

Inkaruotų lipidų membranų struktūriniai tyrimai neutronų refleksometrijos metodu.

Structural Investigation of Tethered Bilayer Lipid Membranes by Neutron Reflectometry

Martynas Gavutis¹, Luke Clifton², Nico Paracini³, Ramūnas Valiokas¹

¹VMTI Fizinių ir technologijos mokslų centras, Nanoinžinerijos skyrius, Savanorių pr. 231, 02300 Vilnius

²ISIS Pulsed Neutron and Muon Source, Science and Technology Facilities Council, Rutherford Appleton Laboratory, Harwell Science and Innovation Campus, Didcot, Oxfordshire OX11 0QX, U.K.

³Institute for Cell and Molecular Biosciences, Newcastle University, Framlington Place, Newcastle upon Tyne, NE2 4HH, United Kingdom.

martynas.gavutis@ftmc.lt

Mes pristatome inkaruotų lipidų membranų eksperimentinę sistemą skirtą tirti lipidų ir lipidų dvisluoksnyje lokalizuotų membraninių baltymų sąveikas.

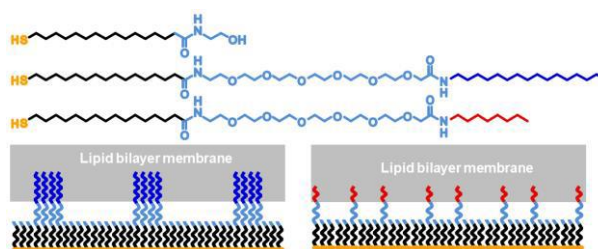
Paausotą substratą funkcionalizavome dviejų rūšių savaime susirenkančiais monosluoksniais (angl. self-assembled monolayers, SAMs). SAMus sudarė ilgose hidrofobines inkaruojančias grupes turinčios molekulės ir trumpos paviršių pasyvuojančios molekulės. Priklausomai nuo hidrofobinio inkaro ilgio inkaruojančios molekulės buvo atsitiktinai pasklidusios SAMo paviršiuje arba segreguodavo į inkaruojančių molekulių nanoklasterius [1] sudarytus ir >40 molekulių [2].

Skysčio celėje įleidus lipidų vezikulių tirpalą ant abiejų rūšių SAMų susiformavo inkaruotos lipidų membranos. Inkaruojančių grupių vaidmuo skleidžiantis vezikulėms buvo ištirtas naudojant kvarco kristalo mikrogravimetrijos su disipacijos stebėjimu (angl. Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring, QCM-D) ir molekulinės dinamikos (angl. Molecular Dynamics, MD) metodus [3]. Paaiškėjo, kad hidrofobiniai inkarai ar jų nanoklasteriai įsiskverbia į adsorbavusias vezikules, jas destabilizuoja ir skatina plyšimą vedantį link plokščio inkaruoto lipidų dvisluoksniu susiformavimo. Taip pat nustatėme, kad užtenka labai mažo paviršinio hidrofobinių inkarų tankio (kelių mol%) norint suformuoti lipidų dvisluoksni, todėl mūsų pristatoma eksperimentinė sistema gali būti vadinama minimaliai inkaruojančia (angl. minimum tethering system).

Šiame darbe mes nustatėme pusiausvyrinės inkaruotos membranos struktūrą naudodami neutronų refleksometrijos metodą. Neutronų refleksometrija yra ypač tinkama tirti hidratuotus paviršinius sluoksnius ir ko gero yra vienintelis metodas leidžiantis tiesiogiai tirti paslėptus vandens sluoksnius (angl. hidden aqueous interphase). Tyrimo metu mes nustatėme inkaruotų lipidų dvisluoksnių vertikaliąją struktūrą ant abiejų tipų SAMų. Įtikinamai pademonstravome, kad lipidų dvisluoksnis nuo SAMo paviršiaus yra atskirtas vandens tarpine (angl. water interlayer), kurios storis <1nm (pav.1). Tikėtina, kad keičiant inkaruojančios molekulės struktūrą galima būtų vandens tarpinės storį didinti arba mažinti.

Galiausiai mes pademonstravome mūsų sistemos tinkamumą tirti sudėtingas biologines sistemas. Mums pavyko suformuoti inkaruotą lipidų membraną su į ją įterptu porinu OmpF (angl. outer membrane protein F).

Apibendrinant, mūsų ląstelių membranas imituojanti eksperimentinė sistema yra tinkama kiekybiniam ląstelių membranose vykstančių sąveikų tyrimams.



1 pav. SAMų formavimui naudotų molekulių cheminės struktūros (viršuje). Inkaruotų lipidų membranų struktūrų piešiniai (apačioje viduryje).

Literatūra

- [1] H. H. Lee, M. Gavutis, Ž. Ruželė, R. Valiokas, B. Liedberg, J. Phys. Chem. B **122**, 8201 (2018).
- [2] E. Schulze and M. Stein, J. Phys. Chem. B **122**, 7699 (2018).
- [3] M. Gavutis, E. Schulze-Niemand, H. H. Lee, B. Liedberg, M. Stein, R. Valioka, Nanoscale **15**, 9759 (2023).

Reikšminiai žodžiai: Savaime susiorganizuojantys monosluoksniai, inkaruotos lipidų membranos, neutronų refleksometrija, paviršinė architektūra.