

Фазовое разделение в липидных мембранах, индуцированное упругими свойствами компонентов

Т. Р. Галимзянов, С. А. Акимов¹⁾

Учреждение Российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН
119991 Москва, Россия

Национальный исследовательский технологический университет “МИСиС”, 119049 Москва, Россия

Поступила в редакцию 8 февраля 2011 г.

После переработки 5 марта 2011 г.

Рассмотрено влияние упругих свойств многокомпонентных липидных мембран на фазовое разделение. Построена фазовая диаграмма трехкомпонентной мембраны, состоящей из холестерина и ненасыщенных липидов. Расчет проделан в рамках теории регулярных растворов с учетом вклада механической энергии в параметры парных взаимодействий компонент. Показано, что решающее влияние на возможность фазового разделения оказывает различие спонтанных кривизн компонент. Рассчитан эффективный модуль изгиба мембраны, в которой присутствуют компоненты с различной изгибной жесткостью.

Введение. Биологические мембраны содержат большое количество различных видов липидов и белков. В такой многокомпонентной системе при физиологической температуре может происходить фазовое разделение на плотно упакованную и неупорядоченную фазы. Действительно, согласно многочисленным экспериментальным данным [1, 2], клеточные мембраны латерально неоднородны. В частности, в них формируются специфические домены, называемые рафтами, обогащенные белками и насыщенными липидами, например, сфингомиелином, в то время как окружающая рафты мембрана обогащена ненасыщенными липидами. Было обнаружено, что подобные домены могут быть сформированы в близких по составу модельных липидных мембранах, содержащих диолеилфосфатидилхолин (ДОФХ), сфингомиелин и холестерин, но не содержащих белки. Обычно модельные домены образуются в результате фазового разделения, вызванного понижением температуры. Оказалось, что подобный фазовый переход может происходить также и в модельных липидных мембранах, содержащих только ненасыщенные липиды. В работе [3] такое фазовое разделение было экспериментально зарегистрировано для мембран, состоящих из холестерина, ДОФХ и лизо-олеилфосфатидилхолина (л-ОФХ) – ненасыщенного липида, имеющего только одну углеводородную цепь. Было обнаружено [4], что модуль изгиба мембран, содержащих 50 мольн.% холестерина и 50 мольн.% л-ОФХ, аномально велик и превосходит модуль изгиба “обычных” мембран (например, состоящих из ДОФХ) почти на порядок, что

косвенно свидетельствует о плотной взаимной упаковке этих компонент. Это позволяет предполагать, что в системе холестерин + ДОФХ + л-ОФХ при фазовом разделении формируется упорядоченная фаза, обогащенная холестерином и л-ОФХ, и неупорядоченная фаза, обогащенная ДОФХ. В отличие от случая рафтообразующих компонент (холестерина, ДОФХ, сфингомиелина), ни в одной бинарной смеси, содержащей холестерин, ДОФХ или л-ОФХ, фазовое разделение не наблюдается. Для смесей холестерин + ДОФХ и холестерин + л-ОФХ это показано экспериментально [3, 5]; для смеси ДОФХ + л-ОФХ мембрана становится нестабильной и необратимо разрушается уже при концентрации л-ОФХ, превышающей несколько мольных процентов. Таким образом, для фазового разделения необходимо присутствие всех трех компонент.

Какие взаимодействия вызывают фазовый переход в смеси холестерина, ДОФХ и л-ОФХ? Согласно имеющимся экспериментальным данным, отталкивание холестерина и ДОФХ недостаточно сильно, чтобы вызвать разделение [5, 6]. ДОФХ и л-ОФХ должны взаимодействовать слабо, поскольку имеют одинаковые углеводородные цепи и полярные головки. Отсюда можно предположить, что фазовое разделение обусловлено специфическим взаимодействием холестерина и л-ОФХ. Обе эти компоненты обладают большой спонтанной кривизной противоположных знаков [7]. Липидам с большой спонтанной кривизной энергетически невыгодно находиться в плоском монослое, поскольку их спонтанная кривизна в этом случае сильно отличается от геометрической кривизны монослоя. Однако если в мембране одно-

¹⁾ e-mail: akimov@misiss.ru

временно присутствуют, например, две компоненты с приблизительно равной по величине и противоположной по знаку спонтанной кривизной, за счет взаимной упаковки разность геометрической и средней спонтанной кривизн может быть уменьшена или даже оказаться равной нулю. При такой упаковке энергия системы, связанная с деформацией изгиба, понижается. Это означает, что компоненты, обладающие разной спонтанной кривизной, эффективно притягиваются. В принципе, понижение энергии может оказаться достаточным, чтобы компенсировать энергетический проигрыш, связанный с уменьшением энтропии при упаковке липидных молекул и вытеснении остальных компонент, присутствующих в мембране, из упорядоченных областей. В этом случае возможно фазовое разделение.

Некоторые особенности фазового разделения в мембранах, содержащих липидные компоненты с ненулевой спонтанной кривизной, были исследованы в работе [8]. Предполагалось, что система сама по себе склонна к фазовому разделению, например, за счет химических взаимодействий, а ее механические свойства влияют лишь на характер и траекторию этого разделения. В этой работе рассмотрены двухкомпонентные бислойные и трехкомпонентные монослойные системы. Рассмотрение базировалось на модели Изинга, в рамках этой модели были рассчитаны фазовые диаграммы. Для двухкомпонентных систем учитывалась энергия взаимодействия молекул, расположенных в разных монослоях бислоя, однако при этом не был учтен вклад взаимодействий внутри каждого монослоя.

В настоящей работе мы рассмотрим возможность фазового разделения в трехкомпонентных мембранах, в частности, состоящих из холестерина, ДОФХ и лизолипида, при комнатной температуре в условиях, когда отсутствует фазовое разделение в бинарных смесях и чисто химических взаимодействий недостаточно, чтобы вызвать разделение в тройной смеси. Для описания фазового разделения воспользуемся теорией регулярных растворов. В этой теории, помимо энтропии смешения, учитываются парные взаимодействия компонент. Их энергия характеризуется эффективными параметрами парных взаимодействий. Поскольку основное взаимодействие в этой смеси, по-видимому, связано с упаковкой холестерина и л-ОФХ, приводящей к взаимной компенсации их спонтанных кривизн, необходимо учесть при расчетах упругие свойства липидных компонент.

Решение задачи. Рассмотрим липидную мембрану в рамках теории регулярных растворов. Для вычисления свободной энергии необходимо пересчи-

тать параметры взаимодействий компонент с учетом ненулевой спонтанной кривизны липидов. Для пар компонент, в бинарных смесях которых при экспериментально достижимых температурах происходит фазовое разделение, параметр парных взаимодействий может быть определен по критической температуре фазового разделения согласно известному соотношению $a = 2k_B T_c$, где a – параметр парных взаимодействий, k_B – константа Больцмана, T_c – критическая температура для бинарной смеси. Для пар компонент, в бинарных смесях которых фазового разделения не происходит, экспериментальное определение параметров парных взаимодействий затруднительно.

Для вычисления зависимости параметров парных взаимодействий от спонтанной кривизны компонент рассмотрим однородный участок липидного монослоя, подвергнутый деформации изгиба [9]. Для простоты будем считать, что мембрана содержит две липидных компоненты, а затем обобщим полученные результаты на случай трехкомпонентной мембраны. В энергии монослоя можно выделить два вклада – первый, F_c , определяющийся энтропией смешения и химическими взаимодействиями компонент, второй, F_m , обусловленный изгибом монослоя относительно его спонтанного состояния. Согласно работе [9], последний вклад пропорционален площади участка монослоя и квадрату разности средних геометрической и спонтанной кривизн. Свободная энергия участка монослоя может быть записана в виде

$$F = F_c + F_m = N_1(\mu_1 + k_0 T \ln(x_1)) + N_2(\mu_2 + k_0 T \ln(x_2)) + (N_1 + N_2)ax_1x_2 + (N_1 + N_2)a_0 \frac{B}{2} (J - J_0)^2, \quad (1)$$

где N_1 – число частиц первой компоненты, N_2 – число частиц второй компоненты, $x_1 = N_1/(N_1 + N_2)$ – концентрация первой компоненты; $x_2 = N_2/(N_1 + N_2)$ – концентрация второй компоненты; μ_1 и μ_2 – стандартные химические потенциалы первой и второй компонент, соответственно; T – абсолютная температура; J_0 – средняя спонтанная кривизна монослоя; J – средняя геометрическая кривизна монослоя в рассматриваемом состоянии; B – модуль изгиба, a_0 – средняя площадь, приходящаяся на одну липидную молекулу. Будем считать, что средняя спонтанная кривизна равна средневзвешенной (по концентрациям) спонтанной кривизне компонент, то есть $J_0 = x_1 J_1 + x_2 J_2$, где J_1 , J_2 – спонтанные кривизны монослоев, содержащих чистые первый и второй компонент, соответственно. С учетом этого равенства

перепишем выражение для свободной энергии деформированного участка монослоя в виде

$$\begin{aligned}
 F = & N_1 \left(\mu_1 + \frac{Ba_0}{2} J_1^2 + k_B T \ln(x_1) \right) + \\
 & + N_2 \left(\mu_2 + \frac{Ba_0}{2} J_2^2 + k_B T \ln(x_2) \right) + \\
 & + (N_1 + N_2) \left(a - \frac{Ba_0}{2} (J_1 - J_2)^2 \right) x_1 x_2 + \\
 & + (N_1 + N_2) \frac{Ba_0}{2} J(J - 2(x_1 J_1 + x_2 J_2)). \quad (2)
 \end{aligned}$$

Из этого выражения видно, что наличие у липидных компонент спонтанной кривизны приводит к перенормировке стандартных химических потенциалов, $\mu_i \rightarrow (\mu_i + 1/2Ba_0 J_i^2)$, и параметра парных взаимодействий, $a \rightarrow a_{\text{eff}} = a - 1/2Ba_0(J_1 - J_2)^2$, причем независимо от геометрической кривизны поверхности монослоя J . Перенормировка параметра парных взаимодействий приводит к изменению (уменьшению) эффективной критической температуры T_c^{eff} , согласно соотношению:

$$T_c^{\text{eff}} = \frac{a_{\text{eff}}}{2k_B} = \frac{a}{2k_B} - \frac{Ba_0}{2k_B} (J_1 - J_2)^2 = T_c - \frac{Ba_0}{2k_B} (J_1 - J_2)^2. \quad (3)$$

Отметим, что свободная энергия в уравнениях (1) и (2) отсчитывается от энергии спонтанного состояния монослоя. В этом состоянии на монослой не действуют внешние силы и моменты, а липидные компоненты равномерно перемешаны. В механике мембран свободную энергию, как правило, отсчитывают не от энергии спонтанного состояния, которое может быть различным для монослоев разного состава, а от энергии некоторого состояния с фиксированной геометрической кривизной, например, равной нулю (плоскость). При рассмотрении только упругих деформаций энергия такого "исходного" состояния однозначно определяется его геометрической кривизной. В этом случае из текущей энергии упругих деформаций вычитается энергия исходного состояния, которая выражается через спонтанную кривизну монослоя следующим образом [9]: $F_{0d} = 1/2ABJ_0^2$, где A – площадь участка монослоя. Однако в нашей модели в свободную энергию в качестве независимой переменной, помимо геометрической кривизны мембраны, входит еще и ее состав. В этом случае энергия исходного состояния не определяется только заданием его геометрической кривизны. Действительно, изменяя в плоской мембране количество компонент, обладающих ненулевой спонтанной кривизной, мы можем варьировать энергию исходного состояния, не изменяя при этом формы мембраны. Таким

образом, в нашей модели для однозначного задания энергии исходного состояния, помимо его геометрической кривизны, необходимо зафиксировать его липидный состав. Если свободную энергию отсчитывать, например, от энергии плоского состояния с составом x_1^0, x_2^0 , то уравнение для свободной энергии деформированной мембраны запишется в виде

$$\begin{aligned}
 \Delta F = F - F_0 = & N \left\{ x_1 \left(\mu_1 + \frac{Ba_0}{2} J_1^2 + k_B T \ln(x_1) \right) + \right. \\
 & + x_2 \left(\mu_2 + \frac{Ba_0}{2} J_2^2 + k_B T \ln(x_2) \right) + \\
 & + \left(a - \frac{Ba_0}{2} (J_1 - J_2)^2 \right) x_1 x_2 + \\
 & + \frac{Ba_0}{2} J(J - 2(x_1 J_1 + x_2 J_2)) - \\
 & - x_1^0 \left(\mu_1 + \frac{Ba_0}{2} J_1^2 + k_B T \ln(x_1^0) \right) - \\
 & - x_2^0 \left(\mu_2 + \frac{Ba_0}{2} J_2^2 + k_B T \ln(x_2^0) \right) - \\
 & \left. - \left(a - \frac{Ba_0}{2} (J_1 - J_2)^2 \right) x_1^0 x_2^0 \right\}. \quad (4)
 \end{aligned}$$

Отсюда видно, что во всех процессах, в которых не происходит (локального) изменения состава мембраны, например, при деформации латерально однородного участка монослоя, $x_1 = x_1^0, x_2 = x_2^0$, и энергия такого процесса, отсчитанная от энергии исходного состояния, равна

$$\Delta F = N \frac{Ba_0}{2} J(J - 2(x_1^0 J_1 + x_2^0 J_2)), \quad (5)$$

то есть однозначно определяется геометрической кривизной монослоя. В настоящей работе рассматривается фазовое разделение в исходно латерально однородной плоской мембране. При фазовом разделении состав участков мембраны изменяется, и энергия этого процесса для каждой фазы определяется выражением (4) (с учетом обобщения на случай трехкомпонентного монослоя), причем уже $x_1 \neq x_1^0$ и $x_2 \neq x_2^0$. В этом случае сохраняется перенормировка параметра взаимодействий, $a \rightarrow a_{\text{eff}} = a - 1/2Ba_0(J_1 - J_2)^2$. В условия равновесия фаз, то есть в условия равенства химических потенциалов каждой компоненты в образующихся фазах, энергия исходного состояния не входит, поскольку при дифференцировании свободной энергии по числу частиц N_1 или N_2 данной компоненты в данной фазе константа F_0 дает ноль. Таким образом, соотношение свободной энергии с энергией исходного состояния с заданной кривизной и за-

данным составом не влияет на вид фазовой диаграммы. Чтобы не загромождать уравнения, в дальнейшем мы будем соотносить свободную энергию с энергией спонтанного состояния в соответствии с уравнением (2).

Фазовая диаграмма трехкомпонентной мембраны. Для расчета фазовой диаграммы трехкомпонентной двухфазной системы введем концентрации каждой компоненты в каждой фазе: x_{1a}, x_{2a}, x_{3a} – концентрации первой, второй и третьей компонент, соответственно, в фазе A ; x_{1b}, x_{2b}, x_{3b} – концентрации первой, второй и третьей компонент, соответственно, в фазе B . Будем считать, что в фазе A содержится всего $N_a = N_{1a} + N_{2a} + N_{3a}$ частиц, а в фазе B – всего $N_b = N_{1b} + N_{2b} + N_{3b}$ частиц. Таким образом, $x_{1a} = N_{1a}/N_a, x_{2a} = N_{2a}/N_a, x_{3a} = N_{3a}/N_a, x_{1b} = N_{1b}/N_b, x_{2b} = N_{2b}/N_b, x_{3b} = N_{3b}/N_b$. Для каждой фазы запишем свободную энергию. Полная свободная энергия системы равна их сумме, если пренебречь энергией границы двух фаз:

$$\begin{aligned} F = & N_a(x_{1a}(\mu_{01} + k_B T \ln(x_{1a})) + \\ & + x_{2a}(\mu_{02} + k_B T \ln(x_{2a})) + x_{3a}(\mu_{03} + k_B T \ln(x_{3a})) + \\ & a_{12}x_{1a}x_{2a} + a_{23}x_{2a}x_{3a} + a_{13}x_{1a}x_{3a}) + \\ & + N_b(x_{1b}(\mu_{01} + k_B T \ln(x_{1b})) + x_{2b}(\mu_{02} + k_B T \ln(x_{2b})) + \\ & + x_{3b}(\mu_{03} + k_B T \ln(x_{3b})) + \\ & + a_{12}x_{1b}x_{2b} + a_{23}x_{2b}x_{3b} + a_{13}x_{1b}x_{3b}). \end{aligned} \quad (6)$$

Для трехкомпонентной системы вводятся три эффективных параметра парных взаимодействий $a_{\alpha\beta}$, где $\alpha, \beta = 1, 2, 3$ и $\alpha \neq \beta$. При наличии у липидов спонтанной кривизны эффективные параметры парных взаимодействий $a_{\alpha\beta}$ перенормируются так же, как и в случае двухкомпонентной системы, то есть $a \rightarrow a_{\text{eff}} = a - 1/2Ba_0(J_1 - J_2)^2$. Условие равновесия фаз имеет вид

$$\mu_{1a} = \mu_{1b}, \quad \mu_{2a} = \mu_{2b}, \quad \mu_{3a} = \mu_{3b}, \quad (7)$$

где $\mu_{i\alpha} = \partial F / \partial N_{i\alpha}$ – химический потенциал i -й компоненты в фазе A или B . Эти уравнения дополняются условиями равенства единице суммы мольных долей всех компонент в каждой фазе и уравнениями распределения компонент между фазами A и B :

$$x_{1a} + x_{2a} + x_{3a} = 1, \quad x_{1b} + x_{2b} + x_{3b} = 1. \quad (8)$$

$$\begin{aligned} x_1 = & x_{1a}x_a + x_{1b}x_b, \quad x_2 = x_{2a}x_a + x_{2b}x_b, \\ x_3 = & x_{3a}x_a + x_{3b}x_b, \end{aligned} \quad (9)$$

где $x_i = N_i/N$ – суммарная мольная доля i -й компоненты в системе; $x_a = N_a/N$ – доля частиц системы,

находящихся в фазе A ; $x_b = N_b/N$ – доля частиц системы, находящихся в фазе B .

В полученные уравнения входят экспериментально задаваемые мольные доли компонент во всей системе $\{x_1, x_2, x_3\}$, то есть при одной и той же температуре состав получающихся фаз зависит от исходного состава мембраны. Задавая исходный состав $\{x_1, x_2, x_3\}$ и численно решая уравнения (7)–(9) относительно концентраций $x_{1a}, x_{2a}, x_{3a}, x_{1b}, x_{2b}, x_{3b}$ и долей частиц x_a и x_b , находящихся в фазах A и B , мы получаем равновесные составы фаз. Эти составы фаз при фиксированной температуре отображаются двумя точками на треугольнике Гиббса. При заданных значениях всех параметров системы (температуры, параметров парных взаимодействий, модуля изгиба, спонтанных кривизн компонент и т.д.), изменяя исходный состав $\{x_1, x_2, x_3\}$ и численно решая уравнения, можно построить составы получающихся фаз для всех возможных смесей.

Для расчета фазовой диаграммы трехкомпонентной системы необходимо, в частности, знать три параметра парных взаимодействий – каждой компоненты с каждой. Величины, относящиеся к л-ОФХ, будем обозначать индексом 1, относящиеся к холестерину – индексом 2, относящиеся к ДОФХ – индексом 3. Коэффициент парного взаимодействия ДОФХ – холестерин был измерен в работе [6]; он оказался равным $a_{23} \sim 2k_B T_c$, где $T_c \sim 300$ К, то есть молекулы ДОФХ и холестерина отталкиваются. Заметим, что это измеренное значение является эффективным, то есть уже учитывает разность спонтанных кривизн ДОФХ и холестерина. Согласно соотношению (3), истинный химический параметр парных взаимодействий холестерина и ДОФХ равен

$$a_{23}^c = 2k_B T_c + \frac{Ba_0}{2}(J_2 - J_3)^2, \quad (10)$$

где J_2, J_3 – спонтанные кривизны холестерина и ДОФХ, соответственно. Поскольку углеводородные хвосты у ДОФХ и у л-ОФХ одинаковые, разумно считать, что эффективный параметр химического взаимодействия между ними равен нулю, а все взаимодействие л-ОФХ и ДОФХ определяется только разностью их спонтанных кривизн, то есть

$$a_{13} = -\frac{Ba_0}{2}(J_1 - J_3)^2, \quad (11)$$

где J_1 – спонтанная кривизна л-ОФХ. У л-ОФХ всего один углеводородный хвост; он идентичен углеводородным хвостам ДОФХ. Исходя из этого, можно было бы считать, что чисто химический параметр взаимодействия холестерина и л-ОФХ a_{12}^c будет при-

близительно равен половине химического параметра парных взаимодействий холестерина и ДОФХ a_{12}^c , $a_{12}^c = a_{23}^c/2$, то есть чисто химически л-ОФХ и холестерин будут слабо отталкиваться. Однако, как показывают оценки, слабым отталкиванием, обусловленным чисто химическим взаимодействием a_{12}^c , можно пренебречь по сравнению с сильным притяжением, обусловленным механическими причинами, то есть можно считать, что

$$a_{12} = a_{12}^c - \frac{Ba_0}{2}(J_1 - J_2)^2 = \frac{a_{23}^c}{2} - \frac{Ba_0}{2}(J_1 - J_2)^2 \approx \approx -\frac{Ba_0}{2}(J_1 - J_2)^2. \quad (12)$$

Таким образом определены все три параметра парных взаимодействий, необходимые для расчета фазовой диаграммы системы. В дальнейшем будем использовать следующие численные значения параметров: спонтанная кривизна л-ОФХ $J_1 = 0.25 \text{ нм}^{-1}$; спонтанная кривизна холестерина $J_2 = -0.4 \text{ нм}^{-1}$; спонтанная кривизна ДОФХ $J_3 = -0.1 \text{ нм}^{-1}$ [7]; средняя площадь, приходящаяся на одну липидную молекулу, $a_0 \sim 1 \text{ нм}^2$, температура $T \sim 300 \text{ К}$.

Оказалось, что если использовать значение модуля изгиба $B \sim 12k_B T$, характерное для монослоев “обычных” мембран [4], содержащих холестерин, то для указанных значений параметров парных взаимодействий при комнатной температуре фазового разделения в системе не возникает – система остается однородной при любом начальном составе мембранообразующей смеси. Однако экспериментально было установлено [4], что мембраны, состоящие только из л-ОФХ и холестерина в соотношении 1:1, обладают аномальным модулем изгиба, почти на порядок превосходящим модуль изгиба “обычных” мембран, – $B_0 \sim 75k_B T$ на один монослой. При использовании такой величины модуля изгиба уравнения (7)–(9) имеют нетривиальные решения при некоторых составах мембранообразующей липидной смеси. Эти решения образуют на треугольнике Гиббса сплошную замкнутую линию, состоящую из двух ветвей (рис. 1). Эта линия сосуществования фаз задает фазовую диаграмму системы при фиксированной температуре. Если исходный состав мембраны попадает внутрь области, ограниченной линией сосуществования фаз, то происходит фазовое разделение на две фазы, составы которых находятся с исходным составом на одной прямой, – так называемой линии разделения. Площади фаз соотносятся как расстояния от исходного состава до состава фазы А и от исходного состава до состава фазы В, согласно “правилу рычага” (рис. 1). Если исходный состав не попадает

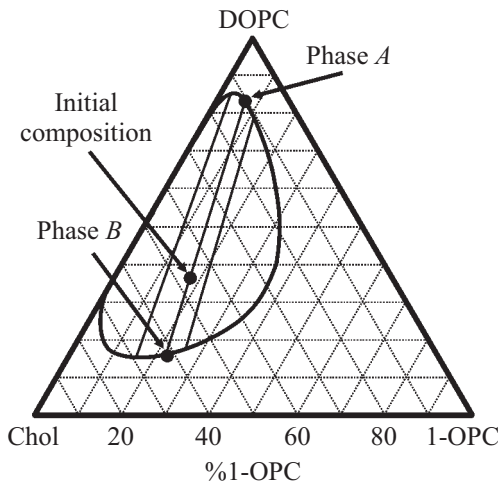


Рис. 1. Фазовая диаграмма смеси холестерин (Chol), ДОФХ (DOPC), л-ОФХ (l-OPC), рассчитанная при комнатной температуре и при постоянном модуле изгиба $B_0 = 75k_B T$. Область сосуществования фаз лежит внутри замкнутой кривой линии. Исходный состав мембраны (initial composition) и составы получающихся фаз (phase A – фаза А, phase B – фаза В) лежат на одной прямой, – так называемой линии разделения. На рисунке показаны три произвольные линии разделения

внутрь области, ограниченной линией сосуществования фаз, то система при данной температуре остается однородной. Для выбранных значений параметров в рассматриваемой системе происходит фазовое разделение на фазу, обогащенную ДОФХ (рис. 1, фаза А), и на фазу, обедненную им (рис. 1, фаза В).

Из рассчитанной фазовой диаграммы (рис. 1) следует, что в бинарной смеси ДОФХ + холестерин должно наблюдаться фазовое разделение, что противоречит экспериментальным наблюдениям [5, 6]. Однако при вычислениях мы предполагали, что модуль изгиба велик ($\sim 75k_B T$ на монослой) и не зависит от исходного состава мембраны. Необходимо учесть, что в области низких концентраций л-ОФХ, то есть вблизи стороны, соответствующей бинарной смеси ДОФХ + холестерин, модуль изгиба B перестает быть аномально большим и принимает свое обычное для мембран значение ($B \sim 12k_B T$ на монослой); как указывалось выше, при таком модуле изгиба фазового разделения не происходит. Иными словами, необходимо учесть зависимость модуля изгиба от концентрации л-ОФХ. Большая величина модуля изгиба достигается, по-видимому, за счет плотной упаковки молекул л-ОФХ и холестерина. Значение $\sim 75k_B T$ было измерено для мембран, содержащих равное количество л-ОФХ и холестерина [4]. Исходя из этого, будем предполагать, что часть площади монослоя, состоящая из пар молекул л-ОФХ и холестерина, обладает

модулем изгиба $B_0 = 75k_B T$, а оставшаяся часть площади – обычным модулем изгиба $B = 12k_B T$. При заданном составе $\{x_1, x_2, x_3\}$ мембраны максимально возможная концентрация пар молекул первой и второй компонент дается выражением

$$x_p = \min(x_1, x_2). \quad (13)$$

Концентрацию молекул первой или второй компонент, которым не хватает пары, обозначим через x_n ; очевидно, $x_n = \max(x_1, x_2) - \min(x_1, x_2)$. Тогда эффективный модуль изгиба мембраны B_{eff} определяется следующими соотношениями:

$$B_{\text{eff}} = \frac{B_0 B}{2Bx_p + B_0x_{1,2} + B_0x_3}, \quad (14)$$

$$\frac{1}{B_{\text{eff}}} = 2x_p \frac{1}{B_0} + x_n \frac{1}{B} + x_3 \frac{1}{B}.$$

Здесь мы учли, что в пару входят две молекулы. На рис. 2 показана фазовая диаграмма, вычисленная с

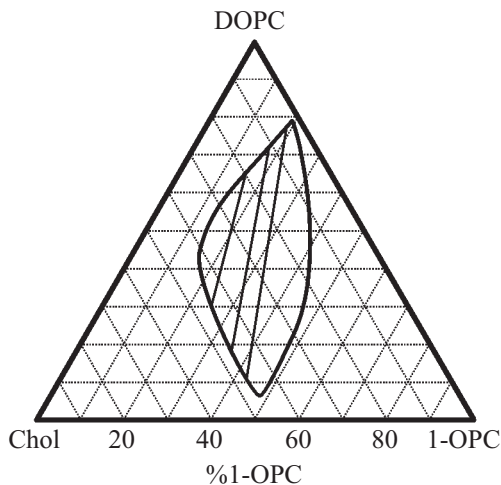


Рис. 2. Фазовая диаграмма смеси холестерин, ДОФХ, л-ОФХ, рассчитанная при комнатной температуре с учетом зависимости модуля изгиба от концентрации пар л-ОФХ и холестерина

учетом зависимости модуля изгиба от концентрации пар молекул л-ОФХ и холестерина (уравнение (14)). Считалось, что при нулевой концентрации пар модуль изгиба равен $12k_B T$. Из фазовой диаграммы видно, что при малых концентрациях л-ОФХ в системе фазового разделения не происходит, она остается однородной. При увеличении содержания л-ОФХ до ~ 13 мольн.% появляются две фазы, одна обогащенная ДОФХ, вторая – обогащенная холестерином и л-ОФХ, причем составы получающихся фаз все сильнее отличаются друг от друга. При дальнейшем росте концентрации л-ОФХ составы фаз начинают при-

ближаться друг к другу, и при ~ 50 мольн.% л-ОФХ и более фазовое разделение пропадает (рис. 2).

Относительно слабое чисто химическое взаимодействие компонент в рассматриваемой системе значительно затрудняет наглядную иллюстрацию влияния спонтанной кривизны на фазовое разделение. Действительно, при учете только химических взаимодействий фазового разделения при комнатной температуре не происходит, и поэтому нет возможности конструктивно сравнить фазовые диаграммы, рассчитанные с учетом и без учета упругих свойств липидов. Однако оказывается, что при понижении температуры, например, до $+7^\circ\text{C}$ (280 К), чисто химическое отталкивание холестерина и ДОФХ способно приводить к фазовому разделению. На рис. 3 представлена фазовая диаграмма, рассчитанная для

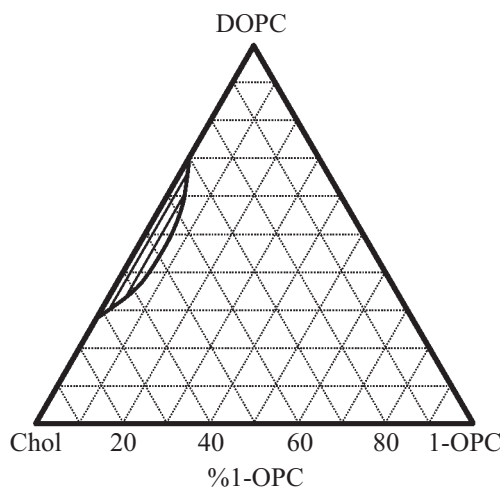


Рис. 3. Фазовая диаграмма трехкомпонентной мембраны, состоящей из холестерина, ДОФХ и л-ОФХ, рассчитанная при температуре $+7^\circ\text{C}$ с учетом только химических взаимодействий липидов

температуры $+7^\circ\text{C}$ с учетом только химических взаимодействий компонент. При таких условиях происходит фазовое разделение в бинарной смеси холестерина и ДОФХ, и при небольшой концентрации л-ОФХ, < 7 мольн.%. Площадь области сосуществования фаз оказывается относительно малой. Учтем теперь наличие спонтанной кривизны у компонент. Для простоты будем считать, что механические параметры, такие как модуль изгиба, средняя площадь, приходящаяся на одну молекулу, и т.д., при понижении температуры до $+7^\circ\text{C}$ практически не меняются; эффективный модуль изгиба будем по-прежнему рассчитывать согласно уравнению (14). В этих условиях вид фазовой диаграммы существенным образом меняется. Сохраняется фазовое разделение в бинарной смеси холестерина и ДОФХ, но площадь области со-

существования фаз резко возрастает, а ее форма изменяется (рис. 4).

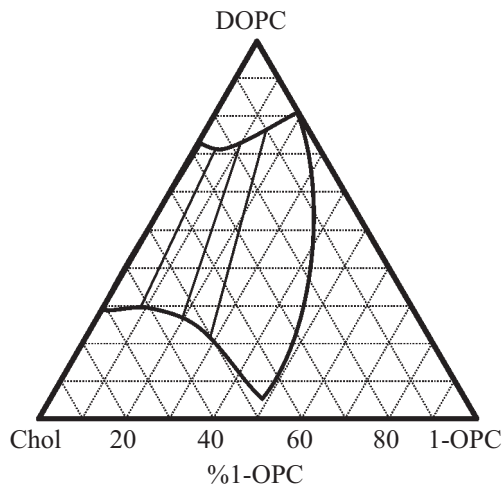


Рис. 4. Фазовая диаграмма трехкомпонентной мембраны, состоящей из холестерина, ДОФХ и л-ОФХ, рассчитанная при температуре $+7^\circ\text{C}$ с учетом как химических взаимодействий, так и упругих свойств липидов

Заключение. В настоящей работе была рассчитана фазовая диаграмма трехкомпонентной мембраны, состоящей из ДОФХ, холестерина и л-ОФХ. Расчет проделан в рамках теории регулярных растворов с учетом вклада механической энергии в параметры парных взаимодействий. Показано, что при комнатной температуре чисто химических взаимодействий недостаточно для разделения фаз в рассматриваемой системе; критическое влияние на фазовое разделение оказывает различие спонтанных кривизн компонент и аномальная величина модуля изгиба мембран с высоким содержанием липидов, обладающих большой спонтанной кривизной. Эффективный модуль изгиба монослоя, состоящего из ДОФХ, холестерина и л-ОФХ, был вычислен в предположении, что молекулы л-ОФХ и холестерин формируют пары, обуславливающие аномальную величину модуля изгиба мембраны.

Рассчитанная при комнатной температуре фазовая диаграмма (рис. 2) согласуется с имеющимися экспериментальными данными. Согласно ряду работ [5, 6, 3], в бинарных смесях л-ОФХ, ДОФХ, холестерина при комнатной температуре фазового разделения не происходит. В то же время, согласно данным работы [3], в тройной смеси при относительно высоком содержании л-ОФХ и холестерина происходит разделение на более упорядоченную и менее упорядоченную фазы. На рассчитанной фазовой диаграмме это соответствует тому, что в треугольнике Гиббса (рис. 2) присутствует область сосуществования фаз, которая не касается ни одной из сторон треугольника.

Авторы выражают глубокую признательность Ю.А. Чизмадзе и П.И. Кузьмину за ценные замечания и плодотворное обсуждение настоящей работы.

Работа выполнена в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы (госконтракты ## П2362, П337) при финансовой поддержке Программы создания и развития НИТУ “МИСиС”, Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”.

1. A. G. Ayuyan and F. S. Cohen, *Biophys. J.* **94**, 2654 (2008).
2. B. F. Lillemeier, J. R. Pfeiffer, Z. Surviladze et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 18992 (2006).
3. Д. В. Карпунин, С. А. Акимов, В. А. Фролов, *Биол. мембраны* **22**, 429 (2005).
4. П. В. Башкиров, *Биол. мембраны* **24**, 183 (2007).
5. S. L. Veatch, I. V. Polozov, K. Gawrisch, and S. L. Keller, *Biophys. J.* **86**, 2910 (2004).
6. A. Tsamaloukas, H. Szadkowska, and H. Heerklotz, *J. Phys. Condens. Matter* **18**, S1125 (2006).
7. N. Fuller and R. P. Rand, *Biophys. J.* **81**, 243 (2001).
8. P. B. Sunil Kumar, G. Gompper, and R. Lipowsky, *Phys. Rev. E* **60**, 4610 (1999).
9. W. Helfrich, *Z. Naturforsch.* **28c**, 693 (1973).