

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

РОЗДІЛ 6

**СТАТИСТИЧНИЙ РОЗПОДІЛ МЕМБРАННИХ ПОР ЗА  
РОЗМІРАМИ І ЙОГО ВПЛИВ НА ФІЗИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ  
МЕМБРАН**

**6.1 Статистичний розподіл мембранних пор за радіусами в  
недеформованому й ізотропно розтягнутому плоскому бішарі**

Нехай бішарова везикула складається з  $N$  ліпідних молекул, по  $N/2$  у кожному шарі. За рахунок теплових флуктуацій у бішарі виникають гідрофільні мембранні пори. Знайдемо стаціонарний розподіл цих пор за радіусами  $a$ .

Бішарову мембрану з гідрофільними порами можна розглядати як утворену згинанням плоского моношару, що містить  $N$  ліпідних молекул. Площа серединної поверхні крайки гідрофільної пори радіуса  $a$ , утвореної обертанням півкола радіуса  $h/4$  навколо осі  $z$ , де  $h/2$  – товщина моношару, легко обчислити за формулою

$$S_{p(a)} = \int_0^{2\pi} \int_{-h/4}^{h/4} \frac{r}{\cos \theta} d\varphi dz, \quad (6.1)$$

де  $z$ ,  $r$ ,  $\varphi$  – кругові циліндричні координати,  $r$  – відстань від осі  $z$  до серединної поверхні вигнутого моношару,  $\theta$  – кут між віссю обертання і дотичною до серединної поверхні крайки пори в меридіанній площині

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

(рис.4.2). Очевидно,  $r = a + \frac{h}{2} \sqrt{\left(\frac{h}{4}\right)^2 - z^2}$ ,  $\sin\theta = 4z/h$ . Після інтегрування отримуємо

$$S_{p(a)} = \frac{\pi h}{2} \left[ \pi a + \frac{h}{2} (\pi - 1) \right] \quad (6.2)$$

Якщо в крайці пори з радіусом  $a$  міститься  $m_a$  ліпідних молекул, то

$$S_{p(a)} = m_a \bar{S}, \quad (6.3)$$

де  $\bar{S}$  – середня площа, що припадає на одну ліпідну молекулу на серединній поверхні моношару. Таким чином, зв'язок між радіусом пори і кількістю ліпідних молекул у її крайці є

$$\pi a + \frac{h}{2} (\pi - 1) = \frac{2m_a \bar{S}}{\pi h}. \quad (6.4)$$

Зміна пружної енергії, пов'язана зі згинанням моношару по крайці пори,  $\Delta F_{pa}$ , як було показано в розділі 3, дорівнює

$$\begin{aligned} \Delta F_{pa} &= \frac{B_m}{2} \int (H - \tilde{H}_m)^2 dS_p - \frac{B_m}{2} \int \tilde{H}_m^2 dS_p = \\ &= \pi B_m \int_{-h/4}^{h/4} \left\{ \left[ \left( \frac{4}{h} \right)^2 - \frac{\cos\theta}{r} - \tilde{H} \right]^2 - \tilde{H}^2 \right\} \frac{rdz}{\cos\theta}, \quad (6.5) \end{aligned}$$

де  $B_m$  – модуль згинання моношару. Інтегруючи, знаходимо

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

$$\Delta F_{pa} = \pi B_m \left[ \frac{4(\rho+2)^2}{\sqrt{(\rho+1)(\rho+3)}} \operatorname{arctg} \sqrt{\frac{\rho+3}{\rho+1}} - 8 - \pi h \tilde{H}(\rho+2) + 4h \tilde{H} \right], \quad (6.6)$$

де введено позначення  $\rho=4a/h$  для безрозмірного радіуса пори.

Позначимо через  $N_a$  кількість пор у мембрані, що у крайці пори містять  $m$  ліпідних молекул. За рахунок утворення  $N_a$  мембранних пор із радіусом  $a$  вільна енергія моношару при згинанні по крайках пор зміниться на величину  $N_a \cdot \Delta F_{pa}$ , а за рахунок утворення пор із різними радіусами – на величину  $\sum_a N_a F_{pa}$ .

Вільна енергія утворення пори з нульовим радіусом, що називається *зародком пори*, як випливає з (6.6), дорівнює

$$\Delta F_{p0} = 2\pi B_m \left[ 4 \left( \frac{2\pi}{3\sqrt{3}} - 1 \right) - (\pi - 2)h \tilde{H} \right]. \quad (6.7)$$

При малих  $\rho$

$$\Delta F_{pa} = \Delta F_{p0} + 2\pi\gamma a, \quad (6.8)$$

$$\text{де } \gamma = \frac{4\pi}{B_m} \left( \frac{4}{3\sqrt{3}} - h \tilde{H} \right).$$

При великих радіусах пор

$$\Delta F_{pa} = 2\pi\gamma_\infty a, \quad (6.9)$$

$$\text{де } \gamma_\infty = \frac{2\pi B_m}{h} (1 - h \tilde{H}).$$

З появою пор на мембрані пов'язана також зміна ентропії системи  $S_n$ . Вона дорівнює  $S_n = k \ln \Gamma$ , де  $\Gamma$  – кількість можливих мікростанів

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран системи, що відповідають різним розташуванням пор поверхню бішару,  $k$  – постійна Больцмана. Будемо вважати, що кількість ліпідних молекул в одному моношарі системи ( $N/2$ ) істотно перевищує повну кількість пор:  $N/2 \gg \sum_a N_a$ . Положення пори в цьому випадку можна характеризувати положенням її центру. Природною одиницею дискретності в площині бішару є площа, що припадає на одну ліпідну молекулу. Будемо розглядати систему пор як систему точок, що відповідають центрам пор, що розташовуються в площині, розбитій на комірки. Площа однієї комірки дорівнює площі, що припадає на ліпідну молекулу, кількість комірок дорівнює кількості ліпідних молекул, які не містяться у крайках пор. Зміна положення кожного центру може відбуватися при переході його з однієї комірки в іншу, а мікростан системи визначається розташуванням усіх центрів. У наближенні двомірної решіткової рідини кількість розміщень  $\Gamma$  можна приблизно подати у вигляді

$$\Gamma = \prod_a \frac{(N/2 - m_a/2)!}{N_a!(N/2 - m_a/2 - N_a)!}, \quad (6.10)$$

де  $m_a$  – кількість ліпідних молекул, що вистилають крайку пори радіуса  $a$ , і добуток береться за порами усіх радіусів. Вважаючи, що кількість пор будь-якого радіуса істотно перевищує одиницю ( $N_a \gg 1$ ), а також, що кількість молекул у крайці будь-якої пори менше кількості молекул у моношарі ( $m_a \ll N/2$ ), можна одержати вираз для ентропії розміщення пор у наступному вигляді:

$$\Delta S = k \sum_a N_a \ln \frac{N}{2N_a} \approx k \sum_a N_a \ln \frac{2N_a}{N} \quad (6.11)$$

## 6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

Зміна повної вільної енергії, викликані утворенням пор у мембрані, є

$$\Delta F_{\text{повн}} = \sum_{a=0}^{\infty} \left[ N_a \Delta F_{pa} + kTN_a \ln \frac{2N_a}{N} \right]. \quad (6.12)$$

Вираз для кількості пор радіуса  $a$ , при якому вільна енергія (6.12) мінімальна, має вигляд:

$$N_a = \frac{N}{2} \exp \left( -\frac{\Delta F_{pa}}{kT} \right). \quad (6.13)$$

Вираз (6.13) дає дискретний розподіл пор за радіусами. Для знаходження повної кількості пор перейдемо до безперервного розподілу  $n(a)$ . Характерним інтервалом, у котрому "розмивається" дискретний розподіл, є зміна радіуса пори  $a$ , що відповідає додаванню в крайку однієї ліпідної молекули. Нескладний розрахунок показує, що  $\delta a = \bar{v} / \pi^2 h^2$ , де  $\bar{v}$  – об'єм однієї ліпідної молекули,  $h$  – товщина моношару. Оцінка показує, що  $\delta a = 2 \cdot 10^{-11}$  м. З урахуванням цього співвідношення отримуємо

$$n(a) = \frac{N}{2} \frac{\pi^2 h^2}{\bar{v}} \exp \left( -\frac{\Delta F_{pa}}{kT} \right). \quad (6.14)$$

Повна кількість пор у мембрані  $N_{\text{повн}}$  дорівнює

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

$$N_{повн} = \int_0^{\infty} n(a) da. \quad (6.15)$$

Підставляючи вираз (6.8) у (6.13), одержуємо кількість пор у мембрані з радіусом  $a$ :

$$\frac{N_a}{N} = \frac{1}{2} \exp\left(-\frac{\Delta F_{po}}{kT}\right) \exp\left(-\frac{2\pi\gamma a}{kT}\right). \quad (6.16)$$

Повна кількість пор у мембрані дорівнює:

$$N_{повн} = \frac{N}{2} \cdot \frac{\pi^2 h^2}{2} \cdot \frac{3kT}{4\pi\gamma} \cdot \exp\left(-\frac{\Delta F_{po}}{kT}\right). \quad (6.17)$$

Якщо спонтанна кривизна моношару така, що енергія пори монотонно збільшується зі збільшенням радіуса, то максимальна кількість пор відповідає нульовому радіусу. Такі структурні дефекти не є в повному розумінні слова порами, тому що вони не утворюють дірок у мембрані і через них не можуть проникати розчинені в міжмембранних областях речовини. Їх називають *зародками пор*. Кількість зародків пор, віднесена до кількості ліпідних молекул у моношарі, дорівнює  $\exp(\Delta F_{po} / kT)$ . Оскільки на ліпідну молекулу припадає площа біля  $0,6 \text{ нм}^2$ , при нульовій спонтанній кривизні поверхнева щільність зародків пор приблизно дорівнює  $0,1 \text{ мкм}^{-2}$ . Таким чином, у мембранах везикул із радіусом, що перевищує  $1 \text{ мкм}$ , у середньому є більше одного зародка пори. Зі збільшенням значення позитивної спонтанної кривизни моношару утворення пор стає енергетично більш вигідним.

### 6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

Ми розглянули статистичний розподіл мембранних пор у недеформованому бішарі. Ситуація змінюється докорінно, якщо мембрана піддається постійному ізотропному натягу. Цей випадок реалізується, наприклад, при формуванні штучних плоских бішарових мембран на отворі в тефлонової плівці за методом Мюлера. У цьому випадку в зміну вільної енергії мембрани, пов'язану з утворенням у ній мембранних пор, необхідно додати доданок, що залежить від постійного натягу мембрани, як от  $\Delta F_\sigma = -\pi a^2 \sigma$ . Тоді замість (6.12) і (6.13) маємо

$$\Delta F_{\text{повн}} = \sum_{a=0}^{\infty} \left[ N_a \Delta F_{pa} + k T N_a \ln \frac{2N_a}{N} - N_a \pi a^2 \sigma \right] \quad (6.18)$$

і

$$N_a = \frac{N}{2} \exp \left( \frac{\pi a^2 \sigma - \Delta F_{pa}}{k T} \right). \quad (6.19)$$

Як видно з виразу для кількості пор із радіусом  $a$  (6.19), у цьому випадку залежність кількості пор від їхнього радіуса за рахунок додаткового ефекту ізотропного натягу бішарової мембрани не падає до нуля при  $a \rightarrow \infty$ . При радіусі  $a > a^* = \frac{\gamma}{\sigma}$  кількість пор зростає разом із збільшенням їх розміру, так що бішарова мембрана, що піддається постійному ізотропному натягу, є метастабільною. Коли хоча б одна з пор досягне радіуса  $a^*$ , мембрана зникає, тому що ця пора неухильно зростає. Як впливає з (6.19), імовірність утворення пори радіусом  $a^*$  зростає зі збільшенням ізотропного натягу мембрани  $\sigma$  і зі збільшенням

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

кількості молекул  $N$ , що складають мембрану. З (6.19) видно, що кількість ліпідних молекул у бішаровій мембрані  $N^*$ , при якому в ній існує хоча б одна пора критичного радіуса, визначається рівністю

$$\frac{N^*}{2} \approx \exp\left(\frac{\pi\gamma^2}{\sigma kT}\right). \quad (6.20)$$

Таким чином, якщо бішарова ліпідна мембрана містить у моношарі кількість молекул, що перевищує  $N^*$ , вона миттєво розривається, тобто є абсолютно нестійкою. За типових для ліпідних бішарів в експериментах зі штучними бішаровими мембранами значеннях параметрів  $\gamma=10^{-11}\text{Н}$ ,  $\sigma=2\cdot 10^{-3}\text{Н/м}$ ,  $a_l=0,6\text{ нм}^2$  (площа на одну молекулу),  $\frac{N^* a_l}{2} \approx 18\cdot 10^{-4}\text{ м}^2$ , звідки випливає, що площа абсолютно нестійкого ліпідного бішару перевищує приблизно  $18\cdot 10^{-4}\text{ м}^2$ . В експериментах бішарові ліпідні мембрани, як правило, мають значно менші площі, ніж ця. Тому вони не є абсолютно нестійкими, але мають кінцевий час життя, що істотно залежить від розміру ізотропного натягу, розміру і спонтанної кривизни бішару, і можуть використовуватися в експерименті, як правило, не довше, ніж декілька годин.

Наявність у мембрані дефектів типу наскрізних пор помітно впливає на її властивості. Розглянемо два приклади, що ілюструють ефект впливу мембранних пор на фізичні властивості мембран.

## 6.2 Обмін ліпідами між моношарами



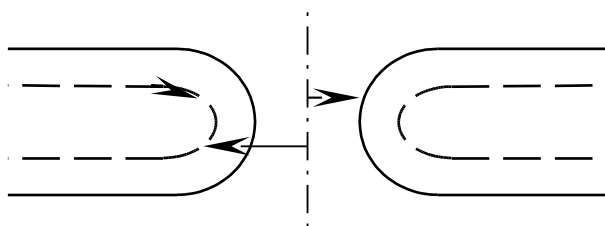
## 6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

У безперервному бішарі обмін ліпідами між моношарами може здійснюватися тільки за рахунок перескоку ліпідної молекули з одного моношару в інший. Однак наявність у мембрані гідрофільних пор уможлиблює інший механізм цього процесу. Обидва моношари системи виявляються безперервно пов'язаними один з одним через стінки пор, тобто з топологічної точки зору вони утворюють єдиний моношар. Тому ліпідна молекула може перейти з однієї сторони мембрани на іншу за рахунок латеральної дифузії. Спочатку вона, дифундуючи одним моношаром, досягає пори, а потім по стінці пори переходить в інший моношар. Оцінимо характерний час обміну ліпідів між моношарами за рахунок латеральної дифузії уздовж стінки пори.

Розглянемо мембрану, у якій є мічені ліпідні молекули. Мольна частка цих молекул  $x_l$  дорівнює відношенню їх кількості до повної кількості ліпідних молекул  $N$ . Будемо вважати, що між моношарами існує різниця мольних часток мічених молекул  $\Delta x_l$ , причому абсолютна величина  $x_l$  мала,  $x_l \ll 1$ . Мічені молекули дифундують мембраною, коефіцієнт їх латеральної дифузії позначимо через  $D_l$ . Визначимо кінетику вирівнювання мольних часток  $x_l$  між моношарами за рахунок латеральної дифузії мічених молекул по крайках пор.

Розглянемо спочатку потік міченого ліпіду через одну пору  $I$ . Припустимо, що розподіл мічених молекул є рівномірним в плоских частинах моношарів і вся зміна  $x_l$  відбувається в крайці пори. За геометричну поверхню, по якій відбувається дифузія, прийmemo серединну поверхню моношару (рис. 6.1).



6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

$l$        $a$   
  
 $r$

Рис. 6.1 Латеральна дифузія мічених молекул через крайку пори

З урахуванням того, що повний потік мічених молекул:

$$I = 2\pi r \frac{D_l}{s_l} \cdot \frac{dx_l}{dl},$$

постійний у будь-якому перетині пори, а повна зміна концентрації цих молекул дорівнює  $\Delta x_l$ , можна отримати

$$\Delta x_l = \frac{I s_l}{2\pi D_l} \int_0^{\pi h/2} \frac{dl}{r(l)} = \frac{I s_l}{2\pi D_l} \cdot \frac{\frac{\pi}{2} + \arcsin \frac{h}{2a+h}}{\sqrt{\left(a + \frac{h}{2}\right)\left(a + \frac{3h}{2}\right)}}, \quad (6.21)$$

де  $s_l$  – площа, що припадає на одну ліпідну молекулу. Нехтуючи другим доданком у чисельнику (6.21), що завжди менше, ніж  $\pi/2$ , приблизно маємо

$$I = \frac{2D_l \Delta x_l}{h a_l} \sqrt{(2a+h)(2a+3h)}. \quad (6.22)$$

З наведених вище розрахунків випливає, що радіус переважної більшості пор менше півтовщини мембрани  $h/2$  ( $\sim 10 \text{ \AA}$ ). Тому, нехтуючи в (6.22) значеннями  $a$  у порівнянні з  $h/2$ , одержуємо наближений вираз для потоку міченого ліпідів з одного моношару в інший уздовж крайки однієї пори:

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

$$I = 2\sqrt{3}D_l \frac{\Delta x_l}{s_l}. \quad (6.23)$$

Повний потік частинок уздовж усіх пор, що знаходяться на одиниці площі мембрани, дорівнює

$$I_{\text{повн}} = 2\sqrt{3}D_l \Delta x_l N_p / N s_l^2, \quad (6.24)$$

де  $N_p$  – повна кількість пор.

Характерний час зменшення різниці мольних часток міченого ліпиду між моношарами дорівнює:

$$\tau = \frac{\Delta x_l}{s_l I_{\text{повн}}}. \quad (6.25)$$

З урахуванням виразу для повної кількості пор (6.17) отримуємо

$$\tau \approx \frac{4}{3\pi\sqrt{3}} \cdot \frac{s_l^2}{D_l h} \cdot \frac{\gamma}{kT} \exp\left(\frac{\Delta F_{po}}{kT}\right), \quad (6.26)$$

де  $\gamma$  – лінійний натяг пори,  $\Delta F_{po}$  – вільна енергія утворення зародка пори.

Оцінимо час обміну ліпідами між моношарами за формулою (6.26). Для цього необхідно знати коефіцієнт латеральної дифузії ліпідів у порі  $D_l$ . Значення цієї величини в плоскій частині мембрани коливається в межах  $10^{-14}$ – $10^{-12}$  м<sup>2</sup>/с. Зауважимо, що молекули в крайці пори

### 6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

деформовані, у зв'язку з чим, можливо, пора являє собою для ліпідних молекул енергетичний бар'єр і латеральна дифузія в цій частині молекули уповільнена. Проте для оцінки ми скористаємося коефіцієнтом латеральної дифузії ліпідів, характерним для плоского моношару  $D_l=10^{-13}$  м<sup>2</sup>/с.

Величина характерного часу міжмоношарового обміну ліпідами  $\tau$  (6.26) експоненційно залежить від енергії зародка пори, яка у свою чергу пропорційна коефіцієнту жорсткості мембрани на вигин  $B$ . Величина цього коефіцієнту відома приблизно. Припускаючи, що значення  $B$  лежить в інтервалі від  $1,3 \cdot 10^{-20}$  до  $2 \cdot 10^{-20}$  Дж, одержуємо, що час  $\tau$  потрапляє в широкий діапазон від 1 хв до 16 год. Експериментальні значення часу міжмоношарового обміну ліпідами складають декілька десятків годин, що відповідає максимальним значенням з отриманого нами діапазону.

Таким чином, проведений розрахунок показує, що латеральна дифузія молекул через крайки гідрофільних пор є одним із можливих механізмів обміну ліпідами між моношарами бішарової мембрани.

### 6.3 Фонова електрична провідність мембрани

Електрична провідність ліпідних мембран складає  $10^{-6}$ – $10^{-2}$  См/м<sup>2</sup> і істотно перевищує значення, засновані на обчисленні цієї величини за моделями прямого проходження іонів крізь мембрану. Знайдемо електричну провідність однієї пори. Радіус переважної більшості пор менше товщини мембрани. Тому пору можна спрощено

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

---

розглядати як циліндричний отвір у мембрані радіусом  $a$ . Провідність такої пори дорівнює:

$$\sigma_m = \chi_p \frac{\pi a^2}{h}, \quad (6.27)$$

де  $\chi_p$  – питома провідність розчину електроліту, що заповнює пору.

Підкреслимо, що питома провідність розчину в порі  $\chi_p$  залежить від її радіуса. Це пов'язано з тим, що концентрація  $c_e$  носіїв електричного струму (тобто іонів електроліту) у порі відрізняється від її значення в об'ємі розчину. Іон, що міститься в порі, взаємодіє зі своїм електричним зображенням у мембрані і тому має надлишкову енергію:

$$\Delta W \approx 0,05 \frac{e_0^2}{\epsilon_0 a},$$

де  $e_0$  – електричний заряд,  $\epsilon_0$  – діелектрична стала розчину електроліту в порі з радіусом  $a$ .

Питома провідність розчину електроліту пропорційна концентрації електроліту. Базуючись на розподілі Больцмана для іонів, можна записати вираз для питомої провідності в порі радіусом  $a$ :

$$\chi_p = \chi_0 \exp\left(-\frac{0,05}{4\pi k T a} \cdot \frac{e_0^2}{\epsilon_0}\right),$$

де  $\chi_0$  – питома провідність розчину в об'ємі.

### 6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив на фізичні властивості мембран

Цей вираз справедливий для заряду в центрі пори. Іон, що перебуває біля стінки пори, сильніше взаємодіє зі своїм зображенням і має більшу енергію. Тому оцінка електричної провідності, що буде отримана нижче, дає завищене значення. Отже, провідність пори радіусом  $a$  є:

$$\sigma_m = \chi_0 \frac{\pi}{h} a^2 \exp\left(-\frac{0,05}{4\pi kT} \cdot \frac{e_0^2}{\epsilon_0 a}\right),$$

а провідність мембрани, що припадає на одиницю її площі, дорівнює:

$$\sigma_{\text{мемб}} = \chi_0 \frac{\pi}{ha} \sum_a a^2 \exp\left(-\frac{0,05}{4\pi kT} \cdot \frac{e_0^2}{\epsilon_0 a}\right) \frac{N_a}{N},$$

де  $N_a$  – кількість пор на мембрані, що мають радіус  $a$ ,  $N$  – кількість ліпідних молекул, із яких побудована мембрана.

Наближене обчислення суми в цьому виразі з урахуванням розподілу пор за розмірами (6.16) дає значення, що задовільно узгоджується з експериментальними результатами.

Таким чином, висока фонові провідність бішарових ліпідних мембран може бути зумовлена наявністю в них гідрофільних пор, що виникають у результаті теплових флуктуацій. Кількість пор і провідність мембрани зростають із збільшенням спонтанної кривизни бішару. Вбудовування в мембрану молекул з великою позитивною кривизною (наприклад, молекул лізолецитину) відповідно до висунутих положень повинно приводити до збільшення електропровідності

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

---

мембрани. Цей висновок підтверджується експериментальними даними.

6 Статистичний розподіл мембранних пор за розмірами і його вплив  
на фізичні властивості мембран

---

**Контрольні запитання до розділу 6**

1. Як змінюється ентропія мембрани з виникненням у ній мембранних пор?
2. Яким є фізичний механізм обміну ліпідами між моношарами через гідрофільні мембранні пори?
3. Чим обумовлена висока фонова електропровідність бішарових ліпідних мембран?