بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه شیراز،
شیراز، ایران.
۹-۱۱ بهمن ۱۳۹۷

بررسی فعالیت غشاءهای لیپیدی چند جزئی با استفاده از طرح لک و پیس ها

شیوا ساسان، احمد درودی، وحیده فرزام راد

گروه فیزیک دانشگاه زنجان، زنجان

چکیده –غشاءهای لیپیدی مورد مطالعه با غشاءهای سلولی تشابه دارد. در این مقاله تحولات این غشاءهای لیپیدی را به کمک طرح لک و پیس‌ها مطالعه می‌کنیم. با بررسی تابع همبستگی برای هر تصویر، میانگین طول همبستگی بین لک و پیس‌ها بدست می‌آیـد. نمودار طول همبستگی بر حسب زمان را رسم می‌کنیم، روند صعودی نمودار نشانگر میزان زیاد فعالیت نمونه است و پس از ۲۵ ثانیه، نوسان طول همبستگی حول مقداری ثابت، حاکی از پایداری اندازه مناطق فازی و نظم بلند برد آنها است. در آخر با استناد به مرجع ۲، تشابه بین دو پژوهش را در به دست آوردن نتیجه یکسان بیان می‌کنیم.

کلید واژه- تفکیک فازی، طرح لک و پیس، طول همبستگی، غشاء لیپیدی، نظم بلند برد.

Investigation of dynamic multicomponent lipid membranes by means of speckle patterns

Shiva Sasan, Ahmad Darudi, Vahideh Farzam Rad

Department of Physics, University of Zanjan, Zanjan

Abstract-The lipid membranes of the study are similar to cell membranes. .In this article, we study the evolution of this lipid membranes by means of speckle pattern. By investigation the correlation function for each image, the mean of the correlation length between the speckles is obtained. we drawing correlation length graph versus time, the upward trend in the graph indicates the high degree of sample activity and after 25 seconds, the oscillation of the correlation length around a constant is indicative of the stability of the size of phase domains and their long-range alignment. Finally, by referring to reference 2, we express the similarity between the two studies in obtaining the same result.

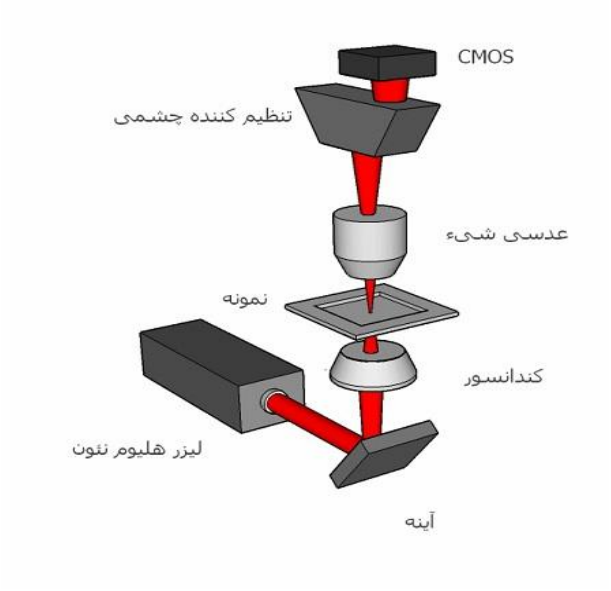
Keywords: phase separation, speckle pattern, correlation length, lipid membrane, long-range alignment.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-10-30]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

مقدمه

غشاء سلولی بیشتر ارگان‌های زنده و بسیاری از ویروس‌ها از لیپید ساخته شده است. طبق علم امراض برخی از بیماری‌های مهم بشر، همچون تصلب شرایین، آلزایمر و سرطان شامل مولفه‌هایی از نوع لیپیدی هستند. ساختار لیپیدی غشاء و سازوکار جذب پروتئین‌های غشایی، وابسته به هم هستند. این وابستگی نتیجه حضور فضاها و جفت‌شدگی‌های میان‌غشایی است؛ که اثر مستقیمی بر بیماری سخت‌شدگی بافت‌ها به سبب عدم حضور مایلین دارد. غشاءهای لیپیدی مورد مطالعه مشابه با ترکیب چند جزئی لیپیدها و پروتئین‌ها با فازهای تفکیک یافته، می باشند[2]. فازهای لیوتروپیک چندلایه متعلق به غشاءهای لیپیدی دولایه، سبب ایجاد نظم اسمکتیک مایع-کریستال می‌شوند. این فازها در میان نیروهای آبگریز و در اثر برهم کنش‌های آب-لیپید تولید می‌شوند. در میان نظم مایع-کریستال اسمکتیک، هرلیپید مجزا دارای درجه آزادی مشخصی برای انتقالات درون صفحه‌ای است؛ اما به دلیل محدودیت‌های موجود در ممانعت فضایی اتم‌ها با لایه‌های مجاور، از نوسانات موجی برون صفحه‌ای آنها جلوگیری می شود[3]. این عامل سبب کاهش آنتروپی(موسوم به هلفریچ) لیپید دولایه می شود، به دنبال آن برهم کنش های دافع میان لایه‌ای، عاملی برپایداری اسمکتیک یک بعدی(لیپید دولایه میان فازی) است[4]. کاربردهای ساختار منظم مایع-کریستال در زمینه ژن درمانی، زیست شناسی ترکیبی، فوتونیک و حسگرها، این ساختارها را در مرکز توجه قرار داده است[3]. در این کار، ما به بررسی فعالیت غشاءهای لیپیدی به کمک طرح‌های لک و پیس می‌پردازیم. سیر تحول نمونه و تشکیل مناطق به وسیله تفکیک فازی در لیپید چند جزئی مطالعه خواهد شد. غشاءهای چند جزئی بررسی‌های ما شامل مخلوطی از کلسترول(Chol)، اسفینگومایلین(Sm) و نوعی فسفولیپید اشباع نشده 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (Dopc) است. از مهم ترین ویژگی‌های لیپید دولایه(غشاء منفرد) سیالیت ملکول‌های لیپید و تغییرات آن با دما است، که به عنوان رفتار فازی لیپید شناخته می‌شود. همه لیپیدها دارای یک دمای مشخص هستند که در آن دستخوش گذاری از فاز جامد(ژل) به مایع می‌شوند[5]. غشایی که شامل چند جزء لیپیدی متفاوت است، دارای دمای گذار ویژه‌ای می‌باشد. هنگامی که این غشاء در دمایی پایین تر از دمای گذارش قرار می گیرد، مخلوط لیپیدها به دو فازمایع تفکیک خواهد شد؛



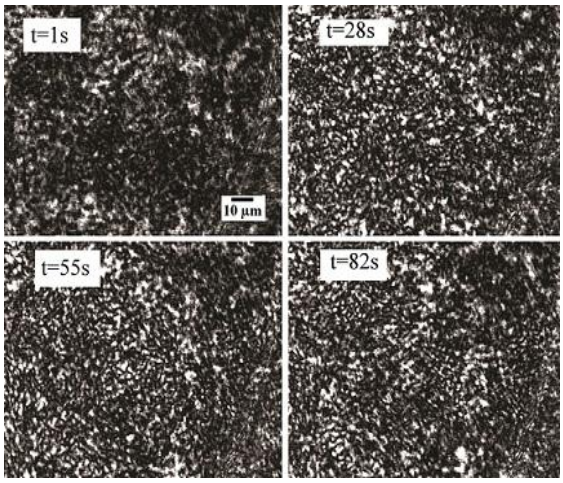
شکل ۱: نمایی از چیدمان آزمایش

یکی غنی از کلسترول و اسفینگومایلین به عنوان فاز Lo (liquid-ordered phase) و دیگری فاز Ld (liquid-disordered phase) که شامل Dopc اشباع نشده است. حالت غیر قابل اختلاط فازهای Lo و Ld در دولایه‌ها، وجود کشش خاصی را آشکار می کند، که ناشی از عدم تطابق زنجیره آبگریز ملکول‌ها در مناطق Lo و Ld است[3]. در توده ای از لیپیدها مناطق فازی تفکیک یافته، در یک راستا انباشته می‌شوند؛ و مجموع آنها در سراسر صدها لایه، مناطق هم راستای سه بعدی را تشکیل می دهد. مناطقی با فاز Lo (لیپید رفت‌ها) مسئولیت‌های

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-10-30]

مربوط به دریافت و انتقال پیام را بر عهده دارند. بنابراین هم راستایی مناطق باید کانال‌های یون را در یک ردیف قرار دهد تا عملکرد غشاء به درستی انجام شود. این همراستایی نتیجه‌ای است از اثر متقابل تفکیک فازی درون لایه‌ای و جفت شدگی‌های میان لایه‌ای که سبب تشکیل مناطق بزرگتر خواهد شد[3]. هنگامی که نورهمدوس را بر روی نمونه می‌تابانیم، پرتوهای عبوری، به کمک دوربین(CMOS) آشکار سازی می‌شوند، و طرح شدتی لک و پیس نمایان خواهد شد. به دست آوردن طرح لک و پیس‌ها، روشی غیر تهاجمی و غیر مخرب برای آشکار سازی تغییرات یک سطح است[1]. در سایر روش‌ها همچون بررسی با میکروسکوپی تمام‌نگاری، نمونه باید در حالت فوکوس مشاهده شود، سپس تحولات آن ثبت شوند. فیلم‌های ثبت شده حاوی اطلاعاتی در مورد دامنه و فاز پرتو تابشی هستند. در آخر با تجزیه و تحلیل داده‌ها، تغییرات فاز پرتو تابشی به دست می‌آید؛ اندازه مناطق فازی لیپیدی از این بررسی‌ها حاصل می‌شود. در روش پیشنهادی ما، طرح لک و پیس در حالت ناکانونی ثبت می شود و مورد بررسی قرار می‌گیرد.



شکل ۲: الگوی لک و پیس حاصل از تفکیک فازی در توده لیپیدهای دولایه، با غلظت کلسترول ۲۰٪ ؛ که تحولات لک و پیس‌ها را با زمان نشان می‌دهد.

آماده سازی نمونه

لیپیدها در حالت پودری از شرکت آوانتی خریداری شده اند؛ و از کلروفرم به عنوان حلال استفاده کرده‌ایم. محلول لیپیدی حاصل، شامل اسفینگومایلین و Dopc با نسبت حجمی یکسان و کلسترول با غلظت تغییر یافته، از۱۰٪ تا ۳۰٪ است. ۲/۵ میکرو لیتر از محلول را بر روی اسلاید شیشه ای قرار دادیم. پس از این که حلال خشک شد؛ نمونه را به مدت ۴۸ ساعت تحت رطوبت ۹۸٪ در دمای ۵۸-۵۵ درجه سانتیگراد قرار دادیم. سپس با کاهش دمای نمونه تا حدود ۲۲ درجه سانتیگراد(دمای اتاق) به کمک آب، مناطق فازی مجزا، شکل می‌گیرند. این مرحله از کاهش دما در شرایطی انجام می‌شود که نمونه در زیر میکروسکوپ قرار گرفته باشد.

چیدمان آزمایش و روش کار

نمونه زیر میکروسکوپ (Olympus، سری CH-2)، با عدسی شیء (40x,Olympus) قرار می‌گیرد. پرتو لیزر هلیوم-نئون (632.8 nm,1mw) از میان نمونه عبور می کند، و به کمک دوربین(DCC1545M,Thorlabs) آشکار سازی می‌شود (شکل ۱). فیلم‌های ثبت شده با استفاده از نرم افزار به تصاویر متوالی تبدیل می‌شوند؛ و از روش عددی برای تجزیه و تحلیل طرح شدتی لک و پیس بهره خواهیم برد. فعالیت نمونه‌ها و ساختار پیچیده آنها، سبب تغییر فاز نور با زمان خواهد شد و یک تغییر در ساختار الگوی لک و پیس در چارچوب فضا-زمان آشکار می کند[1]. در لیپید دولایه ابتدا تفکیک فازی درون لایه‌ای در اثر کاهش دمای نمونه تا پایین‌تر از دمای گذار ویژه‌اش آغاز می‌شود، که مستقل از نظم مناطق فازی در لایه‌های مجاور شروع می‌شود؛ سپس جفت شدگی‌های میان لایه ای، نظم بلند برد مایع-کریستال را شکل می‌دهد[3]. در شکل ۲، تعدادی از تصاویر را که از مجموعه تصاویر

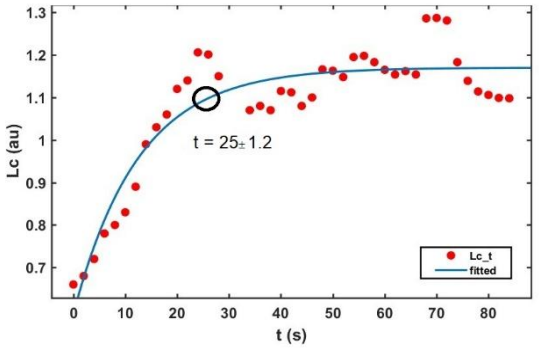
این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-10-30]

تبدیلی، انتخاب شده است، مشاهده می کنیم. تغییر موقعیت لک و پیس‌ها و اندازه آنها با زمان قابل توجه است.

بحث و نتیجه گیری

مناطق فازی تفکیک یافته و نظم بلند برد آنها را می توان با تحلیل تابع خود همبستگی(autocorrelation function) مطالعه کرد. تابع خود همبستگی شدت به صورت حاصل ضرب دو تابع شدتی با فاصله معین از هم تعریف می‌شود. این تابع برای بررسی داده‌های به دست آمده از فعالیت پراکننده‌های نور موجود در سطح نمونه استفاده می‌شود. تابع خود هبستگی، بیان کننده همبستگی(correlation) یک الگوی لک و پیس با کپی خودش است؛ به گونه‌ای که این کپی با فاصله همبستگی مشخصی نسبت به الگوی اصلی اعمال شود. طول همبستگی(Lc)، نوعی مقیاس طولی است که برای تخمین فاصله نقاطی با انحراف مشابه از میانگین شدت به کار می‌رود[6]. پس از محاسبه میانگین طول همبستگی برای هر تصویر(از طریق محاسبه خود هبستگی) از نمونه با غلظت کلسترول ۲۰٪، مقادیر آن را برحسب زمان مطابق شکل ۳ رسم می‌کنیم.



شکل ۳: طول همبستگی بر حسب زمان برای نمونه با غلظت کلسترول ۲۰٪، t زمان رسیدن به پایداری در اندازه مناطق فازی است، خطای محاسبه شده برابر با ۱٫۲± می باشد.

طول همبستگی با گذر زمان افزایش می‌یابد و سپس نوسان در اطراف مقدار ثابتی را نشان می‌دهد. تفکیک مناطق فازی که در هر غشاء رخ می‌دهد و سپس جفت شدگی‌های میان لایه‌ای سبب افزایش مقدار طول همبستگی با زمان می‌شوند. در انتهای بازه زمانی مقدار ثابت طول همبستگی به معنای دست یافتن به نوعی پایداری در اندازه مناطق فازی است. زیرا غشاءهای چندلایه از نظر ساختاری ستبر هستند و نظم بلند بردی را از خود نشان می‌دهند[3]. همچنین مقدار ثابت این طول را می‌توان میانگین اندازه منطقه‌های فازی نمونه دانست. نتایج حاصله از این مقاله با آنچه که در مرجع **[2]** به دست آمده مطابقت دارد. در مرجع **[2]** بررسی‌ها نشان می‌دهد که با گذشت زمان، مناطق بزرگتر می‌شوند اما به دلیل افزایش جرم مناطق، سرعت رشد آنها کاهش می‌یابد تا جایی که اندازه مناطق به پایداری می‌رسند. در هر دو مقاله بر رسیدن به پایداری در اندازه مناطق اشاره شده است و تنها تفاوت بین آنها، زمان رسیدن به این پایداری می‌باشد،که آن هم وابسته به شرایط آزمایش است. بررسی‌های بیشتری در حال انجام است، تا به کمک فاصله لک و پیس‌ها از هم و یا چگالی آنها نتایج دیگری را به دست آوریم؛ نتایجی که بتوان براساس آنها ضخامت لایه های لیپیدی را اندازه‌گیری کرد.

مرجع‌ها

[1] H.J. Rabal, R.A. Braga jr, *Dynamic laser speckle and applications*, CRC Press, 2009.

[2] V. Farzam Rad, A.R. Moradi, A. Darudi and L. Tayebi "Digital holographic microscopy of phase separation in multicomponent lipid membranes," Biomed. Opt, Vol. 21, pp.126016(1-6) ,2016.

[3] L. Tayebi, Y. Ma, D. Vashaee, G. Chen, S. K.Sinha and A. N.Parikh "Long-range interlayer alignment of intralayer domains in stacked lipid bilayers," Nat. Mater, Vol. 11, pp. 1074–1080, 2012.

[4] P. Sharma, "Entropic force between membranes reexamined," Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, vol. 110, pp. 1976–1977, 2013.

[5] A. Johnson, L. Raff and R. Walter. (2005, October 17). *Molecular biology of the cell*, (4nd ed.) [Online]. Available: http://www.geocities.com/zrnet76/.

[6] J. Kim, Y.U. Nam, M. Lampert and Y.-c. Ghim "Reliability of the two-point measurement of the spatial correlation length from gaussian-shaped fluctuating signals in fusion-grade plasmas," Nucl. Eng. Des, Vol. 56, 2016.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-10-30]