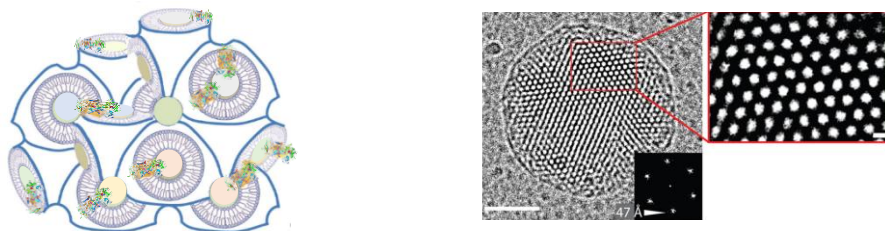


Białka membranowe pełnią wiele istotnych ról w funkcjonowaniu naszego organizmu, są enzymami, transporterami substancji odżywczych, kanałami jonowymi, receptorami czy po prostu elementami budulcowymi. W wielu schorzeniach są punktem docelowym leczenia choroby. Zrozumienie działania integralnych białek błonowych i czynników aktywujących lub hamujących ich aktywność jest bardzo ważne i dziś w dobie pandemii nikogo nie trzeba przekonywać, że badania podstawowe prowadzone *in vitro* czyli poza organizmem żywym są niezbędnym etapem poprzedzającym wykorzystanie metody w leczeniu. Niestety badania te bardzo ogranicza fakt, że białko błonowe poza błoną ulega zmianom strukturalnym i traci swoją aktywność. Badania w błonach naturalnych są natomiast skomplikowane ze względu na złożoność błony, różnorodność obecnych w niej białek i innych składników i oddziaływania między nimi. Z drugiej strony usunięcie białka z rodzimego otoczenia np. z wykorzystaniem detergentów i umieszczenie go w syntetycznej membranie lub dysku polimerowym prowadzi szybko do utraty aktywności i dużych zmian strukturalnych białka. Celem tego projektu jest zaprojektowanie takiego środowiska w którym białka membranowe mogą zachować naturalną strukturę i funkcjonalność. Ciekłokrystaliczne lipidowe nanocząstki – kubosomy tworzą takie otoczenie. Dwuciągła faza kubiczna składa się z sieci kanałów wodnych otoczonych dwuwarstwami lipidowymi i idealnie odpowiada strukturze typowego białka błonowego (Rys. 1). Hydrofobowe wewnętrzne części białka wbudowują się w lipidowe ściany kanałów kubosomu, a oba hydrofilowe końce cząsteczki białka są w kanałach wodnych, co zapewnia kontakt ze środowiskiem wodnym na wzór otoczenia błony naturalnej komórki biologicznej. Odpowiednie domieszkowanie lipidami o bardzo dużych głowach polarnych np. cukrowych pozwala zwiększyć szerokość kanałów dostosowując strukturę kubosomu do potrzeb strukturalnych konkretnych białek. Jednocześnie, bardzo duża lipidowa powierzchnia wewnętrzna ($400\text{m}^2/\text{g}$) sprzyja wbudowaniu dużych ilości białka, znacząco większych niż w liposomach czy innych modelach błon biologicznych (Rys. 1). Kubosom zawierający białko membranowe czyli proteokubosom nadaje się więc do wielu badań białka – umiejscowienia i orientacji w błonie, aktywności, odkrywania metod jego inhibicji lub aktywacji, a w konsekwencji znajdowania optymalnych regulatorów funkcjonowania białka. Stabilność białka w proteokubosomie nie tylko ułatwia przechowywanie i badania aktywności w czasie, ale jest on wygodnym małym nośnikiem transportującym białko w zadane miejsce np. na stałe podłoża; ułatwia także fuzję z błonami biologicznymi i biomimetycznymi. Można w ten sposób konstruować warstwy bioczułe np. na podłożach przewodzących, przydatne do oznaczania leków czy badaniach przesiewowych kandydatów na środki terapeutyczne.



Rys.1 Faza ciekłokrystaliczna z wbudowanymi cząsteczkami białka oraz obraz krio-TEM kubosomu [

W projekcie projektujemy ciekłokrystaliczne lipidowe nanocząstki do umieszczenia dwu ważnych białek. Pierwsze to enzym odpowiedzialny za syntezę ważnego składnika błon - cholesterolu. Wiele schorzeń kardiologicznych wywołanych jest nadmiarem cholesterolu (szczególnie LDL). Proteokubosomy zawierające enzym pozwolą monitorować jego aktywność i określić wpływ obecności różnych statyn – leków stosowanych powszechnie w celu obniżenia poziomu cholesterolu i będących inhibitorami tego enzymu. Badania pozwolą wybrać statyny najbardziej efektywnie inhibitujące, ale jednocześnie w minimalnym stopniu zaburzające strukturę całej błony lipidowej (jeden z możliwych powodów niekorzystnych efektów ubocznych statyn). Innym białkiem badanym w formie proteokubosomu będzie mitochondrialny kanał potasowy o właściwościach cytoprotekcyjnych. Jego podjednostkę, ROMK zbadamy pod kątem aktywności w transporcie potasu, także pod działaniem kilku aktywatorów i inhibitorów kanału. Zaplecze aparaturowe Wydziału Chemii umożliwia szczegółowe badania strukturalne proteokubosomów np. metodami kriomikroskopii (Rys. 1) czy rozproszenia rentgenowskiego oraz - po wbudowaniu w warstwy lipidowe - na określenie lokalizacji białka w błonie metodami spektroskopii w podczerwieni i mikroskopii sił atomowych, a następnie na ocenę zmian aktywności białek pod wpływem wybranych aktywatorów/inhibitorów czyli potencjalnych leków. Opracowany w ramach tego projektu sposób przechowywania i dostarczania białek membranowych w formie trwałego termodynamicznie w roztworze wodnym, nanonośnika ciekłokrystalicznego, ochroni także wrażliwe białko membranowe przed chemiczną i biologiczną degradacją typową dla warunków zastosowań medycznych.