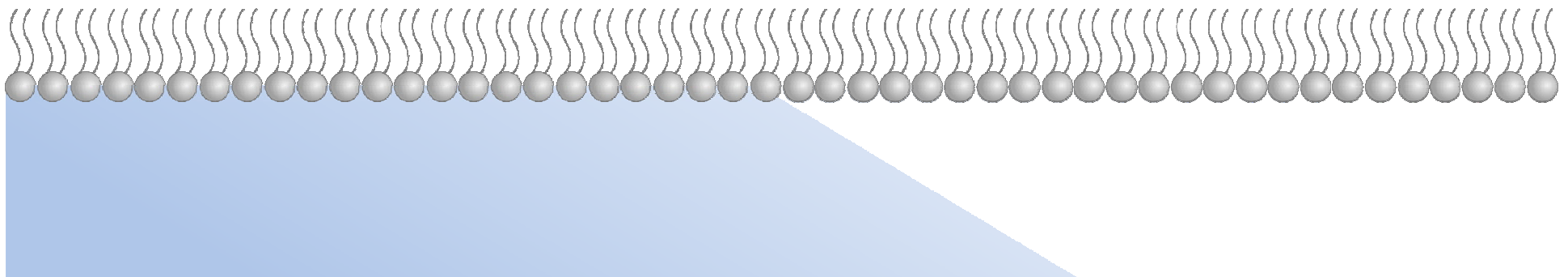


Langmuirjev monosloj kot model biološke membrane

Tina Ilc

2. junij 2011



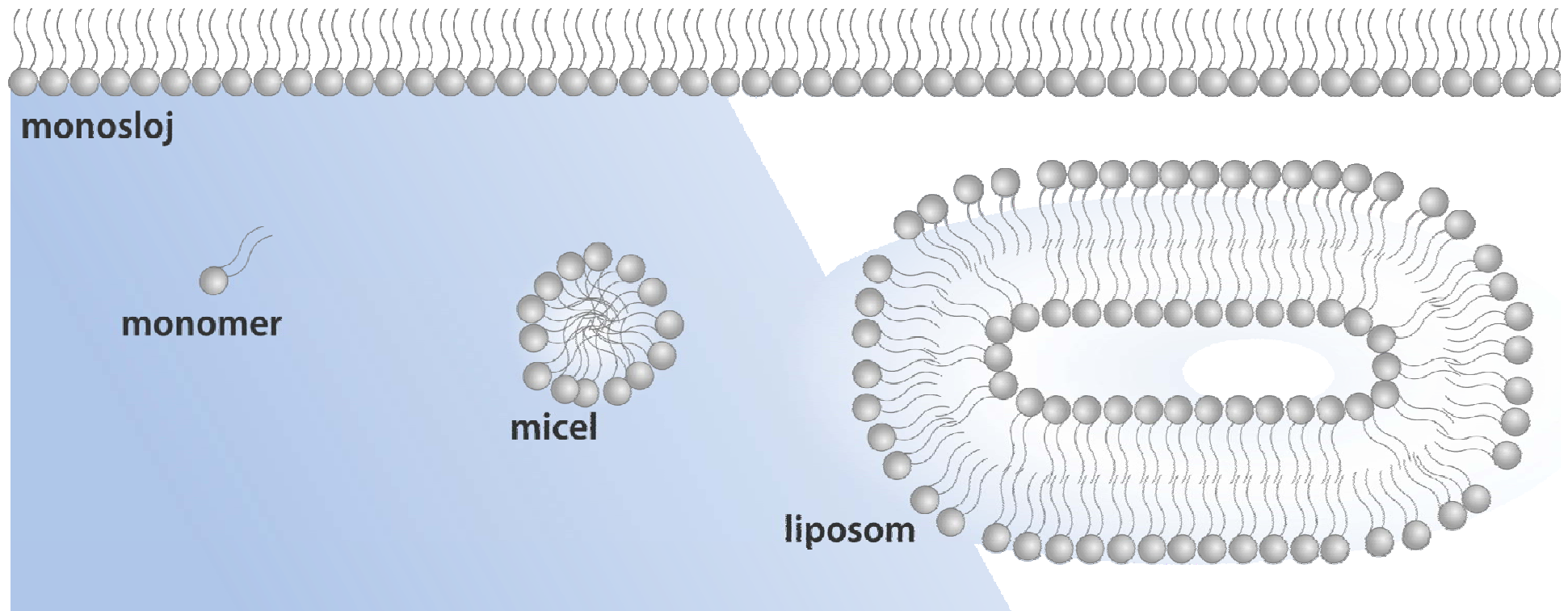
Modeli bioloških membran

LIPOSOM

- težko spreminjamo lipidno sestavo neodvisno od ukrivljenosti, faznega stanja, gostote pakiranja;
- lastnosti odvisne od načina priprave;
- ne poznamo natančne geometrije.

MONOSLOJ

- dvosloj ni samo vsota dveh monoslojev;
- merimo povprečje po celotni površini;
- velika poraba proteina.



Površinska napetost



Zaradi površinske napetosti se površina kapljevine obnaša kot prožna plošča.

Surfaktanti so snovi, ki znižajo površinsko napetost vode.

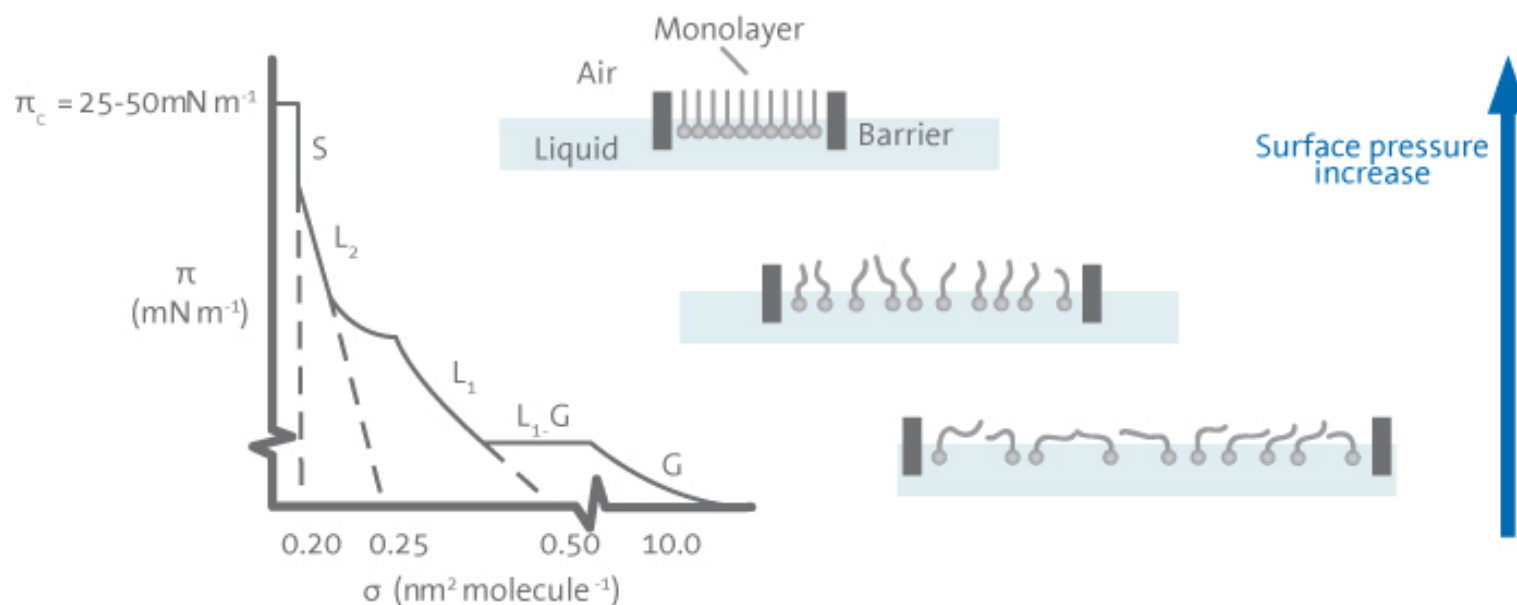
Površinski tlak je količina, sorazmerna površinski napetosti na naslednji način:
površinski tlak = konst. – površinska napetost

Enostavno **merjenje površinskega tlaka** z Wilhelmyjevo ploščico.

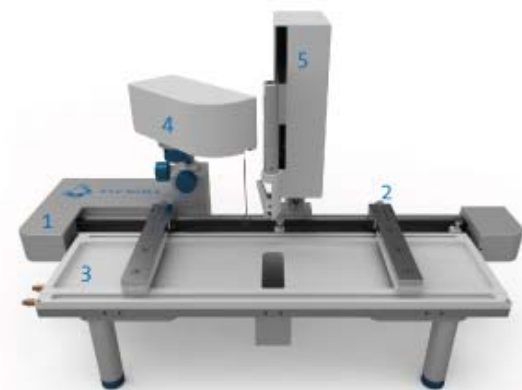
Površinska napetost je odvod **proste energije** po površini pri konstantni temperaturi.

$$\gamma = \left(\frac{\partial A}{\partial a} \right)_T$$

Faze v monosloju

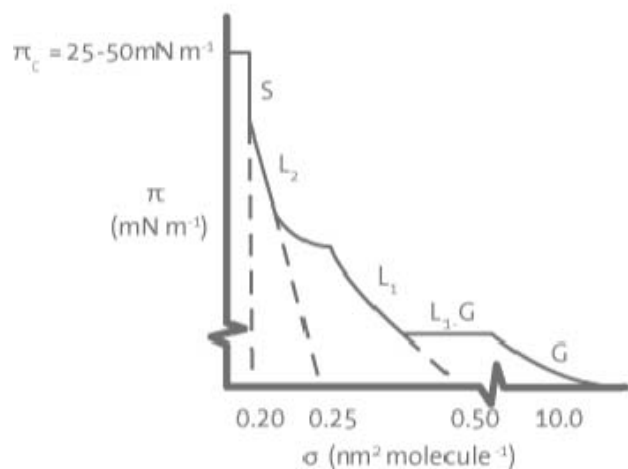


- G – dvodimenzionalni plin
- L₁ – tekoča ekspanzirana faza
- L₂ – tekoča kondenzirana faza
- S – trdna faza
- kritični pritisk – deformacija monosloja



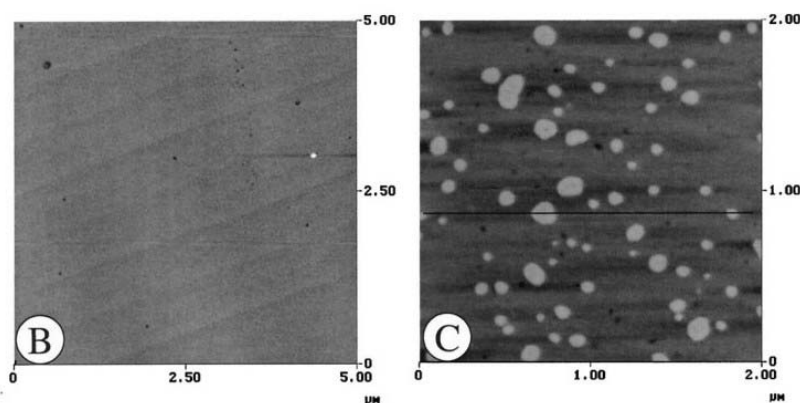
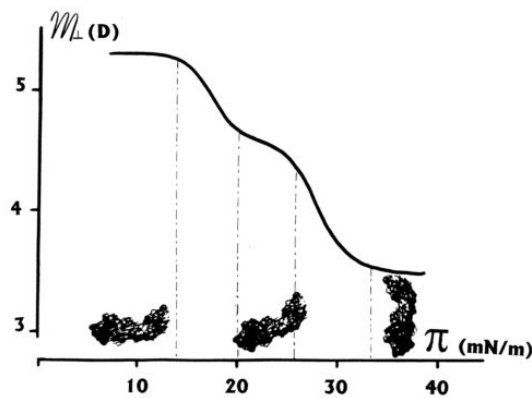
Langmuir-Blodgett korito

Metode za proučevanje monoslojev

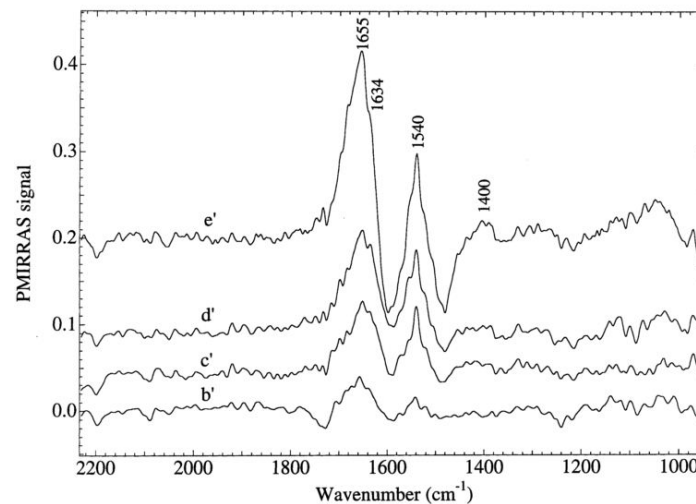


Merjenje površinskega pritiska

Merjenje
mejnega
površinskega
potenciala

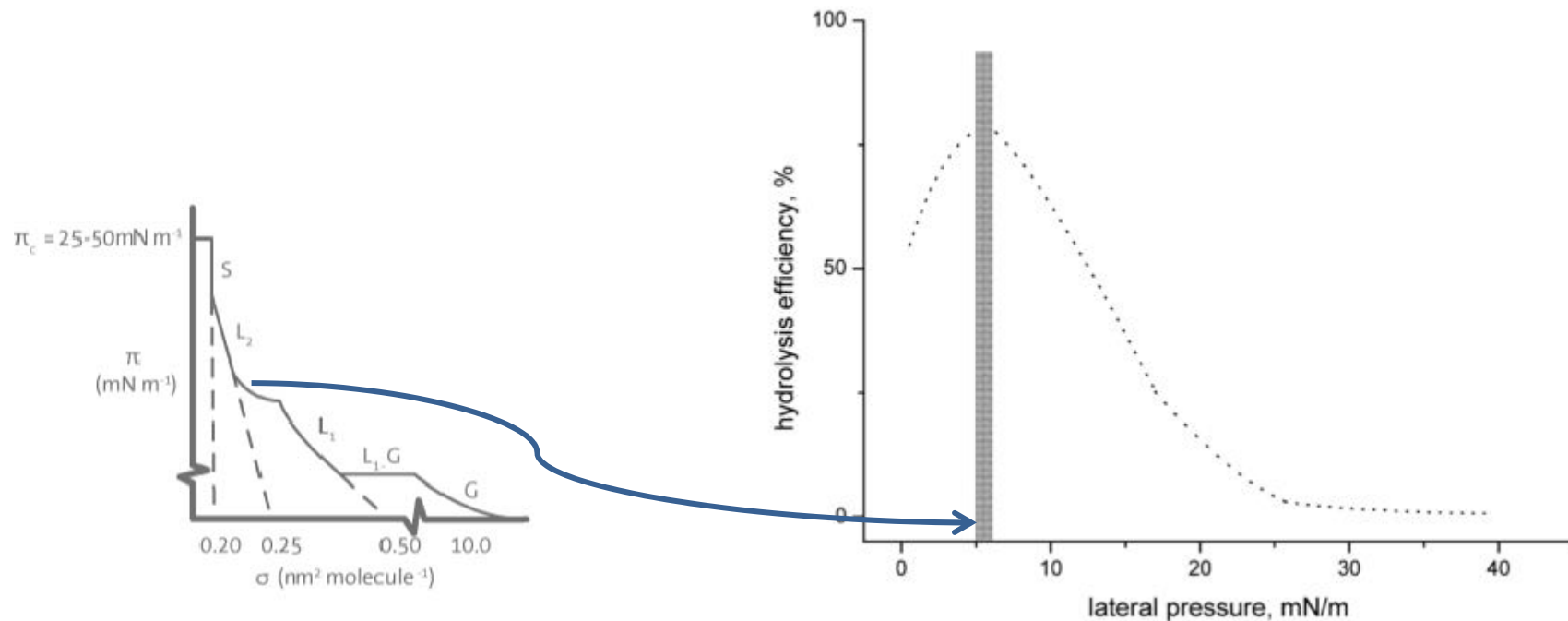


Mikroskopske metode



Spektroskopske metode

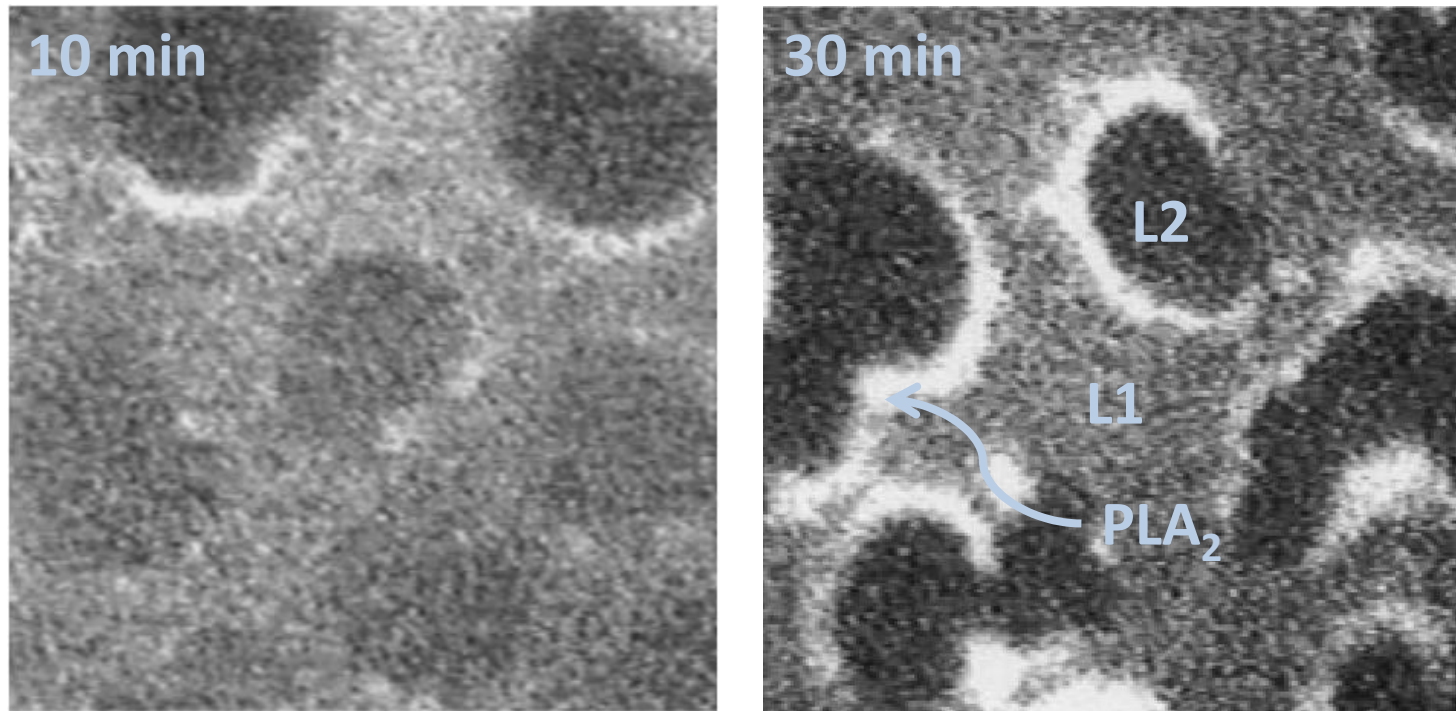
1. primer: Delovanje fosfolipaze



Odvisnost učinkovitosti hidrolize fosfolipidnega monosloja od površinskega tlaka. Fosfolipaza je iz strupa tekšaške klopotače.

Območje največje učinkovitosti hidrolize je območje faznega prehoda med tekočo ekspanzirano (L1) in tekočo kodenzirano fazo (L2).

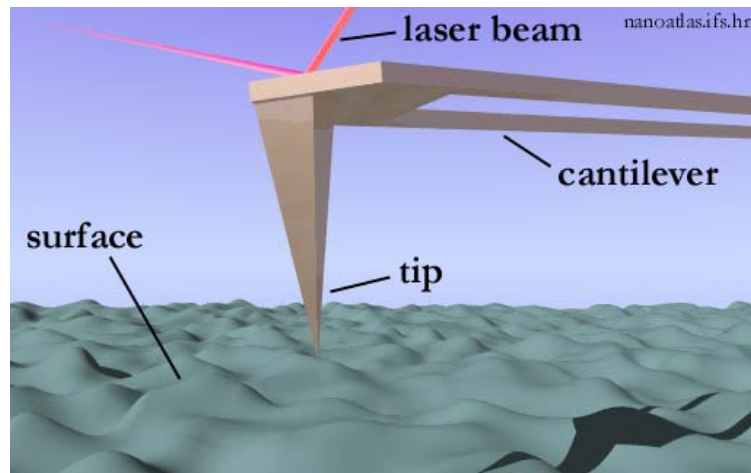
1. primer: Delovanje fosfolipaze (2)



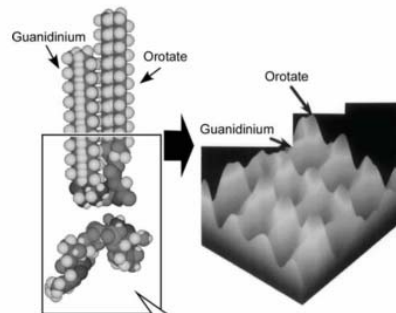
Fosfolipaza je bila derivatizirana s fluorescentnim barvilom in inicirana v podfazo d-DPPC monosloja s površinskim pritiskom, ki ustreza faznemu prehodu med tekočo ekspanzirano in tekočo kondenzirano fazo.

2. primer: Lateralne domene (1)

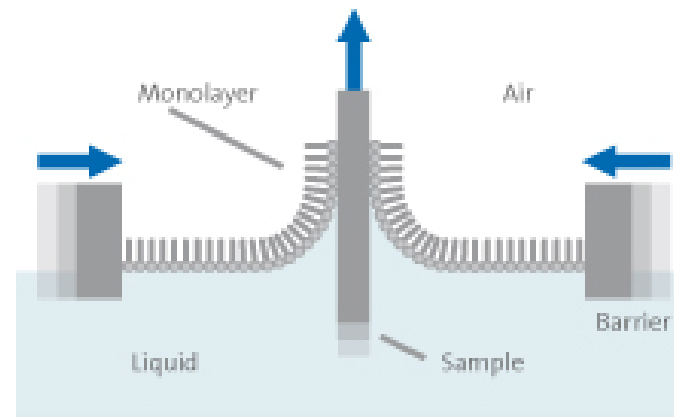
Mikroskopija na atomsko silo (AFM)



Omogoča opazovanje struktur, manjših od nanometra. Vendar morajo biti te na trdni podlagi.

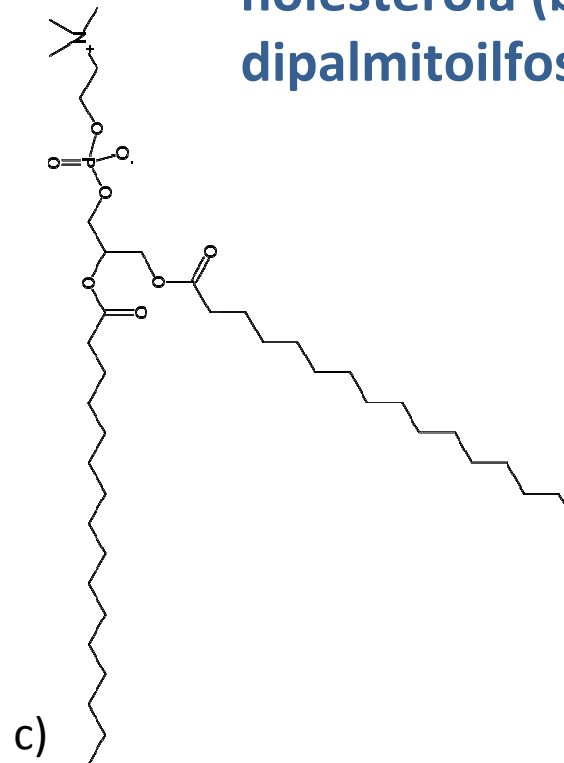
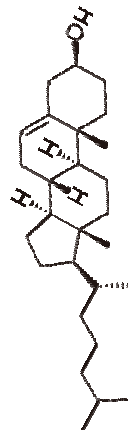
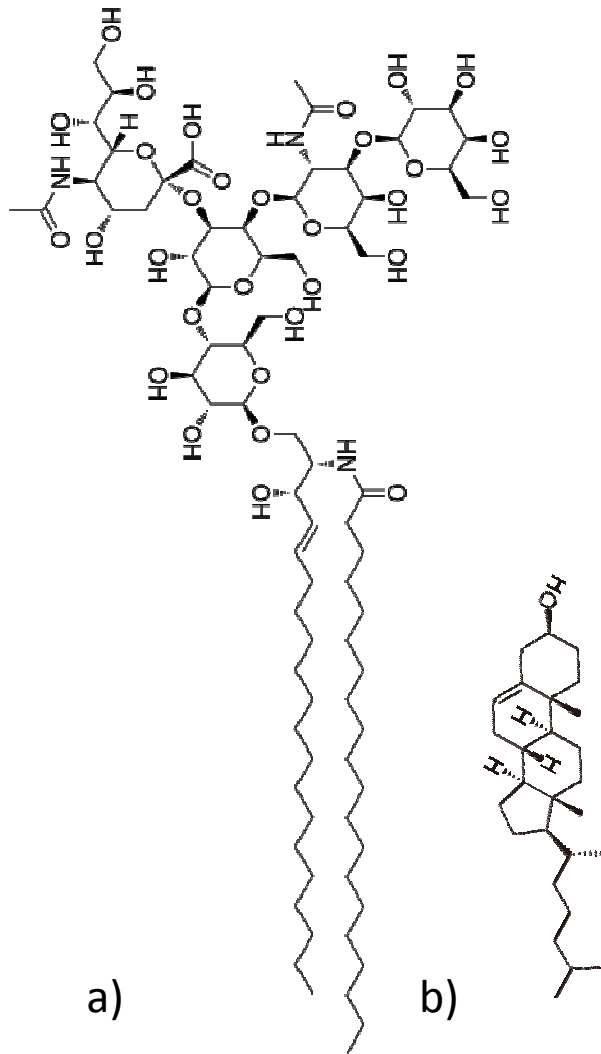


Langmuir-Blodgett depozicija



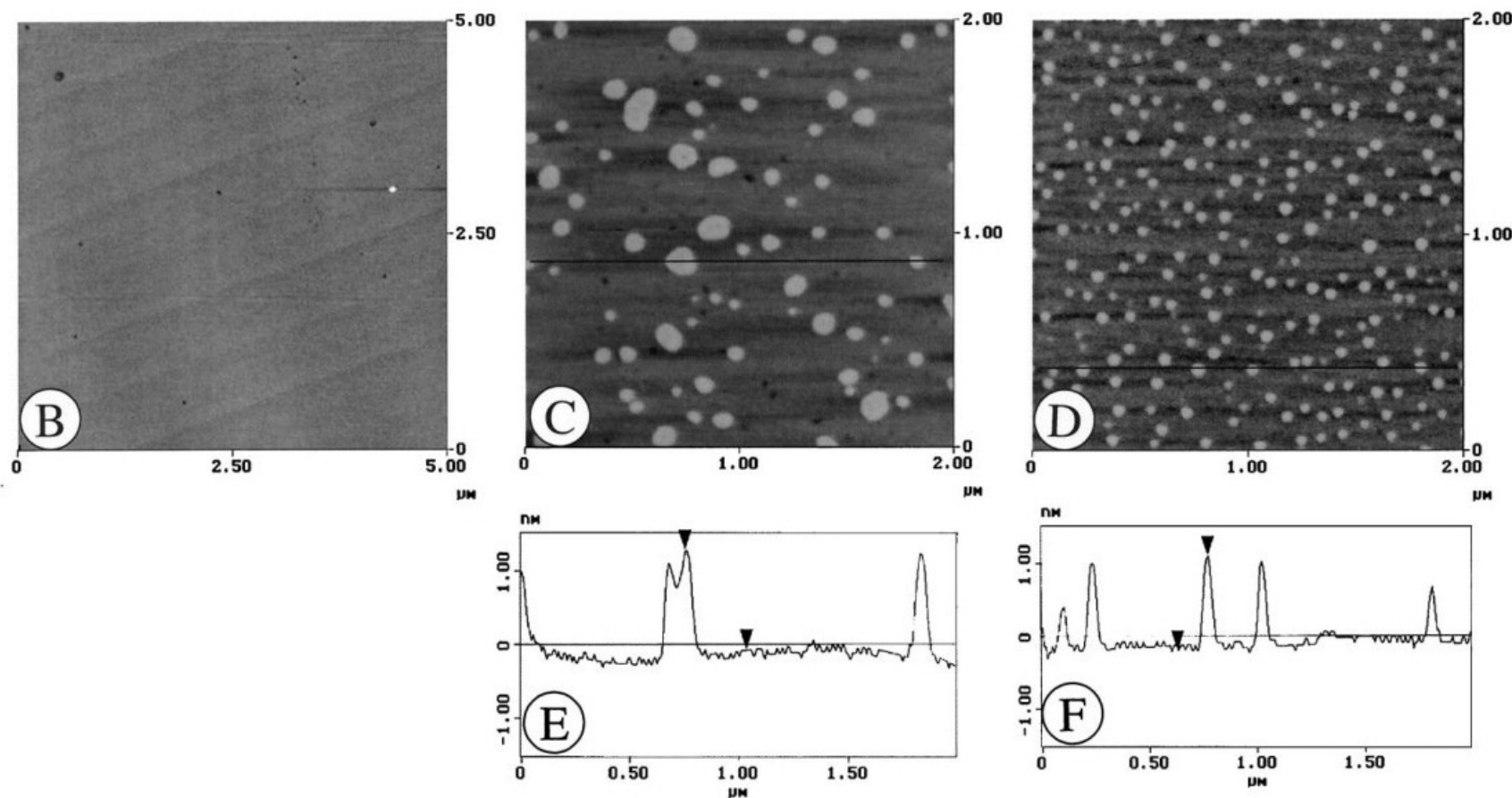
Omogoča prenos monosloja z vodne površine na trdno podlago.

2. primer: Lateralne domene (2)



Primerjava gangliozida GM1 (a),
holesterola (b) in
dipalmitoilfosfatidil holina (c).

2. primer: Lateralne domene (3)



Mešanica holesterola in DPPC tvori homogen film (B), ob dodatku ganliozida GM1 pa začnejo nastajati lateralne domene (C in D). Sliki E in F predstavljana prečni prerez vzdolž označene linije.

3. primer: Citolitični peptidi (1)

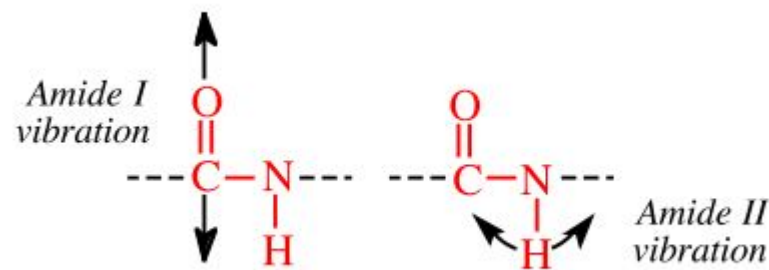
Sequence						
1	4	8	11	15	19	22
					Dns-K	L L L K-CONH2
					Dns-K	L L L K L L K
					Dns-K	L L L K L L L K-CONH2
					Dns-K	L L L K L L L K L L K
					Dns-K	L L K L L L K L L L K L L K
					Dns-K	L L L K L L K L L L K L L L K
					Dns-K	L L K L L L K L L L K L L L K L L K
					Dns-K	L L K L L L K L L L K L L L K L L K
						K L L K L L L K L L L K L W K

Serija umetno sintetiziranih peptidov dolžine 5–22 aminokislin.

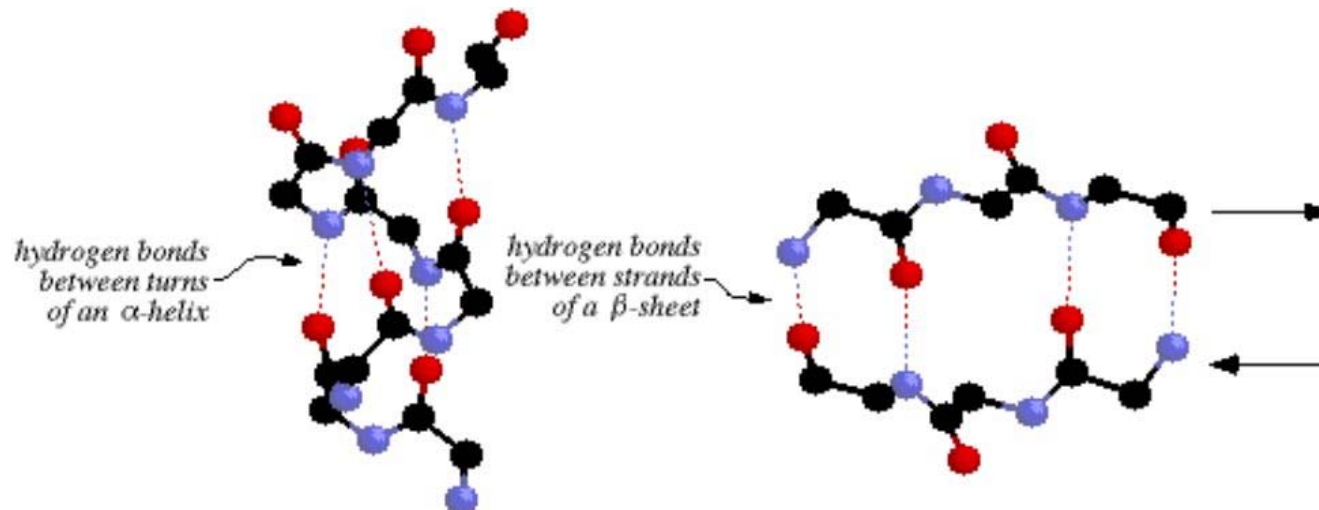
- Sestavljeni so iz zaporedij **lizina** in **levcina**, ti dve aminokislini sta pogosti v **α -vijačnicah**.
- Načrtovani so tako, da tvorijo amfifilno α -vijačnico.
- Krajši peptidi so za tvorbo vijačnice prekratki.
- Ne glede na dolžino imajo vsi citolitični efekt.

3. primer: Citolitični peptidi (2)

Zanima nas **struktura** in **orientacija** peptidov ob vezavi na membrano: uporabimo PM-IRRAS (IR spektroskopija, prilagojena za monosloje)



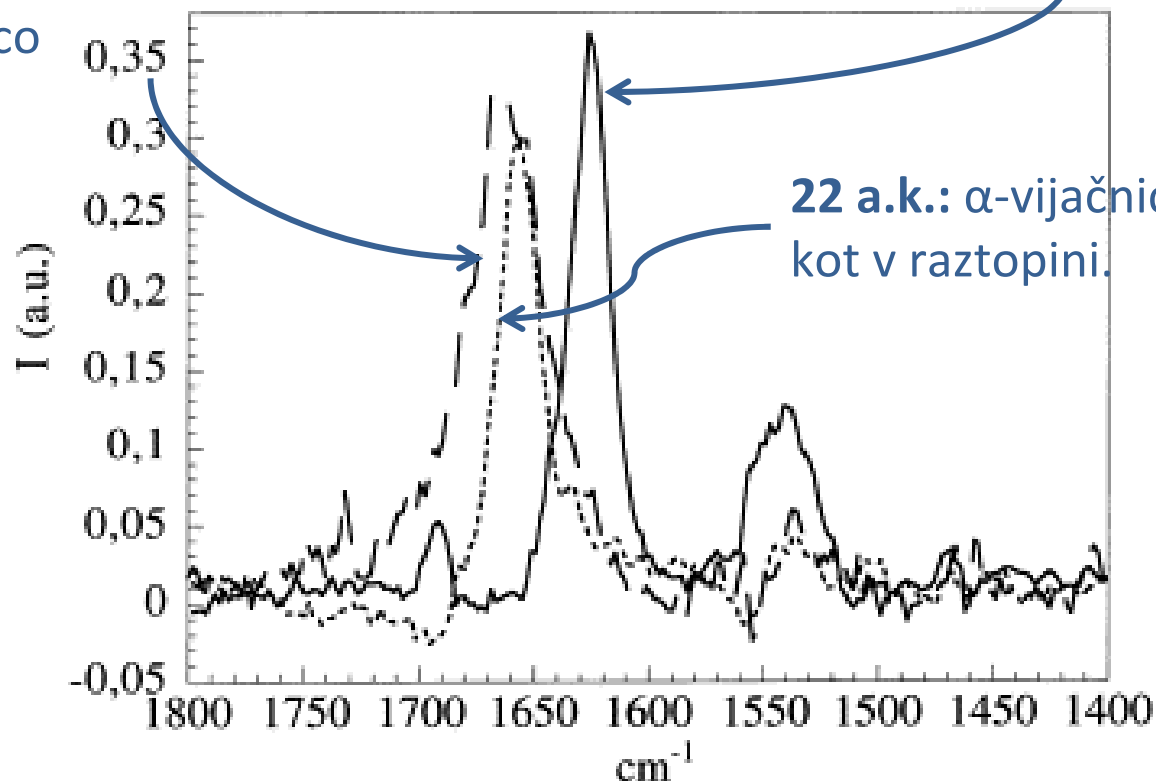
Informacijo dobimo v glavnem iz dveh vibracij – amid I in amid II. Ti dve vezi absorbirata pri rahlo različnih valovnih dolžinah glede na sekundarno strukturo.



3. primer: Citolitični peptidi (3)

12 a.k.: α -vijačnica, širok signal pomeni manj rigidno vijačnico

8 a.k.: β -struktura (verjetno intermolekularne povezave)



22 a.k.: α -vijačnica, podobno kot v raztopini.

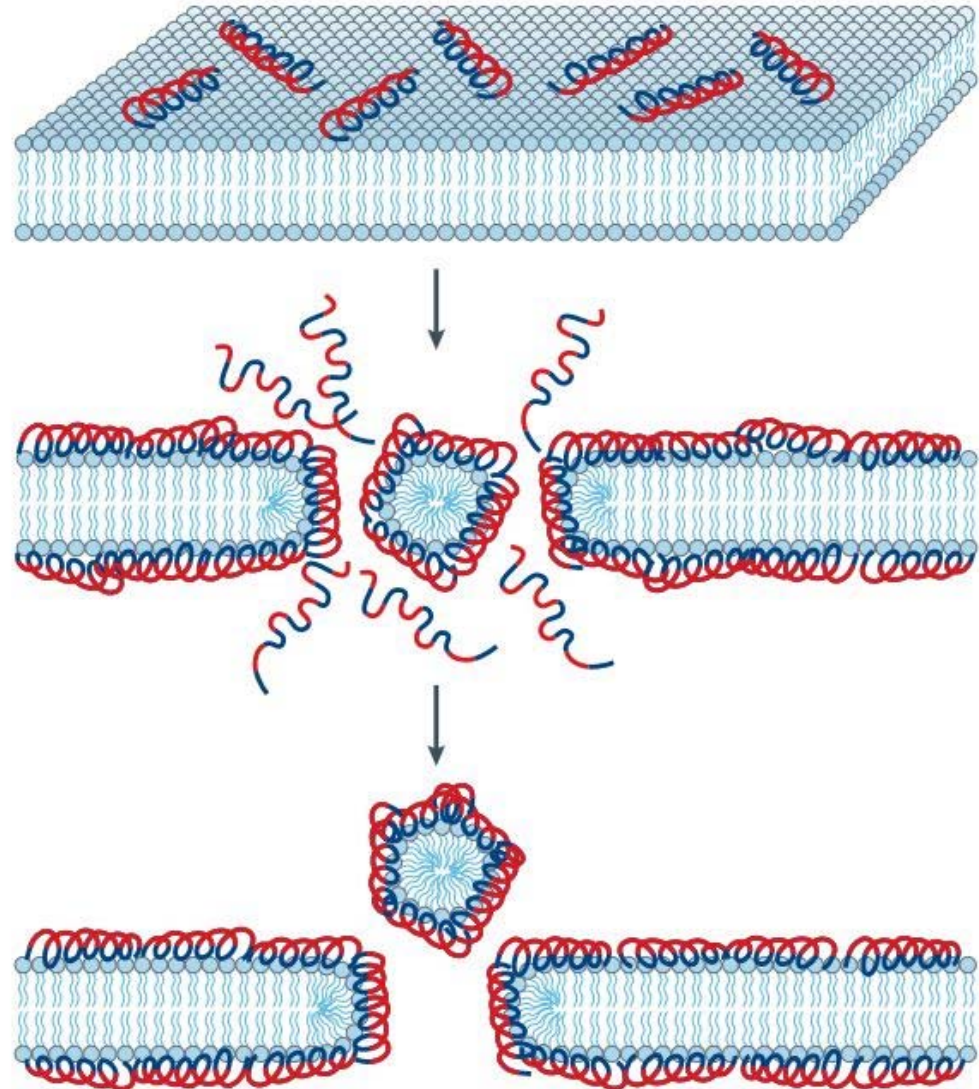
PM IRRAS spekter monosloja različnih dolžin. Signali v območju od 1600 do 1700 cm⁻¹ so amidni signali I, signali blizu 1550 cm⁻¹ pa amidni signali II.

3. primer: Citolitični peptidi (4)

Iz PM-IRRAS spektra lahko določimo tudi orientacijo molekul na površini.

Signal lahko razdelimo na x, y in z komponente in ugotovimo, katera največ prispeva k skupnemu signalu.

Na ta način so ugotovili, da se vsi peptidi, ne glede na dolžino, vežejo plosko na površino.



Sklep

- Langmuirjev monosloj je lahko uporaben model biološke membrane.
- Proučujemo ga lahko z različnimi tehnikami:
 - meritvami površinskega tlaka in potenciala,
 - mikroskopskimi in
 - spektroskopskimi tehnikami.
- S temi tehnikami dobimo informacije o:
 - orientaciji in konformaciji molekul v monosloju,
 - prisotnosti in vrsti interakcij med proteini in monoslojem,
 - lateralnih domenah.