

Podczas swojego życia komórki przechodzą istotne zmiany wpływające na ich kształt i budowę, np. podział komórki. W ciągu ostatnich lat prowadzone są intensywne prace mające na celu zrozumienie molekularnych podstaw tego typu zmian morfologicznych błon biologicznych. Wymaga to jednak szczegółowej wiedzy na temat właściwości elastycznych komórek, które są powiązane z właściwościami mechanicznymi błon biologicznych. Błona biologiczna to otaczająca komórkę bariera zbudowanych z białek i lipidów zapewniająca różnorodność komórek pomiędzy ich zawartością i środowiskiem, w którym się znajdują. Dodatkowo pełni rolę strażnika selektywnie dostarczając komórce potrzebne jej składniki. W konsekwencji odgrywa ona ogromną rolę w funkcjonowaniu komórki poprzez regulowanie, katalizowanie i pośredniczenie w wielu biologicznych i biochemicznych procesach, takich jak transport, przekazywanie energii czy odpowiedzi immunologiczne, za pomocą wbudowanych w błonę białek. W celu wyizolowania i zbadania samej błony biologicznej tworzy się sztuczne pęcherzyki składające się z podstawowego składnika błony biologicznej – lipidu. W zależności od tego, które właściwości bądź zjawiska są przedmiotem badania, stosuje się inny rozmiar i skład pęcherzyków. W badaniach właściwości mechanicznych stosuje się najczęściej pęcherzyki o rozmiarach zbliżonych do $10\mu\text{m}$. Pęcherzyk taki może ulec trzem deformacjom elastycznym - rozrostowi powierzchni, odkształceniu ścinającemu i zgięciu błony. Odkształcenia zginające są czynnikiem decydującym o kształcie błony i giętkości błony. Są one określane przez współczynnik elastyczności (ang. *bending coefficient*), który wyraża energię konieczną do efektywnego wygięcia błony. Są to jednak wartości na poziomie 10^{-19}J , co uniemożliwia ich bezpośrednie wyznaczenie. W tym celu konieczne jest zastosowanie zaawansowanych technik i metod. Techniki wyznaczania parametrów mechanicznych błon lipidowych dzieli się na trzy kategorie:

1. techniki bazujące na analizie drgań termicznych pęcherzyka lipidowego wykorzystujące zależność tych drgań od elastyczności błony – tak zwana technika *flicker-noise*,
2. techniki analizujące elastyczną odpowiedź na mechaniczną deformację poprzez pomiar siły koniecznej do efektywnego wygięcia błony – na przykład za pomocą szczypiec laserowych czy mikroskopu atomowego,
3. techniki rozproszeniowe i symulacyjne.

W ramach rozprawy doktorskiej postanowiłem zająć się badaniem właściwości mechanicznych błon biologicznych. W tym celu rozwijam metod eksperymentalne, które umożliwią mi pomiar tych parametrów, które dostarczą informacji o wpływie mechaniki na funkcjonowanie komórki. Po dziś dzień udało mi się rozwinąć technikę *flicker-noise* oraz udoskonalić ją poprzez zastosowanie mikroskopii fluorescencyjnej do obrazowania badanej próbki – co zapewnia lepszą jakość odczytu. Ideą tej techniki jest obserwacja fluktuacji pęcherzyka w płaszczyźnie ogniskowej w celu ilościowego pomiaru fluktuacji (a dokładniej ich amplitud) w funkcji czasu. Ogromną zaletą techniki jest jej nieinwazyjność i możliwość kontroli warunków eksperymentu. Ponadto udało mi się stworzyć warsztat obliczeniowy do wyznaczania parametrów mechanicznych pęcherzyków lipidowych z wykorzystaniem symulacji dynamiki molekularnej – cząsteczkowymi symulacjami bazującymi na równaniach Newtona pozwalającymi na obserwację zjawisk na poziomie cząsteczkowym. Udoskonaliłem obecne procedury poprzez symulowanie pełnego pęcherzyka liposomowego, zamiast błony planarnej, oraz przeprowadzaniu symulacji na w pełni cząsteczkowych systemach. W tym przypadku również wykorzystuję zaobserwowane fluktuacje w obrębie całego pęcherzyka do wyznaczenia poszukiwanych parametrów. Obecnie zajmuję się rozwijaniem trzeciej metody – badaniu odpowiedzi na mechaniczną deformację wyindukowaną zewnętrznym obiektem kontrolowanym szczypcami laserowymi. Szczypce laserowe pozwalają pułapowanie i przemieszczanie obiektów za pomocą silnie skupionej wiązki światła. W dalszych planach chciałbym wyznaczyć parametry mechaniczne poprzez wykorzystanie igły pomiarowej w mikroskopie sił atomowych jako czynnika indukującego mechaniczną deformację.

Wyniki otrzymane z rozwijanych przeze mnie metod pozwoliły na :

- charakteryzację parametrów mechanicznych szeregu różnych błon biologicznych uwzględniając zmiany wynikające z innego środowiska,
- określenie wpływ toksycznych związków (dwufenylnku i trójfenylnku cyny) na zachowanie błony, co pozwoliło na zapostulowanie mechanizmu ich działania,
- zbadanie efektu obecności leku antynowotworowego doksorubicyny na zachowanie błon biologicznych.