

ЕРЕВАНСКИЙ ФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

---

На правах рукописи

АРАКЕЛЯН ВАЛЕРИИ БЕМБУДОВИЧ

ЛОКАЛЬНЫЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИЕ ПОЛЯ И МЕМБРАННЫЙ ТРАНСПОРТ

01.04.02 - теоретическая физика

03.00.02 - биофизика

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

доктора физико-математических наук

Е Р Е В А Н - 1994

очевидно, что следует рассчитать именно локальные поля.

Основная цель работы. Исследование локальных электростатических полей в мембранных системах, обусловленных произвольным числом произвольным образом расположенных точечных зарядов и диполей. Особое внимание уделено получению для практических целей удобных приближенных формул. Важным аспектом работы является применение полученных формул для решения некоторых проблем транспорта диполей (воды) и ионов через мембраны, а также адсорбции заряженных частиц на мембране. При этом сопоставление теоретических формул с экспериментальными данными позволяет получить ценную информацию о свойствах мембраны.

Научная новизна. Детальное и всестороннее рассмотрение широкого спектра задач в данной работе позволяет говорить о создании нового научного направления - микроскопической теории мембранных электростатических явлений. Научная новизна полученных в работе результатов заключается в том, что в работе впервые вычислены локальные электростатические поля при произвольном числе точечных зарядов, расположенных произвольным образом у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита, мембрана-раствор электролита, ионный канал-мембрана. Впервые рассчитаны электростатические эффекты при транспорте воды через бислоиные липидные мембраны и ионные каналы. Впервые рассчитаны флуктуации поверхностного потенциала на мембране, возникающие в результате адсорбции и десорбции ионов. Полученные новые результаты электростатических расчетов позволили предсказать ряд новых эффектов при транспорте диполей и ионов через мембраны.

Наиболее важные из результатов, выносимых на защиту, следующие:

1. Расчет распределения потенциала при произвольном числе произвольным образом расположенных точечных зарядов у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита, мембрана-раствор электролита, цилиндрический канал-мембранная фаза.
2. Исследование поведения дипольной молекулы у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита, мембрана-раствор электролита и в цилиндрическом канале, пронизывающем бесконечную диэлектрическую среду.
3. Расчет электростатической части межфазной энергии переноса дипольной молекулы из водной фазы в мембранную. Исследование влияния внешнего электрического поля на вход воды в мембранную фазу.
4. Расчет радиальных профилей энергии иона и диполя в цилиндри-

ческом канале.

5. Вычисление флуктуации заряда и потенциала на мембране, обусловленных адсорбцией и десорбцией ионов на мембране. Расчет возникающих в этих условиях флуктуаций тока.

Практическая ценность. Полученные в работе результаты представляют как научную, так и практическую ценность. Научная ценность работы заключается в том, что впервые получено подробное и детальное теоретическое описание распределения потенциала в мембранных системах при произвольном числе произвольным образом расположенных точечных частиц. Достижения структурных исследований позволяют использовать полученные аналитические формулы для построения профиля потенциальной энергии системы заряженных частиц вблизи границ раздела фаз, что имеет важную практическую ценность при машинном моделировании поведения частиц. Важным аспектом практической ценности полученных результатов является их применение для решения ряда проблем гидратации биополимеров, транспорта воды и ионов через мембраны, а также адсорбции неорганических и органических ионов на мембране. Решение этих проблем тесно связано с биотехнологическим и биомедицинским их применением. Отметим, что полученные в работе результаты используются на практике в биофизических исследованиях лабораторий в Ереванском физическом институте, на кафедрах биофизики физического факультета ЕрГУ и биологического факультета МГУ, в Институте Электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, а также за рубежом (Университет им. А.Гумбольдта, Берлин).

Апробация работы и публикации. Полученные в работе результаты докладывались на советско-американском симпозиуме по биологическим мембранам (Киев, 1978), на конференции молодых ученых Москвы "Современные проблемы физической химии" (Москва, 1978), на I и III Советско-Швейцарском симпозиумах по биологическим мембранам (Тбилиси, 1979 и Ташкент, 1983), на III республиканской научной сессии по вопросам биофизики (Ереван, 1982), на I Всесоюзном биофизическом съезде (Москва, 1982), на Всесоюзных рабочих совещаниях по биоэлектрохимии мембран (Суздаль, 1985, Каунас, 1987), на II республиканской конференции, посвященной проблемам физико-химической биологии (Ереван, 1986), на Международном симпозиуме по гидратации биополимеров (Пушино, 1987), на 4-ом Международном Фрумкинском симпозиуме "Биоэлектрохимия сегодня и завтра" (Москва-Суздаль, 1988), на Всесоюзном симпозиуме "Одиночные ионные каналы в биологических мембранах" (Кара-Даг, 1989), на сим-

позиуме по Archaeobacteria СССР-ФРГ (Тбилиси, 1990), на годичном биофизическом совещании (Гамбург/Саар, Германия, 1991), на семинарах по коллоидной химии химического факультета МГУ, на биофизическом семинаре ФИАН СССР, на семинаре в университете им. А.Гумбольдта (Берлин, Германия), на теоретическом семинаре ЕрФИ. По теме диссертации опубликовано 44 работы.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, двух частей, выводов и списка литературы. Часть I посвящена расчету локальных электростатических полей в мембранных системах и содержит три главы. Часть II состоит из трех глав и посвящена транспорту воды и ионов через мембраны, а также адсорбции частиц на мембране. В каждой главе имеется постановка соответствующих задач, их решение, а также анализ и обсуждение результатов.

В работе содержится 235 страниц, 30 рисунков и 1 таблица.

#### ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

##### Часть I. Локальные электростатические поля в мембранных системах.

Известно, что граница раздела мембрана-раствор электролита не является гладкой поверхностью. На поверхности мембраны, как правило, имеется гликопротеиновый слой, имеющий толщину несколько десятков ангстрем. Часть молекулярных групп, входящих в гликопротеиновый слой, ионизирована, так что заряд распределен дискретным образом в некотором слое у поверхности мембраны. Распределение потенциала у поверхности мембраны существенным образом влияет на ионные процессы, происходящие у границы раздела мембрана-раствор электролита (адсорбция заряженных частиц, транспорт ионов, протекание ряда биоэлектрохимических процессов и т. д.). По этой причине важным является расчет распределения потенциала. Обычно при расчете потенциала принимают, что граница раздела мембрана-раствор электролита является гладкой поверхностью, на которой равномерно размазан заряд. Более реалистичным является учет распределения заряда в гликопротеиновом слое. При расчете принимают, что, помимо равномерно размазанного заряда на самой поверхности раздела мембрана-раствор электролита, имеется также плотность зарядов в некотором слое у поверхности мембраны, причем эта плотность непрерывным образом зависит от расстояния до поверхности мембраны (Donath, Pastushenko, 1980; Ohshima, Ohki, 1985). Работы, в которых учитывается дискретность заряда от-

носительно малочисленны. В большинстве из них рассматривается случай, когда фиксированный дискретный заряд находится или в мембранной фазе, или же на самой границе раздела мембрана-раствор электролита. Практически везде решается задача на границе раздела диэлектрик-раствор электролита, т.е. фактически мембрана заменяется полубесконечной диэлектрической средой. Очевидно, что наиболее полным является решение задачи именно для мембраны, имеющей конечную толщину, при произвольном числе произвольным образом расположенных зарядов. Причем фиксированные заряды могут быть в общем случае как в мембране, так и в окружающих мембрану растворах электролитов. В первой части работы основное внимание уделено вычислению потенциала от точечного заряда в различных вариантах его расположения как относительно мембраны, так и относительно цилиндрического канала, пронизывающего бесконечную диэлектрическую среду. И только в некоторых случаях, представляющих интерес для мембранных транспортных процессов (транспорт воды, дипольный селективный центр и т.д.) вычислен потенциал диполя в явном виде.

##### Глава 1. Распределение электрического потенциала у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита.

Во многих случаях удобной моделью границы раздела мембрана-раствор электролита является граница раздела двух полубесконечных сред, одна из которых раствор электролита, а другая - жидкий диэлектрик. В данной работе приведено наиболее полное решение более общей задачи о распределении потенциала у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита при произвольном числе произвольным образом расположенных зарядов как в жидком диэлектрике, так и в растворе электролита. При решении вначале определяется потенциал для случая, когда имеются два фиксированных точечных заряда, один из которых расположен в жидком диэлектрике, а второй - в растворе электролита. Решение этой ключевой задачи автоматически содержит в себе и случай наличия фиксированных зарядов на самой границе раздела фаз. При малых потенциалах, когда можно линеаризировать уравнение Пуассона-Больцмана для раствора электролита, удается получить решение ключевой задачи в аналитическом виде. Система уравнений, из которых следует определить потенциал в жидком диэлектрике ( $z < 0$ ) и в растворе электролита ( $z > 0$ ), следующая:

$$\Delta\Phi_M = - \frac{q_k \delta (\vec{r} - \vec{r}_k)}{\epsilon_0 \epsilon_M}, \quad z \leq 0 \quad (1.1)$$

$$\Delta\Phi_S = \kappa^2 \Phi_S - \frac{q_1 \delta (\vec{r} - \vec{r}_1)}{\epsilon_0 \epsilon_S}, \quad z \geq 0 \quad (1.2)$$

$$\left[ \kappa = \sqrt{2e^2 c_f / (\epsilon_0 \epsilon_S kT)} \right]$$

где  $\epsilon_0, \epsilon_M, \epsilon_S$  - диэлектрические проницаемости вакуума, жидкого диэлектрика и раствора электролита соответственно;  $\kappa^{-1}$  - дебаевская длина экранирования в растворе;  $\vec{r}_k$  и  $\vec{r}_1$  - радиусы-векторы, где находятся фиксированные заряды  $q_k$  и  $q_1$ ;  $e_0$  - заряд протона;  $T$  - температура;  $k$  - постоянная Больцмана;  $c_f$  - концентрация электролита. В диссертации приводится полное решение системы уравнений (1.1) и (1.2). Решение ключевой задачи позволяет построить решение для более общего случая, когда имеется произвольное число зарядов, расположенных произвольным образом как в граничащих фазах, так и на самой границе раздела фаз. Получены удобные приближенные формулы, хорошо описывающие потенциал в широком диапазоне изменений ионной силы раствора. Исследован потенциал в модели вырезанного диска. В конце главы подробно рассмотрено поведение дипольной молекулы на границе раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита, когда дипольная молекула находится в диэлектрической фазе. Показано, что силы изображения ориентирующим образом действуют на дипольную молекулу. Вычислена зависимость ориентационного параметра порядка от расстояния, из которого следует, что вблизи границы раздела фаз ориентируется монослой молекул воды. Показано также, что при определенном соотношении диэлектрических проницаемостей граничащих фаз можно получить адсорбционный минимум в рамках электростатических сил изображений, аналогичный минимуму для ионов (Kornyshev et al., 1977).

Глава 2. Заряд и диполь у границы раздела мембрана-раствор электролита.

Естественным продолжением исследований, проведенных в главе 1, является вычисление локальных электростатических полей у границы раздела мембрана-раствор электролита. Заметим, что имеющиеся расчеты ограничиваются приближением, когда границу раздела мембрана-раствор электролита представляют в виде двух полубесконечных сред, т.е. фактически игнорируется вторая граница

раздела. В диссертации последовательно решены электростатические задачи для случаев произвольного числа произвольным образом расположенных точечных зарядов у границы раздела мембрана-раствор электролита, причем заряды могут быть как в растворе электролита вблизи поверхностей мембраны, так и в мембранной фазе, а также и на поверхностях мембраны. Если заряд ( $q_1$ ) находится в растворе электролита в области  $z > d/2$  ( $d$  - толщина мембраны), где дебаевская длина экранирования  $\kappa^{-1}$ , то распределение потенциала определяется из решения следующей системы уравнений:

$$\Delta\Phi_{11} = \kappa_1^2 \Phi_{11}, \quad z \leq -\frac{d}{2} \quad (2.1)$$

$$\Delta\Phi_{21} = 0, \quad -\frac{d}{2} \leq z \leq \frac{d}{2} \quad (2.2)$$

$$\Delta\Phi_{31} = \kappa_2^2 \Phi_{31} - \frac{q_1 \delta (\vec{r} - \vec{r}_1)}{\epsilon_0 \epsilon_S}, \quad z \geq \frac{d}{2} \quad (2.3)$$

$\kappa_1^{-1}$  - дебаевская длина экранирования в области  $z < -d/2$ ;  $\epsilon_S$  - диэлектрическая проницаемость раствора;  $\Phi_{11}, \Phi_{31}, \Phi_{21}$  - потенциалы в растворах и в мембране соответственно;  $\vec{r}_1$  - радиус вектор точки, где находится фиксированный заряд  $q_1$ . В случае же нахождения точечного заряда в мембранной фазе вместо (2.2) нужно поставить

$$\Delta\Phi_{21} = - \frac{q_1 \delta (\vec{r} - \vec{r}_1)}{\epsilon_0 \epsilon_M}, \quad -\frac{d}{2} \leq z \leq \frac{d}{2}$$

а вместо (2.3)

$$\Delta\Phi_{31} = \kappa_2^2 \Phi_{31}, \quad z \geq \frac{d}{2}$$

В диссертации приводится полное решение этих двух ключевых задач, позволяющее построить решение для случая произвольного числа произвольным образом расположенных зарядов у границы раздела мембрана-раствор электролита. Решение имеет громоздкий вид. Здесь приведем лишь график зависимости потенциала в плоскости  $\rho$ - $z$  для случая расположения заряда в мембране (рис.2.1). В этой же главе получено решение задачи о распределении потенциала между двумя клетками при произвольном числе произвольным образом расположенных фиксированных зарядов между клетками, окруженными

раствором электролита. Отметим, что при вычислении потенциала между клетками, как правило, исходят из простейшей модели равномерно размазанного заряда. В конце второй главы приводится вычисление энергии взаимодействия диполь-изображение в наиболее важном случае расположения диполя в мембранной фазе. Причем, рассматривается также случай приближенного вычисления энергии взаимодействия, когда растворы электролитов заменяются диэлектриками. Показано, что при  $\epsilon_M \approx 2$ , а  $\epsilon_S = 78,5$  приближенное вычисление энергии практически совпадает с точным вычислением.

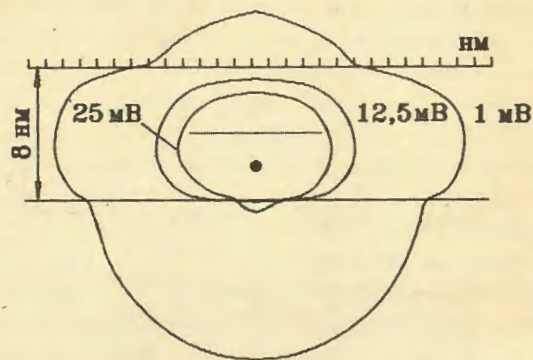


Рис. 2.1 Эквипотенциалы заряда, расположенного в мембране (ионная сила раствора 1 мМ).

### Глава 3. Потенциал точечного заряда и диполя в цилиндрическом канале.

При транспорте ионов и диполей (воды) по каналам важным моментом является вычисление потенциалов иона и диполя в канале, поскольку это дает возможность определить электростатическую энергию иона и диполя в канале, а затем оценить возможность их перехода из водного раствора в канал. Следует также отметить, что в канале или же вблизи канала, но в мембранной фазе, могут быть фиксированные заряды или диполи, которые, действуя на проходящий через канал ион, влияют как на селективность канала, так и на скорость прохождения иона по каналу. В общем случае фикси-

рованные заряды и диполи могут быть как внутри канала, так и в мембране вблизи канала. Таким образом, возникает необходимость расчета распределения потенциала в канале и мембране при произвольном положении заряженной частицы относительно канала. Существующие теоретические расчеты проведены для простейшего случая, когда точечный заряд находится на оси бесконечного цилиндрического канала (Parsegian, 1975; Jordan, 1981). Если точечный заряд ( $q_k$ ) находится внутри цилиндра в точке  $(\rho_k, \varphi_k, z_k)$ , то потенциал внутри цилиндра  $\Phi_C$  должен быть определен из уравнения Пуассона:

$$\Delta \Phi_C = - \frac{q_k}{\epsilon_0 \epsilon_C \rho} \delta(\rho - \rho_k) \delta(\varphi - \varphi_k) \delta(z - z_k) \quad (3.1)$$

где  $\epsilon_C$  - диэлектрическая проницаемость канала. В мембранной фазе зарядов нет и потенциал  $\Phi_M$  определяется из уравнения:

$$\Delta \Phi_M = 0 \quad (3.2)$$

В диссертации приводятся решения уравнений (3.1) и (3.2). Это решение позволяет впервые записать выражение для потенциала от произвольного числа произвольным образом расположенных точечных зарядов внутри цилиндрического канала. Важным частным случаем является система из двух расположенных вблизи друг друга разноименных зарядов - диполь. В диссертации подробно исследовано поведение дипольной молекулы в цилиндрическом канале. Вычислены потенциал и электростатическая энергия взаимодействия диполя с поляризационными зарядами для случая произвольного расположения диполя в канале. Показано, что энергетический профиль дипольной молекулы в канале имеет вогнутый вид и вблизи оси канала приближенно описывается параболой. Если диполь находится на оси канала, то энергия взаимодействия диполя с поляризационными зарядами равна:

$$\omega_D^Z = \omega_{\perp} + (\omega_{\parallel} - \omega_{\perp}) \cos^2(\theta) \quad (3.3)$$

$$\omega_{\perp} = \frac{d_1^2 I_{\perp}}{4\pi \epsilon_0 \epsilon_C R_C^3} \cdot I_{\perp} = \frac{1}{2\pi} \int_0^{\infty} D_1 t^2 dt$$

$$\omega_{II} = \frac{d_1^2 I_{II}}{4\pi\epsilon_0\epsilon_C R_C^3}, \quad I_{II} = \frac{1}{\pi} \int_0^\infty D_0 t^2 dt$$

$$D_m = \frac{t(\xi-1)K'_m(t)K_m(t)}{1 - t(\xi-1)K'_m(t)I_m(t)} \quad \xi = \epsilon_M/\epsilon_C, \quad m=0,1$$

где  $\theta$  - угол наклона диполя  $d_1$  к оси канала;  $R_C$  - радиус канала. Из (3.3) следует, что устойчивое положение диполя в канале зависит от отношения  $\epsilon_M/\epsilon_C$ . При  $0,14 < \epsilon_M/\epsilon_C < 1$  ось диполя параллельна оси канала, вне этого интервала устойчивой является перпендикулярная ориентация оси диполя относительно оси канала. В конце третьей главы вычислен потенциал для случая, когда система точечных зарядов произвольным образом расположена в мембранной фазе вблизи цилиндрического канала. В явном виде выписано выражение для потенциала диполя в канале, когда диполь находится в мембранной фазе.

### Часть II. Мембранный транспорт.

Мембранный транспорт занимает центральное место в мембранологии. Это связано с тем, что практически все важнейшие процессы, обеспечивающие жизнедеятельность клетки, связаны с транспортом веществ через мембраны. Наиболее важным аспектом транспорта является транспорт воды и ионов. С транспортом тесно связан процесс адсорбции на мембране, поскольку часто первичным этапом трансмембранного переноса веществ является их адсорбция на мембране. Важность проблемы транспорта воды связана с тем, что, во-первых, вода является той средой, где происходит множество химических и физических процессов, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность клетки, во-вторых, развитие ряда патологических процессов, а в некоторых случаях и гибель клетки, связаны с транспортом воды через мембраны. Отметим, что проблема транспорта воды через мембраны тесно связана с транспортом ионов и во многих случаях эти два вида транспорта осуществляются через одни и те же каналы. Вода через мембрану может пройти также по липидному матриксу с помощью кинков, представляющих собой дефекты в углеводородных хвостах фосфолипидных молекул. Однако, несмотря

на интенсивные исследования в этой области, в настоящее время нет полной ясности о механизме транспорта воды через мембраны. Важное место в жизнедеятельности клетки занимает ионный транспорт. Чрезвычайная сложность биомембран создает большие трудности при выяснении механизма транспорта ионов через мембраны. Сложность объекта заставляет исследователей искать пути упрощения и моделирования ионного транспорта на простых системах. Теоретические расчеты на модельных системах сопоставляются с экспериментальными измерениями и затем делаются полезные заключения о механизме транспорта ионов через мембраны. В частности, это относится к проблеме прямого прохождения ионов через липидный бислой и переноса ионов по каналам, пронизывающим мембрану. Сюда же относятся быстро развивающаяся в последние годы исследования мембранного шума.

Проблема адсорбции частиц на мембранах занимает важное место в мембранологии. Протекание многих процессов на мембране и внутри клетки связано с первичным процессом адсорбции соответствующих частиц. Так например, адсорбция заряженных частиц на мембранах приводит к изменению плотности заряда на мембране, а это в свою очередь приводит к изменению распределения потенциала. границы раздела мембрана-раствор электролита, что может существенно повлиять на транспорт заряженных частиц через мембрану. Заметим, что процесс проникновения в клетку токсинов, вирусов, некоторых лекарственных препаратов включает в себя необходимый этап их адсорбции на мембране. Следует отметить, что, несмотря на большое число работ, посвященных адсорбции частиц на мембранах, их интерпретация представляет собой довольно сложную задачу. Это связано с тем, что мембрана представляет собой довольно сложное образование и прямое применение формул, полученных на классических объектах, к мембранам допустимо только с учетом специфических особенностей мембран.

### Глава 4. Транспорт воды через мембраны.

В этой главе подробно исследована проблема транспорта воды через мембраны и получен ряд новых результатов. Вначале подробно рассмотрен вопрос межфазного переноса воды на границе жидкий диэлектрик-раствор электролита. Здесь впервые вычислена электростатическая часть межфазной энергии переноса дипольной молекулы (воды) с учетом энергии реактивного взаимодействия (в единицах кТ)

$$W_{NM} = \frac{3d_T^2 (\epsilon_M - \epsilon_N)}{4\pi\epsilon_0 r_d^3 kT (2\epsilon_N + 1)(2\epsilon_M + 1)} \quad (4.1)$$

где  $d_T$  - дипольный момент молекулы в вакууме,  $r_d$  - эффективный радиус диполя. Подставив соответствующие значения параметров воды на границе раздела жидкий диэлектрик ( $\epsilon_M \approx 2$ ) раствор электролита ( $\epsilon_N = 78,5$ ) ( $d_T = 1,85D$ ;  $r_d = 1,35 \text{ \AA}$ ), получим  $W_{NM} \approx 5$  ккал/моль (9,2 кТ). Если же учесть поляризуемость молекулы воды, то формула несколько усложняется (в диссертации формула приведена) и  $W_{NM} \approx 8,3$  ккал/моль (13,9 кТ). Эта величина хорошо согласуется с экспериментальными данными (9,59 ккал/моль - Енглин и др. 1965; 7,94 ккал/моль - Schatzberg, 1963). Это обстоятельство свидетельствует о том, что вход молекул воды в мембранную фазу практически целиком контролируется электростатическим эффектом. Построен энергетический профиль дипольной молекулы у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита, где показано, что профиль резко изменяется в области  $\sim 4 \text{ \AA}$ , а затем выходит на плато. Это указывает на то, что концентрация воды в мембранной фазе повышена в слое, имеющем толщину  $\sim 4 \text{ \AA}$ , что хорошо согласуется с данными работы (3+5  $\text{ \AA}$  - Владимиров, Добрецов, 1980). Впервые рассчитана межфазная энергия переноса для диполя, окруженного слоем лигандов (диполь в "шубе"). Показано, что наличие слоя лигандов практически снимает электростатический барьер при межфазном переносе такого диполя. Далее исследована возможность существования микроскопических капель воды в жидком диэлектрике (гидрофобной фазе). Такая возможность может реализовываться, если поверхностное натяжение на границе микроскопической водной капли с жидким углеводородом гораздо ниже, чем на макроскопической границе вода - углеводород. Согласно (Margelja, 1977), свойства воды у гидрофобной поверхности отличаются от свойств объемной воды, и для описания поведения воды вблизи гидрофобной поверхности вводят параметр порядка  $\eta_h$ , который равен нулю в глубине водной фазы ( $\eta_h=0$ ) и некоторому значению  $\eta_0$  на границе раздела вода-гидрофобная поверхность. Изменение свободной энергии в капле, обусловленное наличием границы раздела капля-гидрофобная поверхность задается выражением

$$W_S = \int \left[ \eta_h^2 + \xi_h^2 (\nabla \cdot \eta_h)^2 \right] dv \quad (4.2)$$

где  $\xi_h$  - характерная длина изменения параметра порядка. Из условия минимума интеграла (4.2) можно получить уравнение для  $\eta_h(r)$ , а затем и следующее выражение для свободной энергии сферической капли

$$W_S(R) = 4\pi R^2 \sigma(R), \quad (4.3)$$

$$\sigma(R) = \frac{\sigma(\infty)}{\text{sh}^2[R/\xi_h]} \left[ \frac{1}{2} \text{sh}\{2R/\xi_h\} + \frac{\xi_h}{2R} \left( 1 - \text{ch}\{2R/\xi_h\} \right) \right]$$

где  $\sigma(\infty)$  - поверхностное натяжение на макроскопической границе раздела фаз. Из (4.3) видно, что с уменьшением радиуса капли ее поверхностное натяжение линейно уменьшается. В диссертации показано, что средний объем микрокапли сравним с объемом одной молекулы воды, т.е. в основном вода в мембранной фазе находится в виде отдельных молекул. Далее в четвертой главе впервые рассчитан энергетический профиль дипольной молекулы в мембране (в единицах кТ), окруженной раствором электролита

$$W_d^M(z_1) \approx W_{NM} + \overline{\omega_d^M(z_1)}, \quad (4.4)$$

$$\overline{\omega_d^M(z_1)} = - \frac{d_1^2}{12\pi\epsilon_0\epsilon_M d^3 kT} \int_0^\infty \frac{t^2 \delta dt}{\delta^2 \exp(2t) - 1} (\exp(t(1-\tilde{\alpha})) + \exp(t(1+\tilde{\alpha}))) dt$$

$$\tilde{\alpha} = 2z_1/d, \quad \delta = (\xi\alpha + k)/(\xi\alpha - k), \quad \alpha = \sqrt{k^2 + \kappa^2}, \quad \xi = \epsilon_S/\epsilon_M$$

где  $W_{NM}$  задается выражением (4.1). Теоретический профиль (4.4) (сплошная линия на рис.4.1) хорошо соответствует экспериментальному профилю полярности мембраны (пунктирная линия на рис.4.1) (Simon, McIntosh, 1986). Из рис.4.1 видно, что с увеличением диэлектрической проницаемости мембраны резко уменьшается высота энергетического барьера. В диссертации подробно исследовано влияние дебаевской экранировки в растворе электролита на энергетический профиль. В частности, показана возможность получения адсорбционного минимума на энергетической кривой. Энергетический профиль (4.4) позволяет делать некоторые полезные заключения о транспорте воды через мембраны. Так например, увеличение  $\epsilon_M$  на

10 приводит к тому, что поток воды через мембрану увеличивается почти в два раза. Энергия активации транспорта воды через мембрану складывается из энергии переноса молекул воды из водной фазы в мембранную - 8,3 ккал/моль (согласно нашим расчетам) и энергии активации диффузии молекул воды через бислой. Если принять, что вода проходит через мембрану по кинкам (Traubel, 1971), то энергия активации транспорта воды через бислой составит (13,1+15,3) ккал/моль, что хорошо вписывается в экспериментально определенный диапазон (8,5-17,5) ккал/моль. (Fettiplace, Hayden, 1980). Это обстоятельство указывает на то, что наиболее вероятный механизм транспорта воды через бислои - это кинковый механизм.

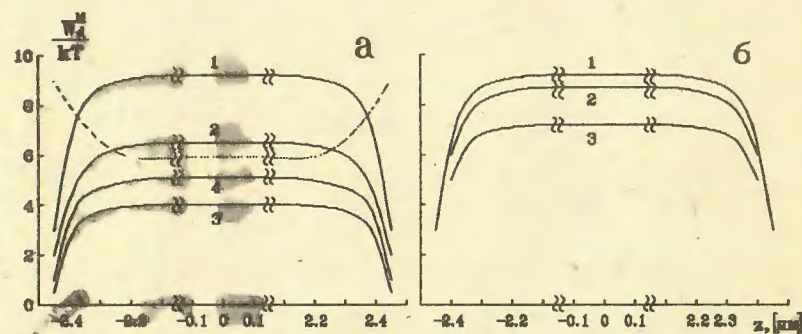


Рис.4.1 Энергетический профиль дипольной молекулы (воды) в мембране: а)  $\phi_s=0$ ,  $\epsilon_s=78,5$ : 1- $\epsilon_M=2$ ; 2- $\epsilon_M=3$ ; 3- $\epsilon_M=5$ ; 4- $\epsilon_M=2$  (без учета реактивного поля). б)  $\phi_s=10A^0$ ,  $\epsilon_M=2$ , 1- $\epsilon_s=78,5$ ; 2- $\epsilon_s=30$ ; 3- $\epsilon_s=10$ .

Исследовано влияние внешнего электрического поля на вход воды в мембранную фазу. Показано, что электрическое поле практически не влияет на коэффициент распределения отдельных молекул воды между водной фазой и мембраной. При изменении потенциала на мембране от 0 до 100 мВ коэффициент распределения меняется всего на 0,1%. Однако ситуация драматически меняется, когда на мембране имеются сквозные поры. В этом случае наличие внешнего элек-

трического поля приводит к тому, что более полярная фаза (вода) втягивается в пору и при определенных условиях рост поры становится необратимым-наступает электрический пробой мембраны. Ввиду важности этой проблемы в диссертации подробно исследовано это явление на модельной системе - бислойной липидной мембране (ВЛМ). При появлении на ней узкой сквозной цилиндрической поры радиуса  $r$  изменение свободной энергии  $W(r)$  имеет вид

$$W(r) = 2\pi\gamma r - \pi\sigma r^2 - \frac{\pi C_0 \Phi^2}{2} \left( \frac{\epsilon_s}{\epsilon_M} - 1 \right) r^2 \quad (4.5)$$

где  $\gamma$  - свободная энергия единицы периметра поры;  $\sigma$  - натяжение мембраны;  $C_0$  - емкость единицы площади бездефектной мембраны;  $\Phi$  - потенциал на мембране. Поскольку  $\epsilon_s \gg \epsilon_M$ , то из (4.5) видно, что вход воды в мембранную фазу энергетически выгоден. Зависимость  $W(r)$  имеет вид кривой с максимумом. Из (4.5) видно, что если радиус дефекта больше некоторого критического размера (соответствующий максимуму на кривой, описываемой зависимостью 4.5), то дальнейший рост дефекта становится энергетически выгодным и это обстоятельство приводит к электрическому пробое мембраны. Время жизни мембраны определяется временем первого достижения дефектом критического размера  $r_*$ . Для количественного описания этого процесса вводится функция  $F(t,r)$  - вероятность того, что дефект, имеющий в начальный момент радиус  $r$ , в момент времени  $t$  в первый раз достигнет критического радиуса  $r_*$ . Функция  $F(t,r)$  удовлетворяет уравнению:

$$\frac{\partial F}{\partial t} = D \frac{\partial^2 F}{\partial r^2} - \frac{D}{kT} \frac{\partial W}{\partial r} \frac{\partial F}{\partial r} \quad (4.6)$$

где  $D$  - коэффициент диффузии дефекта в пространстве радиусов. Начальное и граничные условия имеют вид:

$$F(0,r) = 0 \quad (0 < r < r_*)$$

$$F(t,r_*) = 1 \quad (4.7)$$

$$\left. \frac{\partial F}{\partial r} \right|_{r=0} = 0$$

Уравнение (4.6) описывает широкий класс задач, связанных с временем первого прохождения (Понтрягин и др., 1933). Используя (4.6), можно получить среднее время жизни мембраны, содержащей  $n$

дефектов ( $t_{II}$ ) в виде

$$t_{II} = \frac{(kT)^{3,2}}{4\pi D^2 \rho_S S_M \gamma (\sigma + 0.5C\Phi^2)^{1,2} \exp\left(\frac{\pi r^2}{(\sigma + 0.5C\Phi^2)kT}\right)} \quad (4.8)$$

где  $\dot{c}_0$  - концентрация дефектов,  $S_M$  - площадь мембраны,  $\sigma = C_0 \cdot ((\epsilon_S \epsilon_M) - 1)$ . Формула (4.8) представляет собой основной результат теории электрического пробоя мембран и многократно подтверждена экспериментально (Абидор и др., 1978; Кругляков, Булавченко 1981; Меликян и др. 1989;). Отметим, что результат (4.8) получен для случая, когда на мембране имеются дефекты типа сквозных пор. В диссертации исследован пробой в более общем случае с учетом стадии рождения дефекта, причем рассмотрен случай многостадийного рождения дефекта и дискретной эволюции дефекта в пространстве радиусов. Результат (4.8) полезен при экспериментальных исследованиях свойств мембраны, так как позволяет определить такой важный параметр устойчивости мембраны в электрическом поле, как  $\gamma$ . Анализ начальной стадии необратимого роста электрического тока при электрическом пробое мембран позволяет получить информацию о вязкости мембраны. Зависимость тока через цилиндрическую пору от времени ( $t$ ) было получено следуя логике работы (Зельдович, 1942)

$$I(t) \approx \frac{4\Phi}{\rho_S} r_0 \exp(2\pi\sigma Dt / (kT)) \quad (4.9)$$

где  $\rho_S$  - удельная проводимость поры радиуса  $r_0$ . Формула (4.9) часто используется для определения  $D$ , а через него и оценку вязкости мембраны  $\eta_M \approx kT / 4\pi D$ . В диссертации подробно исследован транспорт воды по липидному матриксу и по каналам, а также оценено соотношение между этими потоками на мембранах. Так например, при наличии на мембране каналов осмотический поток воды будет складываться из потока по липидному матриксу и потока по каналам

$$J_V = S_M L_P \Delta\pi + \frac{S_C r_C^2}{8\eta_M d_C} \Delta\pi \quad (4.10)$$

$S_M$ ,  $S_C$  - общие площади липидного матрикса и каналов соответственно;  $L_P$  - коэффициент фильтрации липидного матрикса;  $\Delta\pi$  - раз-

ность осмотического давления по обе стороны мембраны;  $r_C$  - эффективный радиус канала;  $\eta_M$  - эффективная вязкость воды в канале;  $d_C$  - длина канала. Прямые численные оценки по формуле (4.10) приводят к тому, что, если площадь каналов составляет  $\approx 0,004\%$  и более от площади липидной части мембраны, то весь осмотический поток воды через мембрану проходит по каналам. Этот теоретический результат согласуется с экспериментальными данными.

#### Глава 5. Транспорт ионов через мембраны.

В этой главе рассмотрены электростатические проблемы, связанные с транспортом ионов через мембраны. В начале главы рассчитан энергетический профиль иона в мембранной фазе в случае, когда ионные силы по обе стороны мембраны различны и исследовано, к каким электростатическим эффектам может привести это обстоятельство. Показано, что в этом случае энергетический профиль иона в мембране становится несимметричным. Однако в реальном случае биологической мембраны в растворе электролита эта асимметрия незначительна. Далее рассмотрен транспорт ионов через бислой с помощью специального класса заряженных переносчиков, которые в свободном виде имеют некоторый заряд, способствующий транспорту иона, имеющий противоположный заряд. Комплекс иона с заряженным переносчиком представляет собой систему из двух разноименных зарядов, окруженных слоем лигандов, так что электронейтральный комплекс подобен диполю в сферическом слое. В этом случае при расчете энергии поляризации среды следует рассматривать систему из двух зарядов, расположенных на некотором расстоянии друг от друга и поляризацию среды представить как результат действия двух зарядов. Для расчета энергии поляризации среды была решена электростатическая задача о распределении потенциала в среде, когда точечный заряд окружен сферическим слоем диэлектрика и эта система погружена в бесконечную диэлектрическую среду. Точечный заряд находится в произвольной точке внутри сферического слоя. Решение этой задачи представляет также и самостоятельный интерес, поскольку позволяет определить поле от произвольного числа произвольным образом расположенных точечных зарядов внутри сферического слоя. Показано, что для типичных размеров переносчика (1+1,5) нм (Морф, 1985) электростатическая часть межфазной энергии переноса практически равна нулю. При рассмотрении транспорта ионов по каналам в первую очередь следует выяснить возможность переноса иона из волной фазы внутрь канала.

Используя решение соответствующей электростатической задачи в главе три, вычислена энергия взаимодействия иона, находящегося в произвольной точке внутри канала ( $\rho_1$ ), со стенками канала

$$\epsilon_{Cq} = \frac{q_1^2}{2\pi^2 \epsilon_0 \epsilon_C R_C} \int_0^{\infty} \left[ \frac{1}{2} D_0 I_0^2 \left( \frac{t\rho_1}{R_C} \right) + \sum_{m=1}^{\infty} D_m I_m^2 \left( \frac{t\rho_1}{R_C} \right) \right] dt \quad (5.1)$$

Из (5.1) следует, что при приближении иона к стенке канала его энергия увеличивается. Усреднением этой энергии по радиусу получено более точное значение средней энергии иона в канале, чем в рассмотренном ранее варианте, когда ион находится на оси канала. Ион не может приблизиться к стенке на расстояние, меньшее, чем его радиус, и это приводит к тому, что средняя энергия иона в канале зависит от радиуса иона - с увеличением размеров иона, его средняя энергия в канале уменьшается. Таким образом, в рамках макроскопического подхода удастся получить некоторую селективность каналов. Далее в главе пять рассчитаны флуктуации заряда и потенциала на мембране, обусловленные адсорбцией и десорбцией ионов. Количественный расчет флуктуаций числа частиц на поверхности проведен для случая адсорбции частиц из раствора на фиксированные адсорбционные центры, расположенные на поверхности мембраны. Считая, что адсорбируется  $n$  различных типов частиц из раствора и адсорбционные центры независимы друг от друга, с помощью большой статистической суммы вычислено среднее число адсорбированных частиц 1-сорта  $\overline{N_1}$  и их дисперсия  $\overline{\Delta N_1^2}$

$$\overline{\Delta N_1^2} = \frac{N K_1 c_{10} \left[ 1 + \sum_{m=1}^n K_m c_{m0} \right]}{\left[ 1 + \sum_{m=1}^n K_m c_{m0} \right]^2} \quad (5.2)$$

где  $N$  - число адсорбционных центров;  $K_1$  - константа связывания частиц сорта 1 с адсорбционным центром;  $c_{10}$  - концентрация частиц вблизи адсорбционного центра. Если адсорбированные частицы имеют заряд  $q_1$ , то будет флуктуировать поверхностная плотность

заряда  $\sigma_s$ , а это в свою очередь приводит к флуктуациям поверхностного потенциала  $\Phi_s$ . При адсорбции на изначально нейтральной мембране для случая малых потенциалов на поверхности мембраны в предположении, что концентрация фонового электролита ( $c_f$ ) много больше концентрации адсорбирующихся частиц ( $c_0$ ), получено следующее выражение среднеквадратичной флуктуации поверхностного потенциала

$$\left( \overline{\Delta \Phi_s^2} \right)^{1/2} = \frac{RT}{F(2\epsilon_0 \epsilon_s R_C c_f)^{1/2}} \frac{\sigma_{\max} (Kc_0)^{1/2}}{N^{1/2} (1 + Kc_0)} \quad (5.3)$$

Из (5.3) видно, что зависимость флуктуации поверхностного потенциала от концентрации  $c_0$  имеет вид кривой с максимумом. В точке максимума  $c_0 = 1/K$  и, следовательно, по максимуму экспериментальной кривой (5.3) можно определить константу связывания ( $K$ ).

Измерения флуктуации тока через мембрану дают ценную информацию о механизме переноса ионов через мембрану. Важным моментом при анализе флуктуаций является выявление источника шумов. Так как плотность зарядов на поверхности мембраны может флуктуировать, то это обстоятельство может быть причиной флуктуации тока через мембрану. В диссертации показано, что как в случае прямого прохождения ионов через мембрану, так и в случае прохождения ионов через каналы наличие флуктуирующей поверхностной плотности заряда приводит к флуктуациям тока. Характерной особенностью флуктуаций тока является то, что с увеличением концентрации адсорбирующего иона вначале флуктуации растут, а затем, проходя через максимум - уменьшаются. В точке максимума флуктуаций тока обратная величина концентрации равна константе связывания иона с адсорбционным центром.

#### Глава 6. Адсорбция на мембране.

Ввиду сложной организации границы раздела мембрана-раствор электролита адсорбция на ней имеет некоторые специфические особенности, отличающие ее от классического варианта адсорбции. В начале главы, исходя из известных структурных особенностей границы раздела мембрана-раствор электролита, обсуждается возможность выбора той или иной изотермы адсорбции. Адсорбция заряженных частиц создает дополнительные трудности принципиального характера, связанные с тем, что модель локализованной адсорбции

применяется вместе с потенциалом размазанного заряда. Такое приближенное описание адсорбции заряженных частиц на мембране аналогично приближению Брегга-Вильямса, используемого в термодинамике растворов. Отметим также, что адсорбция на мембранах отличается от классической адсорбции еще и тем, что плоскость адсорбции на мембранах часто не совпадает с границей раздела мембрана-раствор электролита. Это обстоятельство проявляется при исследовании адсорбции частиц на фосфолипидных мембранах, содержащих ганглиозиды ( $G_{M1}$ ,  $G_{D1a}$ ,  $G_{T1b}$ ,  $G_{D3}$ ). Распределение потенциала на этих мембранах определяется зарядами как на поверхности мембраны, так и зарядами, вынесенными в раствор. При односторонней адсорбции ионов на мембране появляется разность поверхностных потенциалов  $\Delta\phi$  по обе стороны мембраны. Измерив зависимость  $\Delta\phi$  от концентрации ионов и сопоставив соответствующую кривую с теоретической, можно определить как константу связывания ионов с адсорбционными центрами, так и число адсорбционных центров на единицу площади мембраны. В диссертации показано, что одновалентные ионы ( $K^+$ ,  $Na^+$ ) специфически не связываются с ганглиозидами. При адсорбции двузарядных катионов ( $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ) на БЛМ из смеси РС-ганглиозиды нужно учитывать их адсорбцию как на РС так и на ганглиозиде. Из сопоставления теоретических кривых с экспериментальными было определено, что константа связывания  $Ca^{++}$  и  $Mg^{++}$  с ганглиозидами  $G_{M1}$ ,  $G_{T1b}$  и  $G_{D1a}$  одна и та же  $\approx 500 M^{-1}$  и отсутствует  $Ca/Mg$ -специфичность в связывании с ганглиозидами.

Далее в главе шесть исследована адсорбция на ганглиозидсодержащих мембранах серотонина, выполняющего функцию нейромедиатора. Предварительный анализ экспериментальных кривых адсорбции показал, что серотонин, по-видимому, кооперативным образом связывается с некоторыми ганглиозидами (кривые имеют крутой подъем). Учитывая это обстоятельство при получении теоретических кривых допускалась возможность связывания нескольких молекул серотонина с одной молекулой ганглиозида. Наилучшее согласование с экспериментальными кривыми удалось получить при стехиометрии серотонин/ $G_{M1}$  - 1:1; серотонин/ $G_{D1a}$  - 1:1; серотонин/ $G_{D3}$  - 2:1; серотонин/ $G_{T1b}$  - 3:1. При этом константы связывания имеют соответственно значения  $150 M^{-1}$ ;  $700 M^{-1}$ ;  $5 \cdot 10^6 M^{-2}$ ;  $10^8 M^{-3}$ . Чтобы иметь возможность сравнивать константы связывания серотонина с различными ганглиозидами была теоретически определена та концентрация серотонина, при которой свяжется половина молекул ганглиозида. Обратная величина этой концентрации может служить мерой

сродства серотонина к  $G_{T1b}$  и  $G_{D3}$ . Такая оценка дает для  $G_{T1b}$   $K=4000 M^{-1}$ , а для  $G_{D3}$   $K=7800 M^{-1}$ . Таким образом, константа связывания серотонина с ганглиозидами убывает в ряду  $G_{D3} > G_{T1b} > G_{D1a} > G_{M1}$ . Большая константа связывания серотонина с  $G_{D3}$  и  $G_{T1b}$  указывает на их рецепторную роль в мембране.

Адсорбция вирусных частиц на мембранах сильно отличается от адсорбции ионов и малых молекул в силу того обстоятельства, что вирусная частица имеет довольно большие размеры ( $\sim 1500 \text{ \AA}$ ) и часто намного превосходит толщину дебаевского слоя. Это обстоятельство было учтено при получении теоретической изотермы адсорбции. Из сопоставления теоретических и экспериментальных кривых по адсорбции вируса Сендай и вируса гриппа были определены константы связывания вируса Сендай с  $G_{M3}$ ,  $G_{D1}$ ,  $G_{T1b}$  -  $1,1 \cdot 10^9 M^{-1}$ ,  $1,8 \cdot 10^9 M^{-1}$  и  $1,8 \cdot 10^9 M^{-1}$  соответственно и константы связывания вируса гриппа с  $G_{D1a}$  и  $G_{T1b}$  -  $2,3 \cdot 10^8 M^{-1}$  и  $1,5 \cdot 10^9 M^{-1}$  соответственно. Высокие значения полученных констант связывания свидетельствует о рецепторной роли ганглиозидов в мембранах. Глава шесть завершается параграфом, где рассматривается влияние дискретности заряда на адсорбцию ионов. В начале подробно исследован потенциал на границе раздела мембрана - раствор электролита при дискретном расположении зарядов на поверхности мембраны (точечные заряды в узлах гексоганальной решетки). Если ось  $z$  проходит не через заряд, то наибольшее значение дает потенциал в приближении Гуи-Чепмена, а наименьшее - суммирование потенциалов от точечных зарядов. В зависимости от ионной силы раствора метод вырезанного диска дает результат то близкий результату по Гуи-Чепмену, то близкий к сумме вкладов от точечных зарядов. Далее исследовано как влияет дискретность заряда на константу связывания ионов с мембраной. Расчет проведен на модельной системе, где показано, что учет дискретности заряда при адсорбции приводит к тому, что истинные константы связывания ионов на изначально нейтральной мембране, а также истинные константы связывания ионов с противоположно заряженной поверхностью мембраны оказываются меньше, чем константы связывания, определенные в приближении размазанного заряда.

#### ВЫВОДЫ

1. В работе теоретически вычислено распределение потенциала у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита при произвольном числе произвольным образом расположенных точечных зарядов относительно границы раздела фаз: заряды в растворе электролита, в жидком диэлектрике, на самой границе раздела фаз. Получены удобные приближенные формулы. Проанализирован потенциал в модели вырезанного диска, получены удобные асимптотические формулы. Подробно исследовано поведение дипольной молекулы у границы раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита. Устойчивое положение равновесия зависит от соотношения диэлектрических проницаемостей граничащих между собой фаз. Показано, что при определенном соотношении между диэлектрическими проницаемостями жидкого диэлектрика и раствора электролита можно получить адсорбционный минимум на кривой энергии взаимодействия диполь-изображение в рамках электростатических сил.
2. Рассчитано распределение потенциала у границы раздела мембрана-раствор электролита при произвольном числе точечных зарядов, расположенных произвольным образом как в растворе электролита, так и в мембране. Решение автоматически включает в себя и случай, когда заряды расположены на поверхностях мембраны. Рассмотрен наиболее общий случай, когда ионные силы по обе стороны мембраны различны, а к самой мембране приложено также и внешнее поле. Вычислено распределение потенциала между двумя мембранами в случае, когда помимо раствора электролита между мембранами имеется также произвольное число произвольным образом расположенных фиксированных точечных зарядов. Получены удобные приближенные формулы.
3. Получены выражения для потенциала и электростатической энергии взаимодействия диполя с раствором электролита в случае, когда дипольная молекула находится в мембранной фазе. Показано, что устойчивому положению равновесия соответствует перпендикулярная ориентация оси диполя относительно поверхности мембраны. Результаты сопоставлены со случаем, когда растворы электролитов, окружающих мембрану, заменены диэлектриком с диэлектрической проницаемостью равной диэлектрической проницаемости раствора.
4. Вычислено распределение потенциала у границы раздела бесконечный цилиндрический канал-мембранная фаза при произвольном числе произвольным образом расположенных точечных зарядов как внутри цилиндра, так и вне его. Показано, что электростатическая

- энергия взаимодействия заряда с мембраной в этом случае минимальна, когда заряд находится на оси цилиндра. Вблизи оси канала энергетический профиль имеет вид параболы.
5. Теоретически рассчитаны потенциал и энергия дипольной молекулы в цилиндрическом канале мембраны. Подробно исследовано поведение дипольной молекулы в канале. Радиальный профиль дипольной молекулы внутри канала имеет вид параболы вблизи оси канала. Положение устойчивого равновесия диполя в канале зависит от соотношения диэлектрических проницаемостей канала и мембраны, и если их отношение находится в интервале  $(0,14 \pm 1,0)$ , то ось диполя параллельна оси канала, вне этого интервала ось диполя перпендикулярна оси канала.
  6. Вычислена энергия переноса дипольной молекулы между двумя диэлектрическими фазами. Показано, что для случая переноса молекул воды из водной фазы в мембранную процесс переноса целиком контролируется электростатическим эффектом. Рассчитана межфазная энергия переноса для случая диполя, окруженного слоем лигандов (диполь в "шубе"). Показано, что наличие слоя лигандов резко уменьшает электростатическую часть межфазной энергии переноса.
  7. На основе введения параметра порядка на границе раздела вода-гидрофобная фаза теоретически рассчитано поверхностное натяжение на границе раздела сферической водной капли в гидрофобной фазе. Показано, что с уменьшением размеров капли поверхностное натяжение уменьшается. Исследована возможность существования в мембранной фазе воды в виде микроскопических капель.
  8. Вычислен энергетический профиль молекулы воды в мембране, находящейся в растворе электролита. Теоретически показано, что энергетический профиль имеет трапециевидный вид и хорошо согласуется с экспериментальным профилем. Подробно исследован транспорт молекул воды через бислоиные липидные мембраны. Рассчитанное значение энергии активации транспорта воды через бислоиные липидные мембраны хорошо согласуется с кинковым механизмом транспорта воды.
  9. Детально исследовано влияние внешнего электрического поля на вход воды в мембранную фазу. Показано, что эффект действия внешнего электрического поля на вход отдельных молекул воды в мембранную фазу не значителен. Однако, если на мембране имеются дефекты типа сквозных гидрофильных пор, то в этом случае наличие внешнего электрического поля приводит к тому, что в пору втягивается более полярная фаза (вода). При определенных условиях это

обстоятельство приводит к неограниченному росту поры - электрическому пробоя мембраны.

10. Исследован транспорт воды по ионным каналам. Показано, что взаимодействие молекул воды со стенками канала практически не влияет на вход воды в канал. Сопоставлены липидные и каналы пути прохождения воды через мембрану. Показано, что если общая площадь каналов составляет ~ 0,004% и более от площади мембраны, то весь осмотический поток воды проходит по каналам.

11. В результате усреднения энергии по радиальному профилю получено более точное значение электростатической энергии иона в цилиндрическом канале. Показано, что средняя энергия иона в канале зависит от радиуса иона и уменьшается с увеличением радиуса иона.

12. Вычислены флуктуации заряда и потенциала поверхности мембраны, обусловленные адсорбцией и десорбцией ионов. Показано, что при ленгмювской адсорбции флуктуация частиц (заряда) следующим образом зависит от концентрации частиц в растворе: при малых концентрациях флуктуации растут с увеличением концентрации, а при больших концентрациях флуктуации уменьшаются с ростом концентрации. В точке максимума флуктуаций константа связывания ионов с поверхностью мембраны равна обратной величине концентрации. Показано также, что флуктуации заряда (потенциала) поверхности мембраны приводят к флуктуациям трансмембранного ионного тока. Получено выражение для флуктуации тока.

13. Теоретически исследована адсорбция неорганических и органических ионов на ганглиозидсодержащих фосфотидилхолиновых мембранах. Из сопоставления теоретических и экспериментальных изотерм адсорбции получены константы связывания целого ряда биологически важных веществ с различными ганглиозидами. Эти результаты позволяют более определенно судить о рецепторной роли ганглиозидов в биологических мембранах.

14. На модельных системах исследовано влияние дискретности заряда на константу связывания ионов с поверхностью мембраны. Показано, что учет дискретности заряда приводит к тому, что истинная константа связывания должна быть меньше, чем константа связывания, определенная в приближении размазанного заряда.

Основные результаты диссертации опубликованы в работах:

1. Абидор И.Г., Аракелян В.Б., Пастушенко В.Ф., Тарасевич М.Р., Черномордик Л.В., Чизмаджев Ю.А. Электрический пробой бислойных липидных мембран.- "Доклады АН СССР", 1978, т.240, N 3, 733-736.
2. Черномордик Л.В., Абидор И.Г., Аракелян В.Б., Баскаков В.А., Тарасевич М.Р. Влияние стрессовых воздействий на электрические свойства ВЛМ.- "Биофизика", 1978, т.23, N 5, 806-812.
3. Абидор И.Г., Аракелян В.Б., Пастушенко В.Ф., Черномордик Л.В., Чизмаджев Ю.А. Механизм электрического пробоя ВЛМ.- "Доклады АН СССР", 1979; т.245, N 5, 1239-1242.
4. Abidor I.G., Arakelian V.B., Pastushenko V.F., Tarasevich M.R., Chernomordik L.V., Chizmadzhev Yu.A. Electric Breakdown of Lipid Membranes. I. The Main Experimental Facts and their Qualitative Discussion.- "Bioelectrochem. Bioenerg.", 1979, v.6, 37-52.
5. Pastushenko V.F., Chizmadzhev Yu.A., Arakelian V.B. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. II. Calculation of the Membrane Lifetime in the Steady-State Diffusion Approximation.- Ibid., 1979, v.6, 53-62.
6. Pastushenko V.F., Chizmadzhev Yu.A., Arakelian V.B. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. IV. Consideration of the kinetic Stage in the Case of the Single-Defect Membrane.- Ibid., 1979, v.6, 71-79.
7. Arakelian V.B., Chizmadzhev Yu.A., Pastushenko V.F. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. V. Consideration of the kinetic Stage in the Case of the Membrane Containing an Arbitrary Number of Defects.- Ibid., 1979, v.6, 81-87.
8. Pastushenko V.F., Arakelian V.B., Chizmadzhev Yu.A. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. VI. A Stochastic Theory Taking into Account the Processes of Defect Formation and Death: Membrane Lifetime Distribution Function.- Ibid., 1979, v.6, 89-95.
9. Pastushenko V.F., Arakelian V.B., Chizmadzhev Yu.A. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. VII. A Stochastic Theory Taking into Account the Processes of Defect Formation and Death: Statistical Properties.- Ibid., 1979, v.6, 97-104.
10. Chizmadzhev Yu.A., Arakelian V.B., Pastushenko V.F. Electric Breakdown of Bilayer Lipid Membranes. III. Analysis of Possible Mechanism of Defect Origination.- Ibid., 1979, v.6, 63-70

11. Аракелян В.Б., Пастушенко В.Ф., Чизмаджев Ю.А. Фазовые превращения и разрушение мембран.- Тезисы докл. I Советско-Швейцарского симпозиума. "Биомембраны. Структура и функции." Тбилиси. 1979, 62.
12. Аракелян В.Б. Влияние многостадийности рождения дефекта на время жизни бислойных липидных мембран.- "Электрохимия", 1980, т.16, N 2, 218-220.
13. Аракелян В.Б. Расчет среднего времени жизни бислойной липидной мембраны с учетом многостадийности эволюции дефекта.- "Электрохимия", 1980, т.16, N 2, 221-223.
14. Аракелян В.Б., Хачатрян Г.Р., Матинян Н.С., Авакян Ц.М. Зависимость среднего времени жизни бислойной липидной мембраны от площади бислоя при электрическом пробое.- "Биол.ж.Армении" 1982, т.35, N 9, 761-763.
15. Аракелян В.Б., Хачатрян Г.Р., Матинян Н.С., Авакян Ц.М. О роли границы бислоя-мениск при электрическом пробое бислойных липидных мембран.- "Биол.ж.Армении", 1982, т.35, N 9, 711-717.
16. Аракелян В.Б., Хачатрян Г.Р., Матинян Н.С. Зависимость устойчивости мембран в электрическом поле от площади бислоя.- "Studia Biophysica", 1983, v.93, N 1, 69-77.
17. Сухарев С.И., Аракелян В.Б., Абидор И.Г., Черномордик Л.В., Пастушенко В.Ф. Разрушение БЛМ в результате электрического пробоя.- "Биофизика", 1983, т.28, N 5, 756-760.
18. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б. Энергетический профиль дипольных молекул на границе раздела двух фаз.- "Биол.ж. Армении", 1983, т.36, N 7, 553-559.
19. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б. Энергетический профиль дипольной молекулы в тонкой мембране.- "Биол.ж.Армении", 1983, т.36, N 9, 755-779.
20. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б. Взаимодействие диполь-изображение на границе раздела жидкий диэлектрик-раствор электролита.- "Биол.ж.Армении", 1984, т.37, N 5, 419-421.
21. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б., Авакян Ц.М., Асланян В.М. Об электростатических эффектах при транспорте воды через бислойные липидные мембраны.- "Биофизика", 1985, т.30, N1, 170-171.
22. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б. Радиальный профиль энергии иона в ионном канале мембраны.- "Изв.АН Арм.ССР. Физика", 1985, т.20, вып. I, 28-32.
23. Хачатрян Г.Р., Аракелян В.Б., Аджян С.А. Влияние додецилсульфата натрия на число стадий электрического пробоя БЛМ.- "Би-

- ол.ж.Армении", 1985, т.38, N 1, 85-87.
24. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б., Асланян В.М. Вычисление средней энергии иона в ионном канале мембраны.- Тезисы докладов, II Республиканская конференция, посвященная проблемам физико-химической биологии. 8-11 апреля 1986 г., Ереван, с.16.
25. Аракелян В.Б., Аракелян С.Б., Авакян Ц.М., Асланян В.М. Электростатическая энергия дипольной молекулы в ионном канале мембраны.- "Биофизика", 1986, т.31, N 2, 356-357.
26. Матинян Н.С., Меликян Г.Б., Аракелян В.Б., Авакян Ц.М., Кочаров С.Л., Мнджоян О.Л. Взаимодействие неорганических катионов с бислоями, содержащими ганглиозиды.- "Биол.ж. Армении", 1987, т.40, N 3, 179-183.
27. Матинян Н.С., Аракелян В.Б., Меликян Г.Б., Кочаров С.Л., Проказова Н.В., Авакян Ц.М., Мнджоян О.Л. Взаимодействие плоских бислоев, содержащих ганглиозиды, с серотонином и неорганическими катионами.- "Биол.мембр.", 1988, т.5, N 4, 420-427.
28. Матинян Н.С., Меликян Г.Б., Аракелян В.Б., Авакян Ц.М., Кочаров С.Л., Мнджоян О.Л. Адсорбция органических и неорганических ионов на ганглиозидсодержащих бислоях.- "Биол.ж.Армении", 1988, т.41, N 4, 269-276.
29. Аракелян В.Б. О состоянии воды в мембране.- "Биол.ж.Армении", 1989, т.42, N 1, 54-55.
30. Аракелян В.Б. Распределение потенциала у поверхности мембраны при наличии фиксированного вынесенного заряда.- "Изв. АН Арм. ССР", Физика", 1989, т.24, вып.6, 280-283.
31. Аракелян В.Б. Распределение потенциала на мембране с учетом дискретности заряда гликокаликса.- Препринт ЕФИ-1207(84)-89.
32. Аракелян В.Б. Распределение потенциала между клетками с учетом дискретности заряда.- Препринт ЕФИ-1187(64)-89.
33. Меликян Г.Б., Матинян Н.С., Аракелян В.Б. Влияние ганглиозидов на линейное натяжение кромки гидрофильной поры и монослойное слияние липидных мембран.- "Биол.мембраны", 1989, т.6, N 12, 1330-1336.
34. Будкер В.Г., Маркушин Ю.Я., Аракелян В.Б., Ратушняк А.С. Взаимодействие анионных полисахаридов с липидной мембраной из фосфатидилхолина в присутствии ионов  $Ca^{2+}$ .- "Биол.Мембраны", 1989, т.6, N 11, 1175-1184.
35. Matinyan N.S., Melikyan G.B., Arakelyan V.B., Kocharov S.L., Prokasova N.V., Avakian Ts.M. Interaction of Ganglioside-Containing Planar Bilayers with Serotonin and Inorganic Ca-

- tions.- "Biochim.Biophys.Acta". 1989. v.984. 313-318.
36. Меликян Г.В., Слепушкин В.А., Матинян Н.С., Коркмазян М.М., Аракелян В.В. Изучение связывания вируса Сендай и вируса гриппа (классической чумы птиц) с мембранами эритроцитов и искусственными бислоями в среде с низкой ионной силой.- "Биол. мембр.", 1989, т.6, N 11, 1185-1195.
37. Аракелян В.В. Расчет электростатической энергии иона в мембране, разделяющей несимметричные растворы.- "Биол.ж.Армении", 1990, т.43., N 1, 11-14.
38. Melikyan G.B., Matinyan N.S., Arakelyan V.B. The influence of gangliosides on the hydrophilic pore edge line tension and monolayer fusion of lipid membranes - "Biochim.Biophys.Acta", 1990, v.1030, 11-15.
39. Меликян Г.В., Матинян Н.С., Кочаров С.Л. Аракелян В.В., Прангишвили Д.А., Надарашвили К.Г. Электромеханическая стабильность плоских мембран из биполярных липидов термоацидофильной архебактерии *Sulfolobus acidocaldarius*.- "Биолог. мембраны", 1990, т.7, N 5, 534-539.
40. Аракелян В.В. Расчет потенциала селективного центра, расположенного вблизи цилиндрического канала.- Препринт ЕФИ-1312(7)-91.
41. Аракелян В.В. Расчет энергии реактивного взаимодействия с учетом не идеальности диполя.- "Изв. АН Армянской ССР, Физика", 1991, т.26, вып.3, 111-115.
42. Аракелян В.В. О транспорте дипольных молекул через мембраны.- "Биофизика", 1991, т.36, вып.3, 459-460.
43. Arakelian V.B., Walther D., Donath E. Electric Potential Distributions around Discrete Charges in Dielectric Membrane-Electrolyte Solution System.- "Colloid Polym. Sci.", 1993, v.270, 268-276.
44. Suleimanian M.A., Ayrapetyan S.N., Arakelian V.B., Ayrapetyan V.Y. The Effect of Osmotic Gradients on the Outward Potassium Current in Dialysed Neurons of *Helix Pomatia*.- "Cell.Mol.Neurobiol.", 1993, v.13, N 2, 183-190.

Դիսերտացիան բաղկացած է երկու մասից: Առաջին մասում հաշվարկված են տարբեր մեմբրանային սիստեմներում լուծվել էլեկտրաստատիկ դաշտերը: Այդ հաշվարկները թույլ են տալիս որոշել կամայական թվով կետային լիցքերի կամայական դասավորման դեպքում պոտենցիալի բաշխումը հեղուկ դիէլեկտրիկ - էլեկտրոլիտի լուծույթ, մեմբրան - էլեկտրոլիտի լուծույթ, գլանածե կանալ - մեմբրանային փուլ բաժանման սահմանների մոտ: Ընդ որում կետային լիցքերը կարող են գտնվել ինչպես կից փուլերից որևէ մեկում, այնպես էլ փուլերի բաժանման սահմանի վրա:

Դիսերտացիայի երկրորդ մասում այդ հաշվարկների արդյունքները օգտագործված են մեմբրանի միջով ջրի և իոնների տրանսպորտի, ինչպես նաև մեմբրանի վրա իոնների ադսորբցիայի որոշ պրոբլեմների լուծման համար: Ցույց է տրված, որ մեմբրանի մեջ ջրի ներթափանցումը լիովին վերահսկվում է էլեկտրաստատիկ էֆեկտներով: Մանրամասն հետազոտված է մեմբրանի մեջ ջրի ներթափանցման պրոցեսի վրա արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի ազդեցությունը: Ցույց է տրված, որ որոշակի պայմաններում արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի առկայությունը առաջ է բերում մեմբրանի ծալում: Հետազոտված է երկշերտ լիպիդային մեմբրանի ծալումը:

Հաշվարկված է դիպոլի մոլեկուլի էներգետիկ ուղվագիծը մեմբրանում և քննարկված են մեմբրանի միջով ջրի ներթափանցման տարբեր ճանապարհները՝ կանալային ճանապարհը և մեմբրանային մատրիքսի միջով ուղղակի ներթափանցումը: Ցույց է տրված, որ տարբեր իոնային ուժի էլեկտրոլիտի լուծույթներով շրջապատված մեմբրանում իոնի էներգետիկ պրոֆիլը սիմետրիկ չէ: Մեմբրանի իոնային կանալում իոնի էներգիայի շատազդային ուղվագծի հաշվարկման շնորհիվ ցույց է տրված, որ նույն լիցքը կրող տարբեր իոնների միջին էներգիայի արժեքը տարբեր է, ինչն էլ առաջ է բերում կանալի ընտրողականություն:

Մեմբրանում մասնիկների լենզմյուրյան ադսորբցիայի դեպքում հաշվարկված է նրանց թվի ֆուկտուացիան: Այնուհետև հաշվարկված է մեմբրանի վրա ադսորբցիայով և դեսորբցիայով պայմանավորված լիցքավորված մասնիկների մակերևութային խտության ֆուկտուացիան: Ցույց է տրված, որ այդ հանգամանքը առաջ է բերում իոնների տրանսմեմբրանային հոսքի ֆուկտուացիա: Հետազոտված է օրգանական և անօրգանական իոնները, ինչպես նաև գրիպի վիրուսի և Սենդայ վիրուսի ադսորբցիան գանգլիոզիդ պարունակող մեմբրանների վրա: Այդ հետազոտությունները թույլ են տալիս նոր տեղեկություններ ստանալ մեմբրանի հապտոթյունների և գանգլիոզիդների ռեցեպտորային դերի մասին:

VALERI BEIBUDOVICH ARAKELIAN

THE LOCAL ELECTROSTATIC FIELDS AND THE MEMBRANE TRANSPORT

The thesis consists of the two parts. In the first part the local electrostatic fields have been calculated in the different membrane systems. These calculations allow to define the potential distribution on the broad of liquid dielectric-electrolyte solution, of the membrane-electrolyte solution, the cylindrical channel-the membrane phase when arbitrary number of discrete fixed charges have been located arbitrary positions. Moreover the discrete charges may be both in the any of joint phases, and on the boarderline. In the second part the results of these calculations have been used to solve a few problems of water and ions transport through membrane, as well as the ion adsorbition to the membrane. It was shown, that the water transport into membrane phase is controlled by the electrostatic effects on the whole. The influence of the outer electrostatic field on the water transport into membrane phase has been investigated in detail. It is indicated, that in the definite conditions the presence of the outer electric field causes the membrane breakdown. The bilayer lipid membrane breakdown has been investigated too.

It has been accounted the energetic profile of dipole molecule into membrane and the various ways of the water penetration through the membrane have been discussed: the channel way and the direct penetration through the lipid matrix. It has been calculated electrostatic effects at ion transport through the membrane. It was indicated, that the ion energetic profile into the membrane, surrounded by the solutions of the various ion strength, is not symmetrical one. The calculation of ion radial profile into ion membrane channel allows to receive the selectivity for the same named charges ions. Within the framework Lennour adsorbition has been calculated the particle number fluctuation to the membrane. Hence, the surface potential fluctuation due to charge particles adsorbition and desorbition to membrane has been calculated. It was shown, that this circumstance causes the ion transmembrane current fluctuation. The adsorbition of organic and inorganic ions as well as influenza and Sendai viruses to ganglioside containing lipid membranes has been investigated. These investigations allow to receive new information about membrane qualities as well as on the receptors role of gangliosides.

Технический редактор А.С.Абрамян

Подписано в печать 02/12/1

Формат 60x84x16

Офсетная печать.

Тираж 100 экз.

Зак. тип. № 172

Отпечатано в Ереванском Физическом институте

375036 Ереван-36, ул. Братьев Алиханян, 2