

Biominalizacyjne szlaki jonów wapnia u otwornic (Foraminifera): eksperymenty wykorzystujące przyżyciowe barwienie fluorescencyjne

Otwornice są grupą organizmów, która skolonizowała niemal wszelkie środowiska morskie. Wiele gatunków otwornic tworzy szkielety, które w zależności od gatunku zbudowane są z substancji organicznych, zlepianych ziaren piasku lub z wydzielanego przez same otwornice węglanu wapnia. U każdego gatunku skorupki te przyjmują unikatową strukturę: często są bardzo skomplikowane i złożone z wielu stopniowo (jedna po drugiej) dobudowywanych komór. Skorupki te po rozmnożeniu się lub śmierci otwornicy pozostają na dnie morza i bardzo łatwo ulegają fosylizacji, czyli przekształceniu w skamieniałości. Do wytworzenia kalcytu budującego ściankę skorupki komórka otwornicy potrzebuje między innymi jonów wapnia. Skład izotopowy skorupki otwornicy oraz zawartość w nich domieszek innych pierwiastków jest uzależniona od warunków środowiska (temperatury, zasolenia, pH itp.) w momencie wytworzenia tych skorupki. Dzięki temu na składzie skorupki kopalnych otwornicy opiera się wiele wskaźników (ang. *proxies*) wykorzystywanych w geologii do rekonstrukcji zmian środowiskowych w przeszłości. Ten zapis jest jednak modyfikowany do pewnego stopnia przez procesy fizjologiczne komórki otwornicy, tzw. efekty witalne (ang. *vital effects*). Nie można poprawnie interpretować danych geologicznych bez możliwości oddzielenia wpływu tych efektów od sygnału środowiskowego. Niestety mechanizmy pozyskiwania przez komórki otwornicy jonów wapnia z wody morskiej oraz ścieżki ich transportu do miejsc biomineralizacji wciąż nie są należycie wyjaśnione. Naukowcy zaproponowali dwa różne modele tłumaczące ten proces dla otwornicy z gromady Globobulimina: (1) model transportu trans-membranowego, oraz (2) model wakuolizacji wody morskiej. Pomimo wielu badań wciąż nie wiadomo, który z tych modeli we właściwy sposób tłumaczy to zjawisko. Oba modele zakładają, że ostatecznym źródłem tych jonów dla otwornicy jest woda morska, lecz różnią się ścieżkami ich transportu. Model transportu trans-membranowego zakłada, że całość lub ogromna większość jonów wapnia jest transportowana poprzez błonę komórkową przy pomocy wyspecjalizowanych białek (kanałów lub pomp jonowych) do cytozolu (płynu wypełniającego wnętrze komórki), a dopiero stamtąd są transportowane do miejsc kalcyfikacji. W przeciwieństwie do tego, według modelu wakuolizacji jony wapnia nie przechodzą bezpośrednio przez cytozol, lecz są transportowane w obrębie wakuol zawierających wodę morską oddzielonych od cytoplazmy błoną lipidową. Modele różnią się lokalizacją ścieżek transportu jonów wapnia oraz fizjologicznymi procesami uczestniczącymi w tym transporcie, mają więc różne implikacje dla *vital effects*. W konsekwencji zrozumienie procesów związanych z transportem jonów wapnia u otwornicy jest kluczowe dla interpretacji wskaźników paleośrodowiska. Ważną lecz kontrowersyjną kwestią jest to czy wakuolizacja wody morskiej zachodzi z intensywnością wystarczającą do zgromadzenia ilości jonów wapnia potrzebnych dla biomineralizacji. Zwolennicy modelu transportu trans-membranowego podkreślają, że tempo wakuolizacji wody morskiej jest zbyt małe, żeby komórka mogła w ten sposób pozyskać ilość jonów wapnia konieczną do wytworzenia szkieletu, nie może on wg nich stanowić głównego wyjaśnienia omawianego procesu. Moje wstępne badania sugerują jednak, że dotychczasowe szacunki intensywności wakuolizacji są znacznie zaniżone z powodu pewnych ograniczeń metod stosowanych do tej pory do obserwacji tego procesu. W ramach projektu wykonana zostanie seria eksperymentów, które umożliwią precyzyjne pomiary objętości wakuol oraz przede wszystkim tempa wymiany wody morskiej w wakuolach. Główną metodą w planowanych badaniach będzie mikroskopia fluorescencyjna. Niezbędne dla osiągnięcia tego celu jest przeprowadzenie sekwencyjnego i krótkotrwałego barwienia otwornicy w trakcie dobudowywania nowej komórki kilkoma barwnikami fluorescencyjnymi pokazującymi wakuole wody morskiej, oraz przystąpienie do obserwacji natychmiast po barwieniu. Dodatkowo zostanie wykonane obrazowanie przy mocy transmisyjnej mikroskopii elektronowej i korelatywnej mikroskopii świetlno-elektronowej w celu pokazania szczegółowej ultrastruktury obszarów komórki biorących udział w wakuolizacji wody morskiej.