Письма в ЖЭТФ, том 109, вып. 5, с. 340 – 346 © 2019 г. 10 марта

Электростатические и структурные эффекты при адсорбции полилизина на поверхности монослоя DMPS

Ю. А. Ермаков[+1)], *В. Е. Асадчиков*[*], *Ю. О. Волков*[*], *А. Д. Нуждин*[*], *Б. С. Рощин*[*], *В. Хонкимаки*[×], *А. М. Тихонов*[○ 1)]

[+]*Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина РАН, 119071, Москва, Россия*

[*]*Институт кристаллографии им. А. В. Шубникова ФНИЦ "Кристаллография и фотоника" РАН, 119333 Москва, Россия*

[×]*European Synchrotron Radiation Facility, 71 Avenue des Martyrs, 38000 Гренобль, Франция*

[○]*Институт физических проблем им. П. Л. Капицы РАН, 119334 Москва, Россия*

Поступила в редакцию 19 декабря 2018 г.
После переработки 19 декабря 2018 г.
Принята к публикации 19 декабря 2018 г.

Изучено влияние адсорбции полипептида на латеральное взаимодействие молекул димиристоилфосфатидилсерина в его разных фазовых состояниях на поверхности 10 мМ водного раствора KCl. Определены изменения поверхностного давления и Вольта потенциала при разной площади на молекулу липида в монослое, вызванные адсорбцией крупных молекул поли-D-лизина (около 200 звеньев в цепи). Адсорбция макромолекул приводит к заметному повышению упругости монослоя при латеральном сжатии в жидко-кристаллическом LE состоянии липида, а также к уменьшению эффективного дипольного момента с 0.48 до 0.38 Дебая. Эти наблюдения качественно согласуются с данными рентгеновской рефлектометрии липидного монослоя с использованием синхротронного излучения с энергией фотонов ≈ 70 кэВ. Опираясь на данные рефлектометрии в рамках модельного подхода к структуре межфазной границы с двумя и тремя слоями, восстановлены профили электронной концентрации перпендикулярно поверхности водной субфазы. Они свидетельствуют о существовании достаточно широкого 150 ± 40 Å диффузного слоя полимера на границе монослоя как в жидком, так и в конденсированном LC его состояниях. Уменьшение площади на молекулу в монослое в два раза приводит к увеличению вдвое приповерхностной плотности пленки макромолекул. Адсорбция полимера также влияет на интегральную плотность слоя полярных групп фосфолипида, которая падает в ≈ 2 раза в фазе LE, тогда как для LC это падение не столь значительно, ~ 30 %.

DOI: 10.1134/S0370274X19050126

Липидные модели биомембран достаточно давно и широко используются для изучения структурных факторов во взаимодействии различных мембраноактивных соединений с поверхностью клеток [1–3]. Особое внимание уделяется влиянию на структуру липидного матрикса клеточных стенок крупных молекул полипептидов разного типа, которые находят применение в самых различных биомедицинских приложениях. Интерпретация экспериментальных данных обычно учитывает важное фундаментальное свойство насыщенных фосфолипидов демонстрировать фазовый переход первого рода из "расширенной жидкости" (*liquid expanded* – LE) в "конденсированное" состояние (*liquid condensed* – LC) при изменении температуры T или латерального давления Π [4]. В общем случае в конденсированном состоянии монослоя LC наблюдаются разнообразные липидные мезофазы как кристаллические, так и гексатические, отличающиеся между собой, например, площадью на молекулу и углом скоса алифатических хвостов относительно нормали к поверхности [5–10]. Ранее нами показано, что изменение латеральной упаковки отрицательно заряженных молекул фосфатидилсерина в модельных липидных мембранах также инициируется адсорбцией на их поверхности многовалентных катионов и крупных молекул полипептидов [11–13]. Хорошим индикатором этого явления оказалось изменение дипольной компоненты граничного потенциала [14]. Есть основание полагать, что кластеризация липидов в присутствии полипептидов и появление дипольной компоненты граничного потенциала имеет много общего с молекулярной природой фазового перехода LE-LC.

1)e-mail: yury.a.ermakov@gmail.com; tikhonov@kapitza.ras.ru

В данной работе для изучения влияния адсорбции полипептида на латеральное взаимодействие молекул липида в разном фазовом состоянии использован насыщенный аналог фосфатидилсерина, его димиристоил – производная (*dimyristoylphosphatidylserine* – DMPS). Мы приводим экспериментальные данные, свидетельствующие о структурных изменениях в монослое DMPS как в LE, так и в LC состоянии, в присутствии на его водной границе молекул гидробромида поли-D-лизина (PL). Они получены при изучении сжимаемости липидного монослоя с применением техники монослоев Ленгмюра, а также по результатам рентгеновской рефлектометрии с использованием синхротронного излучения.

Натриевую соль $C_{34}H_{65}NO_{10}PNa$ фосфолипида DMPS (Avanti Polar Lipids) готовили в концентрации $\approx$ 0.5 мг/мл в растворах смешанного состава 5 : 1 объема хлороформ-метанол (Merck KGaA и Macron Fine Chemicals, соответственно). В качестве субфазы использовались 10 мМ растворы KCl в трижды дистиллированной воде (pH 6–7), в том числе с добавлением гидробромида поли-D-лизина $[H_{12}C_6N_2O]_n \times$ HBr, где $n \approx 200$ (P7886, Sigma-Aldrich). Концентрация добавленного в субфазу полилизина $= 0.0134$ мг/мл (~ 0.27 мкМ). Монослой DMPS наносили гамильтоновским шприцем на поверхность водного раствора с необходимым количеством липида, которое при измерении рентгеновского рассеяния соответствовало 36 и 72 Å^2 площади на молекулу в монослое. Диаграммы давление–площадь и Вольта потенциал измеряли одновременно на установке MicroTrough XS, V.4.0 (Kibron Inc., Finland) с ванной из тетрафторэтилена размером около 20 × × 6 см, двумя барьерами POM (*polyoxymethylene*) и вибрирующим электродом Кельвина для регистрации изменений граничного потенциала. Перед каждым опытом в отсутствие монослоя липида проводились контрольные измерения поверхностного давления (натяжения) водного раствора полипептида, в которых его поверхностная активность не обнаруживалась при максимальном сближении барьеров. Все измерения проводились при комнатной температуре спустя ~ 20 мин после нанесения липида и на скорости сжатия ~ 10 мм^2/мин. Типичная воспроизводимость диаграмм сжатия составляла не хуже 1–3 %.

Форма диаграмм сжатия монослоев DMPS, приведенных на рис. 1a, с хорошей точностью воспроизводит результаты, опубликованные нами ранее в нескольких работах [11, 15, 16]. На обеих кривых хорошо заметен участок, отражающий плавное повышение латерального давления в области

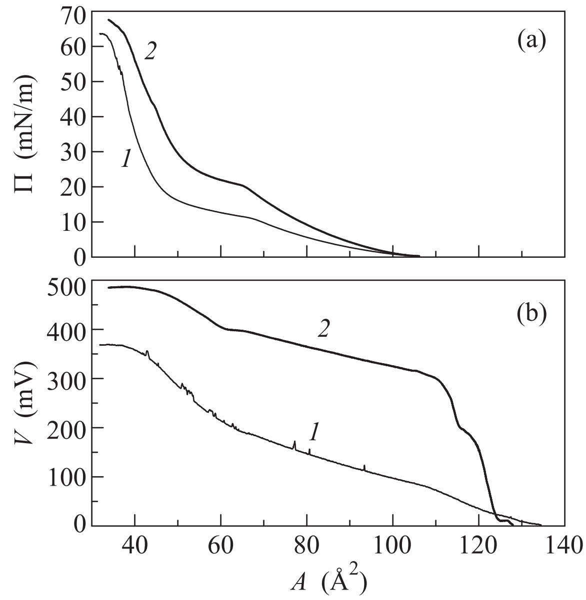

Рис. 1. Диаграммы сжатия (a) и Вольта потенциал (b) монослоя DMPS, измеренные при нанесении липида на поверхность водного раствора 10 мМ KCl (*1*), а также при наличии в этом растворе молекул поли-D-лизина в концентрации $c = 0.0134$ мг/мл (*2*)

LE состояния монослоя. Согласно литературным данным и сведениям, полученным при молекулярном моделировании таких систем, в этой области среди участков водной поверхности присутствуют домены липида, суммарная площадь которых возрастает по мере сближения барьеров и увеличения латерального давления. За этим участком следует небольшое плато с промежуточным состоянием и более резким ростом давления при переходе к конденсированному состоянию LC с максимально плотной упаковкой липидов вблизи коллапса. Таким образом, сжатие монослоя липида последовательно меняет его физическое состояние, начиная с "двумерного газа" при давлениях ниже 1–2 мН/м к жидкокристаллическому LE и конденсированному LC, завершая коллапсом монослоя, при котором липиды выходят за пределы ванны или/и уходят из монослоя в водную среду.

Данные, приведенные на рис. 1b, позволяют выделить три участка изменения Вольта потенциала, положение которых коррелировано с $\Pi - A$ диаграммой. В области LE изменение потенциала близко к линейному закону, тогда как при переходе в область LC заметно более резкое повышение потенциала вплоть до плато, которое характеризует максимально уплотненный монослой перед самым коллапсом. Все перечисленные выше фазы находят свое отражение и на изменении граничного Вольта потенциала. При очень сильно разреженном монослое вибрирующий электрод Кельвина регистрирует случайные "пятна" липида, которые оказываются под его поверхностью, тогда как поверхностное натяжение этой поверхности остается в целом неизменным и близким к натяжению поверхности чистой воды γ_0 (при нормальных условиях $\gamma_0 \approx 72.5$ мН/м). В этой области регистрируются случайные флуктуации электрического потенциала. При образовании почти сплошного монослоя, возможно, с включением небольшого количества "пятен" воды, поверхностное натяжение заметно меняется, давление превышает уровень 1 мН/м, и начиная с этого момента, изменения давления и потенциала отражают латеральное взаимодействие молекул липида.

Измерения коэффициента отражения рентгеновского излучения, R, для ленгмюровских монослоев DMPS на границе вода–воздух проведены на станции ID31 Европейского источника синхротронного излучения (Гренобль, Франция) [17]. Интенсивность сфокусированного монохроматического луча фотонов с длиной волны $\lambda \approx 0.18$ Å (энергия E кванта ~ 70 кэВ, $\Delta E/E = 0.4\,\%$) составляла $\sim 10^{10}$ ф/с при размерах сечения пучка ~ 6 мкм по высоте и ~ 150 мкм в горизонтальной плоскости. Методика проведения измерений R описана в работах [18–21]. Образцы монослоев фосфолипида DMPS приготавливались в условиях, аналогичных приведенным выше при измерениях диаграмм сжатия, но в ванне-тарелке из тетрафторэтилена круглой формы (диаметром 10 см). Последняя помещалась в герметичный термостат с рентгенопрозрачными окнами.

При зеркальном отражении вектор рассеяния $\mathbf{q}$ имеет только одну ненулевую компоненту $q_z = (4\pi/\lambda)\sin\alpha$, где α – угол скольжения в плоскости, нормальной к поверхности (см. вставку на рис. 2). Значение угла полного внешнего отражения для поверхности воды $\alpha_c \approx \lambda\sqrt{r_e\rho_w/\pi} \approx 0.018$ град. ($q_c = (4\pi/\lambda)\sin\alpha_c \approx 0.022$ Å^{-1}) задается объемной электронной концентрацией в ней $\rho_w \approx 0.333\, e^-/\text{Å}^3$, где $r_e = 2.814\cdot 10^{-5}$ Å – классический радиус электрона. На рисунках 2 и 3 представлены экспериментальные зависимости $R(q_z)$, полученные для двух состояний поверхности при $A = 36$ Å^2 (LC) и $A = 72$ Å^2 (LE) соответственно. На них видно, что добавление полимера в субфазу влияет на форму кривой отражения, что свидетельствует о формировании липидно-полимерной пленки.

Анализ данных рефлектометрии произведен в рамках модельного подхода, в котором структура пленки на межфазной границе воздух–вода разбивается на N слоев. Каждый слой имеет толщину L_j и электронную плотность ρ_j, ширины границ в мультислое описываются параметрами σ_j (см. вставку на рис. 4). Профиль электронной концентрации $\rho(z)$ приповерхностной структуры, вдоль нормали к границе раздела, параметризуется следующим образом [22–24]:

$$\rho = \frac{1}{2}\rho_0 + \frac{1}{2}\sum_{j=0}^{N}(\rho_{j+1} - \rho_j)\operatorname{erf}\left(\frac{z_j}{\sigma_j\sqrt{2}}\right), \qquad (1)$$

где $\operatorname{erf}(x)$ – функция ошибок, $z_j = z_0 - \sum_{n=0}^{j} L_n$ – положение границ в модельном мультислое ($z_0 = 0$), $\rho_0 = 0$ – электронная концентрация в воздухе, а $\rho_{N+1} = \rho_w$ – электронная концентрация в объеме воды. В рамках первого борновского приближения искаженных волн (*Distorted wave Born approximation* – DWBA) коэффициент отражения $R(q_z)$ связан с параметрами электронной плотности (1) следующим общим выражением [25]:

$$R(q_z) \approx \left|\frac{q_z - q_z^t}{q_z + q_z^t}\right|^2 \times$$
$$\times \left|\sum_{j=0}^{j=N}\frac{\rho_{j+1}-\rho_j}{\rho_w}e^{-\left(q_z q_z^t \frac{\sigma_j^2}{2} - i z_j\sqrt{q_z q_z^t}\right)}\right|^2, \qquad (2)$$

где $q_z^t = \sqrt{q_z^2 - q_c^2}$. В общем случае искомая структура находится путем подгонки экспериментальных данных для $R(q_z)$ выражением (2) набором из $3N+1$ свободных параметров ρ_j, l_j, σ_j.

В эксперименте тепловые флуктуации поверхности (капиллярные волны) в области засветки (~ 1 мм^2) вносят свой вклад в наблюдаемую структуру, приводящий к размытию скачков в профиле электронной плотности [26]. При расчетах мы фиксировали параметр σ_j для границ монослоя равным значению "капиллярной ширины" $\sigma^2 = k_{\text{B}}T/(2\pi\gamma(A))\ln(Q_{\max}/Q_{\min})$, где k_{B} – постоянная Больцмана, $\gamma(A) = \gamma_0 - \Pi(A)$, коротковолновый предел в спектре капиллярных волн $Q_{\max} = 2\pi/a$ ($a \approx 10$ Å – по порядку величины межмолекулярное расстояние), а длинноволновый предел флуктуаций поверхности, задействованных в эксперименте $Q_{\min} = q_z^{\max}\Delta\beta$ (угловое разрешение детектора $\Delta\beta \approx 0.023°$). Такой подход к анализу данных рефлектометрии нами успешно использовался ранее, например, для изучения структур и фазовых переходов в адсобционных пленках амфифильных веществ на макроскопически плоских границах масло–вода [27, 28].

Все экспериментальные зависимости $R(q_z)$ можно достаточно хорошо описать в рамках двух- и трехслойной моделей. Структуру межфазной границы вода–липид–воздух можно условно представить в виде двух слоев ($N = 2$). Опираясь на химическую структуру молекулы DMPS, естественно полагать, что первый слой толщиной $L_1 = 10 \div 15\,\text{Å}$ и электронной плотностью $\rho_1 = 0.92 \div 1.06\rho_w$ образован алифатическими участками молекулы, ее "хвостами" – $C_{14}H_{27}$. Второй слой – толщиной $L_2 \sim 10\,\text{Å}$ и плотностью $\rho_2 = 1.2 \div 1.5\rho_w$ образован полярными группами фосфатидилсерина. При этом ширины $\sigma_{0,1,2}$ фиксировались равными значению параметра σ, вычисление которого описано выше ($\sigma = 3 \div 5\,\text{Å}$). Эти параметры монослоя DMPS в LE и LC состояниях находятся в согласии с работой [16].

Адсорбция полимера отчетливо прослеживается по изменениям кривых отражения для обоих состояний монослоя. Она достаточно хорошо описывается трехслойной моделью ($N = 3$), в которой параметры ρ_1, L_1 упаковки алифатических хвостов фосфолипида фиксируются равными параметрам чистого монослоя в соответствующем состоянии. Хорошее согласие расчетных кривых с экспериментом достигается подгонкой параметров слоя полярных групп ρ_2, L_2 и параметров полимерной пленки – ее толщины L_3, плотности ρ_3 и ширины σ_3 границы полимерная пленка–субфаза.

Согласно этой процедуре, адсорбция полимера влияет, во-первых, на интегральную плотность слоя полярных групп $\rho_2 L_2$, которая заметно падает (в ≈ 2 раза) в фазе LE, тогда как для LC это падение не столь значительно ($\sim 30\,\%$). Во-вторых, подгоночное ρ_3 зависит от плотности монослоя: $\rho_3^a \approx 1.14\rho_w$, $\rho_3^b \approx 1.27\rho_w$ – плотности полимерной пленки в LE и LC состояниях соответственно. Значение L_3 определяется с большой погрешностью $150 \pm 40\,\text{Å}$ и слабо зависит от плотности монослоя. Отсюда следует, что уменьшение площади на молекулу в монослое в два раза с 72 до 36 Å приводит к увеличению примерно вдвое приповерхностной плотности ρ_3 адсорбционной пленки макромолекул: $(\rho_3^b - \rho_w)/(\rho_3^a - \rho_w) \approx 2$. В-третьих, величина $\sigma_3 \approx 40\,\text{Å}$ значительно превосходит капиллярную ширину σ, что свидетельствует о диффузной структуре границы полимерная пленка–субфаза. Расчетные кривые для $R(q_z)$ представлены на рис. 2 и 3 непрерывными линиями, а соответствующие им модельные профили $\rho(z)$ изображены на рис. 4.

В литературе описано много примеров, когда изменение граничного потенциала монослоев в жидкокристаллическом состоянии хорошо укладывается в предположение, что эти изменения обусловлены простым увеличением плотности эффективных дипольных моментов молекул липида. В этом случае хорошо выполняется закономерность, описываемая простым соотношением Гельмгольца, $\Delta V = 12\pi\mu/A$, в котором изменение граничного потенциала приведено в мВ, эффективный дипольный момент, μ, в миллидебаях, а площадь на молекулу, A, в квадратных ангстремах [29]. Именно такая линейная зависимость наблюдается на том участке кривых рис. 1b, которые соответствуют LE состоянию монослоя и приведены на рис. 5. Наклон этой зависимости становится заметно меньшим, когда в растворе присутствует высокомолекулярный полипептид. Это означает, что на этих участках сжатия монослоя уменьшается значение эффективного дипольного момента с 0.48 до 0.38 Дебая. Очевидно, что эта величина представляет собой суммарное значение всех дипольных моментов, которые определяются структурой фосфолипида, а также вызваны частичным погружением катионов электролита в полярную область и ориентацией ассоциированных с этой областью молекул воды. По этой причине интерпретация понижения эффективного дипольного момента на молекулярном уровне

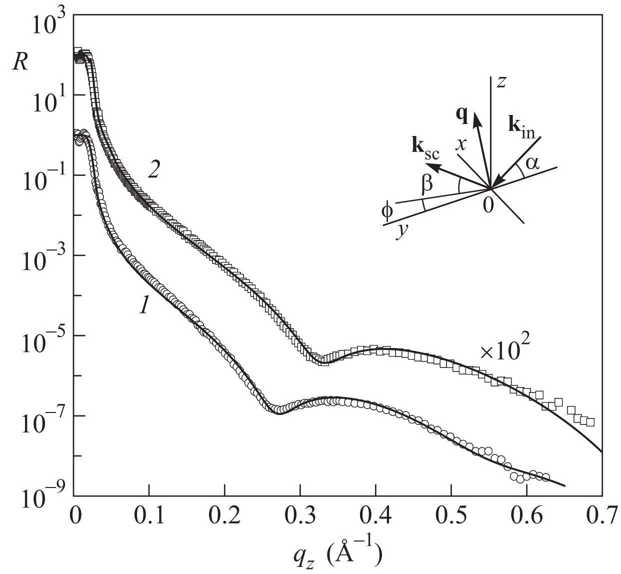

Рис. 2. Зависимость $R(q_z)$ для монослоя DMPS на поверхности воды для 72 Å^2: кружки – монослой липида (*1*); квадраты – монослой при наличии адсорбционного слоя полимера (*2*). Модельные расчеты представлены непрерывными линиями. Вставка: кинематика рассеяния описана в системе координат, в которой плоскость xy совпадает с границей между монослоем и водой, ось Ox перпендикулярна к направлению луча, а ось Oz направлена по нормали к поверхности противоположно силе тяжести. $\mathbf{k}_{\text{in}}$, $\mathbf{k}_{\text{sc}}$ – волновые вектора падающего и рассеянного луча в направление точки наблюдения соответственно, а вектор рассеяния $\mathbf{q} = \mathbf{k}_{\text{in}} - \mathbf{k}_{\text{sc}}$

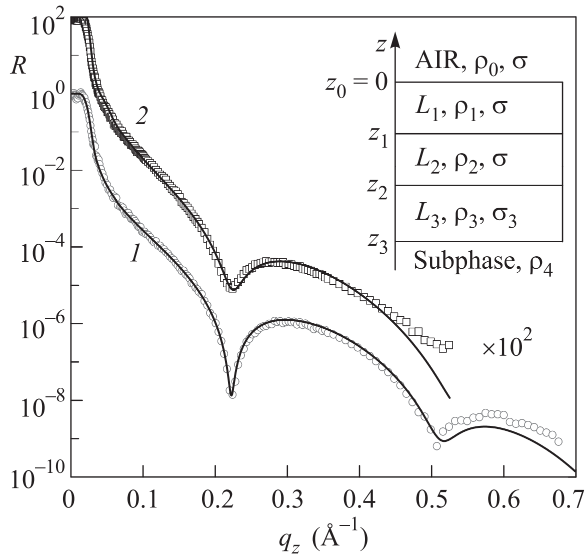

Рис. 3. Зависимость $R(q_z)$ для монослоя DMPS на поверхности воды для 36 Å^2: кружки – монослой липида (*1*); квадраты – монослой при наличии адсорбционного слоя полимера (*2*). Модельные расчеты представлены непрерывными линиями. Вставка: параметризация структуры межфазной границы воздух–вода

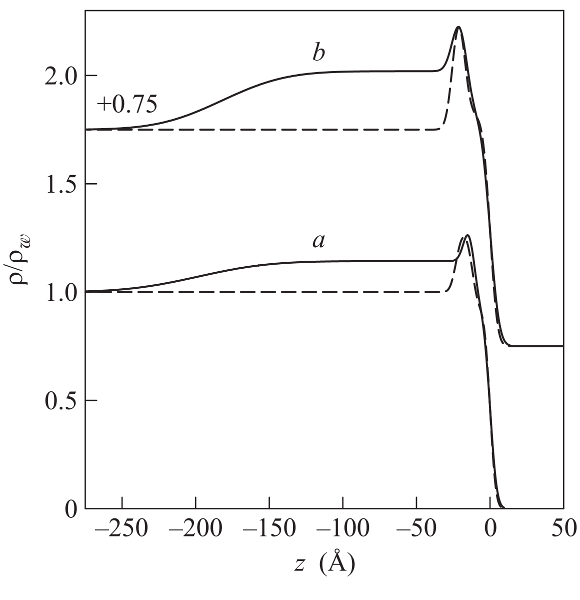

Рис. 4. Профили распределения $\rho(z)$, нормированы на электронную концентрацию в воде при нормальных условиях $\rho_w \approx 0.333e^-/\text{Å}^3$: штриховые линии относятся к монослоям без полимера, непрерывные линии – с полимером. Положение границы молекул липида с воздухом выбрано при $z = 0$. Кривые *a* и *b* соответствуют жидкому (LE, $A = 72\,\text{Å}^2$) и конденсированному (LC, $A = 36\,\text{Å}^2$) состояниям монослоя. Для удобства сравнения кривые *b* смещены вдоль оси ординат на 0.75

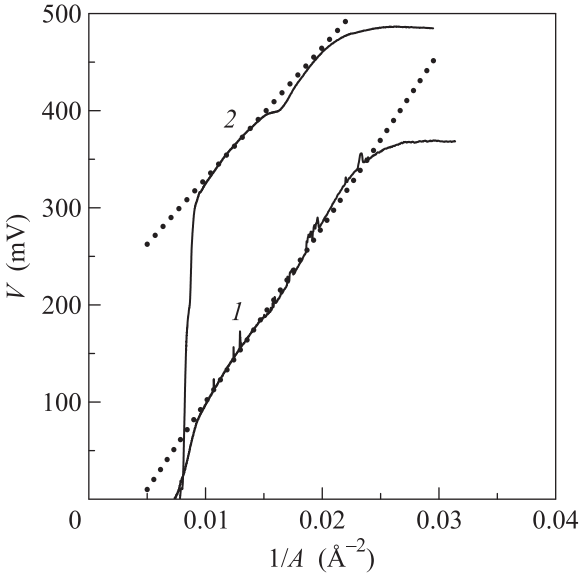

Рис. 5. Вольта потенциал монослоев DMPS (см. обозначения на рис. 1), представленный в зависимости от плотности липида в монослое на поверхности соответствующих растворов (непрерывные линии). Точками показаны прямые линии, аппроксимирующие линейные участки кривых. Оценка величины эффективного дипольного момента, найденная по соотношению Гельмгольца на линейных участках кривых, составляет 0.48 и 0.38 Дебая для кривых *1* и *2*, соответственно

представляет собой достаточно сложную задачу, которая может быть решена, например, при численном моделировании этих систем методами молекулярной динамики.

Как следует из результатов измерения, диаграммы сжатия монослоев DMPS на поверхности растворов KCl и при наличии в нем полилизина (рис. 1а), влияние PL проявляется наиболее заметно в области состояния LE. Более крутой наклон экспериментальных кривых отражает повышение жесткости монослоя на сжатие. В то же время начало фазового перехода в конденсированное состояние наблюдается при прежней плотности липида, менее 70 Å^2 на молекулу. В конденсированном состоянии кривая сжатия имеет наклон, близкий к “чистому” монослою DMPS, но смещена при этом в сторону большей площади на молекулу липида. При латеральном давлении ∼40 мН/м эта площадь возрастает с 39 до 46 Å^2. Наиболее вероятно, полимер группирует липиды в более плотные кластеры. Действительно, если бы полимер заполнял водные “пустоты” в монослое, то кривые сжатия сместились бы в сторону большей площади. Поскольку полилизин в контрольных опытах не обнаруживает признаков поверхностной активности, то и смещение кривых в сторону большей площади на молекулу в LC состоянии нельзя отнести к внедрению звеньев полимера между молекулами липида, как это может происходить с гидрофобными молекулами.

Резюмируя приведенные выше результаты, следует отметить, что выбор полипептида, его концентрация и достаточно большая молекулярная масса обусловлен тем фактом, что именно в этих условиях ожидается максимальное заполнение поверхности макромолекулами. Более того, согласно сведениям, полученным при изучении адсорбции полилизинов на поверхности бислойных липидных мембран, как плоских БЛМ (*Black Lipid Membrane*), так и в суспензии липосом, их адсорбция происходит только на отрицательно заряженных поверхностях и с очень высокой эффективностью, заполняя при этом всю доступную для адсорбции поверхность [13, 30]. Характер заполнения поверхности зависит от константы равновесия полимер-бислой. Оценка величины этой константы для полилизинов с большой длиной цепи, проведенная в рамках сравнительно простой теоретической модели, составляет не менее $10^4\,\mathrm{M}^{-1}$, что означает практически необратимое их связывание с фосфолипидами [31]. Однако оказалось, что наличие слоя полилизинов никак не влияет на стабильность мембран, в отличие от полимеров с гидрофобными участками, способными частично встраиваться в мембрану и создавать проницаемые для ионов поры. Эти факты убеждают нас в том, что видимое на рис. 1 смещение кривых сжатия в сторону большей площади на молекулу не означает внедрение полимера в структуру монослоя, а является результатом повышения его жесткости в LE состоянии. Сжимаемость монослоя в конденсированном LC состоянии практически не зависит от присутствия полимера в водной подложке. Этот вывод поддерживается приведенными на рис. 2 и 3 данными рентгеновской рефлектометрии – форма кривой отражения для LC состояния монослоя при адсорбции PL остается в целом прежней, а также на рис. 4 восстановленными профилями электронной концентрации. Наиболее значительные изменения кривых отражения происходят в той области, где монослой ведет себя как двумерная жидкость. При этом оценка параметров структуры межфазной границы в рамках двухслойной модели хорошо согласуется с геометрическими характеристиками амфифильной молекулы липида. Мы полагаем, что применение описанных выше методик исследования сложных полимер-липидных систем на границе вода–воздух целесообразно использовать для заряженных макромолекул разных типов, имеющих медико-биологическое применение. Получаемые при этом экспериментальные результаты позволят подтвердить или отвергнуть молекулярные структуры, вычисление и количественный анализ которых активно разрабатывается методами молекулярной динамики.

Эксперименты проводились на станции ID31 в рамках исследовательского проекта SC-4845 Европейского источника синхротронного излучения (ESRF), Гренобль, Франция. Авторы благодарны Е. Изерн (Helena Isern) и Ф. Русселло (Florian Russello) (ESRF) за помощь в подготовке экспериментов.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования России в рамках Государственных заданий указанных институтов. Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований # 16-04-00556.

1. H. Mohwald, *Phospholipid monolayers*, in: *Handbook of Biological Physics*, ed. by R. Lipowsky and E. Sackmann, Elsevier Science B.V., Netherlands, Amsterdam (1995), p.161.
2. C. Stefaniu, G. Brezesinski, and H. Mohwald, Adv. Colloid Interface Sci. **208**, 197 (2014).
3. G. Cevc and D. Marsh, *Phospholipid Bilayers. Physical Principles and Models*, Cell Biology: A Series of Monographs, ed. by E. E. Bittar, Wiley-Interscience Publication, N.Y. (1987), v. 5, p. 442.
4. M. Loesche, E. Sackmann, and H. Mohwald, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **87**, 848 (1983).
5. V. M. Kaganer, H. Mohwald, and P. Dutta, Rev. Mod. Phys. **71**, 779 (1999).
6. M. C. Shih, T. M. Bohanon, J. M. Mikrut, P. Zschack, and P. Dutta, Phys. Rev. A **45**, 5734 (1992).
7. I. R. Peterson, V. Brzezinski, R. M. Kenn, and R. Steitz, Langmuir **8**, 2995 (1992).
8. C. A. Helm, P. Tippmann-Krayer, H. Mohwald, J. Als-Nielsen, and K. Kjaer, Biophys. J. **60**, 1457 (1991).
9. R. M. Kenn, K. Kjaer, and H. Mohwald, Colloids Surf. A **117**, 171 (1996).
10. K. de Meijere, G. Brezesinski, and H. Mohwald, Macromolecules **30**, 2337 (1997).
11. Y. A. Ermakov, K. Kamaraju, K. Sengupta, and S. Sukharev, Biophys J. **98**(6), 1018 (2010).
12. Yu. Ermakov, K. Kamaraju, A. Dunina-Barkovskaya, K. Vishnyakova, Y. Egorov, A. Anishkin, and S. Sukharev, Biochemistry **56**, 5457 (2017).
13. N. Marukovich, M. McMurray, O. Finogenova, A. Nesterenko, O. Batishchev, and Yu. Ermakov, *Interaction of polylysines with the surface of lipid membranes: the electrostatic and structural aspects*, in: *Advances in Planar Lipid Bilayers and Liposomes. A Tribute to Marin D. Mitov*, ed. by A. Iglic and

J. Genova, Elsevier, Academic press, Amsterdam, London, San Diego (2013), p. 139.

14. Y. A. Ermakov, A. Z. Averbakh, A. I. Yusipovich, and S. Sukharev, Biophys J. **80**(4), 1851 (2001).
15. В. Е. Асадчиков, А. М. Тихонов, Ю. О. Волков, Б. С. Рощин, Ю. А. Ермаков, Е. Б. Рудакова, И. Г. Дьячкова, А. Д. Нуждин, Письма в ЖЭТФ **106**(8), 515 (2017).
16. А. М. Тихонов, В. Е. Асадчиков, Ю. О. Волков, Б. С. Рощин, Ю. А. Ермаков, ЖЭТФ **152**, 1233 (2017).
17. V. Honkimaki, H. Reichert, J. Okasinski, and H. Dosch, J. Synchrotron Rad. **13**, 426 (2006).
18. E. Bitto, M. Li, A. M. Tikhonov, M. L. Schlossman, and W. Cho, Biochemistry **39**(44), 13469 (2000).
19. S. Malkova, F. Long, R. V. Stahelin, S. V. Pingali, D. Murray, W. H. Cho, and M. L. Schlossman, Biophys. J. **89**(3), 1861 (2005).
20. J. Koo, S. Park, S. Satija, A. M. Tikhonov, J. C. Sokolov, M. H. Rafailovich, and T. Koga, J. Colloid Interface Sci. **318**, 103 (2008).
21. A. M. Tikhonov, J. Phys. Chem. B **110**, 2746 (2006).
22. F. P. Buff, R. A. Lovett, and F. H. Stillinger, Phys. Rev. Lett. **15**, 621 (1965).
23. E. S. Wu and W. W. Webb, Phys. Rev. A **8**, 2065 (1973).
24. J. D. Weeks, J. Chem. Phys. **67**, 3106 (1977).
25. S. K. Sinha, E. B. Sirota, S. Garoff, and H. B. Stanley, Phys. Rev. B **38**, 2297 (1988).
26. A. Braslau, P. S. Pershan, G. Swislow, B. M. Ocko, and J. Als-Nielsen, Phys. Rev. A **38**, 2457 (1988).
27. S. V. Pingali, T. Takiue, G. Guangming, A. M. Tikhonov, N. Ikeda, M. Aratono, and M. L. Schlossman, J. Dispersion Science and Technology **27**, 715 (2006).
28. A. M. Tikhonov and M. L. Schlossman, J. Phys.: Condens. Matter **19**, 375101 (2007).
29. H. Brockman, Chem. Phys. Lipids **73**(1–2), 57 (1994).
30. Н. И. Марукович, А. М. Нестеренко, Ю. А. Ермаков, Биол. мембраны **31**(6), 401 (2014).
31. Р. Ю. Молотковский, Т. Р. Галимзянов, Ю. А. Ермаков, Коллоидный журнал **81**(2), 190 (2019).