



Warszawa, 7 stycznia 2015

Mikroprzepływy przyspieszą badania membran komórkowych

Procesy życiowe w kluczowy sposób zależą od zjawisk zachodzących na błonach oddzielających wnętrze komórek od otoczenia. Dotychczas słabo poznane, mechanizmy odpowiedzialne za transport przez błonę komórkową będzie można badać szybciej i taniej – dzięki układowi mikroprzepływowemu zbudowanemu w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie. Układ pozwala seryjnie wytwarzać błony komórkowe i mierzyć zachodzące na nich zmiany.

Błony komórkowe separują tętniące życiem wnętrze komórki od jej otoczenia. Mimo tak fundamentalnej roli, wiele szczegółów związanych z mechanizmami odpowiedzialnymi za funkcjonowanie błon komórkowych wciąż pozostaje nieznanymi. Głównym czynnikiem hamującym postęp badań jest trudność w tworzeniu błon o nanometrycznej grubości, które mogłyby służyć do eksperymentów. Wkrótce badania błon komórkowych staną się łatwiejsze – dzięki układowi mikroprzepływowemu zbudowanemu w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk (IChF PAN) w Warszawie we współpracy z Laboratorium Badań Chemicznych Uniwersytetu w Oxfordzie.

Typowe błony komórkowe składają się z dwóch warstw fosfolipidów, z którymi na różne sposoby wiążą się różne typy białek. Od kilku lat w laboratoriach dwuwarstwowe membrany wytwarza się doprowadzając do zetknięcia dwóch kropeł, każdej pokrytej pojedynczą warstwą lipidową. Jeśli proces przeprowadzi się umiejętnie, krople się nie zleją, a na granicy styku spontanicznie utworzy się lipidowa dwuwarstwa. Metoda znana jest jako Droplet Interface Bilayers (DIB).

„We współpracy z grupą profesora Hagana Bayleya z Uniwersytetu w Oxfordzie skonstruowaliśmy układ mikroprzepływowy, który nie tylko automatyzuje proces prowadzący do powstania niezwykle stabilnego styku na granicy dwóch mikrokropeł i wytworzenia dwuwarstwy, ale także pozwala na dokonywanie pomiarów elektrofizjologicznych. Jesteśmy w stanie śledzić na przykład przebieg wbudowywania się konkretnego białka w błonę komórkową, w obecności takich a nie innych inhibitorów”, mówi prof. dr hab. Piotr Garstecki (IChF PAN).

W nowym układzie, w mikrokanałach wypełnionych olejem, płyną dwa rodzaje kropeł pokrytych monowarstwami lipidowymi: jedne zawierają roztwór białka zdolnego do wbudowywania się w błonę komórkową, w pozostałych znajduje się neutralna ciecz lub inhibitory zdolne do wiązania się z białkiem w kroplach pierwszego rodzaju. Gdy dwie mikrokrople, każda innego typu, wpływają do

miniaturowej komory pomiarowej, są w niej precyzyjnie pozycjonowane dzięki pułapkom hydrodynamicznym opracowanym przez IChF PAN we współpracy z firmą technologiczną Scope Fluidics.

„Zadanie nie jest proste. Badane przez nas błony komórkowe mają grubość kilku miliardowych części metra i łatwo je zerwać. Dzięki pułapkom hydrodynamicznym mogliśmy nie tylko ustabilizować położenie kropeł, ale także zapobiec drganiom membran, pojawiającym się naturalnie podczas przepływów”, wyjaśnia doktorantka Magdalena Czekalska (IChF PAN).

Prawdziwym zyskiem jest jednak możliwość przeprowadzania pomiarów elektrofizjologicznych. W chwili powstania nowa błona komórkowa jest ciągła i skutecznie uniemożliwia przepływ nośników prądu między obiema kroplami. Lecz jeśli białko rozpuszczone w jednej z kropeł przypomina budową rurkę, wystarczy jedna cząsteczka wbudowana w błonę, aby powstał kanał, przez który mogą płynąć jony. W układzie z IChF PAN te nikłe prądy można mierzyć dzięki mikroelektrodom wbudowanym w komorę pomiarową.

„W naszych testach obserwowaliśmy prądy pojawiające się w chwili, gdy w błonę wbudowywała się pojedyncza nanopora z białka alfa-hemolizyny, dostarczonego przez grupę oksfordzką. Skok był niezwykle mały, zaledwie o 50 pikoamperów (bilionowych części ampera), ale zawsze bardzo wyraźny”, opisuje Tomasz Kamiński, drugi z doktorantów zaangażowany w projekt, laureat programu VENTURES Fundacji na rzecz Nauki Polskiej.

Wytwarzane ręcznie, dwuwarstwowe membrany są bardzo wrażliwe i utrzymują się zwykle od kilku minut do kilku godzin. Błony komórkowe w nowym układzie mikroprzepływowym są znacznie stabilniejsze: ich czas życia sięga nawet kilku dni. Jednocześnie układ umożliwia oderwanie jednej z kropeł, co prowadzi do zniszczenia dotychczasowej membrany, a następnie dołączenie nowej kropli, z czym wiąże się powstanie nowej błony. Białko błonowe rozpuszczone w jednej kropli może więc być testowane z wieloma kroplami zawierającymi różne stężenia inhibitorów blokujących nanopory. Co ważne, cały cykl pomiarowy – rozdzielenie kropeł, przepłukanie mikroelektrod, zetknięcie nowych kropeł, wytworzenie membrany oraz pomiar zakończony obserwacją wbudowania białka w błonę komórkową – może zająć zaledwie trzy minuty.

„Przeprowadzone przez nas pomiary to dowód, że w nowym układzie mikroprzepływowym powstają funkcjonalne błony komórkowe. Mamy więc w pełni zautomatyzowane pomiary przy zminimalizowanym zużyciu substancji potrzebnych do przeprowadzania doświadczeń. Droga do seryjnych badań mechanizmów zachodzących w błonach komórkowych została otwarta”, podsumowuje prof. Garstecki.

Badania nad wytwarzaniem błon komórkowych w układach mikroprzepływowych były finansowane w ramach programu VENTURES/2012-10/4 „Nowe technologie mikroprzepływowe do wysokoprzepustowych badań dwuwarstw lipidowych oraz białek błonowych” Fundacji na rzecz Nauki Polskiej, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013, a także ze środków prestiżowego grantu europejskiego ERC Starting Grants.

Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk (<http://www.ichf.edu.pl/>) został powołany w 1955 roku jako jeden z pierwszych instytutów chemicznych PAN. Profil naukowy Instytutu jest silnie powiązany z najnowszymi światowymi kierunkami rozwoju chemii fizycznej i fizyki chemicznej. Badania naukowe są prowadzone w dziewięciu zakładach naukowych. Działający w ramach Instytutu Zakład Doświadczalny CHEMIPAN wdraża, produkuje i komercjalizuje specjalistyczne związki chemiczne do zastosowań m.in. w rolnictwie i farmacji. Instytut publikuje około 200 oryginalnych prac badawczych rocznie.

KONTAKT:

prof. dr hab. **Piotr Garstecki**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3432233
email: pgarstecki@ichf.edu.pl

mgr inż. **Tomasz Kamiński**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3433247
email: tkaminski@ichf.edu.pl

PUBLIKACJE NAUKOWE:

„A droplet microfluidic system for sequential generation of lipid bilayers and transmembrane electrical recordings”; M. A. Czekalska, T. S. Kamiński, S. Jakiela, K. Tanuj Sapra, H. Bayley, P. Garstecki; Lab Chip, 2015, Advance Article; DOI: 10.1039/C4LC00985A

POWIĄZANE STRONY WWW:

<http://www.ichf.edu.pl/>
Strona Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk.

<http://www.ichf.edu.pl/press/>
Serwis prasowy Instytutu Chemii Fizycznej PAN.

MATERIAŁY GRAFICZNE:

ICHF150107b_fot01s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/01/ICHF150107b_fot01.jpg

Na styku dwóch kropeł powstaje dwuwarstwowa membrana lipidowa. Zachodzące na niej zjawiska można analizować za pomocą odpowiednich elektrod. Ideę budowy układu mikroprzepływowego do seryjnych badań błon komórkowych prezentuje doktorant Tomasz Kamiński z Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)

ICHF150107b_fot02s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/01/ICHF150107b_fot02.jpg

Stanowisko laboratoryjne z układem mikroprzepływowym do seryjnych badań błon komórkowych w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. Po prawej obraz mikroskopowy dwóch stykających się kropeł w komorze pomiarowej; widoczne mikroelektrody (dwie ciemne ukośne linie) służące do pomiaru prądów przepływających przez membranę. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)

ICHF150107b_fot03s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/01/ICHF150107b_fot03.jpg

Doktorant Tomasz Kamiński z Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie prezentuje układ mikroprzepływy do seryjnych badań błon komórkowych. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)

MATERIAŁY FILMOWE:

Droplet microfluidic system for sequential generation of lipid bilayers and transmembrane electrical
<https://www.youtube.com/watch?v=wGhabu8y8VU>