

多聚赖氨酸诱导的负电性磷脂巨囊泡形变

盛洁 王开宇 马贝贝 朱涛 蒋中英

Poly-L-lysine induced shape change of negatively charged giant vesicles

Sheng Jie Wang Kai-Yu Ma Bei-Bei Zhu Tao Jiang Zhong-Ying

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 67, 158701 (2018) DOI: 10.7498/aps.67.20180456

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.67.20180456>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2018/V67/I15>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[单开口膜泡形状转变的研究](#)

Shape transformations of opening-up vesicles with one hole

物理学报.2017, 66(15): 158701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.66.158701>

[生物膜泡形状问题的理论研究](#)

Recent advances of theoretical researches in morphologies of lipid vesicles

物理学报.2016, 65(18): 188701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.188701>

[用弛豫法探寻新的双开口膜泡](#)

Exploring new opening-up membrane vesicles of two holes by using the relaxation method

物理学报.2016, 65(6): 068701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.068701>

[荧光显微镜研究极端 pH 值诱导磷脂支撑膜的侧向再组织](#)

Extreme pH-induced lateral reorganization of supported lipid bilayer by fluorescence microscope

物理学报.2014, 63(6): 068702 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.068702>

[磷脂在膜结构间的交换: 温度和离子强度的影响](#)

Lipid exchange between membranes: effects of temperature and ionic strength

物理学报.2013, 62(1): 018701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.62.018701>

多聚赖氨酸诱导的负电性磷脂巨囊泡形变*

盛洁¹⁾²⁾ 王开宇¹⁾ 马贝贝²⁾ 朱涛^{1)†} 蒋中英^{2)1)‡}

1)(南京大学物理学院, 固体微结构物理国家重点实验室, 人工微结构科学与技术协同创新中心, 南京 210093)

2)(伊犁师范学院电子与信息工程学院, 微纳电传感技术与仿生器械重点实验室, 伊宁 835000)

(2018年3月16日收到; 2018年4月15日收到修改稿)

利用荧光显微技术表征了多聚赖氨酸诱导的负电性磷脂巨囊泡的动力学响应行为. 研究发现, 多聚赖氨酸可吸附至二油酰磷脂胆碱和二油酰磷脂酸混合磷脂巨囊泡的表面, 诱导其发生粘连、出“绳”及破裂现象. 分析认为, 在低盐环境中, 膜形变由多聚赖氨酸吸附于二油酰磷脂酸富集区引起的膜两叶应力不对称, 以及静电相互作用等因素产生. 研究结果对基于聚合物-巨囊泡体系的药物输运控释、细胞形变、微控反应和基因治疗等方面的研究提供有价值的支持.

关键词: 磷脂巨囊泡, 多聚赖氨酸, 静电相互作用, 膜形变

PACS: 87.16.D-, 87.16.dj, 87.16.dr

DOI: 10.7498/aps.67.20180456

1 引言

微纳米尺寸的囊泡比表面积大, 可携带大量的膜结合物. 其中粒径在5—200 μm 的巨囊泡 (giant unilamellar vesicles, GUVs) 易于观测和操作, 被广泛用于生物模拟^[1,2]、药物包封和递送^[3]、纳米颗粒合成及微反应器^[4]等方面的研究. 聚合物大分子修饰相反电性脂质膜^[5], 可改变其电学性质^[6]、改进其药物运输能力、增强其稳定性和生物兼容性^[7].

多聚赖氨酸 (poly-Llysine hydrobromide, PLL) 是一类生物降解高分子聚合物, 对生物体无毒、无副作用和无免疫源性, 具有良好的生物相容性, 可通过体内的水解或酶解反应最终降解为小分子的氨基酸, 被人体吸收. PLL侧链的 $-\text{NH}_2$ 功能基团易与细胞膜上的阴离子静电吸附, 有很强的黏附力, 从而被用于修饰材料, 具有较高的科研价值与应用前景^[8,9].

PLL可以与相反电性脂质双层高度结合^[10]. 在很多应用中, 正电性的PLL被用于将携带负电荷的受试物 (例如细胞或蛋白质) 黏附到负电性的

衬底上^[11]. 如PLL绑定到带负电荷的固体支撑膜 (SLBs) 表面, 以逆转膜表面电性, 并允许第二个双层通过囊泡融合形成, 附加层以简单的逐层方法构建^[12]. 研究者已基于SLB开展了大量生物膜与聚合物作用的研究^[13–15], 但聚合物与GUVs相互作用的研究相对匮乏. Luan和Ramos^[12]通过激光扫描共聚焦荧光显微镜观察了带反向电荷的聚电解质 (PE) 分子诱导多电荷多层囊泡的形态转变. 由高PE浓度梯度诱导带电双层的离散和绑定, 最终导致中空胶囊的自发形成, 其厚壁由与PE分子结合的脂质多层组成. Menger等^[16]利用光学显微镜观察到PLL可诱导负电性GUVs上出现黑点, 并在一段时间后生长出“绳”, 但未阐明其响应的机理. Kim和Sung^[17]基于聚合物与生物膜作用的标度理论解释了生物膜内凹与外突的产生机制. 弱吸附导致生物膜向外弯曲, 产生的正曲率结构有利于增加聚合物的构象熵. 而强吸附导致生物膜向内弯曲, 形成的内陷囊泡有利于增大聚合物-生物膜的作用面积与黏附能. Lee和Larson^[18]基于分子动力学模拟, 发现PE吸附会诱导生物膜发生形变, 但刚性聚酰胺-胺 (PAMAM) 枝状分子诱导形变的能

* 国家自然科学基金 (批准号: 11464047, 21764015, 11474155, 11774147)、中央高校基本科研业务费专项资金、自治区青年科技创新人才培养工程 (批准号: QN2016YX0504) 和伊犁师范学院科研项目 (批准号: 2013YSYB19) 资助的课题.

† 通信作者. E-mail: zhuttd@163.com

‡ 通信作者. E-mail: jiangzhying@163.com

力显著强于线性分子PLL. 关于聚合物诱导GUVs响应的研究, 仍然需要开展大量直观显微表征以对其内在过程及调控因素进行深入的理解和诠释.

利用倒置荧光显微镜实时观察PLL诱导含负电性磷脂的GUVs, 出现相邻GUVs粘连、GUVs壁向内增长生出“绳”状结构以及GUVs破裂等现象, 并对实验现象进行机理分析. 为基于聚合物-GUV体系的药物输运和控释、细胞形变、微观可控反应和基因治疗等方面的研究提供有价值的参考数据和技术支持.

2 实验

2.1 材料

二油酰磷脂酰胆碱(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DOPC)、二油酰磷脂酸(1, 2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate, DOPA)、染色剂NB D-PE[1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)(ammonium salt)]和PLL[分子量(mass fraction, MW): 4000—15000和15000—30000]均购于美国Sigma公司;氯化钠(NaCl)、磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)、磷酸二氢钾(KH_2PO_4)、氯仿、无水乙醇和甲醇均为国产分析纯试剂.

2.2 溶液配置

以氯仿/甲醇(体积比为19 : 1)为溶剂, 分别配置DOPC, DOPC/DOPA(1 : 0.1)和DOPC/DOPA(1 : 0.4)磷脂溶液, 浓度均为4 mg/mL. 掺杂电中性的NBD-PE染色磷脂分子, 染色剂占总磷脂的比例为2% (摩尔分数). PLL配制成浓度为1 mg/mL水溶液, 塑料离心管封装成若干份, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 储存; 使用时取出解冻, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏, 一周内用完. $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH = 6.98的磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)缓冲液, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冷藏,

一周内用完. 实验用水是经Milli-Q离子交换净化系统处理所得的超纯水.

2.3 制备GUVs

氧化铟锡(ITO)导电玻璃搭建流动舱用于电制备GUVs^[19,20]. 使用涂抹法将2 μL 的磷脂溶液均匀涂抹在清洗好的ITO电极上, 置于真空干燥箱至少2 h, 确保膜内有机溶剂完全挥发. 电制备GUVs时, 先向反应舱室注入PBS缓冲液, 后施加电场, 利用显微镜实时观察GUVs的生成过程, 控制生成合适粒径的GUVs. PLL与GUVs相互作用实验仍然在电制备GUVs的流动舱进行. 舱室容积为0.235 mL, 直径10 mm、高3 mm的圆柱区域. 单通道微量注射泵(KD scientific, 美国)注液速率取0.1 mL/h.

3 结果与讨论

舱室内注入PLL (MW: 15000—30000)的最终浓度达到约为49 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 相邻DOPC/DOPA(1 : 0.1) GUVs粘连, 囊泡内壁生长出“绳”结构, 以及粘连处面积逐渐增大, 如图1所示. GUVs中负电磷脂DOPA含量越高, 所需PLL的浓度越低. 换言之, GUVs负电性越强, 其对PLL的响应越剧烈. 注入PLL (MW: 15000—30000)的最终浓度达到700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 对DOPC GUVs不产生响应.

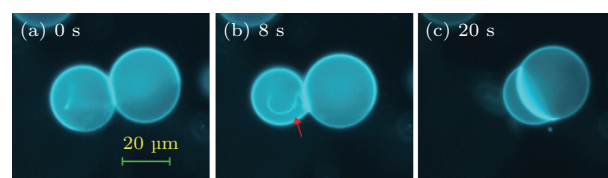


图1 PLL (MW: 15000—30000)诱导DOPC/DOPA(1 : 0.1) GUVs响应的荧光显微镜图 (a), (b) 相邻GUVs粘连和出“绳”; (c) 20 s后, 粘连处面积增大

Fig. 1. Fluorescence imaging of DOPC/DOPA (1 : 0.1) GUVs induced after the addition of PLL (MW 15000—30000): (a), (b) Attachment of adjacent GUVs and formation of ropes; (c) GUV attachment area increased after 20 s.

表1 相同条件下, PLL诱导不同GUVs产生响应所需的量

Table 1. PLL induced the amount of response required for different GUVs under the same conditions.

缓冲液	PLL	Lipid	PLL 浓度	现象
PBS = $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ pH = 6.98	15000	DOPC	700 $\mu\text{g}/\text{mL}$	无
	—	DOPC/DOPA (1 : 0.1)	49 $\mu\text{g}/\text{mL}$	粘连、“绳”、破裂
	30000	DOPC/DOPA (1 : 0.4)	6.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$	粘连、“绳”、破裂

以一个粒径为 40 μm 的 DOPC/DOPA GUVs 计算, 其中 DOPC : DOPA = 1 : 0.1, 内含约 0.7×10^{10} 个 DOPA, 则有 1.4×10^{10} 阴离子. 当舱室中 PLL (MW: 4000—15000) 的最终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 其中约有 10^{14} 个 PLL, 对应阳离子总数约为 10^{15} . 因此, PLL 具有足够的电荷与 DOPA 结合. 对照表 1 数据, 分析认为 PLL 可诱导负电性 GUVs 响应, 但对电中性的 GUVs 无影响.

3.1 相邻 GUVs 粘连

注入 PLL 后相邻 GUVs 的粘连有两种情况: 1) 相靠的 GUVs 粘连, 且粘连面积增大, 如图 2 中红箭头所指之处; 2) 临近的 GUVs, 逐渐靠近并粘连, 如图 2 中粉箭头所指之处, 测量该处两个 GUVs 初始间距约为 0.6 μm . Pantazatos 和 MacDonald [21] 曾研究发现相反电性的囊泡会粘连, 粘连处面积增大, 两个囊泡中的磷脂分子相互交换,

说明粘连处磷脂双层融合.

PLL 分子是含有若干个赖氨酸残基的阳离子聚合多肽, 具有很高的正电荷密度 [10], 可与负电性物质结合 [22]. 已知分子量为 15000—30000 的单个 PLL 链长 33—66 nm、内含 190—380 个阳离子. 生理条件下, DOPC 显电中性, DOPA 带两个负电荷. PA 上的电荷对单价电解质浓度的变化非常敏感, 当单价盐浓度低于 75 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, PC 和 PA 将快速分离 [23]. 因此, 分析认为在实验溶液环境中, DOPC/DOPA GUVs 出现不混溶的 PC 和 PA 富集区. 我们认为, 溶液中的 PLL 将分别吸引两侧 GUVs 中的 DOPA 富集区, 诱导 GUVs 粘连.

生理条件下, PLL 阳离子残基单体长度约 0.35 nm, 磷脂分子头基半径约 0.47 nm. 则从几何限制考虑, 一个 DOPA 头基和 PLL 静电吸附时, 将占据 3 个残基单体的位置, 则富余 4 个阳离子, 如示意图 3(a) 所示. 该处电性反转, 且增加为原来的两倍.

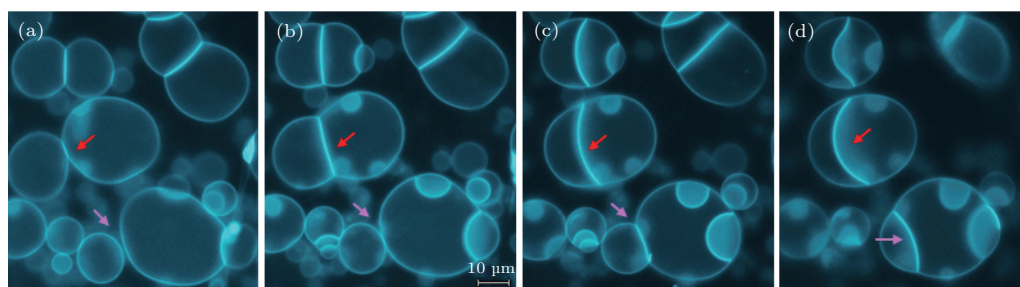


图 2 PLL (MW: 15000—30000) 诱导 DOPC/DOPA (1 : 0.4) GUVs 粘连过程的荧光显微镜图 (相靠 GUVs 的粘连如红箭头所指, 临近 GUVs 的粘连如粉箭头所指) (a) 0 min; (b) 1 min; (c) 3 min; (d) 5 min

Fig. 2. Fluorescence imaging of the attachment between DOPC/DOPA (1 : 0.4) GUVs induced by the addition of PLL (MW 15000—30000): (a) 0 min; (b) 1 min; (c) 3 min; (d) 5 min (the red and pink arrows indicate the attachments between the adjacent vesicles and the nearby vesicles, respectively).

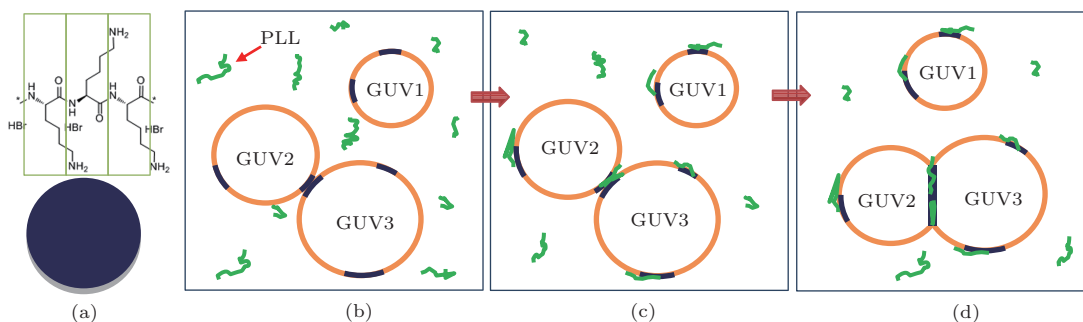


图 3 PLL 诱导 DOPC/DOPA GUVs 粘连的示意图 (注: 示意图与实际尺寸无关联) (a) 一个 DOPA 头基占据 3 个 PLL 残基单体的空间位置; (b) 溶液中 PLL 均匀扩散; (c) PLL 与 DOPA 富集区结合, 形成正电性微区域, 相邻 GUVs 粘连; (d) 粘连处面积扩大; 绿色无规则线型结构代表 PLL 分子, 圆圈橘部分为 GUVs 中 DOPC 富集区, 深蓝色部分代表 DOPA 富集区

Fig. 3. Schematic diagram of PLL-induced DOPC/DOPA GUV attachment: (a) Surface area of one DOPA headgroup is equal to that of three PLL residues; (b) uniform diffusion of PLL in solution; (c) adsorption of PLL to DOPA-enriched membrane area, formation of positively charged domains, and attachment of adjacent vesicles; (d) increase of the attachment membrane area. The green coils represents PLL, while the orange and blue colors represent the membrane area enriched in DOPC and DOPA, respectively (Note: This diagram is not drawn to scale).

图3(b)所示, GUV1, GUV2和GUV3彼此相邻, 空间中分散着PLL分子, GUVs上DOPC和DOPA不混溶的富集区随机分布. PLL与GUVs中DOPA富集区静电吸附^[12,24,25], 形成一个PLL/DOPA的微结构域^[7,26,27], 且该微区域的电性由负电性反转为正电性, 并增加两倍. PLL上充足的胺基阳离子可作为桥梁^[27,28], 通过静电吸附, 将相邻的GUVs紧密粘连在一起, 如示意图3(c)所示. 这与PLL和负电性磷脂双层形成层层自组装结构现象一致, 是否存在粘连融合的情况仍需进一步验证. 由于PLL为无规则卷曲构像, 其粘连在GUVs上将呈现平面结构. 因此, 随着粘连处周围吸附的PLL增多, 粘连处的面积也逐渐扩大, 如图3(d)所示. 综上, PLL诱导GUVs彼此粘连的动力是静电吸引力.

3.2 GUVs内生长出“绳”结构

实验观察到, 在pH中性环境中, 少数粒径较大($> 20 \mu\text{m}$)、空间位置相对独立的DOPC/DOPA GUVs易出现“绳”结构, 如图4所示. 推断可能是由于流体力学半径较大的GUVs的膜更容易受到溶液环境干扰而触发形变. GUVs会出现的“绳”结构, 在GUVs中处于无规则扰动状态, 其数量和长度都会逐渐变多、变长; 也有GUVs中仅有一条“绳”的情况. 图4(a)中GUVs充满了“绳”结构, 荧光图不可辨识中空管状结构. 图4(b)是30 s后GUVs在不同焦平面上的图像, GUVs中有一条宽 $1.4 \mu\text{m}$ 的微管(红箭头所指), 荧光图可辨识为管状结构. 图4(c)中, 黄箭头所指GUVs中仅存在一条“绳”, 绿箭头所指GUVs中有多条“绳”. 图4(d)

中GUVs生出的微管, 荧光图可辨识, 截面直径为 $2 \mu\text{m}$.

测量PLL溶液不同浓度的渗透压显示, PLL浓度小于 $50 \mu\text{g/mL}$ 时, 在测量精度范围内(1 mOsm/L)未发现渗透压改变; 浓度在 $200 \mu\text{g/mL}$ 时, 分子量小的PLL溶液透压小幅度降低. 注入的PLL溶液使囊泡外部渗透压降低, 将阻碍“绳”向囊泡内萌出^[29]. 实验数据统计显示, 导致DOPC/DOPA GUVs产生“绳”结构所需的PLL溶液浓度小于 $50 \mu\text{g/mL}$. 因此, 可以排除渗透压对“绳”过程的贡献. 我们认为GUVs壁向内生长出的“绳”结构, 属于磷脂膜的侧向再组织行为.

由于PLL含大量正电荷, 其几何长度为几纳米到几十纳米. 因此, 一条或多条PLL可与GUVs上的DOPA富集区静电吸附, 形成一个正电性的PLL/DOPA微区域, 如图5(a)所示. PLL/DOPA微区域相较于吸附前, 物理特性改变, 即磷脂膜两侧吸附不对称和电性翻倍反转, 这将破坏该处原来的稳定状态. PLL/DOPA微区域内磷脂分子密度和分子间应力受到PLL构像的影响. PLL吸附造成微区域中GUVs外叶磷脂分子横向压缩, 该处膜自发曲率向GUVs内部释放膜间应力, 萌出“芽”结构, 如图5(b)所示. 另外, 相邻的PLL/DOPA微区域之间、PLL/DOPA微区域和溶液中分散的PLL之间, 均存在静电排斥力, 如图5(c)所示红箭头所示. 且分别增加为原来的4倍和两倍, 严重打破了原有磷脂分子间的力学平衡. 静电排斥力将“芽”与GUVs连接边缘处的PLL/DOPA微区域逐渐推入GUVs内部, 即生长出“绳”结构.

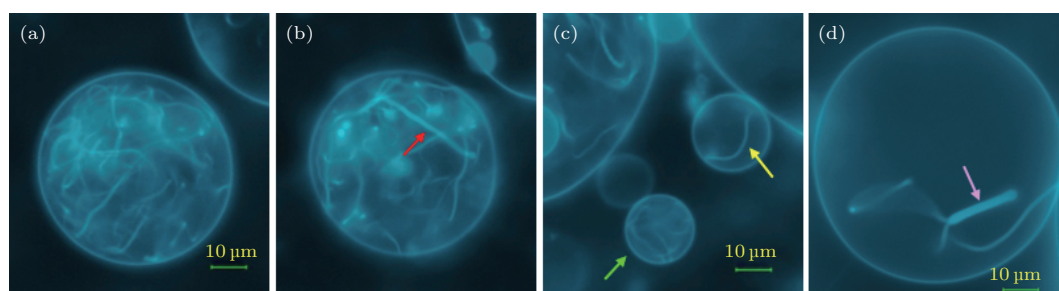


图4 PLL (MW: 4000—15000) 诱导 DOPC/DOPA (1 : 0.4) GUVs 产生“绳”结构的荧光显微镜图 (a) 大量“绳”结构, 宽度 $< 1 \mu\text{m}$; (b) 30 s 后的微管结构, 直径 $1.4 \mu\text{m}$; (c) GUVs 中仅一条“绳”, 黄箭头指示; (d) 微管结构, 直径为 $2.3 \mu\text{m}$, 粉箭头指示

Fig. 4. Fluorescence imaging of the formation of ropes from DOPC/DOPA (1 : 0.4) GUVs induced by the addition of PLL (MW 4000–15000): (a) Large number of ropes with diameter less than $1 \mu\text{m}$; (b) after 30 s, the diameter of ropes increases to around $1.4 \mu\text{m}$; (c) GUV with one rope (yellow arrow) and many ropes (green arrow); (d) tube with a diameter of $2.3 \mu\text{m}$ (pink arrow).

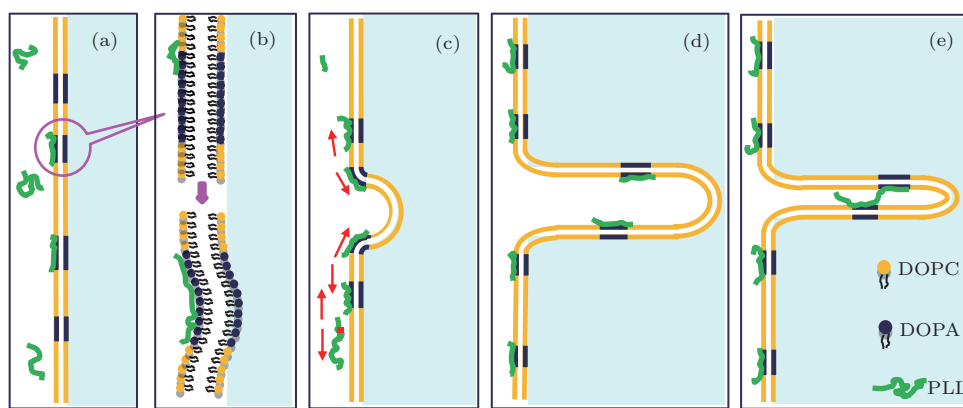


图5 “绳”结构萌出过程示意图(注: 示意图与实际尺寸无关联) (a) DOPA 富集区吸附 PLL 形成的正电性的微区域; (b) 图(a)中微区域的放大图, 磷脂双层外叶面积收缩引起膜向囊泡内部隆起; (c) 萌出“芽”结构, 红箭头代表微区域间静电排斥, 以及微区域和 PLL 静电排斥; (d) 形成微管; (e) 形成“绳”

Fig. 5. Schematic diagram of PLL-induced rope formation: (a) Adsorption of PLL adsorbed to DOPA-enriched membrane area, formation of positively charged domains; (b) enlarged image from panel (a) shows that the contraction asymmetry in the two lipid leaflets causes the bending of the lipid membrane inward; (c) budding of the membrane; the red arrows indicates the electrical repulsion between the micro-domains, as well as the electrical repulsion between micro-domain and PLL; (d) formation of the tubes; (e) formation of ropes (Note: This diagram is not drawn to scale).

Khalifa 等^[30]利用微操实现局部 pH 梯度, 观察到定向诱导 50 μm 的 GUVs 动态嵴状膜内陷, 若撤去该处 pH 梯度, 内陷可以恢复并消失. 实验观察到 GUVs 内陷生出“绳”未自动收缩消失. 分析认为, 当“芽”萌出, 生长成“绳”后, 磷脂分子间应力得到了释放. 分子间力平衡后, “绳”的长度固定, 系统达到相对稳定, 如图 4(c) 中黄箭头所指的 GUVs 中长度稳定的“绳”.

“绳”在 GUVs 内无规则的扰动是“绳”继续生长的一种动力. 内含多条“绳”的 GUVs, “绳”中 PLL/DOPA 微区域的电性使“绳”彼此间静电排斥, 造成剧烈扰动. 扰动的“绳”不断将 GUVs 接口拖处的分子拖入“绳”内, 即出现“绳”不断变长.

分别测图 4(a) 和图 4(b) 中 GUVs 的直径, 各 15 组, 取平均值, 参见表 2. 分析认为“绳”的生长消耗 GUVs 中磷脂分子, 导致 GUVs 直径减小 $\Delta D = D_A - D_B \approx 2.5 \mu\text{m}$ (A 代表 0 s, B 代表 30 s), 其表面积减少 $\Delta S = S_A - S_B \approx 862 \mu\text{m}^2$. 已知磷脂双分子层厚 4 nm, PLL (MW: 4000—15000) 对应的无规则卷曲线型构像, 长度约为 8—30 nm, 这对于荧光图中估测的微米级直径的“绳”而言, 可以将“绳”看作如示意图 5(d) 和图 5(e) 所示直径不同的微管^[16].

计算 $\Delta S \approx 862 \mu\text{m}^2$ 可以新生成以下 3 种结构: 1) 约 6 条直径 1.4 μm 、长度 30 μm 的微管, 但实际上调整不同聚焦平面仅观测到一条; 2) 假设 PLL

伸展后的线状结构可以横跨粘连微管壁, 呈现如示意图 5(d) 所示, 可生成约 190 条, 直径 0.03 μm , 长度 50 μm 的微管, 这与实验观察到“绳”的数量有较大差异; 3) 直径 0.5 μm 、长度 40 μm 的微管, 可新生成 28 条, 这与观察到的实际图像符合. 综合分析, ΔS 可新生成的“绳”结构是不同直径的微管, 这仍需要进一步用实验证实.

表 2 GUVs 形变和生成微管的相关几何参数及计算数据
Table 2. Geometric parameters and calculation data of GUVs deformation and microtubules generation.

	测量时刻/s	
	0	30
平均直径 $D/\mu\text{m}$	55.34327	52.8055
表面积 $S/\mu\text{m}^2$	9622.314	8760.098
磷脂分子数 $N = S1/A_0/\text{个} \cdot \mu\text{m}^2$	$\sim 1.37 \times 10^{10}$	$\sim 1.25 \times 10^{10}$
假设 GUVs 直径不变, 分子间距离 d/nm	~ 0.47	~ 0.49

3.3 GUVs 破裂

实验观察到, 注入 PLL 可导致 GUVs 破裂. 大多数 GUVs 粘连后迅速破裂, 未观察到“绳”结构的生长. 个别生出“绳”结构的 GUVs 在一段时间后破裂. 分析认为, PLL 诱导 GUVs 粘连或向内生出大量的“绳”, 使 GUVs 中某处分子的间距大于范德瓦

耳斯截断半径时,造成GUVs破裂.

另外,粘连的GUVs中,一个或几个GUVs破裂后,完整的GUVs表面会出现类似相分离的微畴结构.如图6(a)中红箭头所指GUVs破裂后,出现图6(c)黄箭头所指的高亮区.分析认为,由于PLL上足够的电荷可作为中间桥梁,分别吸附两侧负电性带电体,自组装形成多层膜结构[27].此高亮区是残余双层膜通过PLL静电吸附在完整的GUVs上,显示出高亮荧光区域.由于PLL/DOPA微区域间静电排斥和磷脂分子的流动性,微畴区域出现面积改变和位置移动的响应.这一结果为GUVs与聚合物大分子层层自组装复合系统的研发提供了重要的参考依据.

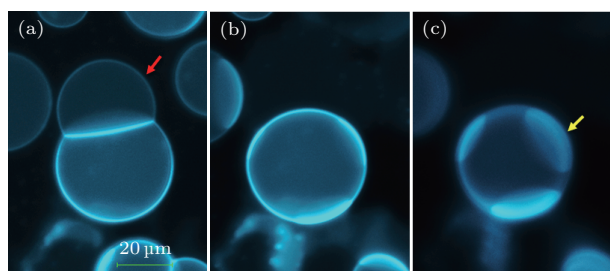


图6 PLL诱导DOPC/DOPA (1 : 0.1) GUVs破裂图荧光显微镜 (a)相邻GUVs粘连; (b)其中一个GUVs破裂; (c) GUVs上出现类似相分离微畴区域

Fig. 6. Fluorescence imaging of PLL-induced DOPC/DOPA (1 : 0.1) GUVs rupture: (a) Attachment between adjacent GUVs; (b) rupture of one GUV; (c) formation of the phase separation structure.

4 结 论

利用荧光显微镜原位观测研究了PLL对磷脂GUVs的影响.实验发现,PLL引发含负电磷脂的GUVs向内部生长出“绳”、粘连和破裂.

PLL诱导负电性GUVs形变响应,对中性GUVs无影响.PLL与负电性GUVs相互作用是自发曲率、静电排斥力与膜间张力的竞争过程.在低盐溶液中,DOPC和DOPA混溶性差,形成DOPA富集的微区域.PLL与DOPA富集区静电吸附,使PLL/DOPA微区域电性反转,带电量翻倍.PLL作为桥梁,因静电力分别吸附两侧GUVs粘连.PLL/DOPA微区域之间、PLL/DOPA微区域和PLL之间,存在静电排斥力.GUVs吸附PLL,导致内外叶面积不对称,引起该处膜自发曲率.磷脂分子间张力增加,阻碍“绳”生成.静电排除力、自发曲率促进粘连、出“绳”和破裂.

我们的研究结果对聚合物-GUVs体系为模型

的药物输运和控释、细胞形变、微观可控反应和基因治疗等方面的研究提供有利的支持.

参考文献

- [1] Yang K, Ma Y Q 2010 *Nat. Nanotech.* **5** 579
- [2] Ding H M, Tian W D, Ma Y Q 2012 *ACS Nano* **6** 1230
- [3] Tahara K, Tadokoro S, Kawashima Y, Hirashima N 2012 *Langmuir* **28** 7114
- [4] Jiang Z Y, Zhang G L, Ma J, Zhu T 2013 *Acta Phys. Sin.* **62** 018701 (in Chinese) [蒋中英, 张国梁, 马晶, 朱涛 2013 物理学报 **62** 018701]
- [5] Ge L, Möhwald H, Li J 2003 *Colloid. Surf. A* **221** 49
- [6] Brown K L, Conboy J C 2011 *J. Am. Chem. Soc.* **133** 8794
- [7] Zhu T, Jiang Z Y, Ma Y Q, Hu Y 2016 *ACS Appl. Mater. Interfaces* **8** 5857
- [8] Lee I C, Wu Y C 2014 *ACS Appl. Mater. Interfaces* **6** 14439
- [9] Ding L, Chi E Y, Chemburu S 2009 *Langmuir* **25** 13742
- [10] Burke S E, Barrett C J 2003 *Biomacromolecules* **4** 1773
- [11] Tabaei S R, Jonsson P, Branden M, Hook F 2009 *J. Struct. Biol.* **168** 200
- [12] Luan Y, Ramos L 2007 *J. Am. Chem. Soc.* **129** 14619
- [13] Fu M, Li Q, Sun B 2017 *ACS Nano* **11** 7349
- [14] Li Z L, Ding H M, Ma Y Q 2016 *J. Phys.: Condens. Matter* **28** 083001
- [15] Hu J M, Tian W D, Ma Y Q 2015 *Macromol. Theory Simul.* **24** 399
- [16] Menger F M, Seredyuk V A, Kitaeva M V, Yaroslavov A A, Melik-Nubarov N S 2003 *J. Am. Chem. Soc.* **125** 2846
- [17] Kim Y W, Sung W Y 2001 *Phys. Rev. E* **63** 041910
- [18] Lee H, Larson G R 2008 *J. Phys. Chem. B* **112** 12279
- [19] Le B M, Yamada A, Reck L, Chen Y, Baigl D 2008 *Langmuir* **24** 2643
- [20] Bi H, Yang B, Wang L 2013 *J. Mater. Chem. A* **1** 7125
- [21] Pantazatos D P, MacDonald R C 1999 *J. Membrane Biol.* **170** 27
- [22] Fan J, Li J F, Zhang H D, Yang Y L 2007 *Acta Phys. Sin.* **56** 7230 (in Chinese) [范瑾, 李剑锋, 张红东, 杨玉良 2007 物理学报 **56** 7230]
- [23] Duan H, Li J F, Zhang H D 2018 *Acta Phys. Sin.* **67** 038701 (in Chinese) [段华, 李剑锋, 张红东 2018 物理学报 **67** 038701]
- [24] Laroche G, Carrier D, Pézolet M 1988 *Biochemistry* **27** 6220
- [25] Xie L Q, Tian W D, Ma Y Q 2013 *Soft Matter* **9** 9319
- [26] Hayward S L, Francis D M, Sis M J, Kidambi S 2015 *Sci. Rep.* **5** 14683
- [27] Heath G R, Li M, Polignano I L, Richens J L, Catucci G, Butt J N 2016 *Biomacromolecules* **17** 324
- [28] Tian W D, Ma Y Q 2013 *Chem. Soc. Rev.* **42** 705
- [29] Li J, Zhang H, Qiu F, Yang Y, Chen J Z 2015 *Soft Matter* **11** 1788
- [30] Khalifat N, Puff N, Bonneau S, Fournier J B, Angelova M I 2008 *Biophys. J.* **95** 4924

Poly-L-lysine induced shape change of negatively charged giant vesicles*

Sheng Jie¹⁾²⁾ Wang Kai-Yu¹⁾ Ma Bei-Bei²⁾ Zhu Tao^{1)†} Jiang Zhong-Ying^{2)1)‡}

1) (Collaborative Innovation Center of Advanced Microstructures, National Laboratory of Solid State Microstructures, School of Physics, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

2) (Key Laboratory of Micro-nano Electric Sensing Technology and Bionic Devices, College of Electronic and Information Engineering, Yili Normal University, Yining 835000, China)

(Received 16 March 2018; revised manuscript received 15 April 2018)

Abstract

Decoration of biomembrane with polymer may improve its physical properties, biocompatibility, and stability. In this study, we employ the inverted fluorescence microscopy to characterize the polylysine (PLL) induced shape transformation of the negatively charged giant unilamellar vesicles (GUVs) in low ionic medium. It is found that PLL may be adsorbed to the 1, 2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) and 1, 2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidic acid (DOPA) binary mixture vesicles, resulting in the attachment between the membranes, the formation of the ropes, and rupture of the GUVs. The response of GUVs generally is enhanced with the increase of the negatively charged DOPA in the membranes. The experimental observations are concluded as follows. Firstly, for the PLL induced attachment of GUVs, the attachment area grows gradually with time. Secondly, ropes can only be found in relatively large GUVs. However, the hollow structure is not discernable from the fluorescence imaging. Thirdly, after the rupture of GUVs, some phase-separated-like highly fluorescence lipid domains form in the adjacent intact vesicles. Through careful discussion and analysis, we show that on the one hand, the positively charged PLL adheres to the negatively charged membrane surface, bridging the neighboring GUVs and drawing the originally electrical repulsive vesicles together. The contact zone between GUVs expands with the increasing adsorption of PLL in this area. And the local high fluorescence areas in the GUVs originate from the PLL induced membrane attachment as well. Some membrane segments from ruptured vesicles are adsorbed to the particular areas of GUV, forming a few lipid patch structures above the latter membrane. On the other hand, PLL is adsorbed to the membrane area enriched in the negatively charged DOPA, reversing the surface charge of the upper leaflet and deteriorating the stability of the lipid bilayer. The original equilibrium of the system is broken by the change of the electrical interaction between the neighboring lipid domains as well as the interaction between the domain and water-dispersed PLL. The lipid packing density and inter-lipid force are affected by the PLL adsorption. Lipid membranes have to bud to release the stress built in the spontaneous curvature incompatibility in the two leaflets. The system may become stable again after buds grown into rods with a certain length. All in all, this study deepens the understanding of the interaction mechanism between lipid membrane and oppositely charged polymer. The conclusions obtained will provide valuable reference for the further studies on the polymer-GUV application areas including drug delivery, control release, cell deformation, micro-volume reaction, and gene therapy.

Keywords: giant phospholipid vesicles, poly-L-lysine, electrical interaction, membrane deformation

PACS: 87.16.D-, 87.16.dj, 87.16.dr

DOI: 10.7498/aps.67.20180456

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11464047, 21764015, 11474155, 11774147), the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China, the Youth Science and Technology Innovation Talents Training Project of the Autonomous Region, China (Grant No. QN2016YX0504), and the Scientific Research Project of Yili Normal University, China (Grant No. 2013YSYB19).

† Corresponding author. E-mail: zhuttd@163.com

‡ Corresponding author. E-mail: jiangzhying@163.com