

Eukariotyczne i prokariotyczne biomimetyczne błony komórkowe: struktura i jej związek z warunkami środowiskowym

Błony komórkowe odgrywają kluczową rolę jako podstawowy element tworzący komórki różnych organizmów; od prostych bakterii po bardziej skomplikowane rośliny i ssaki. Głównym celem błon lipidowych jest utrzymanie integralności strukturalnej i funkcjonalności komórki, co osiągnięte jest poprzez zapewnienie stabilnego stanu homeostazy we wnętrzu komórki, niezależnie od zmian w przestrzeni wewnątrzkomórkowej czy w otaczającym środowisku. Błony komórkowe nie są jednorodnymi matrycami złożonymi z równomiernie rozmieszczonych lipidów i białek, lecz charakteryzują się obecnością lokalnych heterogeniczności, które zbudowane są z nasyconych lipidów, cholesterolu i bardzo często wzbogacone w białka błonowe. Idea lateralnej segregacji składników błony, napędzanej przez proces separacji fazowej, jest szeroko przyjętą koncepcją w naszym obecnym rozumieniu organizacji strukturalnej błony, zamkniętą w ramach powszechnie akceptowanego modelu „płynnej mozaiki” błony komórkowej. Domeny lipidowe, złożone z nasyconych lipidów i szeregu pochodnych steroli, są obecne w błonach stosunkowo różnych organizmów, takich jak eukarionty, prokarioty, drożdże czy rośliny. Te wysoce uporządkowane regiony odgrywają kluczową rolę w ustrukturyzowaniu określonych elementów błonowych, w tym białek, zapewniając ich prawidłowe zwijanie w określoną konformację. Ponadto są zaangażowane w różnorodne procesy, takie jak reakcje enzymatyczne, przyłączanie i wnikanie wirusów lub przenikanie toksyn bakteryjnych do wnętrza komórki. Niekwestionowane znaczenie tratw lipidowych w utrzymaniu prawidłowej aktywności komórek doprowadziło do szeregu badań nad odtworzeniem lokalnych heterogeniczności błon w modelowych układach membranowych, określeniem czynników modulujących separację fazową, a wreszcie nad zdefiniowaniem podstawowych wymagań, które muszą być spełnione, aby skutecznie manipulować kształtem, rozmiarem i gęstością domen lipidowych. W poniższej rozprawie starałam się wyjaśnić skomplikowane mechanizmy leżące u podstaw separacji fazowej i powstawania lokalnych heterogeniczności w modelowych prokariotycznych i eukariotycznych błonach komórkowych. Przygotowanie biomimetycznych błon komórkowych wykazujących separację fazową w warunkach zmiennego pH środowiska ujawniło, że poprzez zmianę stężenia jonów H^+ oraz OH^- można precyzyjnie kontrolować rozmiar i gęstość domen uporządkowanej fazy (z ang. *liquid disordered*, L_o). Rozmiar domen wzrastał wraz ze wzrostem pH buforu w całym badanym zakresie 1,7-9,0. Co ważne, błony lipidowe wykazywały wysoką mobilność lateralną lipidów niezależnie od zmian pH buforu, co oznacza, że strukturalna reorganizacja błony nie miała żadnego wpływu na właściwości dynamiczne tworzących ją elementów. Znając wpływ składu jonowego buforu nawadniającego dwuwarstwę lipidową na jej lateralną organizację, skupiłam swoją uwagę na badaniu samej warstwy hydratacyjnej i jej wpływu na właściwości strukturalne modelowych błon komórkowych. Obniżenie stanu nawodnienia błony spowodowało zwiększone mieszanie się lipidów charakterystycznych dla fazy nieuporządkowanej (z ang. *liquid disordered*, L_d), z tymi, które tworzą fazę uporządkowaną. Pomiary przy pomocy mikroskopu sił atomowych (z ang. *atomic force microscopy*, AFM) wykazały natomiast, że efekt wzajemnego przenikania się faz był związany z 2-krotnym zmniejszeniem niedopasowania hydrofobowego między lipidami z fazy L_d i L_o , któremu towarzyszył 3-krotny spadek napięcia na granicy faz dla w pełni wysuszonej membrany. Wreszcie, niniejsza rozprawa koncentruje się również na organizacji strukturalnej błon występujących u bakterii, które, choć są stosunkowo prostymi organizmami, rozwinęły bardzo skomplikowane otoczki komórkowe. Skupiając się w szczególności na zmianie składu lipidów błonowych, podjęłam się wyzwania odtworzenia separacji fazowej, replikacji domen błonowych i ich strukturalnej charakteryzacji. Podsumowując, przedstawione tutaj badania rzucają nowe światło na zrozumienie formowania się lokalnych heterogeniczności w błonach, dostarczają nam nowych metod manipulacji rozmiarem, kształtem, krzywizną i rozmieszczeniem domen błonowych oraz wyjaśniają fascynujące mechanizmy stojące za zjawiskiem separacji faz zarówno w eukariotycznych, jak i prokariotycznych błonach komórkowych.