

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/80202> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Rinaldin, M.

Title: On the geometry of demixing: A study of lipid phase separation on curved surfaces

Issue Date: 2019-11-07

Samenvatting

Dit proefschrift gaat over de geometrische aspecten van fasescheiding. Fasescheiding is een fenomeen dat alomtegenwoordig is in de natuurkunde en overal in het leven van mensen voorkomt. Als je bijvoorbeeld olie in soep doet, zie je dat de druppeltjes olie een ronde vorm aannemen. De moleculen in de olie willen niet dicht bij de moleculen van het water komen. Ze vormen ronde druppeltjes omdat een cirkel de kortst mogelijke omtrek heeft voor een gegeven aantal moleculen. Dit fenomeen heet “minimalisatie van het grensvlak”.

Het belang van fasescheiding in biologie is een omstreden onderwerp. Er is veel discussie, bijvoorbeeld in Alzheimer onderzoek, over de invloed van fasescheiding op de concentratieverdeling van moleculen binnen de cel. Lipide bilagen, twee-dimensionale membranen die cellen omsluiten, kunnen zich in twee vloeibare fasen, of druppeltjes, scheiden. Door onderzoekers is aangetoond dat een fase meer geordend en ook stijver is dan de andere. Als het membraan vlak is, weten wij dat, net als in het voorbeeld van water en olie, een van de twee fasen in de membranen cirkels vormen. Maar als het membraan niet vlak is, zoals in de langwerpige neuronen in onze hersenen, schijfachtige rode bloedcellen en andere niet-ronde cellen en organellen, is het niet bekend welke vormen de fasen hebben. De reden hiervan is dat de fasen verschillende stijfheden hebben. Om de elastische energie te minimaliseren verkiest de flexibele fase het gebied met hogere kromming. De stijve fase verkiest het vlakkere gebied. Deze voorkeur van de stijve fase voor het gebied met de meeste kromming heet “geometric pinning” en moet concurreren met de minimalisatie van het grensvlak.

Als het membraan zich scheidt, kan zijn vorm veranderen door geometric pinning en minimalisatie van het grensvlak. Zie figuur 1.3 op pagina 3 voor een illustratie van fasepatronen en membranen met verschillende vormen. Dus de vorm van het membraan hangt van de geometrie van de fasepatronen af en vice versa. Deze verstrikking tussen fasepatronen en membranvorm lijkt een beetje op het kip en ei verhaal en het is de onderwerp van mijn proefschrift. Om dit mysterie te ontrafelen, gebruiken wij kunstmatige membranen die uit drie verschillende lipiden worden gemaakt. Kunstmatige membranen zijn handig omdat fasescheiding kan worden gevisualiseerd met fluorescentie microscopie. Op deze manier kan de vorm en de locatie van de druppeltjes worden bestudeert. Wij controleren de vorm van de lipide membranen door gebruik te maken van micrometer bollen, kubussen en halters die wij gebruiken als stelling voor de lipide-membraan. Deze micrometer deeltjes –genoemd colloïden– zijn honderd keer kleiner dan een haar. Doordat de geometrie van het membraan niet meer kan veranderen, bestuderen wij hoe de druppeltjesvorm en locatie afhankelijk zijn van de compositie en geometrie van het membraan.

De techniek om colloïden te functionaliseren met het lipide membraan wordt beschreven in **Hoofdstuk 2**. Om de gefunctionaliseerde colloïden te gebruiken in fasescheiding-experimenten is het belangrijk dat het membraan homogeen en vloeibaar is. Daarom onderzoeken wij hoe de homogeniteit en vloeibaarheid afhangen van de chemische en

fysische eigenschappen van de colloïden en lipiden. Vanwege deze kenmerken worden de gefunctionaliseerde colloïden ook gebruikt voor experimenten in zelfassemblage. Zelfassemblage betekent dat een materiaal zich zelf opbouwt. Dit principe wordt bijvoorbeeld gebruikt door onderzoekers om nieuwe materialen te bouwen, bijvoorbeeld fotonische kristallen. Om de gefunctionaliseerde colloïden te binden, worden o.a. korte stukjes DNA gebruikt als “moleculaire lijm”. Het voordeel van de toepassing van DNA is dat het alleen maar met een ander stuk DNA met een complementaire code bindt. Op deze manier is de binding heel specifiek. Bovendien kan DNA in het membraan “surfen”, dus de binding tussen de deeltjes is ook flexibel. In de tekst worden de zelfassemblage techniek en de eigenschappen van de DNA binding beschreven. In **Hoofdstuk 3** worden de gefunctionaliseerde colloïden gebruikt om het effect van kromming op fasescheiding te studeren. Wij onderzochten de fasepatronen voor verschillende membraanvormen en composities. Wij zagen dat de stijve druppeltjes op hobbels lokaliseren en dat de flexibele druppeltjes in dalen lokaliseren, zoals voorspeld. Dit gebeurt omdat de stijve fase moeilijk te buigen is en daarom een voorkeur heeft voor het vlakke gebied. Toch is het verrassend dat dit alleen maar gebeurt voor sommige composities en krommingen van het membraan. Bovendien, vonden wij dat de geometrie de compositie van de druppeltjes beïnvloedt. In **Hoofdstuk 4** bestuderen wij de theorie van twee-dimensionale fasescheiding. Ten eerste, beschouwen de mechanische eigenschappen van fasescheiding. Wij stellen een vergelijking op waarmee de patronen van de twee vloeibare fasen kunnen worden beschreven door de grensvlakpositie. Wij berekenen met deze vergelijking de patronen voor bepaalde vormen. Ten tweede, concentreren we ons op de thermodynamica van fasescheiding. Wij presenteren een fase-diagram afhankelijk van de materiaal eigenschappen van het membraan.

In **Hoofdstuk 5** presenteren wij een systeem waar de colloïden op vlakke substraten worden gezet. Vervolgens wordt het systeem met een lipide membraan gefunctionaliseerd zo dat de lipiden uit kunnen wisselen tussen de colloïden en het substraat. Op deze manier kunnen andere fasepatronen worden gevormd dan in Hoofdstuk 2, waar de lipiden alleen maar op de colloïden zijn. Deze observatie laat zien dat substraten een grote effect hebben op hoe fasescheiding gebeurt. Dit is belangrijk voor **Hoofdstuk 6**, waar geen colloïden, maar micrometer structuren op vlakke substraten worden gebruikt als stellingen voor het membraan. Die structuren worden gemaakt met behulp van micro-3D printen en replica-gieten. Doordat wij met 3D printen vrijwel alle structuren kunnen maken, kunnen wij nieuwe en interessante membraanvormen op een nauwkeurige manier verkrijgen. In de tekst beschrijven wij de techniek om 3D structuren met membranen te functionalisieren en tonen wij aan dat de membranen homogeen en vloeibaar zijn.

In **Hoofdstuk 7** ten slotte, presenteren wij een toepassing van deze gefunctionaliseerde colloïden voor zelfassemblage. Het membraan scheidt in twee fasen en wij zien dat het DNA zich in de meer flexibele fase lokaliseert. Op deze manier zijn de gefunctionaliseerde colloïden alleen maar kleverig op bepaalde delen van hun oppervlak en kunnen ze gebruikt worden voor het maken van nieuwe zelfassemblerende structuren.

Samenvattend hebben we de geometrie van fasescheiding in kunstmatige membranen van bepaalde vormen bestudeerd. Zowel experimentele als theoretische resultaten werden

gepresenteerd. Onze ontdekkingen kunnen een invloed hebben op ons begrip van cellulaire membranen en kunnen leiden tot nieuwe biomedische toepassingen zoals geneesmiddelaafgiftedragers en slimme materialen.