

Selective transport characteristics of alkali metal ions through a cell membrane model which irradiated by γ -ray.

Inho Ko^{*}, Jindong Yeo^{**}

Dept. of Radiological Technology, Cheju Halla University, Dept. of Radiological Technology, Sorabol University

감마선이 조사된 세포막모형을 통한 알칼리금속 이온의 선택적 전달 특성

고인호^{*}, 여진동^{**}

제주한라대학교 방사선과^{*}, 서라벌대학교 방사선과^{**}

Abstract

The selective transport characteristics of K^+ and Na^+ of cell membrane model which irradiated by ^{60}Co γ -ray was investigated. The cell membrane model used in this experiment was a Na^+ type sulfonated copolymerized membrane of styrene and divinylbenzene.

The initial flux of the ion was increased with increase of both H^+ ion concentration. In this experiment range(pH 0.5-3, temperature 15-65°C), first, the selectivity of K^+ and the ratio K^+/Na^+ of membrane which was not irradiated was about 1.06 - 1.13 and second, that of K^+ and the ratio K^+/Na^+ of membrane which was irradiated was near about 0. And the driving force of pH of irradiated membrane was significantly increased about 4-5 times than membrane which was not irradiated. As selective transport of K^+ and Na^+ of cell membrane model were abnormal, cell damages were appeared at cell.

key words : γ -ray, Na^+ polystyrene-divinylbenzene sulfonated copolymerized membrane, Selective transport characteristics

요약

감마선이 조사된 세포막 모델에서 K^+ 와 Na^+ 의 선택적 전달특성을 연구하였다. 이 실험에 사용된 세포막 모델은 Na^+ 슬폰화 폴리스티렌-디비닐벤젠(polystyrene-divinylbenzene) 혼성 중합막을 사용하였다. 이온의 초기플럭스는 H^+ 이온 농도의 증가와 함께 증가하였다. 이 실험의 조건을 pH 0.5-3, 온도 15-65°C로 하여 첫 번째 조사되지 않은 막의 K^+ 와 K^+/Na^+ 의 선택도는 약 1.06 - 1.13이고 두 번째 조사된 막의 K^+ 와 K^+/Na^+ 의 선택도는 약 0에 가깝다. 조사된 막의 pH의 추진력은 조사되지 않은 막보다 약 4-5배 정도 유의성 있게 증가하였다. 세포막모델에서 K^+ 와 Na^+ 의 선택적 전달특성이 비정상적이기 때문에 세포장해가 세포에서 발현된다.

중심단어 : 감마선, Na^+ 슬폰화 폴리스티렌-디비닐벤젠 혼성중합막, 선택적 전달특성

I. 서론

세포막을 통한 이온의 능동적, 선택적 전달 능력은 세포외부와 세포내부사이의 물질교환에 큰 영향을 미치므로 생체막 연구에 있어서 중요하다고 할 수가 있다. 실제 생체막의 경우 원형질막을 통한 K^+ 와 Na^+ 의 선택적 전달과 산화적 인산화에서 양성자 수송과 더불어 같은 세포벽을 통한 이온의 능동전달 등을 그 예로 들 수 있다^[1,2,3].

이와 같이 세포막은 세포외·내부의 생리적 대사에 중요한 역할을 담당하고 있으며 세포의 구조와 생명현상을 유지하는데 없어서는 안 되는 세포의 구성성분이며 유·무기질의 물질전달은 능동전달(active transport), 수동전달(passive transport)에 의해서 이루어진다^[4].

또한 능동전달(active transport)은 병류수송(co-transport)과 향류수송(counter-transport)으로 나누고 음이온의 전달시 H^+ 이온과 음이온이 동시에 이온쌍을 만들어 전달자와 복합체를 형성하여 병류수송이 이루어지고 양이온의 전달 시는 H^+ 이온이 에너지를 제공하여 H^+ 이온과 양이온이 각각 전달자와 복합체를 형성하여 반대방향으로 전달되는 향류수송이 있다^[5,6,7].

한편 선택도를 알아보기 위해서 투과분율(permeation fraction, P.F)과 K^+ 이온에 대한 Na^+ 이온의 선택도(selectivity, S)는 다음과 같다^[8,9,10].

$$P.F(\%) = \frac{[M^+]_{\max}}{[M^+]_{R.O}} \times 100$$

$$S = P.F_{k^+} / P.F_{Na^+}$$

$[M^+]_{\max}$: 금속이온 좌측에서의 최대농도

$[M^+]_{R.O}$: 우측에서의 초기농도

K^+ , Na^+ : 각각의 이온에 대한 값

막의 선택적 투과특성은 막의 내부구조에 기인하며 그 내부 세공에 양이온이나 음이온이 막물질의 일부로서 고정된 구조를 가지며 이 고정이온은 세공내로 상대이온을 끌어들이 전기적 중성을 띠게 되는데 담체 작용기에 따라 양 이온교환막과 음 이온교환막으로 분류된다.

막에 대한 방사선의 작용연구는 주로 적혈구 막에서 이루어지고 있는 실정이며 세포막의 작용 중 물질수송은 선택적 투과성에 의해서 결정되는데 세포내부는 칼륨(K^+)농도가 높고 세포외부는 나트륨(Na^+)농도가 높는데 방사선 조사로 인하여 적혈구 막의 이온 투과성이 상실되어 세포내부는 나트륨(Na^+) 농도가 높아지고 세포외부는 칼륨(K^+)농도가 높아져서 막의 구조변화로 적혈구가 치사된다.

961년 Bacq와 Aloxander^[10] 등의 "효소방출설"에 의하면 고 선량의 방사선이 생물 막에 조사되면 막을 구성하고 있는 효소가 방출되어 세포내의 구성성분인 핵산, 단백질 등을 분해하여 결국에는 세포가 치사된다는 이론이며 이 이론은 선량이 고 선량이 일 때만 가능하고 저 선량에는 발생하지 않는 이론이어서 어느 정도의 한계를 지닌 이론이다.

본 연구는 최근에 생물 막과 유사한 이온투과성막(양 이온교환막, 음 이온교환막)을 이용한 선택적 물질의 전달에 대한 연구보고가 많이 있으나 고 선량의 방사선조사로 인한 선택적 이온투과성변화에 대한 연구는 미비한 실정이다^[11,12].

이에 따라서 방사선이 조사된 세포막이 물질의 선택적 전달(selective transport) 특성에 의해서 발생하는 이온투과성변화에 어느 정도의 영향을 미치는가를 구명하기 위하여 생물 막과 유사한 이온투과성막을 고분자로 제조한 후 이 생물 막의 이온투과성 변화가 방사선조사 전·후에 어떻게 변화하는가를 알아보기 위하여 물질의 선택적 전달(selective transport)에 대하여 실험하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 고분자막(polysulfone)의 구성

고분자막은 Na^+ - K^+ 이온투과성을 선택적으로 측정할 수 있는 이온투과성 막으로서 최근 연구에 많이 이용되고 있는

polysulfone계 고분자 복합막인 슬폰화 폴리스티렌-디비닐벤젠(polystyrene-divinyl benzene) 혼성 중합막을

사용하였다.

2) 실험기기

반응기, Magnetic Stirrer, 분광광도계(Shiadzu UV-2401PC, Japan), 전도도측정기(suntex, model Sc-17A), pH meter (Union prix, model GP-55), 원자흡광분석기(Nippon Jarell Ash, A.A-845), 저울(Mettler AT201, USA), 항온수조(Eyela SB-9, Japan), ^{60}Co γ 선 조사기 등을 사용했다.

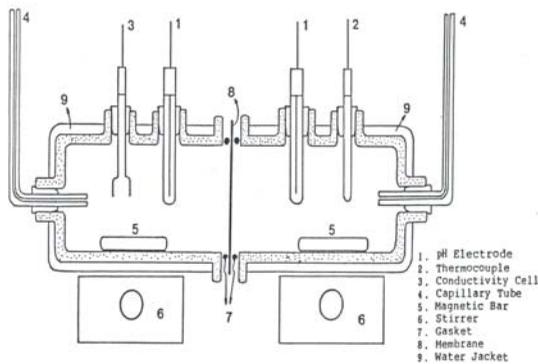


Fig. 1. Experimental apparatus for selective transport measurement

Left cell : 0.1 N KCl, 0.1 N HCl, or 0.1 N NaCl, 0.1 N HCl
Right cell : 0.1 N KOH, or 0.1 N NaOH

3) 전해질 용액의 Na⁺농도와 K⁺농도변화

고분자막은 세포막에 대응되는 생물 막으로서 좌측 cell에 0.1N KCl, 0.1N HCl or 0.1N NaCl, 0.1N HCl solution과 우측cell에 0.1N KOH, or 0.1N NaOH solution사이의 Na⁺-K⁺이온투과성에 대하여 5Gy의 고선량조사를 한 후 이온투과성과 방사선조사 전의 이온투과성을 비교 연구하기 위하여 사용하였다. 좌측 셀에 0.1N KCl, 0.1N HCl or 0.1N NaCl, 0.1N HCl 용액과 우측 셀에 0.1N KOH, or 0.1N NaOH solution는 water jacket으로 온도를 변화하였고 Na⁺농도와 K⁺농도는 방사선 5Gy로 조사한 생물 막과 조사하지 않은 생물 막으로 각각 상호교환을 하여 마이크로피펫으로 각각 샘플링을 하고 그 농도를 원자흡광분석기로 검량선을 통하여 측정하였다.

2. 실험 장치

본 실험에서는 전해질 용액에서 다양한 변수들의 변화가 Na⁺-K⁺의 선택적 전달에 어느 정도의 영향을 미치는가를 정량화하기 위하여 Fig.1과 같은 실험장치를 pyrex 유리로 제작하여 실험하였다.

3. 실험 방법

1) 막의 특성 실험

본 실험에서는 슬폰화 폴리스티렌-디비닐벤젠 혼성 중합막을 사용하여 막의 특성을 이온교환용량(AR), 함수율(w), 고정이온농도(Aw)를 통하여 측정하였다.

시료막인 슬폰화 폴리스티렌-디비닐벤젠 혼성중합막을 증류수로 세정 한 후 1M HCl 용액 중에 담그고 3일 간 방치한 후 완전히 H⁺형으로 된 시료막을 증류수로 세척하여 HCl이 더 이상 침출되지 않을 때까지 세정하였다.

이 시료막을 2M NaCl 30mL에 담구었다가 H⁺를 Na⁺로 교환시키고 액중에 유리된 H⁺를 NaOH 용액으로 적정하였다.

Na⁺ 형이된 시료막을 더 이상 Cl⁻ 침출되지 않을 때까지 증류수로 세척하고 여과지로 닦은 후 빨리 밀폐 용기에 넣고 칭량하였다.

여기서 이온교환용량(AR)은 건조된 수지 1g 중에 고정이온의 밀리당량(meq)으로 구하였다.

$$AR = \text{meq/ g dry resin}$$

함수율(w)은 여과지로 닦아내어 칭량한 막과 115°C에서 건조시킨 막과의 질량 차이로 구하였으며 수지 중의 물에 대한 고정이온농도(Aw)는 이온교환용량(AR)과 함수율(w)로부터 구하였다.

$$Aw = AR/w$$

2) 선택적 전달 특성 실험

이온교환막을 8wt % NaOH 수용액 중에서 24시간 방치하여 Na⁺ 형으로 팽윤시켜 모든 실험을 수행하였다.

측정셀은 Fig 1.의 장치를 사용하였고 셀은 이중벽으로 펌프를 사용해 물을 셀내벽과 외벽 사이로 순환시켜 온도를 일정하게 유지토록 하였다.

셀의 한쪽 부피는 380cm³, 막의 유효면적은 12.5cm²이다. 셀의 바닥은 평평하게 제작하였으며 자력교반기로 500rpm으로 용액을 충분히 교반시켜 위치에 따른 측정오차를 제거하였다. 막 양측의 전도도는 전도도 측정기로, 수소이온농도는 pH meter로 기록계를 사용하여 연속적으로 측정하였다.

용액의 전도도가 이온농도에 비례하므로 전도도 추이에 따라 2ml 씩 2시간에 한 번씩 양쪽셀에서 시료용액을 채취하여 원자흡광 분석기를 사용하여 금속이온의 농도를 측정하였다. 본 실험은 온도와 초기 pH 및 용질의 종류를 변수로 하였다.

막에 대한 5Gy의 선량조사 전 후의 선택도에 대한 실험으로서 온도는 15°C, 30°C, 50°C, 60°C, 65°C로 pH는 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0까지 변화시켜 좌측셀의 용질로는 HCl을 0.1N용액에 500mL 넣고 우측 셀은 KOH와 NaOH를 각각 0.1N용액에 250mL 씩 넣고 시간에 따른 Na⁺와 K⁺의 이동비를 고찰하였다.

III. 실험결과

1. 막의 특성

실험에 사용한 양 이온교환막의 특성을 측정한 결과를 Table 1.에 나타내었다.

Table1. physical properties of the membrane

물리적 특성	막 조성의 부피
화학적 조성	혼성 중합막 (styrene-DVB)
고정 라디칼	황 라디칼
이온교환용량(meq/g건조수지)	2.8
수분함량(%)	38
두께(mm)	0.21
고정이온농도(meq/g H ₂ O)	7.3684

2. 선택도

알칼리금속 이온에 대한 선택적 전달 현상을 알아보기 위하여 셀 좌우 각각의 Na⁺, K⁺ 초기농도를 0.1N로 같게 한 후 이온농도의 변화는 시간이 지남에 따라 Na⁺, K⁺ 초기 좌측 셀은 증가하였고 우측 셀에서는 감소하였다. 이는 Na⁺, K⁺가 농도차에 대하여 이동하는 선택적 전달 현상으로 H⁺이온이 능동전달의 에너지를 제공하였기 때문이다.

1) 감마선을 조사하지 않은 세포막model의 초기 pH와 온도 변화에 대한 선택 적 전달 특성

P. F Na⁺는 80%, P. F K⁺는 S는 1.10이었으며 Fig2.는 막에 대한 온도변화시 플럭스를 관찰하여 이 결과를 Arrhenius 식으로 나타낸 것이었다.

이 때 기울기에서 구한 활성화 에너지는 Na⁺ 경우가 K⁺보다 약간 큰 것으로 나타났으며 이는 수화이온 반경이 Na⁺ (2.17Å) > K⁺ (1.75Å) 인 결과와도 일치하는 것이었다. 한편 우측셀의 초기농도변화 및 온도변화시 K⁺, Na⁺의 이동량 변화를 Fig3., Fig 4.에 나타내었다. 이때 모든 경우에 있어서 K⁺/Na⁺의 비율은 1.10 부근에서 변화하여 숄폰화 폴리스티렌- 디비닐벤젠 혼성중합막이 Na⁺ 보다 K⁺에 대해 더 선택성이 있음을 나타내고 있다.

또한 K⁺와 Na⁺의 혼합성분 실험에서도 K⁺와 Na⁺ 이동량의 비율이 마찬가지로 1.10 부근의 값으로 나타나 동일한 결과를 보였다. Table 2.에 K⁺/Na⁺의 초기 수소이온농도변화에 대한 선택 이동량의 비를 표시하였다.

Table 2. The effect on selectivity of (K⁺/Na⁺) byH⁺ ion concentration and temperature

pH	K ⁺ /Na ⁺	Temp(°C)	K ⁺ /Na ⁺
0.5		15	1.09
1.0	1.06	30	1.08
1.5	1.09	50	1.12
2.0	1.07	60	1.12
2.5	1.13	65	1.13
	1.12		

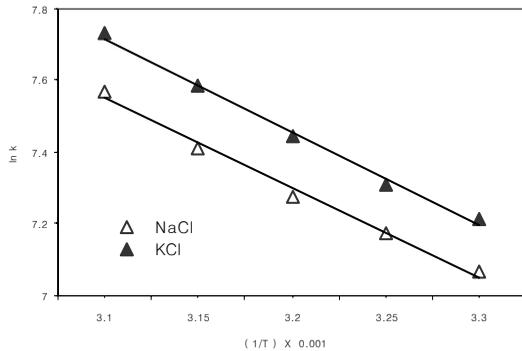


Fig. 2. Arrhenius for calculation of active energy

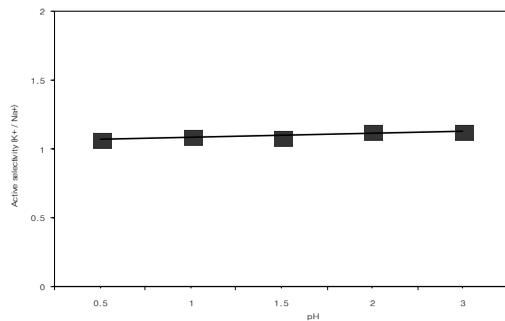


Fig. 3. Effect on initial pH of selectivity(K⁺/Na⁺)

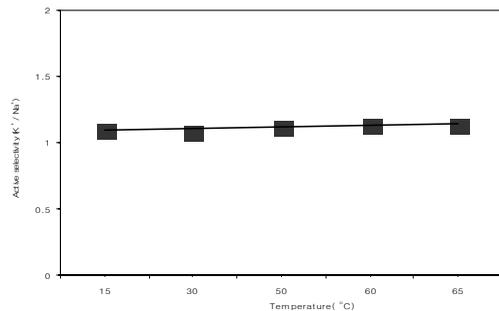


Fig. 4. Effect on initial temperature of selectivity(K⁺/Na⁺)

2) 감마선 5Gy로 조사한 세포막model의 초기 pH와 온도 변화에 대한 선택적 전달 특성

방사선 5Gy로 조사한 세포막model에서 알칼리이온 (Na⁺, K⁺)에 대한 H⁺이온농도와 온도의 변화를 때의 결과는 Fig.5., Fig.6에 나타내었다. 방사선 5Gy로 조사한 세포막model에서는 방사선 조사를 안 한 세포막모델보다 구동력이 되는 수소이온 농도를 4.5배 정도 증가시키고 농도변화 및 플럭스도 4.5배 정도 증가하였고 선택적 전달능력이 감소하게 되었다.

Fig.5., Fig.6에서 pH 0.5 일 때 선택도의 최고값을 나타냈으며 이는 초기농도 99%의 이동량을 보였다. Fig.5., Fig.6에서 우측셀의 초기 pH 변화시 최종이동결과를 선택도로 나타낸 것이다. 이 때 pH 3에서는 거의 이동이 일어나지 않으며 선택도가 0에 가까워진다. pH 0.5 부근에서는 K⁺ 나 Na⁺ 양쪽 모두 대부분 이동되었음을 알 수 있다.

이는 수소이온농도가 K⁺, Na⁺의 이동량과 유사한 경향을 보인 것으로서 이동의 구동력이 되는 수소이온 농도가 클수록 K⁺, Na⁺의 이동이 크다는 것을 알 수 있었다. 그러나, K⁺, Na⁺가 H⁺의 이동량을 초과하지 못하므로 그 정량적인 관계는 H⁺/K⁺ > 1 또는 H⁺/Na⁺ > 1로 Helfferich^[13]의 수지에 대한 결과와 일치하였다.

Fig.5., Fig.6에서 선택도(H⁺/Na⁺)를 구한 결과이다. K⁺/Na⁺는 양쪽 모두 pH 0.5 일 때 각각 최대값을 나타내었다. Table3.에 초기 pH 변화에 대한 K⁺, Na⁺의 선택도를 나타내었다. 이 초기선택도는 수소이온농도, 온도의 그래프에서 최소 제곱법에 의해 C=at² + bt + c를 구한 후 b를 초기 농도와 온도 변화율로 취하여 계산한 것이다.

본 실험에서 H⁺ 이온은 K⁺, Na⁺ 이온과의 이온교환에 의해서 이동함을 알았다. 그러나 K⁺, Na⁺가 H⁺의 이동량을 초과하지 못하였다. 즉, H⁺의 전달량 > K⁺, Na⁺의 전달량의 관계가 성립되며 이는 막 내부 세공의 크기가 확대되면 세공 표면에서의 이온교환에 의한 선택적 전달 보다 농도차, 온도차에 의한 확산이 더 쉬워지기 때문이다. H⁺이온과 K⁺, Na⁺ 이온의 선택도가 1일 때 가장 좋은 효율을 나타내며 이는 이온교환에 의한 선택적 전달만 일어난다고 할 수 있다. 이는

감마선 조사로 인한 선택도가 0값에 가까워지면 K^+ , Na^+ 이온의 선택적 전달능력이 감소하여 생물막으로서의 기능을 제대로 못해 세포의 생명현상이 정지되어 결국 세포사로 이르게 된다.

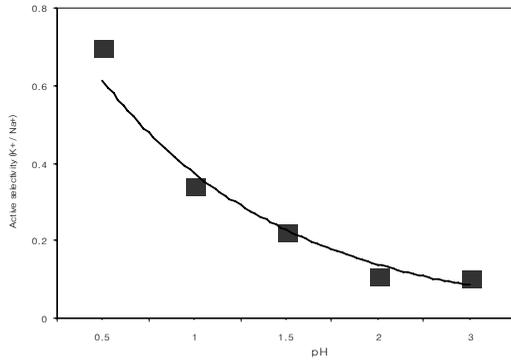


Fig. 5. Effect on initial pH of selectivity(K^+/Na^+)

Table 3. The effect on selectivity of (K^+/Na^+) by H^+ ion concentration and temperature

pH	K^+/Na^+	Temp (°C)	K^+/Na^+
0.5	1.06	15	1.09
1.0	1.09	30	1.08
1.5	1.07	50	1.12
2.0	1.13	60	1.12
2.5	1.12	65	1.13

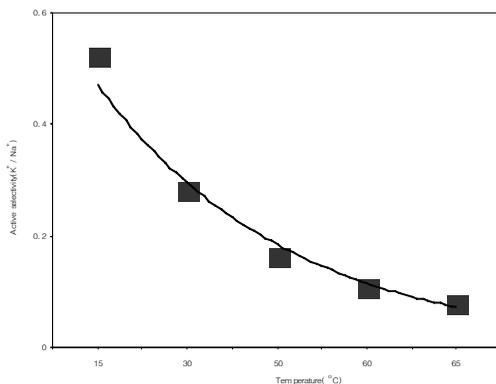


Fig. 6. Effect on initial temperature of selectivity(K^+/Na^+)

IV. 고찰

복합막의 지지층은 용매투과속도를 빠르게 하는 기능 층이며 활성 층은 용질분리를 담당하는 비 공성의 기능 층이다. 이온투과성막은 선택적반투과성막인 세포막과 같은 특성을 지녀야 하므로 이온교환막으로 복합막 구조를 하고 있다.

그리고 이온교환막은 담체 작용기의 극성에 따라 양이온 교환막과 음이온 교환막으로 분류하게 되며 즉 고정이온 때문에 이온교환막은 보통 격막에서 볼 수 없는 특성을 가지게 되는데 그 중 가장 현저한 것이 이온의 선택적 투과성이다.

Shimidzu^[14] 등은 같은 하전의 이온 간에 있어서의 선택도는 막에 고정된 전달자와 이온 간의 친화력과 막의 친수성(또는 소수성)에 의해 결정된다고 하였으며 Uragami^[15] 등은 금속 이온 간의 선택도는 막의 전달자와 이온 간의 친화력과 이온의 수화이온 반경과 관계가 있다고 한다.

Yoshikawa, M^[16] 등에 의해 poly(1-propenoyl-cridinyl-o-acrylonitrile)을 통한 할로겐 이온의 투과는 향류수송과 병류수송에 의하여 이루어지며 poly(1-vinylimidazole-o-styrene)을 통한 할로겐 이온의 투과 또한 향류수송과 병류수송에 의해서 세포막에서 물질의 선택적 능동수송이 있음을 보고하고 있으며 본 실험에 사용된 스피론화 폴리스티렌-디비닐벤젠(polystyrene-divinylbenzene) 혼성 중합막으로 구성된 세포막 모델에서도 양이온 K^+ , Na^+ 이온과의 이온교환에 의한 선택적 능동적 전달이 있었다.

특히, 방사선이 조사된 세포막모델에서는 비정상적으로 양이온 K^+ , Na^+ 이온과의 이온교환에 의한 선택적 전달이 발생하여 비정상적인 물질전달이 이루어지므로 실제로 세포의 기능에 커다란 영향을 미쳐서 세포사, 세포기능과 구조적변화 등 다양한 형태의 장애를 유발하는 것으로 사료된다.

V. 결론

감마선조사로 고분자막(세포막모델)의 구조적 변화에 따른 Na^+ - K^+ 선택적전달의 변화를 실험을 한 결과

아래와 같은 결론을 추론하게 되었다.

첫째, 감마선을 조사하지 않은 고분자 막(세포막모델)의 선택적 전달비는 H^+ 이온농도(0.5-3)와 온도(15-65°C)가 변화 할 때 Na^+ 와 K^+ 이 1.06-1.13 사이의 값으로 직선형이며 K^+ 이온에 대한 선택성을 나타내었다.

둘째, 5Gy의 선량을 조사한 고분자 막의 선택적 전달비는 H^+ 이온농도(0.5-3)와 온도(15-65°C)가 변화 할 때 Na^+ 와 K^+ 이 0.7-0.08 사이의 값으로 선택도가 지수 형태로 감소하여 0에 가까워지고 있다.

상기의 실험 결과를 종합해 보면 방사선 5Gy의 조사로 세포막모델(고분자막)의 구성 성분 중 H^+ 가 전리가 되어 전해질의 H^+ 이온 함량을 증가시킨다.

전해질의 H^+ 이온 함량의 증가는 선택적 전달의 구동력을 증가시켜서 조사되지 않은 고분자 막보다 급속도로 Na^+ , K^+ 의 초기 농도의 증가를 가져왔다.

이는 Na^+ , K^+ 이동량의 증가를 가져와 정상적인 물질의 선택적 전달에 큰 장애를 준다. 결국에는 세포막의 기능이 정상적으로 작동을 하지 못하므로 다양한 형태의 세포장해를 발생할 것으로 사료된다.

Reference

- [1] Swdlack, B. and Kahovec, J, "Synthetic polymeric membrane" walter de Gruyter, Berlin, New York, 1987.
- [2] Hwang, S. T. "Membrane in separation", John and Sons, Inc New York., 1982.
- [3] West, I. C.. Biochem, Biophys , Acta. Vol. 64, No. 4, pp. 91-126., 1980.
- [4] M. Yoshikawa, S. Shudo, K. Sanui and N. Ogata, Active tansport of organic acid rough poly of Membrane Sci, pp.26, 1986.
- [5] Meares, P, " Membrane seperation process," Elssvier, New York, 1976.
- [6] Scott, J. " Membrane and Ultra filtration Technology Recent Advance, " Noyes Data Corp. N. J., 1980.
- [7] Marr, R. and A, Kopp, " Liquid membrane technology a survey of phenomena, mechanism, and model," Inter Chem. Eng, pp.22-44., 1982.
- [8] Kesting, R. E, " Synthetic polymeric membrane, " John Wiley and Son New York., 1985.

- [9] D. M. Koenhen . " J. of polymer Science", Vol. 34, No. 2, pp. 2079, 1987.
- [10] Rosen, B. P.(ed) Bacterial transport. Dekker, N. Y. 1978.
- [11] Glynn, Y. M. and Hokin, L. E. Ann. Rev Biochem. Vol. 43, No. 1, pp. 27-356., 1974.
- [12] Ullrich, K. J.. Ann. Rev. Physiol. Vol. 41, No. 4, pp. 181-195., 1979.
- [13] Helfferich, F, Ion exchange, Mc Graw-Hill, New York., 1962.
- [14] Shimidzu, T. N. Yoshikawa, M. Hseg awa, and K. Kasakatus, " Active transport and selectivity transport of alkali metal ion through poly(3-vinyl-1, 4-butyrolaction-co-acrylonitrile) membrane," macromolecules, Vol. 14, No. 1, pp.170, 1981.
- [15] Uragami, T., S. Watanabe, R. Nakamura, F. Yoshida, and M. Sugihara, " study on syntheses and Fermeabilities of polymer Membrane." J, Appl. polym, Sci., Vol.28, No. 2, pp.1613. 1981.
- [16] Yoshikawa, M., Shudo, S., Sanui, K., and Ogata, N, JI. Membrane SCI, pp.26. 1986.