

УДК 577.352

ВЛИЯНИЕ КРИВИЗНЫ МЕМБРАНЫ НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАРЬЕР ПОРООБРАЗОВАНИЯ

© 2025 г. Р. Ю. Молотковский^{a,*}, П. В. Башкиров^a

^aИнститут системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва, 117246 Россия

*e-mail: rodion.molotkovskiy@gmail.com

Поступила в редакцию 08.11.2004

После доработки 03.12.2024

Принята к печати 04.12.2024

Образование сквозных проводящих дефектов – пор в липидном бислой – влияет на множество процессов в живых клетках и может приводить к сильнейшим изменениям в клеточном метаболизме. Порообразование представляет собой сложную топологическую перестройку и происходит в несколько этапов: сначала образуется гидрофобная сквозная пора, затем она перестраивается в гидрофильную пору с искривленной кромкой, расширение которой приводит к разрыву мембраны. Формирование поры не происходит спонтанно, так как требует значительных затрат энергии, связанных с деформацией мембраны. Эволюция системы связана с преодолением одного или двух энергетических барьеров, соотношение высот которых влияет на стабильность поры и вероятность ее образования. Мы исследуем влияние кривизны мембраны на высоту энергетического барьера перехода поры в метастабильное гидрофильное состояние. Мы применяем теорию упругости липидных мембран и обобщаем модель порообразования в плоских мембранах на случай произвольной кривизны. Мы показываем, что барьер на порообразование уменьшается на $8 k_B T$ при уменьшении радиуса кривизны с 1000 до 10 нм, что облегчает формирование метастабильной поры. Полученные нами результаты согласуются с экспериментальными данными и могут применяться при моделировании сложных процессов, происходящих в искривленных участках мембран живых клеток.

Ключевые слова: липидная мембрана, теория упругости, порообразование, кривизна, гидрофобные дефекты

DOI: 10.31857/S0233475525020037, EDN: UFSSJR

ВВЕДЕНИЕ

Все уровни организации живой материи, от субклеточных до надклеточных, не могли бы существовать и функционировать без особых барьеров, которые отделяют их друг от друга. Эти барьеры – клеточные мембранны, создают жизненно важные электрофизиологические и химические градиенты, обеспечивая при этом проницаемость для обмена газами, осмолитами и метаболитами [1]. Они также играют ключевую роль в коммуникации и координации между различными компартментами [2, 3]. Поддержание целостности и селективности этих барьеров имеет огромное значение для поддержания гомеостаза, поскольку их нарушение может привести к гибели клеток и развитию патологических состояний [4]. Основой любой клеточной мембранны является липидный бислой (ЛБ), который

состоит из двух слоев молекул липидов. Эти молекулы являются амфифильными, т.е. состоят из гидрофильной полярной группы и, как правило, двух гидрофобных жирнокислотных остатков. Благодаря такому строению липиды способны самоорганизовываться в ламеллярные структуры в водной среде [5]. В этих структурах два слоя амфифильных липидных молекул ориентированы таким образом, что их гидрофобные «хвостовые» части спрятаны внутрь, а гидрофильные «головки» обращены наружу, к водной среде. Такое строение позволяет ЛБ создавать эффективный барьер для большинства водорастворимых молекул, не позволяя им свободно проникать через мембрану [6].

Нарушение барьерных свойств ЛБ часто связывают с формированием в нем локальных проводящих дефектов – пор. Это может происходить

в результате структурных изменений в мембране, вызванных различными патологическими факторами: механическими повреждениями [7], химическими воздействиями [8], экстремальными температурами [9], окислительным стрессом [10, 11], воспалительными процессами [12] или воздействием патогенных микроорганизмов [13], и быть потенциально разрушительным для клетки. В то же время большое число важных клеточных процессов сопряжено с образованием короткоживущих или стабильных пор в клеточных мембранах. Такие поры необходимы для контролируемого транспорта крупных молекул через мембрану [14], что способствует перемещению белков внутри клеток и между ними. Слияние мембранных компартментов невозможно без формирования так называемой поры слияния, обеспечивающей объединение содержимого сливающихся мембран [15]. Также поры могут использоваться для контролируемой доставки лекарств и генов в клетки. Временно создавая поры в цитоплазматической мембране, лекарства и гены можно вводить непосредственно в клетку, минуя систему активного транспорта [16]. В защитном плане образование пор во внешней мембране митохондрий происходит при запрограммированной гибели клеток, апоптозе; оно приводит к выбросу цитохрома *c* и других апоптотических факторов в цитозоль [17, 18]. Таким образом, хотя неконтролируемое образование пор является разрушительным процессом, регулируемое образование пор необходимо для многих клеточных функций и терапевтических применений. Понимание и контроль процесса образования пор необходимы для прогресса в медицине и нашем знании клеточной биологии.

По своей природе ЛБ является двумерным жидким кристаллом, он сопротивляется деформациям, сопряженным с отклонением конформации составляющих его молекул липидов от

равновесной. Считается, что процесс формирования поры в ЛБ происходит в несколько этапов. Первоначально в результате критической локальной флуктуации плотности липидных молекул образуется сквозной дефект, который заполняется водой (см. рис. 1а). Затем происходит изменение конформации липидов, расположенных по периметру отверстия, так чтобы нивелировать контакт гидрофобных хвостов с водой (см. рис. 1б), при этом возникает непосредственный контакт между внешним и внутренним монолистами ЛБ через кромку поры [19].

Таким образом, пора представляет собой сильно изогнутую мембранный структуру, средняя кривизна которой зависит от толщины ЛБ (определяет значение первой главной кривизны) и радиуса поры (определяет значение второй главной кривизны). Поэтому формирование поры в ненапряженном ЛБ обычно не происходит спонтанно, так как требует значительных затрат энергии, составляющих по порядку величины несколько десятков единиц $k_B T$ ($1 \times k_B T = 4 \times 10^{-21}$ Дж) [20, 21]. Согласно классической теории порообразования [22], мембрану представляют как бесконечно тонкую поверхность, к которой приложено поверхностное натяжение σ . Образование поры радиуса r приводит к изменению состояния липидов на кромке поры, которое характеризуется линейным натяжением γ . Комбинация параметров γ и σ определяет критический радиус r^* и изменение энергии, необходимое для порообразования. Если пора имеет радиус меньше критического, она будет «схлопываться»; если же радиус $r > r^*$, пора будет неограниченно расширяться. По мере увеличения натяжения σ критический r^* стремится к нулю, что говорит о том, что ЛБ теряет устойчивость к флуктуациям плотности липидов. Однако при малых значениях радиуса поры линейное натяжение γ может существенным образом

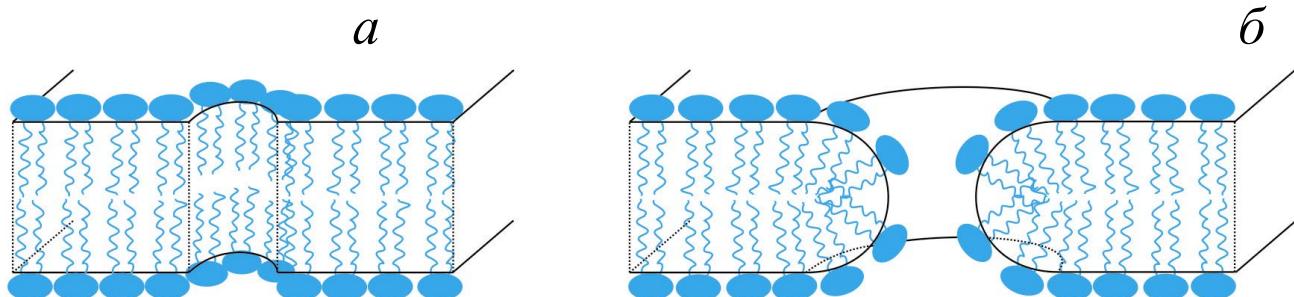


Рис. 1. Схематическое изображение гидрофобной (панель а) и гидрофильной (панель б) поры в плоском липидном бислое.

зависеть от радиуса поры [19], а определение характера этой зависимости требует учитывать внутреннюю структуру мембранны и ее изменение в процессе порообразования. Такое рассмотрение позволяет получить энергию поры как непрерывную функцию ее радиуса, т.е. энергетическую траекторию системы. Эволюция системы оказывается связанный с преодолением одного или двух энергетических барьера: первый барьер связан с переходом гидрофобной поры — гидрофильной поры, второй барьер связан с дальнейшим расширением гидрофобной поры [21]. При наличии двух барьера пора в определенном диапазоне радиусов может находиться некоторое время в метастабильном состоянии. При отсутствии второго барьера или неограниченного роста энергии при больших радиусах пора будет нестабильной: она либо расширяется, либо «схлопывается». Среднее время жизни поры определяется высотой энергетического барьера либо процесса ее закрытия, либо процесса ее неограниченного расширения, отсчитанных от энергии метастабильного состояния. При этом барьер на образование гидрофильной поры определяет время ожидания порообразования. Энергетические барьеры, в свою очередь, зависят от параметров системы, таких как поверхностное натяжение, приложенная к мембранны разность потенциалов, а также упругие характеристики мембранны [23]. Так, в классических работах Эванса [24] было проведено экспериментальное исследование зависимости времени ожидания формирования поры от приложенного к мембранны латерального натяжения. Было убедительно показано, что процесс порообразования реализуется через дефекты, вероятность возникновения которых определяется латеральным натяжением. Натяжение в данном случае было направлено на преодоление сил взаимодействия между липидами.

Помимо латерального натяжения, одним из параметров, который может оказывать влияние на энергию поры, является кривизна мембранны. Искривленная симметричная мембранны с нулевой спонтанной кривизной липидных монослоев имеет повышенную, по сравнению с плоской, плотность энергии. В силу этого в ней повышена вероятность образования гидрофобных дефектов, что облегчает топологическую перестройку, необходимую мембранны для перехода в другое состояние [25]. Искривленность мембранны влияет на работу порообразующих пептидов, уменьшая концентрацию этих пептидов, необходимую для порообразования [26]. Имеются экспериментальные данные, указывающие на ускорение

пептид-индуцированного порообразования в более искривленных мембранны [27]. Иногда наблюдалось также появление сквозных пор при делении липидных нанотрубок под действием осмотического давления [28]. Однако в абсолютном большинстве работ по порообразованию, как теоретических, так и использующих молекулярно-динамические расчеты, модельная мембранны считается плоской. Мы адаптируем имеющуюся теорию для исследования порообразования в искривленных мембранны. Это позволяет получить высоту барьера на порообразование как функцию кривизны мембранны. Для расчета деформаций используется теория упругости липидных мембранны.

ПОСТАНОВКА И РЕШЕНИЕ ЗАДАЧИ

Мы рассматриваем образование поры в сферической мембранны с радиусом кривизны R_c . Выделяется сферический сегмент радиуса R_s много меньше R_c . Предполагается, что сегмент имеет размер много меньше размера остальной сферы, поэтому в данном случае она выступает в роли резервуара, так как вариации формы сегмента не влияют на ее состояние. Образование поры приводит к деформации сегмента и изменению энергии системы. В начальном состоянии сфера находится в равновесии, и энергия системы отсчитывается именно от этого состояния. Мы ограничиваем все деформации только сферическим сегментом и вычисляем изменение энергии сегмента при порообразовании. Для описания деформаций мы используем энергетический функционал Хамма—Козлова [29]. Состояние деформированного участка липидного монослоя определяется векторным полем единичных векторов \mathbf{n} , называемых директорами, характеризующими среднюю ориентацию липидных молекул. Поле директоров задается на так называемой нейтральной поверхности, проходящей внутри монослоя параллельно его границе с водой в области сочленения полярных головок с гидрофобными цепями липидов. Форма нейтральной поверхности характеризуется векторным полем ее единичных нормалей \mathbf{N} . Деформации будем считать малыми и будем вычислять энергию в квадратичном приближении. Мы рассматриваем три деформационные моды: поперечного изгиба, наклона и растяжения/сжатия. Деформация поперечного изгиба характеризуется дивергенцией директора вдоль нейтральной поверхности, $\text{div}(\mathbf{n})$. Деформация наклона характеризуется вектором наклона, который для малых деформаций имеет вид $\mathbf{t} = \mathbf{n} - \mathbf{N}$ [29].

Деформация растяжения/сжатия характеризуется относительным изменением площади a по отношению к площади в недеформированном состоянии a_0 : $\alpha = (a - a_0)/a_0$. Энергия деформации W участка монослоя площади A_0 при наличии ненулевого натяжения σ может быть записана в виде [29]:

$$W = \int_{A_0} \left\{ \frac{B}{2} (\operatorname{div} \mathbf{n} + J_s)^2 - \frac{B}{2} J_s^2 + \frac{K_t}{2} \mathbf{t}^2 + \frac{K_a}{2} \alpha^2 + \sigma \right\} dS - \sigma A_0, \quad (1)$$

где B , K_t и K_a – упругие модули изгиба, наклона и растяжения/сжатия соответственно, J_s – спонтанная кривизна монослоя, dS – элемент площади поверхности, A_0 – площадь монослоя в недеформированном состоянии. На монослой налагается условие локальной объемной несжимаемости, согласно которому объем элемента монослоя не меняется при деформациях. Это условие имеет следующий вид [29]:

$$h_c = h - \frac{h^2}{2} \operatorname{div}(\mathbf{n}) - h\alpha, \quad (2)$$

где h_c и h – толщина монослоя в деформированном и недеформированном состоянии соответственно. Уравнения (1–2) позволяют получить энергию и форму деформированной мембраны при наличии граничных условий, определяющих геометрию системы в приближении малости деформаций. Это приближение предполагает возможность выбора поверхности, проекция директора и вектора наклона на которую мала, т.е. многое меньше 1. Для того чтобы удовлетворить этому условию в исследуемом сегменте мембраны, мы разбиваем его на три участка, в каждом из которых деформации рассматриваются отдельно, в своей системе координат. На границе участков деформации стыкуются, исходя из непрерывности директора и нейтральной поверхности. После этого полная энергия системы минимизируется по координатам границ участков.

Сферический сегмент без поры. Мы вычисляем изменение энергии сферического сегмента мембраны при возникновении в нем поры. Вначале мы рассматриваем сферический сегмент без поры, который находится в контакте с резервуаром, и определяем его упругую энергию. Для этого мы вводим цилиндрическую систему координат $\{O, z, r\}$ так, чтобы ось Oz проходила через вершину сегмента по направлению от сферы, а ось Or лежала в плоскости, перпендикулярной Oz (рис. 2).

Начало координат O выбирается так, чтобы ось Or пересекала границу сегмента с остальной мембраной в точке контакта монослоев, т.е. на межмонослоевой поверхности. Предполагается, что в сегменте директоры и нормали мало отклоняются от оси Oz ; это, в частности, означает, что радиус сегмента $R_s \ll R_c$. В силу цилиндрической симметрии все величины зависят только от радиуса r ; это позволяет заменить все векторные величины их проекциями на ось Or : $\mathbf{n} \rightarrow n_r = n$, $\mathbf{t} \rightarrow t_r = t$, $\mathbf{N} \rightarrow N_r = N$. Дивергенция директора меняется на величину $\operatorname{div}(\mathbf{n}) \approx n'(r) + n(r)/r$, где штрих означает производную по r . Состояние липидного бислоя описывается пятью функциями: директорами в верхнем и нижнем монослоях $a(r)$ и $b(r)$, а также расстояниями $H_a(r)$, $H_b(r)$ и $M(r)$ от нейтральной поверхности верхнего и нижнего монослоя и межмонослоевой поверхности до Or . Условие объемной несжимаемости для монослоев записывается в следующем виде:

$$\begin{aligned} H_a &= M + h - \frac{h^2}{2} \left(a' + \frac{a}{r} \right) - h\alpha_1; \\ H_b &= M - h + \frac{h^2}{2} \left(b' + \frac{b}{r} \right) + h\alpha_2. \end{aligned} \quad (3)$$

Здесь и далее переменная, от которой зависит функция, опускается при записи из соображений простоты. Уравнения (3) позволяют выразить функции α_1 и α_2 через $H_{a,b}$ и M . Проекции вектора наклона в двух монослоях t_a и t_b равны $t_{a,b} \approx a \mp H'_{a,b}$. Подставляя эти выражения в формулу (1), мы получаем энергию бислоя в следующем виде:

$$\begin{aligned} W_0 &= \pi K_t \int_0^{R_s} \left(l^2 \left(a' + \frac{a}{r} + J_s \right)^2 - l^2 J_s^2 + \left(a - H_a' \right) + \right. \\ &+ A \frac{\left(a'h^2 r + ah^2 + 2Har - 2Mr - 2hr \right)^2}{4h^2 r^2} + \sigma_0 H_a'^2 \left. \right) r dr + \\ &+ \pi K_t \int_0^{R_s} \left(l^2 \left(b' + \frac{b}{r} + J_s \right)^2 - l^2 J_s^2 + \left(b + H_b' \right) + \right. \\ &+ A \frac{\left(-b'h^2 r - bh^2 + 2Hbr - 2Mr - 2hr \right)^2}{4h^2 r^2} + \sigma_0 H_b'^2 \left. \right) r dr. \end{aligned} \quad (4)$$

Здесь введены обозначения $l = B/K_t$, $A = K_a/K_t$, $\sigma_0 = \sigma/K_t$. При выводе формулы (4) мы используем тот факт, что дифференциал площади равен

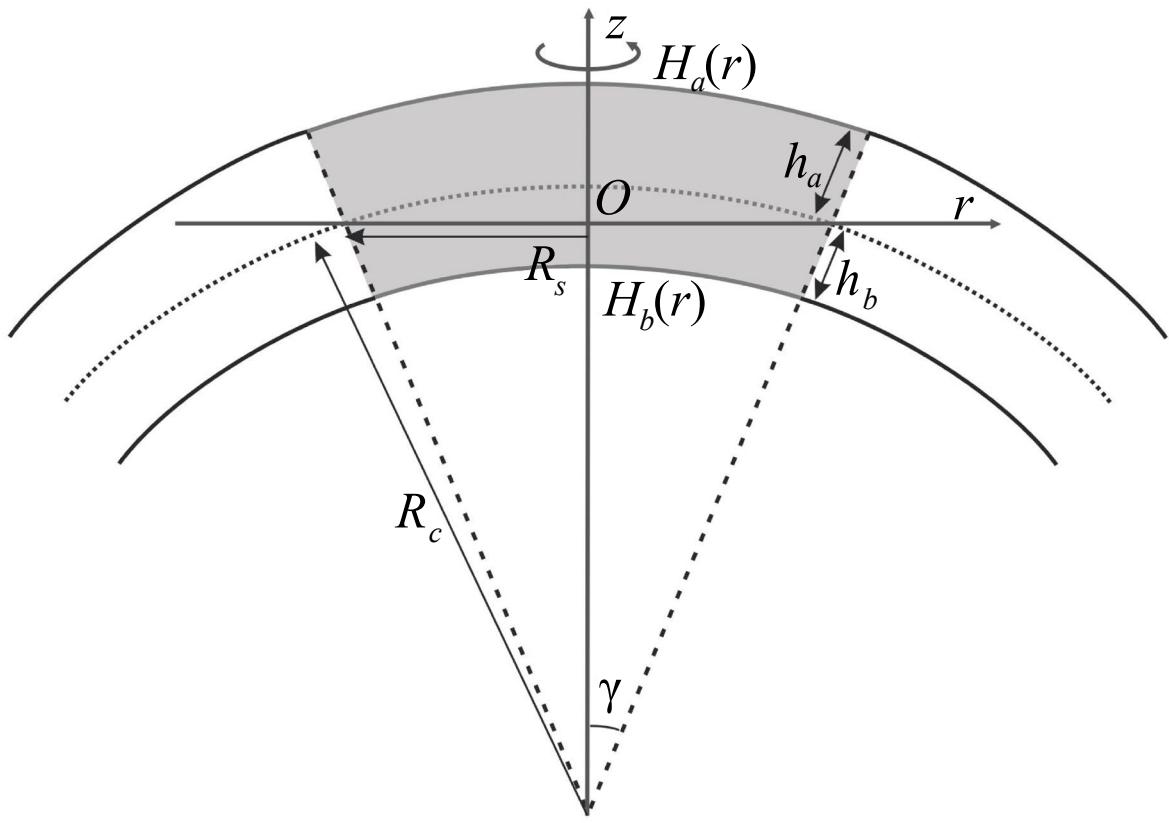


Рис. 2. Схематическое изображение начального состояния системы. Из мембраны с радиусом кривизны R_c вырезается сегмент радиуса R_s и производится замена на деформированную мембрану. Радиус R_c определяется по межмомонослоиной поверхности. Сшивка директоров и нейтральных поверхностей производится в точках с координатами $(R_s \pm h_{a,b} \sin(\gamma), \pm h_{a,b} \cos(\gamma))$, где $\gamma = \arcsin(R_s/R_c)$ – половина угла раствора сферического сегмента.

$dS = \sqrt{1 + H'^2} \approx 1 + \frac{H'^2}{2}$. В силу этого слагаемое с натяжением для каждого из монослоев будет равно $\sigma \frac{H'^2}{2} 2\pi r = \pi K_t r \frac{\sigma}{K_t} H'^2$, что и приводит к соответствующему обозначению для σ_0 . Минимизация функционала (4) позволяет получить в явном виде функции a , b , M , H_a и H_b в зависимости от неопределенных коэффициентов, определяемых из геометрии системы. Часть коэффициентов равна нулю в силу ограниченности функций в нуле. Остальные коэффициенты находятся из условий непрерывности директора и нейтральной поверхности на границе сегмента с остальной сферой. Мы учитываем, что толщины h_a и h_b верхнего и нижнего монослоев сферической мембраны будут отличаться из-за условия объемного несжимаемости, которое в первом

порядке малости по R_c имеет следующий вид: $h_{a,b} = h \pm \frac{h^2}{2R_c}$. С учетом этого граничные условия принимают следующий вид:

$$H_{a,b}(R_s \pm h_{a,b} \sin(\gamma)) = \pm h_{a,b} \cos(\gamma); \quad (5)$$

$$a, b(R_s \pm h_{a,b} \sin(\gamma)) = \mp \sin(\gamma).$$

Здесь $\gamma = \arcsin(R_s/R_c)$ – половина угла раствора сферического сегмента (рис. 2). Подстановка граничных условий (5) в выражения для функций a , b , M , H_a и H_b позволяет получить энергию W_0 сегмента в начальном состоянии.

Мы отдельно рассматриваем зависимость формы сегмента в начальном состоянии от радиуса сшивки со сферой R_s . Радиус сферы R_c выбран равным 20 нм из соображений удобства

варьирования величины R_s при выполнении условия существенного отличия от нуля кривизны мембранны. Мы учитываем, что, согласно условиям (5), положение нейтральной поверхности зависит от R_s , и строим зависимости функций $H_a(0) - H_a(R_s - h_a \sin(\gamma))$ от r при $R_s = 3, 6$ и 8 нм. Эти зависимости показаны на рис. 3.

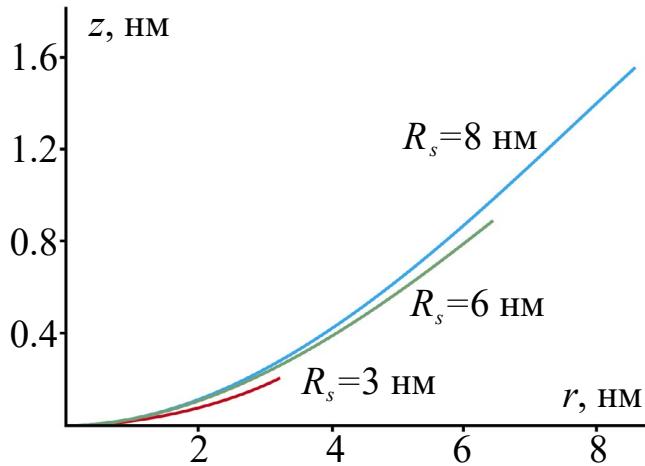


Рис. 3. Расчетная зависимость функций $H_a(0) - H_a(R_s - h_a \sin(\gamma))$ от r при $R_s = 3, 6$ и 8 нм. Радиус сферы $R_c = 20$ нм; толщина монослоя $h = 1.5$ нм. Упругие параметры системы следующие: $B = 10 k_B T$, $K_t = 40$ мН/м и $K_a = 120$ мН/м в расчете на один моносвой.

Представленные графики показывают, что форма мембранны в области вершины сферы остается параболической и меняется незначительно при увеличении R_s .

Сферический сегмент с порой. Рассмотрим теперь мембранны с порой. В этом случае мы делим мембранны на три участка: «горизонтальный» бислой, аналогичный случаю сегмента без поры, и два «вертикальных» монослоя, в которых директоры и нормали мало отклоняются от оси Or . «Горизонтальный» бислойный участок мембранны, сшивающийся со сферой, задается формой $H_{a,b}^h(r)$ и директорами монослоев $a, b(r)$ в верхнем и нижнем монослоях. Этот участок сшивается с двумя монослойными «вертикальными» участками; они описываются формой нейтральной поверхности $H_{1,2}^v(z)$ и директорами

$v_{1,2}(z)$, отсчитываемыми от оси Oz в плоскости, параллельной оси Or . Считаем, что пора имеет цилиндрический гидрофобный участок высоты $2L$ и радиуса r_0 , который контактирует с «вертикальными» участками в двух монослоях (рис. 4).

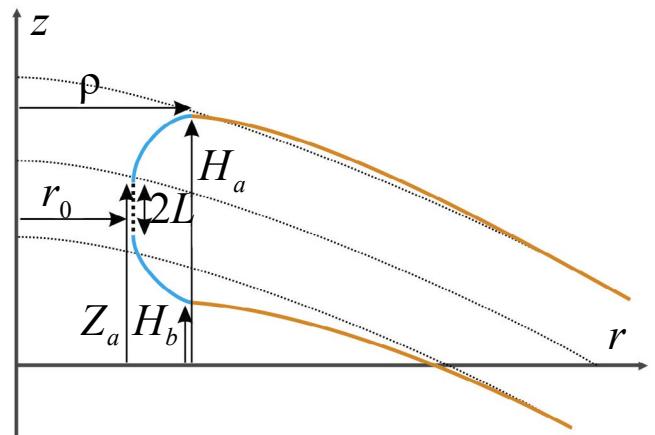


Рис. 4. Схематическое изображение поры радиуса r_0 и толщиной $2L$ в искривленной мембранны. Оранжевым выделен «горизонтальный» бислойный участок мембранны, синим — «вертикальные» монослои. Пора выделена крупным пунктиром. Форма мембранны в начальном положении выделена мелким пунктиром.

Точка контакта поры с верхним участком имеет координаты (r_0, Z_a) ; точка контакта с нижним участком — $(r_0, Z_a - 2L)$. Эти участки сшиваются с «горизонтальным» бислойем в точках с координатами (H_a, ρ) и (H_b, ρ) для верхнего и нижнего монослоев соответственно. Форма поверхности, ограничивающей концы углеводородных хвостов липидов, обозначается как $M_{1,2}^v(z)$; относительное изменение площади обозначается как $\beta_{1,2}(z)$. Мы считаем, что форма нейтральной поверхности и функция $M(z)$ мало отклоняются от цилиндров с радиусами R_v и M_v : $H_{1,2}^v(z) = R_v + u_{1,2}(z)$, $M_{1,2}^v(z) = M_v + m_{1,2}(z)$, где $u_{1,2}(z)$ и $m_{1,2}(z)$ — малые величины. С требуемой точностью проекция вектора наклона на ось Oz равна $v(z) + u'(z)$, а дивергенция директора $\text{div}(\mathbf{n}) \approx v' + \frac{1}{H^v}$; здесь штрих обозначает производную по z . В силу этого энергия каждого из монослойных участков будет равна

$$W^v = \pi K_t \int H^v \sqrt{1 + (H^v')^2} \left(l^2 \left(v' + \frac{1}{H^v} + J_s \right)^2 - l^2 J_s^2 + (v + u')^2 + A \beta^2 + 2\sigma_0 \right) dz. \quad (6)$$

Здесь индексы 1 и 2 опущены для упрощения записи, а интегрирование ведется от H_b до $Z_a - 2L$ в случае нижнего монослоя и от Z_a до H_a в случае верхнего монослоя. Упругая энергия «горизонтального» участка W^h вычисляется по формуле, аналогичной формуле (4), но интегрирование ведется не от нуля, а от ρ .

Связь функции $u(z)$ с функциями $m(z)$, $v(z)$ и $H^v(z)$ находится из условий объемной несжимаемости, записанных для недеформированного цилиндра радиусом R_v и деформированного цилиндра радиусом H^v . Эти условия имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} M_v - R_v &= h - \frac{h^2}{2} \frac{1}{R_v}; \\ M - H^v &= h - \frac{h^2}{2} \left(v' + \frac{1}{H^v} \right) - h\beta. \end{aligned} \quad (7)$$

Подставляя определение функций $m(z)$ и $u(z)$ в формулы (7), мы получаем выражение для функции $u(z)$ в первом порядке малости по $m(z)$, $v(z)$, $\beta(z)$ и их производным:

$$u(z) = \frac{m(z) + \frac{1}{2} h^2 v'(z) + h\beta(z)}{\frac{h^2}{2R_v^2} + 1}. \quad (8)$$

Мы выражаем $H^v(z)$ через $u(z)$ и подставляем в функционал (6), используя формулу (8). Это позволяет получить функционал энергии для «вертикального» участка монослоя в зависимости от функций $v(z)$, $u(z)$, $m(z)$ и $\beta(z)$. Варьируя данный функционал, мы получаем функции $v(z)$ и $H^v(z)$ в явном виде. Как и в случае с «горизонтальным» участком, эти функции линейно зависят от неопределенных коэффициентов, определяемых из граничных условий.

Бислойный участок мембранны и два монослоиных участка сшиваются друг с другом в точках с координатами (H_a, ρ) и (H_b, ρ) . Условия сшивки имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} H^h_{a,b}(\rho) &= H_{a,b}; \\ H^v_{1,2}(H_{a,b}) &= \rho; \\ a(\rho) - v_1(H_a) &= 1; \\ b(\rho) + v_2(H_b) &= 1. \end{aligned} \quad (9)$$

Последние два условия являются приближенными условиями непрерывности директора в точке сшивки. Условия сшивки «вертикальных» участков с порой имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} H^v_1(Z_a) &= r_0; \\ H^v_2(Z_a - 2L) &= r_0; \\ v_1(Z_a) - v_2(Z_a - 2L) &= \frac{-2L}{\sqrt{L^2 + (\rho - r_0)^2}}. \end{aligned} \quad (10)$$

Последнее условие является следствием условия локальной объемной несжимаемости, примененного к гидрофобному участку поры [19]. Эти условия дополняются условиями на границе бислойного участка со сферой, аналогичными условиям (5). Изменение упругой энергии W_{el} «горизонтального» и «вертикальных» монослоев, отсчитанное от плоскости, равно

$$W_{el} = W^h + W^v_1 + W^v_2 - 2\pi K_t \sigma_0 (\rho^2 - r_0^2). \quad (11)$$

Последнее слагаемое в формуле (11) отвечает за энергию «вертикальных» участков, связанную с поверхностным натяжением в начальном состоянии.

Полная энергия системы складывается из трех компонент. Во-первых, это изменение упругой энергии «горизонтального» и «вертикальных» участков. Во-вторых, это энергия контакта углеводородных хвостов липидов с водой в области гидрофобной поры. Эта энергия W_{ph} пропорциональна площади поры и определяется согласно формуле

$$W_{ph} = 4\pi r_0 L \sigma_{ph} \frac{I_1\left(\frac{r_0}{\xi_h}\right)}{I_0\left(\frac{r_0}{\xi_h}\right)}, \quad (12)$$

где σ_{ph} — поверхностное натяжение на границе углеводородных хвостов с водой, $\xi_h \sim 1$ нм — характерная длина гидрофобных взаимодействий, I_0 и I_1 — модифицированные функции Бесселя нулевого и первого порядка соответственно [19]. В-третьих, это уменьшение энергии, связанное с образованием поры и равное $2\pi K_t \sigma_0 r_0^2$. В итоге получаем полное изменение энергии W_{tot} в следующем виде:

$$W_{tot} = W_{el} + W_{ph} - W_0 - 2\pi \rho^2 K_t \sigma_0. \quad (13)$$

Минимизация энергии. Энергия W_{tot} зависит от оставшихся неопределенных коэффициентов, от параметров сшивки «горизонтального» участка мембранны и «вертикальных» участков, а также «вертикальных» участков и поры: r_0 , H_a , H_b , L и Z_a . Мы фиксируем значение радиуса поры r_0 и производим минимизацию энергии по коэффициентам и геометрическим параметрам, в том

числе и по L . Минимизация проводится методом спуска по градиенту. В результате мы получаем зависимость W_{tot} от r_0 при фиксированных значениях радиуса кривизны мембранны R_c . Кроме этого, мы находим равновесную полуширины L_{min} , соответствующую минимуму энергии системы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Параметры системы. Мы не рассматриваем влияние спонтанной кривизны на энергетическую траекторию системы и в дальнейшем считаем, что $J_0 = 0$. Значения упругих модулей соответствуют «модельным» липидам, таким как СОФХ и ДОФХ, и составляют $B = 10 k_B T$, $K_t = 40 \text{ мН/м}$ и $K_a = 120 \text{ мН/м}$ в расчете на один монослой [19, 21]. Толщина невозмущенного монослоя принимается равной 1.5 нм. Поверхностное натяжение принимается равным $\sigma = 0.04 \text{ мН/м}$; поверхность натяжение на границе углеводородных цепей липидов с водой принимается равным $\sigma_{ph} \approx 40 \text{ мН/м}$ [21].

Энергетическая траектория образования поры в пределе малой кривизны. Рассмотрим сначала случай радиуса кривизны $R_c = 1000 \text{ нм}$, примерно соответствующего плоской мембране. Мы вычисляем зависимость равновесной половины

длины гидрофобного участка кромки поры L_{min} , а также изменения энергии W_{tot} от радиуса поры r_0 при разных значениях радиуса сшивки R_s . Для сравнения также представлены данные для радиуса кривизны $R_c = 10 \text{ нм}$. Полученные результаты приведены на рис. 5.

Представленные графики показывают общие характеристики энергетической траектории по-рообразования и отличия при разных размерах рассматриваемой области. Мы видим, что в случае $R_c = 1000 \text{ нм}$ общий вид кривых соответствует результатам, полученным ранее для плоских мембран [19, 21]. При малых значениях радиуса r_0 мы получаем гидрофобную пору с высотой, мало отличающейся от равновесной толщины бислоя $2h$. В области $r_0 \approx 0.7\text{--}0.8 \text{ нм}$ происходит резкое изменение конфигурации равновесного состояния. Происходит коллапс половины длины гидрофобного участка кромки L_{min} от значения $L_{min} \approx 1 \text{ нм}$ до нуля, т.е. пора становится гидрофильной. При этом в области $0.8 \text{ нм} < r_0 < 1.5 \text{ нм}$ энергия уменьшается с ростом величины r_0 , т.е. существует минимум энергии, соответствующий метастабильному состоянию. Для того чтобы пора перешла из состояния гидрофобной в состояние гидрофильной, системе необходимо преодолеть энергетический барьер E_1 , равный $E_1 = 44 k_B T$ для $R_s = 5 \text{ нм}$ и $41 k_B T$

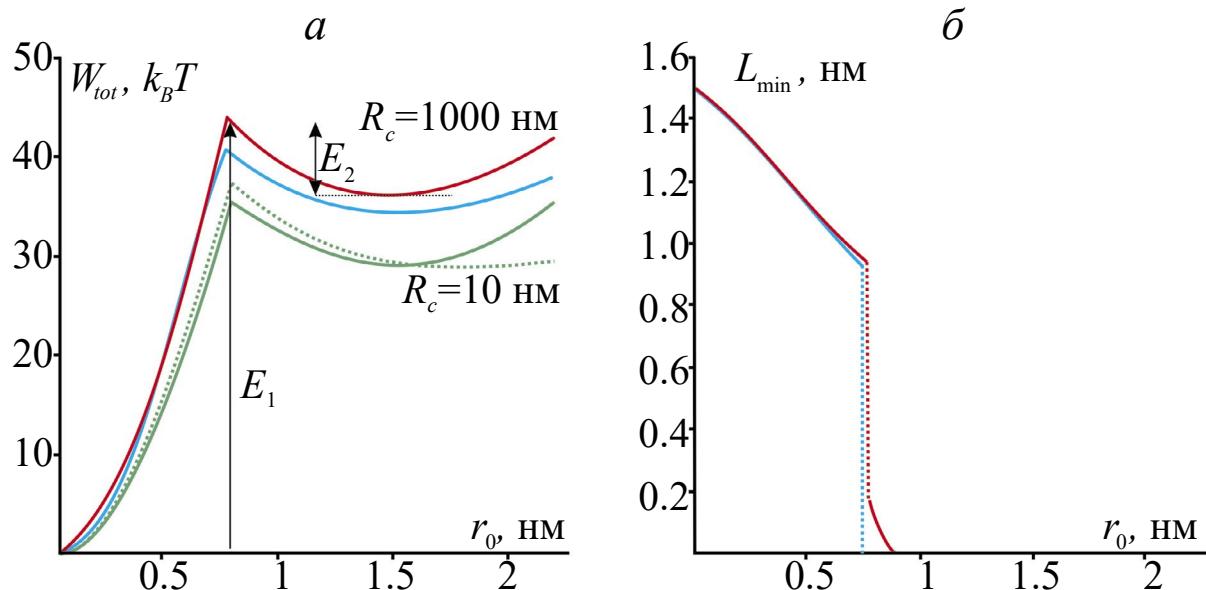


Рис. 5. Зависимости изменения энергии W_{tot} (панель *a*) и равновесной половины длины гидрофобного участка кромки поры L_{min} (панель *б*) от радиуса поры r_0 . Красным цветом указаны кривые для радиуса сшивки $R_s = 5 \text{ нм}$; синим цветом — кривые для радиуса сшивки $R_s = 50 \text{ нм}$; радиус кривизны мембранны $R_c = 1000 \text{ нм}$. Зеленым цветом указаны кривые для радиуса кривизны мембранны $R_c = 10 \text{ нм}$; сплошная линия соответствует радиусу сшивки $R_s = 4 \text{ нм}$; штриховая линия — радиусу сшивки $R_s = 5 \text{ нм}$. Равновесная толщина мембранны $h = 1.5 \text{ нм}$; безразмерное поверхность натяжение $\sigma_0 = 0.001$. Монослойные упругие модули равны $B = 10 k_B T$, $K_t = 40 \text{ мН/м}$ и $K_a = 120 \text{ мН/м}$. Спонтанная кривизна равна нулю.

для $R_s = 50$ нм (см. рис. 4). Барьер на выход из метастабильного состояния гидрофильной поры обозначается E_2 и равен $E_2 = 8 k_B T$ для $R_s = 5$ нм и $6 k_B T$ для $R_s = 50$ нм. Видно, что величины барьера E_1 и E_2 очень мало отличаются при варьировании R_s от 5 до 50 нм и количественно соответствуют величинам, полученным для плоской мембранны из СОФХ и равным 43 и $6 k_B T$ соответственно [19]. В случае малых значений R_c эффект от изменения R_s оказывается выраженным сильнее в случае больших радиусов поры. Мы связываем это с взаимодействием поры с границей сегмента при $r = R_s$. При этом эффект в области малых радиусов также оказывается незначительным. Этот результат указывает на адекватность используемой модели для вычисления барьера E_1 , поскольку эта величина определяется поведением системы именно на малых величинах радиусов. В силу этого, в дальнейшем мы фиксируем радиус R_s равным 5 нм.

Наши расчеты, в частности, приведенные на рис. 5 данные, показывают, что гидрофильная и гидрофобная поры сильно отличаются друг от друга по своей структуре. В случае гидрофобной поры вертикальные участки достаточно невелики, и мембрана мало отклоняется от начальной формы в силу соответствия высоты поры и толщины невозмущенного бислоя. Поэтому в дальнейшем мы считаем мембрану с гидрофобной порой состоящей целиком из бислойного

участка. В случае же гидрофильной поры L_{min} очень слабо отличается от нуля, как показано на рис. 5б. Это позволяет в дальнейших расчетах фиксировать $L_{min} = 0$ и не проводить не нему минимизацию. Данные упрощения означают, что зависимость энергии W_{tot} от r_0 фактически разбивается на две зависимости, соответствующие гидрофильной и гидрофобной порам, после чего находится точка их пересечения.

Энергетическая траектория системы при варьировании радиуса кривизны. Рассмотрим теперь более общий случай конечных величин R_c . Мы меняем R_c от 10 до 1000 нм. Считаем, что упругие параметры системы остаются неизменными, в том числе $R_s = 5$ нм. Полученные энергетические траектории (кроме случая $R_c = 40$ нм), а также зависимость высоты барьера E_1 от R_c представлены на рис. 6.

Мы также строим равновесную форму мембранны с гидрофильной и гидрофобной порами; они показаны на рис. 7. Радиус гидрофильной поры соответствует метастабильному состоянию, радиус гидрофобной поры R_c – примерно середине гидрофобной ветки энергетической траектории.

Из рис. 6 видно, что уменьшение радиуса кривизны мембранны с 1000 до 10 нм приводит к уменьшению энергии системы W_{tot} при любом фиксированном значении r_0 . Изменение энергии гидрофильной поры приводит к понижению

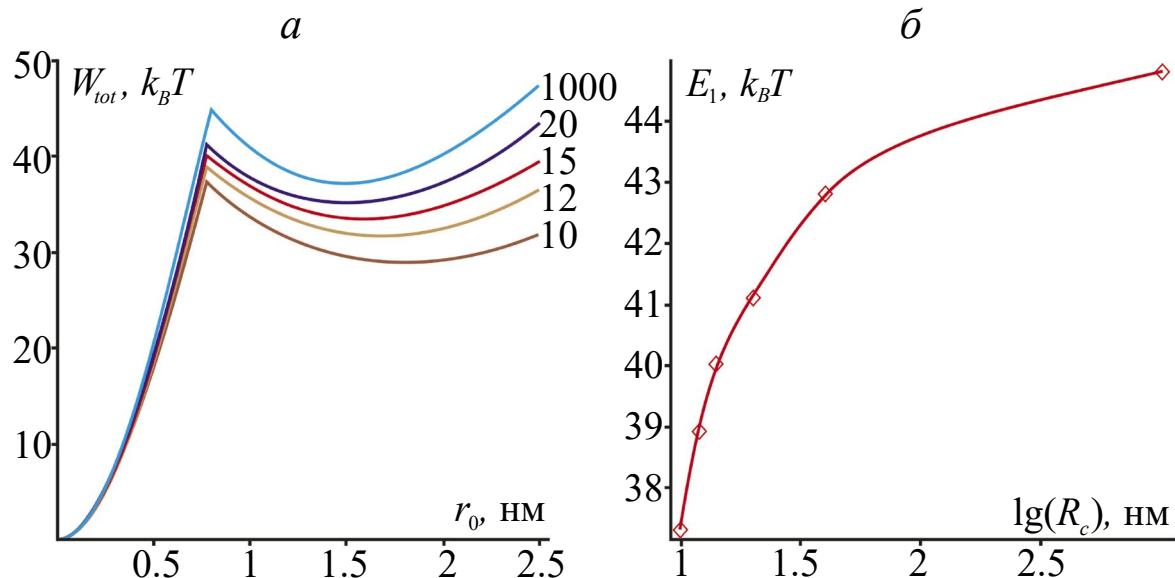


Рис. 6. Результаты варьирования радиуса кривизны мембранны R_c . *а* – Зависимость энергии системы W_{tot} от радиуса поры при разных значениях R_c (подписаны на графике, значения даны в нм). *б* – Зависимость высоты барьера E_1 на переход системы из состояния гидрофобной поры в состояние гидрофильной поры от R_c . Для всех кривых радиус сшивки $R_s = 5$ нм. Значения упругих параметров даны в тексте.

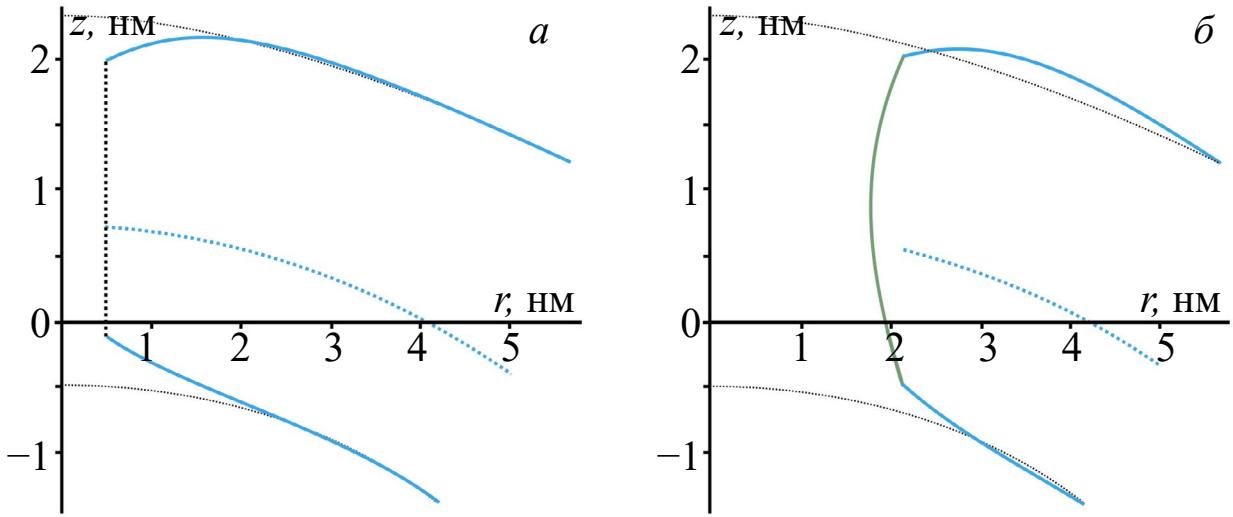


Рис. 7. Равновесная форма мембраны с гидрофобной (а) и гидрофильтрной (б) порами. Радиус кривизны мембранны $R_c = 10$ нм. Синим цветом показан бислойный участок, зеленым цветом — монослоинные «вертикальные» участки, вертикальной штриховой линией — кромка гидрофобной поры. Гидрофобная пора имеет следующие параметры: $r_0 = 0.5$ нм, $L_{\min} = 1.05$ нм, $H_a = 2$ нм. Гидрофильтрная пора имеет следующие параметры: $r_0 = 1.8$ нм, $\rho = 2.14$ нм, $H_a = 2$ нм, $H_b = -0.5$ нм, $Z_a = 1$ нм.

высоты барьера E_1 на переход в метастабильное состояние с ~ 45 до $\sim 37 k_B T$, т.е. на $8 k_B T$. Это понижение происходит нелинейно: уменьшение R_c с 20 до 10 нм приводит к такому же падению высоты барьера, как и уменьшение R_c с 1000 до 20 нм. В то же время барьер E_2 на обратный переход меняется очень слабо и варьирует в диапазоне от 6 до $8 k_B T$ в зависимости от R_c .

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Мы исследовали влияние кривизны мембранны на энергетическую траекторию порообразования, в результате чего построили зависимость полной энергии мембранны W_{tot} от радиуса поры r_0 . Эта зависимость делится на два отдельных участка — энергию гидрофобной поры и энергию гидрофильтрной поры. Наши результаты указывают на принципиально разное влияние радиуса кривизны R_c на эти участки (см. рис. 6а). Видно, что энергия гидрофобной поры меняется очень слабо, а основное изменение W_{tot} при варьировании R_c происходит после образования гидрофильтрной поры. Мы предполагаем, что это обусловлено доминирующей ролью энергии гидрофобного взаимодействия W_{ph} в случае малых радиусов поры. Из рис. 7 видно, что высота гидрофобной поры $2L_{\min}$ слабо отличается от равновесной толщины мембранны, а форма мембранны мало отклоняется от начального состояния.

Это и обуславливает отсутствие зависимости энергии от R_c в случае гидрофобной поры.

Изменение радиуса кривизны с 1000 до 10 нм приводит к падению барьера на переход в метастабильное состояние E_1 на $8 k_B T$ (см. рис. 6б). Эта величина определяет среднее время ожидания открытия метастабильной поры $\tau_1 \sim \exp(E_1/k_B T)$. При этом само значение E_1 составляет $40 k_B T$ по порядку величины и становится лишь немного меньше этого значения в случае $R_c = 10$ нм. Приведенные ранее оценки говорят о том, что барьер, значительно превышающий величину $40 k_B T$, не может быть преодолен без дополнительных воздействий за биологически адекватное время [30]. Это означает, что искривление мембранны даже само по себе может привести к возможности самопроизвольного образования короткоживущих пор. При этом изменение E_1 на величину ΔE означает изменение времени τ_1 в $\exp(\Delta E/k_B T)$ раз; такое изменение может быть экспериментально обнаружено. Примером такого эксперимента служит работа [27], в которой регистрировался выход кальцеина из липосом под действием амфипатических пептидов. Уменьшение радиуса липосом с 200 до 70 нм приводило к уменьшению времени пикового выхода кальцеина в 10 раз. Авторы статьи связывают такое изменение с изменением кривизны мембранны, а не с повышенной концентрацией пептида на более искривленных мембранных. Это аргументируется

тем, что энергия связывания пептида возрастает при увеличении кривизны мембраны. Таким образом, концентрация пептида на более кривой мембране должна быть пониженной, а не повышенной. Поскольку молекулы кальцеина имеют размер ~ 1 нм, они могут выходить через метастабильные поры; просвет этих пор для этого достаточно. Это означает, что изменение времени ожидания можно связать с понижением высоты барьера E_1 , что соответствует нашим результатам. При этом изменение концентрации пептида и его действие на мембрану в рамках нашей модели не может быть учтено; в силу этого количественное сравнение с нашими результатами невозможно.

В процессе расчетов нами был использован ряд упрощений и ограничений. Во-первых, мы не анализировали дальнейшую эволюцию метастабильных пор, т.е. энергетическую траекторию при $r_0 > 2.5$ нм. Проведенные ранее исследования показывают, что дальнейшее расширение поры сопровождается значительным повышением энергии и энергетический барьер на переход в состояние закритической поры составляет $50-100 k_B T$ [19, 23]. В рассматриваемой нами системе провести такие расчеты возможно только для больших значений R_c , поскольку область расчетов ограничивается радиусом сшивки R_s . Кроме того, мы рассматривали упрощенную систему с гидрофобной порой без «вертикальной» части и чисто гидрофильную пору. Это приводит к завышению энергии в области перехода гидрофобная – гидрофильная пора. Наши расчеты показывают, что величина завышения незначительна и по порядку величины составляет $1-2 k_B T$. Малость завышения объясняется очень резким переходом из состояния гидрофобной в состояние гидрофильной поры, что выражается в скачкообразном падении величины L_{\min} с 1 нм до нуля (см. рис. 4б).

Кроме этого, в работе не учитывается вклад от гауссовой кривизны, возникающий изначально из-за наличия гидрофобного участка поры. Этот вклад для «вертикального» участка монослоя равен $2\pi K_G (v(z_2) - v(z_1))$, где z_1 и z_2 – начало и конец этого участка, K_G – модуль гауссовой кривизны, имеющий отрицательное значение, а $v(z)$ – проекция директора на ось z [31]. Нами было показано, что такое рассмотрение можно обобщить на случай «вертикального» участка, непрерывно переходящего в «горизонтальный»; это формально означает, что на одном из концов участка проекция директора равна по модулю 1 (данные не опубликованы).

В рассматриваемом случае необходимо учесть такой вклад в обоих монослоях. С учетом введенных нами обозначений в верхнем монослое он будет равен $2\pi K_G (-1 - v_1(Z_a))$, в нижнем монослое $2\pi K_G (v_2(Z_a - 2L) - 1)$. Суммарно получаем следующее выражение:

$$W_G = 2\pi K_G (-2 + v_1(Z_a) + v_2(Z_a - 2L)).$$

Из этого выражения видно, что вклад от гауссовой кривизны равен нулю при образовании гидрофобной поры в начале траектории, поскольку в этом случае $v_1(Z_a) = -1$, а $v_2(Z_a - 2L) = 1$. Уменьшение размеров гидрофобного пояска будет приводить к постепенной переориентации граничных липидов и уменьшению по модулю значений $v_1(Z_a)$ и $v_2(Z_a - 2L)$, в результате чего в точке перехода поры в гидрофильное состояние гауссова энергия станет равна $-4\pi K_G$, что является положительной величиной, равной нескольким десяткам $k_B T$. В результате барьер на образование метастабильной поры также окажется больше на эту величину. В то же время нас в наибольшей степени интересовало изменение высоты барьера при изменении кривизны мембраны, т.е. величина ΔE . Мы считаем, что энергия гауссовой кривизны оказывает небольшое влияние на эту величину. В дальнейшем мы планируем исправить этот недочет и рассмотреть влияние гауссовой кривизны более подробно.

В результате нашего исследования мы разработали теоретическую модель, обобщающую описание порообразования на случай искривленных мембран. Проведенные нами расчеты показывают, что искривление мембраны приводит к облегчению формирования метастабильных гидрофильных нанопор, что согласуется с тем небольшим количеством экспериментальных исследований, в которых рассматривалась роль кривизны мембраны в порообразовании. Очевидно, что для подтверждения наших предсказаний требуется более детальное и всестороннее исследование влияния кривизны на стабильность и механику липидного бислоя. Важно, что облегчение образования проводящих дефектов в мембране при ее изгибе может иметь большое значение в процессах деления и слияния мембран, которые также инициируются созданием сильноизогнутых мембранных структур [25, 28]. При этом формирование пор при слиянии и делении мембран может приводить к нежелательному нарушению герметичности сливающихся и делящихся компартментов. Безусловно, кривизна мембраны, роль которой в образовании

пор мы рассматривали в данной работе, является только одним из факторов, который наряду с поверхностным напряжением, спонтанной кривизной липидов или приложенной к мембране разностью потенциалов определяет вероятность порообразования. Однако в отличие от всех остальных факторов диапазон изменения кривизны мембраны в клетке самый большой: от нулевой кривизны плоского бислоя вплоть до радиуса кривизны, сравнимого с толщиной липидного монослоя. Примерами таких сильно изогнутых структур могут являться эндоплазматический ретикулум [32] и синаптические везикулы [33]. Это, в принципе, делает возможным использовать кривизну мембраны в качестве определяющего параметра при рассмотрении порообразования. В дальнейшем мы планируем обобщить разработанную нами модель на случай реальных липидов и учесть взаимное влияние отличающихся характеристик этих липидов и кривизны мембраны на энергетическую траекторию порообразования.

Авторы выражают признательность П.И. Кузьмину за доброжелательные и конструктивные замечания при выполнении расчетов и подготовке рукописи.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00265).

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Watson H. 2015. Biological membranes. *Essays Biochem.* **59**, 43–69.
- Casares D., Escribá P. V., Rosselló C. A. 2019. Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 2167.
- Xu J., Huang X. 2020. Lipid metabolism at membrane contacts: Dynamics and functions beyond lipid homeostasis. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 615856.
- Ammendolia D.A., Bement W.M., Brumell J.H. 2021. Plasma membrane integrity: Implications for health and disease. *BMC Biol.* **19**, 71.
- Kulkarni C.V. 2012. Lipid crystallization: From self-assembly to hierarchical and biological ordering. *Nanoscale*. **4**, 5779.
- Subczynski W.K., Wisniewska A., Yin J.-J., Hyde J.S., Kusumi A. 1994. Hydrophobic barriers of lipid bilayer membranes formed by reduction of water penetration by alkyl chain unsaturation and cholesterol. *Biochemistry*. **33**, 7670–7681.
- Kilinc D., Gallo G., Barbee K. A. 2008. Mechanically-induced membrane poration causes axonal beading and localized cytoskeletal damage. *Exp. Neurol.* **212**, 422–430.
- Khandelia H., Ipsen J.H., Mouritsen O.G. 2008. The impact of peptides on lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta – Biomembr.* **1778**, 1528–1536.
- Agner G., Kaulin Y.A., Schagina L. V., Takemoto J.Y., Blasko K. 2000. Effect of temperature on the formation and inactivation of syringomycin E pores in human red blood cells and bimolecular lipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **1466**, 79–86.
- Runas K.A., Malmstadt N. 2015. Low levels of lipid oxidation radically increase the passive permeability of lipid bilayers. *Soft Matter*. **11**, 499–505.
- Van der Paal J., Neyts E.C., Verlackt C.C. W., Bogaerts A. 2016. Effect of lipid peroxidation on membrane permeability of cancer and normal cells subjected to oxidative stress. *Chem. Sci.* **7**, 489–498.
- Mulvihill E., Sborgi L., Mari S.A., Pfleiderer M., Hiller S., Müller D.J. 2018. Mechanism of membrane pore formation by human gasdermin-D. *EMBO J.* **37**, e98321.
- Westman J., Hube B., Fairn G.D. 2019. Integrity under stress: Host membrane remodelling and damage by fungal pathogens. *Cell. Microbiol.* **21**, e13016.
- Yang N.J., Hinner M.J. 2015. Getting across the cell membrane: An overview for small molecules, peptides, and proteins. *Site-Specific Protein Labeling: Methods and Protocols*. 29–53.
- Cohen F.S., Melikyan G.B. 2004. The energetics of membrane fusion from binding, through hemifusion, pore formation, and pore enlargement. *J. Membr. Biol.* **199**, 1–14.
- Mehler-Humbert S., Bettinger T., Yan F., Guy R.H. 2005. Plasma membrane poration induced by ultrasound exposure: Implication for drug delivery. *J. Control. Release*. **104**, 213–222.
- Basañez G., Soane L., Hardwick J.M. 2012. A new view of the lethal apoptotic pore. *PLoS Biol.* **10**, e1001399.
- Flores-Romero H., Ros U., Garcia-Saez A.J. 2020. Pore formation in regulated cell death. *EMBO J.* **39**, e105753.
- Akimov S.A., Aleksandrova V.V., Galimzyanov T.R., Bashkirov P.V., Batishchev O.V. 2017. Mechanism of pore formation in stearoyl-oleoyl-phosphatidylcholine membranes subjected to lateral tension. *Biochem. (Moscow), Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.* **11**, 193–205.

20. Hub J.S., Awasthi N. 2017. Probing a continuous polar defect: A reaction coordinate for pore formation in lipid membranes. *J. Chem. Theory Comput.* **13**, 2352–2366.
21. Akimov S.A., Volynsky P.E., Galimzyanov T.R., Kuzmin P.I., Pavlov K.V., Batishchev O.V. 2017. Pore formation in lipid membrane I: Continuous reversible trajectory from intact bilayer through hydrophobic defect to transversal pore. *Sci. Rep.* **7**, 12152.
22. Abidor I.G., Arakelyan V.B., Chernomordik L.V., Chizmadzhev Y.A., Pastushenko V.F., Tarasevich M.P. 1979. Electric breakdown of bilayer lipid membranes. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **104**, 37–52.
23. Akimov S.A., Volynsky P.E., Galimzyanov T.R., Kuzmin P.I., Pavlov K.V., Batishchev O.V. 2017. Pore formation in lipid membrane II: Energy landscape under external stress. *Sci. Rep.* **7**, 12509.
24. Evans E., Heinrich V., Ludwig F., Rawicz W. 2003. Dynamic tension spectroscopy and strength of biomembranes. *Biophys. J.* **85**, 2342–2350.
25. Frolov V.A., Zimmerberg J. 2010. Cooperative elastic stresses, the hydrophobic effect, and lipid tilt in membrane remodeling. *FEBS Lett.* **584**, 1824–1829.
26. Fujii S., Matsuura T., Yomo T. 2015 Membrane curvature affects the formation of α -hemolysin nanopores. *ACS Chem. Biol.* **10**, 1694–1701.
27. Tabaei S.R., Rabe M., Zhdanov V.P., Cho N.-J., Höök F. 2012. Single vesicle analysis reveals nanoscale membrane curvature selective pore formation in lipid membranes by an antiviral α -helical peptide. *Nano Lett.* **12**, 5719–5725.
28. Bassereau P., Jin R., Baumgart T., Deserno M., Dimova R., Frolov V.A., Bashkirov P.V., Grubmüller H., Jahn R., Risselada H.J., Johannes L., Kozlov M.M., Lipowsky R., Pucadyil T.J., Zeno W.F., Stachowiak J.C., Stamou D., Breuer A., Lauritsen L., Simon C., Sykes C., Voth G. A., Weikl T.R. 2018. The 2018 biomembrane curvature and remodeling roadmap. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **51**, 343001.
29. Hamm M., Kozlov M.M. 2000. Elastic energy of tilt and bending of fluid membranes. *Eur. Phys. J. E* **3**, 323–335.
30. Kuzmin P.I., Zimmerberg J., Chizmadzhev Y.A., Cohen F.S. 2001. A quantitative model for membrane fusion based on low-energy intermediates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**, 7235–7240.
31. Shnyrova A.V., Bashkirov P.V., Akimov S.A., Pucadyil T.J., Zimmerberg J., Schmid S.L., Frolov V.A. 2013. Geometric catalysis of membrane fission driven by flexible dynamin rings. *Science*, **339**, 1433–1436.
32. Zucker B., Kozlov M.M. 2022. Mechanism of shaping membrane nanostructures of endoplasmic reticulum. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **119**, e2116142119.
33. McMahon H. T., Kozlov M.M., Martens S. 2010. Membrane curvature in synaptic vesicle fusion and beyond. *Cell* **140**, 601–605.

Influence of Membrane Curvature on the Energy Barrier of Pore Formation

R. J. Molotkovsky^{1,*}, P. V. Bashkirov¹

¹Institute of Systems Biology and Medicine of Rospotrebnadzor, Moscow, 117246 Russia

*e-mail: rodion.molotkovskiy@gmail.com

Formation of through conducting defects — pores — in the lipid bilayer affects many processes in living cells and can lead to strong changes in cellular metabolism. Pore formation is a complex topological rearrangement and occurs in several stages: first, a hydrophobic through pore is formed, then it is reconstructed into a hydrophilic pore with a curved edge, the expansion of which leads to membrane rupture. Pore formation does not occur spontaneously, since it requires significant energy costs associated with membrane deformation. The evolution of the system is associated with overcoming one or two energy barriers, the ratio of their heights affects the stability of the pore and the probability of its formation. We study the effect of membrane curvature on the height of the energy barrier for the transition of a pore to a metastable hydrophilic state. We apply the theory of elasticity of lipid membranes and generalize the model of pore formation in flat membranes to the case of arbitrary curvature. We show that the barrier for pore formation decreases by $8 k_B T$ when the radius of curvature decreases from 1000 to 10 nm, which facilitates the formation of a metastable pore. Our results are consistent with experimental data and can be used to model complex processes occurring in curved regions of living cell membranes.

Keywords: lipid membrane, elasticity theory, pore formation, curvature, hydrophobic defects