ACTA UNIVERSITATIS LODZIENSIS

FOLIA BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA 10, 1994

Maria Bryszewska, Bartłomiej Pałecz

KALORYMETRIA SKANINGOWA W BADANIU PRZEJŚĆ FAZOWYCH FOSFOLIPIDÓW I BIAŁEK

Artykuł jest przeglądem wyników dotyczących przejść fazowych lipidów i białek, uzyskanych techniką różnico wej kalorymetrii skaningowej. Zawiera on opis samej metody, jak również najistotniejszych danych, ważnych dla zrozumienia organizacji struktur biologicznych.

PODSTAWY RÓŻNICOWEJ KALORYMETRII SKANINGOWEJ

Różnicowa kalorymetria skaningowa jest stosunkowo prostą, bezpośrednią, nieinwazyjną techniką fizyczną, która pozwala mierzyć parametry termo-

dynamiczne związane z wywołanymi termicznie przejściami fazowymi w układach modelowych i biologicznych. W kalorymetrze skaningowym (rys. 1) próbka i materiał odnośnikowy, który nie podlega przejściu fazowemu w badanym zakresie temperatur, są ogrzewane jednocześnie z identycznymi, wcześniej założonymi prędkościami. Zazwyczaj materiałem odnośnikowym jest woda lub bufor, w którym rozpuszczona jest badana substancja.

Rys. 1. Schemat ideowy różnicowego kalorymetru skaningowego

a – komora pomiarowa, b – komora odnośnikowa, c i d – układy grzejne komory pomiarowej i odnośnikowej, e i f – osłony adiabatyczne (wewnętrzna i zewnętrzna), g i h – układy grzejne osłon adiabatycznych, i, j i k – termopary



Ponieważ początkowo do obu komór doprowadza się identyczną ilość ciepła, to temperatura zarówno próbki, jak i odnośnika rośnie liniowo w czasie, a różnica temperatur pomiędzy nimi jest dokładnie równa zeru. W chwili, gdy próbka zacznie doznawać przejścia fazowego, pewna część ciepła dostarczanego jest pochłaniana lub uwalniana, w wyniku czego powstaje różnica temperatur pomiędzy próbką a odnośnikiem. Układ sterujący kalorymetru rejestruje tę różnicę temperatur za pomocą termopar i dostarcza więcej, bądź mniej ciepła, do komory pomiarowej, aby utrzymać zerową różnicę temperatur pomiędzy komorami. Podłączony na wyjściu kalorymetru rejestrator lub komputer rejestruje więc nadmiarową pojemność cieplną (ciepło właściwe) badanej próbki w funkcji temperatury. Rejestrowany termogram przedstawia funkcję $\frac{dH}{dt} = f(T)$, w rezultacie powierzchnia piku wyznacza wzrost (spadek) entalpii przemiany. Jeśli w badanym zakresie temperatur próbka nie podlega przejściu fazowemu, to rejestrowana jest jedynie linia prosta, równoległa do osi temperatur, wskazując na zerowe różnicowe ciepło

Zgodnie z konwencją przyjęto, że przejścia endotermiczne charakteryzują się dodatnim odchyleniem od linii podstawowej, a egzotermiczne – ujemnym. Po zakończeniu przejścia fazowego, pisak rejestratora powraca do linii podstawowej.



Rys. 2. Termogram typowego przejścia fazowego

właściwe.

Następny rysunek (rys. 2) przedstawia typowy termogram dla prostego, dwustanowego endotermicznego przejścia fazowego, takiego jakiego doznają np. czyste, jednoskładnikowe fosfolipidy przy przejściu z fazy żelu do fazy ciekłokrystalicznej. Z termogramu można określić kilka ważnych parametrów termodynamicznych charakteryzujących to przejście. Przede wszystkim temperaturę przejścia fazowego, oznaczoną na rys. 2 jako T_m . Jest to temperatura, dla której różnicowe ciepło właściwe pochłonięte przez układ osiąga maksimum. Dla krzywej symetrycznej, T_m przedstawia temperaturę, dla której przejście ze stanu niskotemperaturowego (żelu) do wysokotemperaturowego (ciekłego kryształu) jest w połowie dokonane. Jednakże fosfolipidowe błony modelowe jedno- i wieloskładnikowe mają często asymetryczne termogramy i wtedy T_m i temperatura środka przejścia fazowego się nie pokrywają.

Z termogramu można wnioskować o kooperatywności przejścia fazowego, która jest ściśle związana z ostrością krzywej absorpcji ciepła. Tę ostrość często wyraża się wartością przedziału temperatur w połowie wysokości maksimum absorpcji i oznacza $\Delta T_{1/2}$ lub różnicą temperatur pomiędzy początkiem wystąpienia przejścia fazowego (T_s) i jego zakończeniem (T_L), czyli $\Delta T = T_L - T_s \cdot \Delta T_{1/2}$ może przyjmować wartości od 0,1°C dla pojedynczego, bardzo czystego fosfolipidu do 10–15°C dla mieszaniny różnych lipidów.

Kooperatywność przejścia fazowego jest również obliczana jako stosunek zmiany entalpii van't Hoffa dlo zmiany entalpii określonej kalorymetrycznie: $\Delta H_{v.H}/\Delta H_{cal}$. Związek między entalpią przemiany wyznaczoną kalorymetrycznie a entalpią van't Hoffa podaje następujące równanie [2]:

$$\Delta \mathbf{H}_{v \cdot H} = 4 \mathbf{R} \mathbf{T}_m^2 \frac{\Delta \mathbf{c}_p^{max}}{\Delta \mathbf{H}_{cal}},$$

gdzie:

R – stała gazowa,

 T_m – temperatura przemiany,

 Δc_p^{max} – molowa nadmiarowa pojemność cieplna dla T równego T_m , ΔH_{cal} – wartość molowej entalpii przemiany.

Dla przejść wysoce kooperatywnych entalpia van't Hoffa jest dużo większa od ΔH_{cal} , a więc ten stosunek jest większy od jedności. Dla przejścia całkowicie niekooperatywnego przyjmuje wartość równą 1.

Aby otrzymać wartościowe parametry termodynamiczne stosując kalorymetrię skaningową, należy zadbać o to, aby układ był w stanie równowagi termodynamicznej podczas całego czasu trwania skaningu. Przede wszstkim należy kalorymetr idealnie zrównoważyć przed rozpoczęciem pomiarów. Jest to szczególnie ważne dla próbek przygotowywanych w wyższych temperaturach w celu uzyskania dobrego ich wymieszania. Należy je wolno ochłodzić poniżej temperatury przejścia fazowego i pozostawić w tej temperaturze na wiele nieraz godzin. Innym problemem jest szybkość dokonujących się przejść fazowych, która dla mieszanin lipidów, i w ogóle układów wieloskładnikowych, jest często całkiem nieznana. Należy więc tak dobrać szybkość ogrzewania próbki, aby była ona mniejsza od tempa zachodzącego przejścia fazowego, co w nowoczesnych kalorymetrach jest osiągalne ze względu na możliwości bardzo wolnego skaningu (0,01°C/min).

Należy stwierdzić, że prawidłowo zastosowana kalorymetria skaningowa jest jedną z najpotężniejszych technik rutynowych badań termodynamicznych zachowania się lipidów i białek w błonach modelowych i biologicznych.

Nowoczesne kalorymetry o wysokiej czułości wymagają względnie rozcieńczonych próbek materiałów badanych, co umożliwia dokładną kontrolę pH i składu jonowego fazy wodnej. W przeciwieństwie do innych technik stosowanych do badania termotropowych właściwości białek i lipidów, DSC umożliwia obserwację całego, nawet szerokiego przejścia fazowego, włączając w to temperatury wystąpienia i zakończenia procesu oraz ogólnego kształtu przejścia. Co więcej, w przeciwieństwie do innych technik spektroskopowych, DSC nie wymaga wprowadzania żadnych obcych badanemu układowi cząsteczek. Jest to szczególnie istotne, ponieważ pojawia się coraz więcej doniesień, że wprowadzane sondy spinowe lub fluorescencyjne mogą lokować się na granicy faz, jak również powodować lokalne zaburzenia otoczenia. Ponadto, technika ta pozwala na bezpośredni pomiar parametrów termodynamicznych układu.

ZASTOSOWANIE DSC DO BADANIA TERMOTROPOWYCH WŁAŚCIWOŚCI LIPIDÓW

Większość eksperymentów DSC wykonano na fosfolipidach, które są najpowszechniejszą klasą lipidów w błonach biologicznych. Fosfolipidy wykazują termotropowy mezomorfizm, tzn. doznają przejść fazowych pod wpływem temperatury. Charakteryzują się również mezomorfizmem liotropowym, tzn. stan ich ulega zmianie pod wpływem wody.

Rysunek 3 pokazuje termogramy otrzymane dla fosfatydylocholiny distearynowej (DSPC) wraz ze wzrostem zawartości wody w układzie [3]. Temperatura przejścia fazowego kryształ – ciekły kryształ maleje wraz ze wzrostem zawartości wody, aż do pewnego jej stężenia. Dodanie nadmiaru wody nie prowadzi do dalszych zmian. Rośnie jedynie maksimum związane z topnieniem wody w 0°C. W obecności nadmiaru wody lipidy są zorganizowane w postaci dwuwarstw oddzielonych od siebie warstwami wody. Znaczna jej część jest związana z głowami fosfolipidów – ta woda "związana" różni się





dość znacznie od wody wolnej, m. in. nie zamarza w 0°C. Całkowita ilość wody związanej zależy od struktury chemicznej głów fosfolipidów i ich wypadkowego ładunku elektrycznego. Ilość wody związanej zależy od stanu fazowego lipidów - jest większa dla lipidów powyżej ich przejścia fazowego, gdy cząsteczki w dwuwarstwie są w stanie ciekłokrystalicznym [4].

Błony biologiczne charakteryzują się dużą zawartością wody, zajmiemy się więc teraz tymi parametrami, które mają wpływ na przejścia fazowe fosfolipidów w warunkach dużej zawartości wody.

Rysunek 4 przedstawia termogramy serii fosfatydyloetanoloamin (PE), posiadających nasycone łańcuchy acylowe różniące się tylko długością [5]. Wzrost długości łańcucha powoduje wzrost temperatury przejścia fazowego T" i entalpii przejścia ΔH_{cal} . Znając ΔH_{cal} i T_m można wyznaczyć $\Delta S = \frac{\Delta H}{T}$,



Rys. 4. Termogramy fosfatydyloetanoloamin (PE) o różnych długościach łańcucha [5]

ponieważ dla $T_m \Delta H = 0$. Obliczone w ten sposób zmiany entropii, przypadające na każdą dodatkową grupę CH_2 łańcucha, są znacznie niższe niż zmiany entropii dla topnienia czystych węglowodorów lub kwasów tłuszczowych, wskazując na to, że dwuwarstwa ma nadal wysoki stopień uporządkowania w stanie ciekłokrystalicznym. Tak więc faza ta różni się w sposób zdecydowany od fazy izotropowej.

Rysunek 5 pokazuje charakter uporządkowania cząsteczek w stanie krystalicznym, ciekłokrystalicznym i izotropowym [6]. Stan krystaliczny charakteryzuje się uporządkowaniem zarówno bliskiego (d), jak i dalekiego (δ) zasięgu. Ciekły kryształ posiada jedynie uporządkowanie dalekiego zasięgu (δ), a ciecz izotropowa pozbawiona jest obu rodzajów uporządkowania.



Rys. 5. Uporządkowanie cząsteczek w stanie a) krystalicznym, b) ciekłokrystalicznym i c) izotropowym [6]

Temperatura głównego przejścia fazowego fosfolipidów zależy również od rodzaju łańcuchów tłuszczowych, liczby nienasyconych wiązań, pH i składu jonowego fazy wodnej [7]. Przejście żel – ciekły kryształ dla czystego jednoskładnikowego fosolipidu jest ostre, symetryczne i jest procesem pierwszego rzędu.

W błonach biologicznych ze względu na wielką różnorodność fosfolipidów, przejścia fazowe są zazwyczaj szerokie (o małej kooperatywności) i często asymetryczne.

ODWRÓCONA HEKSAGONALNA (HII)



Rys. 6. Ułożenie cząsteczek fosfolipidów w odwróconej fazie heksagonalnej H_{II}

Fosfatydyloetanoloaminy oprócz głównego przejścia fazowego mogą również doznawać przejścia z fazy lamelarnej ciekłokrystalicznej L_{α} do odwróconej fazy heksagonalnej H_{II} [8]. W odwróconej fazie heksagonalnej lipidy organizują się w heksagonalnie upakowane cylindry, w których ich polarne części są skierowane do wewnątrz tworząc kanały wodne (2 nm), a hydrofobowe na zewnątrz (rys. 6).

Rysunek 7 pokazuje typowy termogram dla fosfatydyloetanoloaminy dielaidynowej, na którym widoczne jest główne przejście fazowe żel – ciekły kryształ oraz przejście heksagonalne [9]. Przejście H_{II} jest w fosfatydyloetano-



Rys. 7. Termogram dla fosfatydyloetanoloaminy dielaidynowej (DEPE) [9]

loaminach bardzo czułe na działanie wielu czynników. Im większy stopień nienasycenia i długość łańcuchów acylowych, tym niższa temperatura tego przejścia.

Dehydratacja powoduje wzrost temperatury przejścia żel – ciekły kryształ, a obniżenie temperatury przejścia H_{II} [10]. Podobny efekt wywierają wysokie stężenia soli, choć w tym wypadku zależności są bardziej złożone [11]. Obniżenie pH prowadzi do obniżenia temperatury przejścia H_{II} , natomiast wysokie pH, na skutek deprotonacji grupy aminowej fosfatydyloetanoloaminy, działa stabilizująco na dwuwarstwę. Jeśli wziąć pod uwagę te wszystkie czynniki to widać, że w fosfatydyloetanoloaminach struktury heksagonalne mogą wystąpić w warunkach fizjologicznych.

Tabela 1

Rodzaj lipidu	Temperatura [°C]	Uwagi
Lipidy syntetyczne		
nasycone	and the second se	
18:0/18:0-PE	105	1 M NaCl
nienasycone		
$16:1_{e}/16:1_{e}-PE$	~0	
$18:1_{e}/18:1_{e}-PE$	10	A A A A A A A A A A A A A A A A A A A
18:1,/18:1,-PE	55,60-63	
20:4/20:4-PE	<-30	
Lipidy naturalne	A Distantia and a second	
E. coli	50-60	
retikulum endoplazmatyczne	7	wątroba szczura
retikulum sarkoplazmatyczne	-10	mięsień królika
błona erytrocytarna	8	człowiek

Temperatury przejścia dwuwarstwa-faza heksagonalna w fosfatydyloetanoloaminach [12]

Tabela 1 przedstawia temperatury przejścia faza lamelarna – faza heksagonalna dla kilku fosfatydyloetanoloamin syntetycznych i naturalnych [12].

W przeciwieństwie do fosfatydyloetanoloamin, fosfatydylocholiny (PC) nie wykazują tendencji do tworzenia struktur heksagonalnych. Jednakże ich zachowanie termotropowe w niskich temperaturach jest bardziej złożone niż fosfatydyloetanoloamin. Oprócz głównego przejścia fazowego żel – ciekły kryształ, doznają one dwóch przejść w lamelarnym stanie żelu: tzw. subprzejścia i przedprzejścia [13].

Rysunek 8 przedstawia przejścia fazowe w fosfatydylocholinach i ułożenie cząsteczek w poszczególnych fazach.



L_ ("krystaliczna")

subprzejście

חחחחח חחחחחחח

LB' (faza "żelu")

przedprzejście



<u>እ</u>እእእእእእእእእእእእእእእእ ϒϒϒϒϒϒϒϒϒϒϒϒ

L_α (ciekły kryształ)

Rys. 8. Przejścia fazowe w fosfatydylocholinach

Subprzejście charakteryzuje się małą kooperatywnością i jest stosunkowo wysokoenergetyczne. Jest to przejście z częściowo odwodnionej fazy lamelarnej, krystalicznej (L.), w której łańcuchy są bardzo uporządkowane i ściśle upakowane, do bardziej uwodnionej fazy żelu (Lg), w której łańcuchy nadal są rozciągnięte, tworzą kąt z normalną do powierzchni błony i upakowane są mniej ściśle.

Przedprzejście jest bardziej kooperatywne, lecz mniej energetyczne. Jest to przejście, w którym faza żelu (L_{β^2}) przechodzi bez wzrostu hydratacji głów polarnych do innej fazy lamelarnej (P_{β^2}), w której łańcuchy pozostają rozciągnięte i nachylone, ale powierzchnia błony nie jest dłużej płaska, lecz wykazuje pofałdowania o dość dużej periodyczności.

Wreszcie faza żelu P_{β} przechodzi w fazę ciekłokrystaliczną, w której łańcuchy nie są uporządkowane, ale zachowują średnie w czasie położenia prostopadłe do powierzchni błony. W fazie ciekłokrystalicznej lipidy mogą podlegać szybkiej dyfuzji w płaszczyźnie dwuwarstwy, rotować, a w łańcuchach węglowodorowych następują przejścia od konformacji trans do gauche. Przykład termogramu dla DPPC przedstawia rys. 9.



Rys. 9. Termogram fosfatydylocholiny dipalmitynowej (DPPC)

Parametry termodynamiczne ΔH , ΔS i T_m dla głównego przejścia fosfatydylocholin są, podobnie jak dla fosfatydyloetanoloamin, zależne od długości łańcuchów. Ogólnie można jednak stwierdzić, że temperatury T_m są dla PC niższe niż dla PE, a entalpie przejścia nieco wyższe, gdy porównuje się związki o tych samych długościach łańcucha. Jest to prawdopodobnie wynikiem silniejszego oddziaływania polarnych głów w przypadku fosfatydyloetanoloamin. Za ten efekt mogą być odpowiedzialne wiązania wodorowe pomiędzy dodatnio naładowanymi grupami $-NH_3^+$ i sąsiadującymi ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi PE (rys. 10) [14]. Wartości ΔH przypadające na grupę $-CH_2$ są w przypadku PE i PC podobne i wynoszą odpowiednio 0,50 cal/mol i 0,54 cal/mol, a $\Delta S/CH_2$ odpowiednio: 1,31 i 1,37 cal/mol K [5]. Mniejsza wartość $\Delta S/CH_2$ dla PE może być dowodem na to, że w fazie ciekłokrystalicznej PE są ciaśniej upakowane na skutek istnienia opisanych wyżej oddziaływań.



Rys. 10. Wiązania wodorowe pomiędzy cząsteczkami fosfatydyloetanoloamin

Należy podkreślić, że fosfolipidy naturalne, występujące w błonach, mają dwa różne łańcuchy kwasów tłuszczowych o różnym stopniu nasycenia i długości. Zazwyczaj przy węglu 2 szkieletu glicerolu występuje łańcuch z podwójnymi wiązaniami. Temperatury i entalpie przejścia dla dwu izomerów fosfolipidu o łańcuchach mieszanych dość znacznie różnią się od siebie.

WPŁYW CHOLESTEROLU NA PRZEJŚCIA FAZOWE FOSFOLIPIDÓW

Ze względu na powszechną obecność w błonach wpływ cholesterolu na przejścia fazowe fosfolipidów był intensywnie badany. Stwierdzono, że cholesterol powoduje zanik przedprzejścia i całkowity zanik głównego przejścia fazowego w DPPC, gdy jego zawartość osiąga 50 mol% [15] (rys. 11).

Cholesterol ma podobny wpływ na przejścia fazowe różnych fosfolipidów: sfingomielin, fosfatydyloetanoloamin, kwasów fosfatydowych i fosfatydylogliceroli, chociaż kształt uzyskiwanych endoterm dla pośrednich stężeń cholesterolu zależy od rodzaju polarnej głowy lipidowej i długości łańcuchów tłuszczowych [16]. W przypadku fosfatydyloetanoloamin cholesterol modyfi-





kuje również przejście fazowe ciekły kryształ – faza heksagonalna obniżając jego temperaturę (dla niskich stosunków sterolu) [17].

Efekty wywołane przez cholesterol wynikają z jego budowy, a w szczególności ze sztywności jego pierścieni. W fazie żelu działa on jako "separator" (*spacer* – ang.) w dwuwarstwach, separując głowy lipidowe i redukując oddziaływania w przypadku fosfatydyloetanoloamin i kwasów fosfatydowych. Zmniejsza oddziaływania van der Waalsa między łańcuchami, powodując obniżenie entalpii przejścia.

W stanie ciekłokrystalicznym cholesterol powoduje natomiast zmniejszenie średniej powierzchni przypadającej na jeden lipid w pobliżu powierzchni błony. Jest to tzw. efekt kondensujący cholesterolu [18]. Ogranicza także izomeryzację konformacji trans – gauche łańcuchów, szczególnie w ich środkowych partiach, w pobliżu układu pierścieniowego. Przeprowadza więc lipidy w fazę pośrednią między ciekłym kryształem a żelem. Rysunek 12 przedstawia budowę cząsteczki cholesterolu i jej ułożenie w dwuwarstwie fosfolipidowej.



Rys. 12. Budowa cząsteczki cholesterolu i jej położenie w dwuwarstwie fosfolipidowej

TERMOTROPOWE WŁAŚCIWOŚCI BIAŁEK

Gdy białka w roztworze są podgrzewane, zachodzą w nich termicznie indukowane zmiany w konformacji od struktur wysoce zorganizowanych, np. globularnych, do stosunkowo niezorganizowanych, rozwiniętych, typu kłębka statystycznego. Następuje przy tym utrata ich funkcji fizjologicznych.

Rozwijanie się białek uważane jest za wewnątrzcząsteczkowy proces topnienia, denaturacji. Denaturacja białek może być więc uważana, przynajmniej w pierwszym przybliżeniu, za termotropowe przejście fazowe.

Stosując DSC można z otrzymanych parametrów termodynamicznych określić stabilność natywnego i zdenaturowanego białka w różnych warunkach eksperymentalnych.

Termogramy białek cytoplazmatycznych i błonowych wykazują pojedyncze, szerokie przejście o dużej energii. Temperatura tego przejścia, entalpia i entropia zależą silnie od pH, siły jonowej i składu środowiska wodnego [19].

Stwierdzono, że dla konkretnego białka warunki eksperymentalne, które zwiększają jego stabilność, przesuwają T_m w stronę wyższych temperatur, zwiększając wielkość entalpii przejścia i jego kooperatywność. Dodatkowo entalpie i entropie denaturacji różnych białek cytoplazmatycznych i błonowych są dość podobne, sugerując, że proces termicznej denaturacji białek jest dla wszystkich białek termodynamicznie zbliżony.

Denaturacja termiczna większości białek jest procesem wysoce niekooperatywnym, co oznacza, że oddziaływania pomiędzy cząsteczkami białka są



Rys. 13. Termogram hemoglobiny [21]

Maria Bryszewska, Bartłomiej Pałecz

niewielkie, w przeciwieństwie do lipidów. Jednakże poszczególne cząsteczki białka zachowują się jak pojedyncze jednostki kooperatywne lub, w przypadku białek wykazujących wielokrotne endotermy, jak zespół stosunkowo niezależnych jednostek kooperatywnych.

Rysunek 13 pokazuje, na przykładzie hemoglobiny, typowy termogram otrzymany dla białek.

Należy dodać, że w przeciwieństwie do lipidów, termiczna denaturacja białek jest procesem nieodwracalnym. Przejście zachodzi w wyższych, niż dla lipidów naturalnych, temperaturach (typowo 50–80°C).



Rys. 14. Termogram erytrocytów człowieka (linia ciągła) i wyizolowanych cieni erytrocytarnych (linia przerywana) [21]

Za pomocą różnicowej kalorymetrii skaningowej zbadano również przejścia fazowe białek błony erytrocytarnej [20, 21]. Rysunek 14 przedstawia uzyskany termogram z widocznymi trzema endotermami. Za przejście A odpowiada denaturacja spektryny, przejście B jest związane z denaturacją cytoplazmatycznej części białka pasma 3 oraz pasma 2.1, 4.1 i 4.2, natomiast transbłonowa część białka pasma 3 denaturuje podczas przejścia C.

Należy pamiętać, że różnicowa kalorymetria skaningowa nie dostarcza bezpośredniej informacji o strukturze molekularnej czy dynamice badanego układu. Jednakże w połączeniu z innymi technikami, takimi jak dyfrakacja promieni Roentgena czy neutronów, magnetyczny rezonans jądrowy (NMR), spektroskopia Ramana czy fluorescencyjna, daje możliwość wglądu w procesy termiczne przebiegające w układach błonowych na poziomie molekularnym.

68

LITERATURA

- Privalov P., Plotnikov V. V., Filimonov V. V. (1975), J. Chem. Thermodynam., 7, 41-62.
- [2] Hinz H-J. (1986), Meth. Enzymol., 130, 59-79.
- [3] Chapman D. (1968), [w:] Biological Membranes, ed. D. Chapman, 1, 165, Ac. Press, N.Y.
- [4] Cevc G., Marsh D. (1985), Biophys. J., 47, 21-38.
- [5] Blume A. (1988), [w:] Physical Properties of Biological Membranes and their Functional Implications, ed. C. Hidalgo, Plenum Press, N.Y., 77-121.
- [6] Friberg S. (1977), Naturwissenschaften, 64, 612-618.
- [7] Jacobson K., Papahadjopoulos D. (1975), Biochemistry, 14, 152-163.
- [8] Cullis P. R., Hope M. J. (1988), [w:] Molecular Mechanisms of Membrane Fusion, eds S. W. Hui, E. Mayhew, Plenum Press, N.Y., 37-51.
- [9] Epand R. (1985), Chem. Phys. Lipids, 36, 387-393.
- [10] Cullis P. R., De Kruijff B. (1979), Biochim. Biophys. Acta, 559, 399-420.
- [11] Epand R., Bryszewska M. (1988), Biochemistry, 27, 8776-8779.
- [12] Verkleij A. J. (1984), Biochim. Biophys. Acta, 779, 43-63.
- [13] Schwarz F. P. (1986), Thermochim. Acta, 107, 37-49.
- [14] Eibl H., Woolley P. (1979), Biophys. Chem., 10, 261-283.
- [15] Blume A., Hillmann M. (1986), Eur. Biophys. J., 13, 343-368.
- [16] Estep T. N., Mountcastle D. B., Biltonen R. L., Thompson T. E. (1978), Biochemistry, 17, 1984–1989.
- [17] Epand R., Bottega R. (1987), Biochemistry, 26, 1820-1825.
- [18] Demel R. A., De Kruijff B. (1976), Biochim. Biophys. Acta, 457, 109-128.
- [19] Privalov P. L. (1980), [w:] Biological Calorimetry, ed, A. E. Beezer, Ac. Press, N.Y., 413-451.
- [20] Jackson W. M., Kostyla J., Nordin J. H., Brandts J. F. (1973), Biochemistry, 12, 3662–3667.
- [21] Lepock J. R., Frey H. E., Bayne H., Markus J. (1989), Biochim. Biophys. Acta, 980, 191-201.

Wpłynęło do Redakcji Folii 20.07.1992 r. Zakład Biofizyki Medycznej Katedra Chemii Fizycznej Uniwersytet Łódzki

Maria Bryszewska, Bartlomiej Palecz

DIFFERENTIAL SCANNING CALORIMETRY IN STUDIES OF PHASE TRANSITIONS IN PHOSPHOLIPIDS AND PROTEINS

There is a brief review of the results on the thermotropic phase transitions in lipids and proteins obtained by the differential scanning calorimetry. The article gives the description of the technique itself as well as brings the most significant calorimetric data important for understanding of the biological structures organization.