

УДК 577.37

БИОФИЗИКА

О. С. КСЕНЖЕК, А. М. ОМЕЛЬЧЕНКО, М. М. КОГАНОВ

**ДИСКРЕТНАЯ ПРОВОДИМОСТЬ БИСЛОЙНЫХ МЕМБРАН,
ИНДУЦИРУЕМАЯ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТОМ НАТРИЯ**

(Представлено академиком А. Н. Фрумкинм 27 V 1974)

В биохимической практике для солюбилизации мембранных белков и их реконструкции с искусственными мембранами широко применяются различные детергенты. При дальнейших операциях они могут не полностью отделяться от белковой компоненты (¹) и, попадая в исследуемую систему, вызывать побочные эффекты. В связи с этим представляло интерес исследовать влияние детергентов на электрохимические характери-

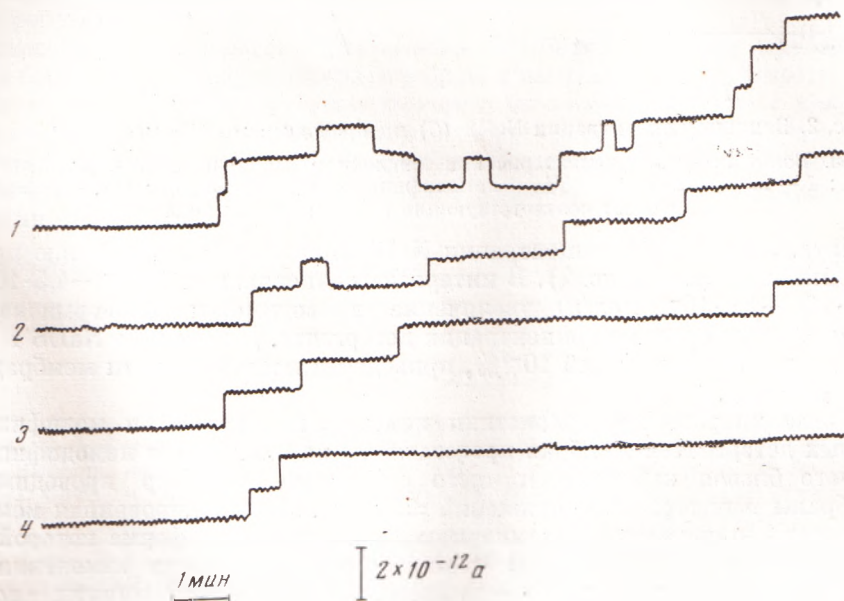


Рис. 1. Типичные флуктуации тока в присутствии NaDS. Концентрация NaDS:
1 - $10^{-5}\%$; 2 - $3 \cdot 10^{-5}\%$; 3 - $0,7 \cdot 10^{-4}\%$; 4 - $4,3 \cdot 10^{-4}\%$

ки бислойных мембран более подробно, чем это сделано в немногочисленных работах, посвященных данному вопросу (^{2, 3}).

Для получения бислойных мембран использовались фосфолипиды, выделенные из белого вещества головного мозга быка по методу Мюллера и сотрудников (⁴). Мембраны формировали из гептанового раствора липидов с концентрацией 20 мг/мл на отверстиях диаметром 1,2 мм в тефлоновом стаканчике. Водная фаза содержала 0,1 M NaCl. Додецилсульфат натрия (NaDS) добавляли в одну половину ячейки порциями по 5 мкл при постоянном перемешивании. Эксперименты проводили с хлорсеребряными электродами при температуре 20°. Электрические измерения на мембране велись с помощью электрометра на полевом транзисторе с входным сопротивлением более 10^{13} ом.

Обнаружено, что в малых концентрациях детергент вызывает изменения проводимости мембраны, носящие дискретный характер. На рис. 1 представлены типичные ступеньки тока при фиксированном напряжении на мембране. При напряжении 50 мв величина каждой ступеньки составляет около $1,4 \cdot 10^{-12}$ а и не зависит от концентрации детергента в водной фазе. Наблюдаемый эффект весьма чувствителен к изменению концентрации и ионного состава элек-

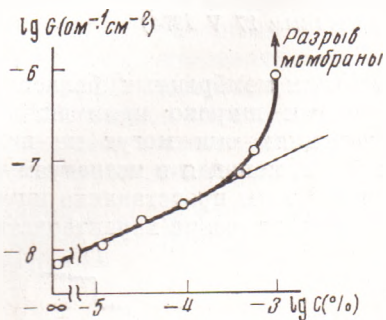


Рис. 2

Рис. 2. Влияние концентрации NaDS (C) на проводимость (G) мембраны

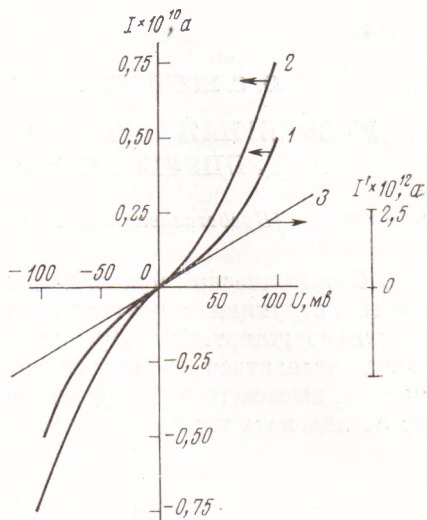


Рис. 3

Рис. 3. Вольт-амперные характеристики бислоидной мембраны, модифицированной NaDS: 1 — $10^{-5}\%$; 2 — $3,6 \cdot 10^{-3}\%$, и немодифицированной мембраны (3). Стрелки указывают соответствующие кривым шкалы тока

тролита. Увеличение концентрации NaDS приводит к возрастанию проводимости мембраны (рис. 2). В интервале концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ — $4,5 \cdot 10^{-4}\%$ ($0,4 \cdot 10^{-6}$ — $1,6 \cdot 10^{-5}$ мол/л) увеличение проводимости пропорционально квадратному корню из концентрации детергента. Добавление NaDS в концентрации, превышающей $10^{-3}\%$, приводит к нестабильности мембраны и к ее разрыву.

Вольтамперные характеристики немодифицированной и модифицированных детергентом мембран представлены на рис. 3. Для немодифицированной бислоиды наблюдается чисто омический характер проводимости мембраны в интервале напряжений ± 100 мв. Модифицированная мембрана имеет нелинейную вольтамперную характеристику, форма которой существенно зависит от скорости съемки из-за медленности изменения состояния. При быстрой съемке — за время порядка одной минуты — вольтамперная характеристика получается линейной. При медленном переходе от меньшего уровня напряжения на мембране к большему наблюдается несколько ступенек и устанавливается новое стационарное значение тока. Кривые, изображенные на рис. 3, снимались следующим образом: при напряжении 50 мв устанавливалось стационарное состояние, затем напряжение снижалось до нуля и далее ступенчато увеличивалось с выдержкой порядка 10—15 мин. при каждом значении напряжения.

Величина отдельных ступенек тока пропорциональна приложенному к мембране напряжению. Таким образом, каждая отдельная ступенька соответствует дискретному «каналу» проводимости с линейной «омической» вольтамперной характеристикой. Количество ступенек является функцией приложенного напряжения и возрастает с его увеличением. При концентрации детергента $10^{-5}\%$ и напряжении 100 мв общее количество «каналов» составляет около 3000 на см^2 . Потенциал-зависимое образование ступенек тока определяет форму вольтамперной кривой мембраны в присутствии детергента.

Известно, что дискретные флуктуации тока, протекающего через бислойные мембраны, могут вызываться различными природными соединениями (³⁻¹⁰). В указанных работах дискретность проводимости трактуется как результат образования проводящих каналов.

Дискретные изменения сопротивления мембран, индуцируемые NaDS, по-видимому, также могут быть объяснены образованием единичных каналов проводимости. В первом приближении такие каналы можно представить как поры, заполненные электролитом. В пользу такого предположения свидетельствует линейность вольтамперной характеристики единичного канала. Проводимость единичного канала в 0,1 М NaCl равна $2,7 \cdot 10^{-11}$ ом⁻¹. Интересно, что эта величина близко совпадает с проводимостью каналов, индуцируемых синтетическими пептидами (¹¹). При увеличении концентрации электролита проводимость единичного канала возрастает. Если предположить, что электропроводность электролита в поре соответствует электропроводности в свободном объеме, то эффективный радиус поры можно оценить величиной порядка 2,5 А.

Образование проводящих каналов, вероятно, происходит в результате кооперативного нарушения нормальной структуры бислоя под действием NaDS и формирования мицеллоподобных участков. Такое предположение можно сопоставить с данными Бонта и сотрудников (¹) о потере способности мембранных липидов образовывать ламеллярные структуры после их обработки детергентами.

Способность детергента образовывать дискретные каналы проводимости в бислойных фосфолипидных мембранах вызывает необходимость тщательного анализа работ по реконструкции мембранных белков с искусственными мембранами. Наблюдаемые в таких системах явления типа дискретной проводимости приписываются обычно белковым компонентам, однако, как видно из приведенных здесь данных, они могут вызываться и следами детергента.

Днепропетровский химико-технологический институт
им. Ф. Э. Дзержинского

Поступило
21 V 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. S. Bont, P. Emmelot, Vaz H. Dias, *Biochim. et biophys. acta*, v. 173, 389 (1969).
² W. D. Seufert, *Nature*, v. 207, 174 (1965). ³ H. Van Zutphen, A. J. Merola et al., *Arch. Biochem. and Biophys.*, v. 152, 755 (1972). ⁴ P. Mueller, D. O. Rudin et al., *J. Phys. Chem.*, v. 67, 534 (1963). ⁵ P. Mueller, D. O. Rudin, *J. Theoret. Biol.*, v. 4, 268 (1963). ⁶ R. C. Bean, W. C. Shepherd et al., *J. Gen. Physiol.*, v. 53, 741 (1969).
⁷ R. Latorre, G. Ehrenstein, H. Lecar, *J. Gen. Physiol.*, v. 60, 72 (1972). ⁸ G. Ehrenstein, H. Lecar, R. Nossal, *J. Gen. Physiol.*, v. 55, 490 (1970). ⁹ M. C. Goodall, G. Sachs, *Nature*, v. 237, 252 (1972). ¹⁰ W. R. Redwood, D. C. Aibbes, T. E. Thompson, *Biochim. et biophys. acta*, v. 318, 10 (1973). ¹¹ M. C. Goodall, D. W. Urry, *Biochim. et biophys. acta*, v. 291, 317 (1973).