

## Περίληψη

Αντικείμενο της διδακτορικής διατριβής είναι η παράλληλη μελέτη της μοριακής δυναμικής και των μεταπτώσεων φάσης πρωτεϊνών και βιοπολυμερών, σε ευρεία περιοχή επιπέδων υδάτωσης. Προσδοκώμενο τελικό αποτέλεσμα είναι, βραχυπρόθεσμα, η παραγωγή νέας γνώσης σε θέματα που αναφέρονται στην διαμόρφωση της δομής, της μοριακής δυναμικής και των μεταπτώσεων φάσης της πρωτεΐνης (ή του βιοπολυμερούς) και του διαλύτη ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασής τους, και, μακροπρόθεσμα, η συμβολή στη ποσοτική περιγραφή και κατανόηση βιολογικών λειτουργιών με όρους Φυσικής.

Τα υδατωμένα συστήματα που μελετήθηκαν σε αυτή την διδακτορική διατριβή είναι: δύο σφαιρικές πρωτεΐνες, αλβουμίνη βοείου ορού (bovine serum albumin, BSA) και λυσοζύμη (lysozyme) και δύο ινώδεις πρωτεΐνες, ελαστίνη και κολλαγόνο. Εκτός από πρωτεΐνες, επιλέχθηκαν δύο δομικά απλούστερα βιοπολυμερή, προκειμένου να γίνει σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα αντίστοιχα που προκύπτουν για τις πρωτεΐνες, καθώς και με αντίστοιχα αποτελέσματα από τη μελέτη υδροπηκτωμάτων συνθετικών πολυμερών. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν ενυδατωμένα στερεά δοκίμια και υδατικά διαλύματα πεπτόνης της καζεΐνης (παράγωγο πέψης της πρωτεΐνης καζεΐνης) και ενυδατωμένα στερεά υδροπηκτώματα (hydrogels) υαλουρικού οξέος (hyaluronic acid, HA).

Τα φαινόμενα κρυστάλλωσης και τήξης του νερού καθώς και το φαινόμενο της υαλώδους μετάβασης των μακρομορίων, μελετήθηκαν μέσω της διαφορικής θερμιδομετρίας σάρωσης (differential scanning calorimetry, DSC). Η μοριακή δυναμική (ο  $\alpha$  μηχανισμός διηλεκτρικής αποκατάστασης των ενυδατωμένων συστημάτων και οι δευτερεύοντες μηχανισμοί των μορίων νερού στην μη κρυσταλλική και/ή κρυσταλλική φάση) μελετήθηκαν διεξοδικά μέσω δύο διηλεκτρικών τεχνικών, θερμικώς διηγερόμενα θερμορεύματα αποπόλωσης (thermally stimulated depolarization currents (TSDC)) και διηλεκτρική φασματοσκοπία εναλλασσομένου πεδίου (dielectric relaxation spectroscopy (DRS)), σε ευρεία περιοχή συχνοτήτων και θερμοκρασιών. Επιπλέον πληροφορίες για την οργάνωση των μορίων νερού κατά την υδάτωση προήλθαν από μετρήσεις ισόθερμης υδάτωσης σε ισορροπία (water equilibrium sorption measurements, ESI) σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Η θερμική υαλώδης μετάβαση στα ενυδατωμένα συστήματα καταγράφηκε με την τεχνική DSC. Ανάλογα με το προς μελέτη σύστημα, η υαλώδης μετάβαση εκδηλώνεται σε διαφορετική θερμοκρασιακή περιοχή ενώ στην περίπτωση του κολλαγόνου δεν είναι ανιχνεύσιμη. Ένα γενικό συμπέρασμα είναι ότι η υαλώδης μετάβαση εξαρτάται άμεσα από το επίπεδο υδάτωσης. Η μελέτη της μεταβολής της θερμοκρασίας υαλώδους μετάβασης και του βήματος θερμοχωρητικότητας με το επίπεδο υδάτωσης οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η μοριακή κίνηση που συσχετίζεται με το φαινόμενο περιέχει συνεισφορές από τα μη κρυσταλλωμένα μόρια νερού καθώς και από τμήματα των βιοπολυμερών.

Η διηλεκτρική απόκριση που σχετίζεται με τη θερμική υαλώδη μετάβαση μελετήθηκε με τις τεχνικές DRS και TSDC. Ένας μηχανισμός διηλεκτρικής

αποκατάστασης που εμφανίζει χαρακτηριστικά συνεργασιμότητας, όπως προκύπτει από τη θερμοκρασιακή εξάρτηση της διηλεκτρικής ισχύος, καταγράφηκε σε αρκετά καλή συμφωνία με τα αποτελέσματα της θερμοδομετρίας, προκειμένου για τα πιο εύκαμπτα συστήματα. Αντιθέτως, στην περίπτωση της ινώδους πρωτεΐνης ελαστίνης η οποία παρουσιάζει την υαλώδη μετάβαση σε περιοχή υψηλότερων θερμοκρασιών σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα, αλλά επίσης στην περίπτωση της ινώδους πρωτεΐνης κολλαγόνο, η οποία δεν εμφανίζει υαλώδη μετάβαση, καταγράφεται ένας μηχανισμός διηλεκτρικής αποκατάστασης ο οποίος είναι παρόμοιος με τον αντίστοιχο μηχανισμό που σχετίζεται με την υαλώδη μετάβαση, και καταγράφηκε για τα υπόλοιπα συστήματα. Το κύριο αποτέλεσμα είναι ότι ο εν λόγω μηχανισμός εκδηλώνεται σε συγκεκριμένη θερμοκρασιακή περιοχή, ανεξάρτητα από την θερμική υαλώδη μετάβαση. Προτείνεται σχετικά, ότι ο μηχανισμός διηλεκτρικής αποκατάστασης εκφράζει κυρίως την πόλωση μη κρυσταλλωμένων μορίων νερού εντός συσσωματωμάτων στην επιφάνεια των ενυδατωμένων μορίων.

Ο κύριος μηχανισμός διηλεκτρικής αποκατάστασης των μη κρυσταλλωμένων μορίων νερού στα διεπιφανειακά στρώματα των ενυδατωμένων συστημάτων μελετήθηκε διεξοδικά. Παρατηρήθηκε μια αλληλοσυσχέτιση αυτού με ένα δευτερεύοντα μηχανισμό πολικών ομάδων στην επιφάνεια των ενυδατωμένων συστημάτων. Συγκεκριμένα, τα μη κρυσταλλωμένα μόρια νερού σε χαμηλά ποσοστά υδάτωσης διεγείρουν την κίνηση μικρών πολικών ομάδων στην επιφάνεια των βιοπολυμερών. Οι χαρακτηριστικοί χρόνοι αποκατάστασης μειώνονται με την αύξηση του επιπέδου υδάτωσης. Τα δυναμικά χαρακτηριστικά του μηχανισμού εξαρτώνται από την διαδοχή και αναλογία των πολικών ομάδων στην επιφάνεια. Σε μία κρίσιμη περιοχή επιπέδων υδάτωσης περίπου ίση με 20 - 30% κ. β. η επιφάνεια του βιοπολυμερούς καλύπτεται σταδιακά από μη κρυσταλλωμένα μόρια νερού και δημιουργείται ένα συνεχές επιφανειακό στρώμα νερού, ενώ παράλληλα σταθεροποιούνται οι τιμές των χαρακτηριστικών χρόνων χαλάρωσης και της διηλεκτρικής ισχύος του μηχανισμού. Σε γενικές γραμμές ο μηχανισμός είναι δευτερεύων, τοπικού χαρακτήρα και περιγράφεται ικανοποιητικά από την εξίσωση Arrhenius σε χαμηλές θερμοκρασίες. Στην περιοχή όπου σταθεροποιούνται τα χαρακτηριστικά του μηχανισμού η διηλεκτρική απόκριση αντιστοιχεί στην χαλάρωση μέρους του επιφανειακού στρώματος μη κρυσταλλωμένων μορίων νερού που καλύπτουν την επιφάνεια του μορίου. Τα επιπλέον μόρια νερού που βρίσκονται εκτός του κύριου επιφανειακού στρώματος μη κρυσταλλωμένων μορίων νερού, οργανώνονται σε άλλες δομές στην κρυσταλλική ή μη φάση, ανάλογα με την μορφολογία. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις για μετάβαση των μορίων νερού από μία άμορφη κατάσταση υψηλής πίεσης (high density amorphous, HDA) προς μία άμορφη κατάσταση χαμηλής πίεσης σε υψηλές θερμοκρασίες (low density amorphous, LDA), τουλάχιστον στην περίπτωση της σφαιρικής πρωτεΐνης BSA.