

С. А. БАДЖИНЯН

НЕКОТОРЫЕ МОДЕЛИ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

В последнее время во многих лабораториях мира разрабатываются различные типы искусственных мембран.

Наиболее интересными моделями клеточных мембран являются миллипористые фильтры (поры которых заполнены липидами), ионообменные, осадочные, многослойные мицеллярные мембраны и бимолекулярные фосфолипидные мембраны.

В работе рассматриваются способы получения искусственных мембран, их структура и функции.

Наряду с прямым изучением биологических мембран в последнее время интенсивно исследуются структура и функции мембран на моделях.

Применение искусственных мембран при исследовании механизмов клеточной проницаемости оказывается эффективным, так как позволяет сконцентрировать внимание на ограниченном числе их свойств и выяснить роль этих свойств в работе моделируемой системы—клеточной мембраны. В последние два десятилетия во многих лабораториях мира разрабатывались различные типы модельных мембран как из биологических тканей, так и из элементов клеточных поверхностей, например липидов [21, 29, 30]. Наиболее интересными моделями клеточных мембран являются миллипористые фильтры (поры которых заполнены липидами), ионообменные, осадочные, многослойные мицеллярные мембраны и бимолескулярные фосфолипидные мембраны (БФМ).

Модель клеточной мембраны в виде миллипористого фильтра с фосфолипидами была предложена Тобиасом [45]. На этой модели исследовалась связь ионов кальция с фосфолипидами, влияние на эту связь ионов калия и натрия, а также изменение электрических параметров модели вследствие взаимодействия ионов кальция с фосфолипидами.

Французские исследователи Монье и его сотрудники [32] исследовали электрические характеристики ионообменных мембран, изготовленных из жирных кислот, сложных эфиров жирных кислот и окисленного льняного масла, которые избирательно пропускают ионы одного знака и анионообменные. Когда ионообменная мембрана погружена в солевой раствор, возникают условия, аналогичные доннановскому равновесию.

Наиболее удачной моделью, дающей интересные аналогии с клеточными мембранами, оказалась пленка из насыщенных липидов (льняного масла), образованная на поверхности окисляющего раствора и помещенная на границе двух растворов электролитов [33, 34, 39]. Эти мембраны достаточно прочны и проявляют избирательную проницаемость

для катионов. Кроме того, мембраны Монье обладают высокой избирательностью для калия по сравнению с натрием.

Одной из разновидностей ионообменных мембран являются жидкие ионообменные мембраны [46], представляющие собой растворы, нерастворимые в воде. На этих мембранах Монье получены вольт-амперные характеристики с отрицательным сопротивлением, генерация ритмических потенциалов при подаче напряжения на мембрану [33, 34, 39] и еще некоторые интересные свойства, механизмы которых пока неясны.

К числу моделей клеточных мембран, на которых удалось получить такие явления, как избирательная проницаемость, ряд избирательности для щелочных металлов, относятся осадочные мембраны [6, 9]. Осадочные мембраны получают на целлюлозном фильтре с диаметром пор до $1000 \text{ \AA}$ в результате реакции какого-нибудь катиона с анионом, дающей осадок. Изучение этой модели направлено на то, чтобы выяснить возможную роль, которую может играть осадок в поре. Выбор такой модели, которая казалось бы очень далека от биологических мембран, связан с представлением о том, что в биологических мембранах есть поры, заполненные осадком кальция.

В качестве моделей многослойных мембран используется мембранная система, предложенная и описанная Бангамом [17].

Метод получения мицеллярной модели искусственных фосфолипидных мембран таков: некоторое количество исследуемого фосфолипида или смеси из нескольких компонентов, находящихся в органическом растворителе (хлороформе), высушивается досуха под вакуумом и затем к полученному сухому остатку добавляется дистиллированная вода или солевой раствор, далее смесь диспергируется. Таким образом, получают дисперсию фосфолипидных частиц, каждая из которых образована из ряда концентрических бимолекулярных слоев фосфолипидов толщиной порядка $60 \text{ \AA}$, разделяемых водными фазами толщиной порядка нескольких диаметров молекул воды [18, 38]. Размеры и форма частиц зависят от характера используемых фосфолипидов и способа диспергирования.

Характерным свойством фосфолипидных мицелл является то, что их проницаемость для анионов на несколько порядков выше, чем для катионов. Проницаемость фосфолипидных мицелл для катионов становится эффективной при наличии наркотиков. Объяснение механизма действия наркотиков основывается на термодинамической трактовке проблемы, связывающей наркотическую активность со свободной энергией адсорбции соединений на фосфолипидной мембране [16]. Полноценные же антибиотики увеличивают поток анионов и глюкозы сквозь искусственные фосфолипидные мицеллы [14]. В работе Андреоли [15] отмечается высокая осмотическая чувствительность мицелл, говорящая об их проницаемости для воды.

Учитывая все эти данные, можно говорить о некотором соответствии свойств указанных моделей со многими важными характеристиками биологических мембран и о возможности исследования их для мо-

делирования многих физиологических процессов, в частности тех, в которых важную роль играет взаимодействие мембранных поверхностей.

В последние годы большие успехи достигнуты в исследовании свойств бимолекулярных фосфолипидных мембран. БФМ из естественных и синтетических фосфолипидов в настоящее время являются наиболее совершенной моделью клеточных мембран, так как на них воспроизводятся как структурные (химический состав, толщина—60—90 Å, емкость—0,5 мкф/см²), так и важные функциональные особенности (избирательная проницаемость) возбудимых клеточных мембран.

Впервые американские исследователи Мюллер и Рудин [35, 36] предприняли попытку искусственно создать бимолекулярную пленку из фосфолипидов и использовать ее как модель клеточной мембраны. Они показали, что стабильные двухслойные липидные слои природных мембран можно создать из неочищенных экстрактов липидов мозга. Каплю раствора липидов белого вещества мозга с α -токоферолом в смеси с хлороформ-метанолом помещали в отверстие в тефлоновой перегородке между камерами, содержащими раствор KCl. По мере диффузии растворителей из капли в водную фазу ориентированные молекулы фосфолипидов на границе двух растворителей в капле приближаются друг к другу и в конце концов соединяются в довольно стабильный слой толщиной менее 100 Å, расположенный поперек отверстия. Образование бислоя обнаруживается с помощью микроскопа по исчезновению цветных интерферирующих пятен в отраженном от поверхности мембран свете, который на окончательной стадии перестает отражаться, на основании чего судят об образовании так называемой «черной», т. е. бимолекулярной пленки.

Большинство работ на БФМ проводилось с целью определения существенных аналогий между БФМ и клеточными мембранами. Толщина, поверхностное натяжение, липидный состав и различные физические параметры являлись первыми данными в сравнениях такого рода.

Бимолекулярные фосфолипидные мембраны получают из разных фосфолипидов, в частности Мюллер [3, 7, 37], Томпсон с сотрудниками и Хейдон — из яичного лецитина. Кроме того, для получения устойчивых БФМ Томпсон испробовал ряд насыщенных синтетических липидов и лецитинов, выделенных из разных тканей [21]. Несмотря на то, что разные исследователи использовали неодинаковые фосфолипиды и растворители, свойства фосфолипидных мембран достаточно хорошо совпадают.

Томпсоном и Хаунгом [28, 41] была определена толщина БФМ оптическим методом. Оказалось, что толщина БФМ из яичного лецитина и *n*-тетрадексана равна 72 Å. Исследования Тьена и Бабакова [1, 42, 43] на мембранах различного состава привели к аналогичным результатам.

Другое физическое свойство мембран, которое дает прямую информацию относительно их структуры — это величина поверхностного натяжения. Измерения ее проводились в нескольких лабораториях с применением различной техники [24, 27, 44]. БФМ из различных липидов

дали величину поверхностного натяжения от 0,5 дн/см до 2,5 дн/см при 30°C. Наиболее существенное физическое свойство БФМ—их электрическое сопротивление и емкость. Сопротивление мембран является величиной, обратно пропорциональной проницаемости мембран. У БФМ оно оказалось очень высоким, на 4—6 порядков выше сопротивления биологических мембран. Мюллер с сотр. получили для мембран из липидов мозга, растворенных в смеси хлороформа с метанолом, величину $0,5 \times 10^8$ ом $\times$ см², Лев с сотр.— $1,3 \times 10^8$ ом $\times$ см², Либерман с сотр. из общих фосфолипидов, растворенных в н-гептане, 4×10^8 ом $\times$ см², мы получили на тех же фосфолипидах, растворенных в н-декане, 5×10^8 ом $\times$ см² (1, 2, 4, 7).

Обнаружено, что под влиянием некоторых жирорастворимых веществ проводимость бимолекулярных мембран растет, они становятся избирательно проницаемыми для определенного вида ионов.

В настоящее время известны агенты, создающие высокую избирательность БФМ для ионов водорода (10, 11, 20), катионов щелочных металлов (5, 8, 15), анионов (31, 38, 39). Протонная проводимость возникает в бимолекулярных мембранах под влиянием веществ, относящихся к классу разобщителей окислительного фосфорилирования. Последовательность действия разобщителей на искусственные мембраны коррелирует с их разобщающим действием на мембраны митохондрий [40]. Проводимость для иона водорода, создаваемая разобщителем окислительного фосфорилирования, зависит от величины рН среды.

Под действием некоторых антибиотиков (валиномицина, грамицидина А, некатина) БФМ становятся избирательно проницаемыми для катионов щелочных металлов. Ряд избирательности для щелочных катионов, возникающий под влиянием антибиотиков, следующий. Способность макроциклических антибиотиков создавать катионную специфичность мембран не зависит от вида липидов, а является, по-видимому, свойством колец самих антибиотиков.

Анионная проводимость возникает в БФМ под влиянием некоторых полиеновых антибиотиков [14], ряда поверхностно активных веществ.

Высокая проводимость БФМ в растворах йодидов была отмечена в ряде работ [12, 13, 31]. Оказалось, что избирательная проницаемость для ионов йода на 2—3 порядка выше, чем для катионов.

В работах Хопфера [25, 26], изучавшего роль полярной части липидов в ионной проницаемости БФМ, было показано, что БФМ, сформированные из отрицательно заряженных липидов (фосфатидилглицерин и дифосфатидилглицерин), положительно заряженных (лизилфосфатидилглицерин) и незаряженных (дигмокозилглицерин), незначительно различаются по величинам электрического сопротивления и емкости.

Электрическая емкость БФМ была изучена разными исследователями. Емкость мембран из общих липидов мозга равняется 0,7—1,3 мкф/см² [36]. Хейдон с соавторами измерили емкость БФМ из яичного лецитина и показали, что она равна 0,37 мкф/см² [23]. Лев с сотр. [7]

получили значение $0,5 \text{ мкф/см}^2$. Не касаясь расхождений в полученных величинах, следует заключить, что емкость искусственных фосфолипидных мембран близка емкости поверхностных клеточных мембран, которая колеблется для разных тканей в пределах $0,3 \text{ мкф/см}^2$ — 1 мкф/см^2 [21].

Как видно, наиболее близкой и эффективной моделью клеточных мембран являются фосфолипидные мембраны. В клеточных мембранах имеется много различных компонентов, поэтому очень трудно определить, какие из составляющих клеточную мембрану или их комбинацию ответственны, например, за высокую избирательность клеток в покое к ионам K^+ , а при возбуждении—ионам Na^+ .

Существенным было бы рассмотрение роли белков или комплекса белков и липидов клеточных мембран на искусственных мембранах. Достигнутые результаты пока очень незначительны.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 16.VI 1972 г.

Ս. Ա. ԲԱԶԺԻՅԱՆ

ԲԶԶԱՅԻՆ ԹԱՂԱՆԹՆԵՐԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՄՈԴԵԼՆԵՐ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Մոդելային թաղանթները առավել պարզ օբյեկտներ են կենսաբանական մոդելների ուսումնասիրության համար:

Վերջին տարիներս աշխարհի տարբեր լաբորատորիաներում մշակվում են արհեստական թաղանթների տարբեր տիպեր, որոնց առավել հետաքրքիր մոդելները հետևյալներն են. միլիթակոտկեն ֆիլտեր (որոնց ծակոտկենները լցված են լիպիդներով), իոնափոխանակային, նստվածքային, բազմաշերտ միթելյար թաղանթներ և երկմուկուլյար ֆոսֆոլիպիդային թաղանթներ:

Հոդվածում քննարկվում են արհեստական թաղանթների ստացման եղանակները նրանց կառուցվածքը և ֆունկցիան:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бабаков А. В., Ермишкин Л. Н., Либерман Е. А. Мат-лы Всесоюзн. конф. молод. уч., Пушино-на-Оке, 73, 1966.
2. Бабаков А. В., Ермишкин Л. Н., Либерман Е. А. Журн. эвол. биохим. и физиол., 2, 102, 1966.
3. Баджиян С. А., Ковалев С. А., Чайлахян Л. М. Биологический журнал Армении, 1, 98, 1971.
4. Баджиян С. А., Дунин-Барковский В. А., Ковалев С. А., Чайлахян Л. М. Биофизика, 6, 1019, 1971.
5. Готлиб В. А., Бужинский Э. П., Лев Н. А. Биофизика, 13, 562, 1968.
6. Зильберштейн А. Я., Проневич А. А. Биофизика, 13, 357, 1968.
7. Лев А. А., Готлиб В. А., Бужинский Э. П. Журн. эвол. биохим. и физиол., 2, 109, 1966.

8. Лев А. А., Бужинский Э. П. Цитология, 9, 102, 1967.
9. Либерман Е. А., Проневич Л. Н., Топалы В. П., Чайлахян Л. М. Биофизика, 12, 50, 1967.
10. Либерман Е. А., Бабаков А. В. Биофизика, 13, 362, 1968.
11. Либерман Е. А., Мохова Е. Н., Скулачев В. П., Топалы В. П. Биофизика, 13, 188, 1968.
12. Либерман Е. А., Топалы В. П., Цофина Л. М., Шкроб А. М. Биофизика, 14, 351, 1969.
13. Пашаев П. А., Цофина Л. М. Биофизика, 13, 360, 1968.
14. Andreoli T. Monahan., Bioph., Soc., 12 Ann Meet., 8, 23, 1968.
15. Andreoli T., Thej enbepeg M., Tosteson D. J. Gen. Phys. 50, 2527, 1967.
16. Bangham A., Standish M., Weissman G. J. Mol. Biol., 13, 253, 1965.
17. Bangham A., Standish M., Miller N. Nature, 208, 1295, 1965.
18. Bangham A., Standish M., Watkins J. J. Mol. Biol., 13, 238, 1965.
19. Bangham A. Prog. Biophys. and Mol. Biol., v. 18, 1968.
20. Bielawski J., Thompson T., Lehninger A. Bioch. Bioph. Res. Commun., 24, 948, 1969.
21. Curtis A. J. Sci., Prog. Oxford, 54, 61, 1966.
22. Dray S., Sollner K. Biochem. Bioph. Acta, 18, 341, 1955.
23. Hanai T., Haydon P., Taylor J. Proc. Roy. Soc., 377, 1964.
24. Haydon D., Taylor J. Nature, 217, 739, 1968.
25. Hopfer V., Leninger A., Lennarz W. J. Membrane Biol., 2, 41, 1970.
26. Hopfer V., Leninger A., Lennarz W. J. Membrane Biol., 3, 142, 1970.
27. Huang C., Thompson T. J. Mol. Biol. 8, 148, 1964.
28. Huang C., Thompson T. J. Mol. Biol. 13, 183, 1965.
29. Lakshminarayanan M., Shanes A. Science, 141, 1963.
30. Lakshminarayanaian M., Shanes A. J. Appl., Polymer Sci., 9, 1285, 1965.
31. Lauger P., Lesslauer W., Martl E., Richter J. Bioch. Bioph. Acta, 135, 20, 1967.
32. Monnier A. M., Blozovski D., Monnier A. J. Physiol. 54, 379, 1962.
33. Monnier A. M., Gondeau H., Rebuffel A. J. Physiol. 54, 409, 1964.
34. Monnier A. M., Monnier A., Gondeau H., Reynier-Rebuffel, Sanchez V. J. Phys. 58, 255, 1966.
35. Mueller R., Rudin D., Tien A., Wescott W. Nature, 194, 979, 1962.
36. Mueller R., Rudin D., Tien A., Wescott W. Rec. Prog. Surf. Science, 1, 379, 1964.
37. Mueller R., Rudin D., Tien H., Wescott W. J. Phys. Chem., 67, 534, 1963.
38. Papahadjopoulos D., Bangham A. J. Cell. Biol., 185, 1966.
39. Sanchez V., Reynier-Rebuffel A., Monnier A. M. J. Physiol. 58, 612, 1966.
40. Skulachev V., Shoraf A., Yaguzhinsky L., Jasaitis A., Liberman E., Topaly V. Curr. in Mod. Biol. 2, 96, 1968.
41. Thompson T., Huang C. J. Mol. Biol., 16, 576, 1966.
42. Tien H. T. J. Mol. Biol., 16, 577, 1966.
43. Tien H. T. Nature, 219, 5151, 1968.
44. Tien H., Diana A. Chem. Phys. Lipids, 2, 55, 1968.
45. Toblas J., Agin D., Pawlowski R. J. Gen. Physiol. 45, 989, 1962.
46. Sollner K., Shean G. J. Protoplasma, 63, 174, 1967.