

mgr Jakub Hryc

Zakład Biofizyki Obliczeniowej i Bioinformatyki

Streszczenie pracy doktorskiej:

Badanie mechanizmu formowania się kanałów wodnych w układach galaktolipidów modelujących błony tylakoidów oraz charakterystyka ich interfazy

Galaktolipidy stanowią główną klasę lipidów błon tylakoidów chloroplastów u roślin. Dwoma głównymi galaktolipidami tych błon są monogalaktozydylodiacylglicerol (MGDG) oraz digalaktozydylodiacylglicerol (DGDG). Ich głowy polarne zbudowane są z glicerolowego rdzenia oraz reszt galaktoz. MGDG posiada jedną resztę β -galaktozy, natomiast DGDG dwie reszty, β -galaktozę oraz przyłączoną do niej zewnętrzną α -galaktozę. Niepolarne łańcuchy węglowodorowe MGDG i DGDG błon tylakoidów są najczęściej wielonienasycone. Dwie reszty galaktozy głowy polarnej DGDG sprawiają, że cząsteczka DGDG ma kształt cylindryczny, a cząsteczka MGDG z pojedynczą galaktozą ma kształt stożkowy. Kształt cząsteczki lipidu wpływa na jej zachowanie fazowe; tak więc cylindryczne cząsteczki DGDG w środowisku wodnym tworzą spontanicznie dwuwarstwy, natomiast stożkowe cząsteczki MGDG, szczególnie jeśli ich łańcuchy acylowe są nienasycone, tworzą struktury nielamelarne. Ogólnym celem niniejszej pracy jest lepsze poznanie rzeczywistego zrębu lipidowego błony tylakoidów, w szczególności możliwości tworzenia się w nim struktur nielamelarnych, przy użyciu technik modelowania molekularnego z rozdzielczością atomową.

Pierwszą część pracy poświęcono budowie lamelarnych układów galaktolipidowych. W drugiej części przeprowadzono analizy interfazy woda/błona błon DGDG i MGDG oraz prostych, nielamelarnych błon MGDG. W trzeciej części badano tworzenie się faz nielamelarnych w wielowarstwowych błonach MGDG. Badania rozpoczęto od przypisania parametrów funkcji potencjału cząsteczkom MGDG i DGDG. Następnie zbudowano modele komputerowe dwuwarstw MGDG i DGDG, przeprowadzono ich symulacje dynamiki molekularnej (MD) oraz analizy. Z pojedynczej błony MGDG zbudowano układy dwu- i wielowarstwowe, przeprowadzono ich symulacje oraz analizy.

Interfazę woda/błona analizowano w (a) dwuwarstwie MGDG i DGDG, (b) podwójnej dwuwarstwie zbudowanej z dwóch nałożonych na siebie dwuwarstw MGDG z uwodnieniem 15 cząsteczek wody na lipid w „wewnętrznej” warstwie wody (między błonami) oraz 30 cząsteczek wody na lipid w „zewnętrznej” warstwie wody (bez uwzględnienia periodycznych warunków brzegowych), w której w trakcie symulacji utworzyła się faza *stalk* – ten układ

nazwano W15-30 oraz (c) układzie odwróconej fazy heksagonalnej (H_{II}) MGDG zbudowanym wcześniej i opisanym w Bratek et al., 2019.

Porównując oddziaływania w interfacie badanych układów zaobserwowano (a) proporcjonalnie więcej oddziaływań lipid-woda w błonie MGDG niż DGDG, natomiast w błonie DGDG proporcjonalnie więcej oddziaływań lipid-lipid niż w błonie MGDG. Proporcjonalnie większa liczba oddziaływań lipid-woda w błonie MGDG niż DGDG wynika z dwóch efektów, mniejszego nachylenia głowy polarnej MGDG (32°) niż DGDG (36°), co powoduje jej większą ekspozycję do środowiska wodnego oraz z mniejszego uwodnienia wewnętrznego pierścienia β DGDG, który jest ekranowany od wody przez pierścień α . Efektem tego ostatniego jest nie tylko proporcjonalnie mniejsze uwodnienie głowy polarnej DGDG, ale też większa liczba oddziaływań lipid-lipid. (b) W układzie W15-30, w którym utworzył się kanał wodny, liczby oddziaływań lipid-woda i lipid-lipid w kanale są zbliżone do tych w dwuwarstwie, natomiast w rejonach błony, gdzie dochodziło do połączeń lipidów z dwóch przeciwległych listków obu błon, liczba oddziaływań lipid-woda jest mniejsza, a całkowita liczba oddziaływań lipid-lipid, czyli suma oddziaływań w obrębie jednego listka (horyzontalnych) oraz między lipidami z przeciwległych listków (wertykalnych) jest większa. (c) W kanałach wodnych układu H_{II} zaobserwowano więcej oddziaływań lipid-lipid, a mniej lipid-woda niż w dwuwarstwie MGDG, co wskazuje, że w trakcie tworzenia się fazy heksagonalnej oddziaływania lipid-woda są zastępowane przez oddziaływania lipid-lipid.

Badania tworzenia się faz nielamelarnych MGDG prowadzono na wielowarstwowych błonach MGDG, oddzielonych warstwami wody o różnej liczbie cząsteczek. Zaobserwowano ścisłą korelację pomiędzy szerokościami sąsiadujących warstw wody (liczbą cząsteczek wody), a tworzeniem się kanałów wodnych w początkowo lamelarnym układzie. Warstwy wody o odpowiedniej szerokości umożliwiają lokalne wygięcie się sąsiadujących błon, co jest warunkiem koniecznym tworzenia się kanałów, gdyż daje przestrzeń, gdzie gromadzą się niezwiązane z MGDG cząsteczki wody. Tworzenie się kanału jest możliwe tylko dlatego, że powierzchnie pozostałych lokalnie płaskich i słabo uwodnionych części obu błon stykają się ze sobą i umożliwiają tworzenie się licznych wertykalnych kontaktów między głowami polarnymi lipidów z przeciwległych listków, tj. tworzenie się stabilnej powierzchni kontaktowej. W badanych układach, kanały wodne tworzyły się, gdy liczba cząsteczek H_2O /MGDG w sąsiadujących warstwach wody była ~ 15 , tj. gdy ich szerokość była 11.3 \AA . Przy niższym uwodnieniu odpowiednie wygięcie się błony nie było możliwe. Natomiast przy wyższym, szerokość warstwy wody była zbyt duża, żeby dochodziło choćby do chwilowych połączeń wertykalnych.

W miejscach styku dwuwarstw (powierzchnia kontaktowa) występowała lokalna wymiana lipidów, czyli wzajemne przechodzenie lipidów z listka jednej dwuwarstwy do listka przeciwległej dwuwarstwy. Przeprowadzono analizę zmiany kątów torsyjnych w łańcuchach acylowych przy przechodzeniu lipidu z jednej dwuwarstwy do drugiej, aby sprawdzić, który z kątów torsyjnych jest odpowiedzialny za zmiany konformacyjne umożliwiające takie przejście oraz sprawdzono, czy prawdopodobieństwo zmian konformacyjnych w łańcuchu *sn*-2 (β) jest takie samo jak w *sn*-1 (γ).