

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

Sintesi

Questa tesi è dedicata al ruolo della curvatura nella separazione di fase. La separazione di fase è un fenomeno presente in fisica e in generale nella vita di tutti i giorni. Ad esempio, se versi delle gocce di olio in acqua, puoi osservare che le goccioline assumono una forma circolare perché il cerchio è la linea più corta possibile per un fissato numero di molecole. Questo fenomeno si chiama “minimizzazione della lunghezza dell’interfaccia”.

L’importanza della separazione di fase in biologia è un tema molto discusso recentemente, in particolare nella ricerca delle malattie neuro degenerative, ad esempio Alzheimer, dove è ritenuta essere responsabile della concentrazione di molecole e proteine in organelli simili a gocce nelle cellule. Anche la membrana lipidica, la membrana bidimensionale che circonda le cellule, può essere soggetta alla separazione di fase. Da ricerche precedenti, conosciamo che una fase è più soffice dell’altra. Se la membrana è piatta, sappiamo che come nell’esempio dell’olio e dell’acqua, una delle due fasi nella membrana forma dei domini di forma circolare intorno all’altra. Tuttavia, se la membrana non è piatta, come nei ramificati neuroni nel cervello, nelle cellule rosse a forma a disco e in molti altri organelli, non è noto in quali forme si dispongono i domini. La ragione è che le fasi hanno una diversa durezza e per minimizzare l’energia elastica la fase più soffice si localizza nelle regioni ad alta curvatura mentre la fase più dura le evita. La preferenza della fase più soffice per le regioni di alta curvatura si chiama “pinning” geometrico, e deve competere con la minimizzazione della lunghezza dell’interfaccia.

Quando la membrana si separa in due fasi, può cambiare la sua forma a causa del pinning geometrico e la minimizzazione della lunghezza dell’interfaccia. Per un’illustrazione delle configurazioni di membrane con forme diverse, vedere la figura 1.3 in pagina 3. In questa maniera, la forma della membrana dipende dalle distribuzioni dei domini soffici e duri e viceversa. Questo legame tra la distribuzione dei domini e la forma della membrana è comparabile al paradosso della gallina e l’uovo, ed è anche il soggetto principale della mia tesi. Per risolvere questo mistero, abbiamo usato delle membrane artificiali fatte da tre diversi tipi di lipidi. Le membrane artificiali sono utili perché permettono di osservare la separazione di fase con il microscopio a fluorescenza. In questa maniera, possiamo studiare la forma e la posizione dei domini. Ricoprendo con la membrana delle particelle cento volte più piccole di un capello, chiamate colloid, possiamo dare una forma alla membrana dando la forma alle particelle. Siccome in questo modo la geometria della membrane non può cambiare, possiamo studiare come la forma e la posizione dei domini dipendono dalla composizione e dalla geometria della membrana.

In **Capitolo 2**, descriviamo le tecniche usate per funzionalizzare i colloid con la membrana lipidica. Per utilizzare i colloid coperti con la membrana in esperimenti di separazione di fase, è importante che la membrana sia omogenea e liquida. Per questo motivo abbiamo studiato come l’omogeneità e la liquidità della membrana dipendono dalle caratteristiche chimiche e fisiche dei colloid e dei lipidi usati. Per queste caratteristiche possiamo usare i colloid ottenuti anche per esperimenti di auto-assemblaggio. Auto-assemblaggio significa che un materiale si costruisce da solo. Questo principio viene usato

in ricerca per costruire nuovi materiali, ad esempio i cristalli fotonici. Per connettere i colloidali coperti dalla membrana lipidica, usiamo corti pezzi di DNA come “colla molecolare”. Uno dei vantaggi dell’uso del DNA per questa applicazione è che pezzi di DNA si collegano solo a pezzi che sono loro complementari, e, in questa maniera, il legame tra i pezzi risulta essere estremamente specifico. Inoltre i pezzi di DNA possono diffondere sulla membrana, rendendo la connessione tra i colloidali flessibile. Nel testo riportiamo la tecnica di auto-assemblaggio e descriviamo le caratteristiche dei pezzi di DNA usati. Nel **Capitolo 3** usiamo i colloidali ricoperti con la membrana, per studiare l’effetto della curvatura sulla separazione di fase. Per cominciare, abbiamo trovato delle diverse distribuzioni di domini per membrane di forme e composizioni diverse. Abbiamo visto che i domini della fase più dura si localizzano nelle zone piane e che i domini della fase più soffice si dispongono in parti a più alta curvatura, come previsto. Questo fenomeno succede perché è più facile piegare la fase più soffice di quella più dura. Tuttavia questo non succede sempre, ma solo per alcune composizioni e curvature. Nel **Capitolo 4** studiamo la teoria della separazione di fase in due dimensioni. Per prima cosa analizziamo le proprietà meccaniche della separazione di fase. Scriviamo un’equazione che descrive la distribuzione dei domini delle due fasi in termini della sola interfaccia e calcoliamo delle configurazioni di domini per alcune forme. A seguire ci concentriamo sulla termodinamica della separazione di fase. In generale, offriamo con i nostri esperimenti, teorie e simulazioni una chiave di lettura per capire la separazione di fase su superfici curve.

In **Capitolo 5** presentiamo un sistema sperimentale dove i colloidali vengono posti su un substrato piatto e il sistema viene tutto ricoperto con la membrana lipidica. In questa maniera, ci può essere scambio di lipidi tra la membrana sul substrato e sui colloidali. Osserviamo delle diverse distribuzioni di domini rispetto al capitolo 3, dove i lipidi erano solo sui colloidali. Questa osservazione suggerisce che la conservazione del numero di lipidi sui colloidali, o in altre parole il collegamento della membrana con il substrato, ha un effetto notevole su come avviene la separazione di fase. Questo è importante per il **Capitolo 6**, dove, non colloidali, ma strutture micrometriche disposte su un substrato piatto vengono utilizzate come scaffali per la membrana. Abbiamo ottenuto queste strutture per mezzo della stampante 3D micrometrica e il processo di stampo. Siccome con la stampante 3D possiamo ottenere strutture di qualsiasi forma, possiamo avere membrane in questa maniera con nuove interessanti forme che non potremmo diversamente ottenere con i colloidali. Nel testo descriviamo la tecnica per fare le strutture in 3D e funzionalizzarle con membrane che sono omogenee e fluide. Eseguiamo inoltre degli esperimenti di separazione di fase con delle strutture sferiche e osserviamo anche in questo caso che la curvatura influisce il processo di separazione di fase.

Nel **Capitolo 7** infine, presentiamo un’applicazione dei colloidali ricoperti con una membrana separata in due fasi per il processo di auto-assemblaggio. Osserviamo che i pezzi di DNA si localizzano dove c’è la fase più flessibile. In questa maniera i colloidali sono adesivi solo in alcune parti della superficie e possono essere usati per costruire nuove strutture attraverso l’auto-assemblaggio.

Riassumendo, in questa tesi abbiamo offerto una chiave di lettura per studiare la separazione di fase in membrane artificiali di forme diverse, su cui abbiamo presentato

sia risultati sperimentali che teorici. Le nostre scoperte possono avere un effetto sulla nostra conoscenza delle membrane cellulari e possono contribuire allo studio di nuove applicazioni biomediche e materiali intelligenti.