Доклады Академии наук СССР
1973. Том 208, № 6

УДК 577.37

БИОФИЗИКА

А. В. ЛЕБЕДЕВ, Л. И. БОГУСЛАВСКИЙ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФОСФОЛИПИДОВ С ИОДОМ И ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

(Представлено академиком А.Н. Фрумкиным 23 VI 1972)

В присутствии молекулярного иода проводимость бислойных липидных мембран (БЛМ) возрастает на несколько порядков и немонотонно изменяется с концентрацией иодида ([1–3]). Были предложены различные модели ионной ([3–7]) и электронной ([6, 8–12]) проводимости БЛМ в системе иод — иодид. Исследование спектров в CCl_4 ([7]) показало, что лецитин и холестерин образуют комплексы с молекулярным иодом. Если эти комплексы действительно играют существенную роль в проводимости БЛМ, то можно ожидать изменения механизма проводимости, выбрав фосфолипиды, в которых отсутствуют центры, способные к комплексообразованию с иодом.

В настоящей работе в качестве такого липида был выбран фосфатидилглицерин. Последний выделялся из бактерий Micrococcus lysodeikticus при помощи хроматографии липидного экстракта в хлороформ-метаноле на колонке кремневой кислоты. Выбор объекта определялся его фосфолипидным набором, в котором нацело отсутствуют основные фосфолипиды, а представлены лишь кислые — моно- и дифосфатидилглицерин с насыщенными жирнокислотными остатками ([13]). Контроль чистоты липидов осуществлялся методом тонкослойной хроматографии на пластинках силикагеля. Для формирования БЛМ и изучения спектров поглощения объемной фазы в видимой и у.-ф. областях спектра использовались растворы фосфатидилглицерина и фосфатидилхолина с холестерином (4 : 3) в *н*-декане (3 мг/мл).

Перед снятием спектров поглощения неводной фазы (рис. 1) растворы фосфолипидов в *н*-декане и водные растворы, содержащие систему иод — иодид, сливались вместе в объемном соотношении 1 : 50 и выдерживались до установления равновесного распределения компонентов. Для контроля та же операция выполнялась с раствором *н*-декана без фосфолипидов. Оптические плотности для разных случаев сильно варьировали, поэтому для регистрации спектров растворы *н*-декана после отделения от водной фазы разбавлялись, а затем был произведен пересчет на одинаковое разбавление (в 30 раз для случая рис. 1*в* и в 6 раз для случаев рис. 1*а, б, г*).

Бимолекулярные липидные мембраны формировались обычным методом на отверстии в тефлоновой стенке ячейки, разделяющей два одинаковых раствора иод-иодида в воде. Проводимость на постоянном токе (рис. 2) и инфранизких частотах (до 0,001 гц) определялась по вольт-амперным характеристикам вблизи нуля внешнего потенциала при прикладывании треугольных импульсов с амплитудой ±50 мв. Проводимость и емкость на звуковых частотах измерялась мостовым методом по параллельной схеме замещения. Площадь мембран контролировалась как визуально, так и по значениям высокочастотной емкости. Во всех опытах использовались платиновые электроды.

Результаты экспериментов. На рис. 1 представлены спектры поглощения в видимой и у.-ф. областях спектра. Исходные водные растворы, с которыми уравновешивались растворы *н*-декана, соответствовали че-

тырем крайним случаям: а) мало иода, весь в форме J_2; б) мало иода, весь в форме J_3^-; в) много иода, весь в форме J_2, г) много иода, весь в форме J_3^-. Без фосфолипидов в фазу *н*-декана из воды может переходить только J_2 и не переходят формы J^- и J_3^- (рис. 1, кривые *1*). Добавление фосфолипидов в *н*-декан после уравновешивания с водными фазами во всех рассмотренных случаях приводит к появлению двух дополнительных полос, которые не обнаруживаются ни в спектрах иода, ни в спектрах фосфолипидов, растворенных в *н*-декане.

Сравнивая спектры разных липидов, можно отметить, что при высокой концентрации J_2 или J_3^- (рис. 1, *в*, *г*) они подобны. Однако наблюдается

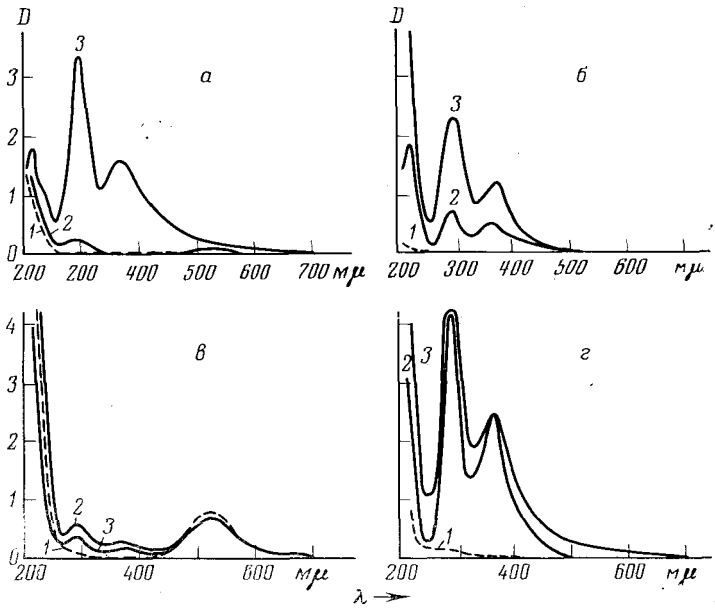

Рис. 1. Спектры поглощения *н*-декана (*1*) и растворов фосфатидилглицерина (*2*) и лецитина с холестерином (*3*) в *н*-декане, выдержанных до равновесного распределения с водными растворами иод-иодида. Исходные концентрации в воде: *а* — $5 \cdot 10^{-5}$ *М* J_2, *б* — $5 \cdot 10^{-5}$ *М* $J_2 + 1$ *М* KJ, *в* — 10^{-3} *М* J_2, *г* — 10^{-3} *М* $J_2 + 1$ *М* KJ. В случае *в* оптические плотности уменьшены в 5 раз

сильное различие при низких ($5 \cdot 10^{-5}$ *М*) концентрациях J_2 или J_3^- (рис. 1*а*, *б*). Дополнительные полосы также появляются, когда водный раствор, контактирующий с раствором фосфолипидов в *н*-декане, содержит только 1 *М* KJ без J_2. В этом случае величина оптических плотностей много меньше, чем в присутствии $5 \cdot 10^{-5}$ *М* J_3^-. Возможно, что их появление связано с образованием J_3^- в водном растворе 1 *М* KJ, но в концентрации много меньшей, чем $5 \cdot 10^{-5}$ *М* J_3^-.

На рис. 2 представлены результаты измерения проводимости бислойных липидных мембран на постоянном токе и переменном токе. При большой концентрации молекулярного иода для обоих использованных липидов проводимость на постоянном токе немонотонно изменяется с концентрацией иодида в водном растворе. Дисперсия проводимости с частотой наблюдается при малых концентрациях иодида в растворе. На высоких частотах максимум проводимости исчезает и проводимость монотонно падает с ростом концентрации иодида. При малой ($5 \cdot 10^{-5}$ *М*) концентрации иода для БЛМ, сформированных из лецитина с холестерином, максимум проводимости на постоянном токе сохраняется и становится более ярко выраженным. При этом дисперсионный участок также сохраняется. Для БЛМ из фосфатидилглицерина в этом случае, напротив, наблюдается монотонный рост

проводимости с ростом концентрации иодида, а проводимость на высоких частотах равна проводимости на постоянном токе во всем диапазоне концентраций J^- (рис. 2*б*).

Обсуждение результатов. Ход зависимости высокочастотной проводимости, как было показано ранее ([9]), противоречит гипотезам переносчиков аниона иода как в форме J_3^- ([3]), так и в форме полииодидов ([4, 5]). Если в исходные водные растворы J_2, которые разделяет БЛМ, добавлять KJ, то наблюдающийся в этих случаях монотонный спад проводимости на высоких частотах объясняется уменьшением содержания J_2 в водном растворе, а соответственно и в мембране из-за перехода молекулярного

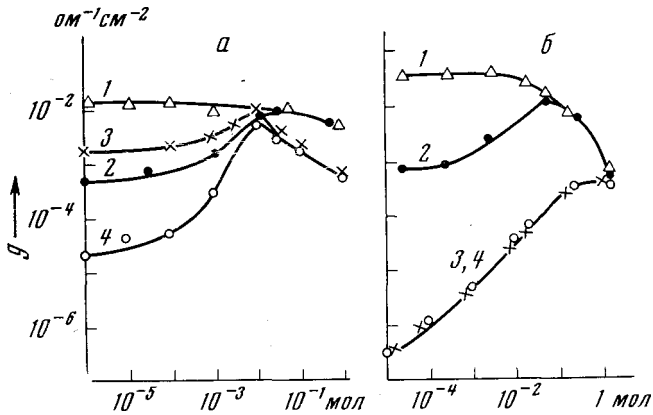

Рис. 2. Проводимости бислойных липидных мембран, сформированных из лецитина с холестерином (*а*) и из фосфатидилглицерина (*б*) в зависимости от концентрации KJ. *1*, *3* — на переменном токе, *2*, *4* — на постоянном токе; *1*, *2* — 10^{-3} *M* J_2, *3*, *4* — $5 \cdot 10^{-5}$ *M* J_2

иода в заряженную форму J_3^-. Такая зависимость высокочастотной проводимости может быть объяснена инжекцией дырок в БЛМ или гипотезой о существовании подвижных положительно заряженных ионов-переносчиков. Дисперсия проводимости связана с примембранными слоями.

Если сравнить спектры поглощения и результаты измерения проводимости БЛМ, то можно прийти к выводу, что при малой ($5 \cdot 10^{-5}$ *M*) концентрации J_2 лецитин с холестерином увеличивают содержание иода в *н*-декане в большей степени, чем фосфатидилглицерин (рис. 1*а*), очевидно, за счет образования комплексов. Такие комплексы как бы увеличивают концентрацию иода в БЛМ. Поэтому проводимость БЛМ из лецитина с холестерином при одних и тех же исходных концентрациях иод-иодида в водном растворе выше, чем проводимость мембран из фосфатидилглицерина. Как и в спектрах, наибольшее различие в характерах проводимости БЛМ в зависимости от типа липидов наблюдается при малых ($5 \cdot 10^{-5}$ *M*) концентрациях J_2 (рис. 2). Это можно объяснить существованием двух механизмов проводимости: ионного, который заметен при малом содержании J_2, и электронного переноса, который существен при высоком содержании J_2.

Наблюдающийся некоторый сдвиг максимумов полос поглощения в спектрах рис. 1 можно объяснить существованием различных комплексов фосфолипидов с иод-иодидом, зависящих от равновесных концентраций J_2, J^- и J_3^- в контактирующем водном растворе.

Если ионная проводимость в системе иод-иодид действительно существует для БЛМ из фосфатидилглицерина при $5 \cdot 10$ *M* J_2, то она, судя по монотонному росту проводимости с насыщением от концентрации иодида (рис. 2*б*), соответствует прохождению триодида, хотя этот вопрос требует специального исследования. Как следует из отсутствия дисперсии проводимости от частоты электрического поля, лимитирующей стадией суммарного переноса заряда через БЛМ в этом случае является транспорт через углеводородный «объем» мембраны ([14]).

Препаративная работа по выделению и анализу фосфатидилглицерина выполнялась В. С. Чигиревым и Г. В. Тихоновой в Институте биохимии им. А. Н. Баха. Выражаем искреннюю благодарность В. С. Чигиреву и Г. В. Тихоновой за предоставление фосфолипидов и за предложенные ими дополнения к статье.

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
22 VI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] E. A. Liberman, V. P. Topaly, Biochim. et biophys. acta, **163**, 125 (1968). [2] Е. А. Либерман, В. П. Топалы, Биофизика, **13**, 442 (1968). [3] Е. А. Либерман, В. П. Топалы и др., Биофизика, **14**, 56 (1969). [4] S. G. A. McLaughlin, G. Szabo et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **67**, 1268 (1970). [5] A. Finkelstein, A. Cass, J. Gen. Physiol., **52**, 145 (1968). [6] P. Läuger, J. Richter, W. Lesslauer, Ber. Bunsenges. Phys. Chem., **71**, 906 (1967). [7] B. Bhowmik, G. L. Jendrasiak, B. Rosenberg, Nature, **215**, 842 (1967). [8] B. Rosenberg, H. C. Pant, Chem. Phys., Lipids, **4**, 203 (1970). [9] L. I. Boguslavsky, F. I. Bogolepova, A. V. Lebedev, Chem. Phys. Lipids, **6**, 296 (1971). [10] L. I. Boguslavsky, A. V. Lebedev, In: Biol. Aspects of Electrochem., Experientia, Suppl., **18**, 163 (1971). [11] Л. И. Богуславский, А. В. Лебедев, Ф. И. Боголепова, ДАН, **195**, 475 (1970). [12] В. Я. Водяной, И. Я. Водяной, Н. А. Федорович, Физ. тверд. тела, **12**, 3321 (1970). [13] M. Macfarlane, Nature, **196**, 136 (1962). [14] А. В. Лебедев, Л. И. Богуславский, Биофизика, **16**, 221 (1971).