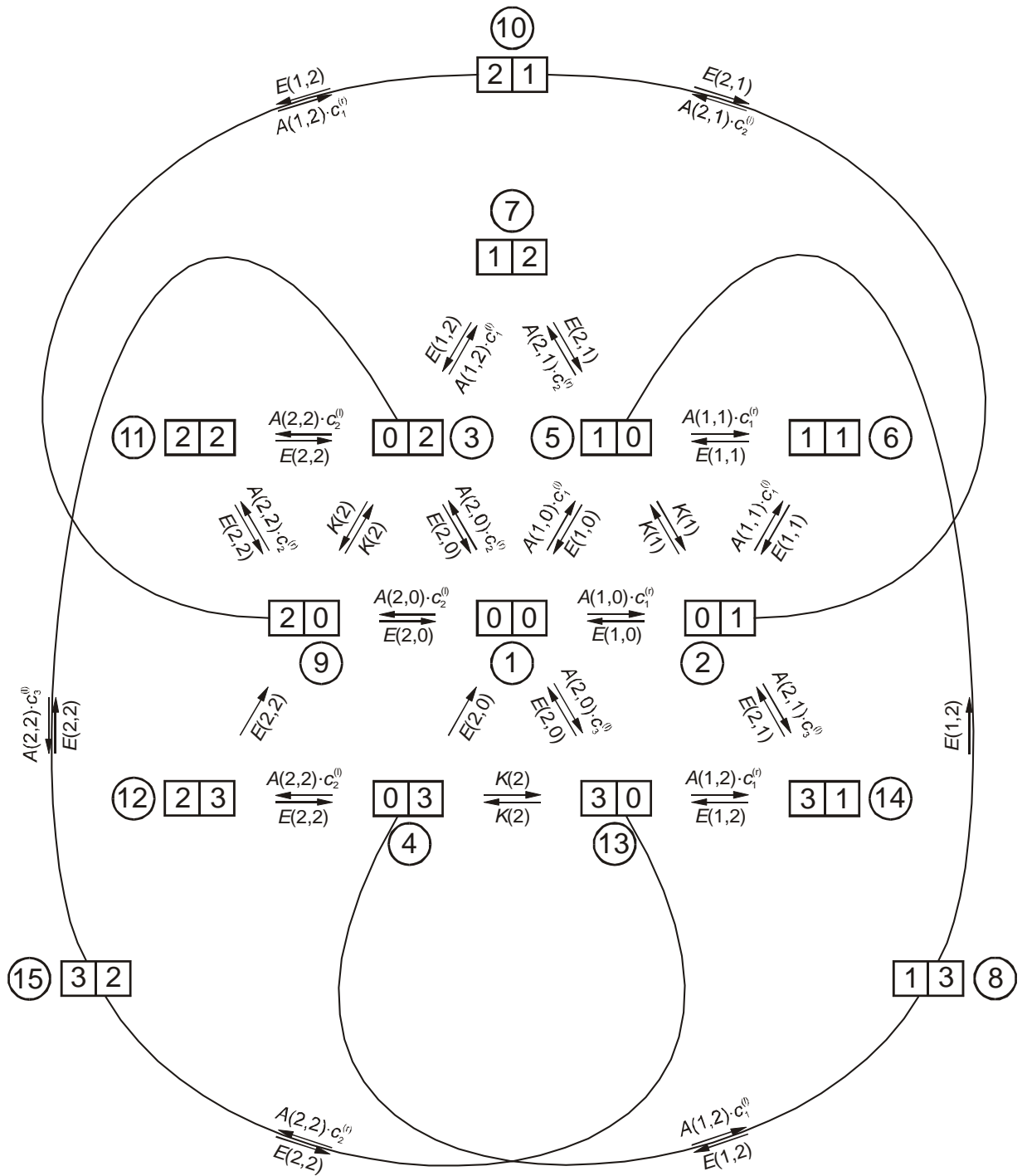


Abbildung G-2

Graph einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore für zwei chemische Spezies 1 und 2 unter Zusatz eines idealen Tracers 3 der Spezies 2. Der Tracer ist nur auf der linken Seite der Membran zugesetzt.

Der stationäre Nettofluss j_i einer Teilchenspezies i ist an allen Positionen x innerhalb des Ionenkanals gleich. Daher kann man für den Teilchenfluss $j_i(x)$ an der Stelle x mit den lokalen unidirektionalen Flüssen $\vec{j}_i(x)$ und $\overleftarrow{j}_i(x)$ gemäß Gleichung (D-1) schreiben:

$$(G-1) \quad j_i = \vec{j}_i - \overleftarrow{j}_i = j_i(x) = \vec{j}_i(x) - \overleftarrow{j}_i(x)$$

Der Teilchenfluss $j_i = j_i(x)$ ist gleich der Nettosprungrate der Teilchensorte i durch eine Registrierebene an einer beliebigen Position x im Ionenkanal. Zur Ermittlung der Nettosprungrate wird die Anzahl der Sprünge von Teilchen der Spezies i pro Zeiteinheit durch eine Registrierebene zwischen zwei unmittelbar benachbarten Bindungsplätzen oder zwischen einem Randplatz und der angrenzenden Lösung in der Diffusionsrichtung von links nach rechts bestimmt und davon die entsprechende Sprungrate von rechts nach links abgezogen. Die unidirektionalen Sprungraten sind gleich den Flüssen $\vec{j}_i(x)$ und $\overleftarrow{j}_i(x)$. Mit einem Teilchensprung ist eindeutig ein Übergang von einem Porenbesetzungszustand α der Zustandswahrscheinlichkeit p_α in einen dazu benachbarten Zustand β der Wahrscheinlichkeit p_β mit der Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha\beta}$ verbunden. Daher ist der lokale unidirektionale Fluss $\vec{j}_i(x)$ gleich der Summe von Raten $k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ}$ von Sprüngen der Teilchenspezies i von links nach rechts, die von bestimmten Porenbesetzungszuständen α° ausgehen und in bestimmte, dazu benachbarte Zustände β° führen. Dementsprechend ist $\overleftarrow{j}_i(x)$ die Summe über die Sprungraten $k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ}$ von rechts nach links. Somit erhält man für den Teilchennettofluss $j_i(x)$ bzw. j_i :

$$(G-2) \quad j_i = j_i(x) = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ} - \sum_{(\beta^\circ, \alpha^\circ)} k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ}$$

wobei

$$(G-3) \quad \vec{j}_i(x) = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ} = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} \vec{j}_{\alpha^\circ\beta^\circ} \quad \text{und} \quad \overleftarrow{j}_i(x) = \sum_{(\beta^\circ, \alpha^\circ)} k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ} = \sum_{(\beta^\circ, \alpha^\circ)} \overleftarrow{j}_{\beta^\circ\alpha^\circ}$$

In Beziehung (G-3) wird berücksichtigt, dass die Sprungraten $k_{\alpha\beta} p_\alpha$ unidirektionale Wahrscheinlichkeitsflüsse $\vec{j}_{\alpha\beta} = k_{\alpha\beta} p_\alpha$ sind. Die Summen erstrecken sich über die geordneten Paare $(\alpha^\circ, \beta^\circ)$ bzw. $(\beta^\circ, \alpha^\circ)$ benachbarter Porenzustände α° und β° . Bilanziert man die Sprungraten zwischen zwei benachbarten Bindungsplätzen, so sind die Zustandspaare $(\alpha^\circ, \beta^\circ)$ dadurch charakterisiert, dass sich im Porenzustand α° auf dem linken der beiden Bindungsplätze ein Teilchen der Sorte i befindet, während der rechte unbesetzt ist. Der Zustand β° geht aus dem Zustand α° durch den Sprung des Teilchens

i auf den rechten Platz hervor, sodass in den Porenzuständen α° und β° besetzter und unbesetzter Platz vertauscht sind. Findet der Teilchensprung zwischen Lösung und Porenrandplatz statt, gilt entsprechendes. Dabei ist zu berücksichtigen, dass Sprünge in die Lösung unabhängig von den Konzentrationen sind. Die Sprungraten der Teilchenspezies i aus der Lösung in die Pore sind proportional der Konzentration der springenden Teilchensorte (Kapitel F). Fasst man in Gleichung (G-2) die zum selben ungeordneten Zustandspaar $(\alpha^\circ, \beta^\circ)$ gehörigen Terme zusammen, erhält man den Teilchennettofluss j_i als Summe der lokalen Nettowahrscheinlichkeitsflüsse $j_{\alpha^\circ\beta^\circ} = \bar{j}_{\alpha^\circ\beta^\circ} - \bar{j}_{\beta^\circ\alpha^\circ}$:

$$(G-4) \quad j_i = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} (k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ} - k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ}) = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} (\bar{j}_{\alpha^\circ\beta^\circ} - \bar{j}_{\beta^\circ\alpha^\circ}) = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} j_{\alpha^\circ\beta^\circ}$$

Mit Hilfe der Gleichungen (G-4) und (F-18) lässt sich der Teilchenfluss j_i als Funktion von Zyklenflüssen $\bar{j}_{C_i^\pm}$ darstellen.

Als konkretes Beispiel zur Ermittlung von Teilchenflüssen j_i sei die Bestimmung des Nettoflusses der kalten Spezies j_1^c und des unidirektionalen Tracerflusses \bar{j}_1^t in Einzelsalzlösung in Verbindung mit dem zugehörigen Graphen in Abbildung G-1 erläutert. Zur Berechnung des Nettoflusses j_1^c verfährt man wie folgt:

1. Man legt die Position fest, an der man die Sprungrate der Teilchensorte 1 bilanzieren möchte. Im Beispiel wird eine Position zwischen dem rechten Platz und der angrenzenden Lösung gewählt.
2. Zur Berechnung der Sprungrate von links nach rechts, das ist die Summe

$$\sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ} = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} \bar{j}_{\alpha^\circ\beta^\circ},$$

werden alle Zustände α° gesucht, in denen auf dem rechten Platz der Pore ein Teilchen der Sorte 1 sitzt. Dies sind die Zustände 3, 4 und 8.

3. Die Sprungrate von links nach rechts ist in diesem Fall

$$\sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\alpha^\circ\beta^\circ} p_{\alpha^\circ} = k_{31} p_3 + k_{42} p_4 + k_{86} p_8 = E(1,0) p_3 + E(1,1) p_4 + E(1,1) p_8$$

Hierbei ist berücksichtigt, dass der Tracer (Teilchensorte 2) und das kalte Isotop dieselben kinetischen Eigenschaften besitzen. Daher gilt: $E(1,2) = E(1,1)$

4. Die Sprungrate von rechts nach links, in allgemeiner Formulierung die Summe

$$\sum_{(\beta^\circ, \alpha^\circ)} k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ} = \sum_{(\beta^\circ, \alpha^\circ)} \bar{j}_{\beta^\circ\alpha^\circ},$$

ist in diesem Beispiel

$$\sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\beta^\circ\alpha^\circ} p_{\beta^\circ} = k_{13} p_1 + k_{24} p_2 + k_{68} p_6 = A(1,0) \cdot c_1^{(r)} p_1 + A(1,1) \cdot c_1^{(r)} p_2 + A(1,1) \cdot c_1^{(r)} p_6$$

Hier gilt: $A(1,2) = A(1,1)$.

5. Der Teilchennettofluss j_1 ist gleich der Nettosprungrate, die sich aus der Sprungrate von links nach rechts, vermindert um die Sprungrate von rechts nach links, errechnet:

$$j_1 = k_{31} p_3 + k_{42} p_4 + k_{86} p_8 - k_{13} p_1 - k_{24} p_2 - k_{68} p_6$$

$$= E(1,0) p_3 + E(1,1) p_4 + E(1,1) p_8 - A(1,0) \cdot c_1^{(r)} p_1 - A(1,1) \cdot c_1^{(r)} p_2 - A(1,1) \cdot c_1^{(r)} p_6$$

Weil die Teilchensorte 2 als Tracer nur in der linken Lösung vorliegt, ist der Tracernettofluss $j_i^t = j_1^t = j_2$ identisch mit dem unidirektionalen Tracerfluss $\bar{j}_i^t = \bar{j}_1^t = \bar{j}_2$: $j_2 = \bar{j}_2$. Bilanziert man die Sprungraten der Tracerteilchen zwischen rechtem Porenplatz und rechter Lösung, treten ausschließlich solche Terme auf, die Aussprünge des Tracers in die rechte Lösung beschreiben:

$$\bar{j}_2 = \sum_{(\alpha^\circ, \beta^\circ)} k_{\alpha^\circ \beta^\circ} p_{\alpha^\circ} = k_{51} p_5 + k_{72} p_7 = E(1,0) p_5 + E(1,1) p_7$$

Die lokalen unidirektionalen Flüsse $\bar{j}_i(x)$ und $\bar{j}_i(x)$ sind i. a. nicht gleich den unidirektionalen Flüssen \bar{j}_i und \bar{j}_i , sondern enthalten zusätzliche Anteile $\Delta \bar{j}_i(x)$ und $\Delta \bar{j}_i(x)$, die sich zu Null addieren:

$$(G-5) \quad j_i = \bar{j}_i - \bar{j}_i = j_i(x) = \bar{j}_i(x) - \bar{j}_i(x) = \bar{j}_i + \Delta \bar{j}_i(x) - \bar{j}_i - \Delta \bar{j}_i(x)$$

Daraus folgt:

$$(G-6) \quad \Delta \bar{j}_i(x) - \Delta \bar{j}_i(x) = 0$$

Die zusätzlichen Anteile an den unidirektionalen Flüssen sind durch Platzwechsel am Ort x der Registrierebene verursacht, die in beiden Diffusionsrichtungen im zeitlichen Mittel gleich häufig auftreten und weder zum Nettofluss j_i noch zu den unidirektionalen Flüssen \bar{j}_i und \bar{j}_i einen Beitrag leisten.

Im obigen Beispiel der Bestimmung des Tracerflusses $j_i^t = \bar{j}_i^t$ können Teilchensprünge durch die an Position x befindliche Registrierebene nur von links nach rechts stattfinden.

Damit werden die Flüsse \bar{j}_i^t und $\bar{j}_i^t(x)$ gleich und es gilt:

$$(G-7) \quad j_i^t = \bar{j}_i^t = j_i^t(x) = \bar{j}_i^t(x)$$

Kennt man j_i^c und \bar{j}_i^t , lassen sich daraus alle anderen Flüsse der Teilchensorte i berechnen:

$$(G-8) \quad j_i = j_i^c + \bar{j}_i^t$$

$$(D-17) \quad \bar{j}_i^c = \frac{c_i^{c(0)}}{c_i^{t(0)}} \bar{j}_i^t$$

$$(D-18) \quad \bar{j}_i = \frac{c_i^{(0)}}{c_i^{t(0)}} \bar{j}_i^t = \frac{c_i^{c(0)} + c_i^{t(0)}}{c_i^{t(0)}} \bar{j}_i^t$$

$$(G-9) \quad \bar{j}_i^c = \bar{j}_i^c - j_i^c$$

$$(G-10) \quad \bar{j}_i = \bar{j}_i - j_i$$

Bei Kenntnis von j_i und \bar{j}_i erhält man mit Hilfe der Gleichung (D-7) bzw. (D-15) den Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ bzw. $n_{t,i}$.

H Bisherige theoretische Beschreibung experimenteller Befunde

S. K. Aityan et al. versuchen, die in Gleichung (E-4) wiedergegebene, von L. V. Schagina und A. A. Lev et al. an Gramicidin-A experimentell gefundene Beziehung zwischen den Flussverhältnisexponenten von Na^+ und Rb^+ in Zweisalz- und Einzelsalzlösung mit Hilfe des in Kapitel F vorgestellten kinetischen Modells der Teilchenpermeation durch eine symmetrische Zweiplatz-Single-File-Pore zu beschreiben [Aityan 1991]. Es werden symmetrische ideale Lösungen angenommen, sodass für jede chemische Ionenspezies i gilt $c_i^{(l)} = c_i^{(r)} = c_i$. Jede Wechselwirkung zwischen den Ionen innerhalb der Pore, die über die Konkurrenz um die Bindungsplätze hinausgeht, wird vernachlässigt. Dies bedeutet, dass für jede springende Ionensorte $i \neq j$ unabhängig vom Porenbesetzungszustand jeweils nur eine einzige reduzierte Ein- und Ausprungkonstante, $A(i)$ und $E(i)$, existiert:

$$(\text{H-1}) \quad A(i,0) = A(i,i) = A(i,j) \equiv A(i) \quad i, j \in \{1, 2\}, i \neq j$$

$$(\text{H-2}) \quad E(i,0) = E(i,i) = E(i,j) \equiv E(i) \quad i, j \in \{1, 2\}, i \neq j$$

Weiterhin wird von S. K. Aityan et al. vorausgesetzt, dass das Membranpotential Φ_M linear über die Pore hinweg abfällt und die Lage der Bindungsplätze und der Energiemaxima unabhängig vom Porenbesetzungszustand ist. Für die reduzierten Ausprungkonstanten wird angenommen, dass diese viel kleiner sind als die reduzierten Platzwechselkonstanten:

$$(\text{H-3}) \quad E(i) \ll K(i)$$

Zusätzlich zu Beziehung (H-3) soll gelten, dass die reduzierten Geschwindigkeitskonstanten für den Platzwechsel viel größer sind als die reduzierten Einsprungraten:

$$(\text{H-4}) \quad A(i) \cdot c_i \ll K(i)$$

Zusammenfassend wird demnach vorausgesetzt:

$$(H-5) \quad \{ K(1), K(2) \} \gg \{ A(1) \cdot c_1, A(2) \cdot c_2, E(1), E(2) \}$$

Verschiedene Anpassungen des Modells der Zweiplatz-Single-File-Pore [Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urban 1980; Urry 1980, 1986, 1986a; Hladky 1984; Thompson 2001] ergeben, dass die beim Platzwechsel eines Ions zu überwindende mittlere Energiebarriere meist viel niedriger ist als die für den Ausprung aus der einfach besetzten Pore zu überwindenden Randbarrieren. Das bedeutet:

$$(H-6) \quad E(i,0) \ll K(i)$$

Es ist zu beachten, dass verschiedene Autoren [Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urban 1980; Urry 1980, 1986, 1986a; Hladky 1984; Thompson, 2001] bei Anpassung der Modellparameter an die experimentellen Befunde zu dem Ergebnis kommen, dass im Bereich höherer Konzentrationen im Allgemeinen gilt:

$$(H-7) \quad A(i) \cdot c_i > K(i)$$

Das heißt, dass die Beziehungen (H-4) und (H-5) bei höheren Konzentrationen nicht mehr erfüllt sind. S. K. Aityan et al. weisen in einem späteren Artikel darauf hin, dass die Annahmen in den Gleichungen (H-1) und (H-2) qualitativ gerechtfertigt werden könnten [Aityan 1991a]:

1. Verschiedene Parameteranpassungen ergeben, dass die Unterschiede zwischen den Geschwindigkeitskonstanten für Sprünge in die unbesetzte und die einfach besetzte Pore im Allgemeinen klein sind [Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urban 1980; Urry 1980, 1986; Hladky 1984]. Dies stelle eine Rechtfertigung für die Annahme (H-1) dar.
2. Parameterabschätzungen zeigen, dass sich die Ausprungkonstanten für Sprünge aus dem einfach und dem doppelt besetzten Gramacidin-A-Kanal im Allgemeinen stark unterscheiden [Finkelstein 1981; Kohler 1983; Urban 1980; Urry 1980, 1986; Hladky 1984]. Jedoch findet man auch, dass der Einzelsalz-Flussverhältnisexponent $n_{s,i}$ bei verschwindendem Membranpotential Φ_M nicht von den Ausprungkonstanten $E(i,i)$ für die doppelt besetzte Pore abhängt [Kohler 1983; Urban 1979]. Deshalb könne man in Näherung von der Annahme ausgehen, dass auch der Zweisalz-Flussverhältnisexponent $n_{t,i}$ nicht von den Ausprungkonstanten aus dem doppelt

besetzten Ionenkanal abhängt. Damit dürfe die sehr weitgehende Annahme (H-2) mit $E(j) \equiv E(j,0)$ für die Berechnung der Flussverhältnisexponenten unkritisch sein.

Der Flussverhältnisexponent ist nicht von den Absolutwerten der Geschwindigkeitskonstanten abhängig, sondern wird ausschließlich von den später im Anhang definierten relativen kinetischen Parametern $r_{\alpha\beta}$ für den Übergang von einem Porenzustand α in einen dazu benachbarten β bestimmt [Kohler 1983]. Die Bestimmung dieser Parameter für das Modell der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore ergibt, dass die Ausprungkonstanten $E(i,j)$ tatsächlich auch für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten keine Rolle spielen, was jedoch nicht für das Verhältnis $E(2,1)/E(1,2)$ zutrifft. Daher ist die Annahme (H-2) ein Spezialfall und findet nur für den Fall $E(2,1)/E(1,2) = E(2,0)/E(1,0) \equiv E(2)/E(1)$ Berechtigung (Kapitel L.1.3).

In Übereinstimmung mit den Experimenten von L. V. Schagina und A. A. Lev et al. an symmetrischen Lösungen, in denen die Differenzen zwischen den elektrochemischen Potentialen der Ionen links und rechts der Membran durch Anlegen einer Membranspannung erzeugt werden, setzen S. K. Aityan et al. im Falle der Zweisalzlösung die Differenzen der elektrochemischen Potentiale für beide Kationenspezies 1 und 2 gleich an, sodass auch in ihren Berechnungen Gleichung (E-2) erfüllt ist [Lev 1988; Schagina 1983; Aityan 1991]. Damit ist gleichzeitig Bedingung (D-14) erfüllt.

Wie von S. K. Aityan et al. gezeigt wird, kann der in Beziehung (E-4) wiedergegebene experimentelle Befund mit Hilfe der durch die Annahmen (H-1), (H-2) und (H-5) gekennzeichneten analytischen Beschreibung qualitativ nicht richtig wiedergegeben werden [Aityan 1991]: Unter der Bedingung, dass die reduzierten Ausprungkonstanten $E(j)$ für beide Kationenspezies 1 und 2 gleich sind,

$$(H-8) \quad E(2) = E(1)$$

nehmen die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ identische Werte an:

$$(H-9) \quad n_{t,2} = n_{t,1}$$

Jedoch sind im Gegensatz zu dem experimentellen Befund die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten immer größer oder gleich den Flussverhältnisexponenten $n_{s,j}$ der Ionen in Einzelsalzlösung:

(H-10)

$$\{n_{s,1}, n_{s,2}\} \leq n_{t,1} = n_{t,2}$$

Die in Abbildung E-3 wiedergegebenen Histogramme werden von L. V. Schagina et al. und von S. K. Aityan et al. als möglicher Hinweis darauf interpretiert, dass in Zweisalz-lösungen der Ionenkanal in zwei Formen unterschiedlicher Leitfähigkeit vorliegt, deren Häufigkeit von den Konzentrationsverhältnissen der Salze NaCl und RbCl abhängt [Schagina 1988a; Aityan 1991a]. Um Übereinstimmung mit dem Experiment zu erhalten, wird von S. K. Aityan et al. in der oben erwähnten nachfolgenden Arbeit unter Beibehaltung der hier beschriebenen Modellannahmen daher angenommen, dass im Fall der Zweisalzlösung jeder Gramicidin-A-Kanal in zwei, relativ zur Zeitskala der Ionendiffusion durch den Kanal langlebigen Konformationen existieren kann, welche jeweils für das eine oder andere Ion bevorzugt durchlässig sind und in Abhängigkeit vom Konzentrationsverhältnis der Ionen ineinander übergehen können. Mit der Konformation ändert sich für eine gegebene Kationensorte das Energieprofil [Schagina 1988a; Lev 1988; Blasko 1988; Aityan 1991a]. Unter der Annahme, dass beide Kationen in der jeweiligen Konformation gleiche Ausstrungskonstanten besitzen (Gleichung (H-8)), kann Beziehung (E-4) erfüllt werden, wobei sowohl die experimentellen Zweisalz- als auch Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten durch Parameteranpassung quantitativ in befriedigender Weise beschrieben werden können [Aityan 1991a].

Die hier dargestellten, von S. K. Aityan et al. gewonnenen Ergebnisse sind wegen der einschränkenden Bedingung (H-4), die bei ausreichend großen Konzentrationen nicht mehr erfüllt ist, nicht als zwingende Konsequenz einer Beschreibung des Ionentransportes durch eine Single-File-Zweiplatzpore zu betrachten. Das gilt insbesondere für die Folgerung, dass, um die experimentellen Ergebnisse zumindest qualitativ richtig wiederzugeben, das Modell einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore mit fester Konformation nicht ausreicht. Darüber hinaus gibt es, wie im Kapitel C beschrieben, keine unabhängigen experimentellen Hinweise dafür, dass der Gramicidin-Kanal ionenabhängige, langlebige Konformationen besitzt. Für das Modell einer Single-File-Zweiplatzpore fester Konformation bleibt daher die Kinetik des Ionentransportes in Gegenwart zweier durchtrittsfähiger Kationen ohne die einschränkende Bedingung (H-4) genauer zu untersuchen, insbesondere bei höheren Konzentrationen, bei denen doppelt besetzte Ionenkanäle von Bedeutung sind.

I Numerische Ergebnisse

Um zu allgemeineren Aussagen über die Anwendbarkeit des kinetischen Modells einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore zu kommen, die in einer einzigen mittleren Konformation vorliegt, werden in Erweiterung des von S. K. Aityan et al. verwendeten Modells Berechnungen von Flussverhältnisexponenten durchgeführt, bei denen auf die experimentell nicht gestützten Annahmen (H-2) und (H-8) verzichtet und der durch Bedingung (H-4) gegebene Konzentrationsbereich verlassen wird. Es wird geprüft, ob es unter den erweiterten Nebenbedingungen möglich ist, die in Beziehung (E-4) formulierte Beziehung zwischen den gemessenen Einzel- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ und $n_{t,i}$ zweier Ionenspezies ($i = 1, 2$) qualitativ und quantitativ zu reproduzieren.

Die Flussverhältnisexponenten nach Definition (D-15) werden für den hier als „symmetrisches Gleichgewicht“ bezeichneten thermodynamischen Gleichgewichtszustand berechnet, der durch symmetrische Lösungen ($a_i^{(l)} = a_i^{(r)}$) und ein Membranpotential $\Phi_M = 0$ gekennzeichnet ist. Bei der für die Berechnung der Flussverhältnisexponenten notwendigen kleinen Auslenkung aus dem symmetrischen Gleichgewicht muß im Fall der Zweisalzlösungen Nebenbedingung (D-14) berücksichtigt werden. In Übereinstimmung mit den Experimenten von L. V. Schagina und A. A. Lev et al., in denen Beziehung (E-2) erfüllt ist und wie bei den Modellrechnungen von S. K. Aityan et al. werden die Differenzen der elektrochemischen Potentiale der beiden in Zweisalzlösung vorliegenden chemischen Spezies 1 und 2 gleich gesetzt [Lev 1988; Schagina 1983, 1988a; Aityan 1991]. Es werden wie bei S. K. Aityan et al. ideale Lösungen vorausgesetzt. Das Membranpotential Φ_M ist gleich Null. Die Differenz der elektrochemischen Potentiale einer permeierenden Ionenspezies i zwischen den Lösungen links und rechts der Membran wird durch kleine Konzentrationsdifferenzen $\Delta c_i = c_i^{(r)} - c_i^{(l)}$ erzeugt. Für die Konzentrationen zweier chemischer Spezies 1 und 2 in Zweisalzlösungen mit den Gesamtkonzentrationen $c^{(l)} = c_1^{(l)} + c_2^{(l)}$ bzw. $c^{(r)} = c_1^{(r)} + c_2^{(r)}$ gilt wegen Beziehung (E-2) in Verbindung mit $\Phi_M = 0$

$$(I-1) \quad c_2^{(l)}/c_2^{(r)} = c_1^{(l)}/c_1^{(r)} = c^{(l)}/c^{(r)}$$

bzw. mit $\Delta c = c^{(r)} - c^{(l)}$:

$$(I-2) \quad |\Delta c_2 / c_2^{(l)}| = |\Delta c_1 / c_1^{(l)}| = |\Delta c / c^{(l)}| \ll 1$$

Daher gilt für die Differenz der elektrochemischen Potentiale $\Delta\eta_i = \eta_i^{(r)} - \eta_i^{(l)}$ unter Anwendung der für $|x| \ll 1$ gültigen Näherung $\ln(1+x) \approx x$:

$$(I-3) \quad \Delta\eta_i = \Delta\mu_i = RT \ln\left(\frac{c_i^{(r)}}{c_i^{(l)}}\right) \approx RT \frac{\Delta c_i}{c_i^{(l)}}$$

Für den Flussverhältnisexponenten erhält man mit den Gleichungen (D-15), (D-8) und (I-3)

$$(I-4) \quad n_i = \lim_{\substack{\Delta c_k \rightarrow 0 \\ k=1,2,\dots}} \left[\frac{1}{\ln(\Delta c_i / c_i^{(l)})} \ln\left(1 - \frac{j_i}{\bar{j}_i}\right) \right] \approx - \frac{j_i / \bar{j}_i}{\Delta c_i / c_i^{(l)}}$$

Im Fall der Einzelsalzlösung gilt $i=k=1$. Die Flüsse j_i und \bar{j}_i werden wie in Kapitel G beschrieben bestimmt.

Der Einzelsalz-Flussverhältnisexponent $n_{s,i}$ kann für den Fall des symmetrischen Gleichgewichts ($\Phi_M=0$, $a_i^{(l)} = a_i^{(r)} = a_i$) mit Hilfe folgender Beziehung aus den reduzierten Geschwindigkeitskonstanten berechnet werden [Kohler 1983; Urban 1979]:

$$(I-5) \quad n_{s,i} = 1 + \frac{2(A(i,i)/K(i))a_i}{\left[2 + E(i,0)/K(i) + (A(i,i)/K(i))a_i\right] \left[2E(i,0)/K(i) + (A(i,i)/K(i))a_i\right]}$$

Der Einzelsalz-Flussverhältnisexponent $n_{s,i}$ hängt nur von dem Verhältnis $E(i,0)/K(i)$ und dem Produkt $(A(i,i)/K(i))a_i$ ab.

Es sei nochmals betont, dass die Differenzen $\Delta\eta_i$ in den Experimenten von L. V. Schagina et al. durch eine Membranspannung Φ_M erzeugt werden¹ (Kapitel E), während diese in den hier durchgeführten Berechnungen mit Hilfe von Konzentrationsdifferenzen verwirklicht werden. Weil es nur auf die $\Delta\eta_i$ ankommt, sind beide Wege gleichwertig.

Das in den Berechnungen für eine chemische Ionenspezies i gewählte Konzentrationsverhältnis $c_i^{(l)}/c_i^{(r)}$ ist gleich 1,001 oder 1,0001, d.h. $|\Delta c_i|/c_i^{(r)} = 10^{-3}$ oder 10^{-4} . Ist i die Ionenspezies, für die der zugehörige Flussverhältnisexponent $n_{s,i}$ bzw. $n_{t,i}$ berechnet wird, ist der Betrag der Konzentrationsdifferenz $|\Delta c_i|$ so gewählt, dass dieser gleich der

¹ Weil die experimentellen Flussverhältnisexponenten im Rahmen der Messgenauigkeit nicht von Φ_M abhängig sind, entsprechen ihre Werte der Situation des symmetrischen Gleichgewichts von Definition (D-6) bzw. (D-15).

Tracerkonzentration c_i^t ist, die der linken Lösung zugegeben wird. Weil in den Berechnungen nahezu symmetrische Lösungen vorliegen, bleibt im Folgenden die Abweichung von der symmetrischen Konzentrationsverteilung im Allgemeinen unberücksichtigt.

Kation i		Na ⁺	Rb ⁺
Einsprungkonstante $A(i) / (\text{Imol}^{-1} \text{s}^{-1})$		$6,4 \cdot 10^7$	$1,8 \cdot 10^8$
Platzwechselkonstante $K(i) / \text{s}^{-1}$		$7,9 \cdot 10^5$	$6,0 \cdot 10^7$
Ausprungkonstanten	$E(i,0) / \text{s}^{-1}$	$7,8 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^4$
	$E(i,i) / \text{s}^{-1}$	$6,4 \cdot 10^9$	$1,8 \cdot 10^{10}$
	$E(i, j \neq i) / \text{s}^{-1}$	$1,20 \cdot 10^{10}$ ($E(\text{Na}, \text{Rb})$)	$9,25 \cdot 10^9$ ($E(\text{Rb}, \text{Na})$)

Tabelle I-1

Geschwindigkeitskonstanten für die Berechnung der Flussverhältnisexponenten von Na⁺ und Rb⁺ mit Hilfe des kinetischen Modells einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore. Kinetische Parameter, die nur von einer einzigen chemischen Spezies i abhängen, sind aus einer Modellanpassung an die experimentellen Ergebnisse von L. V. Schagina et al. gewonnen² [Kohler 1983; Schagina 1983]. Die von beiden Spezies abhängigen Ausprungkonstanten $E(i, j \neq i)$ werden mit Hilfe von Beziehung (I-6) berechnet.

In Verallgemeinerung des von S. K. Aityan et al. verwendeten Ansatzes wird der Einfluss eines sich auf einem Bindungsplatz befindlichen zweiten Ions auf die Geschwindigkeitskonstanten des springenden Ions i berücksichtigt. Dieser Einfluss kommt im verwendeten Parametersatz von Tabelle I-1 jedoch nur in den Ausprungkonstanten $E(i,i)$ und

² Die in der Arbeit von H.-H. Kohler in der Einheit $\text{kg mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ (Konzentrations Einheit Molalität) angegebenen Einsprungkonstanten werden in ihrem Zahlenwert unverändert übernommen und mit der Einheit $\text{Imol}^{-1} \text{s}^{-1}$ (Konzentrations Einheit Molarität) verwendet [Kohler 1983]. Die in den Berechnungen gemachte Annahme idealer Lösungen ist unter diesem Gesichtspunkt von größerem Einfluß, ist jedoch hinsichtlich der relativ großen Messfehler tolerierbar.

$E(i,j)$, die mit Ausprägungen eines Teilchens der Sorte $i \neq j$ aus der doppelt besetzten Pore verbunden sind, zum Tragen. Denn mit der gleichen Begründung wie der von S. K. Aityan et al. wird für jede durchtrittsfähige chemische Teilchenspezies i unabhängig vom Porenbesetzungszustand nur eine einzige Einsprungkonstante $A(i)$ und damit die Gültigkeit von Gleichung (H-1) angenommen. Die den Berechnungen zugrunde liegenden Geschwindigkeitskonstanten, die nur von der springenden chemischen Spezies i abhängen, sind aus einer Modellanpassung an die Ergebnisse von Messungen von L. V. Schagina et al. an Gramicidin-A, eingelagert in eine OBL-Membran (**ox brain lipid**) und in Gegenwart von Einzelsalzlösungen, gewonnen [Kohler 1983; Schagina 1983]. Weil keine experimentellen Daten für die „gemischten“ Parameter $E(i, j \neq i)$ vorliegen, werden diese auf der Grundlage einer vereinfachenden Annahme berechnet: Der Einfluss eines zweiten in der Pore befindlichen Ions der Sorte $j \neq i$ auf die Kinetik des springenden Teilchens der Sorte i wird auf die interionische Wechselwirkung abgebildet und als rein elektrostatische Abstoßung zwischen zwei Ionen verschiedener effektiver Ladung beschrieben. Unter dieser Annahme lassen sich mit Hilfe der Theorie des Übergangszustandes nach Eyring die Ausprägungskonstanten $E(i, j \neq i)$ zweier Ionenspezies 1 und 2, wobei $i, j = 1, 2$, aus den experimentell gewonnenen Geschwindigkeitskonstanten $E(i, 0)$ und $E(i, i)$ berechnen [Kohler 1980c]:

$$(1-6) \quad \lg\left(\frac{E(2,1)}{E(2,0)}\right) = \lg\left(\frac{E(1,2)}{E(1,0)}\right) = \sqrt{\lg\left(\frac{E(2,2)}{E(2,0)}\right) \lg\left(\frac{E(1,1)}{E(1,0)}\right)}$$

Die Wegscheiderbedingung ist mit dieser Beziehung erfüllt (Anhang L.1) [Kohler 1980c]. Weil im verwendeten Modell die interionische elektrostatische Abstoßung die Aktivierungsenergie für den Ausprung aus dem doppelt besetzten Gramicidin-Kanal erniedrigt, erhält man für die Ausprungraten:

$$(1-7) \quad E(i,0) < E(i,i) \neq E(i,j) \quad i, j = 1, 2; \quad i \neq j$$

Insgesamt ergibt sich für die Berechnungen der Flussverhältnisexponenten von Na^+ und Rb^+ in Einzelsalz- und Zweisalzlösung der in Tabelle I-1 wiedergegebene Satz kinetischer Parameter [Kohler 1983].

Die für Einzelsalz- und Zweisalzlösungen verwendeten Übergangsdigramme sind in den Abbildungen G-1 und G-2 wiedergegeben. In Abbildung I-1 sind die berechneten Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_s und n_t von Na^+ und Rb^+ dargestellt.

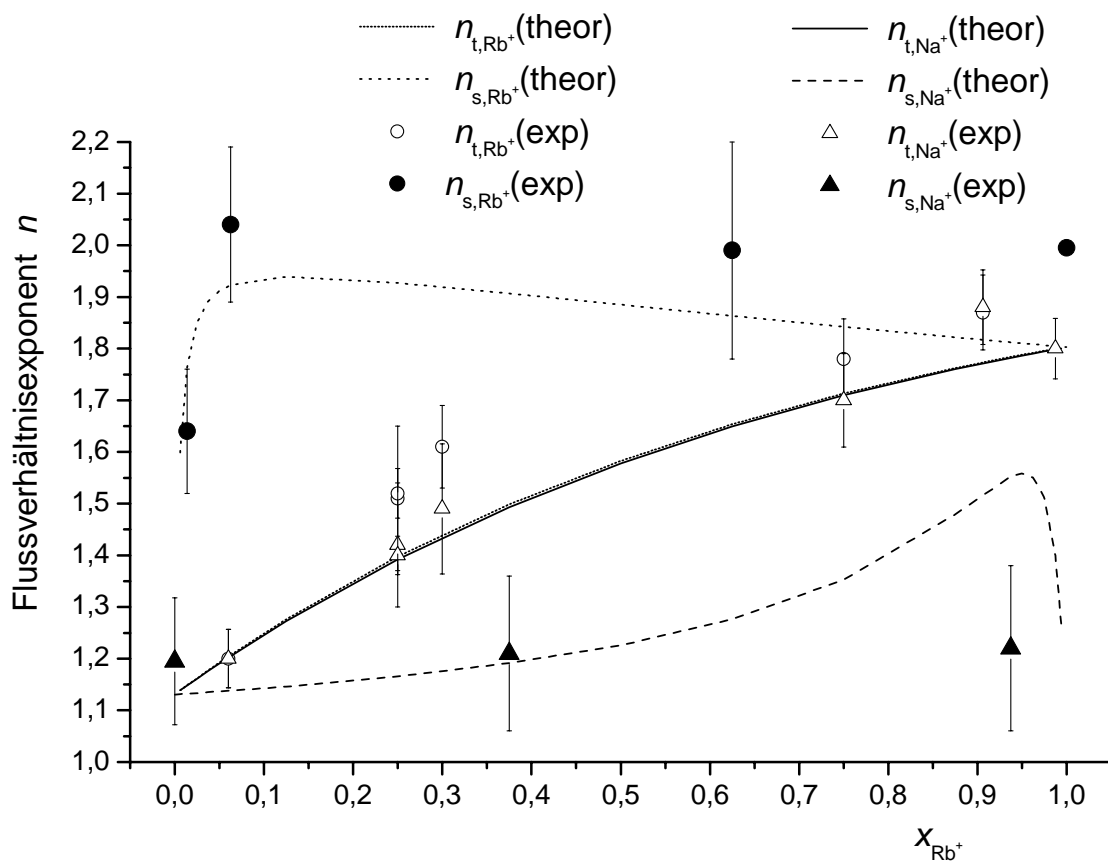


Abbildung I-1

Berechnete Flussverhältnisexponenten n_t und n_s von Na^+ und Rb^+ ($n(\text{theor})$) bei einer Gesamtkationenkonzentration $c = c_{Rb} + c_{Na}$ von 160 mmol l^{-1} auf beiden Seiten der Membran. Die Konzentrationen eines Kations i sind auf beiden Seiten der Membran gleich. Auf der Abszisse ist der molare Anteil von Rb^+ , x_{Rb} , an der Gesamtkationenkonzentration aufgetragen, wobei gilt: $x_{Rb} = c_{Rb} / (c_{Rb} + c_{Na})$. Die entsprechenden experimentellen Flussverhältnisexponenten ($n(\text{exp})$) sind mit Fehlerbalken (Standardabweichung) dargestellt [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988].

Entsprechend dem Experiment sind die n_t für eine Gesamtkationenkonzentration von jeweils 160 mmol l^{-1} auf beiden³ Seiten der Membran berechnet, wobei das Verhältnis

³ Es sei erinnert, dass die Lösungen nur nahezu symmetrisch sind. Die Gesamtkationenkonzentration ist bei Variation des Konzentrationsverhältnisses der Kationen nur auf der rechten Seite der Membran konstant bei 160 mmol l^{-1} .

der beiden Kationenkonzentrationen zueinander variiert wird. Auf der Abszisse ist der molare Anteil von Rb^+ , x_{Rb} , an der Gesamtkationenkonzentration aufgetragen. Dabei gilt $x_{\text{Rb}} = c_{\text{Rb}} / (c_{\text{Rb}} + c_{\text{Na}})$. Zum Vergleich sind auch die experimentellen Flussverhältnisexponenten eingezeichnet [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988].

Die berechneten Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten von Rb^+ stimmen im Rahmen der Messgenauigkeit mit den experimentellen Werten überein. Bei den entsprechenden Werten von Na^+ ist die Übereinstimmung nur bei den höheren Na^+ -Konzentrationen gegeben. Wichtig ist vor allem, dass die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten qualitativ richtig wiedergegeben werden. Im Rahmen der Messgenauigkeit stimmen die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten auch quantitativ mit den experimentellen Werten überein. Es wird in guter Übereinstimmung mit Beziehung (E-4) gefunden:

$$(\text{I-8}) \quad n_{\text{s,Na}} < n_{\text{t,Na}} \approx n_{\text{t,Rb}} < n_{\text{s,Rb}}$$

Anzumerken ist, dass die Angaben der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten für $c_{\text{Na}} = 40 \text{ mmol l}^{-1}$ und $c_{\text{Rb}} = 120 \text{ mmol l}^{-1}$ ($x_{\text{Rb}} = 0,75$) in verschiedenen Artikeln einander deutlich widersprechen. In den entsprechenden Abbildungen der Artikel von S. K. Aityan et al. und L. V. Schagina et al. sind die Werte der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_t von Na^+ und Rb^+ gegenüber den in der Veröffentlichung von A. A. Lev et al. abgebildeten Werten vertauscht [Aityan 1991; Schagina 1988, 1988a; Lev 1988]. Außerdem findet man bei S. K. Aityan et al. [Aityan 1991] und einem der Artikel von L. V. Schagina et al. [Schagina 1988a] bei einem molaren Anteil der Rb^+ -Ionen an der Gesamtkationenkonzentration von $x_{\text{Rb}} \approx 0,9$ ($c_{\text{Na}} = 15 \text{ mmol l}^{-1}$, $c_{\text{Rb}} = 145 \text{ mmol l}^{-1}$) für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{\text{t,Na}} < n_{\text{t,Rb}}$, während man in einer anderen Veröffentlichung von L. V. Schagina et al. [Schagina 1988] $n_{\text{t,Na}} \approx n_{\text{t,Rb}}$ findet, ähnlich zu den Angaben von A. A. Lev et al. [Lev 1988], wo $n_{\text{t,Na}} \gtrsim n_{\text{t,Rb}}$. Angesichts der großen Messfehler sind diese Unterschiede in den Angaben weniger bedeutend und ändern nichts an der Aussage, dass experimentell in Näherung Beziehung (E-4) gefunden wird. Abbildung I-2 zeigt für denselben Parametersatz wie in Abbildung I-1 die Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten von Na^+ und Rb^+ über einen Konzentrationsbereich von sechs Dekaden. Im Fall der Zweisalzlösung ist die Konzentration von Na^+ dreimal so groß wie die von Rb^+ ($x_{\text{Rb}} = 0,25$).

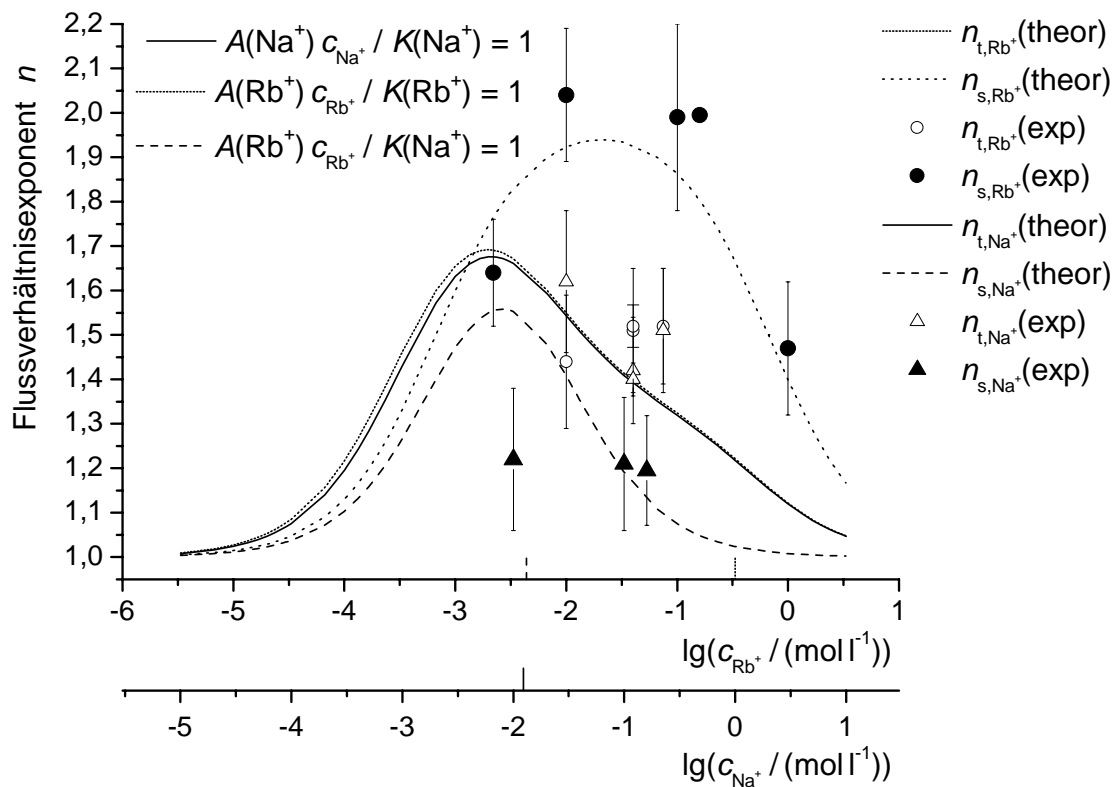


Abbildung I-2

Mit den in Tabelle I-1 aufgeführten Parametern berechnete Flussverhältnisexponenten n_s und n_t von Na^+ und Rb^+ ($n(\text{theor})$). Im Fall der Zweisalzlösung ist die Konzentration von Na^+ dreimal so groß wie die von Rb^+ , d.h. $c_{\text{Rb}}/c_{\text{Na}} = 1/3$. Die entsprechenden experimentellen Flussverhältnisexponenten ($n(\text{exp})$) sind mit Fehlerbalken (Standardabweichung) dargestellt [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988].

Die zum Vergleich eingezeichneten experimentellen Flussverhältnisexponenten⁴ werden durch die theoretischen Werte im Wesentlichen quantitativ richtig wiedergegeben [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988]. Im Gegensatz zum Experiment ergeben

⁴ Jedoch fällt bei den experimentellen Werten auf, dass in Zweisalzlösung bei $c_{\text{Rb}} = 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ und $c_{\text{Na}} = 3 \cdot 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ $n_{t,\text{Na}}$ deutlich größer ist als $n_{t,\text{Rb}}$, im Gegensatz zu allen anderen experimentellen Werten von $n_{t,\text{Na}}$ und $n_{t,\text{Rb}}$, die in den Abbildungen I-1 und I-2 wiedergegeben sind. Dort gilt $n_{t,\text{Rb}} > n_{t,\text{Na}}$ oder $n_{t,\text{Rb}} < n_{t,\text{Na}}$ mit $n_{t,\text{Rb}} \approx n_{t,\text{Na}}$. Im Rahmen der experimentellen Fehlerbereiche gilt jedoch auch hier: $n_{t,\text{Rb}} \approx n_{t,\text{Na}}$.

die Berechnungen für den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten von Na^+ ein deutliches Maximum ($n_{s,\text{Na}}(\text{max}) \approx 1,55$), während experimentell kein Maximum gefunden wird ($n_{s,\text{Na}} \approx 1,2$)⁵.

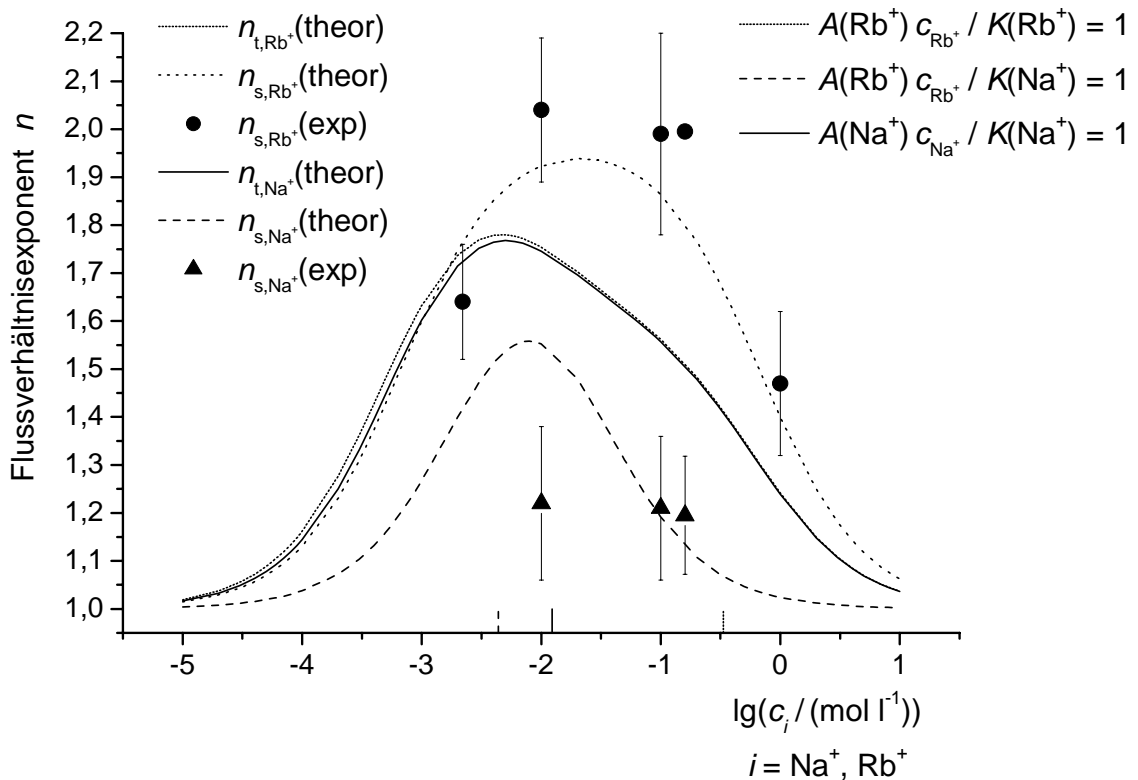


Abbildung I-3

Mit den in Tabelle I-1 aufgeführten Parametern berechnete n_s und n_t von Na^+ und Rb^+ ($n(\text{theor})$). Im Fall der Zweisalzlösung sind die Konzentrationen der beiden Kationen gleich groß: $c_{\text{Rb}^+}/c_{\text{Na}^+} = 1$. Die entsprechenden experimentellen Flussverhältnisexponenten ($n(\text{exp})$) sind mit Fehlerbalken (Standardabweichung) dargestellt [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988].

Zur Orientierung hinsichtlich der Voraussetzung (H-4), die S. K. Aityan et al. in ihren Berechnungen machen, sind in Abbildung I-2 wie auch in Abbildung I-3 an der x-Achse

⁵ Für den fraglichen Konzentrationsbereich liegt jedoch nur ein einziger experimenteller Wert vor, so dass dieser Wert durch weitere Messungen in diesem Konzentrationsbereich zu überprüfen wäre.

Markierungen angebracht, die anzeigen, bei welchen Konzentrationen die Verhältnisse $A(\text{Rb}) \cdot c_{\text{Rb}} / K(\text{Rb})$, $A(\text{Na}) \cdot c_{\text{Na}} / K(\text{Na})$ bzw. $A(\text{Rb}) \cdot c_{\text{Rb}} / K(\text{Na})$ gleich 1 sind [Aityan 1991, 1991a]. Es wird auch das Verhältnis $A(\text{Rb}) \cdot c_{\text{Rb}} / K(\text{Na})$ berücksichtigt, das, wie im Anhang (Kapitel L.1) beschrieben, neben dem Quotienten $A(\text{Na}) \cdot c_{\text{Na}} / K(\text{Rb})$ zu dem Satz unabhängiger Parameter gehört, der die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,\text{Na}}$ und $n_{t,\text{Rb}}$ bestimmt. Wegen $A(\text{Rb}) > A(\text{Na})$ und $K(\text{Na}) < K(\text{Rb})$ ermöglicht dieses Verhältnis eine Abschätzung für den untersten Konzentrationsbereich, bei dem die der Voraussetzung (H-4) entsprechende Bedingung $A(j) \cdot c_j \ll K(j \neq i)$ verlassen wird. (Die Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,\text{Rb}}$ und $n_{s,\text{Na}}$ werden gemäß Gleichung (I-5) durch die Verhältnisse $A(\text{Rb}) \cdot c_{\text{Rb}} / K(\text{Rb})$ bzw. $A(\text{Na}) \cdot c_{\text{Na}} / K(\text{Na})$ mitbestimmt.)

Die in Abbildung I-3 dargestellten Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten von Na^+ und Rb^+ sind im Unterschied zu Abbildung I-2 für das Konzentrationsverhältnis $c_{\text{Rb}}/c_{\text{Na}} = 1/1$ berechnet. Auch hier sind zum Vergleich die zur Verfügung stehenden experimentellen Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten eingezeichnet [Aityan 1991; Lev 1988; Schagina 1983, 1988]. Experimentelle Zweisalz-Flussverhältnisexponenten liegen für $x_{\text{Rb}} = 0,5$ nicht vor. In Abbildung I-1 bis Abbildung I-3 kann man erkennen, dass die Lage der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten n_t relativ zu den entsprechenden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten n_s von den Konzentrationen abhängig ist. Bei ausreichend hohen Konzentrationen gilt in qualitativer Übereinstimmung mit dem Experiment Beziehung (I-8) bzw. (E-4). Sind dagegen die Konzentrationen niedriger, so findet man wie in der Beschreibung von S. K. Aityan et al. Beziehung (H-10) erfüllt [Aityan 1991].

J Vergleich von numerischen Ergebnissen und Experiment

Das wichtigste Ergebnis der in den Abbildungen I-1 bis I-3 gezeigten Berechnungen ist, dass die theoretischen Flussverhältnisexponenten eine qualitative, in großen Teilen im Rahmen der experimentellen Genauigkeit auch quantitative Übereinstimmung sowohl mit den Einzelsalz- als auch mit den Zweisalz-Flussverhältnisexponenten von Na^+ und Rb^+ aufweisen. Somit wird Beziehung (E-4) durch die theoretischen Werte qualitativ richtig wiedergegeben. Eine Ausnahme bildet der Einzelsalz-Flussverhältnisexponent von Na^+ bei einer Natrium-Konzentration c_{Na} von $10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$. Im Experiment findet man in allen vermessenen Konzentrationsbereichen für $n_{\text{s,Na}}$ einen konstanten Wert von 1,2 , während die theoretischen Werte nahe bei $c_{\text{Na}} = 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ ein deutliches Maximum bei ca. 1,55 aufweisen. Weil in dem Konzentrationsbereich, in dem die deutliche Abweichung zwischen theoretischem und experimentellem Flussverhältnisexponent $n_{\text{s,Na}}$ auftritt, nur ein einziger experimenteller Wert vorliegt, sollten im fraglichen Konzentrationsbereich weitere Messungen durchgeführt werden. Die experimentellen Ergebnisse verschiedener Arbeitsgruppen hinsichtlich der Frage, ob der Gramicidin-Kanal zwei Na^+ -Ionen aufnehmen kann bzw. in welchem Ausmaß dieser durch Na^+ bei gegebener Konzentration doppelt besetzt ist, sind uneinheitlich [Urban 1980; Finkelstein 1981; Kohler 1983; Heinemann 1989; Jing 1995; Thompson 2001]. Bei Messungen an Black-Lipid-Membranen (BLM) aus Diphytanoylphosphatidylcholin werden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{\text{s,Na}} \approx 1$ gemessen [Procopio 1979]. In Übereinstimmung damit wird argumentiert, dass der Gramicidin-Kanal maximal durch ein Na^+ -Ion besetzt ist [Finkelstein 1981]. Die Analyse von Stromfluktuationen an Gramicidin in GMO-Lipiddoppelschichten weist darauf hin, dass eine Doppelbesetzung durch Na^+ in nur sehr geringem Ausmaß stattfindet [Heinemann 1989]. Demgegenüber stehen Ergebnisse aus NMR-Untersuchungen, die für höhere Natrium-Konzentrationen die Bindung zweier Na^+ -Ionen in der Gramicidin-Pore nahelegen (vgl. Tabelle C-3) [Jing 1995; Tian 1999]. Modellanpassungen liefern unterschiedliche Resultate [Kohler 1983; Thompson 2001]. Die Abbildungen I-2 und I-3 deuten darauf hin, dass das Aussehen der theoretischen Kurven für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{\text{t,Na}}(\lg(c_{\text{Na}}/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{\text{t,Rb}}(\lg(c_{\text{Rb}}/(\text{mol l}^{-1})))$, von der relativen Verschiebung der beiden berechneten Kurven der entsprechenden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{\text{s,Na}}$ und $n_{\text{s,Rb}}$ entlang der Abszisse abhängig ist (Anhang L.4). Jede der beiden Funktionen $n_{\text{t,Na}}(\lg(c_{\text{Na}}/(\text{mol l}^{-1})))$

und $n_{t,Rb}(\lg(c_{Rb}/(\text{mol l}^{-1})))$ zeigt eine Abweichung von der symmetrischen Glockenform in Verbindung mit einer Schulter. Die berechneten Zweisalz-Flussverhältnisexponenten der beiden Kationen liegen sehr nahe beieinander und erfüllen somit in guter Näherung den experimentellen Befund $n_{t,Na} = n_{t,Rb}$ (vgl. Beziehung (E-4)). Dieses Ergebnis, zusammen mit der Tatsache, dass sich sowohl die reduzierten Aussprungkonstanten $E(\text{Na},0)$ und $E(\text{Rb},0)$ als auch die „gemischten“ reduzierten Aussprungkonstanten $E(\text{Na}, \text{Rb})$ und $E(\text{Rb}, \text{Na})$ nur um den Faktor 1,3 unterscheiden (Tabelle I-1), scheint qualitativ Bedingung (H-8) zu bestätigen, die in den Modellrechnungen von S. K. Aityan et al. eine notwendige Voraussetzung für die Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten darstellt (vgl. Beziehung (J-2)). Im Anhang wird dargelegt, dass der Quotient $E(\text{Rb}, \text{Na})/E(\text{Na}, \text{Rb})$ zum Satz der unabhängigen Parameter gehört, der für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten bestimmend ist. Dagegen sind die Aussprungkonstanten $E(\text{Na},0)$ und $E(\text{Rb},0)$ nur in Kombination mit den Platzwechselkonstanten $K(\text{Na})$ bzw. $K(\text{Rb})$ unabhängige Parameter, sowohl für die Einzelsalz- als auch Zweisalz-Flussverhältnisexponenten (Gleichung (I-5) und Anhang L.1). Die Aussprungkonstanten $E(\text{Rb}, \text{Rb})$ und $E(\text{Na}, \text{Na})$ spielen weder für die Einzelsalz- noch für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten eine Rolle (Anhang L.1). Somit scheint die für eine Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ zweier chemischer Spezies 1 und 2 notwendige Voraussetzung (H-8) durch die konkretere Bedingung

$$(J-1) \quad E(2, 1) / E(1, 2) = 1$$

ersetzbar zu sein. Wegen der erwähnten unabhängigen Parameterkombinationen und weil mit Gleichung (I-6) für die Aussprungkonstanten zweier Ionenspezies 1 und 2 gilt

$$(J-2) \quad E(2,0) / E(1,0) = E(2, 1) / E(1, 2)$$

folgt: Die von S. K. Aityan et al. gemachte Annahme, dass eine Kationenspezies i nur eine einzige Aussprungkonstante $E(i)$ besitzt (Gleichung (H-2)) und die Verwendung vom Besetzungszustand der Pore abhängiger Aussprungkonstanten, wobei die „gemischten“ Größen $E(1, 2)$ und $E(2, 1)$ nach Gleichung (I-6) berechnet werden (Tabelle I-1), sind hinsichtlich der Werte der Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten äquivalent. Diese Äquivalenz findet sich in numerischen Berechnungen bestätigt (Anhang L.1.3).

Die in den Abbildungen I-2 und I-3 dargestellten Rechenergebnisse lassen erkennen, dass in Abhängigkeit vom Konzentrationsbereich die wenig voneinander verschiedenen Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,Rb}$ und $n_{t,Na}$ entweder, analog zum experimentellen Befund (E-4), zwischen den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,Rb}$ und $n_{s,Na}$ liegen können oder analog zu Beziehung (H-10) darüber. Im Geltungsbereich von Ungleichung (H-4) findet man das rechnerische Ergebnis von S. K. Aityan et al., Beziehung (H-10), qualitativ bestätigt. Verläßt man diesen Bereich, indem man die Konzentrationen erhöht, kommen die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten in qualitativer Übereinstimmung mit der experimentell gefundenen Beziehung (E-4) zwischen den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten zu liegen¹.

Insgesamt lässt sich aus den in dieser Arbeit durchgeführten Berechnungen schließen, dass die experimentellen Ergebnisse von Schagina und Mitarbeitern durch das Modell der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore qualitativ nicht richtig wiedergegeben werden, solange Bedingung (H-4) gilt. Verzichtet man auf diese Bedingung, so kann der durch Beziehung (E-4) wiedergegebene experimentelle Befund erfüllt werden. Folglich ist es zur Erfüllung von Beziehung (E-4) nicht notwendig, verschiedene Konformationen unterschiedlicher Ionenleitfähigkeit anzunehmen, zwischen denen ein einzelner Ionenkanal wechseln kann. Zur qualitativ richtigen Wiedergabe der relativen Lage der experimentellen Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten reicht das Modell der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore mit fester Konformation völlig aus.

Die Interpretation der in Abbildung E-3 dargestellten Leitfähigkeits-Histogramme als Hinweis auf zwei unterschiedliche, ionenabhängige Konformationen des Gramacidin-Kanals ist zu hinterfragen [Lev 1988; Blasko 1988; Schagina 1988a; Aityan 1991a]. Denn die Werte der Leitfähigkeitsmaxima in den Histogrammen der Einzelsalzlösungen entsprechen nicht den beiden Maximalwerten, die in Zweisalzlösung gefunden werden (G_{mf} in den Tabellen E-1 und E-2). Zudem gibt es keine unabhängigen experimentellen Hinweise darauf, dass der Gramacidin-Kanal ionenabhängige Konformationen einnimmt. Vielmehr zeigen Alkaliionen auf Struktur und Dynamik des Gramacidin-Kanals einschließlich der Tryptophanseitenketten wenig Einfluss (Kapitel C.4). Weiterhin stellt sich die Frage, ob die beiden Maxima im Histogramm der Zweisalzlösung signifikant und reproduzierbar sind. Vergleicht man Leitfähigkeitshistogramme von Gramacidin in Gegenwart

¹ Die in den Abbildungen I-2 und I-3 zur Orientierung an den Abszissen angebrachten Markierungen zeigen an, bei welchen Konzentrationen gilt $A(i) \cdot c_i = K(i)$, $i = Rb, Na$, und $A(Rb) \cdot c_{Rb} = K(Na)$ (siehe Kapitel I).

wässriger Lösungen eines einzigen Alkalisalzes aus verschiedenen Veröffentlichungen, so kann man feststellen, dass zwei Maxima (im Allgemeinen unterschiedlicher Höhe) in der Hauptverteilung des Histogramms möglich sind [Urry 1984, 1988]. Zudem werden die Histogramme von L. V. Schagina et al. durch Leitfähigkeitsmessungen in Gegenwart einer hohen Cholesterin-Konzentration in der OBL-Membran (molares Verhältnis Rinderhirnlipid:Cholesterin = 1:4) gewonnen [Schagina 1988a]. Cholesterin besitzt insbesondere bei hohem molarem Anteil in der Membran die Eigenschaft, mit anderen, vor allem langkettigen gesättigten Lipidmolekülen Domänen mit erhöhtem Cholesterin-Anteil zu bilden [Lev 1990; Schagina 1992; Alberts 2002; Kishihara 2002; Heimburg 2003]. Dabei hat der Gramicidin-Kanal eine geringere Affinität zu Membranbereichen, die einen hohen Cholesterin-Anteil aufweisen [Lev 1990]. Cholesterin und Gramicidin zeigen in einer Lipiddoppelschicht Wechselwirkungen, was bedeutet, dass sich während einer Leitfähigkeitsmessung die Anzahl leitfähiger Gramicidin-Kanäle vermindert, die Einzelkanal-Leitfähigkeit abnimmt und die Lebensdauer eines Gramicidin-Dimeren erhöht [Hianik 1985; 1987; Blasko 1989; Schagina 1989; Lev 1990]. Dieser Effekt nimmt mit steigender Cholesterin-Konzentration zu [Schagina 1992; Lev 1990]. Jedoch kann Cholesterin die Leitfähigkeit von Gramicidin auch erhöhen [Duffin 2003]. Möglicherweise ist der verschiedenartige Einfluß auf die Leitfähigkeit abhängig von der Cholesterin-Konzentration. Auch das Aussehen der Leitfähigkeitshistogramme ändert sich (in der Minuten-Zeitskala) während der Phase der Inaktivierung von Gramicidin, während sich die Anzahl an „Minis“ erhöht [Lev 1990]. Bleibt ein möglicher Einfluß der in Zweisalz-lösung erhöhten Ionenstärke auf die Domänenbildung und einer damit verbundenen Ausbildung zweier Gramicidin-Populationen außer Acht, so steht die Annahme, dass die beiden Maxima im Leitfähigkeitshistogramm der Zweisalzlösung in Abbildung E-3 auf den Einfluss des Cholesterins durch die Bildung von zwei verschieden zusammengesetzten Domänen, in denen zwei unterschiedliche Populationen des Gramicidin-Kanals vorliegen, zurückzuführen ist, in Widerspruch zur Tatsache, dass in Gegenwart der Einzelsalzlösungen die Leitfähigkeits-Histogramme nur ein Maximum besitzen.

K Zusammenfassung

In den 50er Jahren finden A. L. Hodgkin und R. D. Keynes bei Ionenflussmessungen am Riesenaxon des Tintenfischs *Sepia Offinialis*, dass sich die Kaliumionen beim Durchtritt durch die Zellmembran wechselseitig beeinflussen. Dies äußert sich unter anderem darin, dass das Verhältnis der unidirektionalen Flüsse, des Kaliumflusses vom Zellinneren nach außen zum Kaliumfluss von der Zellumgebung in das Axon, von dem Wert abweicht, der bei freier Diffusion der Ionen zu erwarten ist. Als Maß dieser Abweichung führen sie den Flussverhältnisexponenten n ein, der bei freier Diffusion den Wert 1 annimmt. Zur Interpretation des experimentellen Wertes von $n=2,5$ entwickeln sie ein erstes mechanistisches Modell, mit Hilfe dessen sie die Kopplung der unidirektionalen Kaliumflüsse beschreiben: Eine Folge hintereinander liegender Bindungsplätze, entlang derer die Ionen durch die Zellmembran treten oder ein enger Kanal. Dabei können die Ionen nicht aneinander vorbei [Hodgkin 1955]. Die theoretische Beschreibung dieses als Single-File Diffusion bezeichneten Mechanismus wird unter anderen von K. Heckmann in den 60er Jahren grundlegend weiterentwickelt [Heckmann 1965, 1965a, 1968, 1970, 1972]. Der Flussverhältnisexponent ist ein starkes Indiz für die Art der Teilchenflusskopplung: Ein Flussverhältnisexponent $n > 1$ ist charakteristisch für Single-File Diffusion, während ein Wert $n < 1$ typisch für den Transport über einfache Carrier mit einem Bindungsplatz ist [Kohler 1979, 1980d; Läger 1980]. In den 70er und 80er Jahren bestimmen L. V. Schagina, A. A. Lev und Mitarbeiter an einem in Lipiddoppelschichten kanalbildenden bakteriellen Eiweiß, Gramicidin-A, die Flussverhältnisexponenten verschiedener Alkaliionen. In Gegenwart zweier verschiedener Alkaliionen, Natrium und Rubidium, finden sie, dass deren Flussverhältnisexponenten n_{Na} und n_{Rb} gleiche Werte annehmen, die zwischen den Werten liegen, die man findet, wenn nur eine Kationenspezies vorliegt [Lev 1988; Blasko 1988]. Die analytische Beschreibung dieses Befundes mit Hilfe eines symmetrischen Zweiplatzmodells (bzw. einer symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore) gelingt Aityan et. al. nur teilweise. Die Flussverhältnisexponenten der gemeinsam vorliegenden Kationen sind identisch, liegen jedoch über den Werten für Lösungen mit nur einem Kation [Aityan 1991]. Die Erweiterung des Modells mit der Annahme, dass der Ionenkanal in zwei Konformationen unterschiedlicher Ionenleitfähigkeit vorliegen kann, ermöglicht die Wiedergabe des experimentellen Ergebnisses in quantitativ befriedigender Weise [Aityan 1991a]. Offen bleibt die Frage, ob das einfache Modell

der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore unter Wegfall einer einschränkenden Annahme, die Aityan bezüglich der Größenverhältnisse zwischen den kinetischen Geschwindigkeitskonstanten macht, in der Lage ist, die von L. V. Schagina et al. gemessenen experimentellen Flussverhältnisexponenten richtig zu beschreiben, ohne verschiedene Konformationen annehmen zu müssen. Zur Klärung dieser Frage werden in dieser Arbeit unter Anwendung des Modells der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore numerische Berechnungen durchgeführt, für welche die von S. K. Aityan et al. gemachte Einschränkung nicht mehr gilt. Für die Geschwindigkeitskonstanten werden Werte eingesetzt, die mit Hilfe einer Modellanpassung gewonnen sind [Kohler 1983]. Die Rechnungen zeigen, dass die experimentellen Ergebnisse weitgehend in quantitativ befriedigender Weise wiedergegeben werden können. Das Modell der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore gegebener Konformation reicht zur richtigen Wiedergabe der von L. V. Schagina et al. experimentell bestimmten Flussverhältnisexponenten, sowohl in Gegenwart von Lösungen mit zwei durchtrittsfähigen Kationen als auch von Lösungen mit nur einem Kation, völlig aus.

Im Rahmen der Berechnungen zum Gramacidin-Kanal werden die unabhängigen kinetischen Parameter bestimmt, die die untersuchten Flussverhältnisexponenten festlegen. Weiterhin wird für die symmetrische Single-File-Zweiplatzpore untersucht, welche allgemeine Bedingung die Geschwindigkeitskonstanten erfüllen müssen, damit die Flussverhältnisexponenten in Gegenwart zweier Kationen identisch werden und unter welchen Voraussetzungen Parallelverschiebungen der Funktionen der Flussverhältnisexponenten der Art $n_i = n_i(\lg(c_i/(\text{mol}^{-1})))$ ($i \equiv$ Kation der Spezies i ; $c \equiv$ Konzentration) bezüglich der Abszisse beobachtet werden. Letzte Fragestellung kann zum Beispiel im Rahmen der Anpassung berechneter Flussverhältnisexponenten an experimentelle Werte von Interesse sein. Aus diesem Grund werden auch einige Kurvenverläufe der Funktionen $n_i = n_i(\lg(c_i/(\text{mol}^{-1})))$ in Gegenwart zweier Kationen phänomenologisch vorgestellt. Darunter werden Beispiele für den überraschenden Befund gezeigt, dass bei geeigneter Wahl der Geschwindigkeitskonstanten der Flussverhältnisexponent einer Kationenspezies in Gegenwart einer zweiten von Werten $n > 1$ zu Werten $n < 1$ übergehen kann. Dies ist insofern überraschend, als die Vorstellung vorherrscht, dass bei Single-File Systemen nur Werte $n \geq 1$ auftreten können [Kohler 1979, 1980d; Läger 1980].

L Anhang

Für die im Anhang erwähnten Berechnungen gelten, wenn nicht anders angegeben, die gleichen Annahmen wie für die in Kapitel I beschriebenen Berechnungen zum Gramicidin-Kanal.

L.1 Anhang I: Unabhängige kinetische Parameter

In diesem Abschnitt (Kapitel L.1) werden für die symmetrische Single-File-Zweiplatzpore die unabhängigen kinetischen Parameter ermittelt, welche die Flussverhältnisexponenten in Einzel- bzw. Zweisalzlösung bestimmen. Ausgehend von allgemein gültigen Beziehungen zwischen den Geschwindigkeitskonstanten, die mit den Zustandswechseln einer Single-File Pore verbunden sind, wird im ersten Teilabschnitt (Kapitel L.1.1) für den speziellen Fall der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore in Gegenwart symmetrischer Lösungen ein Satz von kinetischen Parametern bestimmt, welcher die Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten festlegt. Als physikalische Nebenbedingung für die Geschwindigkeitskonstanten zyklischer kinetischer Prozesse kommt im folgenden Teilabschnitt (Kapitel L.1.2) die Wegscheiderbedingung hinzu. Durch diese Nebenbedingung wird die Anzahl der freien kinetischen Parameter, welche die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten festlegen, von acht auf sieben reduziert. Die Berücksichtigung der interionischen elektrostatischen Abstoßung innerhalb des Ionenkanals führt für die Ausprungkonstanten zu Gleichung (I-6) und für die Einsprungkonstanten zu einer analogen Gleichung (Kapitel L.1.3). Beide Gleichungen stellen sicher, dass die Wegscheiderbedingung erfüllt ist und ermöglichen, dass der für den Fall der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten auf sieben unabhängige kinetische Parameter reduzierte Parametersatz ausschließlich mit Hilfe von solchen Geschwindigkeitskonstanten formuliert werden kann, welche im Fall der Einzelsalzlösung auftreten. Wird zusätzlich zu Gleichung (I-6) angenommen, dass die Einsprungkonstante einer gegebenen Kationenspezies unabhängig vom Porenbesetzungszustand ist (Beziehung (H-1)), sind die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten nur durch fünf unabhängige kinetische Parameter festgelegt. Diese fünf Parameter bilden den allgemeinen Satz unabhängiger kinetischer Parameter, der den Berechnungen zum Gramicidin-Kanal in Kapitel I zugrunde liegt. Die

Parameter für die Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten stellen stets eine Teilmenge der Parameter für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten dar.

L.1.1 Relative Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$

Für eine Single-File Pore, beschrieben als Vielzustandssystem, gilt allgemein, dass im stationären Zustand der Flussverhältnisexponent n_i einer Teilchenspezies i unabhängig von der Gegenwart weiterer durchtrittsfähiger Teilchensorten $j \neq i$ nur von den relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ für Übergänge zwischen benachbarten Porenzuständen α und β abhängig ist [Kohler 1983]. Für die $r_{\alpha\beta}$ gilt mit den in Kapitel F definierten Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha\beta}$:

$$(L-1) \quad r_{\alpha\beta} = \frac{k_{\alpha\beta}}{\sum_{\beta} k_{\alpha\beta}}$$

Die Summe im Nenner geht über sämtliche zum Ausgangszustand α benachbarte Porenzustände β .

Weil der Übergang zwischen zwei Porenzuständen immer nur durch den Sprung eines einzigen Teilchens verursacht wird, ist eine Geschwindigkeitskonstante $k_{\alpha\beta}$ identisch mit der korrespondierenden Geschwindigkeitskonstanten $v(i,y)$ für den Sprung eines Teilchens i , sodass man $r_{\alpha\beta}$ auch als Funktion von Teilchensprungraten $v(i,y)$ in der Form $r_{\alpha\beta} = r_{\alpha\beta}(\{v(i,y) \mid v(i,y) \in \{\alpha \rightarrow \beta\}\})$ schreiben kann (Kapitel F). Die Menge $\{\alpha \rightarrow \beta\}$ umfaßt die Konstanten $v(i,y)$, die den vom Porenzustand α ausgehenden Porenzustandswechsel $\alpha \rightarrow \beta$ zugeordnet sind. Der Parameter y beschreibt den Besetzungszustand des zweiten Porenplatzes während des Sprungs von i . Für y gilt $y \in \{0,1,2\}$ für den Fall einer Zweisalzlösung der Teilchenspezies 1 und 2. Der Wert $y=0$ kennzeichnet einen unbesetzten Platz. Die Bezeichnungsweise der Geschwindigkeitskonstanten $v(i,y)$ ist in Kapitel F beschrieben. Jedoch sind im Unterschied zur Übereinkunft in Kapitel F die Einsprungkonstanten $v(i,y) \equiv A(i,y) a_i^{(l)}$ und $A(i,y) a_i^{(r)}$ von pseudo-erster Ordnung.

Variablen für $n_{s,i}$
$\frac{a_i^{(l)}}{a_i^{(r)}}$
$\frac{A(i,i) a_i^{(r)}}{K(i)}$
$\frac{E(i,0)}{K(i)}$

Tabelle L-1
Relative kinetische Parameter für den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$, Membranpotential $\Phi_M = 0$, $a_i^{(l)}$, $a_i^{(r)}$: Bulkaktivitäten links und rechts der Membran. (vgl. Gleichung (I-5))

Variablen für $n_{t,i}$, $i = 1, 2$	
$\frac{a_1^{(l)}}{a_1^{(r)}}$	$\frac{a_2^{(l)}}{a_2^{(r)}}$
$\frac{A(2,0) a_2^{(r)}}{A(1,0) a_1^{(r)}}$	
$\frac{A(1,1) a_1^{(r)}}{K(1)}$	$\frac{A(2,2) a_2^{(r)}}{K(2)}$
$\frac{A(1,2) a_1^{(r)}}{K(2)}$	$\frac{A(2,1) a_2^{(r)}}{K(1)}$
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,1)}{E(1,2)}$	

Tabelle L-2
Relative kinetische Parameter für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$, $i = 1, 2$, Membranpotential $\Phi_M = 0$, $a_i^{(l)}$, $a_i^{(r)}$: Bulkaktivitäten links und rechts der Membran. Schattierte Felder : Parameter für die entsprechenden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$.

Bestimmt man unter Verwendung des Modells der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore bei Membranpotential $\Phi_M = 0$ die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha,\beta}$ sowohl für die Einzelsalz- als auch für die Zweisalzlösung, findet man, dass diese Größen in beiden Fällen durch einen Satz voneinander unabhängiger kinetischer Parameter darstellbar sind. Diese Parameter sind Quotienten von Teilchensprungraten $v(i,y)$ und werden im Folgenden als relative kinetische Parameter bezeichnet. In Tabelle L-1 und Tabelle L-2 sind die relativen kinetischen Parameter aufgeführt, die die Einzelsalz- bzw. Zweisalz-Flussverhältnisexponenten in ihrem Wert bestimmen. (Die auf diese Weise bestimmten Parameter für die Einzelsalzlösung sind gleich denen in Gleichung (I-5).) Für symmetrische Lösungen ($a_i^{(l)} = a_i^{(r)} = a_i$) erhält man Tabelle L-3 und Tabelle L-4.

Die Vorgehensweise, mit Hilfe derer die genannten Tabellen gewonnen werden können, sei am Beispiel der Einzelsalzlösung mit der zugehörigen Tabelle L-1 aufgezeigt. Zur Bestimmung der relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ wird der in Abbildung F-3 dargestellte Graph herangezogen, der die Situation der Einzelsalzlösung einer chemischen Teilchenspezies i beschreibt. Die Flüsse und damit auch die unidirektionalen Flüsse und der Flussverhältnisexponent einer chemischen Teilchenspezies i sind unabhängig davon, ob eine Unterscheidung innerhalb dieser chemischen Spezies durch Markierung stattfindet oder nicht¹. Außerdem sind die Teilchenflüsse und der Flussverhältnisexponent $n_{s,i}$ nur von den Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha\beta}$ für Porenzustandswechsel bzw. den entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten $v(i,y)$ der chemischen Teilchenspezies i abhängig (vgl. Gleichungen (F-14) bis (F-20) und Kapitel G)². Analog zur Einzelsalzlösung sind für den Fall der Zweisalzlösung die Teilchenflüsse und die Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$ und $n_{t,j}$ ($i \neq j$) nur von den Geschwindigkeitskonstanten der

¹ Ein idealer Tracer der chemischen Spezies i dient lediglich der Teilchenmarkierung, die zur Bestimmung von unidirektionalen Flüssen notwendig ist. Dieser besitzt dieselben Geschwindigkeitskonstanten wie die unmarkierten Teilchen derselben chemischen Spezies und ist daher kinetisch nicht von den unmarkierten Teilchen zu unterscheiden (Kapitel D-1). Durch die Markierung wird deshalb nichts an den Teilchenflüssen der chemischen Spezies verändert.

² Die Abhängigkeit der Teilchenflüsse und des Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ von Temperatur T , Druck p , den elektrochemischen Potentialen $\eta_i^{(p)}$ der chemischen Teilchensorte i in der Lösung links (l) oder rechts (r) der Membran ($p = l, r$) (Kapitel D) (und damit auch von der Differenz des elektrochemischen Potentials $\Delta\eta_i$) ist vollständig durch die Geschwindigkeitskonstanten $k_{\alpha\beta}$ gegeben. Dies wird sichtbar in der Berechnung der unirektionalen Flüsse mit Hilfe der Beziehungen (F-14) bis (F-17) und der Gleichungen in Kapitel G. Weiterhin gilt bei gegebenen T und p gemäß der Theorie der Geschwindigkeitskonstanten nach Eyring für Geschwindigkeitskonstanten, die Porenzustandswechsel beschreiben, welche mit Teilchensprüngen aus der Lösung in die Pore verbunden sind: $k_{\alpha\beta} = \sigma (kT/h) \exp\left(-\left(G_{\alpha\beta}^{\#} - G_{\alpha}^{\circ} - \eta_i^{(p)}\right)/kT\right)$, wobei $\sigma \equiv$ Transmissionskoeffizient, $kT/h \equiv$ Frequenzfaktor mit $k \equiv$ Boltzmannkonstante und $h \equiv$ Plancksches Wirkungsquantum, $G_{\alpha\beta}^{\#} \equiv$ Freie Standardenthalpie einer Pore zusammen mit dem springenden Ion im Übergangszustand des Porenzustandswechsels $\alpha \rightarrow \beta$, $G_{\alpha}^{\circ} \equiv$ Freie Standardenthalpie einer Pore im Porenzustand α , $\eta_i^{(p)} \equiv$ elektrochemisches Potential pro Teilchen der chemischen Teilchenspezies i [Kohler 1979]. Für den Fall, dass kein Membranpotential Φ_M vorliegt ($\Phi_M = 0$), gilt mit der Teilchenaktivität $a_i^{(p)} = x_i^{(p)} f_i^{(p)}$, wobei $x_i^{(p)}$ der Stoffmengenanteil und $f_i^{(p)}$ der Aktivitätskoeffizient ist:

$$k_{\alpha\beta} = a_i^{(p)} \sigma (kT/h) \exp\left(-\left(G_{\alpha\beta}^{\#} - G_{\alpha}^{\circ} - \mu_i^{\circ(p)}\right)/kT\right) = a_i^{(p)} \tilde{k}_{\alpha\beta}, \quad \text{mit } \mu_i^{\circ(p)} \equiv \text{chemisches Standardpotential pro Teilchen der chemischen Teilchenspezies } i \text{ in der Lösung links (l) oder rechts (r) der Membran (} p = l, r \text{).}$$

Den Produkten $a_i^{(p)} \tilde{k}_{\alpha\beta}$ lassen sich die Teilcheneinsprungkonstanten $v(i,y) = a_i^{(l)} A(i,y)$ und $a_i^{(r)} A(i,y)$ zuordnen. In den hier durchgeführten Berechnungen wird angenommen, dass die den Teilchensprüngen zugeordneten Geschwindigkeitskonstanten $A(i,y)$, $K(i)$ und $E(i,y)$ konzentrationsunabhängig sind (Kapitel F).

chemischen Spezies i und j abhängig (vgl. Kapitel D, F und G)). In Übereinstimmung damit sind die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ nur von den Geschwindigkeitskonstanten der chemischen Spezies abhängig. Darüber hinaus stellen die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ keine Teilchenflüsse und damit auch keine unidirektionalen Flüsse durch die Membran dar, so dass zu deren Ermittlung keine Markierung bzw. keine Unterscheidung zwischen Tracer- und Nichttracer-Teilchen nötig ist. Deshalb wird zur Bestimmung der relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ der Graph für den Fall ohne Tracerzusatz bzw. ohne Unterscheidung zwischen Tracer- und Nichttracer-Teilchen betrachtet: Um die Parameter $r_{\alpha\beta}$ zu bestimmen, werden im ersten Schritt mit Hilfe des Graphen von Abbildung F-3 den Porenzustandswechseln die mit den Zustandswechseln verbundenen Geschwindigkeitskonstanten $v(i,y)$ zugeordnet. Anschließend werden für alle Porenzustände α ($\alpha \in \{1, \dots, 4\}$) entsprechend Gleichung (L-1) sämtliche relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ als Funktion der $v(i,y)$ bestimmt (Gleichungen (L-2) bis (L-11)):

$$(L-2) \quad r_{12} = \frac{k_{12}}{k_{12} + k_{13}} = \frac{A(i,0)c_i^{(l)}}{A(i,0)c_i^{(l)} + A(i,0)c_i^{(r)}} = \frac{(c_i^{(l)}/c_i^{(r)})}{(c_i^{(l)}/c_i^{(r)}) + 1}$$

$$(L-3) \quad r_{13} = \frac{k_{13}}{k_{12} + k_{13}} = \frac{A(i,0)c_i^{(r)}}{A(i,0)c_i^{(l)} + A(i,0)c_i^{(r)}} = \frac{1}{(c_i^{(l)}/c_i^{(r)}) + 1}$$

$$(L-4) \quad r_{21} = \frac{k_{21}}{k_{21} + k_{23} + k_{24}} = \frac{E(i,0)}{E(i,0) + K(i) + A(i,i)c_i^{(r)}} = \frac{E(i,0)/K(i)}{E(i,0)/K(i) + 1 + A(i,i)c_i^{(r)}/K(i)}$$

$$(L-5) \quad r_{23} = \frac{k_{23}}{k_{21} + k_{23} + k_{24}} = \frac{K(i)}{E(i,0) + K(i) + A(i,i)c_i^{(r)}} = \frac{1}{E(i,0)/K(i) + 1 + A(i,i)c_i^{(r)}/K(i)}$$

$$(L-6) \quad r_{24} = \frac{k_{24}}{k_{21} + k_{23} + k_{24}} = \frac{A(i,i)c_i^{(r)}}{E(i,0) + K(i) + A(i,i)c_i^{(r)}} = \frac{A(i,i)c_i^{(r)}/K(i)}{E(i,0)/K(i) + 1 + A(i,i)c_i^{(r)}/K(i)}$$

$$(L-7) \quad r_{31} = \frac{k_{31}}{k_{31} + k_{32} + k_{34}} = \frac{E(i,0)}{E(i,0) + K(i) + A(i,i)c_i^{(l)}} = \frac{E(i,0)/K(i)}{E(i,0)/K(i) + 1 + A(i,i)c_i^{(l)}/K(i)}$$

$$(L-8) \quad r_{32} = \frac{k_{32}}{k_{31} + k_{32} + k_{34}} = \frac{K(i)}{E(i,0) + K(i) + A(i,i)c_i^{(l)}} = \frac{1}{E(i,0)/K(i) + 1 + A(i,i)c_i^{(l)}/K(i)}$$

Variablen für $n_{s,i}$, symmetrische Lösungen
$\frac{A(i,i) a_i}{K(i)}$
$\frac{E(i,0)}{K(i)}$

Tabelle L-3

Relative kinetische Parameter für den Einzelsalz-Flussverhältnis-exponenten $n_{s,i}$, Membranpotential $\Phi_M = 0$, symmetrische Lösungen.

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1, 2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1}$	
$\frac{A(1,1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,2) a_2}{K(2)}$
$\frac{A(1,2) a_1}{K(2)}$	$\frac{A(2,1) a_2}{K(1)}$
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,1)}{E(1,2)}$	

Tabelle L-4

Relative kinetische Parameter für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$, $i=1, 2$, Membranpotential $\Phi_M = 0$, symmetrische Lösungen.
Ein Parameter in den hellen Feldern ist abhängig.

$$(L-9) \quad r_{34} = \frac{k_{34}}{k_{31} + k_{32} + k_{34}} = \frac{A(i,i) c_i^{(l)}}{E(i,0) + K(i) + A(i,i) c_i^{(l)}} = \frac{A(i,i) c_i^{(l)} / K(i)}{E(i,0) / K(i) + 1 + A(i,i) c_i^{(l)} / K(i)}$$

$$(L-10) \quad r_{42} = \frac{k_{42}}{k_{42} + k_{43}} = \frac{E(i,i)}{E(i,i) + E(i,i)} = \frac{1}{2}$$

$$(L-11) \quad r_{43} = \frac{k_{43}}{k_{42} + k_{43}} = \frac{E(i,i)}{E(i,i) + E(i,i)} = \frac{1}{2}$$

Die Division durch die Platzwechselkonstante $K(i)$ und die Bildung des Quotienten $c^{(l)} / c^{(r)}$ reduziert die Anzahl der voneinander unabhängigen Parameter, die die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ festlegen, auf ein Minimum. Mit den so gewonnenen relativen kinetischen Parametern in Tabelle L-1 sind alle relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ bestimmbar. Liegen symmetrische Lösungen vor, sodass $c_i^{(l)} / c_i^{(r)} = 1$, wird

$r_{12} = r_{13}$, $r_{21} = r_{31}$, $r_{23} = r_{32}$, $r_{24} = r_{34}$ und man erhält Tabelle L-3 ³. Die Herleitung zeigt, dass es wegen der Symmetrie der Pore genügt, den linken Teil des Graphen, d.h. die Zustände 1, 2 und 4, zu betrachten, um die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ zu bestimmen.

Da der Ionenkanal symmetrisch ist, sind sowohl für den Fall der Einzelsalzlösung als auch der Zweisalzlösung die relativen Geschwindigkeitskonstanten $r_{\alpha\beta}$ und damit die Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ und $n_{t,i}$ unabhängig von den Ausprungkonstanten $E(i,i)$ (für $n_{s,i}$ vgl. r_{42} und r_{43}).

Im Folgenden wird ausschließlich der Fall symmetrischer Lösungen betrachtet.

L.1.2 Nebenbedingung: Die Wegscheiderbedingung

Die Geschwindigkeitskonstanten zyklischer Prozesse müssen aufgrund des Prinzips der Mikroreversibilität die Wegscheiderbedingung erfüllen [Kohler 1979; Urban 1979]. Die allgemeine Wegscheiderbedingung für den hier betrachteten Fall der symmetrischen Single-File-Zweiplatzpore mit Membranpotential $\phi_M = 0$ lautet [Urban 1979]:

$$(L-12) \quad \frac{\frac{A(2,1)}{A(2,0)}}{\frac{A(1,2)}{A(1,0)}} = \frac{\frac{E(2,1)}{E(2,0)}}{\frac{E(1,2)}{E(1,0)}} \stackrel{\text{def}}{=} \frac{1}{x}$$

Für den hier eingeführten Parameter x gilt $x > 0$. Beziehung (L-12) ist konzentrationsunabhängig und gilt auch bei unsymmetrischen Lösungen⁴.

Aus Beziehung (L-12) folgen durch Erweiterung unmittelbar die Beziehungen (L-13) bis (L-15):

³ Für die Berechnungen werden die Tabellen L-3 und L-4 und die aus diesen resultierenden Parametersätze als gültig betrachtet, da die eingesetzten Konzentrationsverhältnisse $c_i^{(l)}/c_i^{(r)} = 1,001$ oder $1,0001$ nahezu symmetrische Lösungen beschreiben und eine weitere Annäherung an symmetrische Verhältnisse die Werte der Flussverhältnisexponenten nur unwesentlich verändert.

⁴ Weil angenommen wird, dass die den Teilchensprüngen zugeordneten Geschwindigkeitskonstanten $A(i,y)$, $K(i)$ und $E(i,y)$ konzentrationsunabhängig sind (Kapitel F) [Urban 1979].

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1,2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1}$	
$\frac{A(1,1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,2) a_2}{K(2)}$
$\frac{A(1,2) a_1}{K(2)}$	$\frac{A(2,1) a_2}{K(1)}$
$\frac{1}{x} \cdot \frac{K(2)}{K(1)}$	
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$ $\frac{E(2,0)}{K(2)}$	
oder	$\frac{E(2,1)}{E(1,2)}$
	$\frac{1}{x} \cdot \frac{E(2,0)}{E(1,0)}$

Tabelle L-5

Relative kinetische Parameter für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$, $i=1,2$, Membranpotential $\phi_M = 0$, symmetrische Lösungen.

$K(2)/(x \cdot K(1))$ als unabhängiger relativer kinetischer Parameter: Von den Parametern in den hellen Feldern ist jeweils einer oberhalb und einer unterhalb von $K(2)/(x \cdot K(1))$ abhängig.

Der in der letzten Zeile stehende Parameter $E(2,0)/(x \cdot E(1,0))$ kann alternativ zu dem Parameter $E(2,1)/E(1,2)$ gewählt werden.

$$\left[\left(\frac{A(2,1) a_2}{K(1)} \right) / \left(\frac{A(1,2) a_1}{K(2)} \right) \right] \cdot \left(\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1} \right)^{-1} = \frac{1}{x} \cdot \frac{K(2)}{K(1)} = \left[\left(\frac{E(2,0)}{K(2)} \right) / \left(\frac{E(1,0)}{K(1)} \right) \right]^{-1} \cdot \frac{E(2,1)}{E(1,2)}$$

(L-13)

$$\frac{A(2,1)}{A(2,2)} \cdot \frac{A(1,2)}{A(1,1)} = \frac{1}{x} \cdot \left(\frac{A(2,2)}{A(1,0)} \right)^{-1}$$

(L-14)

$$(L-15) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} = \frac{1}{x} \cdot \frac{E(2,0)}{E(1,0)}$$

Gleichung (L-13) zeigt, dass ein Parameter in Tabelle L-4 abhängig ist. Ausgenommen sind die unabhängigen relativen kinetischen Parameter $(A(1,1)a_1)/K(1)$ und $(A(2,2)a_2)/K(2)$. Die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten werden daher im Falle symmetrischer Lösungen von sieben unabhängigen relativen kinetischen Parametern festgelegt.

Alternativ zum Datensatz in Tabelle L-4 kann man unter Berücksichtigung von Beziehung (L-13) auch die Größe $K(2)/(x \cdot K(1))$ als unabhängigen Parameter wählen. Wegen Gleichung (L-15) kann man statt des relativen kinetischen Parameters $E(2,1)/E(1,2)$ auch die Größe $E(2,0)/(x \cdot E(1,0))$ verwenden. Insgesamt erhält man alternativ zu Tabelle L-4 die Tabelle L-5. In letztgenannter Tabelle ist jeweils ein relativer kinetischer Parameter in den weißen Feldern oberhalb und unterhalb des Parameters $K(2)/(x \cdot K(1))$ abhängig.

L.1.3 Nebenbedingung: Modell interionischer Wechselwirkung

Der Einfluss eines zweiten Kations innerhalb des Gramicidin-Kanals auf die Kinetik des springenden Ions wird in dieser Arbeit auf die elektrostatische interionische Abstoßung reduziert (Kapitel I). Aus dieser Annahme resultiert Gleichung (I-6), mit Hilfe derer die „gemischten“ reduzierten Aussprungkonstanten $E(i,j)$ ($j \neq i$) berechnet werden [Kohler 1980c]. Entsprechend kann man für die Einsprungkonstanten formulieren:

$$(L-16) \quad \lg\left(\frac{A(1,2)}{A(1,0)}\right) = \lg\left(\frac{A(2,1)}{A(2,0)}\right) = -\sqrt{\lg\left(\frac{A(1,1)}{A(1,0)}\right)\lg\left(\frac{A(2,2)}{A(2,0)}\right)}$$

Aus den Gleichungen (I-6) und (L-16) resultieren weitere Beziehungen zwischen den relativen kinetischen Parametern.

Für den Quotienten $E(2,1)/E(1,2)$ erhält man aus Gleichung (I-6) :

$$(L-17) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} = \frac{E(2,0)}{E(1,0)} = \left[\left(\frac{E(2,0)}{K(2)} \right) / \left(\frac{E(1,0)}{K(1)} \right) \right] \cdot \frac{K(2)}{K(1)}$$

Aus Beziehung (L-16) folgt für das Verhältnis $A(2,1)/A(1,2)$:

$$(L-18) \quad \frac{A(2,1)}{A(1,2)} = \frac{A(2,0)}{A(1,0)}$$

Der Vergleich der Beziehungen (L-17) und (L-18) mit Definition (L-12) ergibt für x :

$$(L-19) \quad x = 1$$

Die Gleichungen (L-16) und (L-17) ermöglichen die Substitution der relativen kinetischen Parameter $(A(1,2)a_1)/K(2)$ und $(A(2,1)a_2)/K(1)$ durch die Quotienten $(A(1,0)a_1)/K(1)$ und $(A(2,0)a_2)/K(2)$:

Mit Hilfe von Gleichung (L-16) zusammen mit der Definition

$$(L-20) \quad W_A \stackrel{\text{def}}{=} \sqrt{\lg\left(\frac{A(1,1)}{A(1,0)}\right) \lg\left(\frac{A(2,2)}{A(2,0)}\right)}$$

kann man schreiben

$$(L-21) \quad \frac{A(2,1)a_2}{K(1)} = \frac{1}{x} \cdot \frac{A(2,0)a_2}{K(2)} \cdot \frac{K(2)}{K(1)} \cdot 10^{-W_A}$$

und

$$(L-22) \quad \frac{A(1,2)a_1}{K(2)} = \frac{A(1,0)a_1}{K(1)} \cdot \frac{K(1)}{K(2)} \cdot 10^{-W_A}$$

Die Quotienten $A(i,i)/A(i,0)$ lassen sich formulieren als

$$(L-23) \quad \frac{A(1,1)}{A(1,0)} = \frac{A(1,1)a_1}{K(1)} \cdot \frac{A(2,0)a_2}{A(1,0)a_1} \cdot \frac{K(2)}{A(2,0)a_2} \cdot \left(\frac{K(2)}{K(1)}\right)^{-1}$$

$$(L-24) \quad \frac{A(2,2)}{A(2,0)} = \frac{A(2,2)a_2}{K(2)} \cdot \frac{A(1,0)a_1}{A(2,0)a_2} \cdot \frac{K(1)}{A(1,0)a_1} \cdot \frac{K(2)}{K(1)}$$

Durch Einsetzen der Gleichungen (L-21) und (L-22) in Beziehung (L-13) erhält man

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1,2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1}$	
$\frac{A(1,1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,2) a_2}{K(2)}$
$\frac{A(1,0) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,0) a_2}{K(2)}$
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,0)}{E(1,0)}$	

Tabelle L-6
Relative kinetische Parameter für
Zweisal-Z-Flussverhältnisexponenten
 $n_{t,i}$, $i=1,2$,
Membranpotential $\phi_M = 0$,
symmetrische Lösungen,
Modell der elektrostatischen inter-
ionischen Abstoßung ($x=1$).
Ein Parameter in den hellen Feldern
ist abhängig.

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1,2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1}$	
$\frac{A(1,1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,2) a_2}{K(2)}$
$\frac{A(1,0) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2,0) a_2}{K(2)}$
$\frac{K(2)}{K(1)}$	
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,0)}{E(1,0)}$	

Tabelle L-7
Relative kinetische Parameter für Zweisal-Z-
Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$, $i=1,2$,
Membranpotential $\phi_M = 0$,
symmetrische Lösungen,
Modell der elektrostatischen interionischen
Abstoßung ($x=1$).
Jeweils ein Parameter in den hellen Feldern
über und unter dem Parameter $K(2)/K(1)$ ist
abhängig.

$$\left[\left(\frac{1}{x} \cdot \frac{A(2,0) a_2}{K(2)} \cdot \frac{K(2)}{K(1)} \right) / \left(\frac{A(1,0) a_1}{K(1)} \cdot \left(\frac{K(2)}{K(1)} \right)^{-1} \right) \right] \cdot \left(\frac{A(2,0) a_2}{A(1,0) a_1} \right)^{-1} = \frac{1}{x} \cdot \frac{K(2)}{K(1)}$$

$$= \left[\left(\frac{E(2,0)}{K(2)} \right) / \left(\frac{E(1,0)}{K(1)} \right) \right]^{-1} \cdot \frac{E(2,1)}{E(1,2)}$$

(L-25)

Wegen Gleichung (I-6) gilt $x=1$. Daher folgt mit Beziehung (L-17)

$$\left[\left(\frac{A(2,0)a_2}{K(2)} \right) / \left(\frac{A(1,0)a_1}{K(1)} \right) \right] \cdot \left(\frac{A(2,0)a_2}{A(1,0)a_1} \right)^{-1} = \left(\frac{K(2)}{K(1)} \right)^{-1} = \left[\left(\frac{E(2,0)}{K(2)} \right) / \left(\frac{E(1,0)}{K(1)} \right) \right] \cdot \left(\frac{E(2,0)}{E(1,0)} \right)^{-1}$$

(L-26)

Beziehung (L-26) bedeutet, dass einer der relativen kinetischen Parameter in den Termen links und rechts des Quotienten $K(2)/K(1)$ abhängig ist. Die beiden relativen kinetischen Parameter $(A(1,2)a_1)/K(2)$ und $(A(2,1)a_2)/K(1)$ können bei Kenntnis der Parameter aus Gleichung (L-26) mit Hilfe der Gleichungen (L-20) bis (L-24) bestimmt werden.

Insgesamt folgt, dass man die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$ gemäß Tabelle L-6 ausschließlich als Funktion von Geschwindigkeitskonstanten der entsprechenden Einzelsalzlösungen darstellen kann. Wählt man das Verhältnis $K(2)/K(1)$ als unabhängigen relativen kinetischen Parameter, so erhält man mit Gleichung (L-26) alternativ zu Tabelle L-6 den Parametersatz in Tabelle L-7. Jeweils ein Parameter in den hellen Feldern über und unter der unabhängigen Größe $K(2)/K(1)$ ist abhängig. Wie in den Tabellen L-6 und L-7 werden auch in den in Kapitel I dargestellten Berechnungen zum Gramacidin-Kanal die „gemischten“ Ausprägungskonstanten $E(i,j)$ ($j \neq i$) mit Hilfe von Beziehung (I-6) bestimmt, sodass Gleichung (L-17) gilt. Weiterhin spielen die Ausprägungskonstanten $E(i,i)$ für die Flussverhältnisexponenten grundsätzlich keine Rolle (Tabellen L-1 bis 7). Daher sind unter den für die Tabellen L-6 und L-7 geltenden Voraussetzungen die Flussverhältnisexponenten nicht davon beeinflusst, ob man für die Ausprägungskonstanten einer gegebenen Teilchenspezies eine Abhängigkeit vom Porenbesetzungszustand annimmt oder nicht. Diese Unabhängigkeit der Flussverhältnisexponenten wird durch graphentheoretische Berechnungen bestätigt. Zum Beispiel erhält man die selben in Abbildung L-1 dargestellten Ergebnisse, unabhängig davon, ob die in Tabelle L-10 aufgeführten Geschwindigkeitskonstanten verwendet werden oder ob in Abwandlung der Einsprungkonstanten gesetzt wird: $E(1,2) = E(1,1) = E(1,0) = 10^5 \text{ s}^{-1}$ und $E(1,2) = E(1,1) = E(1,0) = 10^4 \text{ s}^{-1}$. In den Berechnungen zum Gramacidin-Kanal wird neben der Verwendung von Gleichung (I-6) angenommen, dass eine Teilchenspezies i unabhängig vom Porenbesetzungszustand nur eine einzige reduzierte Einsprungkonstante $A(i)$ besitzt (Gleichung (H-1) und (Tabelle I-1)).

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1,2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2) a_2}{A(1) a_1}$	
$\frac{A(1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2) a_2}{K(2)}$
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,0)}{E(1,0)}$	

Tabelle L-8

Relative kinetische Parameter für
Zweisalze-Flussverhältnisexponenten

$n_{t,i}$, $i=1,2$,

Membranpotential $\Phi_M = 0$,

symmetrische Lösungen,

Modell der elektrostatischen inter-
ionischen Abstoßung ($x=1$).

Ein Parameter ist abhängig.

Variablen für $n_{t,i}$, $i=1,2$, symmetrische Lösungen	
$\frac{A(2) a_2}{A(1) a_1}$	
$\frac{A(1) a_1}{K(1)}$	$\frac{A(2) a_2}{K(2)}$
$\frac{K(2)}{K(1)}$	
$\frac{E(1,0)}{K(1)}$	$\frac{E(2,0)}{K(2)}$
$\frac{E(2,0)}{E(1,0)}$	

Tabelle L-9

Relative kinetische Parameter für Zweisalze-
Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$, $i=1,2$,

Membranpotential $\Phi_M = 0$,

symmetrische Lösungen,

Modell der elektrostatischen interionischen
Abstoßung ($x=1$).

Jeweils ein Parameter in den hellen Feldern
über und unter dem Parameter $K(2)/K(1)$ ist
abhängig.

Unter dieser Voraussetzung folgt aus den Beziehungen (L-13) und (L-17):

$$\left[\left(\frac{A(2) a_2}{K(2)} \right) / \left(\frac{A(1) a_1}{K(1)} \right) \right] \cdot \left(\frac{A(2) a_2}{A(1) a_1} \right)^{-1} = \left(\frac{K(2)}{K(1)} \right)^{-1} = \left[\left(\frac{E(2,0)}{K(2)} \right) / \left(\frac{E(1,0)}{K(1)} \right) \right] \cdot \left(\frac{E(2,0)}{E(1,0)} \right)^{-1}$$

(L-27)

Analog zu den Gleichungen (L-13) und (L-26) folgt auch aus dieser Beziehung die
Abhängigkeit eines der relativen kinetischen Parameter links und rechts der Größe
 $K(2)/K(1)$. Wegen Gleichung (L-27) gehen Tabelle L-6 und Tabelle L-7 in Tabelle L-8
und Tabelle L-9 über. Die Anzahl der unabhängigen Parameter, welche die Zweisalze-
Flussverhältnisexponenten bestimmen, ist von 7 auf 5 reduziert. Dies bedeutet, dass

zusätzlich zu den Parametern, die die Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten festlegen, nur ein einziger weiterer Parameter notwendig ist, um einen vollständigen Parametersatz für die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten zu erhalten.

L.2 Anhang II: Bedingung für die Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{t,1} = n_{t,2}$

Weitere graphentheoretische Berechnungen unter Einbeziehung des elektrostatischen interionischen Wechselwirkungsmodells mit den Gleichungen (I-6) und (L-16) weisen darauf hin, dass die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ nur dann gleiche Werte annehmen, wenn folgende Voraussetzung erfüllt ist:

$$(L-28) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} = \frac{E(2,0)}{E(1,0)} \stackrel{!}{=} 1 \quad \text{und} \quad \frac{\frac{A(2,1)}{A(2,2)} \stackrel{\text{def}}{=} \frac{1}{z}}{\frac{A(1,2)}{A(1,1)}} = \left(\frac{\frac{A(2,2)}{A(2,0)}}{\frac{A(1,1)}{A(1,0)}} \right)^{-1} \stackrel{!}{=} 1$$

Aus den Gleichungen (L-14) und (L-15) folgen mit dem Parameterwert $x=1$ die Beziehungen, welche in Bedingung (L-28) den Wert 1 annehmen sollen.

Weil im hier verwendeten kinetischen Modell ein Porenzustand ausschließlich vom Porenbesetzungszustand (und nicht von seiner Vorgeschichte) abhängig ist (Kapitel F), findet die Kopplung zwischen den Flüssen zweier Kationenspezies ausschließlich über Porenzustandswechsel statt, die mit doppelt besetzten Porenzuständen verbunden sind, die beide Teilchensorten enthalten. Daher liegt der Schluß nahe, dass Forderung (L-28) konkretisiert werden kann zu:

$$(L-29) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} \stackrel{!}{=} 1 \quad \text{und} \quad \frac{\frac{A(2,1)}{A(2,2)} \stackrel{\text{def}}{=} \frac{1}{z}}{A(1,1)} \stackrel{!}{=} 1$$

Aus der Verwendung der Gleichungen (I-6) und (L-16) folgt mit $z=1$ die Beziehung:

$$(L-30) \quad \frac{A(1,2)}{A(1,1)} = 1 \quad \text{und} \quad \frac{A(2,1)}{A(2,2)} = 1$$

Im Folgenden werden für kinetische Parameter aus dem Satz unabhängiger relativer Parameter, die die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten festlegen (Tabelle L-4), oder für Kombinationen aus diesem Parametersatz aus Gründen der Übersichtlichkeit Zahlen zugeordnet, die in runden Klammern eingeschlossen sind:

Vereinbarung:

$$\frac{A(2,0)c_2}{A(1,0)c_1} \equiv (1) \quad \frac{E(1,0)}{K(1)} \equiv (2) \quad \frac{E(2,0)}{K(2)} \equiv (3) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} \equiv (4)$$

$$\left(\frac{A(2,2)c_2}{K(2)} \right) / \left(\frac{A(1,1)c_1}{K(1)} \right) \equiv (5) \quad \left(\frac{A(2,1)c_2}{K(1)} \right) / \left(\frac{A(1,2)c_1}{K(2)} \right) \equiv (6)$$

$$\left(\frac{A(1,2)c_1}{K(2)} \right) / \left(\frac{A(1,1)c_1}{K(1)} \right) \equiv (7)^5 \quad \frac{K(2)}{K(1)} \equiv (13)$$

(L-31)

Mit diesen Zuordnungen kann man die unmittelbar aus der Wegscheiderbedingung folgende Beziehung (L-13) wie folgt formulieren:

$$(L-32) \quad \frac{(6)}{(1)} = \frac{1}{x} \cdot (13) = \frac{(2) \cdot (4)}{(3)}$$

Die rechte Beziehung von Bedingung (L-28) läßt sich unter Berücksichtigung von Gleichung (L-14) als Funktion von x und der neu definierten Parameter wiedergeben:

⁵ Für $\left[\frac{A(2,1)c_2}{K(1)} \right] \left[\frac{A(2,2)c_2}{K(2)} \right]^{-1} \equiv (8)$ gilt: $(8) = (7)(6)(5)^{-1} = (7)(1)(2)(4)(3)^{-1}(5)^{-1}$. Dementsprechend lassen sich viele denkbare Verhältnisse zwischen den Parametern aus Tabelle L-4 als Funktion der Parameter (1) bis (5), (7) und der Größe x darstellen.

$$(L-33) \quad \frac{1}{z} = \frac{\frac{A(2,1)}{A(2,2)}}{\frac{A(1,2)}{A(1,1)}} = \frac{1}{x} \left(\frac{\frac{A(2,2)}{A(2,0)}}{\frac{A(1,1)}{A(1,0)}} \right)^{-1} = \frac{(1) \ 1 \ (3)}{(5) \ x^2 \ (2) \ (4)}$$

Hieraus folgt der von x unabhängige Quotient⁶

$$(L-34) \quad \frac{x^2}{z} = \frac{(1) \ (3)}{(5) \ (2) \ (4)}$$

Die mit $x=1$ ermittelte Bedingung (L-28) läßt keine Aussagen für den allgemeinen Fall mit $x>0$ zu. Mit dem rechnerischen Befund (L-28) sind folgende Beziehungen vereinbar, die auch bei einem Parameterwert $x>0$ gültig sind:

$$(L-35) \quad (4) = \frac{1}{z} = \frac{(1) \ 1 \ (3)}{(5) \ x^2 \ (2) \ (4)} = 1 \quad \text{oder} \quad \frac{E(2,0)}{E(1,0)} = (4)x = \frac{1}{z} = \frac{(1) \ 1 \ (3)}{(5) \ x^2 \ (2) \ (4)} = 1$$

$$(L-36) \quad (4) = \frac{x}{z} = \frac{(1) \ 1 \ (3)}{(5) \ x \ (2) \ (4)} = 1 \quad \text{oder} \quad \frac{E(2,0)}{E(1,0)} = (4)x = \frac{x}{z} = \frac{(1) \ 1 \ (3)}{(5) \ x \ (2) \ (4)} = 1$$

$$(L-37) \quad (4) = \frac{x^2}{z} = \frac{(1) \ (3)}{(5) \ (2) \ (4)} = 1 \quad \text{oder} \quad \frac{E(2,0)}{E(1,0)} = (4)x = \frac{x^2}{z} = \frac{(1) \ (3)}{(5) \ (2) \ (4)} = 1$$

Darüber hinaus besteht die wenig wahrscheinliche Möglichkeit, dass die Werte der Beziehungen in (L-35) bis (L-37) nur für $x=1$ gleich 1 sein müssen und für $x \neq 1$ einen beliebigen positiven Wert annehmen können. Für den letzten Fall sind mit dem rechnerischen Befund auch die Beziehungen kompatibel, in denen für die linken Seiten der Gleichungen in (L-35) bis (L-37) ihre Kehrwerte zu setzen sind. Weiterhin bleibt offen, welche Bedeutung Beziehung (L-30) für die Identität der Zweisalz-Flussverhältnis-exponenten besitzt.

Um die Bedingung für $n_{t,1} = n_{t,2}$ allgemein für $x>0$ zu erhalten, werden Berechnungen durchgeführt, die ausschließlich die Wegscheiderbedingung (L-12) mit der Definition von x enthalten. Die „gemischten“ Geschwindigkeitskonstanten $A(2,1)$ und $E(2,1)$ werden aus den übrigen vorgegebenen Geschwindigkeitskonstanten, einschließlich der Parameter $A(1,2)$ und $E(1,2)$, mit Hilfe der Wegscheiderbedingung (L-12) berechnet. Die

⁶ Wegen Gleichung (L-32) gilt $x^2/z = (1)(3)[(5)(2)(4)]^{-1} = (6)(5)^{-1}(3)^2[(2)(4)]^{-2}$.

vorgegebenen (d.h., alle nicht berechneten) kinetischen Konstanten erhalten willkürliche Werte. Als Nebenbedingungen gelten in Übereinstimmung mit den vorherigen Berechnungen (Gleichungen (I-6) und (L-16)) wegen der angenommenen interionischen elektrostatischen Abstoßung folgende Beziehungen:

$$(L-38) \quad \frac{A(i, j)}{A(i, 0)} \leq 1 \quad \frac{A(i, i)}{A(i, 0)} \leq 1 \quad \frac{E(i, j)}{E(i, 0)} \geq 1 \quad \frac{E(i, i)}{E(i, 0)} \geq 1 \quad \text{mit } i, j = 1, 2 \text{ und } j \neq i$$

In diesen Berechnungen sind die Ausprägungskonstanten $A(i, j)$ und $A(i, i)$ für den Fall $x=1$ und $z=1$ nicht mehr wie in den Gleichungen (L-30) miteinander gekoppelt. Die dort aufgeführten Quotienten können nun auch ungleich eins sein.

Die Berechnungen weisen darauf hin, dass die Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten nur dann gegeben ist, wenn gilt:

$$(L-39) \quad \frac{E(2,1)}{E(1,2)} \stackrel{!}{=} 1, \quad \frac{\frac{A(2,1)}{A(2,2)}}{\frac{A(1,2)}{A(1,1)}} = \frac{1}{z} \stackrel{!}{=} 1 \quad \text{mit} \quad \frac{A(2,1)}{A(2,2)} = \frac{A(1,2)}{A(1,1)} \stackrel{!}{=} 1 \quad \text{und} \quad x=1$$

Dieses Ergebnis steht in Einklang mit dem experimentellen Befund, dass die Einsprüngekonstanten einer gegebenen Spezies in die einfach besetzte Pore sich im Allgemeinen wenig von denen in die unbesetzte Pore unterscheiden (Kapitel H). Weiterhin ist die Bedingung (L-39) in Übereinstimmung mit der Erwartung, dass für die Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten der Quotient (L-34) bestimmend ist (und nicht einer der in den Beziehungen (L-35) bis (L-36) und der rechten in (L-37) aufgeführten), da dieser nur eine Funktion von unabhängigen relativen kinetischen Parametern aus Tabelle L-4 ist und nicht von der Größe x abhängt.

Den in den Abbildungen L-5 und L-6 dargestellten Berechnungen liegen Parametersätze (Tabelle L-10) zu Grunde, welche Bedingung (L-39) erfüllen. Die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,2}$ und $n_{t,1}$ sind für alle Konzentrationen identisch.

Im Hinblick auf zukünftige Untersuchungen der Transporteigenschaften von Single-File-Zweiplatzporen, insbesondere der Anpassung theoretischer Flussverhältnisexponenten an experimentelle Werte, kann es von Interesse sein, einige im Rahmen der Berechnun-

gen zum Gramicidin-Kanal beobachtete Eigenschaften der Flussverhältnisexponenten zweier Teilchenspezies in Zweisalzlösung zu kennen. In den folgenden Kapiteln L.3 und L.4 werden einige Beobachtungen beschrieben.

L.3 Anhang III: Bedingung für Parallelverschiebung der Kurven $n_{t,i} = n_{t,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$

Gegenstand dieses Abschnitts sind die Bedingungen für eine horizontale Verschiebung der Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten entlang der Abszisse.

Im Folgenden werden für zwei Kationenspezies 1 und 2 die Auftragungen ihrer Zweisalz-Flussverhältnisexponenten über dem dekadischen Logarithmus der zugehörigen Ionenkonzentrationen, $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$, und die entsprechenden Funktionen der zugehörigen Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$, in einer gemeinsamen Darstellung vom Typ des Diagramms in Abbildung I-2 untersucht. Es werden ideale Lösungen angenommen. In dieser gemeinsamen Darstellung werden die zu den Auftragungen der Spezies 1 und 2 gehörigen Abszissen so wiedergegeben, dass diejenigen Abszissenwerte übereinander liegen, die dem Konzentrationsverhältnis c_2/c_1 in der Zweisalzlösung entsprechen. Die Ordinaten sind deckungsgleich.

Die in diesem Abschnitt als Beispiele dienenden Abbildungen L-1 bis L-6 beruhen auf Berechnungen, die mit Hilfe der in Tabelle L-10 aufgeführten Geschwindigkeitskonstanten durchgeführt sind. In diesen Abbildungen besitzen die Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ für eine gegebene Teilchensorte i ($i=1, 2$) konstante Form und unveränderten Maximalwert $n_{s,i,\text{max}}$, während die Funktionen $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ unabhängig vom Diagramm die selbe relative Lage zueinander aufweisen (d. h. die Parameter (2), (3) und (5) aus Vereinbarung (L-31) sind für diese Berechnungen konstant.).

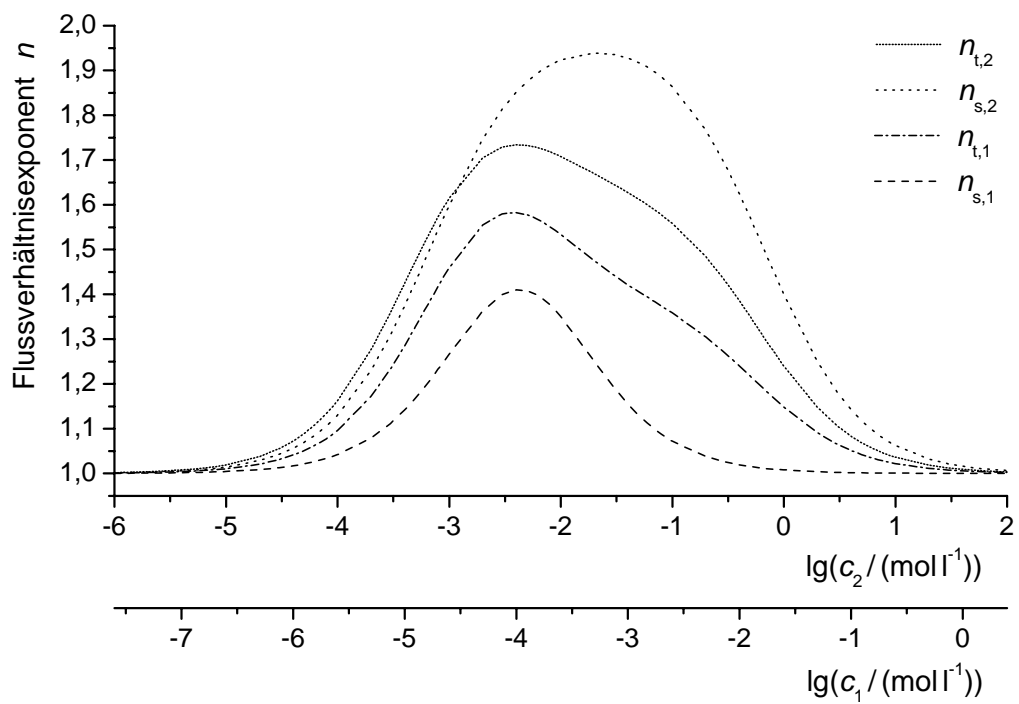


Abbildung L-1

Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

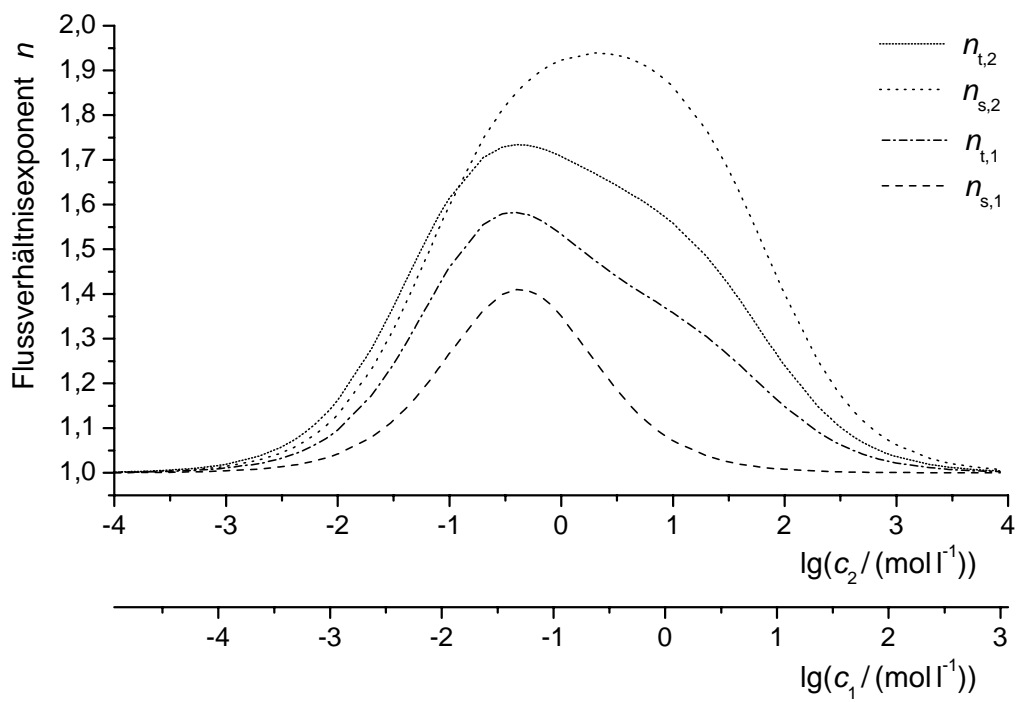


Abbildung L-2

Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

Abbildung L-1	Abbildung L-2	Abbildung L-3, L-14	Abbildung L-4	Abbildung L-5	Abbildung L-6
------------------	------------------	------------------------	------------------	------------------	------------------

Reduzierte Einsprungkonstanten in $\text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$:

A(1,0)	10^{10}	10^{10}	$2 \cdot 10^8$	10^{10}	10^{10}	$5 \cdot 10^{10}$
A(1,1)	$4 \cdot 10^9$	$8,5478 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^8$	10^9	10^9	$8 \cdot 10^8$
A(1,2)	$2,3398 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$	10^9	10^9	$8 \cdot 10^8$
A(2,0)	$3 \cdot 10^8$	$1,4039 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^9$
A(2,1)	$7,0193 \cdot 10^7$	$7,0193 \cdot 10^5$	$3 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^7$
A(2,2)	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^7$

Reduzierte Ausprungkonstanten in s^{-1} :

E(1,0)	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	$5 \cdot 10^4$
E(1,1)	10^9	10^9	10^9	10^9	10^9	10^8
E(1,2)	$1,7055 \cdot 10^9$	10^8	$5,3630 \cdot 10^8$	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^9$	10^7
E(2,0)	10^4	10^6	10^6	10^6	10^5	$5 \cdot 10^4$
E(2,1)	$1,7055 \cdot 10^8$	10^7	$5,3630 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^{10}$	$1,7055 \cdot 10^9$	10^7
E(2,2)	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^8$

Reduzierte Platzwechselkonstanten in s^{-1} :

K(1)	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$
K(2)	10^7	10^9	10^9	10^9	10^8	$5 \cdot 10^7$

Konzentrationsverhältnis in mol^{-1} :

c_2/c_1	40	8,5478	Abbildung L-3 $2 \cdot 10^{-1}$ Abbildung L-14 1/15	10^3	10^2	30
-----------	----	--------	--	--------	--------	----

Tabelle L-10

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten (beliebige Werte) für die Berechnung der in den Abbildungen L-1 bis L-6 und L-14 gezeigten Flussverhältnisexponenten.

Ergänzung der Legende zu Tabelle L-10:

Die effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{21, \max, \text{eff}} = 6,9638 \cdot 10^{-1}$ und die Parameter (2), (3) und (5) besitzen für alle Parametersätze die selben Werte (Vereinbarung (L-31) und Beziehungen (L-40) bis (L-44)) (vgl. Tabellen L-11, L-12). Ausgenommen ist der Parametersatz zu Abbildung L-14 mit einem verschiedenen Wert für (5), sodass $\Delta \lg(c)_{21, \max, \text{eff}} = 1,1735$.

Die Parameter (1) bis (7) sind für je zwei Abbildungen identisch: Abbildungen L-1 und L-2, Abbildungen L-3 und L-4, Abbildungen L-5 und L-6.

Abbildungen L-1, L-3, L-4, L-5, L-14:

Berechnung unter Verwendung der Gleichungen (I-6) und (L-16) oder der Annahme (H-1): $\Rightarrow x=1$.

Abbildung L-1: $z = 2,5 \cdot 10^{-1} \Rightarrow x/z = x^2/z = 4$ (vgl. Gleichung (L-34))

Abbildungen L-3, L-4, L-5, L-14: $z=1 \Rightarrow x^2/z=1$

Abbildungen L-2, L-6: Berechnung mit Hilfe der Wegscheiderbedingung (L-12) in Verbindung mit der Nebenbedingung (L-38) (Kapitel L.2).

Abbildung L-2: $x=10^2, z=2,5 \cdot 10^3 \Rightarrow x^2/z=4$

Abbildung L-6: $x=1, z=1 \Rightarrow x^2/z=1$

Zur Charakterisierung der Funktion $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ einer Teilchenspezies i werden Maximalwert und Lage bezüglich der Abszisse betrachtet:

Für den Maximalwert $n_{s,i, \max}$ des Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten erhält man aus Gleichung (I-5):

$$n_{s,i, \max} = 1 + \frac{2 \sqrt{2 \frac{E(i,0)}{K(i)} \left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} \right)}}{\left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} + \sqrt{2 \frac{E(i,0)}{K(i)} \left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} \right)} \right) \left(2 \frac{E(i,0)}{K(i)} + \sqrt{2 \frac{E(i,0)}{K(i)} \left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} \right)} \right)}$$

(L-40)

Der Wert von $n_{s,i, \max}$ ist demnach nur vom relativen kinetischen Parameter $E(i,0)/K(i)$ abhängig und steigt mit abnehmendem Wert dieses Quotienten. Darüber hinaus bedeutet Gleichung (I-5), dass alleine die Größe $E(i,0)/K(i)$ die Form der Kurve $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ bestimmt [Kohler 1983]. Die Lage dieser Kurve entlang der

Abszisse kann durch den Konzentrationswert $c_{i,\max}$ charakterisiert werden, der dem Maximalwert $n_{s,i,\max}$ zugeordnet ist. Mit den Gleichungen (I-5) und (L-40) folgt:

$$(L-41) \quad \lg c_{i,\max} = \lg \sqrt{2 \frac{E(i,0)}{K(i)} \left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} \right)} - \lg \left(\frac{A(i,i)}{K(i)} \right)$$

Der Parameter $A(i,i)/K(i)$ bestimmt bei gegebenem Wert von $E(i,0)/K(i)$, bei welcher Konzentration $c_{i,\max}$ der Maximalwert $n_{s,i,\max}$ zu liegen kommt und legt damit die Lage der Kurve $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ bezüglich der Abszisse fest. Im Folgenden wird der Bezug auf eine Abbildung durch einen Index gekennzeichnet, bei dem die Abbildungsnummer in runde Klammern gesetzt ist. Vergleicht man in den Diagrammen von Abbildung L-1 und Abbildung L-2 anhand Gleichung (L-41) die Lage der Kurve $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ ($i=1$) bezüglich der zugehörigen Abszisse, so zeigt sich, dass die Kurve in Abbildung L-2 (Index (2)) relativ zur Kurve in Abbildung L-1 (Index (1)) um den Betrag $\Delta \lg c_{1,\max} = \lg c_{1,\max}(2) - \lg c_{1,\max}(1) = 2,67$ zu höheren Konzentrationen hin verschoben ist. Form und Maximalwert $n_{s,1,\max}$ der Kurve sind in beiden Diagrammen identisch, das heißt, der Parameter $E(1,0)/K(1)$ besitzt für beide Abbildungen den selben Wert (Gleichung (L-40)). In diesem Sinne ist die Funktion $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ ($i=2$) um den Betrag $\Delta \lg c_{2,\max} = \lg c_{2,\max}(2) - \lg c_{2,\max}(1) = 2$ nach rechts verschoben. Identifiziert man die Funktion $\tilde{n}_{s,i} = \tilde{n}_{s,i}(\lg(c_i(2)/(\text{mol l}^{-1})))$ mit der Kurve des Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten der Teilchenspezies i in Abbildung L-2 und die Funktion $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i(1)/(\text{mol l}^{-1})))$ mit der entsprechenden Kurve in Abbildung L-1, lässt sich die Verschiebung der Funktion $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ um den Betrag $\Delta \lg c_{i,\max}$ parallel zur zugehörigen Abszisse formulieren als:

$$(L-42) \quad \begin{aligned} n_{s,i} &= n_{s,i} \left(\lg \left(c_i(1) / (\text{mol l}^{-1}) \right) \right) = \tilde{n}_{s,i} \left(\lg \left(c_i(1) / (\text{mol l}^{-1}) \right) + \Delta \lg (c_{i,\max}) \right) \\ &= \tilde{n}_{s,i} \left(\lg \left((c_i(1) \cdot \xi_i(2,1)) / (\text{mol l}^{-1}) \right) \right) \end{aligned}$$

$$\text{mit } c_i(2) = c_i(1) [c_{i,\max}(2) / c_{i,\max}(1)] \text{ und } \xi_i(2,1) := c_{i,\max}(2) / c_{i,\max}(1) > 0$$

Der Index (2,1) des Verschiebungsfaktors $\xi_i(2,1)$ weist darauf hin, dass die Lage der Kurve in Abbildung L-2 auf die Position der Kurve in Abbildung L-1 bezogen wird. Die Argumente 2 und 1 bezeichnen die Abbildungsnummern. Ist im Folgenden der Bezug auf Abbildungen ohne Bedeutung, wird aus Gründen der Einfachheit auf den Abbildungs-Index verzichtet. Die relativ zueinander parallel verschobenen Funktionen

$n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i(1)/(\text{mol l}^{-1})))$ und $\tilde{n}_{s,i} = \tilde{n}_{s,i}(\lg(c_i(2)/(\text{mol l}^{-1})))$ besitzen dann identische Werte, wenn die Beziehung $c_i(2) = c_i(1) \cdot \xi_i(2,1)$ erfüllt ist. Im Beispiel gilt $\xi_1(2,1) = c_{1,\max}(2) / c_{1,\max}(1) = 4,68 \cdot 10^2$ und $\xi_2(2,1) = c_{2,\max}(2) / c_{2,\max}(1) = 10^2$. Bei Vergleich des Diagramms in Abbildung L-2 mit dem in Abbildung L-1 findet man zusätzlich zur Parallelverschiebung der Kurven $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ bezüglich der zugehörigen Abszissen, dass die Lage der beiden Kurven $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ relativ zueinander in beiden Diagrammen identisch ist. Für ein gegebenes Diagramm lässt sich die Lage zweier Kurven $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,j} = n_{s,j}(\lg(c_j/(\text{mol l}^{-1})))$ ($j \neq i$) relativ zueinander ausgehend von Gleichung (L-41) mit Hilfe der effektiven relativen Verschiebung $\Delta \lg(c)_{ji,\max,\text{eff}}$ beschreiben:

$$(L-43) \quad \Delta \lg(c)_{ji,\max,\text{eff}} := \lg \sqrt{\frac{\frac{E(j,0)}{K(j)} \left(2 + \frac{E(j,0)}{K(j)} \right)}{\frac{E(i,0)}{K(i)} \left(2 + \frac{E(i,0)}{K(i)} \right)}} - \lg \left(\frac{A(j,j)c_j}{K(j)} \frac{K(i)}{A(i,i)c_i} \right)$$

Mit den Parametern aus Vereinbarung (L-31) und mit $j=2$ und $i=1$ erhält man daraus

$$(L-44) \quad \Delta \lg(c)_{21,\max,\text{eff}} = \lg \sqrt{\frac{(3)(2+(3))}{(2)(2+(2))}} - \lg((5))$$

In Beziehung (L-43) (bzw. (L-44)) bestimmt bei konstantem Wert von $E(i,0)/K(i)$ der Quotient $A(i,i)/K(i)$ die Position der Kurve $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ bezüglich ihrer zugehörigen Abszisse (vgl. Gleichung (L-41)), während das Konzentrationsverhältnis c_j/c_i die relative Verschiebung der beiden Abszissen zueinander beschreibt. Die Tatsache, dass die Kurven $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ in den Abbildungen L-1 und L-2 dieselbe relative Lage zueinander aufweisen, kommt in einem vom Diagramm unabhängigen Wert der effektiven relativen Verschiebung, $\Delta \lg(c)_{21,\max,\text{eff}} = 6,9638 \cdot 10^{-1}$, zum Ausdruck. Ein Wert $\Delta \lg(c)_{21,\max,\text{eff}} > 0$ bedeutet, dass in der gemeinsamen Darstellung der Maximalwert $n_{s,2,\max}$ rechts vom Maximum $n_{s,1,\max}$ liegt, während $\Delta \lg(c)_{21,\max,\text{eff}} < 0$ anzeigt, dass $n_{s,2,\max}$ eine Position links von $n_{s,1,\max}$ einnimmt. Im Folgenden sollen zwei Kurven $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,j} = n_{s,j}(\lg(c_j/(\text{mol l}^{-1})))$ ($j \neq i$) als gemeinsam parallel verschoben bezeichnet werden, wenn sie in verschiedenen Diagrammen die gleiche effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{ji,\max,\text{eff}}$ aufweisen, wobei bei Vergleich zweier Diagramme jede der beiden Kurven

Form und Maximalwert $n_{s,i,\max}$ bzw. $n_{s,j,\max}$ beibehält. Dabei soll es genügen, wenn mindestens eine der zwei Kurven bezüglich ihrer zugehörigen Abszisse parallel verschoben ist, sodass diese entsprechend Gleichung (L-41) einen vom Diagramm abhängigen Wert $c_{i,\max}$ besitzt. Das heißt, es kann gelten $\xi_i \neq 1$ und $\xi_j \neq 1$ oder $\xi_i = 1$ und $\xi_j \neq 1$. Für eine gemeinsame Parallelverschiebung der Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,1}$ und $n_{s,2}$ müssen wegen (L-40) und (L-44) die Parameter (2), (3) und (5) konstant bleiben. Bei Vergleich der Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,1}$ und $n_{s,2}$ in den Abbildungen L-1 bis L-6 kann man erkennen, dass in allen Fällen die beiden Kurven gemeinsam parallel verschoben sind. Die in den Abbildungen L-1 und L-2 dargestellten Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$, sind analog zu den Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten gemeinsam parallel verschoben. Dies bedeutet unter anderem, dass die Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten in beiden Diagrammen dieselbe effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{ji,\max,\text{eff}}$ aufweisen, die sich jedoch nicht nach Gleichung (L-43) berechnen lässt (vgl. Kapitel L-4). Darüber hinaus ist die Lage der Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten relativ zu den Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten in beiden Abbildungen identisch. Das heißt, die Differenz zwischen der Konzentration $c_{i,\max}$, welche die Lage des Maximums $n_{t,i,\max}$ einer gegebenen Funktion $n_{t,i} = n_{t,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ bezüglich der zugehörigen Abszisse kennzeichnet, und der Konzentration $c_{i,\max}$, die zu dem Maximalwert $n_{s,i,\max}$ des korrespondierenden Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ gehört, ist unabhängig vom betrachteten Diagramm. Deshalb zeigt der Vergleich der Abbildungen L-1 und L-2, dass sowohl die Kurve, die den Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,i}$ beschreibt, als auch die zugehörige Kurve für den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ um den selben Betrag $\Delta \lg c_{i,\max}$ entlang der gemeinsamen zugehörigen Abszisse verschoben sind (vgl. oben und Gleichung (L-41): $\Delta \lg c_{1,\max} = 2,67$ und $\Delta \lg c_{1,\max} = 2$). Analog zur Beziehung (L-42) gilt für die relativ zueinander parallel verschobenen Funktionen $n_{t,i} = n_{t,i}(\lg(c_i(1)/(\text{mol l}^{-1})))$ in Abbildung L-1 und $\tilde{n}_{t,i} = \tilde{n}_{t,i}(\lg(c_i(2)/(\text{mol l}^{-1})))$ in Abbildung L-2 ($i = 1, 2$):

$$(L-45) \quad \begin{aligned} n_{t,i} &= n_{t,i} \left(\lg \left(c_i(1) / (\text{mol l}^{-1}) \right) \right) = \tilde{n}_{t,i} \left(\lg \left(c_i(2) / (\text{mol l}^{-1}) \right) + \Delta \lg(c_{i,\max}) \right) \\ &= \tilde{n}_{t,i} \left(\lg \left(c_i(1) \cdot \chi_i(2,1) / (\text{mol l}^{-1}) \right) \right) \end{aligned}$$

$$\text{mit } c_i(2) = c_i(1) [c_{i,\max}(2) / c_{i,\max}(1)] \text{ und } \chi_i(2,1) := c_{i,\max}(2) / c_{i,\max}(1) > 0$$

Da die Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten in den Abbildungen L-1 und L-2 dieselbe relative Lage zu den Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten besitzen, gilt $\chi_1(2,1) = \xi_1(2,1) = 4,68 \cdot 10^2$ und $\chi_2(2,1) = \xi_2(2,1) = 10^2$.

Für die Berechnung der in Abbildung L-1 gezeigten Flussverhältnisexponenten werden „gemischte“ Geschwindigkeitskonstanten $E(i,j)$ und $A(i,j)$ ($i \neq j$) eingesetzt, die mit Hilfe der Gleichungen (I-6) und (L-16) ermittelt sind. Daher ist der Parameter x auf den Wert 1 festgelegt. Dagegen werden in den Berechnungen zu Abbildung L-2 die Geschwindigkeitskonstanten $E(2,1)$ und $A(2,1)$ unter Verwendung der Wegscheiderbedingung (L-12) in Verbindung mit der Nebenbedingung (L-38) berechnet, während die übrigen Geschwindigkeitskonstanten, darunter die Konstanten $E(1,2)$ und $A(1,2)$, unter Berücksichtigung der Nebenbedingung (L-38) beliebige Werte erhalten (Kapitel L.2). Dem Parameter x ist der beliebige Wert 10^2 zugeordnet. Die Quotienten (1) bis (5) und (7) besitzen bei den Berechnungen zu den in Abbildung L-2 dargestellten Flussverhältnisexponenten die selben Werte wie bei den Berechnungen zu Abbildung L-1. Konstante (d.h. in diesem Zusammenhang „vom Diagramm unabhängige“) Werte der Quotienten (1) bis (5) und (7) sind wegen Beziehung (L-32) gleichbedeutend mit konstanten Werten von (2) bis (7). Konstante Parameter (1) bis (5) bzw. (2) bis (6) bedeuten wegen Gleichung (L-34) (mit Beziehung (L-32)) einen konstanten Wert des von x unabhängigen Quotienten $x^2/z = (1)(3)[(5)(2)(4)]^{-1} = (6)(5)^{-1}(3)^2[(2)(4)]^{-2}$.

Weitere Berechnungen bestätigen den Hinweis, dass mit der gemeinsamen Parallelverschiebung der Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ dann eine gemeinsame Parallelverschiebung der Kurven $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ verbunden ist, wenn unabhängig vom Wert von x die Parameter (1) bis (5) und (7) konstante Werte aufweisen. Dabei ist die Lage der Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten relativ zu den Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten wie oben beschrieben konstant. Das heißt, es gilt für die bei Vergleich zweier Diagramme beobachteten Verschiebungsfaktoren χ_i und ξ_i zweier gegebener Funktionen $n_{t,i} = n_{t,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{s,i} = n_{s,i}(\lg(c_i/(\text{mol l}^{-1})))$: $\chi_i = \xi_i$ ($i = 1, 2$) (Beziehungen (L-42), (L-45)). Es wird beobachtet, dass das Ausmaß der Parallelverschiebung der Kurven der Einzelsalz- und Zweisalz-Flussverhältnisexponenten der Teilchenspezies 1 und 2 für beide Teilchensorten gleich oder verschieden sein kann: $\chi_1 = \xi_1 = \chi_2 = \xi_2$ oder $\chi_1 = \xi_1 \neq \chi_2 = \xi_2$ ⁷. Im letzten

⁷ Voraussetzungsgemäß ist im Rahmen der Definition der „gemeinsamen Parallelverschiebung zweier Kurven“ für mindestens eine Teilchensorte i der Verschiebungsfaktor $\chi_i = \xi_i$ ungleich eins.

Fall sind für die Teilchensorten 1 und 2 gleiche und entgegengesetzte Richtungen der Parallelverschiebung bezüglich der zugehörigen Abszissen möglich, d.h. man findet $\text{sign lg}\chi_1 = \text{sign lg}\chi_2$ oder $\text{sign lg}\chi_1 \neq \text{sign lg}\chi_2$ ($\chi_i = \xi_i$). Die Abbildungen L-1 und L-2 sind mit $\text{sign lg}\chi_1(2,1) = \text{sign lg}\chi_2(2,1) = 1$ ein Beispiel für gleichsinnige Verschiebung. Vergleicht man die Lagen der Kurven in Abbildung L-2 mit denen in Abbildung L-1, findet man, dass alle Kurven zu höheren Konzentrationen hin verschoben sind. Dagegen gilt für die Abbildungen L-4 und L-3 $\text{sign lg}\chi_1(4,3) = -1 \neq \text{sign lg}\chi_2(4,3) = 1$ mit $\chi_1(4,3) = \xi_1(4,3) = 0,2$ und $\chi_2(4,3) = \xi_2(4,3) = 10^3$. Die Kurven der Flussverhältnis-exponenten der Teilchenspezies 1 in Abbildung L-4 sind bei Vergleich mit den Kurven in Abbildung L-3 zu niedrigeren Konzentrationen hin verschoben, während die Kurven der Teilchensorte 2 zu höheren Konzentrationen hin verschoben sind.

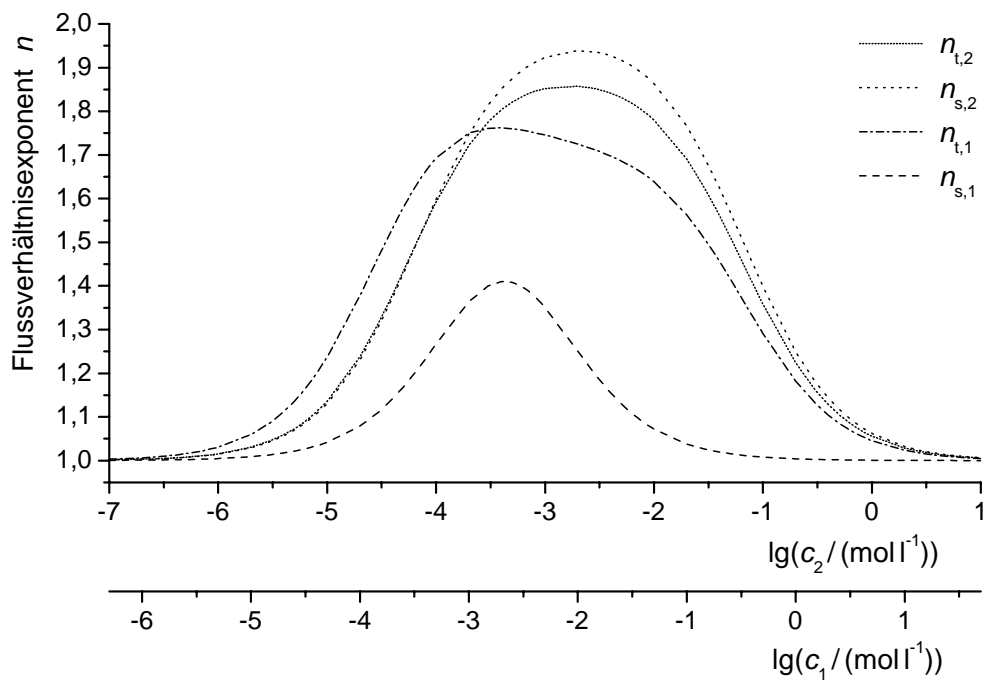


Abbildung L-3

Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

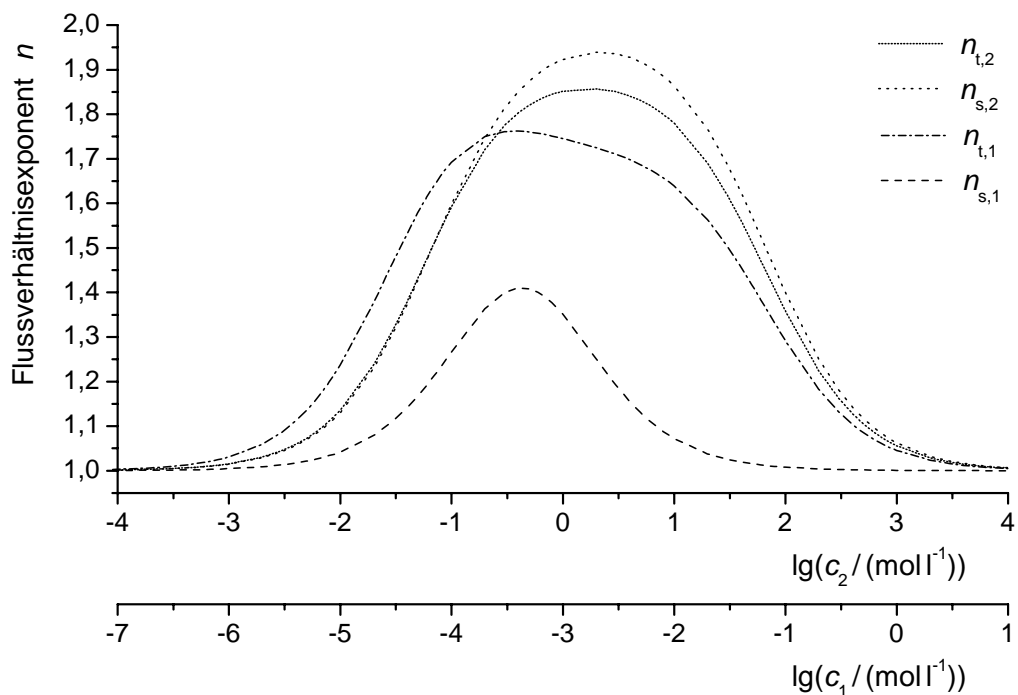


Abbildung L-4

Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

Die von x unabhängige Bedingung für die gemeinsame Parallelverschiebung der Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ sei auf einen Blick zusammengefaßt:

Quotienten (1) bis (5) und (7) konstant (äquivalent mit (2) bis (7) konstant)

$$\Rightarrow x^2/z = (1)(3)[(5)(2)(4)]^{-1} = (6)(5)^{-1}(3)^2[(2)(4)]^{-2} \text{ konstant}$$

(konstant heißt hier „unabhängig vom Diagramm“, „unabhängig von den Werten der Geschwindigkeitskonstanten“)

(L-46)

Der Vergleich von Voraussetzung (L-46) mit der Bedingung (L-39), die offenbar erfüllt sein muß, damit die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ identische Werte annehmen, weist darauf hin, dass dann eine gemeinsame Parallelverschiebung der Funktionen $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ mit gleichzeitiger Identität dieser Funktionen vorliegt, wenn gilt:

(1) bis (5) und (7) konstant (äquivalent mit (2) bis (7) konstant)

$$\text{und } \frac{A(2,1)}{A(2,2)} = \frac{A(1,2)}{A(1,1)} = (4) \stackrel{!}{=} 1 \quad \text{mit } x=1$$

(L-47)

Aus Bedingung (L-47) folgt: $x^2/z=(4)=1$.

Die Ergebnisse verschiedener Berechnungen stimmen mit Bedingung (L-47) überein. Als Beispiel seien die Abbildungen L-5 und L-6 gezeigt. Die zugehörigen reduzierten Geschwindigkeitskonstanten sind in Tabelle L-10 aufgeführt. In den Berechnungen zu Abbildung L-5 werden wie bei Abbildung L-1 die „gemischten“ Geschwindigkeitskonstanten mit Hilfe der Gleichungen (I-6) und (L-16) ermittelt. Die in Abbildung L-6 dargestellten Flussverhältnisexponenten sind wie im Falle der Abbildung L-2 unter Verwendung der Wegscheiderbedingung (L-12) und der Nebenbedingung (L-38) berechnet. In Übereinstimmung mit der Bedingung (L-46) für gemeinsame Parallelverschiebung der Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und $n_{t,2}$ ergeben die zu den Abbildungen L-5 und L-6 gehörigen Parametersätze in beiden Fällen die selben Werte für die Größen (1) bis (7) (vgl. Vereinbarung (L-31)). Gleichzeitig ist Forderung (L-39) erfüllt, sodass die Identität der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten, $n_{t,1}=n_{t,2}$, gewährleistet ist. Die Verschiebungsfaktoren sind $\chi_1(6,5) = \xi_1(6,5) = 6,25 \cdot 10^{-1}$ und $\chi_2(6,5) = \xi_2(6,5) = 1,875 \cdot 10^{-1}$.

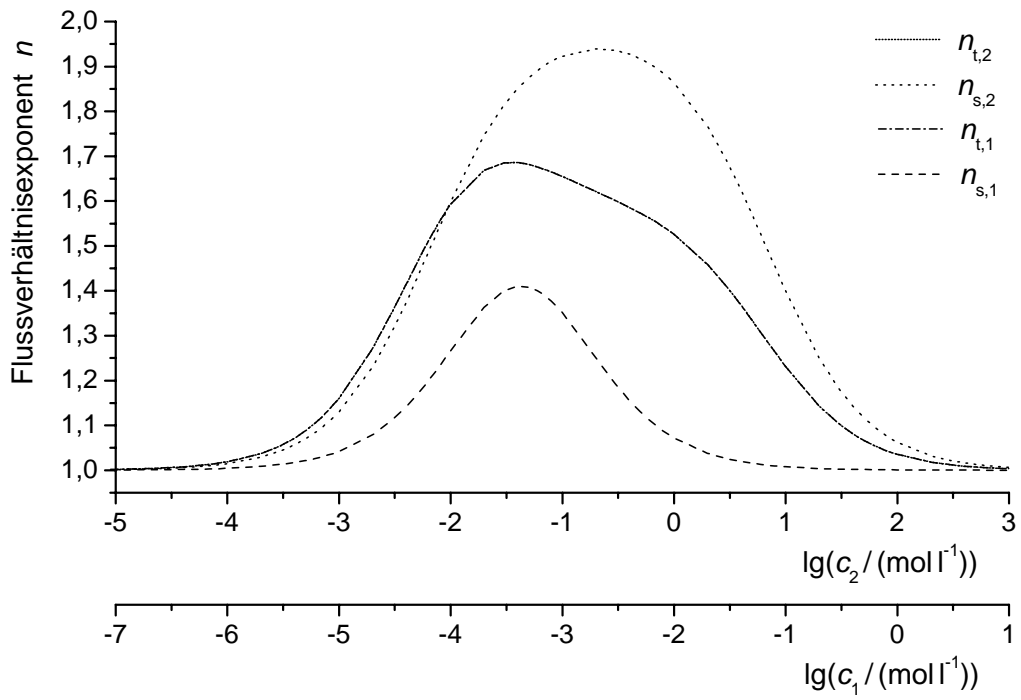


Abbildung L-5

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

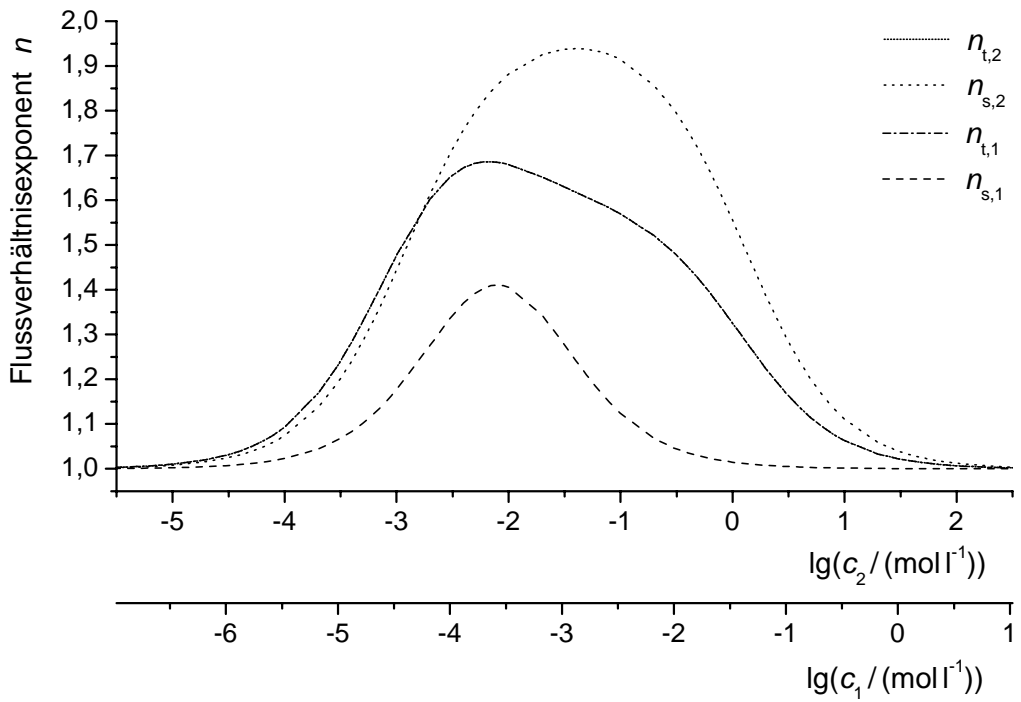


Abbildung L-6

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

L.4 Anhang IV: Einige weitere Beobachtungen

Es werden einige Beobachtungen, die bei graphentheoretischen Berechnungen mit beliebigen reduzierten Geschwindigkeitskonstanten gemacht werden, mit den entsprechenden Abbildungen phänomenologisch vorgestellt⁸. Die Ergebnisse werden mit Hilfe von Diagrammen der selben Art wiedergegeben, wie sie auch im vorherigen Kapitel L.3 verwendet wird.

Mit Ausnahme von Abbildung L-10 und L-14 besitzen die Kurven der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,i}$ ($i = 1, 2$) in allen folgenden Beispielen konstante Form, unveränderten Maximalwert $n_{s,i,max}$ und gleichbleibende relative Lage zueinander. Das bedeutet, die Parameter (2), (3) und (5) und damit die effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{21,max,eff} = 6,9638 \cdot 10^{-1}$ sind für diese Berechnungen konstant (Vereinbarung (L-31) und Beziehungen (L-40) bis (L-44)). In allen Beispielen gilt: $n_{s,2,max} > n_{s,1,max}$. Dennoch zeigen die Kurven der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten sehr verschiedene Verläufe. Die zu den abgebildeten Berechnungen gehörigen reduzierten Geschwindigkeitskonstanten sind in den Tabellen L-11 und L-12 aufgeführt. Für Tabelle L-11 gilt, dass die „gemischten“ Ausprägungskonstanten $E(i,j)$ ($j \neq i$) mit Hilfe der Beziehung (I-6) berechnet sind, während zur Bestimmung der „gemischten“ Einsprungkongstanten $A(i,j)$ Gleichung (L-16) oder die Annahme (H-1) verwendet wird. In Tabelle L-12 sind die „gemischten“ Geschwindigkeitskonstanten $E(2,1)$ und $A(2,1)$ unter anderen unter Vorgabe der Konstanten $E(1,2)$ und $A(1,2)$ mit Hilfe der Wegscheiderbedingung und unter Beachtung der Nebenbedingung (L-38) berechnet (Kapitel L.2). Allen vorgegebenen Geschwindigkeitskonstanten sind unter Berücksichtigung der Nebenbedingung (L-38) beliebige Werte zugeordnet.

Identifiziert man Rb^+ mit der Teilchensorte 2 und Na^+ mit der Teilchenspezies 1, so ergeben die Berechnungen zum Gramacidin-Kanal (Abbildungen I-2 und I-3) für die Maximalwerte der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten von Rb^+ und Na^+ $n_{t,2,max} \approx n_{t,1,max}$, in qua-

⁸ Die Ergebnisse werden auch für solche Konzentrationsbereiche dargestellt, für welche die bei Raumtemperatur (25°C) theoretisch maximale Geschwindigkeitskonstante von $kT/h \approx 6 \cdot 10^{12} \text{ s}^{-1}$ überschritten wird. Da in den Berechnungen lediglich prinzipielle Eigenschaften der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten untersucht werden und angesichts der Tatsache, dass alle Kurven parallel verschoben werden können, wird dieses Vorgehen akzeptiert. Treten in den abgebildeten Kurven Bereiche auf, in denen die Krümmung Unstetigkeiten aufweist, so ist dies darauf zurückzuführen, dass für die Berechnungen linear inkrementiert wird. Für qualitative Aussagen hinsichtlich der Flussverhältnisexponenten ist dies ohne Belang. Daher wird auf eine Glättung der Kurven verzichtet.

litativer Übereinstimmung mit den Größenverhältnissen der Einzelsalz-Flussverhältnis-exponenten, wo gilt $n_{s,2,max} > n_{s,1,max}$. Ebenso spiegeln die in den Abbildungen L-1 und L-2 dargestellten Zweisalz-Flussverhältnisexponenten qualitativ die Größenverhältnisse zwischen den Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten wieder. Dem stehen die in den Abbildungen L-7 bis L-9 gezeigten Berechnungen mit $n_{t,2,max} < n_{t,1,max}$ gegenüber. Weiterhin liegen in diesen drei Abbildungen die Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ und in den Abbildungen L-7 und L-9 die $n_{t,2}$ in einem größeren Konzentrationsbereich nahe ihrem jeweiligen Maximalwert. In den Abbildungen L-8 und L-9 erkennt man, dass der Maximalwert des Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1}$ über dem Maximalwert des Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,2}$ zu liegen kommt. Abbildung L-9 zeigt zugleich eine stark abgeflachte Funktion $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$, die im gesamten Konzentrationsbereich unter dem relativ kleinen Maximalwert $n_{s,1,max}$ verläuft. Deutlicher als die in den Abbildungen I-2 und I-3 dargestellten Berechnungen für den Gramacidin-Kanal zeigen die Kurven $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ bzw. $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ der Abbildungen L-7 und L-9 bzw. L-14 neben einer Abweichung von der symmetrischen Glockenform eine Schulter. Abbildung L-14 geht aus Abbildung L-3 durch die Verkleinerung des Konzentrationsverhältnisses c_2/c_1 hervor (Tabelle L-10). Entsprechend den Abbildungen L-9 und L-10 kann der Betrag der Differenz zwischen den Maxima der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten, $|n_{t,2,max} - n_{t,1,max}|$, größer sein als der betragsmäßige Unterschied zwischen den Maximalwerten der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten, $|n_{s,2,max} - n_{s,1,max}|$. Dabei sind hinsichtlich des Quotienten $n_{t,2,max}/n_{t,1,max}$ die Größenverhältnisse zwischen den Flussverhältnisexponenten in Abbildung L-10 mit $n_{t,2,max} > n_{s,2,max} > n_{s,1,max} > n_{t,1,max}$ umgekehrt zu denen in Abbildung L-9, wo gilt $n_{t,1,max} > n_{s,2,max} > n_{s,1,max} > n_{t,2,max}$. In den Abbildungen L-8 und L-10 entspricht die horizontale Lage der Maximalwerte der Zweisalz-Flussverhältnisexponenten $n_{t,1,max}$ und $n_{t,2,max}$ relativ zueinander qualitativ der effektiven relativen Verschiebung $\Delta \lg(c)_{21,max,eff}$ der entsprechenden Werte der Einzelsalz-Flussverhältnisexponenten $n_{s,1,max}$ und $n_{s,2,max}$. Diese qualitative Übereinstimmung der horizontalen Verschiebung der Kurvenmaxima ist nicht notwendig. Wie man in den Abbildungen L-11 bis L-13 erkennen kann, liegt in diesen das Maximum der Kurve $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ links von dem der Kurve $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$, obwohl mit $\Delta \lg(c)_{21,max,eff} > 0$ das Maximum der Funktion $n_{s,2} = n_{s,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ rechts vom Maximalwert der Funktion $n_{s,1} = n_{s,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ positioniert ist. Die in den Abbildungen L-3, L-4 und L-10 bis L-15 dargestellten Ergebnisse lassen erkennen, dass sich die Kurven $n_{t,1} = n_{t,1}(\lg(c_1/(\text{mol l}^{-1})))$ und $n_{t,2} = n_{t,2}(\lg(c_2/(\text{mol l}^{-1})))$ kreuzen. Die Abbildungen L-11

und L-12 sind zugleich ein weiteres Beispiel für gemeinsam parallel verschobene Kurven. Bezieht man die Verschiebung der Kurven von Abbildung L-12 auf die von Abbildung L-11, so gilt entsprechend der Beziehungen (L-42) und (L-45) für die Teilchensorten 1 und 2: $\xi_1(12, 11) = \chi_1(12, 11) = 10^{-2}$ und $\xi_2(12, 11) = \chi_2(12, 11) = 10^{-1}$.

Entgegen der bisherigen Vorstellung, dass Single-File Systeme immer nur Flussverhältnisexponenten $n \geq 1$ aufweisen, können in Zweisalzlösung zweier Teilchenspezies 1 und 2 auch Werte $n \leq 1$ auftreten. Es wird bei geeigneter Wahl der Geschwindigkeitskonstanten und bei konstantem Konzentrationsverhältnis c_2/c_1 beobachtet, dass der Zweisalz-Flussverhältnisexponent einer Teilchensorte i bei ansteigenden Konzentrationen von Werten $n_{t,i} \geq 1$ zu Werten $n_{t,i} \leq 1$ übergeht. Beispielhaft seien die Abbildungen L-15 und L-16 gezeigt. Die zugehörigen kinetischen Parameter sind in Tabelle L-12 aufgeführt. Ein Flussverhältnisexponent $n_i < 1$ weist darauf hin, dass die Kopplung der unidirektionalen Flüsse der Teilchenspezies i unter dem Einfluss der zweiten Teilchensorte $j \neq i$ analog zu einem Carriermechanismus stattfindet.

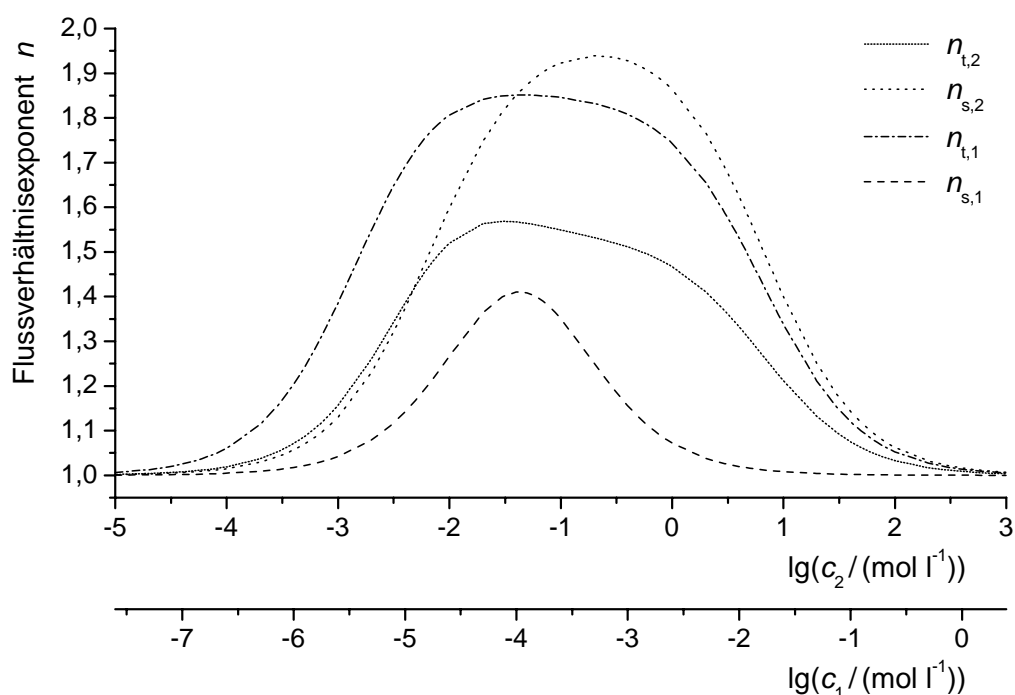


Abbildung L-7

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

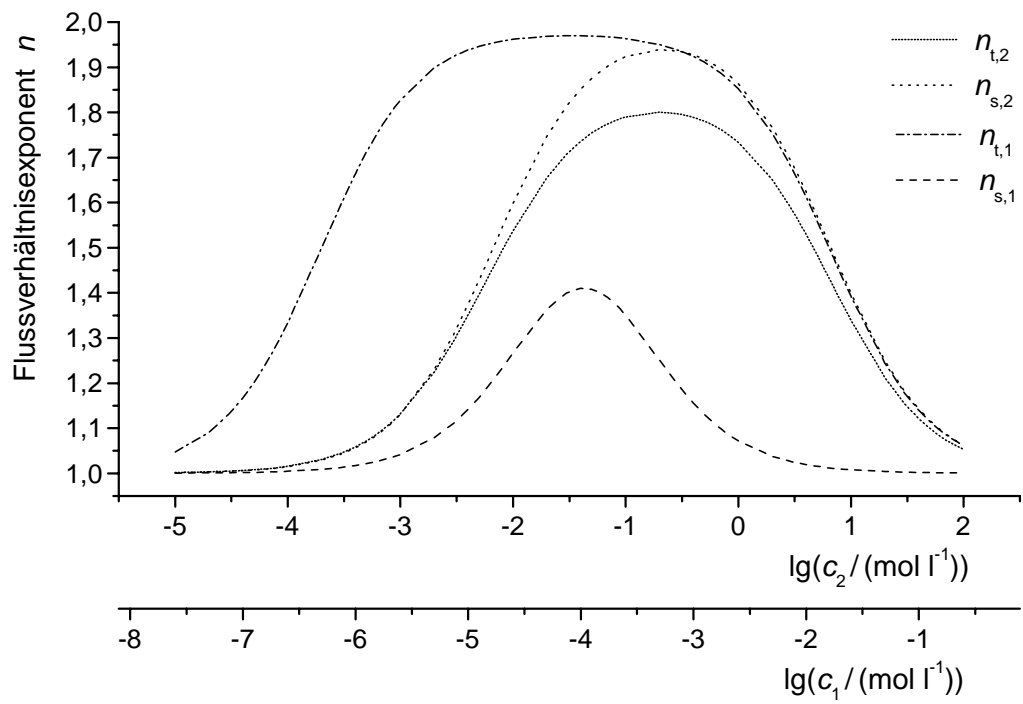


Abbildung L-8

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

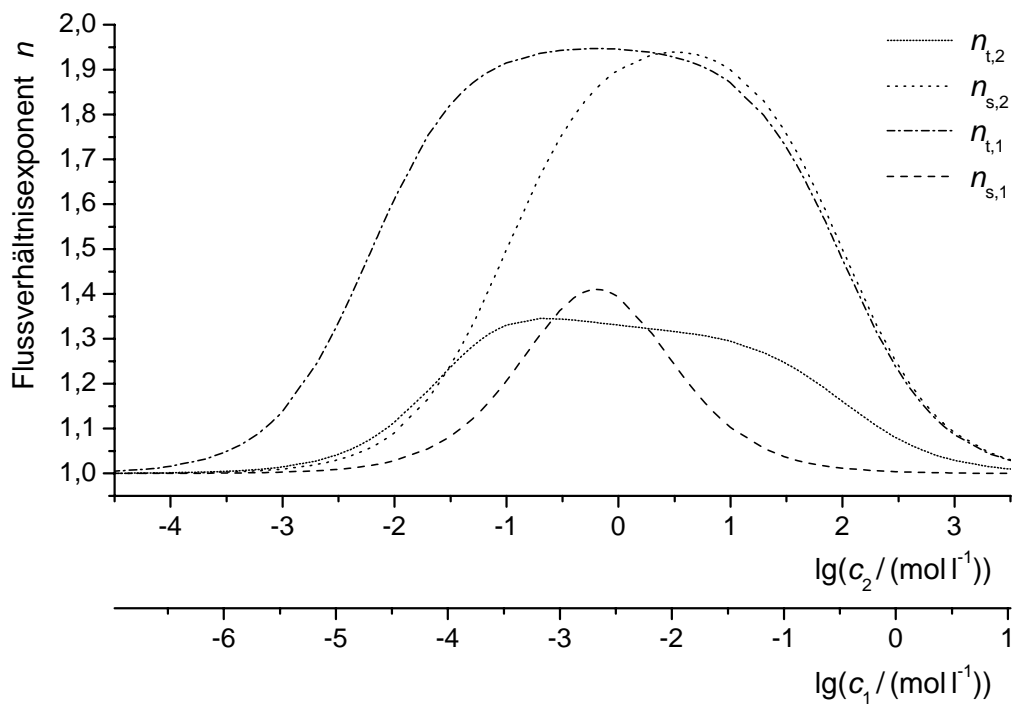


Abbildung L-9

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-12

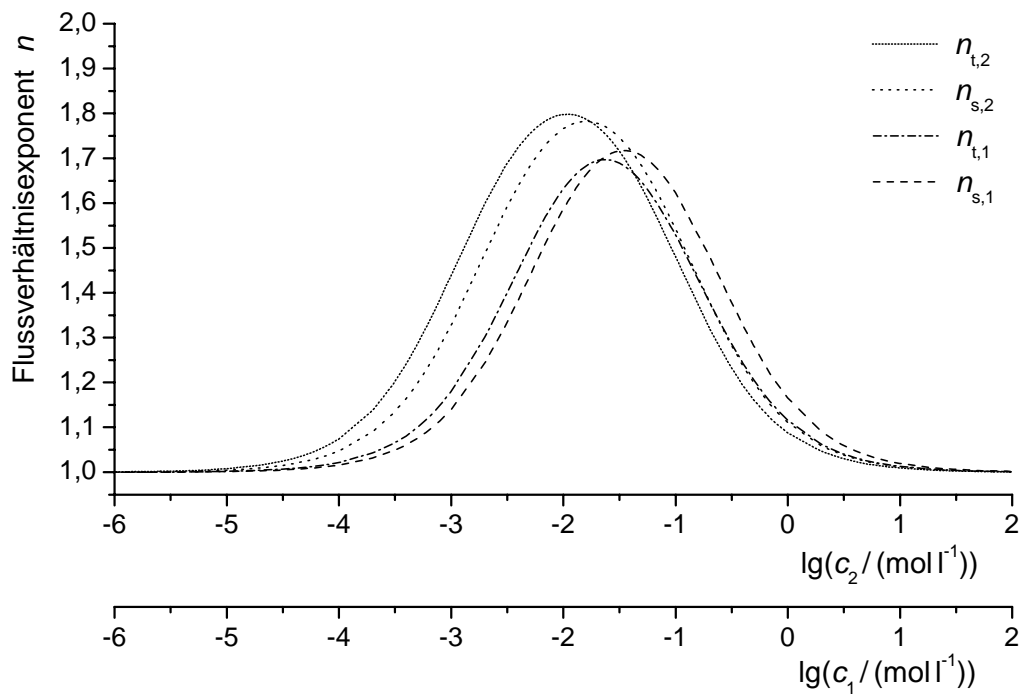


Abbildung L-10

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

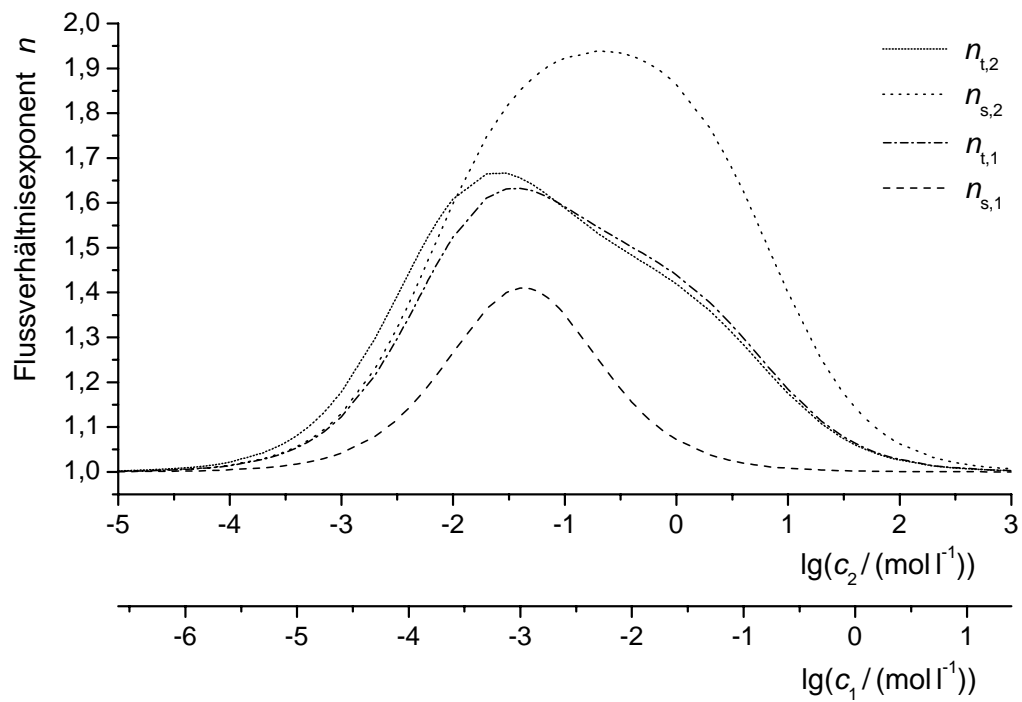


Abbildung L-11

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

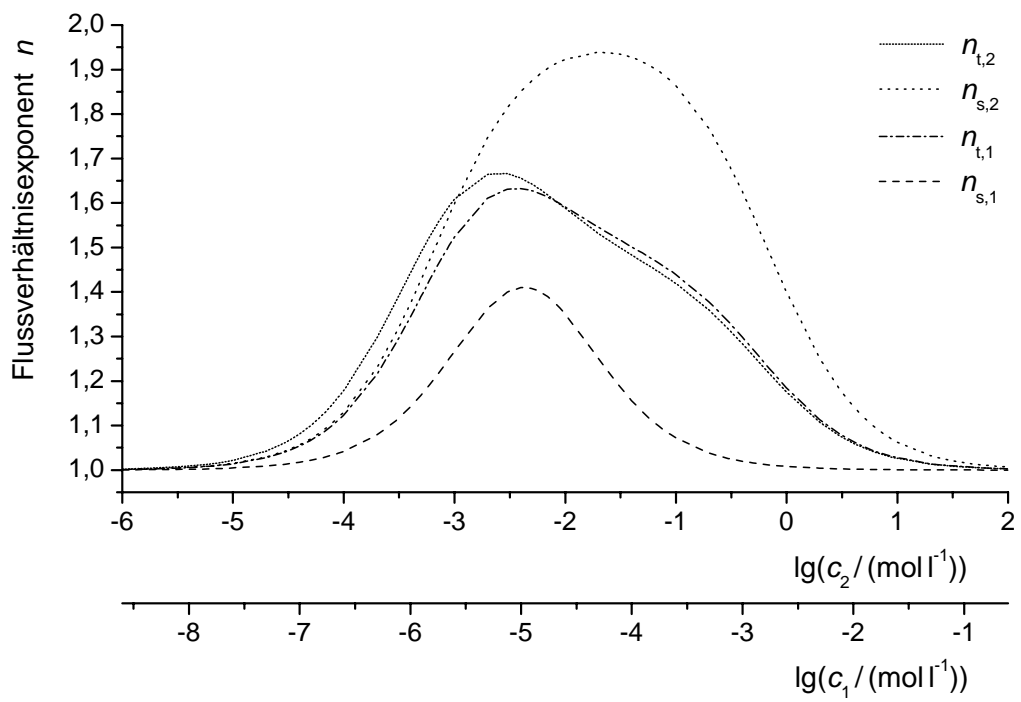


Abbildung L-12

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

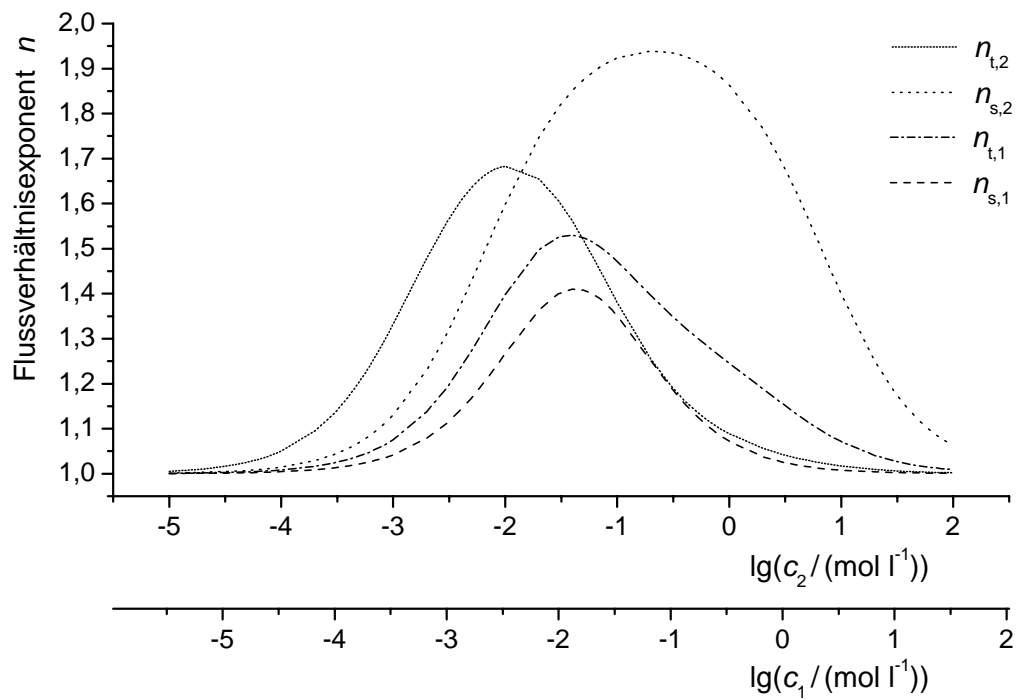


Abbildung L-13

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-11

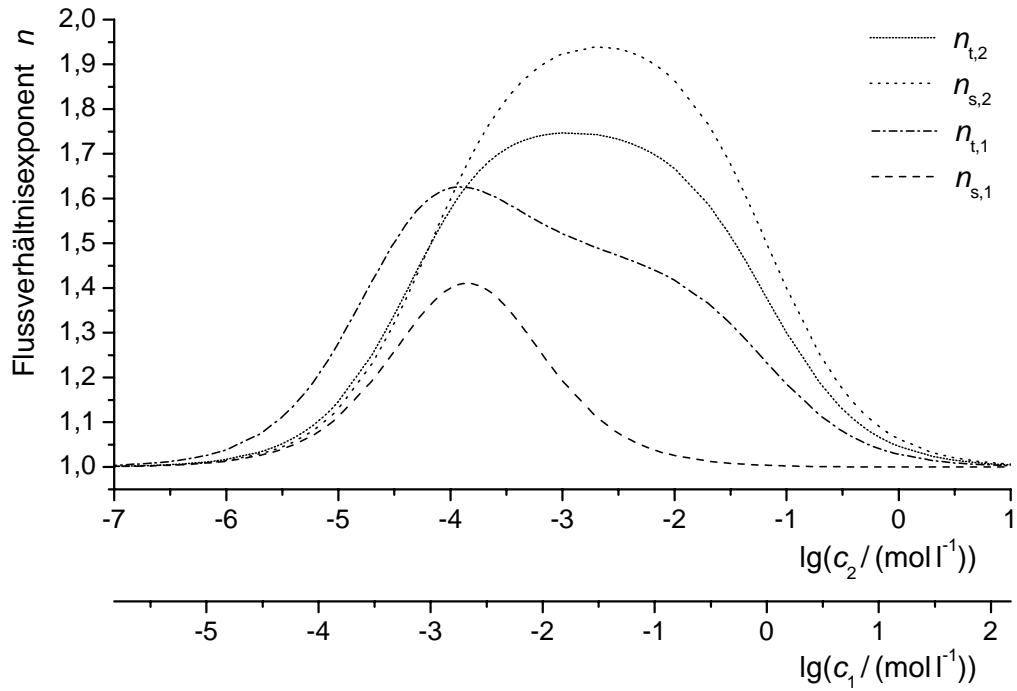


Abbildung L-14

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-10

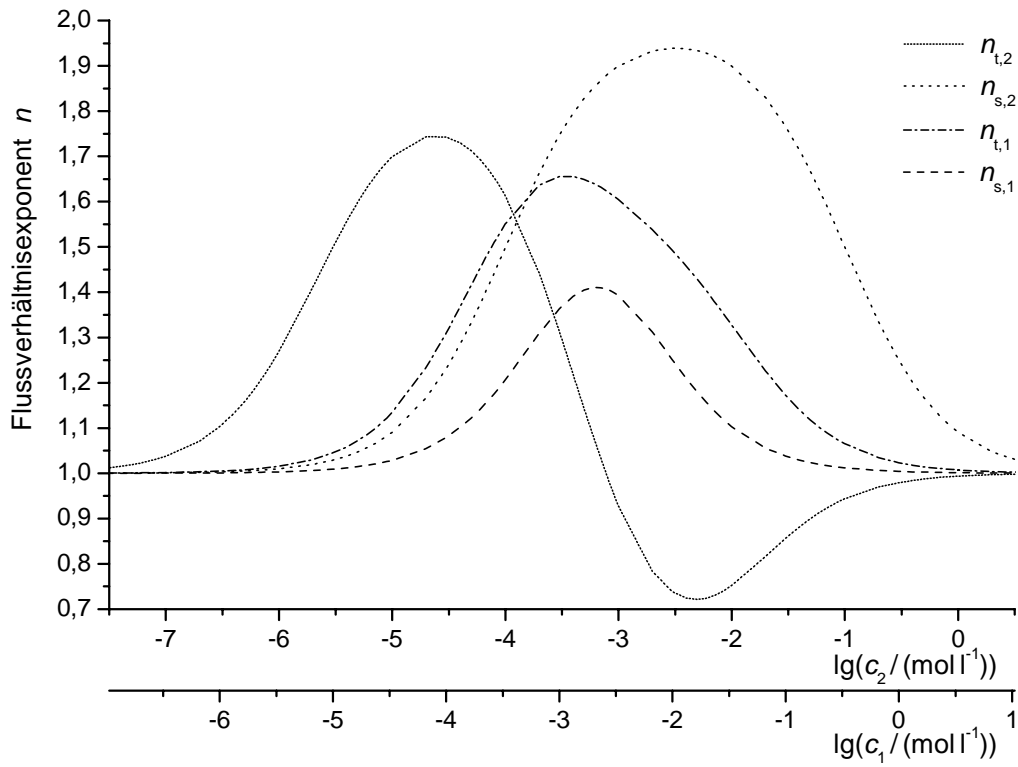


Abbildung L-15

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-12

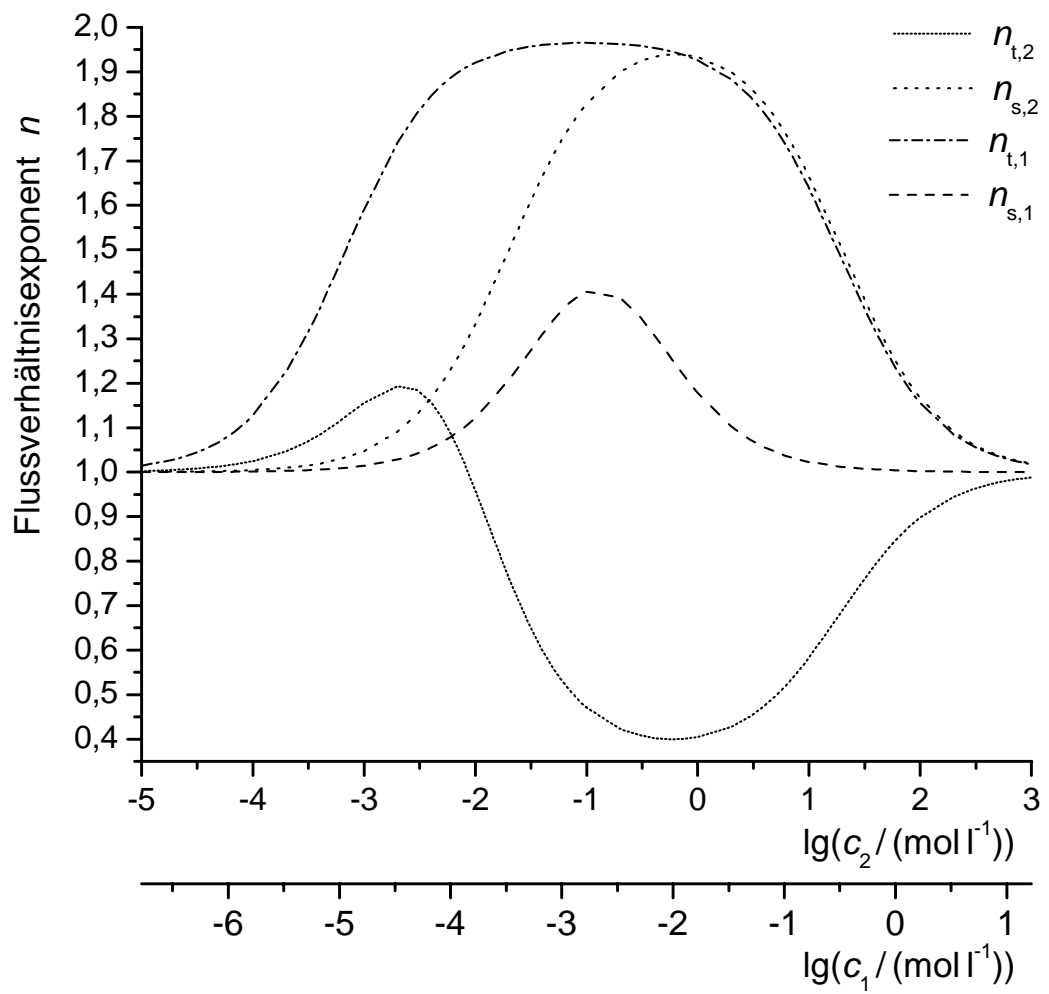


Abbildung L-16

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten: siehe Tabelle L-12

Abbildung	Abbildung	Abbildung	Abbildung	Abbildung	Abbildung
L-7	L-8	L-10	L-11	L-12	L-13

Reduzierte Einsprungkonstanten in $\text{Imol}^{-1} \text{s}^{-1}$:

A(1,0)	$4 \cdot 10^9$	10^{10}	$4 \cdot 10^8$	10^{10}	10^{11}	10^{10}
A(1,1)	$4 \cdot 10^9$	$4 \cdot 10^9$	$4 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^7$
A(1,2)	$4 \cdot 10^9$	$9,9546 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$6,5714 \cdot 10^8$	$6,5714 \cdot 10^9$	$2,5801 \cdot 10^8$
A(2,0)	$1,2 \cdot 10^8$	10^{10}	$7,5 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^8$
A(2,1)	$1,2 \cdot 10^8$	$9,9546 \cdot 10^8$	$7,5 \cdot 10^7$	$1,9714 \cdot 10^7$	$1,9714 \cdot 10^7$	$7,7404 \cdot 10^6$
A(2,2)	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$7,5 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$

Reduzierte Ausprungkonstanten in s^{-1} :

E(1,0)	10^5	10^5	$1,2 \cdot 10^6$	10^5	10^4	10^5
E(1,1)	10^9	10^9	$1,2 \cdot 10^8$	10^9	10^8	10^9
E(1,2)	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^8$	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^8$	$1,7055 \cdot 10^9$
E(2,0)	10^5	10^5	$7,5 \cdot 10^4$	10^5	10^4	10^5
E(2,1)	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^9$	$7,5 \cdot 10^6$	$1,7055 \cdot 10^9$	$1,7055 \cdot 10^8$	$1,7055 \cdot 10^9$
E(2,2)	$3 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^9$	$7,5 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^9$	$3 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^9$

Reduzierte Platzwechselkonstanten in s^{-1} :

K(1)	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^5$
K(2)	10^8	10^8	$4,6875 \cdot 10^6$	10^8	10^7	10^8

Konzentrationsverhältnis in mol^{-1} :

c_2 / c_1	$4 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^2$	1	40	$4 \cdot 10^2$	3
-------------	----------------	----------------	---	----	----------------	---

Tabelle L-11

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten für die Berechnungen der Abbildungen L-7, L-8 und L-10 bis L-13 (beliebige Werte). Die „gemischten“ Ausprungkonstanten $E(i,j)$ ($j \neq i$) sind mit Hilfe der Beziehung (I-6) oder der Annahme (H-2) berechnet. Zur Bestimmung der Einsprungkonstanten $A(i,y)$ ($y = i, j, 0$) wird Gleichung (L-16) oder die Annahme (H-1) verwendet.

Die effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{21, \text{max, eff}} = 6,9638 \cdot 10^{-1}$ und die Parameter (2), (3) und (5) besitzen für alle Parametersätze die selben Werte (Vereinbarung (L-31) und Beziehungen (L-40) bis (L-44)) (vgl. Tabellen L-10, L-12). Ausgenommen ist der Parametersatz zu Abbildung L-10, bei dem sich alle Werte der genannten Größen von denen der anderen Parametersätze unterscheiden.

Abbildung	Abbildung	Abbildung
L-9	L-15	L-16

Reduzierte Einsprungkonstanten in $\text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$:

$A(1,0)$	$5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^{10}$
$A(1,1)$	10^8	10^8	10^8
$A(1,2)$	$8 \cdot 10^8$	$8 \cdot 10^8$	$8 \cdot 10^8$
$A(2,0)$	$5 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^9$
$A(2,1)$	$8 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^8$	$8 \cdot 10^8$
$A(2,2)$	10^5	$2,5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^6$

Reduzierte Aussprungkonstanten in s^{-1} :

$E(1,0)$	$5 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$
$E(1,1)$	10^8	10^8	10^8
$E(1,2)$	10^9	10^7	10^7
$E(2,0)$	$5 \cdot 10^3$	$1,25 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^4$
$E(2,1)$	10^7	$2,5 \cdot 10^6$	10^8
$E(2,2)$	$5 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$

Reduzierte Platzwechselkonstanten in s^{-1} :

$K(1)$	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$
$K(2)$	$5 \cdot 10^6$	$1,25 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^7$

Konzentrationsverhältnis in mol l^{-1} :

c_2 / c_1	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^{-1}$	60
-------------	----------------	-------------------	----

Parameter x :

x	10	10^{-1}	10^{-1}
-----	----	-----------	-----------

Tabelle L-12

Reduzierte Geschwindigkeitskonstanten für die Berechnungen der Abbildungen L-9, L-15 und L-16. Die „gemischten“ Aussprungkonstanten $E(2,1)$ und $A(2,1)$ sind mit Hilfe der Wegscheiderbedingung (L-12) in Verbindung mit der Nebenbedingung (L-38) berechnet (Kapitel L.2). Die restlichen Geschwindigkeitskonstanten werden unter Berücksichtigung der Nebenbedingung (L-38) beliebig vorgegeben.

Ergänzung der Legende zu Tabelle L-12:

Die effektive relative Verschiebung $\Delta \lg(c)_{21, \max, \text{eff}} = 6,9638 \cdot 10^{-1}$ und die Parameter (2), (3) und (5) besitzen für alle Parametersätze die selben Werte (Vereinbarung (L-31) und Beziehungen (L-40) bis (L-44)) (vgl. Tabellen L-9, L-11).

M Literatur

- Adam G., Läuger P., Stark G.: Physikalische Chemie und Biophysik. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 4. Auflage (2003)
- Agre P., Bonhivers M., Borgnia M. J.: The Aquaporins, Blueprints for Cellular Plumbing Systems. *J. Biol. Chem.*, 273 (24), 14659-14662 (1998)
- Aityan S. K., Kalandadze I. L., Chizmadzhev Y. A.: Ion transport through the potassium channels of biological membranes. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 4(1), 30-44 (1977)
- Aityan S. K.: Single-file diffusion of uncharged particles. *Gen. Physiol. Biophys.*, 4(1), 3-14 (1985)
- Aityan S.K., Kohler H.-H.: The ratio of unidirectional fluxes in single-file transport of ion mixtures. Nicht veröffentlicht (1991)
- Aityan S.K., Kohler H.-H., Schagina L.V., Grinfeldt A.E., Lev A.A.: Single-file model of the transport of cation mixtures through the Gramicidin A channel: Cation-specific conformational changes. Nicht veröffentlicht (1991a, 1993)
- Alberts B. et al.: Molecular biology of the cell. Garland Science, New York, 4th edition, (2002)
- Allen T. W., Andersen O. S., Roux B.: Structure of Gramicidin A in a lipid bilayer environment determined using molecular dynamics simulations and solid-state NMR data. *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 9868-9877 (2003)
- Allen T. W., Andersen O. S., Roux B.: Energetics of ion conduction through the gramicidin channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(1), 117-122 (2004)
- Andersen O. S., Feldberg S. W.: The heterogenous collision velocity for hydrated ions in aqueous solutions is $\sim 10^4$ cm/s. *J. Phys. Chem.*, 100, 4622-4629 (1996)
- Andersen O. S., Greathouse D. V., Providence L. L., Becker M. D., Koeppe R. E. 2nd : Importance of Tryptophan Dipoles for Protein Function. 5-Fluorination of Tryptophans in Gramicidin-A Channels. *J. Am. Chem. Soc.*, 120(21), 5142-5146 (1998)
- Andersen O. S., Apell H. J., Bamberg E., Busath D. D., Koeppe R. E. 2nd, Sigworth F. J., Szabo G., Urry D. W., Woolley A.: Gramicidin channel controversy - the structure in a lipid environment. *Nature Structural Biology*, 6(7), 609; discussion 611-612 (1999)
- Apell H. J., Bamberg E., Alpes H., Läuger P.: Formation of ion channels by a negatively charged analog of gramicidin A. *J. Membr. Biol.*, 31(1-2), 171-188 (1977)
- Armstrong Kathryn M., Cukierman S.: On the origin of closing flickers in gramicidin channels: a new hypothesis. *Biophys. J.*, 82(3), 1329-1337 (2002)
- Arndt H.-D., Bockelmann D., Knoll A., Lamberth S., Griesinger C., Koert U.: Cation control in functional helical programming: structures of a D,L-peptide ion channel. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41(21), 4062-4065 (2002)
- Arseniev A. S., Barsukov I. L., Bystov V. F., Loize A. L., Ovchinnikov Yu A.: 1H-NMR study of gramicidin A transmembrane ion channel. *Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.*, 186(2), 168-174 (1985)

- Arumugam S., Pascal S., North C. L., Hu W., Lee K.-C., Cotten M., Ketchem R. R., Xu F., Brenneman M., Kovacs F., Tian F., Wang A., Huo S., Cross T. A. Conformational trapping in a membrane environment: a regulatory mechanism for protein activity? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93(12), 5872-5876 (1996)
- Bamberg E., Läuger P.: Blocking of the gramicidin channel by divalent cations. *J. Membr. Biol.*, 35(4), 351-375 (1977)
- Bano M. C., Braco L., Abad C.: HPLC study on the 'history' dependence of gramicidin A conformation in phospholipid model membranes. *FEBS Letters*, 250(1), 67-71 (1989)
- Bano M. C., Braco L., Abad C.: Conformational Transitions of Gramicidin A in Phospholipid Model Membranes. A High-Performance Liquid Chromatography Assessment. *Biochemistry*, 30, 886-894 (1991)
- Bechinger B.: The structure, dynamics and orientation of antimicrobial peptides in membranes by multidimensional solid-state NMR spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta*, 1462(1-2), 157-183 (1999)
- Becker M. D., Greathouse D. V., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Amino acid sequence modulation of gramicidin channel function: Effect of tryptophan-to-phenylalanine substitutions on the single-channel conductance and duration. *Biochemistry*, 30(36), 8830-8839 (1991)
- Berezkhovskii A., Hummer G.: Single-file transport of water molecules through a carbon nanotube. *Phys. Rev. Lett.*, 89(6), 064503-1 - 064503-4 (2002)
- Blasko K., Schagina L.V., Grinfeldt A.E., Lev A.A.: The dependence of tracer-determined permeability coefficients of gramicidin A-treated red blood cell membranes and lipid bilayers on the ionic composition of the media. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 19 (1988) 127-135, a section of *J. Electroanal. Chem.*, and constituting Vol. 253 (1988)
- Blasko K., Schagina L. V., Gyorgyi S., Ronto G.: Properties of gramicidin A channels in erythrocyte membranes. *Biochimie*, 71(1), 99-104 (1989)
- Bouchard M., Le Guerneve C., Auger M.: Comparison between the dynamics of lipid/gramicidin A systems in the lamellar and hexagonal phases: a solid-state ¹³C NMR study. *Biochim. Biophys. Acta*, 1415(1), 181-192 (1998)
- Bürsing H., Ouw D., Kundu S., Vöhringer P.: Probing solvation dynamics in liquid water and at phospholipid/water interfaces with femtosecond photon-echo spectroscopies. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 3, 2378-2387 (2001)
- Burkhart B. M., Li N., Langs D. A., Pangborn W. A., Duax W. L.: The conducting form of gramicidin A is a right-handed double-stranded double helix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 95(22), 12950-12955 (1998)
- Burkhart B. M., Gassman R. M., Langs D. A., Pangborn W. A., Duax W. L., Pletnev V.: Gramicidin D conformation, dynamics and membrane ion transport. *Biopolymers* 51(2), 129-144 (1999)
- Burkhart B. M., Duax W. L.: Gramicidin channel controversy — reply. *Nature Structural Biology*, 6, 611 - 612 (1999a)
- Busath D., Szabo G.: Permeation characteristics of gramicidin conformers. *Biophys. J.*, 53(5), 697-707 (1988)
- Busath D., Hemsley G., Bridal T., Pear M., Gaffney K., Karplus M.: Guanidinium as a probe of the gramicidin channel interior. *Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry*, 21(Transp. Membr.: Carriers, Channels Pumps), 187-201 (1988b)

- Busath D. D., Thulin C. D., Hendershot R. W., Phillips L. R., Maughan P. C., Chad D., Bingham N. C., Morrison S., Baird L. C., Hendershot R. J., Cotten M., Cross T. A.: Noncontact dipole effects on channel permeation. I. Experiments with (5F-indole)Trp₁₃ gramicidin A channels. *Biophys. J.*, 75(6), 2830-2844 (1998)
- Chakrabarti N., Tajkhorshid E., Roux B., Pomes R.: Molecular Basis of Proton Blockage in Aquaporins. *Structure*, 12(1), 65-74 (2004)
- Chiu S.-W., Subramaniam S., Jakobsson E.: Simulation study of a gramicidin/lipid bilayer system in excess water and lipid. I. Structure of the molecular complex. *Biophys. J.*, 76(4), 1929-1938 (1999)
- Chiu S.-W., Subramaniam S., Jakobsson E.: Simulation study of a gramicidin/lipid bilayer system in excess water and lipid. II. Rates and mechanisms of water transport. *Biophys. J.*, 76(4), 1939-1950 (1999a)
- Chizmadzhev Y. A., Khodorov B. I., Aityan S. K.: Theory of ion transport through the sodium channel of biological membranes. *Doklady Biophysics. Proc. Acad. Sci. USSR (Doklady Akademii Nauk SSSR)*, 213(3), 722-725 (1973)
- Chizmadzhev Y. A., Aityan S. K.: Theory of ion transport through potassium channel of biomembranes. *Doklady Biophysics. Proc. Acad. Sci. USSR (Doklady Akademii Nauk SSSR)*, 213(6), 1427-1430 (1973a)
- Chizmadzhev Y. A., Aityan S. K.: Coulomb effects in ion transport through selective channels of biomembranes. *Doklady Biophysics. Proc. Acad. Sci. USSR (Doklady Akademii Nauk SSSR)*, 216(3), 678-681 (1974)
- Chizmadjev Y. A., Aityan S. K.: Ion transport across sodium channels in biological membranes. *J. Theor. Biol.*, 64(3), 429-453 (1977)
- Chou T., Lohse D.: Entropy-driven pumping in zeolites and biological channels. *Phys. Rev. Lett.*, 82(17), 3552-3555 (1999)
- Chung S.-H., Kuyucak S.: Recent advances in ion channel research. *Biochim. Biophys. Acta*, 1565(2), 267-286 (2002)
- Clarke R. J.: Effect of lipid structure on the dipole potential of phosphatidylcholine bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1327, 269-278 (1997)
- Clarke R. J.: The dipole potential of phospholipid membranes and methods for its detection. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 89-90, 263-281 (2001)
- Classen J., Haest C. W. M., Tournois H., Deuticke B.: Gramicidin-induced enhancement of transbilayer reorientation of lipids in the erythrocyte membrane. *Biochemistry*, 26, 6604-6612 (1987)
- Cornell B. A., Braach-Maksvytis V. L. B., King L. G., Osman P. D. J., Raguse B., Wiczorek L., Pace R. J.: The gramicidin-based biosensor: a functioning nanomachine. Gramicidin and related ion channel-forming peptides. John Wiley & Sons Ltd, Chichester ; Novartis Foundation Symposium 225, 231-254 (1999)
- Cotten M., Fu R., Cross T. A.: Solid-state NMR and hydrogen-deuterium exchange in a bilayer-solubilized peptide: structural and mechanistic implications. *Biophys. J.*, 76(3), 1179-1189 (1999)
- Cross T.A., Arseniev A., Cornell B.A., Davis J.H., Killian J.A., Koeppe II. R.E., Nicholson L.K., Separovic F., Wallace B.A.: Gramicidin channel controversy — revisited. *Nature Structural Biology*, 6, 610 - 611 (1999)
- DeFelice L. J., Adams S. V., Ypsey D. L.: Single-file diffusion and neurotransmitter transporters: Hodgkin and Keynes model revisited. *BioSystems*, 62(1-3), 57-66 (2001)

- Dorigo A. E., Anderson D. G., Busath D. D.: Noncontact dipole effects on channel permeation. II. Trp conformations and dipole potentials in gramicidin A. *Biophys. J.*, 76(4), 1897-1908 (1999)
- Dorman V. L., Jordan P. C.: Ionic Permeation Free Energy in Gramicidin: A Semimicroscopic Perspective. *Biophys. J.*, 86, 3529-3541 (2004)
- Doyle D. A., Cabral J. M., Pfuetzner R. A., Kuo A., Gulbis J. M., Cohen S. L., Chait B. T., MacKinnon R.: The Structure of the Potassium Channel: Molecular Basis of K⁺ Conduction and Selectivity. *Science*, 280(5360), 69-77 (1998)
- Duax W. L., Burkhart B. M., Pangborn W. A., Pletnev V., Wawrzak Z., Glowka M.: Ion association, transport, and gating in gramicidin channels in lipid bilayers. *Adv. Supramol. Chem.*, 8, 245-282 (2002)
- Duffin R. L., Garrett M. P., Thompson K. B., Busath D. D.: Modulation of Lipid Bilayer Interfacial Dipole Potential by Phloretin, RH421, and 6-Ketocholestanol as Probed by Gramicidin Channel Conductance. *Langmuir*, 19(4), 1439-1442 (2003)
- Eisenman G., Sandblom J., Neher E.: Interactions in cation permeation through the gramicidin channel. Cesium, rubidium, potassium, sodium, lithium, thallium, hydrogen, and effects of anion binding. *Biophys. J.*, 22(2), 307-340 (1978)
- Eisenman G.; Sandblom, J. P.: Energy barriers in ionic channels: data for gramicidin A interpreted using a single-file (3B4S") model having 3 barriers separating 4 sites. *Studies in Physical and Theoretical Chemistry*, 24(Phys. Chem. Transmembr. Ion Motions), 329-348 (1983)
- Eisenman G., Horn R.: Ionic selectivity revisited: the role of kinetic and equilibrium processes in ion permeation through channels. *J. Membr. Biol.*, 76(3), 197-225 (1983a)
- Eisenman G., Sandblom J. P.: Modeling the gramicidin channel. Interpretation of experimental data using rate theory. *Biophys. J.*, 45(1), 88-90 (1984)
- Finkelstein A., Andersen O.S.: The Gramicidin-A channel: A review of its permeability characteristics with special reference to the single-file aspect of transport. *J. Membr. Biol.*, 59, 155-171 (1981)
- Fischer W., Brickmann J., Läuger P.: Molecular dynamics study of ion transport in transmembrane protein channels. *Biophys. Chem.*, 13(2), 105-116 (1981)
- Flewelling R. F., Hubbel W. L.: The membrane dipole potential in a total membrane potential model. *Biophys. J.*, 49, 541-552 (1986)
- Fu D., Libson A., Miercke L., Weitzman C., Nollert P., Krucinski J., Stroud R.: Structure of a Glycerol-Conducting Channel and the Basis for Its Selectivity. *Science*, 290 (5491), 481-486 (2000)
- Fu R., Cotten M., Cross T. A.: Inter- and intramolecular distance measurements by solid-state MAS NMR: determination of gramicidin A channel dimer structure in hydrated phospholipid bilayers. *J. Biomol. NMR*, 16(3), 261-268 (2000)
- Galbraith T. P., Wallace B. A.: Phospholipid chain length alters the equilibrium between pore and channel forms of gramicidin. *Faraday Discuss.*, 111, 159-164 (1998)
- Girshman J., Greathouse D. V., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Gramicidin channels in phospholipid bilayers with unsaturated acyl chains. *Biophys. J.*, 73(3), 1310-1319 (1997)
- Greathouse D. V., Hinton J. F., Kim K. S., Koeppe II. R. E.: Gramicidin-A Short-Chain Phospholipid Dispersions - Chain-Length Dependence of Gramicidin Conformation and Lipid Organization. *Biochemistry*, 33 (14), 4291-4299 (1994)

- Greathouse D. V., Koeppe R. E. 2nd, Providence L. L., Shobana S., Andersen O. S.: Design and characterization of gramicidin channels. *Methods in Enzymology*, 294, 525-550 (1999)
- Gross E., Witkop B.: Gramicidin IX. Preparation of Gramicidin A, B, and C. *Biochemistry*, 4 (11), 2495-2501 (1965)
- Goulian M., Mesquita O. N., Fygenson D. K., Nielsen C., Andersen O. S., Libchaber A.: Gramicidin channel kinetics under tension. *Biophys. J.*, 74(1), 328-337 (1998)
- Haeggglund J. V., Eisenman G., Sandblom J. P.: Single-salt behavior of a symmetrical 4-site channel with barriers at its middle and ends. *Bull. Math. Biol.*, 46(1), 41-80 (1984)
- Hahn K., Karger J., Rodenbeck C.: Theoretical analysis and simulation of diffusion and catalysis in single-file systems. *Proc. Int. Zeolite Conf.*, 12th (1999), Meeting Date 1998, 1, 153-158. Editor(s): Treacy, M. M. J.; Publisher: Materials Research Society, Warrendale, Pa
- Hamilton R. T., Kaler E. W.: Alkali metal ion transport through thin bilayers. *J. Phys. Chem.*, 94(6), 2560-2566 (1990)
- Hamilton R. T., Kaler E. W.: Facilitated ion transport through thin bilayers. *J. Membr. Sci.*, 54(3), 259-269 (1990a)
- Harroun T. A., Heller W. T., Weiss T. M., Yang L., Huang H. W.: Experimental evidence for hydrophobic matching and membrane-mediated interactions in lipid bilayers containing gramicidin. *Biophys. J.*, 76(2), 937-945 (1999)
- Heckmann K.: Zur Theorie der „Single File“-Diffusion I. *Z. Phys. Chem. (N. F.)*, 44, 184-203 (1965)
- Heckmann K.: Zur Theorie der „Single File“-Diffusion II. *Z. Phys. Chem. (N. F.)*, 46, 1-25 (1965a)
- Heckmann K.: Zur Theorie der „Single File“-Diffusion III. Sigmoidale Konzentrationsabhängigkeit unidirektionaler Flüsse bei „Single File“-Diffusion. *Z. Phys. Chem. (N. F.)*, 58, 206-219 (1968)
- Heckmann K., Vollmerhaus W., Kutschera J., Vollmerhaus E.: Mathematische Modelle für reaktionskinetische Phänomene. *Z. Naturforsch.*, 24a, 664-673 (1969)
- Heckmann K., Vollmerhaus W.: Zur Theorie der „Single File“-Diffusion IV. Vergleich von Leerstellendiffusion und „knock on“-Mechanismus. *Z. Phys. Chem. (N.F.)*, 71, 320-328 (1970)
- Heckmann K.: Single file diffusion. *Biomembranes Vol. 3, Passive permeability of cell membranes*; Editors: K. Kreuzer & J.F.G. Slegers; Plenum Publishing Corp., New York; 127-153 (1972)
- Heimburg T.: Coupling of chain melting and bilayer structure: domains, rafts, elasticity and fusion. In: *Planar Lipid Bilayers (BLMs) and their Applications*. Editors: Tien H. T., Ottova-Leitmannova A.; Elsevier, Amsterdam, 269-293 (2003)
- Heinemann S. H., Sigworth F. J.: Estimation of sodium dwell time in the gramicidin A channel. Sodium ions as blockers of hydrogen ion currents. *Biochim. Biophys. Acta*, 987(1), 8-14 (1989)
- Heinemann S. H., Sigworth F. J.: Open channel noise: V. Fluctuating barriers to ion entry in gramicidin A channels. *Biophys. J.*, 57(3), 499-514 (1990)
- Hemsley G., Busath D.: Small iminium ions block gramicidin channels in lipid bilayers. *Biophysical Journal*, 59(4), 901-907 (1991)

- Hianik T., Laputkova G.: The influence of cholesterol on the duration and conductance of gramicidin D channels in lipid bilayers. *Acta Physica Universitatis Comenianae*, 26, 179-190 (1985)
- Hianik T., Bajchi A., Laputkova G., Pavelkova J.: Dependence of gramicidin D-and valinomycin-induced conductivity of lipid bilayers on cholesterol content. *Biofizika*, 32(3), 458-461 (1987)
- Hill T. L.: Free energy transduction in biology. Academic Press, New York, San Francisco, London (1977)
- Hill T. L.: Free energy transduction and biochemical cycle kinetics. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg (1989)
- Hille B.: Ionic Channels of Excitable Membranes. Sinauer Associates Inc., Publishers: Sunderland, Massachusetts, 2nd Edition (1992)
- Hille B., Schwarz W.: Potassium Channels as Multi-Ion Single-File Pores. *J. Gen. Physiol*, 72, 409-442 (1978)
- Hing A. W., Schaefer J.: Two-dimensional rotational-echo double resonance of Val-1(1-carbon-13)Gly-2-nitrogen-15 Ala-3 Gramicidin A in multilamellar dimyristoyl-phosphatidylcholine dispersions. *Biochemistry*, 32(29), 7593-7604 (1993)
- Hinton J. F., Whaley W. L., Shungu D., Koeppe R. E. 2nd, Millett F. S.: Equilibrium binding constants for the group I metal cations with gramicidin-A determined by competition studies and thallium-205(1+) nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biophys. J.*, 50(3), 539-544 (1986)
- Hinton J. F., Buster D. C., Fernandez J. Q., Privett T. A., Easton P. L., Newkirk D. K.: Thermodynamics of cation binding and transport by gramicidin. *Jerusalem Symposia on Quantum Chemistry and Biochemistry*, 21(Transp. Membr.: Carriers, Channels Pumps), 203-218 (1988)
- Hinton J. F., Fernandez J. Q., Shungu D. C., Whaley W. L., Koeppe R. E. II, Millett F. S.: Tl-205 nuclear magnetic resonance determination of the thermodynamic parameters for the binding of monovalent cations to gramicidins A and C. *Biophys. J.*, 54(3), 527-533 (1988a)
- Hinton J. F.: Cation-binding location and hydrogen-exchange sites for gramicidin in SDS micelles using NOESY NMR. *J. Magn. Reson., Ser. B*, 112(1), 26-31 (1996)
- Hinton J. F.: NMR studies of ion-transporting biological channels. *Annu. Rep. NMR Spectrosc.*, 38, 89-137 (1999)
- Hladky S. B., Haydon D. A.: Ion movements in gramicidin channels. *Curr. Top. Membr. Transp.*, 21(Ion Channels), 327-372 (1984)
- Hodgkin A. L., Keynes R. D.: The potassium permeability of a giant nerve fibre. *J. Physiol.*, 128, 61-88 (1955)
- Horowicz P., Gage P. W., Eisenberg R. S.: The role of the electrochemical gradient in determining potassium fluxes in frog striated muscle. *J. Gen. Physiol.*, 51, 193s-203s (1968)
- Hu W., Lee K. C., Cross T. A.: Tryptophans in membrane proteins: Indole ring orientations and functional implications in the gramicidin channel. *Biochemistry*, 32(27), 7035-7047 (1993)
- Hu W., Cross T. A.: Tryptophan hydrogen bonding and electric dipole moments: Functional roles in the gramicidin channel and implications for membrane proteins. *Biochemistry*, 34(43), 14147-14155 (1995)

- Hübner C. A., Jentsch T. J.: Ion channel diseases. *Human molecular genetics*, 11(20), 2435-2445 (2002)
- Ilan N., Goldstein S. A. N.: KCNK0: Single, cloned potassium leak channels are multi-ion pores. *Biophys. J.*, 80, 241-253 (2001)
- Ishii S.-I., Witkop B.: Gramicidin A. I. Determination of Composition and Amino Acid Configuration by Enzymatic and Gas Chromatographic Methods. *J. Am. Chem. Soc.*, 85 (12), 1832-1834 (1963)
- Ismailov I. I., Shlyonsky V. G., Alvarez O., Benos D. J.: Cation permeability of a cloned rat epithelial amiloride-sensitive Na⁺ channel. *J. Physiol.*, 504, 287-300 (1997)
- Jensen M. O., Tajkhorshid E., Schulten K.: Electrostatic tuning of permeation and selectivity in aquaporin water channels. *Biophys. J.*, 85(5), 2884-2899 (2003)
- Jing N., Prasad K. U., Urry D. W.: The determination of binding constants of micellar-packaged gramicidin A by ¹³C- and ²³Na-NMR. *Biochim. Biophys. Acta*, 1238(1), 1-11 (1995)
- Jobic H., Hahn K., Kaerger J., Bee M., Tuel A., Noack M., Girnus I., Kearley G. J.: Unidirectional and Single-File Diffusion of Molecules in One-Dimensional Channel Systems. A Quasi-Elastic Neutron Scattering Study. *J. Phys. Chem. B*, 101(30), 5834-5841 (1997)
- Jordan P. C.: Electrostatic modeling of ion pores. II. Effects attributable to the membrane dipole potential. *Biophys. J.*, 41(2), 189-195 (1983)
- Jordan P. C.: The total electrostatic potential in a gramicidin channel. *J. Membr. Biol.*, 78(2), 91-102 (1984)
- Jordan P. C., Bacquet R. J., McCammon J. A., Tran P.: How electrolyte shielding influences the electrical potential in transmembrane ion channels. *Biophys. J.*, 55(6), 1041-1052 (1989)
- Kaerger J., Hahn K., Kukla V.: Moleküle im Gänsemarsch. (Single-file diffusion.) *Phys. Bl.*, 54(9), 811-815 (1998)
- Kallidukil S. J., Teeters D. C.: Lithium ion conduction in anhydrous gramicidin molecules oriented in nanoporous inorganic membranes. *Abstr. Pap. - Am. Chem. Soc.*, 221st IEC-102 (2001)
- Katsaras J., Prosser R. S., Stinson R. H., Davis J. H.: Constant helical pitch of the gramicidin channel in phospholipid bilayers. *Biophys. J.*, 61(3), 827-830 (1992)
- Ketchum R. R., Hu W., Tian F., Cross T. A.: Structure and dynamics from solid state NMR spectroscopy. *Structure*, 2(8), 699-701 (1994)
- Ketchum R. R., Roux B., Cross T. A.: High-resolution polypeptide structure in a lamellar phase lipid environment from solid state NMR derived orientational constraints. *Structure*, 5(12), 1655-1669 (1997)
- Killian J. A., De Kruijff B.: Thermodynamic, motional, and structural aspects of gramicidin-induced hexagonal H-II phase formation in phosphatidylethanolamine. *Biochemistry*, 24(27), 7881-7890 (1985)
- Killian J. A., De Kruijff B.: Importance of hydration for gramicidin-induced hexagonal H-II phase formation in dioleoylphosphatidylcholine model membranes. *Biochemistry*, 24(27), 7890-7898 (1985a)
- Killian J. A., Prasad K. U., Hains D., Urry D. W.: The membrane as an environment of minimal interconversion. A circular dichroism study on the solvent dependence of the conformational behavior of gramicidin in diacylphosphatidylcholine model membranes. *Biochemistry*, 27, 4848-4855 (1988)

- Kishihara K., Jing B., Regen S. L.: Cholesterol-Modulated Lipid-Peptide Communication in Fluid Bilayers. *Langmuir*, 18(25), 9635-9637 (2002)
- Kiss L., Immke D., LoTurgo J., Korn S. J.: The interaction of Na⁺ and K⁺ in voltage-gated potassium channels. *J. Gen. Physiol.*, 111, 195-206 (1998)
- Koeppel R. E. 2nd, Paczkowski J.-A., Whaley W. L.: Gramicidin K, a new linear channel-forming gramicidin from *Bacillus brevis*. *Biochemistry*, 24(12), 2822-2826 (1985)
- Koeppel R. E. 2nd, Providence L. L., Greathouse D. V., Heitz F., Trudelle Y., Purdie N., Andersen O. S.: On the helix sense of gramicidin A single channels. *Proteins*, 12(1), 49-62 (1992)
- Koeppel R. E. 2nd, Andersen O. S.: Engineering the gramicidin channel. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* 25, 231-258 (1996)
- Koeppel R. E. 2nd, Greathouse D. V., Providence L. L., Shobana S., Andersen O. S.: Design and characterization of gramicidin channels with side chain or backbone mutations. *Gramicidin and related ion channel-forming peptides*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester; Novartis Foundation Symposium, 225, 44-55; discussion 55-61 (1999)
- Kohler H.-H.: A single-file model for potassium transport in squid giant axon. *Biophys. J.*, 19, 125-140 (1977)
- Kohler H.-H., Heckmann K.: Unidirectional fluxes in saturated single-file pores of biological and artificial membranes. I. Pores containing no more than one vacancy. *J. theor. Biol.*, 79, 381-401 (1979)
- Kohler H.-H., Heckmann K.: Unidirectional fluxes in saturated single-file pores of biological and artificial membranes. II. Asymptotic behavior at high degrees of saturation. *J. theor. Biol.*, 85, 575-595 (1980)
- Kohler H.-H., Heckmann K.: The relation between binding affinities and selectivity of a pore. *J. Membrane Sci.*, 6, 45-59 (1980a)
- Kohler H.-H., Vollmerhaus E.: The frequency of cyclic processes in biological multistate systems. *J. Math. Biology*, 9, 275-290 (1980b)
- Kohler H.-H.: Brief an A.A. Lev (1980c)
- Kohler H.-H.: Some considerations concerning the technical use of narrow pores. *J. Membrane Sci.*, 7, 157-167 (1980d)
- Kohler H.-H.: *Statistische Theorie und praktische Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten eines Porendiffusionssystems*. Habilitationsschrift, Universität Regensburg, Deutschland, (1983) (in Deutsch)
- Kovacs F., Quine J., Cross T. A.: Validation of the single-stranded channel conformation of gramicidin A by solid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 7910-7915 (1999)
- Läuger P.: Kinetic properties of ion carriers and channels. *J. Membr. Biol.*, 57, 163-178 (1980)
- Läuger P.: Mechanisms of biological ion transport: Carriers, channels and pumps on artificial lipid membranes. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 24(11), 905-923 (1985)
- Lehmann-Horn F., Jurkat-Rott K.: Voltage-gated ion channels and hereditary disease. *Physiol. Rev.*, 79(4), 1317-1372 (1999)
- Lev A. A.: Sterol-dependent inactivation of gramicidin-A induced ionic channels in the cell and artificial lipid bilayer membranes. *School proceedings. School on Biophysics of Membrane Transport*, 10th(1), 231-250 (1990)

- Lev A. A., Schagina L.V., Grinfeldt A.E.: Changes of the energy profile of Gramicidin A ionic channel dependent on the ratio of cations of different species in the flux passing through the channel. *Gen. Physiol. Biophys.*, 7, 547-553 (1988)
- Levitt D. G.: Electrostatic calculations for an ion channel. I. Energy and potential profiles and interactions between ions. *Biophys. J.*, 22(2), 209-219 (1978)
- Linsdell P., Tabcharani J. A., Hanrahan J. W.: Multi ion mechanism for ion permeation and block in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel. *J. Gen. Physiol.*, 110, 365-377 (1997)
- Lundbaek J. A., Birn P., Girshman J., Hansen A. J., Andersen O. S.: Membrane Stiffness and Channel Function. *Biochemistry*, 35(12), 3825-3830 (1996)
- Lundbaek J. A., Maer A. M., Andersen O. S.: Lipid Bilayer Electrostatic Energy, Curvature Stress, and Assembly of Gramicidin Channels. *Biochemistry*, 36, 5695-5701 (1997)
- Lundbaek J. A., Andersen O. S.: Spring constants for channel-induced lipid bilayer deformations estimates using gramicidin channels. *Biophys. J.*, 76(2), 889-895 (1999)
- Luo L., Yang X., Wang E.: Ion channel sensor. *Anal. Lett.*, 32(7), 1271-1286 (1999)
- Macey R. I., Moura T. F.: Basic principles of transport. In: *Handbook of Physiology*, Editors: Hoffman J. F., Jamieson J. D.; Oxford University Press, New York; Section 14, Cell Physiology, 181-259 (1997)
- Markham J. C., Gowen J. A., Cross T. A., Busath D. D.: Comparison of gramicidin A and gramicidin M channel conductance dispersities. *Biochim. Biophys. Acta*, 1513(2), 185-192 (2001)
- Martinac B., Hamill O. P.: Gramicidin A channels switch between stretch activation and stretch inactivation depending on bilayer thickness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(7), 4308-4312 (2002)
- Martinez G., Sancho M.: Electrostatic interactions in gramicidin channels: Three-dielectric model. *Eur. Biophys. J.*, 22(4): 301-307 (1993)
- Miller Ch.: See potassium run. *Nature*, 414 (1 Nov.), 23-24 (2001)
- Miloshevsky G. V., Jordan P. C.: Gating Gramicidin Channels in Lipid Bilayers: Reaction Coordinates and the Mechanism of Dissociation. *Biophys. J.*, 86, 92-104 (2004)
- Mobashery N., Nielsen C., Andersen O. S.: The conformational preference of gramicidin channels is a function of lipid bilayer thickness. *FEBS Letters*, 412(1), 15-20 (1997)
- Nicholson L. K., Cross T. A.: Gramicidin cation channel: An experimental determination of the right-handed helix sense and verification of beta-type hydrogen bonding. *Biochemistry*, 28(24), 9379-9385 (1989)
- Nimigeon C. M., Miller C.: Na⁺ block and permeation in a K⁺ channel of known structure. *J. Gen. Physiol.*, 120, 323-335 (2002)
- North C. L., Cross T. A.: Correlations between function and dynamics: Time scale coincidence for ion translocation and molecular dynamics in the gramicidin channel backbone. *Biochemistry*, 34(17): 5883-5895 (1995)
- O'Connell A. M., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Kinetics of gramicidin channel formation in lipid bilayers: Transmembrane monomer association. *Science*, 250(4985), 1256-1259 (1990)
- Olah G. A., Huang H. W., Liu W., Wu Y.: Location of ion-binding sites in the gramicidin channel by X-ray diffraction. *J. Mol. Biol.*, 218(4), 847-858 (1991)

- Paula S., Volkov A. G., Van Hoek A. N., Haines T. H., Deamer D. W.: Permeation of protons, potassium ions, and small polar molecules through phospholipid bilayers as a function of membrane thickness. *Biophys. J.*, 70(1), 339-48 (1996)
- Paula S., Volkov A. G., Deamer D. W.: Permeation of halide anions through phospholipid bilayers occurs by the solubility-diffusion mechanism. *Biophys. J.*, 74(1), 319-327 (1998)
- Peterson U., Mannoock D. A., Lewis R. N. A. H., Pohl P., McElhaney R. N., Pohl E. E.: Origin of membrane dipole potential: Contribution of the phospholipid fatty acid chains. *Chem. Phys. Lipids.*, 117, 19-27 (2002)
- Pohl P., Saporov S. M.: Solvent drag across gramicidin channels demonstrated by microelectrodes. *Biophys. J.*, 78(5), 2426-2434 (2000)
- Pomes R., Roux B.: Molecular mechanism of H⁺ conduction in the single-file water chain of the gramicidin channel. *Biophys. J.*, 82(5), 2304-2316 (2002)
- Prenner E. J., Lewis R. N. A. H., McElhaney R. N.: The interaction of the antimicrobial gramicidin S with lipid bilayer model and biological membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1462, 201-221 (1999)
- Procopio J., Andersen O. S.: Ion tracer fluxes through Gramicidin A modified lipid bilayers. *Biophys. J.*, 25, 8a (1979)
- Providence L. L., Andersen O. S., Greathouse D. V., Koeppe R. E. 2nd, Bittman R.: Gramicidin Channel Function Does Not Depend on Phospholipid Chirality. *Biochemistry*, 34(50), 16404-16411 (1995)
- Ring A., Sandblom J.: Evaluation of surface tension and ion occupancy effects on gramicidin A channel lifetime. *Biophys. J.*, 53(4), 541-548 (1988)
- Ring A., Sandblom J.: Modulation of gramicidin A open channel lifetime by ion occupancy. *Biophys. J.*, 53(4), 549-559 (1988a)
- Rokitskaya T. I., Kotova E. A., Antonenko Y. N.: Membrane dipole potential modulates proton conductance through gramicidin channel: movement of negative ionic defects inside the channel. *Biophys. J.*, 82(2), 865-873 (2002)
- Rokitskaya T. I., Antonenko Y. N., Kotova E. A.: Effect of the dipole potential of a bilayer lipid membrane on Gramicidin channel dissociation kinetics. *Biophys. J.*, 73, 850-854 (1997)
- Roux B., Bruschweiler R., Ernst R. R.: The structure of gramicidin A in dimethylsulfoxide/acetone. *Eur. J. Biochem.*, 194(1), 57-60 (1990)
- Roux B., Prod'hom B., Karplus M.: Ion Transport in the Gramicidin Channel: Molecular Dynamics Study of Single and Double Occupancy. *Biophys. J.*, 68(3), 876-892 (1995)
- Roux B.: Computational Studies of the Gramicidin Channel. *Acc. Chem. Res.*, 35(6), 366-375 (2002)
- Salom D., Perez-Paya E., Pascal J., Abad C.: Environment- and Sequence-Dependent Modulation of the Double-Stranded to Single-Stranded Conformational Transition of Gramicidin A in Membranes. *Biochemistry*, 37(40), 14279-14291 (1998)
- Sandblom J., Eisenman G., Hagglund J.: Multioccupancy models for single filing ionic channels: theoretical behavior of a four-site channel with three barriers separating the sites. *J. Membr. Biol.*, 71(1-2), 61-78 (1983)
- Sandblom J., Galvanovskis J., Jilderos B.: Voltage-dependent formation of gramicidin channels in lipid bilayers. *Biophys. J.*, 81(2), 827-837 (2001)

- Sarges R., Witkop B.: Gramicidin. VII. The Structure of Valine- and Isoleucine-gramicidin B. J. Am. Chem. Soc., 87(9), 2027-2030 (1965)
- Sarges R., Witkop B.: Gramicidin. VIII. The Structure of Valine- and Isoleucine-Gramicidin C. Biochemistry, 4 (11), 2491-2494 (1965a)
- Sather W. A., McCleskey E. W.: Permeation and selectivity in calcium channels. Annu. Rev. Physiol., 65, 133-159 (2003)
- Sawyer D. B., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Induction of conductance heterogeneity in gramicidin channels. Biochemistry, 28(16), 6571-6583 (1989)
- Sawyer D. B., Williams L. P., Whaley W. L., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Gramicidins A, B, and C form structurally equivalent ion channels. Biophys. J., 58(5), 1207-1212 (1990)
- Sawyer D. B., Koeppe R. E. 2nd, Andersen O. S.: Gramicidin single-channel properties show no solvent-history dependence. Biophys. J., 57(3), 515-524 (1990a)
- Schagina L. V., Grinfeldt A. E., Lev A. A.: Interaction of cation fluxes in gramicidin A channels in lipid bilayer membranes. Nature, 273(5659), 243-245 (1978)
- Schagina L. V., Grinfeldt A. E., Lev A. A.: Concentration dependence of bidirectional flux ratio as a characteristic of transmembrane transporting mechanism. J. Membr. Biol., 73, 203-216 (1983)
- Schagina L. V., Grinfeldt A.E., Lev A.A.: The dependence of tracer-determined permeability coefficients of gramicidin A-treated red blood cell membranes and lipid bilayers on the ionic composition of the media. Bioelectrochem. Bioenerg., 19 (1988) 127-135, a section of J. Electroanal. Chem., and constituting Vol. 253 (1988)
- Schagina L.V., Aityan S.K., Grinfeldt A.E., Kohler H.-H., Lev A.A.: Cation-specific conformation changes in Gramicidin A channels. Nicht veröffentlicht (1988a)
- Schagina L.V., Blasko K., Grinfeldt A. E., Korchev Y. E., Lev A. A.: Cholesterol-dependent gramicidin A channel inactivation in red blood cell membranes and lipid bilayer membranes. Biochim. Biophys. Acta, 978, 145-150 (1989)
- Schagina L. V., Korchev Y. E., Grinfeldt A. E., Lev A. A., Blasko K.: Sterol specific inactivation of gramicidin A induced membrane cation permeability. Biochim. Biophys. Acta, 1109(1), 91-96 (1992)
- Schamberger J., Ronald J. C.: Hydrophobic ion hydration and the magnitude of the dipole potential. Biophys. J., 82, 3081-3088 (2002)
- Schmidt-Nielsen B.: The renal concentrating mechanism in insects and mammals: a new hypothesis involving hydrostatic pressures. Am. J. Physiol., 268 (5, Pt. 2), R1087-R1100 (1995)
- Seoh S. A., Busath D.: The permeation properties of small organic cations in gramicidin A channels. Biophys. J., 64(4), 1017-1028 (1993)
- Sham S. S., Shobana S., Townsley L. E., Jordan J. B., Fernandez J. Q., Andersen O. S., Greathouse D. V., Hinton J. F.: The Structure, Cation Binding, Transport, and Conductance of Gly15-Gramicidin-A Incorporated into SDS Micelles and PC/PG Vesicles. Biochemistry, 42(6), 1401-1409 (2003)
- Shinoda W., Shimizu M., Okazaki S.: Molecular dynamics study on electrostatic properties of a lipid bilayer: polarization, electrostatic potential, and the effects on structure and dynamics of water near the interface. J. Phys. Chem. B, 102, 6647-6654 (1998)

- Stryer L.: Biochemie. Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig/Wiesbaden, 3., durchgesehene Auflage (1985)
- Sugawara M., Hirano A., Buhlmann Ph., Umezawa Y.: Design and application of ion-channel sensors based on biological and artificial receptors. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 75(2), 187-201 (2002)
- Thompson N., Thompson G., Cole C. D., Cotten M., Cross T. A., Busath D. D.: Noncontact dipole effects on channel permeation. IV. Kinetic model of 5F-Trp₁₃ gramicidin A currents. *Biophys. J.*, 81(3), 1245-1254 (2001)
- Tian F., Cross T. A.: Cation Transport: An Example of Structural Based Selectivity. *J. Mol. Biol.*, 285, 1993-2003 (1999)
- Tian F., Lee K.-C., Hu W., Cross T. A.: Monovalent Cation Transport: Lack of Structural Deformation upon Cation Binding. *Biochemistry*, 35(37), 11959-11966 (1996)
- Tournois H., Leunissen-Bijvelt J., Haest C. W., de Gier J., de Kruijff B.: Gramicidin-induced hexagonal H_{II} phase formation in erythrocyte membranes. *Biochemistry*, 26, 6613-6621 (1987)
- Townsley L. E., Tucker W. A., Sham S., Hinton J. F.: Structures of gramicidins A, B, and C incorporated into sodium dodecyl sulfate micelles. *Biochemistry*, 40(39), 11676-11686 (2001)
- Tripathi S., Hladky S. B.: Streaming potentials in gramicidin channels measured with ion-selective microelectrodes. *Biophys. J.*, 74(6), 2912-2917 (1998)
- Urban B. W., Hladky S. B., Haydon D. A.: The kinetics of ion movements in the gramicidin channel. *Federation Proceedings*, 37(12), 2628-2632 (1978)
- Urban B.W., Hladky S.B.: Ion transport in the simplest single file pore. *Biochim. Biophys. Acta*, 554, 410-429 (1979)
- Urban B.W., Hladky S.B., Haydon D.A.: Ion movements in Gramicidin pores. An example of single-file transport. *Biochim. Biophys. Acta*, 602, 331-354 (1980)
- Urry D. W.: Gramicidin A transmembrane channel: a proposed p(L,D) helix. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68(3), 672-676 (1971)
- Urry D. W., Goodall M. C., Glickson J. D., Mayers D. F.: Gramicidin A transmembrane channel. Characteristics of head-to-head dimerized p(L,D) helices. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68(8), 1907-1911 (1971b)
- Urry D.W., Venkatachalam C.M., Spisni A., Läuger P., Kholed M.A.: Rate theory calculation of Gramicidin single channel currents using NMR-derived rate constants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 2028-2032 (1980)
- Urry D. W.; Walker J. T.; Trapane T. L.: Ion interactions in (1-¹³C)D-Val₈ and D-Leu₁₄ analogs of gramicidin A, the helix sense of the channel and location of ion binding sites. *J. Membr. Biol.*, 69(3), 225-231 (1982)
- Urry D. W., Alonso-Romanowski S., Venkatachalam C. M., Bradley R.J., Harris R. D.: Temperature dependence of single channel currents and the peptide libration mechanism for ion transport through the gramicidin A transmembrane channel. *J. Membr. Biol.*, 81(3), 205-217 (1984)
- Urry D.W., Trapane T.L., Venkatachalam C.M.: Potassium-39 NMR of K⁺ interaction with the Gramicidin channel and NMR-derived conductance ratios for Na⁺, K⁺ and Rb⁺. *J. Membr. Biol.*, 89, 107-111 (1986)

- Urry D. W., Trapane T. L., Venkatachalam C. M., Prasad Kari U.: Energy profiles for sodium ion passage through the single-filing gramicidin transmembrane channel. *International Journal of Quantum Chemistry, Quantum Biology Symposium*, Volume Date 1985, 12, 1-13 (1986a)
- Urry D. W., Jing N., Trapane T. L., Luan C.-H., Waller M.: Ion interactions with the gramicidin A transmembrane channel: cesium-133 and calcium-43 NMR studies. *Current Topics in Membranes and Transport*, 33 (*Mol. Biol. Ionic Channels*), 51-90 (1988)
- Veatch W. R., Fossel E. T., Blout E. R.: The conformation of Gramicidin A. *Biochemistry*, 13 (26), 5249-5256 (1974)
- Volkov A. G., Paula, S., Deamer, D. W.: Two mechanisms of permeation of small neutral molecules and hydrated ions across phospholipid bilayers. *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 42(2), 153-160 (1997)
- Wallace B.A.: Recent advances in the high resolution structures of bacterial channels: Gramicidin A. *J. Struct. Biol.*, 121, 123-141 (1998)
- Wallace B.A.: Common structural features in gramicidin and other ion channels. *BioEssays*, 22, 227-234 (2000)
- Weinstein S., Durkin J. T., Veatch W. R., Blout E. R.: Conformation of the gramicidin A channel in phospholipid vesicles: A fluorine-19 NMR study. *Biochemistry*, 24(16), 4374-4382 (1985)
- Whittembury G., González E., Gutiérrez A. M., M. E. Hernández, C. S. Hernández: Length of the selectivity filter of aquaporin-1. *Biology of the Cell*, 89 (5-6), 299-306 (1997)
- Williams L. P., Narcessian E. J., Andersen O. S., Waller G. R., Taylor M. J., Lazenby J. P., Hinton J. F., Koeppe R. E. 2nd: Molecular and channel-forming characteristics of gramicidin K's: A family of naturally occurring acylated gramicidins. *Biochemistry* 31(32), 7311-7319 (1992)
- Zahn D., Brickmann J.: Quantum-classical simulation of proton transport via a phospholipid bilayer. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 3(5), 848-852 (2001)
- Zahn D., Brickmann J.: Molecular dynamics study of water pores in a phospholipid bilayer. *Chem. Phys. Lett.*, 352(5,6), 441-446 (2002)
- Zhang Z., Pascal S. M., Cross T. A.: A conformational rearrangement in gramicidin A: From a double-stranded left-handed to a single-stranded right-handed helix. *Biochemistry*, 31(37), 8822-8828 (1992)