

Dominika Augustyńska

“The influence of selected carotenoids on mesomorphic phase behaviour of model membranes”

Streszczenie

Karotenoidy to powszechnie spotykana grupa związków, pełniących ważne fizjologiczne funkcje w organizmach roślin, zwierząt, bakterii, jak również ludzi. Chociaż ich rola, jako modyfikatorów fizycznych własności błon modelowych i naturalnych, była przedmiotem intensywnych badań, wciąż brakuje informacji na temat wpływu tych związków na własności mechaniczne błon.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu wybranych karotenoidów na własności adhezyjne błon modelowych. Wybrano związki reprezentujące obie grupy karotenoidów: karoteny (β -karoten) i ksantofile (zeaksantyna i wiolaksantyna). Jako układ modelowy wykorzystano wielowarstwowe liposomy zbudowane z dipalmitoylofosfatydylocholiny (DPPC). Przy pomocy różnicowej kalorymetrii skaningowej oraz mikroskopii sił atomowych scharakteryzowano fazowe, strukturalne i adhezyjne własności badanych układów.

W przypadku wszystkich zbadanych układów, parametry obu zaobserwowanych termotropowych przejść fazowych były zbliżone do danych literaturowych. Wbudowany w błonę liposomów β -karoten nie wpływa znacząco na ich charakterystykę fazową. Natomiast obecność zeaksantyny powoduje spadek kooperatywności głównego przejścia fazowego oraz przesunięcie przedprzejścia w stronę niższych temperatur. Zeaksantyna wpływa na organizację dwuwarstwy lipidowej, w szczególności w fazie żelowej. Oddziaływania pomiędzy cząsteczkami lipidów są stabilizowane przez dodatkowe wiązania wodorowe, w tworzenie których są zaangażowane grupy hydroksylowe zlokalizowane na końcach cząsteczki zeaksantyny. Wpływa to na powiększenie się klastrów obecnych w błonie, które mogą ponadto wykazywać pewien rozrzut wielkości oraz cechować się większą elastycznością.

Kształt liposomów obrazowanych w trybie kontaktowym i bezkontaktowym był podobny. Adhezja między liposomami a podłożem była dużo większa niż siły boczne związane z przesuwaną się sondą AFM. Siły te mogą spowodować deformację liposomów, która jednak nie jest trwała w przypadku liposomów w fazie żelowej. Rodzaj deformacji zależy od tego, czy liposomy są obrazowane w powietrzu, czy w cieczy. Ponadto pokazano, że proces suszenia może wpływać destrukcyjnie na większe liposomy, podczas gdy te o małych rozmiarach przeważnie pozostają stabilne.

Obecność β -karotenu, zeaksantyny lub wiolaksantyny w błonie liposomów w stężeniu do 1 mol% nie wpływa znacząco na ich morfologię. Jednak w przypadku długiej inkubacji zawarty w błonie β -karoten sprzyja przekształceniu się liposomów zaadsorbowanych na powierzchni szkła lub krzemu w płaską warstwę.

Badania własności adhezyjnych błon koncentrowały się na ustaleniu zależności sił adhezji od temperatury. Zależność ta dla liposomów badanych w powietrzu ma inny przebieg

i jest zdecydowanie większa niż w przypadku pomiaru w cieczy. Próbka wystawiona na działanie powietrza jest pokryta cienką warstwą wody, a kontakt sondy AFM z badaną powierzchnią powoduje powstawanie tzw. mostków wodnych. Indukowane w ten sposób siły kapilarne stanowią duży przyczynek do całkowitej rejestrowanej siły. Eksponencyjny spadek siły na skutek wzrastającej temperatury jest wynikiem odparowywania wody z powierzchni próbki. Z kolei zależność adhezji od temperatury mierzona w wodzie jest prawie stała, z niewielkimi odchyleniami. Jest tak dlatego, że siły obserwowane w ciekłym medium pochodzą wyłącznie od oddziaływań pomiędzy sondą AFM a liposomem.

Pokazano, że wszystkie badane karotenoidy podnoszą średnią wartość obserwowanych sił adhezji w porównaniu do układu zawierającego jedynie DPPC. Można wywnioskować, że wzrosła mechaniczna wytrzymałość błony, a zatem również jej odporność na zerwanie. W przypadku ksantofili efekt ten jest jeszcze silniejszy, co jest skutkiem dodatkowych oddziaływań pomiędzy ich grupami polarnymi a hydrofilowymi głowami cząsteczek lipidów.

Badania zależności między adhezją a siłą podchodzenia sondy AFM pozwoliły stwierdzić, że obecne w błonie klastry lipidów mogą mieć różne rozmiary. Skład liposomów, czas inkubacji oraz temperatura to czynniki modyfikujące te dynamiczne domeny.

Pomiary adhezji ujawniły występowanie bifurkacji w badanych błonach modelowych. Adhezja może rozdzielić się na dwa, a nawet trzy stany. Bifurkacje pojawiają się w pewnych zakresach temperatury i siły podchodzenia, różnych w zależności od rodzaju próbki. Najczęściej obserwowane są w przypadku liposomów zawierających β -karoten oraz okazjonalnie w przypadku liposomów zawierających tylko DPPC. Można wywnioskować, że krótkodystansowe oddziaływania pomiędzy węglowodorowymi łańcuchami lipidów, a β -karotenem podnoszą lokalną kooperatywność wiązań międzycząsteczkowych i stabilizują pojawiające się w błonie domeny.

Należy nadmienić, że zarówno organizacja warstw liposomów, jak i lipidów wewnątrz tych warstw nie jest trwała i każda zmiana w zakresie preparatyki, warunków przechowywania i parametrów pomiarowych może znacząco wpłynąć na ich własności.