

МОДЕЛЬ ДИФФУЗИИ ЛИПИДОВ В ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАНАХ

© 2023 г. П.В. Мокрушников*, #, В.Я. Рудяк*, **, ***

*Новосибирский государственный архитектурно-строительный университет (Сибстрин),
Ленинградская ул., 113, Новосибирск, 630008, Россия

**Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе СО РАН, просп. Лаврентьева, 1, Новосибирск, 630090, Россия

***Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, 1, Новосибирск, 630090, Россия

#E-mail: pavel.mokrushnikov@bk.ru

Поступила в редакцию 20.01.2022 г.

После доработки 10.11.2022 г.

Принята к публикации 16.11.2022 г.

Представлена аналитическая модель латеральной диффузии липидов в неоднородных нативных цитоплазматических мембранах. Методом Фурье-преобразования решено уравнение диффузии для функции распределения липидов по координатам в периодически-неоднородной мембране, в которой коэффициент диффузии описывается гармонической функцией от координат. Показано, что в мембране существует адвекция–диффузия. Модель объясняет наблюдавшиеся ранее экспериментально различные виды диффузии липидов появлением в мембране в результате структурных переходов периодически расположенных неподвижных белок-липидных доменов, связанных со спектрин-актин-анкириновой сетью. Если эти домены одинаковые, то в экспериментах можно наблюдать супер- и субдиффузию, когда среднее квадратичное смещение липидов нелинейно зависит от времени, а их среднее смещение равно нулю. Дрейфовый снос при адвекции меньше хаотического броуновского перемещения липидов, адвекция в эксперименте не наблюдается. В случае, когда не все мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, одинаково меняют свою конформацию при взаимодействии с лигандами, в мембране возникают две периодические подрешетки неоднородностей из неподвижных белок-липидных доменов вокруг мембранных белков, связанных с цитоскелетом и вложенных одна в другую. В этом случае в экспериментах может наблюдаться хмелевая диффузия, когда периоды нелинейной диффузии молекул сменяются периодами адвекции–диффузии, при которой среднее смещение молекул не равно нулю. Адвекция носит локальный характер и возникает около отдельных белок-липидных доменов. В работе аналитически получены критерии, при которых в периодически-неоднородной мембране экспериментально наблюдается хмелевая диффузия.

Ключевые слова: диффузия липидов, структурные переходы в биомембранах, адвекция в неоднородных слоях.

DOI: 10.31857/S0006302923010052, EDN: NZMXGY

Диффузия липидов в цитоплазматических мембранах является важным механизмом при эндоцитозе и экзоцитозе, связывании лигандов с плазматическими рецепторами, выбрасывании нейротрансмиттеров в синаптическую щель [1, 2]. В этих процессах к месту связывания лиганда с мембраной должны диффундировать за несколько миллисекунд определенные липиды и белки для образования из них рафтов. Это возможно, если после присоединения лиганда к мембране около места присоединения в цитоплазматической мембране возникает адвекция–диффузия этих определенных липидов.

Первой моделью диффузии крупных молекул или группы молекул в мембране была модель Саффмана–Дельбрюка [3], которая представляет собой приближенное решение гидродинамиче-

ской задачи о поступательном движении включения в мембране, окруженной вязкой жидкостью. Эта модель не описывает адекватно все экспериментальные данные, поскольку она не учитывает существование в мембране областей с разной плотностью или вязкостью [4]. В качестве примера можно рассмотреть взаимодействие мембран эритроцитов с андрогенами и гормонами стресса (в дальнейшем просто гормоны). Эти гормоны связываются с адренорецепторами в плазматических мембранах, которые, в свою очередь, взаимодействуют с подмембранной спектрин-актин-анкириновой цитоплазматической сетью. Конформация адренорецепторов менялась, менялась и конформация белков спектрин-актин-анкириновой сети, между активными группами этих белков усиливались связи, возникали новые.

Усиливались также связи между этими белками и окружающими их липидами. Белки сильнее притягивали окружающие их липиды. Вследствие этого вокруг белков, с которыми связались гормоны, образовывались белок-липидные домены, в которых липиды перешли из жидкой неупорядоченной фазы в жидкую упорядоченную фазу $L_d \rightarrow L_o$ или даже в гель-фазу $L_d \rightarrow L_\beta$. Изменение структуры липидного бислоя около белков приводило к значительному увеличению микровязкости липидного бислоя в белок-липидных доменах (до 40%) [5]. Между этими доменами, в области липид-липидных взаимодействий, образуются мезополосы разрыхления, в которых липиды находятся в жидкой неупорядоченной фазе L_d , микровязкость в этих мезополосах ниже (коэффициент диффузии липидов выше), чем в области белок-липидных взаимодействий. Возникает неподвижная квазипериодическая сеть белок-липидных доменов, которая через узловые и анкириновые комплексы связана с цитоскелетом. Но деформации липидного бислоя из-за увеличения плотности липидов в белок-липидных доменах не происходят свободно, этому мешают нити спектрин-актин-анкириновой сети. В мембране возникают механические напряжения растяжения-сжатия. Кроме этого, изменение конформации адренорецепторов передается цитоскелету, нити спектрина сжимаются, создавая в мембране продольные и поперечные усилия. Мембрана теряет устойчивость, покрывается складками. Эти выводы следуют из следующих экспериментальных результатов. Методами атомно-силовой микроскопии установлено, что при взаимодействии с гормонами мембрана эритроцита теряет устойчивость и покрывается периодически расположенными складками с длиной волны 100, 200 или 300 нм и так далее, т.е. с периодом, кратным 100 нм [5]. Это можно объяснить возникновением в мембране периодического поля механических сжатий-растяжений, создаваемого белок-липидными доменами. То, что именно белки являются инициаторами образования белок-липидных доменов, следует из измерения микровязкости мембран флуоресцентным методом. При взаимодействии гормонов с мембраной именно в области белок-липидных взаимодействий сильнее увеличивается микровязкость, в области липид-липидных взаимодействий она возрастает слабее. Результаты ИК-спектроскопии также подтверждают этот вывод, в мембране наблюдается увеличение интенсивности связей внутри белков, белок-липидных и липид-липидных связей. Кратность длины волны складок 100 нм, равной размеру ячейки спектрин-актин-анкириновой сети, крепящейся к мембране со стороны цитоплазмы, говорит о том, что именно мембранные белки, соединенные с цитоскелетом, являются инициаторами образования непо-

движной квазипериодической сети белок-липидных доменов [5]. Она не является строго периодической, поскольку подмембранная спектрин-актин-анкириновая сеть, к которой сеть этих доменов крепится, является квазипериодической.

Чем больше изменяется конформация этих мембранных белков, например, при взаимодействии с некоторыми лигандами, тем сильнее их связи с окружающими их липидами, тем больше по размеру эти домены. Внутри доменов диффузия липидов затруднена, между доменами образуются легкопроницаемые липидные области [5]. Из физических соображений понятно, что липиды будут стремиться передвигаться вдоль этих легкопроницаемых областей, будет возникать нелинейная диффузия липидов в цитоплазматических мембранах. Эта нелинейная диффузия была ранее экспериментально обнаружена [6–10].

Экспериментально диффузия липидов в мембране изучалась различными методами, например, флуоресцентной корреляционной спектроскопией, методом истощения стимулированного излучения [6–10]. В этих работах строились траектории частиц при их перемещении вдоль мембраны и измерялись зависимости среднеквадратичного смещения частиц и среднего смещения от времени. По этим результатам, используя эйнштейновский закон диффузии [11], вычислялась зависимость коэффициента диффузии липидов от времени. В результате были выделены следующие виды диффузии липидов: замедленная (slowed lipid diffusion), ограниченная (confined diffusion), простая броуновская (simple-Brownian), направленная диффузия (directed) и хмелевая (hop diffusion) [6, 7].

Экспериментаторы следующим образом описывают эти различные виды диффузий. На начальном участке зависимости среднеквадратичного смещения от времени по формуле Эйнштейна определяется коэффициент диффузии. При замедленной диффузии кажущийся коэффициент диффузии меньше среднего значения коэффициента диффузии по мембране. При ограниченной диффузии частицы во время броуновского движения не выходили за пределы некоторого очень малого компартмента. При направленной диффузии среднеквадратичное смещение частицы нелинейно зависело от времени. При хмелевой диффузии наблюдалось чередование адвекции-диффузии (латерального потока частиц с наложенным на нее хаотическим броуновским движением) с ограниченной диффузией [6, 7]. При этих разных видах диффузии среднее смещение частицы равно нулю, а зависимость среднеквадратичного смещения частицы $\langle R^2 \rangle$ пропорционально времени наблюдения t^α . Степени $\alpha > 1$ соответствует супердиффузия, $\alpha = 1$ — простая

броуновская диффузия и $\alpha < 1$ — субдиффузия. При хмелевой диффузии наблюдалось чередование адвекции-диффузии (латерального потока частиц с наложенным на неё хаотическим броуновским движением) с ограниченной диффузией [6,7]. Траектория движения отдельного липида похожа плетью хмеля, когда участок траектории при ограниченной диффузии похож на шишечку, а участок траектории при адвекции похож веточку. В цитоплазматических мембранах экспериментально обнаружены все эти виды диффузии липидов [6, 7].

Экспериментально установлено, что на вид диффузии влияют мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, выступающим изнутри мембрану. Частичная деполимеризация актинового мембранного скелета после обработки латрункулином-А приводила к тому, что почти все (90%) траектории фосфолипидов, наблюдаемые в мембранах, были классифицированы как простой броуновский режим [12]. Это можно объяснить тем, что при деполимеризации белков связи между активными группами белков и окружающих их липидов ослабевают, белки переставали притягивать к себе окружающие их липиды и белок-липидные домены в мембране не образовывались. Мембрана становилась однородной средой, в которой и наблюдалась броуновская диффузия. В исследовании [13] использовали флуоресцентную микроскопию полного внутреннего отражения в сочетании с отслеживанием нескольких отдельных молекул со сверхвысоким разрешением, чтобы создать карты локальной вязкости мембраны с высоким разрешением. Перед этим образцы промывали в нескольких буферах, так что с них были смыты все лиганды, взаимодействующие с мембранными белками и меняющие их конформацию. В результате белок-липидные домены в мембране не возникали, не было обнаружено областей с разным коэффициентом диффузии, везде была простая броуновская диффузия.

Для объяснения экспериментальных результатов ранее изучалась зависимость латеральной диффузии от геометрии мембраны и размера диффундирующей частицы методом Монте-Карло в работе [14]. В частности, здесь было показано влияние на величину коэффициента диффузии аспектного отношения частицы. В одной из моделей исследовалась диффузия частиц в плоском неоднородном слое, состоящем из периодически чередующихся слабопроницаемых и легкопроницаемых участков (модель «гребенки»), методом Монте-Карло [15]. Была установлена возможность существования хмелевой диффузии. Для этой же модели в работах [16, 17] выполнено моделирование адвекции в пористой среде аналитически. Решение получено в интегральном виде. Наконец, стоит упомянуть недавнюю работу [18], где методом молекулярной динамики изучено

влияние неоднородности распределения плотности флюида вблизи стенки в нанометровом канале на диффузию молекул флюида. Показано, что это может приводить к их аномальной диффузии. Неизотропность самодиффузии молекул флюида достаточно естественна и ранее уже устанавливалась методом молекулярной динамики [19], в более сложной среде типа пористой возможна и аномальная диффузия [20].

Подводя итог этому краткому обзору, необходимо отметить, что до сих пор не ясно, при каких условиях в мембране наблюдается хмелевая диффузия. Целью данной работы является изучение диффузии липидов в неоднородной нативной плазматической мембране. Рассматривались две модели периодически неоднородной мембраны, в которых коэффициент диффузии описывается гармонической функцией от координат. В первой модели все мембранные белки, связанные с цитоскелетом, одинаково меняют свою конформацию и одинаково притягивают к себе окружающие их липиды. Образующиеся при этом белок-липидные домены образуют одну периодическую неподвижную решетку неоднородностей в мембране. Во второй модели не все мембранные белки одинаково меняют свою конформацию, по-разному притягивают к себе окружающие их липиды, так что в мембране образуется две подрешетки неоднородностей, вложенных одна в другую. Аналитически получены критерии, при которых в периодически-неоднородной мембране наблюдается хмелевая диффузия. Модель строится в парадигме классической работы Эйнштейна [11] (см. также работу [21]).

ФУНКЦИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В КОНФИГУРАЦИОННОМ ПРОСТРАНСТВЕ

Жидкостно-мозаичная модель природной биологической мембраны описывает наличие в ней липидов и мембранных белков и взаимное влияние их конформаций друг на друга [22–24]. Установлено, что мембранные белки и липиды образуют белок-липидные домены. Некоторые из них могут перемещаться по мембране и носят названия «рафтов» [25]. Есть домены, образующиеся вокруг мембранных белков, связанных со спектрин-актин-анкириновой сетью, объединенной с цитоскелетом [5]. Они не перемещаются в мембране. Мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, располагаются в вершинах равносторонних треугольников со стороной 100 нм, образуя гексагональную сеть [26]. При изменении своей конформации они усиливают имеющиеся и создают новые связи с окружающими их липидами, притягивают сильнее их к себе, создавая вокруг себя белок-липидные домены с повышенной плотностью липидов [5, 27, 28]. В этих доменах коэффициент диффузии липидов меньше, чем в области между доменами.

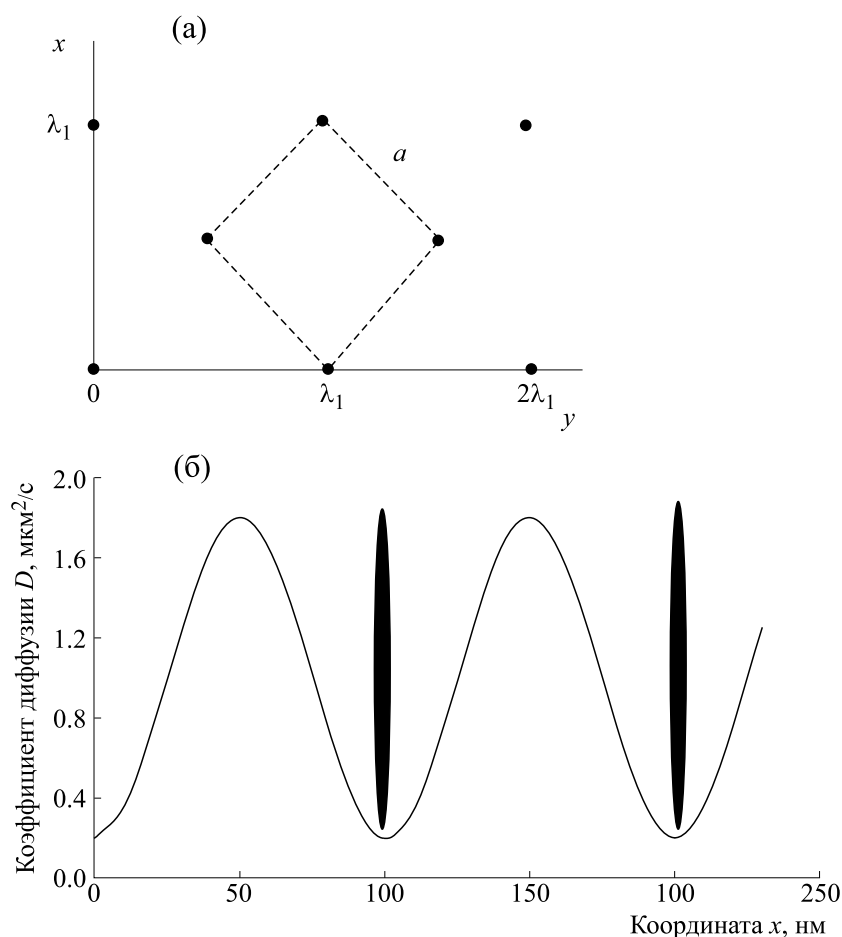


Рис. 1. (а) — Расположение мембранных белков, связанных с цитоскелетом; (б) — зависимость коэффициента диффузии D из (1) от координаты x при $y = 0$. Первый коэффициент диффузии $D_0 = 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$, второй коэффициент диффузии $D_1 = 0.8 D_0$.

Таким образом, при взаимодействии с некоторыми лигандами мембрана разбивается на квазипериодически расположенные неподвижные белок-липидные домены с увеличенной плотностью липидов около мембранных белков, связанных с цитоскелетом, между этими доменами липидный бислой разрыхлен [5, 27, 28]. Мембрана представляет из себя неоднородную среду, в которой слабо- и легкопроницаемые участки чередуются в шахматном порядке. Для простоты в представленной ниже модели предполагается, что белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, располагаются в вершинах равнобедренных прямоугольных треугольников с катетами $a = 71 \text{ нм}$ и гипотенузой 100 нм .

В декартовой системе координат направим оси OX и OY вдоль плоскости мембраны, считая ее бесконечной. Расположение мембранных белков, связанных с цитоскелетом, в рассматриваемой модели представлено на рис. 1а. Будем считать, что давление и температура T постоянны. Изучим зависимость диффузии от времени молекулы липида с начальными координатами вдоль

осей OX и OY равными, соответственно, c и d . В случае, если бы мембрана представляла собой однородную в пространстве и времени плоскость, подвижность липидов определялась бы лишь коэффициентом динамической вязкости среды η и эффективным гидродинамическим радиусом липида R . Диффузия липидов имела бы броуновский характер. Соответствующий коэффициент диффузии тогда был бы равен $D_0 = k_B T / (4\pi\eta R)$, где k_B — постоянная Больцмана.

In vitro показано, что коэффициент диффузии липидов в цитоплазматической мембране меняется в диапазоне от 10^{-13} до $10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ [6, 7]. В данной работе принимается $D_0 = 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$. Белок-липидные домены, связанные с цитоскелетом, будут снижать или повышать коэффициент диффузии в зависимости от координаты рассматриваемой точки мембраны. При связывании с некоторыми лигандами в мембране появляются периодически расположенные, неподвижные белок-липидные домены с повышенной плотностью липидов, разделенных липидными

мезополосами, где плотность липидов понижена [5, 27, 28]. Предположим сначала, что образовались белок-липидные домены с одинаковой плотностью липидов вокруг каждого белка, тогда коэффициент латеральной диффузии липидов в мембране $D(x,y)$ можно интерполировать в виде:

$$D = D_0 - D_1 \cos(k_0 x) \cos(k_0 y), \quad (1)$$

где D_0 и D_1 — первый и второй коэффициенты диффузии. Первый коэффициент диффузии D_0 есть формула Стокса–Эйнштейна для однородной среды, она соответствует броуновской диффузии в однородной мембране, в которой нет белок-липидных доменов. Волновое число $k_0 = 2\pi/\lambda_1$, где $\lambda_1 = 100$ нм. На рис. 16 показана зависимость коэффициента диффузии D , описываемой уравнением (1), от координаты x при $y = 0$. Первый коэффициент диффузии $D_0 = 10^{-12}$ м²/с, второй — $D_1 = 0.8D_0$, $\lambda_1 = 100$ нм. Овалами обозначены неподвижные мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью. При $y = 0$ нм они имеют по x координату 0, 100, 200 нм и т.д. При изменении своей конформации они сильнее притягивают к себе липиды, упорядочен-

ность окружающих их липидов увеличивается. Коэффициент диффузии липидов D около этих белков (в области белок-липидных взаимодействий) наименьший. На границах доменов, в области липид-липидных взаимодействий, коэффициент D наибольший. Такое изменение коэффициента диффузии можно интерполировать гармонической функцией от координат (1). Экспериментально *in vitro* установлено, что максимальное значение коэффициента D в одной мембране может превышать минимальное значение в 20 раз [6, 7], т.е. значение второго коэффициента в формуле (1) может достигать значения $D_1 = 0.9D_0$. На рис. 16 $D_1 = 0.8D_0$.

Рассмотрим диффузию на бесконечной плоскости N_p частиц. Введем функцию распределения частиц по координатам $\Psi(x, y, t) dx dy = dn(x, y, t)$, где $dn(x, y, t)$ — число частиц в области, ограниченной отрезками $[x, x+dx]$ и $[y, y+dy]$, в момент времени t . Вследствие диффузионного характера движения липидов в мембране, функция распределения должна удовлетворять уравнению диффузии:

$$\frac{\partial \Psi}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D(x, y) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(D(x, y) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial y} \right). \quad (2)$$

Получим решение этого уравнения с помощью преобразования Фурье. Подставляя выражение (1) в уравнение (2), находим:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial t} = & \frac{D_1 k_0}{2} (\sin(k_0(x-y)) + \sin(k_0(x+y))) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial x} + \\ & + \left\{ D_0 - \frac{D_1}{2} (\cos(k_0(x-y)) + \sin(k_0(x+y))) \right\} \left[\frac{\partial^2 \Psi(x, y, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Psi(x, y, t)}{\partial y^2} \right] + \\ & + \frac{D_1 k_0}{2} (-\sin(k_0(x-y)) + \sin(k_0(x+y))) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial y}. \end{aligned}$$

Применим обратное преобразование Фурье к этому уравнению:

$$\begin{aligned} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial t} \exp(-ik_x x - ik_y y) dx dy = \\ = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \left\{ \frac{D_1 k_0}{2} (\sin(k_0(x-y)) + \sin(k_0(x+y))) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial x} + \right. \\ + \left[D_0 - \frac{D_1}{2} (\cos(k_0(x-y)) + \cos(k_0(x+y))) \right] \left[\frac{\partial^2 \Psi(x, y, t)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \Psi(x, y, t)}{\partial y^2} \right] + \\ \left. + \frac{D_1 k_0}{2} (-\sin(k_0(x-y)) + \sin(k_0(x+y))) \frac{\partial \Psi(x, y, t)}{\partial y} \right\} \exp(-ik_x x - ik_y y) dx dy, \end{aligned}$$

где i — мнимая единица. Заменяв гармонические функции экспонентами по формуле Эй-

лера, для компонент Фурье-образов вместо уравнения (2) получим:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial \Psi^*(k_x, k_y, t)}{\partial t} = & \frac{D_1 k_0 (k_x - k_0)}{4} \Psi^*(k_x - k_0, k_y + k_0, t) - \\
& - \frac{D_1 k_0 (k_x + k_0)}{4} \Psi^*(k_x + k_0, k_y - k_0, t) + \frac{D_1 k_0 (k_x - k_0)}{4} \Psi^*(k_x - k_0, k_y - k_0, t) - \\
& - \frac{D_1 k_0 (k_x + k_0)}{4} \Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t) - D_0 (k_x^2 + k_y^2) \Psi^*(k_x, k_y, t) + \\
& + \frac{D_1}{4} \{ (k_x - k_0)^2 + (k_y + k_0)^2 \} \Psi^*(k_x - k_0, k_y + k_0, t) + \\
& + \frac{D_1}{4} \{ (k_x + k_0)^2 + (k_y - k_0)^2 \} \Psi^*(k_x + k_0, k_y - k_0, t) + \\
& + \frac{D_1}{4} \{ (k_x - k_0)^2 + (k_y - k_0)^2 \} \Psi^*(k_x - k_0, k_y - k_0, t) + \\
& + \frac{D_1}{4} \{ (k_x + k_0)^2 + (k_y + k_0)^2 \} \Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t) - \\
& - \frac{D_1 k_0 (k_y + k_0)}{4} \Psi^*(k_x - k_0, k_y + k_0, t) + \frac{D_1 k_0 (k_y - k_0)}{4} \Psi^*(k_x + k_0, k_y - k_0, t) + \\
& + \frac{D_1 k_0 (k_y - k_0)}{4} \Psi^*(k_x - k_0, k_y - k_0, t) - \frac{D_1 k_0 (k_y + k_0)}{44} \Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t),
\end{aligned} \tag{3}$$

где $\Psi^*(k_x, k_y, t) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(x, y, t) \exp(-ik_x x - ik_y y) dx dy$.

Для дальнейшего решения докажем, что

$$\Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t) = \exp(-i(k_0 x + k_0 y)) \Psi^*(k_x, k_y, t). \tag{4}$$

Действительно, пусть $k_0 = \text{const}$, тогда

$$\begin{aligned}
& \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t) \exp(ik_x x + ik_y y) dk_x dk_y = \\
& = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi^*(k_x + k_0, k_y + k_0, t) \exp(i[(k_x + k_0)x + (k_y + k_0)y - k_0 x - k_0 y]) \\
& \quad d(k_x + k_0) d(k_y + k_0) = \\
& = \frac{1}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi^*(k'_x, k'_y, t) \exp(ik'_x x + ik'_y y - ik_0 x - ik_0 y) dk'_x dk'_y = \\
& = \frac{1}{(2\pi)^2} \exp(-i[k_0 x + k_0 y]) \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi^*(k_x, k_y, t) \exp(ik_x x + ik_y y) dk_x dk_y.
\end{aligned}$$

Здесь сделана замена переменных в интеграле: $k'_y = k_y + k_0, k'_x = k_x + k_0$. Аналогично можно доказать, что

$$\Psi^*(k_x - k_0, k_y - k_0, t) = \exp(i(k_0 x + k_0 y)) \Psi^*(k_x, k_y, t). \tag{5}$$

Используя преобразования (4) и (5), уравнение диффузии для компонент Фурье-образов (3) можно записать в следующем виде:

$$\frac{\partial \Psi(k_x, k_y, t)}{\partial t} = F(k_x, k_y) \Psi^*(k_x, k_y, t), \quad (6)$$

где

$$\begin{aligned} F(k_x, k_y) = & \frac{D_l}{4} \{ (k_x - k_0) k_x + (k_y + k_0) k_y \} \exp(ik_0(x - y)) + \\ & + \frac{D_l}{4} \{ (k_x + k_0) k_x + (k_y - k_0) k_y \} \exp(-ik_0(x - y)) + \\ & + \frac{D_l}{4} \{ (k_x - k_0) k_x + (k_y - k_0) k_y \} \exp(ik_0(x + y)) + \\ & + \frac{D_l}{4} \{ (k_x + k_0) k_x + (k_y + k_0) k_y \} \exp(-ik_0(x + y)) - D_0(k_x^2 + k_y^2). \end{aligned}$$

Решением уравнения (6) является

$$\Psi^*(k_x, k_y, t) = \Psi^*(k_x, k_y, 0) \exp\{F(k_x, k_y)t\},$$

где

$$\Psi^*(k_x, k_y, 0) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(x, y, 0) \exp(-ik_x x - ik_y y) dx dy.$$

Если в начальный момент времени все диффундирующие броуновские частицы находились в точке с координатами (c, d) , то $\Psi(x, y, 0) dy dx = N_p \delta(c, d)$, где N_p — число диффундирующих частиц, $\delta(x, y)$ — дельта-функция:

$$\Psi^*(k_x, k_y, 0) = N_p \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \delta(c, d) \exp(-ik_x x - ik_y y) dx dy = N_p \exp(-ik_x c - ik_y d).$$

Тогда для функции распределения получается следующее выражение:

$$\Psi(x, y, t) = \frac{N_p}{(2\pi)^2} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \exp\{F(k_x, k_y)t + ik_x(x - c) + ik_y(y - d)\} dk_x dk_y,$$

или, вычисляя последний интеграл,

$$\Psi(x, y, t) = \frac{N_p}{4\pi Q_l} \exp\left\{-\frac{[u_1 t - (x - c)]^2 + [u_2 t - (y - c)]^2}{4Q_l}\right\}, \quad (7)$$

где

$$\begin{aligned} Q_l = & \left\{ D_0 - \frac{D_l}{2} (\cos(k_0(x - y)) + \cos(k_0(x + y))) \right\} t, \\ u_1 = & \frac{D_l}{2} k_0 (\sin(k_0(x - y)) + \sin(k_0(x + y))), \\ u_2 = & \frac{D_l}{2} k_0 (-\sin(k_0(x - y)) + \sin(k_0(x + y))). \end{aligned}$$

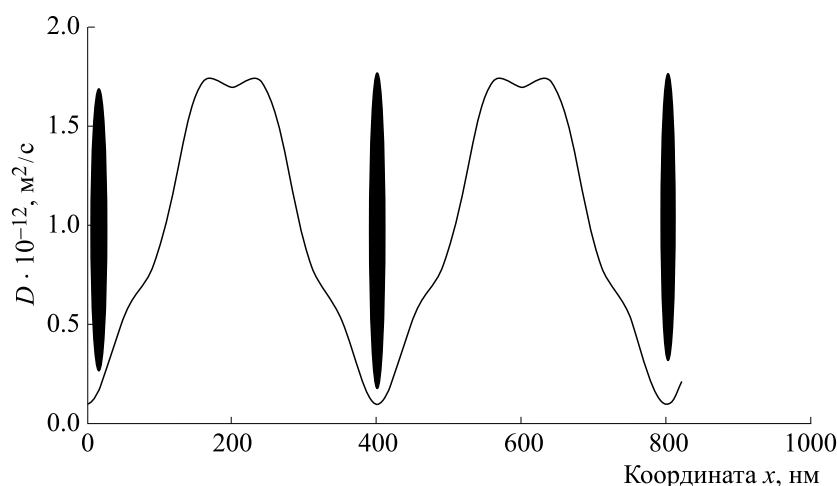


Рис. 2. Зависимость коэффициента диффузии D из (8) от координаты x при $y = 0$.

Здесь u_1 и u_2 есть компоненты двумерного вектора $\mathbf{u}$ скорости адвекции липидов (дрейфовой скорости) вдоль осей OX и OY соответственно. Формула (7) описывает адвекцию–диффузию в плоском слое [16, 17].

Возможны ситуации, когда не все мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, одинаково меняют свою конформацию при взаимодействии с лигандами. Некоторые меняют свою конформацию очень сильно, усиливая связи с окружающими их липидами или образуя дополнительные связи, так что липиды около таких белков находятся в более упорядоченном состоянии, чем липиды около других белков, чья конформация поменялась не так сильно [21, 22]. Например, если концентрация молекул адреналина или норадреналина мала, то при их инкубации с эритроцитами они связываются специфически не со всеми своими адренорецепторами на поверхности плазматиче-

ских мембран [21, 22]. Те адренорецепторы, с которыми гормоны не связались, свою конформацию не поменяли, поэтому слабее притягивают окружающие их липиды. Плотность окружающих их липидов ниже, чем вокруг адренорецепторов, с которыми гормоны связались и которые сильно поменяли свою конформацию.

Таким образом, около некоторых адренорецепторов липиды находятся в более упорядоченном состоянии, чем липиды около других мембранных белков, тоже связанных со спектрин-актин-анкириновой сетью, но конформация которых изменилась слабо. В мембране возникает две подрешетки неоднородностей липидов, встроенных одна в другую: одна с увеличенной упорядоченностью липидов, в другой решетке упорядоченность липидов тоже увеличилась, но слабее. Коэффициент диффузии в этом случае будет иметь вид

$$D = D_0 - \tilde{D}_1 \cos(k_0 x) \cos(k_0 y) - \tilde{D}_2 \cos(k_2 x) \cos(k_2 y), \quad (8)$$

где D_0 , $\tilde{D}_1$, $\tilde{D}_2$ – первый, второй и третий коэффициенты диффузии соответственно. Если рассматривать мембранные белки, имеющие координату $y = 0$, то вдоль оси OX $\lambda_1 = 100$ нм – расстояние между ближайшими мембранными белками, которые слабо изменили свое конформационное состояние, λ_2 – расстояние вдоль оси OX между ближайшими мембранными белками, которые сильно изменили свое конформационное состояние, $k_0 = 2\pi/\lambda_1$, $k_2 = 2\pi/\lambda_2$. На рис. 2 показана зависимость коэффициента диффузии D из выражения (8) от координаты x при $y = 0$. Первый коэффициент диффузии $D_0 = 10^{-12}$ м²/с, второй

коэффициент диффузии $\tilde{D}_1 = 0.1D_0$, $\tilde{D}_2 = 0.8D_0$, $\lambda_1 = 100$ нм, $\lambda_2 = 400$ нм. Овалами обозначены мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью, конформация которых очень сильно изменилась. Они имеют вдоль оси OX координату 0, 400, 800 нм и т.д. Коэффициент диффузии D около них наименьший.

Можно найти решение уравнения диффузии (2) для коэффициента диффузии вида (8). Проведя выкладки, аналогичные приведенным выше, получим для функции распределения следующее выражение:

$$\Psi(x, y, t) = \frac{N_p}{4\pi G_1} \exp \left\{ -\frac{[\tilde{u}_1 t - (x - c)]^2 + [\tilde{u}_2 t - (y - d)]^2}{4G_1} \right\}, \quad (9)$$

где

$$\begin{aligned} G_1 &= \left\{ D_0 - \frac{\tilde{D}_1}{2} (\cos(k_0(x - y)) + \cos(k_0(x + y))) - \frac{\tilde{D}_2}{2} (\cos(k_2(x - y)) + \cos(k_2(x + y))) \right\} t, \\ \tilde{u}_1 &= \frac{\tilde{D}_1}{2} k_0 (\sin(k_0(x - y)) + \sin(k_0(x + y))) + \frac{\tilde{D}_2}{2} k_2 (\sin(k_2(x - y)) + \sin(k_2(x + y))), \\ \tilde{u}_2 &= \frac{\tilde{D}_1}{2} k_0 (-\sin(k_0(x - y)) + \sin(k_0(x + y))) + \frac{\tilde{D}_2}{2} k_2 (-\sin(k_2(x - y)) + \sin(k_2(x + y))). \end{aligned}$$

Здесь $\tilde{u}_1$ и $\tilde{u}_2$ есть компоненты двумерного вектора $\tilde{\mathbf{u}}$ скорости адвекции липидов (дрейфовой скорости) вдоль осей OX и OY соответственно [16, 17]. Формула (7) является частным случаем выражения (9), когда третий коэффициент диффузии из выражения (8) равен нулю. Адвекция в обоих моделях носит локальный характер, липи-

ды дрейфуют к локальному центру притяжения, где вязкость мембраны наименьшая, а коэффициент диффузии наибольший.

Используя функции распределения (7) или (9), можно найти среднее смещение частицы вдоль осей OX и OY :

$$\langle x - c \rangle = N_p^{-1} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} (x - c) \Psi(x, y, t) dx dy, \quad \langle y - d \rangle = N_p^{-1} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} (y - d) \Psi(x, y, t) dx dy. \quad (10)$$

Среднеквадратичное смещение частицы составит

$$\langle R^2(t) \rangle = N_p^{-1} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \{ (x - c)^2 + (y - d)^2 \} \Psi(x, y, t) dx dy. \quad (11)$$

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Функции (7) и (9) характерны для двумерной адвекции–диффузии [16, 17], которая в экспериментах может наблюдаться как хмелевая диффузия [6, 7]. Но дрейфовый снос $\mathbf{X} = \mathbf{u}t$ в рассматриваемых моделях не всегда больше дисперсии $\sqrt{4G_1 t}$. Когда дрейфовый снос меньше дисперсии, адвекции липидов не видно на фоне их хаотического теплового движения, траектория липидов в мембране соответствует нелинейной диффузии. Получим аналитически условие, когда дрейфовый снос при адвекции липидов больше дисперсии $X \geq \sqrt{4G_1 t}$, т.е. когда хмелевая диффузия будет видна в экспериментах. Для этого рассмотрим эволюцию во времени центрального максимума функции распределения (9), который в начальный момент времени находится в точке (c, d) . Для простоты анализа исследуем движение вдоль одной оси OX , начальную точку берем $(0, 0)$:

$$\frac{\partial \Psi(x, t)}{\partial x} = 0. \quad (12)$$

Уравнение (12) является трансцендентным уравнением относительно квадрата координаты максимума функции распределения (9) $x_{\max}^2(t)$, имеющей бесконечное число решений. Это означает, что функция $x_{\max}^2(t)$ через определенные промежутки времени меняет свой знак. Но отрицательным квадрат координаты максимума функции распределения быть не может. Это означает, что в промежуток времени, когда $x_{\max}^2(t)$ меньше нуля согласно решению уравнения (12), адвекции не существует, а существует только диффузия. Далее наступает промежуток времени, когда существует одновременно адвекция и диффузия. Затем опять наступает промежуток только диффузионного движения липидов и так далее. Для оценки промежутка времени, когда $x_{\max}^2(t) \geq 0$ и существует дрейфовый снос, гармонические

функции в уравнении (12) разложим в ряд Тейлора и оставим члены со степенью не выше $x_{\max}^5$. Получим алгебраическое уравнение:

$$x_{\max} \left\{ a(x_{\max}^2)^2 + bx_{\max}^2 + c \right\} t = 0, \quad (13)$$

где

$$a = \left\{ \frac{1}{6} AC^2 - \frac{1}{6} B^2 C \right\} t^2 - \frac{1}{3} BCt + \frac{1}{6} C; b = -\frac{4}{3} ABCt^2 + \left(2B^2 + \frac{2}{3} AC \right) t; c = 2AB^2 t^2 + 2A.$$

В свою очередь, $A = D_0 - \tilde{D}_1 - \tilde{D}_2$; $B = \tilde{D}_1 k_0^2 + \tilde{D}_2 k_2^2$; $C = \tilde{D}_1 k_0^4 + \tilde{D}_2 k_2^4$.

Решая уравнение (13), можно найти зависимость квадрата координаты максимума функции распределения (9) $x_{\max}^2(t)$ от времени. Когда функция $a(t)$ равна нулю, $x_{\max}^2(t)$ меняет знак. Один из корней уравнения $a(t) = 0$ всегда отрицателен, другой — положителен. Отсюда следует, что в начальный промежуток времени от нуля до $t_0 = \frac{\sqrt{2B^2 - AC} - B}{B^2 - AC}$ существует только диффузия, а далее — диффузия и адвекция. Если в уравнении (12) оставить в разложении большие степени $x_{\max}$, чем в уравнении (13), получится алгебраическое уравнение более высокого порядка, чем уравнение (13). Соответственно, получится не два, а больше моментов времени, когда $x_{\max}^2$ меняет свой знак, можно рассчитать временные интервалы большего числа диффузионных и адвекционных режимов перемещения липидов. Можно сделать оценку, когда в режиме одновременной адвекции и диффузии дрейфовый снос вдоль одной координаты будет больше дисперсии, т.е. когда в эксперименте будет наблюдаться адвекция. Время, когда наблюдается максимальный дрейфовый снос, возьмем равным $t_{\max} = 1/2B$. Время $t_{\max}$ немного больше времени t_0 и лежит в промежутке, где существует адвекция:

$$\tilde{D}_1 k_0 t_{\max} + \tilde{D}_2 k_2 t_{\max} > \sqrt{2(D_0 - \tilde{D}_1 - \tilde{D}_2) t_{\max}}. \quad (14)$$

Делая оценку (14) для модели с одной решеткой неоднородности, описываемой уравнением (1), введем коэффициент неоднородности решетки $\beta = D_1/D_0$. Решая уравнение (14), найдем, учитывая, что $\tilde{D}_2 = 0$, что дрейфовый снос будет больше дисперсии при $\beta > 0.8$. При меньших значениях коэффициента неоднородности решетки β адвекция не будет видна на фоне хаотического теплового движения липида. Делая оценку (14) для модели с двумя подрешетками неоднородностей, описываемой уравнением (8), введем второй коэффициент неоднородности решетки $\beta_2 = \tilde{D}_1/D_0$, третий коэффициент неоднородности решетки $\beta_3 = \tilde{D}_2/D_0$ и отношение вол-

новых чисел двух подрешеток $q = k_2/k_0$. Тогда уравнение (14) превратится в

$$\frac{(\beta_2 + \beta_3 q)^2}{\beta_2 + \beta_3 q^2} > 4(1 - \beta_2 - \beta_3). \quad (15)$$

При известных коэффициентах неоднородностей β_2 и β_3 из неравенства (15) можно получить критическое значение отношения волновых чисел двух подрешеток q , при котором начинает наблюдаться хмелевая диффузия в мембране.

Вычисление среднего смещения липидов и среднеквадратичного смещения частицы подтверждает критерии (14) и (15), полученные из аналитического исследования уравнений (7) и (9). Среднее смещение частицы по формуле (10) и среднеквадратичное смещение (11) для разных начальных координат частицы (c, d) вычисляли с помощью программы Mathcad. Для диффузии в однорешеточной модели, описываемой функцией распределения (7), результаты расчетов показаны на рис. 3, где приведена эволюция $\langle R^2 \rangle$ при разных начальных координатах частицы. Здесь $D_0 = 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$, $D_1 = 0.8D_0$, зависимость коэффициента диффузии от координаты x показана на рис. 1б. На рис. 3а представлено среднеквадратичное смещение $\langle R^2 \rangle$ на малом времени наблюдения (от 0 до 700 мкс). Кривая 1 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3 \text{ нм}$, $d = 50 \text{ нм}$ (область липид-липидных взаимодействий, коэффициент диффузии в этой точке $D = 1.786D_0$). Кривая 2 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3 \text{ нм}$, $d = 5 \text{ нм}$ (область белок-липидных взаимодействий, коэффициент диффузии в этой точке $D = 0.253D_0$). Для сравнения дано смещение при простой диффузии с коэффициентом $D_0 = 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$ (пунктирная прямая 3). На рис. 3б представлено среднеквадратичное смещение на больших временах наблюдения (от 0 до 5000 мкс), обозначения те же, что и на рис. 3а. Кривые 1 и 2 на этом графике слились вместе при времени наблюдения больше 1500 мкс. Для сравнения здесь снова приведена эволюция при простой броунов-

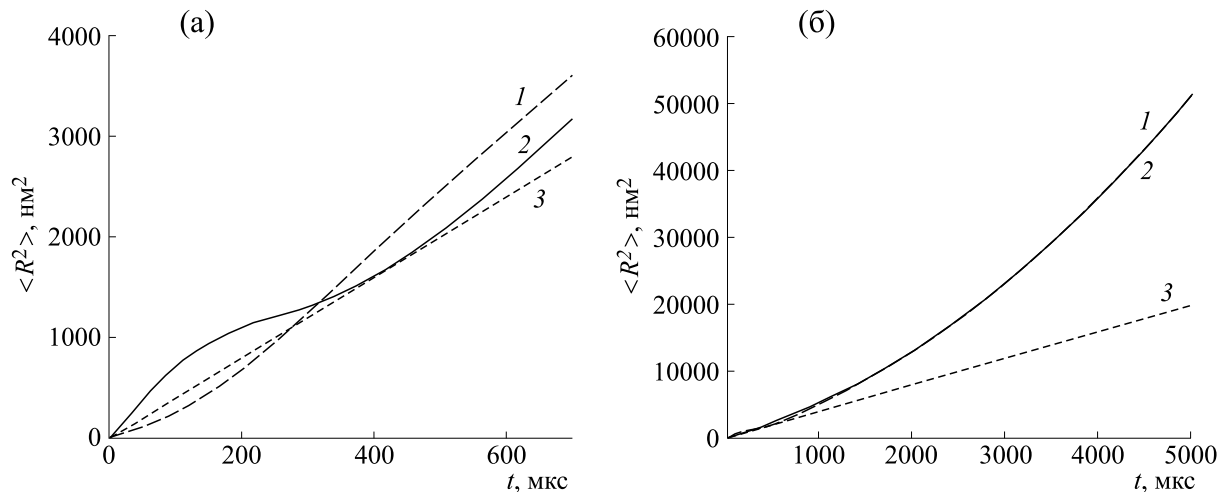


Рис. 3. Эволюция средневекторного смещения частицы от времени при ее различных начальных координатах: (а) — на малых временах, (б) — на больших временах. Кривая 1 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3$ нм, $d = 50$ нм; кривая 2 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3$ нм, $d = 5$ нм; прямая 3 соответствует смещению при простой диффузии с коэффициентом $D_0 = 10^{-12}$ м²/с.

ской диффузии с $D_0 = 10^{-12}$ м²/с (пунктирная прямая).

Анализ рис. 3 показывает, что средневекторное смещение нелинейно зависит от времени, диффузия частиц в неоднородной мембране не является простой броуновской, ее средневекторное смещение нелинейно растет со временем. Но хмелевая диффузия при этом не наблюдается. Согласно критерию (14) для этого коэффициент неоднородности решетки β должен быть больше 0.8, а в рассматриваемом примере $\beta = 0.8$, такой неоднородности недостаточно для возникновения хмелевой диффузии. Частица, стартовавшая из точки с координатами $c = 3$ нм, $d = 5$ нм (область белок-липидных взаимодействий), в промежуток времени от 0 до 300 мкс движется в режиме субдиффузии (кривая 2 на рис. 3а), когда $D \sim t^\alpha$, где $\alpha < 1$. Она перемещается внутри белок-липидного домена, связанного с цитоскелетом. Затем частица покидает свой компартмент (свой белок-липидный домен) и движется в режиме супердиффузии (кривая 1 на рис. 3а), когда $D \sim t^\alpha$, где $\alpha > 1$. У частицы, стартовавшей из точки с координатами $c = 3$ нм, $d = 50$ нм (область липид-липидных взаимодействий) на начальной стадии ($t < 300$ мкс), средневекторное смещение меньше средневекторного смещения при простой броуновской диффузии (кривая 3 на рис. 3а). Ее движение, следуя терминологии, принятой в работах [6, 7], можно назвать режимом замедленной диффузии. При $t > 300$ мкс диффузия частицы трансформируется в супердиффузию (кривая 1 на рис. 3а), здесь ее средневекторное смещение больше средневекторного смещения при простой броуновской диффузии (кри-

вая 3 на рис. 3а). Такой режим в работах [6, 7] трактуется как направленная диффузия, но не хмелевая. В промежутке времени от 0 до 300 мкс средневекторное смещение выше у частицы, стартовавшей из области белок-липидных взаимодействий около мембранного белка. В промежуток времени от 300 до 1000 мкс квадратичное смещение выше у частицы, стартовавшей из области липид-липидных взаимодействий, находящейся между белок-липидными мембранами (рис. 3а).

На больших временах (больше 1500 мкс), как уже отмечалось, кривые 1 и 2 на рис. 3б сливаются. Это означает, что липиды в результате столкновений с другими молекулами мембраны и обмена с ними энергией забывают о своем начальном положении и движутся в одинаковом режиме. Время релаксации для исследуемой диффузии липидов, когда характеристики движения выравниваются равно 1.5 мс. Средние смещения частиц $\langle x - c \rangle$, $\langle y - d \rangle$ вдоль осей x и y на рассматриваемом промежутке времени от 0 до 5000 мкс равны нулю, направленного перемещения (адвекции) липидов вдоль слоя не наблюдается. Таким образом, если при структурном изменении мембраны в ней появлялись неподвижные белок-липидные домены, связанные с цитоскелетом, причем плотность липидов около неподвижных мембранных белков, связанных с цитоскелетом, была одинаковой, то для липидов мембраны реализовывался режим ограниченной диффузии, или замедленной диффузии, или направленной диффузии. Хмелевая диффузия при этом не наблюдается. Для этого коэффициент неоднородности мембраны должен быть больше 0.8, что в

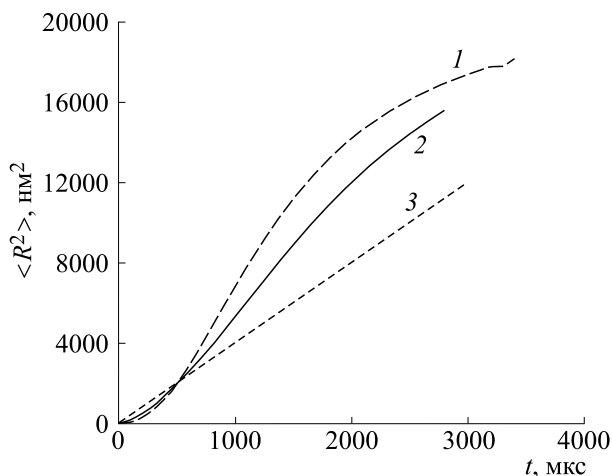


Рис. 4. Эволюция среднеквадратичного смещения частицы для двух разных ее начальных координат. Кривая 1 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 5$ нм, $d = 3$ нм; кривая 2 соответствует квадратичному смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3$ нм, $d = 50$ нм; прямая 3 соответствует простой броуновской диффузии с коэффициентом $D_0 = 10^{-12}$ м²/с.

экспериментах встречается очень редко. Режим определяется начальным положением липида.

Если в результате структурных изменений мембраны образуются две вложенные одна в другую подрешетки неоднородностей, то коэффициент диффузии описывается формулой (8). Качественно диффузия такая же, как и для однорешеточной модели. Но в этой модели в эксперименте может наблюдаться хмелевая диффузия. Результаты расчетов диффузии для этого случая показаны на рис. 4, где представлена эволюция среднеквадратичного смещения частицы при разных ее

начальных координатах. Здесь $D_0 = 10^{-12}$ м²/с, $\tilde{D}_1 = 0.1D_0$, $\tilde{D}_2 = 0.8D_0$, $\lambda_1 = 100$ нм, $\lambda_2 = 400$ нм, второй коэффициент неоднородности $\beta_2 = 0.1$, третий коэффициент неоднородности $\beta_3 = 0.8$, отношение волновых чисел двух подрешеток $q = 0.25$. Если подставить эти значения в критерий (15), то он выполняется. Это означает, что в системе будет наблюдаться хмелевая диффузия (адвекция). Кривая 1 на рис. 4 соответствует смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 5$ нм, $d = 3$ нм (область белок-липидных взаимодействий, коэффициент диффузии в этой точке $D = 0.11D_0$). Кривая 2 соответствует квадратичному смещению частицы, имеющей начальные координаты $c = 3$ нм, $d = 50$ нм (область липид-липидных взаимодействий, коэффициент диффузии в этой точке $D = 0.533D_0$). Для сравнения приведена прямая 3, соответствующая простой броуновской диффузии с коэффициентом $D_0 = 10^{-12}$ м²/с, второй и третий коэффициенты диффузии равны нулю.

Кривые 1 и 2 на рис. 4 соответствуют хмелевой диффузии липидов в плазматической мембране. Это подтверждают и средние смещения частиц от времени, приведенные на рис. 5. На рис. 5а даны средние смещения от времени в плоскости OXY частиц, стартовавших соответственно из начальной точки с координатами $c = 5$ нм, $d = 3$ нм (область белок-липидных взаимодействий), что соответствует кривой 1 на рис. 4 и $c = 3$ нм, $d = 50$ нм (область липид-липидных взаимодействий), что соответствует кривой 2 на рис. 4. Промежуток времени наблюдения на рис. 5а и 5б от 0 до 3100 мкс. Старт движения частиц на рис. 5 находится в точках с координатами (0; 0). На рис. 5 каждый квадрат соответствует среднему смеще-

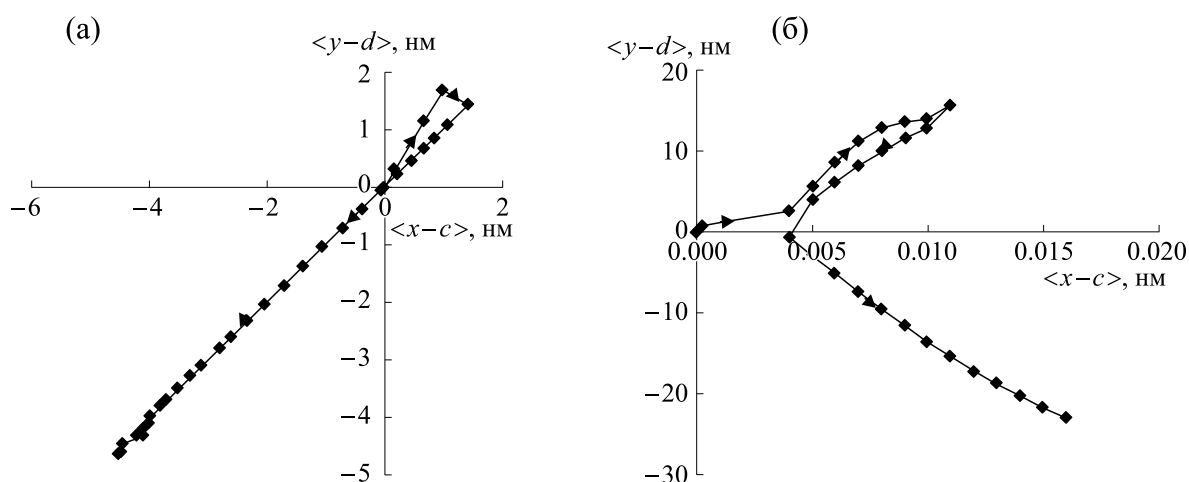


Рис. 5. Среднее смещение в плоскости xy от времени частиц с начальными координатами: (а) — $c = 5$ нм, $d = 3$ нм (область белок-липидных взаимодействий); (б) — $c = 3$ нм, $d = 50$ нм (область липид-липидных взаимодействий).

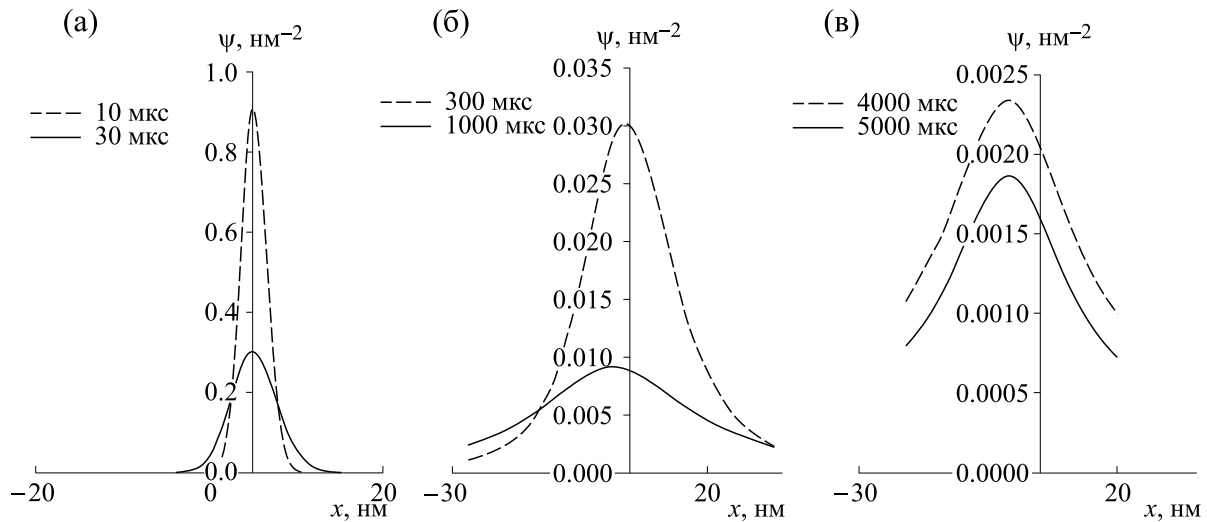


Рис. 6. Сечение функции распределения липида вдоль оси x при постоянной координате $y = 3$ нм, стартовавшего из области белок-липидного взаимодействия с начальными координатами $c = 5$ нм, $d = 3$ нм в разные моменты времени.

нию частицы через каждые 100 мкс. Квадраты соединены линией, которая соответствует усредненной по времени траектории движения частицы вдоль мембраны. Стрелками показаны направления движения частицы.

Характер диффузии частиц в обоих случаях качественно подобен и меняется с течением времени. На начальной стадии эволюции имеет место супердиффузия. Однако кривые 1 и 2 в промежутке времени от 0 до 50 мкс имеют наклон меньше, чем у прямой, описывающий эволюцию при простой диффузии (рис. 4). Это значит, что в этом промежутке диффузия частицы затруднена и ее эффективный коэффициент диффузии ниже, что согласно работам [6, 7] можно трактовать как режим замедленной диффузии. На этом промежутке времени среднее смещение частицы вдоль осей OX и OY равно нулю (рис. 5а). Далее, начиная с времени 850 мкс характер диффузии обеих частиц меняется, причем наклон кривых среднеквадратичного смещения оказывается выше, чем у прямой 3 для простой диффузии (рис. 4). На этом промежутке времени осуществляется адвекция-диффузия, среднее смещение частицы при этом не равно нулю (см. рис. 5). Время начала режима адвекции совпадает с оценкой t_0 из решения уравнения (13). Происходит перенос частицы к локальному центру притяжения. В промежутке времени $t > 2900$ мкс частица движется в режиме субдиффузии (ограниченной диффузии согласно работам [6, 7]). Изменение начальных координат частиц лишь количественно влияет на характер эволюции частиц 1 и 2. Среднее смещение липида, стартовавшего из области липид-липидного взаимодействия, в три раза больше, чем смещение липида, стартовавшего из области белок-ли-

пидного взаимодействия. Последнее хорошо иллюстрируется сопоставлением эволюции частиц 1 и 2, приведенных, соответственно на рис. 5а и 5б.

Различия характеров диффузии липидов, стартовавших из разных областей мембраны можно увидеть и с помощью функций распределения. На рис. 6 изображены последовательно в разные моменты времени сечение функции распределения липида вдоль оси x при постоянной координате $y = 3$ нм, стартовавшего из области белок-липидного взаимодействия с начальными координатами $c = 5$ нм, $d = 3$ нм. Функции распределения соответствует кривой 1 на рис. 5. По оси абсцисс отложена координата x , по оси ординат — функция распределения. Функция распределения Ψ имеет размерность нм^{-2} , $N_p = 1$. Ось ординат пересекает ось абсцисс при $x = 5$ нм. На рис. 6а отложены функции распределения при 10 и 30 мкс после начала наблюдения, на рис. 6б — спустя 300 и 1000 мкс, на рис. 6в — спустя 4000 и 5000 мкс. Рис. 6а показывает, что функции распределения имеют гауссовский характер, максимумы распределения находятся при $x = 5$ нм. Затем после времени t_0 из решения уравнения (13) (см. рис. 6б) происходит латеральное ненулевое среднее смещение частицы (адвекция), кривые распределения стали несимметричны и их максимумы смещаются. На рис. 5а это соответствует участку с ненулевым средним смещением. При 300 мкс максимум находится в точке $x = 5$ нм, при 1000 мкс — $x = 2$ нм. Отсюда можно оценить среднюю скорость адвекции частиц мембраны в этот период времени, она оказывается равной около 3 нм/мс. При 4000 и 5000 мкс максимумы функции распределения оставались на одном месте, а

функции распределения — симметричны. Это означает, что адвекция прекратилась и снова наступил период диффузии.

При появлении в мембране двух подрешеток неоднородностей, вставленных одна в другую, на участке мембраны размером около λ_2 на λ_2 появляется центр притяжения для липидов. В этом центре липидный бислой разрыхлен, коэффициент диффузии наибольший. Появляется адвекция липидов, но это локальные потоки, направленные к этому центру притяжения. Суммарного потока вдоль всей мембраны не возникает. Если в этом центре притяжения находится какой-нибудь лиганд, к нему устремляются липиды и белки, необходимые для образования вокруг него белок-липидного домена (рафта), который необходим этому лиганду, например, для эндоцитоза. В этом центре притяжения вокруг лиганда и происходит самосборка рафта. После отсоединения лиганда от мембраны адвекция молекул к этому лиганду прекращается.

Возможно, при создании двух подрешеток неоднородностей в мембране появляются наноканалы, заполненные молекулами воды, попадая в которые липиды начинают направленно перемещаться вдоль мембраны. Наноканалы могут появляться в мезополосах разрыхления, между белок-липидными доменами [5]. Характер движения липидов в этих наноканалах может отличаться от характера движения в мембране. Похожее явление наблюдается при движении наночастиц в наноканалах [29–31]. Связано это с тем, что уравнения переноса в стесненных условиях содержат не только тензор напряжений и вектор теплового потока, но и межфазные силы, ответственные за передачу количества движения и тепла из-за взаимодействия с поверхностями стенок наноканалов [29–31]. Было обнаружено, что вязкость жидкости в наноканале сильно зависит от потенциала взаимодействия между жидкостью и молекулами стенки канала. В частности, увеличение глубины потенциальной ямы этого взаимодействия приводит к увеличению вязкости жидкости. В то же время, если глубина потенциальной ямы мала, вязкость жидкости в наноканале может быть даже ниже, чем ее вязкость в неограниченной системе. Таким образом, вязкость жидкости в наноканале и, следовательно, сопротивление потоку в канале зависит от материала стенок наноканала.

Если говорить об адекватности модели, в предложенной модели рассматривается латеральная диффузия липидов в одном липидном монослое. Их перескоки из одного монослоя в другой (переходы типа «флип-флоп») не учитываются. Между тем в реальных процессах они происходят, особенно при искривлении мембраны. Кроме того, не учитывается разный состав липидов в мембра-

не, считается, что они одинаковые. Таким образом, не рассматриваются эффекты перекрестной диффузии. Сама модель бесконечного монослоя, в котором происходит диффузия, тоже не совсем точно отражает строение замкнутой мембраны. Далее, в нашей модели рассматривается перемещение липидов на участке мембраны размером примерно $50 \times 50 \text{ нм}^2$, что примерно в сто раз меньше размера мембраны эритроцита. При таком приближении рассматривать диффузию липидов в мембране эритроцита как диффузию в плоском бесконечном монослое вполне допустимо. С другой стороны, если рассматривать диффузию липидов при больших временах, то необходимо будет учитывать конечность мембраны и ее замкнутость.

Ранее установлено, что структурные изменения в плазматических мембранах изменяют функции мембран и клеток [32–48]. Несмотря на указанные ограничения предлагаемой модели, она качественно описывает один из механизмов влияния структурных переходов в биомембранах на их функции. В однородной мембране реализуется простая броуновская диффузия частиц, среднее смещение подвижных молекул мембраны равно нулю. При взаимодействии с лигандами мембрана испытывает структурный переход, из-за этого латеральная диффузия липидов становится облегченной, может возникнуть адвекция — локальный поток липидов к центру притяжения. Это облегчает образование подвижных белок-липидных доменов рафтов, с помощью которых происходит эндоцитоз лигандов.

ВЫВОДЫ

В данной работе аналитическими методами исследована модель нелинейной диффузии липидов в цитоплазматической мембране, которая возникает после появления в ней сети неподвижных периодически расположенных белок-липидных доменов, связанных с цитоскелетом. Коэффициент диффузии липидов в этих доменах ниже, чем в промежутках между доменами, так что в мембране он приблизительно описывается периодической от координат функцией. Аналитически показано, что для этой модели существует режим адвекции-диффузии. Было рассмотрено два случая. Если мембранные белки, связанные с цитоскелетом, меняют свою конформацию одинаково, в мембране возникает неоднородная структура из одинаковых неподвижных белок-липидных доменов, образованных вокруг этих мембранных белков. Аналитически показано чередование режимов нелинейной диффузии и совместной адвекции-диффузии. Показано, что от нуля до некоторого времени t_0 наблюдается нелинейная диффузия, далее наступает период адвек-

ции-диффузии, далее опять период нелинейной диффузии и т.д. В эксперименте это не всегда наблюдается в виде хмелевой диффузии. Когда дрейфовый снос при адвекции меньше дисперсии, адвекции липидов не видно на фоне их хаотического теплового движения, траектория липидов в мембране соответствует нелинейной диффузии. Аналитически получены критерии, при выполнении которых в эксперименте можно наблюдать адвекцию липидов. Аналитически показано, что адвекция липидов в случае одной решетки неоднородностей не наблюдается, поскольку коэффициент неоднородности мембраны β должен быть очень высоким ($\beta > 0.8$), что редко выполняется в эксперименте. При меньших значениях коэффициента неоднородности решетки β адвекция не будет видна на фоне хаотического теплового движения липида.

Во втором случае, когда мембранные белки, связанные со спектрин-актин-анкириновой сетью по-разному меняют свою конформацию, они по-разному притягивают к себе окружающие их липиды. Образующиеся при этом белок-липидные домены будут разными, плотность липидного бислоя можно представить как наложение одну на другую двух или более подрешеток неоднородной плотности липидов. Показано, что характер диффузии липидов при этом качественно остается прежним, как и для модели с одной решеткой неоднородности. Но в этом случае уже может наблюдаться хмелевая диффузия, при которой нелинейная диффузия сменяется периодами адвекции-диффузии. Адвекция носит локальный характер, сосредоточена около белок-липидных доменов, в которых увеличение плотности липидов наибольшее. Среднее смещение частиц при адвекции выше у молекул, стартовавших из области липид-липидных взаимодействий. Аналитически получен критерий, при соблюдении которого в эксперименте может наблюдаться хмелевая диффузия. Эта модель хорошо на качественном уровне объясняет экспериментальные результаты измерения перемещения липидов в цитоплазматической мембране.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение No. 075-15-2021-575) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант No. 20-01-00041).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. K. Suzuki, K. Ritchie, E. Kajikawa, et al., *Biophys. J.*, **88** (5), 3659 (2005).
2. R. G. Parton and M. A. del Pozo, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **14** (2), 98 (2013).
3. P.G. Saffman, M. Delbrück, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 3111 (1975).
4. E. P. Petrov and P. Schuille, *Biophys. J.*, **94** (5), 45 (2008).
5. П. В. Мокрушников, Л. Е. Панин, В. Е. Панин и др., *Структурные переходы в мембранах эритроцитов (экспериментальные и теоретические модели)* (НГАСУ, Новосибирск, 2019).
6. T. Fujiwara, K. Ritchie, H. Murakoshi, et al., *J. Cell Biol.*, **157** (6), 1071 (2002).
7. T. K. Fujiwara, K. Iwasawa, Z. Kalay, et al., *Mol. Biol. Cell*, **27** (7), 1101 (2016).
8. P. F. Lenne, L. Wawrezinieck, F. Conchonaud, et al., *EMBO J.*, **25** (14), 3245 (2006).
9. A. Honigsmann, S. Sadeghi, J. Keller, et al., *Elife*, **3**, e01671 (2014).
10. M. Renner, Y. Domanov, F. Sandrin, et al., *PLoS One*, **6** (9), e25731 (2011).
11. A. Einstein, *Annal. Der Physik*, **322**(8), 549 (1905).
12. K. Ayscough, *Methods Enzymol.*, **298**, 18 (1998).
13. G. I. Mashanov, T. A. Nenasheva, A. Mashanova, et al., *Faraday Discuss.*, **232**, 358 (2021).
14. M. N. Costa, K. Radhakrishnan, and J. S. Edwards, *J. Biotechnol.*, **151** (3), 261 (2011).
15. Y. A. Domanov, S. Aimon, G. E. S. Toombes, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108** (31), 12605 (2011).
16. O. A. Dvoretzskaya and P. S. Kondratenko, *J. Exp. Theor. Physics*, **116**, 698 (2013).
17. P. S. Kondratenko and A. L. Matveev, *J. Exp. Theor. Physics*, **157** (4), 703 (2020).
18. G. J. Wang and N. G. Hadjiconstantinou, *Langmuir*, **34** (23), 6976 (2018).
19. V. Andryushchenko and V. Rudyak, *Defect and Diffusion Forum* **312–315**, 417 (2011).
20. V. A. Andryushchenko and V. Ya. Rudyak, *Reports of the Academy of Sciences of the Higher School of the Russian Federation*, **2** (15), 6 (2010).
21. В. Я. Рудяк, *Статистическая аэрогидромеханика гомогенных и гетерогенных сред. Т. 2. Гидромеханика* (НГАСУ. Новосибирск, 2005).
22. S. J. Singer and G. L. Nicolson, *Science*, **175**, 720 (1972).
23. G. L. Nicolson, *Biochim. Biophys. Acta*, **457** (1), 57 (1976).
24. P. V. Mokrushnikov, in *Lipid Bilayers: Properties, Behavior and Interactions*, Ed. by M. Ashrafuzzaman (Nova Science Publishers, NY, 2019), pp. 43–91.
25. J. Morel, S. Claverol, S. Mongrand, et al., *Mol. Cell Proteomics*, **5** (8), 1396 (2006).

26. S.-C. Liu, L. H. Derick, J. Palek, Journal of cell biology **104**, 527 (1987).
27. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, and B. N. Zaitsev, J. Phys. Chem. B, **114**, 9462 (2010).
28. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, and B. N. Zaitsev, J. Phys. Chem. B, **115**, 14969 (2011).
29. V. Ya. Rudyak and A. A. Belkin, Doklady Physics, **59**, 604 (2014).
30. V. Ya. Rudyak and A. A. Belkin, Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics **6** (3), 366 (2015).
31. V. Ya. Rudyak and A. A. Belkin, Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics **9** (3), 349 (2018).
32. Л. Е. Панин и П. В. Мокрушников, Вестн. Новосибирского гос. пед. ун-та, **5** (15), 101 (2013).
33. P. V. Mokrushnikov, A. N. Dudarev, T. A. Tkachenko, et al., Biochemistry (Moscow). Suppl. Ser. A: Membrane and Cell Biology, **11** (1), 48 (2017).
34. L. E. Panin, P. V. Mokrushnikov, V. G. Kunitsyn, et al., Phys. Mesomechanics, **14** (3–4), 167 (2011).
35. P. V. Mokrushnikov, L. E. Panin, N. S. Doronin, et al., Biophysics, **56** (6), 1074 (2011).
36. P. V. Mokrushnikov, Biophysics, **65** (1), 65 (2020).
37. A. I. Kozelskaya, A. V. Panin, I. A. Khlusov, et al, Toxicol. in Vitro, **37**, 34 (2016).
38. P. V. Mokrushnikov, J. Physics: Conf. Ser. The Conf. Proc. STS35 (Kutateladze Institute of Thermophysics, Sib. Branch of the RAS), 012161 (2019).
39. P. V. Mokrushnikov, E. V. Lezhnev, and V. Ya. Rudyak, AIP Conf. Proc., **2351**, 040054 (2021).
40. P. V. Mokrushnikov, V. Ya. Rudyak, and E. V. Lezhnev, Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics, **12** (1), 22 (2021).
41. L. E. Panin and P. V. Mokrushnikov, Biophysics, **59** (1), 127 (2014).
42. P. V. Mokrushnikov, L. E. Panin, and B. N. Zaitsev, Gen. Physiol. Biophys., **34** (3), 311 (2015).
43. P. V. Mokrushnikov, Biophysics, **62** (2), 256 (2017).
44. Л. Е. Панин, П. В. Мокрушников, Р. А. Князев и др., Атеросклероз, **6**, 12 (2012).
45. В. Г. Куницын, П. В. Мокрушников и Л. Е. Панин, Бюл. Сибирского отделения РАМН, **5** (127), 28 (2007).
46. П. В. Мокрушников, Бюл. Сибирского отделения РАМН, **1** (147), 38 (2010).
47. О. Н. Потеряева, Г. С. Русских, П. В. Мокрушникови др. Вестн. Уральской мед. акад. науки, **48** (2), 149 (2014).
48. П. В. Мокрушников, Л. П. Осипова, Т. В. Гольцова и А. А. Розуменко, Якутский мед. журн. **54** (2), 15 (2016).

Model of Lipid Diffusion in Cytoplasmic Membranes

P.V. Mokrushnikov* and V.Ya. Rudyak*, **, ***

*Novosibirsk State University of Architecture and Civil Engineering (SIBSTRIN),
Leningradskaya ul. 113, Novosibirsk, 630008 Russia

**Kutateladze Institute of Thermophysics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
ul. Akademika Lavrent'eva 1, Novosibirsk, 630090 Russia

***Novosibirsk State University, ul. Pirogova 1, Novosibirsk, 630090 Russia

An analytical model of lateral lipid diffusion in heterogeneous native cytoplasmic membranes is presented. The Fourier transform method was used to solve the diffusion equation for the coordinate distribution function of lipids in a periodically inhomogeneous membrane, in which the diffusion coefficient is described by a harmonic function of the coordinates. It is shown that advection and diffusion are present in membrane. The model explains different types of lipid diffusion in membrane observed previously in experiments as a result of structural transitions of periodically located fixed protein-lipid domains associated with the spectrin-actin-ankyrin network. If these domains are the same, then super- and subdiffusion can be seen in experiments, when the mean square displacement of lipids depends non-linearly on time, and their average displacement is zero. Drift during advection was less than the chaotic Brownian displacement of lipids, advection was not observed in the experiment. When not all membrane proteins associated with the spectrin-actin-ankyrin network undergo conformational change in the same way upon ligand binding, two periodic sublattices of inhomogeneities arise in the membrane from fixed protein-lipid domains around membrane proteins associated with the cytoskeleton and nested in one another. In this case, hop diffusion can be found in experiments, when periods of nonlinear diffusion of molecules are replaced by periods of advection-diffusion, in which the average displacement of molecules is not zero. Advection is local in nature and occurs near individual protein-lipid domains. In the presented work, criteria are analytically obtained under which hop diffusion is experimentally observed in a periodically inhomogeneous membrane.

Keywords: lipid diffusion, structural transitions in biomembranes, advection in heterogeneous layers