

Investigation of the Dynamic Surface Adsorption Process of Mucin Protein in the Air-Water Interface

Faezeh Zolfigol¹, Vahid Haddadi-Asl^{1,*}, Aliyar Javadi^{2,*}, Ali Salehi², Babak Karimigobaktappeh¹

1- Department of Polymer and color Engineering, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

2- School of Chemical Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran

Abstract

Mucin proteins are essential components of the human respiratory system, playing a crucial role in maintaining controlled permeability through the formation of a reticulated structure and electrical charge (exhibiting high surface activity). In addition to their defensive function against external elements, mucins contribute to the dynamic equilibrium in the upper respiratory tract. This study investigates the role of electrical charge in the performance of mucin proteins by introducing and utilizing the drop profile tensiometry method to measure dynamic surface tension and surface elasticity across a wide range of mucin protein concentrations (ranging from 1 to 1000 nanomolar) in buffered solutions. The measurement results of dynamic surface tension indicate a high absorption rate of these large-molecule proteins at the air-water interface for concentrations exceeding one hundred nanomolar. This observation highlights the rapid formation of a structured protective layer in the respiratory system. The measurement of surface elasticity parameters, utilizing interfacial oscillations at different frequencies, demonstrates elevated values of elasticity within the absorbed structured layer.

Keywords

Mucin Protein, Droplet Profile Analysis, Surface Tension Dynamics, Surface Adsorption Kinetics, Interface

Article history:

Received: 27-02-2024

Accepted: 10-04-2024

Corresponding author:

* haddadi@aut.ac.ir

* Aliyar.javadi@tu-dresden.de

بررسی فرآیند دینامیک جذب سطحی پروتئین موسین در فصل مشترک آب-هوا

فائزه زلفی گل^۱، وحید حدادی اصل^{۱*}، علی یار جوادی^{۲*}، علی صالحی^۲، بابک کریمی گوبک تپه^۱

۱- دانشکده مهندسی پلیمر و رنگ، دانشگاه امیرکبیر، تهران، ایران

۲- دانشکده مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

چکیده

پروتئین‌های موسین، از اجزاء اصلی لایه مخاطی دستگاه تنفسی انسان هستند که با عبورپذیری کنترل شده از طریق تشکیل ساختار شبکه‌ای و همچنین برهمکنش الکترواستاتیکی و فعالیت سطحی، علاوه بر وظیفه‌ی دفاعی در برابر عناصر خارجی، وظیفه‌ی ایجاد تعادل دینامیکی در بخش فوقانی دستگاه تنفسی را برعهده دارند. در این پژوهش نقش بار الکتریکی بر عملکرد پروتئین موسین، با معرفی و استفاده از روش آزمون پروفایل قطره برای اندازه‌گیری کشش سطحی دینامیکی و الاستیسیته سطحی برای محدوده وسیعی از غلظت‌های پروتئین موسین (از ۱ تا ۱۰۰۰ نانومولار) در محلول بافری، مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج اندازه‌گیری دینامیک کشش سطحی، نشان دهنده سرعت بالای جذب این پروتئین بزرگ مولکول در فصل مشترک آب و هوا برای غلظت‌های بالای ۱۰۰ نانومولار است. این موضوع به معنای تشکیل سریع لایه ساختار یافته محافظ در دستگاه تنفسی است. اندازه‌گیری مولفه الاستیسیته سطح نیز با استفاده از نوسان سطح فصل مشترک در بسامدهای مختلف نشان دهنده مقادیر بالای الاستیسیته در این لایه جذب ساختار یافته، است.

تاریخ دریافت:

۱۴۰۲/۱۲/۰۸

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۳/۰۱/۲۲

پروتئین موسین، آنالیز پروفایل قطره، دینامیک کشش سطحی، سینتیک جذب سطحی، فصل مشترک

واژگان کلیدی

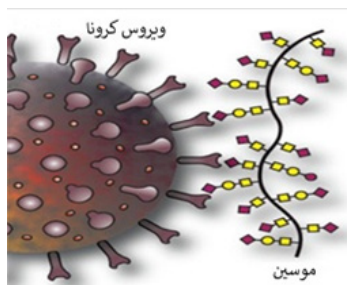
۱- مقدمه

وظیفه نخست سیستم ایمنی در محافظت از بدن، جلوگیری از ورود ویروس‌ها و سلول‌های بیگانه به بدن است. این وظیفه به کمک سدهای مختلف دفاعی بدن انجام می‌پذیرد. یکی از این سدها، سد دفاعی لایه مخاطی است. قسمت‌هایی از بدن که با محیط بیرون در تماس‌اند (دهان، بینی، داخل پلک‌ها، مجاری ادراری- تناسلی، گوارشی و تنفسی)، بهترین محل برای نفوذ ویروس‌ها به بدن هستند که توسط غشاهای مخاطی محافظت شده‌اند. در نقاطی که حفره‌های بدن باز می‌شوند، غشاهای مخاطی در امتداد پوست قرار می‌گیرند [۱]. در این میان دستگاه تنفسی به علت ورود هوا و ذرات و قطرات تنفسی، در مواجهه با باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و آلرژن‌ها^۱ قرار دارد. دستگاه تنفسی مجموعه‌ای پیچیده از اندام‌ها و بافت‌هایی است که مسئول تنفس و تبادل گاز میان محیط بیرونی و درونی بدن هستند. دستگاه تنفسی از نظر آناتومی^۲ به دو بخش دستگاه تنفسی فوقانی (بینی، حلق و حنجره) و دستگاه تنفسی تحتانی (نای^۳، برونش^۴ و برونشیول‌ها^۵، مجاری آلوئولی^۶ و آلوئول^۷) و همچنین از نظر عملکردی به دو بخش تنفسی و انتقالی تقسیم می‌شود [۲].

لایه مخاطی دستگاه تنفسی جزئی حیاتی و پیچیده از این اندام است که از بافتی متراکم تشکیل شده و اجازه عبور عوامل بیماری‌زا را به داخل خون نمی‌دهد. مخاط یا موکوس^۸ ماده‌ای ژل مانند، چسبنده، لزج و حاوی آنزیم لیزوزوم^۹ است که توسط سلول‌های تخصصی به نام سلول‌های گابلت^{۱۰} تولید می‌شود و در پوشش داخلی حفره بینی، برونش‌ها و سایر راه‌های هوایی قرار دارند [۳، ۴]. مخاط پوشاننده سطح دستگاه تنفس یک ماده کلوئیدی غیرهمگن با خاصیت گرانروی بالا است که ضخامتی متغیر (بین ۲۰-۱۰ میکرومتر) در قسمت‌های مختلف این دستگاه دارد [۵]. محدوده pH این لایه، ۷/۲-۷ است [۴]. در اصل موکوس یک بستر آبی حاوی ۹۵%-۹۰% آب و از جنس گلیکوپروتئین‌ها^{۱۱}، لیپیدها و الکترولیت‌ها است. جزء اصلی گلیکوپروتئین موکوس، موسین^{۱۲} است که خاصیت چسبناکی آن را ایجاد می‌کند [۵].

پروتئین‌های موسین جزء اصلی لایه مخاطی هستند. آن‌ها گلیکوپروتئین‌های با وزن مولکولی بالا و به شدت گلیکوزیله هستند که توسط بافت‌های اپیتلیال^{۱۳} در بدن تولید می‌شوند. آن‌ها در طیف گسترده‌ای از بافت‌ها از جمله دستگاه گوارش، دستگاه تنفسی و پوست یافت می‌شوند. موسین‌ها مسئول تشکیل لایه مخاطی هستند که از بافت‌های زیرین در برابر کم‌آبی و عفونت محافظت می‌کند [۶]. این درشت مولکول‌ها دارای ویژگی مشخصی از تکرار توالی اسیدهای آمینه غنی از سرین^{۱۴} و ترونین^{۱۵} هستند که محل اتصال ساختارهای کربوهیدراتی بزرگ است [۷]. اسیدهای آمینه از ساختارهای پایه‌ای یکسان شامل یک گروه عاملی آمین، یک گروه عاملی کربوکسیل و یک اتم هیدروژن متصل به اتم مرکزی تشکیل شده‌اند. این اسیدهای آمینه با پیوندهای پپتیدی به یکدیگر متصل شده و پروتئین‌ها را ایجاد می‌کنند. اسیدهای آمینه می‌توانند بر اساس قطبیت و بارالکتربکی تقسیم بندی شوند که این مولفه‌ها مشخص کننده خصوصیات پروتئین‌ها نیز است [۸]. در واقع ساختارهای کربوهیدراتی پیچیده به موسین یک بار منفی غالب می‌دهد که به خواص منحصر به فرد مخاط مانند گرانروی و کشسانی بالا کمک می‌کند [۹].

عملکرد اصلی پروتئین‌های موسین تشکیل ماتریکس لایه مخاطی است که محیطی هیدراته و ویسکوالاستیک ایجاد می‌کند که می‌تواند ذرات و میکروارگانیسم‌های استنشاقی را به دام بیندازد و از رسیدن آن‌ها به سلول‌های اپیتلیال زیرین جلوگیری کند [۹]. در شکل ۱ طرحواره‌ای از فرآیند به دام افتادن ویروس کرونا نشان داده شده است.



شکل ۱. ساختار پروتئین موسین در مقابله با ویروس کرونا [۱۰].

Figure 1. The structure of mucin protein against the corona virus [10].

پروتئین‌ها که از فراوان‌ترین مولکول‌های آلی هستند، عموماً دارای ۴ نوع ساختار می‌باشند که ابعاد متفاوتی از ماهیت ذاتی آن‌ها را بیان می‌کند. حالت طبیعی پروتئین حالتی با کمترین سطح انرژی است که دارای عملکرد زیستی است. پروتئین‌ها گاهی در اثر

13- Epithelia
14- Serine
15- Threonine

1- Allergens
2- Anatomy
3- Trachea
4- Bronchi
5- Bronchioles
6- Alveolar Ducts
7- Alveoli
8- Mucus
9- Lysosome
10- Goblet
11- Glycoproteins
12- Mucin

باعث تنظیم فشار داخلی بین شش‌ها می‌شود. بنابراین ضرورت این پژوهش در بررسی خواص سطحی پروتئین در گستره‌ی وسیعی از غلظت‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

۲- تجربی

۲-۱- مواد مورد استفاده

در این پژوهش از نمونه پروتئین موسین تهیه شده از شرکت سیگما^۴ که با نام تجاری Mucin from porcine Type II با جرم مولکولی ۶۴۰ KDa استفاده شده است. از آنجا که ساختار پروتئین‌های بالک^۵ سامانه، تابع pH سامانه می‌باشند برای تهیه‌ی سوسپانسیون‌ها از قرص بافر فسفات^۶ ساخت شرکت سیگما استفاده شد و میزان pH برای هر قرص حل شده در ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر، ۶/۹-۷/۱ با پی‌اچ‌متر آکوالیتیک^۷ (AL10pH) اندازه‌گیری شد.

۲-۲- آماده سازی نمونه‌ها

جهت تهیه‌ی سوسپانسیون‌های پروتئینی از روش افزایش تدریجی پودر پروتئین به محلول بافر از پیش تهیه شده، استفاده شد. در این راستا ابتدا محلول بافر با استفاده از قرص بافر و آب مقطر تهیه شد، سپس با استفاده از کاغذ توزین و ترازو (با دقت ۰,۰۰۰۱) مقدار گرم پودر پروتئین لازم جهت تهیه‌ی پروتئین وزن شد. در نهایت مقدار پروتئین لازم به آرامی به ظرف حاوی بافر در حال چرخش توسط همزن مغناطیسی^۸ با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه (RPM)، اضافه شد. این موضوع از آن جهت اهمیت دارد که اضافه کردن یک جا و ناگهانی تمام پودر پروتئین به بافر می‌تواند باعث ته‌نشینی و ناپایداری سامانه سوسپانسیونی پروتئین شود و در تکرارپذیری آزمایشات تاثیر منفی بگذارد. پس از اضافه کردن مقادیر مشخصی از پودر پروتئین، جهت یکنواختی بیشتر سامانه، ظرف حاوی سوسپانسیون ۳ ساعت روی همزن مغناطیسی قرار داده شد.

۲-۳- روش آنالیز پروفایل قطره برای اندازه‌گیری کشش سطحی^۹ (PAT)

برای اندازه‌گیری کشش سطحی در مایعات از دستگاه‌های متفاوت استفاده می‌شود، برای مثال روش تنسیومتری حلقه

تاخوردگی^۱ در محیط آبی، شکل فضایی را ایجاد می‌کنند که یکتا و دارای کمینه انرژی است. تاشدگی پروتئین فرآیندی فیزیکی است که در آن زنجیر پلی پپتیدی به شکل ساختار سه بعدی مشخصی پیچیده می‌شود. پروتئین‌ها عمدتاً عوامل فعال سطحی^۲ درشت مولکولی هستند، به این مفهوم که دارای خاصیت فعال سطحی بوده و در محیط آبی تمایل به جذب در فصل مشترک داشته و کشش سطحی آب را کاهش می‌دهند [۱۱-۱۳]. پروتئین‌ها در حین جذب در فصل مشترک دو سیال یا جذب به سطح جامد-مایع ممکن است دچار تغییرات ساختاری شوند. تاخوردگی پروتئین‌ها در اثر تغییر شرایط (دما، pH و قدرت یونی) و به علت عدم پایداری ترمودینامیکی، باز می‌شود و پروتئین‌ها تا حدی عملکرد خود را از دست می‌دهند. علت اصلی تاخوردگی بسیاری از پروتئین‌ها در شرایط مختلف حضور اسیدهای آمینه‌ی آبریز^۳ است، که تمایل دارند با قرارگیری در بخش‌های داخلی پروتئین، دور از مولکول‌های آب باشند. بنابراین در محیط‌های آبی، گروه‌های آبریز موجود در ساختار پروتئین‌ها به گونه‌ای با یکدیگر برهمکنش دارند که تماس کمتری با مولکول‌های آب داشته باشند. از طرف دیگر معمولاً گروه‌های قطبی و یونی پروتئین‌ها برای کاهش انرژی گیبس سامانه، با مولکول‌های آب برهمکنش جاذبه‌ای دارند [۱۴]. حالت طبیعی پروتئین حالتی با کمترین سطح انرژی است که در اثر تاخوردگی در محیط آبی، شکل فضایی یکتا و دارای کمینه انرژی را ایجاد می‌کنند.

جذب پروتئین‌ها به سطح مشترک دو فاز همراه با پیچیدگی‌هایی مانند تغییر در ساختار پروتئین‌ها حین جذب و پس از آن می‌باشد، بطوری که بخش‌های آبریز به سمت فصل مشترک و فاز دوم (محیط غیرقطبی) جهت‌گیری می‌کنند. ثانیاً ضریب نفوذ این مولکول‌های بزرگ نسبت به بعضی از مواد فعال سطحی کمتر است و کاهش کشش سطحی در مقایسه با این عوامل فعال سطحی آرام‌تر اتفاق می‌افتد. همچنین به علت وجود گروه‌های باردار مختلف در ساختار پروتئین برهمکنش‌های احتمالی در اثر حضور ترکیبات باردار دیگر در همان محیط، بررسی رفتار جذبی پروتئین‌ها را پیچیده‌تر می‌کند. مساله قابل توجه دیگر اینکه برخلاف عوامل فعال سطحی که پدیده‌ی جذب آن‌ها برگشت‌پذیر است، جذب پروتئین‌ها عمدتاً غیرقابل بازگشت است [۱۵].

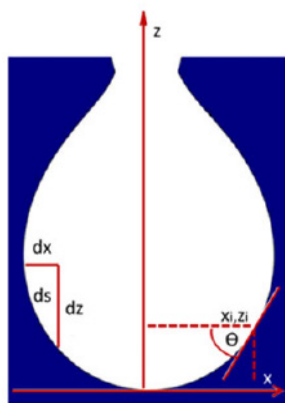
خواص سطحی پروتئین موسین از این جهت مورد اهمیت است که دو نقش اصلی در دستگاه تنفسی دارد اولاً بحث عبور پذیری انتخابی مواد خارجی و خاصیت محافظتی، ثانیاً خواص سطحی که

- 1- Folding
- 2- Surfactant
- 3- Hydrophobic

4- Sigma
5- Bulk
6- Phosphate Buffer Tablets
7- Aqualytic pH Meter
8- Magnet Stirrer
9- Profile analysis tensiometer

سطحی بکار می‌گیرد (معادله (۱)) [۱۷].

$$\Delta P = \gamma \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (1)$$



شکل ۳. آنالیز تصویر پروفایل قطره‌ی آویزان شده [۱۷].

Figure 3. Profile image analysis of hanging drop [17].

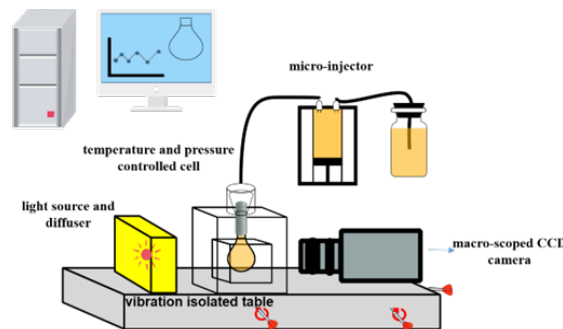
همانطور که گفته شد مولفه قابل اندازه‌گیری دیگر در دستگاه PAT، الاستیسیته سطحی است. بطور کلی الاستیسیته را می‌توان، واکنش مواد در برابر نیروهای وارد شده به آن‌ها تعریف کرد. چنانچه به موادی که خاصیت الاستیک دارند نیرویی وارد گردد که باعث ایجاد تغییر شکل آن‌ها شود، نیرویی از درون این مواد با آن نیروی تغییر شکل دهنده مقابله نموده و سعی در بازگشت ماده به شکل اولیه دارد. در پدیده‌های سطحی نیز، الاستیسیته سطحی به عکس العمل برگرداننده‌ی سطح به انقباض و انبساط ایجاد شده در آن گویند که با توجه به معادله (۲) برای تغییرات کشش سطحی که نسبت به تغییرات سطحی اعمال شده است، تعریف می‌شود:

$$\varepsilon = \partial \gamma / \partial \ln A \quad (2)$$

در رابطه‌ی بالا γ کشش سطحی برحسب (mN/m²)، و A اندازه‌ی سطح فصل مشترک بر حسب (m²) است. در هنگام اعمال نوسان و اختلال به سطح، بازگشت مواد فعال سطحی به بالک سیال و چیدمان مجدد آن‌ها در سطح، تحت تاثیر خواص ویسکوز سیال است. به بیان دیگر، ویسکوزیته‌ی سطحی معیاری از سرعت سطح در این فرایند بازگردانی است. تغییرات سطحی ایجاد شده، در اثر ترکیبی از خواص الاستیسیته و گرانشی سطحی، باعث تمایز لایه تشکیل شده در فصل مشترک در محلول‌های مختلف می‌شود. تعریف الاستیسیته‌ی سطحی و نحوه محاسبه‌ی آن در روش آنالیز پروفایل شکل قطره، در مراجع

آویزان^۱ که کشش بین سطحی را مبتنی بر روش‌های گرانش محور (اندازه‌گیری وزن) اندازه‌گیری می‌کند. همچنین روش فشار موینگی با اندازه‌گیری فشار در سطح قطره‌ی آویزان و تعیین شعاع حدودی با استفاده از آنالیز تصویر می‌تواند کشش بین سطحی را اندازه‌گیری کند. مطابق شکل ۲ PAT از جمله دستگاه‌هایی است که برای اندازه‌گیری کشش بین سطحی به کمک آنالیز تصویر پروفایل قطره‌ی آویزان (شکل ۳) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این دستگاه توسط شرکت سینترفیس^۲ آلمان تولید شده است. از جمله مزایای اندازه‌گیری کشش بین سطحی با این دستگاه نسبت به سایر دستگاه‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. نیاز به مقدار ناچیزی از نمونه تحت آنالیز (تنها یک قطره). ۲.
- دقت بالای اندازه‌گیری کشش سطحی تا ۰/۰۱ میلی نیوتون بر متر.
۳. اندازه‌گیری دینامیک‌های سطحی نسبتاً سریع و خیلی طولانی از محدوده زمانی یک ثانیه تا چندین ساعت.
۴. نرم افزار قوی به جهت آنالیز تصویر در فواصل زمانی زیر یک ثانیه.
۵. امکان بکارگیری برنامه‌های متفاوت در تغییر اندازه‌ی سطح و حجم قطره در زمان‌های متفاوت.
۶. اندازه‌گیری رئولوژی^۳ سطحی قطره تا بسامدهای ۱،۰ هرتز [۱۶].



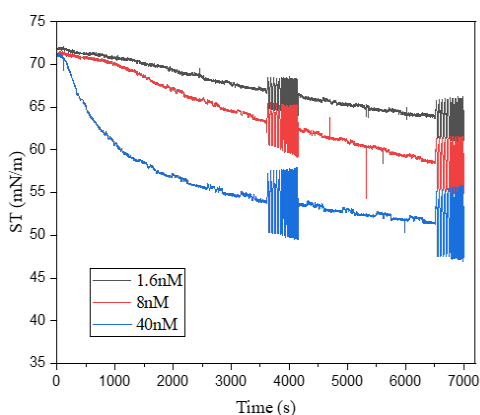
شکل ۲. طرح‌واره دستگاه PAT.

Figure 2. Schematic of the PAT device.

همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد مبنای اندازه‌گیری کشش سطحی و بین سطحی به روش آنالیز پروفایل قطره، آنالیز تصویر است. بر این اساس که دستگاه شعاع‌ها و زوایای مورد نیاز در پروفایل قطره را به کمک دوربین استخراج می‌کند و در رابطه‌ی یانگ-لاپلاس برای هندسه‌ی یک قطره‌ی آویزان، جهت محاسبه‌ی کشش بین

- 1- Ring tensiometer method
- 2- Sinterface
- 3- Rheology

ابتدایی مقدار کشش سطحی نمایش داده شده توسط PAT همان کشش سطحی آب خالص در حدود ۷۲ میلی نیوتون بر متر است. همچنین به علت کم بودن غلظت‌ها در نمودارهای شکل ۴ مشاهده می‌شود که نمونه‌ها به تعادل ترمودینامیکی نرسیده‌اند، چرا که برای رسیدن به فاز تعادل، جایی که کشش سطحی مقدار ثابتی است، لازم است که تمامی سطح فصل مشترک به اندازه‌ی کافی از پروتئین اشباع شده باشد بنابراین با توجه به کم بودن سرعت نفوذ پورسین‌های درشت مولکول و کم بودن غلظت پورسین در سامانه، حتی مدت زمان ۷۲۰۰ ثانیه هم جهت به تعادل رسیدن این سامانه‌ها کافی نیست. این در حالیست که برای مواد فعال سطحی کوچک مولکول در غلظت‌های مولی مشابه زمان‌هایی کمتر از چند ثانیه برای به تعادل رسیدن کافی است.



شکل ۴. دینامیک کشش سطحی برای غلظت‌های ۱/۶، ۸ و ۴۰ نانومولار موسین.

Figure 4. Surface tension dynamics for mucin concentrations of 1.6, 8 and 40 nM.

با توجه به نمودار شکل ۵ دینامیک کشش سطحی برای غلظت‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانومولار از پروتئین پورسین نمایش داده شده است. مانند شکل قبل در اثر افزایش غلظت پروتئین نمودارها به سمت کشش سطحی‌های کمتر کشیده شده‌اند. در این نمودارها مشاهده می‌شود که اگرچه تفاوت بین غلظت‌ها بگونه‌ای است که مطابق قبل همچنان ۵ برابر شده‌اند، اما تفاوت بین نمودارها در غلظت‌های بزرگتر بسیار کمتر از تفاوت بین کشش سطحی‌ها در غلظت‌های کم است، که این موضوع با توجه به اشباع شدن سطح و تشکیل ساختارهای پروتئینی سازمان یافته در فصل مشترک به علت افزایش غلظت قابل درک است. بطور کلی از زمان تشکیل فصل مشترک جدید، سطح آن با گذشت زمان در حال اشباع شدن از پروتئین است، حال در غلظت‌های بالا تعداد پروتئین‌های جذب شده در فصل مشترک به قدری زیاد بوده که پس از مدتی، سطح از پروتئین‌ها اشباع شده و ساختارهای پروتئینی نزدیک به هم شکل گرفته‌اند و تمایل جذب پروتئین بیشتر به علت ممانعت فضایی و

متعددی موجود است [۲۱-۱۸]، که خلاصه‌ای از آن مفاهیم در ادامه می‌آید:

$$E = E' + iE'' \quad (3)$$

برای تغییرات کشش سطحی بر اثر تغییر در اندازه‌ی سطح قطره، رابطه به صورت معادله زیر درمی‌آید:

$$E = E' + iE'' = \frac{\Delta\gamma(t)}{\Delta \ln A(t)/A_0} \quad (4)$$

که در این برآورد ریاضی E' و E'' قسمت‌های حقیقی و مختلط الاستیسیته‌ی سطحی، $\Delta\gamma(t)$ مقدار تغییرات کشش سطحی و A_0 سطح اولیه فصل مشترک و $A(t)$ تغییرات سطح نسبت به زمان است.

اندازه‌گیری خواص سطحی در سامانه‌های موسین همگی در دمای ۲۵ سانتیگراد و حجم ثابت ۸ میلی‌متر مکعب، تا زمان حدودی ۷۲۰۰ ثانیه انجام گرفته شده است. همچنین هر تست حداقل ۳ بار تکرار شده است تا از درستی نتایج اطمینان حاصل شود.

۳- نتایج و بحث روی نتایج

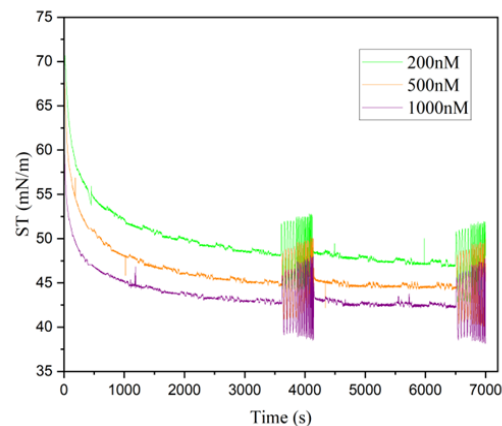
در این بخش در ابتدا جهت بررسی میزان جذب پروتئین‌های فعال سطحی موسین روی فصل مشترک آب-هوا و تاثیر آن در کاهش کشش سطحی در غلظت‌های مختلف از ۱/۶ نانو مولار تا ۱۰۰۰ نانو مولار محلول‌های پروتئینی را طبق شیوه‌های گفته شده در قسمت قبل، تشکیل داده و تا ۷۲۰۰ ثانیه تست‌های دینامیک کشش سطحی و الاستیسیته سطحی در این شرایط گرفته شده است.

در شکل ۴ برای غلظت‌های ۱/۶ و ۸ و ۴۰ نانومولار پورسین، نمودار کشش سطحی دینامیک نمایش داده شده است، بنابر انتظار با افزایش غلظت ماده فعال سطحی (در اینجا پروتئین) نمودار کشش سطحی به سمت کشش سطحی‌های کمتر انتقال پیدا کرده است. نکته‌ی قابل توجه دیگر در ارتباط با این نمودارها این است که در روش پروفایل آنالیز، کشش سطحی اولیه‌ی اندازه‌گیری شده برای همه‌ی این نمودارها عدد ۷۲ میلی نیوتن بر متر است (مطابق شکل ۴ تمامی نمودارها از یک نقطه مشترک شروع به کاهش می‌کنند). علت این موضوع آن است که با توجه به جرم مولکولی بالای پروتئین‌ها، در اثر تشکیل یک فصل مشترک جدید (تشکیل قطره‌ی آویزان)، زمان نسبتاً طولانی‌ای طول می‌کشد تا این درشت مولکول‌ها خود را به فصل مشترک برسانند، بنابراین در زمان‌های

کرده است. با توجه به اینکه با افزایش غلظت پروتئین لایه‌ی سطحی منسجم‌تر شده، میزان الاستیسیته نیز افزایش می‌یابد. این افزایش برای غلظت‌های بالا مانند ۵۰۰ و ۱۰۰۰ به گونه‌ای بوده که تقریباً مقادیر الاستیسیته برای این غلظت‌ها در بسامدهای مختلف برابر است. علت این امر با توجه به اشباع بودن لایه‌ی سطحی به علت وجود ممانعت فضایی و دفعه‌ی الکترواستاتیک بین پروتئین‌ها که از قرارگیری موسین بیشتر در فصل مشترک جلوگیری می‌کند، قابل درک است.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش خواص بین سطحی برای طیف مختلفی از غلظت‌های پروتئین موسین دستگاه تنفسی مورد بررسی قرار گرفت و شرایط جذب پروتئین موسین در فصل مشترک آب-هوا توسط روش آنالیز پروفاایل قطره به عنوان ابزاری نوین و قدرتمند در بررسی رفتار پروتئین‌ها در محیط بافری بررسی شد. با توجه به قابلیت این روش در ارائه‌ی نتایج دقیق و مشخصه‌سازی در سطح مشترک، با استفاده از تفسیر دقیق مولفه‌های دینامیک کشش سطحی، الاستیسیته‌ی سطحی و انحراف معیار از فرم لاپلاسی، برای غلظت‌های مختلف سامانه‌های بافری حاوی موسین نتایج زیر بدست آمد. در دینامیک کشش سطحی نشان داده شد که پروتئین موسین تا غلظت حدودی ۱۰۰ نانومولار از سرعت جذب ضعیفی برخوردار بوده در حالیکه در محدوده‌های غلظتی بالاتر سرعت جذب بسیار بیشتر شده و اختلافات بین نمودارهای دینامیک کشش سطحی بسیار کمتر می‌گردد. این موضوع که بار دیگر نیز با مقدار بالای مولفه الاستیسیته‌ی سطحی برای غلظت‌های بالای ۱۰۰ نانومولار تایید گردید با توجه به شکل‌گیری ساختارهای پروتئینی جذب شده در فصل مشترک در این غلظت‌ها قابل درک و استنتاج است.

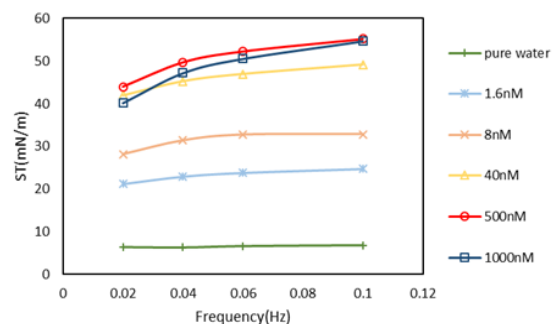


شکل ۵. دینامیک کشش سطحی برای غلظت‌های ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانومولار موسین.

Figure 5. Surface tension dynamics for mucin concentrations of 200, 500 and 1000 nM.

دفعه‌ی الکترواستاتیک بین پروتئین‌های با بار هم‌نام بسیار کم می‌گردد. همچنین غلظت بالا باعث شده که تعداد پروتئین‌های نزدیک به فصل مشترک در لحظات اولیه‌ی تشکیل قطره (فصل مشترک جدید)، زیاد باشد و در این غلظت سامانه با سرعت بسیار بیشتری به تعادل برسد و کشش سطحی تعادلی برای آن‌ها در کمتر از حدود ۱۲۰۰ ثانیه قابل مشاهده است.

مولفه مهم دیگری که به شناخت سامانه‌های فعال سطحی کمک می‌کند، الاستیسیته سطحی است که در قسمت‌های قبلی بطور کامل توضیح داده شد. با توجه به شکل ۶ مقادیر الاستیسیته سطحی برای سامانه حاوی پروتئین موسین در محدوده‌های مختلفی از غلظت‌ها از ۱/۶ تا ۱۰۰۰ نانومولار در محدوده‌ی بسامد ۰/۱-۰/۲ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین در کنار این غلظت‌ها برای آب خالص نیز به عنوان معیار سنجش، مقدار الاستیسیته در بسامدهای مشابه اندازه‌گیری شد. با توجه به این نمودار مشاهده شد که با افزایش غلظت پروتئین مقادیر الاستیسیته افزایش پیدا



شکل ۶. الاستیسیته سطحی بر حسب بسامد برای غلظت‌های مختلف پروتئین موسین.

Figure 6. Surface elasticity in terms of frequency for different concentrations of mucin protein.

۵- مراجع

- [1] Contributors, W. (1970, January 1). The immune system. Handle Proxy.
- [2] Jiménez, A., Vera, L., Lujan-Montelongo, J. (2021). An Overview of Antivirals for Treating lower respiratory Tract Infections. *J. Mex. Chem. Soc.*, 1(66).
- [3] Thiriet, M. (2013). Tissue functioning and remodeling in the circulatory and ventilatory systems, Chapter: Airway Surface Liquid and Respiratory Mucus. Springer New York.
- [4] Hill, D. B., Long, R. F., Kissner, W. J., Atieh, E., Garbarine, I. C., Markovetz, M. R., Fontana, N., Christy, M., Habibpour, M., Tarran, R., Forest, M. G., Boucher, R. C., & Button, B. (2018). Pathological mucus and impaired mucus clearance in cystic fibrosis patients result from increased concentration, not altered pH. *The European Respiratory Journal*, 52(6), 1801297. <https://doi.org/10.1183/13993003.01297-2018>
- [5] Rubin BK. Physiology of airway mucus clearance. *Respir Care*. 2002 Jul;47(7):761-8. PMID: 12088546.
- [6] Bansil, R., Stanley, E., & Lamont, J. T. (1995). Mucin biophysics. *Annual Review of Physiology*, 57(1), 635–657. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.57.030195.003223>
- [7] Kim, K., McCracken, K., Lee, B., Shin, C., Jo, M., Lee, C., & Ko, K. (1997). Airway goblet cell mucin: Its structure and regulation of secretion. *European Respiratory Journal*, 10(11), 2644–2649. <https://doi.org/10.1183/09031936.97.10112644>
- [8] Ahern, K., Rajagopal, I., & Tan, T. (2018). *Biochemistry: Free For All*.
- [9] Holmén, J. M., Karlsson, N. G., Abdullah, L. H., Randell, S. H., Sheehan, J. K., Hansson, G. C., & Davis, C. W. (2004a). Mucins and their O-glycans from human bronchial epithelial cell cultures. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 287(4). <https://doi.org/10.1152/ajplung.00108.2004>
- [10] Wardzala, C. L., Wood, A. M., Belnap, D. M., & Kramer, J. R. (2022). Mucins inhibit coronavirus infection in a Glycan-Dependent manner. *ACS Central Science*, 8(3), 351–360. <https://doi.org/10.1021/acscentsci.1c01369>
- [11] H.N. Harkins, W.D. Harkins, The surface tension of blood serum, and the determination of the surface tension of biological fluids, *J. Clin. Invest.* 7 (1929) 263–281. <https://doi.org/10.1172/JCI100228>.
- [12] C. Kotsmar, V. Pradines, V.S. Alahverdijeva, E.V. Aksenenko, V.B. Fainerman, V.I. Kovalchuk, J. Krägel, M.E. Leser, B.A. Noskov, R. Miller, Thermodynamics, adsorption kinetics and rheology of mixed protein– surfactant interfacial layers, *Adv. Colloid Interface Sci.* 150 (2009) 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2009.05.002>.
- [13] A. Maestro, C. Kotsmar, A. Javadi, R. Miller, F. Ortega, R.G. Rubio, Adsorption of β -casein-surfactant mixed layers at the air-water interface evaluated by interfacial rheology, *J. Phys. Chem. B.* 116 (2012) 4898–4907. <https://doi.org/10.1021/jp301031y>.
- [14] A. Moosavi-Movahedi, J. Chamani, A. Taghavi, H. Moghadamnia, *Proteins: Structure and Function*, 1st ed., University of Tehran, Tehran, 2004.
- [15] Shourni, S., Javadi, A., Hosseinpour, N., Bahramian, A., & Raoufi, M. (2022). Characterization of protein corona formation on nanoparticles via the analysis of dynamic interfacial properties: Bovine serum albumin - silica particle interaction. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 638, 128273. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128273>.
- [16] 128273Javadi, A., Mucic, N., Karbaschi, M., Won, J., Lotfi, M., Dan, A., Ulaganathan, V., Gochev, G., Makievski, A. V., Kovalchuk, V. I., Kovalchuk, N. M., Krägel, J., & Miller, R. (2013). Characterization methods for liquid interfacial layers. *European Physical Journal-special Topics*, 222(1), 7–29. <https://doi.org/10.1140/epjst/e2013-01822-3>
- [17] Javadi, A., Mucic, N., Karbaschi, M., Won, J., Lotfi, M., Dan, A., Ulaganathan, V., Gochev, G., Makievski, A. V., Kovalchuk, V. I., Kovalchuk, N. M., Krägel, J., & Miller, R. (2013b). Characterization methods for liquid interfacial layers. *European Physical Journal-special Topics*, 222(1), 7–29. <https://doi.org/10.1140/epjst/e2013-01822-3>
- [18] F. Ravera, G. Loglio, V.I. Kovalchuk, Interfacial dilational rheology by oscillating bubble/drop methods, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 15 (2010) 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.04.001>.
- [19] B.C. Tripp, J.J. Magda, J.D. Andrade, Adsorption of Globular Proteins at the Air/Water Interface as Measured via Dynamic Surface Tension: Concentration Dependence, Mass-Transfer Considerations, and Adsorption Kinetics, *J. Colloid Interface Sci.* 173 (1995) 16–27. <https://doi.org/10.1006/jcis.1995.1291>.
- [20] I. Yadav, V.K. Aswal, J. Kohlbrecher, Size-dependent interaction of silica nanoparticles with lysozyme and bovine serum albumin proteins, *Phys. Rev. E.* 93 (2016). <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.93.012401>.



RevE.93.052601.

[21] S.A. Zholob, A. V. Makievski, R. Miller, V.B. Fainerman, Optimisation of calculation methods for determination of surface tensions by drop profile analysis tensiometry, *Adv. Colloid Interface Sci.* 134–135 (2007) 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2007.04.011>.