

Molekularny taniec zamrażaniec - śledzenie orientacji przestrzennej cząsteczek w biomimetycznych błonach komórkowych

Streszczenie popularnonaukowe

Nastąpił znaczący postęp w naszym zrozumieniu organizacji i aktywności lipidowych błon komórkowych, jednak wiele fundamentalnych pytań dotyczących tego, jak różne składniki błony są rozmieszczone przestrzennie w błonie i jak specyficzna orientacja wpływa na ich aktywność, pozostaje bez odpowiedzi. Istnieją przekonujące dowody teoretyczne, że Laurdan, który jest jedną z najczęściej stosowanych sond fluorescencyjnych stosowanych do badania organizacji modelowych i natywnych błon komórkowych, może przyjmować bardzo różne orientacje w obrębie błony lipidowej. Jednak ta hipoteza nie została zweryfikowana eksperymentalnie. Równolegle, stale dyskutowana jest obecność rozkładu orientacji domen transbłonowych, które są częścią wielu białek wiążących się z błoną, w różnych układach błon lipidowych. Wspólną cechą tych dwóch rodzajów molekuł, Laurdanu i domen transbłonowych, jest brak jednolitego, spójnego obrazu relacji pomiędzy ich orientacją przestrzenną a lokalnymi właściwościami błony komórkowej.

Ogólnym celem projektu jest zbadanie orientacji przestrzennej wybranych cząsteczek goszczących w modelowych błonach biologicznych oraz zapewnienie wglądu na poziomie molekularnym w mechanizmy modulujące orientację przestrzenną tychże cząsteczek.

W szczególności chcemy zweryfikować:

1. istnienie cząsteczek/populacji cząsteczek o różnych orientacjach przestrzennych; i określić;
2. rozkład różnych orientacji;
3. czynniki, które indukują określoną organizację przestrzenną cząsteczek będących przedmiotem zainteresowania;
4. konsekwencje dla cząsteczek przyjmujących różne orientacje;

Określimy orientację przestrzenną Laurdanu i polipeptydowych domen transbłonowych w modelowych błonach biologicznych, zarówno badając całą populację cząsteczek, jak i adresując cząsteczki będące przedmiotem zainteresowania jedna po drugiej. Motywacją jest aby nie tylko określić organizację przestrzenną Laurdanu oraz domen transbłonowych w błonach lipidowych, ale także zrozumieć jej związek z właściwościami błony (takimi jak skład, faza lipidowa czy nawodnienie).

Do realizacji projektu wykorzystamy paletę pięciu wyrafinowanych technik, głównie opartych na obrazowaniu fluorescencyjnym. Eksperymenty zostaną przeprowadzone na dwóch różnych systemach błonowych: dwuwarstwach lipidowych na podłożu stałym oraz olbrzymich pęcherzykach lipidowych. W związku z tym projekt ten rozszerzy protokół eksperymentalny, który można wykorzystać do wykrywania i charakteryzowania orientacji przestrzennej biologicznie istotnych cząsteczek w miękkiej materii i jako taki niewątpliwie przyczyni się do rozwoju dziedziny obrazowania biofizycznego.

Ten projekt badawczy ma prawdziwie multidyscyplinarny charakter, łączy najnowocześniejsze metody mikroskopowe na potrzeby nowatorskich badań fizykochemicznych / biofizycznych. Nowatorski charakter projektu obejmuje różne aspekty: po raz pierwszy eksperymentalnie określimy orientację przestrzenną Laurdanu w błonach lipidowych; zbadamy orientację przestrzenną domen transbłonowych; i będziemy systematycznie badać wpływ warunków środowiskowych i właściwości strukturalnych błony na orientację cząsteczek goszczących w błonie.