



## بررسی اثر انحنای ذاتی و هیأت اولیه غشاء بر تکامل شکل وزیکول دوفازی

محمد مهدی صاحبی فرد<sup>1</sup>، علی رضا شهیدی<sup>2\*</sup>، سعید ضیایی راد<sup>3</sup>

1- دانشجوی دکتری، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

2- استادیار، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

3- استاد، مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

\* اصفهان، صندوق پستی 8415683111، shahidi@cc.iut.ac.ir

### اطلاعات مقاله

مقاله پژوهشی کامل

دریافت: 08 دی 1395

پذیرش: 09 اسفند 1395

ارائه در سایت: 14 فروردین 1396

کلید واژگان:

وزیکول دوفازی

مدل تکاملی

انحنای ذاتی

هیأت اولیه

پروتئین غشایی

### چکیده

در تحقیق پیش رو وابستگی تغییر شکل وزیکول‌های با غشای دولایه چربی به هیأت اولیه و انحنای ذاتی (عدم تقارن موضعی تک لایه‌ها) بررسی شده است. از آنجایی که مدل‌سازی تکاملی به‌عنوان تعمیم و معیار ارزیابی روش‌های تعادلی مطرح است، از مدل تکاملی استفاده شده که براساس تعادل بین نیروی حاصل از پتانسیل خمشی غشاء و نیروی موضعی اصطکاک سیال محیطی در هر دامنه توسعه یافته و در آن از اثرات اینرسی غشا صرف نظر شده است. پارامترهای مهمی مانند نسبت اندازه هر فاز و نیز اثر حضور پروتئین‌ها در قالب ترکیبات مختلف انحنای ذاتی در هر دو دامنه مطالعه شده است. شرایط اولیه فرض شده شامل شکل‌های ساده‌ای چون دایره، مربع، مثلث و کروی تخت است که معمولاً وزیکول‌ها به این شکل‌ها در وضعیت‌های آزاد مشاهده شده‌اند. برای ارزیابی نتایج به‌دست‌آمده از مشاهدات آزمایشگاهی منتشر شده پیش از این استفاده شده است. وضعیت‌هایی از وزیکول‌های همگن و دوفازی و گلوبول قرمز تحت اثر انواع مکانیسم‌های القای انحنای ذاتی مانند جنس غشاء، تغییرات غلظت محلول محیطی و پروتئین‌های غشایی مانند آلبومین در شباهت با نتایج شبیه‌سازی ریاضی ارائه شده‌اند. امکان تغییر شکل غشاء در اثر انحنای مثبت یا منفی و بروز پدیده‌های غشایی با هر شکل اولیه و توزیع انحنای ذاتی مختلف مورد بحث قرار گرفته است.

## Investigation of spontaneous curvature and membrane initial configuration on shape evolution of two-component vesicle

Mohammad Mahdi Sahebifard<sup>1</sup>, Alireza Shahidi<sup>1\*</sup>, Saeid Ziaei-Rad<sup>1</sup>

1- Department of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

\* P.O.B. 84156-83111 Isfahan, Iran, shahidi@cc.iut.ac.ir

### ARTICLE INFORMATION

Original Research Paper

Received 28 December 2016

Accepted 27 February 2017

Available Online 03 April 2017

Keywords:

Two-phase vesicle

Evolutionary model

Spontaneous curvature

Initial configuration

Membrane protein

### ABSTRACT

This article aims to study the effect of membrane initial configuration and the membrane spontaneous curvature (local asymmetry of layers) on the shape transformation of lipid bilayer vesicles. Since the evolutionary models are considered as a generalization to the equilibrium methods, the used model is developed based on the dynamic equilibrium between the membrane bending potential and the environmental fluid friction in each domain of two-phase vesicle. The effect of membrane inertia on the dynamics of the system is ignored. Key parameters are the size of each phase and different combinations of protein distribution as the local spontaneous curvature. Assumed initial conditions are simple shapes such as dumbbell, biconcave and oblate; free vesicles are usually visible in these shapes. Previously published experimental observations are used to evaluate the numerical results. Some situations of homogeneous and multi-phase vesicles and red blood cells under the influence of the spontaneous curvature induction mechanisms (for example, the composition of the membranes, membrane proteins such as albumin, environmental solution concentration changes) are simulated and the results presented in detail. The possibility of the membrane deformation and the relation of membrane phenomena with the primary form and various curvature distributions are discussed.

### 1- مقدمه

وزیکول‌ها از یک غشاء دولایه چربی تشکیل شده‌اند. ساختار چربی‌ها درون دولایه یک فاز کریستال مایع<sup>3</sup> تشکیل می‌دهد (فازی بین سیال و جامد) که تمام مولکول‌ها را با یک صلبیت محدود و مشخصی دور هم جمع می‌کند و این مجموعه می‌تواند تنش را ضمن حرکت در محیط اطراف خود تحمل کند. تغییرات شکلی غشاء به پدیده‌های غشایی منجر می‌شود که از

وزیکول‌ها به دلیل نقش در جابه‌جایی بین سلولی بسیار شناخته شده‌اند. وزیکول‌های سیناپسی و سیتوپلاسمی نمونه‌هایی که به ترتیب در انتقال پیام‌ها در سلول‌های عصبی و انتقال پروتئین بین اندامک‌های سلولی به روش‌های درون‌بری<sup>1</sup> و برون‌رانی<sup>2</sup> فعال است.

<sup>1</sup> endocytosis

<sup>2</sup> exocytosis

<sup>3</sup> liquid crystal

### Please cite this article using:

M. M. Sahebifard, A. Shahidi, S. Ziaei-Rad, Investigation of spontaneous curvature and membrane initial configuration on shape evolution of two-component vesicle, *Modares Mechanical Engineering*, Vol. 17, No. 4, pp. 9-16, 2017 (in Persian)

برای ارجاع به این مقاله از عبارت ذیل استفاده نمایید:

شده است). شبیه سازی برای شکل اولیه های مختلف و شناخته شده مانند دمیلی، مقعرالطرفین<sup>5</sup> و کروی تخت<sup>6</sup> و به ازای اندازه فازهای مختلف انجام شده است. در هر حالت اثر ترکیبات مختلف انحنای ذاتی در دو فاز غشاء بر شکل نهایی وزیکول نشان داده شده است. پدیده های غشایی برای ارزیابی نتایج به دست آمده ضمن مقایسه شبیه سازی ها با شواهد تجربی مورد بحث و تحلیل قرار گرفته است.

## 2- مدل سازی

### 2-1- هندسه و بردار سرعت

در مطالعه پیش رو یک غشای بسته دولایه چربی با تقارن محوری و متشکل از دو فاز مجزا را در نظر می گیریم.  $r$  و  $\theta$  مختصات قطبی در صفحه  $xy$  بوده و  $s$  طول قوس اندازه گیری شده از قطب جنوب وزیکول،  $z = 0$  است (شکل 1). بردار 3 بعدی  $X(s, \theta)$  بیان کننده موقعیت نقاط منطبق بر سطح غشا به صورت رابطه (1) است.

$$X(s, \theta) = \{r(s) \cos \theta, r(s) \sin \theta, z(s)\} \quad (1)$$

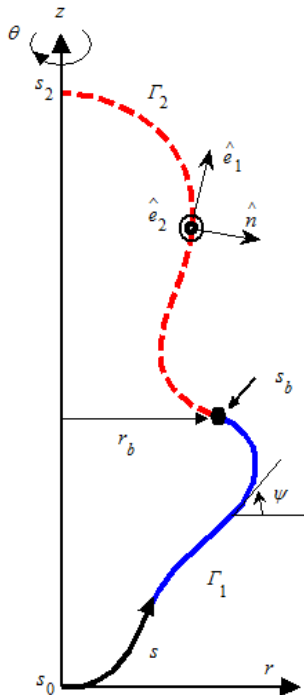
$\psi(s)$  زاویه بین راستای افقی و مماس بر سطح در راستای طولی، روابط (3,2) را داریم.

$$r' = \cos \psi \quad (2)$$

$$z' = \sin \psi \quad (3)$$

که در آن  $( )' = d/ds$  است.

یک پایه متعامد<sup>7</sup> در صفحه مماس بر این رویه به صورت روابط (5,4) است.



**Fig. 1**  $r$  and  $z$  coordinates in the definition of axial symmetrical geometry along with orthonormal basis at each point on the surface, Index  $b$  denotes boundary

شکل 1 مختصات  $r$  و  $z$  در تعریف هندسه متقارن محوری به همراه وضعیت پایه عمودی در هر نقطه روی سطح، اندیس  $b$  به مرز<sup>8</sup> اشاره دارد.

جمله آن می توان به جوانه زنی<sup>1</sup>، هم جوشی<sup>2</sup> و جدایش<sup>3</sup> اشاره کرد. این شرایط برای وزیکول های همگن و نیز غیرهمگن و چندفازی وجود دارد. وقتی یک غشاء از چند نوع مولکول چربی تشکیل شده باشد مولکول های همجنس به صورت طبیعی مجتمع و خوشه های می شوند و در نتیجه غشایی با فازهای کاملاً مجزا تشکیل می دهند. وزیکول های غیر همگن به عنوان نمونه هایی از غشاهای چندفازی در مطالعات آزمایشگاهی مطالعه شده اند [1-3].

عوامل مختلفی با توجه به خواص کریستال های مایع بر شکل غشاء مؤثر است. به عقیده هلفرش<sup>4</sup> انرژی خمشی مؤثر و تنش برشی در مدل سازی غشاء بی اثر است [4]. روش های مختلفی برای شبیه سازی غشاء به کار رفته است. محاسبات مولکولی یکی از این روش هاست که بر مبنای کنش بین مولکول های تشکیل دهنده غشاء عمل می کند [5-7]. دو روشی که بر مبنای فرضیات محیط پیوسته و به مدل های معادل منتهی می شوند عبارت است از: الف) روش مستقیم مکانیکی با استفاده از تعادل نیرو و گشتاور [8-10]؛ ب) روش تغییرات انرژی [11,12]. مدلی که در این مقاله ارائه شده از دسته اول است. مزایای روش کنونی نسبت به روش های پیشین اشاره شده عبارتند از:

- تکامل دینامیکی: روش کنونی بر مبنای تعادل بین نیروهای ناشی از پتانسیل خمشی غشاء و اصطکاک سیال محیطی توسعه یافته است، ولی روش های پیش از این امکان محاسبه مسیر تکامل را ندارند و تنها حالت تعادلی نهایی را پیش بینی می کند. مرجع [13] به صراحت بیان داشته که چند پاسخ برای یک شرط اولیه مشخص به دست آمده و معیاری برای انتخاب پاسخ اصلی ارائه نشده است. پیشتر در مرجع [14] اشاره شده که روش تکاملی به عنوان تعمیم روش تعادلی و معیار ارزیابی نتایج تعادلی است. پاسخ یکتا به ازای هر شرط اولیه برای رابطه تکاملی  $d\Gamma/dt = \delta E_B/\delta \Gamma$  وجود دارد.

- اثر شکل اولیه: بررسی اثر انحنای ذاتی بدون در نظر گرفتن هیأت اولیه غشاء نتیجه روشی ندارد. انحنای محلی هر فاز در هیأت اولیه مشخص می شود تا پس از القای انحنا غشاء کوتاه ترین مسیر تغییر شکل را انتخاب کند. تاکنون تأثیر شکل اولیه غشاء بر چگونگی تبدیل شکل مطالعه نشده است.

مفهوم انحنای ذاتی به معنای انحنای ترجیحی غشاست که به دلیل عدم تقارن بین دولایه در غشاء القا شده است. این انحنا می تواند از عواملی مانند ترکیب های مختلف چربی، چسبیدن پروتئین بر لایه خارجی و یا وارد شدن گوه ای پروتئین به درون غشاء ناشی شود [15]؛ عامل دیگر تغییر انحنای ذاتی غلظت قند در محلول محیطی است [16]. اثر انحنای ذاتی بر غشاهای زیستی به روش های مختلف بررسی شده است [17-19]. در مدل تعادلی وزیکول دوفازی نیز اثر انحنای ذاتی بررسی شده است [13,20]. بررسی انحنای ذاتی در قالب روش تکاملی و با در نظر گرفتن شکل اولیه مطالعه کامل تری را فراهم می کند. اثر ترکیبی عوامل یاد شده در این تحقیق در نظر گرفته شده است.

در این مقاله ابتدا هندسه و سرعت غشای وزیکول معرفی شده است؛ سپس مدل تکاملی شامل تعادل نیروهای پتانسیل خمشی و اصطکاک محیطی و معادلات حاصل از این تعادل به همراه روابط تعادل در مرز فازها به صورت مختصر ارائه می شود (این مدل در مرجع [14] به طور کامل تشریح

<sup>5</sup> biconcave

<sup>6</sup> oblate

<sup>7</sup> orthonormal basis

<sup>8</sup> boundary

<sup>1</sup> budding

<sup>2</sup> fusion

<sup>3</sup> fission

<sup>4</sup> Helfrich

$$\frac{\delta E_B}{\delta F} = -kv \quad (15)$$

رابطه (15) درباره وزیکول همگن در حالت کاملاً آزاد و بدون قید است که به یک غشاء کاملاً نفوذپذیر و تراوا مربوط می‌شود. با توجه به رفتار غشاء فرض سطح ثابت<sup>1</sup> و حجم ثابت<sup>2</sup> برای وزیکول در نظر گرفته می‌شود. ضرایب لاگرانژ در مدل دینامیکی برای تحمیل قیود حجم و مساحت به صورت رابطه (16) به کار می‌روند.

$$kv = -\frac{\delta E_B}{\delta F} - P + \tau H \quad (16)$$

$P(t)$  اختلاف فشار داخل و خارج غشا و  $\tau(t)$  نیز قریبه کشش سطحی<sup>3</sup> در هر دامنه وزیکول دوفازی است که این قیود در هر گام زمانی محاسبه می‌شوند. با محاسبه مشتقات براساس روش مرجع [14] و فرض سختی خمشی ثابت در نهایت معادله دیفرانسیل حاکم بر هر دامنه از وزیکول به صورت رابطه (17) خواهد بود.

$$k \left[ -\frac{dr}{dt} \sin \psi + \frac{dz}{dt} \cos \psi \right] = -\kappa^{(i)} (H^{(i)} - C^{(i)})'' + (H^{(i)} - C^{(i)})' \frac{\cos \psi}{r} - \frac{1}{2} \kappa^{(i)} (H^{(i)} - C^{(i)}) \left[ (H^{(i)})^2 - 4K^{(i)} + H^{(i)} C^{(i)} \right] - P + \tau^{(i)} H^{(i)} \quad (17)$$

که  $K = \psi' (\sin \psi) / r$  انحنای انحنای گوسی<sup>4</sup> غشاست.

از آنجایی که مدل حاضر تغییر شکل غشا را پس از اعمال انحنای ذاتی شبیه سازی می‌نماید و مدل سازی تحت اثر خاصیت الاستیک خمشی انجام می‌شود، طبق مرجع [19] مقیاس زمانی این شبیه سازی برابر رابطه (18) است.

$$\bar{t} = \frac{A\mu}{\kappa} \quad (18)$$

در آن  $10^{-10} \text{ Js/m}^2 \sim \mu$  ویسکوزیته برشی تک لایه،  $10^{-19} \text{ J} \sim \kappa$  سختی خمشی و  $A$  مساحت غشاست و با فرض  $10^{-5} \text{ m} < R < 10^{-6}$  داریم  $10^{-12} < A < 10^{-10} \text{ m}^2$ . مقیاس زمانی مسائل قابل حل با این شبیه سازی از مرتبه  $10^{-1} < \bar{t} < 10^{-3}$  (بسته به هندسه غشا) است.

### 2-3- شرایط اتصال<sup>5</sup>

تضمین تعادل فازها نیازمند تعیین شرایط در ناحیه اتصال بین فاز است. براساس روش ارائه شده در مرجع [8] شروط سه گانه اتصال در مرز را با در نظر گرفتن انحنای ذاتی می‌توان به صورت روابط (21-19) نوشت (شکل 2).

$$T_s^{s-} - T_s^{s+} - \sigma \frac{\cos \psi}{r} = 0 \quad (19)$$

$$Q_s^{s+} - Q_s^{s-} - \sigma \frac{\sin \psi}{r} = 0 \quad (20)$$

$$M_s^{s+} - M_s^{s-} = 0 \quad (21)$$

در این روابط در هر فاز  $T_s^s$ ،  $Q_s$  و  $M_s^s$  به ترتیب تنش درون صفحه ای، تنش برشی و گشتاور خمشی هستند که با در نظر گرفتن انحنای ذاتی به صورت روابط (22-24) بیان می‌کنیم.

$$T_s^s = \kappa(H - C) \left[ \psi' - \frac{(H - C)}{2} \right] - \tau \quad (22)$$

$$Q_s = \kappa(H - C)' \quad (23)$$

$$M_s^s = \kappa(H - C) + \kappa_G \frac{\sin \psi}{r} \quad (24)$$

$$\hat{e}_1 = \frac{\partial X}{\partial s} = \{r' \cos \theta, r' \sin \theta, z'\} = \{\cos \psi \cos \theta, \cos \psi \sin \theta, \sin \psi\} \quad (4)$$

$$\hat{e}_2 = \frac{\frac{\partial X}{\partial \theta}}{\left| \frac{\partial X}{\partial \theta} \right|} = \left( \frac{1}{r} \right) \{-r \sin \theta, r \cos \theta, 0\} = \{-\sin \theta, \cos \theta, 0\} \quad (5)$$

بردار عمودی سطح با استفاده از پایه متعامد فوق به صورت رابطه (6) ساخته می‌شود.

$$\hat{n} = \hat{e}_1 \otimes \hat{e}_2 = \{-\sin \psi \cos \theta, -\sin \psi \sin \theta, \cos \psi\} \quad (6)$$

طول مقیاس  $R_0$  برای هندسه وزیکول دوفازی متقارن به نحوی تعریف می‌شود که این طول مقیاس شعاع کره ای است که سطحی برابر با کل سطح وزیکول دوجزئی به صورت روابط (7-9) دارد.

$$A^{(1)} + A^{(2)} = 4\pi R_0^2 \quad (7)$$

$$v = \frac{V}{\frac{4\pi}{3} R_0^3} \quad (8)$$

$$x^{(i)} = \frac{A^{(i)}}{4\pi R_0^2} \quad (9)$$

$A^{(i)}$  مساحت هر فاز،  $x^{(i)}$  کسر مساحت هر فاز نسبت به مساحت کره معادل و  $v$  حجم کاهش یافته کل وزیکول نسبت به کره مذکور است. از آنجایی که بیشترین حجم محصور در هر سطح مشخص برابر با حجم کره معادل با آن مساحت است؛ همواره  $0 \leq v \leq 1$  خواهد بود که  $v = 1$  به ازای وزیکول کروی است.

براساس تعریف، برای سرعت غشا،  $v_m$ ، رابطه (10) را داریم.

$$v_m = \frac{dX(s, \theta)}{dt} = v \hat{n} + T = \left\{ \frac{dr}{dt} \cos \theta, \frac{dr}{dt} \sin \theta, \frac{dz}{dt} \right\} \quad (10)$$

که  $T$  تصویر مماسی بردار سرعت بر سطح غشا و مؤلفه عمودی بردار سرعت،  $v$ ، برابر رابطه (11) است.

$$v_m = v \otimes \hat{n} = -\frac{dr}{dt} \sin \psi + \frac{dz}{dt} \cos \psi \quad (11)$$

### 2-2- تعادل دینامیکی موضعی

با فرض ثابت ماندن سختی خمشی غشا،  $\kappa$ ، انرژی آزاد الاستیک،  $E_B$ ، متناسب با انتگرال مربع انحنای غشا  $\Gamma$  به صورت رابطه (12) است [4].

$$E_B = \frac{1}{2} \kappa \int_{\Gamma} (H - C)^2 dA \quad (12)$$

که در آن  $H = 2h = \psi' + (\sin \psi)/r$  انحنای مجموع و  $C$  انحنای ذاتی غشاست. انرژی پتانسیل رابطه (12)، مستقل از مسیر بوده و فقط تابع شکل غشا در هر موقعیت است [21]؛ بنابراین نیروی الاستیک متناظر با آن بر مبنای مشتق انرژی آزاد الاستیک نسبت به تغییرات سطح غشا به صورت رابطه (13) محاسبه می‌شود.

$$F_B = -\frac{\delta E_B}{\delta F} \quad (13)$$

با فرض کوچک بودن نیروی اینرسی غشا و نیز لزجت بسیار بالای سیال داخل و خارج غشا می‌توان از جرم غشا و دینامیک سیال محیط صرف نظر کرد. در مدل مورد مطالعه سیال محیطی نیروی اصطکاک موضعی،  $F_v$ ، در جهت مخالف سرعت محلی غشا،  $v$ ، به آن وارد می‌کند که معمولاً به صورت رابطه (14) است.

$$F_v = -kv \quad (14)$$

با فرض  $k > 0$ ، برای یک وزیکول همگن معادله تکاملی محلی از قانون نیوتن به صورت  $F_B + F_v = 0$  به دست می‌آید که به رابطه (15) منتهی می‌شود:

<sup>1</sup> applicable surface

<sup>2</sup> isochoric

<sup>3</sup> surface tension

<sup>4</sup> Gaussian curvature

<sup>5</sup> matching condition

برای نمونه انحنای ذاتی فاز 1 با حرکت از مبدأ مختصات (موقعیت صفر) در جهت 1 افزایش می‌یابد، ولی انحنای ذاتی در فاز 2 صفر باقی می‌ماند. نمونه دیگر این که اندازه انحنای القا شده به فازها در امتداد جهت 7 برابر، ولی علامتشان قرینه است ( $C^{(1)} > 0, C^{(2)} < 0$ ).

### 2-3- اثر ترکیبات انحنای ذاتی در فازها

در این بخش وابستگی تغییر شکل‌ها به هیأت اولیه وزیکول و پارامترهای مهم دیگر مانند نسبت اندازه هر فاز بررسی شده، همچنین اثر حضور پروتئین‌ها در قالب ترکیب انحنای ذاتی در هر دو دامنه نشان داده شده است. برای ارزیابی نتایج به دست آمده از مشاهدات آزمایشگاهی که پیش از این منتشر شده استفاده شده است. شرایط اولیه فرض شده شامل شکل‌های دمبلی، مقعرالطرفین و کروی که دارای حداقل انرژی بوده و به عنوان شکل‌های طبیعی وزیکول‌ها معرفی شده و اختلاف آن‌ها نیز در حجم وزیکول است [21,12]. مطابق شکل 1 در تمام وزیکول‌های این مقاله ناحیه با خط توپر (آبی‌رنگ) نشان‌دهنده سطح فاز 1 و بخش خط‌چین (قرمز رنگ)، فاز 2 است. در شکل‌های 5,4 نتایج برای شکل اولیه الف- مقعرالطرفین، ب- دمبلی و ج- کروی تخت نشان داده شده است. هر یک از حالات الف تا ج در شکل‌های 5,4 یک صفحه انحنای ذاتی برای یک وزیکول است و هیچ ارتباطی با دیگر حالات ندارد. هر حالت در شکل‌های 5,4 شامل تصویر 9 وزیکول که طبق تعریف شکل 3 در صفحه انحنای چیده شده است.

برای نمونه در شکل 4-الف برای وزیکول اولیه فرض شده (شکل نشان داده شده در مرکز صفحه انحنای) که مقعرالطرفین است، تصاویری در جهت‌های هشت‌گانه نمایش داده شده که هر کدام وزیکول نهایی حاصل از القای انحنای ذاتی در آن جهت است. تنها شباهت حالات الف تا ج از شکل 4 (به عنوان نمونه)، برابر بودن نسبت اندازه فازهاست. این شباهت بین حالات شکل 5 نیز برقرار است.

در شکل 4 با  $x^{(1)} = 0.5$  اندازه دو فاز برابر است. با این شرایط اگر فازها به صورت مشابه تحت اثر انحنای ذاتی قرار گیرند، شکل وزیکول‌های نهایی نیز حول خط  $C^{(1)} = C^{(2)}$  مشابه است. به عنوان نمونه در شکل 4-ج که شکل اولیه دمبلی است، انحنای ذاتی در جهت‌های 7 و 8 برابر و قرینه که سبب شده است شکل وزیکول‌های نهایی کاملاً مشابه و معکوس یکدیگر باشند. این رفتار در هر سه حالت الف تا ج و در جهت‌هایی که نسبت به راستای خط  $C^{(1)} = C^{(2)}$  (امتداد جهت‌های 5 و 6) متقارن اتفاق افتاده است (مثلاً جهت‌های 1 و 3 نسبت به خط  $C^{(1)} = C^{(2)}$  متقارن و نیز جهت‌های 2 و 4).

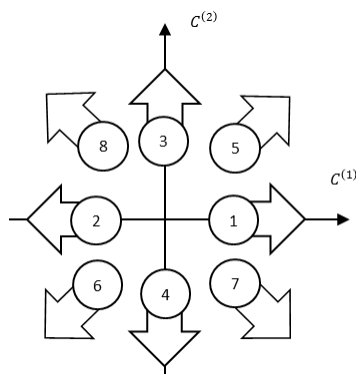


Fig. 3 Curvature change directions on  $C^{(1)} - C^{(2)}$  plane

شکل 3 جهت‌های تغییر انحنای در صفحه مختصات انحنای ذاتی  $C^{(1)} - C^{(2)}$

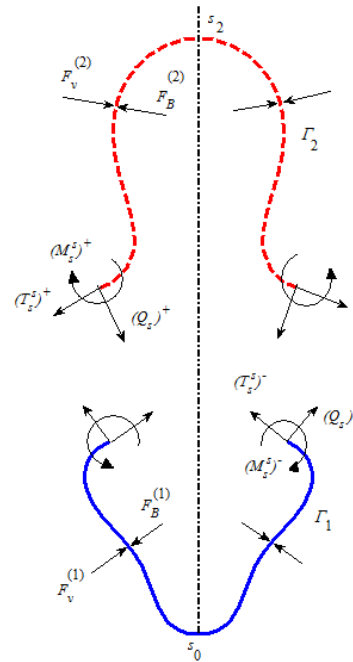


Fig. 2 Forces on the membrane surface of the phases and the interface section reactions

شکل 2 نیروها در سطح غشای فازها و عکس‌العمل‌های ناحیه اتصال

علامت - و + نیز بیانگر کمی پیش و پس از ناحیه اتصال است. حل عددی با تدوین کد محاسباتی در متلب<sup>1</sup> و به کمک حلگر bvp4c (مخصوص حل مسائل مقدار مرزی دونقطه‌ای) انجام می‌شود. روش حل عددی در مرجع [14] تشریح شده است.

### 3- نتایج و بحث

#### 1-3- صفحه مختصات انحنای ذاتی

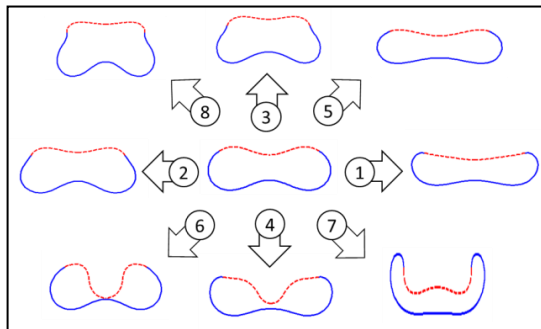
هشت جهت اصلی در صفحه مختصات انحنای ذاتی،  $C^{(1)} - C^{(2)}$  برای بررسی اثر ترکیبات مختلف انحنای در دامنه‌ها در نظر گرفته شده است (شکل 3). محور افقی در این صفحه ممبین انحنای ذاتی در فاز 1،  $C^{(1)}$ ، و محور عمودی انحنای ذاتی در فاز 2،  $C^{(2)}$ ، است. سمت راست جهت مثبت محور افقی و جهت مثبت محور عمودی به طرف بالاست. علامت قراردادی برای انحنای ذاتی محدب مثبت و برای انحنای ذاتی مقعر منفی در نظر گرفته می‌شود. در صفحه انحنای ذاتی هر محور مقدار انحنای ذاتی دیگر صفر است. در مبدأ مختصات موقعیت صفر هیأت اولیه مفروض نمایش داده می‌شود. جهت نشان داده شده در شکل 3 به شرح زیر است:

- موقعیت صفر: شکل وزیکول اولیه با  $C^{(1)} = 0, C^{(2)} = 0$
- جهت 1:  $C^{(1)} > 0, C^{(2)} = 0$
- جهت 2:  $C^{(1)} < 0, C^{(2)} = 0$
- جهت 3:  $C^{(1)} = 0, C^{(2)} > 0$
- جهت 4:  $C^{(1)} = 0, C^{(2)} < 0$
- جهت 5:  $C^{(1)} = C^{(2)}, C^{(1)} > 0, C^{(2)} > 0$
- جهت 6:  $C^{(1)} = C^{(2)}, C^{(1)} < 0, C^{(2)} < 0$
- جهت 7:  $|C^{(1)}| = |C^{(2)}|, C^{(1)} > 0, C^{(2)} < 0$
- جهت 8:  $|C^{(1)}| = |C^{(2)}|, C^{(1)} < 0, C^{(2)} > 0$

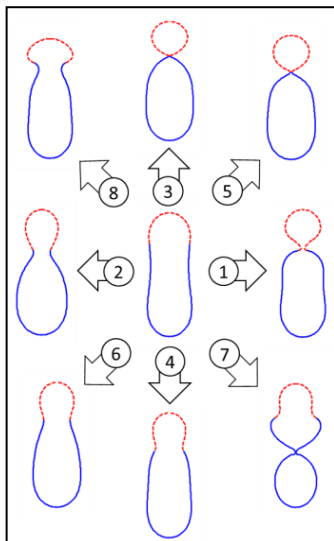
<sup>1</sup> MATLAB

انحنای محلی اولیه نیز مثبت و غشاء محدب بوده است، ولی در وزیکول مقعرالطرفین (شکل 4-الف) تقعر اولیه و محلی سطح غشاء سبب می‌شود که وزیکول جوانه زده در ناحیه با انحنا منفی تشکیل شود که این امر منجر به جوانه زنی غشاء به سمت داخل می‌شود. در صورتی که غشاء جوانه زده جدا شود اصطلاحاً درون‌بری<sup>1</sup> اتفاق می‌افتد.

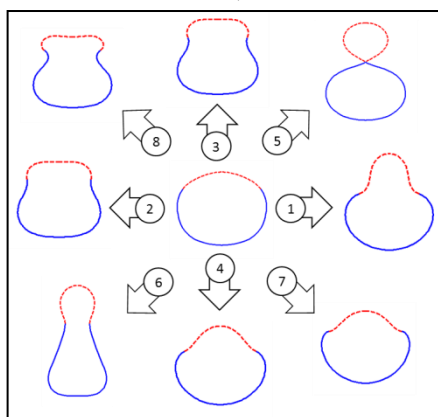
اثر شکل اولیه در بررسی جهت‌های 1 از شکل 4-الف و ب نیز جالب



الف - ا



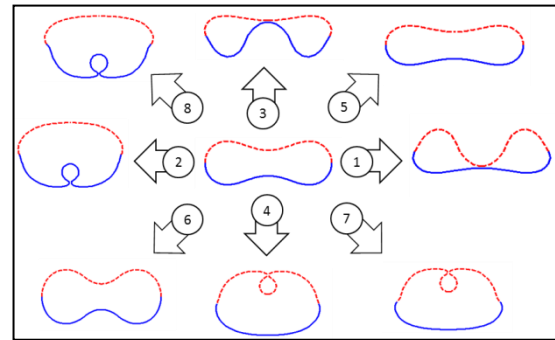
ب - ب



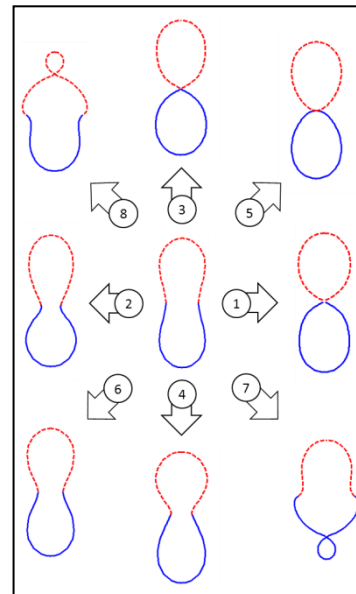
ج - ج

**Fig. 5** Vesicle with  $x^{(1)} = 0.75$  in curvature plane and different initial configurations (a) biconcave (b) dumbbell (c) oblate

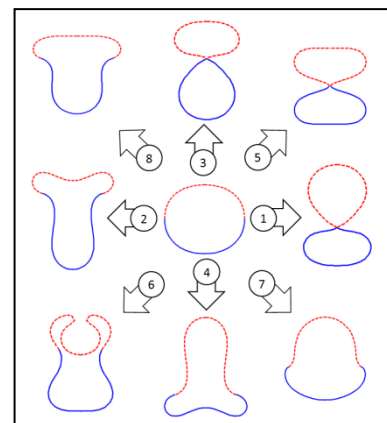
شکل 5 وزیکول با کسر سطحی  $x^{(1)} = 0.75$  در صفحه مختصات انحنا برای هیأت‌های اولیه مختلف: الف- مقعرالطرفین، ب- دمبلی، ج- کروی تخت



الف - ا



ب - ب



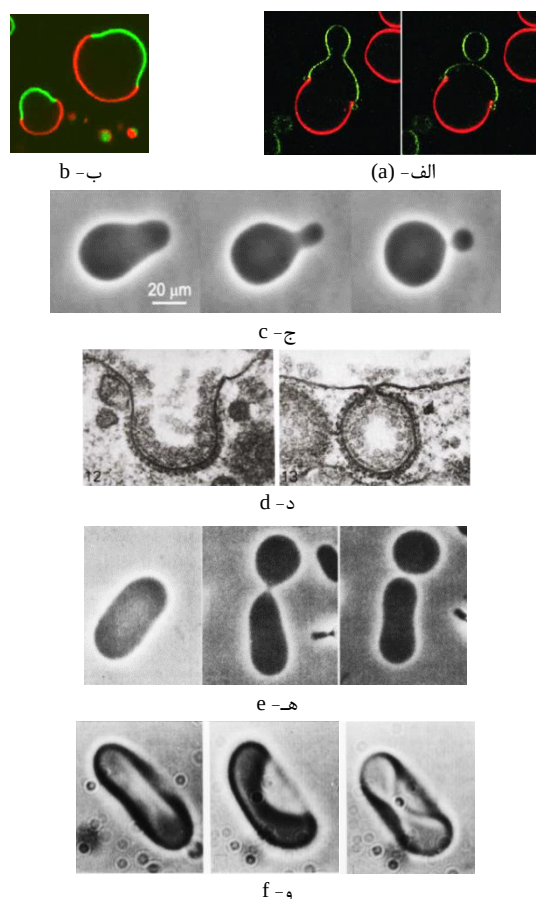
ج - ج

**Fig. 4** Vesicle with  $x^{(1)} = 0.5$  in curvature plane and different initial configurations: a- biconcave, b- dumbbell, c- oblate

شکل 4 وزیکول با کسر سطحی  $x^{(1)} = 0.5$  در صفحه مختصات انحنا برای هیأت‌های اولیه مختلف: الف- مقعرالطرفین، ب- دمبلی، ج- کروی تخت

مقایسه نتایج در شکل 4-الف و ب می‌تواند تأثیر شکل اولیه بر هیأت نهایی وزیکول را آشکار کند؛ موضوعی که پیش از این کمتر به آن پرداخته شده است. وقتی وزیکول اولیه دمبلی باشد (شکل 4-ب) با حرکت در جهت 7  $(C^{(1)} > 0, C^{(2)} < 0)$  بخشی از غشاء از ناحیه با انحنا ذاتی مثبت (فاز 1) به سمت بیرون وزیکول جوانه می‌زند؛ چون

<sup>1</sup> endocytosis



**Fig. 7** Experimental observations by a, b- two-phase vesicle [22,27], c, d- budding: from vesicle [23] and from flat membrane [25], e- dumbbell form vesicle [24], f- red blood cell under influence of albumin [26]

شکل 7 شواهد آزمایشگاهی: الف و ب- وزیکول دوفازى [22,27]، ج، د- جوانه زنى: از وزیکول [23] و از غشاء مسطح [25]، ه- غشاء دمبلى [24]، و- گلبول قرمز تحت اثر پروتئين غشائى [26]

به اين ترتيب انرژی غشاء به حداقل ممکن مى رسد.

### 3-3- پديده هاى غشايى

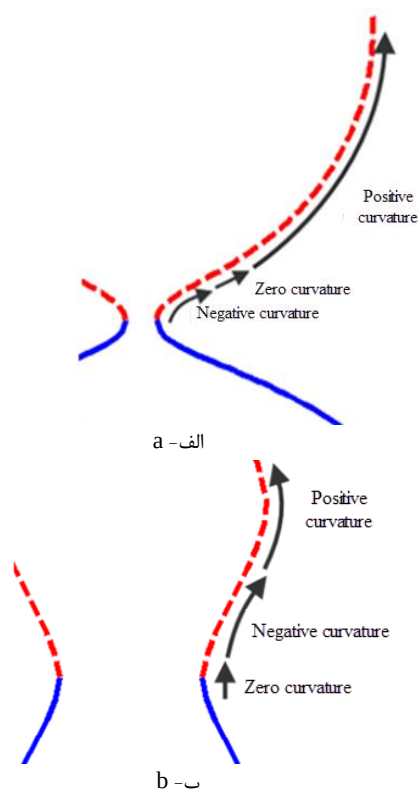
در شکل 7 برخى پديده هاى غشائى ثبت شده از آزمون نشان داده شده است. در اين پديده ها القای انحنا به غشاء از روش هاى متنوعى مانند تشكيل غشاء چربى دوفازى به کمک الکتروفورز [22]، تغيير غلظت محلول محيطى [24,23] و اثر پروتئين هاى غشايى مانند آلبومين<sup>1</sup> [26,25] انجام شده است. مقايسه هريك از اين شكل ها با نتايج شبیه سازی نشانگر شباهت قابل توجه بين شبیه سازی ارائه شده و واقعيت است.

برای نمونه جهت 1 در شکل 4-الف با شکل 7-و، جهت 7 در شکل 4-ب با شکل 7-الف مشابه است. جهت هاى 2 و 7 در شکل 4-الف با شکل 7-د به صورت موضعی در جوانه زنى غشا شباهت دارند. شکل وزیکول ها در جهت 7 از شکل 4-ج نیز انطباق مطلوبی با وزیکول هاى دوفازى شکل 7-ب دارند، همچنين شکل وزیکول ها در جهت هاى 1، 5 و 7 از شکل 5-الف شبیه وضعيت هاى ثبت شده از گلبول قرمز در شکل 7-و است. شکل غشاء جهت هاى 1 و 5 از شکل 5-ب به طور قابل توجهی نزدیک به رفتار غشا در

توجه است. در جهت 1 از شکل 4-ب با القای انحناى مثبت به فاز 1 در وزیکول دمبلى و انحناى ذاتى صفر در فاز 2 گردن غشاء (باریک ترین ناحیه) در مرز دو دامنه وزیکول ایجاد مى شود و با فرض اين که اين تغيير شکل به تقسيم غشاء از ناحیه گردن ختم شود، دو وزیکول همگن به وجود خواهد آمد. اگر به نيمه پايينى از وزیکول مقعرالطرفين انحناى مثبت القا کنیم (جهت 1 از شکل 4-الف) گردن غشاء در محلی ایجاد مى شود که اگر غشاء دچار جدایش شود دو وزیکول دوفازى به وجود مى آید.

شکل 5 برای شکل وزیکول هاى دوفازى با  $x^{(1)} = 0.75$  است (يعنى 75% از سطح وزیکول را فاز 1 تشكيل مى دهد). طبيعى است که به دليل برابر نبودن اندازه فازها نتايج مانند شکل 4 دارای شباهت حول محور خاصى نیستند.

تفاوت عملکرد انحناى ذاتى مثبت و منفى بر تبديل شکل غشاء در چیست؟ از آنجايى که وزیکول یک غشاء بسته و انحناى مثبت در یک سطح بسته غالب است، انحناى اوليه غشاء با انحناى مثبت القایى همراه شده و سبب انحناى مثبت در کل دامنه مى شود. در جهت هاى 1، 3 و 5 از شکل 4-ب و 5-ب، با کوچک شدن شعاع گردن در ناحیه اتصال، بیشتر سطح غشاء در نواحى دور از مرز انحناى مثبت داشته و تنها بخش کوچکی از غشاء در مجاورت مرز اتصال دارای انحناى منفى مى شود. توزيع انحناى مثبت و منفى در شکل هاى مذکور در شکل 6-الف مشخص شده است. در مقابل در جهت هاى 2، 4 و 6 شکل 4-ب و شکل 5-ب شعاع ناحیه گردن خیلی کوچک نمى شود (مشابه شکل 6-ب). اين امر سبب ایجاد انحناى منفى در ناحیه بزرگ تری از سطح غشاست که با انحناى ذاتى القایى نیز تطابق دارد و



**Fig. 6** a- A small neck radius with a very small fraction of negative curvature, b- A large neck radius with a significant fraction of negative curvature

شکل 6 الف- شعاع کوچک در ناحیه گردن و سهم اندک انحناى منفى، ب- شعاع بزرگ در ناحیه گردن و سهم قابل توجه انحناى منفى در غشا

<sup>1</sup> albumin



اعمال انحنای مثبت به یک وزیکول مقعرالطرفین می‌تواند به تولید دو وزیکول کوچک‌تر دوفازی منجر شود.

## 5- مراجع

- [1] R. L. Knorr, R. Dimova, R. Lipowsky, Curvature of double-membrane organelles generated by changes in membrane size and composition, *PLoS one*, Vol. 7, No. 3, 2012.
- [2] C. C. Vequi-Suplicy, K. A. Riske, R. L. Knorr, R. Dimova, Vesicles with charged domains, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, Vol. 1798, No. 7, pp. 1338-1347, 2010.
- [3] S. T. Hess, M. V. Gudheti, M. Młodzianoski, T. Baumgart, Shape analysis of giant vesicles with fluid phase coexistence by laser scanning microscopy to determine curvature, bending elasticity, and line tension, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 400, pp. 367-387, 2007.
- [4] W. Helfrich, Elastic properties of lipid bilayers: theory and possible experiments, *Zeitschrift für Naturforschung. Teil C: Biochemie, Biophysik, Biologie, Virologie*, Vol. 28, No. 11, pp. 693, 1973.
- [5] H. Wang, D. Hu, P. Zhang, Measuring the spontaneous curvature of bilayer membranes by molecular dynamics simulations, *Communications in Computational physics*, Vol. 13, No. 04, pp. 1093-1106, 2013.
- [6] B. West, F. Schmid, Membrane-Protein Interactions in Lipid Bilayers: Molecular Simulation versus Elastic Theory, *NIC Symposium 2010: Proceedings*, Jülich, Germany, Vol. 3, pp. 279-286, 2010.
- [7] I. R. Cooke, M. Deserno, Coupling between lipid shape and membrane curvature, *Biophysical journal*, Vol. 91, No. 2, pp. 487-495, 2006.
- [8] T. Baumgart, S. Das, W. Webb, J. Jenkins, Membrane elasticity in giant vesicles with fluid phase coexistence, *Biophysical journal*, Vol. 89, No. 2, pp. 1067-1080, 2005.
- [9] E. A. Evans, Analysis of adhesion of large vesicles to surfaces, *Biophysical journal*, Vol. 31, No. 3, pp. 425, 1980.
- [10] T. R. Powers, G. Huber, R. E. Goldstein, Fluid-membrane tethers: minimal surfaces and elastic boundary layers, *Physical Review E*, Vol. 65, No. 4, pp. 041901, 2002.
- [11] P. B. Canham, The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell, *Theoretical Biology*, Vol. 26, No. 1, pp. 61-81, 1970.
- [12] U. Seifert, Configurations of fluid membranes and vesicles, *Advances in physics*, Vol. 46, No. 1, pp. 13-137, 1997.
- [13] G. Cox, J. Lowengrub, The effect of spontaneous curvature on a two-phase vesicle, *Nonlinearity*, Vol. 28, No. 3, pp. 773-793, 2015.
- [14] M. Sahebifard, A. Shahidi, S. Ziaei-Rad, Two-phase vesicles: a study on evolutionary and stationary models, *European Biophysics journal*, pp. 1-8, 2016.
- [15] J. Zimmerberg, M. M. Kozlov, How proteins produce cellular membrane curvature, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, Vol. 7, No. 1, pp. 9-19, 2006.
- [16] H.-G. Döbereiner, O. Selchow, R. Lipowsky, Spontaneous curvature of fluid vesicles induced by trans-bilayer sugar asymmetry, *European Biophysics journal*, Vol. 28, No. 2, pp. 174-178, 1999.
- [17] A. Agrawal, D. J. Steigmann, Modeling protein-mediated morphology in biomembranes, *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, Vol. 8, No. 5, pp. 371-379, 2009.
- [18] P. Rangamani, K. K. Mandap, G. Oster, Protein-induced membrane curvature alters local membrane tension, *Biophysical journal*, Vol. 107, No. 3, pp. 751-762, 2014.
- [19] M. Rahimi, M. Arroyo, Shape dynamics, lipid hydrodynamics, and the complex viscoelasticity of bilayer membranes, *Physical Review E*, Vol. 86, No. 1, pp. 011932, 2012.
- [20] F. Jülicher, R. Lipowsky, Shape transformations of vesicles with intramembrane domains, *Physical Review E*, Vol. 53, No. 3, pp. 2670, 1996.
- [21] J. Jenkins, Static equilibrium configurations of a model red blood cell, *mathematical biology*, Vol. 4, No. 2, pp. 149-169, 1977.
- [22] K. A. Riske, N. Bezlyepkina, R. Lipowsky, R. Dimova, Electrofusion of model lipid membranes viewed with high temporal resolution, *Biophysical Reviews and Letters*, Vol. 1, No. 04, pp. 387-400, 2006.
- [23] R. Dimova, S. Aranda, N. Bezlyepkina, V. Nikolov, K. A. Riske, R. Lipowsky, A practical guide to giant vesicles, Probing the membrane nanoregime via optical microscopy, *Physics: Condensed Matter*, Vol. 18, No. 28, pp. S1151, 2006.
- [24] H. G. Döbereiner, J. Käs, D. Noppl, I. Sprenger, E. Sackmann, Budding and fission of vesicles, *Biophysical journal*, Vol. 65, No. 4, pp. 1396, 1993.
- [25] M. M. Perry, A. B. Gilbert, Yolk transport in the ovarian follicle of the hen (*Gallus domesticus*): lipoprotein-like particles at the periphery of the oocyte in the rapid growth phase, *cell science*, Vol. 39, No. 1, pp. 257-272, 1979.
- [26] A. W. Jay, Geometry of the human erythrocyte. I. Effect of albumin on cell geometry, *Biophysical Journal*, Vol. 15, No. 3, pp. 205, 1975.
- [27] A. J. García-Sáez, S. Chiantia, P. Schwille, Effect of line tension on the lateral organization of lipid membranes, *Biological Chemistry*, Vol. 282, No. 46, pp. 33537-33544, 2007.
- [28] H. J. Deuling, W. Helfrich, The curvature elasticity of fluid membranes: a catalogue of vesicle shapes. *Journal de Physique* Vol. 37, No. 11, pp. 1335-1345, 1976.

شکل 7- ه است که در آن جوانه‌زنی تا دمبلی‌شدن و تقسیم غشاء پیشروی کرده است. نتایجی که از شبیه‌سازی‌ها نشان داده شده مربوط به آخرین گام‌های فرآیند تکامل تغییر شکل بوده و تصاویر مسیر تکامل بین شکل‌های اولیه و نهایی نمایش داده نشده است که البته انطباق شبیه‌سازی و آزمایش‌ها بین تصاویر میانی نیز وجود دارد.

خاصیت الاستیک خمشی غشا و فشار اسمزی نخستین عامل کنترل‌کننده شکل گلبول قرمز در غیاب نیروی خارجی است؛ بنابراین مدل مبتنی بر انرژی خمشی می‌تواند تخمین مناسبی برای شناخت رفتارهای گلبول قرمز باشد [12, 28-30] و در این قسمت نتایج مدل وزیکول دوفازی با گلبول قرمز مقایسه شده است.

نکته قابل توجه این‌که شکل وزیکول‌های آزمایشگاهی ثبت‌شده اغلب متناظر با جهات 1، 3 و 5 از صفحه انحنا یعنی ناحیه با انحنای مثبت است و نتایج تجربی کمتری برای انحنای منفی وجود دارد. تنوع مکانیسم‌های تشکیل انحنای مثبت و دشواری ایجاد انحنای منفی در وزیکول یک دلیل این موضوع است [31, 32]. انحنای غشای بسته ذاتاً مثبت است. دلیل دیگر را می‌توان در سطح انرژی عوامل مولد انحنا جستجو کرد [33]. برخی پروتئین‌های غشائی مانند I-BAR از عوامل ایجاد انحنای منفی در غشاءهای چربی است، ولی ایجاد انحنای منفی و تغییر شکل غشاء نیاز به انرژی قابل‌توجهی دارد. ممکن است انرژی غشاء از انرژی چسبیدن پروتئین به غشاء بیشتر باشد و پیش از تکمیل تغییر شکل غشاء پروتئین از سطح جدا شده و عامل القای انحنا حذف شود.

## 4- جمع‌بندی

تغییر شکل وزیکول دوفازی با توجه به شرایط اولیه غشاء و کیفیت تحریک آن در قالب انحنای ذاتی بررسی شد. شبیه‌سازی تکاملی دینامیکی با توجه به عدم شفافیت روش‌های تعادلی مدل‌سازی انتخاب شد که بر مبنای تعادل بین نیروهای خمشی غشاء و اصطکاک سیال محیطی روی سطح عمل می‌کند. انواع مکانیسم‌های تحریک هندسی غشاء به‌صورت کمیت انحنای ذاتی دولایه چربی وارد مسئله شد. انحنای ذاتی به معنای انحنای ترجیحی است که به دلیل عدم تقارن بین دولایه در غشاء به وجود می‌آید.

شرایط اولیه فرض شده شامل شکل‌های ساده‌ای چون دمبلی، مقعرالطرفین و کروی تخت است که معمولاً وزیکول‌ها به این شکل‌ها در وضعیت‌های آزاد مشاهده شده‌اند. با فرض شکل اولیه در واقع انحنای اولیه در هر ناحیه به‌صورت محلی مشخص می‌شود. کنش بین انحنای اولیه و انحنای ذاتی القا شده می‌تواند مسیر تکامل و شکل نهایی وزیکول را به درستی پیش‌بینی کند. نتایج شبیه‌سازی انجام‌شده در موارد متعدد و با فرضیات متفاوت در انطباق با نمونه‌های تجربی شامل وزیکول‌های همگن و غیرهمگن و حتی گلبول قرمز قرار دارند. بررسی شکل وزیکول‌های به‌دست‌آمده و مرور آزمایش‌های منتشرشده نشان می‌دهد که انحنای ذاتی مثبت با سهولت بیشتری بر غشاء القا و موجب بروز پدیده‌های متداولی چون جوانه‌زنی و جدایش می‌شود. یکی از دلایل عملکرد بهتر انحنای ذاتی مثبت در تغییر شکل وزیکول می‌تواند هم علامت بودن با انحنای مثبت در غشای بسته باشد. از سوی دیگر تنوع مکانیسم‌های اعمال انحنای مثبت بیشتر و امکان دسترسی به آن‌ها بهتر بوده و می‌توان به‌صورت تجربی نیز آن‌ها را بازتولید و مشاهده کرد. اعمال انحنای ذاتی با توجه به انحنای اولیه غشا می‌تواند نتایج متفاوتی دربرداشته باشد. القای انحنای ذاتی مثبت به یک دامنه از وزیکول دوفازی دمبلی می‌تواند دو وزیکول تک فاز کوچک‌تر ایجاد کند؛ در حالی که

- amphiphysin BAR structure, *Science*, Vol. 303, No. 5657, pp. 495-499, 2004.
- [32] P. K. Mattila, A. Pykäläinen, J. Saarikangas, V. O. Paavilainen, H. Vihinen, E. Jokitalo, P. Lappalainen, Missing-in-metastasis and IRSp53 deform PI (4, 5) P2-rich membranes by an inverse BAR domain-like mechanism, *cell biology*, Vol. 176, No. 7, pp. 953-964, 2007.
- [33] P. Zhang, J. E. Hinshaw, Three-dimensional reconstruction of dynamin in the constricted state, *Nature cell biology*, Vol. 3, No. 10, pp. 922-926, 2001.
- [29] H. J. Deuling, W. Helfrich, Red blood cell shapes as explained on the basis of curvature elasticity, *Biophysical journal*, Vol. 16, No. 8, pp. 861-868, 1976.
- [30] H.W. Gerald Lim, M. Wortis, R. Mukhopadhyay, Stomatocyte-discocyte-echinocyte sequence of the human red blood cell: Evidence for the bilayer-couple hypothesis from membrane mechanics, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 99, No. 26, pp. 16766-16769, 2002.
- [31] B. J. Peter, H. M. Kent, I. G. Mills, Y. Vallis, P. J. G. Butler, P. R. Evans, H. T. McMahon, BAR domains as sensors of membrane curvature: the