

УДК 612.08

Установка для измерения внутримембранного скачка потенциала электрострикционным методом

Е. И. Назаров, И. П. Конуп, О. Н. Окунишников

Известно, что ионная проницаемость и чувствительность биологических мембран к физиологически активным соединениям в значительной мере определяются поверхностным потенциалом мембран. Адекватным приемом измерения этого параметра является метод изучения электрострикции бимолекулярной липидной мембраны (БЛМ) под действием трансмембранного электрического напряжения синусоидальной, импульсной и пилообразной форм [1]. Последний метод представляется нам наиболее удобным с точки зрения наглядности и однозначности интерпретации результатов. Препятствие для этого внедрения в лабораторную практику — недоступность генераторов пилообразного напряжения с соответствующими характеристиками.

Мы разработали электрическую схему прибора для измерения поверхностного потенциала БЛМ, основанную на методе определения внутримембранного скачка потенциала ϕ_i по емкостному току мембра-

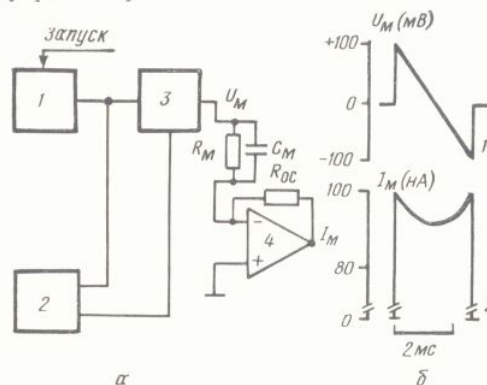


Рис. 1. Блок-схема установки для измерения внутримембранного скачка потенциала БЛМ (а) и эпюры трансмембранного потенциала и тока (б):

1 — интегратор; 2 — компаратор;
3 — полупроводниковый ключ; 4 —
преобразователь ток—напряжение.
 R_m и C_m — сопротивление и ем-
кость мембраны соответственно.

ны. Электрическая схема установки реализована на доступной базе отечественного производства и хорошо зарекомендовала себя в течение двух лет эксплуатации. Блок-схема и принципиальная электрическая схема установки показаны на рис. 1 и 2 соответственно.

Прецизионный, регулируемый генератор пилообразного напряжения состоит из интегратора и ключевого устройства, управляемого компаратором зоны (см. рис. 1). Выбирая место расположения зоны, а также ее ширину, регулируют параметры выходного пилообразного напряжения.

Интегратор реализован на операционном усилителе К 153 УД 2 (рис. 2). Постоянная времени интегрирования определяется сопротивлением R_1 и емкостью C_1 . Стабилитрон V_1 задает начальный потенциал пилообразного напряжения на уровне $+5,6$ В. Компаратор зоны реализован на двух микросхемах К 521 СА 3, работающих на общее нагрузочное сопротивление R_2 . Ширина зоны и ее положение определяются резисторами, подключенными к входу 3 (A_2) и входу 2 (A_4). Для согласования потенциалов управления ключом (A_3) выходные транзисторы компараторов включены по схеме с общим коллектором. С целью

уменьшения коммутационных потерь с плюсовой шиной питания и емкостей обеспечивают ростом 100 В/с в динамических кривых С1—76 и при необход

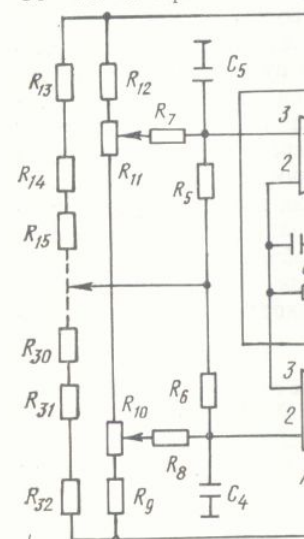


Рис. 2. Принципиальная электрическая схема устройства для исследования скачка потенциала электродов. R_M и C_M — эквивалентные элементы; $R_{10} - R_{11} = 470 \text{ Ом}$; $R_{13} - R_{32} = 24 \text{ кОм}$; соответственно: $R_1 = 1 \text{ МОм}$, $R_2 = 0,015 \text{ мкФ}$; $C_4 = C_5 = 0,933 \text{ мкФ}$; $A_3 - 1 \text{ кГ}$; $A_5 - \text{К} 284 \text{ УН 1}$; V_1 —

(ОКП Института физики)
лителя тока использует
нием обратной связи сл

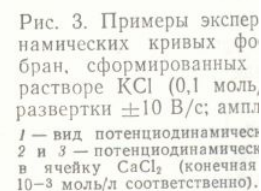


Рис. 3. Примеры экспериментических кривых фобран, сформированных в растворе KCl (0,1 моль, развертки ± 10 В/с; ампл. 1 — вид потенциодинамический; 2 и 3 — потенциодинамический в ячейке CaCl_2 (конечная 10^{-3} моль/л соответственно).

10 МОм. В установке 1
ленные из серебряных
хлорированных гальван

На рис. 3 предста-
симметричной БЛМ и
циала, вызванного доба-
нулевым значением φ_i к
носительно $\varphi_{раз} = 0$ мВ
ный максимум, в окрес-
гий минимум, который
кривой емкостного тока
конденсатора и требует

уменьшения коммутационной помехи, подложка ключа (A_3) соединена с плюсовой шиной питания. Указанные на схеме номиналы резисторов и емкостей обеспечивают изменение пилообразного напряжения со скоростью 100 В/с в диапазоне от +200 до -200 мВ. Регистрация потенциодинамических кривых проводится визуально на осциллографе С1-76 и при необходимости фотографируется устройством ФОР-2

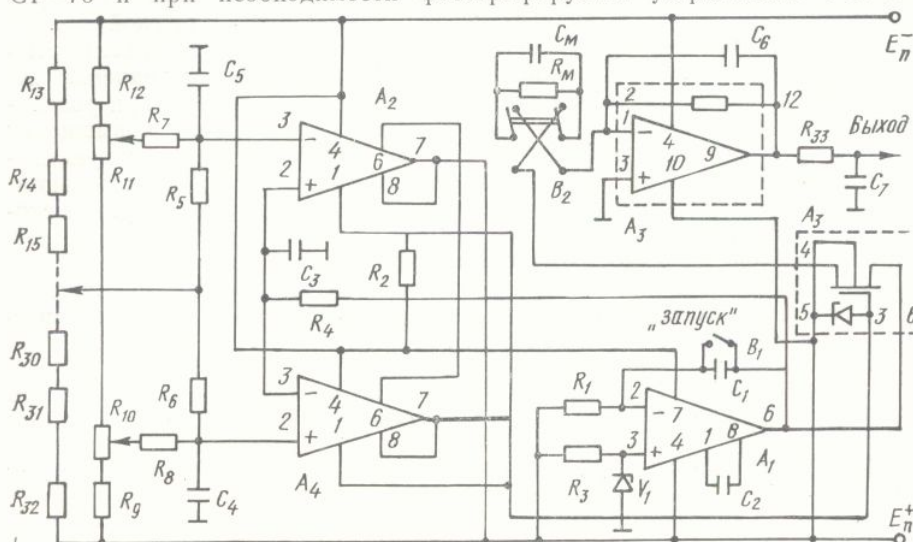


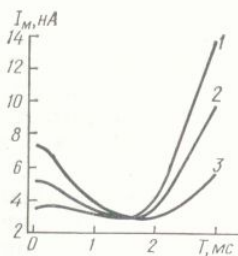
Рис. 2. Принципиальная электрическая схема установки для измерения внутримембранного скачка потенциала электрострикционным методом.

R_m и C_m — эквивалентные электрическое сопротивление и емкость модифицированной мембраны $R_{10}-R_{11}=470$ Ом; $R_{12}-R_{13}=24$ кОм; $R_{14}-R_{15}=390$ Ом; $R_{33}=47$ кОм; $C_1=0,1$ мкФ; $C_2=33$ пФ; $C_3=$ соответственно: $R_1=1$ МОм, $R_2=12$ кОм; $R_3=1,2$ кОм; $R_4=1$ кОм; $R_5-R_8=2,7$ кОм; $R_9-R_{10}=4$ кОм; $=0,015$ мкФ; $C_4=C_5=0,633$ мкФ; $C_6=2\pm 20$ пФ; $C_7=1000$ пФ; A_1 — К 153 УД 2; A_2, A_4 — К 521 СА 3; A_3 — К 1 К 101; A_5 — К 284 УН 1; V_1 — КС 156 А.

(ОКП Института физиологии им. А. А. Богомольца). В качестве усилителя тока используется микросхема A_5 (К 284 УН 1). Сопротивлением обратной связи служит внутренний резистор A_3 , соответствующий

Рис. 3. Примеры экспериментальных потенциодинамических кривых фосфатидилхолиновых мембран, сформированных по обычной методике в растворе КС1 (0,1 моль/л) при 25 °С (скорость развертки ± 10 В/с; амплитуда ± 150 мВ):

1 — вид потенциодинамической кривой в условиях $\varphi=0$; 2 и 3 — потенциодинамические кривые после добавления в ячейку CaCl_2 (конечная концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ и 10^{-3} моль/л соответственно).



10 МОм. В установке применяли хлор-серебряные электроды, изготовленные из серебряных пластинок (площадью 2,5 см²), периодически хлорированных гальваническим способом.

На рис. 3 представлены типичные потенциодинамические кривые симметричной БЛМ и в условиях внутримембранного скачка потенциала, вызванного добавлением CaCl_2 по одну сторону мембраны. При нулевом значении φ_i кривая емкостного тока все же асимметрична относительно $\varphi_{\text{разв}}=0$ мВ. В начальной фазе развертки имеется выраженный максимум, в окрестности $\varphi_{\text{разв}}=0$ мВ кривая проходит через пологий минимум, который сменяется крутой восходящей ветвью. Такой вид кривой емкостного тока не может быть объяснен моделью упругого конденсатора и требует учета других динамических характеристик мем-

браны, в первую очередь ее вязкости [1]. Несмотря на это, потенциодинамическим методом получают точные значения внутримембранного скачка потенциала. В случае $\varphi_i = 0$ мВ кривые емкостного тока, полученные на прямом и обратном ходах симметричной развертки, полностью совпадают. Появление трансмембранного скачка потенциала (например, при изменении ионной силы электролита) по одну из сторон мембраны приводит к трансформации потенциодинамической кривой (см. рис. 3). Размер этого скачка легко определить из результата смещения пилообразного напряжения относительно нулевого значения, необходимого для совмещения потенциодинамических кривых при различной полярности подаваемого напряжения. Для полного совмещения кривых конкретной мембраны необходимо подбирать оптимальную скорость развертки пилы. На практике нет необходимости добиваться полного совмещения кривых, достаточно совмещения правых круто восходящих ветвей (см. рис. 3). Метрологические характеристики установки определяются линейностью генератора пилообразного напряжения (0,01 %) и уровнем шумов преобразователя ток — напряжение (0,2 нА¹). Точность определения зависит от емкости конкретной мембраны и составляет в среднем 5 мВ.

1. Абидор И. Г., Айтян С. Х., Черный В. В. и др. Измерение внутримембранного скачка потенциала потенциодинамическим методом // Докл. АН СССР. — 1979. — 245, № 4. — С. 977—981.

Одес. ун-т им. И. И. Мечникова
МЕСО УССР

Поступила 01.03.84

УДК 615.217.22+615.357:612.014.4:611—018.51

Методические подходы к исследованию модулирующих эффектов простагландина E_2 в гормонально-стимулируемой аденилатциклазной системе эритроцитов

Л. Т. Малай, Т. Ю. Щеголева, Л. К. Бахова

Различные виды воздействия простагландинов (ПГ) трудно поддаются обобщению, так как ряд реакций организма на введение простагландинов имеет видовую и тканевую специфичность, зависит от способа введения и дозировки. Чрезвычайно трудно оценить, является ли реакция организма в каждом конкретном случае прямой или опосредованной [1].

Ранее было установлено, что простагландин E_2 (ПГЕ₂) защищает мембрану кардиомиоцитов и эритроцитов от повреждения в условиях перегрузки кардиомиоцитов кальцием [2, 3]. Представляет, по нашему мнению, интерес сопоставить эти данные с определяемой в аналогичных условиях характеристикой такого параметра, как гидратное окружение функционально активных эритроцитов у крыс и человека.

Цель настоящей работы — сопоставление данных реакции на введение ПГЕ₂ *in vivo* и *in vitro*, полученных методом СВЧ-диэлектрометрии и сравнение их с результатами других методических подходов.

Методика

Измерение диэлектрической проницаемости проведено на волне длиной 7,6 мм с помощью СВЧ-диэлектрометра, разработанного в Институте радиофизики и электроники АН УССР и специально модифицированного для этих задач [4]. Погрешность измерения ϵ' и ϵ'' составляет 3 %. Объем суспензии эритроцитов, заливаемой в измеритель-

¹ Уровень шумов, приведенный к входу.

ную ячейку, не превышает 0,01 мл. На данном уровне интерпретация проницаемости использованы кривые функционального состояния мембран.

Исследования *in vivo* осуществлялись на модели кальциевых каналов *stein* и соавт. [8]. Животных контрольные животные, которых в среднем масса тела животных

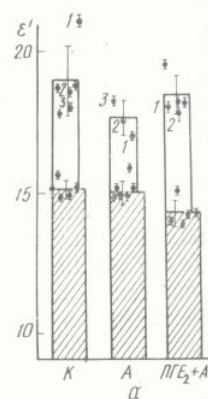


Рис. 1. ϵ' — действительная часть диэлектрической проницаемости эритроцитов:

К — контроль; А — адrenaлeктомия; ПГ — простагландин; в условиях *in vivo*; светлые столбики — индивидуальные значения; темные — средние значения.

Рис. 2. Зависимость ϵ' — действительной части диэлектрической проницаемости эритроцитов от концентрации адrenaлeктомии (1 — без добавок; 2 — с добавками: 2 — реноблокатор (дигидроэрготамин); 3 — адrenaлeктомия; 4 — адrenaлeктомия + изопроteren; 5 — адrenaлeктомия + изопроteren + адреналин; 6 — адrenaлeктомия + изопроteren + адреналин + адреналин; 7 — адrenaлeктомия + изопроteren + адреналин + адреналин + адреналин; 8 — адrenaлeктомия + изопроteren + адреналин + адреналин + адреналин + адреналин; 9 — адrenaлeктомия + изопроteren + адреналин + адреналин + адреналин + адреналин + адреналин).

вую перегрузку кардиомиоцитов — животные, которым вводили адrenaлeктин. Через 15—16 часов кровь животных собирали, и ЭДТА, а затем в эритроцитах — катехоламинов и ДОФА [5], липидов [7], активность хеморецепторных мембран.

Аналогичные воздействия в логическом растворе эритроцитов изучали состояние гидратного

Результаты и их обсуждение

Для определения способов опробованы три эксперимента. В первом заключается в обычном измерении ϵ' для разных особей в зависимости от концентрации. Видно, что в этом случае чтобы получить достаточное количество погрешности в пробе, в следующем эксперименте к одному количеству проб добавляется плотность суспензии, позволяющая добиться