

И. ГЮНДЕЛЬ, Л. И. БОГУСЛАВСКИЙ

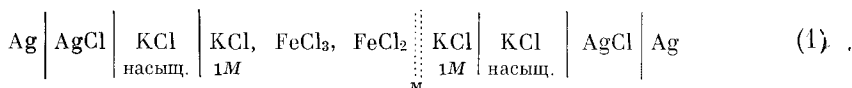
**ЭЛЕКТРОНОБМЕННЫЕ СВОЙСТВА БИСЛОЙНЫХ
ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН В СИСТЕМЕ $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$
(ПРОВОДИМОСТЬ И ФОТОПЕНЦИАЛ)**

(Представлено академиком А. Н. Фрумкиным 31 V 1971)

Бислойные липидные мембраны (б.л.м.) уже в течение ряда лет с успехом используются для выяснения механизма проницаемости ионов ⁽¹⁾. Было показано, что в системе иод — иодид б.л.м. обладает электронной проводимостью ⁽²⁾. Обнаружение фотопотенциалов на б.л.м. и два различных подхода к их образованию ^(3, 4) побудили нас провести исследование механизма возникновения фото-э.д.с. именно в тех условиях, когда электронный перенос наиболее вероятен, т. е. когда электрохимическая реакция инжектирует заряды в объем липидной фазы. Выбор окислительно-восстановительной системы $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ и различных модификаторов б.л.м.: β -каротина и витамина А определяется этими соображениями*.

Все б.л.м. формировались стандартным методом ⁽¹⁾ из смеси лецитина с холестерином. Процесс растекания наблюдался визуально под световым микроскопом и при помощи измерения емкости при частоте 1 кГц. Водная фаза всегда содержала 1 N/KCl марки о.ч. После того, как мембрана растекалась, в переднюю камеру добавлялся при помощи шприца нужный раствор. Перемешивание осуществлялось магнитной мешалкой. Для измерения потенциалов использовались выносные хлорсеребряные электроды, соединенные с ячейкой при помощи агар-агаровых мостиков с насыщенным KCl. Фотоблок состоял из ртутной лампы высокого давления ДРШ-1000, диафрагмы, теплового фильтра, кварцевой линзы и кварцевого световода, по которому свет канализовался к б.л.м.

На рис. 1, 2 показано, как менялся окислительно-восстановительный потенциал платинового электрода в растворах, содержащих FeCl_3 и FeCl_2 в отношении от 0,01 до 10. Изменение трансмембранного потенциала (φ_M) при добавлении этих же растворов к цепи



представлено на рис. 1, 2, 3 и 4 для б.л.м. без добавок, с добавкой β -каротина и витамина А в количестве двух весовых процентов. Зависимости φ_M от состава раствора для б.л.м. с добавкой β -каротина и без добавки его практически совпадают, причем наклон составляет 16 мВ. Наклон зависимости φ_M от состава раствора для б.л.м. с витамином А составляет 26 мВ. Влиянию концентрации протонов на φ_M было уделено специальное внимание, так как рН раствора несколько менялся при добавлении солей железа. Как показали опыты, изменение потенциала за счет градиента концен-

* При замене системы $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ на $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ не было обнаружено влияния последней на проводимость и трансмембранный потенциал, что, возможно, объясняется отталкивательным взаимодействием между отрицательно заряженной поверхностью мембраны и анионами редокс-системы.

трации протона составляло около 20 мв при изменении рН от 4 до 2,8. Раствор, содержащий соли трехвалентного железа, как более кислый, заряжался отрицательно. Знак Φ_m при градиенте протонов противоположен знаку, навязываемому окислительно-восстановительной системой. Если учесть это обстоятельство, то наклон зависимости Φ_m от состава окислительно-восстановительной системы составляет 36 мв для немодифицированной мембраны и 46 мв для б.л.м. с витамином А. Представляют интерес данные о кинетике установления Φ_m после добавления порции раствора, содержащего окислительно-восстановительную систему. В то время как при добавлении растворов с преобладающим содержанием ионов Fe^{2+} кинетика установления Φ_m носит монотонный характер, растворы с большим окислительным потенциалом вызывают сначала спад, а затем постепенный рост потенциала (рис. 2). Экстремально низкие значения Φ_m , отложенные на рис. 1, 5, иллюстрируют независимость выбранных таким образом значений потенциала от состава раствора. Толщина б.л.м. настолько мала, что невозможно возникновение измеримой фото-э.д.с. из-за разной подвижности носителей. Действительно, в симметричной системе при модификации мембраны витамином А или β -каротином фотопотенциалы не обнаружены. Это совпадает с литературными данными только для β -каротина.

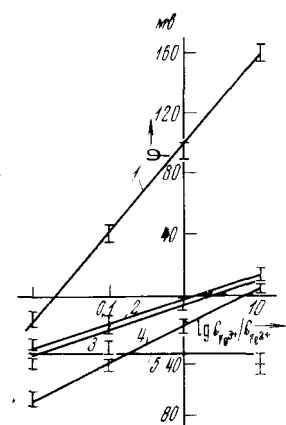


Рис. 1. Зависимость редокс-потенциала раствора (1), трансмембранного потенциала (2, 3, 4, 5) от логарифма отношения концентраций $FeCl_3$ и $FeCl_2$. 1 — редокс-потенциал, измеренный относительно хлорсеребряного электрода, 2 — немодифицированная б.л.м., 3 — б.л.м. с β -каротином, 4 — б.л.м. с витамином А, 5 — минимальные постоянные значения для немодифицированной б.л.м.

то-э.д.с. не возникала. При освещении мембраны, соприкасающейся с одной стороны с раствором, содержащим ионы Fe^{3+} , наблюдалось возникновение фотопотенциала, который в течение полуминутной экспозиции достигал максимальной величины. Знак потенциала был таким, что тыловой раствор, содержащий ионы Fe^{3+} , заряжался положительно относительно раствора, к которому подводился световод. При выключении света потенциал постепенно исчезал, как это показано на рис. 3.

В ходе исследования проводимости б.л.м. в присутствии солей железа оказалось, что добавление $FeCl_2$ и $FeCl_3$ действуют на мембрану различно. В присутствии $FeCl_2$ проводимость уменьшается, а в присутствии $FeCl_3$ увеличивается. На рис. 4а показано, как влияет концентрация добавленной соли на проводимость б.л.м. Рис. 4б иллюстрирует изменение проводимости мембраны от состава раствора. Было проверено, меняется ли действие $FeCl_2$ и $FeCl_3$ на мембрану при подкислении раствора. При рН ~ 2 эффект от добавления $FeCl_2$ исчезает и проводимость б.л.м. возрастает до уровня немодифицированной мембраны. Влияние $FeCl_3$ на б.л.м. не зависит от рН

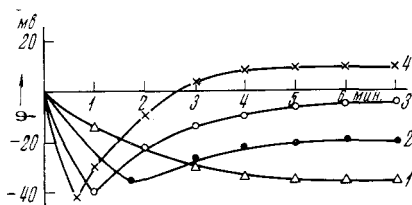


Рис. 2. Кинетика установления трансмембранного потенциала для растворов с разными соотношениями $FeCl_3/FeCl_2$: 1 — 0,01; 2 — 0,1; 3 — 1; 4 — 10

раствора. Добавление витамина А увеличивает проводимость на порядок, причем по мере утоньшения мембраны проводимость возрастает. Если мембрана модифицируется β -каротином, то ее проводимость не отличается от б.л.м. без всяких добавок.

Сопоставление зависимости трансмембранного потенциала и окислительно-восстановительного потенциала платинового электрода в тех же растворах указывает на то, что мембранный потенциал, хотя и более сла-

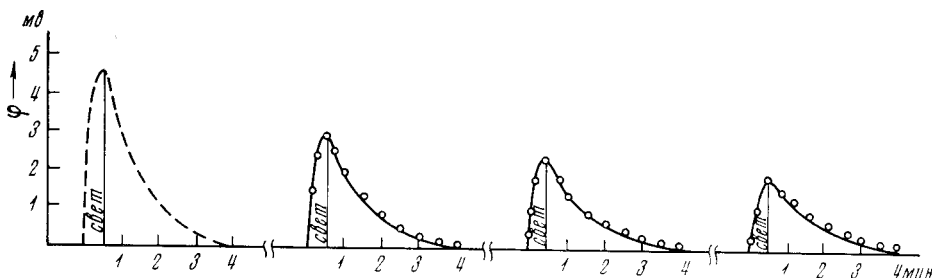


Рис. 3. Кинетика установления фотопотенциала на б.л.м. Тыловый раствор содержит $1,5 \cdot 10^{-2} M$ $FeCl_3$

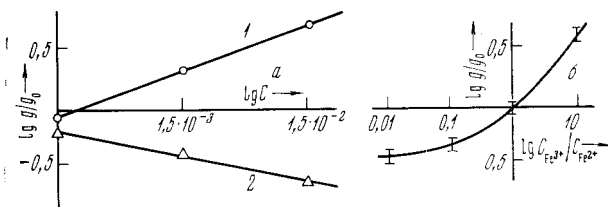


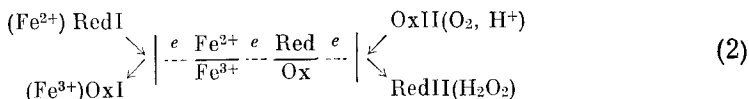
Рис. 4. Зависимость проводимости б.л.м. от концентрации $FeCl_2$ и $FeCl_3$ (а) и состава раствора (б). g_0 — проводимость б.л.м. в растворе без добавок солей железа.
1 — $[Fe^{3+}] / [Fe^{2+}] = 10$, 2 — $[Fe^{3+}] / [Fe^{2+}] = 0,01$

бо (рис. 1), по все же зависит от состава окислительно-восстановительной системы. Несовпадение с теоретической величиной (рис. 1, 1) указывает на то, что для б.л.м. ионы H^+ , K^+ и Cl^- также являются потенциалопределяющими. Зависимость φ_m от окислительно-восстановительного потенциала системы, казалось бы, указывает на возможную роль электронной проводимости б.л.м. в формировании потенциала. Однако кинетика установления потенциалов, представленная на рис. 2, свидетельствует об изменении соотношения Fe^{3+} и Fe^{2+} в примембранном слое за счет растворения и последующего расходования Fe^{3+} на окисление молекул липида в мембране.

Таким образом, помимо системы Fe^{3+}/Fe^{2+} в воде, в липидной фазе существует еще одна какая-то окислительно-восстановительная система — возможно, перекисная, условно обозначенная как $[Red]/[Ox]$.

Именно присутствие этой системы внутри липида и определяет зависимость φ_m от соотношения Fe^{3+}/Fe^{2+} в растворе. Добавление к б.л.м. витамина А — легко окисляющегося вещества — сдвигает φ_m в отрицательную область (рис. 1), что равносильно появлению внутри б.л.м. окислительно-восстановительной системы с другим более низким редокс-потенциалом.

При условии равновесия в водной фазе и в липиде взаимодействие окислительно-восстановительных систем в б.л.м. может быть представлено схемой



В присутствии FeCl_3 происходит фотоокисление и возникает фотопотенциал, который объясняется накоплением окисленной формы внутри липида. В присутствии ионов Fe^{2+} в растворе фото-э.д.с. не возникает, что может быть объяснено ингибированием процесса фотоокисления ⁽⁵⁾. Механизм фото-э.д.с., описанный в этих опытах, сводится к перераспределению концентраций окисленной и восстановленной форм частиц, которые являются потенциалопределяющими.

Перенос заряда через б.л.м. осуществляется окислительно-восстановительной системой в согласии со схемой (2). Может быть, присутствие в б.л.м. витамина А улучшает обмен зарядами между редокс-системами. В пользу этого предположения свидетельствует увеличение почти на порядок проводимости б.л.м. с примесью витамина А. В бислойной мембране β -каротин не изменяет проводимости. Возможно, что молекула ориентирована цепью сопряжения вдоль поверхности бислоя.

Ионы двухвалентного железа уменьшают проводимость б.л.м. Может быть, также как и при добавлении CaCl_2 ⁽⁶⁾ на поверхности б.л.м. возникают солеобразные соединения ионов железа с отрицательно заряженными поверхностными группами липида. На справедливость этого предположения указывает тот факт, что б.л.м. в этих условиях становится весьма жесткой, а нерастекшаяся мембрана при добавлении FeCl_2 уже не утоньшается. Эти солеобразные соединения должны распадаться при подкислении раствора и проводимость б.л.м. должна возвращаться к тем значениям, которые наблюдались до внесения добавки FeCl_2 в раствор. Именно этот эффект и наблюдается на опыте.

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
11 V 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Ti Tien, A. Louise Diana, Chem. and Phys. Lipids, 2, 55 (1968).
² Л. И. Богуславский, А. В. Лебедев, Ф. И. Боголепова, ДАН, 195, 475 (1970). ³ H. Ti Tien, Nature, 219, 272 (1968). ⁴ T. R. Heskesch, Nature, 224, 1026 (1969). ⁵ Т. Б. Суслова, В. И. Оленев, Ю. А. Владимиров, Биофизика, 13, 723 (1968). ⁶ Shinpei Ohki, J. Colloid and Interface Sci., 30, 413 (1969).