

ADAM SZEWCZYK, MARCIN NOWOTNY

Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Pasteura 3, Warszawa

E-mail: adam@nencki.gov.pl

## CHEMIA JONÓW WAPNIA

### FIZYKOCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI WAPNIA

W układach biologicznych jony wapnia pełnią szczególną rolę, między innymi w procesach przekazywania informacji, w egzocytocie i w skurczu mięśni (CARAFOLI 1987, CLAPHAM 1995, BERRIDGE 1993, MELZER i współaut. 1995). Wprawdzie oprócz jonów wapnia także jony innych metali ( $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ) występują powszechnie w układach biologicznych, ale tylko  $Ca^{2+}$  okazał się być regulatorem metabolizmu komórkowego, ponieważ wiąże się specyficznie z pewnymi białkami, zmieniając ich konformację i właściwości biochemiczne. Poza tym stężenie  $Ca^{2+}$  w komórce zmienia się w taki sposób, że powoduje „włączenie lub wyłączenie” wewnątrzkomórkowych receptorów wapnia (FAMULSKI 1989). Specyficzność chemiczna oddziaływań białek z  $Ca^{2+}$  jest wykorzystywana między innymi w procesach regulacji stężenia tego kationu w komórce przez niektóre układy enzymatyczne. Pewne z nich kompleksują  $Ca^{2+}$ , z kolei inne przenoszą jony wapnia z jednych przedziałów komórkowych do innych, decydując o lokalnych zmianach stężenia  $Ca^{2+}$ , zachodzących w określonym czasie (MAKOWSKA i DUSZYŃSKI 1996). Regulacja tych procesów jest bardzo precyzyjna, a ich chemiczna specyficzność wysoka, a zatem ich niesprawność może prowadzić do dramatycznych zaburzeń w funkcjonowaniu komórki a nawet do jej śmierci (CARAFOLI 1987).

Wapń należy do berylowców, metali ziem alkalicznych, stanowiących grupę IIA układu okresowego pierwiastków. Obejmuje ona także beryl, magnez, stront, bar i rad. W stanie podstawowym posiadają one konfigurację elektronów walencyjnych  $ns^2$ . Pod względem właściwości chemicznych podobieństwa pomiędzy poszczególnymi pierwiastkami tej grupy są bardzo wyraźne (tab.1) (COTTON i WILKINSON

1972, TRETYN 1994, MINCZEWSKI i MARCZENKO 1996). Interesujące jest więc poszukiwanie odpowiedzi na pytanie: jak to się stało, że to właśnie jony wapnia, a nie na przykład jony magnezu, stały się tak istotne w funkcjonowaniu komórek? Być może wynika to z faktu, że poszczególne berylowce różnią się znacznie pomiędzy sobą pod względem rozpowszechnienia w przyrodzie. Zawartość berylu w skorupie ziemskiej jest niewielka ( $6 \times 10^{-4}\%$ ), z kolei magnez i wapń należą do pierwiastków pospolitych (2,09% Mg, 3,63% Ca — piąte miejsce wśród pierwiastków). Wapń występuje w postaci licznych krzemianów i glinokrzemianów, jest także obecny w postaci węglanów (kalcyt lub aragonit), siarczanów (anhydryt lub gips) i fosforanów (fosforyt lub apatyt). Pozostałe berylowce, stront, bar i rad, występują w przyrodzie w bardzo małych ilościach (TRETYN 1994). Interesujący jest fakt, że w organizmie człowieka zawartości wapnia i magnezu zdecydowanie się różnią, wapnia jest 1,38%, natomiast magnezu 0,04%. Ważne jest także nierównomierne rozmieszczenie wapnia w organizmie. W środowisku pozakomórkowym jego całkowite stężenie może osiągnąć wartości  $10^{-3}$  M, podczas gdy wewnątrz komórek od  $2 \times 10^{-6}$  M w erytrocytach i  $2-4 \times 10^{-4}$  M w aksonach, do  $4 \times 10^{-3}$  M w komórkach serca,  $1,6 \times 10^{-3}$  M w hepatocytach i  $1,5 \times 10^{-3}$  M w komórkach mózgu. Istotną różnicą polega także na tym, że w środowisku zewnętrznym ponad połowa wapnia występuje w formie zjonizowanej, podczas gdy w komórkach tylko 0,1% lub mniej (CARAFOLI 1987).

Mimo podobnych właściwości chemicznych jony wapnia i magnezu należą do różnych grup w analizie jakościowej kationów. Wapń, obok strontu i baru, należy do IV grupy analitycznej kationów, natomiast magnez,

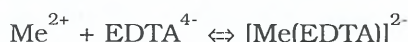
Tabela 1. Właściwości fizyczne berylowców

	Beryl	Magnez	Wapń	Stront	Bar	Rad
Symbol chemiczny	Be	Mg	Ca	Sr	Ba	Ra
Konfiguracja elektronowa	2s <sup>2</sup>	3s <sup>2</sup>	4s <sup>2</sup>	5s <sup>2</sup>	6s <sup>2</sup>	7s <sup>2</sup>
Masa atomowa	9,0122	24,312	40,08	87,62	137,3	226
Energia jonizacji, kcal/mol						
I Me → Me <sup>+</sup> + e	213,7	175,4	140,3	130,7	119,6	
II Me <sup>+</sup> → Me <sup>2+</sup> + e	417,6	344,8	272,4	253,0	229,3	
Elektroujemność	1,5	1,2	1,0	1,0	0,9	0,9
Potencjał normalny						
Me <sup>2+</sup> /Me, V	-1,85	-2,37	-2,87	-2,89	-2,90	-2,92
Promień atomowy, Å	1,12	1,60	1,97	2,15	2,22	
Promień jonowy Me <sup>2+</sup> , Å	0,31	0,65	0,99	1,13	1,35	

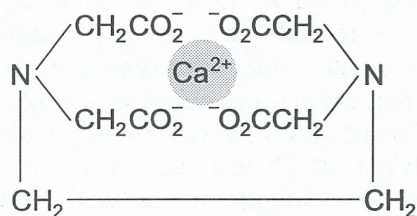
obok sodu, potasu i kationu amoniowego, do grupy V (MINCZEWSKI i MARCZENKO 1996).

Jony wapnia, podobnie jak jony magnezu, tworzą wprawdzie sole z różnymi kwasami, ale związki te znacznie różnią się rozpuszczalnością pomiędzy sobą (tab. 2). Fakt ten miał znaczący wpływ na dobór przez mechanizmy ewolucji jonów wapnia jako pierwotnego i wtórnego przekazywacza informacji w komórce (BARAŃSKA 1997, SANTELLA i CARAFOLI 1997)

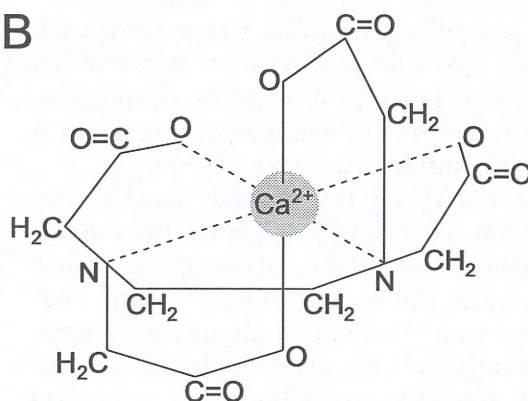
Dodatkową rolę odegrał prawdopodobnie fakt, że spośród berylowców jedynie magnez i wapń wykazują tendencję do tworzenia związków kompleksowych. Z nielicznymi wyjątkami są to w większości kompleksy z ligandami tlenowymi. Znane są na przykład addukty eterowe MgBr<sub>2</sub>(OEt)<sub>2</sub> i MgBr<sub>2</sub>(THF)<sub>4</sub>. Najważniejszymi tlenowymi kompleksami chelatowymi wapnia i magnezu są związki z kwasem etylenodwuaminotetraoctowym (EDTA) (rys. 1), powstające w reakcji:



A



B



Rys. 1. Struktura chemiczna (A) i struktura przestrzenna (B) kwasu etylenodwuaminotetraoctowego (EDTA) w kompleksie z jonem wapnia.

Tabela 2. Rozpuszczalność związków wapniowców (mol/dm<sup>3</sup>)

Anion	Ca <sup>2+</sup>	Sr <sup>2+</sup>	Ba <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	7 x 10 <sup>-5</sup>	3 x 10 <sup>-5</sup>	7 x 10 <sup>-5</sup>	2 x 10 <sup>-3</sup>
OH <sup>-</sup>	2 x 10 <sup>-2</sup>	4 x 10 <sup>-2</sup>	1 x 10 <sup>-1</sup>	1 x 10 <sup>-4</sup>
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	3 x 10 <sup>-3</sup>	5 x 10 <sup>-4</sup>	1 x 10 <sup>-5</sup>	-
CrO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	6 x 10 <sup>-3</sup>	1 x 10 <sup>-5</sup>	-
C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	5 x 10 <sup>-5</sup>	2 x 10 <sup>-4</sup>	2 x 10 <sup>-4</sup>	9 x 10 <sup>-3</sup>
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	4 x 10 <sup>-6</sup>	-	-	6 x 10 <sup>-5</sup>

Reakcja ta jest wykorzystywana do usuwania wapnia i magnezu z roztworu, a także do kompleksometrycznego oznaczania ich stężenia. Ligandy zawierające azot tworzą z berylowcami bardzo słabe kompleksy. Na przykład chlorki magnezu i wapnia pochłaniają NH<sub>3</sub> i aminy z wytworzeniem związków typu [Ca(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]Cl<sub>2</sub>. Są one trwałe jedynie w fazie stałej i dysocjują w roztworach. Bardzo ważnym wyjątkiem od tej reguły są kompleksy magnezu z układem porfiryńowym. Tego typu połączenia występują w chlorofilu i związkach pokrewnych (MINCZEWSKI i MARCZENKO 1996).

## DLACZEGO JONY WAPNIA?

Co sprawia, że rola jonów wapnia jest tak specyficzna w procesach biochemicznych? Dlaczego inne jony, obecne w organizmie, takiej roli nie pełnią? Spróbujemy wykazać, że spośród wielu jonów obecnych w komórce, jony wapnia najlepiej spełniają wymagania stawiane przed kandydatem do roli uniwersalnego przekazywacza informacji.

Kation wapniowy różni się znacznie promieniem jonowym i gęstością ładunku od jonów magnezowych, sodowych lub potasowych, co stanowi jednocześnie jego unikalność i możliwość rozpoznawania przez specyficzne cząsteczki efektorowe. To pozwala na osiągnięcie wysokiej selektywności w jego wiązaniu, nawet pomimo faktu, że jon magnezowy jest również dwuwartościowy, a sodowy posiada prawie identyczny promień jonowy (wielkości promieni jonowych wynoszą 1,06 Å dla  $\text{Na}^+$  i 0,99 Å dla  $\text{Ca}^{2+}$ ). Istotnym czynnikiem jest także przestrzenne usytuowanie grup funkcyjnych, tworzących miejsce wiążące dla jonów wapnia. Jeżeli jon zbyt „luźno” pasuje do miejsca wiążącego może okazać się, że wiązanie cząsteczek wody jest silniejsze niż oddziaływanie z anionowymi grupami ligandu (NAYAL i DI CERA 1994). Przykładem może być tu wysoka selektywność sondy Arsenazo III dla jonów wapnia w porównaniu z jonami magnezu. Miejsce wiążące jony w cząsteczce Arsenazo III, utworzone przez sześć atomów tlenu, ma średnicę około 2,15 Å, rozmiar odpowiedni dla związania  $\text{Ca}^{2+}$ . Jest za to zbyt duże, aby silnie związać jon magnezowy, którego średnica wynosi 0,65 Å. Miejsce wiążące nie może zmniejszyć swojej średnicy, ponieważ cząsteczka Arsenazo III jest na to zbyt „sztywna”. Teoretycznie jon magnezowy również może wnikać do miejsca wiążącego, jednak wytworzone oddziaływanie będą zbyt słabe, aby zrównoważyć energię hydratacji. Podobnie tłumaczy się powszechnie znaną specyficzność oddziaływania EGTA z  $\text{Ca}^{2+}$  (COBOLD i RINK 1987, NEGULESCU i MACHEN 1990, WIER 1990). Przedstawiony model oddziaływania jonów wapnia z małymi cząsteczkami tłumaczy również specyficzność ich oddziaływania z niektórymi białkami (NAKAYAMA i KRETSINGER 1994, NAYAL i DI CERA 1994, CELIO i współred. 1996). Uważa się, że obowiązuje on dla makromolekuł wiążących jony wapnia ze stałą dysocjacji w zakresie od  $10^{-7}$  do  $10^{-5}$  M. Na podstawie badań struktury miejsc wiążących jony wapnia w grupie trzynaestu dwóch białek posiadających sześćdzie-

siąt dwa miejsca wiążące  $\text{Ca}^{2+}$  stwierdzono, że konfiguracja elektronów walencyjnych atomu wapnia pełni istotną rolę w rozpoznawaniu przez białka właściwości tego jonu (NAYAL i DI CERA 1994).

O „wyborze” jonów wapnia w ewolucji żywych organizmów na naszej planecie prawdopodobnie zadecydował również fakt, że jako jedyne wśród jonów obecnych we wnętrzu komórki charakteryzują się dużym stosunkiem sygnału do tła, czyli dużą wartością ilorazu stężenia kationu w komórce pobudzonej do stężenia kationu w komórce w stanie spoczynku (CARAFOLI 1987). „Stromy” gradient stężeń  $\text{Ca}^{2+}$  pomiędzy środowiskiem zewnętrznym a cytosolem stwarza komórce wyjątkową możliwość, dzięki której przejściowe otwarcie kanałów wapniowych w błonach wywołuje gwałtowny wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia  $\text{Ca}^{2+}$ , będący impulsem zmian w komórce (CARAFOLI 1987). Inne jony powszechnie obecne w komórce tylko w niewielkim stopniu nadają się do roli przekazywacza informacji. Jednowartościowe jony sodu, potasu lub jony chlorkowe pełnią wprawdzie istotną rolę w homeostazie osmotycznej komórki, ale ich stężenia w cytosolu są zbyt wysokie, aby osiągnąć duży stosunek sygnału do tła, jak w przypadku jonów wapnia (CARAFOLI 1987, CLAPHAM 1995). Jon magnezowy również nie mógłby pełnić roli przekazywacza informacji, mimo że jego stężenie w komórce jest stosunkowo niskie. Być może wynika to z faktu, że grupy aminowe lub imidazolowe makrocząsteczek wiążą jony magnezu chętniej niż jony wapnia. Natomiast jony wapnia są chętniej wiązane przez grupy silnie kwasowe lub posiadające wiele ładunków ujemnych, na przykład grupy karboksylowe, sulfonowe, czy fosforanowe. Stąd wynika konieczność by stężenie jonów wapniowych było utrzymywane na niskim poziomie. Fakt ten sprzyjał niewątpliwie ewolucji systemów transportu  $\text{Ca}^{2+}$  z komórki, szczególnie ich aktywnego transportu, ze względu na bardzo dużą różnicę stężeń pomiędzy wnętrzem i na zewnątrz komórki (CARAFOLI 1987, PIKUŁA 1997).

Niewątpliwie podobny wpływ na ewolucję systemów transportu oraz białek wiążących wapń lub oddziałujących z tym kationem miał fakt ograniczonego jego działania w komórce. Biorąc pod uwagę promień jonowy atomu wapnia i współczynnik dyfuzji  $1000 \mu\text{m}^2/\text{s}$  obliczono, że po wnikięciu do komórki jony wapnia migrują na odległość 0,1–0,5  $\mu\text{m}$  w czasie nie

dłuższym niż 50  $\mu\text{s}$  (CLAPHAM 1995). Ograniczone działanie wapnia wynika również z faktu, że wewnątrz komórki występuje obfitość estrów fosforanowych, które reagując z wapniem, tworzą całkowicie nierozpuszczalne fosforany (MINCZEWSKI i MARCZENKO 1996). Istotną rolę odegrała również mniejsza w porównaniu z jonami magnezu gęstość ładunku oraz mniejsza energia hydratacji jonów wapnia, co sprawia,

że wiązanie i dysocjacja  $\text{Ca}^{2+}$  są procesami zachodzącymi szybko. „Sygnały magnezowe” byłyby w związku z powyższym wolniejsze niż „sygnały wapniowe.” (CLAPHAM 1995). Fakty te zdają się potwierdzać, że tylko jony wapnia mogą pełnić rolę przekaźnika informacji w procesach komórkowych. Czy jest to jednak pełna odpowiedź na pytanie postawione we wstępie, ocenę pozostawmy Czytelnikowi.

## CHEMISTRY OF CALCIUM IONS

### S u m m a r y

Calcium ions play a very specific role in functioning of living organisms. They are vital for various processes such as signal transduction or exocytosis. In this paper we discuss chemical properties of calcium ions in connec-

tion with their specificity in biochemical interactions to show that physicochemical properties of calcium were crucial in evolution of calcium-transport system and calcium-binding proteins.

### LITERATURA

- BARAŃSKA J., 1997. *Wapń jako pierwotny i wtórny przekaźnik informacji. Udział  $\text{Ca}^{2+}$  w cyklu komórkowym, sekcji i adhezji.* Kosmos 46, 33–44.
- BERRIDGE M. J., 1993. *Inositol trisphosphate and calcium signalling.* Nature 361, 315–325.
- CARAFOLI E., 1987. *Intracellular calcium homeostasis.* Ann. Rev. Biochem. 56, 395–433.
- CELIO M. R., PAULS T., SCHWALLER B., red. 1996. *Guide to the calcium binding proteins.* A Sambrook and Toozee Publication at Oxford University Press, Oxford.
- CLAPHAM D. E., 1995. *Calcium signaling.* Cell 80, 259–268.
- COBBOLD P. H., RINK T. J., 1987. *Fluorescence and bioluminescence measurements of cytoplasmic free calcium.* Biochem. J. 248, 313–328.
- COTTON F. A., WILKINSON G., 1972. *Advanced inorganic chemistry.* Interscience publishers, New York, Sydney, Toronto.
- FAMULSKI K. S., 1989. *Transport jonów wapnia przez błonę komórkową.* Post. Biochem. 35, 493–511.
- MAKOWSKA A., DUSZYŃSKI J., 1996. *Oscylacje i fale wapniowe w komórce.* Post. Biochem. 42, 146–153.
- MELZER W., HERRMANN-FRANK A., LÜTTGAU H. C., 1995. *The role of  $\text{Ca}^{2+}$  ions in excitation-contraction coupling of skeletal muscle fibres.* Biochim. Biophys. Acta 1241, 59–116.
- MINCZEWSKI J., MARCZENKO Z., 1996. *Chemia analityczna, tom 1.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- NAKAYAMA S., KRETSINGER R. H., 1994. *Evolution of the EF-hand family of proteins.* Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 23, 473–507.
- NAYAL M., DI CERA E., 1994. *Predicting  $\text{Ca}^{2+}$ -binding sites in proteins.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 817–821.
- NEGULESCU P. A., MACHEN T. E., 1990. *Intracellular ion activities and membrane transport in parietal cells measured with fluorescent dyes.* Methods Enzymol. 192, 38–81.
- PIKULA S., 1997. *ATPaza z błon sarkoplazmatycznego retikulum, transportująca jony wapnia.* Kosmos 46, 105–114.
- SANTELLA L., CARAFOLI E., 1997. *Calcium signaling in the cell nucleus.* FASEB J. 11, 1091–1109.
- TRETYN A., 1994. *Wapń w komórkach eukariotycznych.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- WIER W. G., 1990. *Cytoplasmic [ $\text{Ca}^{2+}$ ] in mammalian ventricle: dynamic control by cellular process.* Ann. Rev. Physiol. 52, 467–485.