

זיהוי חומרים על-ידי אינטראקציה עם ליפוזומים במטריצת סיליקה ג'ל

נעמי חרמוני* כרמית קנטור** סופיה קולושב***

הקדמה

בשנת הלימודים תשע"ב השתתפנו בהשתלמות הנחיית עבודות גמר בכימיה במכון ויצמן. בתחילת ההשתלמות פגשנו חוקרים מהמכון שהציגו בפנינו את מחקריהם העכשוויים, במטרה שכל זוג מורים ישתלב באחד המחקרים ויבצע מיני מחקר, כל זאת כחשיפה לימודית-ביקורתית לתהליך כתיבת עבודות גמר בכימיה לתלמידי תיכון.

כתושבות הדרום מצאנו פינה חמה במכון לננוטכנולוגיה באוניברסיטת בן גוריון, בברכתו של ראש המחלקה פרופ' רז ילינק ובהנחייתה של החוקרת ד"ר סופי קולושב.

התנסות זו במחקר עדכני, עם טכנולוגיות מודרניות והנחיה מצוינת של ד"ר קולושב, הרחיבה את יריעת הידע שלנו כמורות לכימיה וללא ספק חשפה אותנו לחזית המדע.

בעבר השתתפנו בהשתלמויות מורים שבהן שמענו הרצאות מפי חוקרים שונים בנושאים מחזית המדע. בהשתלמות זו נטלנו חלק פעיל במחקר.

קשר פעיל עם האקדמיה, הכולל השתתפות במחקרים, הוא בעל ערך רב מאוד בשמירה על רלוונטיות הידע שלנו כמורות, ובהכרח משפיע גם על רמת ההוראה שאנו

מקיימות. אנו מקוות שאפשר יהיה לפתח קשר זה, ולהוסיף וליצור השתלמויות חקר בחזית המדע.

מבוא

במכון לננוטכנולוגיה באוניברסיטת בן גוריון חוקרת ד"ר סופי קולושב, בין השאר, את תגובת הצבע כתוצאה מאינטראקציות בין ממברנות פוספוליפידיות ובין סמים.

השגשוג בטכנולוגיות גילוי וייצור סמים, ומנגד המלחמה בהם, מעלים את הדרישה לטכנולוגיות חדשות המאפשרות סריקה מהירה וזיהוי של מגוון גדול של מולקולות – של סמים וגם של תרופות חדשות. במסגרת המחקר נוצר קשר עם משטרת ישראל על מנת לסייע באיתור סמים באבקות, אשר זהותן המוצהרת אינה בהכרח תואמת את תכולתן. המטרה הסופית היא לייצר מערכת פשוטה, אמינה ומהירה לזיהוי תכולת האבקות. שיטה לזיהוי נוכחות סם בחומר כלשהו, המצוי בצורת אבקה, היא תגובת הצבע של אותו חומר עם ממברנות פוספוליפידיות.

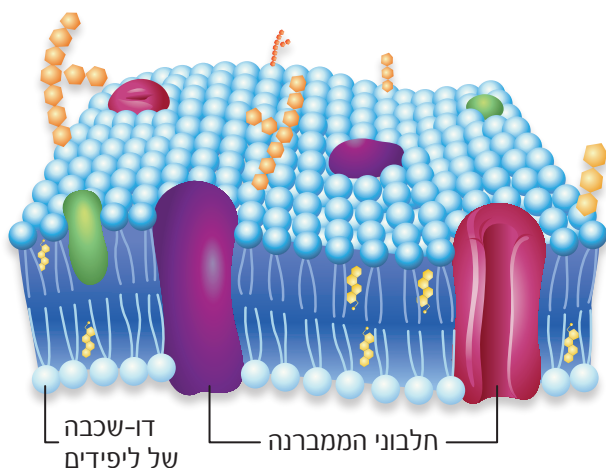
בנקודה זו משתלבת עבודת המיני מחקר שלנו עם עבודת המחקר של ד"ר קולושב. בדקנו את תגובת הצבע של אבקות הנמצאות בשימוש יומיומי: קמח, קורנפלור, אבקת

* נעמי חרמוני, מורה לכימיה, בית חינוך משותף "שער הנגב".

** כרמית קנטור, תיכון "שיטים", הערבה התיכונה.

*** העבודה בוצעה בהנחייתה של ד"ר סופיה קולושב מהמכון לננוטכנולוגיה, אוניברסיטת בן גוריון.

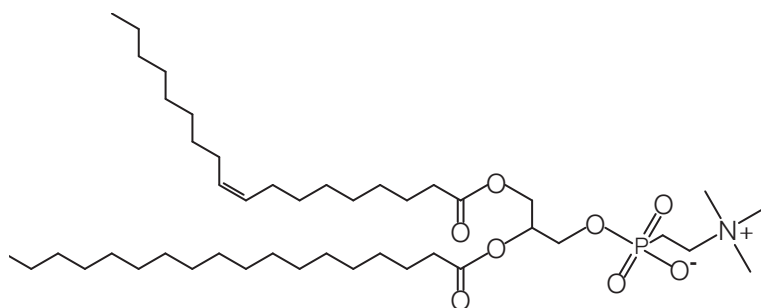
ליפוזומים הם זיקולות מלאכותיות. זיקולות אלה משמשות כיום בתעשיית הקוסמטיקה, בתעשיית תוספי מזון ובתעשיית התרופות. בשל המבנה הדו-שכבתי המשולב בחלבונים, מהוות הוויזיקולות מערכת מתאימה לחקר תכונות הממברנה, ולבדיקת אינטראקציות אפשריות שלה עם ליפופרוטאינים, עם סמים ועם מולקולות קטנות אחרות.^(1,2,3)



תמונה 1: המודל המשולב הדו-שכבתי – פסיפס של שומנים וחלבונים

2. אפיון של זיקולות ליפידיות

זיקולות ליפידיות הן חלקיקים קולואידים, בדרך כלל ברדיוס של 5-50 ננומטר. בבסיסן עשויות הוויזיקולות ממולקולות של פוספוליפידים. המולקולות בעלות ה"ראש" ההידרופילי וה"זנב" ההידרופובי הן בדרך כלל נגזרות סינתטיות של פוספוליפידים טבעיים, לעתים קרובות פוספטידיל-כולין (PC). בתמונה 2 מוצגת נוסחת המבנה של פוספטידיל-כולין:



תמונה 2: פוספטידיל-כולין

אפייה, אבקת סוכר, סודה לשתייה, גיר. נוסף על כך נבדקו התרופות נורופן ודקסמול.

בעבודה נמצא כי אכן אפשר לזהות נוכחות סמים באבקות אלה.

גודה גדולה אד"ר סופי קאושה על השיטות,
על העצרה בהיצוץ העבודה ובכתיבה,
ועל מאור הפנים שבו הגקאלו במחלקה.
גודה גם אלך המחלקה פנופ' נז יאנק
על ברכה הדריך אפרויקט.

כנח"ג ונלח"י

רקע מדעי

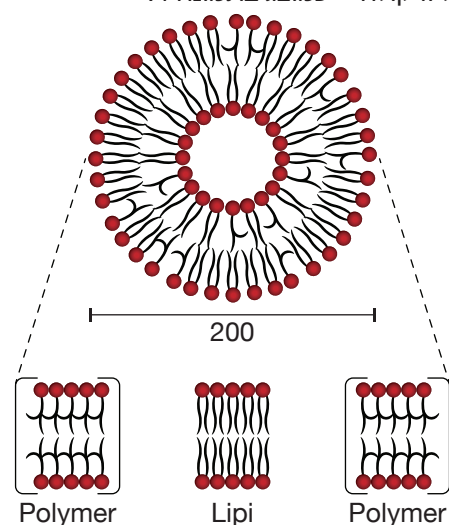
1. ממברנות – מבנה ויישום

המודל המקובל עד היום למבנה ממברנת התא – המודל הדו-שכבתי המשולב של ליפידים (שומנים) וחלבונים (תמונה 1) הוצע ב-1972. לפי מודל זה הממברנה מפרידה בין הסביבה החוץ-תאית ובין הסביבה התוך-תאית בגוף החי.

לצורך המחקר שבו אנו עוסקות פותחו ממברנות. פוספוליפידיות מלאכותיות שונות – ליפוזומים – בהרכב כימי מוגדר לפי סוג הליפידים והיחס בין מולקולות השומן והחלבון.

קבוצת ליפידים עם קבוצות המאפשרות פלמור במקומות שונים לאורך מולקולות השומן (ליפיד). מונמרים אמפיליים שונים של די-אצטילן (DA) הראו תכונות אלקטרוניות ואופטיות ייחודיות לאחר הפלמור⁽⁵⁾. פלמור 1, 4 של די-אצטילן יוצר שלד של מערכת מצומדת של קשרים כפולים/משולשים (כמוצג בתמונה 3), הגורמת להופעת צבע כחול.

ידוע היום שמערכות PDA (פולי דיאצטילן) יכולות להיות גם חלק של ליפידים שונים ושל חלבונים הממברנה הנאספים למבנה של וזיקולה⁽⁶⁾ כמוצג בתמונה 4.



תמונה 4: תצוגה של וזיקולה שבה אזורים עם PDA ואזורים עם ליפידים

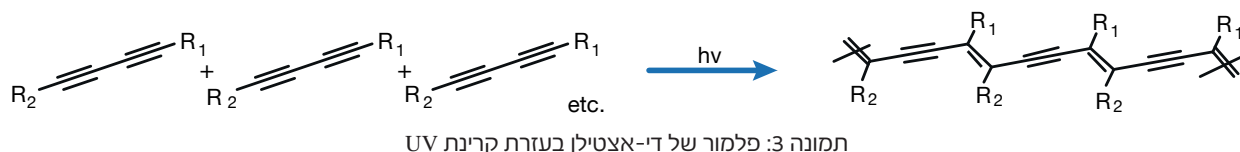
החשיבות הגדולה הטמונה בצברים של PDA היא בבליעה האופטית החזקה שהם מגלים, המשתנה באופן דרמטי בהפעלת מתח מכני, חום או שינוי תנאי הסביבה כמו pH. הבליעה האופטית, הנובעת ממעברי $\pi-\pi^*$ במערכת המצומדת הליניארית, גורמת להופעת צבע כחול. בליעה זו משתנה לבליעה באנרגיות גבוהות יותר בהשפעת השינוי,

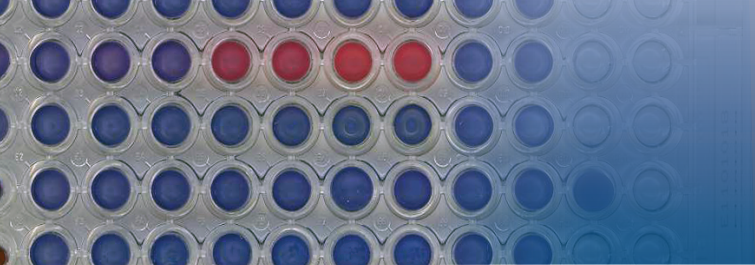
מולקולות הפוספוליפידים מאורגנות בתמיסה מימית באופן שבו הזנבות ההידרופוביים פונים זה אל זה ליצירת מבנה דו-שכבתי סגור של ממברנה, הכולא בתוכו תמיסה מימית (וזיקולה). השכבות הליפידיות הן נוזליות (פלואידיות), ומולקולות פוספוליפידיות יכולות לנדוד דרך שטח הפנים של הממברנה אל תוך המבנה הדו-שכבתי. גודל הוזיקולות ותכונות שטח הפנים שלהן תלויים בשיטת ההכנה, בסוג הפוספוליפידים, בתוספים ליפידים, וביחס בין הרכיבים השונים.

אפשר לשנות בוויזיקולה שני תחומים עיקריים: הממברנה הדו-שכבתית עצמה והחלל הפנימי. טמפרטורה משפיעה על מידת הפלואידיות, ובכך על חדירות הממברנה, על אגרגציה (הצטברות) של וזיקולות ועל התכתן. שימוש בתערובת ליפידים או שינוי טבע חומצות השומן עשויים לשנות את יציבות הוזיקולה, את מטען שטח הפנים שלה, את גודלה, ואת היקף פעילותה. אפשר להוסיף פוספוליפידים יוניים, או לשנות את ה-pH וכך להשפיע על מטען שטח הפנים. נמצא כי מטען שלילי של הליפידים בוויזיקולה מקטין את הנטייה לאגרגציה, מייצב את תרחיף הוזיקולות, וכן מאפשר ליצור אינטראקציות עם תאים או מולקולות ביולוגיות אחרות⁽⁴⁾. אפשר לערוך שינויים במשתנים רבים במבנה הוזיקולה ובתכונותיה, בהתאם ליישום המתבקש.

3. אנליזה קולורימטרית מבוססת על וזיקולות פולי-די-אצטילן (PDA)

במסגרת מחקר בתחום זה פותחו וזיקולות מתערובת של ליפידים (שומנים) פיזיולוגיים ופולי-די-אצטילן (PDA). סונתזה



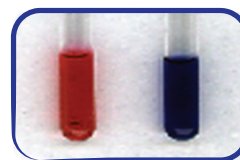
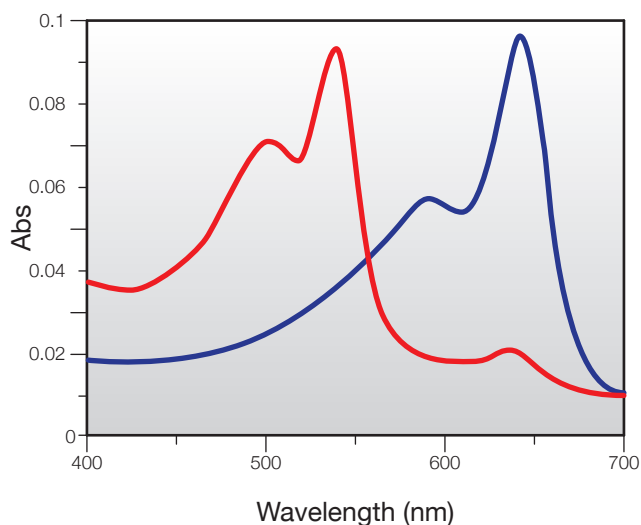


היחס בין הסיגנל המתקבל בעבור עוצמת הבליעה של המצב "הכחול" (640nm) לבין הסיגנל המתקבל בעבור עוצמת הבליעה של המצב "האדום" (500nm) (FCR%). כך אפשר לבחון את אקטיביות הממברנה לפפטידים ולחומרים שונים נוספים.

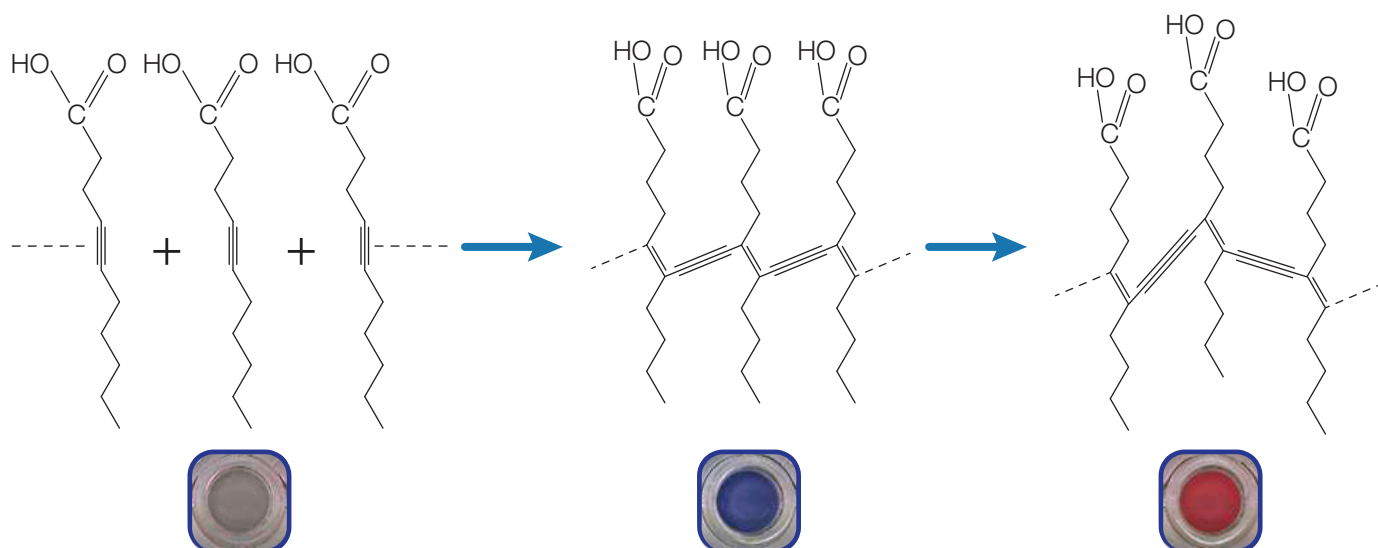
מודל הביכרומיזם (שינוי בצבע של מולקולות ביולוגיות) הנהוג היום מאפשר פישוט, האצה והוזלה בחקר הממברנות. המודל מיושם גם במדעי הרוקחות, באבחון מחלות, ובסריקה לנוכחות חומרים טבעיים וסינתטיים.

ומלווה בהשתנות הצבע לאדום. בתמונה 5 מוצג צילום של המערכת לפני ואחרי השינוי, וכן ספקטרום הבליעה של PDA. המנגנון המדויק הגורם לשינוי זה בצבע אינו מובן במלואו. משערים שהוא נובע משינויי הקונפורמציה והאריזה של השאריות הפחמימניות (מיוצגות על ידי R_1 ו- R_2 בתמונה 3) ב-PDA, המשנים את המצבים האלקטרוניים וכך את אורך הגל של הבליעה האופטית. בתמונה 6 מוצג איור עם הסבר אפשרי לשינויים בקונפורמציה ובצבע.

חשיבות רבה טמונה באפשרות של אנליזה כמותית בעזרת



תמונה 5: צילום + ספקטרום בליעה של תמיסה כחולה ותמיסה אדומה של PDA



תמונה 6: הסבר אפשרי לשוני בקונפורמציה הגורם לשוני בצבעו של PDA + צילום המערכת.

בצד שמאל - המונומר - חסר צבע; במרכז - לאחר הפלמור - צבע **כחול**;

בצד ימין - לאחר אינטראקציה המשנה את הקונפורמציה - צבע **אדום**.

4. וזיקולות במטריצות סיליקה ג'ל

לאחרונה נמצא כי וזיקולות עם PDA במטריצה של סיליקה ג'ל שומרות על תכונות הממברנה ועל היכולת לספוח מולקולות שונות. מטריצת הסיליקה מייצבת את הוויזיקולות, ומשמרת את המבנה לאורך זמן, גם יותר משנה. יצירת מטריצות סיליקט בפרוצדורה של סול-ג'ל נמצאה יעילה ביותר לביו-אנקפסולציה ולשימור הפעילות הביולוגית⁽⁷⁾. סכמה של הכנת וזיקולות במטריצת סיליקה ג'ל כוללת: יצירת מטריצת סיליקה ג'ל, כליאת הוויזיקולות ופלמור בעזרת UV לקבלת הצבע הכחול.

5. מטרת העבודה

יצירת מטריצת סול-ג'ל ובה שלושה סוגים של ליפוזומים (ליפידים שונים) ובדיקת אקטיביות לחומרים: אבקת סוכר, קמח, קורנפלו, אבקת אפייה, גיר, סודה לשתייה, פרצטמול, נורופן. יצירת "טביעות אצבעות" לחומרים אלה שתאפשר

לזהות את נוכחותם בתמיסה.

השוואת אקטיביות החומרים הנ"ל לזו שנמצאה בעבור הסמים הרואין, מתאמפטמין, אמפטמין, קוקאין. תיבדק עוצמת האינטראקציה של וזיקולות שונות עם כל חומר כתלות בזמן, בריכוז החומר ובסוג הליפיד בליפוזום.

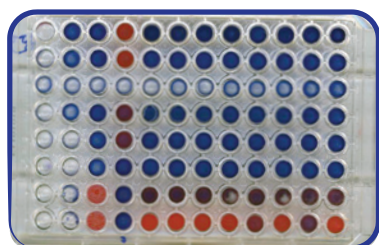
6. מערך המחקר⁽⁸⁾

המחקר מורכב משלבי הכנה של שלושה סוגי הליפוזומים, השונים זה מזה בסוג הליפיד שבמטריצת הסיליקה ג'ל. בהמשך, מילוי שלוש תבניות של 96 באריות, יממה לפני ביצוע הניסוי. בשלב הסופי - הוספת החומרים השונים הנבדקים בניסוי ובדיקת תגובת הצבע - colorimetric response. נמצא כי במצב האדום יש פלואורסנציה חזקה, שאינה קיימת במצב הכחול, ולכן בדיקת תגובת הצבע היא לפלואורסנציה ולא לבליעה.

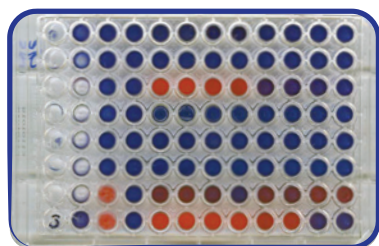
7. תוצאות ודין

חלק ראשון: תוצאות הניסוי שביצענו עם אבקות שונות

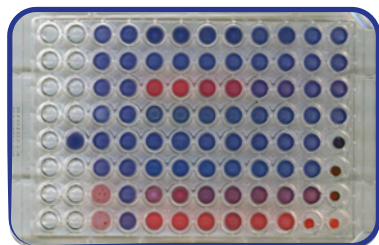
להמחשת התצפית הניסיונית מוצגות בזה תמונות (7-9) של תבניות הבארות. התמונות צולמו כשלושה שבועות לאחר הביצוע, לפיכך מתחילים לראות סימני התייבשות.



תמונה 7
הליפוזום במטריצה - DMPC



תמונה 8
הליפוזום במטריצה - Cholesterol



תמונה 9
הליפוזום במטריצה - DMPG
תמונה 9: הליפוזום במטריצה - DMPG

שתי הבארות בשורה העליונה בצד ימין בכל תבנית מכילות את הליפוזומים ללא תוספת אבקה. זהו הצבע הכחול המתקבל אחרי הפלמור. שתי הבארות התחתונות בצד

תמיסות החומרים שנבדקו בבארות:

- A - קמח;
- B - קורנפלור;
- C - אבקת אפיייה;
- D - דקסמול;
- E - אבקת סוכר;
- F - נורופן;
- G - CaCO_3 (גיר);
- H - NaHCO_3 (סודה לשתייה).

סוגי הליפידים:

- 1,2-Dimyristoyl-**sn**-glycero-3-phosphocholine (DMPC)
- 1,2-Dimyristoyl-**sn**-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol) (DMPG)
- Cholesterol (bovine wool) (Chl)

הטיפול בתוצאות

בעבור כל חומר תחושב תגובת הצבע הפלואורסצנטית:
Fluorescence Colorimetric Response - %FCR

$$\%FCR = \frac{F_x - F_b}{F_r} \cdot 100$$

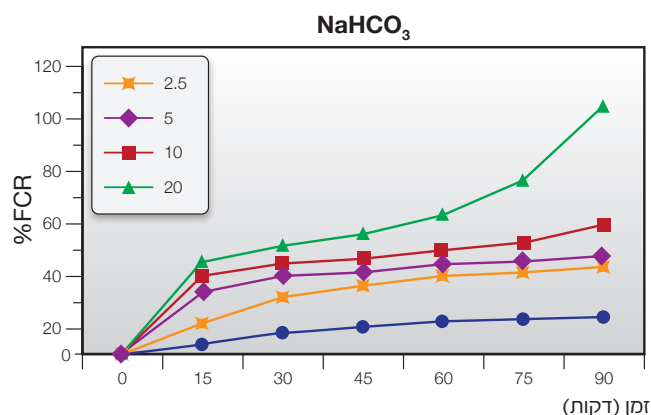
בעזרת הנוסחה:

F_x - פלואורסנציה של בארית x;

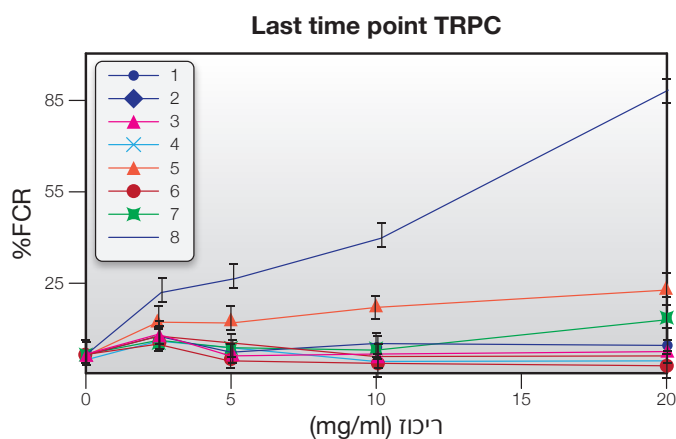
F_b - פלואורסנציה של בארית כחולה ללא טיפול;

F_r - פלואורסנציה של בארית אדומה (בנוכחות NaOH).

תוצאה זו תאופיין עבור כל חומר כתלות בזמן, בריכוז ובסוג הליפיד בליפוזום.



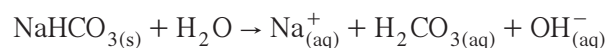
גרף 1: אחוז ה-FCR של סודה לשתייה - NaHCO_3 עם הליפוזום DMPC - כתלות בזמן ובריכוזים שונים



גרף 2: אחוז FCR של החומרים בנקודת הסוף בליפוזום DMPC
 1. קמח; 2. קורנפלור; 3. אבקת אפייה; 4. דקסמול;
 5. אבקת סוכר; 6. נורופן; 7. גיר; 8. סודה לשתייה

כאמור, המטרה הייתה יצירת מטריצת סול-ג'ל עם שלושה סוגים של ליפוזומים (ליפידים שונים) ובדיקת אקטיביות לחומרים: אבקת סוכר, קמח, קורנפלור, אבקת אפייה, גיר, סודה לשתייה, פרצטמול, נורופן. הגרפים של נקודת הזמן הסופית שהתקבלו מהווים את טביעות האצבעות המבוקשות בעבור החומרים המוגדרים.

ימין מכילות תמיסת NaOH לצבע אדום מירבי. השורה התחתונה בכל תמונה מראה את צבע הליפוזומים בנוכחות סודה לשתייה - NaHCO_3 . בתמיסה מימית נוצרים יוני הידרוקסי:



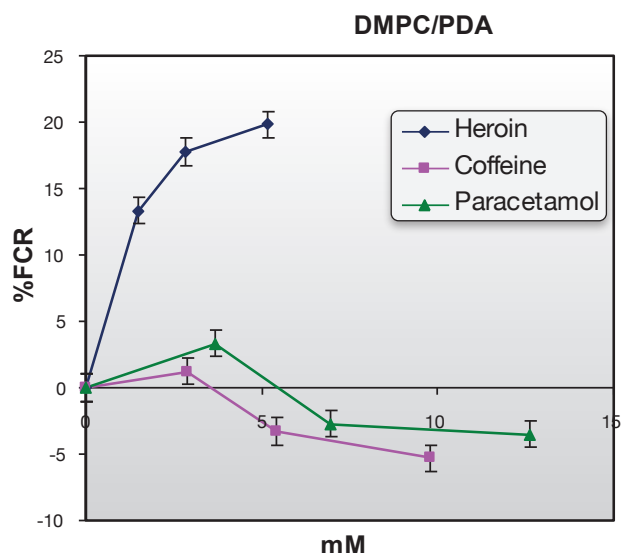
בסביבה בסיסית נסתרות הקבוצות הקרבוקסיליות בקצה הליפוזום: $-\text{COOH}_{(aq)} + \text{OH}^-_{(aq)} \rightarrow \text{COO}^-_{(aq)} + \text{H}_2\text{O}$ שטח פני הוויקולה נטען שלילית, מה שמוביל לשינוי הקונפורמציה ולהופעת תגובת הצבע כמסבר בפרק המבוא. תגובת צבע יפה מופיעה גם בשורה השלישית, שיש בה אבקת אפייה, המכילה גם היא סודה לשתייה. אפשר לראות כי למרות הוספת הבופר למטריצת הג'ל - לנוכחות סביבה בסיסית יש השפעה בולטת. המסיסות במים של האבקות האחרות זניחה ובהתאם לכך תגובת הצבע האפסית. בחרנו להציג את הגרף המתאר את אחוז ה-FCR המחושב לליפוזום במטריצת DMPC כתלות בזמן ובריכוזים שונים, בעבור NaHCO_3 , שהראה כאמור תגובת צבע מובהקת (ראו גרף 1).

אפשר לראות שעוצמת תגובת הצבע עולה עם הזמן בכל הריכוזים, אף שבריכוז הגבוה העלייה משמעותית יותר. מסיבה זו נלקחו לצורך ניתוח התוצאות ערכי %FCR בנקודת הזמן הסופית של המדידות השונות.

בגרף 2 אפשר לראות כי אחוז ה-FCR של סודה לשתייה הוא הגבוה והמשמעותי ביותר, וקצת פחות מכך אבקת אפייה. שאר האבקות אינן נותנות את תגובת הצבע. גם בשני הגרפים הנוספים, עם הליפוזומים כולסטרול ו-DMPG, ערכי %FCR של סודה לשתייה בנקודת הזמן הסופית גבוהים משמעותית לעומת שאר החומרים.

מניתוח התוצאות בשלושת הגרפים עולה כי תגובת הצבע בליפוזום DMPC של חומרי הסם: הרואין, לידוקאין, קוקאין, מתאמפטמין, אמפטמין מראים תגובה חזקה לעומת שאר החמרים (מניטול, קפאין ופרצטמול). מכאן שאפשר לחשוד בנוכחות סם כאשר תופיע תגובת צבע בכל אחד מחומרים אלה.

בבדיקת הרואין בליפוזום DMPC/Cholesterol/PDA (גרף 6) אפשר לראות כי תגובת הצבע של הרואין נמוכה. לכן ליפוזום זה אינו מתאים לזיהוי הרואין. אך בהשוואת תגובת הצבע בין שני הליפוזומים - DMPC, ו-DMPC/Cholesterol - יכולה להיות תכונה מזהה בעיקר להרואין, המגלה שוני מובהק בהתנהגות.

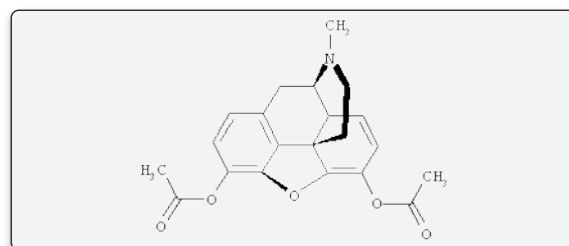


גרף 3: הרואין, קפאין, פרצטמול

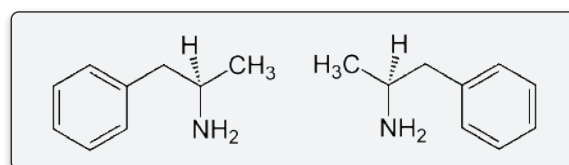
בהשוואת האקטיביות של כל החומרים שנבדקו לזו שנמצאה בעבור הסמים - הרואין, מתאמפטמין, אמפטמין, קוקאין, ניכר הבדל מובהק: תגובת צבע חזקה במערכת המדוברת בעבור סמים ותגובת צבע אפסית בעבור חומרים שאינם סמים.

חלק שני: תוצאות הניסוי שבוצעו בסמים

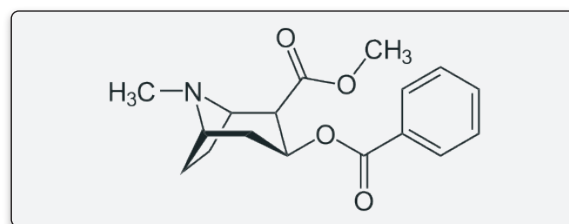
תוצאות אלה חשובות לצורך השוואה לתגובות הצבע של האבקות שנבדקו בניסוי שלנו.



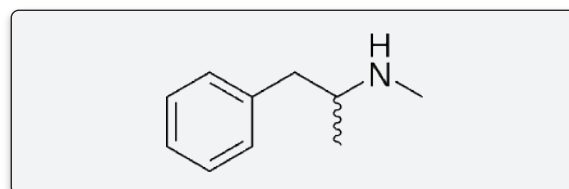
הרואין



אמפטמין (ספיד)



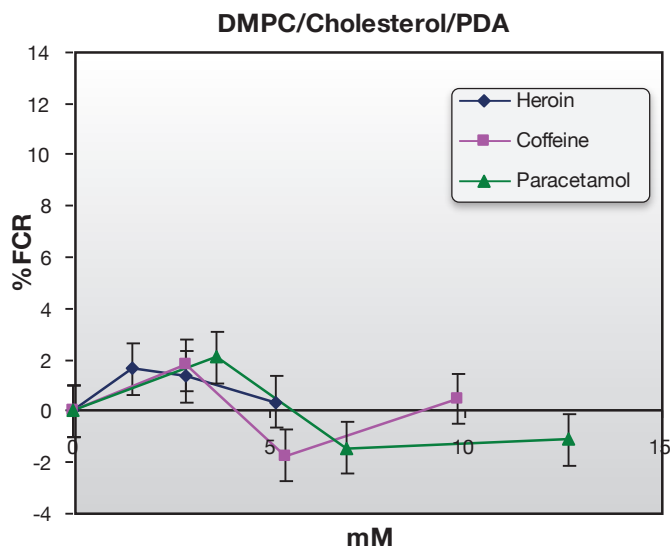
קוקאין



מתאמפטמין (סם ממריץ)

הגרפים שלהלן (3-5) מציגים את אחוזי ה-FCR של הסמים וחומרים דמויי סמים ב-DMPC/PDA כתלות בריכוז (mM). התוצאות לקוחות מהמדידה בנקודת הזמן האחרונה - כלומר בתום שעתיים מהכנסת התמיסה למטריצת הג'ל.

גבוה, יש לפעול על מנת להורידו ל- $\text{pH}=8$ בערך, וזאת על ידי הוספת חומצה. כך אפשר לנטרל את השפעתה של סודה לשתייה על תמונת הצבע.



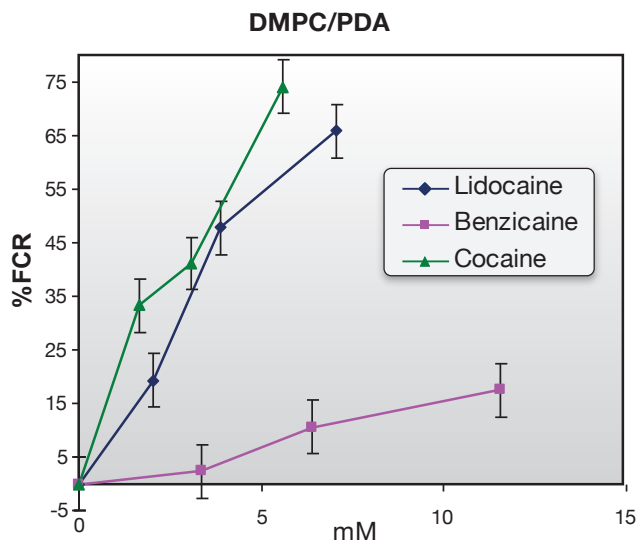
גרף 6: הרואין, קפאין, פרצטמול בליפוזום DMPC/Cholesterol

מסקנות וסיכום

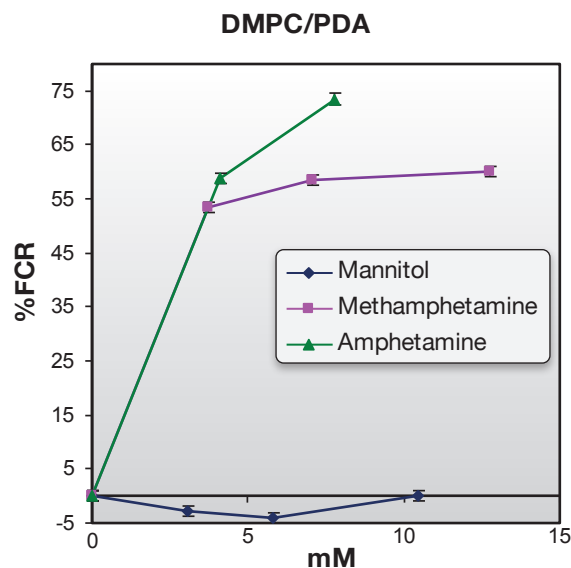
בעבודה זו הראינו כי תגובת הצבע של החומרים קמח, אבקת מרק, פרצטמול, גיר, קורנפלור ואבקת סוכר עם ליפוזומים במטריצת סיליקה ג'ל היא זניחה. בהשוואה לכך, תגובת הצבע של סמים במערכת זו הנה חזקה. לפיכך מערכת ליפוזומים במטריצת סיליקה ג'ל יכולה להיות מערכת מזהה בעבור סמים. גרפים המתארים את עוצמת תגובת הצבע (%FCR) כתלות בריכוז החומר יכולים לשמש "טביעות אצבעות" שבעזרתן אפשר לזהות נוכחות של סם, וגם את סוג הסם ואת כמותו היחסית באבקה שבדקים.

כאמור, למניעת השפעה של חומרים בעלי אופי בסיסי שאינם סם יש לבדוק את רמת ה- pH לפני האנליזה ולנטרל בהתאם לצורך, כפי שעשו לקרות עם החומרים סודה לשתייה או אבקת אפייה.

תוצאות המחקר מחזקות את התאמתה של מערכת ליפוזומים במטריצת סיליקה ג'ל לזיהוי סמים באבקות.

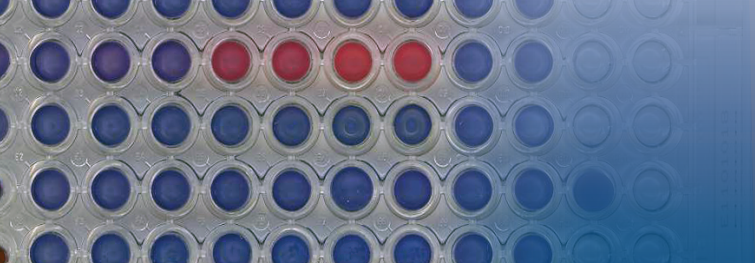


גרף 4: לידוקאין, בנזוקאין, קוקאין



גרף 5: מניטול, מתאמפטמין, אמפטמין

כפי שהוצג בחלק השני של הדיון, הסמים מגלים תגובת צבע משמעותית, בעוד האבקות האחרות לא. תגובת הצבע החזקה של סודה לשתייה נובעת מהאופי הבסיסי של החומר. לפיכך לפני בדיקה לגילוי סמים יש לבדוק את רמת ה- pH . אם הוא



nuclear membranes: Adsorption, lipid mixing and lysis of the vesicles, BBA. 903: 123-131(1987).

5. H. Ringsdorf, B. Schlarb and J. Venzmer, Molecular architecture and function of polymeric oriented systems: Models for the study of organization, surface recognition, and dynamics of biomembranes, Angew Chem Int Edn Engl. 27: 113-158(1988).
6. J. J. Pan and D. Charych, Molecular recognition and colorimetric detection of cholera toxin by polymerized liposomes, Langmuir. 13: 1365-1367(1997).
7. M.L. Ferrer, F. del Monte and D. Levy, A novel and simple alcohol-free Sol-Gel route for encapsulation of labile Proteins, Chemistry of materials volume 14 No. 9: 3619-3621(2002).
8. Z. Orynbayeva, S. Kolusheva, E. Livneh, A. Lichtenshtein, I. Nathan, R. Yelinek, Visualization of membrane processes in living cells by surface-attached chromatic polymer patches, Angew. Chem. Intl. Ed. 44: 1092-1096(2005).

נוסף על כך, נמצא שאי אפשר לזהות הרואין על ידי וזיקולה המבוססת על כולסטרול. לפיכך אם מכינים מערכת שתהיה זמינה לשימוש מייד, רצוי להכין וזיקולות המבוססות על הליפוזומים DMPC-IDMPG.

ייתכן כי בהמשך המחקר אפשר יהיה לבדוק התנהגות של תערובות סמים עם החומרים שבדקנו (למשל הרואין בקמח) בעזרת תגובת הצבע במערכת המתוארת, ולראות אם אכן מופיעה תגובת הצבע והחל מאיזה ריכוז אפשר לזהותה. נוסף על כך, אנו ממליצים לנסות ולהכין מערכות עם סמים נעלמים, לבצע את הבדיקה, ולוודא שאמנם מצליחים לזהותם בשיטה המתוארת בעבודה זו.

מקורות

1. C. Krittanai and S. Panyim, Structural design and characterization of a channel-forming peptide, J Biochem Mol Biol. 37: 460-465(2004).
2. O. S. Belokoneva, H. Satake, E. L. Maltseva, N. P. Palmina, E. Villegas, T. Nakajima and G. Corzo, Pore formation of phospholipid membranes by the action of two hemolytic arachnid peptides of different size, BBA Biomemb. 1664: 182-188(2004).
3. B. Aricha, I. Fishov, Z. Cohen, N. Sikron, S. Pesakhov, I. Khozin-Goldberg, R. Dagan and N. Porat, Differences in membrane fluidity and fatty acid composition between phenotypic variants of streptococcus pneumonia, J Bacter. 186: 4638-4644(2004).
4. R. Lawaczeck, P. K. Nandi and C. Nicolau, Interaction of negatively charged liposomes with