

Streszczenie Pracy Doktorskiej o tytule:

Komputerowy model błony komórki włókienkowej soczewki oka

badania wykonane po opieką prof. dr hab. Marty Paskiewicz-Gieruli

Cholesterol jest głównym składnikiem błon komórkowych ssaków. W większości błon plazmatycznych stężenie cholesterolu w całej puli lipidów mieści się w granicach 20-30 % molowych. Wyjątkiem są komórki erytrocytów, gdzie stężenie cholesterolu wynosi 50 % molowych oraz komórki włókienkowe soczewki oka, gdzie przekracza ono nawet 70 % molowych. Cholesterol jest niezwykle ciekawym typem lipidu, którego wpływ na błony biologiczne został zbadany wnikliwie na przestrzeni kilkudziesięciu lat badań. Obejmuje on: zwiększenie wytrzymałości fizycznej, regulację płynności błon, zmianę charakterystyki przejść fazowych oraz zmniejszenie dyfuzji pasywnej wody i innych małych cząsteczek. Jednakże, efekty te zostały zbadane dla błon o stężeniu cholesterolu kilkukrotnie niższym niż obserwowane w komórkach włókienkowych soczewki oka.

Przy stężeniu cholesterolu większym niż 50 % molowych, tak jak ma to miejsce w komórkach włókienkowych, przekroczona zostaje granica rozpuszczalności cholesterolu i w obrębie błony tworzą się domeny cholesterolowe, o których wiadomo niewiele. Badanie domen cholesterolowych metodami eksperymentalnymi jest bardzo ograniczone, gdyż nie mogą one istnieć samodzielnie.

Dlaczego stężenie cholesterolu w błonach komórek włókienkowych jest tak ekstremalnie wysokie? Jest to pytanie nurtujące wielu i jest ono podstawą badań pracy doktorskiej mgr Elżbiety Plesnar. Komórki włókienkowe soczewki oka są niezwykle, również dlatego, że ich wymiana podczas życia zwierząt jest niezwykle ograniczona. Najstarsze komórki, mieszczące się w centrum soczewki oka powstają w okresie płodowym. Podczas dojrzewania komórki włókienkowe tracą wszystkie organelle komórkowe, a stężenie cholesterolu w błonie komórkowej wzrasta.

Badania pracy doktorskiej zostały wykonane za pomocą symulacji dynamiki molekularnej. Zbudowano kilkanaście modeli komputerowych błon i przeprowadzono kilkadziesiąt symulacji dynamiki molekularnej. Podczas budowy wykorzystane zostały dwa typy lipidów: cholesterol oraz fosfolipid POPC (1-palmitoilo-2-oleoilo-*sn*-fosfatydylocholina). Wybór POPC jest związany z tym, że reprezentuje on najlepiej fosfolipidy z najdokładniej zbadanych błon komórek włókienkowych soczewki oka zwierząt, co umożliwia walidację wyników. Skład i struktura rozpatrywanych układów modelowych został dobrany tak by najlepiej modelować dane środowisko i umożliwiać badanie procesów dynamicznych. Wśród badanych układów mieszczą się dwuwarstwy zawierające jeden typ

lipidu, lub też mieszaninę POPC i cholesterolu. Mieszanina POPC i cholesterolu w różnych układach może być w miarę równomierna albo celowo zróżnicowana w różnych fragmentach dwuwarstwy, co pozwala na badanie struktury i zjawisk zachodzących na granicy domen lipidowych.

We wnętrzu soczewki oka panuje środowisko hipoksyczne. Wzrost stężenia tlenu w obrębie soczewki oka uznaje się za główną przyczynę powstawania w niej zaćmy, która wiąże się z utlenieniem i degradacją składników komórkowych. Zbadanie, jaką rolę odgrywa cholesterol w utrzymaniu niskiego stężenia tlenu jest jednym z celów pracy. Dlatego też część układów zawiera w sobie tlen cząsteczkowy. Układy te zostały zbadane za pomocą metody klasycznej symulacji dynamiki molekularnej lub metody Umbrella Sampling, która umożliwiła lepsze próbkowanie układów o znacznych barierach energetycznych.

W pracy doktorskiej porównana została charakterystyka błon fosfolipidowych w fazie nieuporządkowanej i uporządkowanej - nasyconej cholesterolom [Plesnar-2012]. Otrzymane wyniki pokazały większe uporządkowanie łańcuchów węglowodorowych POPC oraz większą gładkość błony nasyconej cholesterolom, która poprzez redukcję rozpraszania światła powinna mieć znaczenie dla transparentności soczewki. W rozprawie doktorskiej oraz w opublikowanej publikacji [Plesnar-2013] przedstawiona została charakterystyka domeny cholesterolowej o płynnej strukturze. Wyniki te są znaczące, gdyż jeszcze kilka lat temu uważano, że domeny cholesterolowe mają strukturę krystaliczną. Wyniki symulacji dynamiki molekularnej i wyniki spektroskopii EPR [Raguz-2011] pokazały odmienną strukturę tej domeny - płynną. W pracy przedstawione zostały również układy domenowe, gdzie domena fosfolipidowa nasycona cholesterolom graniczy z domeną fosfolipidową lub cholesterolową. Układy te pozwoliły na zbadanie organizacji lipidów na granicy domen, a przez to pozwalają na uzupełnienie modelu organizacji lipidów nazywanego modelem Umbrella.

Układy symulacyjne z dyfundującym tlenem cząsteczkowym pozwoliły na uzyskanie charakterystyki jakościowej i ilościowej dla procesu dyfuzji tlenu w układach o różnym składzie lipidowym. Otrzymane wyniki pokazują istnienie bariery dyfuzji poprzez domenę cholesterolową dla tlenu cząsteczkowego przy jednoczesnym sprzyjaniu dyfuzji tlenu w centrum dwuwarstwy.

[Plesnar-2012] Plesnar, E., Subczynski, W. K., i Pasenkiewicz-Gierula, M. (2012). Saturation with cholesterol increases vertical order and smoothes the surface of the phosphatidylcholine bilayer: A molecular simulation study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1818(3):520–529.

[Plesnar-2013] Plesnar, E., Subczynski, W. K., i Pasenkiewicz-Gierula, M. (2013). Comparative computer simulation study of cholesterol in hydrated unary and binary lipid bilayers and in an anhydrous crystal. *The Journal of Physical Chemistry B*. 117(29):8758-69

[Raguz-2011] Raguz, M., Mainali, L., Widomska, J., i Subczynski, W. K. (2011a). The immiscible cholesterol bilayer domain exists as an integral part of phospholipid bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1808(4):1072–1080.