

Streszczenie

Błony komórkowe to skomplikowane struktury, na które wpływają interakcje między różnorodnymi składnikami oraz otaczającą je wodą. Biomembrany wykazują znaczną heterogeniczność zarówno jeśli chodzi o fazy lipidowe, jak i strukturę i dynamikę hydratującej je wody, co jest kluczowe dla ich aktywności biochemicznej. Choć wiadomo, że cholesterol reguluje strukturę i dynamikę błon, jego wpływ na ich uwodnienie nie jest jeszcze w pełni zrozumiany. Niniejsza praca doktorska bada te interakcje na poziomie molekularnym, aby lepiej zrozumieć pochodzenie i funkcję fizykochemicznych heterogeniczności błon.

Fluorescencyjne sondy wrażliwe na środowisko, takie jak Laurdan, są często stosowane do badania heterogeniczności błon. Zmiany w widmie emisji Laurdanu są związane ze zmianami stężenia i ruchliwości cząsteczek wody w pobliżu sondy. Jednak brak bezpośrednich pomiarów uwodnienia często prowadził do błędnych interpretacji. W ramach niniejszej pracy doktorskiej, dokonałam analizy odpowiedzi spektralnej Laurdanu na odwodnienie błon biomimetycznych oraz na zawartość cholesterolu, ujawniając mechanizmy molekularne stojące za tymi zmianami. Odwodnienie powoduje uporządkowanie konformacyjne lipidów, spowalnia ich dynamikę oraz dynamikę wiązań wodorowych, co utrudnia relaksację dipolową wokół Laurdanu. Z kolei obecność cholesterolu wpływa na fluorescencję głównie przez hamowanie dynamiki szkieletu glicerolowego lipidów.

Eksperymenty z wykorzystaniem spektroskopii i mikroskopii fluorescencyjnej ujawniły nowy efekt dotyczący redystrybucji cholesterolu w błonach fazowo rozdzielonych pod wpływem odwodnienia, co prawdopodobnie przeciwdziała znacznym zmianom płynności w określonych regionach błony. Wyniki pokazują, że powinowactwo cholesterolu do różnych faz lipidowych zmienia się w miarę zmniejszania uwodnienia błony. Odwodnienie prowadzi do prostowania ogonów lipidowych, co redukuje niedopasowanie hydrofobowe i wyrównuje upakowanie lipidów, ułatwiając w ten sposób interakcję cholesterolu z lipidami w fazie płynnej.

Stosując spektroskopię generacji sumy częstotliwości, zbadałam wibracyjne sygnatury lipidów oraz nanoskopowej warstwy wody bezpośrednio hydratującej błonę. Badania wykazały, że będąc w środowisku lipidów nienasyconych, cholesterol przerywa warstwę hydratacyjną między grupami polarnymi lipidów, depolaryzując orientację cząsteczek wody. W błonach z lipidów nasyconych, cholesterol zwiększa upakowanie lipidów i porządkuje grupy polarne, co prowadzi do wzrostu anizotropii orientacyjnej cząsteczek wody. W środowisku sfingomieliny, z powodu silnego efektu kondensacji, cholesterol stabilizuje wysoce anizotropową orientację cząsteczek wody.

Odkrycia te podkreślają istotną rolę interakcji cholesterolu, lipidów i wody w kształtowaniu architektonicznych i dynamicznych heterogeniczności błon, włączając w to warstwę hydratacyjną.