

NEUTRAL RED COMO SENSOR DE ESTADOS DE FASE EN MEMBRANAS LIPÍDICAS

Crosio Matías^{1,2}, Wilke Natalia^{1,2}.

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto, Universidad Nacional de Córdoba, X5000HUA Córdoba, Argentina.

² Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CIQUIBIC), CONICET, Universidad Nacional de Córdoba, X5000HUA Córdoba, Argentina matias.crosio@unc.edu.ar

Introducción

Las membranas biológicas son estructuras altamente complejas, dinámicas y de propiedades emergentes. Para estudiar las propiedades de las diferentes membranas celulares y en diferentes regiones se utilizan en gran medida sondas fluorescentes cuyo comportamiento se conoce. La molécula Neutral Red (NR) es una sonda que se utiliza como indicador de pH intracelular, debido a sus fuertes cambios de color dependientes del pH en el rango de valores de interés fisiológico ($pK_a = 6.8$). Pero no hay información que indique que NR puede emplearse para sensor propiedades de membranas. En este trabajo se estudio la molécula NR empleando como modelo de membranas vesículas de cuatro composiciones diferentes, que reflejan diferentes estado de fase. Los estudios fueron hechos a pH 4 y 8 (NR en forma protonada o neutra, respectivamente). **Figura 1**

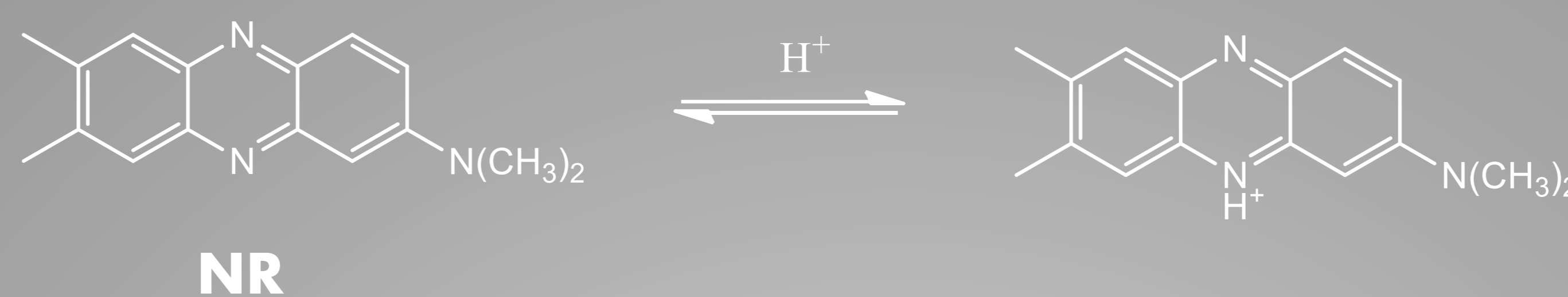


Figura 1: Equilibrio acido-base de la molécula NR

Objetivos

Estudiar la fotofísica de NR en vesículas de diferentes composiciones y evaluar su posible aplicación como sensora de estados de fase de membranas celulares.

Resultados y Discusión

Lípidos

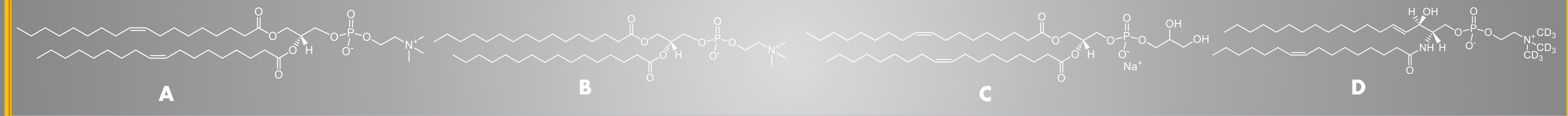


Figura 2: Estructura de fosfolípidos. A) DOPC; B) DPPC; C) DOPG; D) Esfingomielina (SM_{16})

Composiciones de LUVs: 1) DOPC; 2) DPPC 3) DOPC:SM₁₆:Col(1:1:1) 4) DOPC:DOPG (4:1)

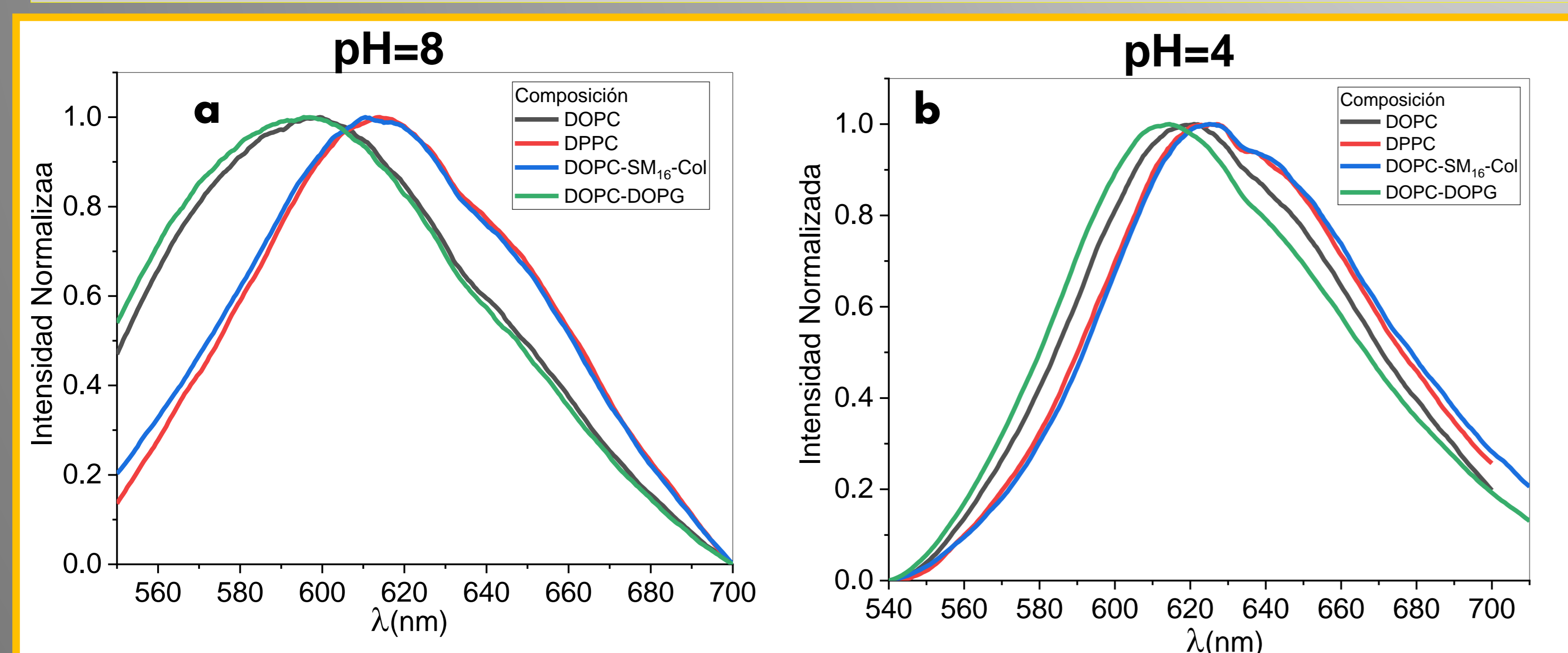


Figura 3: Espectros de emisión de NR en LUVs, de diferentes composiciones. a) pH=8 $\lambda_{exc}=450$ nm; b) pH=4 $\lambda_{exc}=530$ nm

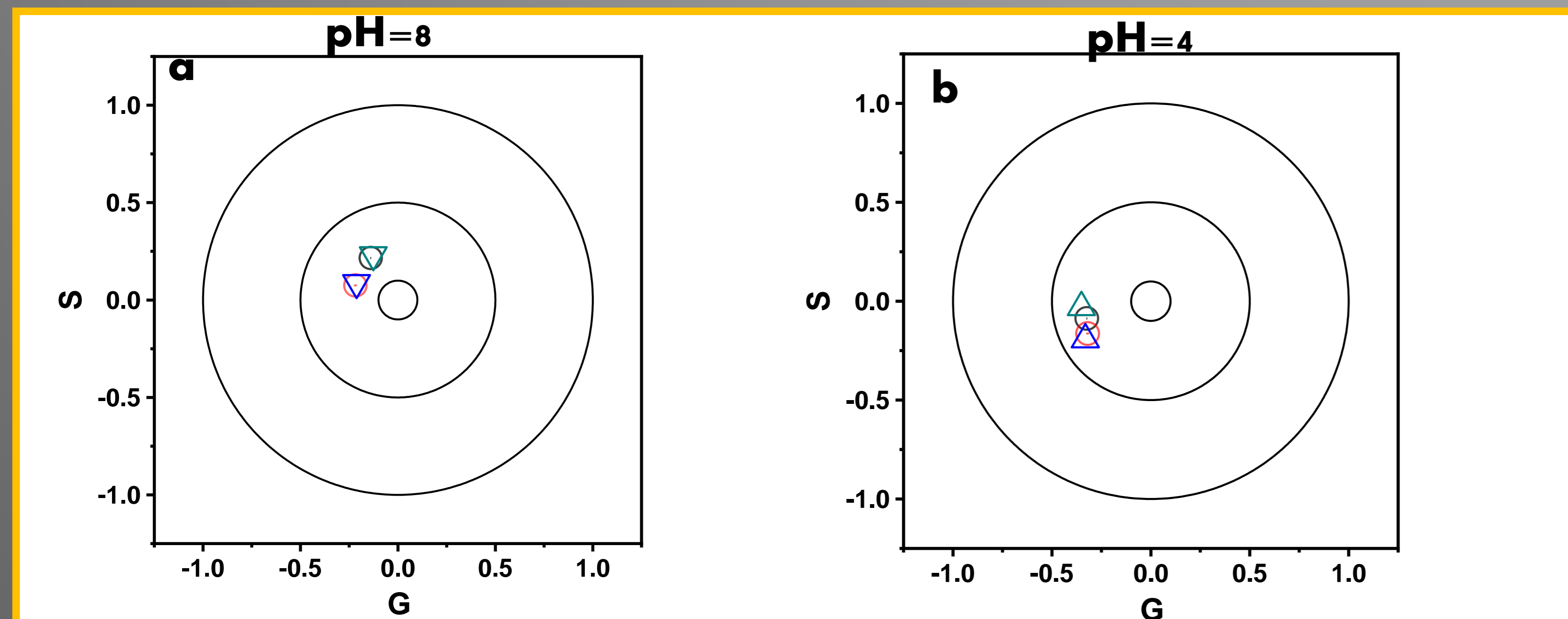


Figura 4: Análisis de fasores de los espectros de emisión de NR en LUVs a) pH=8; b) pH=4

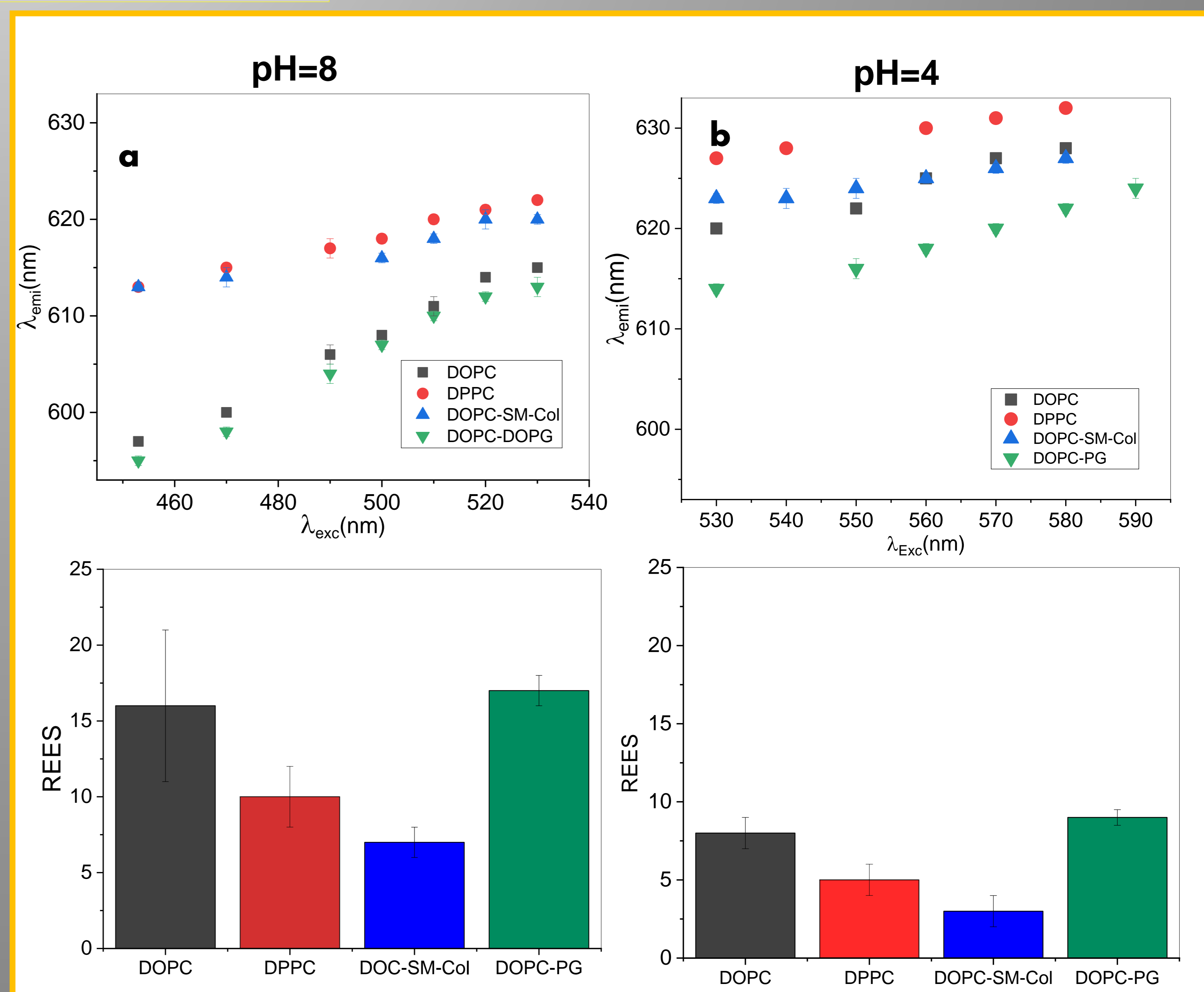


Figura 5: Corrimientos del máximo de la banda de emisión de NR en LUVs, al excitar al borde rojo del máximo de absorción (REES). A) pH=8; b) pH=4

Conclusiones: Como se puede observar, el comportamiento fotofísico de NR cambia con la composición de la membrana a ambos pH. Sin embargo estos cambios son más marcados a pH= 8, lo que podría estar indicando que la especie neutra es mas sensible al entorno. A este pH se observó que en membranas cuya cadena hidrocarbonada se encuentra desordenada (DOPC y DOPC:DOPG), las bandas de emisión se encuentran a menores longitudes de onda y muestran un mayor efecto REES. Esto podría estar indicando que en estas membranas, NR se ubica en la zona de las cadenas hidrofóbicas de los fosfolípidos mientras que en membranas en estado líquido-ordenado (DOPC-SM₁₆-Col) o gel (DPPC), se ubica cerca de las cabezas polares. Los resultados sugieren que NR podría ser capaz de sensor estados de fase en membranas celulares.