

AZ ION-KÖRNYEZET HATÁSA NEM-MÓDOSÍTOTT BIMOLEKULÁRIS LIPIDMEMBRÁNOKRA

ERDEI LÁSZLÓ

Magyar Tudományos Akadémia, Szegedi Biológiai Központ Biofizikai Intézet

Bevezetés

A biológiai membránok elektromos jelenségeinek értelmezésében általánosan elfogadott, hogy ezen jelenségekért elsősorban ionos jellegű töltéshordozók felelősek. Kétségtelen, hogy például az idegmembrán elektromos folyamatait tekintve, a K^+ - és Na^+ -csatornákon keresztül végbemenő K^+ és Na^+ -áramok a legszembetűnőbbek. A membranológia napjainkban előtérbe került kérdése az, hogy az ionikus jellegű vezetés mellett mikor és milyen szerepet játszhat egy elektronikus természetű vezetési mechanizmus. Valószínűnek látszik, hogy éppen az idegmembrán időben rendkívül gyorsan lejátszódó vezetési folyamataiban az ionos vezetés mellett, azzal egyidejűleg vagy azt megelőzően elektronikus jellegű mechanizmus is fontos szerepet játszik. Egy ilyen jelenségnek tűnik az axon membránon megfigyelt ún. „gating current”, amely a Na^+ -áramot megelőzően figyelhető meg, és valószínűleg azzal a molekuláris átrendeződéssel függ össze, amely következtében a Na^+ -csatorna megnyílik [3]. Biomembránokon a tisztán elektromos vezetés tanulmányozása azonban az ionikus természetű jelenségek — legalábbis látszólagos — túlsúlya miatt csak körülményesen, nehezen valósítható meg. (Szerencsés eset a fent említett példa, amikor a Na^+ -áramot tetrodotoxinnal szelektíve gátolva a „gating current” észlelhető.)

A membránok elektromos tulajdonságainak vizsgálatára éppen az ionokra való impermeabilitásuk miatt a csupán lipidekből felépített, nem-módosított bimolekuláris modell membránok (BLM) nyújtanak lehetőséget. A biomembránok és a nem-módosított lipid modellmembránok elektromos paramétereit összehasonlítva — az elektromos ellenállás kivételével — nagyfokú hasonlóságot tapasztalunk [12]. A közös strukturális és elektromos jellemvonások alapján úgy véljük, hogy a mesterséges membránok egyes elektromos paramétereinek ion—lipid kölcsönhatás következtében való megváltozása — megfelelő körülményekkel kezelve — információt adhat a biomembránok alapvető funkcionális tulajdonságaira vonatkozólag is. E dolgozatban a monovalens alkáli kationok különböző koncentrációjú oldatainak a nem-módosított BLM elektromos paramétereire (ellenállás, membránpotenciál, kapacitás) és stabilitására való hatását tanulmányozzuk.

Az ion-környezet hatása a BLM elektromos jellemzőire

A BLM-ek elektromos ellenállása, ill. vezetőképessége

A nem-módosított BLM elektromos ellenállása 5–6 nagyságrenddel nagyobb a biomembránok ellenállásánál. A lipidmembránok ezen igen alacsony vezetőképessége nyilvánvalóan a membránproteinek hiányával indokolható.

A BLM-en keresztüli töltéshordozó-transzport legenergiaigényesebb lépése a töltéshordozók belépése a vízes fázisból a membránba. A belépési reakció — és az elektromos vezetés általában — a membrán áram—feszültség ($I-V$) jelleggörbéi alapján tanulmányozható. Az $I-V$ jelleggörbékéből következtethetünk a membránon keresztüli töltéshordozók számára, azok generálódási mechanizmusának egyes kvázi-sztöchiometrikus jellemzőire, de közvetlenül nem kapunk felvilágosítást a töltéshordozók természetére vonatkozólag.

A BLM $I-V$ jelleggörbéire általában az alábbiak jellemzőek:

1. Ha a membrán két oldalán az elektrolit koncentrációja azonos, a negatív és pozitív feszültségtartományban a görbe alakja szimmetrikus.
2. A membrán anyagától, az egyértékű kation koncentrációjától és fajtajától függetlenül alacsony feszültségeknél ($V < 50-70$ mV) ohmikus, előlött szuperlineáris.
3. 200–400 mV között a membrán elektromosan, majd mechanikailag instabillá válik, elszakad (letörési potenciál).

(Az alkáli kationok a BLM $I-V$ jelleggörbéire való hatását részletesen jelen kötet következő dolgozatában tárgyaljuk [4].)

A nem-módosított BLM elektromos vezetőképességével kapcsolatban felmerülő legfontosabb kérdés, hogy milyen természetű töltéshordozók (elektronok vagy ionok) biztosítják a BLM-en keresztüli mintegy $10^{-12}-10^{-10}$ A nagyságrendű áramot. A probléma megoldása elvileg igen egyszerű: az elektromos áram alapján számított töltéshordozók számát kell arányba állítanunk a transzportálódó ionok számával, amelyet például izotóp jelzéssel technikával becsültünk meg.

A radioizotópok alkalmazásánál limitáló tényezőként jelentkezik az alkalmazható legnagyobb specifikus aktivitás, a BLM igen kis felülete és esetleg a membrán—elektrolit határreteg permeabilitása. Annak ellenére, hogy a BLM-en keresztüli iontranszporttal elméletileg számos munka foglalkozik, az experimentális próbálkozások sikertelennek bizonyultak. Tudomásunk szerint nem-módosított BLM esetében még nem sikerült radioizotóp K^+ , ill. Na^+ fluxot kimérni [20].

Némi támpontot jelent a kérdés megválaszolásában a I/I^- —BLM rendszerre vonatkozó néhány kísérlet [13]. Molekuláris jód és jodid ionok jelenlé-

tében a BLM vezetőképessége több nagyságrenddel megemelkedik, és a membrán stabilitása is megnövekszik, ezért igen nagy I^{131} aktivitás alkalmazásával a jelzett ionok transzportja megfigyelhető volt. Jelen szempontból fontos kísérleti eredményként az adódott, hogy a membrán elektromos vezetéséhez az ionok által szállított töltések csak mintegy 1–3%-ban járultak hozzá. A I/I^- —BLM rendszer azonban éppen a vezetési mechanizmus tekintetében különleges esetnek bizonyult, ezért kérdéses, hogy az erre a rendszerre kapott eredmények mennyiben vonatkoztathatók az alkáli kation—BLM rendszerekre.

A részletek mellőzésével megemlítenénk még, hogy hasonló megfontolásokra jutottunk vékony szénhidrogén rétegek vezetőképességére vonatkozó kísérleteink alapján is. A szénhidrogén rétegek vezetőképessége nem változott, ha azokat 0,1 M-os KCl oldattal telítettük, vagy két elektrolit fázis közé helyezve mértük (közvetlen eredmények).

Kétségtelen tény azonban, hogy a BLM vezetőképessége növekvő ionkoncentrációk mellett növekszik [4]. A fentiek következtében azonban más, nem ionikus jellegű vezetési mechanizmust is feltételezhetünk. Újabb elképzelések szerint a membrán—vizes fázis köztesfelületen létrejövő ion—lipid kölcsönhatás eredményeképpen olyan spontán gerjesztett állapotú gyenge komplexek (excitonok) keletkezhetnek, amelyek további reakciók útján elektronokat produkálhatnak (lásd e dolgozatban később, ill. [14, 15].)

A membránpotenciál

A múlt század végétől napjainkig a membránpotenciál keletkezésére vonatkozólag számos elmélet született. Az elméleti modellek sajátos fejlődésen mentek keresztül: az először csupán mint iondiffúziós potenciálként értelmezett membránpotenciál keletkezésében a membrán felületi jelenségeinek egyre nagyobb szerep jutott, és a legmodernebb elméletek szerint a membránpotenciál létrejötté a membrán két felülete között fellépő felületi potenciálkülönbséggel is értelmezhető.

A Nernst és Nernst—Planck egyenletek

Az első, közismert teória NERNST nevéhez fűződik [22], amely szerint az ébredő potenciál diffúziós potenciál, és nagysága csakis a kérdéses ion aktivitásaitól függ:

$$E_M = \frac{RT}{F} \ln \frac{\gamma_2 C_2}{\gamma_1 C_1} = 0,0581 \lg \frac{a_2}{a_1}, \quad (1)$$

ahol R az egyetemes gázállandó, T az abszolút hőmérséklet, F a Faraday-konstans, c_1 és c_2 az 1 és 2 oldalon levő ionkoncentráció, γ az aktivitási koefficiens és a az egy vegyértékű ion aktivitása.

Általánosabb a NERNST-PLANCK-elmélet [25], amely az anion és kation U mozgékonyágát is figyelembe veszi:

$$E_M = \frac{RT}{F} \frac{U^+ - U^-}{U^+ + U^-} \ln \frac{c_2}{c_1}, \quad (2)$$

Az (1) és (2) egyenlet csak bizonyos egyszerűsítő feltételek mellett érvényes, mint pl. a lineáris koncentráció gradiens és elektroneutralitás teljesülése. Biomembránok és a nagy ellenállású bimolekuláris lipidmembránok esetében ezen feltételek nem teljesülnek, így a fenti egyenletek nem alkalmazhatók.

A Goldman—Hodgkin—Katz-egyenlet

Biológiai rendszerekre, elsősorban az idegmembrán potenciáljának leírására szolgál a K^+ , Na^+ és Cl^- ionok jelenlétét figyelembe vevő GOLDMAN—HODGKIN—KATZ-egyenlet [9, 10]:

$$E_M = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_0 + P_{Na}[Na^+]_0 + P_{Cl}[Cl^-]_i}{P_K[K^+]_i + P_{Na}[Na^+]_i + P_{Cl}[Cl^-]_0}, \quad (3)$$

ahol P_i ($i = K^+, Na^+, Cl^-$) a megfelelő ionok permeabilitási konstansai. Az egyenlet szerint tehát a kialakuló membránpotenciál nagysága és előjele a kationok és anionok permeabilitási konstansainak arányától függ.

A GOLDMAN-egyenlet az alábbi feltételek mellett érvényesül:

- a) Az ionok a membránban diffúzió révén mozognak, az elektromos erőter figyelembe vételével.
- b) A membrán homogén.
- c) A membránban a feszültség gradiens konstans.
- d) A határfelületen az ionkoncentráció egyenesen arányos a környező elektrolit koncentrációjával.

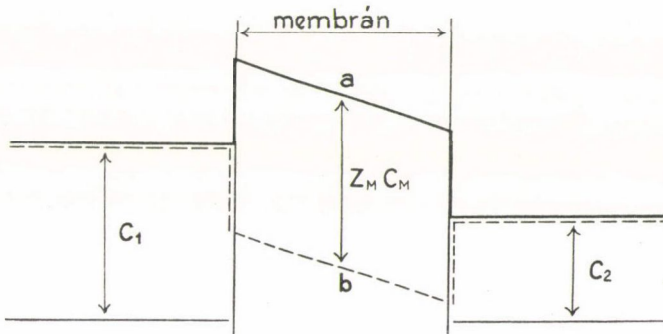
Bár a GOLDMAN-egyenlet széles körűen elterjedt, és kielégítően írja le az idegmembrán potenciálviszonyait, érdemes rámutatni, hogy a fenti feltételek nem teljesülnek a membránoknál. A membrán mind strukturálisan, mind töltéseloszlását tekintve inhomogén, következésképp a feszültség gradiens is változik, a köztesfelületeknél nagyobb, mint a membrán belsejében, és tranziens folyamatokról lévén szó, időben is változik. A határfelületeken az ionkoncentráció az idevonatkozó Stern-, Helmholtz- és Gouy—Chapman- elméleteknek megfelelően alakul, azaz a felület közvetlen közelében az ionok adszorpciója folytán kettős réteg jön létre, amelyben az ionkoncentráció állandó, majd a távolabbi ún. diffúz rétegben aszimptotikusan közeledik az elektrolit belsejében levő koncentrációhoz [7, 21].

A fix töltésekkel rendelkező membrán

A TEORELL—MEYER—SIEVERS-féle teoretikus modell [19, 26, 27] a membránt állandó, térbeli fix töltésekkel rendelkezőnek tekinti. Az elmélet értelmében a membrán töltéseloszlása homogén és állandó, a membrán „interstitium” minden ionra permeabilis, és a membrán felületén az ionok koncentrációviszonyait a megfelelő megoszlási hányadosok szerint kialakuló Donnan-egyensúly határozza meg. Eszerint a membránon fellépő teljes potenciált a két fázishatár Donnan-potenciálja és a membránban létrejövő diffúziós potenciál határozza meg, az ionkoncentráció, ionmozgékonyosság és a membrán töltéskonzentrációjának megfelelően.

$$E_M = \frac{RT}{F} \left(U \ln \frac{x_2 - A \cdot U}{x_1 - A \cdot U} + \frac{1}{2} \ln \frac{(x_1 - A)(x_2 + A)}{(x_1 + A)(x_2 - A)} \right), \quad (4)$$

ahol $U = \frac{U^+ - U^-}{U^+ + U^-}$, $x = \sqrt{4c^2A^2}$, $A = z_M c_M$, z_M és c_M a membrán fix töltéseinek vegyértéke, ill. koncentrációja, 1 és 2 indexek a membrán 1 és 2 oldalát jelentik, egyéb jelölések, mint fentebb. Jelentős, új jellemvonása az elméletnek, hogy a Donnan-megoszlás következtében a membránban a közeg ionkoncentrációjától eltérő koncentrációk alakulnak ki, a köztesfelületeken a koncentráció profil éles törést mutat (1. ábra).

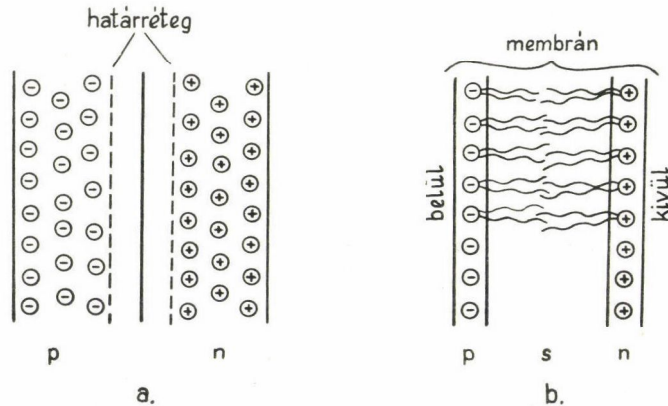


1. ábra. A fix töltésekkel rendelkező membránban és környékén kialakuló koncentrációprofil. $z_M c_M$ jelenti a fix töltések koncentrációját („membránkoncentráció”); a a diffuzibilis anionok, b a diffuzibilis kationok koncentrációprofilja anioncserélő membrán esetében, kationcserélő membránnál fordítva

A membrán félvezető fizikai modellje

A fix töltésekkel rendelkező membránmodell továbbfejlesztett változatának tekinthető a MAURO [17] és COSTER [5] által kidolgozott elmélet, amely a membránt a félvezető fizikából jól ismert pn -átmenet ionikus analógiájának tekinti.

A félvezetők pn -típusú átmenete lényegében a következő: Ha egy adott vegyértékű, félvezető sajátosságokkal rendelkező elem kristályrácsát eggyel magasabb vegyértékű elemmel szennyezzük, pl. Ge(IV) kristályt As(V) -nal, a szennyező atom egy vegyértékelektronja szabad marad. Ez az elektron már kT energia hatására is elmozdulhat a kristályrácsban: ekkor donor típusú szennyezésről, és mivel a töltéshordozó elektron, n típusú vezetésről beszélünk.



2. ábra. A membrán félvezető fizikai modellje. a) pn -átmenet félvezetőkben, b) psn -átmenet membránra alkalmazva. A +, ill. - jelölések a kristályrács és a membrán fix töltéseit jelentik. Magyarázat a szövegben

Ha a szennyező atom eggyel kevesebb vegyértékű [pl. Ge(IV) kristályrácsban In(III)], a hiányzó elektron a környező kristályrácsból pótlódik, lokálisan pozitív lyukak keletkeznek, a szennyezés ekképpen akceptor, a vezetés p típusú.

A p típusú és n típusú kristályokat közvetlen érintkezésbe hozva, a közös határ környékén az elektronok és lyukak rekombinációja folytán töltéshordozókban szegény, nagy ellenállású térrész keletkezik. A rekombináció másik következménye, hogy a határréteg p típusú oldalán a kristályrács fix atomjai negatív, az n típusú oldalon pedig pozitív töltéstöbbletre tesznek szert: ún. tértöltés alakul ki (2a. ábra). Az ábra alapján könnyen belátható, hogy a pn -átmenet határrétege a külső tér irányától függően vezet (nyitó irány), illetve szigetel (záróirány). Váltóáram alkalmazása esetén a réteg egyenirányít, azaz félperiódusonként nyit és zár, egyenáramú $I-V$ karakterisztika görbéje pedig a negatív és pozitív feszültségtartományban erősen aszimmetrikus.

MAURO és COSTER elképzelését újabban ADAM [1] bővítette tovább oly módon, hogy a Danielli–Davson-modellnek megfelelően a pn -átmenet helyett psn -átmenetet javasolt (2b. ábra). Eszerint az n réteg a membrán külső, pozitív töltésű köztesfelületét jelenti, amelyben a töltéshordozók anionok. A p réteg a membrán belső, negatív fix töltésekkel rendelkező felülete, mely-

ben kationok a töltéshordozók. Az *s* réteg a membrán középső, töltéshordozókban szegény szénhidrogén rétegének felel meg.

A lényeges eltérést a MAURO—COSTER- és az ADAM-féle elképzelés között éppen az *s* réteg bevezetése jelenti, ugyanis, míg az egyszerű *pn*-átmenet esetében a határreteg vastagsága viszonylag kicsiny a rétegek vastagságához képest, az *s* réteg a határreteg vastagságát megnöveli, és így a membrán idevonatkozó jellemzőit (vastagság, dielektromos állandó) figyelembe véve jó megközelítéssel írhatók le az axon membránpotenciál viszonyai, ion transzport folyamatai, valamint az egyenirányító jellegű I—V karakterisztikagörbéje.

Újabb elméleti modellek

A nem-módosított BLM elektromos ellenállásával kapcsolatban már említettük, hogy azok gyakorlatilag impermeabilisak az ionokra nézve, következőképpen számottevő diffúziós potenciál nem generálódhat rajtuk. Membránpotenciál azonban mégis ébred, ha

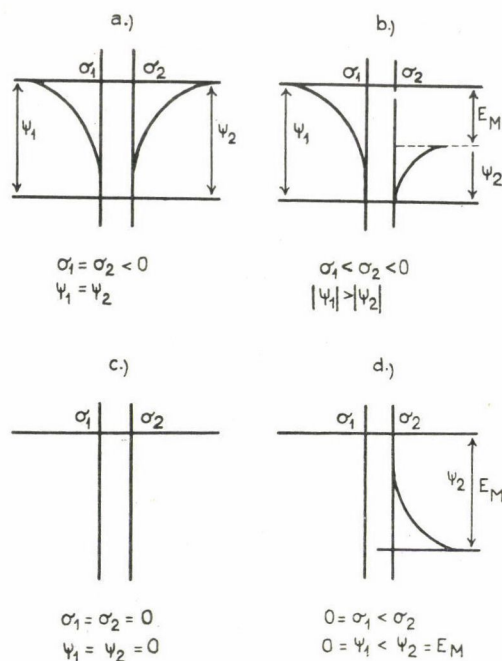
1. felületi töltéseit tekintve szimmetrikus membránt ugyanazon ion különböző koncentrációjú oldatai közé helyezzük, vagy
2. aszimmetrikus felületi töltéssel rendelkező membrán két oldalán az elektrolit koncentrációja azonos.

Ezen kísérleti eredmények alapján fejlesztette ki OHKI [23, 24] a membránpotenciál generálódás egy újabb elméletét, amely szerint a membránpotenciál a membrán külső és belső köztesfelületén kialakuló felületi potenciálok különbségéből ered. A felületi potenciált a membrán felületi fix töltései és polarizálható molekulái, valamint a vizes közeg ionjai között létrejövő kölcsönhatás ébreszti. A membránpotenciál eredetét illetően hasonló véleményre jutott MACDONALD és BANGHAM víz—levegő határfelületen kialakított monomolekuláris lipidrétegeken valamint BLM-en végzett kísérleteik alapján [16].

Vizsgáljuk meg részletesebben a fenti két esetet:

1. Foszfátidil szerinből készült BLM esetében szimmetrikus koncentráció viszonyok között a köztesfelületeken kialakuló negatív töltések sűrűsége (σ), és így a felületi potenciálok nagysága azonos, membrán potenciál nem generálódik (3a. ábra). Ha a membrán egyik oldalán a K^+ , Na^+ vagy Ca^{++} ionok koncentrációja nagyobb, az ionok adszorpciója következtében azon az oldalon kevesebb lesz a negatív töltések száma, a két oldal felületi potenciálja között különbség adódik, amely membránpotenciálként jelenik meg (3b. ábra).

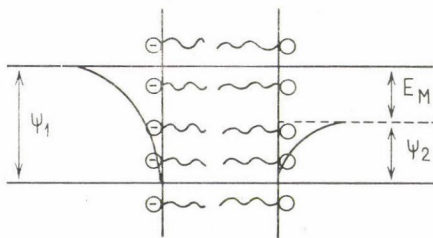
Ha a BLM-et alkotó lipid a neutrális lecitin, úgy szimmetrikus koncentrációk között (és pH 5—7 tartományban) a membránon felületi töltések nincsenek, membránpotenciál nem észlelhető (3c. ábra). Az egyik oldalon megnövelve az ionkoncentrációt, az adszorpció révén pozitív töltésű felület alakul



3. ábra. Szimmetrikus felépítésű BLM-en kialakuló membránpotenciál. σ = töltéssűrűség, ψ a felületi potenciál; E_M a membránpotenciál. Magyarázat a szövegben

ki, a két oldal között ismét felületi potenciálkülönbség és mérhető membránpotenciál jelenik meg (3d. ábra).

2. Aszimmetrikus felépítésű BLM esetében a két köztesfelület felületi potenciálja már szimmetrikus ionkoncentrációk mellett is különböző lesz, tehát membránpotenciál ébred (4. ábra).



4. ábra. Aszimmetrikus BLM-en kialakuló membránpotenciál. Jelölések mint az előző ábránál, magyarázat a szövegben

Az eddig elmondottakból következik, hogy membránpotenciál olyan esetekben is generálódik, amikor a membrán két oldalán különböző ionfajták helyezkednek el. A membrán felületi töltéseinek kialakulása pedig a közeg,

pontosabban a köztesfelület pH-jának függvénye. Ugyanakkor a disszociábilis csoportok jelenléte nem feltétlenül szükséges, polarizálódó molekulák szintén felületi potenciálok kialakulásához, ekképpen membránpotenciál generálásához vezetnek.

A membrán köztesfelületén adszorbeált ionok vagy polarizálódó molekulák által keltett membránpotenciál kvantitatíve is leírható, ha feltételezzük, hogy az illető egyértékű ion vagy polarizálható molekula a membránnal gyenge komplexet képez:



majd disszociáció útján



speciesek képződnek. A membránon fellépő potenciál tehát

$$E_M = \frac{RT}{F} \ln \frac{[A^-]_{M2} [A^-]_{V1}}{[A^-]_{M1} [A^-]_{V2}}, \quad (7)$$

ahol $[A^-]_V$ és $[A^-]_M$ jelentik az A^- species aktivitását a vizes közegben, illetve a membránban.

Fontos momentum, hogy $[A^-]_M$ nemcsak a membrán és a vizes fázis közötti megoszlási egyensúlynak, hanem a (6) reakció disszociációs állandójának is függvénye [11].

Ezen elmélet továbbfejlesztése vezetett arra a felismerésre, hogy az (5) reakció útján spontán gerjesztett állapotú gyenge komplexek, excitonok keletkeznek [14]. Az exciton bevezetésével értelmezni lehet a membrán felületi jelenségeit, valamint a töltéshordozók (ez esetben elektronok) generálódása is levezethető.

Az elektrokémiai elektródpotenciál

A fenti teoretikus modellek az exciton-elmélet kivételével a membrán potenciál generálódását ionikus alapon értelmezik. A NERNST-egyenlettel teljesen analóg módon írható le azonban a redoxirendszerben kialakuló potenciál is, annak ellenére, hogy létrehozásában elektrokémiai elektródfolyamat játszik szerepet. Az ilyen típusú reakciókban a membrán fázishatárán mindig az illető redoxreakciónak megfelelő elektronátmenet történik. Az Fe^{3+}/Fe^{2+} redoxirendszer elektrokémiai reakciója például:



alapján megy végbe.

Az egész folyamatra a redoxipotenciál a következő egyenlettel adható meg:

$$E = E_T^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]}, \quad (9)$$

azaz az indifferens elektród a redoxirendszert alkotó komponensek koncentrációarányától függően veszi fel az egyensúlyi potenciált.

Láthatjuk tehát, hogy egyszerű fizikai mérések alapján nem tudunk különbséget tenni az elektronos és ionikus alapon végbemenő membránjelenségek, sőt a különböző mechanizmusú ionikus természetű folyamatok között sem.

Kapacitás

A bimolekuláris lipidmembránt síkkondenzátornak tekintve, annak kapacitását

$$C_m = \frac{\varepsilon A}{4\pi d} \quad (10)$$

összefüggés adja meg, ahol ε a szénhidrogén réteg dielektromos állandója, d annak vastagsága és A a membrán felülete. Egy adott, állandó felületű membrán esetében a kapacitás mérésével a membrán vastagságának változásait tudjuk nyomon követni.

Szigorúan véve, a membrán kapacitásának reciprokát a határfelületek és a szénhidrogén réteg reciprok kapacitásainak összege adja meg a sorosan kapcsolt kondenzátorok analógiájára:

$$\frac{1}{C_m} = \frac{1}{C_g} + \frac{2}{C_d}, \quad (11)$$

ahol C_g a szénhidrogén réteg vastagságából adódó geometriai kapacitás, C_d pedig membrán határfelületi töltéseinek, illetve a diffúz kettős réteg vastagságának függvénye, és a jelenlevő elektrolit koncentrációjával egyenesen (azaz az ionok Debye–Hückel-sugarával fordítottan) arányos. Így tehát magas elektrolit koncentrációnál a geometriai kapacitás reciproka sokkal nagyobb a diffúz réteg kapacitásának reciprokánál, a mért membránkapacitás értéke megközelíti a geometriai kapacitást, míg alacsony ionkoncentráció mellett C_g és C_d összemérhetővé válnak.

Semleges felületi töltésű BLM-ek kapacitása NaCl különböző koncentrációjú oldataiban 10^{-1} M koncentrációig valóban az elméleti számításoknak megfelelően növekedett, azonban 1 M NaCl jelenlétében olyan magas értéket vett fel, amely már a C_g geometriai kapacitás megnövekedését is feltételezi.

A magas ionkoncentráció következtében tehát a membrán vastagsága csökken, ennek pedig további következményei vannak a lipidmolekulák felületi elhelyezkedését és a membrán stabilitását illetően [8, 21, 29].

Biomembránok kapacitása általában $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, nagyobb a bimolekuláris lipidmembránok $0,3-0,6 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ értékénél. A különbség két módon értelmezhető: a biomembránok vagy nagyobb dielektromos állandóval rendelkeznek, vagy pedig a szénhidrogén réteg vékonyabb.

Az első szempontot vizsgálva feltételezhetjük, hogy a biomembránokban a nagy vezetőképességért felelős hidrofil belsejű csatornák dielektromos állandója lévén magasabb, nagyobb kapacitást eredményez az egész membránfelületre nézve. Pontosabb számítások szerint azonban a pórusok felülethányada olyan kicsiny, hogy nem magyarázza a kapacitás ily mértékű megemelkedését. Másik, elvileg ezzel hasonló lehetőség, hogy nagyobb dielektromos állandójú proteinek inszertálódnak a membrán középső, szénhidrogén rétegébe.

A második lehetőség adekvátabb eredményre vezet. A retina fotoreceptor külső szegmentjének Röntgen-sugár diffrakciós vizsgálata például azt mutatta, hogy a szénhidrogén réteg vastagsága csupán 18 \AA , és azt a vastagságot véve figyelembe a membrán kapacitása $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ -nek adódik. Általában, ha a biomembránok felületegységre jutó lipidmennyiségét bimolekuláris rétegbe helyezük el, az egy molekulára jutó felület (Å^2) jóval nagyobb, mint a modellmembránokra vonatkozó megfelelő adat. (Például a lecitin molekula parciális moláris területe eritrocitában 87 \AA^2 , monomolekuláris rétegekben és modellmembránokban $40-60 \text{ \AA}^2$). Az egy molekulára jutó nagyobb parciális moláris terület pedig egyértelműen a membrán szénhidrogén rétegének vékonyabb voltát jelenti [8, 29].

Visszatérve az ionkörnyezet és a kapacitás közötti összefüggésre láthatjuk tehát, hogy a fiziológias viszonyokhoz közelálló magas ionkoncentráció a csak lipidekből felépülő modellmembránok kapacitását is a biomembránoknak megfelelő érték irányába tolja el, esetleg a szénhidrogén réteg dielektromos állandójának megnövelése, de inkább a membrán vastagságának csökkentése révén. Ez utóbbi jelenség közvetlenül hat az alkotó lipidmolekulák parciális moláris területére és a membrán elektromos és mechanikai stabilitására. A következőkben a membránstabilitás kérdéseivel foglalkozunk.

A BLM elektromos és mechanikai stabilitása

Ingerületi folyamatokban az akciós potenciál tovaterjedésekor mintegy 10^5 V/cm térerősség változások következnek be. E változások összefüggésben állhatnak a membránt felépítő fehérje- és lipidmolekulák konfigurációs változásaival, amelyek a membrán K^+ és Na^+ permeabilitását szabályozzák. Ilyen

konfigurációs változások és a molekulák közötti, tértől függő kölcsönhatások — például hidrogén hidak — vizsgálatára csupán lipidekből készített filmekben is van lehetőség. Infravörös spektroszkópiai módszerrel követhető a fosfolipidek különböző erősségű dipóljainak különböző térerősségeknél bekövetkező orientálódása. Fosfolipid keverék filmekben legkifejezettebb a foszfát csoport konformációs változása, amely aránylag kis térerősségnél következik be. Ezt a zsírsavláncok $-\text{CH}_2-$ csoportjainak vibrációja követi [18].

Az áram—feszültség jelleggörbék tárgyalásakor már utaltunk arra, hogy egy bizonyos térerősség fölött a membrán vezetőképességében változás áll be, az áram a feszültség magasabb hatványával lesz arányos. A vezetési mechanizmus megváltozása valószínűleg a fentiekhez hasonló finom szerkezeti változásokkal magyarázható. Növelve a térerősséget, egy kritikus értéknél a membrán mechanikailag is instabilissá válik, elszakad. Ezt a feszültségértéket letörési potenciálnak nevezzük. A membrán elektromos letörésének mechanizmusa még nem kellőképpen tisztázott kérdés, holott a kísérletes munka sikere sokszor éppen a membrán stabilitásától függ. A letörési potenciál értéke általában 200—400 mV, függ a membrán összetételétől, az elektrolit minőségétől és koncentrációjától. Alacsonyabb ionkoncentráció és a membránban oldódó módosító anyag jelenlétében a membrán letörési potenciálja magasabb [28].

A membrán letörési mechanizmusa első közelítésben a dielektromos letöréshez hasonlítható, nevezetesen, hogy eléggé nagy térerősség hatására a töltéshordozók (elektronok) felgyorsulnak, energiájuk elegendő lesz ahhoz, hogy ionizálják az útjukba kerülő molekulákat, és így láncreakciót indítva, lavinaszerűen töltéshordozókat generálnak. Báriumsztearát filmek dielektromos letörésének vastagságfüggését vizsgálva AGARWAL [2] azonban úgy találta, hogy a dielektromos letörés mechanizmusa rétegvastagság függő. Igen kis rétegvastagságoknál (25—200 Å) a letörés mechanizmusa eltér a „lavina” típusú mechanizmustól. Ezen kis rétegvastagságok esetében a töltéshordozók szabad úthossza összemérhető a rétegvastagsággal és így a határfelületen lejátszódó események, mint például a töltéshordozók szóródásának hatását is figyelembe kell venni.

A membrán letörési mechanizmusában a határfelület oly módon is közrejátszik, hogy egy felületi töltés környékén az elektromos mező nagymértékben torzul, és lévén a membrán flexibilis, helyi strukturális változásokat idéz elő.

A membrán elektromos letörési mechanizmusa még inkább eltér a klasszikus dielektromos „lavina” típus letörési mechanizmusától, ha figyelembe vesszük a membrán lokális felmelegedésének lehetőségét (termikus letörés). E mechanizmusra jellemző, hogy a letörés már alacsonyabb térerősségnél bekövetkezik. A lokális felmelegedés következtében megnő a membránt alkotó molekulák hőmozgása, a molekulák eltávolodásával megszűnnek a struktúrát fenntartó gyenge kölcsönhatások, a membrán mechanikai stabilitása

csökken. Másrészt ugyancsak töltéshordozók keletkezhetnek, és „lavina” típusú letörés jön létre, de mint említettük, ez esetben kisebb elektromos térerő hatására.

A membrán elasztikus tulajdonságait tartva szem előtt, a letörési mechanizmus a membrán elektromechanikus instabilitásával is magyarázható [6, 30]. Az elmélet a membránt egy kondenzátornak tekinti, ahol a fegyverzetek közötti dielektrikum egységes, izotróp, flexibilis anyag. A külső feszültség következtében a membrán két felületére elektrosztatikus nyomás hat, amely a membránt igyekszik összepréselni. Mivel a membrán elasztikus, de gyakorlatilag összenyomhatatlan (azaz sűrűsége állandó), az elektrosztatikus nyomás hatására vékonyabbá válik, tehát növekszik az alkotó lipidmolekulák által elfoglalt parciális moláris terület. Az egymástól eltávolodott molekulák között megszűnnek a van der Waals-féle erők, a membrán energetikailag kedvezőtlen viszonyok közé kerül, instabilitása növekszik, végül elszakad. Hasonló eredményre jutottunk tehát, mint az ionkörnyezet—kapacitás viszonyának tárgyalásakor.

Saját kísérleti eredményeink szerint [4] a membrán letörési potenciálja növekvő ionkoncentrációval és hőmérséklettel csökken. Ez részben a fenti elektromechanikus, részben a termikus letörési mechanizmus irányába mutat.

Köszönetnyilvánítás. Köszönettel tartozom Karvaly Bélának, Nagy Károlynak és Bérczi Alajosnak a kézirat megvitatásáért, valamint Újlaki Irénnek technikai segítségéért.

IRODALOM

1. ADAM, G.: *J. Membrane Biol.* **3**, 291 (1970).
2. AGARWAL, V. K., SRIVASTAVA, V. K.: *Thin Solid Films* **8**, 377 (1971).
3. BEZANILLA, F., ARMSTRONG, C. M.: *Sciences* **183**, 753 (1974).
4. BLASKÓ, K., ERDEI, L.: *MTA Biol. Oszt. Közl.* **19** (1976).
5. COSTER, H. G. L.: *Biophys. J.* **5**, 669 (1965).
6. CROWLEY, J. M.: *Biophys. J.* **13**, 711 (1973).
7. ERDEY-GRÚZ, T.: *Elektródfolyamatok kinetikája*, Akadémiai Kiadó, Budapest (1969).
8. FETTIPLACE, R., ANDREWS, D. M., HAYDON, D. A.: *J. Membrane Biol.* **5**, 277 (1971).
9. GOLDMAN, D. E.: *Gen. Physiol.* **27**, 37 (1943).
10. HODGKIN, A. L., KATZ, B.: *J. Physiol.* **108**, 37 (1949).
11. KARVALY, B.: *Studia Biophys.* **38**, 9 (1973).
12. KARVALY, B.: *MTA Biol. Oszt. Közl.* **16**, 443 (1973).
13. KARVALY, B., ROSENBERG, B., PANT, H. C., KEMÉNY, G.: *Biophysik* **10**, 199 (1973).
14. KARVALY, B.: *Kandidátusi disszertáció* (1974).
15. KARVALY, B.: *A tihanyi konferencia anyaga* (1974).
16. MACDONALD, R. C., BANGHAM, A. D.: *J. Membrane Biol.* **7**, 29 (1972).
17. MAURO, A.: *Biophys. J.* **2**, 179 (1962).
18. MAY, L., BAUMGARTNER, C., CUESTA, E. R.: *J. Membrane Biol.* **14**, 63 (1973).
19. MEYER, K. H., SIEVERS, J. F.: *Helv. Chim. Acta* **19**, 649 (1936).
20. MIYAMOTO, V. K., THOMPSON, T. E.: *J. Coll. Interface Sci.* **25**, 16 (1967).

21. NAGY, K., KARVALY, B., SZUNDI, I.: MTA Biol. Oszt. Közl. **19** (1976).
22. NERNST, W.: Z. Phys. Chem. **4**, 129 (1889).
23. OHKI, S.: Biochim. Biophys. Acta **282**, 55 (1972).
24. OHKI, S.: J. Theor. Biol. **42**, 593 (1973).
25. PLANCK, M.: Am. Phys. Chem. **40**, 561 (1890).
26. TEORELL, T.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **33**, 282 (1935).
27. TEORELL, T.: Prog. Biophys. Molec. Biol. **3**, 305 (1953).
28. TIEN, H. T., DIANA, A. L.: J. Colloid and Interface Sci. **24**, 287 (1967).
29. WHITE, S. H.: Biochim. Biophys. Acta **323**, 343 (1973).
30. WHITE, S. H.: Biophys. J. **14**, 155 (1974).