

цинских изображений, отражающих спонтанную, либо вызванную динамику биологического объекта. Это открывает новые возможности в функциональной диагностике с помощью динамических исследований и может быть особенно актуально для раннего обнаружения патологий. Следует подчеркнуть, что изложенные выше методы применимы к анализу любых распределенных динамических систем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Image Sequence Analysis/Ed. T. S. Huang.— N. Y.: Springer, 1981.
2. Image Sequence Processing and Dynamic Scenes Analysis/Ed. T. S. Huang.— N. Y.: Springer, 1983.
3. Гудиев Ю. В., Годик Э. Э. Физические поля биологических объектов.— Вестн. АИ СССР, 1983, № 8.
4. Natarajan T. K., Wagner H. N. Functional images of the lungs.— Dynamic Studies with Radioisotopes in Medicine, Wienn, 1974, v. 2, p. 357—367.
5. Toyama H., Iio M., Isaka J. Color functional images of the cerebral blood flow.— J. Nuclear Medicine, 1976, v. 17, p. 953—958.
6. Гонсалес Р., Ту Дж. Принципы распознавания образов.— М.: Мир, 1978.

Поступила в редакцию 12 ноября 1985 г.

УДК 577.352.26 : 612.8

**В. Г. БУДКЕР, Ю. Я. МАРКУШИН, А. С. РАТУШНЯК,
В. А. СУЮШЕВ, М. Б. ШТАРК**
(Новосибирск)

АЛГОРИТМ КОМПЛЕКСНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ (ПОЛИСАХАРИДОВ) НА СВОЙСТВА ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЫ

В последние годы большое внимание уделяется задачам скрининга биологически активных веществ при помощи модельных мембран. В связи с этим возникает проблема комплексного измерения параметров мембраны, модифицированной полисахаридами, полинуклеотидами, белками и т. д. Необходимость многократных измерений стандартного набора параметров делает актуальной задачу автоматизации данного процесса. С этой целью предпринята попытка разработки алгоритма комплексного исследования влияния полисахаридов на свойства липидной мембраны.

Наружная поверхность плазматических мембран клеток большинства тканей находится в тесном контакте со структурой внеклеточного матрикса. Один из основных компонентов матрикса — гликозаминогликаны. Как становится ясно, эти биополимеры не только реализуют механические функции, но также оказывают существенное влияние и на внутриклеточные процессы: синтез полисахаридов, клеточную дифференцировку и пролиферацию [1].

Взаимодействие гликозаминогликанов с плазматической мембраной может осуществляться не только со специфическими белками, но и с липидными фрагментами. Показана возможность взаимодействия кислых полисахаридов с фосфолипидными мембранами [2]. Сульфатированный полисахарид (гепарин) способен образовывать прочные комплексы с фос-

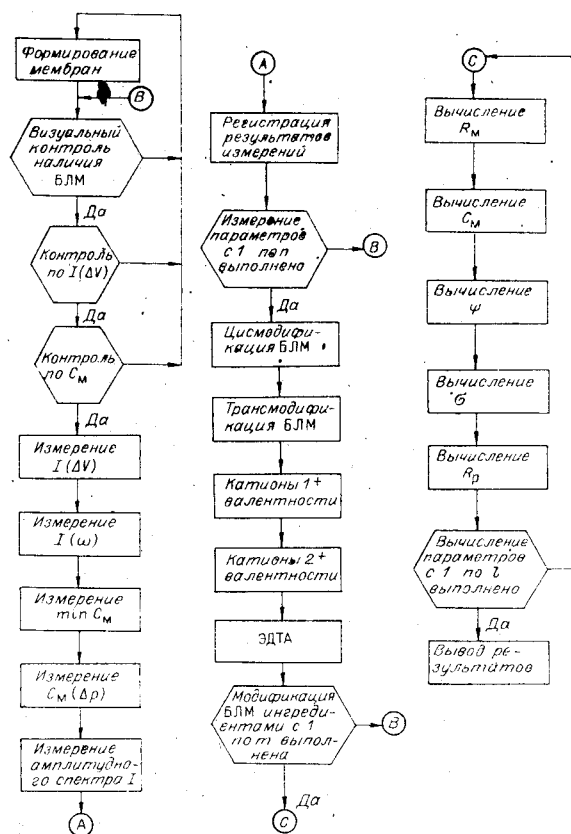


Рис. 1. Алгоритм эксперимента по измерению параметров липидной мембраны, модифицированной биологически активными веществами — полисахаридами: $I(\Delta V)$ — вольт-амперная характеристика БЛМ; C_M — электрическая емкость; $I(\omega)$ — амплитудно-частотная характеристика; $\min C_M$ — минимальное значение C_M при компенсации внутримембранного поля; $C_M(\Delta p)$ — зависимость C_M от величины разности гидростатического давления; R_M — сопротивление БЛМ; Ψ — поверхностный потенциал; σ — коэффициент поверхностного натяжения; R_p — радиус мембранных пор

фатидилхолиновыми (ФХ) липосомами в присутствии катионов Ca^{2+} . Образование подобного комплекса приводит к увеличению температуры фазового перехода ФХ [3]. Следовательно, при образовании комплекса происходит изменение структуры фосфолипидного бислоя.

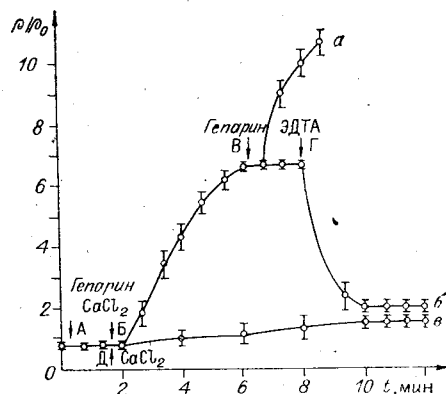
Данная работа посвящена изучению: 1) изменений электрических и механических характеристик бислоевой липидной мембраны (БЛМ); 2) процессов каналообразования при адсорбции кислых полисахаридов на модельной мембране.

Материалы и методы. Алгоритм измерения мембранных характеристик включает в себя следующую последовательность операций: формирование мембраны; контроль наличия БЛМ; измерение мембранных характеристик; регистрация результатов измерений; модификация мембраны; вычисление мембранных параметров; вывод результатов. Алгоритм приведен на рис. 1.

С целью отработки алгоритма проводилось исследование взаимодействия полисахаридов с фосфолипидной мембраной. ФХ из куриных яиц получался и очищался, как описано в работе [4]. ФХ растворялся в смеси н-декана, хлороформа, метанола в соотношении 5:2:1 с концентрацией 28 мг/мл. БЛМ формировалась на 1–2-миллиметровом отверстии в тefлоновой ячейке, заполненной 10 мМ буферным раствором трис-НСl, рН 7,8, объем рабочей части ячейки 2 см³. Конструкция кюветы позволяла устанавливать Т-образные магнитные мешалки для перемешивания

Рис. 2. Изменение проводимости мембраны (в отн. ед.):

стрелками указаны моменты добавления веществ: А-гепарин — 4 мкг/мл по одну сторону БЛМ (кривые а, б); Б- CaCl_2 — 2 мМ концентрация по обе стороны БЛМ (кривые а, б); В-гепарин — 4 мкг/мл по другую сторону БЛМ (кривая а); Г-ЭДТА — перекрывающая концентрация по обе стороны БЛМ (кривая б); Д- CaCl_2 — 2 мМ концентрация по обе стороны БЛМ в отсутствие гепарина (кривая в)



водного раствора. С целью электрических измерений использовались хлорсеребряные электроды с видимой поверхностью не менее 1 см^2 или рН-метрические электроды сравнения типа ЭВЛ-1МЗ. В случае необходимости электроды отделялись от рабочего объема агаровыми мостиками. Контроль за формированием БЛМ осуществляется визуально («почернение» мембраны в отраженном свете) и электрически (установление стационарного уровня емкости БЛМ $C_m = C_{уд}S$ (мкФ), где S — площадь бислойа (см^2), $C_{уд} = 0,33 \text{ мкФ/см}^2$ — удельная емкость ФХ БЛМ) [5–8]. Электрическая емкость определялась при помощи анализатора спектра СК-4-56 посредством измерения импеданса мембраны с последующим подбором параметров эквивалентной схемы БЛМ.

Разделение емкостной (БЛМ) и активной (буфер) составляющих тока проводилось в частотном диапазоне 20 Гц — 20 кГц, амплитуда синусоидального напряжения 20 мВ. Для измерения электропроводности БЛМ использовался программируемый генератор сигналов специальной формы Г6-31. На мембрану подавалось напряжение треугольной формы с частотой $2 \cdot 10^{-2}$ Гц и амплитудой 5–50 мВ. При измерении флуктуаций тока использовался преобразователь ток — напряжение на базе микросхемы WSH 223 В. Преобразователь имел следующие параметры: коэффициент преобразования ток — напряжение $2,5 \cdot 10^{-10} \text{ А/В}$, шумовой ток $2 \cdot 10^{-13} \text{ А}$.

Результаты эксперимента. *Электромеханические свойства модифицированной мембраны.* Добавление гепарина по одну сторону мембраны до концентрации в объеме 4 мкг/мл не вызывает изменения проводимости и емкости БЛМ (симметрично добавляли тот же объем буфера). Последующее добавление CaCl_2 по обе стороны мембраны до концентрации в объеме 2 мМ приводит к 7-кратному повышению проводимости (рис. 2, а) и увеличению емкости на 5–6%. Добавление гепарина по другую сторону мембраны способствует дальнейшему росту проводимости, нередко приводя к разрыву мембраны. Добавление CaCl_2 в отсутствие гепарина практически не влияет на проводимость и емкость БЛМ.

Кроме гепарина, испытывался ряд других полисахаридов: декстран сульфат, гиалуриновая кислота, декстран, диэтиламиноэтилдекстран (рис. 3). Было показано, что химически родственная, но несущая вместо сульфогрупп карбоксильные группы гиалуриновая кислота при концентрации 9 мкг/мл в присутствии 11 мМ CaCl_2 также увеличивает проводимость БЛМ примерно в 10 раз (рис. 4). Особенно сильное воздействие на мембрану оказывал декстран сульфат, мономерная единица которого отличается от гепарина и гиалуриновой кислоты, однако этот полимер несет сульфогруппу подобно гепарину. При концентрации декстран сульфата 4 мкг/мл в присутствии 11 мМ CaCl_2 произошло увеличение проводимости БЛМ более чем в 150 раз (см. рис. 4). Незаряженный полимер декстран и полимер, несущий положительно заряженные группы, — диэтиламиноэтилдекстран — не оказали влияния на сопротивление мембраны. Таким образом, наличие отрицательно заряженных групп является

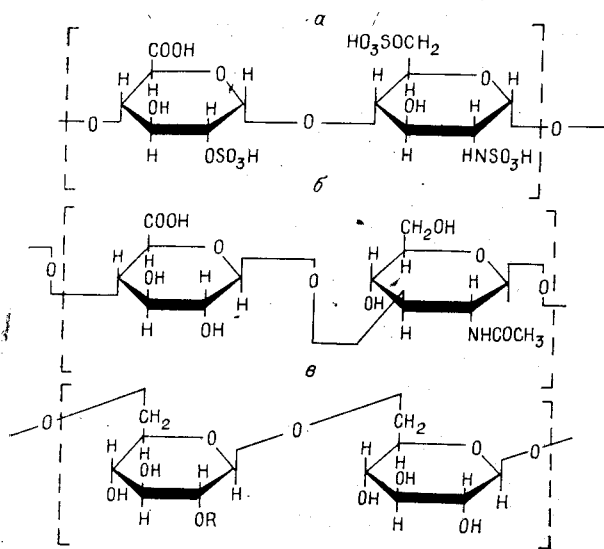


Рис. 3. Гепарин (а), гиалуроновая кислота (б), декстран ($R = H$), декстран сульфат ($R = SO_3H$) (в)

обязательным условием изменения проводимости мембраны в присутствии катионов Ca^{2+} . Можно видеть, что в условиях, допускающих образование тройного комплекса гепарин — Ca^{2+} — мембрана, происходит существенное увеличение проводимости и емкости мембраны. В присутствии ЭДТА комплекс диссоциирует, и это приводит к восстановлению электрических характеристик БЛМ (см. рис. 2—4). В работе [2] рассматриваются два альтернативных варианта формирования комплекса гепарина с фосфолипидной мембраной: образование связи Ca^{2+} с фосфатами липидов и взаимодействие положительно заряженных остатков холина с гепарином; образование связи между фосфатами липидов при участии Ca^{2+} и сульфогруппами гепарина. Как показывают полученные нами результаты, одновалентные катионы Na^+ смещают в сторону увеличения эффективную концентрацию Ca^{2+} . Это делает более вероятной вторую модель.

Наблюдаемые эффекты возрастания проводимости связаны с адсорбцией полианионов на мембране. Эта адсорбция сопровождается появлением поверхностного заряда на мембране. Для определения плотности поверхностного заряда БЛМ при односторонней адсорбции гепарина использовался метод компенсации внутримембранного поля [5, 6]. При наложении на мембрану электрического поля емкость мембраны C_m изменяется по квадратичному закону:

$$C_m = C_0 + \alpha C_0 (\Delta V + \Psi),$$

где C_0 — емкость БЛМ в отсутствие электрического поля; α — коэффи-

цирует, и это приводит к восстановлению электрических характеристик БЛМ (см. рис. 2—4). В работе [2] рассматриваются два альтернативных варианта формирования комплекса гепарина с фосфолипидной мембраной: образование связи Ca^{2+} с фосфатами липидов и взаимодействие положительно заряженных остатков холина с гепарином; образование связи между фосфатами липидов при участии Ca^{2+} и сульфогруппами гепарина. Как показывают полученные нами результаты, одновалентные катионы Na^+ смещают в сторону увеличения эффективную концентрацию Ca^{2+} . Это делает более вероятной вторую модель.

Наблюдаемые эффекты возрастания проводимости связаны с адсорбцией полианионов на мембране. Эта адсорбция сопровождается появлением поверхностного заряда на мембране. Для определения плотности поверхностного заряда БЛМ при односторонней адсорбции гепарина использовался метод компенсации внутримембранного поля [5, 6]. При наложении на мембрану электрического поля емкость мембраны C_m изменяется по квадратичному закону:

$$C_m = C_0 + \alpha C_0 (\Delta V + \Psi),$$

где C_0 — емкость БЛМ в отсутствие электрического поля; α — коэффи-

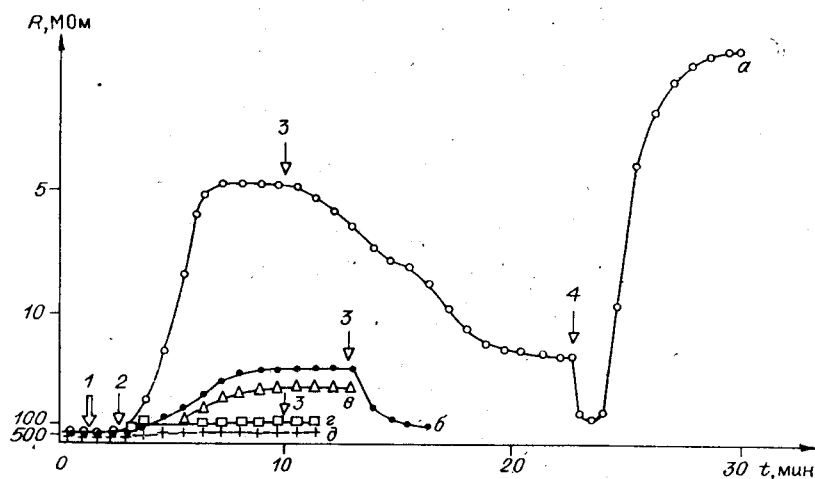


Рис. 4. Зависимость сопротивления БЛМ R от времени при адсорбции полисахаридов: а — декстран сульфата, 4 мкг/мл, б — гепарина, 4 мкг/мл, в — гиалуроновой кислоты, 9 мкг/мл, г — декстрана, 4 мкг/мл, д — диэтиламиноэтилдекстрана, 4 мкг/мл, 1 — добавление полисахаридов, 2 — добавление $CaCl_2$, 11 мМ, 3 — добавление ЭДТА, 15 мМ, 4 — добавление $CaCl_2$, 34 мМ

циент пропорциональности, постоянный для данной БЛМ; ΔV — трансмембранный потенциал; Ψ — внутримембранный потенциал, связанный с появлением поверхностного заряда при адсорбции полисахарида.

Это изменение связано с электрострикционным уменьшением толщины бислоя и перетеканием растворителя *n*-декана в «микролинзы» [6]. На мембрану подавалось треугольное напряжение амплитудой 60 мВ и длительностью около 10^2 с. При этом минимум кривой $C_m(\Delta V + \Psi)$ соответствовал случаю $\Delta V = -\Psi$. Таким образом определялся внутримембранный потенциал. При адсорбции гепарина $4 \cdot 10^{-3}$ мкг/мл в присутствии катионов Ca^{2+} (6 мМ) на фосфатидилхолиновой мембране минимум C_m достигался при 10 мВ. Таким образом, $\Psi = -10$ мВ и плотность поверхностного заряда

$$\delta = C_0 \Psi / S_m = 4 \cdot 10^{-9} \text{ Кл/см}^2 = 2,5 \cdot 10^{10} e/\text{см}^2,$$

где e — заряд электрона (Кл).

Эта величина позволяет оценить количество полисахаридов, адсорбированных на мембране. Количество свободных сульфогрупп на поверхности мембраны, учитывая ее размеры $3 \cdot 10^{-3}$ см², составляет примерно 10^8 . Примем константу ассоциации Ca^{2+} с полисахаридами 10^4 моль⁻¹. Считая, что константа ассоциации катионов в тройном комплексе значительно отличается от такой величины (это, по крайней мере, справедливо для аналогичного комплекса с ДНК [2]), находим, что при данных концентрациях Ca^{2+} и гепарина свободные сульфогруппы составляют 1/600 часть. С учетом этого на мембране адсорбировано соответственно $6 \cdot 10^{10}$ сульфогрупп. В то же время можно рассчитать формально поверхностную емкость мембраны для полисахаридов: учитывая, что размер одного звена 0,6 нм, а диаметр цепи 2 нм, получаем, что на мембране может разместиться $3 \cdot 10^{11}$ мономерных звеньев или примерно $2 \cdot 10^{11}$ сульфогрупп. Сопоставление этих цифр показывает, что значительная часть поверхности мембраны занята полисахаридными молекулами.

Адсорбция полианионов меняет механические свойства мембран. Измерение поверхностного натяжения БЛМ σ проводилось гидростатическим методом [7]:

$$r \Delta p = 4\sigma(2C_0/C) \sqrt{C/C_0 - 1},$$

где Δp — избыточное гидростатическое давление; C_0 , C — емкости плоской и деформированной мембраны соответственно; r — радиус мембраны.

Перепад водных уровней в разных отсеках составлял 0,3–0,6 мм. Измерения емкости мембраны проводились на частоте 250 Гц при амплитуде переменного напряжения около 20 мВ. При добавлении гепарина $5 \cdot 10^{-3}$ мкг/мл симметрично в оба отсека кюветы в присутствии 2 мМ CaCl_2 поверхностное натяжение уменьшалось с $9 \cdot 10^{-4}$ до $7,4 \cdot 10^{-4}$ Н/м. Точность измерения перепада водных уровней и составляет около $4 \cdot 10^{-5}$ Н/м. Таким образом, при адсорбции полисахаридов наблюдается уменьшение поверхностного натяжения σ мембраны.

Флуктуации мембранного тока. Проводимость искусственных мембран типа БЛМ примерно 10^4 Ом·м². При добавлении малых количеств некоторых каналобразующих веществ можно создать в этих мембранах небольшое количество ионных каналов. Поскольку с обеих сторон мембраны используются электроды с малым импедансом, проводимость может быть измерена с гораздо большим разрешением, чем в любых других мембранах. В этом случае удается зарегистрировать изменения проводимости, возникающие за счет открытия и закрытия отдельных каналов. Изучение типов каналов, появляющихся при введении в БЛМ каналобразующих веществ, поможет предсказать свойства каналов в биологических мембранах. Обнаруженное нами явление уменьшения сопротивления мембраны может объясняться следующими альтернативными процессами: 1) увеличение проницаемости мембраны для анионов

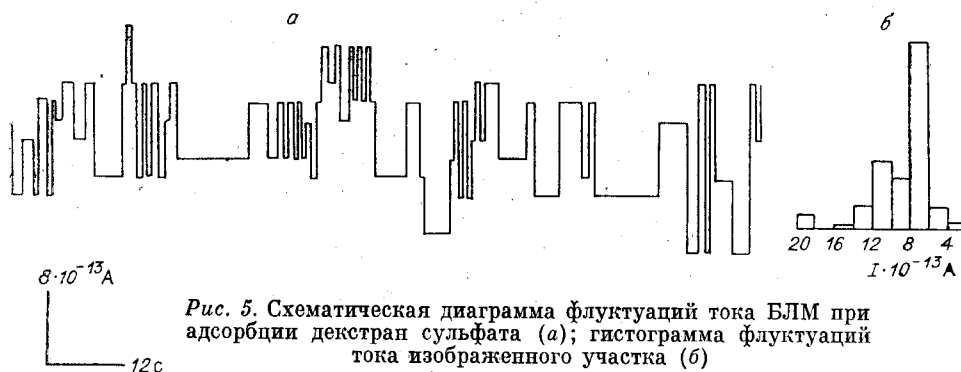


Рис. 5. Схематическая диаграмма флуктуаций тока БЛМ при адсорбции декстран сульфата (а); гистограмма флуктуаций тока изображенного участка (б)

и катионов; 2) появление временных или постоянных гидрофильных каналов в мембране.

Эти варианты можно дискриминировать в эксперименте. При образовании каналов должны наблюдаться флуктуации проводимости. В режиме постоянного потенциала длительность импульсов тока отражает время жизни поры, частота появления импульсов — количество пор в мембране, а амплитудные характеристики — размеры каналов, их проницаемость. Естественно, что регистрация и анализ этих процессов возможен, когда количество образующихся каналов достаточно мало.

Измерения осуществлялись в условиях, когда наблюдается только незначительное изменение общей проводимости БЛМ, т. е. когда можно ожидать единичные события. Поэтому эксперименты проводились с декстран сульфатом (2 мкг/мл) в присутствии 0,1 мМ CaCl_2 . При адсорбции декстран сульфата наблюдались флуктуации мембранного тока, указывающие на появление сквозных ионных каналов (рис. 5). Отметим, что RC бислойной мембраны составляет примерно 0,1 с, поэтому процессы с временами $\ll 0,1$ с не регистрировались. Улучшить частотные характеристики мембраны можно, уменьшая площадь бислоя (при фиксированном числе каналов), меняя сечение отверстия в ячейке или используя технику ПЭТЧ — КЛАМП [8, 9].

Проведем количественную оценку размеров ионных каналов. Метод расчета основан на уравнивании электрической силы (движущей силы), действующей на ион, с силами трения, направленными против движения иона (диссипативная сила) [10, 11]. В приближении постоянного поля движущая сила

$$eE = F\Delta V/Nl,$$

где N — число Авогадро; F — число Фарадея; l — длина поры; E — сила электрического поля; e — элементарный заряд; ΔV — разность потенциалов на мембране. Сила торможения, обусловленная трением, дается по Левиту [11] как

$$F_T = \eta a N_\lambda (u - G_\lambda \bar{v}),$$

где F_T — сила торможения; η — вязкость среды; a — радиус гидратированного иона; u — скорость растворенного вещества (иона); \bar{v} — скорость растворителя; N_λ и G_λ — коэффициенты торможения, которые зависят от геометрии поры и положений в поре иона. Уравнение этих сил

$$F\Delta V/Nl = \eta a N_\lambda (u - G_\lambda \bar{v}).$$

Приведем конечное выражение для определения зависимости $I/\Delta V$ от λ , здесь I — электрический ток через пору; $\lambda = a/R_p$; R_p — радиус поры [10]:

$$I \left[1 - \frac{C2\pi a^2 f_{1W}^0}{8\pi \eta F} K(\lambda) \right] = \frac{2\pi a^2 C F \Delta V}{Nl \eta a} J(\lambda),$$

где $C = 10^{-2}$ М; $\eta = 6 \cdot 10^{-3}$ пуаз; $a = 1,81$ для Cl^- ; $l = 5$ нм; $f_{1W}^0 = 6l\eta a$ — коэффициент трения для отдельного иона (для Cl^- он равен $2,0 \times 10^{12}$ Н · с · моль/м).

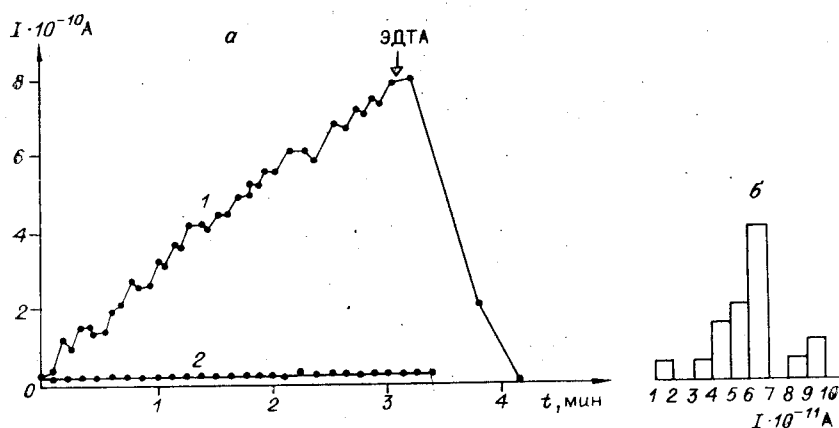


Рис. 6. Рост мембранного тока при адсорбции декстран сульфата (4 мкг/мл) в присутствии 1 мМ CaCl_2 (кривая 1), в бескальциевом растворе (кривая 2) (а); мембранный ток фосфатидилхолиповой БЛМ ($\Delta V_m = 10$ мВ), гистограмма флуктуаций тока изображенного участка (б)

Полиномы для аппроксимации интегралов:

$$J(\lambda) = \frac{1 - 2,1054\lambda + 2,0805\lambda^3 - 1,7068\lambda^5 + 0,72603\lambda^6}{6\pi(1 - 0,75857\lambda^5)} \frac{(1 - \lambda)^2}{2\lambda^2};$$

$$K(\lambda) = \frac{2(1 - 0,667\lambda^2 - 0,20217\lambda^5)}{1 - 0,75857\lambda^5} \frac{(1 - \lambda)^2}{2\lambda^2}.$$

Используя численные значения $J(\lambda)$ и $K(\lambda)$, приведенные в [8, 9], получим

$$J(\lambda) = 2,850(1 - 2,731 \cdot 10^{-4} K(\lambda)).$$

При этом радиус поры R_p примерно равен 1,8 нм. Оценка размера поры в омическом приближении

$$R_p^2/r^2 = I_p/I_{\text{отв}},$$

где I_p — ток через пору; $I_{\text{отв}}$ — ток без мембраны. Решение этого уравнения дает близкое значение $R_p \approx 2$ нм.

Флуктуации проводимости наблюдаются и на фоне некоторого роста общей проводимости (рис. 6). Отмечено, что при достижении высокого уровня проводимости возникают высокоамплитудные колебания проводимости с пологими фронтами длительностью около 1 мин, амплитудой около $6 \cdot 10^{-11}$ А. Проводимость этих колебаний равняется проводимости водных пор диаметром 13 нм.

Обсуждение. В настоящее время трудно сказать, какова природа образующихся каналов. Нужно рассмотреть некоторые возможные варианты. Как показано ранее [3], при адсорбции декстран сульфата на ФХ-липосомах происходит увеличение температуры фазового перехода и наблюдается образование двух необменивающихся фаз, что эквивалентно снижению подвижности жирно-кислотных остатков липидных молекул. Этот факт указывает на то, что в комплексе с гепарином подвижность молекулы существенно снижена. Таким образом, в плоскости мембраны возникают участки более плотной упаковки. На границе таких доменов, как показано в ряде работ, происходит резкое увеличение проницаемости для ионов. Очевидно, что характерные размеры образующихся ионных каналов должны быть порядка размера липидных молекул, т. е. 1 нм. Наблюдаемые эффекты 10–500-кратного возрастания проводимости связаны с адсорбцией полианионов на мембране. Такая адсорбция сопровождается появлением поверхностного заряда плотностью около $4 \cdot 10^{-9}$ Кл/см². Как показано выше, это означает, что значительная часть мембраны занята полисахаридными молекулами. Адсорбция полианионов меняет

механические свойства мембран, наблюдается уменьшение поверхностного натяжения с $9 \cdot 10^{-4}$ до $7,4 \cdot 10^{-4}$ Н/м, в то время как при адсорбции белков на мембране [10] и адсорбции Ca^{2+} на заряженной мембранной поверхности [2] поверхностное натяжение увеличивается.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что при низких физиологических концентрациях Ca^{2+} может происходить прочная адсорбция кислых полисахаридов на ФХ части биологических мембран, и эта адсорбция способна существенно менять барьерные свойства мембраны. Можно предположить, что изменения такого рода могут быть пусковыми процессами внутриклеточного метаболизма, индуцируемыми кислыми полисахаридами.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Aplin J. D., Hughes R. C.** Complex carbohydrates of the extracellular matrix structures, interactions and biological roles.— *Biochim. et Biophys. Acta*, 1982, v. 694, p. 375.
2. **Kim Y. C., Nishida T. J.** Nature of the interaction of dextran sulfate with high and low density lipoproteins in the presence of Ca^{2+} .— *J. Biol. Chem.*, 1979, v. 254, N 19, p. 9621.
3. **Gruzdev A. D., Khramtsov V. V., Weiner L. M., Budker V. G.** Fluorescence polarization study of the interaction of biopolymers with liposomes.— *FEBS Lett.*, 1982, v. 137, N 2, p. 227.
4. **Budker V. G., Godovikov A. A., Naumova L. P., Slepneva I. A.** Interaction of polynucleotides with natural and model membranes.— *Nucleic Acids Res.*, 1980, v. 8, N 11, p. 2499.
5. **Schoch P., Sargent D. F., Schwyzer R.** Capacitance and conductance as tools for the measurement of asymmetric surface potentials and energy barriers of lipid bilayer membranes.— *J. Membrane Biol.*, 1979, v. 46, N 1, p. 71.
6. **White S. H., Chang W.** Voltage dependence of the capacitance and area of black lipid membranes.— *Biophys. J.*, 1981, v. 36, N 2, p. 449.
7. **Ивенец И., Скейлак Р.** Механика и термодинамика биологических мембран.— М.: Мир, 1982.
8. **Hamill O. P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F. J.** Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches.— *Pflügers Arch.*, 1981, v. 391, p. 85.
9. **Hanke W., Methfessel C., Wilmsen U., Boreim G.** Ion channel reconstitution into lipid bilayer membranes on glass patch pipettes.— *Bioelectrochem. and Bioenerg.*, 1984, v. 12, N 3—4, p. 329.
10. **Антонов В. Ф.** Липиды и ионная проницаемость мембран.— М.: Наука, 1982.
11. **Levitt D. G.** General continuum analysis of transport through pores. II. Nonuniform pores.— *Biophys. J.*, 1975, v. 15, p. 553.
12. **Ивков В. Г., Берестовский Г. Н.** Динамическая структура липидного бислоя.— М.: Наука, 1981.

Поступила в редакцию 26 декабря 1985 г.