

Liposzómák viselkedése szilárd felületek mentén

Tézispontok

Takáts-Nyeste Annamária



Témavezető: Dr. Derényi Imre

egyetemi tanár

ELTE Biológiai Fizika Tanszék

Budapest, 2016.

Motiváció

A foszfolipid kettősrétegek fontos szerepet játszanak a gyógyszerészeti és biotechnológiai kutatásokban egyaránt. Lipid kettősrétegek egyik előállítási módja, hogy oldatban lévő liposzómákat juttatnak szilárd hordozók közelébe, amire rá is tapadnak, ha az energetikailag kedvező. Az ilyen kitapadt vezikulumok spontán szétterülnek a felszínen, és létrejön a szilárd hordozóra felvitt lipid kettősréteg (supported lipid bilayer, vagy SLB). Annak ellenére, hogy a lipid kettősrétegek használata széles körben elterjedt és számtalan kísérleti eredmény áll a rendelkezésünkre a fenti folyamattal kapcsolatban, a jelenség elméleti leírása igen hiányos.

A liposzómák spontán dekompozíciója során bekövetkező kettősréteg-képződés elméleti vizsgálata egyrészt azért fontos, hogy a fenti folyamathoz szükséges feltételeket meg lehessen határozni, másrészt azért, mert a fenti folyamat tanulmányozására használt kísérleti módszerek tér- és időbeli felbontása nem elég nagy ahhoz, hogy minden egyes részfolyamatot részleteiben lehessen vizsgálni.

Doktori disszertációm témája a liposzómák kitapadásával kapcsolatos jelenségek elméleti hátterének feltárása. Témavezetőm segítségével felállítottunk egy túleszillapított dinamikán alapuló modellt arra, hogy a liposzómák miként terülnek szét egy szilárd hordozó mentén. Emellett azt is vizsgáltuk, hogy a szilárd hordozó egyes felületi tulajdonságai hogyan befolyásolják a fenti folyamatot.

Következtetések

1. Felállítottunk egy modellt a liposzómák kitapadásának értelmezésére

A modellünkben összegeztük az eddigi megfigyeléseket: szilárd hordozóra kitapadt, gömbsüveg alakú liposzómák membránjában sztochasztikusan nyílhatnak pórusokon, melyeken keresztül a Laplace-nyomás következtében a liposzóma elveszíti térfogatának egy részét. Ez a térfogatcsökkenés egyidejűleg vezet a pórus záródásához, illetve a kitapadt terület növekedéséhez. Ha az utóbbi folyamat a gyorsabb, a liposzóma kiterül és kettősréteget képez a szilárd hordozón. Ellenkező esetben a pórus visszazárul, és az egész folyamat kezdődik előlről. A modell három dinamikai változója, melyek időfejlődését egy-egy elsőrendű lineáris differenciálegyenlet ír le, a vezikulum térfogata, a pórus sugara, valamint a kitapadt terület sugara, amelyeket a vezikulum geometriáján keresztül a membrán felületi feszültsége kapcsol össze.

Két közelítést alkalmaztunk a modell felállítása során: i) feltételeztük, hogy a membrán felületi feszültsége homogén, ez a közelítés csak nagyon nagy (1 mm átmérő felett) liposzómák használata során romlik el, a legtöbb kísérleti összeállításban megállja a helyét; ii) feltételeztük, hogy a vezikulum geometriája a teljes folyamat során gömbsüveggel írható le, ez csak kiterülés folyamatának legvégén nem tehető meg, de ebben a fázisban a kiterülés már mindenképpen megtörténik.

A modellt numerikusan oldottuk meg, eredményeink alapján a következő következtetéseket tudtuk levonni:

- a) A használt paraméterek reális tartományon belüli

változtatásával sikerült több kísérleti eredményt is reprodukálni, ezek közül a legfontosabbak:

- felület és a membrán közötti adhézió erősségétől függően a vezikulumok kiterültek vagy sem,
- a vezikulum méretének növelésével nőtt a kiterülés valószínűsége,
- a kiterülés időskálája a megfigyelt időtartományba esett.

b) Megmutattuk, hogy a kiterülés folyamata nagyon érzékeny a vezikulum kezdeti geometriájára, ami megmagyarázza azt a jelenséget, hogy néhány vezikulum gyorsan kiterül, némelyek pedig megrekednek ebben a folyamatban.

c) Ozmotikus sokk alkalmazásával lehet segíteni a kezdeti geometria okozta megrekedésen, de ha egy teljesen gömb alakú vezikulum nem tud kiterülni az adott paraméterek mellett, akkor ez nem fogja tudni megoldani a problémát.

2. Az alapmodellünket kiterjesztettük a membrán-membrán kölcsönhatások figyelembevételével

Amennyiben energetikailag kedvező, megengedtük az egymáshoz közel eső membránfelületek közötti adhéziót, és így a gömbsüveg körül egy dupla kettősrétegű karima alakult ki. Ez egy további dinamikai változót (a belső gömbsüveg sugara), ad hozzá az eredeti modellhez. Az így kiterjesztett modell numerikus megoldása a következőkre enged következtetni:

a) Megfigyeltük, hogy a kiterülés során mindig létrejön egy tranziens dupla kettősréteg. Az esetek többségében ennek az időtartama nagyon rövid, ezért kísérletesen szinte észrevehetetlen.

b) A paraméterek változtatásával sikerült hosszú életidejű dupla kettősrétegeket megfigyelni, ám ehhez nagyon finoman kellett hangolni a paramétereket.

c) Azzal a feltételezéssel élve, hogy egy kicsi pórus mindig nyitva van a membránon a kitapadási él mellett, széles paramétertartományban detektálható hosszú életidejű dupla kettősrétegeket sikerült megfigyelni, ami egybevág a kísérleti tapasztalatokkal.

3. Meghatároztuk, hogy mennyiben változtatja meg a pórusképződés aktivációs energiáját, ha az a kitapadási front mellett nyílik

Számításaink során a legkisebb aktivációs energiához tartozó geometriát határoztuk meg, ami a rendszer instabil egyensúlyi helyzete. Figyelembe vettük, hogy ebben az esetben a pórusképződés a kitapadt él menti görbület megszűnését eredményezi, illetve azt, hogy a keletkező szabad membránél egy közeli membránéllal egybeolvadhat. Ezek a következőkre vezettek:

a) Megmutattuk, hogy a kitapadási él menti pórusképződésnek mindig kisebb az energiája, mint akkor, amikor a pórus a vezikulum „tetején” nyílik.

b) Ha a pórus olyan helyen nyílik, ahol egy szabad

membránél is van, akkor a pórusnyílás aktivációs energiája 0. Ezt támasztja alá az a megfigyelés is, hogy a kettősréteg-képződés jelentősen felgyorsul az első vezikulum kiterülése után.

c) Ez a következőkben befolyásolja az eredeti modellünket: i) a pórusképződés rátájánál ezt az „új” aktivációs energiát kell figyelembe venni, ii) a kitapadási front haladása nem izotróp, de ennek csak a kitapadás folyamatnak legvégén van jelentősége.

4. Tanulmányoztuk azt a jelenséget, amikor egy lyuk, úgynevezett nanopórus található a felületen

Számításaink során azt feltételeztük, hogy a nanopórus belsejében más az adhéziós energia értéke, mint a szilárd hordozó felszínén, a vezikulum felülete és térfogata állandó, illetve a görbületi energiát elhanyagoltuk. Analitikus számításokkal (erők egyensúlya) meghatároztuk az energiaminimumhoz tartozó geometriát, amik a következőkre vezettek:

a) A nanopórus és a vezikulum sugarának függvénye, hogy milyen adhéziós energiaértékek mellett történik meg a nanopórus feletti kifeszülés.

b) Megmutattuk, hogy a vezikulum méretétől függetlenül akkor lehet a nanopórus felett kifeszülő membránokat létrehozni, ha annak belsejében lévő adhéziós energia legfeljebb a fele a nanopóruson kívüli adhéziós energiának.

Publikációs lista

A doktori disszertáció témájában megjelent közlemények:

Takáts-Nyeste Annamária és Derényi Imre: Rupture of lipid vesicles near solid surfaces. *Physical Review E*, Volume 90, Page 052710, 2014. DOI: 10.1103/PhysRevE.90.052710

Takáts-Nyeste Annamária és Derényi Imre: Development of Hat-Shaped Liposomes on Solid Supports. *Langmuir*, in press, 2014. DOI: 10.1021/la503774t

A doktori disszertáció témájában előkészületben lévő közlemények:

Takáts-Nyeste Annamária és Derényi Imre: Formation of nanopore-spanning lipid bilayers. To be submitted

Derényi, Imre and *Takáts-Nyeste, Annamária*: Pore formation along the contact line of surface-adhered liposomes. Submitted to *Langmuir*

Egyéb közlemények:

Horváth Gábor, Csapó Adelinda, *Nyeste Annamária*, Gericz Balázs, Csorba Gábor és Kriska György: Erroneous quadruped walking depictions in natural history museums. *Current Biology*, Volume 19, Issue 2, Pages R61-R62, 2009. DOI: 10.1016/j.cub.2008.12.011

Takáts-Nyeste Annamária és Derényi Imre: Vesicle rupture in

the presence of charged surface and lipids. To be submitted