

ТРУБЧАТЫЕ ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ, ВЫТЯГИВАЕМЫЕ ИЗ ВЕЗИКУЛЫ: ЗАВИСИМОСТЬ РАВНОВЕСИЯ СИСТЕМЫ ОТ КРИВИЗНЫ ЛИПИДНОГО БИСЛОЯ

*И. Ю. Голушко**, *С. Б. Рошаль*

*Южный федеральный университет
344090, Ростов-на-Дону, Россия*

Поступила в редакцию 1 июля 2015 г.

Выводятся условия совместного равновесия и устойчивости сферической липидной везикулы и вытянутой из нее трубчатой липидной мембраны. Найденные соотношения связывают геометрические и физические характеристики системы с внешними параметрами, управление которыми оказалось возможным в последних экспериментальных работах. В частности, наряду с перепадом давления между внутренней и внешней областями системы предложенная теория позволяет учесть влияние изменяемой спонтанной средней кривизны липидного бислоя, образующего трубчатую липидную мембрану, на устойчивость липидной трубки. Обсуждаются условия устойчивости цилиндрической фазы трубчатых липидных мембран при выключении внешней силы, первоначально сформировавшей трубчатую липидную мембрану из везикулы. Также рассматривается потеря устойчивости системой под действием малой аксиальной силы, сжимающей трубчатую липидную мембрану.

DOI: 10.7868/S0044451016010193

1. ВВЕДЕНИЕ

Клеточная мембрана является одним из важнейших компонентов живой клетки. Мембраны играют ключевую роль, как в структурной организации, так и в функционировании всех клеток. Они отделяют клеточное пространство от окружающей среды, участвуют в подавляющем большинстве внутриклеточных процессов, а также соединяют клетки между собой (в тканях). При физиологических условиях большинство липидных мембран проявляют свойства двумерной жидкости и, как следствие, способны принимать огромное многообразие форм: от планарных до сферических и цилиндрических [1]. Мембраны последнего типа, так называемые трубчатые липидные мембраны (ТЛМ), достигают в длину сотен микрометров при радиусе всего в пару десятков нанометров [2]. Они участвуют в большинстве внутриклеточных и межклеточных обменных процессов и были обнаружены в целом ряде органелл, таких как митохондрии, комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум [3, 4].

Развитие экспериментальных методов исследования сделало возможным моделирование подобных систем в контролируемых лабораторных условиях [2, 5–9]. Достаточно популярным способом получения и исследования ТЛМ стало их механическое «вытягивание» из везикул, сформированных либо из биологических мембран, либо из искусственно синтезированных фосфолипидных мембран [2, 6–9]. Этот метод во многом схож с одним из механизмов образования ТЛМ в живых клетках, в котором формирование ТЛМ осуществляется моторными белками, перемещающимися вдоль микротрубочек цитоскелета [5]. В последнее время активно исследуются механизмы изменения спонтанной кривизны липидного бислоя, обеспечивающие стабильность ТЛМ в случае отсутствия внешней силы [8, 10]. При этом в подобных экспериментах удается контролировать не только растягивающую силу, но и малый перепад давлений $\Delta P = P_{in} - P_{out}$ между внутренней и внешней областями мембраны, которым ранее обычно пренебрегали для упрощения теории [11].

Цель настоящей работы — обсудить условия устойчивого равновесия данной системы в рамках предлагаемой минимальной теоретической модели, учитывающей возможность экспериментального контроля величин спонтанной кривизны мемб-

* E-mail: vaniagolushko@yandex.ru

раны C_0 и ΔP . Заметим, что самым естественным вариантом изучения любой равновесной системы является построение и минимизация ее свободной энергии, однако найти эту энергию для рассматриваемой системы как целого весьма сложно. Прежде всего, это связано со сложностью расчета энергии переходных областей, где резко меняется кривизна системы. Следуя используемому в работе [10] подходу, мы также будем условно делить систему на части. Однако, в отличие от работы [10], мы не будем рассматривать общую свободную энергию всей системы, а лишь воспользуемся тем фактом, что в равновесном состоянии поверхностное натяжение мембраны σ и перепад давления ΔP должны быть одинаковы как в везикуле, так и вытянутой из нее ТЛМ.

Статья организована следующим образом. В разд. 2 исследуется устойчивость цилиндрической формы ТЛМ при изменении внешних параметров, включая спонтанную кривизну липидного бислоя. В разд. 3 мы получаем условия совместного равновесия везикулы и вытянутой из нее ТЛМ. Конец этого раздела посвящен обсуждению и возможному применению полученных результатов. В Приложении выводится закон Лапласа для сферической везикулы и рассматривается ее устойчивость.

2. СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ И РАВНОВЕСИЕ ТЛМ

Для того чтобы пояснить рассматриваемую в работе физическую модель, приведем принципиальную схему эксперимента [10] по вытягиванию ТЛМ из везикулы (см. рис. 1). Использование оптического пинцета для удержания стеклянного шарика, приклеенного к концу ТЛМ, как и в более ранних работах [8,9], позволяет измерять силу F , вытягивающую (удерживающую) ТЛМ из везикулы.

Поверхностное натяжение липидного бислоя контролируется при помощи микропипетки, схематически изображенной на рис. 1 в виде широкого цилиндра. Уменьшение давления внутри микропипетки P_p приводит к увеличению погруженной внутрь нее части везикулы и увеличению разности давлений $\Delta P = P_{in} - P_{out}$, что, в свою очередь, вызывает увеличение поверхностного натяжения липидного бислоя. Увеличение давления в микропипетке ведет к обратному процессу. И наконец, средняя спонтанная кривизна бислоя контролируется при помощи введения раствора определенных белков или амфифильных полимеров. Внедрение этих молекул во внешний слой липидов ведет к

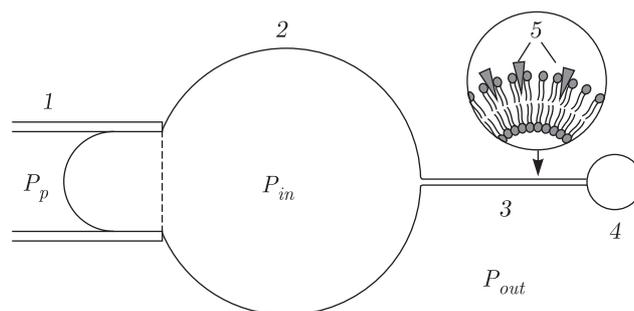


Рис. 1. Схема эксперимента по вытягиванию ТЛМ: 1 — микропипетка, 2 — везикула, 3 — ТЛМ, 4 — стеклянный или полимерный шарик, 5 — молекулы полимера внедрившиеся в бислой, P_p — давление внутри микропипетки, P_{in} — давление внутри везикулы, P_{out} — давление окружающей ТЛМ жидкости

увеличению спонтанной кривизны бислоя. При этом спонтанная кривизна бислоя, образующего везикулу, остается по-прежнему близкой к нулю.

Вначале рассмотрим область устойчивости цилиндрической формы мембраны с переменной спонтанной кривизной C_0 , не учитывая при этом остальные части системы. Для этого немного модифицируем выражение для свободной энергии ТЛМ, использованное в [12], и запишем его в следующем виде:

$$\Phi = \frac{k}{2} \int \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} - 2C_0 \right)^2 dS + \sigma \int dS - \Delta P \int dV - FL. \quad (1)$$

Первый член выражения (1) — свободная энергия Канама–Хелфриха (Canham–Helfrich free-energy) [13, 14], где k — изгибная жесткость мембраны, C_0 — средняя спонтанная кривизна мембраны, а R_1 и R_2 — главные радиусы кривизны. Второй и третий члены представляют собой вклады поверхностного натяжения σ и разности давлений $\Delta P = P_{in} - P_{out}$ внутри и снаружи ТЛМ; L — длина ТЛМ, F — приложенная вдоль оси ТЛМ растягивающая (если $F > 0$) сила, а dV и dS — дифференциалы соответственно объема и площади.

Будем считать, что равновесная ТЛМ представляет собой цилиндр длиной L и радиусом r с отношением $r/L \ll 1$. Минимизируя свободную энергию такой мембраны по r и L , получаем два обобщенных уравнения Лапласа:

$$\begin{aligned} \sigma &= r\Delta P + \frac{k(1 - 4C_0^2 r^2)}{2r^2}, \\ F &= \pi r^2 \Delta P + \frac{2k\pi(1 - 2C_0 r)}{r}. \end{aligned} \quad (2)$$

Условия $\Delta P = 0$ и $C_0 = 0$ сводят уравнения (2) к более простым известным зависимостям [11] между величинами r , σ и F . Заметим, что уравнения (2) являются лишь необходимыми условиями равновесия цилиндрической формы и не позволяют убедиться в том, соответствует ли форма цилиндра минимуму энергии ТЛМ. Для того чтобы это проверить, необходимо рассмотреть устойчивость ТЛМ по отношению к термическим флуктуациям.

Для описания формы флуктуирующей ТЛМ будем рассматривать поверхность мембраны как двумерное многообразие $\mathbf{R}(x, y, z)$ в трехмерном пространстве. В цилиндрической системе координат радиальное поле смещений u_r элементов поверхности ТЛМ выражается функцией от угла ϕ и координаты z , при этом вектор декартовых координат самого элемента записывается в виде

$$\mathbf{R}' = ([u_r(\phi, z) + r] \cos \phi, [u_r(\phi, z) + r] \sin \phi, z).$$

Площадь элемента поверхности определяется через первую квадратичную форму

$$dS = \sqrt{E_d G_d - F_d^2} dz d\phi,$$

где

$$E_d = \left(\frac{\partial R'_x}{\partial z} \right)^2 + \left(\frac{\partial R'_y}{\partial z} \right)^2 + 1,$$

$$F_d = \frac{\partial R'_x}{\partial z} \frac{\partial R'_x}{\partial \phi} + \frac{\partial R'_y}{\partial z} \frac{\partial R'_y}{\partial \phi},$$

$$G_d = \left(\frac{\partial R'_x}{\partial \phi} \right)^2 + \left(\frac{\partial R'_y}{\partial \phi} \right)^2,$$

а объем деформированной ТЛМ как

$$V = \frac{1}{2} \int_0^L \int_0^{2\pi} (x^2 + y^2) d\phi dz.$$

При разложении поля деформаций $u_r(\phi, z)$ введем периодические граничные условия, которые традиционно применяются в абсолютном большинстве теоретических работ, изучающих ТЛМ. Поле деформаций $u_r(\phi, z)$ в таком случае может быть представлено в виде

$$u_r(\phi, z) = \sum_{n,m=-\infty}^{\infty} A_{n,m} e^{i(n\phi + k_m z)}, \quad (3)$$

где $k_m = 2\pi m/L$ — волновой вектор ТЛМ с индексом m , n и m — целые числа. Для исследования устойчивости достаточно рассмотреть малые флуктуации $u_r(\phi, z)$ и ограничить разложение свободной

энергии в ряд квадратичными членами по амплитудам $A_{n,m}$. Сделав это в точке равновесия, задаваемой уравнениями (2), мы получаем

$$\Phi = \frac{\pi L k}{r^3} \sum_{n,m=-\infty}^{\infty} M_{n,m} A_{n,m} A_{n,m}^*, \quad (4)$$

где

$$M_{n,m} = (r^2 k_m^2 + n^2 - 1)^2 + (2\alpha_C - 2)(n^2 - 1) + \alpha_F (r^2 k_m^2 + n^2 - 1). \quad (5)$$

В коэффициентах $M_{n,m}$ величины $\alpha_F = Fr/\pi k$ и $\alpha_C = 2C_0 r$ являются двумя эффективными безразмерными внешними параметрами, управляющими устойчивостью системы. Используя (2) можно выразить величины ΔP и σ через параметры α_F и α_C следующим образом:

$$\Delta P = \frac{k(\alpha_F - 2 + 2\alpha_C)}{r^3}, \quad (6)$$

$$\sigma = \frac{k(2\alpha_F - 3 + 4\alpha_C - \alpha_C^2)}{2r^2}.$$

Заметим, что при выборе периодических граничных условий все линейные по полю смещений и его производным члены обращаются в нуль. Цилиндрическая форма очевидно устойчива при тех значениях α_F и α_C , для которых коэффициенты $M_{n,m}$ положительны. Таким образом, в зависимости от значений α_F и α_C потеря устойчивости может быть связана с последовательностью двукратно вырожденных мод, для которых $n = 0$ и $m = \pm m_0$, где $m_0 = 0, 1, 2, \dots, m_{max}$ и $m_{max} = \text{round}(L/(2\pi r))$, а функция “round” выделяет целую часть числа (рис. 2а 1, 2, 3) или же с четырехкратно вырожденными модами прогиба с $n = \pm 1$ и $m = \pm 1$ (рис. 2а, 4). Рассмотрим область устойчивости ТЛМ в координатах $\langle \alpha_F, \alpha_C \rangle$ (рис. 2б). Сверху она ограничена многоугольником со сторонами, задаваемыми уравнениями прямых $M_{0,m} = 0$, где m изменяется от 0 до $m_{max} = \text{round}(L/(2\pi r))$. Левая вертикальная граница соответствует потере устойчивости относительно прогибных мод с $n = \pm 1$ и $m = \pm 1$. На этой границе $\alpha_F = -(2\pi r/L)^2$. И наконец, поскольку молекулы полимеров могут внедряться только во внешний слой ТЛМ, нижняя граница области устойчивости определяется условием положительности спонтанной кривизны $\alpha_C > 0$.

Отметим, что в случае периодических граничных условий моды с $n = \pm 1$ и $m = 0$ всегда являются безэнергетическими голдстоуновскими (трансляционными). Соответствующие элемен-

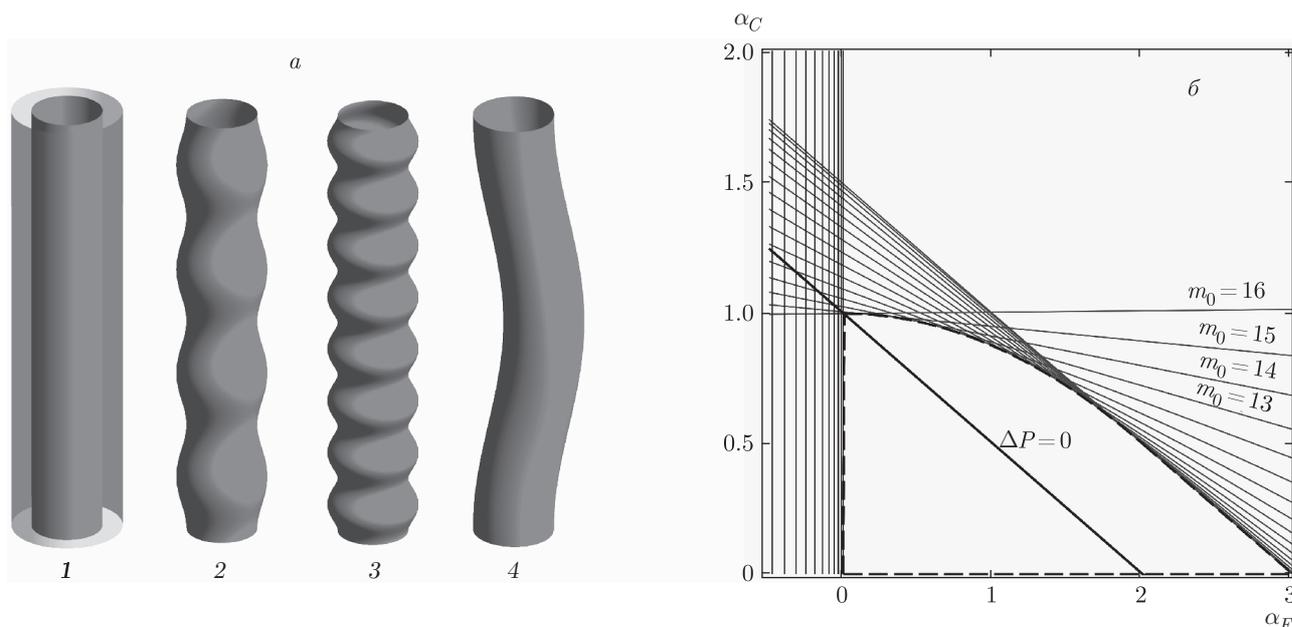


Рис. 2. а) Возможные мягкие моды ТЛМ: 1 — $n = 0, m = 0$ (радиальная дыхательная мода); 2 — $n = 0, m = 4$ (мода гофрировки); 3 — $n = 0, m = 8$ (мода гофрировки); 4 — $n = 1, m = 1$ (мода прогиба); б) область устойчивости ТЛМ с отношением $L/r = 100$: сплошные тонкие линии задаются уравнениями $M_{n,m} = 0$ и соответствуют возможным в ТЛМ мягким модам; жирная штриховая линия очерчивает границу устойчивости ТЛМ, сплошная жирная линия задается уравнением $\alpha_C = 1 - \alpha_F/2$ и соответствует нулевой разности давлений $\Delta P = 0$

ты $M_{n,m}$ обращаются в нуль, независимо от величин управляющих параметров, что никак не сказывается на устойчивости мембраны. Несмотря на то что область устойчивости зависит от конкретной величины отношения r/L , прямые $M_{0,m} = 0$, где $m = 1, \dots, m_{max}$ имеют общую касательную параболу, и поэтому с очень хорошей степенью точности верхняя граница области устойчивости может быть задана как:

$$\alpha_F < 3 - 2\alpha_C \quad \text{при} \quad \alpha_F \geq 2$$

$$\text{и} \quad \alpha_C < 1 - \alpha_F^2/8 \quad \text{при} \quad \alpha_F \leq 2. \quad (7)$$

В работе [15] было проведено аналогичное исследование устойчивости изолированной ТЛМ в рамках более сложной ADE (area-difference-elasticity) [16] модели, учитывающей вклад в энергию системы, связанный с изменением разности площадей двух слоев фосфолипидов. Интересно, что такой подход приводит к выражению, определяющему устойчивость ТЛМ, в точности совпадающему с полученным нами выражением (5). Заметим, что анализ устойчивости ТЛМ в работе [15] проводится на плоскости $\langle \alpha_F, \alpha_{\Delta P} \rangle$, где $\alpha_{\Delta P} = -r^3 \Delta P/k$. При этом переход между системами безразмерных координат легко осуществляется с помощью соотноше-

ния (6). Однако авторы работы [15], написанной задолго до проведения экспериментов по управлению спонтанной кривизной липидного бислоя, естественно еще не понимали причин, по которым спонтанная кривизна не может принимать отрицательные значения. Поэтому в [15] изолированная ТЛМ имеет гораздо большую область устойчивости, ограниченную рядом весьма экзотических состояний. Одним из таких состояний, наблюдение которого в рассматриваемых экспериментах не представляется возможным, является сжатый в некоторое подобие ленты цилиндр (потеря устойчивости в этом случае связана с модой $m = 0, n = 2$).

Отдельный интерес представляет частный случай нулевой разности давлений $\Delta P = 0$, часто используемый в литературе [11]. В координатах $\langle \alpha_F, \alpha_C \rangle$ ему соответствует линия $\alpha_C = 1 - \alpha_F/2$ (см. рис. 2б). Вдоль этой линии выражения для коэффициентов (5) принимают упрощенный вид $M_{n,m} = (r^2 k_m^2 + n^2 - 1)^2 + \alpha_F r^2 k_m^2$. Потеря устойчивости цилиндрической фазы при этом происходит в точке $\alpha_F^{ins} = -\delta^2/(1 + \delta)$, где $\delta = k_{max}^2 r^2 - 1$ — малый параметр, характеризующий данную неустойчивость. Также заметим, что при движении системы в координатах $\langle \alpha_C, \alpha_F \rangle$ по линиям параллельным и близ-

ким к прямой $\alpha_C = 1 - \alpha_F/2$ (при таком движении ΔP мало), нестабильность имеет комплексный характер и в области небольших отрицательных величин α_F ТЛМ теряет устойчивость практически одновременно относительно мод гофрировки ($n = 0$, $m = \pm m_{max}$) и прогиба ($n = \pm 1$, $m = \pm 1$).

Среднеквадратичные флуктуации амплитуд критических мод ТЛМ при приближении к границам области устойчивости (за исключением границы $\alpha_C = 0$) стремятся к бесконечности. Аналогичным образом ведет себя и величина среднеквадратичных радиальных флуктуаций трубчатой мембраны $\langle |u_r|^2 \rangle$:

$$\langle |u_r|^2 \rangle = \frac{k_B T r^3}{2k\pi L} \sum_{n,m=-\infty}^{\infty} \frac{1}{M_{n,m}}, \quad (8)$$

где из суммы исключаются слагаемые, соответствующие движению ТЛМ как целого, т.е. пара голдстоуновских мод с $n = \pm 1$ и $m = 0$. Выражение (8) показывает, что расходимость $\langle |u_r|^2 \rangle$ обусловлена стремлением к нулю эффективных упругостей $M_{n,m}$, соответствующих критическим модам.

В заключение этого раздела еще раз подчеркнем, что в нем мы формально рассматривали изолированную ТЛМ. В действительности же ТЛМ находится в состоянии равновесия с везикулой и условия этого равновесия жестко определяют путь, по которому может двигаться система на плоскости $\langle \alpha_F, \alpha_C \rangle$.

3. СОСТОЯНИЕ РАВНОВЕСИЯ ВЕЗИКУЛЫ И ВЫТЯНУТОЙ ИЗ НЕЕ ТЛМ

Внедрение белков или амфифильных полимеров в липидный бислой ТЛМ может в конечном итоге привести к образованию жесткого каркаса на поверхности ТЛМ [8, 10]. Рассмотрение данной ситуации выходит за рамки применимости развиваемого подхода. Однако до тех пор, пока полимеризация внедряемых молекул не произошла, везикула и вытянутая из нее ТЛМ представляют единую систему, которая в случае отсутствия внешних полей должна характеризоваться однородным по внутреннему объему перепадом давления ΔP и однородным по поверхности натяжением липидного бислоя σ . Последняя величина играет для двумерной жидкости, образующей липидную мембрану, примерно ту же роль, что и давление для обычной трехмерной жидкости. Таким образом, двумерный аналог закона Паскаля приводит к выравниванию σ по всей поверхности бислоя.

Самый естественный способ определения параметров любой системы — минимизации ее свободной энергии. Чтобы найти энергию рассматриваемой сложной системы, последнюю обычно условно делят на части. Например, в работе [10] этих частей три: ТЛМ, часть везикулы снаружи и часть везикулы внутри микропипетки. Сложность основанного на таком подходе расчета свободной энергии и причины его неточности очевидны. Трудно учесть энергию переходных областей, где резко меняется кривизна системы. Кроме того, расчет энергии части везикулы, попадающей в микропипетку также является весьма непростой задачей [17].

Однако упомянутых выше трудностей можно избежать, вообще отказавшись от расчета свободной энергии системы и воспользовавшись тем фактом, что поверхностное натяжение σ и разность давлений ΔP одинаковы во всех частях системы. Следуя [10, 17], будем считать, что часть везикулы вне микропипетки (см. рис. 1) имеет форму практически идеального сферического сегмента. Поскольку этот сегмент образован липидным бислоем с пренебрежимо малой спонтанной кривизной (что соответствует условиям обсуждаемого эксперимента), для него выполняется [17] (см. также Приложение) обычный закон Лапласа:

$$\Delta P = 2\sigma/R. \quad (9)$$

Таким образом, рассматриваемую сложную систему одновременно характеризуют условия равновесия (2) и уравнение (9), в котором под R следует понимать радиус кривизны части везикулы, находящейся вне микропипетки. Совместное решение этих уравнений дает

$$F = \frac{k\pi(1 - \alpha_C)(r\alpha_C + 2R - 3r)}{r(R - 2r)}, \quad (10)$$

$$\sigma = \frac{k(1 - \alpha_C^2)R}{2r^2(R - 2r)}.$$

При этом для расчета перепада давлений между внутренней и внешней областями системы следует пользоваться выражением (9). Введя малый параметр $\gamma = r/R$, выражения (10) в первом приближении можно записать как

$$F \approx \frac{2k\pi(1 - \alpha_C)}{r} + \gamma \frac{k\pi(1 - \alpha_C^2)}{r}, \quad (11)$$

$$\sigma \approx \frac{k(1 - \alpha_C^2)}{2r^2} + \gamma \frac{k(1 - \alpha_C^2)}{r^2}.$$

В случае $\alpha_C \rightarrow 0$ (что эквивалентно $C_0 \rightarrow 0$) и $\gamma \rightarrow 0$ уравнения (10), (11) превращаются в известные уравнения [11]

$$F \approx \frac{2k\pi}{r}, \quad \sigma \approx \frac{k}{2r^2}, \quad (12)$$

которые были выведены для ТЛМ с нулевой спонтанной кривизной в предположении $\Delta P = 0$. Развиваемый же нами подход, напротив, приводит к некоторому положительному перепаду давления:

$$\Delta P \approx \frac{k(1 - \alpha_C^2)}{r^2 R} + \gamma \frac{2k(1 - \alpha_C^2)}{r^2 R}. \quad (13)$$

Для ТЛМ с нулевой спонтанной кривизной, величиной k порядка $12k_B T$, $R \approx 5 \cdot 10^{-6}$ м и $r \approx 25 \cdot 10^{-9}$ м величину разности давлений можно оценить как $\Delta P \approx 16$ Па. Перепад давления (13) стремится к нулю с ростом спонтанной кривизны C_0 . В точке $\alpha_C = 1$ вместе с перепадом давления ΔP в нуль обращается и растягивающая сила F , и поверхностное натяжение мембраны σ .

Совместные решения уравнений (13) и (6), соответствующие ТЛМ, находящейся в равновесии с везикулой, лежат на кривой

$$\alpha_F \approx 2 - 2\alpha_C + \gamma(1 - \alpha_C^2), \quad (14)$$

которая лишь немного отлична от прямой $\alpha_C = 1 - \alpha_F/2$ с $\Delta P = 0$ за счет последнего слагаемого в (13). Кривая равновесия (14) пересекает прямую $\alpha_C = 1 - \alpha_F/2$ в точке $\alpha_C = 1$. В этой точке ТЛМ с радиусом $r \approx 1/2 C_0$ оказывается равновесной в случае отсутствия растягивающей силы, при этом вместе с силой обращается в нуль и поверхностное натяжение.

В случае, когда на поверхности ТЛМ не происходит полимеризация белковых молекул в некоторое подобие жесткого каркаса, минимальная сдавливающая сила должна привести к развитию неустойчивости эйлерова типа. Действительно, так как в точке неустойчивости можно считать $\alpha_C \approx 1$ и $\alpha_F = \alpha_F^{ins}$, где α_F^{ins} — крайне малая отрицательная величина (см. предыдущий раздел и рис. 2б), то, воспользовавшись (6) и (9), несложно оценить перепад давления в точке неустойчивости как

$$\Delta P_{ins} = k\alpha_F^{ins}/r^2 R. \quad (15)$$

С другой стороны, анализируя свободную энергию сферической липидной мембраны с $C_0 = 0$ аналогичную выражению (1), несложно получить (см. Приложение), что такая мембрана теряет устойчивость при отрицательном давлении

$$\Delta P_0 = -12k/R^3. \quad (16)$$

Поскольку $\alpha_F^{ins} > -(2\pi r/L)^2$ (см. предыдущий раздел), используя выражение (16) в качестве некоторой весьма грубой оценки предела устойчивости везикулы неправильной формы, приходим к выводу, что если длина липидной трубки больше нескольких (хотя бы 2–3) радиусов везикулы, то возникновение эйлеровой неустойчивости в ТЛМ происходит раньше, чем потеря устойчивости везикулы. Таким образом, в рассматриваемом случае экспериментальное исследование критического и слабозакритического поведения ТЛМ представляется возможным.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведен теоретический анализ экспериментов по исследованию ТЛМ, в ходе которых сформированные из липидной везикулы путем вытягивания липидные трубки стабилизируются при помощи молекул белков или амфифильных полимеров [8, 10]. Внедряясь в верхний слой липидов, полимеры изменяют спонтанную кривизну бислоя. В результате стабилизированные ТЛМ оказываются устойчивыми и в случае отсутствия внешней растягивающей силы.

Предложенная нами модель совместного равновесия ТЛМ и везикулы наряду с переменной спонтанной кривизной липидного бислоя учитывает перепад давления между внутренней и внешней областями системы. В работе рассматривается случай достаточно низких концентраций внедряющихся в бислой молекул, когда они еще не образуют каркаса на поверхности ТЛМ. На плоскости эффективных безразмерных параметров α_F , α_C , характеризующих соответственно приведенную среднюю спонтанную кривизну и приведенную растягивающую силу, найдена область устойчивости индивидуальной ТЛМ. Анализ совместного равновесия везикулы и вытянутой из нее ТЛМ показывает, что равновесие этой двух компонентной системы реализуется на некоторой кривой в пространстве $\langle \alpha_F, \alpha_C \rangle$, заканчивающейся в точке неустойчивости эйлерова типа. Интересно отметить, что в окрестности этой точки два разных по симметрии типа мод липидной нанотрубки одновременно являются критическими.

Продемонстрированная в работе чрезвычайно низкая устойчивость стабилизированной ТЛМ к аксиальной нагрузке, хорошо согласуется с тем фактом, что в клетке гораздо более распространенным механизмом стабилизации липидных трубок является их покрытие полимеризованным внешним каркасом из белковых молекул [18, 19]. Полученные ре-

зультаты во многом объясняют неправильную форму образующихся без действия вытягивающей силы природных ТЛМ [20, 21]. На наш взгляд, подобная неправильная форма обусловлена значительными длинноволновыми термическими флуктуациями.

В дальнейшем было бы интересно развить идею дальнедействующего резонансного взаимодействия между адсорбированными на поверхности ТЛМ белками, предложенную в [14], для рассмотренной в работе системы. Также большой интерес представляет экспериментальное изучение неустойчивости стабилизированной ТЛМ, которую, как показано в настоящей работе, можно вызвать минимальным аксиальным сжатием нанотрубки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-12-10004).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Закон Лапласа и устойчивость сферической липидной мембраны

Свободная энергия сферической липидной мембраны может быть записана как

$$\Phi_{sp} = \frac{k}{2} \int \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right)^2 dS + \sigma \int dS - \Delta P \int dV, \quad (\text{A.1})$$

где в соответствии с экспериментальной техникой [10] средняя спонтанная кривизна липидного бислоя везикулы является пренебрежимо малой. Заметим, что сферическая мембрана, описываемая энергией (A.1) и рассматриваемая при постоянном перепаде давления $\Delta P > 0$, в отличие от удерживаемой внешней силой F ТЛМ, неустойчива. Не уменьшающаяся с увеличением радиуса мембраны величина ΔP приводит к тому, что сферическая мембрана неограниченно расширяется. При таком рассмотрении неустойчив и обычный мыльный пузырь, для которого прогибная упругость k равна нулю. Очевидно, что устойчивость мыльного пузыря относительно радиального расширения обусловлена исключительно постоянством массы содержащегося в нем воздуха. Поэтому для того, чтобы корректно рассмотреть устойчивость сферической везикулы, описываемой выражением (A.1), необходимо либо явно учитывать объемную упругость жидкости

внутри везикулы, либо, что проще, наложить условие постоянства внутреннего объема:

$$\int dV \equiv V_0 = \frac{4}{3} \pi R^3,$$

где R — радиус равновесной сферической мембраны. В последнем случае перепад давления также учитывается, однако здесь он играет роль множителя Лагранжа при условной минимизации функционала (A.1).

Следуя подходу, использованному выше для анализа устойчивости ТЛМ, разложим поле произвольных радиальных деформаций сферической оболочки по сферическим гармоникам

$$u_r(\theta, \phi) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{l=-m}^{l=m} A_{l,m} Y_{l,m}(\theta, \phi), \quad (\text{A.2})$$

где θ и ϕ — углы полярной системы координат. Вектор декартовых координат \mathbf{R}' точки поверхности деформированной сферы при этом записывается следующим образом:

$$\mathbf{R}' = \langle (u_r + R) \sin \theta \cos \phi, (u_r + R) \sin \theta \sin \phi, (u_r + R) \cos \theta \rangle.$$

Для определения элемента объема dV зададим координаты точки внутри деформированной сферы как $\mathbf{R}^{in} = \beta \mathbf{R}'$, где β изменяется от нуля до единицы. Тогда объем деформированной сферы есть

$$V = \int d^3 \mathbf{R}^{in} = \int_{\beta=0}^{\beta=1} \int_{\theta=0}^{\theta=\pi} \int_{\phi=0}^{\phi=2\pi} \left| \frac{\partial R_x^{in}}{\partial \alpha}, \frac{\partial R_y^{in}}{\partial \phi}, \frac{\partial R_z^{in}}{\partial \theta} \right| d\phi d\theta d\beta. \quad (\text{A.3})$$

После интегрирования по β получаем

$$dV = \frac{1}{3} \det \begin{vmatrix} R'_x & R'_y & R'_z \\ \partial_\theta R'_x & \partial_\theta R'_y & \partial_\theta R'_z \\ \partial_\phi R'_x & \partial_\phi R'_y & \partial_\phi R'_z \end{vmatrix} d\theta d\phi. \quad (\text{A.4})$$

Далее, выполним подстановку поля смещений (A.2) в энергию (A.1), ограничившись при этом второй степенью разложения энергии по амплитудам смещений. Несложно заметить, что полученное в результате выражение для свободной энергии системы наряду с квадратичными по амплитудам поля (A.2) членами содержит также и линейные по амплитуде $Y_{0,0}$ члены. Условие отсутствия таких линейных членов в минимуме энергии приводит к тому, что для равновесной липидной сферической мембраны выполняется обычный закон Лапласа:

$$\sigma = \frac{1}{2} R \Delta P. \quad (\text{A.5})$$

После чего, учитывая условие постоянства внутреннего объема и уравнения (12), получаем квадратичную по амплитудам A_{lm} часть энергии (A.1):

$$\Phi_2 = 8k\pi + \frac{2}{3}\pi R^3 \Delta P + \sum_{l=1}^{\infty} \sum_{l=-m}^{l=m} \zeta_l Y_{l,m} Y_{l,m}^*, \quad (\text{A.6})$$

где

$$\zeta_l = R\Delta P [l(l+1)/4 - 1/2] + \frac{k}{2R^2} [(l-1)l(l+1)(l+2)].$$

Заметим, что мода с $l = 1$ является безэнергетической и соответствует движению везикулы как целого, так как равенство нулю коэффициента ζ_1 никак не связано с потерей устойчивости. Анализ ζ_l при $l > 1$ показывает, что сферическая липидная мембрана устойчива при $\Delta P > 0$ и теряет устойчивость при $\Delta P < \Delta P_0$ по модам с $l = 2$, где

$$\Delta P_0 = -12k/R^3. \quad (\text{A.7})$$

ЛИТЕРАТУРА

1. R. Gennis, *Biomembranes: Molecular Structure and Functions*, Springer-Verlag, New York Inc. (1989).
2. R. E. Waugh, J. Song, S. Svetina, and B. Zeks, *Biophys. J.* **61**, 974 (1992).
3. H. H. Mollenhauer and D. J. Morré, *Histochem. Cell Biol.* **109**, 533 (1998).
4. C. Lee and L. B. Chen, *Cell* **54**, 37 (1988).
5. G. Koster, M. VanDuijn, B. Hofs et al., *PNAS* **100**, 15583 (2003).
6. R. M. Hochmuth, H. C. Wiles, E. A. Evans et al., *Biophys. J.* **39**, 83 (1982).
7. L. Bo and R. E. Waugh, *Biophys. J.* **55**, 509 (1989).
8. A. Roux, G. Koster, M. Lenz et al., *PNAS* **107**, 4141 (2010).
9. A. Roux, D. Cuvelier, P. Nassoy et al., *The EMBO J.* **24**, 1537 (2005).
10. B. Sorre, A. Callan-Jones, J. Manzi et al., *PNAS* **109**, 173 (2012).
11. I. Derényi, F. Jülicher, and J. Prost, *Phys. Rev. Lett.* **88**, 209901 (2002).
12. S. Monnier, S. B. Rochal, A. Parmeggiani et al., *Phys. Rev. Lett.* **105**, 028102 (2010).
13. W. Helfrich, *Z. Naturforsch C* **98**, 693 (1973).
14. P. B. Canham, *J. Theor. Biol.* **26**, 61 (1970).
15. D. J. Bukman, J. H. Yao, and M. Wortis, *Phys. Rev. E* **54**, 5463 (1996).
16. W. Wiese, W. Harbich, and W. Helfrich, *J. Phys. Condens. Matter.* **4**, 1647 (1992).
17. J.-B. Fournier and P. Galatola, *Soft Matter.* **4**, 2463 (2008).
18. H. T. McMahon and J. L. Gallop, *Nature* **438**, 590 (2005).
19. J. Zimmerberg and M. M. Kozlov, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **7**, 9 (2006).
20. I. Tsafrir, Y. Caspi, and M.-A. Guedeau-Boudeville, *Phys. Rev. Lett.* **91**, 138102 (2003).
21. W. Römer, L. Berland, V. Chambon et al., *Nature* **450**, 670 (2007).