

Título em Português: Espectroscopia vibracional de modelos de membrana celular através da geração de soma de frequências (Espectroscopia SFG)

Título em Inglês: Vibrational spectroscopy of cell membrane models by sum-frequency generation (SFG spectroscopy)

Autor: Bruna Borges Freri

Instituição: Universidade de São Paulo

Unidade: Instituto de Física de São Carlos

Orientador: Paulo Barbeitas Miranda

Área de Pesquisa / SubÁrea: Físico-Química

Agência Financiadora: CNPq - PIBIC

Espectroscopia vibracional de modelos de membrana celular através da Geração de Soma de Frequências (Espectroscopia SFG)

Bruna Borges Freri

Paulo Barbeitas Miranda

Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos

bruna_borges@usp.br

Objetivos

O objetivo deste projeto é compreender a correlação entre o espectro SFG de filmes de Langmuir envolvendo lipídios com cadeias insaturadas e ramificadas, que formem filmes mais fluidos, e o grau de compactação do filme.

Métodos e Procedimentos

A primeira etapa deste projeto está sendo selecionar os lipídios que formam filmes homogêneos, sem separação de fases ao comprimir a monocamada. Assim, poder-se-á relacionar os espectros SFG obtidos com a densidade superficial dos lipídeos. Para isso, foi realizada uma busca em artigos na literatura, e experimentos de microscopia a ângulo de Brewster foram realizados para os sistemas que ainda não foram reportados na literatura. A microscopia foi realizada, até o momento, em filmes de Octadecilamina (ODA), formados sobre água pura e sobre soluções ácidas (pH 3, 5 e 6) obtidas a partir da diluição de ácido clorídrico, com a adição de 10mmolar de cloreto de sódio para pH 6. Foram estudados também filmes de DOPG, DOPC e POPC, formados sobre água pura. Posteriormente, será feita a espectroscopia SFG, técnica que permite obter o espectro vibracional dos lipídeos que estão na interface, além de compreender como a conformação das cadeias hidrofóbicas depende do grau de compactação das moléculas [1].

Resultados

Nas monocamadas de ODA, foi possível observar a formação de domínios lipídicos em todos os pHs, que iniciaram a partir de baixas pressões (Figuras 1 e 2). Portanto, esses filmes

de lipídeo com apenas uma cadeia saturada não são interessantes para continuar com estudos de espectroscopia SFG. Entretanto, já há na literatura um estudo dos espectros SFG em função da densidade do filme para outro lipídeo com apenas uma cadeia saturada (ácido pentadecanóico) [2]. Os filmes formados pelos lipídeos com uma ou duas cadeias insaturadas, DOPG (Figuras 3 e 4), DOPC (Figuras 5 e 6) e POPC (Figuras 7 e 8), apresentaram isotermas expandidas e sem a formação de domínios lipídicos durante toda a compressão.

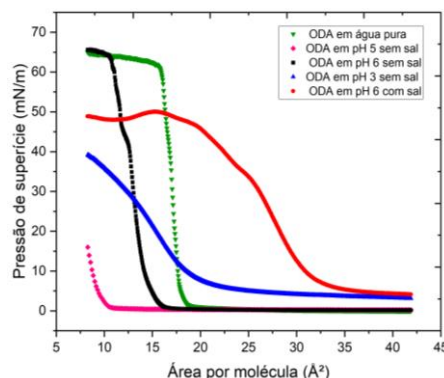


Figura 1: Isotermas de ODA com subfases em meios ácidos

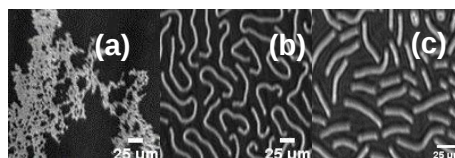


Figura 2: Imagens BAM monocamadas de ODA em (a) água pura, 0,4 mN/m; (b) pH 3 sem sal, 7 mN/m; (c) pH 6 com sal, 6 mN/m

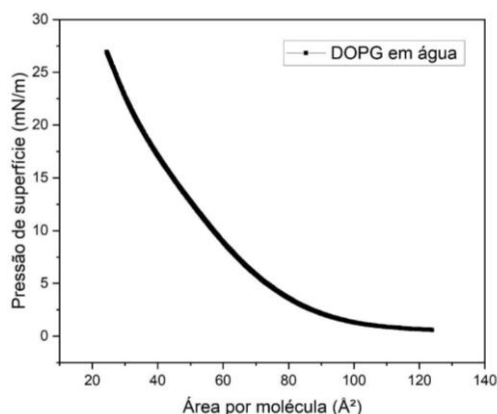


Figura 3: Isoterma de DOPG em água pura.

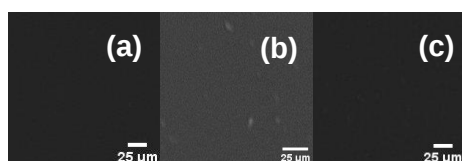


Figura 4: Imagens BAM de DOPG em água pura em (a) 6 mN/m (b) 16 mN/m (c) 23 mN/m

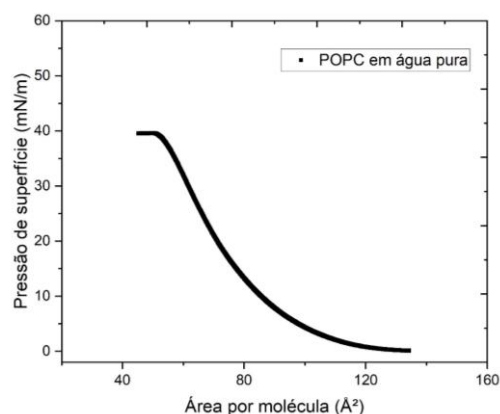


Figura 7: Isoterma de POPC em água pura

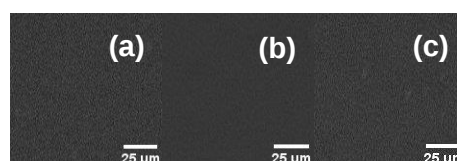


Figura 8: Imagens BAM de POPC em água pura em (a) 6 mN/m (b) 14 mN/m (c) 28 mN/m

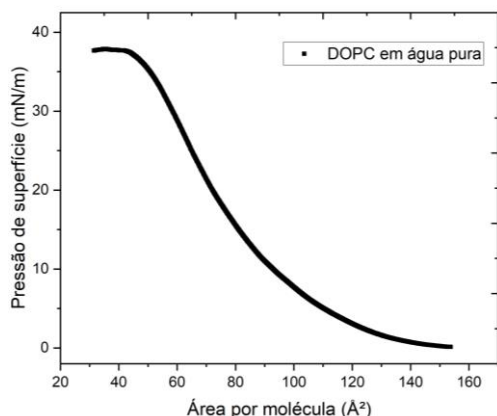


Figura 5: Isoterma de DOPC em água pura

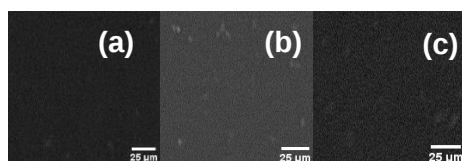


Figura 6: Imagens BAM de DOPC em água pura em (a) 7 mN/m (b) 15 mN/m (c) 25 mN/m

Conclusões

As monocamadas formadas por DOPG, DOPC e POPC possuem as características necessárias para aplicação da espectroscopia SFG. Com a análise de outros lipídios e após a realização da espectroscopia SFG, esperamos verificar se nesses casos também haverá uma forte correlação entre o espectro SFG das cadeias e o empacotamento molecular médio. Tal estudo contribuirá para a extensão da espectroscopia SFG ao estudo de modelos de membrana mais realísticos.

Referências Bibliográficas

- [1] LAMBERT, A. G.; DAVIES, P. B.; NEIVANDT, D. J. Implementing the theory of sum frequency generation vibrational spectroscopy: A tutorial review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 40, n. 2, p. 103–145, 2005.
- [2] GUYOT-SIONNEST, P.; HUNT, J. H.; SHEN, Y. R. Sum-frequency vibrational spectroscopy of a Langmuir film: Study of molecular orientation of a two-dimensional system. **Physical Review Letters**, [s. l.], v. 59, n. 14, p. 1597–1600, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.59.1597>

Vibrational spectroscopy of cell membrane models by Sum-Frequency Generation (SFG spectroscopy)

Bruna Borges Freri

Paulo Barbeitas Miranda

University of São Paulo, São Carlos Institute of Physics

bruna_borges@usp.br

Objectives

The purpose of this project is to understand the correlation between the SFG spectrum of Langmuir films involving lipids with unsaturated and branched chains, which form more fluid films, and the degree of film compaction.

Materials and Methods

The first step of this project is to select lipids that form homogeneous films, without phase separation when compressing the monolayer. Thus, it will be possible to relate the SFG spectra obtained with the surface density of the lipids. To this end, a search of articles in the literature was performed, and Brewster angle microscopy experiments were performed for the systems that have not yet been reported in the literature. So far, the microscopy has been performed on Octadecylamine (ODA) films, formed on pure water and on acid solutions (pH 3, 5 and 6) obtained from the dilution of hydrochloric acid, with the addition of 10 mM of sodium chloride to pH 6. DOPG, DOPC and POPC films, formed on pure water, were also studied. Subsequently, SFG spectroscopy will be performed, a technique that allows obtaining the vibrational spectra of lipids that are at the interface, as well as understanding how the conformation of hydrophobic chains depends on the degree of compaction of the molecules [1].

Results

In the ODA monolayers, the formation of lipid domains could be observed at all pHs, which started from low pressures (Figures 1 and 2).

Therefore, these lipid films with only one saturated chain are not interesting for further SFG spectroscopy studies. However, there is already in the literature a study of SFG spectra as a function of film density for another lipid with only one saturated chain (pentadecanoic acid).[2] The films formed by the lipids with one or two unsaturated chains, DOPG (Figures 3 and 4), DOPC (Figures 5 and 6) and POPC (Figures 7 and 8), showed expanded isotherms and no formation of lipid domains during the entire compression.

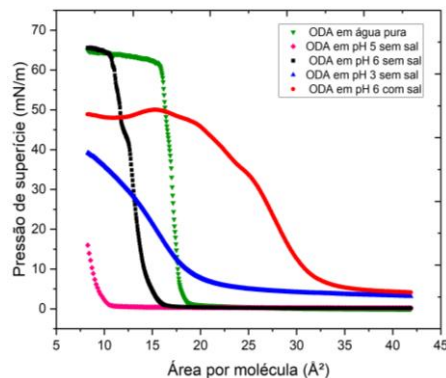


Figure 1: ODA isotherms in acid solutions

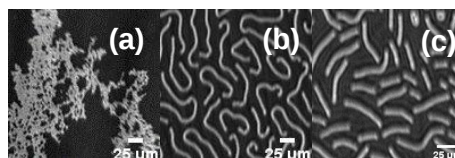


Figure 2: BAM monolayer images of ODA in (a) pure water, 0.4 mN/m; (b) pH 3 without salt, 7 mN/m; (c) pH 6 with salt, 6 mN/m

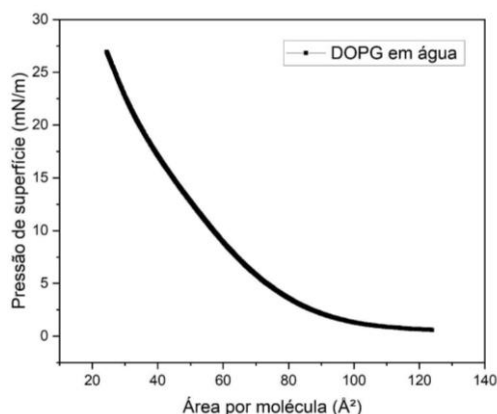


Figure 3: Isotherm of DOPG in pure water.

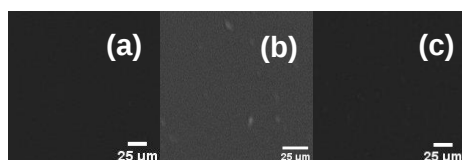


Figure 4: BAM images of DOPG in pure water at (a) 6 mN/m (b) 16 mN/m (c) 23 mN/m.

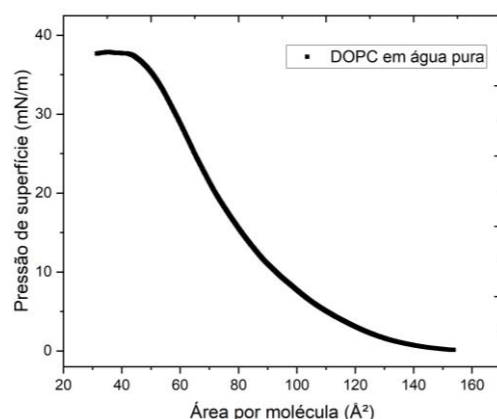


Figure 5: Isotherm of DOPC in pure water.

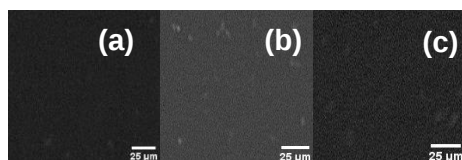


Figure 6: BAM images of DOPC in pure water at (a) 7 mN/m (b) 15 mN/m (c) 25 mN/m.

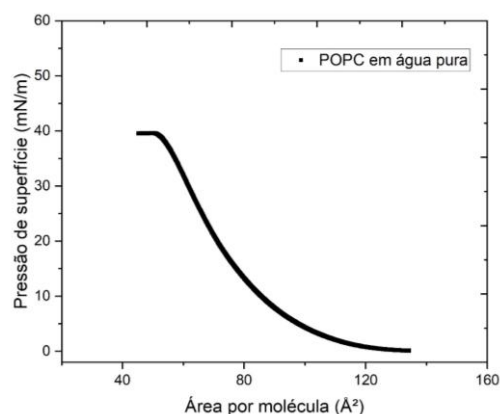


Figure 7: Isotherm of POPC in pure water.

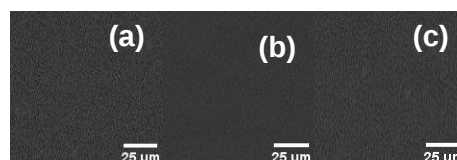


Figure 8: BAM images of POPC in pure water at (a) 6 mN/m (b) 14 mN/m (c) 28 mN/m.

Conclusions

The monolayers formed by DOPG, DOPC, and POPC have the necessary characteristics for further investigation with SFG spectroscopy. With the analysis of other lipids and after performing SFG spectroscopy, we hope to verify whether in these cases also there will be a strong correlation between the SFG spectra of the chains and the average molecular packing. Such a study will contribute to the extension of SFG spectroscopy to the study of more realistic membrane models.

References

- [1] LAMBERT, A. G.; DAVIES, P. B.; NEIVANDT, D. J. Implementing the theory of sum frequency generation vibrational spectroscopy: A tutorial review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 40, n. 2, p. 103–145, 2005.
- [2] GUYOT-SIONNEST, P.; HUNT, J. H.; SHEN, Y. R. Sum-frequency vibrational spectroscopy of a Langmuir film: Study of molecular orientation of a two-dimensional system. **Physical Review Letters**, [s. l.], v. 59, n. 14, p. 1597–1600, 1987. Available on: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.59.1597>