

Борис Борисович Хейфец

МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ СТРУКТУРНЫХ И ФАЗОВЫХ  
ПРЕВРАЩЕНИЙ В СМЕКТИЧЕСКИХ ЖИДКИХ КРИСТАЛЛАХ

01.04.07

«Физика конденсированного состояния»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата физико-математических наук

Москва, 2014

Работа выполнена на кафедре теоретической физики и квантовых технологий ФГАОУ ВПО  
“Национальный Исследовательский Технологический Университет «МИСиС»”

Научный руководитель:	доктор физико-математических наук, профессор С. И. Мухин (НИТУ «МИСиС»)
Официальные оппоненты:	1. доктор физико-математических наук, профессор Ефим Иосифович Кац (ИТФ им. Ландау, РАН) 2. доктор физико-математических наук, профессор Константин Вольдемарович Шайтан (Биофак МГУ)
Ведущая организация:	Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина

Защита состоится 27 марта 2014 г. в 15:30 на заседании диссертационного совета Д 212.132.08 при  
НИТУ «МИСиС» по адресу: 119049, г. Москва, Ленинский проспект 4, ауд. Б-1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего профессионального образования “Национальный Исследо-  
вательский Технологический Университет «МИСиС»”

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

Учёный секретарь диссертационного совета,  
доктор физико-математических наук, профессор



С. И. Мухин

# ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Введение. Актуальность проблемы.** Физика структурных и фазовых превращений в смектических жидких кристаллах представляет собою активно развивающееся направление физики конденсированного состояния. Отдельное важное место в развитии этого направления занимают фундаментальные и прикладные исследования липидных и болалипидных биологических мембран клеток живых организмов, рассматриваемых как мультикомпонентные двухслойные смектические жидкие кристаллы. Их изучение преследует такие цели как понимание процессов, протекающих в живых организмах, так и дальнейшее развитие перспективных методов лечения человека, таких как адресная доставка активных молекул к поражённым клеткам организма.

Данную работу можно разделить на три части.

В первой части рассматривается теоретическая микроскопическая модель болалипидной мембраны — мембраны архей [1,2]. В отличие от обычных липидов (см. рис. 1(a)), болалипиды простираются на весь бислой (см. рис. 1(b)), имеют более прочную химическую связь, соединяющую гидрофильную голову и гидрофобные хвосты [3], менее гибкие углеводородные цепочки [4]. Всё это способствует тому, что болалипидная мембрана может быть устойчивей липидной при внешних термодинамических и химических воздействиях [3–5]. Это открывает потенциальные возможности применения болалипидных мембран в медицинских приложениях и обуславливает к ним повышенный интерес [6].

Болалипиды рассматриваются в рамках модели гибких струн (см. раздел "Методы вычисления", далее). Модель гибких струн применяется и в остальных частях диссертационной работы.

Во второй части рассматривается эффект добавочной площади на границе домена жидко-неупорядоченных липидов в жидко-упорядоченной матрице [7] (см. рис. 2). Задача имеет отношение к проблеме малого размера рафтов [8] — метастабильных доменов в мультикомпонентных липидных мембранах. *In vivo* рафты существуют до  $10^3$  с [9], и до нескольких дней *in vitro* [10]. При этом они имеют небольшой размер: 10-100 нм *in vivo* [8], и порядка нескольких микрон *in vitro* [11].

В экспериментах, проводимых на модельных мембранах, было установлено, что рафты бислойны и имеют практически круглую форму, которая быстро (за времена порядка секунд) восстанавливается при возмущении, что указывает на наличие достаточно большой (по сравнению с температурными флуктуациями) энергии границы рафтов. Часть этого натяжения приходится на гидрофобное несовпадение рафта и мембраны по высоте [12–14]. Другая часть, вероятно, приходится на эффект добавочной площади, о котором мы упоминали выше (см. рис. 2).

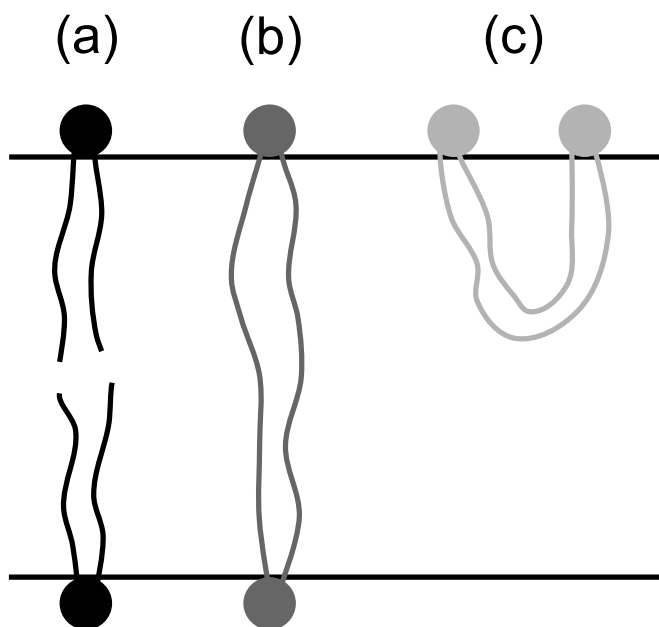


Рис. 1. **(a)**: монолипиды; **(b)**: бо-  
лалипид в hair-pin конфигурации

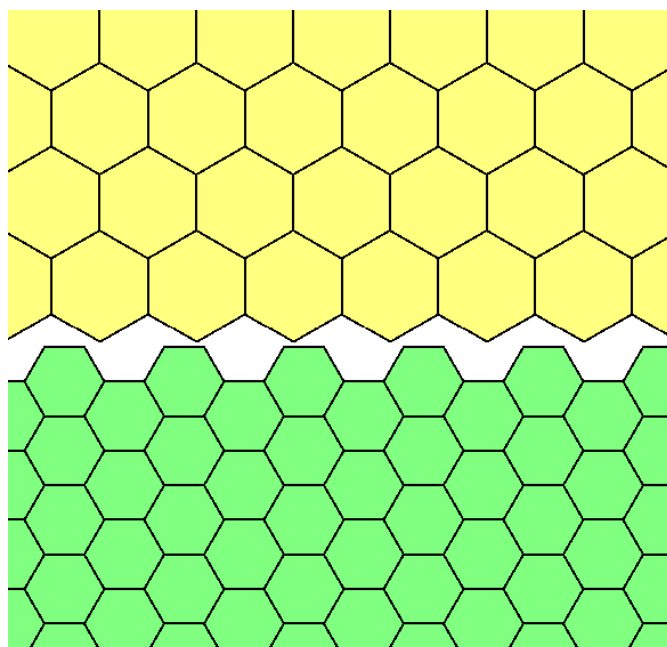


Рис. 2. Двух компонентная мембрана, вид сверху: на границе домена имеется добавочная площадь, которую граничные липиды должны поделить между собой

Экспериментальному [9,10,15] и теоретическому [16–18] исследованию рафтов посвящено большое количество работ. Однако физические механизмы фазовых переходов, приводящих к появлению рафтов до конца не выяснены. В частности не оценён эффект добавочной площади, приводящий к более высокому линейному натяжению на границе рафт-мембрана. Свойства и состояние рафтов оказывают решающее влияние на функционирование большинства мембранных белков и протекание таких процессов, как внутри- и внеклеточная передача сигналов, экзо- и эндоцитоз, сборка вирусных частиц. Это обуславливает актуальность теоретического исследования вопросов связанных с энергией границы рафтов.

Третья часть, так же как и первая, посвящена теоретическому сравнению устойчивостей к порообразованию при латеральном растяжении липидной и боалалипидной мембран. Однако, если в первой части сравнивались свободные энергии мембран, то в этой части сравниваются критические давления — наименьшие давления при которых в мембранах возникают стабильные поры.

Критическое давление — это важный показатель устойчивости мембраны к внешним латеральным напряжениям, а теория пор имеет фундаментальную ценность для теории липидных мембран.

**Цели и задачи исследования.** Целью работы является построение фазовых диаграмм порообразо-

вания жидкокристаллической монолипидной мембраны, и гелевой болалипидной мембраны из микроскопической модели. Кроме того, работа посвящена вычислению вклада в энергию границы рафта энергии связанной с дополнительной площадью несовпадения на границе рафт — окружающая мембрана.

Для достижения поставленных целей необходимо решить следующие задачи:

- построить микроскопическую модель гибких струн для болалипидов
- использовать микроскопическую теорию для параметризации феноменологического описания пор в липидных мембранах
- получить аналитическое выражение для критического давления в терминах микроскопической модели
- оценить как зависит величина добавочной площади на границе домена другой фазы от размера домена, и микроскопических характеристик липидов мультикомпонентной мембраны
- оценить влияние на величину и термодинамическую стабильность рафтов эффекта добавочной площади на их границе

**Методы вычисления.** Вычисления проводились в рамках теории гибких струн, впервые предложенной в [19]. В этой модели липид моделируется в виде эффективной струны с несжимаемой площадью поперечного сечения,  $A_0$ , с заданной изгибной жёсткостью (см.рис. 3),  $K_f$ . Под действием тепловых флуктуаций (и движения липида как целого по мембране), эффективная струна, в среднем, замечает цилиндр сечения  $A$ .

Рассмотрение ведётся в терминах отклонений формы струны как функции от координаты  $z$  по толщине мембраны от вертикали,  $\mathbf{R}(z)$ . Взаимодействие липидов между собой моделируется с помощью квадратичного потенциала, жёсткость которого,  $B$ , находится с помощью условия самосогласования которое учитывает энтропийное отталкивание между цепочками соседних липидов как функцию от площади на липид. Функционал энергии цепочки в самосогласованном поле соседей, которое учитывает энтропийное отталкивание между цепочками, записывается в виде:

$$E_t = \int_0^{2L} \left[ \frac{\rho \dot{\mathbf{R}}^2(z)}{2} + \frac{K_f}{2} \left( \frac{d^2 \mathbf{R}}{dz^2} \right)^2 + \frac{B \mathbf{R}^2}{2} \right] dz \quad (1)$$

(записано для болалипидов) Здесь первое подинтегральное слагаемое описывает кинетическую энергию колебаний цепочки, второе слагаемое — изгибная энергия цепочки с изгибным модулем (жёсткость цепочки)  $K_f$ , последнее слагаемое — описанный выше самосогласованный потенциал

энтропийного отталкивания. Таким образом, последние два слагаемых в (1) представляют в сумме функционал «потенциальной энергии» для произвольной конформации цепочки  $\mathbf{R}(z)$ .

Произвольную конформацию липида  $\mathbf{R}(z)$  можно разложить по собственным функциям оператора потенциальной энергии липида:  $R_x = \sum_n R_n$ . Далее, с помощью техники интеграла по траекториям, удаётся вычислить вклад энтропийного отталкивания между липидами в свободную энергию липидной мембраны и получить последнюю в виде функции от площади на липид. Зная свободную энергию углеводородных цепочек в мембране, можно вычислить профиль латерального давления (отталкивания) по толщине мембраны (см. рис. 4). Это энтропийное отталкивание компенсируется поверхностным натяжением в области гидрофобных голов липидов (см. рис. 4). Из условия баланса этих сил, т.е. из условия минимальности свободной энергии мембраны, находится равновесная площадь на липид,  $A$ .

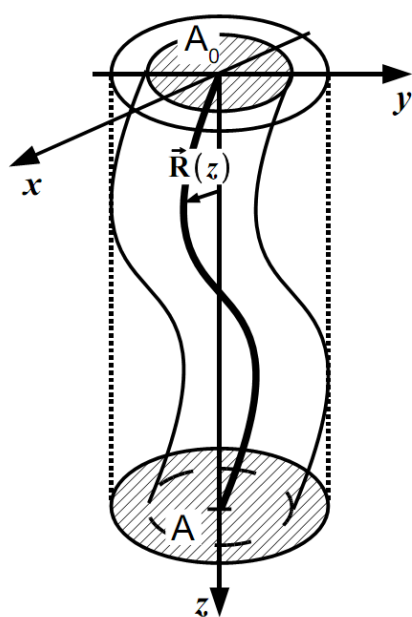


Рис. 3. Липид как гибкая струна.

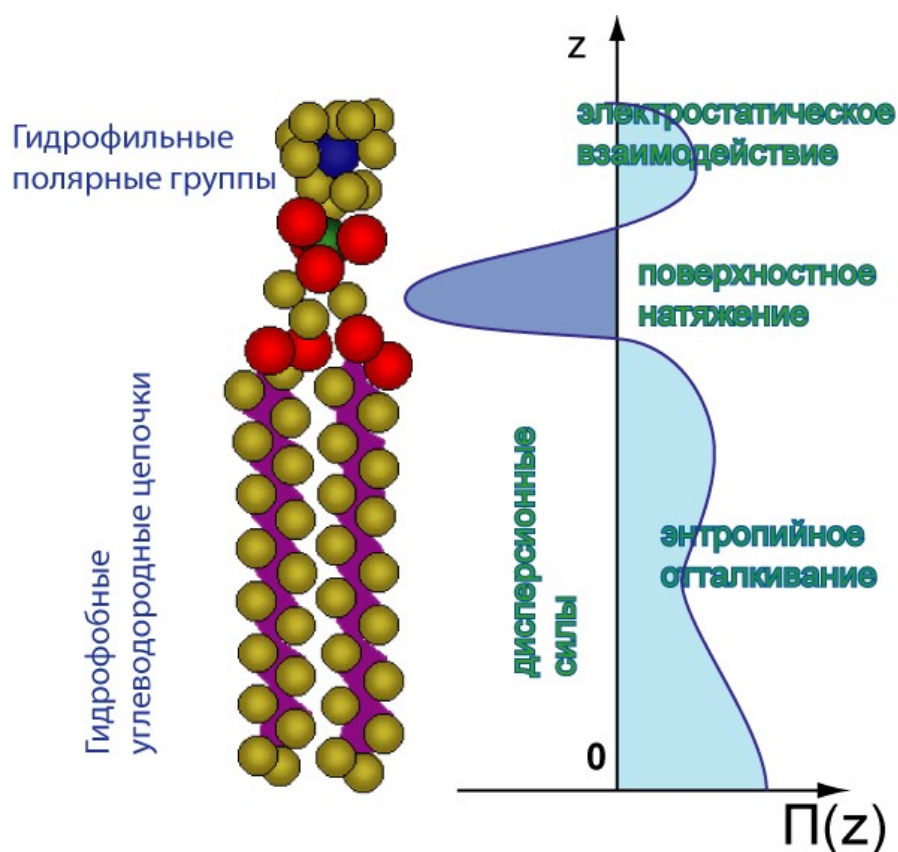


Рис. 4. Типы взаимодействия липидов в мембране между собой и качественный профиль латерального давления.

Зная площадь на липид, величину энтропийного отталкивания между липидами и их эффективную изгибную жёсткость, можно вычислить свободную энергию липидных цепочек, что даёт ключ к вычислению эффективных упругих модулей и других механических и термодинамических характеристик (бола)липидных мембран.

**Научная новизна.** В работе впервые построена и применена модель гибких струн для описания фазовых и структурных превращений в болалипидной мембране. На ее основе произведено сравнение свободных энергий моделируемых мембран из моно- и бола- липидов. Аналитически вычислен профиль латерального давления болалипидной мембраны, и ряд других её термодинамических свойств. Построена феноменологическая теория порообразования в липидных мембранах для ансамбля с заданными объемом, числом липидов и температурой ( $NVT$  ансамбль) с использованием коэффициента латерального растяжения/сжатия мембраны вычисленного на основе микроскопической модели гибких струн. Вычислены фазовые диаграммы порообразования в жидкокристаллической монолипидной мембране, и гелефазной болалипидной мембране одинаковых площадей. Обнаружено, что выражение для критического давления жидкокристаллической монолипидной мембраны содержит дополнительный малый параметр по сравнению с выражением для гелефазной болалипидной мембраны. Вычислен вклад в линейное натяжение границы домена другой фазы в липидной мембране связанный с добавочной площадью несовпадения в области соприкосновения разных фаз.

**Практическое значение работы.** Практическая значимость работы заключается в разработке и применении модели гибких струн для расчёта термодинамических и упругих свойств болалипидных мембран. Эта модель позволяет рассматривать термодинамику болалипидных мембран на основе микроскопической теории, и сравнивать стабильность бола- и монолипидных мембран в терминах свободных энергий липидов. Построение микроскопической теории порообразования в мембранах позволяет сравнить механическую стабильность бола- и монолипидных мембран в терминах критических латеральных давлений. Кроме того, эта теория связывает критическое давление с линейным натяжением кромки поры. В случае болалипидной мембраны обе величины экспериментально неизвестны. Однако если удастся измерить одну из них, то теория даст предсказание для величины другой. Результат вычисления вклада в энергию линейного натяжения доменов энергии связанной с площадью несовпадения на границе может быть по порядку равен энергии гидрофобного несовпадения. В перспективе этот эффект можно оценить численно с помощью молекулярной динамики.

**Апробация работы.** Результаты работы докладывались на следующих конференциях:

1. Kheyfets B.B. Bolalipid Membrane As a Coating Material For The Address Delivery Of Healing Molecules // 31st International SAMPE Conference, Paris, France, 2010.
2. Kheyfets B.B., Mukhin S.I. Flexible Strings Model: Two Types of Lipids in the Same Membrane // Coarse-Grained Biomol. Model. CECAM-HQ-EPFL, Lausanne, Switzerland, 2011.
3. Kheyfets B.B., Mukhin S.I. Analytical approach to thermodynamics of bolalipid membrane // 19th

International Symposium «Metastable Amorphous Nanostructured Materials» ISMANAM 2012, NUST “MISiS”, Moscow, 2012.

4. Mukhin S.I., Kheyfets B.B. Analytical Derivation Of Thermodynamic Properties Of Bolalipid Membrane // 54th Annual Meeting of American Biophysical Society, San Francisco, California, 2010.
5. Mukhin S.I., Kheyfets B.B. Analytical approach to thermodynamics of bolalipid membrane // 9th International Frumkin Symposium “Electrochemical Technologies and Materials for the XXI Century” Russian Journal of Electrochemistry, Moscow, 2010.

**Публикации.** Результаты, представленные в диссертации, опубликованы в трех статьях в отечественных и зарубежных реферируемых журналах, входящих в список изданий, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией России для опубликования научных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата наук.

1. Mukhin S.I., Kheyfets B.B. Analytical approach to thermodynamics of bolalipid membranes // Phys. Rev. E. 2010. Vol. 82, № 5. P. 051901.
2. Kheyfets B.B., Mukhin S.I. Entropic part of the boundary energy in a lipid membrane // Biochem. Mosc. Suppl. Ser. Membr. Cell Biol. 2011. Vol. 5, № 4. P. 392–399.

(см. также [24]).

**Объём и структура диссертации.** Работа изложена на 176 страницах и иллюстрирована 50 рисунками. Диссертация состоит из введения, трех глав и заключения. Список цитированной литературы содержит 93 наименований.



# СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Глава 1. Обзор литературы** посвящен анализу литературы и содержит четыре раздела, описывающие смектические жидкие кристаллы, липидные мембраны, теорию гибких струн для монолипидных мембран и теорию пор в липидных мембранах.

В первой части главы приведено краткое описание основных типов жидких кристаллов. Особое внимание уделено лиотропным смектическим жидким кристаллам. Рассмотрены основные физические свойства и методы теоретического исследования этих систем. Описываются существующие микроскопические и феноменологические модели смектических жидких кристаллов.

Вторая часть главы посвящена липидным мембранам, рассматриваемым как бислойные лиотропные смектические жидкие кристаллы. Описаны их основные физические свойства. Рассмотрены особенности моделей, описывающих липидные мембраны, по сравнению с моделями жидких кристаллов. Введено понятие рафтов – доменов жидко-упорядоченной фазы в липидных мембранах. Ключевыми для постановки целей и задач теоретического моделирования свойств рафтов являются следующие факты: 1. Рафты обогащены сфингомиелином; 2. Бислой в рафтах толще окружающей мембраны.

Третья часть посвящена краткому изложению теории гибких струн для монолипидных мембран. Даны параметры при которых производятся расчёты для монолипидных мембран. Эта часть содержит описание базовой модели, применяющейся на протяжении всей работы. В изложении, в отличие от оригинальной работы [19], функционал энергии цепочки включает в себя кинетическую энергию осцилляций цепочки.

Четвёртая часть главы посвящена теории пор в липидных мембранах. Изложены теории пор в  $PT$  и  $NVT$  ансамблях, а также принципы теоретического описания пористой фазы. Введены понятия: критическое давление и растяжение мембраны. Глава 4 написана на основе макроскопической  $NVT$  теории пор. Вводятся понятия жидкий предел и предел гель-фазы.

**Глава 2. Теория гибких струн для болалипидных мембран** содержит вывод теории гибких струн с симметричными относительно голов липидов граничными условиями для эффективной струны, которые отличаются от асимметричных граничных условий использованных ранее для монолипидных мембран (см. раздел "Методы вычисления" выше):

$R'(0) = 0$	цепочка выходит из поверхности мембраны под прямым углом
$R'''(0) = 0$	полная сила действующая на голову на поверхности мембраны равна нулю
$R'(2L) = 0$	то же самое для другой поверхности мембраны
$R'''(2L) = 0$	

Далее, применяется стандартная техника модели гибких струн и вычисляются профили латерального давления и ориентационного параметра порядка струны (липидной цепочки) по толщине мембраны.

Результаты теоретических расчётов представлены на рис. 5 и 7. Как следует из рис. 5, профили латерального давления в бислойной монолипидной мембране качественно отличны от профилей латерального давления в болалипидной мембране. Максимум латерального давления в области межслойной поверхности бислоя (сплошная линия) отсутствует в болалипидной мембране (штриховая линия).

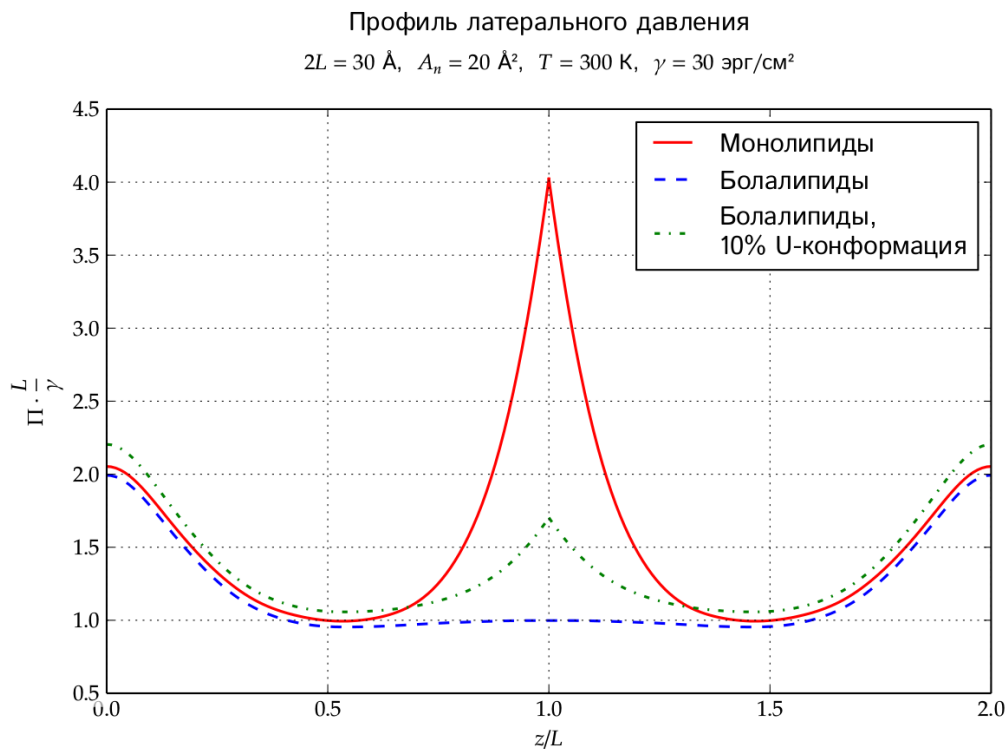


Рис. 5. Профиль латерального давления углеводородных цепочек болалипидной мембраны (пунктирная линия) и монолипидной мембраны (сплошная линия) вычисленные при одних и тех же параметрах. Пик на профиле латерального давления монолипидов имеет лишь условное значение: в области пика перестаёт работать приближение. Однако эту тенденцию подтверждают эксперименты и компьютерные симуляции. Видимо по той же причине площади под кривыми моно- и бола-липидов не равны. Штрих-пунктирная линия показывает профиль латерального давления болалипидной мембраны, имеющей 10% липидов в U-конформации (см. рис. 1с): по 5% в каждом монослое

Эту тенденцию подтверждают компьютерные симуляции [20] (см. рис. 6).

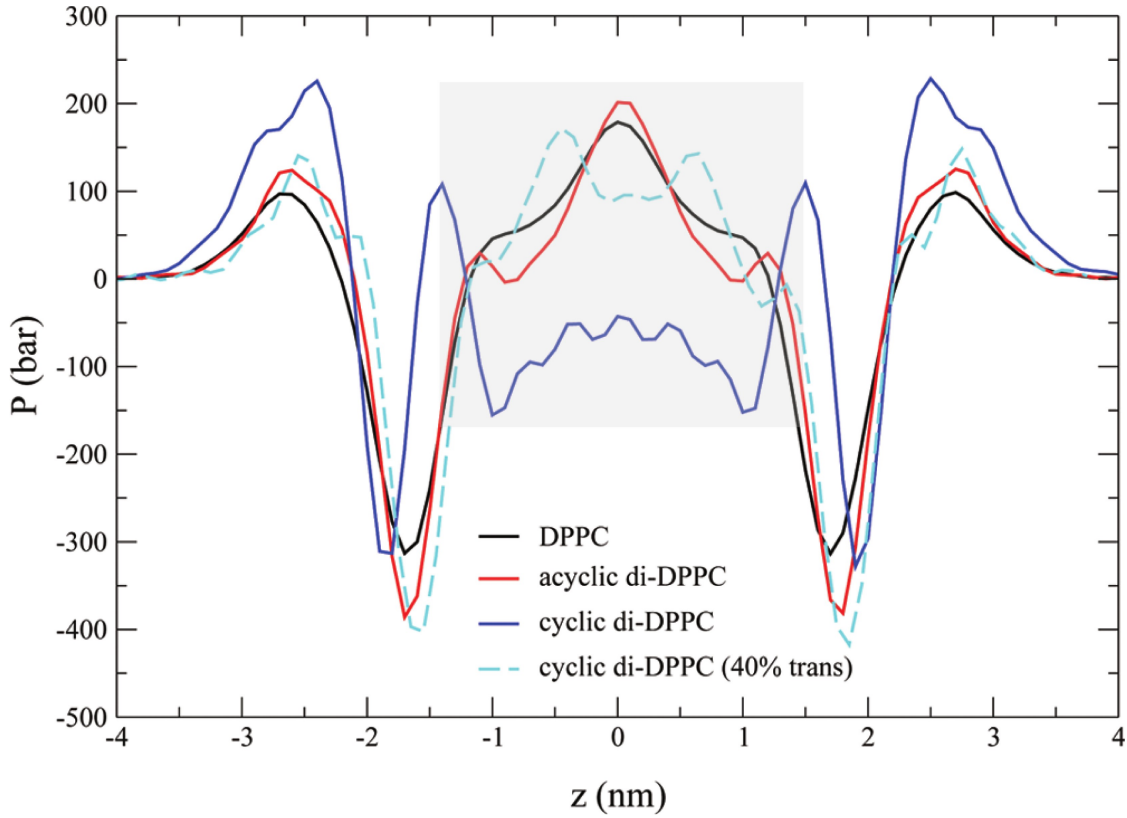


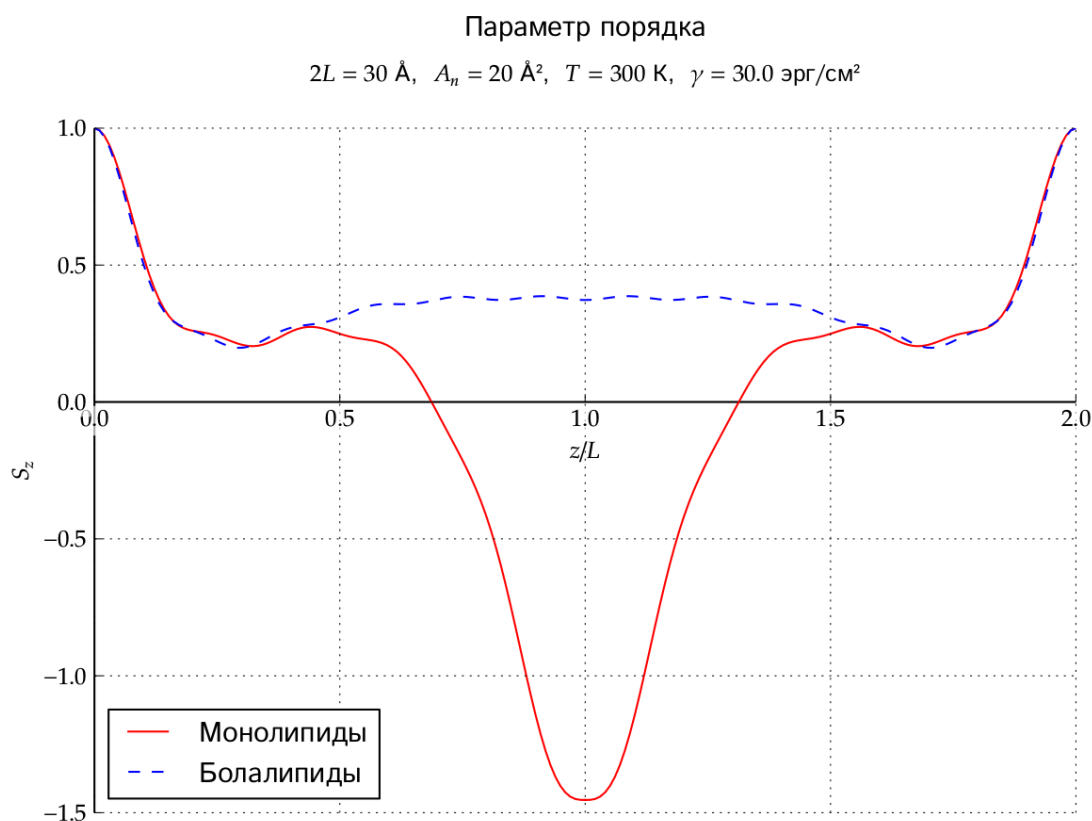
Рис. 6: Профили латерального давления для моно- (чёрная кривая) бола-липидных мембран (синяя кривая) вычисленные с помощью компьютерных симуляций [20]. Область гидрофобных цепочек выделена прямоугольником.

Это различие объясняют результаты теоретического вычисления ориентационного параметра порядка  $S(z)$  углеводородных цепочек липидов в мембранах обоих типов:

$$S(z) = \frac{1}{2} \left( 3 \langle \cos^2 \theta(z) \rangle - 1 \right) \quad (2)$$

где  $\theta(z)$  — локальный угол отклонения цепочки от прямой вдоль оси  $z$ , угловые скобки означают термодинамическое среднее. На рис. 7 видно, что  $S(z)$  в области межслойной поверхности в бислое ( $z = L$ ) достигает глубокого минимума, т.е. происходит значительная разориентация сегментов липидной цепочки. В случае же болалипидной цепочки (штриховая линия на рис. 7) глубокий минимум  $S(z)$  отсутствует, поскольку флуктуации ориентации болалипидной цепочки не имеющей разрывов по всей длине между противоположными поверхностями мембраны (рис. 1, цепочка (b)) нарастают медленней, чем в монолипидном бислое, в котором монолипидные цепочки имеют "свободные" концы в середине бислоя (рис. 1, цепочка (a)). Сопоставляя теперь рис. 5 и 7 видим, что максимум в профиле латерального давления в середине монолипидного бислоя соответствует минимуму ориентационного параметра порядка монолипидной цепочки: энтропийное от-

талкивание максимально в области, где изгибные флуктуации цепочки наибольшие.



*Рис. 7: Параметр порядка углеводородных цепочек вычисленный с помощью модели гибких струн для болалипидов (пунктирная линия) и монолипидов (сплошная линия) при одних и тех же параметрах;  $z$ -координата нормирована на толщину монослоя,  $L$ . Пик в параметре порядка монолипидов имеет лишь условное значение: в области пика перестаёт работать приближение.*

*Однако эту тенденцию подстрауждают эксперименты*

В случае монолипидов вблизи области между слоями не работает приближение малых отклонений, поэтому вблизи вершины пик имеет лишь умозрительное значение: он показывает тенденцию монолипидов иметь пик в межслоевой области, по сравнению с болалипидами.

Эту тенденцию подтверждают как эксперименты [21] (см. рис. 8) так и компьютерные симуляции [20] (см. рис. 9).

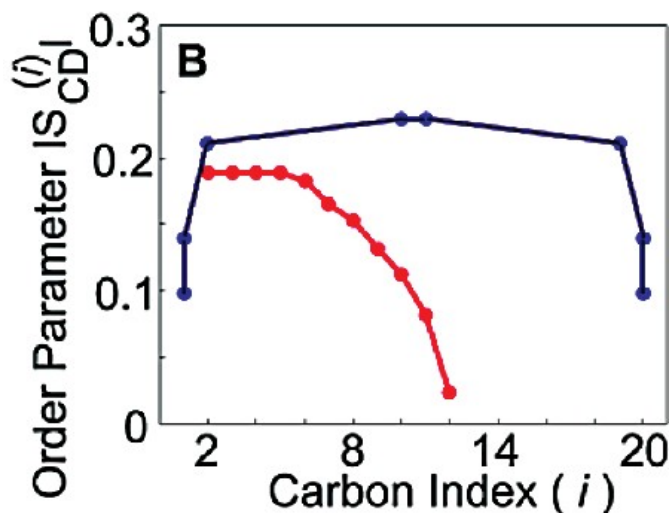


Рис. 8: Параметр порядка монолипидов (красная линия) и болалипидов (синяя линия) определённые с помощью ЯМР [21]

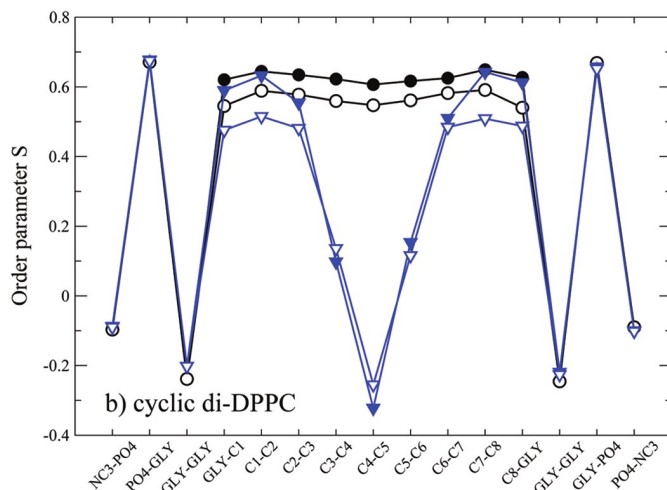


Рис. 9: Параметр порядка монолипидов (синяя линия) и болалипидов (чёрная линия) определённые с помощью молекулярной динамики [20]

Глава также содержит изложение теории жёстких стрежней для моно- и бола- липидов применяющихся в последующих главах. Даны теоретические оценки применимости приближения классической механики для вычисления колебательного вклада молекулярных цепочек в свободную энергию мембраны вместо квантовомеханического расчёта для цепочки с использованием мод квантовых колебаний.

### Глава 3. Эффект добавочной площади на границе доменов

Рассматривается двух-компонентная мембрана, компоненты которой имеют разные площади на липид, и даётся модельное выражение для добавочной площади (см. рис. 2) на границе доменов:

$$A^E = \frac{N_E^b}{N_C^b} (A_E - A_C) N_E^b \quad (3)$$

Эта формула даёт ожидаемые результаты в предельных случаях: малую величину добавочной площади в случае когда площади на липид почти не отличаются, или, наоборот, когда площади на липид отличаются во много раз. Используя это модельное выражение и модель гибких струн можно получить зависимость энергии границы домена от радиуса домена (см. рис. 10).

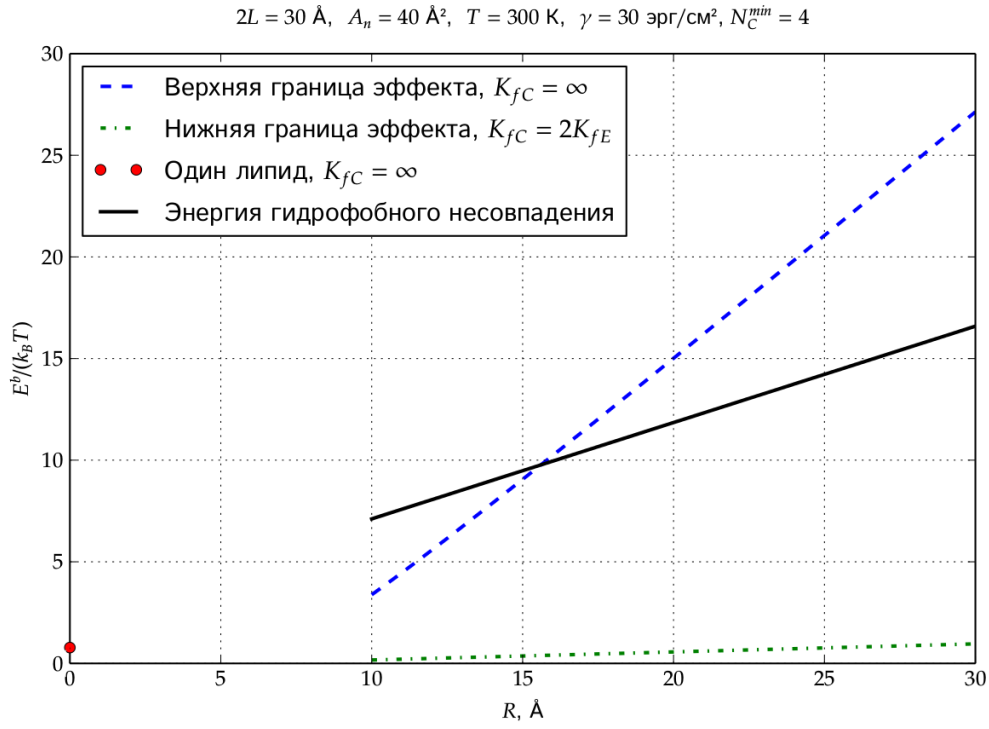


Рис. 10. Зависимость энергии границы домена от радиуса домена в двух предельных случаях: липиды с почти одинаковыми изгибными модулями цепочек (вверху), и случай домена из жёстких стержней в жидко-кристаллической матрице (внизу)

Рассмотрение твёрдых стержней в рамках модели гибких струн будет использовано и в Главе 4.

Показывается, что энергетический эффект добавочной площади по порядку величины совпадает с энергией гидрофобного несовпадения.

Далее, рассматривается свободная энергия мембраны конечного размера с доменами имеющими положительную энергию границы, и показывается, что свободная энергия не имеет минимума. На основе сделанных расчётов, мы делаем вывод, что существование рафтов конечного размера невыгодно, однако т.к. энергия границы как функция от радиуса домена имеет минимум, то возможно образование метастабильных доменов флуктуационным образом.

**Глава 4. Микроскопическая теория пор в мембранах** строится на основе макроскопической теории мембран для  $NVT$  ансамбля гибких струн.

Полуфеноменологический функционал свободной энергии для болалипидов:

$$F = N \cdot F_t(A_p) + 2\gamma \cdot \pi(R_{||}^2 - R^2) + 2\pi R \cdot \gamma_R \quad (4)$$

где  $N$  – число углеводородных цепочек;  $F_t(A_p)$  – свободная энергия осцилляций хвостов в мембране возможно под давлением;  $A_p$  – площадь на липид в мембране;  $\gamma$  – коэффициент энергии по-

верхностного натяжения на гидрофобной границе мембраны (см. рис. 4);  $R_{||}$  – внешний радиус круговой мембраны с порой или без;  $R$  – радиус поры;  $\gamma_R$  – линейное натяжение на границе поры.

Начиная с функционала энергии (4), и используя модель гибких струн (1), удаётся привести выражение для свободной энергии мембраны с порой к виду [22,23]:

$$\Delta F = \frac{\pi K_a}{2} \frac{(R_{||}^2 - R_0^2 - R^2)^2}{R_0^2} + 2\pi R \cdot \gamma_R \quad (5)$$

здесь  $K_a$  это модуль сжатия мембраны,  $R_{||}$  это радиус круга, который мембрана с или без поры должна накрыть,  $R_0$  это радиус мембраны без поры и без внешнего напряжения,  $\gamma_R$  это линейное натяжение на кромке поры.

Здесь выражение для модуля латерального растяжения/сжатия болалипидной мембраны находится дифференцированием по площади на липид свободной энергии вычисленной в микро-скопической модели гибких струн:

$$K_a = A \cdot \frac{\partial^2 F_t}{\partial A^2}(A) \quad (6)$$

где  $A$  – это равновесная площадь заматаемая цепочкой болалипида в мембране без пор и внешнего растягивающего латерального давления.

Если считать что  $N$ - это число липидов в монослое, то выражение (4) остаётся справедливым и для монолипидной мембраны, а выражение (6) надо переписать в виде:

$$K_a = 2A \cdot \frac{\partial^2 F_t}{\partial A^2}(A) \quad (7)$$

где  $A$  – это средняя площадь заматаемая цепочкой монолипида в мембране без пор и внешнего давления.

Болалипиды имеют более прочную химическую связь соединяющую гидрофильную голову и гидрофобные хвосты [3], менее гибкие углеводородные цепочки [4]. Видимо это и приводит к тому, что болалипиды имеют склонность к образованию гель-фазы [20]. Поэтому в этой работе болалипидная мембрана моделируется в виде твёрдых стержней, а монолипидная мембрана в виде гибких струн.

Чтобы получить аналитические выражения для параметров фазовой диаграммы порообразования в терминах модели гибких струн, приходится рассматривать отношение "поверхностной энергии" липида к тепловой энергии,  $\frac{\gamma A_0}{k_B T}$ , в том или ином пределе. Для монолипидов мы рассматриваем предел

$$\frac{\gamma A_0}{k_B T} \ll 1 \quad (8)$$

В диссертации показано, что этот предел соответствует жидко-неупорядоченному состоянию мембраны.

Болалипиды имеют изопренные цепочки [6], вместо цепочек жирных кислот монопидных мембран, поэтому мы рассматриваем большие несжимаемые площади  $A_0$  в случае болалипидов:

$$\varepsilon = \frac{\gamma A_0}{k_B T} \gg 1 \quad (9)$$

В диссертации показано, что этот предел соответствует жидко-упорядоченному состоянию мембраны.

В макроскопической теории мембран для  $NVT$  ансамбля, изложенной, например, в [23], наименьшее растяжение мембраны, начиная с которого в мембране существует стабильная пора, находится из условия равенства свободных энергий растянутой мембраны с порой конечного радиуса и без поры:

$$\frac{\pi K_a}{2} \frac{\Delta_e^2}{R_0^2} = \frac{\pi K_a}{2} \frac{(\Delta_e - R_e^2)^2}{R_0^2} + 2\pi R_e \cdot \gamma_R \quad (10)$$

$\Delta = R_{||}^2 - R_0^2$  "растяжение" мембраны: избыток площади мембраны [без учёта поры] по сравнению с площадью до приложения растягивающего латерального давления, делённый на число  $\pi$ . Соответственно, истинное "растяжение" пропорционально  $R_{||}^2 - R_0^2 - R^2$ . Однако именно  $\Delta$  фигурирует в расчётах для  $NVT$  ансамбля. Из этого уравнения и условия минимума свободной энергии как функции от радиуса поры  $R$  удаётся найти параметры мембраны с равновесной порой:

$$R_e = \left( \frac{2\gamma_R R_0^2}{K_a} \right)^{1/3} \quad (11)$$

$$\Delta_e = \frac{3}{2^{1/3}} \left( \frac{\gamma_R R_0^2}{K_a} \right)^{2/3} \quad (12)$$

С помощью рассмотренных выше пределов в рамках модели гибких струн удаётся получить микроскопические выражения для  $K_a$ . Выражения приводятся в тексте диссертации.

Наконец, мы можем формально ввести латеральное давление в мембране, в которой существует пора радиуса  $R$ , покрывающая площадь  $\pi\Delta$ :

$$P = -\frac{\partial(F - F_0)}{\pi\partial\Delta} = -\frac{\pi K_a(\Delta - R^2)}{R_0^2} \quad (13)$$

Если в мембране нет поры, то  $R = 0$ . Если в мембране есть пора, то можно учесть что радиус поры минимизирует  $\Delta F$  (см. (5)). Тогда получаем:



$$P_e = -\frac{\gamma_R}{R_e} \quad (14)$$

Это давление проинтегрировано по толщине мембраны, оно имеет размерность: сила делённая на длину. Чтобы перейти к обычным единицам для давления приведённые выражения надо поделить на  $2L$ . Давление отрицательно, т. к. положительным считается подголовное поверхностное натяжение, а растягивающее внешнее давление  $P$  действует в противоположную ему сторону.

Сравнивая давления при которых в моно- и бола- липидных мембранах одинаковой площади существуют стабильные поры видим, что

$$P_c^{a \gg 1} = \left( \frac{16\gamma\gamma_R^2}{3R_0^2} \right)^{1/3} = \left( \frac{\varepsilon}{3} \right)^{1/3} P_c^{a \approx 1}$$

$$R_c^{a \gg 1} = \left( \frac{3\gamma_R R_0^2}{16\gamma} \right)^{1/3} = \left( \frac{\varepsilon}{3} \right)^{-1/3} R_c^{a \approx 1} \quad (15)$$

Напомним, что  $\varepsilon$  — малый параметр (см. (9)),  $a \gg 1$  это монолипиды в жидком пределе, а  $a \approx 1$  это болалипиды в гель-фазе. Т.о. болалипиды имеют большее критическое давление, чем монолипиды. При открытии поры происходит «сброс» давления см. рис. 11.

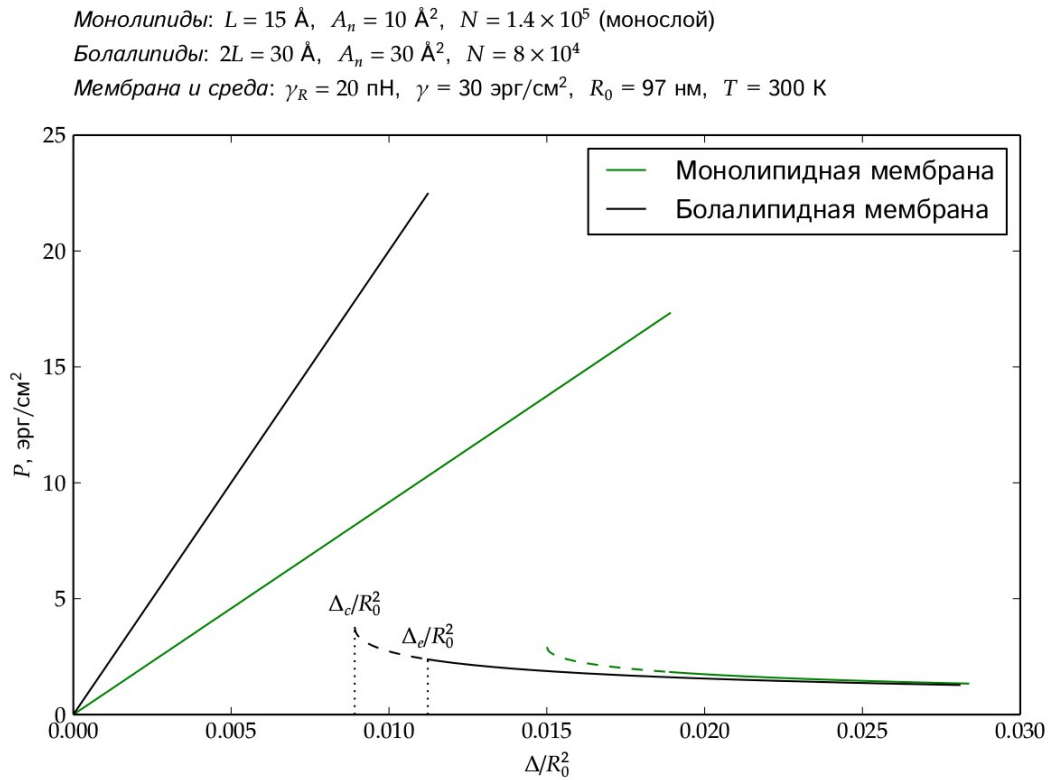


Рис. 11: При достаточно большом растяжении в мембране появляются поры, и происходит сброс давления. Видно что критическое давление для болалипидов меньше чем для монолипидов (при той же площади мембран). Когда в мембране нет поры, то давление пропорционально растяжению (см. (5),  $R = 0$ ). Когда же в мембране есть пора, то давление  $P \sim 1/R_m$  (см. (14)), а

$$R_m \sim \sqrt{\Delta} \text{ (см. [23])}$$

Когда в мембране нет поры, её свободная энергия пропорциональна квадрату растяжения  $\Delta = R_{\parallel}^2 - R_0^2$  (красная линия на рис. 12, см. (5)). Когда в мембране есть пора, но растяжение равно нулю (в этом случае равно нулю внешнее давление) то свободная энергия пропорциональна  $R^4$  (красная линия на рис. 13).

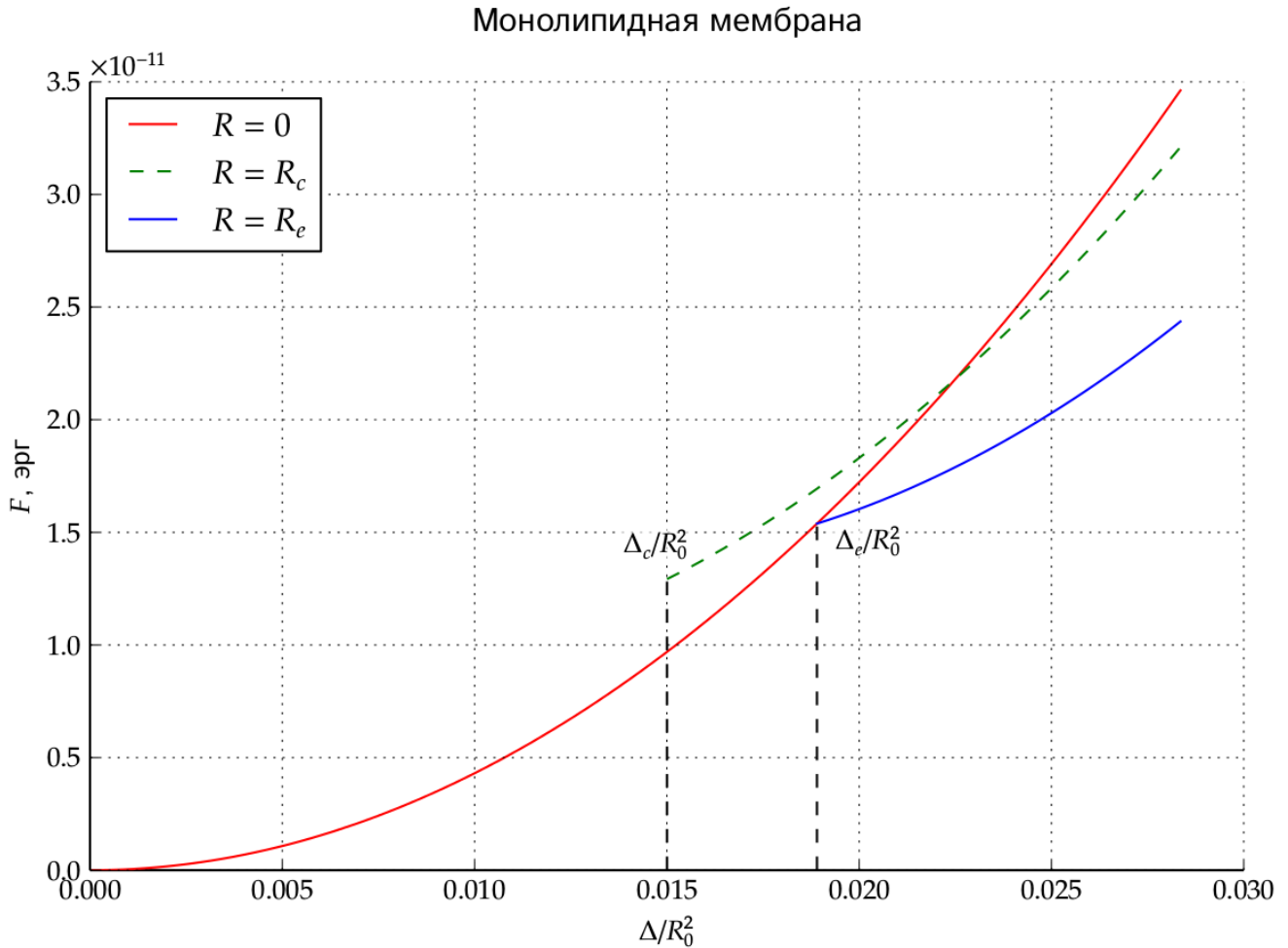


Рис. 12: Свободная энергия мембраны,  $F$ , как функция от растяжения,  $\Delta$ , при фиксированном радиусе поры,  $R$ . Параметры расчёта как на рис. 11. Видно, что критические поры метастабильны

Если мы увеличим растяжение мембраны до критического,  $\Delta_c$  — то в мембране будут появляться метастабильные поры (зелёная кривая на рис. 12). При таком растяжении на кривой  $F(R)$  впервые появляется перегиб (см. зелёную линию на рис. 13).

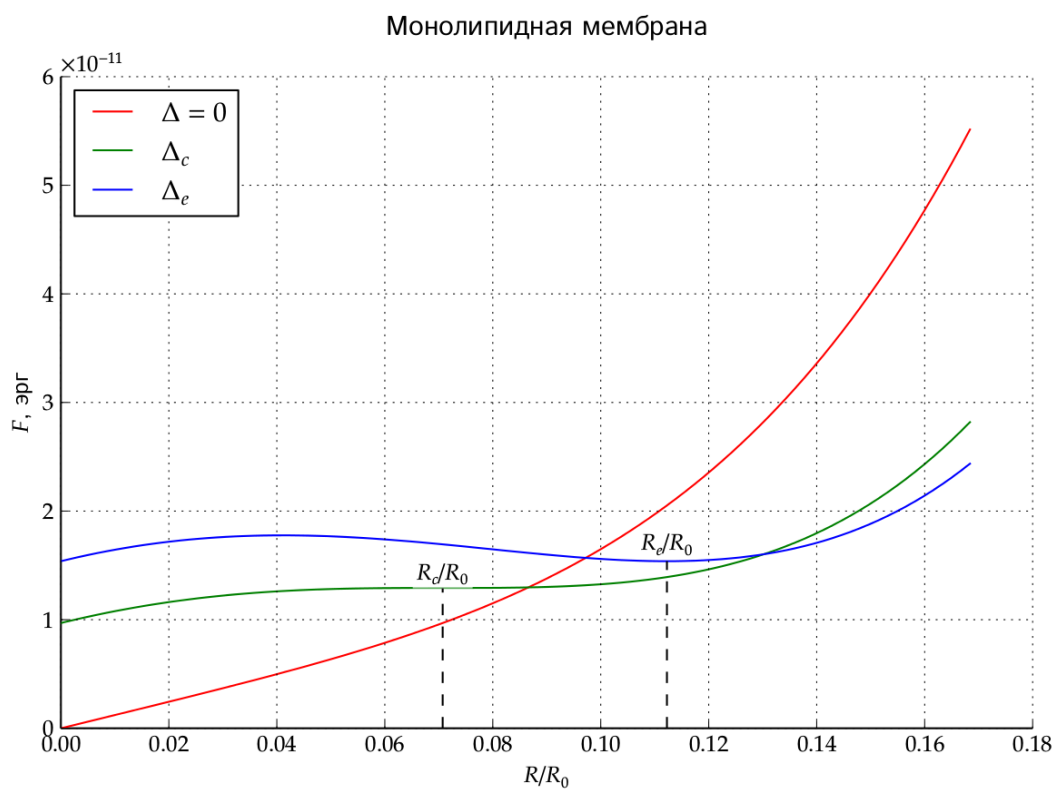


Рис. 13: Свободная энергия мембраны,  $F$ , как функция от радиуса поры,  $R$ , при фиксированном растяжении  $\Delta$ . Параметры расчёта как на рис. 11

Зависимость наименьшей стабильной поры,  $R_e$  от внешнего давления сложно найти аналитически. Мы построили её численно. Приводим график для болалипидной мембраны (см. рис. ).

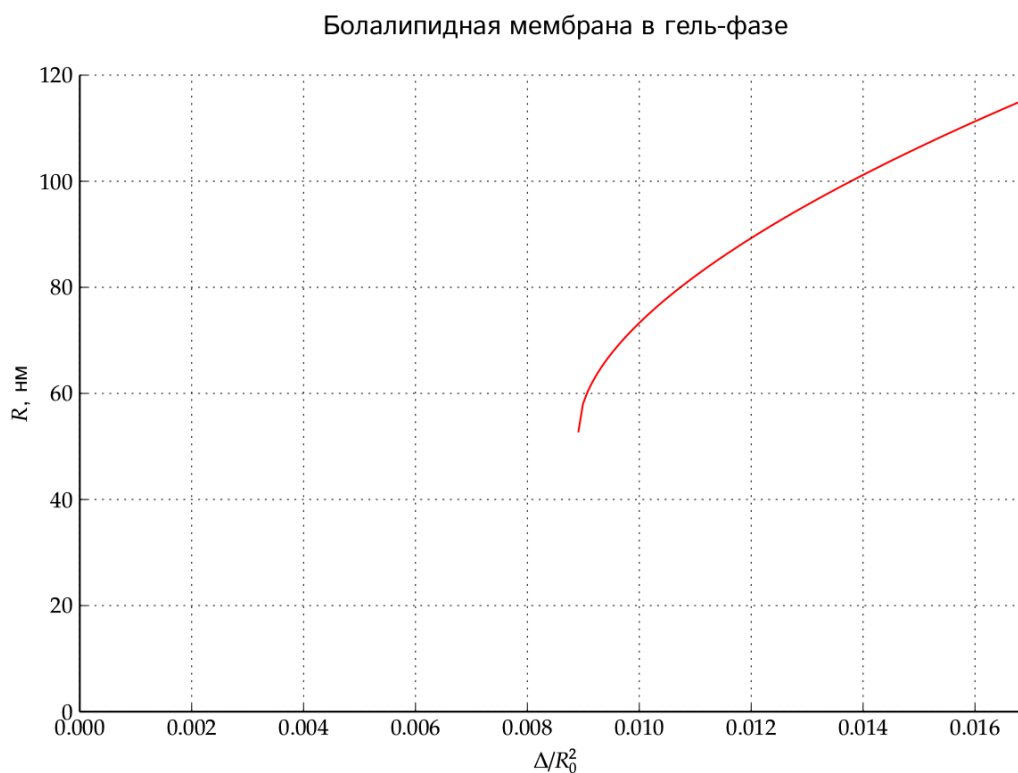


Рис. 14: Радиус поры мембраны,  $R$ , как функция от растяжения,  $\Delta$ . Параметры как на рис. 11

## Выводы

1. Получены в аналитическом виде выражения для модулей латерального растяжения/сжатия жидко-неупорядоченной монолипидной мембраны и жидко-упорядоченной болалипидной мембраны, а также выражения в аналитическом виде для профилей латерального давления в этих мембранах.
2. Вычислены фазовые диаграммы порообразования для жидко-неупорядоченной монолипидной мембраны и жидко-упорядоченной болалипидной мембраны.
3. Критическое латеральное давление для порообразования жидко-неупорядоченной монолипидной мембраны содержит дополнительный малый параметр по сравнению с жидко-упорядоченной болалипидной мембраной.
4. Различная концентрация болалипидов в «булавочной» конформации в монослоях делает профиль латерального давления болалипидной мембраны несимметричным относительно середины слоя.
5. Колебания липидных цепочек в мембране при комнатных температурах удовлетворительно описываются законами классической (больцмановской) статистики.
6. Энергия границ доменов жидкоупорядоченной фазы в жидкокристаллической матрице связанная с перераспределением площади составляет по порядку величины до  $k_B T$  на нм в зависимости от разницы коэффициентов изгибной жёсткости липидов.
7. Существование доменов с положительной энергией границы в конечной мембране энергетически невыгодно, однако возможно существование метастабильных доменов если зависимость энергии границы от радиуса домена имеет минимум на малых радиусах.

## Список цитируемой литературы

1. Woese C.R., Fox G.E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1977. Vol. 74, № 11. P. 5088–5090.
2. Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. // Proc. Natl. Acad. Sci. 1990. Vol. 87, № 12. P. 4576–4579.
3. Albers S.V. et al. Adaptations of the archaeal cell membrane to heat stress // Front. Biosci. J. Virtual Libr. 2000. Vol. 5. P. D813–820.
4. Rosa M.D., Gambacorta A., Gliozzi A. Structure, biosynthesis, and physicochemical properties of archaeobacterial lipids. // Microbiol. Rev. 1986. Vol. 50, № 1. P. 70–80.
5. Hanford M.J., Peeples T.L. Archaeal tetraether lipids // Appl. Biochem. Biotechnol. 2002. Vol. 97, № 1. P. 45–62.
6. Thompson D.H. et al. Tetraether bolaform amphiphiles as models of archaeobacterial membrane lipids: Raman spectroscopy, phosphorus-31 NMR, x-ray scattering, and electron microscopy // J. Am. Chem. Soc. 1992. Vol. 114, № 23. P. 9035–9042.
7. McConnell H.M., Vrljic M. Liquid-liquid immiscibility in membranes // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2003. Vol. 32. P. 469–492.

8. Simons K., Ikonen E. Functional rafts in cell membranes // *Nature*. 1997. Vol. 387, № 6633. P. 569–572.
9. Pralle A. et al. Sphingolipid-Cholesterol Rafts Diffuse as Small Entities in the Plasma Membrane of Mammalian Cells // *J. Cell Biol.* 2000. Vol. 148, № 5. P. 997–1008.
10. Brown D.A., London E. Structure and function of sphingolipid- and cholesterol-rich membrane rafts // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275, № 23. P. 17221–17224.
11. Samsonov A.V., Mihalyov I., Cohen F.S. Characterization of cholesterol-sphingomyelin domains and their dynamics in bilayer membranes. // *Biophys. J.* 2001. Vol. 81, № 3. P. 1486–1500.
12. Akimov S.A. et al. An elastic theory for line tension at a boundary separating two lipid monolayer regions of different thickness // *J. Electroanal. Chem.* 2004. Vol. 564. P. 13–18.
13. Akimov S.A. et al. Line Tension Of Membrane Domains Calculated From Chemical Interactions Between Lipids And Elastic Splay And Tilt // *Biophys. J.* 2009. Vol. 96, № 3, Supplement 1. P. 607a.
14. Akimov S.A. et al. Lateral tension increases the line tension between two domains in a lipid bilayer membrane // *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* 2007. Vol. 75, № 1 Pt 1. P. 011919.
15. Pavlov K.V. et al. Influence Of Ganglioside GM1 On Formation And Properties Of Rafts In Lipid Membranes // *Biophys. J.* 2009. Vol. 96, № 3, Supplement 1. P. 448a.
16. Yethiraj A., Weisshaar J.C. Why Are Lipid Rafts Not Observed In Vivo? // *Biophys. J.* 2007. Vol. 93, № 9. P. 3113–3119.
17. Yuan C. et al. The size of lipid rafts: an atomic force microscopy study of ganglioside GM1 domains in sphingomyelin/DOPC/cholesterol membranes // *Biophys. J.* 2002. Vol. 82, № 5. P. 2526–2535.
18. Frolov V.A.J. et al. “Entropic traps” in the kinetics of phase separation in multicomponent membranes stabilize nanodomains // *Biophys. J.* 2006. Vol. 91, № 1. P. 189–205.
19. Mukhin S.I., Baoukina S. Analytical derivation of thermodynamic characteristics of lipid bilayer from a flexible string model // *Phys. Rev. E.* 2005. Vol. 71, № 6. P. 061918.
20. Bulacu M., Périole X., Marrink S.J. In Silico Design of Robust Bolalipid Membranes // *Biomacromolecules*. 2011. Vol. 13, № 1. P. 196–205.
21. Holland D.P. et al. Bolalipid Membrane Structure Revealed by Solid-State <sup>2</sup>H NMR Spectroscopy // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130, № 14. P. 4584–4585.
22. Farago O. “Water-free” computer model for fluid bilayer membranes // *J. Chem. Phys.* 2003. Vol. 119, № 1. P. 596–605.
23. Tolpekina T.V., den Otter W.K., Briels W.J. Simulations of stable pores in membranes: System size dependence and line tension // *J. Chem. Phys.* 2004. Vol. 121, № 16. P. 8014–8020.
24. Mukhin S.I., Kheyfets B.B. Pore formation phase diagrams for lipid membranes // to be published 2014-03-25 JETP Lett.