

Jak wnikać do komórki?

8 października 2022

Aby przetestować wpływ różnych substancji na organizm, trzeba najpierw pokonać błonę komórkową. Naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN pokazali teraz nowatorskie rozwiązanie na bazie polimerów – Cell-IN – które działa jako środek wywołujący szok osmotyczny i ułatwia wprowadzenie do komórki różnych substancji chemicznych.



Dostarczanie biologicznie aktywnych cząsteczek do komórek jest jednym z najczęstszych sposobów testowania interakcji poszczególnych związków chemicznych np. nowych leków. Jednak, aby to zrobić, konieczne jest pokonanie błony komórkowej, która ma niezwykle złożoną strukturę i przepuszcza tylko określone cząsteczki do wnętrza komórki – opisują przedstawiciele IChF PAN w przesłanym PAP komunikacie.

Komórki – podstawowe budulce ciała – posiadają naturalną tarczę chroniącą je przed środowiskiem zewnętrznym, które mogłoby zakłócać ich funkcjonowanie. Ta warstwa ochronna to podwójna membrana o unikalnej i zarazem złożonej strukturze. Błona ta pełna jest maleńkich kanałów pozwalających na wnikanie do komórki tylko określonych związków chemicznych np. jonów, wody i innych małych cząsteczek chemicznych. Dzięki

błonie wewnątrz komórki jest chronione przed reakcjami chemicznymi, które zachodzą poza nią (to choćby reakcje z udziałem wolnych rodników).

W przypadku badań *in vitro*, gdzie duże cząsteczki, takie jak białka działające jako leki na niektóre choroby, muszą być dostarczane do komórki w celu przeprowadzenia testów, skuteczność ich dostarczenia zależy od obszaru komórki. O ile dla małych cząsteczek nie stanowiłoby to problemu, o tyle dostarczanie dużych cząsteczek może być trudne. Co jeśli chcielibyśmy umieścić w komórce jakiś barwnik działający jako marker umożliwiający precyzyjne mikroskopowe obserwacje niektórych procesów chemicznych? Podobnie jak z białkami, może to nie być tak proste jak się wydaje.

Autorzy komunikatu tłumaczą, że przenikanie związków przez błonę komórkową ma kluczowe znaczenie w większości procesów biochemicznych i badań biomedycznych, podczas gdy struktura i skład błon biologicznych najzwyczajniej chroni komórkę przed chemiczną katastrofą. Dlatego, na całym świecie podjęto wiele wysiłków, aby opracować sposoby łatwiejszego przekraczania błony komórkowej. Obecne metody pokonywania tej naturalnej tarczy ochronnej mają wiele ograniczeń, takich jak mała skala i czasochłonność np. podczas powszechnie stosowanej metody mikronastrzyków.

I tu przychodzą na pomoc ze swoim pomysłem polscy badacze pod kierunkiem prof. Roberta Hołysta z Instytutu Chemii Fizycznej PAN. Ich praca przedstawia prosty sposób na pokonywanie błon biologicznych.

Naukowcy – jak informuje ich instytut – zbadali szereg roztworów koloidalnych o różnym składzie i stężeniach polimerów w rozmiarach od 1 do 15 nm, wprowadzając je do komórek pod wpływem tzw. stresu osmotycznego. Następnie, przeanalizowano badania lepkości cytoplazmy, wykazując, że standardowe, ogólnodostępne procedury, takie jak stosowanie sacharozy nie są już potrzebne do wywołania ciśnienia

osmotycznego polepszającego wnikanie poszczególnych cząsteczek. Innymi słowy, przedstawili skuteczność rozwiązań hipertonicznych koncentrujących się na skuteczności dostarczania na poziomie pojedynczej komórki. Dzięki temu, optymalny biokompatybilny roztwór na bazie polimeru można z łatwością wykorzystać do dostarczania różnych cząsteczek do wnętrza komórki bez używania mikroiniekcji lub dodatku sacharozy.

Dodatkowo, aby podejrzeć efekt dostarczenia do komórki cząsteczek za pomocą roztworu na bazie polimeru, badacze zastosowali spektroskopię korelacji fluorescencyjnej (FCS) oraz technikę mikroskopii konfokalnej. Jednocześnie, sprawdzano stężenia wewnątrzkomórkowe i obserwowano bezinwazyjną skuteczność dostarczania określonych cząsteczek. Takie rozwiązanie działa jak farba oznaczająca komórkę w danym miejscu. Naukowcy pokazali sekwencję procesów zachodzących podczas ekspozycji komórki na roztwór hipertoniczny. Gdy woda wypływa z komórki, wyrównując ciśnienie osmotyczne, roztwór cytoplazmy staje się hipotoniczny. Taka różnica ciśnień osmotycznych prowadzi do rozluźnienia podwójnej błony chroniącej komórkę, która jest kluczowa dla dostarczania pożądanych cząsteczek do jej wnętrza. Jeśli ciśnienie osmotyczne jest wystarczająco wysokie, możliwe jest dostarczanie poszczególnych związków.

„Odkryliśmy, że skuteczność przenikania przez błony komórkowe jest silnie skorelowana z wielkością i stężeniem polimerów powodujących ciśnienie osmotyczne, a nie z samą wysoką wartością ciśnienia osmotycznego. Wykazaliśmy, że roztwory polimerów o określonych stężeniach ułatwiają dostarczanie dużych biomakrocząsteczek nawet o wielkości 200 nm (plazmidy DNA) do komórek, w tym komórek MDA-MB-231 – dotychczas opornych na szok osmotyczny. Pokazujemy, że nasz preparat oparty o koloidalną zawiesinę łańcuchów polimerowych jest wszechstronnym narzędziem dostarczania różnych związków w biologii molekularnej” – zauważa pierwsza autorka badań, Aneta

Karpińska.

Naukowcy z IChF PAN zademonstrowali uniwersalny środek na bazie polimerów, który może być stosowany jako marker wewnątrzkomórkowy i tym samym ułatwiać przenikanie pożądanych cząsteczek do wnętrza komórki w jego obecności. Preparat zawiera polimer, który wywołuje szok osmotyczny pośrednicząc w dostarczaniu do komórek innych związków. Takie rozwiązanie działa niczym jak pędzel barwiący określone cząsteczki, które można zobaczyć z użyciem mikroskopii konfokalnej i tym samym obserwować jak wnikają do komórki.

Dr Karina Kwapiszewska twierdzi: „Pokazujemy, że określenie właściwości fizyczne roztworu dostarczającego dany związek ma ścisły wpływ na wyniki badań biologicznych. Naszym zdaniem fizyczny wgląd w odczynniki związane z biologią powinien być punktem wyjścia w ich rozwoju i ulepszaniu. Udowodniliśmy również, że szok osmotyczny jest mniej inwazyjnym dla komórek sposobem dostarczania polimerów niż metoda oparta na tworzeniu liposomów”.

Co więcej, badania zademonstrowane przez interdyscyplinarny zespół z IChF PAN były na tyle obiecujące, że naukowcy postanowili skomercjalizować swoje pomysły i wprowadzić je na rynek.

Nowy produkt w postaci koloidu umożliwia zwiększenie wydajności dostarczania różnych związków chemicznych do komórek poprzez wywołanie szoku osmotycznego. „Naukowcy oferują nowatorski, nieinwazyjny i skuteczny odczynnik Cell-IN, który zapewnia wnikanie do komórek ssaków wielu związków, od małych białek po kwasy nukleinowe, polimery i nanocząsteczki. Zastosowanie Cell-IN nie tylko pozwala na dostarczenie wielu cząsteczek, ale także mikroskopowo monitorować ich mobilność we wnętrzu komórki. Zespół jest otwarty na współpracę i obecnie kontynuuje pracę nad kolejnymi produktami” – czytamy w komunikacie.

Wyniki badań ukazały się w [„Journal of Colloid and Interface Science”](#). Prace były wspierane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju.

Zdjęcie: [luvqs](#) (CC0)

Źródło: [NaukawPolsce.pl](#)