

钠离子在念珠菌素修饰的双层脂膜中的运送

邵子厚 H. Ti. Tien

(南京大学) (美国密执安州立大学)

提 要

本文研究了念珠菌素所修饰的双层脂膜的离子渗透性、离子选择性和 pH-膜电流的关系。发现该膜在一定的钠离子浓度范围内,可以作为 Na^+ 离子传感器,当膜两侧溶液存在着质子梯度时,念珠菌素起着—个钠离子载体的作用。

一个未修饰的双层脂膜的物化性质十分相似于一个厚度相同的液体的碳氢化物。这种双分子结构对亲脂化合物的阻力小,而对于水合的离子则阻力很大,因而,它不适合用作研究生物膜的离子运送的模型^[1]。

然而,人们发现某些抗菌素具有使化学性质相似的离子(如 K^+ 和 Na^+ , K^+ 和 NH_4^+ 等)选择性地透过生物膜和双层脂膜的能力^[2]。C. Moore 和 B. C. Pressman^[3] 在 1964 年首次指出缬氨霉素的阳离子选择性。此后,更有许多研究者用各种抗菌素,其中包括大环和开链的化合物作了系统的研究。

念珠菌素是由一种新的链霉素肉桂念珠菌素所产生的,具有生物活性的化合物是念珠菌酸,它是碱金属离子透过鼠肝线粒体的一种潜在的抑制剂,并具有广谱的抗球孢子菌素活性^[4]。现已对它的银盐做了 X-线结构分析,确定了它的组成,并研究了它对细胞膜及模型体系的作用^[5-8]。此外, E. L. Cussler 还研究了 Na^+ 离子在念珠菌素修饰的液膜的主动运送^[9]。

本文则着重研究念珠菌素所修饰的双层脂膜的离子渗透性、离子选择性、pH-膜电流的关系,并讨论了钠离子在该膜中运送的机制。

材 料 和 方 法

双层脂膜是用以往所述的方法制得^[10],可

用一架低倍显微镜来观测膜的形成过程。成膜溶液是先用十二烷和丁醇 (3:1) 组成的混合溶剂制得含有 1.5% 天然卵磷脂和 0.5% 胆甾醇的溶液,再用念珠菌素饱和,该液可以长期保存于冰箱中。

膜两侧的溶液为: (1) 一系列不同浓度的 NaCl (10^0 — 10^{-5} mol/L) 溶液; (2) 一系列不同浓度的氯化钠 (10^{-1} 和 10^{-2} mol/L) 溶液,双层脂膜两侧的溶液不搅拌,当膜变黑以后,膜电位和膜电流可用 Keithley 610c 和 616 型电表测定, Ag/AgCl 电极可通过盐桥与膜电池相连。

由于电流值甚小 (nA), 无论采用双电极或三电极体系, 所得到的伏安图差异甚微^[11]。本实验中采用双电极, 在膜两侧的溶液中分别插入一根饱和 KCl 甘汞电极并与 CV-1B 循环伏安仪 (Bioanalytical System Co.) 和 X-Y 记录仪相连。

所使用的盐类均为分析试剂, 念珠菌素的钠盐 (90—95%) 则由 Sigma 公司购得, 所有实验均在室温 ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) 下进行。

结 果 和 讨 论

1. 离子渗透性

当念珠菌素所修饰的双层脂膜形成以后, 膜两侧的氯化物溶液分别为 10^{-1} mol/L 和 10^{-2} mol/L 时, 可直接测量膜的电位, 并根据 Gold-

man-Hodgkin-Katz 方程求得阳离子和阴离子的渗透率 P_c 和 P_a ^[12]。

表 1 和表 2 分别列出了不同阳离子和不同阴离子对念珠菌素饱和了的双层脂膜的渗透性,从表中数据可见,阳离子的渗透性以钠离子最强,其序列为: $Na^+ > NH_4^+ > K^+ > Li^+$; 阴离子的渗透性以碘离子最强,其序列为: $I^- > F^- > Br^- > Cl^-$ 。

表 1 念珠菌素修饰的双层脂膜的阳离子渗透性

盐	$V_m(mV)^*$	P_c/P_a	P_{Na^+}/P_c
LiCl	33 ± 2	5.47	6.78
NaCl	53 ± 2	37.1	1.00
KCl	36 ± 2	6.78	5.47
NH_4Cl	38 ± 2	7.61	4.84

表 2 念珠菌素修饰的双层脂膜的阴离子渗透性

盐	$V_m(mV)^*$	P_c/P_a	P_a/P_{Cl^-}
NaF	46 ± 2	15.4	2.41
NaCl	53 ± 2	37.1	1.00
NaBr	48 ± 2	18.3	2.03
NaI	40 ± 2	8.86	4.19

* 膜两侧的浓度分别为 10^{-1} mol/L 和 10^{-2} mol/L 时, 3 次测得的电位平均值。

这就表明,在双层脂膜中的念珠菌素选择性地与 Na^+ 离子和 I^- 离子成键,在所试验的七种卤化物中,以 NaI 的渗透性最强。

2. 膜电位与溶液中 Na^+ 离子浓度的关系

在特定的条件下,一个修饰的双层脂膜类似于一个离子选择膜,即在膜两侧的浓度梯度下,离子扩散而产生的膜电位可用 Nernst 方程来描述。例如,碘-碘化物所修饰的双层脂膜对 I^- 离子具有选择性,当膜的两侧的碘离子浓度相差十倍时,可以产生 59mV 的电位^[13]。

在本实验中,膜内侧溶液的钠离子浓度比外侧高十倍。当膜变黑以后,可测定膜电位值。从表 3 的数据可见,在 10^{-1} — 10^{-4} mol/L 的钠离子浓度范围内,当膜两侧的溶液浓度相差十倍时,所测得的电位值为 51—57mV。这就说明了在这样的浓度范围内,双层脂膜可以看作为 Na^+ 离子选择性膜或 Na^+ 离子传感器,膜电

位与溶液中 Na^+ 离子浓度的关系符合 Nernst 方程。

表 3 念珠菌素修饰的双层脂膜电位和两侧溶液中钠离子浓度差之间的关系

内侧溶液中 Na^+ 离子浓度(mol/L)	外侧溶液中 Na^+ 离子浓度(mol/L)	膜电位 (mV)*
10^0	10^{-1}	32 ± 2
10^{-1}	10^{-2}	53 ± 2
10^{-2}	10^{-3}	55 ± 2
10^{-3}	10^{-4}	53 ± 2
10^{-4}	10^{-5}	36 ± 2

* 三次重复测定的电位平均值。

3. pH 对 NaI 体系膜电流的影响

通常,念珠菌素分子和它的金属盐在生理 pH 值下,会解离为带负电荷的阴离子,当金属离子存在下,水合的念珠菌素分子可能部分地被金属离子所取代。由于 pH 值的大小能直接影响念珠菌素的解离程度,因而,溶液中氢离子浓度的大小会对 Na^+ 离子在念珠菌素修饰的双层脂膜内的运送产生十分重要的影响。实验表明,当膜两边含有相同 Na^+ 浓度时 (0.01 mol/L NaI),在同一扫描范围和扫描速度下,膜电流 I_m 的数值明显地随着外侧溶液酸度的增大而增高(图 1)。

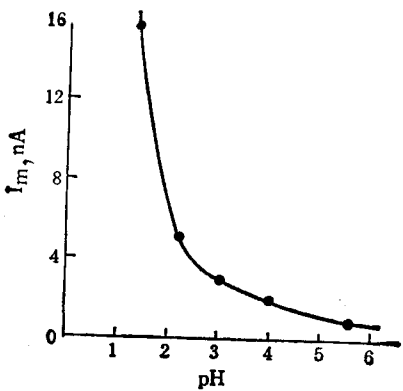


图 1 膜电流 I_m 和外侧溶液 pH 之间的关系

扫描速度 200 mV/s , 扫描范围 $\pm 50 \text{ mV}$, 内侧溶液 $\text{pH} = 5.47$ 。

这些结果可以用离子运送中形成载体配合物的机制来解释。根据这种机制(图 2),在念珠菌素的存在下,通过双层脂膜的电流是单位

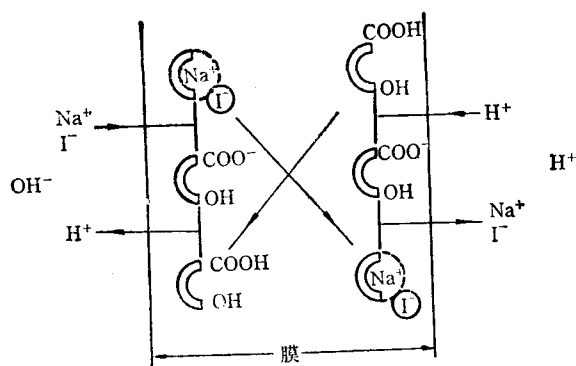


图2 在质子梯度下, Na^+ 离子在念珠菌素修饰的双层脂膜中运送的模型

时间内通过膜的离子流所造成的, 它应正比于膜内载体配合物的浓度。在本实验条件下, 在膜两侧的 Na^+ 离子浓度相同时, 念珠菌素配合物的浓度应取决于不同阴离子的亲脂性和溶液两侧的酸度差 ΔpH , 由于 I^- 的强亲脂性, 易进入膜相与念珠菌素- Na^+ 配离子形成离子对^[13]。实验表明, 当膜两侧溶液的 pH 值相同时, 在同一扫描范围内和同一扫描速度下, NaI 所得到的电流值要比其它卤化物约高 3.5 倍, 故又进一步研究了在该体系中膜两侧酸度差 ΔpH 对 I_m 的影响。

从图 2 可见, 由于膜内侧溶液的 pH 高于外侧溶液, 在内侧溶液与膜的界面上, 念珠菌素易于发生解离, 阴离子 C^- 的浓度要比膜外侧高。这种阴离子可在分子中羧基上带负电的氧原子和另一端的羧基之间形成氢键, 使其构型转变为一种环状的结构^[14]。而 Na^+ 离子则可

取代部分水化的水分子, 再与 I^- 离子一起形成离子对配合物。该配合物可沿着在双层脂膜中的浓度梯度从膜内侧运送至膜外侧, 并在膜外外表面上迅速解离为 Na^+ , I^- 和 C^- 离子。不过, 因膜外侧溶液的酸度大, 念珠菌素的阴离子 C^- 会质子化为 CH , 它又会在膜中沿着浓度梯度返回扩散至膜内侧, 重新解离为 C^- 和 H^+ , 念珠菌素起着钠离子载体的作用, 直至膜两侧溶液的质子梯度完全消失。

参 考 文 献

- [1] Tien, H. T.: *Bilayer Lipid Membrane (BLM): Theory and Practice*, Marcell Dekker, New York, 1974; *Prog in Surf. Sci.*, 1985, 19(3), 169.
- [2] Winkler, R.: *Structure and Bonding*, 1972, 10, 1.
- [3] Moore, C. and Pressman, B. C.: *Biochem. Biophys. Res-Commun.*, 1964, 15, 562.
- [4] Graven, S. N. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1966, 56, 654.
- [5] Lutz, W. K. et al.: *Helv. Chim. Acta.*, 1970, 53, 1741.
- [6] Friik, P. U. et al.: *Helv. Chim. Acta.*, 1971, 54, 2767.
- [7] Pinkerton, M. et al.: *J. Mol. Biol.*, 1980, 49, 533.
- [8] Agtarap, A. et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89, 5737.
- [9] Cussler, E. L. et al.: *Science* 1971, 172, 377.
- [10] Tien, H. T.: *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 1986, 15, 19.
- [11] Tien, H. T. and Kutnik, J.: *Photobiochem. Photobiophys.*, 1986, 7, 319.
- [12] Benz, R. et al.: *Am. NY Acad. Sci.*, 1980, 358, 13.
- [13] Tien, H. T. and Diana, L. A.; *J. Colloid. Interface. Sci.*, 1967, 24, 287.
- [14] Lutz, W. K. et al.: *Helv. Chim. Acta.*, 1971, 54, 1103.

[本文于 1987 年 11 月 11 日收到]

(上接第453页)

and Techniques, 2nd ed., Marcel Dekker, Inc, New York and Basel, 1978, p.250.

- [5] 吴有光等:《遗传与疾病》, 1986, 3, 26.
- [6] 吴有光等:《色谱》, 1987, 5, 256.
- [7] 吴有光:《分析化学》, 1987, 15, 945.

- [8] 南国华等:《江西医学院学报》, 1984, (3), 26.
- [9] 吴有光等:《色谱》, 1984, 1(2), 138.

[本文于 1987 年 9 月 21 日收到]