

УДК 577.352

ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ ЛИПИДНЫХ МЕМБРАН НЕ МОЖЕТ БЫТЬ ОПИСАНА МОДЕЛЬЮ ПОСТОЯННОГО ЛИНЕЙНОГО НАТЯЖЕНИЯ КРОМКИ ПОРЫ

© 2023 г. П. К. Гифер^{a, b, *}, О. В. Батищев^a

^aИнститут физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН,
Москва, 119071 Россия

^bМосковский физико-технический институт (национальный исследовательский университет),
Московская обл., г. Долгопрудный, 141700 Россия

*e-mail: gifer.pk@phystech.edu

Поступила в редакцию 14.02.2023 г.

После доработки 08.03.2023 г.

Принята к публикации 09.03.2023 г.

В работе был исследован процесс электропорации бислойных липидных мембран (БЛМ) из диолеоилфосфатидилхолина (ДОФХ). Экспериментально полученная зависимость среднего времени жизни от приложенного напряжения в диапазоне 200–375 мВ является немонотонной и не может быть описана в рамках классической теории электропорации. Эти результаты согласуются с современными моделями процесса образования сквозных проводящих пор в мембране, подразумевающими сложный профиль энергии поры и его зависимость от натяжения мембраны и внешнего электрического поля. Мы показали, что в рамках классической теории электропорации невозможно объяснить экспериментально наблюдаемые зависимости среднего времени жизни мембраны от приложенной разности потенциалов. Таким образом, теория требует дальнейших уточнений.

Ключевые слова: липидная мембрана, БЛМ, электропорация, линейное натяжение, диолеоилфосфатидилхолин, энергия поры

DOI: 10.31857/S0233475523040059, **EDN:** OJMPRP

ВВЕДЕНИЕ

Одна из важнейших функций клеточных мембран заключается в том, чтобы сохранять внутриклеточные пространства и саму клетку изолированными от внешней среды, обеспечивая при этом контролируемый обмен веществ. Несмотря на то, что биологические мембраны содержат значительное количество белков, основная структура, определяющая барьерную функцию, — это бислой амфифильных молекул липидов. Нарушение барьерной функции мембран является причиной развития многих патологий, так как происходит нарушение нормального гомеостаза клетки, приводящее в итоге к ее гибели. По этой причине вопрос регуляции проницаемости липидного бислоя клеточных мембран является предметом интенсивных исследований в этой области с применением теоретических, экспериментальных и вычислительных методов [1]. В результате проведенных исследований было выяснено, что проницаемость мембран может быть увеличена за счет образования в ней пор при приложении внешнего электрического поля. Такое явление получило название “электропорация”.

За последние десятилетия электропорация клеточных мембран стала основой многих биотехнологических (микробная инактивация, экстракция биомолекул) [2] и биомедицинских (электрохимиотерапия, трансфекция, слияние клеток) [3–5] приложений. Однако несмотря на широкое применение этого метода, в понимании механизма порообразования остается много белых пятен.

Формирование пор в мембранах — это сложный процесс перестроения молекул липидов. Образование любого проводящего дефекта приводит к контакту гидрофобных цепей липидов с водой, что энергетически невыгодно (межфазное натяжение на границе раздела декан/вода составляет примерно 60 мН/м). По этой причине липиды вынуждены деформироваться и поворачиваться на кромке поры, чтобы сделать ее гидрофильной.

Классическая теория порообразования описывает изменение свободной энергии мембраны при формировании в ней поры как [6]:

$$E(r) = 2\pi r\gamma - \pi r^2\sigma, \quad (1)$$

где r — радиус поры, γ — линейное натяжение кромки поры (избыточная энергия липидного

материала на кромке поры, отнесенная к ее периметру), σ – латеральное натяжение мембраны. Максимум энергии находится в точке критического радиуса поры, который характеризуется как $r^* = \gamma/\sigma$. Поры с радиусом меньше критического могут залечиваться, в то время как поры с радиусом больше критического будут вызывать разрушение мембраны. В рамках такого подхода мембрана рассматривалась как бесконечно тонкая пленка, а структура липидов была неявно представлена параметром γ [6]. Тем не менее, в рамках данной модели удалось описать влияние липидов различной молекулярной формы на устойчивость мембран к формированию сквозных пор [7]. В рамках такой теории было невозможно прогнозировать то, как изменение, например, конформационной подвижности углеводородных цепей липидных молекул будет влиять на устойчивость мембраны к электропорации [8]. Начиная с 1988 года стали появляться различные теоретические работы, в которых были предприняты попытки явно учесть структуру липидного бислоя и упругие деформации мембраны в процессе формирования поры [9–12]. Так, было показано, что формирование поры начинается с образования гидрофобного дефекта в мембране [9], проникаемого только для воды, но не для ионов [12], который затем перестраивается в гидрофильную пору посредством деформаций монослоев мембраны. В работах [13–15] авторы впервые смогли построить полную траекторию процесса формирования поры в липидном бислое, от начала образования гидрофобного дефекта до расширения гидрофильной поры, в рамках теории упругости жидких кристаллов, адаптированной к липидным мембранам [16]. В результате было показано, что процесс образования поры в мембране сопряжен с преодолением двух энергетических барьеров, а линейное натяжение кромки поры оказывается в этом случае не фиксированным параметром, а сложной функцией радиуса и латерального натяжения мембраны. Получается, что значения линейного натяжения кромки поры, измеренные для одного и того же липида в разных экспериментальных системах, могут сильно различаться. Это предсказание согласуется с экспериментальными наблюдениями.

Экспериментально процесс контролируемого образования пор исследуется в различных модельных системах, которые имитируют липидный матрикс клеточных мембран: бислойные липидные мембраны (БЛМ) с растворителем [17], без растворителя [18], гигантские однослойные везикулы (ГОВ) [19] и т.п. Эти работы показали, что в разных системах при одинаковых липидных составах значения γ непредсказуемо различаются. Так, авторы статьи [20] продемонстрировали, что значения γ для яичного лецитина могут находиться в диапазоне от 8.6 до 42 пН. По-видимому, это

связано с тем, что характерные размеры пор, для которых производится измерение линейного натяжения, отличаются в различных модельных системах.

О наличии разных характерных размеров пор свидетельствуют также эксперименты по электрослиянию клеток. Так, было показано, что сочетание наносекундных и микросекундных электрических импульсов высокого напряжения позволяет сначала создавать малые поры с радиусом порядка 1 нм, а затем расширять их до радиусов 60–70 нм [21]. Соответственно, если экспериментальные и теоретические исследования ведут к пониманию того, что пора в мембране представляет собой переход нескольких характерных структур друг в друга, а энергетический барьер имеет сложную форму, то остается вопрос, что именно характеризует линейное натяжение, определяемое в экспериментах как некая константа.

В данной работе мы исследовали процесс электропорации модельных бислойных липидных мембран, сформированных из диолеилфосфатидилхолина (ДОФХ) по классической методике Мюллера–Рудина [22]. Полученная сложная зависимость среднего времени жизни мембран от приложенного напряжения может быть объяснена в рамках гипотезы о наличии двух энергетических барьеров на траектории формирования поры с радиусом выше критического. Мы проанализировали, каким образом такой вид энергетического профиля поры может повлиять на теоретическую модель, применяемую для описания получаемых данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бислойные липидные мембраны формировались методом Мюллера–Рудина [22] из раствора 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (ДОФХ, Avanti Polar Lipids, США) в декане концентрации 10 и 15 г/л (чистота $\geq 99\%$, Sigma, США) на отверстии в тефлоновой перегородке (диаметр $d = 0.8$ мм), разделяющей две полуячейки. Буферный раствор, которым заполняли полуячейки, содержал 100 мМ KCl (чистота $\geq 99.5\%$, Реахим, Россия) и 5 мМ HEPES (чистота $\geq 99\%$, Helicon, Россия) в бидистиллированной воде с pH 7.5. Для проведения электрических измерений и приложения к мембране внешнего электрического поля в каждую из полуячеек погружали Ag/AgCl-электроды. Процесс формирования мембраны контролировался по росту ее электрической емкости методом потенциодинамики [23]. Для этого треугольные импульсы напряжения подавались на БЛМ с генератора электрических сигналов (АКИП-3409/2, АО ПриСТ, Россия), а токовые отклики регистрировались через усилитель тока (Keithley, модель 428, США) и передавались на компьютер с помощью АЦП (Л-кард, модель L761, Россия). Процесс об-

разования мембраны и достижения необходимого значения электрической емкости контролировался с помощью осциллографа (АКИП-4115/1А, АО ПриСТ, Россия).

После формирования мембраны к ней прикладывали постоянное напряжение в диапазоне от 200 до 375 мВ до момента электрического пробоя, который регистрировался по резкому росту электрического тока через мембрану. В ходе трех серий экспериментов для каждого значения напряжения проводилось по 15-138 измерений времени жизни мембраны. Экспериментальные данные регистрировались с помощью программы LGraph (Л-кард, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно классической теории электропорации [24], зависимость свободной энергии поры от ее радиуса в присутствии внешнего электрического поля имеет следующий вид:

$$E(r) = 2\pi r\gamma - \pi r^2\sigma - 0.5\pi C U^2 r^2, \quad (2)$$

где $C = \left(\frac{\epsilon_B}{\epsilon_M} - 1\right) C_{уд}$, ϵ_B – диэлектрическая проницаемость воды, ϵ_M – диэлектрическая проницаемость мембраны, $C_{уд}$ – удельная емкость мембраны, U – приложенное к мембране электрическое напряжение.

Соответственно, среднее время жизни мембраны определялось по закону:

$$\tau = \frac{(kT)^{3/2}}{4\pi c_0 A D \gamma \sqrt{\sigma + C_{уд} \left(\frac{\epsilon_B}{\epsilon_M} - 1\right) \frac{U^2}{2}}} \times \exp\left(\frac{\pi \gamma^2}{kT \left(\sigma + C_{уд} \left(\frac{\epsilon_B}{\epsilon_M} - 1\right) \frac{U^2}{2}\right)}\right), \quad (3)$$

где c_0 – средняя концентрация дефектов на единицу площади мембраны, A – площадь БЛМ, D – коэффициент диффузии пор в пространстве радиусов, k – постоянная Больцмана, T – абсолютная температура.

Плотность вероятности распределения времен жизни мембран $F(t)$ должна иметь вид:

$$F(t) = \frac{n}{\tau} \exp\left(\frac{-nt}{\tau}\right), \quad (4)$$

где n – число пор в мембране. В наших экспериментах для всех исследованных значений напряжения мы получили экспоненциальное распределение времен жизни мембраны, в точном соответствии с уравнением (4). Экспоненциальный вид распределения был оценен по критерию Пир-

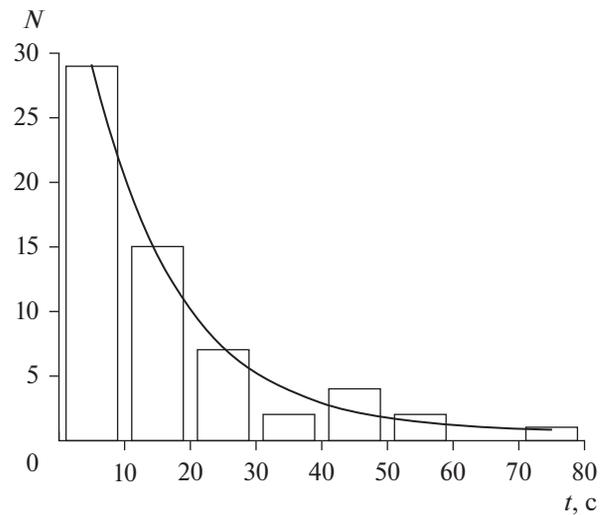


Рис. 1. Гистограмма распределения величин времени жизни мембраны из ДОФХ при трансмембранном напряжении, равном 200 мВ. Экспоненциальный вид распределения проверялся по критерию Пирсона, среднее время жизни мембраны определялось методом максимального правдоподобия, сплошная кривая дана для визуализации экспоненциального вида распределения.

сона, при этом необходимое число экспериментов для выполнения требуемого критерия составило от 15 до 138 при каждом значении напряжения U (суммарно 409 измерений). Этот результат хорошо согласуется с данными, полученными в работе [25]. Более того, мы показали, что наблюдаемое авторами работы отклонение от экспоненциального распределения в области малых времен жизни мембран может быть устранено путем учета конечного времени заряжения мембраны (около 30 мс в нашем случае) [17]. На рис. 1 представлен пример экспоненциального распределения времен жизни мембран для приложенного электрического напряжения 200 мВ. Среднее время жизни мембраны определялось по методу максимального правдоподобия. На рис. 2 показан график распределения среднего времени жизни мембраны от приложенной разности электрических потенциалов в диапазоне от 200 до 375 мВ, а также указаны доверительные интервалы 95% для каждой величины среднего времени жизни. Из представленного графика видно, что в промежутке напряжений от 250 до 275 мВ наблюдается излом зависимости, который не может быть описан уравнением (3). Попытка аппроксимации экспериментальных данных этим уравнением дает величину $R^2 = 0.9786$, при этом видно, что значения в области 250–275 мВ даже с учетом погрешности определения среднего времени жизни не попадают на кривую аппроксимации. Можно предположить, что экспериментально наблюдаемое явление связано с проявлением электрострикции

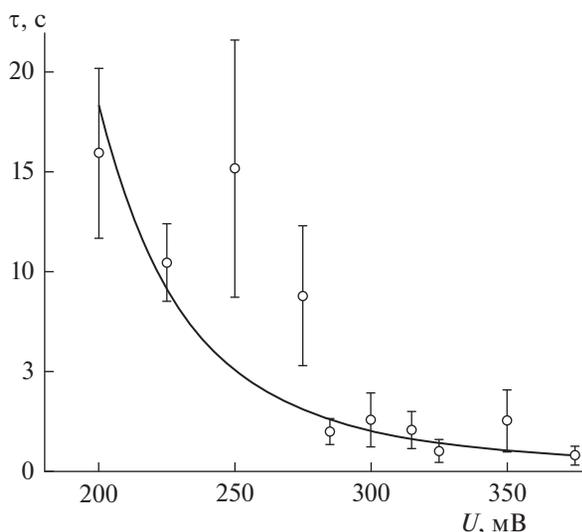


Рис. 2. Зависимость времени жизни мембран из ДОФХ от приложенного напряжения в диапазоне напряжений от 200 до 375 мВ. Каждая точка представляет собой среднее время жизни мембраны при данном значении напряжения, определенное по методу максимального правдоподобия. Для каждой точки на графике указан доверительный интервал 95%. Черная кривая – результат аппроксимации экспериментальных данных уравнением (3) с фиксированными параметрами $\sigma = 1.4$ мН/м и $C_{уд} = 0.27$ мкФ/см² и параметрами аппроксимации $\gamma = 5.4 \pm 1.4$ пН, $c_0AD = (3.4 \pm 0.5) \times 10^{-19}$ м²/с, найденными методом наименьших квадратов с $R^2 = 0.9786$.

мембраны во внешнем электрическом поле [26]. Однако, как указано в работе [26], коэффициент электрострикции для мембран, сформированных по методу Мюллера–Рудина из раствора липидов в декане, составляет примерно 1 В^{-2} . Таким образом, при изменении приложенного к мембране напряжения с 250 до 275 мВ мы будем наблюдать изменение ее электрической емкости менее чем на 1%, что вряд ли может привести к наблюдаемому в эксперименте росту среднего времени жизни мембраны почти в 4 раза.

Вид зависимости среднего времени жизни от напряжения (уравнение 3) был получен в работе [27] и опирается на результат, полученный в [28] при рассмотрении кинетики роста дефекта в мембране в предположении о том, что данную кинетику можно описывать некоторым случайным блужданием (диффузией) в пространстве радиусов дефектов (пор). Данное выражение для величины среднего времени жизни мембраны (уравнение 3) получается только при квадратичной зависимости энергии поры от ее радиуса (уравнение 2). Выражение для $\tau(U)$ представлено в виде произведения экспоненциального множителя (который в основном порядке и определяет вид кривой на рис. 2) и некоторого медленно меняющегося предэкспоненциального параметра перед ним.

Такой вид зависимости эквивалентен уравнению Аррениуса для кинетики химической реакции, т.е. возникает ввиду наличия энергетического барьера при переходе поры из состояния с $r = 0$ в состояние с $r = +\infty$. Однако в работах [13–15] было показано, что зависимость энергии проводящего дефекта E от его радиуса r не является квадратичной, а имеет два выраженных максимума при некоторых радиусах $r = r_1$ и $r = r_2$, $r_1 < r_2$. В обычных условиях (при $U = 0$) $E(r_2) > E(r_1)$, что говорит о том, что основной экспоненциальный вклад в среднее время жизни мембраны определяется энергетическим барьером при $r = r_2$. При приложении внешнего электрического напряжения U положение точек максимумов r_1 и r_2 смещается, а соответствующие энергии $E(r_1)$, $E(r_2)$ уменьшаются. Уменьшение этих энергий приводит к уменьшению времени жизни мембраны. Важно отметить, что поскольку $r_1 < r_2$, то энергия $E(r_2)$ с ростом напряжения уменьшается быстрее, чем $E(r_1)$, т.е. при некотором напряжении U^* будет выполняться, что $E(r_2) = E(r_1)$, и при $U > U^*$ энергия $E(r_1)$ будет определять время жизни мембраны [15]. Таким образом, можно ожидать, что зависимость времени жизни от напряжения будет иметь излом при $U \approx U^*$. В работе [15] в рамках теории упругости жидких кристаллов, адаптированной к липидным мембранам, для используемого в работе липида ДОФХ были произведены расчеты величин энергетических барьеров в зависимости от приложенной разности электрических потенциалов. Эти расчеты показали, что второй барьер (при $r = r_2$) исчезает при напряжении выше 200 мВ, что почти количественно совпадает с наблюдаемой в наших экспериментах областью излома на кривой зависимости среднего времени жизни мембраны от приложенного электрического напряжения.

Таким образом, можно сказать, что в диапазоне напряжений до и после 250–275 мВ значения времени жизни соответствуют разным величинам энергетических барьеров и потому не могут быть описаны единым параметром линейного натяжения кромки поры. В работах [14, 15] было показано, что линейное натяжение кромки поры не является константой, а представляет собой сложную немонотонную функцию радиуса поры и латерального натяжения. В этой связи приближение экспериментальной зависимости времени жизни мембраны от приложенного напряжения, представленной на рис. 2, даже двумя кривыми аппроксимации, описываемыми уравнением (3), с постоянными значениями линейного натяжения, теряет смысл, так как мы говорим о более сложном характере поведения системы, чем предсказанный классической теорией электропорации [24]. Кроме того, значительный разброс значений линейного натяжения, полученных различными мето-

дами в предположении о постоянстве этой величины [20], также подтверждает наш тезис о том, что линейное натяжение кромки поры является сложной функцией радиуса поры и характеристик экспериментальной системы, таких как латеральное натяжение мембраны, приложенная разность электрических потенциалов и т.д. Следовательно, классическая теория в принципе не может описать процесс формирования пор в мембранах вследствие сложной формы зависимости энергии поры от радиуса и, в частности, наличия двух энергетических барьеров в этом процессе. Для адекватного описания порации требуется построение модели, детально учитывающей весь энергетический профиль системы, а не один лишь эффективный постоянный параметр – линейное натяжение кромки поры – характеризующий его.

Благодарности. Авторы выражают благодарность С.А. Акимову и О.В. Кондрашову за помощь в осмыслении теоретической стороны работы.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям (проект “УМНИК-МФТИ-2021”, договор № 17386ГУ/2022).

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cunill-Semanat E., Salgado J. 2019. Spontaneous and stress-induced pore formation in membranes: Theory, experiments and simulations. *J. Membrane Biol.* **252**, 241–260.
- Yarmush M.L., Golberg A., Serša G., Kotnik T., Miklavčič D. 2014. Electroporation-based technologies for medicine: Principles, applications, and challenges. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **16**, 295–320.
- Golberg A., Sack M., Teissie J., Pataro G., Pliquett U., Saulis G., Stefan T., Miklavčič D., Vorobiev E., Frey W. 2016. Energy-efficient biomass processing with pulsed electric fields for bioeconomy and sustainable development. *Biotechnol Biofuels.* **9**, 94.
- Kotnik T., Frey W., Sack M., Haberl Meglič S., Peterka M., Miklavčič D. 2015. Electroporation-based applications in biotechnology. *Trends Biotechnol.* **33**, 480–488.
- Mahnič-Kalamiza S., Vorobiev E., Miklavčič D. 2014. Electroporation in food processing and biorefinery. *J. Membrane Biol.* **247**, 1279–1304.
- Derjaguin B.V. 1989. *Theory of stability of colloids and thin films*. New York, US: Springer, p. 258.
- Молотковский Р.Ю., Акимов С.А. 2009. Расчет линейного натяжения в различных моделях кромки поры в липидном бислое. *Биол. мембраны.* **26**, 149–158.
- Batishchev O.V., Alekseeva A.S., Tretiakova D.S., Galimzyanov T.R., Chernyadyev A.Yu., Onishchenko N.R., Volynsky P.E., Boldyrev I.A. 2020. Cyclopentane rings in hydrophobic chains of a phospholipid enhance the bilayer stability to electric breakdown. *Soft Matter.* **16**, 3216–3223.
- Glaser R.W., Leikin S.L., Chernomordik L.V., Pastushenko V.F., Sokirko A.I. 1988. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers: Formation and evolution of pores. *Biochim. Biophys. Acta.* **940**, 275–287.
- May S. 2000. A molecular model for the line tension of lipid membranes. *Eur. Phys. J.* **3**, 37–44.
- Bennett W.F.D., Sapay N., Tieleman D.P. 2014. Atomistic simulations of pore formation and closure in lipid bilayers. *Biophys. J.* **106**, 210–219.
- Awasthi N., Hub J.S. 2016. Simulations of pore formation in lipid membranes: Reaction coordinates, convergence, hysteresis, and finite-size effects. *J. Chem. Theory Comput.* **12**, 3261–3269.
- Akimov S.A., Mukovozov A.A., Voronina G.F., Chizmadzhev Yu.A., Batishchev O.V. 2014. Line tension and structure of through pore edge in lipid bilayer. *Biochem. (Moscow) Suppl. Ser. A.* **8**, 297–303.
- 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.
- 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.
- Hamm M., Kozlov M.M. 2000. Elastic energy of tilt and bending of fluid membranes. *Eur. Phys. J. B.* **6**, 519–528.
- Панов П.В., Акимов С.А., Батищев О.В. 2014. Изопреноидные цепи липидов повышают устойчивость мембран к формированию сквозных пор. *Биол. Мембраны.* **31**, 331–335.
- Batishchev O.V., Indenbom A.V. 2008. Alkylated glass partition allows formation of solvent-free lipid bilayer by Montal–Mueller technique. *Bioelectrochem.* **74**, 22–25.
- Karal M.A.S., Ahamed Md.K., Rahman M., Ahmed M., Shakil Md.M., Siddique-e-Rabbani K. 2019. Effects of electrically-induced constant tension on giant unilamellar vesicles using irreversible electroporation. *Eur. Biophys. J.* **48**, 731–741.
- Portet T., Dimova R. 2010. A new method for measuring edge tensions and stability of lipid bilayers: Effect of membrane composition. *Biophys. J.* **99**, 3264–3273.
- Wu M., Ke Q., Bi J., Li X., Huang S., Liu Z., Ge L. 2022. Substantially improved electrofusion efficiency of hybridoma cells: Based on the combination of nano-

- second and microsecond pulses. *Bioengineering (Basel)*. **9**, 450.
22. Mueller P., Rudin D.O., Tien H.T., Wescott W.C. 1963. Methods for the formation of single bimolecular lipid membranes in aqueous solution. *J. Phys. Chem.* **67**, 534–535.
 23. Абидор И.Г., Айтьян С.Х., Черномордик Л.В., Черный В.В., Чизмаджев Ю.А. 1980. Определение внутримембранного падения потенциала с помощью потенциодинамического метода. *Докл. АН СССР*. **245**, 977–981.
 24. Weaver J.C., Chizmadzhev Yu.A. 1996. Theory of electroporation: A review. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **41**, 135–160.
 25. Lafarge E.J., Muller P., Schroder A.P., Zaitseva E., Behrends J.C., Marques C.M. 2023. Activation energy for pore opening in lipid membranes under an electric field. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **120**, e2213112120.
 26. Alvarez O., Latorre R. 1978. Voltage-dependent capacitance in lipid bilayers made from monolayers. *Biophys J.* **21**, 1–17.
 27. Pastushenko V.F., Chizmadzhev Yu.A., Arakelyan V.B. 1979. Electric breakdown of bilayer lipid membranes II. Calculation of the membrane lifetime in the steady-state diffusion approximation. *Bioelectrochem. Bioenerg.* **6**, 53–62.
 28. Зельдович Я.Б. К теории образования новой фазы. Кавитация. 1942. *ЖЭТФ*. **12**, 525–538.

Lipid Membrane Electroporation Cannot Be Described by the Constant Line Tension Model of the Pore Edge

P. K. Gifer^{1, 2, *}, O. V. Batichev¹

¹*Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

²*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow oblast, 141700 Russia*

*e-mail: gifer.pk@phystech.edu

We have studied the process of electroporation of bilayer lipid membranes (BLMs) from dioleoylphosphatidylcholine (DOPC). We obtained experimental data on the average lifetime of the membrane as a function of applied voltage in the range of 200–375 mV. The analysis of the data obtained showed that the dependence is nonmonotonic and cannot be described in terms of the classical theory of electroporation. These results are consistent with modern models of the process of through conductive pores formation in a membrane. The above models imply a complex pore energy profile and its dependence on membrane tension and external electric field. Thus, we have shown that the classical theory of electroporation does not satisfy the experimentally observed dependencies of the average membrane lifetime on the applied potential difference and requires further refinement.

Keywords: lipid membrane, BLM, electroporation, line tension, dioleoylphosphatidylcholine, pore energy