

Analiza strukturalna i funkcjonalna regulacji białka ORP8 transportującego lipidy

Jednymi z głównych składników każdej komórki biologicznej są półprzepuszczalne błony. Błona plazmatyczna oddziela wnętrze komórki od jej otoczenia. Inne błony otaczają organelle wewnątrzkomórkowe takie jak retikulum endoplazmatyczne (RE), aparat Golgiego i mitochondria. Wszystkie z tych błon składają się z różnorodnych makrocząsteczek – głównie różnego rodzaju lipidów i białek – a charakterystyczny skład lipidowy danej błony jest niezbędny do prawidłowego jej funkcjonowania w komórce.

Większość lipidów jest syntetyzowana w retikulum endoplazmatycznym i musi zostać przetransportowana wbrew gradientom ich stężeń do właściwych błon docelowych. Wewnątrzkomórkowy transport lipidów między różnymi organellami odbywa się za pośrednictwem wyspecjalizowanych białek. Rodzina białek ORP (od ang. *oxysterol-binding protein (OSBP)-related proteins*) pośredniczy w przenoszeniu lipidów w miejscach kontaktu błon (np. kontaktów między retikulum endoplazmatycznym a błoną plazmatyczną), co zapewnia transport lipidów z miejsca ich syntezy do błony docelowej, a także utrzymuje właściwy skład lipidowy błon komórkowych. Dlatego proces przenoszenia lipidów przez białka ORP musi być ściśle kontrolowany.

W komórkach ludzkich istnieje kilka typów białek ORP. Niemal wszystkie z nich zawierają trzy charakterystyczne elementy strukturalne, tzn. domenę wiążącą lipidy, domenę transportu lipidów i łącznik między tymi dwiema domenami białkowymi. Elastyczność tego łącznika odgrywa ważną rolę w procesie przenoszenia lipidów między błonami przez białka ORP, jednak uniemożliwia ona również wyznaczenie struktur białek ORP przy użyciu konwencjonalnych metod biologii strukturalnej. Mimo tego, że struktury poszczególnych domen białek ORP zostały wyznaczone dla większości członków rodziny ORP, nie wiadomo wciąż, w jaki sposób domeny te komunikują się i współpracują ze sobą. Z tego powodu mechanizmy molekularne przenoszenia lipidów przez białka ORP pozostają niewyjaśnione.

Jako białko dobrze reprezentujące rodzinę ORP wybieraliśmy w naszych badaniach białko ORP8, ponieważ ma ono typową budowę domenową i podlega ekspresji w *E. coli* w ilościach potrzebnych do eksperymentów biofizycznych. Celem naszego projektu jest wyjaśnienie – na poziomie molekularnym – mechanizmów przenoszenia lipidów między błonami przez białko ORP8. Aby osiągnąć ten cel, połączymy kilka uzupełniających się metod biofizycznych, w tym rentgenografię strukturalną, rozpraszanie promieniowania rentgenowskiego pod małymi kątami, rezonansowy transfer energii Förstera na pojedynczej cząsteczce oraz symulacje dynamiki molekularnej. W badaniach użyjemy sztucznych błon lipidowych aby precyzyjnie monitorować dynamikę białka ORP8 podczas procesu przenoszenia lipidów. Zaproponowany projekt badawczy zostanie zrealizowany w ścisłej współpracy z Instytutem Chemii Organicznej i Biochemii Czeskiej Akademii Nauk w Pradze.