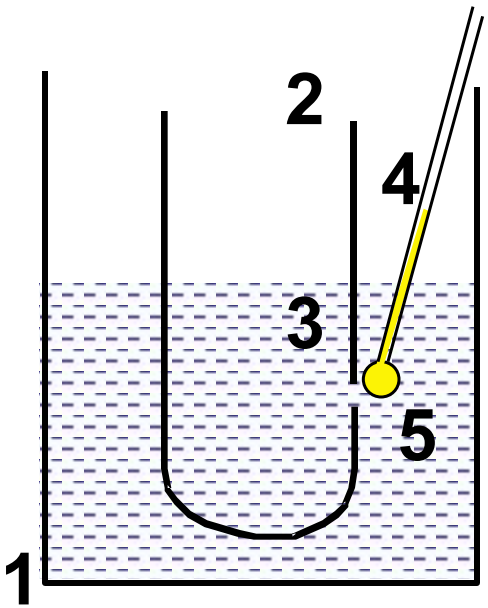
Снижение электрической прочности и электрический пробой мембран

Учебник Биофизики

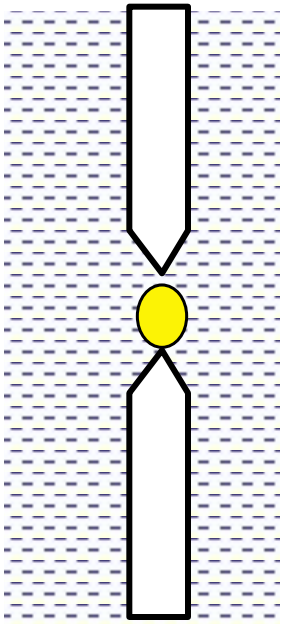
ЧАСТЬ 4. Физико-химические основы патологии клетки

Электрический пробой плоских фосфолипидных мембран (БЛМ)

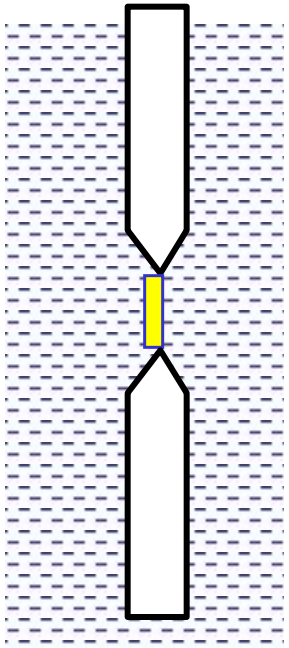
Приготовление БЛМ



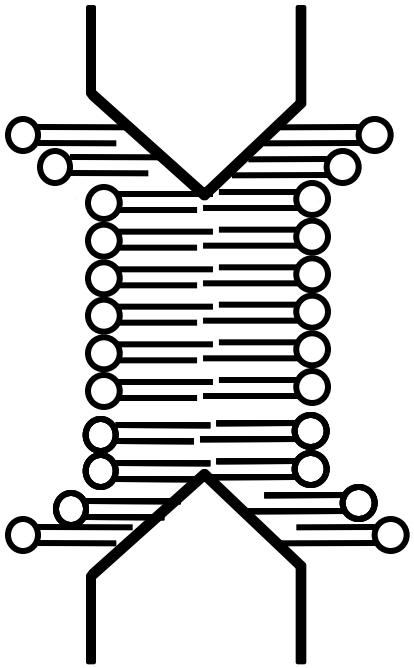
А



Б

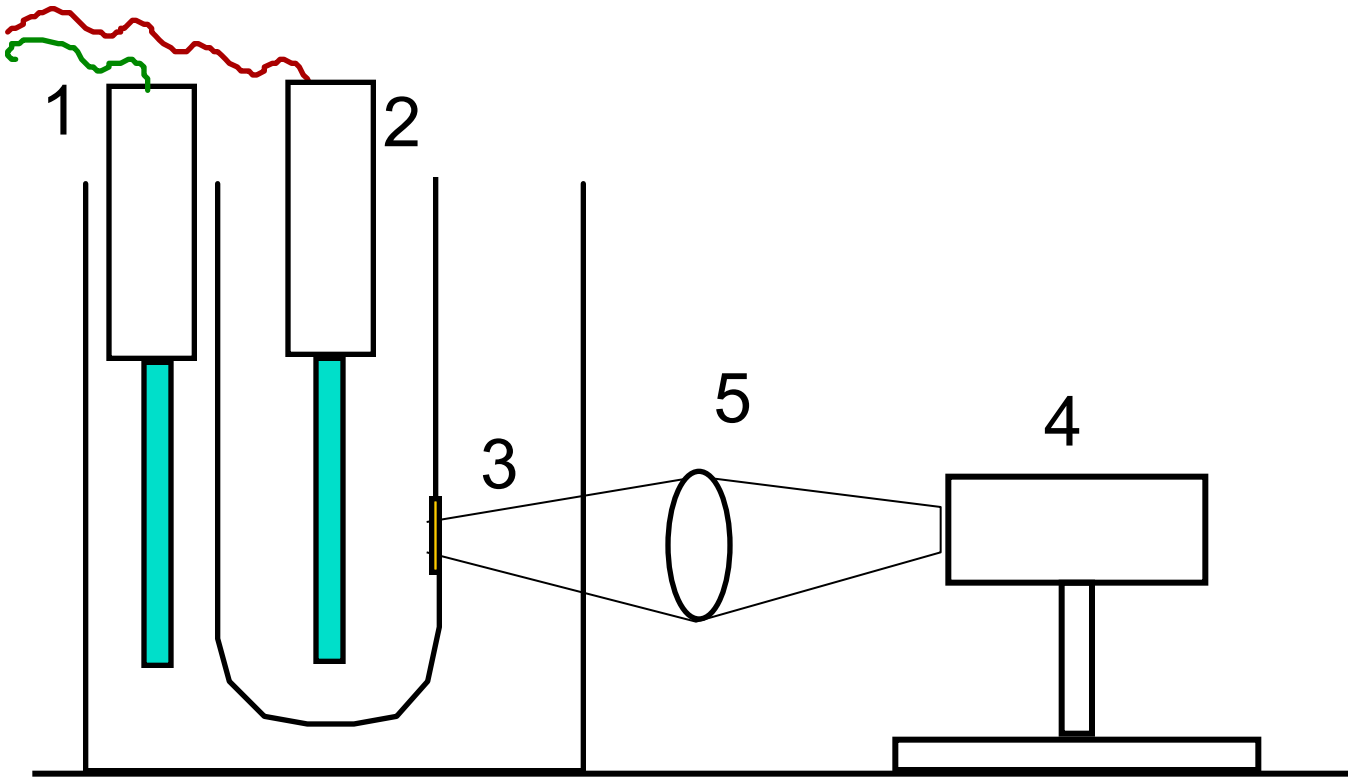


В

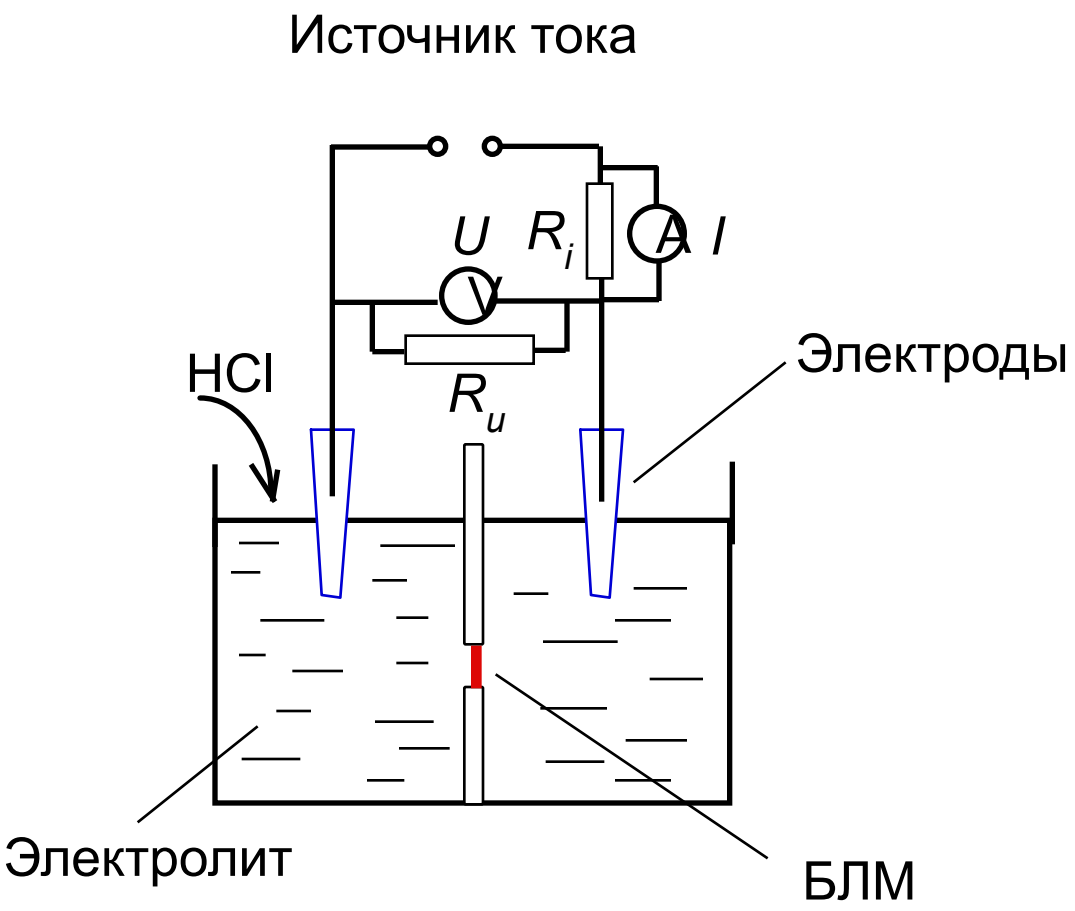


Г

Установка для получсения БЛМ и измерения ее электрических свойств

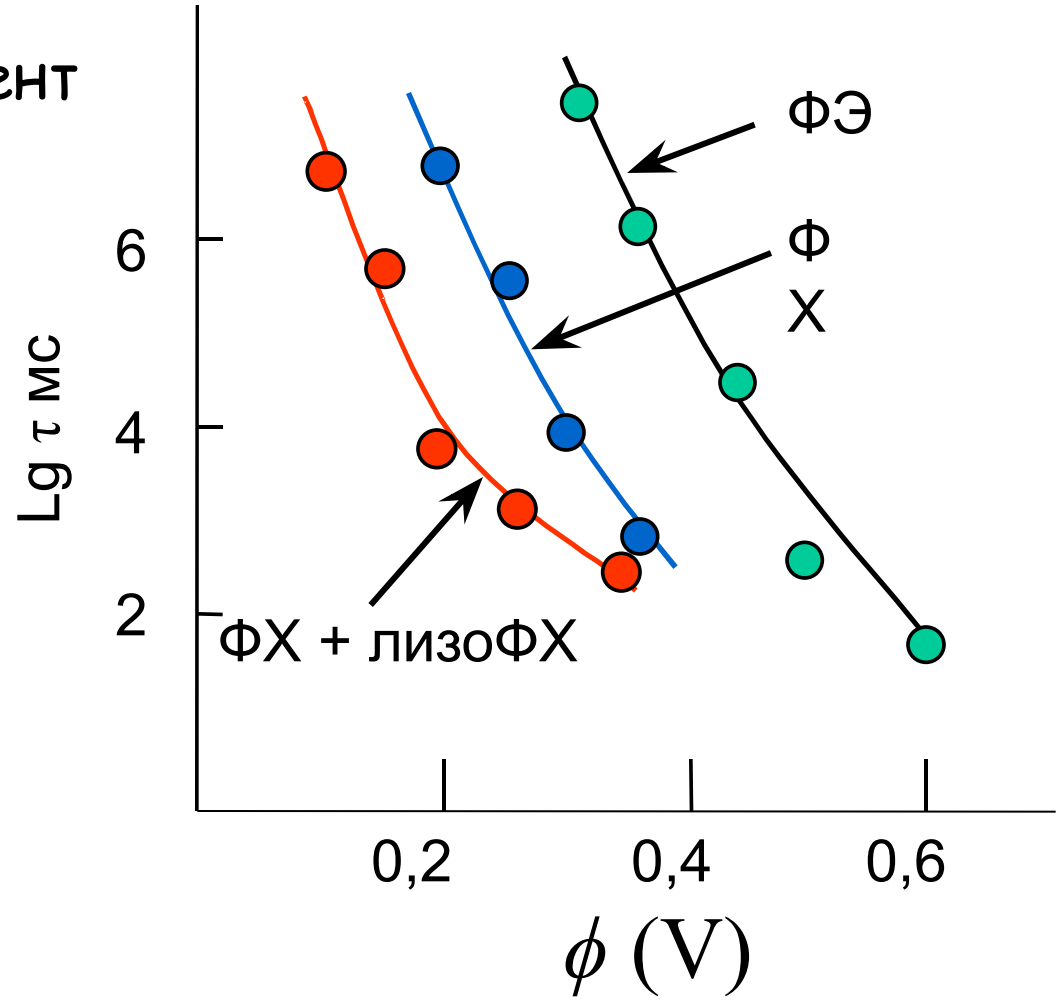


БЛМ как объект изучения ионной проницаемости липидного слоя мембран



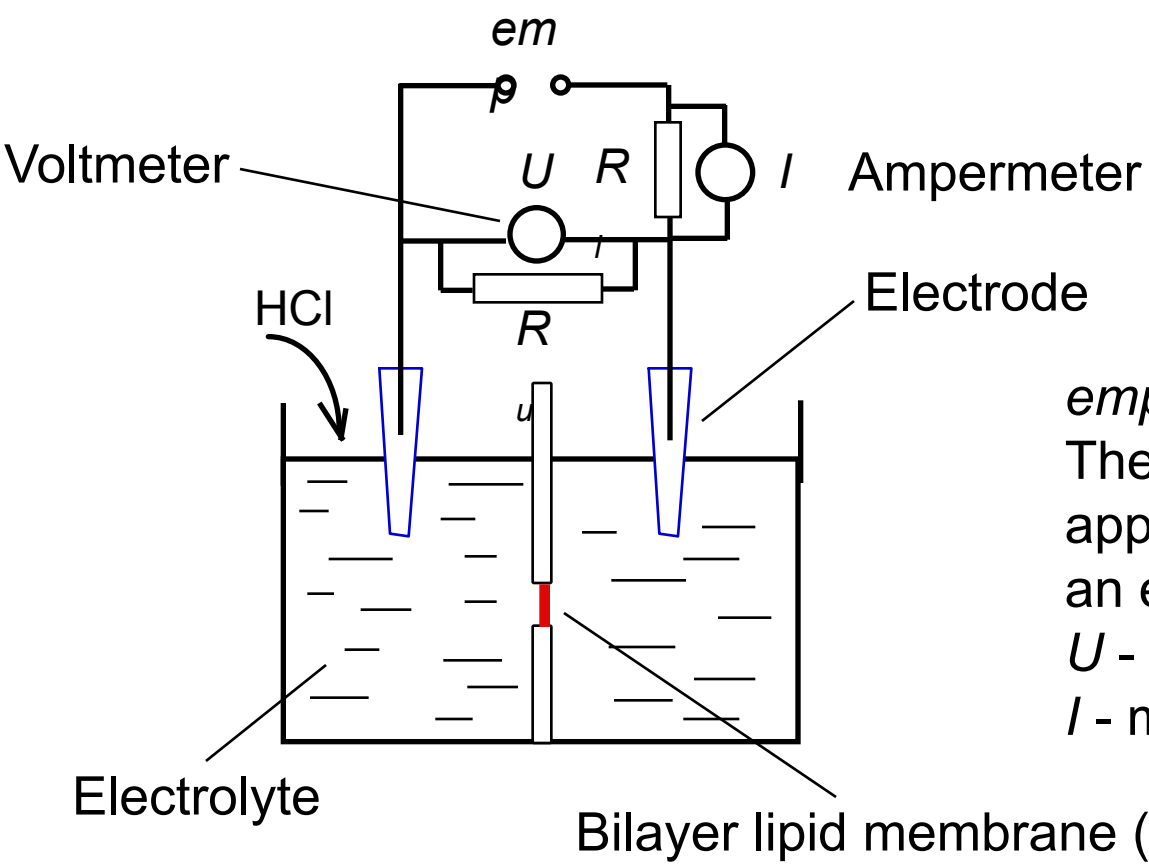
Зависимость времени жизни липидных пор от напряжения

Точки – эксперимент
Линии - теория



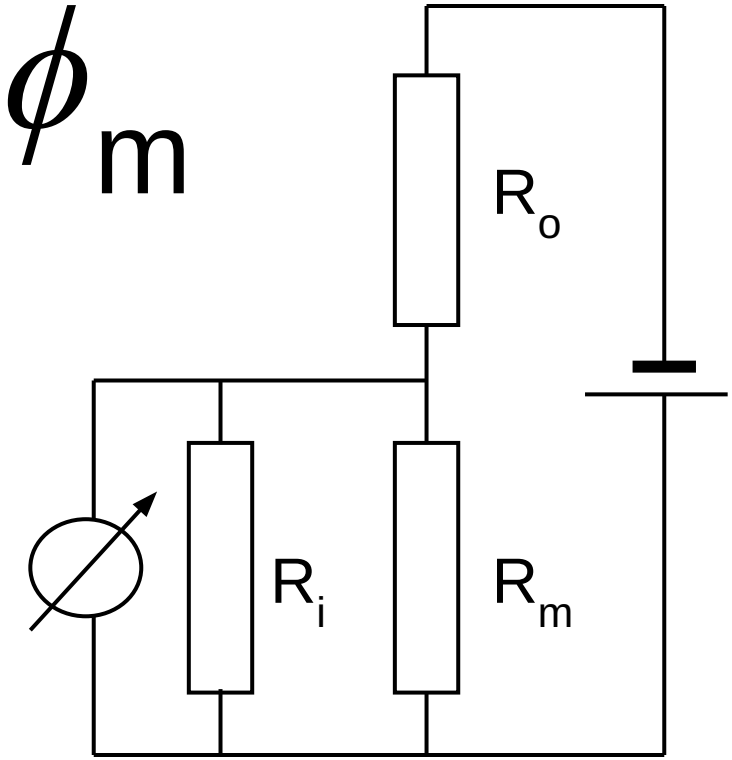
Пробой БЛМ при действии постоянного электрического поля

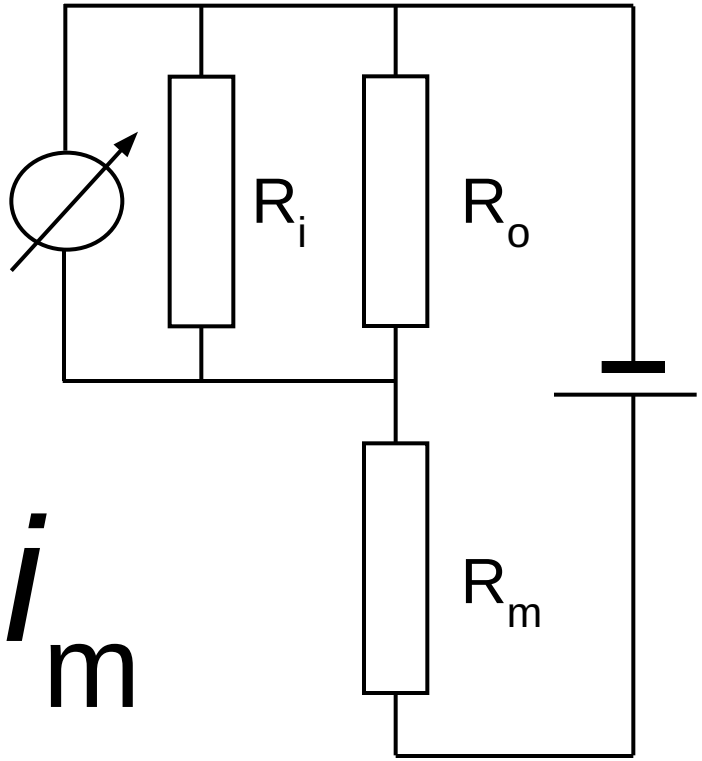
BLM as a tool to measure membrane ionic permeability



emp - electro motive force. The potential difference applied to our system from an external source.
U - membrane potential.
I - membrane current.

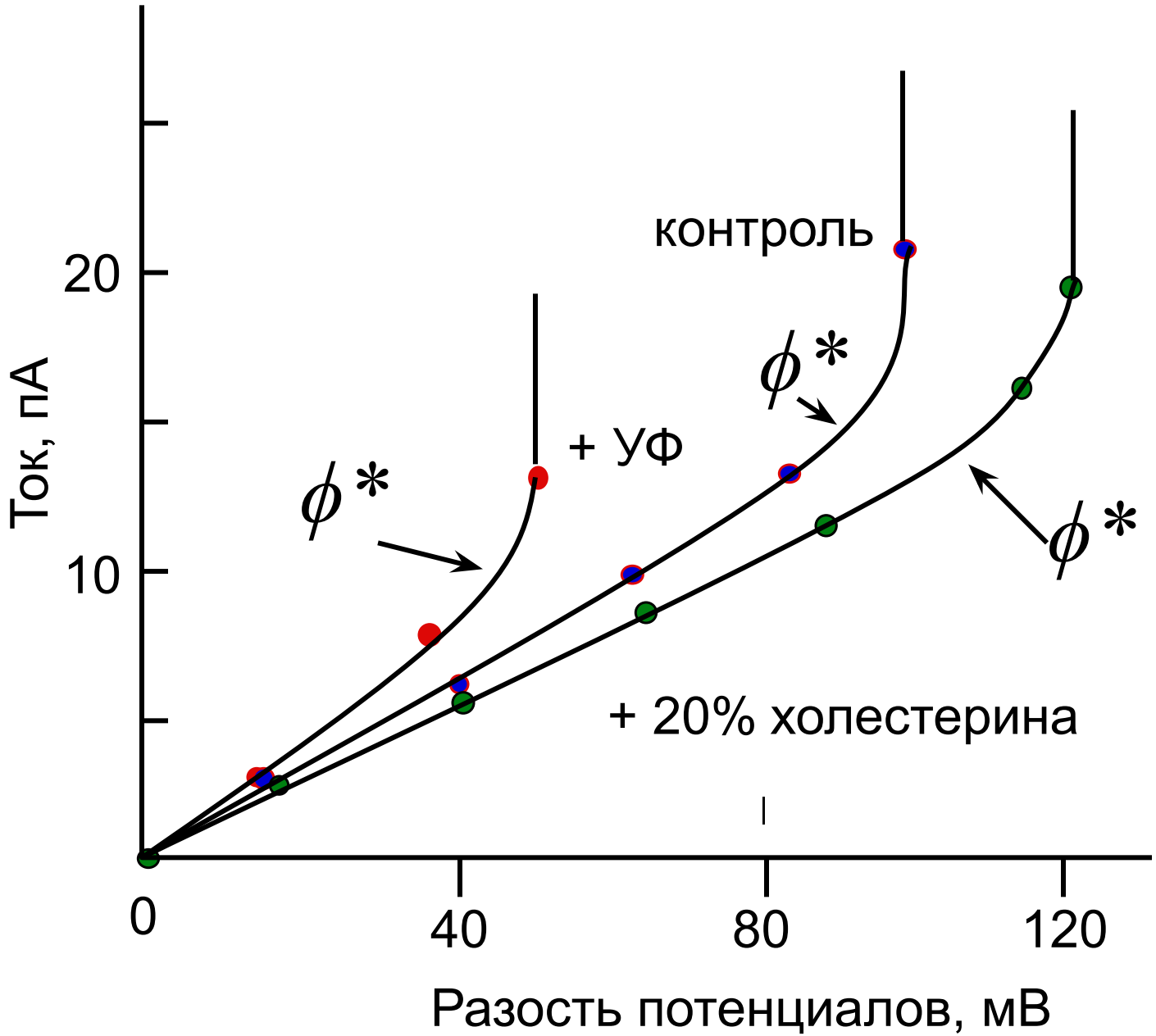
Измерение потенциала на мембране (слева) и тока через мембрану (справа)



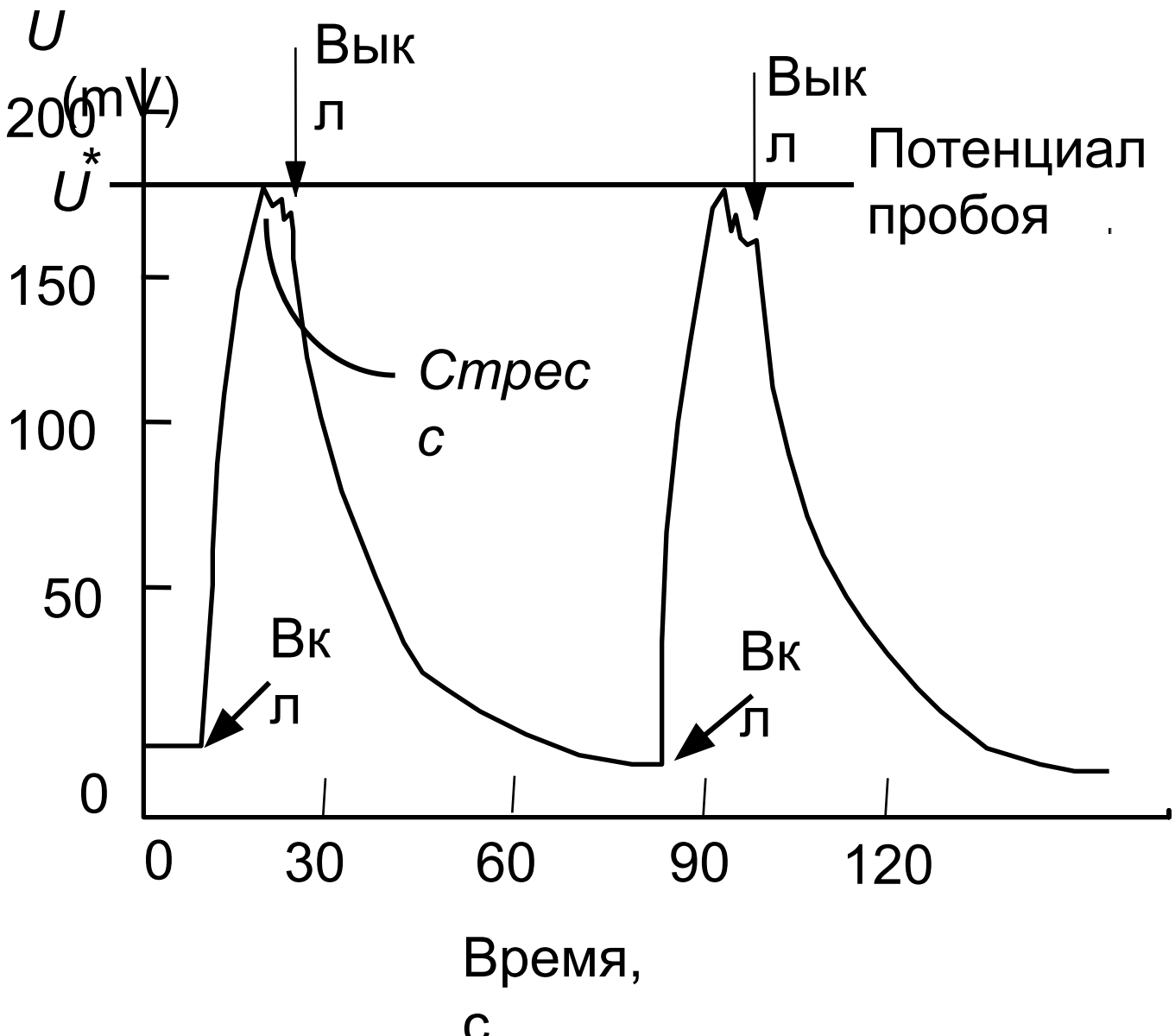


R_o – нагрузочное сопротивление , R_i – внутреннее сопротивление милливольтметра, R_m – сопротивление БЛМ. При снижении R_m ток через мембрану и потенциал на мембране уменьшаются.

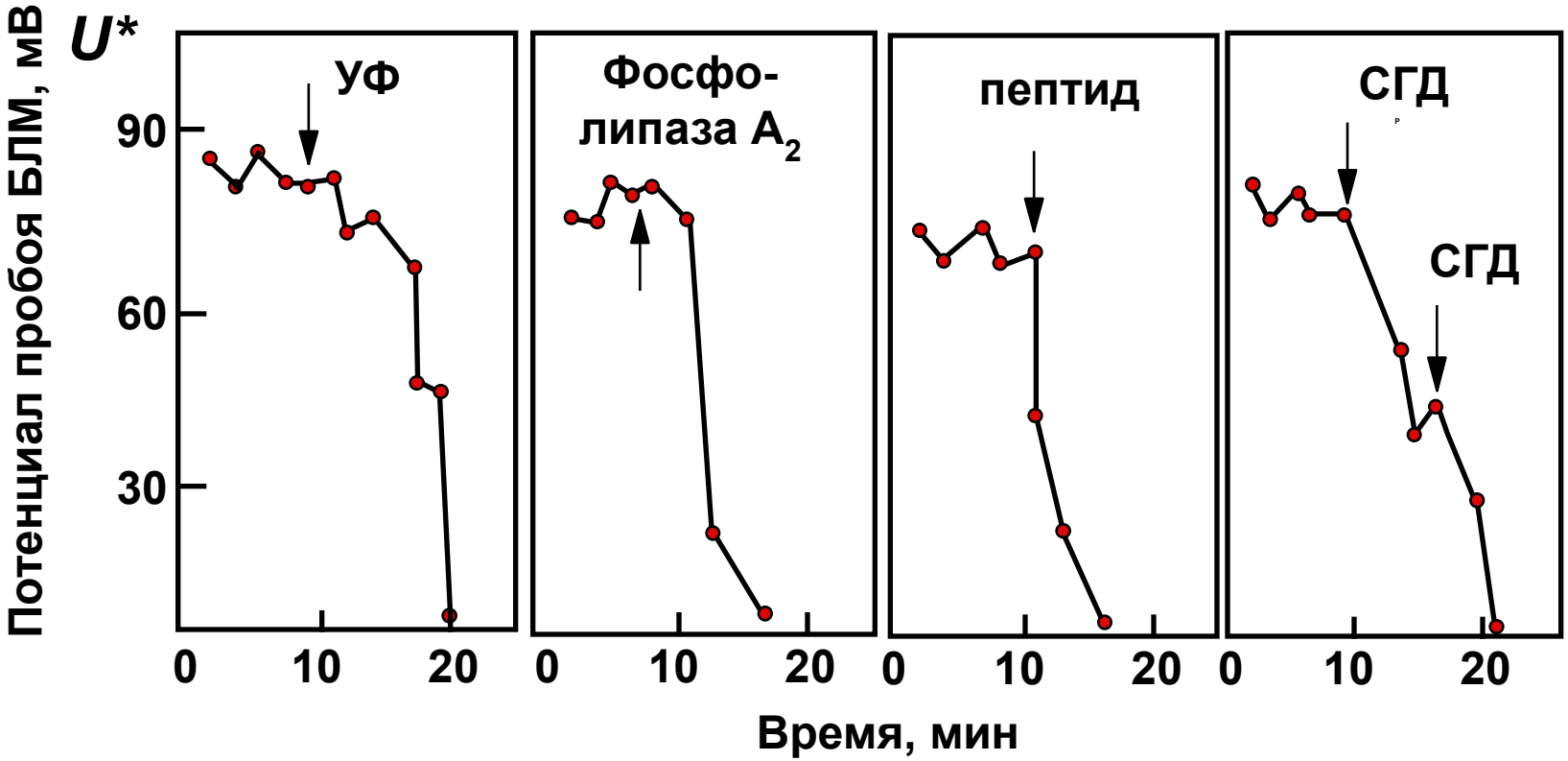
Вольт-амперные характеристики БЛМ



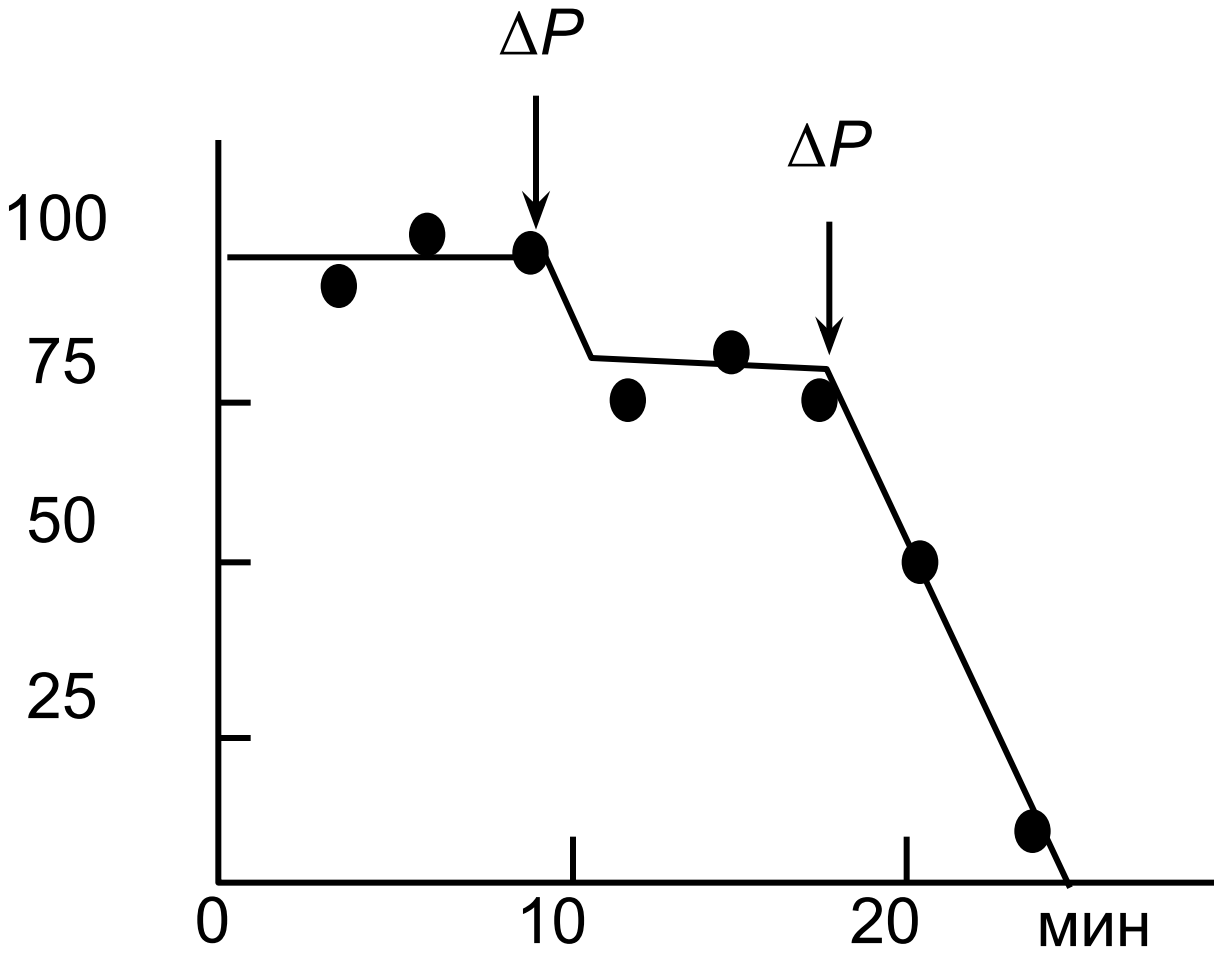
“Динамический” метод измерения потенциала пробоя БЛМ



Электрический пробой БЛМ

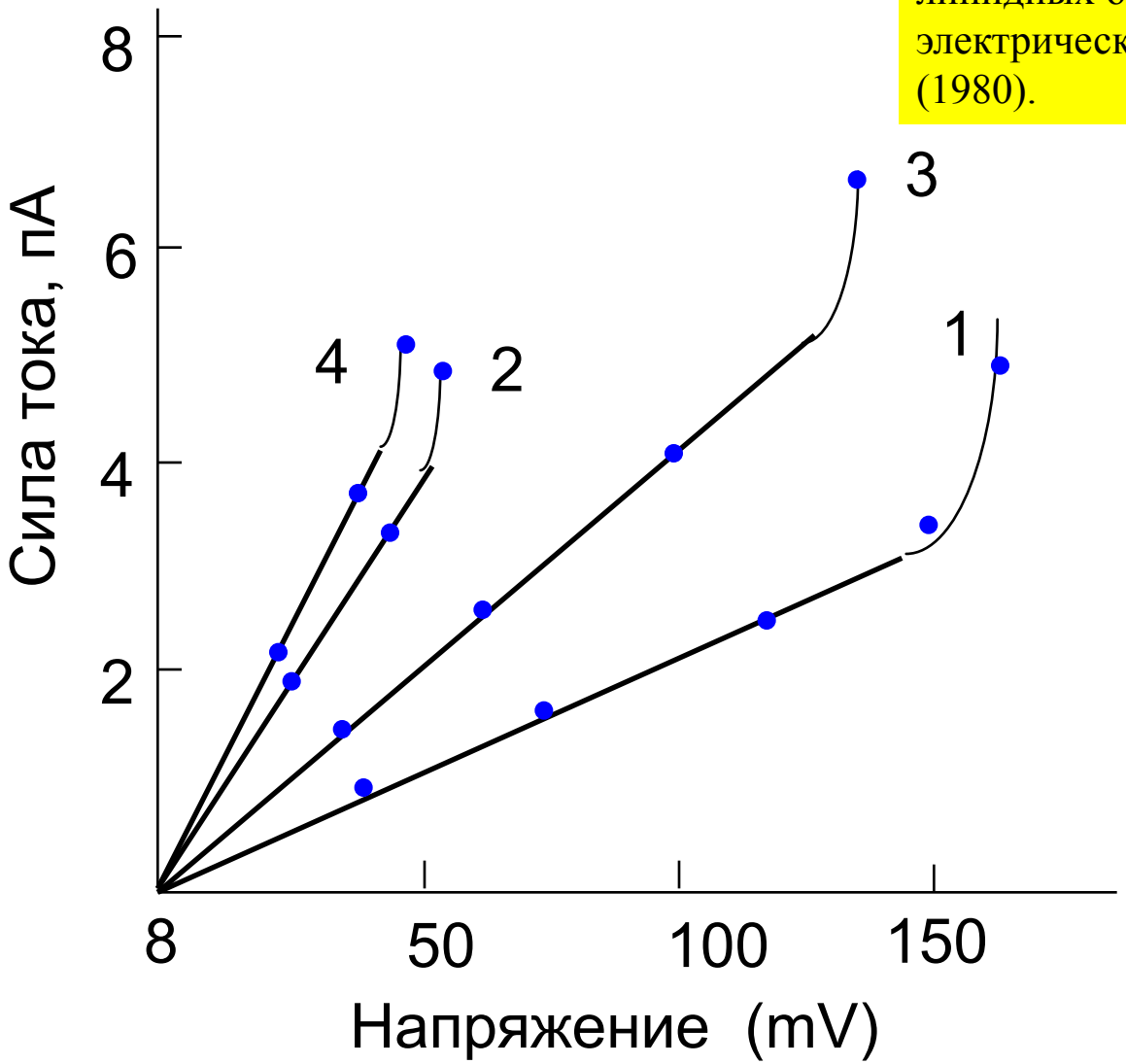


Влияние изменения гидростатического давления на потенциал пробоя БЛМ



Влияние пробоя на электрическую прочность БЛМ

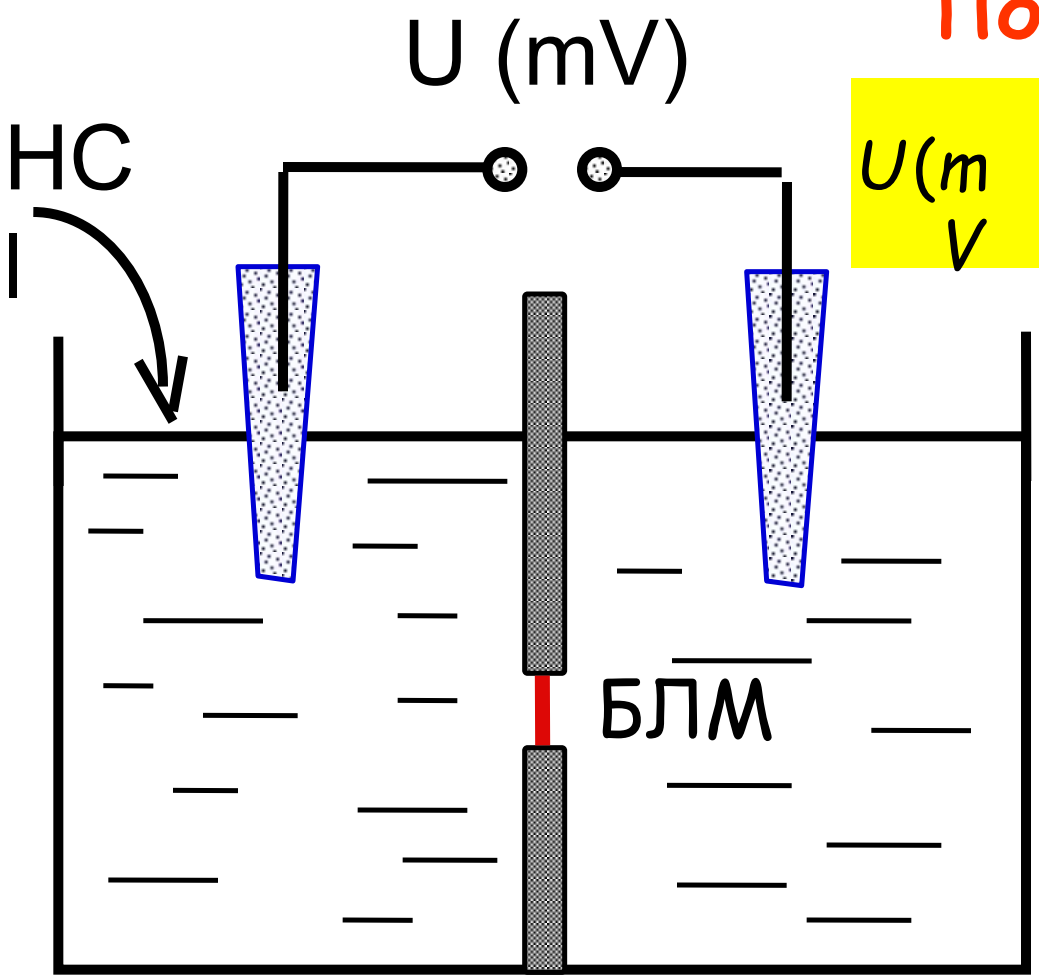
Смирнов,А.А.; Путвинский,А.В.; Рощупкин,Д. И.; Владимиров,Ю.А. Необратимое повреждение липидных бислойных мембран в состоянии электрического пробоя. *Биофизика* **25**: 140-142 (1980).



1 – Контроль
2 – 1 + пробой
3 – 2 + Ca^{2+}
4 – 1 + УФ

Пробой мембран собственным (ионным диффузионным) потенциалом

Концентрационный потенциал, образуемый на БЛМ в присутствии ионофора



Потенциал Нернста

$$U(mV) = \frac{zF}{RT}\ln\frac{[H]_2}{[H]_1} \approx 60\,\text{г}\Delta\text{pH}$$

Электролит
+ ионофор

Самопробой БЛМ при высоком ионном диффузионном потенциале

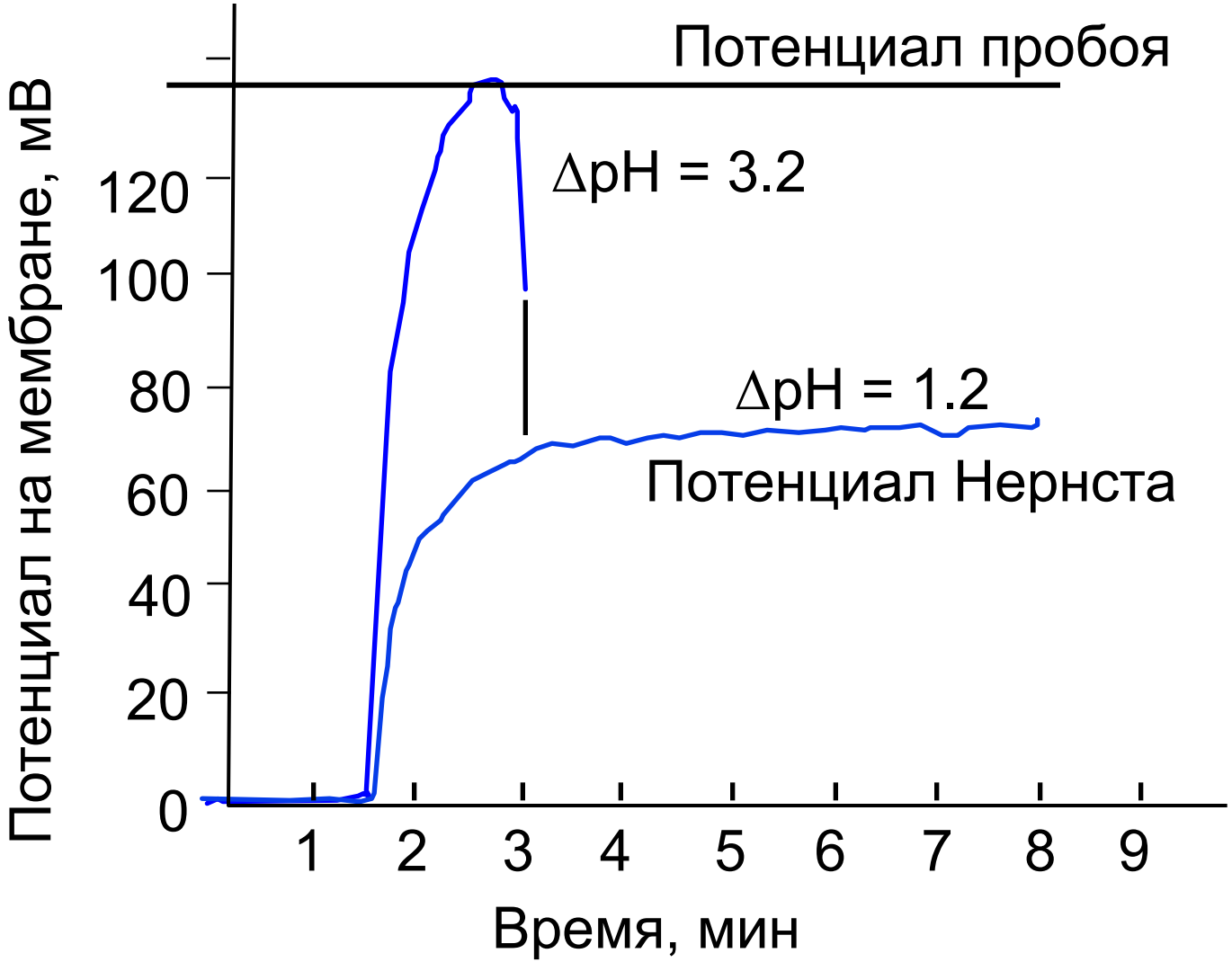
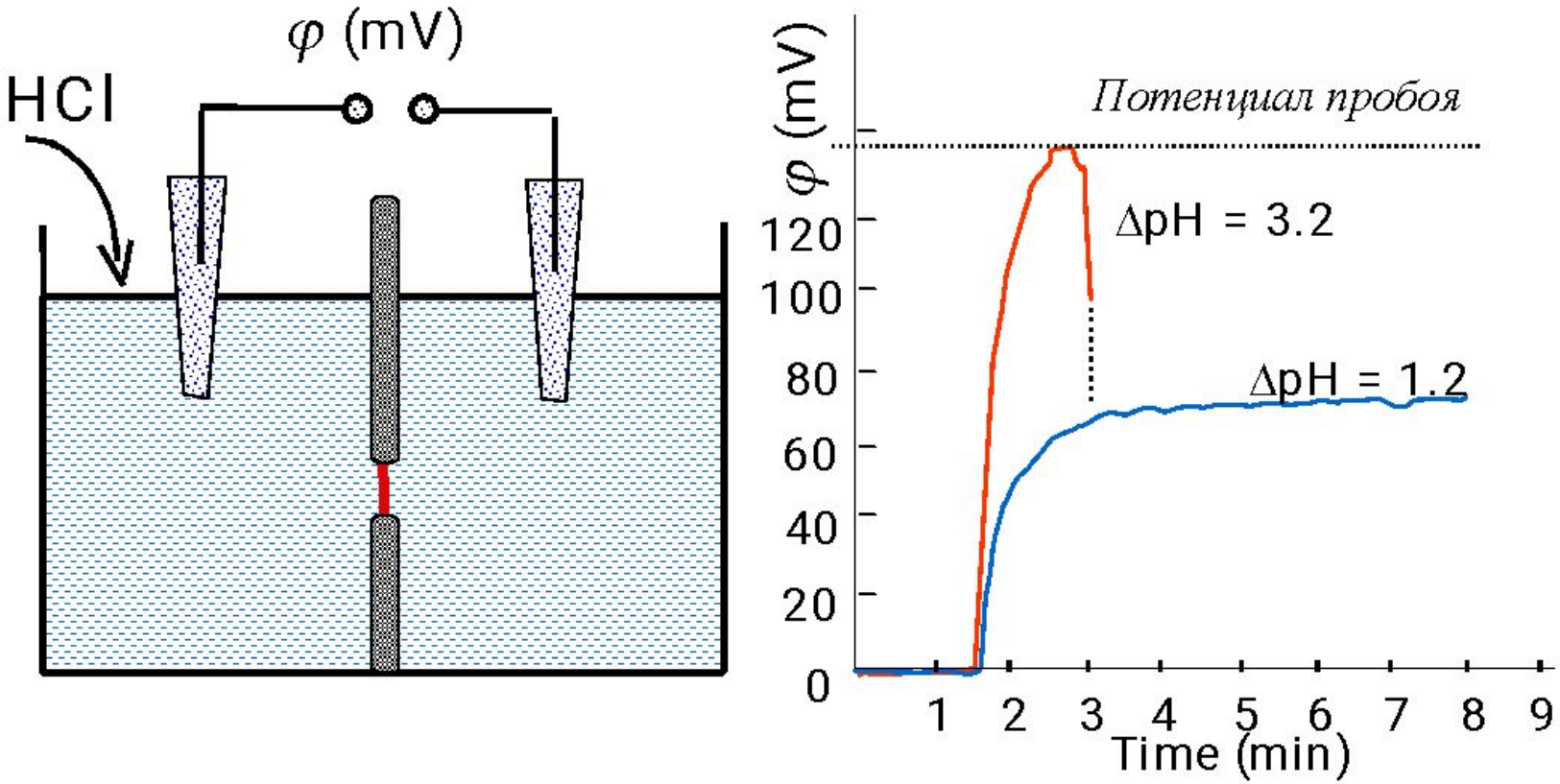
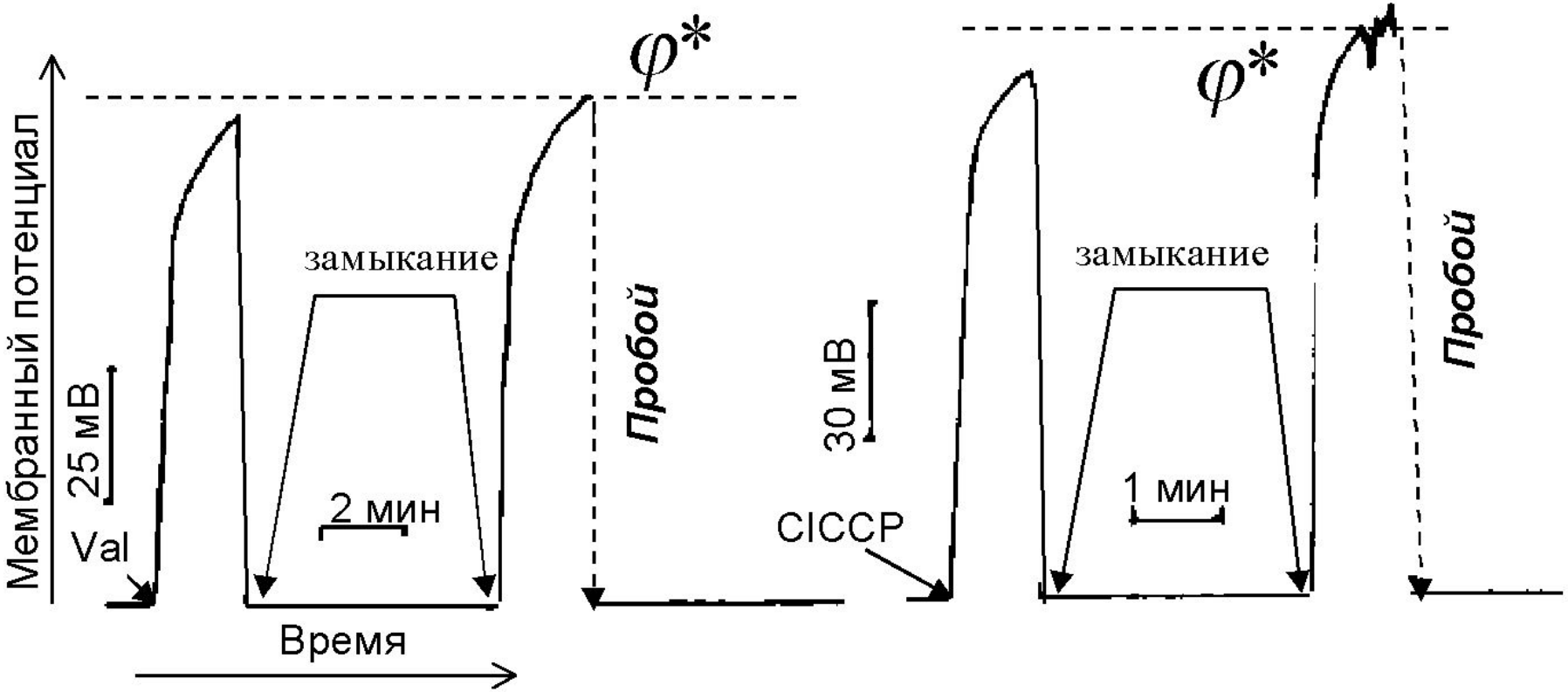


Рис. 4. Самопробой БЛМ протонным диффузионным потенциалом

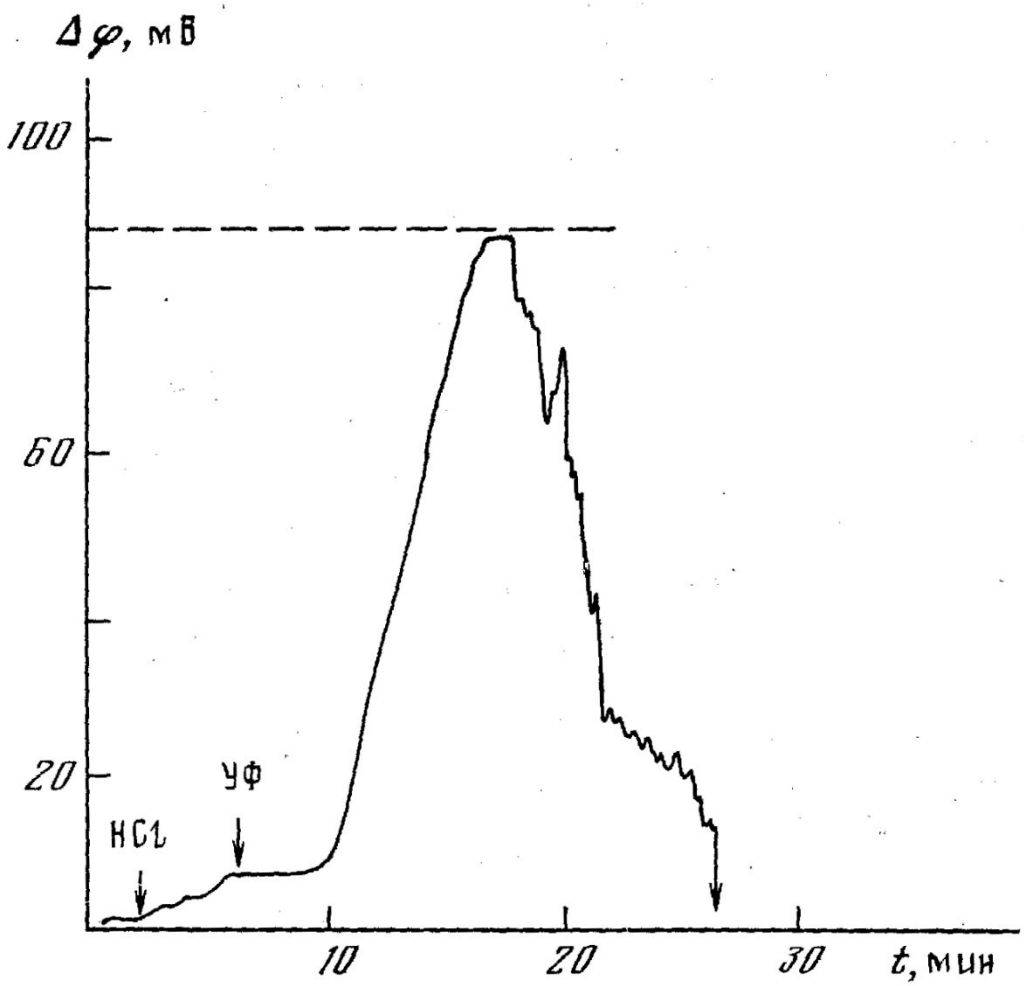


Измерение потенциала, генерируемого мембраной в результате диффузии ионов в присутствии переносчика протонов ClCCP (слева). Запись изменения потенциала (справа) . После добавления ClCCP с одной стороны мембраны добавляли кислоту для создания разности pH (ΔpH).

Электрический пробой мембран собственным мембранным потенциалом

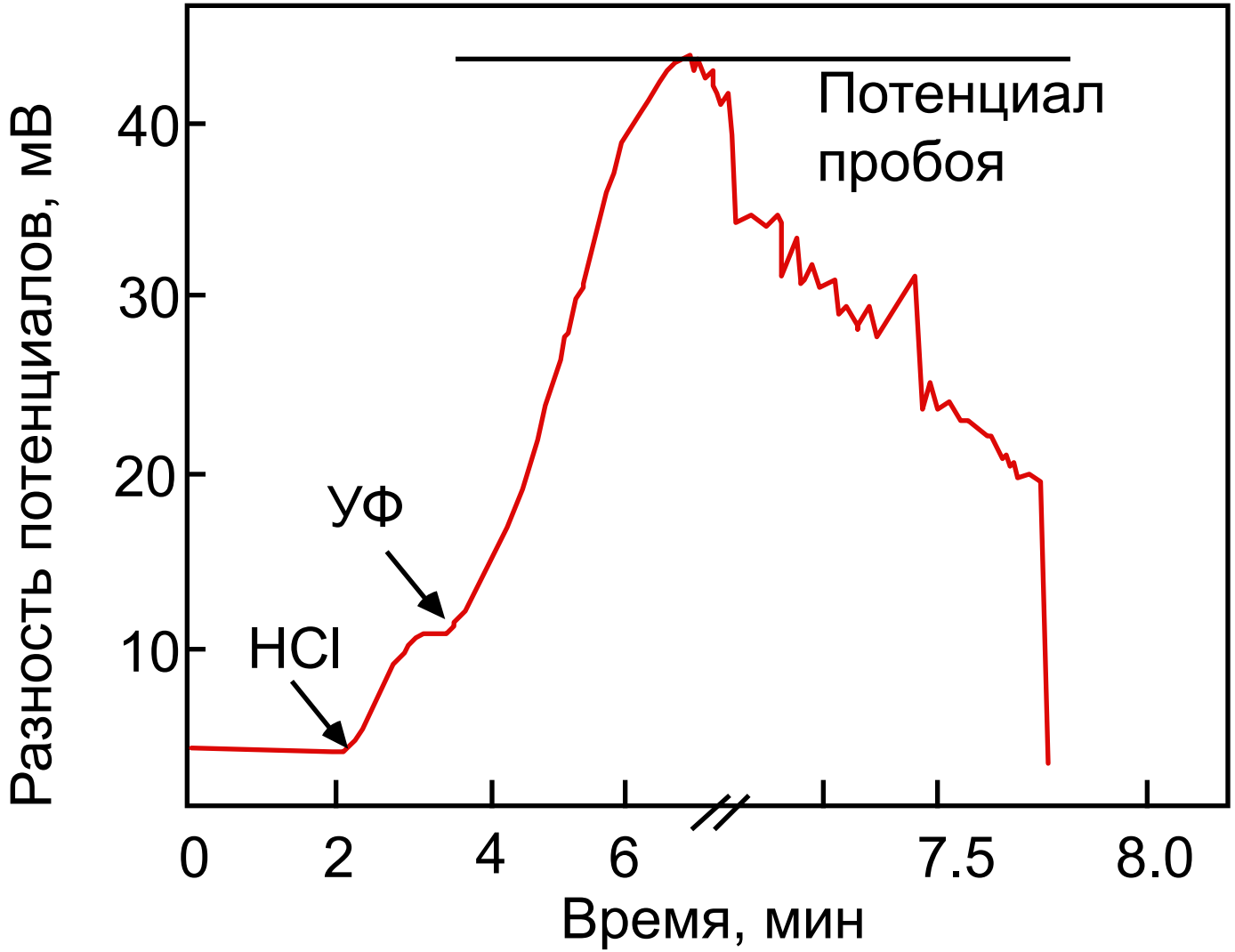


Кинетическая кривая изменения протонного диффузионного потенциала при УФ-облучении БЛМ



Путвинский,А.В.; Пучкова,Т.В. Протонная проницаемость и электрический пробой фосфолипидных мембран после УФ-облучения. *Биофизика* **26** (3): 481-486 (1981)

Самопробой БЛМ при УФ облучении



Пробой БЛМ при УФ облучении

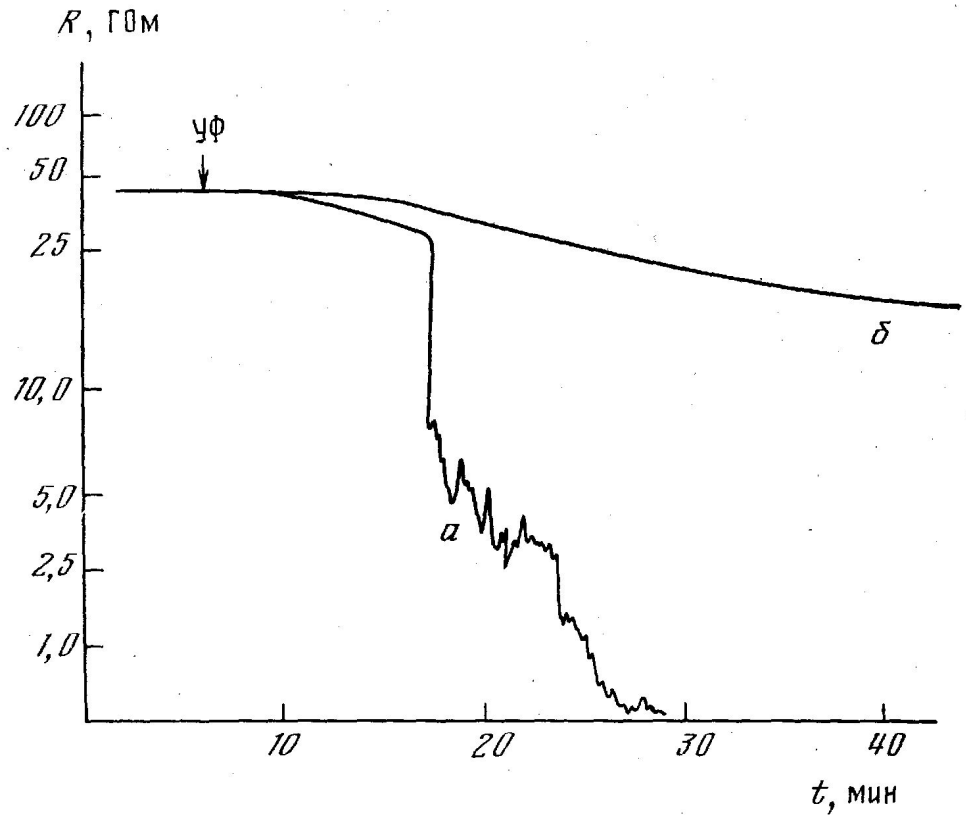
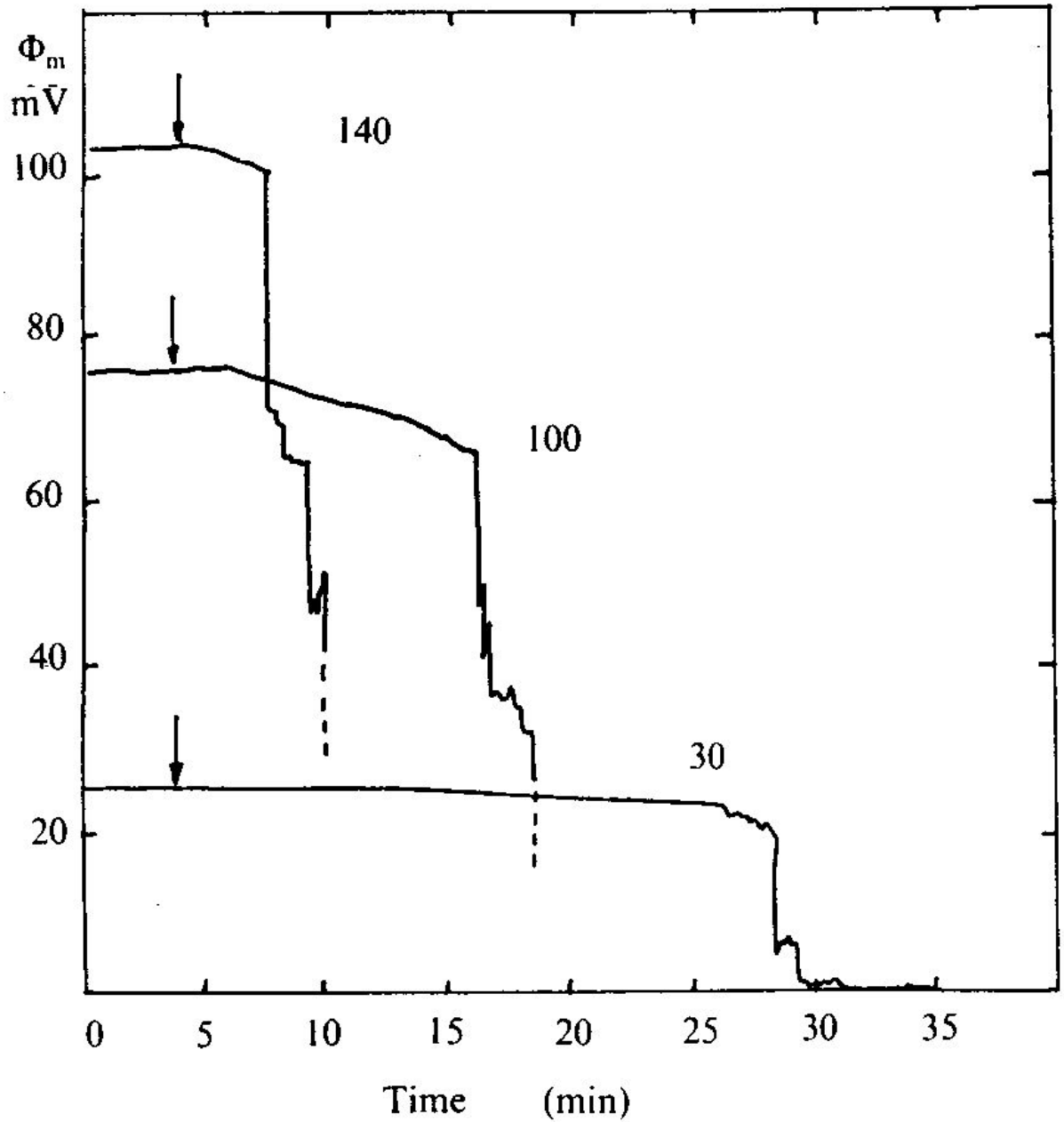


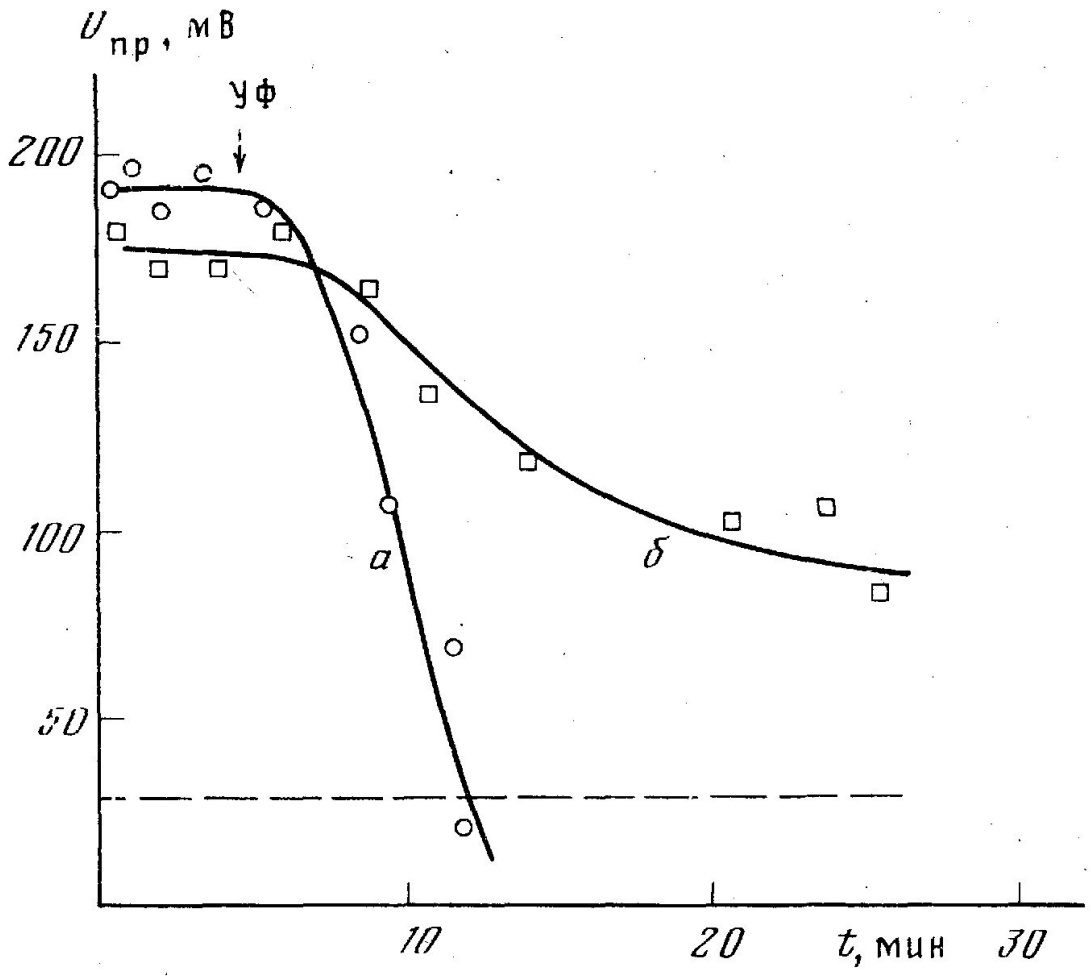
Рис. 1. Изменение сопротивления БЛМ (R), приготовленных из митохондриальных липидов (*а*) и яичного лецитина (*б*). Потенциал на мембранах до облучения 28 мВ. Стрелка показывает начало Уф-облучения

Путвинский,А.В.; Пучкова,Т.В. Протонная проницаемость и электрический пробой фосфолипидных мембран после УФ-облучения. *Биофизика* **26** (3): 481-486 (1981)

Electrical breakdown of BLM under UV

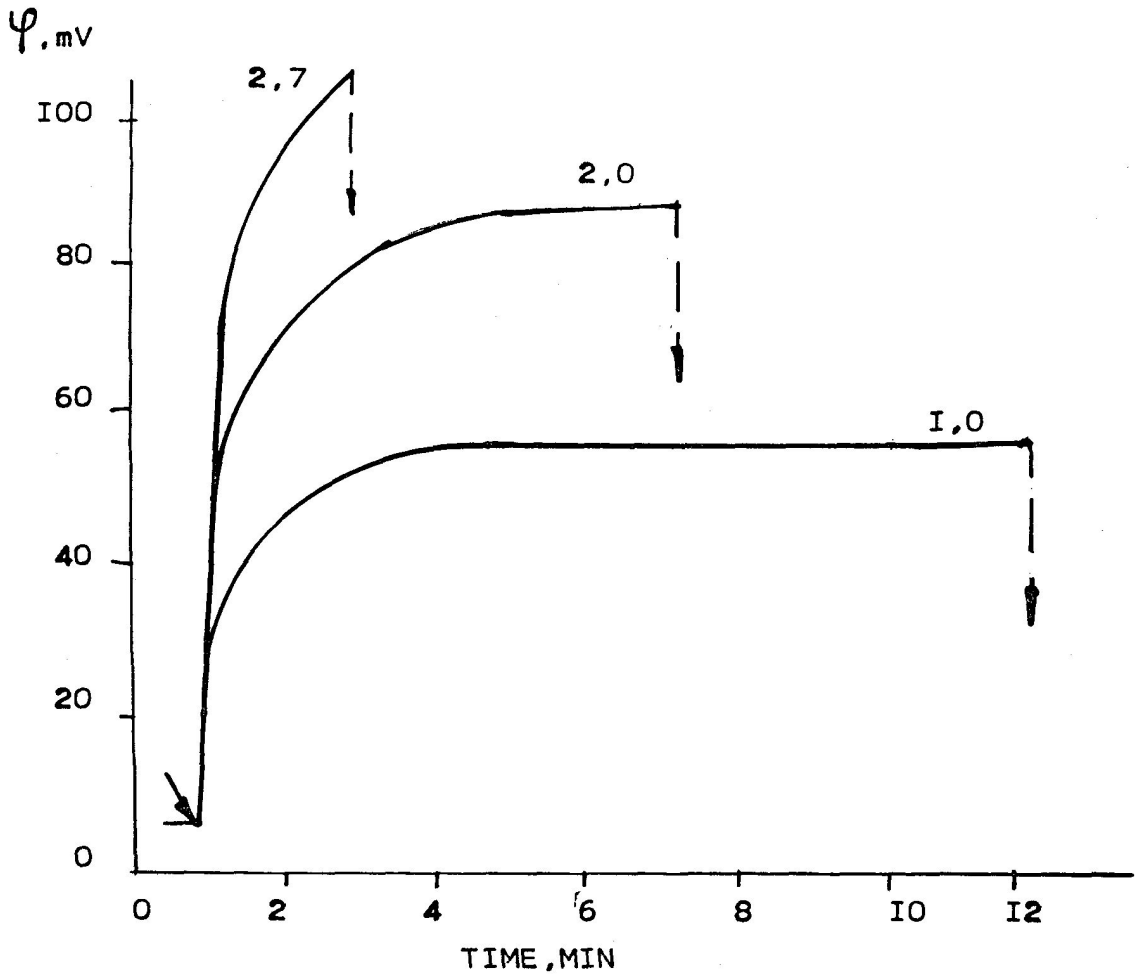


Потенциал пробоя БЛМ (Uпр), приготовленных из митохондриальных липидов (а) и яичного лецитина *(б)*



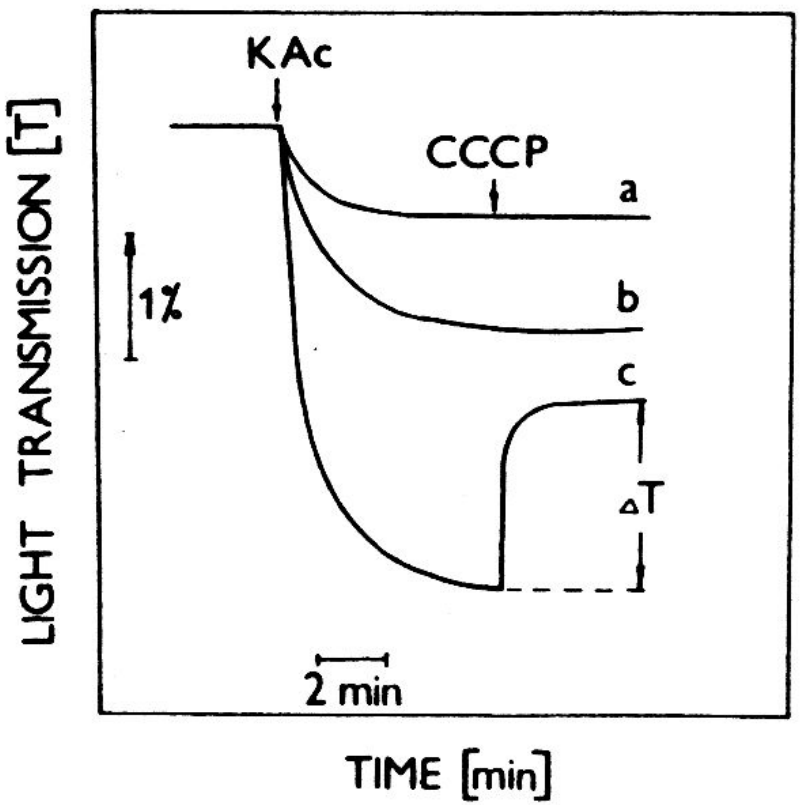
Путвинский,А.В.; Пучкова,Т.В. Протонная проницаемость и электрический пробой фосфолипидных мембран после УФ-облучения. *Биофизика* **26** (3): 481-486 (1981)

Пробой БЛМ при разном диффузионном потенциале



Электрический пробой фосфолипидных везикул (липосом)

Electrical breakdown of the membrane of liposomes

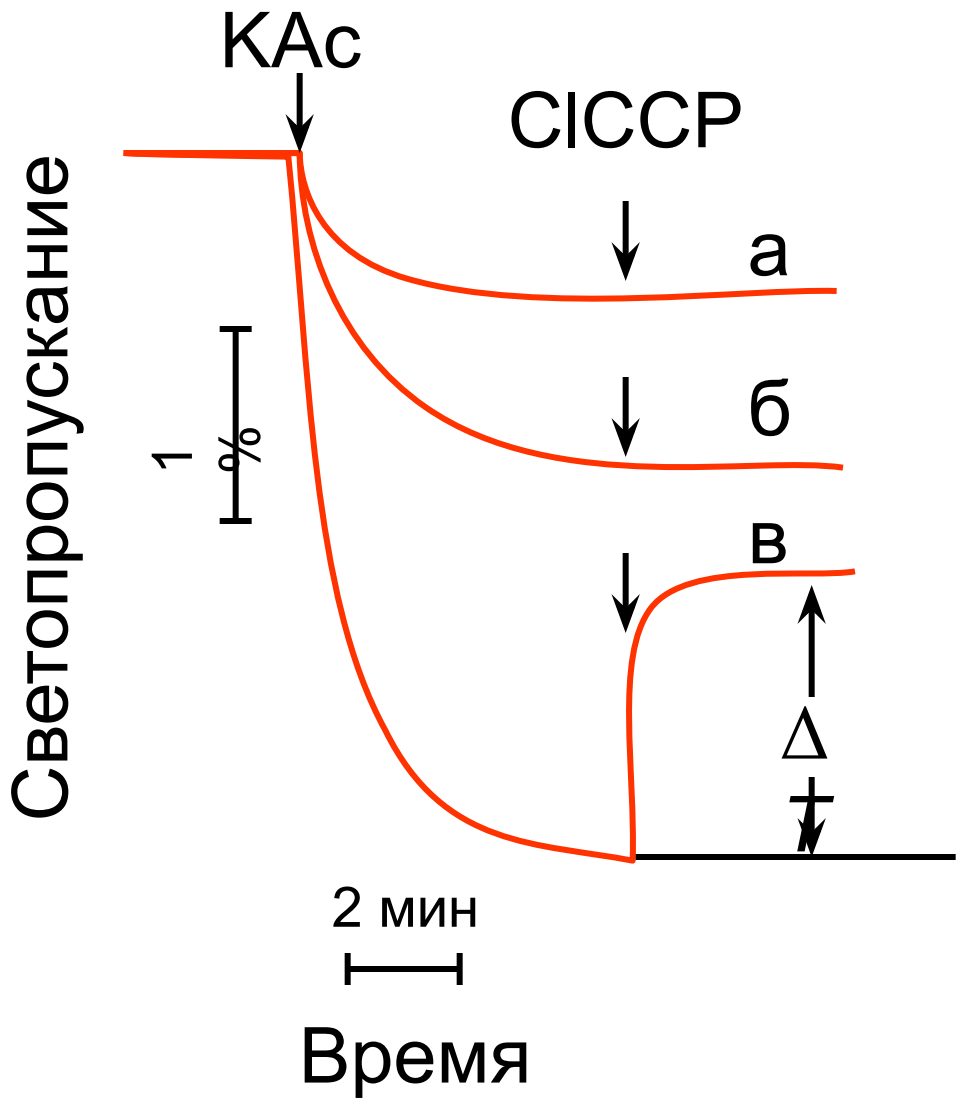


Changes in light transmittancc of liposomal suspension on the addition of CCCP (100 nmol/1).

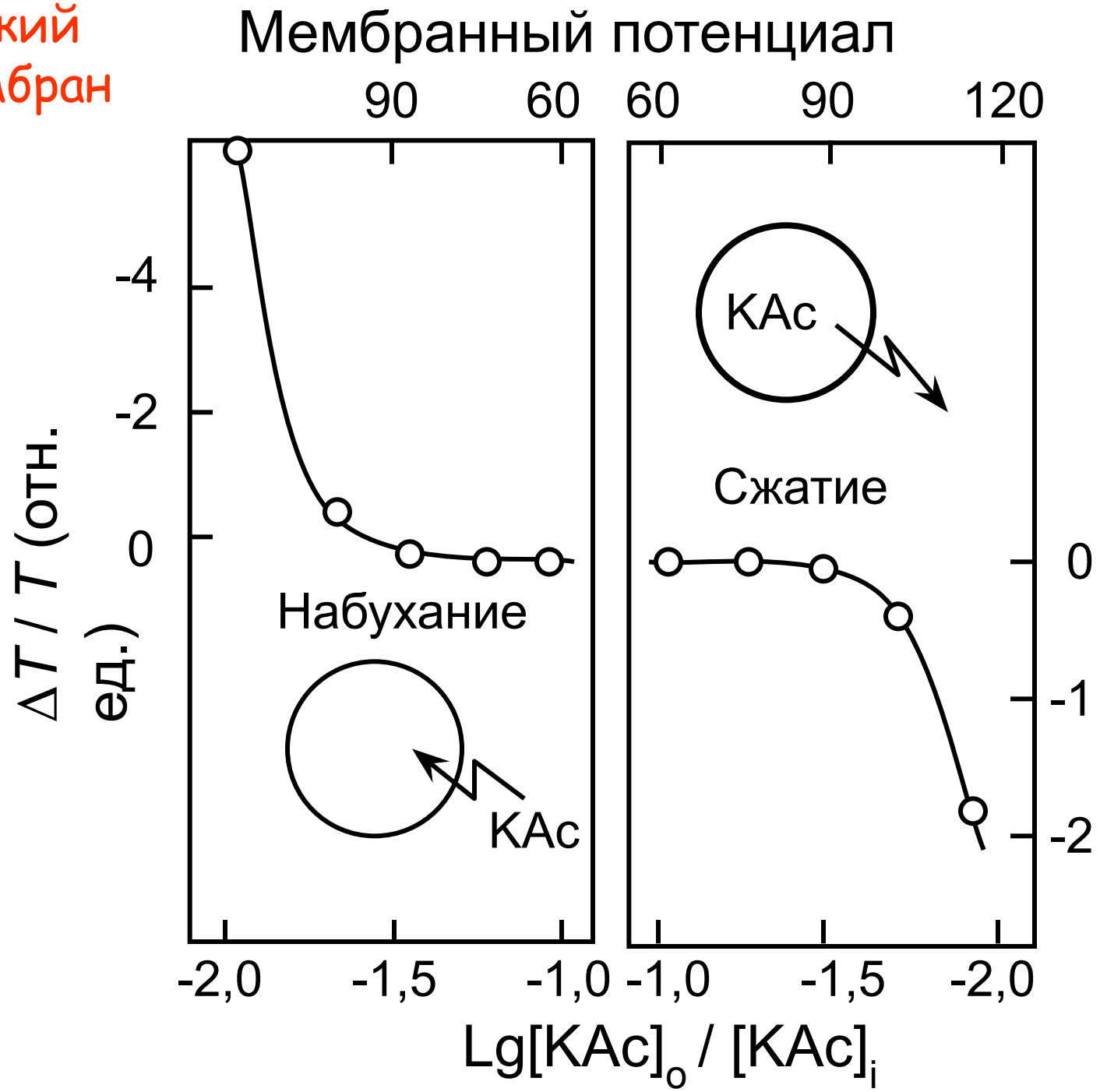
Liposomes (0.2 mg/ml) were formed from egg lecithin in sucrose solution (10 mmol/I) with KAc added:

a — 5 mmol/I, b — 15 mmol/I, c — 40 mmol/I.

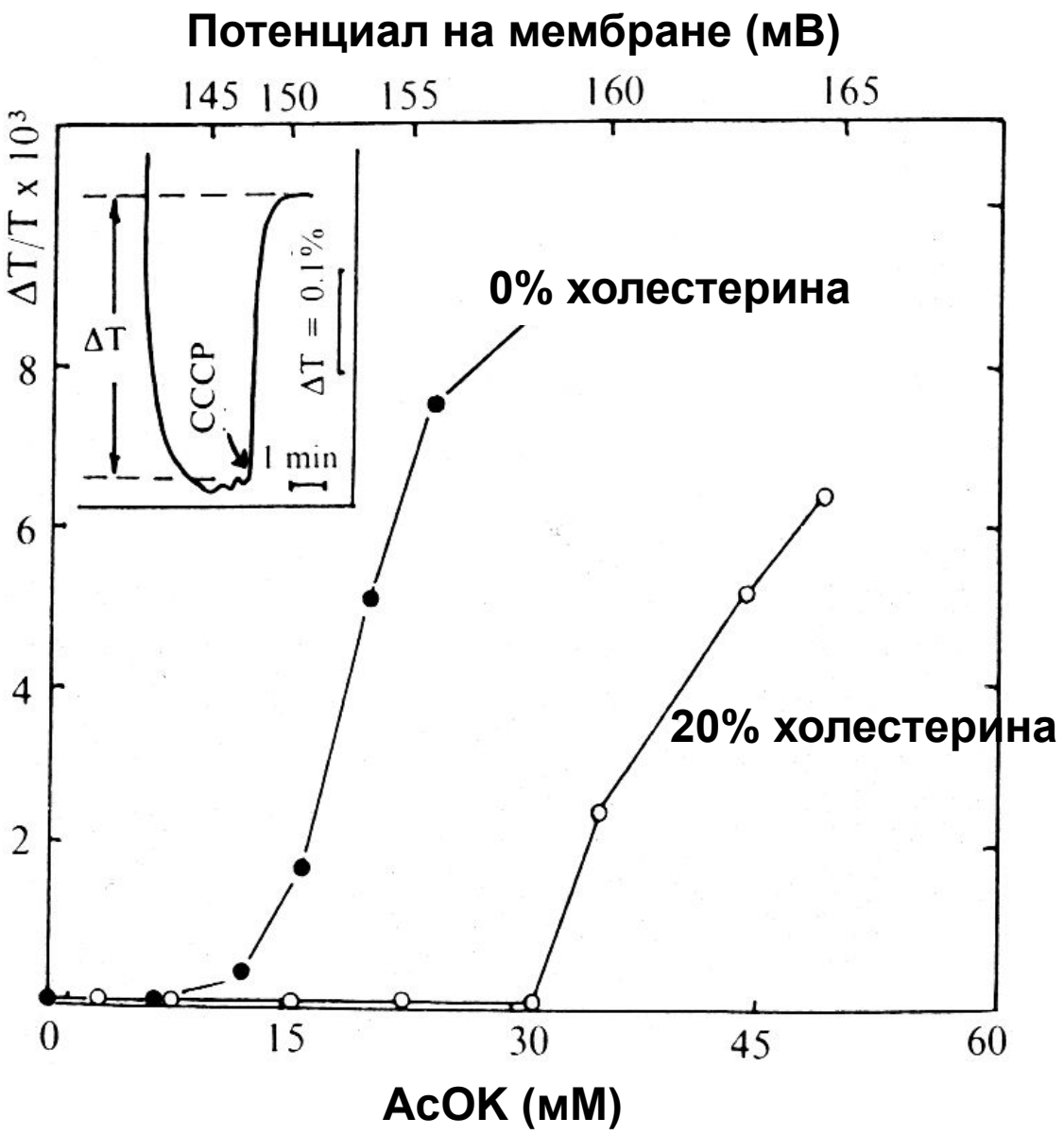
Электрический пробой мембран липосом



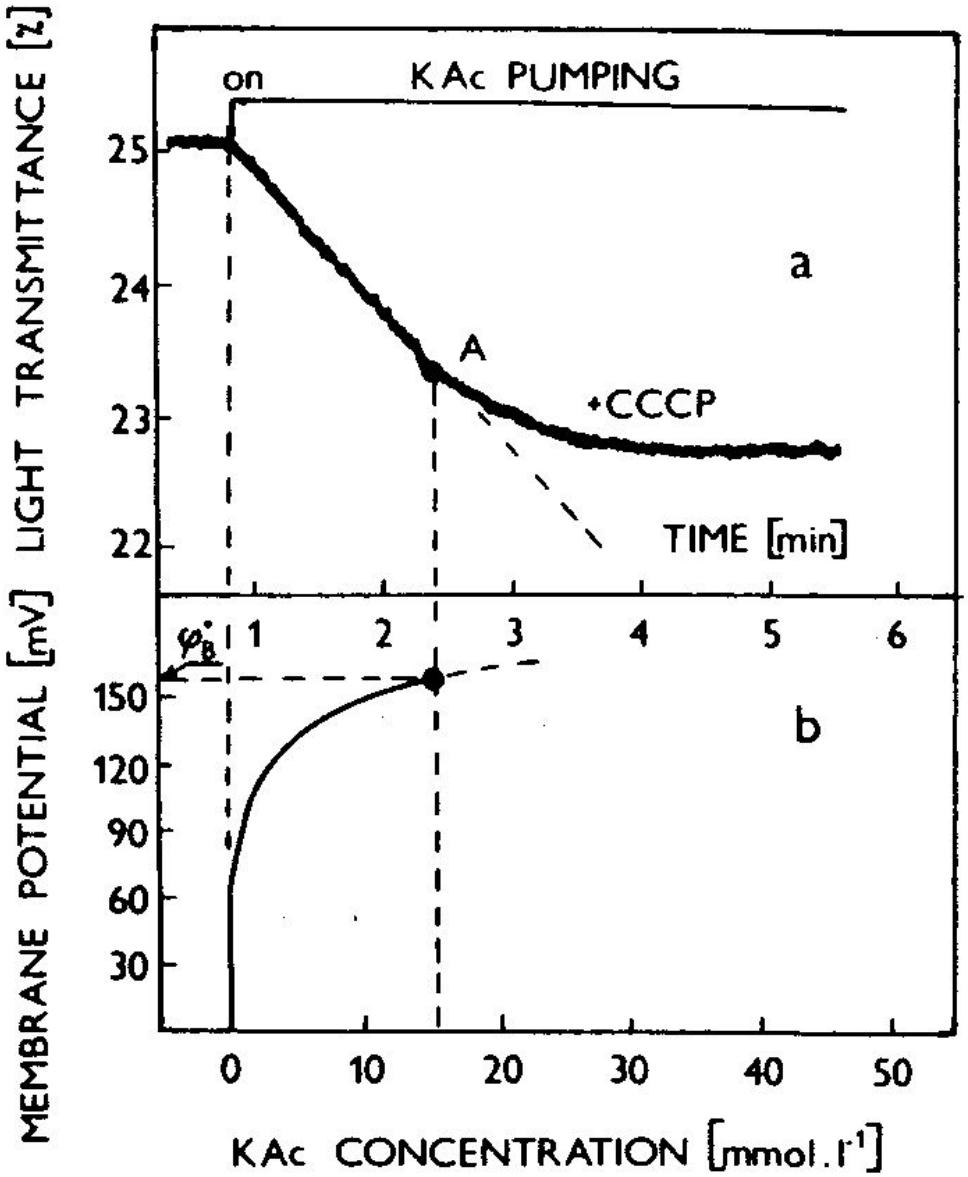
Электрический пробой мембран липосом



Влияние холестерина на пробой в липосомах

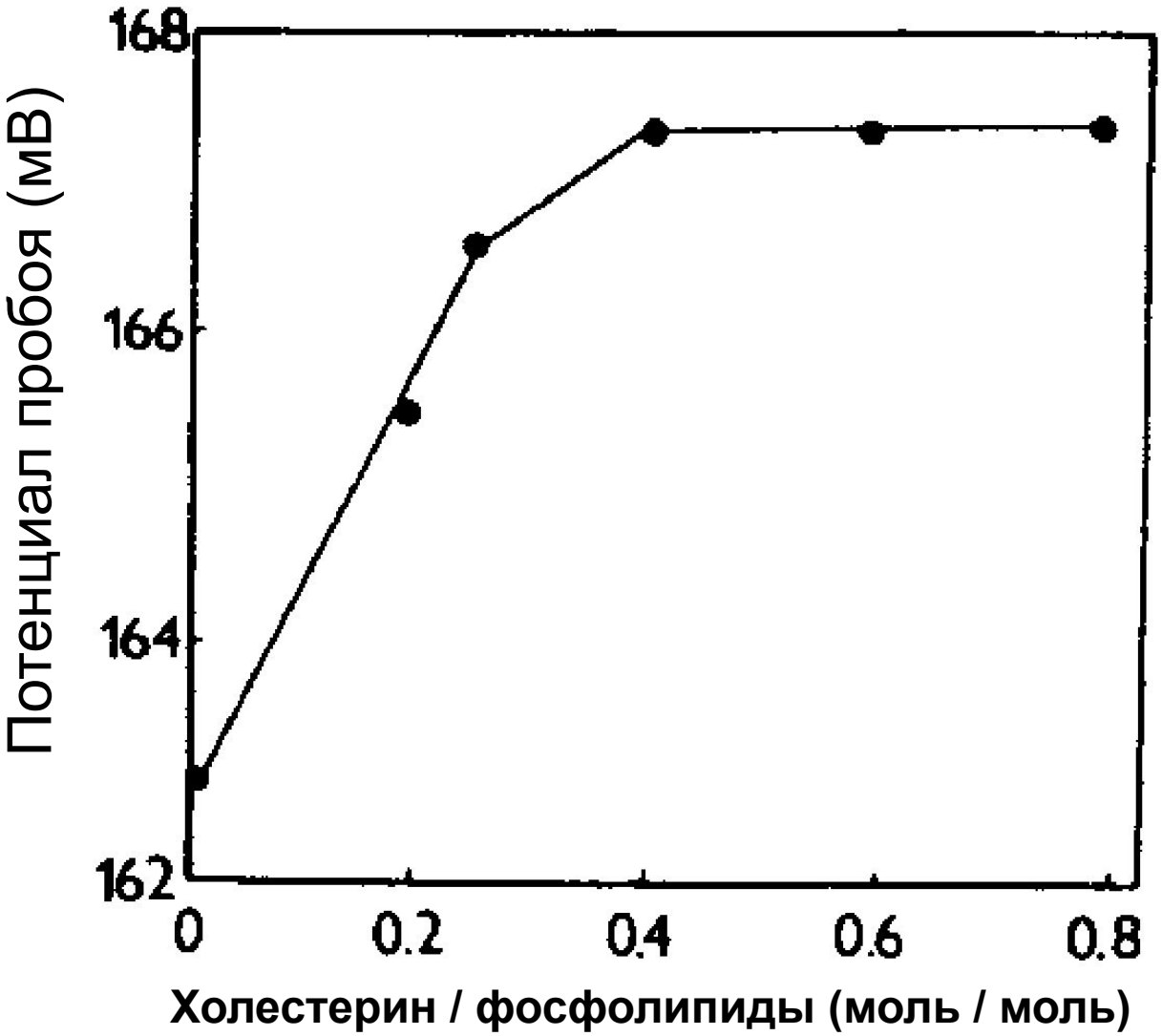


Breakdown of membrane during continuous introduction of KAc

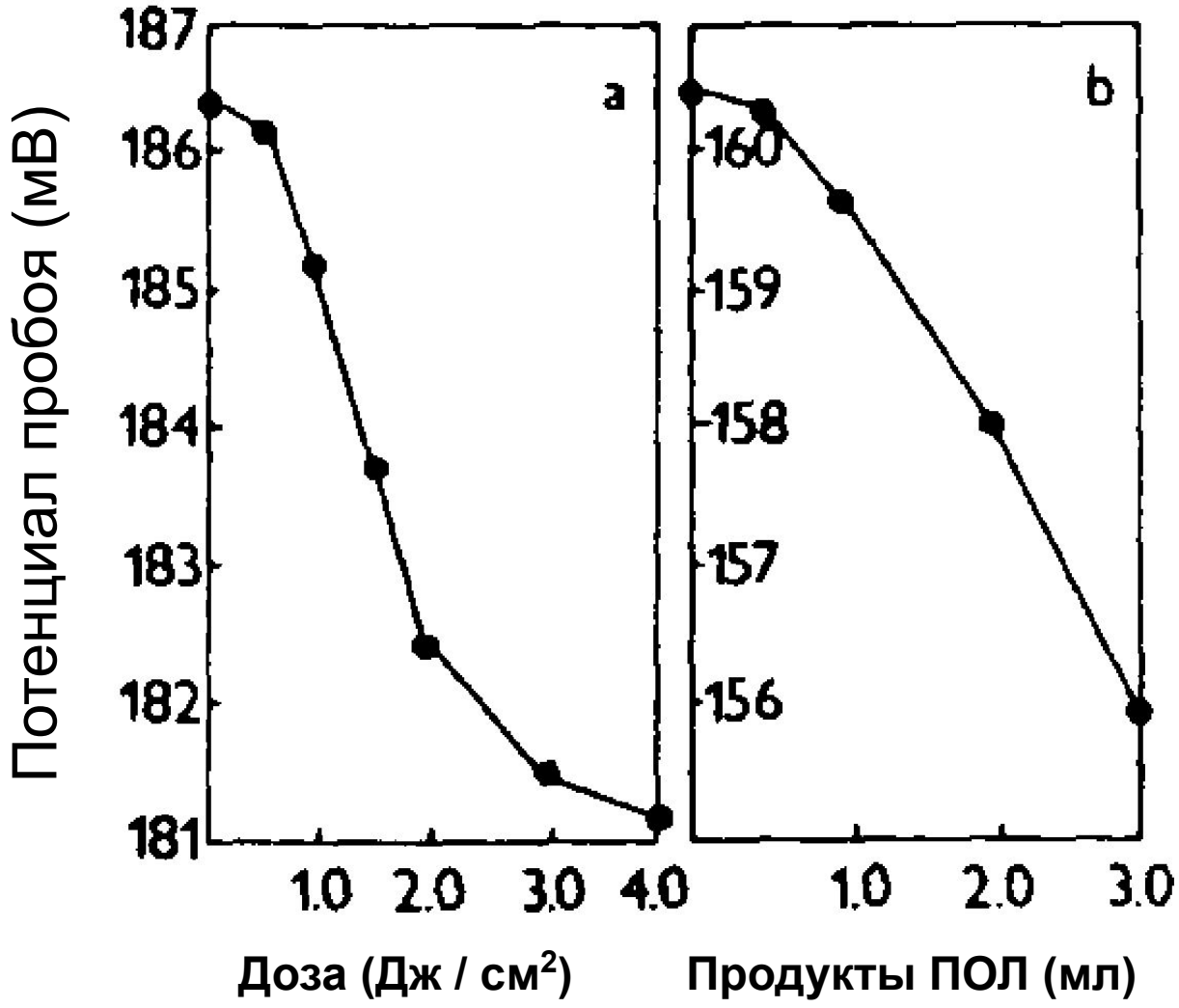


Time-course of light transmittance (*T*) in the liposomal suspension (a) and the calculated membrane potential (b) during continuous introduction of concentrated potassium acetate solution. Liposomes (0.2 mg lipids/ml) prepared from egg lecithin were formed in 10 mmol/1 sucrose solution. Final concentration of *CCCP* was 0.1 mmol/l.

Холестерин увеличивает электрическую прочность мембран липосом



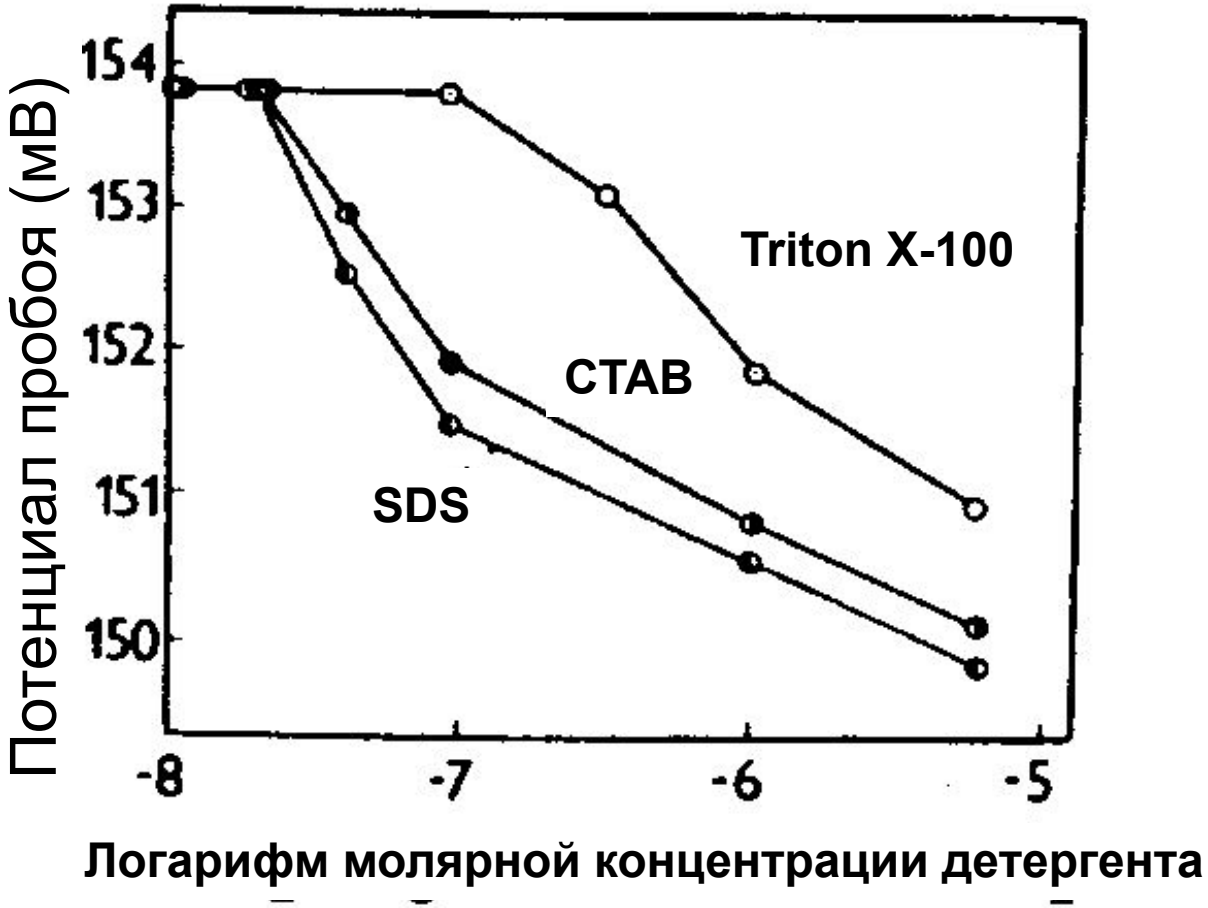
Снижение мембранного потенциала в липосомах при пероксидации липидов



Слева – При УФ-облучении разными дозами.

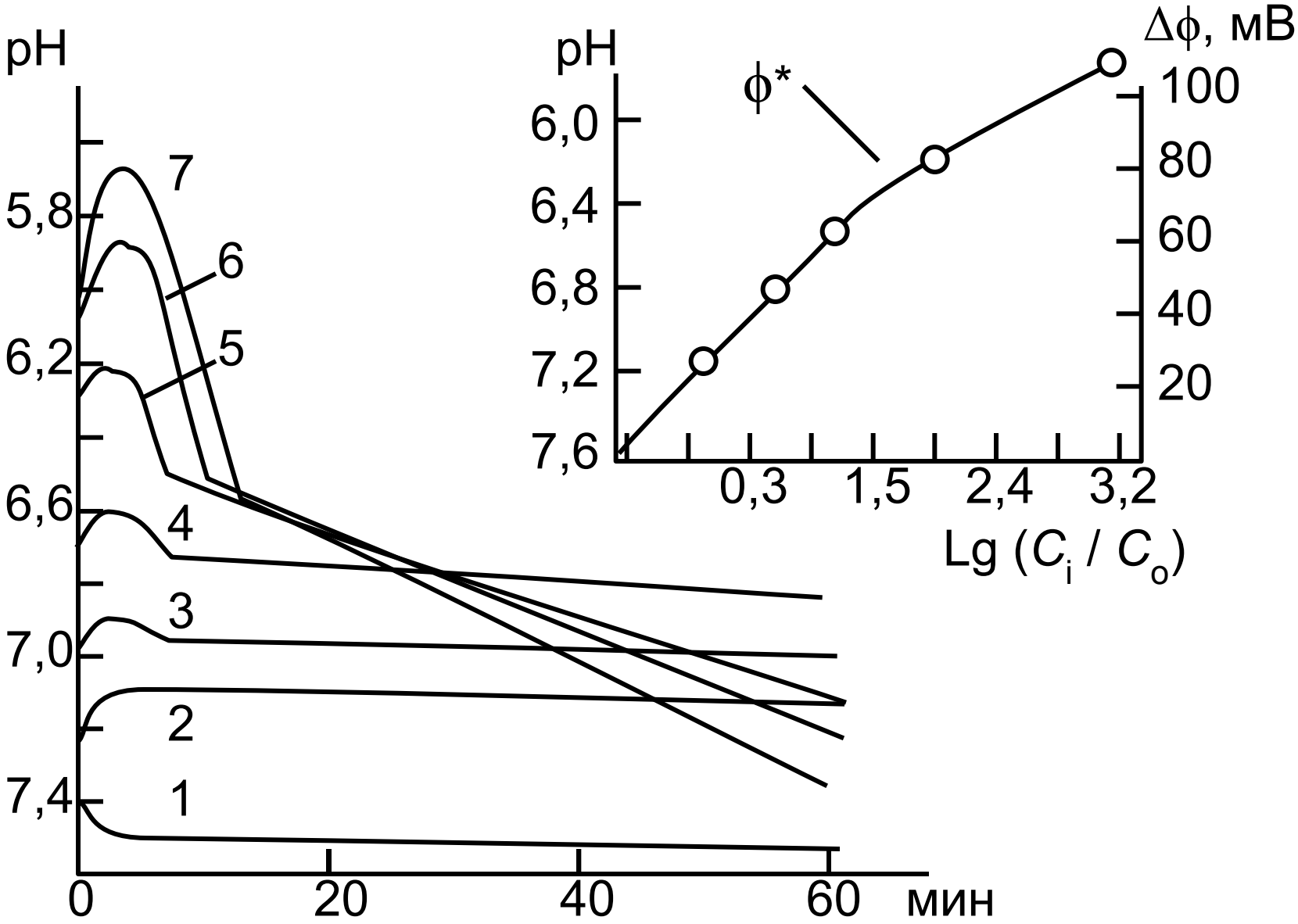
Справа – Про добавлении водорастворимых продуктов пероксидации липидов.

Детергенты снижают электрическую прочность мембран липосом

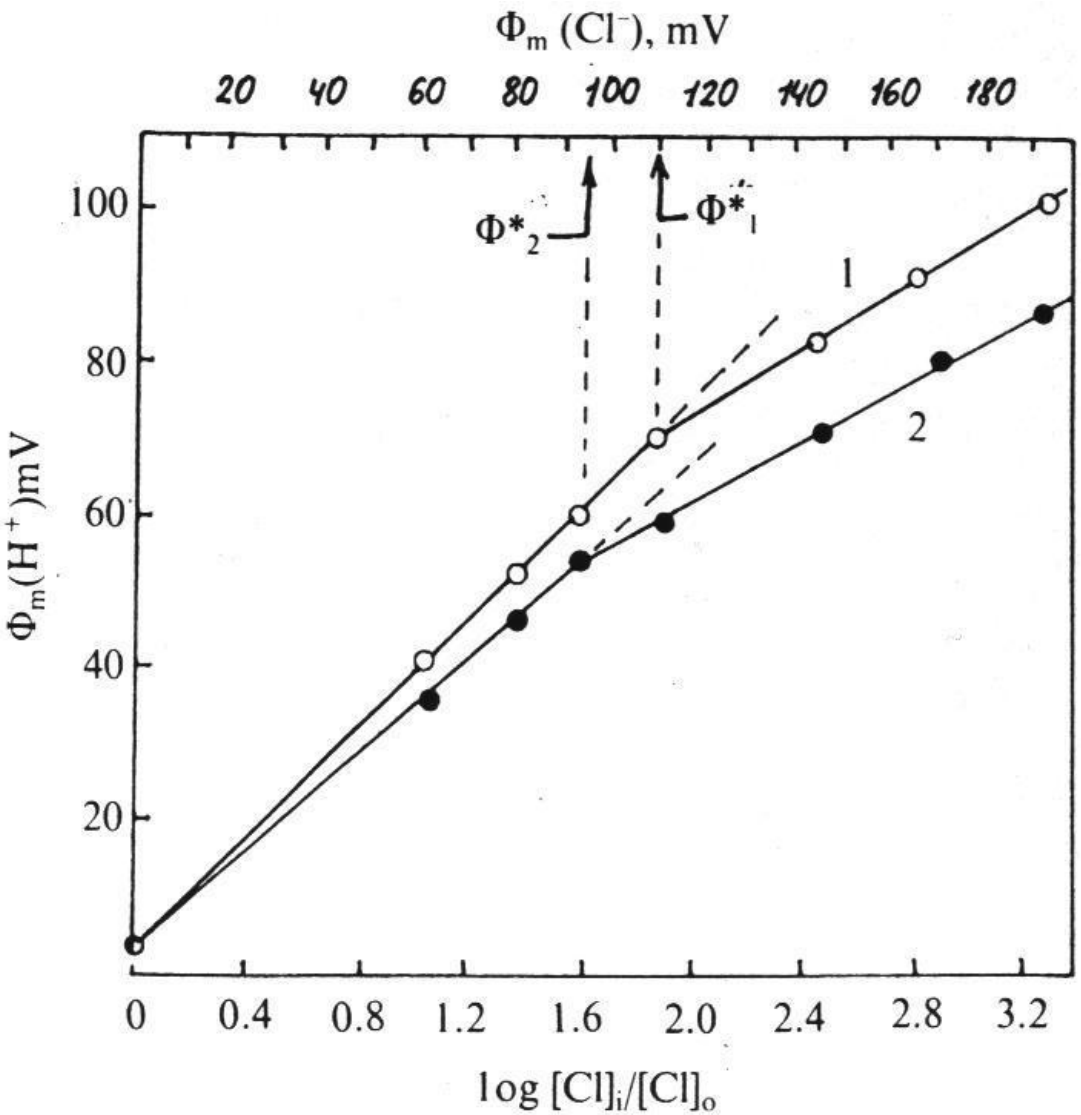


Электрический пробой мембран эритроцитов

Электрический пробой мембран эритроцитов

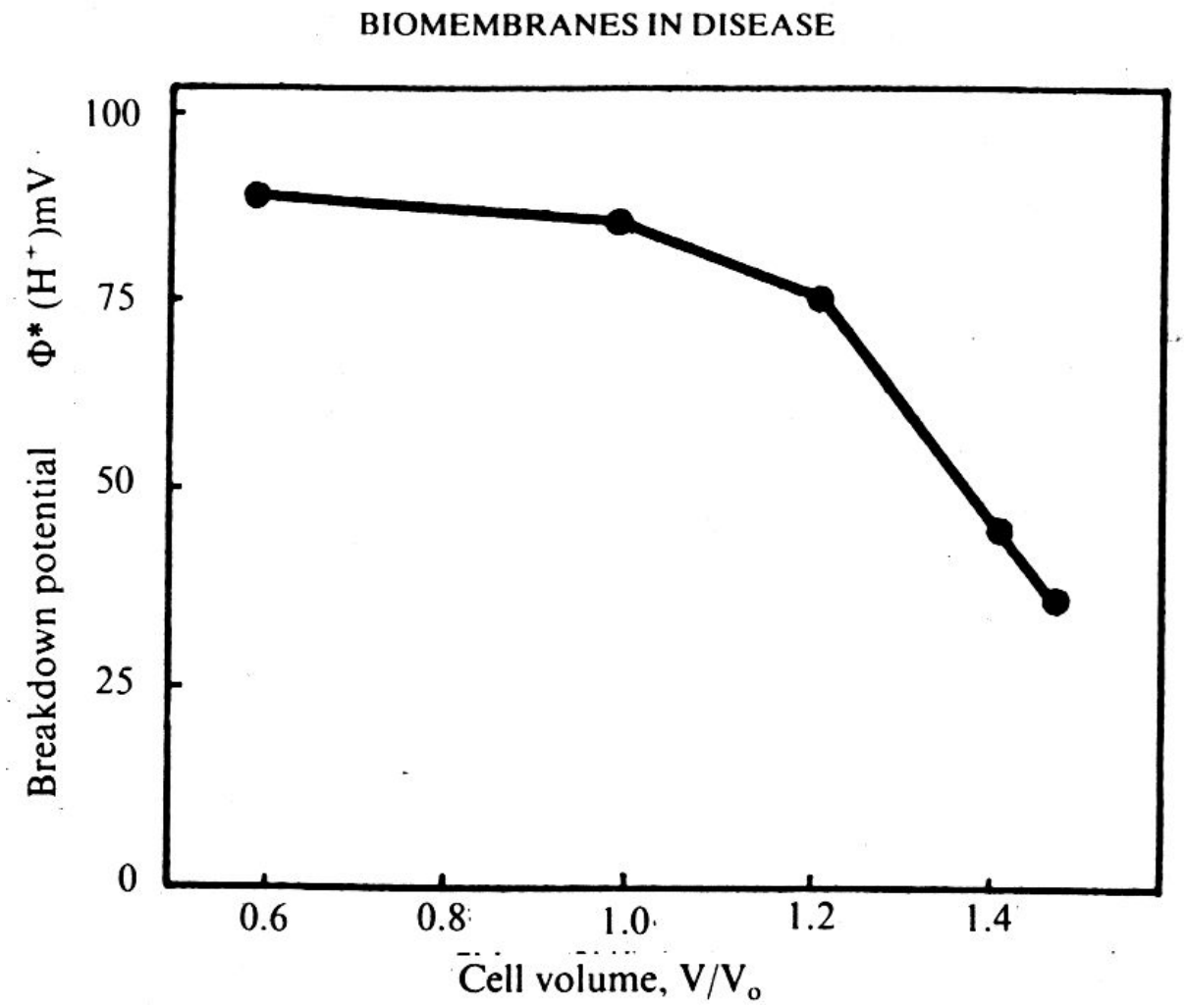


Electrical breakdown of erythrocyle membranes by chlorine diffusion potential.

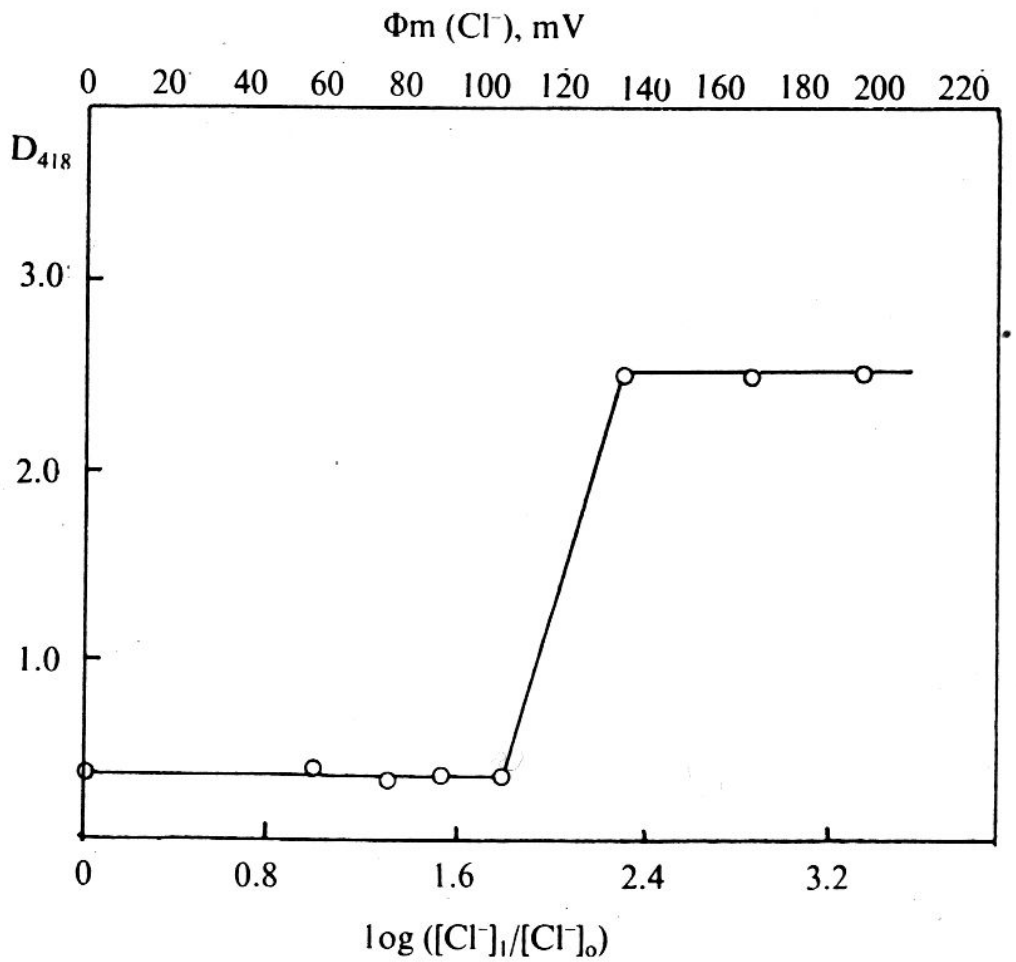


$[Cl]_i$ and $[C1]_o$, Cl_- -concentrations in the cells and in the surrounding isotonic medium, respectively; ϕm $[Cl^-]$, membrane (chlorine) potential as calculated by the Nernst equation on the basis of $(Cl^-)_i/(Cl^-)o$ ratio; ϕ_m (H^+), membrane potential as calculated from the ΔpH value arising in the medium after the addition of erythrocytes. The breaks on the curves attest to increased cationic permeability of the membranes. 1, Original erythrocytes; 2, Erythrocytes after UV-induced lipoperoxidation. Note that the peroxidation decreased the critical potential from $\phi_2^* = 110$ to $\phi_2^* = 93$ mV.

Растяжение мембран эритроцитов снижает потенциал пробоя

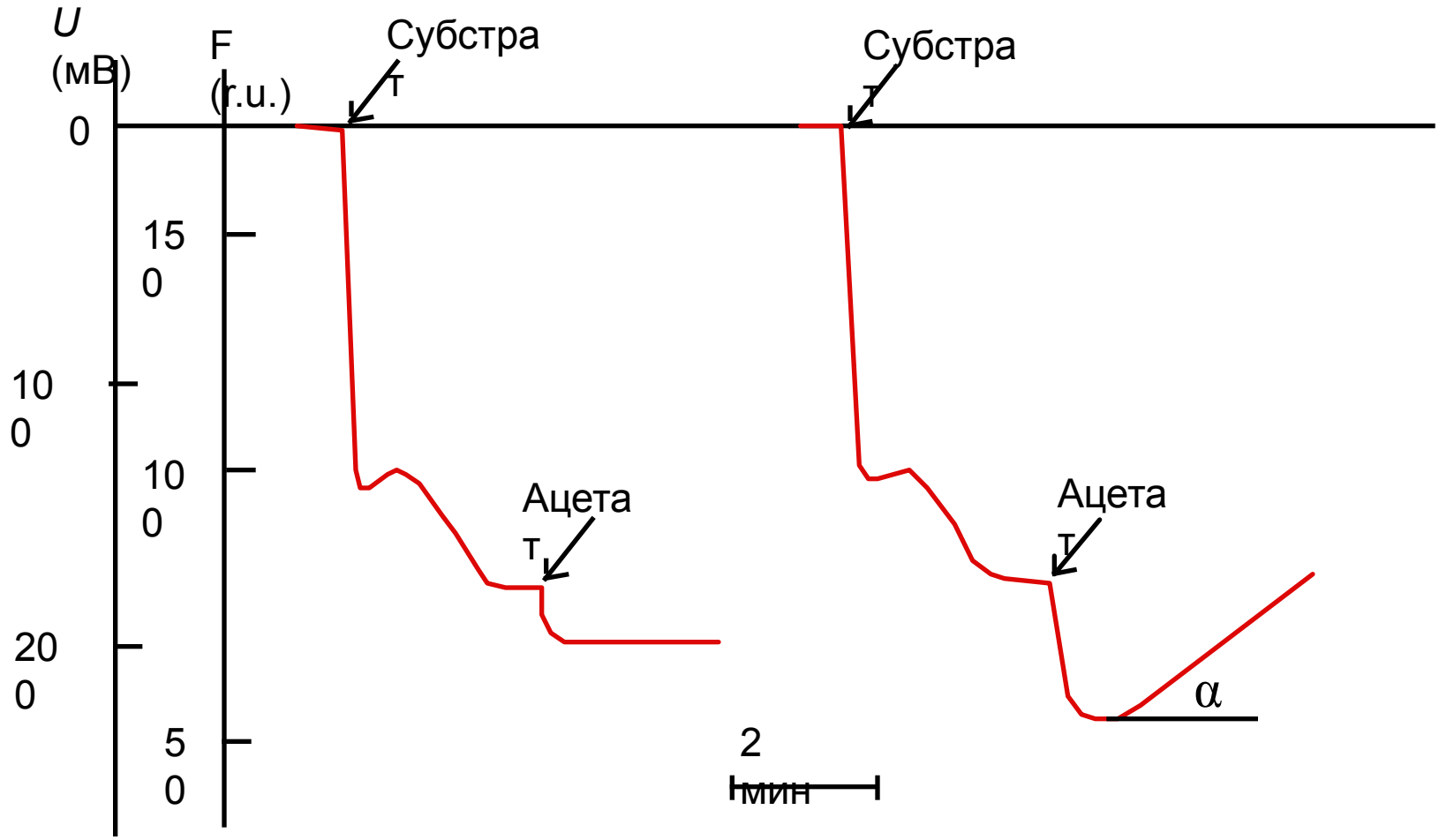


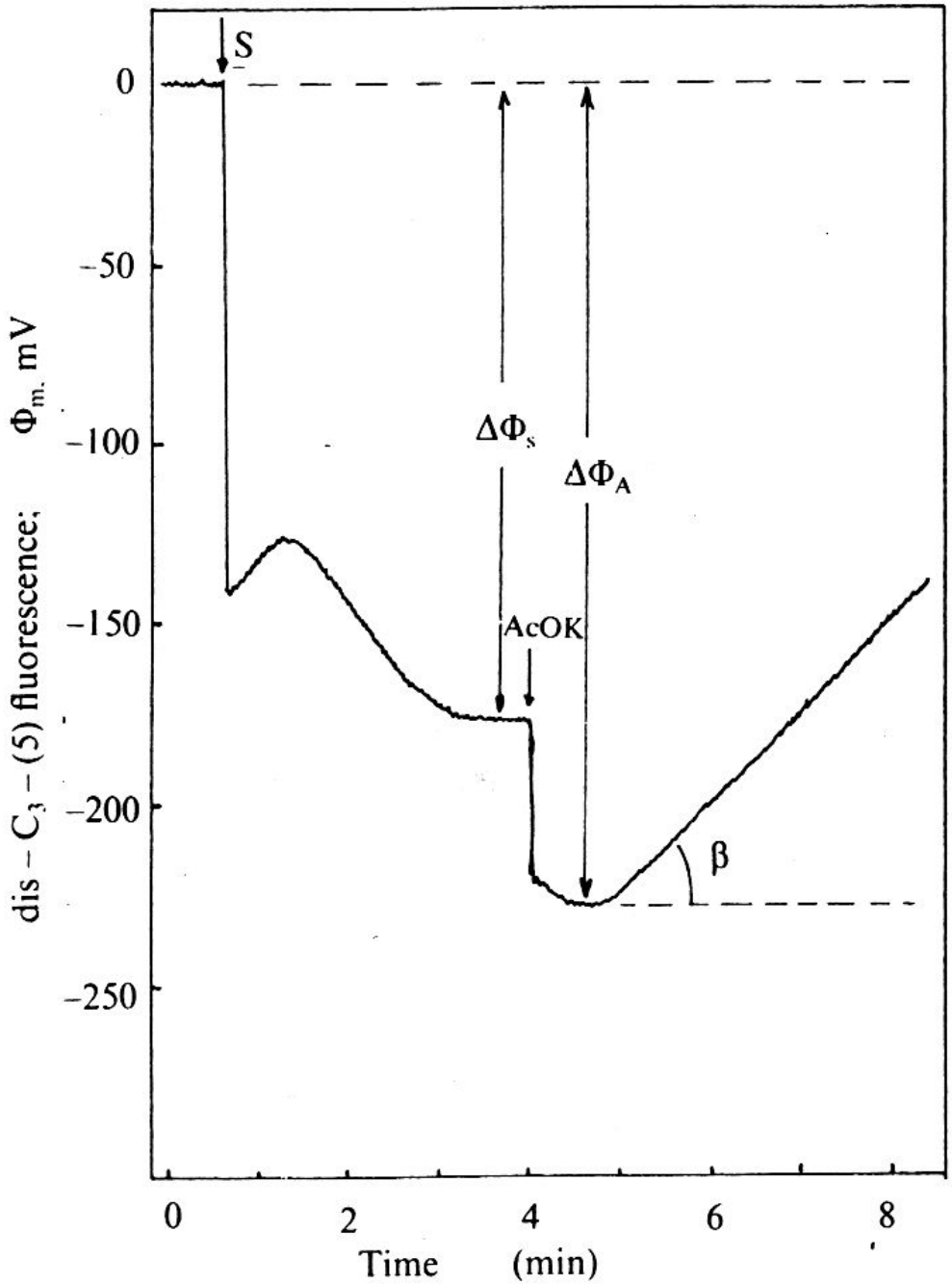
Release of hemoglobin from erythrocytes



Электрический пробой мембран митохондрий

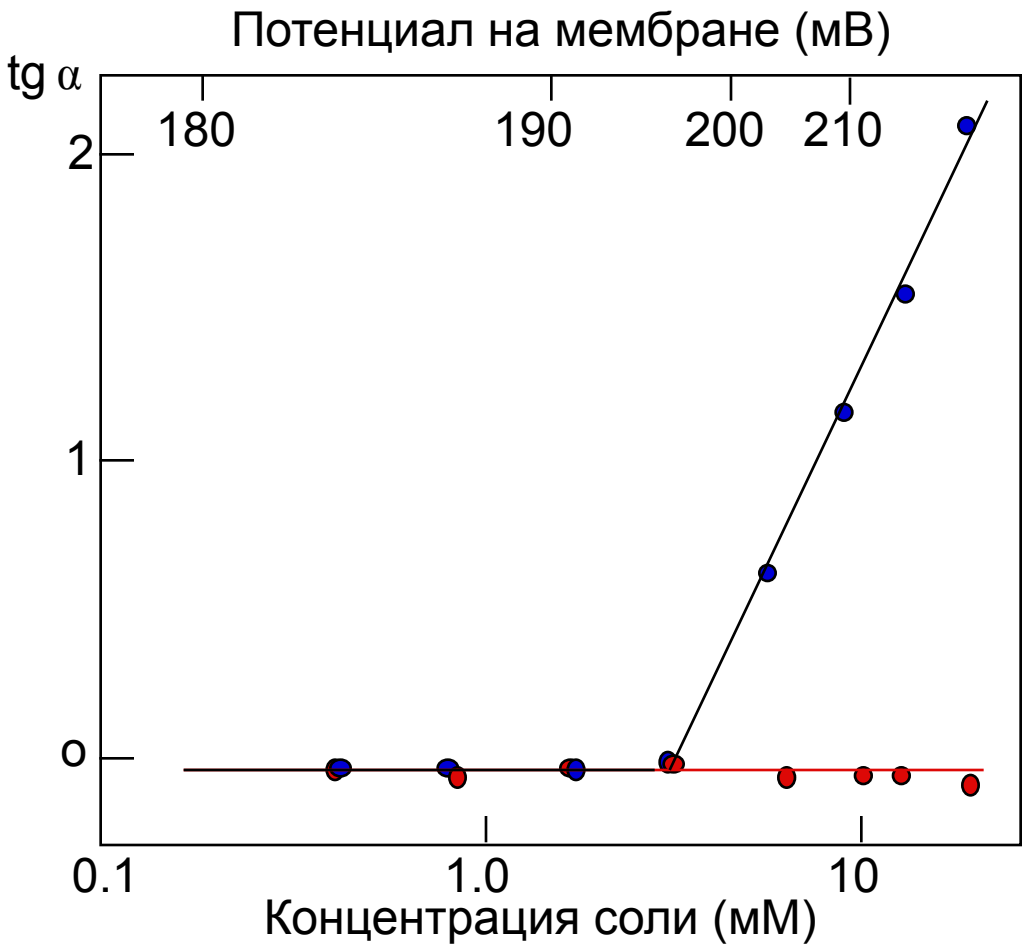
Электрический пробой внутренней мембраны митохондрий





Membrane potential changes in mitochondria upon their energization, the addition of permeant acid, and electrical breakdown, as assessed from variations in the fluorescence intensity of the probe diS-C3-(5). Precalibration of de-energized mitochondria in a KCl + valinomycin system enabled the variation in fluorescence to be expressed in membrane potential units (ϕ_m, mV). $\Delta\phi s$ is the change in potential inside the mitochondria after the addition of succinate to the mitochondrial suspension containing rotenone; ϕ_A is the change in potential after the addition of potassium acetate (AcOK). When the membrane is broken down electrically, i.e. when $\delta\phi_A \geq \phi^*$, the membrane potential falls (β).

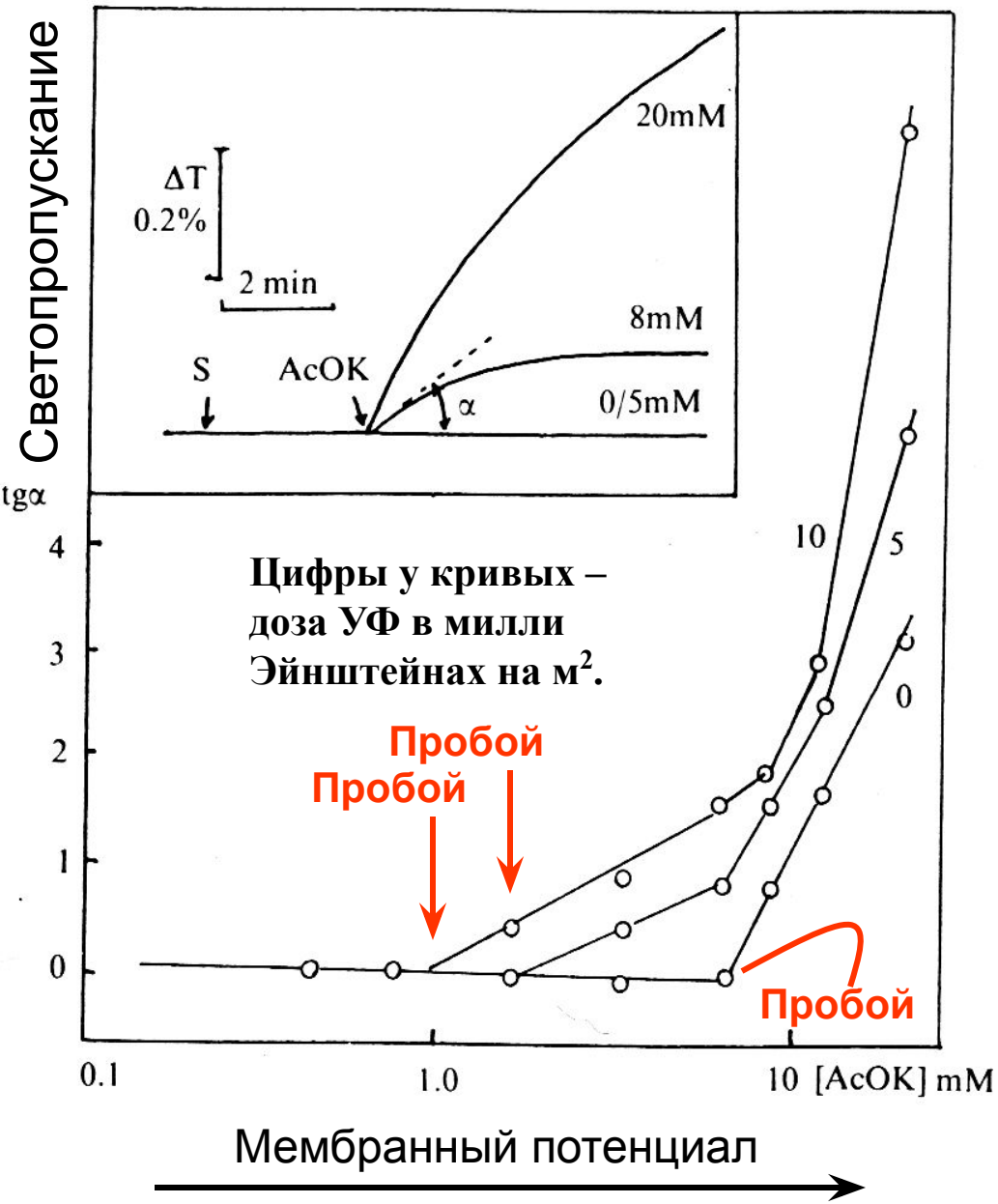
Скорость падения мембранного потенциала (tg α) при различных потенциалах на внутренней мембране



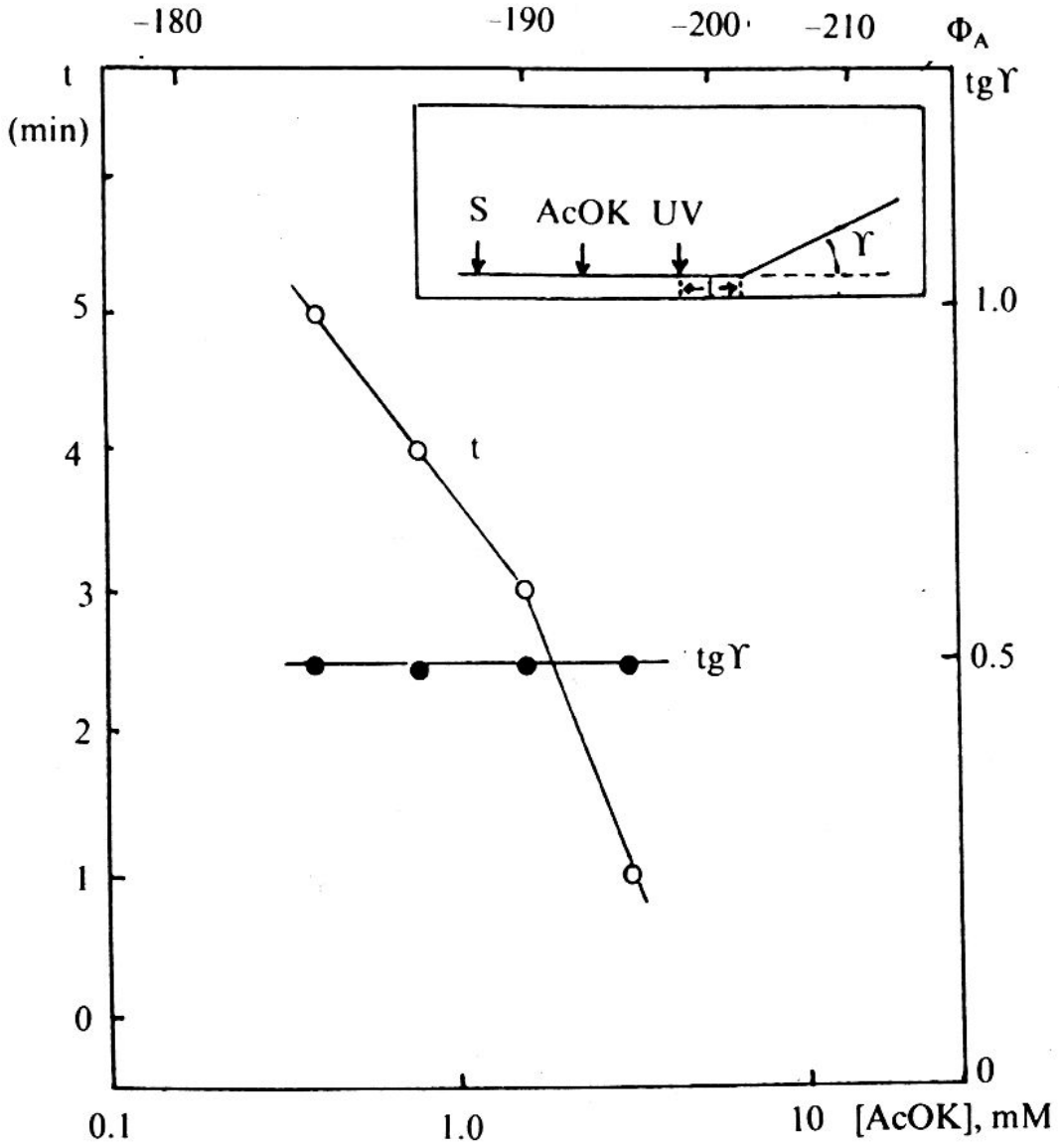
Tg α (см. предыдущий слайд) – жто скорость падения мембранного потенциала в результате электрического пробоя.

Добавление KCl не создает дополнительного потенциала на мембране и не приводит к пробою. При добавлении ацетата пробоцй наступает при мембранном потенциале выше 200 мВ.

Набухание митохондрий в результате электрического пробоя



При добавлении сукцината (S), а потом - ацетата (AcOK) создается мембранный потенциал, величина которого растет с увеличением концентрации AcOK. При больших концентрациях AcOK (8 и 20 мМ) и, следовательно, - высоких потенциалах (>200 мВ) происходит пробой мембраны и наблюдается набухание митохондрий (tga > 0).

Внизу дана зависимость скорости набухания митохондрий (tga) от концентрации ацетата.
После УФ облучения потенциал пробоя снижается.

УФ-доза, вызывающая набухание митохондрий тем меньше, чем выше мембранный потенциал