

Česko-Slovenská studentská vědecká konferencia vo fyzike

Langmuir-Blodgett model membrány
Mycobacterie tuberculosis

2016

Mgr. Tomáš Fodran

Langmuir-Blodgett model membrány *Mycobacterie tuberculosis*

Tomáš Fodran¹

¹ Ústav jadrového a fyzikálneho inžinierstva, FEI STU v Bratislave

fodran.tomas@gmail.com

Abstrakt – V článku sa zaoberáme štúdiom fyzikálnych vlastností (*R*) a (*S*) tuberkulostearovej kyseliny. Prostredníctvom Langmuirových monovrstiev sme porovnávali ich izotermy s inými dobre opísanými masnými kyselinami. Získané výsledky sú využiteľné pri hľadaní molekuly vhodnej ako mechanický model v molekulovej dynamike modelovania lipidových dvojvrstiev. Vzhľadom na prirodzený výskyt zmesi (*R*)-TSA a kyseliny stearovej v pomere 1:1 v bunkovej membráne *Mycobacterium tuberculosis* sme sa zamerali na pozorovanie takýchto zmesí v rôznych vzájomných molových koncentráciách. Zo získaných údajov sme určili Gibbsovú energiu pri rôznych povrchových tlakoch ako aj moduly pružnosti zmesí s cieľom vyšetriť vplyv molového zlomku (*R*)-tuberkulostearovej na vlastnosti bunkovej membrány.

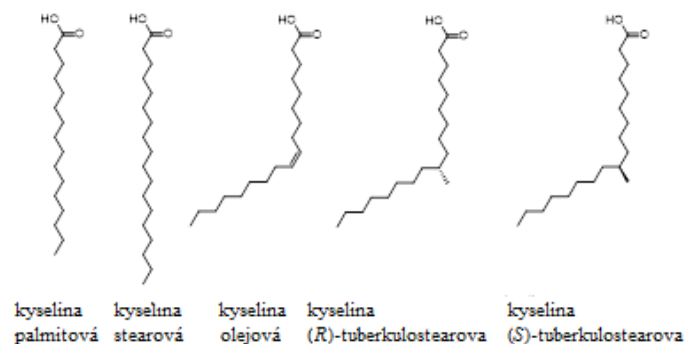
1 Úvod

S 9.5 miliónmi nakazených a 1.5 miliónmi obetí v roku 2014 je tuberkulóza najsmrteľnejšie bakteriálne ochorenie. Patogén zodpovedný za túto smutnú štatistiku je *Mycobacterium tuberculosis*. Výnimočnosť tejto baktérie spočíva v mimoriadne hrubej lipofilnej bunkovej stene zloženej z veľkého množstva rozvetvených masných kyselín. Na ich biosyntézu používa *M. tuberculosis* rôzne enzýmy, ktorých inhibítory sú účinné liečivá proti tuberkulóze. Samotné fyzikálne vlastnosti týchto lipidov sú pomerne neznáme najmä kvôli ich nedostupnosti v čistej homogénnej forme. Umelo sa síce dajú v laboratóriu získať chemickou syntézou, avšak iba v obmedzenom množstve [1]. Preto sme na skúmanie mechanických a termodynamických vlastností (*R*) a (*S*) tuberkulostearovej kyseliny ((*R*)-TSA, (*S*)-TSA) použili Langmuirovu-Blodgettovu (LB) techniku, pri ktorej sa na povrch kvapalnej subfázy (napr. voda) aplikujú rádovo mikromolové množstvá skúmanej látky. Molekuly na subfáze tvoria v závislosti od voľného priestoru pripadajúceho na molekulu rôzne fázy – plynnú, kvapalnú, pevnú a pod. Voľný priestor makroskopicky vymedzuje pohyblivá bariéra, pomocou ktorej dokážeme presne kontrolovať celkovú plochu hladiny. Zároveň meriame povrchový tlak monovrstvy pri konštantnej teplote.

V predkladanom článku porovnáваме izotermy (*R*)-TSA a (*S*)-TSA s lineárnymi masnými kyselinami (kyselina stearová a palmitová) a s kyselinami s nenasýteným reťazcom (kyselina olejová, Obr. 1). Proces kompresie sme opticky pozorovali Brewstrovým mikroskopom (BAM).

Nakoľko sa (*R*)-TSA vyskytuje v bunkovej membráne tuberkulovej baktérie v 50% podiele ku kyseline stearovej, zame-

rali sme sa aj na fyzikálne parametre ako modul pružnosti, termodynamické vlastnosti, Gibbsovú voľnú energiu ich zmesí v 25:75, 50:50, 75:25 vzájomných molových pomeroch.



Obr. 1. Masné kyseliny použité v experimentoch. Kyselina palmitová a stearová majú lineárny reťazec. Dvojitá väzba v strede uhlíkového reťazca kyseliny olejovej spôsobuje jeho priestorové zalomenie. Rovnako pôsobí na reťazec aj metylová skupina v strede reťazca (*R*) a (*S*) tuberkulostearových kyselín.

2 Materiál a metódy

Monovrstvy boli vytvorené v LB vaničke model 611M (NIMA Technology Coventry, UK) z kyseliny palmitovej a stearovej (Sigma-Aldrich), kyseliny olejovej (Fischer Scientific) a vetvených (*R*) a (*S*) tuberkulostearových kyselín, ktoré boli poskytnuté Univerzitou v Groningene. Látky sme rozpúšťali v spektroskopicky čistom chloroforme (Sigma-Aldrich) s koncentraciami 1 mg/ml. Ako subfázu sme použili deionizovanú vodu zo zariadenia Millipore Simplicity UV (Merck). Konštantnú teplotu zabezpečoval recirkulačný chladič JULABO FL300 (JULABO GmbH).

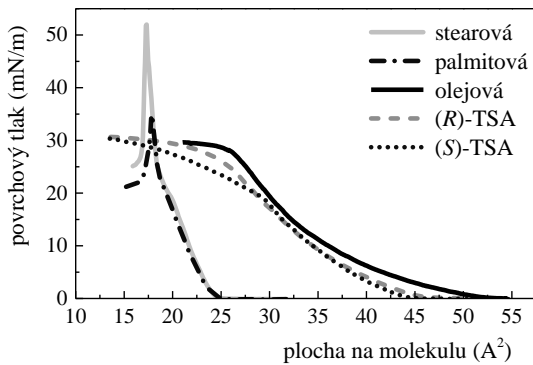
Počiatková voľná plocha Langmuirovej-Blodgettovej vaničky bola 500 cm². Množstvo aplikovanej látky na subfázu sa líšilo v závislosti od potrebnej počiatkovej plochy na vytvorenie plynnej fázy. Na vytvorenie monovrstvy kyseliny stearovej a palmitovej sme aplikovali 50 μl roztoku. V prípade kyseliny olejovej to bolo 30 μl a pri (*R*) a (*S*)-TSA sme použili 40 μl roztoku.

Látky sme na subfázu nanášali mikrostriekačkou s objemom 50 μl (Hamilton, USA). Po aplikácii materiálu sme čakali 10 minút na odparenie rozpúšťadla a na ustálenie monovrstvy. Kompresia prebiehala vo všetkých experimentoch s konštantnou rýchlosťou 10 cm²/min pri stálej temperovanej teplote

20,5°C. Povrchový tlak sme zaznamenávali senzorom PS4 (NIMA) s Willhelmovou platničkou vyrobenou z bezprašného filtračného papiera s pórovitosťou 8 – 12 μm (Fisher Scientific). Priame pozorovanie monovrstvy na subfáze sme realizovali pomocou Brewstrovho mikroskopu MicroBAM (NIMA Technology Coventry, UK)

3 Experimentálne výsledky

Izotermy nameraných mastných kyselín sú zobrazené na Obr. 2. Izoterma kyseliny stearovej zodpovedá výsledkom viacerých autorov [2][3]. Plocha s hodnotami do 25 A²/molekulu zodpovedá plynnej fáze a následne monovrstva prechádza do kondenzovanej kvapalnej fázy, čo sa prejavuje v zmene strmosti izotermy (Obr. 2). Pri povrchovom napätí ~60 mN/m dochádza ku kolapsu a monovrstva sa láme. Kondenzovaná kvapalná fáza (Obr. 3A) a pevná fáza (Obr. 3B) sú opticky jasne odlišiteľné aj na záznamoch z BAM. Kyselina palmitová mala začiatok kondenzovanej kvapalnej ako aj pevnej fázy približne pri tých istých hodnotách tlaku a plochy ako kyselina stearová. Kolaps však nastal pri nižšom povrchovom tlaku (~35 mN/m). V prípade kyseliny olejovej sa začala prejavovať interakcia medzi molekulami pri ploche ~52 A²/molekulu a kolaps nastával, keď plocha dosiahla hodnotu ~27 A²/molekulu pri tlaku ~30 mN/m, čo je taktiež v súlade s literatúrou (odchýlka ±1 A²/molekulu [4]). Na obrázkoch z BAM môžeme po kolapse vidieť zhluky zoskupených molekúl (biele klastre na Obr. 3C).

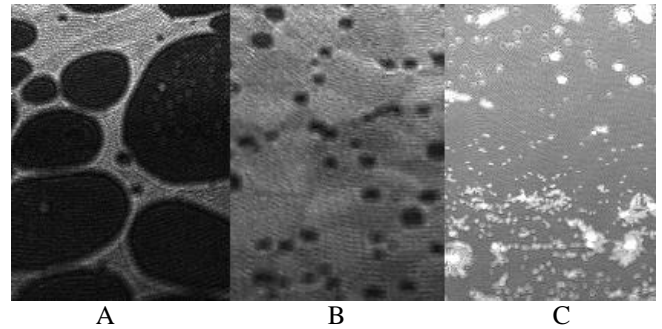


Obr. 2. Experimentálne získané izotermy mastných kyselín. Kyseliny s podobným reťazcom tvoria navzájom podobné izotermy. Stearová a palmitová kyselina sa vyznačujú dvomi strmými fázami, zatiaľ čo kyseliny so zalomeným reťazcom – olejová kyselina, (R) a (S)-TSA s jednou fázou sú charakteristické pozvoľným exponenciálnym rastom.

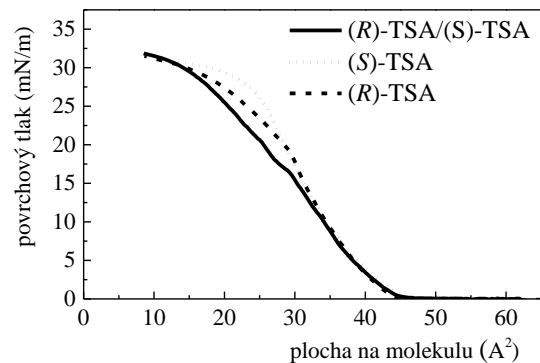
Na záznamoch BAM vrstvy kyseliny olejovej počas kompresie nie je vidieť žiadny relevantný obraz, čo znamená, že vzdialenosti medzi jednotlivými molekulami sú príliš veľké na vytvorenie dostatočne súvislej vrstvy. Príčina tohto javu je to, že kyselina olejová sa počas fázového prechodu neustále nachádza v expandovanej kvapalnej fáze [5]. Podobné záznamy z BAM sme získali aj pri pozorovaní (R)-TSA a (S)-TSA. Prechod do kvapalnej expandovanej fázy (R)-TSA a (S)-TSA začína pri ploche ~46 A²/molekulu. Kolaps vrstvy nastal v prípade (R)-TSA pri ploche ~26 A²/molekulu a tlaku ~26 mN/m. Po kolapse sa povrchový tlak ustálil na konštantnej hodnote ~30 mN/m. Vrstva (S)-TSA kolabovala pri ~29 A²/molekulu

(19 mN/m). Po kolapse však tlak s plochou ďalej stúpala a postupne konvergoval k hodnote 30 mN/m, odkiaľ bol ďalej konštantný, rovnako ako v prípade (R)-TSA.

Izoterma racemickej zmesi TSA bola podobná izotermám jej jednotlivých komponentov. Začiatok izotermy sa objavil pri ~46 A²/molekulu. Tlak sa po kolapse ustálil na hodnote ~32mN/m. V oblasti medzi 32 až 15 A²/molekulu sa izotermy navzájom mierne líšia (Obr. 4).

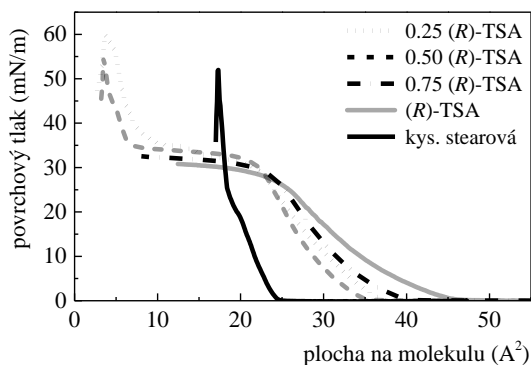


Obr. 3. Snímky jednotlivých fáz z Brewstrovho mikroskopu pri kompresii kyseliny stearovej na vodnej hladine: A) kondenzovaná kvapalná fáza – čierna plocha je vodná hladina, začínajú sa vytvárať spojité štruktúry vznikajúcej monovrstvy; B) pevná fáza – súvislá monomolekulová vrstva s niekoľkými defektami v podobe malých dier, ktoré predstavujú menej ako 5% plochy; C) stav po kolapse vrstvy – teste pred kolapsom zmiznú defekty a vrstva zaberá celý povrch hladiny. Pri malom zvýšení povrchového napätia vrstva kolabuje, monovrstva sa láme a jednotlivé kryhy sa začínajú na seba nakladať.



Obr. 4. Porovnanie izoterm (R) a (S)-TSA s ich racemickou zmesou. Medzi izotermami je veľká podobnosť. V oblasti medzi 15 až 32 A²/molekulu sú izotermy navzájom mierne odčýlené. Príčinou môže byť nedostatočná čistota vzorky (S)-TSA pre LB techniku.

Pri skúmaní zmesi kyseliny stearovej a (R)-TSA v rôznych molových pomeroch sa všetky izotermy nachádzali medzi izotermami ich čistých konštituentov. Najbližšie k čistej kyseliny stearovej bola izoterma zmesi v podiele 0,5. Pri zmesiach s molovým podielom 0,25 a 0,5 kyseliny tuberkulostearovej sa pri malých plochách (od ~12 A²/molekulu) vyskytuje maximum podobné izoterme čistej kyseliny stearovej (Obr. 5).



Obr. 5. Porovnanie izoterm zmesí a čistých látok (R)-TSA a kyseliny stearovej. Pri molových zlomkoch 0,25 a 0,5 (R)-TSA v zmesi sa objavuje maximum podobné ako v prípade kyseliny stearovej. Prvý fázový prechod zmesi s molovým zlomkom 0,5 (R)-TSA začal v porovnaní s ostatnými zmesami pri najmenšej ploche $\sim 35 \text{ Å}^2/\text{molekulu}$ a forma kolapsu bola rovnaká ako v prípade čistej (R)-TSA – v podobe konštantného priebehu pri tlaku $\sim 30 \text{ mN/m}$.

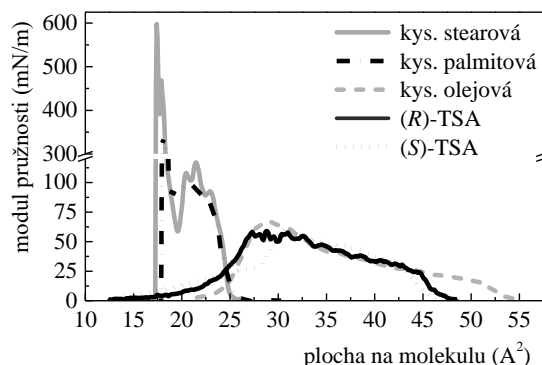
3.1 Mechanické vlastnosti

Modul pružnosti charakterizuje mechanickú pevnosť monovrstvy a analogicky s objemovými materiálmi je určený vzťahom

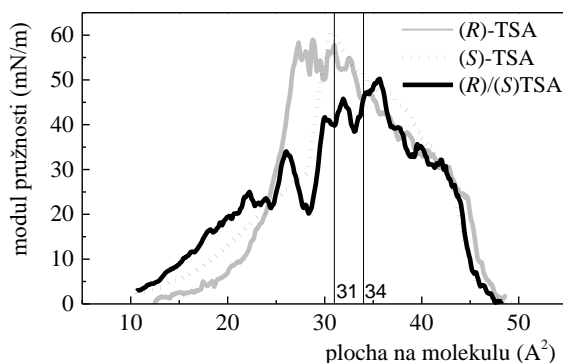
$$|E| = -A \left(\frac{\partial \pi}{\partial A} \right)_T \quad (1)$$

kde π je povrchové napätie, A je plocha pripadajúca na molekulu a T je teplota. Na Obr. 6 sú zobrazené moduly pružnosti monovrstiev skúmaných látok vypočítané z nameraných izoterm. Kyseliny stearová a palmitová majú dve oblasti približne konštantnej pružnosti. Nižšia oblasť s hodnotou $\sim 100 \text{ mN/m}$ je oblasť kondenzovanej kvapalnej fázy. Hodnota $\sim 425 \text{ mN/m}$ (kyselina stearová) a $\sim 300 \text{ mN/m}$ (kyselina palmitová) zodpovedajú pevnej fáze. Modul pružnosti dosahuje maximálne hodnoty tesne pred kolapsom, kedy je tlak v monovrstve najväčší (pre kyselinu stearovú 597 mN/m a 345 mN/m pre kyselinu palmitovú.) Kyselina olejová, (R)-TSA a (S)-TSA majú navzájom podobný rozsah modulov pružnosti. Je vidieť, že po prvotnom pomerne rýchlym náraste sa modul pružnosti ďalej mení pomalšie. Ich maximálne hodnoty sa pohybujú okolo 50 mN/m a monovrstvy sa nachádzajú v expandovanej kvapalnej fáze.

V prípade racemickej zmesi sme porovnávali moduly pružnosti s jej komponentami do miesta dostatočne vzdialeného od kolapsu prvej z izoterm ($34 \text{ Å}^2/\text{molekulu}$). Na Obr. 7 je analyzovaná oblasť označená zvislou tenkou čiarou. Po túto hodnotu plochy sú maximá a celkový priebeh modulov pružnosti totožné. Rovnako sme postupovali aj pri vzájomnom porovnávaní modulov pružnosti (R) a (S)-TSA, pričom aj tu boli ich maximá a priebeh totožné (oblasť dostatočne vzdialená od kolapsu prvej z porovnávaných látok bola stanovená na $31 \text{ Å}^2/\text{molekulu}$).



Obr. 6. Moduly pružnosti skúmaných látok. Podobnosť izoterm sa prejavila aj v podobnosti vypočítaných modulov pružnosti. Kyselina stearová a kyselina palmitová majú dve oblasti konštantných modulov pružnosti. Nižšiemu pri $\sim 100 \text{ mN/m}$ zodpovedá kvapalná kondenzovaná fáza, vyššiemu $\sim 425 \text{ mN/m}$ a $\sim 300 \text{ mN/m}$ pevná fáza. Látky so zalomeným reťazcom (kyselina olejová, (R) a (S)-TSA) majú jednu približne konštantnú oblasť zodpovedajúcu expandovanej kvapalnej fáze.



Obr. 7. Moduly pružnosti racemickej zmesi kyseliny tuberkulostearovej a jej porovnanie z modulmi pružnosti jej čistých komponentov. Porovnávali sme iba hodnoty do kolapsu prvej z látok, (R) a (S)-TSA do plochy $31 \text{ Å}^2/\text{molekulu}$; (R) a (S)-TSA a ich racemickej zmesi do plochy $34 \text{ Å}^2/\text{molekulu}$. V týchto oblastiach sú moduly pružnosti porovnávaných látok prakticky rovnaké.

3.2 Termodynamické vlastnosti

Gibbova energia opisuje chemické deje za podmienok konštantného tlaku, teploty a látkového množstva. Pre monovrstvu na subfáze je Gibbova voľná energia definovaná vzťahom [6]:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial A} \right)_{T,P,n} = \gamma \quad (2)$$

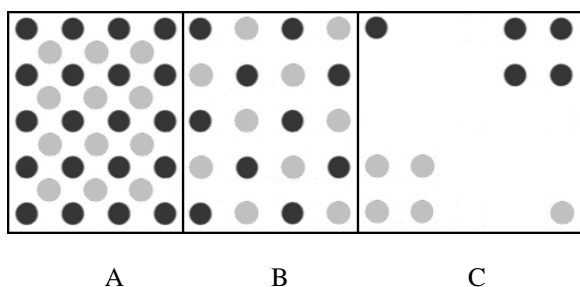
kde A je plocha γ je povrchový tlak. V LB vaničke sa rôzne hodnoty povrchového tlaku dosahujú posúvaním bariéry. Pri konštantnej teplote a tlaku platí

$$dG = -Ad\pi \quad (3)$$

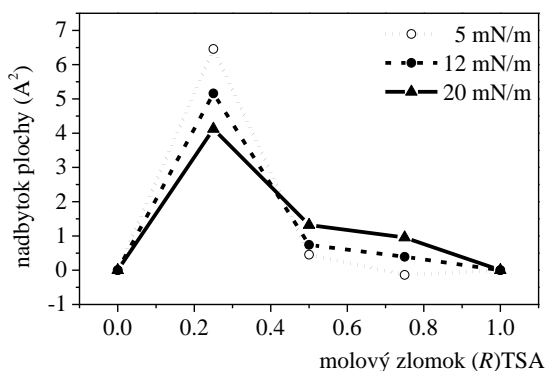
Na posúdenie vlastností zmesových monovrstiev je výhodné vypočítať Gibbovu voľnú energiu zmesi podľa rovnice

$$\Delta G = \int_0^\pi (A_{12} - x_1 A_1 - x_2 A_2) d\pi \quad (4)$$

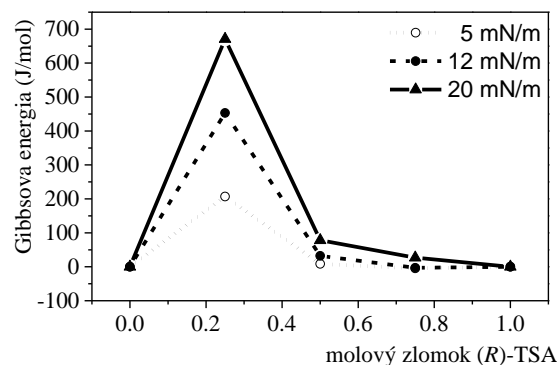
kde A_{12} je molekulová plocha zmesi pri teplote T a tlaku π , A_1 a A_2 predstavujú obsadenú molekulovú plochu jednolátkových monovrstiev a x_1 a x_2 sú molové zlomky látok tvoriacich zmes. Ak je $\Delta G < 0$ tak v systéme prevládajú príťažlivé sily chemické reakcie prebiehajú spontánne. V zmesiach je celková plocha obsadená hustejšie než v prípade ideálnej zmesi (Obr. 8A). Pre $\Delta G = 0$ je systém v rovnováhe. Molekuly nemajú žiadne priestorové preferencie a navzájom sú nerozlíšiteľné (pôsobia na seba rovnakými silami). Plochu obsadzujú ako pri ideálnej zmesi (Obr. 8B). Ak je $\Delta G > 0$, prevládajú repulzívne sily, chemicky je na spustenie reakcie potrebné dodať energiu. Molekuly sa teda odpudzujú a priestor obsadzujú redšie, pričom jednotlivé látky vytvárajú domény (Obr. 8C).



Obr. 8. Usporiadanie molekúl v zmesi v závislosti od Gibbsovej energie. A) záporná Gibbsova energia – molekuly zmesi zaberajú menšiu plochu ako v prípade ideálnej zmesi, prevládajú príťažlivé sily; B) nulová Gibbsova energia – molekuly sú typovo nerozlíšiteľné a tvoria ideálnu zmes; C) kladná Gibbsova energia – molekuly zaberajú väčšiu plochu ako v ideálnej zmesi, prevládajú repulzívne sily a molekuly tvoria homogénne domény.



Obr. 9. Nadbytky plochy v zmesiach. Pre hodnotu molového zlomku (R) -TSA rovnú 0,25 je nadbytok plochy vzhľadom na ideálnu zmes vysoký. S rastúcim tlakom sa nadbytky plochy znižujú. Od hodnoty molového zlomku 0,5 sú nadbytky minimálne, avšak s rastúcim tlakom mierne narastajú.

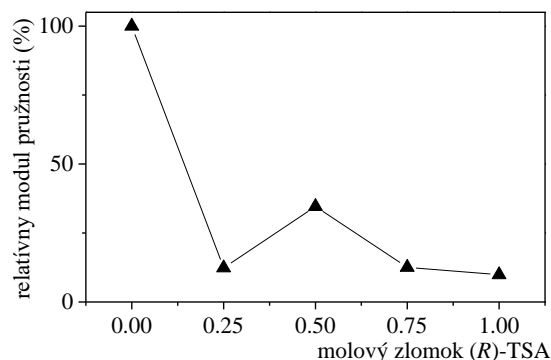


Obr. 10. Gibbsova voľná energia zmesi (R) -TSA a kyseliny stearovej. Pri 0,25 molárnom podiele (R) -TSA v zmesi je Gibbsova energia najvyššia, v zmesi sa tvoria domény jednotlivých komponentov a zmes je celkovo heterogénna. Zo zvyšujúcim sa tlakom sa Gibbsova energia markantne znižuje. Od 0,5 molárneho podielu pozorujeme pokles voľnej energie, zmes je približne homogénna. S rastúcim tlakom voľná energia mierne narastá.

Na Obr. 9 je vidieť plošné excesy zmesi kys. stearovej a (R) -TSA, pričom 0 znamená čistú kyselinu stearovú a 1 čistú (R) -TSA. Pre molový zlomok 0,25 (R) -TSA v zmesi je plošný nadbytok na molekulu oproti ideálnej zmesi vysoký.

Od hodnoty molového zlomku 0 do 0,5 pozorujeme výrazné excesy plochy a vysoké kladné hodnoty Gibbsovej energie (Obr. 10). Pri hodnote molového zlomku (R) -TSA 0,25 bola jej Gibbsova energia 650 J/mol, čo indikuje nemišateľnosť komponentov. V zmesi teda prevládajú odpudivé sily. Od hodnoty molového zlomku 0,5 a vyššie sa Gibbsova energia a nadbytky plochy blížia k nule, čo znamená, že jednotlivé komponenty sú nerozlíšiteľné.

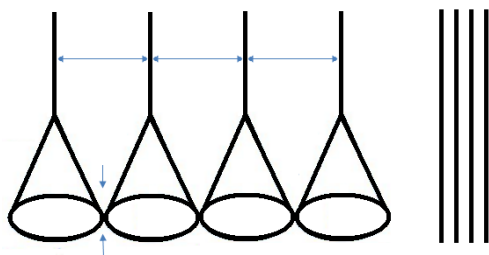
Porovnaním modulov pružnosti jednotlivých zmesí sme zistili, že pri teplote 20,5°C po pridaní malého množstva (R) -TSA sa modul pružnosti zmesi prudko znižuje. Od hodnoty molového zlomku (R) -TSA v zmesi rovného 0,25 dosahuje modul pružnosti maximálnu hodnotu pri molovom zlomku 0,5 (Obr. 11).



Obr. 11 Modul pružnosti zmesi. Po pridaní (R) -TSA do kyseliny stearovej začne jej modul pružnosti prudko klesať. V porovnaní zmesí s obsahom (R) -TSA dosahuje modul pružnosti maximálnu hodnotu pri molovom zlomku 0,5

4 Diskusia a záver

Z nameraných izoterm vidieť, že priestorovo podobné molekuly vykazujú podobné mechanické vlastnosti. Kyselina stearová a palmitová s lineárnymi reťazcami majú tvarovo totožné izotermu. Obe prechádzajú z plynnej fázy priamo do kvapalnej kondenzovanej fázy a následne do tuhej. Príčinu vyššieho povrchového napätia kolapsu kyseliny stearovej vidíme vo vyššom počte uhlíkov v reťazci. Môžeme predpokladať, že pri väčšom počte uhlíkov v lineárnych reťazcoch mastných kyselín bude medzi jednotlivými molekulami viac príťažlivých síl. Tomu zodpovedá vyšší maximálny modul pružnosti. Na overenie tejto hypotézy navrhujeme vykonať experimenty s rôzne dlhými lineárnymi reťazcami a sledovať závislosť počtu uhlíkov a povrchového tlaku pri kolapse. Kyselina olejová má v dôsledku dvojitej väzby v strede reťazca priestorovo zalomený reťazec a nedokáže sa stlačiť tak pevne ako saturované lipidy, pričom je počas kompresie iba v expandovanej kvapalnej fáze [5]. Zalomené molekuly zaberajú okolo seba väčšiu plochu. Na Obr. 12 je znázornená vizualizácia obsadzovania monovrstvy molekulami.



Obr. 12. Priestorové obsadzovanie monovrstvy. Lipidy so zalomeným reťazcom okolo seba zaberajú väčšiu plochu podobajúcu sa na lievik, v dôsledku čoho sa nemôžu dostatočne komprimovať. Lineárne reťazce naopak pri dostatočnej kompresii zaberajú minimálnu plochu.

Lievikovitá obsadenie priestoru vzniká v dôsledku dynamického pohybu molekuly okolo svojej osi. V porovnaní s lineárnymi reťazcami vidieť, že zaberajú viac voľného priestoru. Túto predstavu podporuje fakt, že izoterma týchto kyselín sa začína dvíhať pri väčších plochách pripadajúcich na jednu molekulu, než pri lineárnych reťazcoch (napr. kyselina stearová 25 Å²/molekulu, kyselina olejová 45 Å²/molekulu). Lievikovitá priestorová obsadenosť spôsobuje aj to, že lineárne časti reťazcov sa nedokážu k sebe priblížiť na dostatočnú vzdialenosť, aby mohlo medzi nimi vzniknúť viac príťažlivých síl. Molekuly sú navzájom v kontakte iba malými časťami a následkom toho nevytvoria dostatočne pevnú fázu, čo potvrdzuje aj analýza získaných modulov pružnosti. Rovnaké správanie vykazujú aj obe tuberkulostearové kyseliny. Zalomenie reťazca, či už v dôsledku dvojitej väzby alebo metylovej skupiny, pôsobí na fázové prechody tým istým spôsobom. Kyselina olejová môže slúžiť ako vhodný mechanický model na účely molekulovej dynamiky pri modelovaní lipodových dvojvrstiev pre skupinu lipidov zo zalomeným reťazcom.

Enantioméne tuberkulostearové kyseliny majú do kolapsu (S)-TSA navzájom veľmi podobné izotermu a moduly pružnosti, Gibbsova energia je tiež prakticky rovnaká. Pri porovnaní s ich racemickou zmesou do okamihu jej kolapsu sú

tieto charakteristiky pre všetky zmesi rovnaké. Odlišná hodnota kolapsu pri (S)-TSA môže byť spôsobená nedostatočnou čístoťou látky pre LB techniku. Ako môžeme vidieť, pri *lievikovitých* lipidoch majú izotermu charakteristicky exponenciálny nárast s kolapsom v tvare konštantného platá. Monovrstva (S)-TSA nemá dôvod mať zásadne odlišnú izotermu. Na obr. 4 možno vidieť, že hodnota povrchového tlaku po kolapse postupne konverguje k hodnote konštantného priebehu (R)-TSA.

Pri štúdiu zmesi kyseliny stearovej a (R)-TSA sme zistili, že hodnota Gibbovej energie sa znižuje od hodnoty molového zlomku (R)-TSA rovnajúcej sa 0,5 vyššie. Pre stavbu bunkovej membrány je nižšia Gibbsova energia pravdepodobne výhodnejšia. Pri kladnej Gibbsovej energii by totiž v zmesi prevládali medzi jej komponentami odpudivé sily, čo by malo nepriaznivý vplyv na stabilitu bunkovej membrány. Dôsledok repulzivných síl v zmesi je aj nemiešateľnosť komponentov, ktoré vytvárajú homogénne domény. Na monovrstve sa teda môžu nachádzať rozsiahle oblasti z vysokou koncentráciou kyseliny stearovej alebo naopak, (R)-TSA. Celková nehomogenita monovrstvy a v nej prevládajúce repulzivné sily nie sú výhodné atribúty pre stavbu bunkovej membrány.

M. tuberculosis počas evolúcie zakomponovala do svojej membrány (R)-TSA pravdepodobne kvôli chemickej stabilite. Ďalším dôvodom mohlo byť to, že samotná kyselina stearová tvorí príliš pevnú membránu, zatiaľ čo bunka baktérie potrebuje pružnú a kvapalnú membránu. Ako vidieť z obr. 10 prímies (R)-TSA v množstve 0,25 spôsobí prudký pokles modulu pružnosti a ďalšie maximum dosiahne pri pomere 1:1.

Možno práve priaznivá Gibbsova energia a maximálny modul pružnosti v prípade zmesi v pomere 1:1 sú dôvodom toho, že v prírode sa v takomto pomere nachádzajú skúmané látky v bunkovej membráne *M. tuberculosis*. Túto hypotézu by bolo potrebné overiť meraniami pri rôznych teplotách. Ideálne by bolo preveriť rozsah teplôt od bodu mrazu až po 45°C čo je teplota, ktorú vytvára telo v boji s infekciami. Osobitne zaujímavé by bolo sledovať vlastnosti membrány pri teplote ľudského tela 36,7°C, ktorá je pre tuberkulovú baktériu priaznivá.

Pod'akovanie

Ďakujem môjmu školiteľovi Jurajovi Chlpíkovi, Martinovi Weisovi a Júliusovi Círákovi sa cenné pripomienky a rady. Za poskytnuté vzorky (R) a (S)-kyseliny tuberkulostearovej ďakujem Adriaanovi Minnaardovi a Petrovi Fodranovi, ktorému ďakujem tiež za rady a pripomienky. Práca bola realizovaná s finančnou podporou projektu KEGA 026STU-4/2015.

Literatúra

- [1] FODRAN, P. - MINNAARD, A. Catalytic synthesis of enantiopure mixed diacylglycerols—synthesis of a major *M. tuberculosis* phospholipid and platelet activating factor. In *Organic & biomolecular chemistry*. 2013. Vol. 11, s. 6919–6928.
- [2] BRZOZOWSKA, A.M. et al. Stability of stearic acid monolayers on Artificial Sea Water. In *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2012. Vol. 407, no. 2010, s. 38–48.

- [3] GRIFFITH, E.C. et al. Hydrophobic collapse of a stearic acid film by adsorbed l -phenylalanine at the air-water interface. In *Journal of Physical Chemistry B*. 2012. Vol. 116, no. 27, s. 7849–7857.
- [4] VOSS, L.F. et al. Oxidation of oleic acid at air/liquid interfaces. In *Journal of Geophysical Research Atmospheres*. 2007. Vol. 112, no. 6, s. 1–9.
- [5] MAO, G. et al. Oleic acid disorders stratum corneum lipids in langmuir monolayers. In *Langmuir*. 2013. Vol. 29, no. 15, s. 4857–4865.
- [6] GAINES, G.L. *Insoluble monolayers at liquid-gas interfaces*. New York: Wiley Interscience, 1966. 386 s. ISBN 9780470289204.