УДК 577.352

О РОЛИ ГРАНИЦЫ БИСЛОЙ-МЕНИСК ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ ПРОБОЕ БИСЛОЙНЫХ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН

В. Б. АРАКЕЛЯН, Г. Р. ХАЧАТРЯН, Н. С. МАТИНЯН, Ц. М. АВАКЯН

Электрический пробой бислойных липидных мембран, имеющих достаточно малую площадь S ($S<0{,}24$ мм^2), происходит в результате развития дефектов на границе бислой—мениск. Показано также, что здесь плотность дефектов на два порядка выше плотности дефектов в области бислоя.

Ключевые слова: мембрана, бислой-мениск, электрический пробой.

Исследованию устойчивости бислойных липидных мембран (БЛМ) в электрическом поле посвящено большое число работ [1, 2, 7, 8]. Выяснено, что пробой БЛМ в электрическом поле происходит в результате рождения и развития локальных дефектов типа сквозных гидрофильных пор [1]. Не исключена возможность, что эти дефекты находятся на границе бислой-мениск. Из физических соображений ясно, что с уменьшением площади мембраны должна повышаться роль дефектов на границе бислой-мениск при электрическом пробое БЛМ, так как площадь мембраны S уменьшается, как r^2 (где r—радиус плоской бислойной мембраны), а периметр L, как r. Данная работа посвящена изучению влияния границы бислой-мениск на устойчивость мембран в электрическом поле.

Материал и методика. Мембраны получали обычным способом из общих липидов мозга быка, растворенных в декане ($\sim$ 4 мг на 0,1 мл растворителя). Эксперименты проводились при температуре 25° в 0,1 М NaCl.

Результаты и обсуждение. Для выяснения роли границы бислой-мениск при электрическом пробое БЛМ исследовали зависимость среднего времени жизни мембран $\bar{\tau}$ от ее площади S в широком интервале изменения S. На рис. 1 представлена зависимость $\lg\bar{\tau}$ от lgC при разности потенциалов U=300 мВ (C—емкость мембраны). По оси абсцисс мы откладываем логарифм емкости мембраны, поскольку именно емкость более точно характеризует площадь черной части мембраны. Из рис. 1 видно, что зависимость $\lg\bar{\tau}$ от lgC имеет линейный характер, причем, при $C\simeq 1$ на графике имеется излом кривой. Тангенс угла наклона на участках 1 и 2 составляет 0,5 и 1 соответственно.

На рис. 2 приведены результаты измерений зависимости $\lg\bar{\tau}$ от lgC при потенциалах на мембране, равных 400, 500, 600 мВ (область больших площадей, исследованная нами ранее [4], обозначена на рис. 2 пунктирной линией). Из рис. 2 видно, что кривые *а, б* и *в* в точке $C\simeq 1$ имеют излом. Причем угол наклона прямой *а* тот же, что и угол наклона прямой 1 на рис. 1. Прямые *б* и *в* параллельны и тангенс угла наклона к оси lgC составляет 0,25. Заметим, что имеется слабая зависимость точ-

ки излома от потенциала. Эта зависимость может быть связана с релаксацией краевого угла [5].

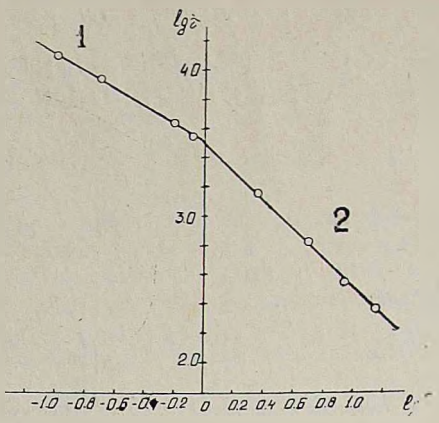

Рис. 1. Зависимость $\lg\bar{\tau}$ от lgC при потенциале U=300 мВ. Емкость кормирована на величину 0,1 нФ.

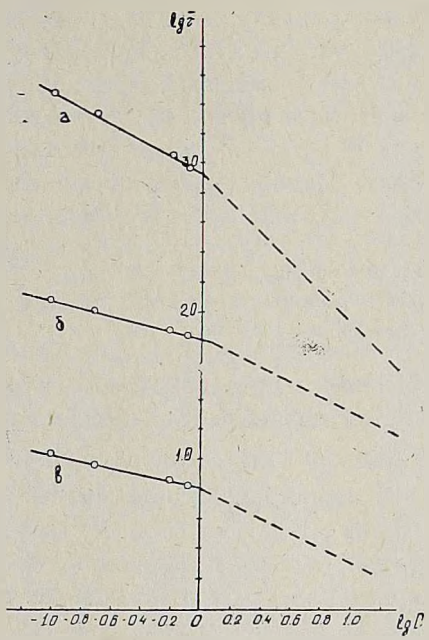

Рис. 2. Зависимость $\lg\bar{\tau}$ от lgC. Емкость нормирована на величину 0,1 нФ. а—U=400 мВ; б—U=500 мВ, в—U=600 мВ.

На рис. 3 и 4 представлены функции распределения времен жизни F БЛМ, имеющих площадь S=0,07 мм² и S=1,32 мм² соответственно. На рис. 1 эти точки находятся на прямых 1 и 2, т. е. до и после точки излома. Применив критерий Колмогорова [6], можно показать, что функции распределения на рис. 3 и 4 хорошо описываются экспонентами.

Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 500 мВ представлена на рис. 5. Из рисунка видно, что распределение времен жизни мембран имеет существенно неэкспоненциальный вид. Для выяснения функциональной зависимости F (τ) на малых временах жизни

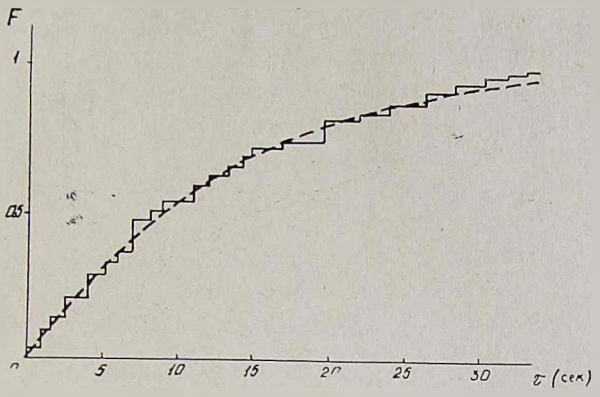

Рис. 3. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 300 мВ, построенная по 196 мембранам. Площадь БЛМ S=0,07 мм². Пунктирная линия изображает экспоненту.

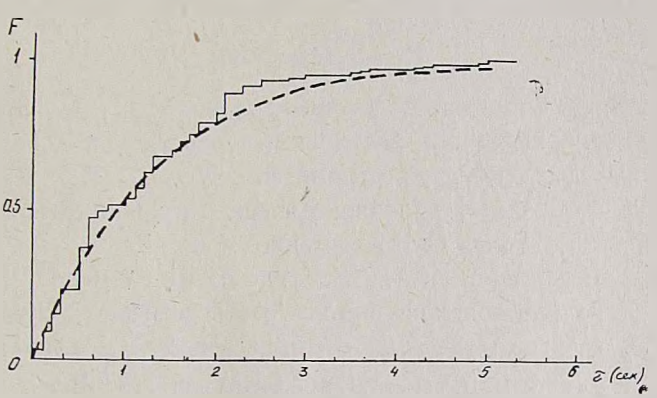

Рис. 4. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 300 мВ, построенная по 192 мембранам. Площадь БЛМ S=1,32 мм². Пунктирная линия изображает экспоненту.

БЛМ ($\tau \to 0$) на рис. 6 построена зависимость $\ln F$ от $\ln \tau$. Тангенс угла наклона равен двум. Следовательно, в области малых времен жизни БЛМ зависимость $F(\tau)$ имеет квадратичный вид, т. е. $F \sim \tau^2$.

В работе Аракеляна [3] было показано, что измерение зависимости среднего времени жизни БЛМ от площади дает ценную информацию о механизме пробоя мембраны. Использовав результат этой работы

$$\lg \bar{\tau} = \lg M - \frac{1}{m+1} \lg S, \qquad (1)$$

где M—константа, не зависящая от S, а m—число барьеров, дополнительных к лимитирующему диффузионному, можно утверждать, что

пробой мембраны, имеющей достаточно большую площадь (рис. 1, прямая 2), связан с преодолением дефектом одного барьера, поскольку для прямой 2 на рис. 1 имеем $m=0$. На правильность этого вывода указывает также экспоненциальность функции распределения времен жизни БЛМ (рис. 4).

Уменьшение угла наклона в области малых площадей (рис. 1, прямая 1) можно было бы трактовать как увеличение числа барьеров согласно (1), т. е. как появление дополнительного барьера к диффузионному. Однако функция распределения времен жизни для БЛМ с площадью 0,07 мм² имеет экспоненциальный вид (рис. 3), что означает наличие только одного барьера в этой области (т. е. $m=0$). Следовательно, излом на кривой не связан с появлением дополнительного барьера. Уменьшение угла наклона в области малых площадей можно объяснить усилением вклада дефектов на границе бислой—мениск. Под «границей бислой—мениск» мы подразумеваем всю переходную область от бислоя к мениску, ширина которой не превышает 1 мкм [5]. Зависимость среднего времени жизни БЛМ от числа дефектов n, согласно Абидору и др. [1], имеет вид:

$$\bar{\tau} = \frac{(kT)^{3/2}}{4\pi D n \gamma (\sigma + 0{,}5\,CU^2)^{1/2}} \exp\left[\frac{\pi\gamma^2}{kT(\sigma + 0{,}5\,CU^2)}\right] \equiv \frac{B}{n}, \qquad C = C_0(\varepsilon_p/\varepsilon_м - 1), \tag{2}$$

где k—константа Больцмана, T—температура, γ и σ—коэффициенты линейного и поверхностного натяжений соответственно, D—коэффициент диффузии дефектов в пространстве радиусов, C_0—емкость бездефектной мембраны, $\varepsilon_м$, ε_p—диэлектрические проницаемости мембраны и окружающего раствора соответственно.

Представим n в виде $n = n_S + n_L$, где n_S и n_L—число дефектов на площади и на границе бислой—мениск соответственно. Обозначим концентрацию дефектов на площади бислоя через C_S, а на границе бислой—мениск C_L. Полное число дефектов на мембране $n = C_S \cdot S + 2(\pi S)^{1/2} \cdot \delta \cdot C_L$, где δ — ширина области перехода от бислоя к мениску (здесь мы пренебрегаем членом $\sim\delta^2$, поскольку практически всегда $\sqrt{S} \gg \delta$). Учитывая вышесказанное, перепишем (2) в виде

$$\bar{\tau} = \frac{B'}{S}, \quad n_S > n_L, \tag{3а}$$

$$\bar{\tau} = \frac{B''}{\sqrt{S}}, \quad n_S < n_L, \tag{3б}$$

где $B' = \frac{B}{C_S}$, $B'' = \frac{B}{2\sqrt{\pi}\delta C_L}$. Из (3б) следует, что если число дефектов на границе бислой—мениск n_L больше, чем n_S, то тангенс угла наклона на рис. 1 должен уменьшиться в два раза. Таким образом, участок кривой, расположенный слева от излома, соответствует ситуации, когда пробой в основном обусловлен развитием дефектов на границе бислой—мениск. Координата точки излома на рис. 1 позволяет оценить отноше-

ние $\frac{C_S}{C_L}$. Поскольку в точке излома r=0,275 мм, а δ ~ 1 мкм [5], то из соотношения $C_S \pi r^2 = 2\pi r\delta C_L$ легко определить, что $\frac{C_S}{C_L} \simeq 7 \cdot 10^{-3}$. Таким образом, плотность дефектов на границе бислой—мениск, по крайней мере, на два порядка больше, чем плотность дефектов в области бислоя.

Так как прямая *а* на рис. 2 (U=400 мВ) параллельна прямой 1 на рис. 1, то следует, что изменение угла наклона в этом случае также обусловлено развитием дефектов на границе бислой—мениск.

Ранее было показано [4], что пробой мембран, имеющих достаточно большую площадь при U=500, 600 мВ, является двухстадийным процессом. Так как тангенс угла наклона на рис. 2 (прямые *б* и *в*) равен 0,25, то из (1) следовало бы, что в области малых площадей пробой является четырехстадийным процессом (т. е. m=3). Однако исследование функции распределения времен жизни БЛМ с площадью 0,07 мм² показало, что при τ→0 F ~ τ² (рис. 5 и рис. 6) В работе [3] было по-

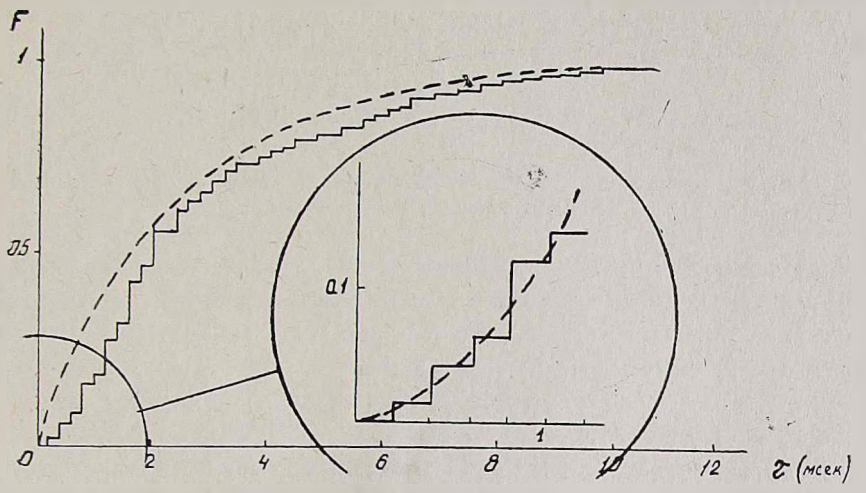

Рис. 5. Функция распределения времен жизни БЛМ при потенциале 500 мВ, построенная по 200 мембранам. Площадь БЛМ S=0,07 мм². Пунктирная линия изображает экспоненту. Начальный участок распределения описывается параболой.

казано, что измерив зависимость F(τ) при τ→0, можно определить число барьеров, преодолеваемых дефектом при электрическом пробое БЛМ. Зависимость F(τ) при τ→0 имеет вид F ~ τ^{m+1}, где m—число барьеров, дополнительных к диффузионному. Так как мы получили F ~ τ², то следовательно, пробой является двухстадийным процессом. Заметим, что в работе [4] было показано, что для БЛМ с площадью S=1,32 мм² при U=500 мВ F ~ τ², т. е. число барьеров до и после излома не изменяется и равно двум. Следовательно, уменьшение тангенса угла наклона и на этот раз обусловлено не увеличением числа барьеров,

а переходом к разрушению БЛМ по границе бислой—мениск, что легко показать также аналитическим путем. Из (3б) и (1) имеем:

$$\lg \tau \sim -\frac{1}{2}\frac{1}{m+1}\lg S. \qquad (4)$$

Подставив m=1 в (4), получим экспериментально полученное значение тангенса угла наклона—0,25.

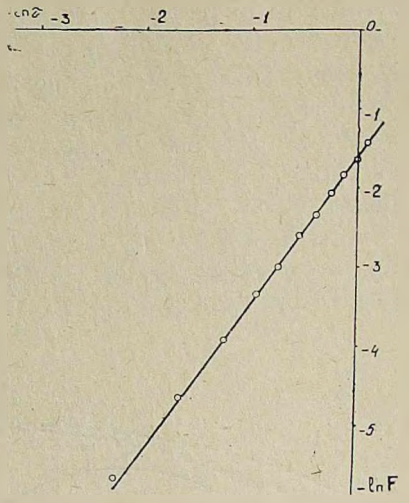

Рис. 6. Зависимость lnF от lnτ (для малых времен) при потенциале 500 мВ. Площадь БЛМ S=0,07 мм².

Таким образом, с уменьшением площади БЛМ решающая роль при электрическом пробое мембран принадлежит дефектам на границе бислой—мениск. Пробой мембран с площадью S<0,24 мм² является результатом развития дефектов на границе бислой—мениск. Оценка показывает, что плотность этих дефектов на два порядка больше плотности дефектов в черной части БЛМ.

Авторы считают своим приятным долгом выразить искреннюю благодарность Ю. А. Чизмаджеву, Л. В. Черномордику, И. Г. Абидору и В. Ф. Пастушенко за ценные замечания.

Ереванский физический институт ГКИАЭ

Поступило 14.VII 1982 г.

ԵՐԿՇԵՐՏ—ՄԱԿԱԿՈՐՈՒԹՅՈՒՆ ՍԱՀՄԱՆԱԳԾԻ ԴԵՐԸ ԵՐԿՇԵՐՏ ԼԻՊԻԴԱՅԻՆ ԹԱՂԱՆԹՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐԱԿԱՆ ԾԱԿՄԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Վ. Բ. ԱՌԱՔԵԼՅԱՆ, Հ. Ռ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Ն. Ս. ՄԱՏԻՆՅԱՆ, Ծ. Մ. ԱՎԱԳՅԱՆ

Սույն աշխատանքում ցույց է տրված, որ բավականաչափ փոքր մակերես (S<0,24 մմ²) ունեցող երկշերտ լիպիդային թաղանթների էլեկտրական ծակումը տեղի է ունենում բիմոլեկուլյար շերտից շերտի մակակորությանը անցնող սահմանագծի վրա գտնվող դեֆեկտների զարգացման հետևանքով։ Ցույց է տրված նաև, որ այդպիսի դեֆեկտների խտությունը մոտ երկու կարգով գերազանցում է բիմոլեկուլյար շերտի մակերևույթին գտնվող դեֆեկտների խտությանը։

ON THE ROLE OF THE BILAYER-MENISCUS BOARD IN ELECTRIC BREAKDOWN OF BILAYER LIPID MEMBRANES (BLM)

,V. B. ARAKELYAN, H. R. KHACHATRIAN, N. S. MATINYAN, Ts. M. AVAKIAN

This report is based on the experimental results showing that the electric breakdown of BLM of a sufficiently small area S ($S < 0{,}24$ mm²) is going on as a results of birth and development of board-allocated defects. It is shown, also, that the density of these defects is two orders more than that of those placed on the bilayer surface.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абидор И. Г., Аракелян В. Б., Пастушенко В. Ф., Тарасевич М. Р., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А.* Докл. АН СССР, *240*, 3, 733—736, 1978.
2. *Абидор И. Г., Аракелян В. Б., Пастушенко В. Ф., Черномордик Л. В., Чизмаджев Ю. А.* Докл. АН СССР, *245*, 5, 1239—1242, 1979.
3. *Аракелян В. Б.* Электрохимия, *16*, 2, 218—220, 1980.
4. *Аракелян В. Б., Хачатрян Г. Р., Матинян Н. С.* Studia biophysica (в печати).
5. *Ивков В. Г., Берестовский Г. Н.,* Динамическая структура липидного бислоя. М., 1981.
6. *Левин Б. Р.* Теория надежности радиотехнических систем. М., 1981.
7. *Пучкова Т. В., Путвинский А. В., Владимиров Ю. А.* Докл. АН СССР, *249*, 5, 1241—1244, 1979.
8. *Abidor J. G., Arakelijan V. B., Pastushenko V. F., Tarasevich M. R., Chernomordik L. V., Chizmadzhev Yu. A.* Bioelectrochem. Bioenergetics, *6*, 37—52, 1979.

«Биолог. ж. Армении», т. XXXV, № 9, 1982

УДК 581.175

ИОННАЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТЬ И ЗАВИСИМОСТЬ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ ОТ ДЕЙСТВИЯ ИНГИБИТОРОВ

Г. Н. ХАЧАТРЯН, Г. Т. КАЗАРЯН

Исследовали влияние ионного состава (K^+, Na^+, H^+, Li^+, Cs^+, NH_4^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}) среды и ингибиторов энергетического обмена (2,4-динитрофенол), белкового синтеза (актиномицин Д), протонного насоса (дициклогексилкарбодиимид) на мембранный потенциал (МП) колеоптилей пшеницы. Высокие концентрации указанных соединений вызывали резкую деполяризацию плазматических мембран. Высказывается предположение о неспецифическом характере взаимодействия различного класса соединений с мембранными структурами клеток высших растений.

Ключевые слова: мембранный потенциал, плазматические мембраны.

Изучение действия различных соединений на мембраны интересно как с точки зрения установления свойств самих мембран, так и для понимания механизма их действия. Изменения МП клетки, подвержен-