

## Reakcje biochemiczne w zatłoczonym środowisku: rozdzielenie wpływu oddziaływań wyczerpania i kompleksowania jonów na przykładzie hybrydyzacji DNA

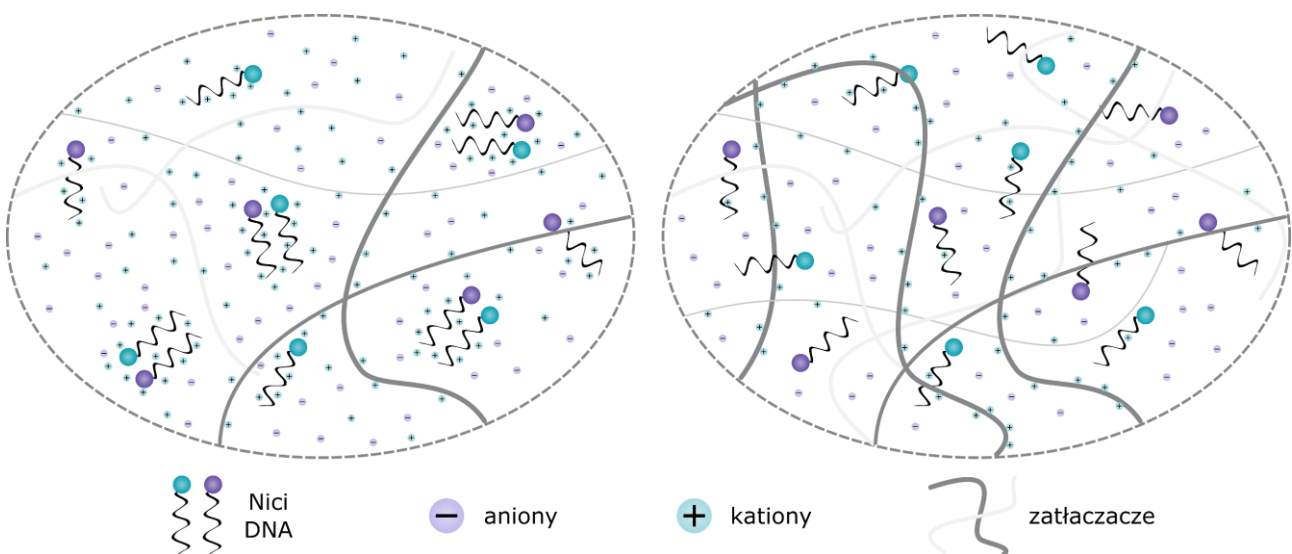
Każdy z nas posiada setki bilionów komórek, które wykorzystując procesy biochemiczne stanowią o naszym prawidłowym funkcjonowaniu. Te utrzymujące nas przy życiu mechanizmy, nie są jeszcze w pełni zrozumiane, zwłaszcza jeśli chodzi o poszczególne interakcje między cząsteczkami. Takie interakcje zachodzą w bardzo zatłoczonym środowisku, w którym biomolekuły zajmują do 50 % masy komórki i reagują na różne sposoby. Dlatego zrozumienie złożonego zachowania komórek jest trudne i wymaga głębszych badań.

Żeby zbadać jakąkolwiek reakcję poza komórką, naukowcy naśladują jej zatłoczone środowisko, stosując obojętne cząsteczki, takie jak niejonowe polimery. Natomiast, te związki są mniej obojętne niż zakładano. Niedawno pokazaliśmy, w jaki sposób zachowują się one w roztworach wodnych. Okazało się, że te obojętne molekuly, zwane zatłaczaczami, w rzeczywistości „kradną” jony z roztworu, co może stwarzać poważne problemy badaczom i generować błędy. Nawet niewielka zmiana stężenia jonów może mieć istotny wpływ na procesy biochemiczne. Na przykład spadek stężenia kationów destabilizuje dwuniciową strukturę ujemnie naładowanego DNA. W ten sposób, dla stężeń zatłaczaczy na poziomie 50 % wagowych, w niektórych ich roztworach w ogóle może nie powstać dwuniciowa struktura DNA.

Z drugiej strony sama obecność zatłaczaczy powoduje efekt odwrotny. Każdy zatłaczacz w roztworze „chce” mieć jak najwięcej miejsca. W związku z tym, jeśli jest ich wiele, to konkurują ze sobą o przestrzeń, tym samym zbliżając do siebie inne biomolekuły, takie jak DNA. W ten sposób dwuniciowa struktura DNA jest stabilizowana i występuje częściej w roztworze. Te interakcje nazywane są interakcjami wyczerpania i dominują dla niskich stężeń zatłaczaczy (15 %).

Do tej pory nie został przedstawiony żaden model, który mógłby przewidzieć udział oddziaływań wyczerpania i efektu „kradzieży jonów” przez zatłaczacze dla reakcji biochemicznych. Dlatego też, w szeregu eksperymentów zbadamy wpływ wielkości i stężenia zatłaczaczy (glikolu polietylenowego – PEG) na hybrydyzację DNA. Wyniki te dadzą nam informacje o łącznym efekcie obu zjawisk. Następnie zmierzmy oddziaływania jonów sodu i potasu z PEG-ami oraz wpływ tych jonów na hybrydyzację DNA. W ten sposób obliczymy tylko efekt „kradzieży jonów”. Na koniec, porównując wyniki z pierwszej i drugiej serii pomiarów, uzyskamy wkład jedynie oddziaływań wyczerpania i stworzymy model charakteryzujący siły rządzące zatłoczonym środowiskiem.

Model będzie szczególnie ważny przy 1) projektowaniu sztucznych komórek, 2) opracowywaniu nowych terapii diagnostycznych ukierunkowanych na określone biomolekuły lub geny, takich jak CRISPR-Cas, oraz 3) inżynierii tkankowej, ponieważ zatłoczone środowisko przyspiesza tworzenie się matrycy specyficznych tkanek. Ponadto wyniki badań pozwolą lepiej zrozumieć środowisko komórkowe oraz procesy w nim zachodzące, takie jak fałdowanie białek, interakcje enzym-substrat czy transport biomolekuł.



Rysunek 1: Dwie różne sytuacje spowodowane przeciwstawnymi zjawiskami w zbliżonym środowisku. W niskich stężeniach zatłaczaczy (lewa strona) dominują oddziaływania wyczerpania, ściskając biomolekuły. W wysokich stężeniach zatłaczaczy (prawa strona) dominuje efekt „kradzieży jonów” spowodowany przez zatłaczacze. W rezultacie podobnie naładowane nici DNA odpychają się.