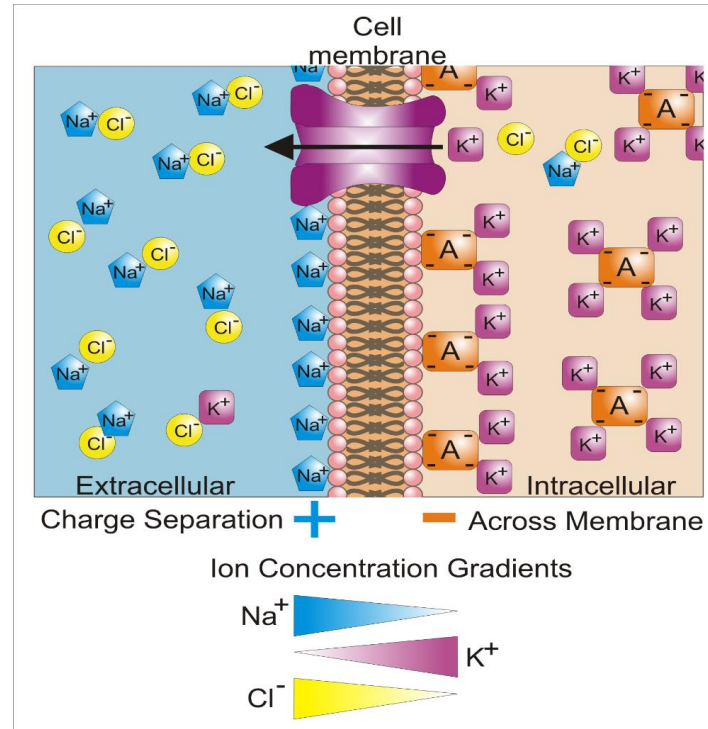
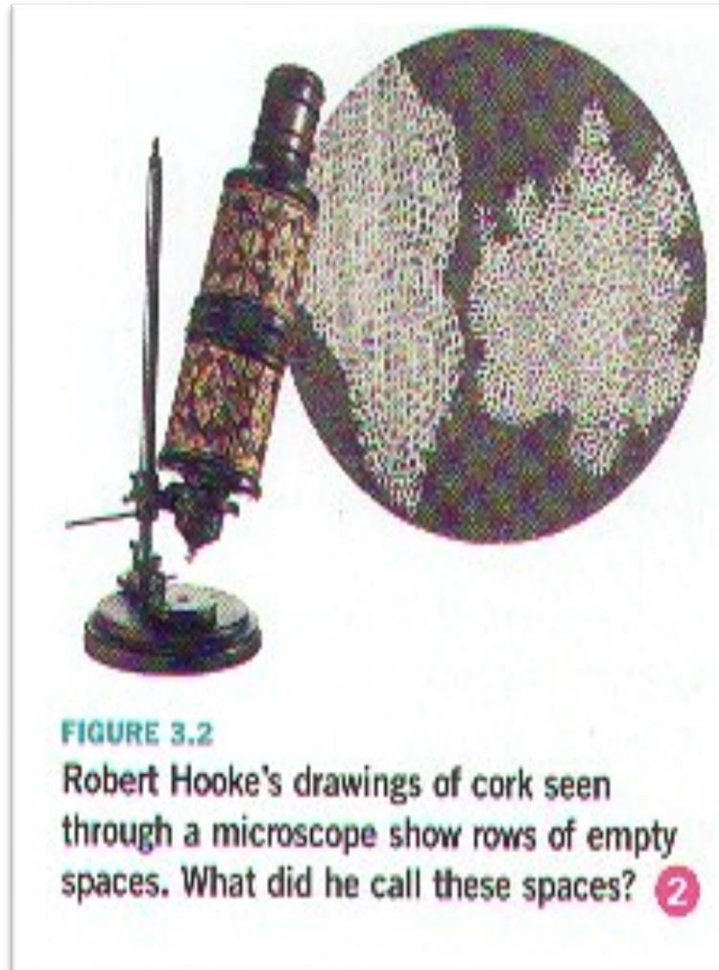


HÜCRE ZARINDA GEÇİŞLER VE ZAR POTANSİYELİ



Doç. Dr. Ayşegül Akar
OMÜ Tıp Fakültesi Biyofizik AD

İlk defa İngiliz fizikçi Robert HOOKE, 1665'te “Hücre” anlamına gelen “Cellula” ismini vermiştir.

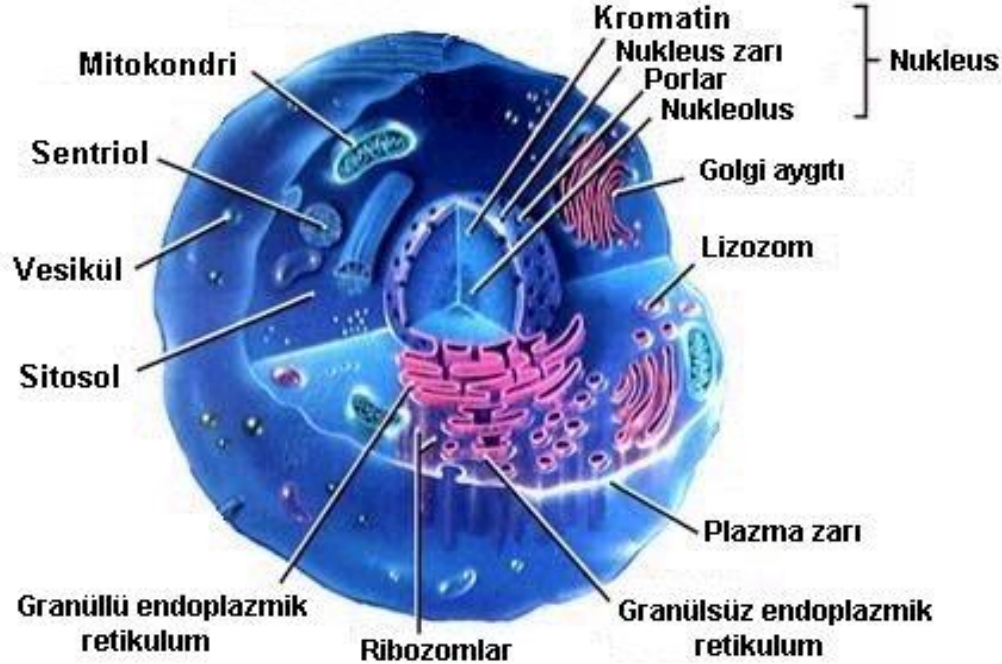


HÜCRENİN BÖLÜMLERİ

HÜCRE ZARI

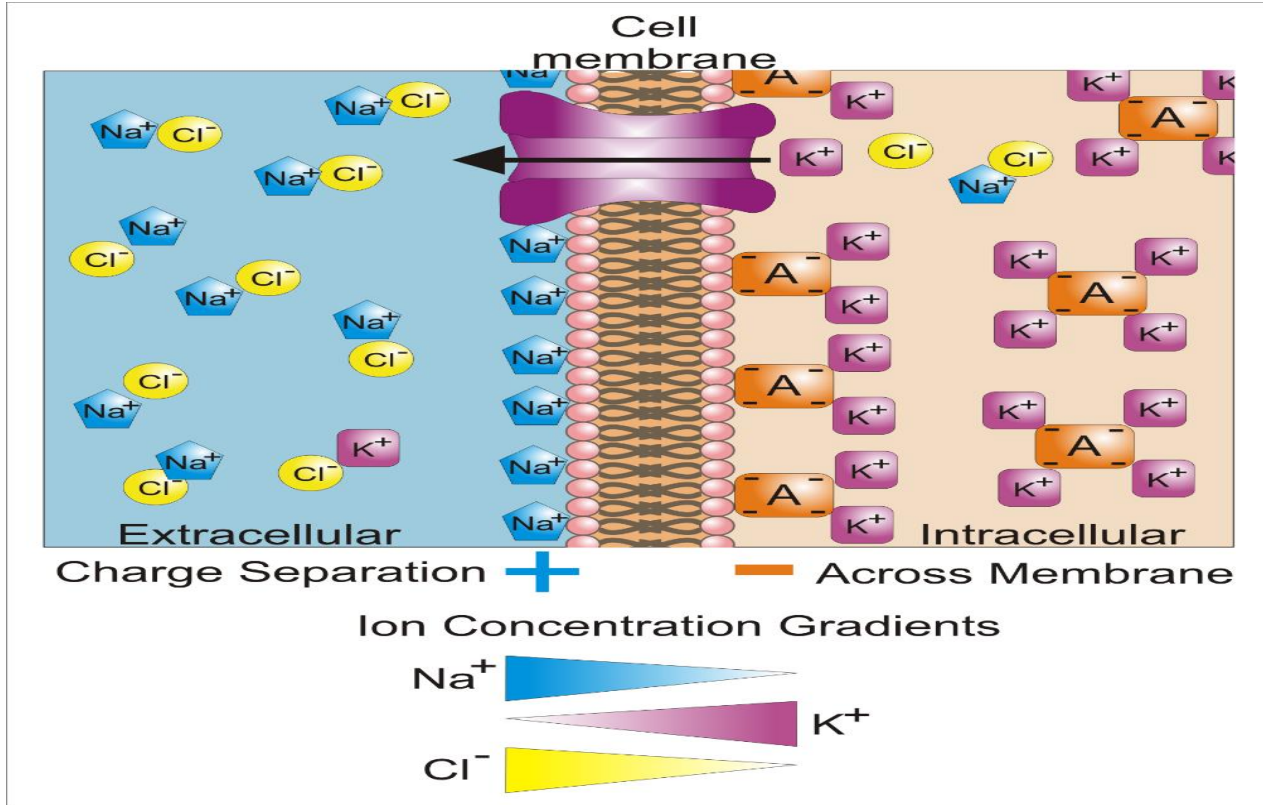
SİTOPLAZMA

ÇEKİRDEK



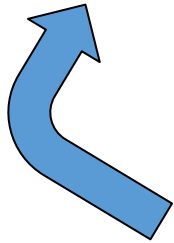
HÜCRE ZARI

BİYOELEKTRİK OLAYLAR HÜCRE ZARLARININ BİR İŞLEVİDİR



- * iç ortam özelliklerinin sabit kalması,
- * dış ortamdan etkilenmeme,
- * diğer hücrelerle seçici madde alışverişi yapılması,
- * artık maddelerin dışarı atılması..gibi görevleri üstlenmektedir.

- **EKG**
- **EEG**
- **EMG**
- **TENS**
- **ERG** (Elektroretinografi)
- Uyarılmış potansiyeller
- Olaya ilişkin potansiyeller
- **ECoG** (Elektrokortikografi)
- **TMS** (Transkranyal manyetik stimülasyon)
- **EKT** (Elektrokonvulsiv terapi)
- Akım kısıkaçı
- Voltaj kısıkaçı



Hücrelerde elektriksel potansiyeller:

- **İstirahat membran potansiyeli**
- **Dereceli potansiyeller**
 - **Reseptör potansiyeli**
 - **Sinaptik potansiyeller (EPSP, IPSP)**
- **Aksiyon potansiyeli**

- Kalp ritim bozuklukları
- Uzamış QT sendromu-K,Na
- Konjenital miyotoni-Cl
- Epilepsi
- Bazı yılan, balık ve örümcek zehirleri
- Hiperkalemi



**İster hücre düzeyinde ister organizma
düzeyinde madde ve enerji taşınımı
Nasıl gerçekleşir? Taşınım yolları
nelerdir?**

**Hangi Fiziksel Parametreler etkindir
ve taşınım sırasında hangi fiziksel
olaylar gerçekleşir?**

HÜCRE DÜZEYİNDE DİFÜZYON

- Konsantrasyon farklılığının bulunduğu bir ortamda molekül, iyon gibi taneciklerin yüksek konsantrasyon bölgesinden daha düşük konsantrasyon bölgesine doğru net akışına *difüzyon* denir.

○ **Nötral Difüzyon,**

○ **İyonik Difüzyon**

Nötral Difüzyon (Fick I. Yasası); Yüksüz moleküllerin yüksek konsantrasyon bölgesinden düşük konsantrasyon bölgesine memranı geçerek gerçekleştirdiği olaydır.

$$M_{\text{dif}} = \frac{\Delta n}{\Delta t} \cdot \frac{1}{A} = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

Diagram explaining the components of Fick's I Law:

- Δn : mol
- Δt : Zaman
- A : Kesit alan
- D : Difüzyon katsayısı m^2/s
- Δc : Konsantrasyon farkı
- Δx : Parçacığın aldığı yol
- M_{dif} : Difüzyon akısı $\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$

DİFÜZYON

İyonik difüzyon: Yüklü iyonların plazma membranını geçme olayıdır.

$$J_{top} = \frac{dn}{dt} \frac{1}{A} = -D \frac{dc}{dx}$$



$$J_{el} = \frac{dq}{dt} \frac{1}{A} = -\sigma \frac{dV}{dx}$$



$$J_{top} = J_{dif} + J_{el}$$



$$M_{dif} = \frac{\Delta n}{\Delta t} \frac{1}{A} = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

→ mol
 → Konsantrasyon farkı
 → Parçacığın aldığı yol
 → Difüzyon katsayısı m²/s
 → Kesit alan
 → Zaman
 → Difüzyon akısı mol/m²s

$$\sigma = n_i \mu_i z_i F$$

$$J_i = c_i \mu_i \left[\frac{-RT}{c_i} \frac{dc_i}{dx} - z_i F \frac{dV}{dx} \right]$$

Nerst-planck denklemi

HÜCRE DÜZEYİNDE DİFÜZYON

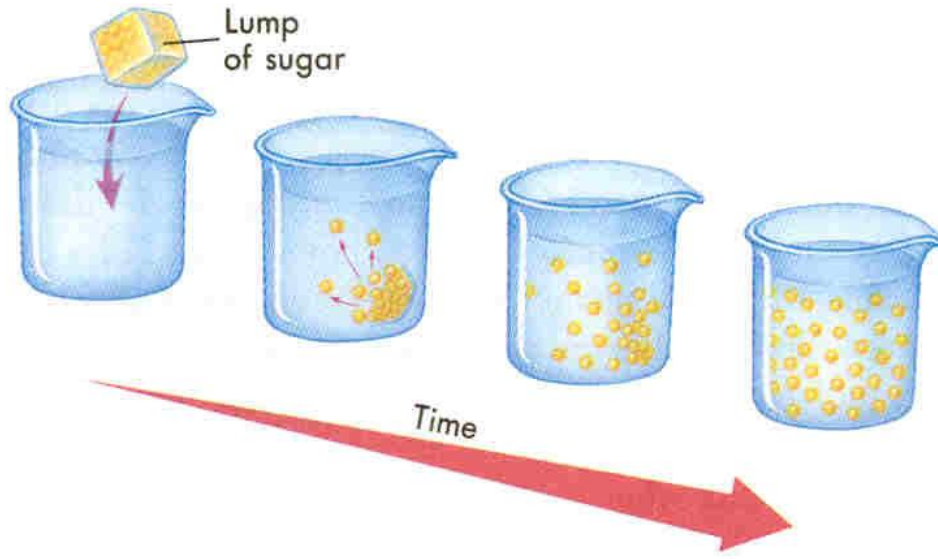
- Konsantrasyon farklılığının bulunduğu bir ortamda molekül, iyon gibi taneciklerin yüksek konsantrasyon bölgesinden daha düşük konsantrasyon bölgesine doğru net akışına *difüzyon* denir.

$$M_{\text{dif}} = \frac{\Delta n}{\Delta t} \frac{1}{A} = -D \frac{\Delta c}{\Delta x}$$

Diagram explaining the variables in the diffusion equation:

- Δn : mol
- Δt : Zaman
- A : Kesit alan
- D : Difüzyon katsayısı m^2/s
- Δc : Konsantrasyon farkı
- Δx : Parçacığın aldığı yol
- M_{dif} : Difüzyon akısı $\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$

DİFÜZYON

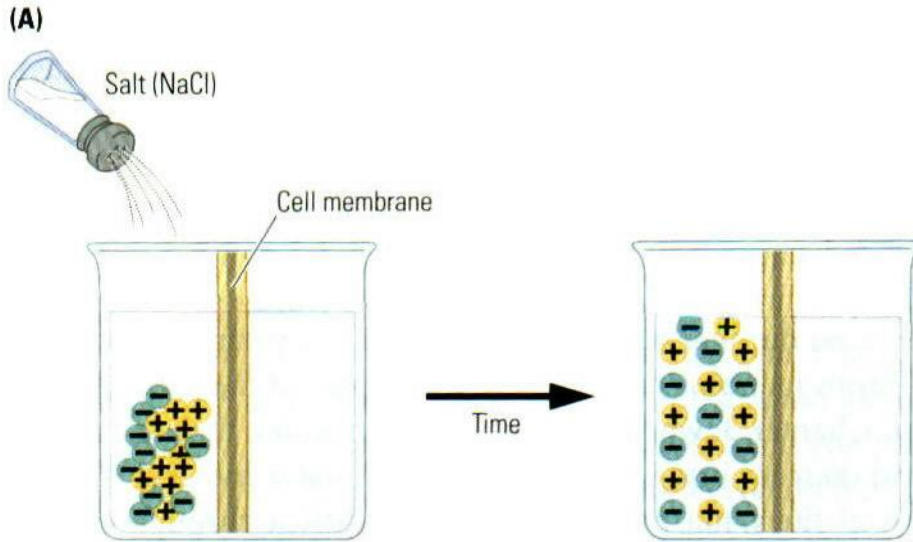


1. **konsantrasyon farkı**
2. **sıcaklık**
3. **molekül ağırlığı**
4. **membran yüzey alanı**
5. **membran geçirgenliği**
6. **elektriksel gradyan**

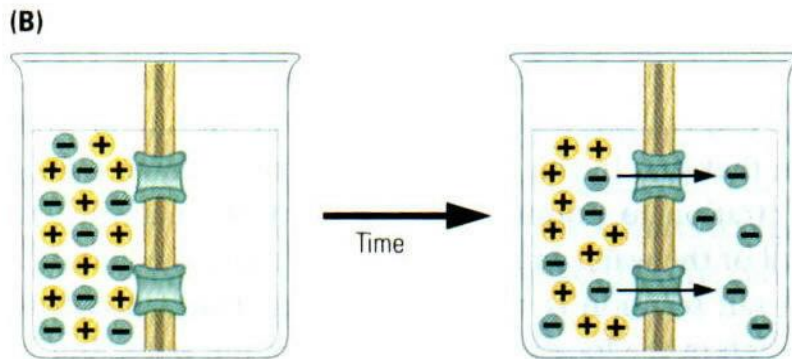
$$M_{dif} = -D \frac{dc}{dx} = -D \frac{C_2 - C_1}{x_2 - x_1} = -P(C_2 - C_1)$$

D: difüzyon katsaisı
dC: konsantrasyoon farkı
dx: difüzyon mesafesi
P: geçirgenlik

Membranın Seçici Geçirgenliği



$$M_{dif} = -D \frac{dc}{dx} = -D \frac{C_2 - C_1}{x_2 - x_1} = -P(C_2 - C_1)$$



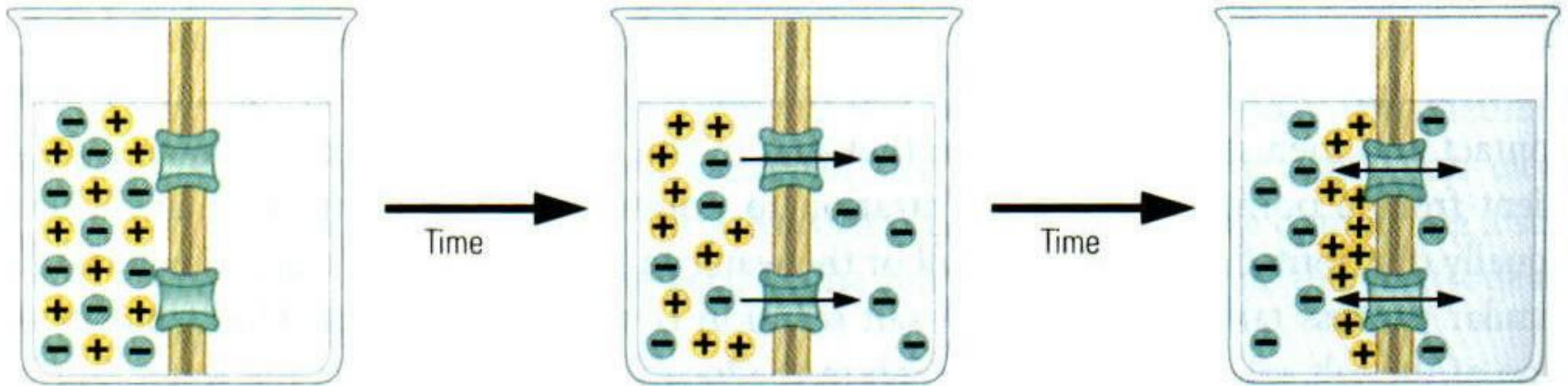
- Nöronlarda Na^+ 'a göre membran
- K^+ 'a 100 kat
- Cl^- 'a 5 kat daha fazla geçirgen

Anyon selektif kanal

Elektrostatik güçler

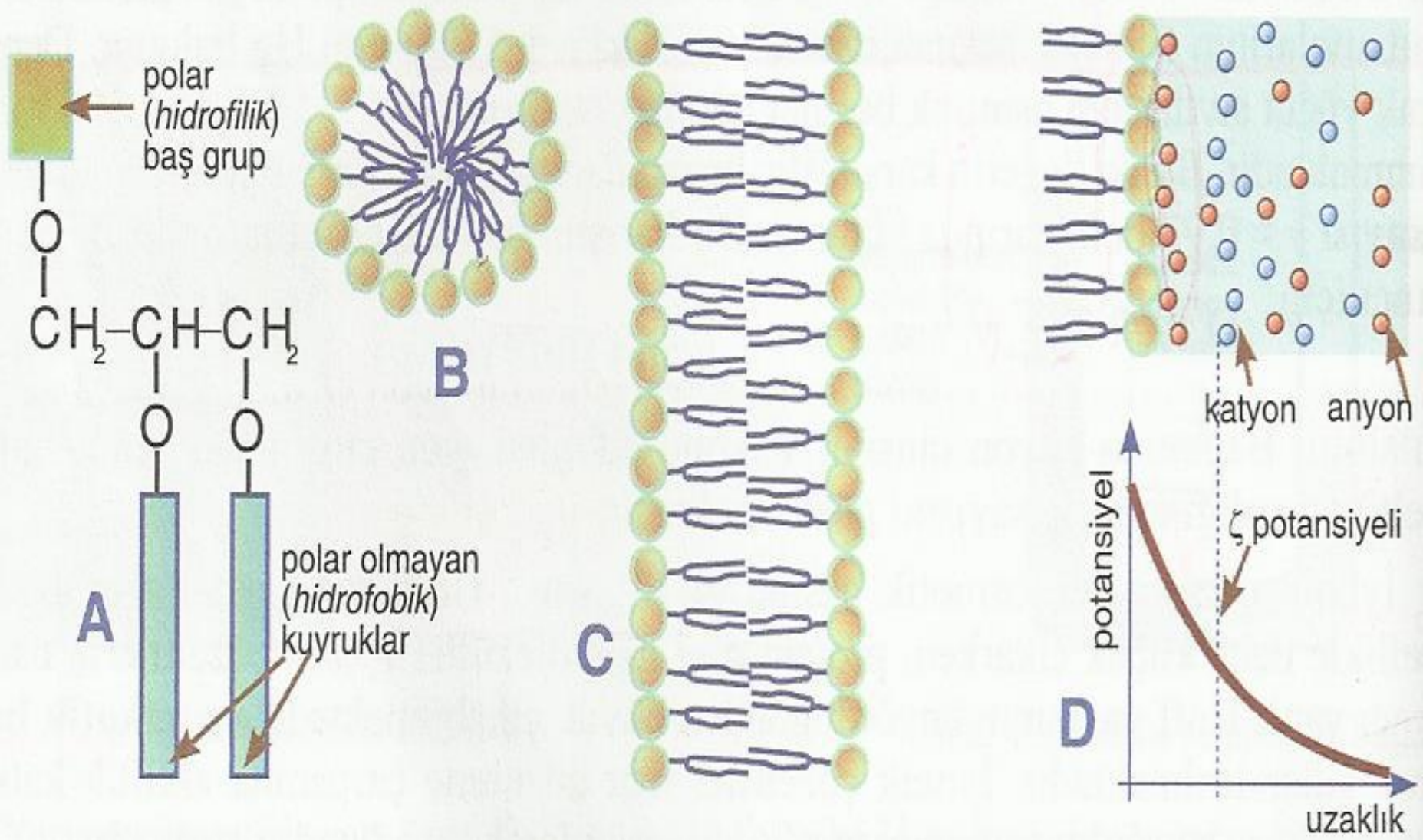
- İtme
- Çekme

$$J_{i(elek)} = \left[-c_i \mu_i z_i F \frac{dV}{dx} \right] = -\sigma_i \frac{dV}{dx}$$

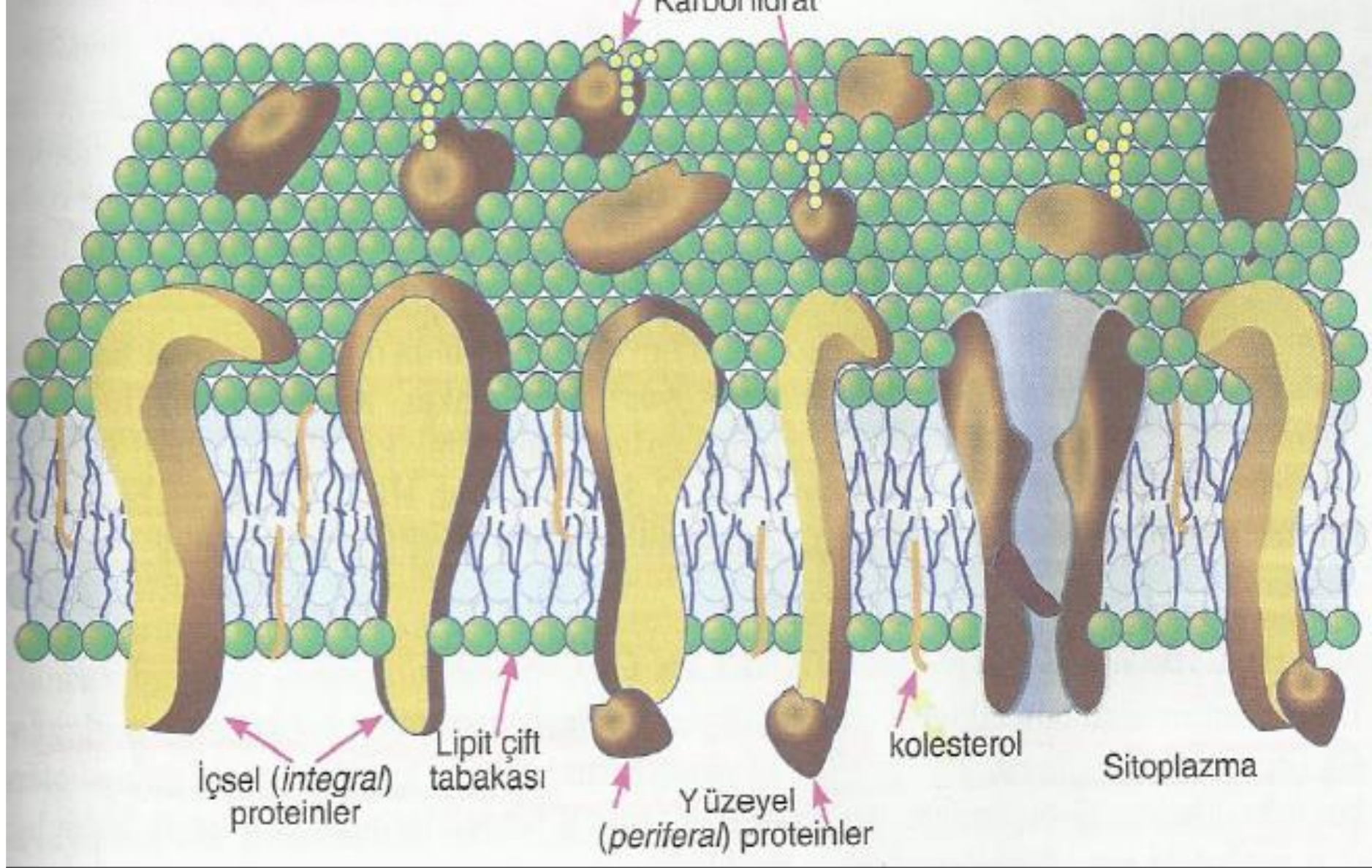


Anyon selektif kanal

- **Yüklerin ayrımı**
- **Elektriksel Potansiyel**



Hücre Zarlarının Moleküler Organizasyonu



Hücre Zarları için akışkan-mozaik model

Hücre Zarı Biyofiziksel Özellikleri

	Hücre Zarı	Yapay lipit Çift Tabaka
Kalınlık (nm)	6 - 10	4,5 - 8
Sığa ($\mu\text{F}/\text{cm}^2$)	0,5 - 1,3	0,3 - 1,3
Direnç ($\text{ohm}.\text{cm}^2$)	$10^2 - 10^5$	$10^6 - 10^9$
İletkenlik (S/cm^2)	$10^{-2} - 10^{-5}$	$10^{-6} - 10^{-9}$
Bozulma Potansiyeli (mV)	100 - 150	100 - 200
Su geçirgenliği (m/s)	$0,4.10^{-6} - 400.10^{-6}$	32.10^{-6}
Yüzey gerilimi (N/m)	0,03 - 0,10	0,05 - 0,20

***Lipit çifttabaka dielektrik sabiti~2 ile 3 arasındadır.**

Etkin Fiziksel Parametreler

Akım (I),

Net bir yük hareketi olunca elektrik akımı oluşur

Akımın birimi amper (A) = bir saniyede 1 C yükün akımı
 $= 1/1.6 \times 10^{-19} = 6.24 \times 10^{18}$ proton

Voltaj (V),

Elektrik yükü dengesizliğinden kaynaklanan potansiyel farkıdır

Direnç (R),

elektronların hareketini engelleyen bir etmendir

Tersi ise iletkenlik olarak adlandırılır

Direnç birimi ohm (Ω),

İletkenlik (g) birimi Siemens (S)

$$g = 1/R$$

$$R = \rho l / A$$

Deniz suyu = $20 \, \Omega \cdot \text{cm}$

SF = $60 \, \Omega \cdot \text{cm}$

Sitoplazma = $150 \, \Omega \cdot \text{cm}$

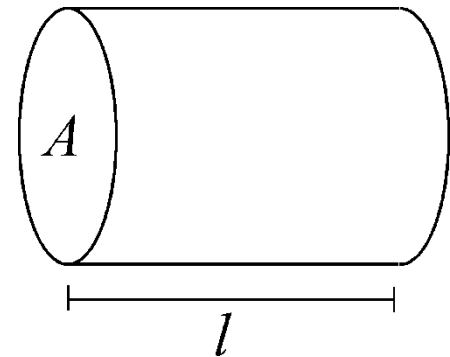
Membran = $10^{15} \, \Omega \cdot \text{cm}$

Metaller = $10^{-6} \, \Omega \cdot \text{cm}$

ρ = öz direnç
rezistivite, 1 cm^3 için
direnç, $\Omega \cdot \text{cm}$

l = uzunluk

A = kesit alanı



Akım-voltaj-direnç ilişkisi

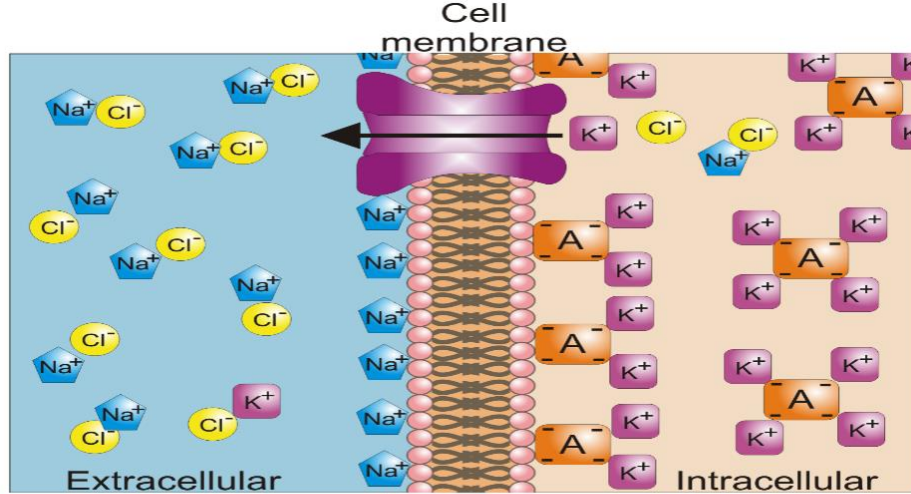
Ohm kanunu

1 Ohm dirençten geçen 1 Amper
akım 1 Volt potansiyel farkı
oluşturur

$$V = IR$$

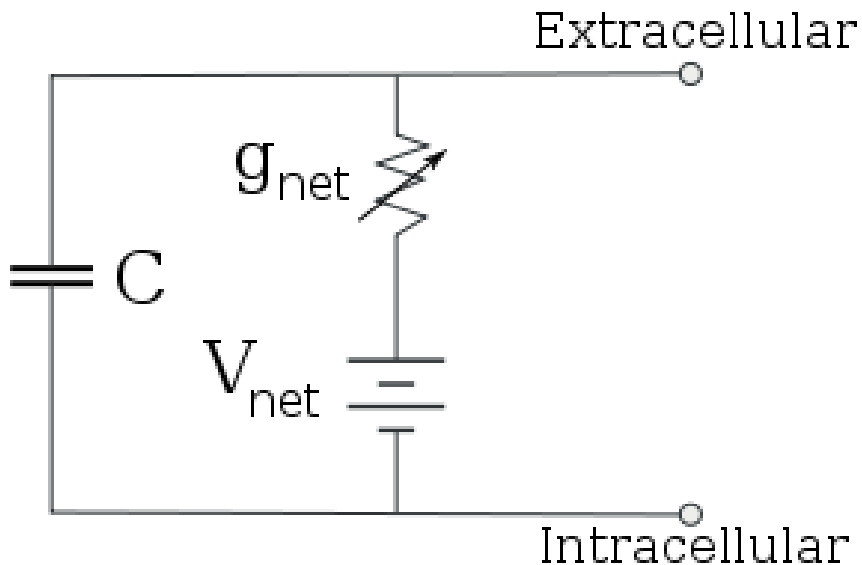
$$I = V/R$$

$$I = gV$$



Charge Separation + Across Membrane

Ion Concentration Gradients



$$I = \frac{V}{R} = \frac{-90mV}{10M\Omega} = -9nA$$

$$10^{-3} V = 1 mV$$

$$1000 \Omega = 1M\Omega$$

$$10^{-9} A = 1 nA$$

$$10^{-12} A = 1 pA$$

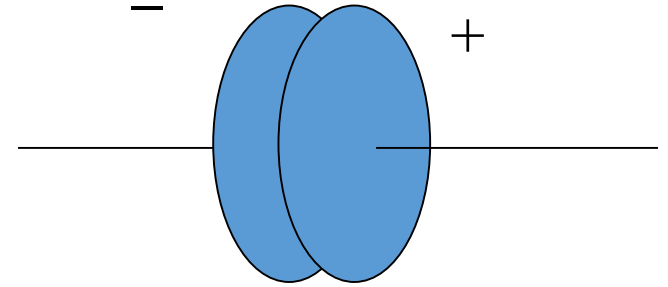
Kapasitör

-İletken olmayan bir materyelle ayrılmış iki iletken yüzeyden oluşan elektrik devresi elemanıdır

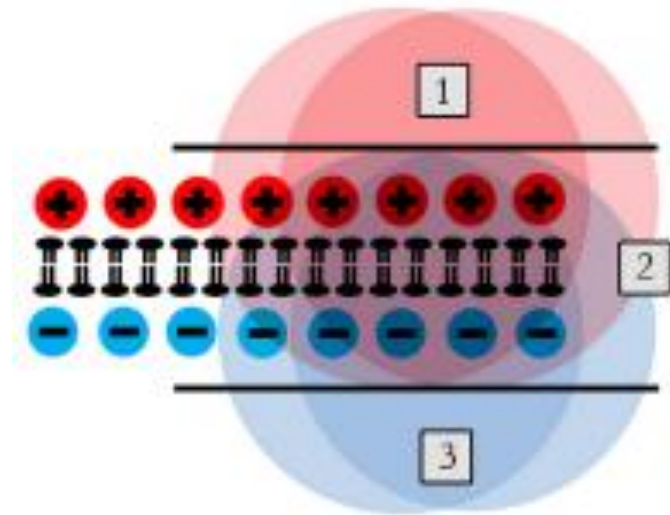
-Bir voltaj kaynağı kapasitöre bağlanırsa, kapasitörün bir tarafında +, diğer tarafında – yükler toplanır

-Kapasitans

- yüzey alanı (A)
- Dielektrik sabiti (ϵ)
- Plakalar arası mesafe (d)
ile orantılıdır



$$C = \frac{\epsilon \epsilon_0 A}{d}$$



- **Kapasitans (C)**, kapasitörün iki uç arasında ΔV voltajında depolayabildiği yük (Q) miktarıdır

- **Membran kapasitansı hücre büyüklüğü ile artar**

- **Hücre membranları kapasitansı $1\mu\text{F}/\text{cm}^2$**

- **$25\mu\text{m}$ çaplı nöron, $\sim 80\text{ pF}$**

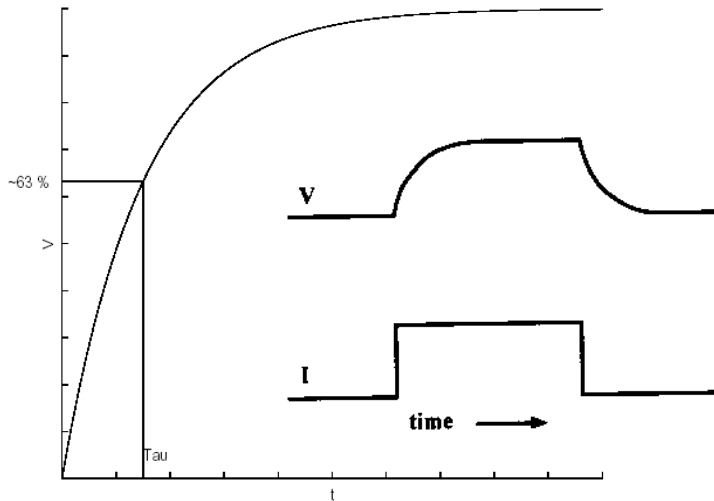


Figure 6: Voltage over time across a series RC circuit.

$$i = C \frac{dV}{dt}$$

$$C = q/V$$

C: kapasitans (Farad)

q : yük (Coloumb)

I ; akım (Amper)

V ; Potansiyel (Volt)

-Kapasitör bulunan bir elektrik devresine akım uygulandığında, voltaj gecikmeli olarak değişir

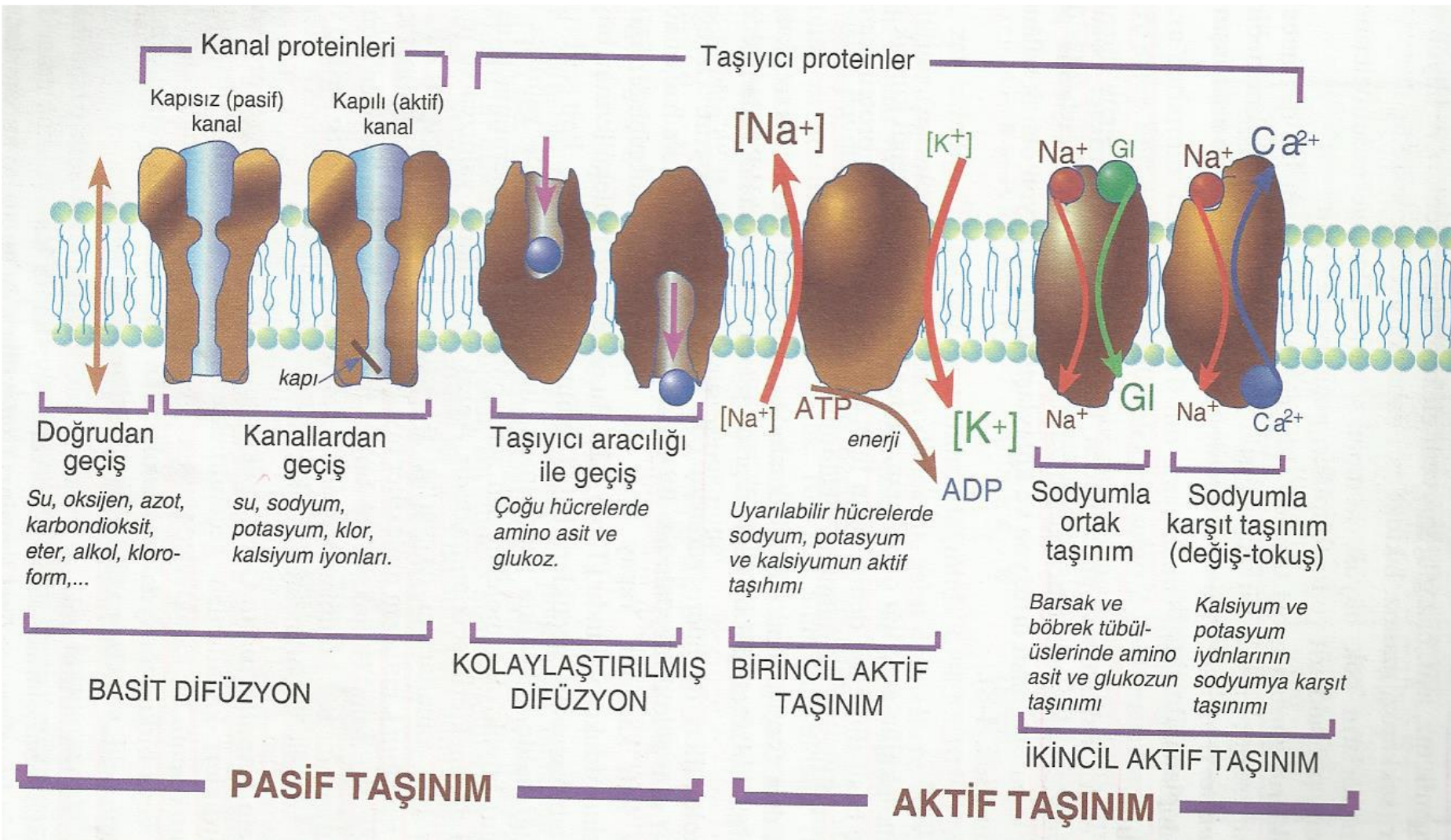
-Nedeni, akımın önce kapasitörün yüklerini değiştirmesi

$$\tau = \text{zaman sabiti} = RC$$

-Devreye uygulanan akımın sebep olduğu voltajın nihai değerinin %63'üne ($1-1/e$) ulaşana kadar geçen zaman- $10\mu\text{s}$ - 1 sn

ÖZET OLARAK; Hücre Zarı Biyofiziksel Özellikleri

- ❑ Kapasitif davranışa sahiptir**
(Düzlem levhalı kondansatörler $1\mu\text{F}$)
- ❑ İletkenlik özelliklerine sahiptir**
- ❑ Sızıntı direnci $10^2\text{-}10^5 \text{ ohm.cm}^2$**
- ❑ İletkenlik $10^{-2}\text{-}10^{-5} \text{ S/cm}^2$**
- ❑ Düzgün levhalı kondansatörde potansiyel gradyanti,
Elektrik alan düzgündür**



Hücre Zarlarından Tanecik geçişleri

PROTEİN KANALLARI

- ❑ Kristal yapıya sahip olmadıklarından x-ışını yöntemi ile incelenememektedir.
- ❑ Yapıları için *gene cloning* ve işlevleri için *patch clamp* adı verilen tek kanaldan geçen akımların kayıt yöntemi sayılabilir.

PASİF GEÇİŞLERİN NİCEL TARTIŞMASI

- ❑ Taneciklerin zarlardan geçiş miktarları akı ve akım yoğunluğu kavramları ile anlatılır ve bir maddenin zardan net geçiş akısı sıfır ise bu maddenin dengede olduğu söylenir.
- ❑ Hücre zarında toplam akım yoğunluğu,

$$J_i = J_{i(\text{dif})} + J_{i(\text{elek})} = c_i \mu_i \left[-\frac{RT}{c_i} \frac{dc_i}{dx} - z_i F \frac{dV}{dx} \right] \quad \text{İyonik difüzyon}$$

- ❑ Nernst-Planck akı denklemi elde edilir. Burada z_i iyon değerliği, μ_i elektriksel mobilite, R genel gaz sabiti, T sıcaklık ve $F=96500\text{C/mol}$ Faraday sabitidir.

İyon cinsi	Konsantrasyon		Denge Potansiyeli (mV)
	Hücrelerarası sıvı ($\mu\text{mol}/\text{cm}^3$)	Hücre içi sıvı ($\mu\text{mol}/\text{cm}^3$)	
Katyon +66	Na^+	145	12
K^+	4,1	150	-96
H^+	$3,8 \cdot 10^{-5}$	$13 \cdot 10^{-5}$	-96
Ca^{2+}	1,5	10^{-4}	+129
diğerleri	5		
Anyon -90	Cl^-	118	3,9
HCO_3^-	27	12	-21
Kararlı durum potansiyeli			-90

Dış

+ $[\text{Na}^+]$ + + + $[\text{K}^+]$ + $[\text{Cl}^-]$

Hücre
zarı

f_{dif}



f_{Na}

f_{el}



f_{dif}



f_{K}

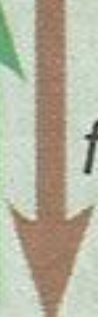
f_{el}



f_{dif}



f_{el}



İç

- $[\text{Na}^+]$ - - -

- $[\text{K}^+]$ -

- $[\text{Cl}^-]$ -

İYONİK DENGİ VE NERNST DENKLEMİ

- ❑ İdeal bir çözelti içerisinde bulunan bir cins ögenin (i) mol başına Gibbs serbest enerjisi veya kimyasal potansiyeli, G_i ,

$$G_i = G_i^0 + RT \ln c_i + z_i FV + P v_i + \dots [J/mol]$$

şeklinde ifade edilmektedir. Sistemin her bölge ve fazında mol başına serbest enerji aynı değere erişince sistem denge durumuna ulaşır. Bir hücre zarının ayırdığı iki ortamda bir cins ögenin dengede olabilmesi için,

$$G_i^{\text{iç}} = G_i^{\text{dış}}$$

$$RT \ln c_i^{\text{iç}} + z_i FV^{\text{iç}} = RT \ln c_i^{\text{d}} + z_i FV^{\text{d}}$$

şartını sağlamalıdır. Bu denklem tekrar düzenlendiğinde,

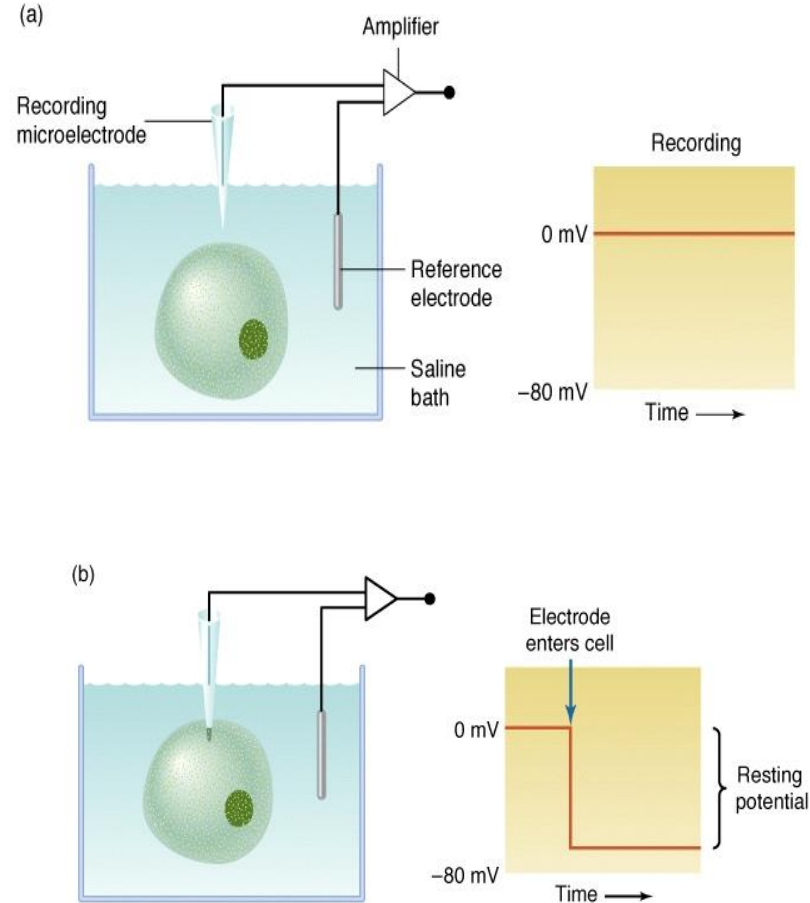
$$E_i = V^{iç} - V^{du} = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{c_i^{du}}{c_i^{iç}} \quad [\text{Volt}]$$

Nernst denge denklemi olarak adlandırılan bu denklemdeki E_i potansiyeline i iyonunun denge potansiyeli denir.

Donan Dengesi; zarın bir tarafında zarı geçemeyen iyonların varlığında kurulan dengeye denir.

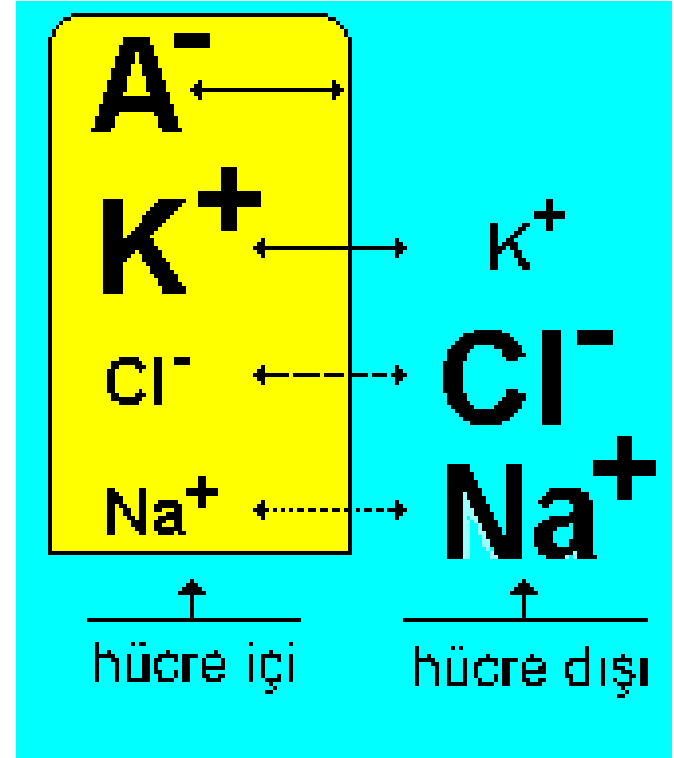
İstirahat membran potansiyeli (İMP) -dinlenim zar potansiyeli

- ❑ Bir hücrenin impuls üretmediği durumda hücre membranı içi ve dışı arasındaki elektriksel potansiyel farkı
- ❑ İMP, iyonların hücre içi ve dışında **eşit olmayan dağılımlarından** kaynaklanır
- ❑ Sinir hücrelerinde hücre içinde, dışarıya göre daha fazla negatif yük vardır
- ❑ Na^+ ve Cl^- hücre dışında fazla, K^+ ve bazı anyonlar hücre içinde fazla
- ❑ Çoğu nöronlarda İMP -65 mV kadardır



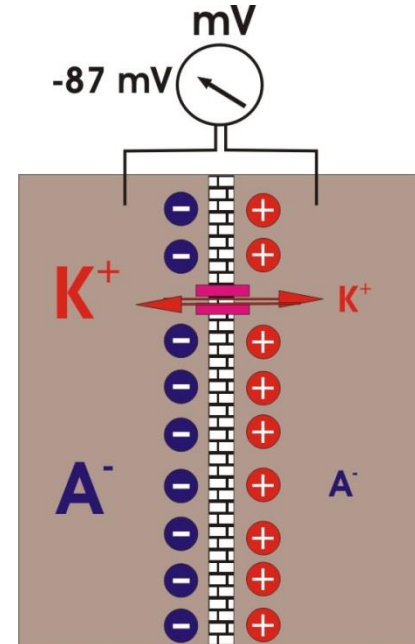
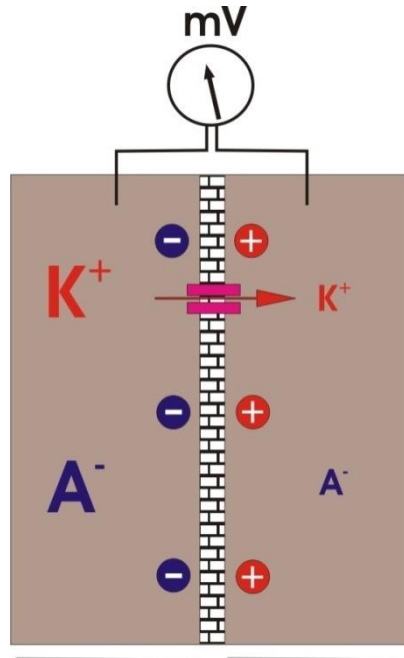
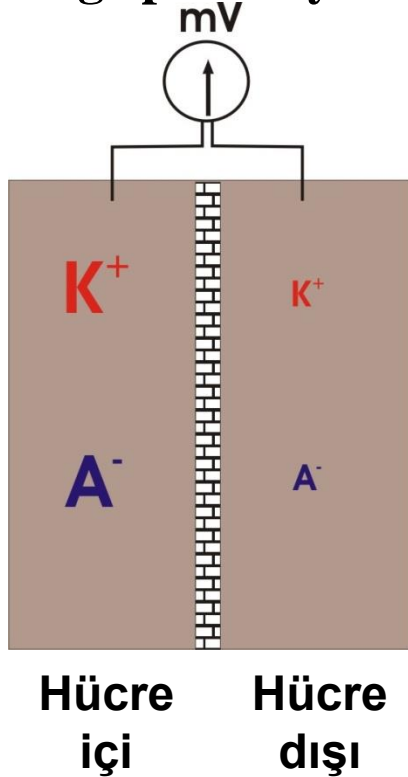
İyonların hücre içi ve dışında eşit olmayan dağılımları

- Difüzyon
- Seçici-geçirgen membran
 - sızınıtı kanalları
- Elektrostatik güçler
- Na/K-ATPaz



Denge potansiyeli

- K^+ hücre içinde fazla ($\sim 30/1$)
- K^+ konsantrasyon gradyanı doğrultusunda hücre dışına hareket eder, geride negatif yükler bırakır
- Hücre içi negatif olmaya başlar ve K^+ 'un daha fazla çıkmasına izin vermez
- Artık K^+ 'un net olarak yer değiştirmediği bu membran potansiyeline K^+ 'un **denge potansiyeli** denir
- Denge potansiyelinde, elektrik gradyanı konsantrasyon gradyanını dengeler



Nerst denklemi

Bir iyonun hücre içi ve dışı konsantrasyonları ve yükü biliniyorsa, hücre membranının o iyon için denge potansiyeli hesaplanabilir

$$W_R = \overset{\text{Elektriksel güç}}{\curvearrowright} zEF \quad W_D = \overset{\text{Kimyasal güç}}{\curvearrowleft} RT \cdot \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i}$$

$$zEF = RT \cdot \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i}$$

$$E_K = \frac{RT}{zF} \cdot \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i}$$

$$T=273.16^\circ\text{C}$$

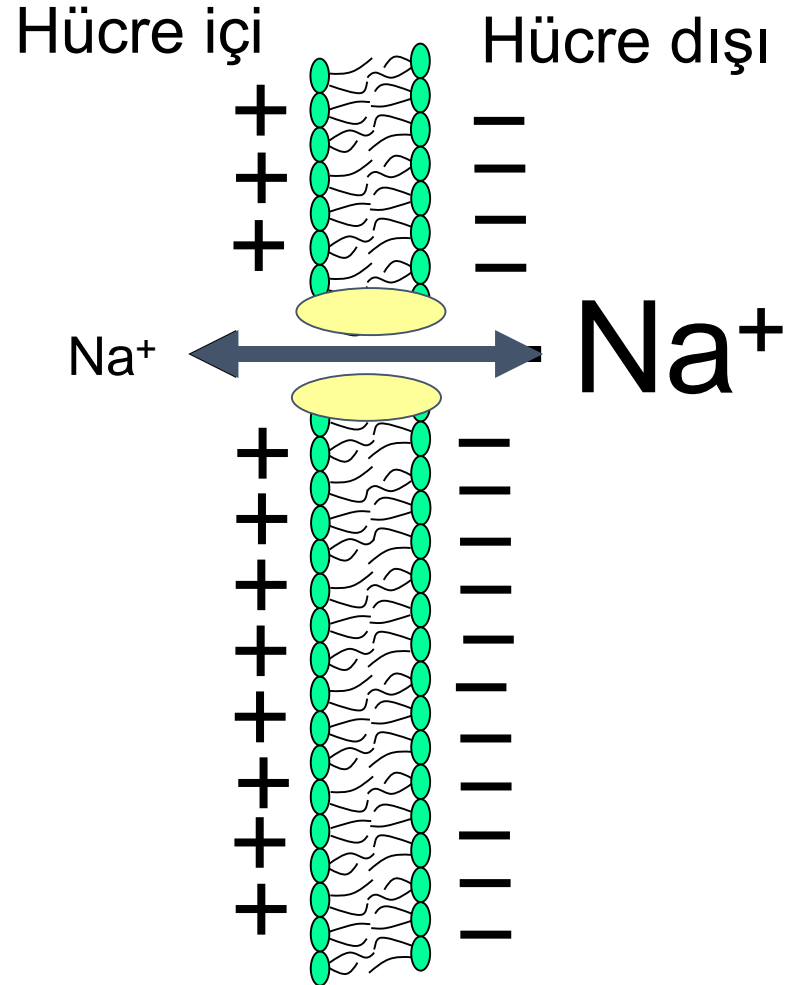
$$R=8.31451 \text{ joules/mol } K^\circ$$

$$F=96485.3 \text{ C/mol}$$

$$Z=\text{yük değeri}$$

Eğer membran sadece Na^+ iyonlarına geçirgen olsaydı...

- Na^+ konsantrasyon gradyanı yönünde içeriye sızar ve Oluşan potansiyel farkı daha fazla sızıntıyı engeller
- Net Na^+ difüzyonunu engelleyen membran potansiyeline Na^+ denge potansiyeli (E_{Na}) denir



Nerst denklemini

$$E_K = RT/zF \ln [K^+]_o / [K^+]_i$$

$$E_K = 61.54 \text{ mV} \log [K^+]_o / [K^+]_i$$

$$E_K = 61.54 \text{ mV} \log 5/140$$

$$E_K = -87 \text{ mV}$$

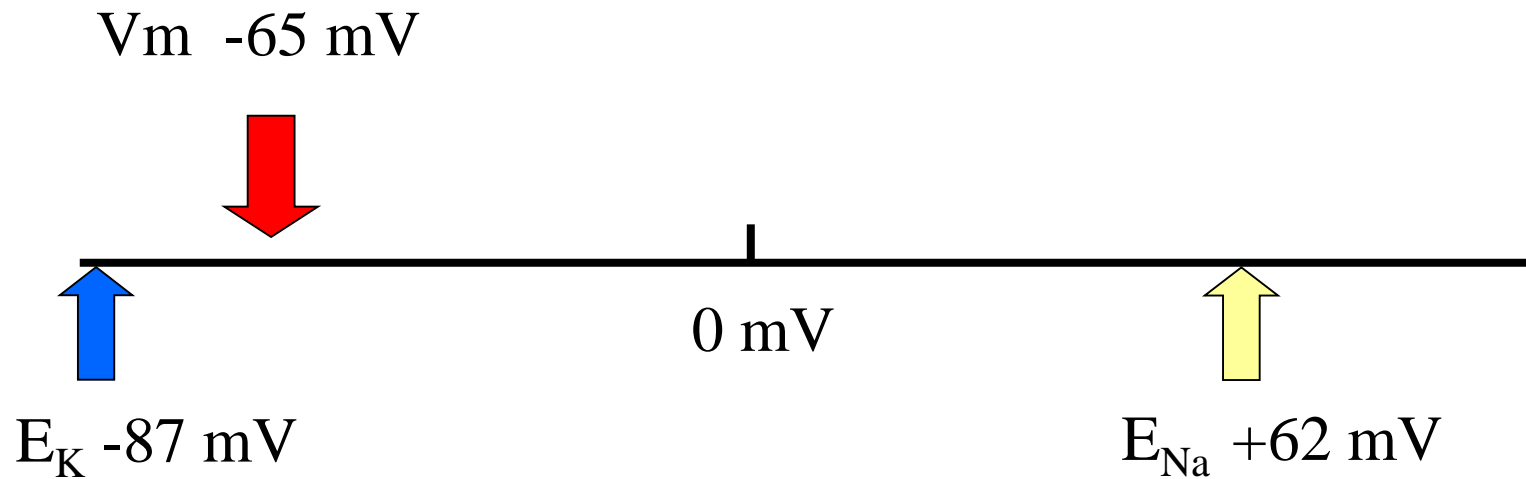
$$E_{Na} = +62 \text{ mV}$$

$$E_{Cl} = -68 \text{ mV}$$

Mmol/l	Hücre dışı	Hücre içi	[dış]/[iç]
Na ⁺	150	15	10\1
K ⁺	5	140	1\28
Cl ⁻	130	10	13\1
Ca ²⁺	2	10 ⁻⁴	20000/1



İMP ne kadar?



V_m neden E_K ya daha yakın?

$$E_K = -87 \text{ mV}$$

$$E_{Na} = +62 \text{ mV}$$

$$E_{Cl} = -68 \text{ mV}$$

Gerçekte nöronlar Na iyonlarına az, K⁺ ve Cl⁻ iyonlarına daha fazla geçirgendir

Nöronlarda, P_{Na}=1, P_K=100, P_{Cl}=5

Goldman-Hodgkin-Katz Denklemi

$$V_m = 61.54 \log \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o} \rightarrow V_m = -65 \text{ mV}$$

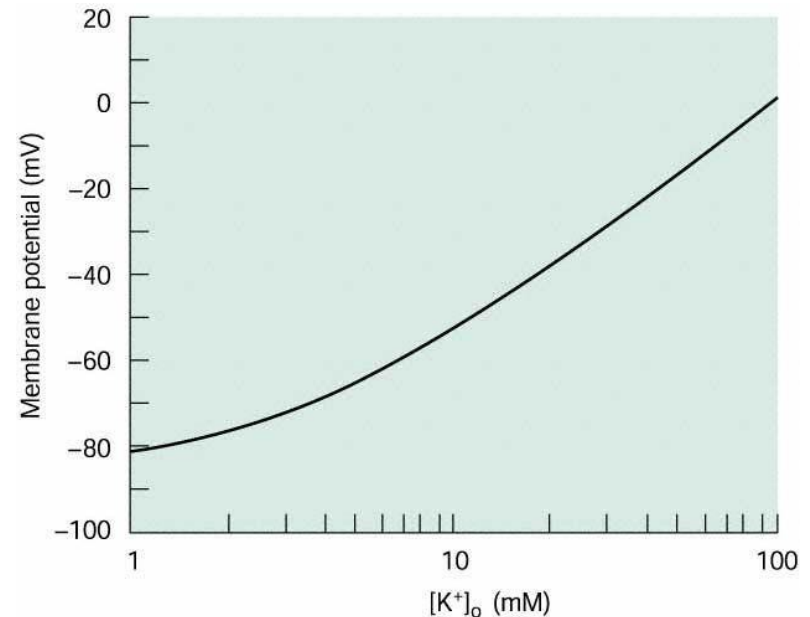
**Kas hücrelerinde,
büyük nöronlarda
daha negatif - 80 –
-90 mV**

$$V_m = 61.54 \log \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o}$$

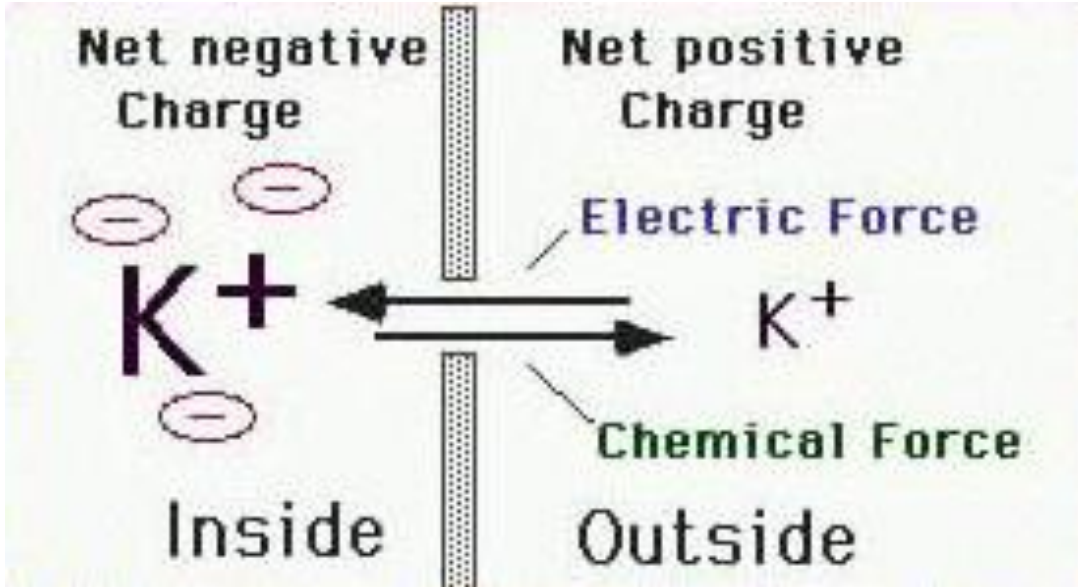
- Goldman denkleminde göre membranın geçirgenliği daha fazla olan iyon $\dot{I}MP$ 'yi belirlemede daha etkindir
- İyonların hücre içi ve dışı konsantrasyonlarının değişmesi de $\dot{I}MP$ 'yi etkiler
 - Özellikle geçirgenliğin fazla olduğu iyonlar

$[K^+]$ 'un V_m 'ye etkisi

- Kan $[K^+]$ artması letaldir, kalp durmasına sebep olur
- Kalp kası hücreleri kalıcı bir şekilde depolarize olur ve AP üretmezler



İMP'de iyonların hareketleri-Sızıntı kanalları



$$E_K = -87 \text{ mV}$$

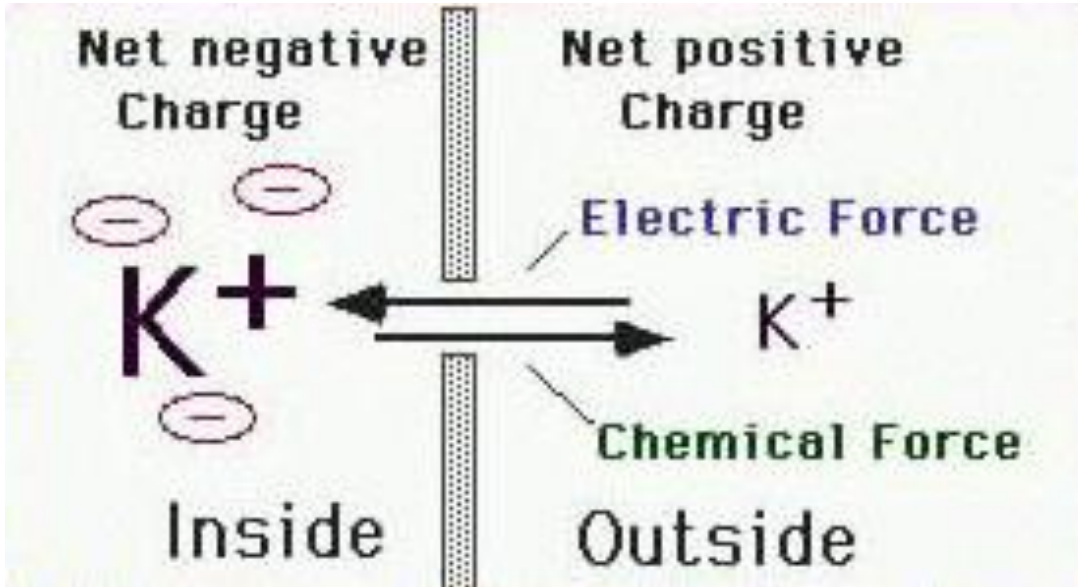
- K⁺ iyonları konsantrasyon gradyanları doğrultusunda kapısız K kanallarından hücre dışarsına doğru itilir

- Ancak, membranın içersinde daha fazla olan negatif yükler K⁺ iyonlarını hücre içine çeker

Bir iyon üzerinde etkili olan iki güç vardır:

- Elektriksel ve kimyasal gradyan

İMP'de iyonların hareketleri-Sızıntı kanalları



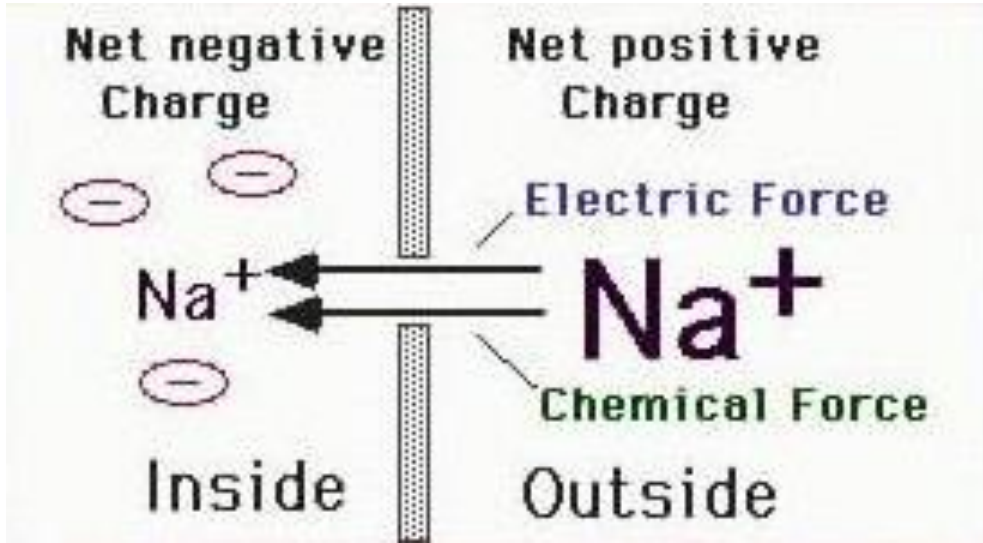
- K^+ dışarı sızar
 - K^+ için itici güç: K^+ 'u membrandan hareket ettirecek net elektriksel güçtür
- $$= E_m - E_K$$
- $$= (-65 \text{ mV}) - (-87 \text{ mV})$$
- $$= +22 \text{ mV}$$

$$E_K = -87 \text{ mV}$$

Bir iyon üzerinde etkili olan iki güç vardır:

- Elektriksel ve kimyasal gradyan

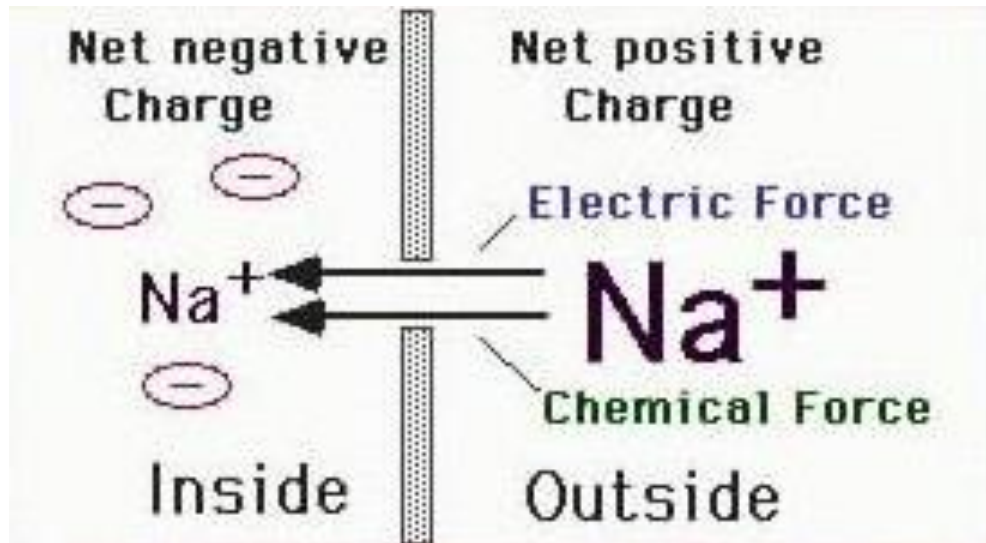
İMP'de iyonların hareketleri-Sızıntı kanalları



$$E_{Na} = +62 \text{ mV}$$

- Sodyum iyonları konsantrasyon gradyanları doğrultusunda hücre içersine doğru itilir
- Aynı zamanda, Na hücre içinin negatif olmasından dolayı oluşan elektriksel gradyan ile hücre içine doğru itilir

İMP'de iyonların hareketleri-Sızıntı kanalları



$$E_{Na} = +62 \text{ mV}$$

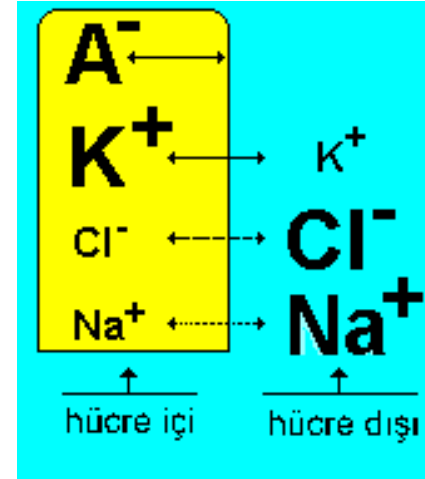
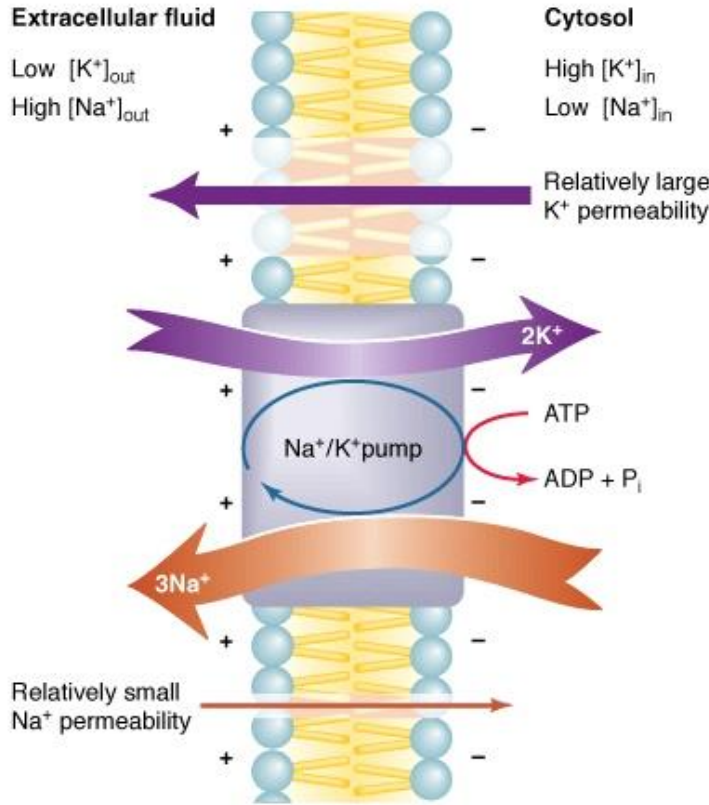
- Na^+ içeri sızar
- Na^+ için itici güç:
 Na^+ 'u membrandan hareket ettirecek net elektriksel güçtür
 $= E_m - E_{Na}$
 $= (-65 \text{ mV}) - (+62 \text{ mV})$
 $= -127 \text{ mV}$

- İtici güç fazla
- Ancak membranın Na^+ 'a geçirgenliği az

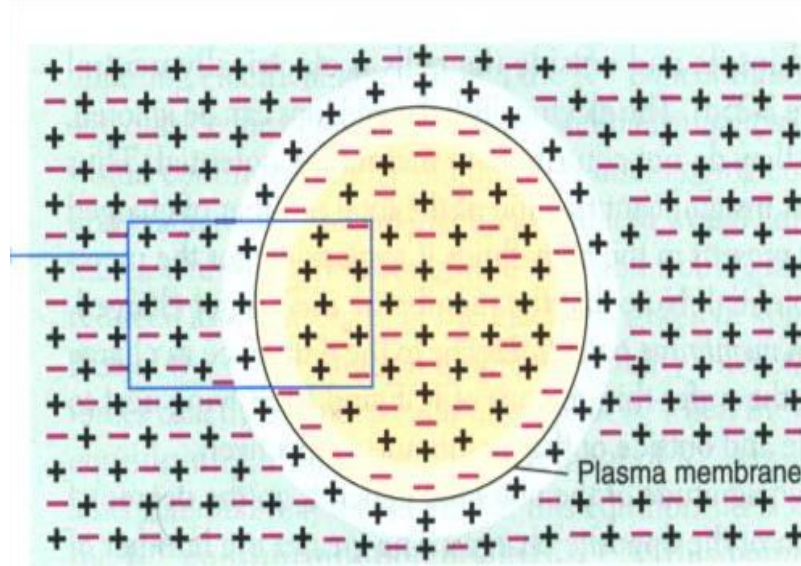
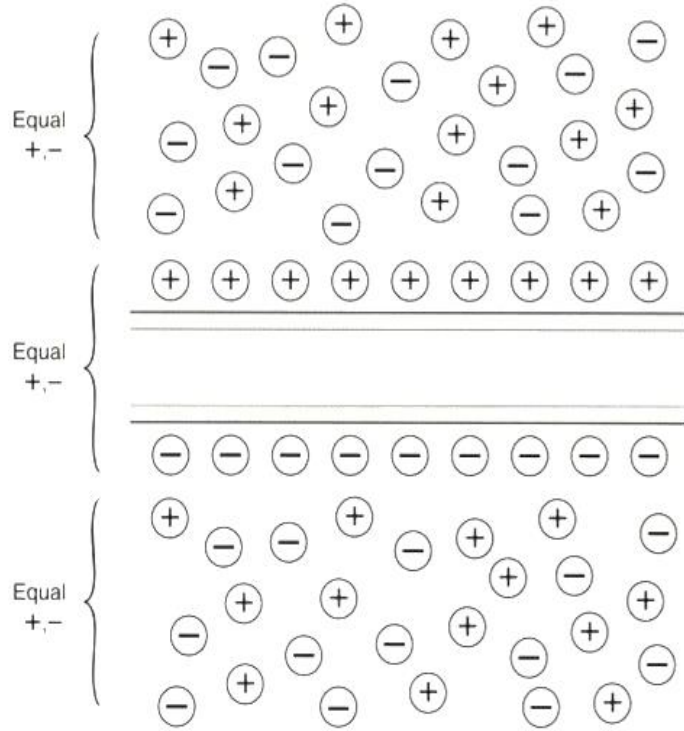
- Sızıntı kanallarından iyonların bu şekilde sürekli geçmeleri durumunda konsantrasyon gradyanları ve dolayısıyla membran potansiyeli zamanla ortadan kalkacaktır
- Ancak...

Na-K-ATPaz pompasının etkileri

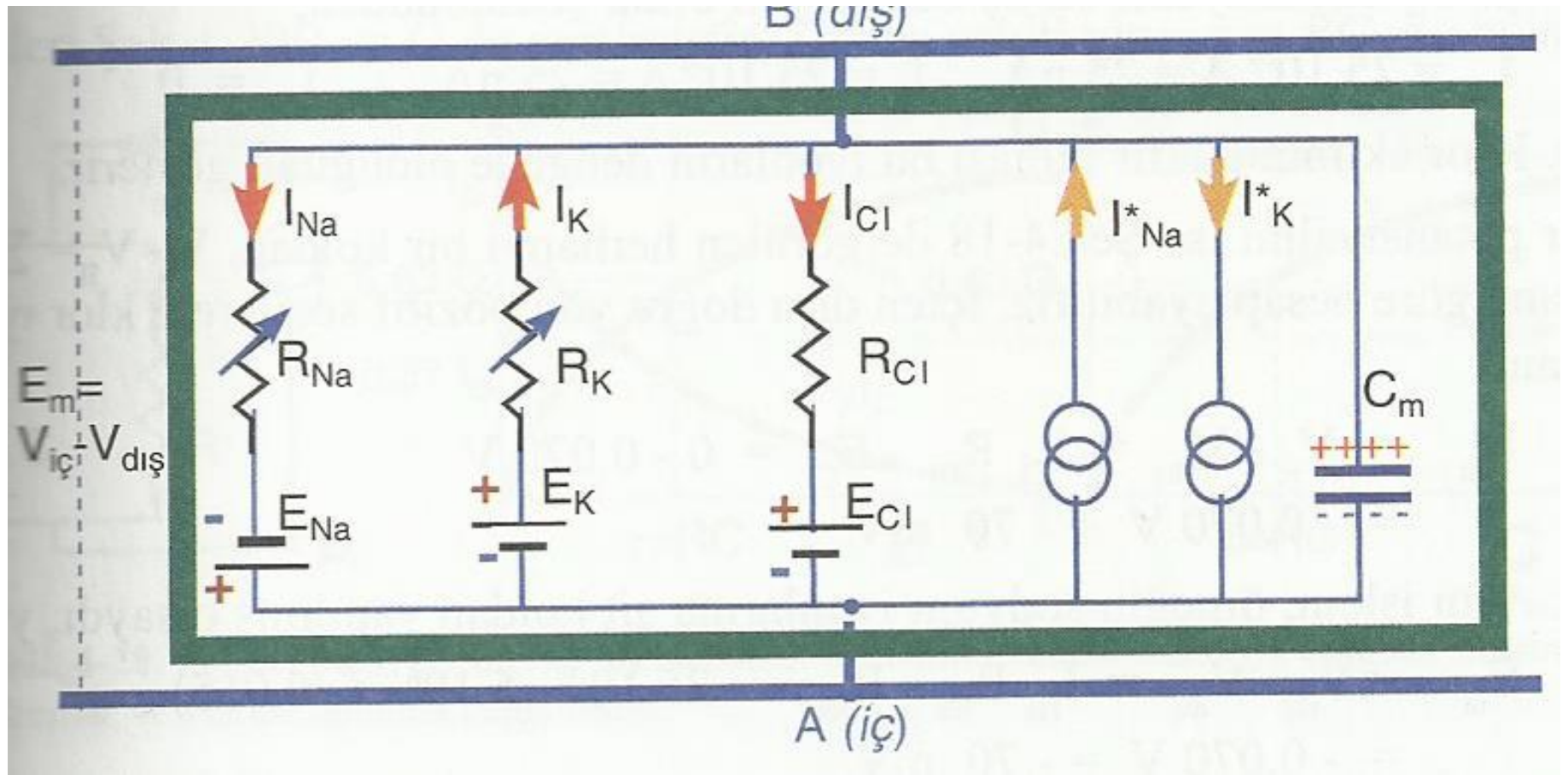
- Na^+ iyonlarının dışarıda fazla olması
- K^+ iyonlarının içeride fazla olması
- Hücre içinin daha negatif olması



Membran potansiyelinin ortaya çıkması için ne kadar iyonun hareket etmesi gerekir?



- Hücre içindeki K^+ 'un $1/10^7$ 'si hücre dışına çıkarsa 100 mV'luk potansiyel farkı oluşturur
- Membran potansiyeli oluşumu ve değişimi sırasındaki iyon hareketleri iyon konsantrasyonlarını anlamlı derecede etkilemez



Dinlenim zar potansiyeli eş değer devresi

Hücrelerde elektriksel potansiyeller:

- İstirahat membran potansiyeli
- Dereceli potansiyeller
 - Reseptör potansiyeli
 - Sinaptik potansiyeller (EPSP, IPSP)
- Aksiyon potansiyeli



Membran potansiyelinde hızlı ve geçici değişiklikler

Uyarılabilir hücreler

Kimyasal, mekanik, ışık, elektriksel uyarılar

- Nöron
- Kas hücresi
- Salgı hücresi
- Reseptör hücre

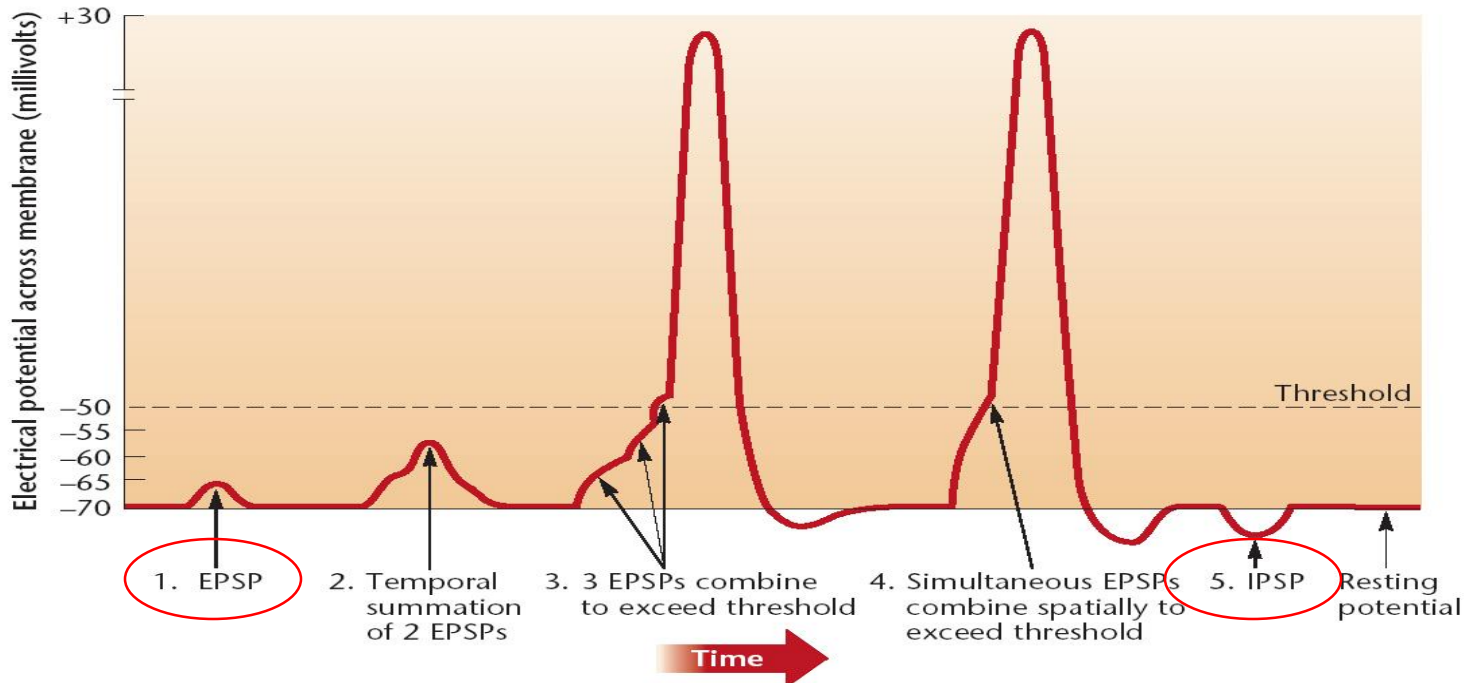
İMP iki yönde değişebilir:

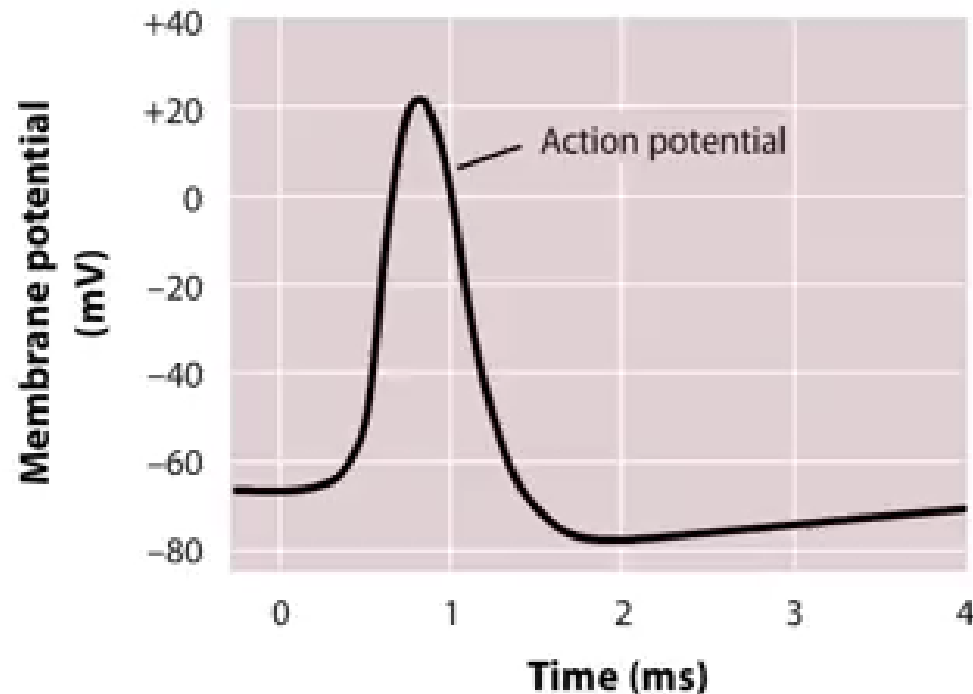
- depolarizasyon:

- İMP'nin daha az negatif olması
- Na^+ , Ca^{++} girişi, K^+ çıkışının durması
- EPSP
- Eşik değere ulaşırsa aksiyon potansiyeli

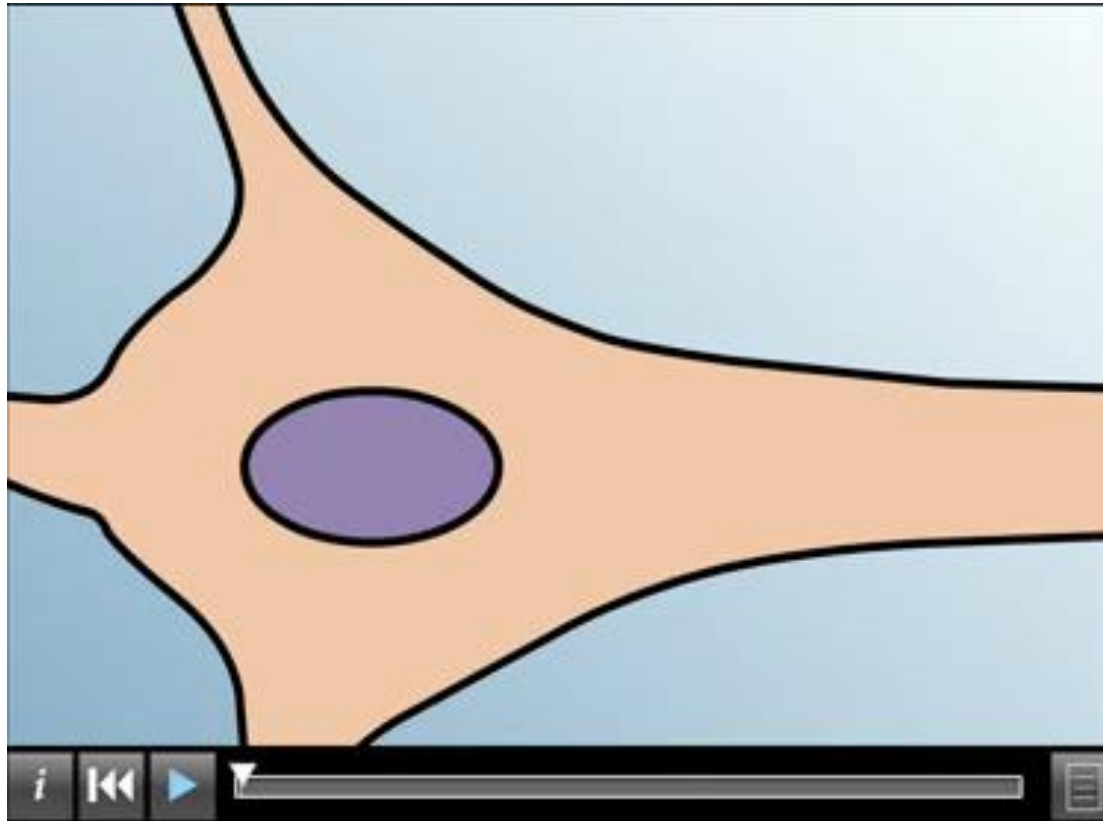
- hiperpolarizasyon:

- İMP'nin daha fazla negatif olması
- Cl^- girişi, K^+ çıkışı, Na^+ girişinin durması
- IPSP





The action potential arises from the coordinated activation of two conductances—a sodium conductance that activates rapidly and drives the rising phase of the action potential, and a potassium conductance that activates more slowly and contributes to the falling phase of the action potential and the undershoot. How can we learn more about the behavior of these conductances?



The patch clamp method is used to study the properties of a small patch of membrane. In this technique, a glass pipette with a very small opening is used to make tight contact with a tiny area, or patch, of neuronal membrane. After the application of a small amount of suction to the back of the pipette, the seal between pipette and membrane becomes so tight that no ions can flow between the pipette and the membrane.