

Энергия взаимодействия мембранных липидных доменов, вычисленная с учетом деформаций поперечного изгиба и наклона

Т. Р. Галимзянов, Р. Ю. Молотковский, Б. Б. Хейфец, С. А. Акимов¹⁾

Институт физической химии и электрохимии им. Фрумкина РАН, 119071 Москва, Россия

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

Поступила в редакцию 14 сентября 2012 г.

В клеточных мембранах формируются специфические домены, называемые рафтами. В модельных мембранах схожие липидные домены могут быть сформированы в результате фазового разделения. При этом размер рафтов может оставаться малым (10–100 нм) в течение длительного времени. Характерное время жизни ансамбля нанорафтов существенно зависит от характера взаимодействия рафтов между собой. В настоящей работе вычислена энергия взаимодействия границ двух рафтов. Предполагалось, что толщина бислоя рафта больше толщины окружающей мембраны и на границе возникают упругие деформации, направленные на сглаживание скачка толщины. При сближении рафтов деформации от их границ перекрываются, что определяет нетривиальный профиль энергии взаимодействия. Показано, что слияние рафтов идет в две стадии: вначале сливаются монослой рафта в одном монослое липидного бислоя, а затем происходит слияние монослоев рафта в другом монослое липидного бислоя. Каждый из этапов слияния требует преодоления энергетического барьера высотой $(0.08–0.12)k_{\text{BT}}$ на 1 нм длины границы. Полученные результаты позволяют объяснить стабильность ансамбля рафтов конечного размера.

В клеточных мембранах формируются домены, называемые рафтами, обогащенные некоторыми видами белков, сфингомиелином и, возможно, холестерином [1, 2]. Специфический липидный состав рафтов критичен для нормального функционирования белков [2]. Исследование рафтов *in vivo* затруднительно вследствие их малого размера. По разным оценкам он составляет 10–200 нм [1, 2]. Однако домены, обогащенные сфингомиелином, могут быть сформированы в модельных чисто липидных мембранах, близких по составу к клеточным, в результате фазового разделения, вызванного понижением температуры [3]. Их размер может составлять от микрон до десятков микрон, что позволяет исследовать их современными, в том числе и оптическими методами. В модельных мембранах было обнаружено, что липид в рафтах находится в жидкоупорядоченном состоянии. На их границе имеется существенное линейное натяжение. Кроме того, в бислоевых системах рафты практически всегда бислоевы [3].

Было показано [4, 5], что нередко даже в модельных системах размер рафтов по неизвестным причинам может оставаться малым ($\sim 10–100$ нм) в течение длительного времени (несколько суток и более), если на мембрану не оказывается сильного внешнего воздействия, в частности механического растяжения [6] или возбуждения флуоресценции при наличии в мембране флуоресцентных меток [7]. Причины

такой стабильности ансамбля рафтов нанометрового размера как в модельных, так и в клеточных мембранах до настоящего времени не выяснены. В работе [8] было теоретически показано, что ансамбль рафтов может стабилизироваться не термодинамически, а кинетически при достаточно низком линейном натяжении границы рафтов с окружающей мембраной. В этих условиях перераспределение материала между доменами происходит преимущественно за счет их слияния и деления. Характерное время слияния доменов, определяющее время жизни ансамбля нанорафтов, существенно зависит от характера взаимодействия рафтов между собой. Взаимодействие рафтов, в свою очередь, определяется структурой их границы с окружающей мембраной. На основе экспериментально наблюдаемой бислоевости рафтов в ряде теоретических работ при анализе взаимодействия рафтов предполагалось, что они обладают зеркальной симметрией [9–11]. Иными словами, считалось, что бислоевый рафт состоит из двух идентичных монослоевых доменов, положения границ которых с окружающей мембраной в точности совпадают. В более поздних работах посредством как прямых расчетов [12], так и численных экспериментов по молекулярной динамике [13] было показано, что равновесной структуре границы рафта соответствует относительный сдвиг границ монослоевых доменов, составляющих бислоевый рафт, на некоторое расстояние порядка 2–4 нм. Это означает, что радиусы монослой-

¹⁾ e-mail: akimov@msis.ru

ных доменов должны отличаться на ту же величину, т.е. площадь домена в одном монослое не совпадает с площадью домена в другом монослое. Расчету энергии взаимодействия бислойных рафтов, состоящих из монослойных доменов разного радиуса, и посвящена настоящая работа.

Постановка задачи. В модельных системах было установлено, что рафты представляют собой жидкоупорядоченную липидную фазу, а толщина бислоя в них на 0.5–2 нм больше толщины окружающей мембраны [14–17]. При компенсации несоответствия толщины на границе рафта и толщины окружающей мембраны должны возникать упругие деформации (рис. 1). Энергия этих деформаций является “ме-

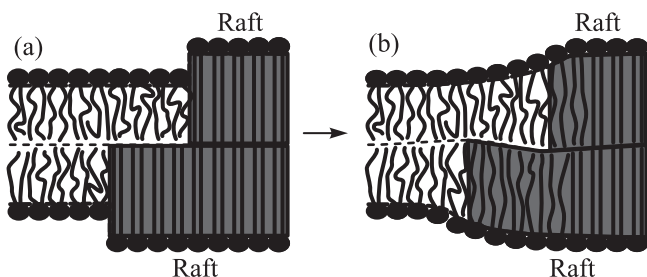


Рис. 1. Схематическое изображение границы рафта и окружающей его мембраны. (а) – Разность толщин монослоев рафта и окружающей мембраны приводит к контакту гидрофобной и полярной сред на большой площади. (б) – Площадь контакта гидрофобной и полярной сред уменьшена за счет деформаций мембраны

ханическим” вкладом в линейное натяжение границы рафтов. Деформации, возникающие при компенсации несоответствия толщины монослойных доменов, определяют равновесный сдвиг границ доменов с окружающей мембраной ~ 4 нм [12]. Для простоты будем считать, что размер рафтов существенно превосходит характерные длины изменения деформаций. При этом границы рафтов могут считаться прямыми линиями и задача становится эффективно одномерной. При сближении рафтов принципиально возможны две конфигурации (рис. 2): 1) границы монослойных доменов, находящихся в одном монослое (для определенности нижнем), сдвинуты в одну сторону (вправо на рис. 2а); 2) границы монослойных доменов, находящихся в нижнем монослое, сдвинуты в разные стороны (рис. 2б). Можно показать, что энергии обеих конфигураций взаимодействующих рафтов равны при равных расстояниях между рафтами и сдвигах их границ. По этой причине в дальнейшем мы будем рассматривать только конфигурацию, изображенную на рис. 2б. Рассматриваемая система характеризуется тремя параметрами: 1) расстоянием D между доменами, лежащими в одном мо-

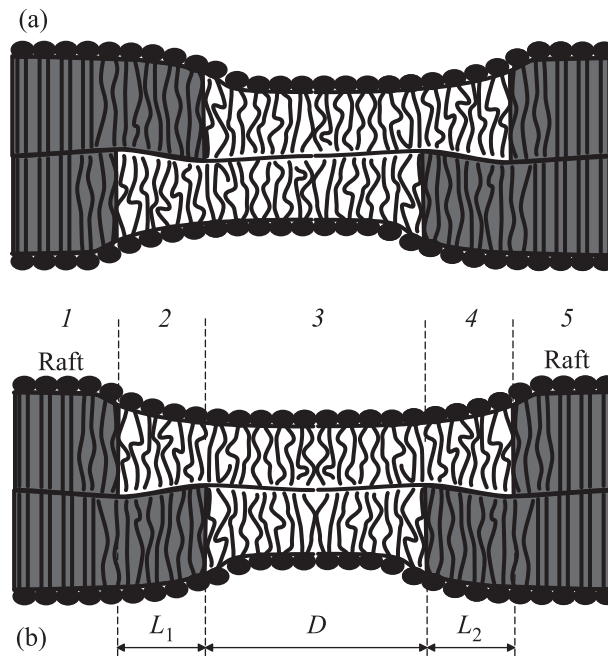


Рис. 2. Схематическое изображение двух взаимодействующих рафтов. Продемонстрирована возможность несовпадения положения границ рафтов в смежных монослоях. Представлены две возможные конфигурации расположения границ

нослое (для определенности нижнем); 2) сдвигом L_1 границы нижнего левого домена относительно границы верхнего левого домена; 3) сдвигом L_2 границы нижнего правого домена относительно границы верхнего правого домена. Мембрану вблизи границ рафтов можно разбить на пять зон, характеризующихся различным соотношением равновесных толщин участков верхнего и нижнего монослоев (рис. 2). Величины, относящиеся к рафтам, мы будем обозначать индексом “ r ”, а к окружающей мембране – индексом “ s ”. Величины, относящиеся к верхнему монослою, будем обозначать индексом “ u ”, к нижнему – индексом “ d ”. Величины же, относящиеся к какой-либо зоне (рис. 2), будем обозначать индексом, соответствующим номеру зоны. В рамках этих обозначений в 1-й и 5-й зонах равновесные толщины верхнего и нижнего монослоев равны $h_{u5} = h_{d5} = h_r$, а в 3-й зоне $h_{u3} = h_{d3} = h_s$. Введем декартову систему координат, начало O которой расположено посередине между доменами, находящимися в нижнем монослое, ось Ox направлена перпендикулярно границам рафтов в плоскости мембраны, а ось Oy – вдоль границы рафтов. Тогда граница верхнего левого домена будет иметь координату $x = -D/2$; верхнего правого – координату $x = D/2$, нижнего левого – координату $x = -(D/2 + L_1)$, а нижнего правого – координату $x = D/2 + L_2$. Система обладает трансляционной

симметрией вдоль направления Oy . Поэтому ниже для простоты будем относить все расчеты к единице длины вдоль этого направления. Из симметрии системы следует, что минимуму энергии соответствует симметричная конфигурация взаимодействующих рафтов, т.е. случай, когда $L_1 = L_2$. В дальнейших расчетах мы учитываем данное равенство.

Мембрану мы будем рассматривать как сплошную жидкокристаллическую среду. Деформации будем относить к единице поверхности каждого монослоя. Состояние мембраны задается векторным полем единичных векторов \mathbf{n} , характеризующих среднюю ориентацию липидных молекул и называемых директором, и формой поверхности монослоя, описываемой векторным полем единичных нормалей \mathbf{N} . Растяжением/сжатием площади нейтральной поверхности обычно можно пренебречь благодаря относительно большой величине соответствующего модуля упругости [18]. Векторными полями \mathbf{n} и \mathbf{N} определяются деформации наклона и поперечного изгиба мембраны. Деформация наклона соответствует появлению угла между директором и нормалью в данной точке нейтральной поверхности. Она характеризуется вектором наклона $\mathbf{t} = \mathbf{n}/(\mathbf{n}\mathbf{N}) - \mathbf{N} \approx \mathbf{n} - \mathbf{N}$ [19]. Деформация поперечного изгиба соответствует пространственной неоднородности поля директоров. Она характеризуется дивергенцией директора ($\text{div } \mathbf{n}$) вдоль нейтральной поверхности [19]. Деформации считаются малыми. Энергия вычисляется в квадратичном приближении по ним. С учетом вышесказанного упругая энергия единицы площади нейтральной поверхности участка монослоя может быть записана в виде [19]

$$W = \frac{B}{2}(\text{div } \mathbf{n})^2 + \frac{K_t}{2}\mathbf{t}^2, \quad (1)$$

где B – модуль изгиба, K_t – модуль наклона. Будем считать, что монослои мембраны локально объемно-несжимаемы. Такое предположение оправдано благодаря весьма большой величине модуля объемного сжатия [20]. Условие локальной объемной несжимаемости налагает ограничения на возможные деформации. Для малых деформаций это условие может быть записано в виде [19]

$$H = h_0 \frac{h_0^2}{2} \text{div } \mathbf{n}, \quad (2)$$

где h – текущая толщина деформированного монослоя, h_0 – толщина недеформированного монослоя. Поскольку система обладает трансляционной симметрией вдоль оси Oy , все векторные величины могут быть заменены их проекциями на ось Ox . Для малых деформаций дивергенция директора оказывается приблизительно равной производной проекции

директора на ось Ox по координате x , т.е. $\text{div } \mathbf{n} \approx dn/dx = n'$. Здесь и далее штрих обозначает производную по координате x . Помимо векторных полей единичных нормалей к нейтральным поверхностям монослоев, форма мембраны может быть задана тремя функциями: формой поверхности верхнего монослоя, задаваемой функцией $H_u(x)$; формой поверхности нижнего монослоя, задаваемой функцией $H_d(x)$; формой межслойной поверхности, задаваемой функцией $M(x)$ (рис. 3). В таких обозначениях усло-

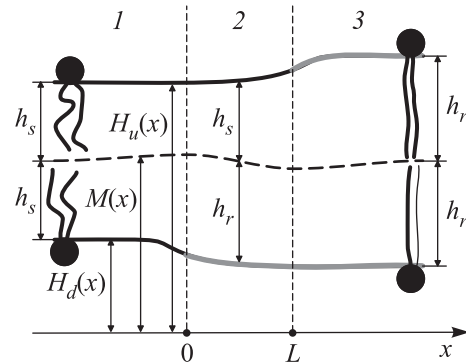


Рис. 3. Схема сечения границы рафта и окружающей мембраны плоскостью, перпендикулярной плоскости мембраны и границе. Сплошной серой линией показаны поверхности монослоев доменов, сплошной тонкой – поверхности монослоев окружающей мембраны, штриховой – межмонослойная поверхность

вие локальной объемной несжимаемости может быть переписано в виде

$$\begin{aligned} H_u(x) - M(x) &= h_{0u} - \frac{h_{0u}^2}{2} n'_u, \\ M(x) - H_d(x) &= h_{0d} - \frac{h_{0d}^2}{2} n'_d \end{aligned} \quad (3)$$

для верхнего и нижнего монослоев соответственно. Здесь h_{0u} – толщина недеформированного верхнего монослоя; h_{0d} – толщина недеформированного нижнего монослоя; n_u, n_d – проекции директоров верхнего и нижнего монослоев на ось Ox . Проекции единичных нормалей к поверхностям верхнего и нижнего монослоев равны:

$$N_u = \frac{H'_u}{\sqrt{1 + [H'_u(x)]^2}} \approx H'_u(x) = M' - \frac{h_{0u}^2}{2} n'_u, \quad (4)$$

$$N_d = \frac{-H'_d(x)}{\sqrt{1 + [H'_d(x)]^2}} \approx -H'_d(x) = -M' - \frac{h_{0d}^2}{2} n'_d. \quad (5)$$

Выражая производные функций $H_u(x)$ и $H_d(x)$ из (3) и подставляя их в выражение для поверхностной плотности упругой энергии (1), с учетом (4) и (5) получаем следующие выражения для плотности упругой энергии верхнего и нижнего монослоев:

$$\begin{aligned}
 w_u(x) &= \frac{B}{2}(n'_u)^2 + \frac{K_t}{2} \left(n_u + \frac{h_{0u}^2}{2} n''_u - M' \right)^2, \\
 w_d(x) &= \frac{B}{2}(n'_d)^2 + \frac{K_t}{2} \left(n_d + \frac{h_{0d}^2}{2} n''_d + M' \right)^2,
 \end{aligned} \quad (6)$$

$$\begin{cases} n_{u,d}(\pm\infty) = 0, \\ M(-\infty) = 0, \\ M(+\infty) = \text{const.} \end{cases} \quad (9)$$

Полная упругая энергия может быть записана в виде

$$W = \int (w_u + w_d) dA, \quad (7)$$

где интеграл берется по поверхностям монослоев. Интегрирование по площади сводится к интегрированию по координате x и умножению на единичную длину вдоль координаты y . Ниже мы варьируем функционал по функциям n_u , n_d и M . Минимизация функционала приводит к системе трех дифференциальных уравнений Эйлера–Лагранжа. Эти уравнения решаются в каждой зоне мембраны (см. рис. 2) с соответствующими граничными условиями. На границах зон решения сшиваются исходя из непрерывности директора и поверхности каждого монослоя. Подстановка полученных решений $n_u(x)$, $n_d(x)$ и $M(x)$ в условия локальной объемной несжимаемости (3) позволяет найти форму поверхностей верхнего и нижнего монослоев, $H_u(x)$ и $H_d(x)$. Подставляя полученные функции в функционал энергии (7), мы получим зависимость энергии от параметров системы.

Решение задачи. Для вычисления энергии необходимо минимизировать функционал (7) в пяти зонах, описанных выше (см. рис. 2). Уравнения Эйлера–Лагранжа для функционала энергии принимают следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{1}{4} K_t h_{0u}^4 n_u^{(4)} + (K_t h_{0u}^2 - B) n''_u + K_t n - \\ - \frac{1}{2} K_t h_{0u}^2 M''' - K_t M' = 0, \\ \frac{1}{4} K_t h_{0d}^4 n_d^{(4)} + (K_t h_{0d}^2 - B) n''_d + K_t n + \\ + \frac{1}{2} K_t h_{0d}^2 M''' - K_t M' = 0, \\ \frac{1}{2} K_t h_{0u}^2 n_u''' - \frac{1}{2} K_t h_{0d}^2 n_d''' + \\ + K_t h_{0u}^2 n'_u - K_t h_{0d}^2 n'_d - 2K_t M'' = 0. \end{cases} \quad (8)$$

Мембрана предполагается плоской и параллельной плоскости Oxy вдали от границы, т.е. при $x \rightarrow \pm\infty$. Выберем положение системы координат таким образом, чтобы при больших по модулю отрицательных значениях координаты x плоскость межслойной поверхности совпадала с плоскостью Oxy . При таком выборе системы координат граничные условия при $x \rightarrow \pm\infty$ принимают вид

В 1-й и 5-й областях ($x < -(D/2 + L)$ и $x > D/2 + L$; $h_{0u} = h_{0r} = h_r$) (рис. 2) решения уравнений Эйлера–Лагранжа имеют вид

$$\begin{cases} n_{1,5u}(x) = \exp\left(\pm\sqrt{\frac{B}{K_t}} \frac{1}{h_r^2} x\right) \times \\ \times \left[A_{1,5} \sin\left(\frac{\sqrt{2h_r^2 - B/K_t}}{h_r^2} x\right) + \right. \\ \left. + C_{1,5} \cos\left(\frac{\sqrt{2h_r^2 - B/K_t}}{h_r^2} x\right) \right], \\ n_{1,5d}(x) = n_{1,5u}(x), \\ M(x) = D_{1,5}, \end{cases} \quad (10)$$

где $A_{1,5}$, $C_{1,5}$, $D_{1,5}$ – константы интегрирования для решений в 1-й и 5-й областях. В 3-й области ($-D/2 < x < D/2$; $h_{0u} = h_{0r} = h_s$) решение принимает вид

$$\begin{cases} N_{3u}(x) = \exp\left(-\sqrt{\frac{B}{K_t}} \frac{1}{h_s^2} x\right) \times \\ \times \left[A_{3,-} \sin\left(\frac{\sqrt{2h_s^2 - B/K_t}}{h_s^2} x\right) + \right. \\ \left. + C_{3,-} \cos\left(\frac{\sqrt{2h_s^2 - B/K_t}}{h_s^2} x\right) \right] + \\ + \exp\left(\sqrt{\frac{B}{K_t}} \frac{1}{h_s^2} x\right) \left[A_{3,+} \sin\left(\frac{\sqrt{2h_s^2 - B/K_t}}{h_s^2} x\right) + \right. \\ \left. + C_{3,+} \cos\left(\frac{\sqrt{2h_s^2 - B/K_t}}{h_s^2} x\right) \right] + C_0, \\ n_{3d}(x) = n_{3u}(x) - 2C_0, \\ M_3(x) = D_3, \end{cases} \quad (11)$$

где $A_{3,+}$, $C_{3,+}$, C_0 , D_3 – константы интегрирования для решения в 3-й области. В остальных областях решение оказывается значительно более громоздким ввиду того, что толщины верхнего и нижнего монослоев не равны друг другу. По этой причине здесь мы его не приводим. Следует, однако, отметить, что структура этого решения примерно та же, что и в 1-й и 3-й областях: в него входят экспоненциально затухающие и растущие осцилляции. Вместе с тем в нем имеются и полиномиальные по x слагаемые.

Получаемые в трех областях пространственные распределения директора $n(x)$ и формы поверхностей $H_u(x)$ и $H_d(x)$ необходимо сшить на границах зон в точках $x_{12} = -(D/2 + L_1)$, $x_{23} = -D/2$, $x_{34} = D/2$ и $x_{45} = D/2 + L_2$ исходя из условия непрерывности

директоров и поверхностей каждого монослоя. Затем нужно минимизировать полную энергию по параметрам сшивания и оставшимся свободным константам интегрирования. Все получающиеся аналитические выражения довольно громоздки. Поэтому ниже мы проиллюстрируем полученные результаты графически.

Результаты и их обсуждение. Расчеты по полученным выше аналитическим выражениям проводились при следующих значениях параметров: модуль наклона $K_t = 40 \text{ мН/м} = 10 k_B T_0 / \text{нм}^2$ [18] ($T_0 \sim 300 \text{ К}$); модуль изгиба $B = 12 k_B T_0$ [19]; толщина недеформированного монослоя окружающей мембраны $h_s = 2 \text{ нм}$; толщина монослоя рафта $h_r = 2.5 \text{ нм}$ [14, 15]; $a_0 = 0.8 \text{ нм}^2$; спонтанные кривизны предполагались равными нулю ($J_1 = J_2 = 0$).

Энергией взаимодействия рафтов мы будем называть энергию рассматриваемой конфигурации (зависящую от сдвига границ и расстояния между рафтами), отсчитанную от энергии плоского недеформированного бислоя рафта. Как показывают расчеты, с энергетической точки зрения оптимально, чтобы сдвиги границ доменов левого и правого рафтов (L_1 и L_2) были равны друг другу. На рис. 4 приведены

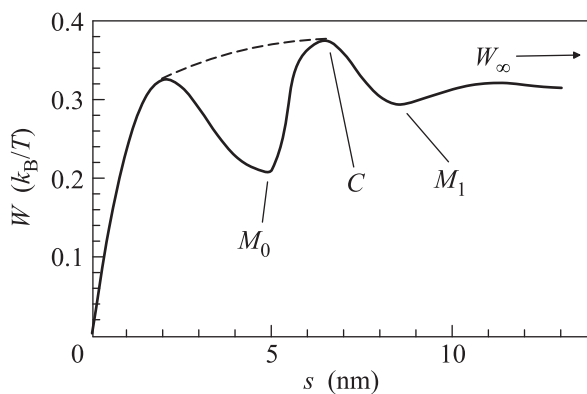


Рис. 4. Зависимости энергии взаимодействия рафтов, отнесенной к единице длины вдоль границы, от расстояния D между границами доменов в нижнем монослое и относительного сдвига L границ доменов

зависимости энергии взаимодействия рафтов, отнесенной к единице длины вдоль границы, от расстояния между границами рафтов D и сдвига границ L . Видно, что на больших расстояниях между рафтами энергия практически не зависит от D . Оптимальный сдвиг границ монослойных доменов при этом равен $L \sim 4 \text{ нм}$, что соответствует конфигурации границы изолированного одиночного рафта [12]. Это означает, что на больших расстояниях деформации вблизи границ рафтов становятся независимыми. Точка W_∞ соответствует конфигурации системы с мини-

мальной энергией при фиксированном большом расстоянии между рафтами. Считая, что при фиксированном расстоянии между рафтами система принимает конфигурации, соответствующие минимуму энергии, получаем, что при сближении рафтов конфигурация системы будет перемещаться вдоль кривой $W_\infty - 0$ (серая кривая на рис. 4). Энергия системы как функция, заданная вдоль траектории $W_\infty - 0$ изменения конфигурации системы, изображена на рис. 5. При сближении доменов система сначала по-

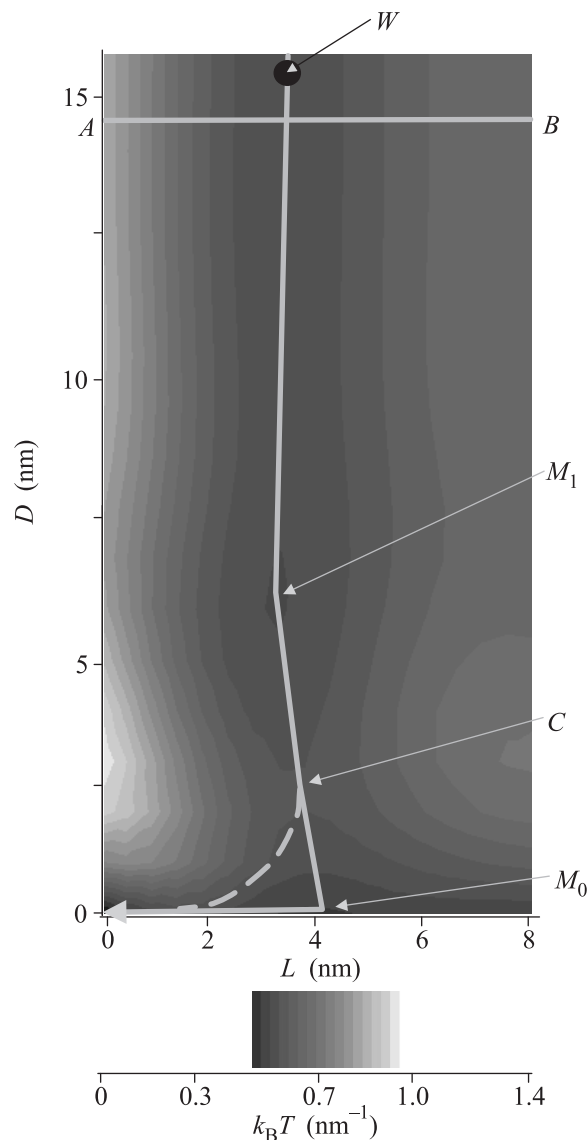


Рис. 5. Энергия системы (на единицу длины вдоль границы) как функция, заданная вдоль траектории $W_\infty - 0$ изменения конфигурации системы

падает в неглубокий локальный минимум (точка M_1 на рис. 4 и 5) глубиной $0.03 k_B T_0$ на 1 нм длины границы (для вышеуказанных численных значений па-

раметров). Для дальнейшего сближения рафтов системе необходимо преодолеть энергетический барьер ($0.08k_B T_0$ на 1 нм длины границы). После этого траектория сближения может проходить по направлению наибольшего градиента энергии (сплошная линия CM_0 на рис. 4 и 5). Следующий локальный минимум (точка M_0) соответствует конфигурации, в которой домены в нижнем монослое уже слились, а в верхнем – еще нет. Для полного слияния рафтов системе необходимо преодолеть еще один энергетический барьер ($0.12k_B T_0$ на 1 нм длины вдоль границы). Затем она будет представлять собой сплошной бислоидный рафт, энергия которого минимальна (равна нулю, как это было принято выше). Вместе с тем возможна и траектория слияния без попадания во второй локальный минимум. При этом система движется из конфигурации в точке C к конфигурации с полностью слившимися рафтами (штриховая линия на рис. 4 и 5).

Наличие энергетического барьера для слияния позволяет объяснить стабильность ансамбля рафтов конечного размера. Вблизи критической точки барьер для слияния рафтов может быть существенно понижен благодаря большой амплитуде флуктуаций границы. Однако при удалении от критической точки и уменьшении амплитуды флуктуаций в игру вступает относительно высокий энергетический барьер для слияния, определяемый специфической структурой границы рафта. Ввиду этого можно утверждать, что вдали от критической точки ведущим механизмом роста рафтов должна быть диффузия компонентов. Вместе с тем в работе [8] было показано, что процесс роста рафтов за счет диффузии отдельных липидных молекул является крайне медленным. Поэтому можно считать, что особенности взаимодействия рафтов частично приводят к стабилизации ансамбля рафтов конечного размера.

Итак, в настоящей работе вычислена энергия взаимодействия рафтов как функция расстояния между их границами с учетом возможности сдвига границ монослойных доменов рафтов. Найдена оптимальная траектория слияния рафтов. Показано, что слияние идет в две стадии: вначале сливаются монослои упорядоченной фазы в одном монослое липидного бислоя, а затем происходит слияние монослоев упорядоченной фазы в другом монослое липидного бислоя. Каждый из этапов слияния требует преодоления энергетического барьера. Полученные результаты позволяют объяснить стабильность ансамбля рафтов конечного размера. На кривой слияния обнаружен неглубокий минимум на конечном расстоянии между рафтами. Это позволяет объяснить имеющиеся на сегодня

экспериментальные данные [3], согласно которым возможен следующий сценарий поведения двух рафтов: границы рафтов сближаются на расстояние, неразрешимое оптическими методами, рафты некоторое время (порядка нескольких секунд) находятся вблизи друг от друга, а затем расходятся, не сливаясь.

Работа выполнена в рамках ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009–2013 годы (госконтракты # П337 и 14.740.11.1409) при финансовой поддержке по теме ФЦП 3400022, Программы создания и развития НИТУ “МИСиС”, Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”, а также грантов РФФИ # 12-04-01426 и 11-04-01001.

1. K. Simons and E. Ikonen, *Nature* **387**, 569 (1997).
2. D. A. Brown and E. London, *J. Biol. Chem* **275**, 17221 (2000).
3. V. Samsonov, I. Mihalyov, and F. S. Cohen, *Biophys. J.* **81**, 1486 (2001).
4. A. Pralle, P. Keller, E.-L. Florin et al., *J. Cell Biol.* **148**, 997 (2000).
5. M. Huse, B. F. Lillemeier, M. S. Kuhns et al., *Nature Immunology* **7**, 247 (2006).
6. G. Ayuyan and F. S. Cohen, *Biophys. J.* **94**, 2654 (2008).
7. G. Ayuyan and F. S. Cohen, *Biophys. J.* **91**, 2172 (2006).
8. V. A. J. Frolov, Y. A. Chizmadzhev, F. S. Cohen et al., *Biophys. J.* **91**(1), 189 (2006).
9. S. A. Akimov, P. I. Kuzmin, J. Zimmerberg et al., *J. Electroanal. Chem.* **564**, 13 (2004).
10. P. I. Kuzmin, S. A. Akimov, Yu. A. Chizmadzhev et al., *Biophys. J.* **88**, 1120 (2005).
11. S. A. Akimov, P. I. Kuzmin, J. Zimmerberg et al., *Phys. Rev. E* **75**, 011919-1 (2007).
12. Т. Р. Галимзянов, Р. Ю. Молотковский, П. И. Кузьмин и др., *Биол. мембраны* **28**, 307 (2011).
13. H. J. Risselada and S. J. Marrink, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 17367 (2008).
14. J. C. Lawrence, D. E. Saslow, J. M. Edwardson et al., *Biophys. J.* **84**, 1827 (2003).
15. Ch. Yuan, J. Furlong, P. Burgos et al., *Biophys. J.* **82**, 2526 (2002).
16. J. Garcia-Saez, S. Chiantia, and P. Schwille, *J. Biol. Chem.* **282**, 33537 (2007).
17. M. Gandhavadi, D. Allende, A. Vidal et al., *Biophys. J.* **82**, 1469 (2002).
18. E. Evans and W. Rawicz, *Phys. Rev. Lett.* **64**, 2094 (1990).
19. M. Hamm and M. M. Kozlov, *Eur. Phys. J. E* **3**, 323 (2000).
20. J. F. Nagle and D. A. Wilkinson, *Biophys. J.* **23**, 159 (1978).