
5. Dneva biofizike 2022

ob 40 letnici Društva biofizikov Slovenije

ZBORNIK POVZETKOV



Celjski dom v Celju

30. in 31. maj 2022

Organizator:

Društvo biofizikov Slovenije
www.drustvo-biofizikov.si

Programski in organizacijski odbor:

Jure Derganc
Matej Krajnc
Daniel Svenšek
Uroš Tkalec
Iztok Urbančič

Zbrala in uredila:

Uroš Tkalec in Jure Derganc

V elektronski obliki izdalo in založilo:

Društvo biofizikov Slovenije
Slovenian Biophysical Society

Izvedbo srečanja sta finančno podprla Mestna občina Celje in Društvo biofizikov Slovenije.

Slika na naslovnici: Celjski dom

(vir: <https://tvu.acs.si/sl/nacionalno-odprtje-tvu-2022-celje/>)

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Univerzitetna knjižnica Maribor

577.3(082)(0.034.2)

DNEVA biofizike (5; 2022; Celje)

Zbornik povzetkov [Elektronski vir] / 5. dneva biofizike 2022 ob 40. letnici Društva biofizikov Slovenije, Celjski dom v Celju, 30. in 31. maj 2022 ; [zbrala in uredila Uroš Tkalec in Jure Derganc]. - E-zbornik. - Ljubljana : Društvo biofizikov Slovenije, 2022

Način dostopa (URL): <http://www.drustvo-biofizikov.si/40let/>

ISBN 978-961-90942-5-9
COBISS.SI-ID 109248771

Predgovor

Glavni namen srečanja Dneva biofizike je podati pregled nad aktualnimi raziskavami na področju biofizike v Sloveniji in, kar je vsaj tako pomembno, omogočiti neformalno druženje in pretok idej med raziskovalkami in raziskovalci, ki delujejo na biofiziki sorodnih področjih, od mehanike in fizike mehke snovi, preko biokemije in farmacije do biologije, veterine in medicine. Tradicija srečanj sega v leto 2013, ko so v okviru Društva biofizikov Slovenije prva Dneva biofizike na Rogli organizirali v Laboratoriju za biofiziko z IJS. Letošnje srečanje je že peto po vrsti in sovpada s 40-letnico društva. Ob tem z veseljem ugotavljam, da je kljub častitljivim letom biofizika še vedno mlada veda v polnem razmahu, kar lepo dokazuje raznovrstnost obravnavanih sistemov in raziskovalnih pristopov v prispevkih iz pričujočega zbornika. Poleg tega je med 70 udeleženci srečanja več kot 20 študentov prve in druge stopnje študija. Velika zahvala organizatorjev gre občini Celje, ki nam je omogočila, da srečanje organiziramo v Celjskem domu. Prepričani smo, da bo to edinstveno okolje še dodatno stimuliralo plodne interdisciplinarne znanstvene debate.

V Ljubljani,

23. maj 2022

Jure Derganc,

predsednik Društva biofizikov Slovenije

Osnovne informacije

Dneva biofizike bosta potekala v Celjskem domu, ki stoji na glavnem trgu nasproti železniške postaje v Celju. Srečanje bo potekalo predvsem v slovenskem jeziku, vendar bomo veseli tudi vseh prispevkov in diskusij v angleščini. Na srečanju bomo imeli 3 vabljenih predavanj (30 min z diskusijo), 18 kratkih predavanj (15 min z diskusijo) in 17 plakatov.



V Celjskem domu bo za udeležence srečanja dostopen Wi-Fi z geslom: celeia03

V kotizacijo je všteto tudi prenočišče z zajtrkom. Študenti 1. in 2. stopnje študija, ki nimajo institucionalnih virov financiranja, bodo nastanjeni v večposteljnih sobah hostla Mladinskega centra Celje, ostali pa v Hotelu Evropa, ki je v neposredni bližini Celjskega doma. Na obeh recepcijah vas pričakujejo.

Hotel Evropa
Krekov trg 4, 3000 Celje
(03) 426 90 00

MCC Hostel, Celjski mladinski center
Mariborska cesta 2, 3000 Celje
(03) 490 87 42

Ponedeljkovo kosilo je organizirano v Restavraciji Stolpič, ki je približno 10 min hoje oddaljena od Celjskega doma. Naslov restavracije je Mariborska cesta 7, 3000 Celje.

PROGRAM DNEVOV BIOFIZIKE 2022

PONEDELJEK, 30. maj 2022

8:45	Registracija
9:20	Pozdravni nagovor
9:30	Boris Rogelj (vabljen predavanje) Fazne separacije proteinov, povezanih z nevrodegeneracijo
10:00	Boris Majaron Neinvazivna analiza sestave in strukture človeške kože <i>in vivo</i> z originalno optično metodo
10:15	Mojca Mally NLP proteini tvorijo majhne pore v membranah rastlinskih celic
10:30	Primož Ziherl Morfologija skupkov vesiklov
10:45	Odmor za kavo
11:15	Simon Čopar Oblikovanje tekočokristalnih kapljic
11:30	Tilen Koklič Nastanek nano-karantene in napovedovanje kroničnega vnetja
11:45	Tilen Potisk Mezokopska simulacijska študija agregacije biofunkcionaliziranih magnetnih nanodelcev
12:00	Zaključek dopoldanske sekcije
12:30	Kosilo v restavraciji Stolpič
14:30	Miha Brojan (vabljen predavanje) Vpliv viskoelastičnosti na evolucijo deformacij zaradi rasti
15:00	Urška Andrenšek Gubanje nepodprtih epitelnih tkiv
15:15	Neža Vadnjal Molekularni nadzor organizacije aktinskega korteksa med celično delitvijo
15:30	Rok Podlipec Korelativna mikroskopija za razumevanje vpliva nanomaterialov na pljučni epitelij
15:45	Odmor za kavo
16:15	Boštjan Kokot Detekcija doze nanodelcev v časovno-odvisni mikroskopiji
16:30	Urška Gradišar Centa Polimerno nanokompozitna prevleka na dotikalnih površinah s širokospektralnim protimikrobnim delovanjem
16:45	Marko Gosak Kolektivna dinamika v mreži pankreasnih celic beta
17:00	Zaključek popoldanske sekcije
18:30	Predavanje o zgodovini društva in podelitev plaket častnim članom
19:00	Predstavitve plakatov z zakusko ob stoječem bifeju

TOREK, 31. maj 2022

9:30	Andrej Vilfan (vabljeno predavanje) Fizika naravnih in umetnih mišketalk
10:00	Ajasja Ljubetič Naključni hodec, narejen iz popolnoma na novo načrtovanih proteinov
10:15	Špela Zemljič Jokhadar Eksperimentalna analiza mehanskih sprememb v celicah raka dojk, ki so povezane z višjim metastatskim potencialom
10:30	Andreja Šarlah Vpliv oscilirajoče zunanje sile na hojo molekularnega motorja
10:45	Odmor za kavo
11:15	Melani Potrč Mehanizmi agregacije zaporedij $d(G_4C_2)_n$, povezanih z boleznimi ALS in FTD
11:30	Blaž Mencinger Sledenje mikroplastiki v <i>in vitro</i> modelih
11:45	Matej Kanduč Agregacija surfaktantov: vpogled skozi simulacije
12:00	Zaključek srečanja

SEZNAM PLAKATOV

Plakat 1

Dinamična robustnost starajoče se mreže sklopljenih bioloških oscilatorjev

Uroš Barać

Plakat 2

Vpliv holesterola na fuzijsko poro

Bojan Božič

Plakat 3

Rešitve za zajem in analizo meritev pri fluorescenčni mikroskopiji

Petra Čotar

Plakat 4

Biološka kompleksnost in informacija v encimskih reakcijah

Andrej Dobovišek

Plakat 5

Neinvazivna karakterizacija tetovaž v človeški koži z uporabo sunkovne fototermalne radiometrije in optične difuzne spektroskopije

Neža Golmajer Zima

Plakat 6

Gosto zlaganje trdih elips na sferi

Andraž Gnidovec

Plakat 7

Napoved vnetnega potenciala nanomaterialov brez testiranja na živalih

Hana Kokot

Plakat 8

Aktivna dinamika medceličnih stikov v tkivih s tesno pakiranimi celicami

Matej Krajnc

Plakat 9

Simulacija odziva imunskega sistema na okužbo s *Pneumocystis jirovecii*

Darin Lah

Plakat 10

Nove fluorescentne sonde za označevanje lipidnih kapljic in plazemske membrane živih celic

Stane Pajk

Plakat 11

Kontrolirano sproščanje vodnih mikrokaplji iz nematske tekočerkristalne kapljice z zunanjo stimulacijo

Rok Štanc

SEZNAM PLAKATOV

Plakat 12

Preučevanje mehanizmov širjenja kalcijevih valov v epiteliju človeške leče: večcelično snemanje in analiza numeričnega modela

Marko Šterk

Plakat 13

Vertikalna veriga vrednosti: od novega znanja do tržno zanimivih novih tehnologij

Iztok Urbančič

Plakat 14

Analiza razvejanosti genomov RNA-virusov

Domen Vaupotič

Plakat 15

Anizotropna deformacija sfero-cilindričnih lupin kot mehanizem za relaksacijo notranjih napetosti

Jan Zavodnik

Plakat 16

Modelska napoved vpliva presnovnih in signalnih poti celice alfa na izločanje glukagona

Jan Zmazek

Plakat 17

Comparison of the inhibitory effects of several anti-oxidants on aggregation of stefin B and cystatin C

Eva Žerovnik

POVZETKI PREDAVANJ

Fazne separacije proteinov, povezanih z nevrodegeneracijo

Boris Rogelj

*Odsek za biotehnologijo, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

Število oseb, ki živijo z demenco in drugimi nevrodegenerativnimi motnjami, narašča. Te bolezni nastajajo pri prizadetih posameznikih skozi več let, so postopoma vse hujše in se po vse težjem oviranju normalnega, samostojnega življenja prizadetega končajo s smrtjo. Te bolezni negativno vplivajo na družine, skupnosti in zdravstvene sisteme po vsem svetu. V nekaterih državah je demenca postala glavni vzrok smrti, vendar še ni znano učinkovito zdravilo, ki bi lahko pozdravilo ali kontroliralo potek kateregakoli nevrodegenerativnega obolenja. Nujno potrebno je poglobiti in izboljšati znanje o vzrokih in poteku teh bolezni, zlasti na molekularnem in celičnem nivoju. Katere so pomembne bolezenske spremembe v nevronih na molekularnem nivoju? Kako do njih pride? Kakšne so posledice? Kako lahko na vse to vplivamo? Na ta način lahko identificiramo nove tarče za razvoj zdravilnih učinkovin, ki bi omogočile uspešnejše zdravljenje z intervencijskimi terapijami. Pri večini bolnikov s temi boleznimi prihaja do kopičenja oziroma agregacije določenih proteinov znotraj ali zunaj živčnih celic. Novejše raziskave kažejo, da imajo ti proteini določene pomembne lastnosti. Večinoma imajo dele oziroma domene, ki nimajo posebnih struktur, vendar so zelo pomembne za medsebojne interakcije. Te interakcije omogočajo večje zbliževanje teh proteinov in v določenih pogojih, fazno separacijo v tekočini. Take "proteinske kapljice" so lahko zelo kompleksne in tvorijo nemembranske organele, kjer potekajo specifični fiziološko pomembni procesi. Vendar zaradi bolezni in povezanega rušenja homeostaze v celici v takih kapljicah lahko pride do večjega zbliževanja teh proteinov in tvorbe patoloških agregatov, ki škodijo nevronom in drugim celicam živčevja.

Neinvazivna analiza sestave in strukture človeške kože *in vivo* z originalno optično metodo

Boris Majaron^{1,2}, Nina Verdel¹, Ana Marin² in Matija Milanič^{1,2}

¹Odsek za kompleksne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

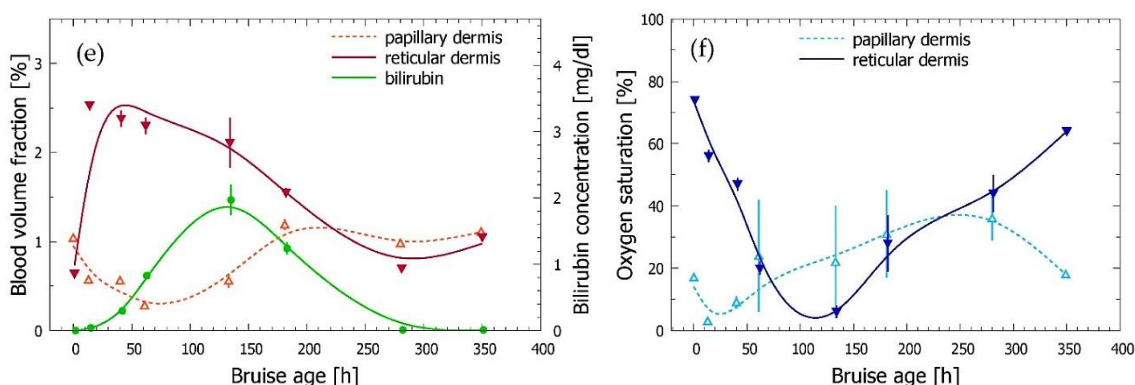
²Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

V naši raziskovalni skupini smo v zadnjih letih uvedli originalno metodo za neinvazivno določanje strukture in sestave človeške kože *in vivo* [1]. Pristop temelji na uporabi dveh optičnih tehnik, difuzne refleksijske spektroskopije (DRS) in sunkovne fototermalne radiometrije (PPTR).

Pri DRS zajemamo in spektralno analiziramo vidno svetlobo, ki po večkratnem sipanju v notranjosti kože izhaja iz njene površino. To omogoča prepoznavanje snovi z značilnimi absorpcijskimi spektri. Vendar pa njihove količine ne moremo določiti brez poznavanja njihove globinske porazdelitve, torej vsaj debeline osnovnih plasti kože (povrhnjica, papilarna in retikularna usnjica) ter njihovih sipalnih lastnosti. Po drugi strani tehnika SFTR temelji na meritvah tranzientne spremembe srednje infrardečega sevanja s površine kože ($\lambda = 3\text{--}5\ \mu\text{m}$) po obsevanju s kratkim svetlobnim sunkom, ki vsebuje informacijo o globinski porazdelitvi absorpcije. Vendar tudi ta pristop ne omogoča hkratne določitve vsebnosti večjega števila substanc, prisotnih človeški koži.

Z združitvijo obeh tehnik presežemo njune omejitve in omogočimo neinvazivno določitev več fiziološko relevantnih parametrov (npr. vsebnost melanina in krvi, nasičenost slednje s kisikom) ter strukturnih in sipalnih lastnosti izbranega mesta. To dosežemo s hkratnim prilagajanjem napovedi numeričnega modela sodelovanja svetlobe s kožo izmerjenim DRS spektrom in PPTR signalom v procesu visokodimenzionalne optimizacije (tj. inverzni Monte Carlo). Zaradi računske intenzivnosti postopka pri tem uporabljamo tudi metode strojnega učenja [2].

Po predstavitvi metode bom orisal dva aktualna primera njene uporabe, analizo laserskega odstranjevanja tetovaž [3] in študijo hemodinamike v potpludbah (slika 1)[4].



Slika 1: Časovni poteki vsebnosti krvi in bilirubina (levo) ter stopnja oksigenacije krvi (desno) v koži prostovoljke s potpludbo, določeni z zgoraj opisano metodo [4].

[1] N. Verdel, A. Marin, M. Milanič, B. Majaron, *Biomed. Opt. Express*, **10**, 944 (2019).

[2] N. Verdel, J. Tanevski, S. Džeroski, B. Majaron, *Biomed. Opt. Express*, **11**, 1679 (2020).

[3] N. Verdel, M. Lukač, B. Majaron, *Proc. SPIE*, **11211**, 112110X (2020).

[4] A. Marin, N. Verdel, M. Milanič, B. Majaron, *Sensors*, **21**, 302 (2021).

NLP proteini tvorijo majhne pore v membranah rastlinskih celic

Mojca Mally¹, Katja Pirc², Tina Snoj², Gregor Anderluh² in Jure Derganc¹

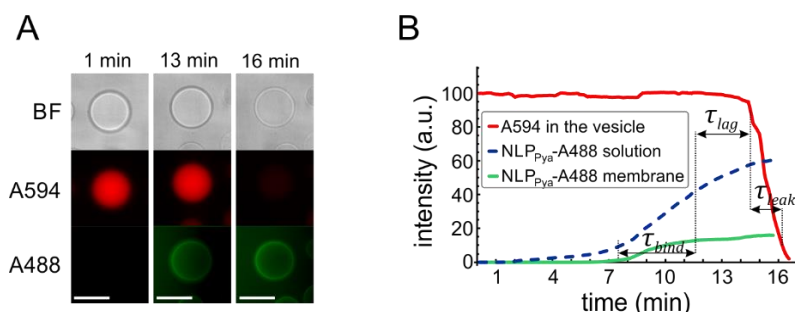
¹Inštitut za biofiziko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

²Kemijski inštitut, Ljubljana

Bolezni rastlin lahko povzročijo obsežno škodo na pridelkih, zaradi česar predstavljajo resno grožnjo stabilni svetovni oskrbi s hrano. Ena takšnih bolezni je na primer krompirjeva plesen, ki je med drugim povzročila hudo lakoto na Irskem v 19. stoletju in tudi v današnjem času predstavlja velik globalni problem, a je še vedno ne razumemo v celoti. Povzročitelji teh bolezni so najrazličnejši patogeni mikrobi od bakterij in gliv do oomicet (glivam podobni mikroorganizmi), ki izločajo proteine, s katerimi poškodujejo rastline gostiteljice.

V študiji [1] smo se osredotočili na proteine NLP (ang. Necrosis and ethylene-inducing peptide 1-like proteins), ki povzročajo zamrtje semen na raznih poljščinah. Raziskali smo interakcije teh proteinov z modelnimi membranami, ki so vsebovale rastlinske lipide glikozilinozitol fosforilceramide (GIPC), nujne za vezavo proteinov NLP na membrano. Z uporabo biokemijskih in biofizikalnih metod ter računalniških simulacij smo pokazali, da proteini NLP poškodujejo membrano v večstopenjskem procesu, ki vključuje začetno vezavo proteinov na lipide GIPC v membrani, površinsko agregacijo proteinov in posledično tvorbo majhnih, začasnih por v membrani, preko katerih se iz rastlinske citoplazme sproščajo majhne molekule, ki služijo patogenom za hranila. Glede na razširjenost proteinov NLP je poznavanje mehanizmov njihovega delovanja ključno za razvoj strategij za zaščito rastlin brez povzročanja škode drugim organizmom.

V predavanju bo posebej predstavljena nova mikrofluidična metoda, ki smo jo razvili za analizo interakcij toksinov z modelnimi membranami. Vesikle z lipidi GIPC smo opazovali v mikrofluidični komori, kjer so bili izpostavljeni naraščajoči koncentraciji proteinov NLP. Analizirali smo vezavo proteina NLP, označenega s fluorescentnim markerjem A488 (zelen signal na sliki 1A), na membrano vesikla, ter koncentracijo markerja A594 (rdeč signal) v notranjosti vesiklov. Iz ugotovljenih odvisnosti fluorescentnih signalov od časa (slika 1B) smo lahko sklepali, da je povečana prepustnost membrane posledica relativno počasne nukleacije in nato hitre agregacije proteinov, zaradi česar pride do značilnega zamika med nasičenostjo signala proteina na membrani in začetka upadanja signala A594 (τ_{lag}).



Slika 1: (A) Posnetki vesikla z GIPC membrano v dveh fluorescenčnih kanalih hkrati za analizo vezave proteinov NLP (zeleno) na membrano in koncentracije molekul A594 (rdeče) v notranjosti vesikla. (B) Analiza vezave proteina NLP ter izhajanja molekul A594 iz vesikla v odvisnosti od časa na podlagi fluorescentnih signalov iz (A).

Zahvala: dr. Gašperju Kokotu (IJS, prej IBF) za pomoč pri oblikovanju software-a (MatLab) za analizo posnetkov iz mikrofluidike, in vsem sodelavcem te obsežne mednarodne študije [1].

[1] K. Pirc in sod., *Science Advances*, **8**, 10 (2022).

Morfologija skupkov vesiklov

Toshikaze Chiba¹, Yuka Sakuma¹, Primož Ziherl² in Masayuki Imai¹

¹*Oddelek za fiziko, Univerza Tohoku, Sendai*

²*Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani
in Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

Eksperimentalne študije skupkov vesiklov so razjasnile številne pojave, ki jih povzroča medmembranska adhezija. Podrobna primerjava opaženih morfologij dubletov s teoretičnimi rezultati, ki temeljijo na upogibni elastičnosti in kontaktni adheziji, je npr. pokazala, da preprost model veziklov s konstantno membransko površino za skupke ni primeren in da je ustrežnejši model, v katerem sta za stični in prosti del membrane značilni različni mehanični napetosti [1]. Predstavili bomo oblike in transformacije dubletov in tripletov vesiklov, napolnjenih z raztopino fruktoze in suspendiranih v raztopini KCl, ki nadzira efektivno jakost adhezije med vesikli. Osredotočili se bomo na deformacijo različnih vrst skupkov ob raztezanju membrane zaradi segrevanja in pokazali, da se pri tem skupki, sprva podobni dubletom oziroma tripletom milnih mehurčkov, pri nizkih koncentracijah KCl spremenijo v skupke šibko povezanih cigarastih vesiklov, medtem ko tvorijo pri visokih koncentracijah KCl kompaktne kroglaste skupke. Ta opažanja bomo primerjali s teoretičnimi rezultati, dobljenimi z modelom dveh napetosti in *ad hoc* modela, v katerem učinek adhezije nadomestimo z ograditvijo in ki razloži obliko kompaktnih skupkov. Ujemanje eksperimentalnih in teoretičnih rezultatov je lepo, a nepopolno, kar izpostavlja več temeljnih vprašanj, npr. prisotnost spontane ukrivljenosti membran v asimetričnih raztopinah [2].

[1] K. Murakami, R. Ebihara, T. Kono, T. Chiba, Y. Sakuma, P. Ziherl, M. Imai, *Biophys. J.* **119**, 1735 (2020).

[2] R. Lipowsky, H.-G. Döbereiner, *EPL* **43**, 219 (1998).

Oblikovanje tekočekristalnih kapljic

Karthik Peddireddy^{1,2}, Simon Čopar³, Khoa V. Le⁴, Igor Muševič^{5,3}, Christian Bahr⁴ in

Venkata S. R. Jampani^{1,5,6}

¹*Max Planck Institute for Dynamics and Self-Organization, Göttingen*

²*Department of Physics and Biophysics, University of San Diego, San Diego*

³*Faculty of Mathematics and Physics, University of Ljubljana, Ljubljana*

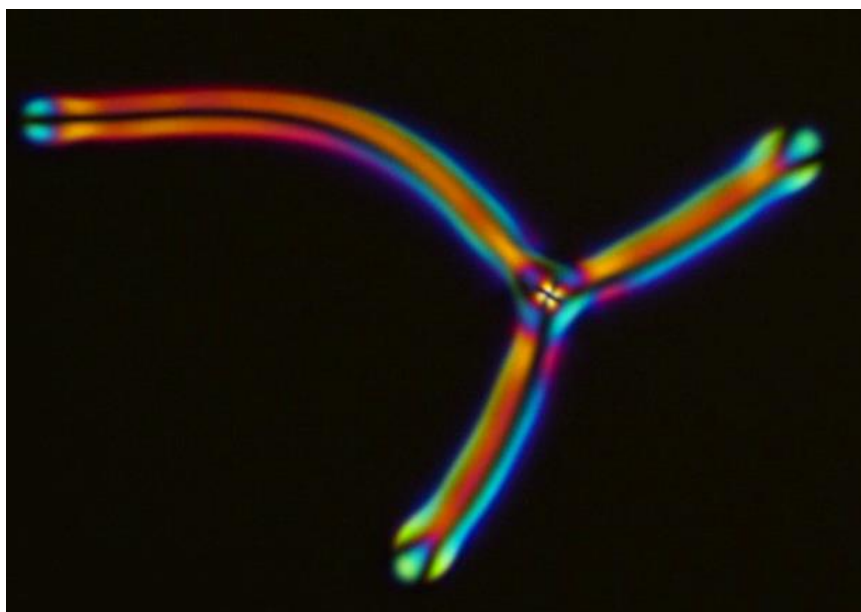
⁴*Faculty of Science, Tokyo University of Science, Tokyo*

⁵*Jožef Stefan Institute, Ljubljana*

⁶*Physics and Materials Research Unit, University of Luxembourg, Luxembourg*

Kapljice izotropnih tekočin težijo k sferični obliki, ker s tem minimizirajo površinsko energijo. V tekočih kristalih elastične sile, ki so posledica orientacijskega reda v materialu, lahko to obliko deformirajo, vendar so še vedno podvržene splošni težnji po čim manjši površini, kar preprečuje bolj nenavadne oblike. Da zares dosežemo raznolike oblike z občutno večjo površino, se moramo osvoboditi vpliva površinske napetosti, ki mora biti čim manjša, če ne celo negativna.

Predstavil bom, kako s kombinacijo surfaktantov, ki ju vnesemo tako v tekočekristalno kot v vodno fazo, dosežemo stanja z negativno površinsko energijo [1]. Površinsko napetost lahko reguliramo s spreminjanjem temperature. Kombinacija elastičnosti in težnje po rasti površine omogoča nastanek razvejanih vlaken znane debeline in njihov razpad v kapljice. V različnih tekočekristalnih fazah opazimo tudi druge oblike, ki smo jih bolj navajeni v biološkem kontekstu.



[1] K. Peddireddy, S. Čopar, K. V. Le, I. Muševič, C. Bahr, V. S. R. Jampani, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **118**, e2011174118 (2021).

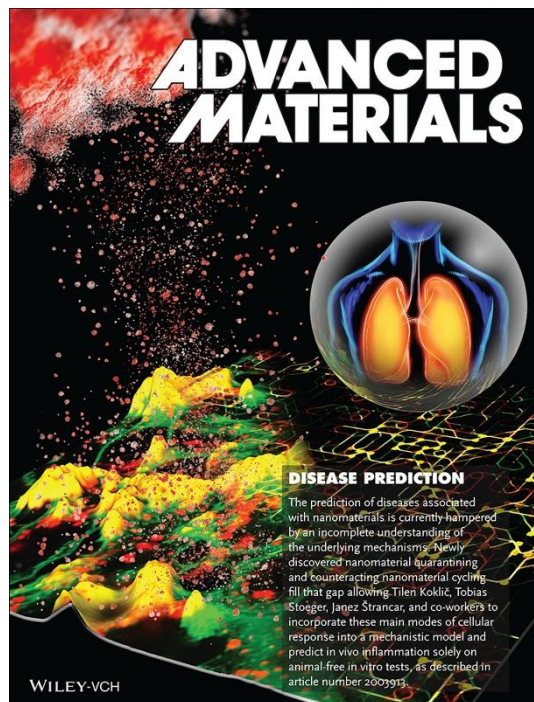
Nastanek nano-karantene in napovedovanje kroničnega vnetja

Tilen Koklič¹, Hana Kokot¹, Boštjan Kokot¹, Aleksandar Sebastijanović¹, Tobias Stoeger² in Janez Štrancar¹

¹Laboratorij za biofiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

²Institute of Lung Biology and Disease, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg

V okviru evropskega projekta H2020 SmartNanoTox smo v sodelovanju z evropskimi toksikologi pokazali, da nanocevkke TiO_2 povzročijo nastanek kompozitov nanocevk, lipidov ter fibrogenih proteinov, ki so zelo podobni plakom, ki nastajajo pri nevrodegenerativnih boleznih. Pojav smo poimenovali nano-karantena. Vrednost dela je okrepilo dejstvo, da smo proces nastanka nano-karantene za več različnih nanodelcev opazili tudi v miškah. To je omogočilo odkritje enega prvih in vitro/in silico testov za napovedovanje kroničnega vnetja brez uporabe živali. Članek v soavtorstvu 34 avtorjev je bil leta 2020 izbran za naslovnico poglavja v prestižni reviji *Advanced Materials*, znani po izraziti interdisciplinarnosti [1].



[1] H. Kokot, B. Kokot, A. Sebastijanović, C. Voss, R. Podlipec, P. Zawilska, T. Berthing, C. Ballester-López, P. Høgh Danielsen, C. Contini, M. Ivanov, A. Krišelj, P. Čotar, Q. Zhou, J. Ponti, V. Zhernovkov, M. Schneemilch, Z. Doumandji, M. Pušnik, P. Umek, S. Pajk, O. Joubert, O. Schmid, I. Urbančič, M. Irmeler, J. Beckers, V. Lobaskin, S. Halappanavar, N. Quirke, A. P. Lyubartsev, U. Vogel, Tilen Koklič*, T. Stoeger*, J. Štrancar*. Prediction of Chronic Inflammation for Inhaled Particles: The Impact of Material Cycling and Quarantining in the Lung Epithelium, *Advanced Materials*, **32**, 2003913 (2020).

Mezoscopska simulacijska študija agregacije biofunkcionaliziranih magnetnih nanodelcev

Tilen Potisk^{1,2}, Daniel Svenšek^{1,2}, Jurij Sablič^{1,3} in Matej Praprotnik^{1,2}

¹*Kemijski inštitut, Teoretični odsek, Ljubljana*

²*Fakulteta za Matematiko in Fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

³*University of Barcelona, Department of Fundamental Physics, Spain*

Zgodnja detekcija in spremljanje stanja bolezni je ključnega pomena za uspešno zdravljenje. Izkaže se, da se za detekcijo prisotnosti biomarkerjev, specifičnih za določeno bolezen, lahko uporabi tudi magnetne nanodelce. Osnovna ideja pri tem je ustrezna funkcionalizacija samih površin nanodelcev s posebnimi ligandi ali protitelesi, ki točno prepoznajo biomarkerje [1]. V primeru multivalentnosti le-teh se nanodelci začnejo združevati. Novonastale gruč nanodelcev imajo drugačen makroskopski odziv na zunanje magnetno polje kot homogeno dispergirani nanodeleci, kar se da relativno enostavno izmeriti. Natančneje, zaradi povečanega hidrodinamskega radija gruč, zmanjšanja rotacijske gibljivosti nanodelcev in deloma zaradi povečane dipolne interakcije znotraj gruč se zmanjša površina dinamične histerezne krivulje.

S pomočjo mezoskopskih metod disipativne delčne dinamike [2] in metode Lattice-Boltzmann [3] smo modelirali dinamiko biofunkcionaliziranih nanodelcev v vodi v prisotnosti biomarkerjev. Hkrati smo razvili model, ki sklopi enačbe molekularne dinamike in enačbe za opis magnetne prostostne stopnje [4]. V okviru tega modela smo študirali dinamiko agregacija nanodelcev in ugotovili pomemben vpliv koncentracije biomarkerjev na velikost gruč. Sama agregacija pa pomembno vpliva na dinamično magnetno histerezo.

[1] A. Fornara, P. Johansson, K. Petersson, S. Gustafsson, J. Qin, E. Olsson, D. Ilver, A. Krozer, M. Muhammed, C. Johansson, *Nano Lett.*, **8**, 3423 (2008).

[2] P. Hoogerbrugge, J. Koolman, *Europhys. Lett.*, **19**, 155 (1992).

[3] T. Krüger, H. Kusummaatmaja, A. Kuzmin, O. Shardt, G. Silva, E. M. Viggien, *Springer, Cham* (2017).

[4] K. D. Usadel, C. Usadel, *J. Appl. Phys.*, **118**, 234303 (2015).

Vpliv viskoelastičnosti na evolucijo deformacij zaradi rasti

Miha Brojan

*Laboratorij za nelinearno mehaniko
Fakulteta za strojništvo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

V današnjem času postaja analiza deformacijskih mehanizmov zanimiva tudi v biologiji tkiv, še posebej pri mehanističnih opisih razvoja organov, npr. pljuč [1], možganov [2] in črevesja [3]. V večini primerov modeli ne vključujejo aktivnega viskoznega odziva snovi, temveč je aproksimiran z elastičnim odzivom v kratkih in dolgih časovnih limitah. Izračuni pa kažejo, da je viskozna komponenta odziva pogostokrat ključna za oblikovanje končnih deformacijskih oblik, še posebej, ko je v procesu rasti tkiv sama rast mnogo hitrejša od viskoelastičnih procesov relaksacije. Takrat se lahko sistem znajde tudi v stanju izven statičnega ravnovesja, [4].

V tej predstavitvi bomo na preprostem primeru pokazali pomembnost združitve učinkov nelinearne kinematike in viskoznosti ter pokazali, kako to vpliva na evolucijo deformacijskih vzorcev. Izkaže se, da je zelo priročen sistem za preučevanje omenjenih interakcij periodično gubanje tankega elastičnega filma na mehkem viskoelastičnem substratu. Ta sistem je dovolj preprost za numerično in včasih (pod določenimi predpostavkami) analitično obravnavo nelinearne viskoelastične evolucije deformacij. Kljub temu lahko na tem sistemu razvoj deformacij postane zelo zapleten in močno odvisen od začetnih in robnih pogojev ter morebitnih perturbacij.

Predstavili bomo visko-hiperelastično teorijo končnih deformacij, teorijo rasti, metodo končnih elementov za reševanje sistema nelinearnih časovno odvisnih enačb in metodo dinamične relaksacije. Pri tem bomo pokazali, da lahko v primeru, ko je začetna disipacija energije pri prerazporejanju gub prevelika, sistem »zamrzne« v navidezno neravnovesnem deformacijskem stanju, ki se razlikuje od tistega, ki bi ga dobili v primeru čisto elastične snovi, npr. z upoštevanjem elastičnih limit. Sistem lahko v takšnem stanju ostane tudi trajno, če je disipacija energije večja, kot je potrebna za premagovanje energijske ovire. Alternativno se lahko sistem deformira (relaksira) tudi tako počasi, da se parametri okolja med procesom spremenijo in zato ostane trajno v navidezno neravnovesnem stanju [4]. Takšni deformacijski vzorci deformacije so kar pogosti tudi v naravi [5].

Predstavljeni računski model je uporaben tudi v razvoju sodobnih inženirskih aplikacij, ki izkoriščajo časovno odvisnost, prehodne pojave in metastabilna stanja v viskoznem gradivu kot aktivni mehanizem za njihovo napredno funkcionalnost. Tako lahko npr. drastično povečanje hitrosti obremenjevanja drastično poveča trdnost gradiva, kar se izkorišča za izdelavo npr. pametnih cestnih grbin za omejevanje hitrosti, disipativne lastnosti viskoelastičnih gradiv pa npr. za vibracijsko in zvočno izolacijo, blaženje trkov, itn.

[1] K. Goodwin *idr.*, *Development* **146**, 181172 (2019).

[2] T. Tallinen *idr.*, *Nature Physics* **12**, 588 (2016).

[3] A. E. Shyer *idr.*, *Science* **342**, 212 (2013).

[4] D. A. Matoz-Fernandez *idr.*, *Physical Review Research* **2**, 013165 (2020).

[5] T. Ruiz-Herrero *idr.*, *Physical Review Letters* **123**, 038102 (2019); D. Espeso *idr.*, *Physical review E* **91**, 022710, (2015); M. Nelson *idr.*, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, **10**, 883 (2010).

Gubanje nepodprtih epitelnih tkiv

Urška Andrenšek^{1, 2}, Primož Ziherl^{1, 2} in Matej Krajnc²

¹*Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Odsek za teoretično fiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

Oblike epitelnih tkiv v bioloških sistemih so izredno pestre. Njihove morfologije so pogosto posledica kombinacije zunanjih in aktivnih sil. V delu predstavimo model razsežnega enoplastnega tkiva z diferencialno površinsko napetostjo na apikalni in bazalni strani. Iz njega izpeljemo obliko stacionarnega stanja tkiva pod vplivom zunanjega stiska kot funkcijo površinskih napetosti. Nadalje izpeljemo kritično diferencialno površinsko napetost, pri kateri tkivo preide iz režima upogibanja v režim gubanja, ki ne nastopi pri nepodprtih nebioloških tankih plasteh. Analitične rešitve primerjamo z numeričnimi simulacijami ogliščnega modela enoplastnega tkiva, ki potrjujejo nagubano stacionarno obliko tkiva. Model tako analitično prvič opiše gubanje v nepodprti tanki plasti pod vplivom zunanjega stiska.

Molekularni nadzor organizacije aktinskega korteksa med celično delitvijo

Neža Vadjal^{1,2}, Sami Nourreddine^{3,4}, Geneviève Lavoie³, Murielle Serres^{1,5}, Fabio Parmeggiani⁶, Philippe P. Roux^{3,7} in Ewa K. Paluch^{1,2}

¹*MRC Laboratory for Molecular Cell Biology, University College London, London*

²*Department of Physiology, Development and Neuroscience, University of Cambridge, Cambridge*

³*Institute for Research in Immunology and Cancer, Université de Montréal, Montreal*

⁴*Department of Bioengineering, University of California San Diego, La Jolla*

⁵*Institut Pasteur, Paris*

⁶*School of Chemistry, University of Bristol, Bristol*

⁷*Department of Pathology and Cell Biology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal*

Celični korteks je tanka plast aktina in miozina pod celično membrano. Miozinski motorji nadzorujejo površinsko napetost v korteksu in tako celični površini, gradienti v tej napetosti pa vodijo do sprememb celične oblike. Sestava aktinske mreže je poleg miozina ključna pri ustvarjanju površinske napetosti korteksa, vendar pa je malo znano o tem, kateri so ključni molekularni faktorji pri nadzorovanju organizacije aktinske mreže.

Za identifikacijo potencialnih regulatorjev organizacije korteksa smo izvedli masno spektrometrijo na izoliranih korteksih iz interfaznih in mitotičnih celic, ki se razlikujejo po površinski napetosti. Skupno smo odkrili več kot 922 različnih beljakovin v aktinskem korteksu. Osredotočili smo se predvsem na beljakovine povezane z aktinom kot regulatorje površinske napetosti korteksa. Naša analiza na primer kaže na vlogo septinov kot regulatorjev celične oblike.

Zanimivo je, da rezultati masne spektrometrije ne kažejo na velike razlike v številu aktinskih zamreževalcev, ki organizirajo aktinske filamente v mreže in svežnje, med interfazo in mitozo. Zato smo predvideli, da so lahko tudi druge lastnosti zamreževalcev, zlasti njihova velikost, pomembne pri regulaciji organizacije celičnega korteksa. Ustvarili smo "artificial crosslinkers", pri katerih lahko moduliramo njihovo velikost neodvisno od drugih lastnosti. S tem orodjem smo pokazali, da velikost zamreževalcev vpliva na dinamiko celične delitve in obliko celic v mitotični fazi. Skupaj smo v tej raziskavi pokazali nove ravni regulacije organizacije aktinske mreže in površinske napetosti celičnega korteksa.

Korelativna mikroskopija za razumevanje vpliva nanomaterialov na pljučni epitelij

Rok Podlipec^{1,2}, Ana Krišelj¹, Luka Pirker¹, Gregor Hlawacek², Mitja Kelemen¹, Alessandra Gianoncelli³ in Janez Štrancar¹

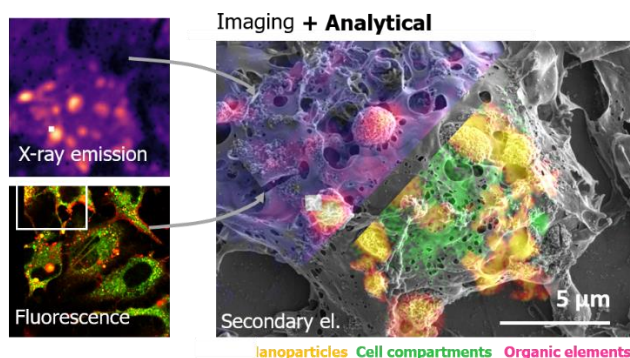
¹*Institut Jožef Stefan, Ljubljana, Slovenia*

²*Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf e. V., Dresden*

³*Elettra - Sincrotrone Trieste, Bazovica-Trst*

Celovito razumevanje mehanizmov, ki lahko vodijo do kroničnega vnetja v tkivih po izpostavljenosti različnim nanomaterialov, je zelo pomanjkljivo. V primeru pljučnega tkiva lahko ponavljajoči se dogodki izpostavljenosti npr. kovinskim oksidom ali ogljikovim nanomaterialom sčasoma privedejo do trajnega vnetja in nadaljnjih srčno-žilnih bolezni [1,2]. Vnetja se pojavljajo tudi v tkivih ob kolčnih protezah, ki zaradi stalne izpostavitve kovinskim ostankom obrabe iz bližnjih implantatov lahko privedejo do zavrnitev [3]. Da bi bolje razumeli te procese, je potrebno razumeti in raziskati začetne dogodke in mehanizme na molekularni skali, za to pa je potrebna uporaba naprednih mikroskopskih tehnik. V zadnjem obdobju se vedno bolj uveljavlja uporaba korelativnih mikroskopij (CM), ki s kombinacijo komplementarnih in naprednih pristopov na istem vzorcu lahko bolje razkrije nove pojave.

V predstavitvi bomo prikazali nov pristop uporabe naprednih korelativnih mikroskopij in spektroskopij, s katerimi smo odkrili nove strukturne kot tudi funkcionalne informacije o nedavnih in tekočih študijah vpliva nanomaterialov na vnetja pljuč in obkolčnih tkiv (slika 1) [4,5]. S kombinacijo visoko ločljive optične mikroskopije (STED), fluorescenčne mikrospektroskopije (hiperspektralni FLIM), helijeve ionske mikroskopije (HIM), sinhrotronske fluorescence z rentgenstimi žarki (XRF), vrstične elektronske mikroskopije (SEM-EDS) in analitske metode s protonskim žarkom (PIXE) razkrivamo nove informacije o začetnih mehanizmih interakcije nanomaterialov z omenjenimi tkivi na nano in podcelični skali, ki nam edine lahko pomagajo pri boljšem poznavanju vzročnih povezav dogodkov na področju nanotoksikologije.



Slika 1. Korelativna mikroskopija na modelnem sistemu pljučnega epitelija.

- [1] X. Li, L. Jin, H. Kan, *Nature*, **570**, 437 (2019).
- [2] E. Underwood, *Science*, **355**, 342 (2017).
- [3] S.B. Goodman, J. Gallo, E. Gibon, M. Takagi, *Expert. Rev. Med. Devices*, **17**, 41 (2020).
- [4] H. Kokot *et. al*, *Advanced Materials*, **32**, 2003913 (2020).
- [5] R. Podlipec *et. al*, *Materials*, **14**, 3048 (2021).

Detekcija doze nanodelcev v časovno-odvisni mikroskopiji

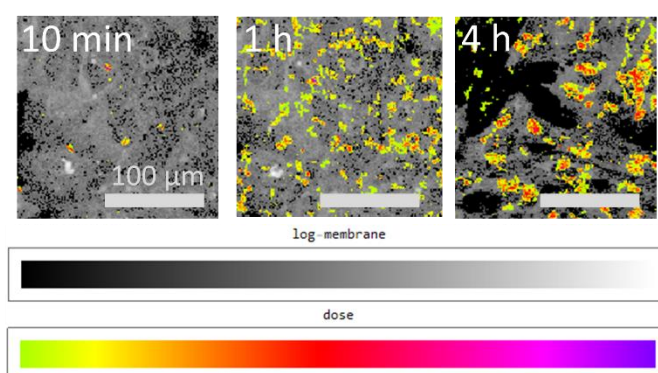
Boštjan Kokot in Janez Štrancar

Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Nanodelci, ki so prisotni v našem okolju, so lahko nevarni tako za človeka kot za okolje. Vdihovanje nanodelcev prisotnih v zraku lahko na dolgi rok vodi do resnejših posledic, kot so srčno-žilne bolezni, Alzheimerjeva bolezen in prezgodnja smrt [1]. Kot merilo za škodljivost nanodelcev se uporablja parameter imenovan doza, ki je definiran kot količina nanodelcev (masa, površina) na (površinsko) enoto tkiva ali celice. Nanodelce pri določeni dozi obravnavamo kot toksične takrat, ko pri tej dozi še opazimo škodljiv učinek na biološki sistem. Na podlagi takih meritev se nanodelce klasificira kot varne oz. nevarne, zato je določitev pravilne doze ključnega pomena. Pri konvencionalnem načinu izračuna doze je predpostavljena enakomerna porazdelitev nanodelcev na celicah, ki ni časovno odvisna [2]. To običajno ni res, na kar kažejo tudi naši eksperimentalni podatki [3].

Predstavili bomo nov pristop k obravnavi doze, kjer lahko iz dvokanalnih fluorescenčnih mikroskopskih slik določimo površino tako membran in kot tudi nanodelcev, kar nam omogoča prostorski izris lokalne doze na celicah na vsaki sliki časovno-odvisne serije. To nam je omogočilo spremljanje časovne odvisnosti doze nanodelcev za vsako celico posebej, pri čemer smo ugotovili, da je doza zelo nehomogena že od prvega kontakta nanodelcev s celicami in se močno spreminja s časom. Tovrstno časovno sledenje nanodelcem in njihove doze na lokalni ravni omogoča lokalizacijo in identifikacijo možnih mehanizmov toksičnosti nanodelcev, ki so s trenutnimi tehnikami še nedostopni in posledično večinoma nejasni.

časovno spreminjanje doze v biološkem sistemu



[1] S. Salvi, *Paediatr. Respir. Rev.* **8**, 275 (2007).

[2] O. Schmid, F. R. Cassee, *Part. Fibre Toxicol.* **14**, 52 (2017).

[3] H. Kokot, *et al.*, *Adv. Mater.* **32**, 2003913 (2020).

Polimerno nanokompozitna prevleka na dotikalnih površinah s širokospektralnim protimikrobnim delovanjem

Urška Gradišar Centa¹, Meta Sterniša², Sonja Smole Možina² in Maja Remškar³

¹Laboratorij za eksperimentalno mehaniko, Fakulteta za strojništvo, Univerza v Ljubljani

²Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

³Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Na javnih dotikalnih površinah obstaja velika verjetnost prenosa virusnih, bakterijskih in glivičnih okužb, zato se razvijajo številni polimerni nanokompoziti s protimikrobnim delovanjem in protiadhezivnimi lastnostmi, ki zmanjšujejo možnost kolonizacije mikroorganizmov ter posledično njihovo rast na površinah. Polimerni nanokompozit z nanožicami molibdenovega trioksida (PVDF-HFP/PVP/MoO₃) ima hidrofilno nanostrukturirano površino, na kateri so prisotne otočaste strukture, in je pozitivno nabita [1]. Nanožice MoO₃ se v vodnem okolju raztapljajo, prehodno nastaja molibdenova kislina, v stacionarnem stanju pa prevladuje prisotnost ionov MoO₄²⁻ in H₂Mo₇O₂₄⁴⁻ [2]. Nastalo kislino okolje pa sproža hidrolizo PVP polimera, pri kateri nastajata tudi karboksilna kislina in amonijeve soli. Protimikrobna aktivnost nanokompozita je bila zaznana na dveh Gram pozitivnih (*S. aureus*, *L. monocytogenes*) in dveh Gram negativnih (*P. aeruginosa*, *E. coli*) bakterijah, saj po 6 urah izpostavljenosti nismo več detektirali preživelih bakterijskih kolonij. Kolonije plesni *P. verrucosum* in *P. anomala* so bile deaktivirane po 24 urah; število kolonij *C. albicans* se je v enakem času zmanjšalo za 1.4 log. Pri plesni *A. flavus* pa bistvene redukcije števila kolonij nismo zaznali. Za aktivacijo protimikrobnega delovanja je potrebna le prisotnost vode v tekoči ali parni fazi. Nanos takih prevlek na dotikalne površine pa bi pripomogel tudi k zmanjšanju uporabe razkužilnih sredstev.

[1] U. Gradišar Centa, M. Sterniša, B. Višić, Ž. Federl, S. Smole Možina, M. Remškar, *Surface Innovations* **9**, 256 (2021).

[2] U. Gradišar Centa, P. Kocbek, A. Belcarz, S. D. Škapin, M. Remškar, *Journal of Nanomaterials*, 9754024 (2020).

Kolektivna dinamika v mreži pankreasnih celic beta: centralne celice, ritmovniki in samoorganizacija

Marko Šterk^{1,2}, Jurij Dolenshek^{1,2}, Maša Skelin Klemen², Lidija Križančič Bombek², Eva Paradiž Leitgeb², Jasmina Kerčmar², Matjaž Perc^{1,3,4,5}, Marjan Slak Rupnik^{2,4,6}, Andraž Stožer² in Marko Gosak^{1,2}

¹*Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor*

²*Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor*

³*Kitajska medicinska univerza, Taichung, Tajvan*

⁴*Alma Mater Europaea ECM, Maribor*

⁵*Complexity Science Hub Vienna, Dunaj*

⁶*Medicinska Univerza na Dunaju, Dunaj*

Langerhansovi otočki so večcelični sestavi, v katerih je več sto celic beta povezanih v mrežo, tako da lahko delujejo sinhrono, kar zagotavlja pravilno izločanje inzulina – anabolnega hormona, ki je ključen za nadzor presnovne homeostaze. Celična aktivnost v otočkih je kompleksna: celice beta izkazujejo multimodalno ritmično aktivnost, zanje je značilna večplastna funkcionalna heterogenost in ves čas so podvržene interakciji z dinamičnim okoljem. Kakšen je pomen heterogenosti celic beta in kako si z medceličnim komuniciranjem zagotovijo usklajeno delovanje, ni povsem jasno. Napredek na področju večceličnega snemanja kalcijeve dinamike, optogenetskih in fotofarmakoloških strategij ter teorije omrežij je pripomogel k identifikaciji specializiranih subpopulacij celic beta, ki bistveno vplivajo na kolektivno aktivnost otočkov [1, 2]. Pokazano je bilo, da t. i. centralne celice, torej celice, ki imajo v funkcionalni mreži veliko število povezav, bistveno povečajo komunikacijske zmogljivosti medceličnega omrežja in omogočajo učinkovito širjenje medceličnih Ca^{2+} valov. Prav tako je bilo ugotovljeno, da se slednji prožijo v posebnih subpopulacijah celic beta, v t. i. območjih ritmovnikov, ki imajo višjo raven vzdraženosti ter pospešen celični metabolizem. Ne le, da ni znano, v kolikšni meri te subpopulacije sovpadajo, kakšne so njihove funkcionalne značilnosti in kako sovisno oblikujejo večcelično dinamiko, tudi mnenja različnih raziskovalnih skupin glede tega so deljena [3]. V naši študiji smo se teh vprašanj lotili s kombinacijo večceličnega Ca^{2+} slikanja v tkivnih rezinah trebušne slinavke miši in pristopov s področja kompleksnih mrež. Na podlagi posameznih Ca^{2+} valov smo zgradili večplastno omrežje, da bi prepoznali iniciatorje medceličnih valov ter funkcionalno omrežje, v katerem identificiramo centralne celice. Rezultati kažejo, da pri fizioloških in suprafizioloških koncentracijah glukoze centralne in ritmovniške celice izkazujejo nadpovprečno aktivnost, vendar se razlikujejo v drugih značilnostih celične signalizacije. Oscilacije Ca^{2+} v centralnih celicah so bolj regularne, njihova vloga pa je tekom časa stabilnejša. Vloga ritmovnih celic se s časom spreminja bolj in njihova pojavnost izkazuje samoorganizacijska načela. Prav tako centralne celice v nasprotju z ritmovnimi kažejo krajše časovne zakasnitve aktivacije glede na sosedo, kar nakazuje močnejšo stično prevodnost. Naše ugotovitve potrjujejo, da so tako centralne kot ritmovne celice intrinzične značilnosti otočkov, vendar se njihove vloge ne prekrivajo in jih ne bi smeli obravnavati enako.

[1] M. Gosak *et al.*, *Physics of Life Reviews* **24**, 121 (2018).

[2] R. Benninger in V. Kravets, *Nature Reviews Endocrinology* **18**, 9 (2022).

[3] L. Satin *et al.*, *Diabetes* **69**, 830 (2020).

Fizika naravnih in umetnih migetalk

Andrej Vilfan

*Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana
Department of Living Matter Physics, Max Planck Institute for Dynamics and
Self-Organization, Göttingen*

Migetalke ali cilije so celični izrastki, ki s periodičnim asimetričnim gibanjem poganjajo tok okoliške tekočine ali gibanje mikroorganizma. Poleg tega migetalke izvajajo vrsto senzoričnih funkcij [1]. V tem prispevku bomo pogledali, kako migetalke interagirajo med seboj preko hidrodinamske sklopitve ter kako interagirajo z delci v okoliški tekočini. Najprej pogledamo, kako sklopitev migetalk privede do njihove sinhronizacije ter nastanka faznih valov [2] ter kakšne posledice imajo ti valovi za njihovo energetsko učinkovitost [3]. Kadar migetalke delujejo kot kemični receptorji, lahko pokažemo, da zaradi svoje geometrije dosegajo precej višjo občutljivost, kot če bi se receptorji nahajali na ravni celični površini [4]. Vprašanje učinkovitosti recepcije je posebej pomembno pri organih, ki določijo levo-desno asimetrijo v embrionalnem razvoju. Zato lahko z uporabo kvantitativnih argumentov močno omejimo možne mehanizme delovanja [5]. Učinkovitost migetalk pri črpanju tekočin pa že nekaj časa navdihuje biomimetične pristope za izdelavo umetnih migetalk. Predstavil bom začetke z magnetnim pogonom [6], v novejšem času pa tudi sintetične migetalke ki uporabljajo iste proteinske gradnike kot biološke, vendar manj kompleksno sestavljene [7-9].

- [1] R. R. Ferreira, H. Fukui, R. Chow, A. Vilfan, J. Vermot, *J. Cell Sci.* **132**, jcs213496 (2019).
- [2] A. Vilfan, F. Jülicher, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 058102 (2006).
- [3] N. Osterman, A. Vilfan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **108**, 15727 (2011).
- [4] D. Hickey, A. Vilfan, R. Golestanian, *eLife* **10**, e66322 (2021).
- [5] R. R. Ferreira, A. Vilfan, F. Jülicher, W. Supatto, J. Vermot, *eLife* **6**, e25078 (2017).
- [6] M. Vilfan, A. Potočnik, B. Kavčič, N. Osterman, I. Poberaj, A. Vilfan, D. Babič, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 1844 (2010).
- [7] A. Vilfan, S. Subramani, E. Bodenschatz, R. Golestanian, I. Guido, *Nano Lett.* **19**, 3359 (2019).
- [8] L. Collesano, I. Guido, R. Golestanian, A. Vilfan, *J. R. Soc. Interface* **19**, 20210693 (2022).
- [9] I. Guido, A. Vilfan, K. Ishibashi, H. Sakakibara, M. Shiraga, E. Bodenschatz, R. Golestanian, K. Oiwa, preprint arXiv: 2102.12849

Naključni hodec, narejen iz popolnoma na novo načrtovanih proteinov

Ajasja Ljubetič¹, Joseph Watson², Hao Shen², Natasha I Edman² in David Baker²

¹*Odsek za sintezno biologijo in imunologijo, Kemijski Institut, Ljubljana*

²*Department of Biochemistry and Institute for Protein Design, University of Washington, Seattle*

Proteinski motorji (kinezin, dinein ali miozin) so odgovorni za večino premikov znotraj celice in za transport ključnega tovora. Načrtovanje popolnoma novih statičnih proteinskih struktur je izjemno napredovalo, načrtovanje velikih dinamičnih kompleksov pa ostaja nerešen problem. Predstavil bom zasnovo in karakterizacijo naključnega proteinskega hodca, ki lahko hodi po na novo načrtovanih proteinskih vlaknih mikrometrskih dimenzij. Sistem predstavlja izhodišče za bodoče molekularne robote.

Sistem potrebuje tri ključne komponente: tir, pritrdilne točke na tiru in ogrodje hodca. Na kratko bom predstavil reverzibilne proteinske heterodimere, ki sem jih razvil kot pritrdilne točke. Ti heterodimeri se dobro obnašajo tudi ko niso v paru, njihova afiniteta in kinetika vezave pa je prilagodljiva.

Nato bom pokazal, kako sem togo pripel heterodimere na načrtovana vlakna in tako oblikoval tir za hodca. To se je izkazalo za najtežji del projekta.

Na koncu bom predstavil različna ogrodja hodcev z različnim številom nog, in pokazal kako smo spremljali posamezne molekule hodca s pomočjo TIRF mikroskopije.

Eksperimentalna analiza mehanskih sprememb v celicah raka doj, ki so povezane z višjim metastatskim potencialom

Špela Zemljič Jokhadar¹, Gašper Kokot¹, Mojca Pavlin^{1,2} in Jure Derganc^{1,3}

¹*Inštitut za biofiziko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Skupina za nano in biotehnološke aplikacije, Fakulteta za elektrotehniko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

³*Chair of Microprocess Engineering and Technology – COMPETE, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

Pri celicah, ki morajo biti za normalno delovanje pritrjene na podlago, se v odlepljenem stanju sproži proces programirane celične smrti imenovane anoikis. Nekatere rakaste celice so zmožne ta proces zaobiti in lahko normalno funkcionirajo tudi v plavajočem stanju. To se zgodi pri procesu metastaziranja, nezaželenem poteku rakastih bolezni. Nastanek metastaz obsega več korakov [1]: nekatere rakave celice se sprva ločijo od primarnega tumorja, nato vstopijo v krvni obtok in lahko na ta način krožijo po telesu. Nekje se celice nato ustavijo, pritrdijo in se čez žilno steno prerinejo v novo mikrookolje, kjer se začnejo deliti in nastane sekundarni tumor. Nedavna študija [2] je pokazala, da sočasni tretma z dvema zdraviloma, ki ovirata presnovo celic, metforminom in 2-deoksi-D-glukozo, poveča delež viabilnih prosto plavajočih, rakavih celic doj (MDA-MB-231). V tej raziskavi [3] smo študirali, ali povzroči ta tretma tudi druge spremembe povezane z metastaziranjem. Zanimalo nas je ali so celice bolj mehke od kontrolnih in ali je pri njih stopnja adhezije višja kot pri kontrolnih celicah. Mehaniko pritrjenih in plavajočih celic smo analizirali z optično pinceto in deformabilnostno citometrijo [4] celic. Stopnjo adhezije smo ocenili na enoplastnem sloju celic HUVEC, tako da smo jim dodali celice MDA-MB-231 bodisi v statičnih pogojih ali v mikrofluidnem toku. Ugotovili smo, da so bile tretirane celice MDA-MB-231 bolj mehke od kontrolnih tako v plavajočem stanju kot tudi kmalu po ponovni nasaditvi. Prav tako so se v večji meri pritrdile na celice HUVEC. Rezultatov te študije sicer ni mogoče neposredno prenesti na *in vivo* stanje, so pa lahko pomembni za boljše razumevanje odlepljanja rakavih celic in za od pritrditve neodvisno preživetje celic.

[1] V. Gensbittel, M. Kraeter, S. Harlepp S, I Busnelli, J. Guck, JG. Goetz, *Dev. Cell* **56**, 164 (2021).

[2] M. Bizjak, P. Malavašič, K. Dolinar, J. Pohar, S. Pirkmajer, M. Pavlin, *Sci. Rep.* **7**, 1761 (2017).

[3] Š. Zemljič Jokhadar, G. Kokot, M. Pavlin, J. Derganc, *Biology* **10**, 873 (2021).

[4] O. Otto, P. Rosendahl, A. Mietke, S. Golfier, C. Herold, *et. al*, *Nat. Methods* **12**, 199 (2015).

Vpliv oscilirajoče zunanje sile na hojo molekularnega motorja

Andreja Šarlah

Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

Molekularni motorji se gibljejo v dinamičnem okolju citoskeletona, katerega fluktuacije presegajo termične fluktuacije. Čeprav je v zadnjem desetletju močno napredovalo naše poznavanje gibanja teh motorjev na nivoju posamezne molekule, pa se večina raziskav nanaša na gibanje v nadzorovanem okolju izven celice in pod vplivom konstantne ali monotono spreminjajoče se sile. Razmeram v dinamičnem celičnem okolju se je približala študija gibanja molekularnega motorja dineina pod vplivom oscilirajoče zunanje sile [1].

Učinkovitost hoje molekularnih motorjev zagotavlja univerzalen kompleksen mehanizem proženja in sklopitve med koraki v kemijskem ciklu hidrolize molekule ATP, konformacijskimi spremembami molekule, vezavo molekule s podlago in mehanskim premikom. Vendar se odzivi molekularnih motorjev na zunanjo silo, to je zveza med hitrostjo in silo, močno razlikujejo. Izsledki raziskav kažejo, da igra pomemben faktor pri tem način, kako na odklop molekule s podlage vpliva sila, ki pri tem deluje na vezavno mesto, predvsem asimetrija lastnosti odklopa glede na smer sile.

Tu predstavljamo izsledke teoretične raziskave, v kateri smo preučevali vpliv oscilirajoče sile na gibanje molekularnih motorjev [2]. Preiskovali smo vlogi oblike zveze med hitrostjo in silo ter lastnosti odklopa molekule s podlage. Raziskava temelji na minimalnem modelu, ki zagotavlja usmerjeno hojo molekularnega motorja [3]. Osnovne predpostavke modela so tesna povezava med koraki v kemijskem ciklu in konformacijskimi spremembami molekule, odsotnost sklopitve vezavne afinitete molekule do podlage s kemijskim ciklom in asimetrija odklopa molekule z vezavnega mesta glede na smer sile.

Pod vplivom oscilirajoče sile lahko motorji učinkovito pospešijo svoje gibanje. To je značilno za motorje, katerih odklop z vezavnega mesta ima močno odvisnost od velikosti sile ob hkratni zmerni asimetriji glede na smer sile. Motorji, ki pod vplivom oscilirajoče sile učinkovito upočasnijo gibanje, tipično prenesajo močnejše obremenitve, preden njihovo gibanje zastane ali spremeni smer. Za te motorje je značilna velika asimetrija pri odklopu molekule z vezavnega mesta; odklop je hiter in močno odvisen od velikosti sile, če le-ta na vezavno mesto deluje v smeri gibanja motorja, a je počasen in le šibko odvisen od velikosti sile, kadar ta na vezavno mesto deluje v nasprotni smeri. Povezave med funkcijo različnih motorjev, lastnostmi odklopa in predvidenimi odzivi na oscilirajočo silo nakazujejo, da bi različne lastnosti motorjev pri odklopu pod vplivom sile lahko bile evolucijska prilagoditev na njihove različne funkcije. Poznavanje mehanizma, kako so v naravnih molekularnih motorjih regulirane lastnosti njihove gibljivosti, predstavlja hkrati tudi možnost za izboljšave delovanja sintetičnih »dvonogih« motorjev.

[1] Y. Ezber, V. Belyy, S. Can, A. Yildiz, *Nature Phys.* **16**,312 (2020).

[2] A. Šarlah, *Phys. Rev. E* **104**, 064406 (2021).

[3] A. Šarlah, A. Vilfan, *PLoS One* **12**, e0185948 (2017).

Mehanizmi agregacije zaporedij $d(G_4C_2)_n$, povezanih z boleznimi ALS in FTD

Melani Potrč^{1,2}, Nerea Sebastián², Miha Škarabot³, Peter Medle Rupnik²,
Irena Drevenšek-Olenik^{2,4}, Boris Rogelj⁵ in Lea Spindler^{2,6}

¹Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor

²Odsek za kompleksne snovi, Institut »Jožef Stefan«, Ljubljana

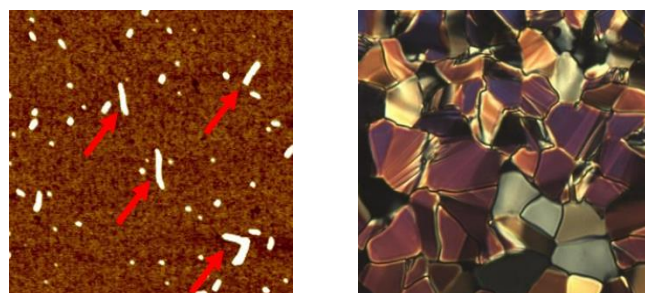
³Odsek za fiziko trdne snovi, Institut »Jožef Stefan«, Ljubljana

⁴Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

⁵Odsek za biotehnologijo, Institut »Jožef Stefan«, Ljubljana

⁶Fakulteta za strojništvo, Univerza v Mariboru, Maribor

Značilnost DNK zaporedij, bogatih z gvaninom, je tvorba stabilnih štirivijačnih struktur, imenovanih G-kvadrupleksi, ki temeljijo na štirih z vodikovimi vezmi povezanih gvaninih. G-kvadrupleksi imajo težnjo po nadaljnjem povezovanju v eno-dimenzionalne agregate, imenovane G-žice. Z gvaninom bogati G-kvadrupleksi se lahko tvorijo tudi v kromosomih, zaradi česar imajo pomembno vlogo pri nastanku nekaterih nevro-degenerativnih bolezni, kot sta amiotrofična lateralna skleroza (ALS) in frontotemporalna demenca (FTD). Obe bolezni povezujemo s povečanim številom $d(G_4C_2)_n$ zaporedij, zato smo pri svojem delu proučevali zmožnost tvorbe G-kvadrupleksov za kratka zaporedja z $n = 1, 2$ in 4 . Meritve so bile izvedene z dinamičnim sipanjem svetlobe (DLS), s katerim smo določili vrednosti translacijskih difuzijskih koeficientov in dolžine agregatov $d(G_4C_2)_n$, ki nastanejo v raztopinah. Ugotovili smo, da vse tri sekvence tvorijo daljše agregate, kot je bilo sprva pričakovano [1]. Za zaporedje $d(G_4C_2)$ so bile značilne izjemno dolge G-žice z dolžinami nad 80 nm. Zaporedje $d(G_4C_2)_2$ je tvorilo sorazmerno kratke zložene dimerne kvadruplekse, medtem ko je zaporedje $d(G_4C_2)_4$ tvorilo multimere, ki ustrezajo sedmim naloženim G-kvadrupleksom. Velike razlike med lastnostmi omenjenih $d(G_4C_2)_n$ zaporedij so potrdile tudi meritve mikroskopije na atomsko silo (AFM). Preverili smo še obnašanje zaporedij v visoko koncentriranih ($c > 50$ mM) raztopinah, ki so bližje dejanskemu stanju v celičnih jedrih. Izkazalo se je, da zaporedje $d(G_4C_2)$ tvori visoko organizirane tekoče-kristalne faze. Sklepamo, da ima nastanek in zlaganje osnovnih G-kvadrupleksov pomembno vlogo v mehanizmu agregacije $d(G_4C_2)_n$ zaporedij, kar lahko ključno vpliva na razvoj ALS in FTD.



Slika 1: Zaporedje $d(G_4C_2)$ kaže veliko sposobnost urejanja v več kot 50 nm dolge G-žice (levo), pri višjih koncentracijah raztopine pa v kolumnarne tekočerkristalne faze (desno).

Zahvala: Meritve so bile financirane v sklopu raziskovalnega projekta J7-9399 in programske skupine P1-0192, ki ju financira Javna agencija za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (ARRS).

Sledenje mikroplastiki v *in vitro* modelih

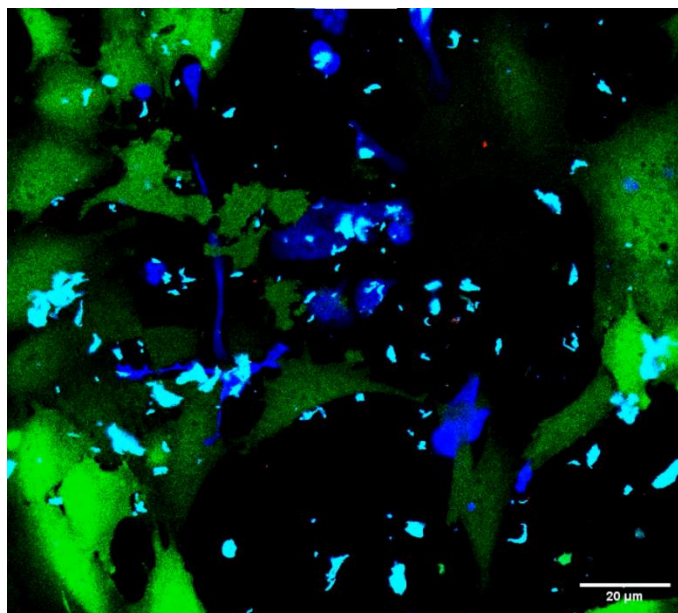
Blaž Mencinger, Tilen Koklič in Janez Štrancar

Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Onesnaženje s plastiko je globalni ekološki problem. Še posebej v morju plastika hitro razpada na manjše delce - mikroplastiko. Le ta se preko morskih živalih, ki jo posredno ali neposredno zaužijejo, znajde tudi na marsikaterem krožniku. Sledenje mikroplastiki *in vitro* ostaja izziv. Eden od razlogov je, da je pomanjkanje univerzalno delujočega označevanja mikroplastike zaradi velike kemijske raznolikosti izvornih materialov. To pa otežuje tudi preučevanje toksičnih učinkov mikroplastike in njihovih mehanizmov v živih sistemih [1].

Eden od najbolj uveljavljenih označevanj mikroplastike je z uporabo fluorescenčnega barvila Nile red, a tako označevanje ni univerzalno za vse vrste plastike. Na našem odseku raziskujemo alternativne načine detekcije ter hkrati opazujemo toksične vplive mikroplastike na celične kulture. Glavni način je opazovanje mikroplastike preko sipanja in za nekatere barvne plastike preko fluorescence. V našem laboratoriju trenutno preučujemo vpliv relativno inertnih polistirenskih kroglic (velikost 0,5 mikrometra) in fluorescirajočih PETG delcev (različne velikosti)

Cilj je razviti metodo ali več komplementarnih metod, ki bi skupaj lahko omogočilo sledenje čim več vrstam plastike. To bi olajšalo raziskave vplivov mikroplastike na žive organizme, ter omogočilo detekcijo in kvantifikacijo mikroplastike in nanoplastike v bioloških vzorcih.



Slika 1: Mikroplastika (mint zelena) različnih velikosti v celični kulturi mišjega pljučnega epitelijskega - LA4 (zeleni) in makrofagov (modri).

[1] Maes, T. *et al*, A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci. Rep.* 7, 44501 (2017).

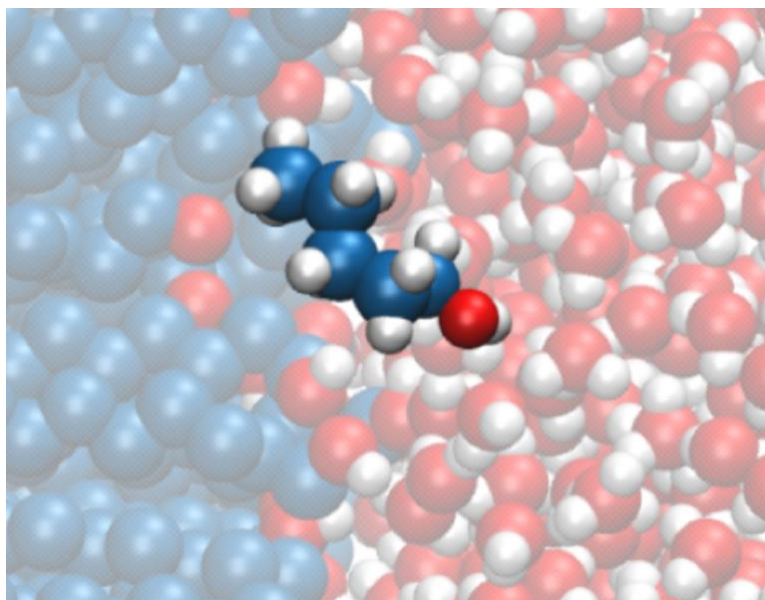
Agregacija surfaktantov: vpogled skozi simulacije

Matej Kanduč

Odsek za teoretično fiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Adsorpcija amfifilnih molekul na različne površine se pojavlja v številnih tehnoloških in bioloških okoljih, včasih zaželeno (stabilizacija pen), včasih pa ne (kontaminacija). Govoril bom o tem, kako nam atomistične računalniške simulacije pomagajo razjasniti molekularne mehanizme adsorpcije površinsko aktivnih molekul (surfaktantov), ki segajo od kratkoverižnih alkoholov do lipidov z dvojnimi repi.

Majhne površinsko aktivne molekule tvorijo ohlapne monosloje na površinah. Dinamika med površino in raztopino je zelo hitra, kar je možno direktno zajeti tudi v molekularnih simulacijah. Molekule z daljšimi alkilnimi verigami tvorijo gostejše monosloje. Njihova dinamika pa je prepočasna, da bi jo lahko direktno zajeli v simulacijah, kar predstavlja izziv za molekularno modeliranje. Modeliranje tega režima zahteva zahtevnejše tehnike, ki povezujejo različne faze surfaktantov preko kemičnih potencialov. Nazadnje, surfaktanti z dvojnimi verigami (imenovani tudi "lipidi") se ne izmenjujejo med površino in notranjostjo niti na simulacijskih, niti na tipičnih eksperimentalnih časovnih skalah. V vodi tvorijo dokaj čvrste dvoslojne agregate in se le pod določenimi pogoji adsorbirajo na trne površine v obliki monoslojev. Kot se izkaže, je univerzalni pogoj za adsorpcijo kontaktni kot močenja površine. Samo površine s kontaktnimi koti, večjimi od $60 - 70^\circ$, so sposobne tvoriti lipidne monosloje.



POVZETKI PLAKATOV

Dinamična robustnost starajoče se mreže sklopljenih bioloških oscilatorjev

Uroš Barač¹ in Marko Gosak^{1,2}

¹*Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor*

²*Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor*

Samo-vzdrževane oscilacije se prisotne v različnih bioloških sistemih in se kažejo na različnih časovnih skalah ter na različnih ravneh biološke organizacije. Notranja ritmična aktivnost običajno izhaja iz številnih nelinearnih regulativnih mehanizmov in povratnih procesov in je ključna za zagotavljanje fizioloških funkcij [1]. Na ravni tkiv oscilatorno vedenje uravnava omrežja medsebojno sklopljenih celic. Medcelična komunikacija je ključna za zagotavljanje sinhronega delovanja, kar skupaj z odzivi sistema na spremembe v okolju, uravnava kolektivni ritem, ki je bistven za normalno delovanje. Vendar v določenih pogojih, na primer med patogenezo, posamezne celice doživijo okvaro in postanejo neaktivne. To privede do zanimivega dinamičnega pojava, znanega kot prehod v staranje (*ang. aging transition*) [2]. Preučevanje dinamike omrežja oscilatornih celic, ko se posamezni segmenti sistema okvarijo, ne predstavlja zgolj teoretičnega izziva, temveč vodi do pomembnih spoznanj o robustnosti biološkega omrežja v primeru motenj in okvar. V študiji ta vprašanja obravnavamo z numeričnim preučevanjem degradacije makroskopske dinamične aktivnosti v mrežah heterogenih oscilatorjev z limitnim ciklom in ekscitabilnih oscilatorjev. Za modeliranje interakcij med oscilatorji uporabimo prostorsko vpeto mrežo z značilnostmi mrež malega sveta, saj so takšne topološke strukture značilne za različne biološke sisteme [3]. V naših simulacijah uporabimo Poincarejev model za primer oscilatorjev z limitnim ciklom in FitzHugh-Nagumov model kot primer ekscitabilnih oscilatorjev. Oscilatorje staramo oz. naredimo neaktivne tako, da njihovo amplitudo nastavimo na nič (Poincare) ali pa zunanji dražljaj nastavimo zunaj oscilacijskega območja, t. j. pred bifurkacijo (FitzHugh-Nagumo). Tako pri heterogenosti oscilatorjev kot pri prehodu v staranje razlikujemo med dvema scenarijema, in sicer med naključnim in med asortativnim glede na povezanost, kjer se najbolj povezanim vozlom dodeli najvišja lastna frekvenca oz. prvi postanejo neaktivni. Osredinimo se na makroskopsko aktivnost sistema kot funkcijo razmerja neaktivnih oscilatorjev za različne vrednosti jakosti sklopitve. Pri sklopljenih ekscitabilnih oscilatorjih dodatno analiziramo še pomen oddaljenosti od bifurkacijske točke. Pri staranju glede na povezanost in pri manjši jakosti sklopitve, mreža Poincarejevih oscilatorjev izkazuje vse manjšo makroskopsko aktivnost. Z večanjem jakosti sklopitve se prehodi zgladijo, pri čemer razlike med različnimi scenariji staranja postajajo vse manjše. Nekoliko nepričakovano opazimo, da se pri ekscitabilnih oscilatorjih, kadar smo s parametri dovolj blizu oscilatornemu režimu, asortativno staran sistem počasneje izgublja makroskopsko aktivnost kot naključno staran, kar pojasnimo s specifično porazdelitvijo aktivnosti na ravni lokalnih podskupin oscilatorjev v mreži. Prehod v staranje predstavlja pot k zmanjšanju makroskopskih oscilacij, kar lahko povzroči izgubo normalnih funkcij bioloških omrežij, kot je npr. disfunkcija tkiva ali organa zaradi apoptoze in nekroze notranjih celic.

[1] L. Glass, *Nature* **410**, 277 (2001).

[2] W. Zou, D.V. Senthilkumar, M. Zhan in J. Kurths, *Physics Reports* **931**, 1 (2021).

[3] M. Gosak, M. Milojević, M. Duh, K. Skok, M. Perc, *Physics of Life Reviews* **41**, 1 (2022).

Vpliv holesterola na fuzijsko poro

Bojan Božič¹, Boštjan Rituper², Alenka Guček², Marjeta Lisjak², Urszula Gorska²,
Saša Trkov Bobnar^{2,3}, Aleksandra Šakanović⁴, Eva Lasič², Mičo Božić², Prabhodh
S. Abbineni⁵, Jernej Jorgačevski^{2,3}, Marko Kreft^{2,3}, Alexei Verkhatsky^{3,6,7},
Frances M. Platt⁸, Gregor Anderluh⁴, Matjaž Stenovec^{2,3}, Jens R. Coorsen⁹,
Robert Zorec^{2,3} in Špela Zemljich Jokhadar¹

¹*Inštitut za biofiziko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Inštitut za patološko fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

³*Celica Biomedical, Ljubljana*

⁴*Odsek za molekularno biologijo in nanobiotehnologijo, Kemijski inštitut, Ljubljana*

⁵*Department of Pharmacology, University of Michigan, Ann Arbor, MI*

⁶*Faculty of Biology, Medicine and Health, The University of Manchester, Manchester*

⁷*Achucarro Center for Neuroscience, IKERBASQUE, Bilbao*

⁸*Department of Pharmacology, University of Oxford, Oxford*

⁹*Department of Health Sciences, Faculty of Applied Health Sciences and
Department of Biological Sciences, Faculty of Mathematics & Science, Brock
University, St Catherine's, Ontario*

Pri nekaterih lizosomskih boleznih se v nekaterih celičnih veziklih obdanih s fosfolipidno membrano kopiči holesterol. Da bi razložili ustrezne mehanizme, uvedemo model regulacije velikosti fuzijskih por. Študiramo obnašanje takih veziklov odvisno od njihove velikosti in velikosti membranske fuzijske pore, da bi razumeli vpliv holesterola na lastnosti fuzijskih por z vodnim kanalom, ki povezuje notranjost veziklov z zunajceličnim prostorom. Oblika fosfolipidnega vezikla, katerega velikost je primerljiva z velikostjo povprečne celice, ustreza minimumu vsote upogibnostne energije membrane pri njeni dani površini in prostornini [1]. Podobno je pri invaginacijah membrane majhnih celic, kjer je energija vsota upogibnostne energije membrane in privlačne interakcijske energije med membrano sekretornih veziklov z notranjostjo. Predpostavimo, da je prispevek privlačne interakcijske energije sorazmeren s površino invaginacijske površine. Mehanika invaginacije celične membrane je odvisne še od energijskega prispevka zaradi različnih površinskih gostot holesterola med invaginacijo membrane in plazmalemo, ki obdaja celico, saj se na invaginacijski meji, tj. na fuzijski pori, pojavi linijska napetost [2]. Predlagani model razloži opažene večje velikosti por pri večjih velikostih invaginacije membrane [3].

[1] W. Helfrich, *Z Naturforsch C* **28**, 693 (1973); S. Svetina, B. Žeks, *Eur. Biophys. J.* **17**, 101 (1989); U. Seifert, K. Berndl, R. Lipowsky, *Phys. Rev. A* **44**, 1182 (1991).

[2] F. Julicher, R. Lipowsky, *Phys. Rev. E* **53**, 2670 (1996).

[3] B. Rituper, A. Guček, M. Lisjak, U. Gorska, A. Šakanović, S. Trkov Bobnar, E. Lasič, M. Božić, P. S. Abbineni, J. Jorgačevski, M. Kreft, A. Verkhatsky, F. M. Platt, G. Anderluh, M. Stenovec, B. Božič, J. R. Coorsen, R. Zorec, *Cell Calcium* **101**, 102503 (2022).

Rešitve za zajem in analizo meritev pri fluorescenčni mikroskopiji

Petra Čotar, Iztok Urbančič in Janez Štrancar

Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

Analiza bioloških sistemov je zaradi njihove heterogenosti velikokrat časovno zamudna, saj moramo opraviti veliko število meritev, da te dobro opišejo naš vzorec. Avtomatizacija mikroskopa nam omogoča hitrejše in bolj objektivno zajemanje meritev in dopušča večjo prilagodljivost sistema glede na potrebe eksperimenta. Analizo, predvsem velikega števila meritev, nam močno olajšajo algoritmi, ki prav tako omogočajo nove načine obravnave meritev in tako vodijo do boljših rezultatov. Eden od načinov analize je segmentacija slik na posamezne celice, ki jo dosežemo s pomočjo strojnega učenja. Tako lahko preučujemo pojave in interakcije na nivoju posameznih celic.

Biološka kompleksnost in informacija v encimskih reakcijah

Marko Vitas¹, Aleš Fajmut^{2,3} in Andrej Dobovišek^{2,4}

¹*Laze pri Borovnici, 1353 Borovnica*

²*Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor*

³*Fakulteta za zdravstvene vede, Univerza v Mariboru, Maribor*

⁴*Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor*

Kako se je spreminjala biološka kompleksnost organizmov skozi evolucijsko zgodovino, je predmet številnih znanstvenih razprav. Nekateri avtorji trdijo, da so se organizmi skozi evolucijo razvijali v smeri večje biološke kompleksnosti [1], nekateri pa menijo, da moderna znanost na to vprašanje še ni podala zadovoljivih teoretičnih in empiričnih razlag [2]. V tem prispevku izhajamo iz predpostavke, da je moral ob nastanku življenja evolucijski razvoj najprej vključevati avtokatalitske sisteme, ki so šele kasneje pridobili sposobnost genetskega dedovanja in preučujemo spontan nastanek informacije v encimskih reakcijah.

V tem prispevku obravnavamo encimsko reakcijo z dvema substratoma kot odprt kemijski sistem v neravnovesnem stacionarnem stanju. Biološko kompleksnost definiramo kot sorazmerno s količino informacije v verjetnosti porazdelitvi zasedenosti funkcionalnih stanj encima [3]. Prvi rezultati matematičnega modela kažejo, da so verjetnostne porazdelitve encimov, ki so počasni in nespecifični katalizatorji, a hkrati katalizirajo reakcije večjega števila substratov okarakterizirane z višjo vsebnostjo informacije, kot verjetnostne porazdelitve visoko specifičnih specializiranih encimov, ki so hitri in učinkoviti katalizatorji enega samega substrata. Z modelom preučujemo različne hipotetične mehanizme, ki lahko pojasnijo naraščanje ali padanje biološke kompleksnosti pri spontanem nastanku metabolnih omrežij.

[1] M.V. Volkenstein, *Entropy and information* (Birkhäuser Verlag AG, 2000), str 182.

[2] E. Szathmáry, J. Maynard Smith, *Nature* **374**, 6519 (1995).

[3] C. Adami, C. Ofria, T.C. Collier, *PNAS* **97**, 4463 (2000).

Neinvazivna karakterizacija tetovaž v človeški koži z uporabo sunkovne fototermalne radiometrije in optične difuzne spektroskopije

Neža Golmajer Zima¹, Nina Verdel¹ in Boris Majaron^{1,2}

¹Odsek za kompleksne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

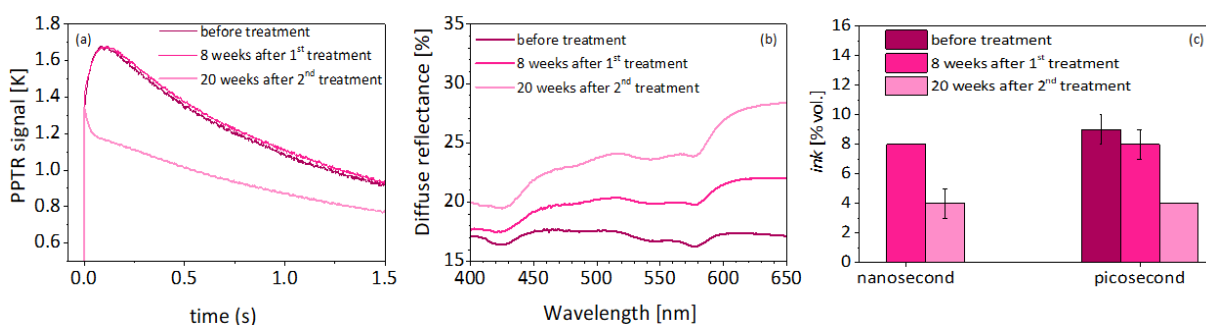
²Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

Razvili smo novo metodologijo za neinvazivno oceno strukture in sestave človeške kože in vivo s kombinacijo dveh optičnih tehnik [1]. Pristop združuje sunkovno fototermalno radiometrijo (SFTR), ki vključuje časovno ločene meritve srednje infrardeče emisije s hitro infrardečo kamero (SC7500, FLIR Systems; $\lambda = 3,5\text{--}5,1\text{ }\mu\text{m}$) po obsevanju z milisekundnim laserskim pulzom z medicinskim laserjem (DualisVP, Fotona, Slovenija) pri valovni dolžini 532 nm, in difuzno refleksijsko spektroskopijo (DRS) v vidnem delu spektra ($\lambda = 400\text{--}650\text{ nm}$).

Oba niza podatkov sta hkrati prilagajana ustreznimi napovedmi iz namenskega modela Monte Carlo za prenos svetlobe in toplote v človeški koži (s tetovažo ali brez nje). Na nepoškodovanem mestu opisani pristop omogoča oceno vsebnosti določenih kromoforjev, lastnosti sipanja ter debeline epidermisa in dermisa [1].

Predstavljamo rezultate opisanega pristopa za kvantitativno opredelitev črnih tetovaž pri zdravi prostovoljki in objektivno spremljanje učinkovitosti zdravljenja z laserskim odstranjevanjem tetovaž [2,3]. Polovico tetovaže zdrave 31-letne prostovoljke (TG) smo obdelali s komercialnim laserjem Nd:YAG (StarWalker® MaQX, Fotona), drugo polovico pa s prototipnim laserjem z veliko krajšimi impulzi in manjšo sevalno izpostavljenostjo [3].

Uspešno smo analizirali signale in dobili podatke o globini tetovaže, količini črnila in lastnostih razprševanja plasti tetovaže pred in po vsaki obdelavi. Kot prikazujemo na sliki 1, signali SFTR in DRS kažejo, da je tetovaža zbledela, kar se ujema z analizo količine črnila, prisotnega v koži, iz naših meritev.



Slika 2: Med zdravljenjem smo izmerili (a) signale SFTR in (b) signale DRS črne tetovaže pri prostovoljki ter (c) izračunali količino prisotnega črnila v koži.

[1] N. Verdel A. Marin, M. Milanič in B. Majaron, *Biomed. Opt. Express* **10**, 944 (2019).

[2] N. Verdel *et al.*, *Photonics in Dermatology and Plastic Surgery* 2020, *Proc. SPIE* **11211**, 112110X.

[3] N. Verdel, B. Majaron, *Biophotonics – Riga* 2020, *Proc. SPIE* **11585**, 115850A.

Gosto zlaganje trdih elips na sferi

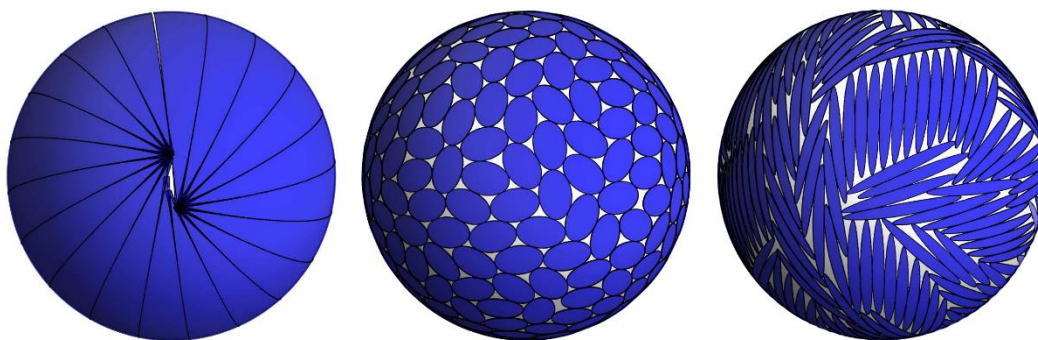
Andraž Gnidovec¹, Anže Božič², Urška Jelerčič³ in Simon Čopar¹

¹*Fakulteta za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Odsek za teoretično fiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

³*Odsek za kemijsko inženirstvo, Institut Ilse Kats za nanoznanost in nanotehnologijo, Univerza Ben Gurion, Beer-Sheva, Izrael*

Problemi zlaganja gradnikov različnih oblik so v naravi zelo pogosti in zato dobro raziskani tako eksperimentalno kot v numeričnih modelih. Posebej zlaganje anizotropnih, eliptičnih delcev igra ključno vlogo v modelih tekočih kristalov, koloidov ter na področju zrnatih in zagozdenih snovi. Čeprav se večina raziskav na teh področjih osredotoča na zlaganje v Evklidskih geometrijah, lahko najdemo več eksperimentalnih sistemov, kjer so anizotropni delci omejeni na ukrivljeno površino, npr. Pickeringove emulzije, stabilizirane z eliptičnimi delci, ter adsorbati proteinov na veziklih. V našem delu raziskujemo naključno gosto zlaganje v dvodimenzionalnem modelu sferičnih elips. Najprej predstavimo algoritem, ki smo ga razvili z namenom zaznavanja prekrivanja dveh sferičnih elips in temelji na reševanju problema lastnih vrednosti. Pokažemo, da je algoritem primeren za simulacije zlaganja ter predstavimo rezultate naključnega gostega zlaganja v sistemu trdih sferičnih elips. Osredotočimo se predvsem na povezavo med učinki končne velikosti ter ukrivljenosti, ki najbolj izstopajo pri majhnih velikostih sistema. Pokažemo, da so na sferičnih površinah pakiranja elips enakih velikosti inherentno neurejena, kar kaže na to, da so lahko ukrivljene površine učinkovite za zagotavljanje nereda v sistemu. Rezultate primerjamo s pakiranjem v 2D in 3D Evklidskih geometrijah ter analiziramo vpliv razmerja velikosti stranic elips in velikosti sistema na urejanje v dobljenih pakiranjih.



[1] A. Gnidovec, A. Božič, U. Jelerčič in S. Čopar, *Proc. R. Soc. A*, **478**, 20210807 (2022).

Napoved vnetnega potenciala nanomaterialov brez testiranja na živalih

Hana Kokot¹, Boštjan Kokot¹, Aleksandar Sebastijanović¹, Tilen Koklič¹, Tobias Stoeger² in Janez Štrancar¹

¹Laboratorij za biofiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana

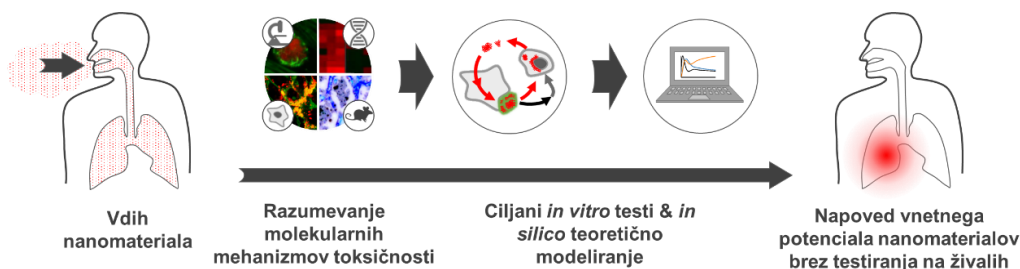
²Institute of Lung Biology and Disease, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg

Trenutno se za ugotavljanje potencialnih zdravju škodljivih lastnosti nanomaterialov v našem okolju in izdelkih uporabljajo draga in dolgotrajna testiranja na živalih, kar močno omejuje količino testiranih nanomaterialov. Obetavno alternativo ponujajo cenejši in hitrejši celični testi, ki na podlagi znanih molekularnih mehanizmov toksičnosti ciljno preverjajo ključne dogodke, ki lahko vodijo do škodljivih zdravstvenih izidov.

Uspešna zasnova tovrstnih testov sloni na razumevanju molekularne mehanizme toksičnosti nanomaterialov. V ta namen smo z naprednimi tehnikami mikroskopiranja (vključno z meritvami življenjskega časa fluorescence – FLIM – in superločljivostno STED mikroskopijo) sledili nanomaterialom v živih celicah v realnem času, svoje ugotovitve pa smo nadalje potrdili in dopolnili s transkriptomiko ter *in vivo* eksperimenti [1].

S tovrstnim pristopom smo odkrili do sedaj neopisani mehanizem celične obrambe – nanokaranteno – ki igra ključno vlogo pri razvoju kroničnega vnetja po izpostavitvi nanodelcem. Pri tem procesu celice izločajo nanomaterial na svojo površino in iz njega tvorijo velike bionano-kompozite, zaradi česar se zniža tako količina nanomateriala v celicah kot tudi količina prostega nanomateriala. Preostala dogodka, ključna za razvoj kroničnega vnetja, sta smrt imunskih celic (in posledična ponovna izpostavljenost preostalih celic nanomaterialu) in pro-vnetna signalizacija (ki povzroči dotok svežih imunskih celic v alveol). Kombinacija teh treh procesov lahko v določenih primerih vodi do neprestanega kroženja nanomateriala med alveolarnimi celicami, kar povzroča nepretrgano pro-vnetno signalizacijo – kronično vnetje.

Zgoraj opisano dogajanje v alveolu po izpostavitvi nanomaterialom smo uspešno opisali s teoretičnim modelom, ki zmore posnemati različne vnetne izide s spreminjanjem zgolj treh parametrov, ki so specifični za vsak nanomaterial posebej. Te parametre lahko v praksi eksperimentalno določimo s tremi preprostimi in hitrimi *in vitro* testi, katerih rezultate lahko vključimo v teoretični model in tako napovemo vnetni potencial določenega nanomateriala. S tem smo ključno prispevali k razvoju časovno in stroškovno učinkovitega napovedovanja varnosti nanomaterialov brez testiranja na živalih.



[1] H. Kokot, B. Kokot, A. Sebastijanović *et al.*, *Advanced Materials*, **32**, 2003913 (2020).

Aktivna dinamika medceličnih stikov v tkivih s tesno pakiranimi celicami

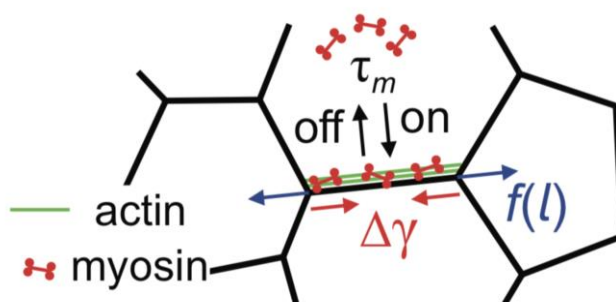
Matej Krajnc¹, Tomer Stern^{2,3} in Clement Zankoc¹

¹*Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

²*Department of Molecular Biology, Princeton University, Princeton, NJ*

³*Lewis-Sigler Institute for Integrative Genomics, Princeton University, Princeton, NJ*

Aktivna reorganizacija mreže medceličnih stikov v epitelijskih tkivih je ključna za deformacije in tokove celic med razvojem zarodka, razvojem raka in celjenjem ran. V tkivih s tesno pakiranimi celicami se celice prerazporejajo preko zaporedja T1 topoloških sprememb mreže stikov. Posamezen T1 prehod je v našem teoretičnem modelu lokalno sprožen preko dipola sil zaradi aktivnosti aktinskomiozinske mreže ob stiku. Poleg preprostega modela, v katerem je dinamika teh sil opisana kot Ornstein-Uhlenbeck proces [1], upoštevamo tudi mehanizem povratne zanke med nastankom sil v aktinsko-miozinskem korteksu in mehaniko na nivoju celic in tkiva kot celote [2]. Ta povratna zanka je ključna za aktivno nestabilnost stikov, ki vodi do različnih tipov časovne dinamike njihovih dolžin [2,3].



[1] M. Krajnc, *Soft Matter*, **16**, 3209 (2020).

[2] M. Krajnc, T. Stern, C. Zankoc, *Phys. Rev. Lett.* **127**, 198103 (2021).

[3] C. Zankoc, M. Krajnc, *Biophys. J.* **119**, 1706 (2020).

Simulacija odziva imunskega sistema na okužbo s *Pneumocystis jirovecii*

Darin Lah¹, Andrej Dobovišek^{1,2} in Zlatko Roškar³

¹Oddelek za fiziko, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor

²Katedra za Biofiziko, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor

³Oddelek za hematologijo in hematološko onkologijo, Klinika za interno medicino, Univerzitetni klinični center Maribor, Maribor

Pnevmocistična pljučnica (PJP) je vrsta okužbe pljuč, ki jo povzroča kvasovkam podobna gliva *Pneumocystis jirovecii* ali krajše pnevmocista. Tekom življenja imamo pogosto in večkrat stik s pnevmocisto. Prvi stik se običajno pojavi v zgodnjem otroštvu [1]. Okužene osebe s funkcionalnim imunskim sistemom (imunokompetentne osebe) so sposobne izločiti pnevmocisto brez opaznih simptomov. Pri ljudeh s šibkim imunskim sistemom (imunokompromitirane osebe) pa okužba s to glivo predstavlja tveganje za razvoj hujše okužbe pljuč, ki vodi v nastanek težje oblike pljučnice PJP. Pnevmoista se po vstopu v gostiteljev organizem pritrdi na epiteljske celice pljuč in jih poškoduje. V prispevku se osredotočimo na modeliranje imunskega odziva na okužbo s pnevmocisto in s tem na potek PJP pri imunokompromitiranih bolnikih, okuženih z virusom človeške imunske pomanjkljivosti (HIV). Za te bolnike je značilno, da imajo znižano število limfocitov B in limfocitov CD4⁺T, ki imajo ključno vlogo pri odzivu na okužbo, saj s sproščanjem citokinov posredno aktivirajo makrofage, le-ti pa uničujejo škodljive tujke v telesu [2]. Številne raziskave potrjujejo, da so ljudje z znižanim številom CD4⁺T limfocitov (<400/μL) bolj dovzetni za okužbo s pnevmocistami [3]. Poleg nižjega števila limfocitov B in CD4⁺T pri bolnikih s HIV, so ti limfociti disfunkcionalni v smislu neustrezne medsebojne celične komunikacije. Oslabljen medsebojna komunikacija med limfociti B in CD4⁺T vodi v šibkejšo aktivacijo teh celic, posledično pa v nezadostno količino sproščenih citokinov, ki so pomembni pri aktivaciji in rekrutaciji makrofagov. Najpogostejši način zdravljenja PJP je s kombinacijo antibiotikov sulfometaksozolum (SMX) in trimetoprimom (TMP). To sta učinkovini, ki inhibirata ključne encime pri sintezi DNK v pnevmocistah in jih tako uničita. V prispevku predstavimo fizikalno-matematični model odziva imunskega sistema na okužbo z organizmom *Pneumocystis jirovecii* pri imunokompetentnem in imunokompromitiranem gostitelju, ki je primarno okužen s HIV. Z modelom simuliramo časovni potek koncentracije pnevmociste v gostiteljevem pljučnem epiteliju. Model sestoji iz osmih diferencialnih enačb prvega reda in omogoča časovne simulacije koncentracij dveh vrst citokinov in števila limfocitov B, CD4⁺T, makrofagov ter okuženih in neokuženih celic epitelija pljuč. Model nadgradimo s farmakokinetičnim modelom delovanja antibiotikov SMX in TMP ter simuliramo časovni potek koncentracije pnevmociste v pljučih ob štirih različnih shemah doziranja zdravila. S simulacijami potrdimo, da okužba s pnevmocisto vztraja bistveno dlje časa v pljučih imunokompromitiranega gostitelja s HIV kot v pljučih imunokompetentnega gostitelja. Prikažemo tudi, da lahko z zdravljenjem z antibiotiki SMX in TMP učinkovito zatremo okužbo pri imunokompromitiranem gostitelju s HIV.

[1] S. L. Vargas, *Clin Infect Dis*, **32**, 855 (2015).

[2] P. Volberding, M. A. Sande, *Global HIV/AIDS Medicine*, (Elsevier, 2008), str. 309.

[3] E. Charpentier, *J. Fungi*, **7**, 625 (2021).

Nove fluorescentne sonde za označevanje lipidnih kapljic in plazemske membrane živih celic

Stane Pajk¹, Hana Kokot², Boštjan Kokot², Iztok Urbančič², Aleksandar Sebastijanović² in Janez Štrancar²

¹*Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Laboratorij za biofiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

S hitrim napredkom fluorescenčne mikroskopije in razvojem ter vedno večjo dostopnostjo novejših tehnik (STED nanoskopija, dvofotonska mikroskopija ...) postaja omejen nabor fluorescenčnih sond ozko grlo pri načrtovanju in izvedbi raziskav. Namreč kljub velikemu številu komercialno dostopnih fluorescenčnih sond imajo novejša tehnika večkrat specifične zahteve glede foto-fizikalnih lastnosti fluorescenčnih sond, kot npr. položaj absorpcijskega in emisijskega maksimuma, visok Stokes-ov premik, fotostabilnost ..., zato je razvoj novih zelo zaželen. Pri čemer je bil v preteklem desetletju opažen predvsem razvoj fluorescenčnih sond za označevanje proteinov, s poudarkom na visoki vodotopnosti in možnosti konjugacije, medtem ko je razvoj sond za označevanje lipofilnih struktur celic zaostajal. Na Fakulteti za farmacijo smo sintetizirali več povsem novih fluorescenčnih sond za označevanje lipidnih kapljic in plazemske membrane, sonde pa so bile v praksi testirane v Laboratoriju za biofiziko na IJS. Nekatere testirane sonde so se izkazale kot zelo obetavne, tako po specifičnosti označevanja kot spektralnih lastnostih. Predvsem pa so komplementarne fluorescenčnim sondam za označevanje ostalih celičnih struktur. Namreč z večjim naborom specifičnih fluorescenčnih sond lažje označimo in hkrati opazujemo več celičnih struktur.

Kontrolirano sproščanje vodnih mikrokapljič iz nematske tekočokristalne kapljice z zunanjo stimulacijo

Rok Štanc¹, Tadej Emeršič² in Uroš Tkalec^{1,3,4}

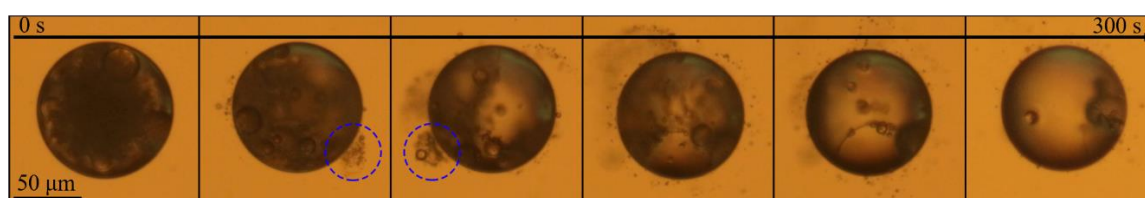
¹*Inštitut za biofiziko, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Ljubljana*

²*Pritzker School of Molecular Engineering, University of Chicago, Chicago, IL*

³*Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor*

⁴*Odsek za fiziko trdne snovi, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

Kapljična mikrofluidika je odlično orodje za kontrolirano produciranje majhnih volumnov – kapljic, tekoči kristal (TK) pa primeren medij, ki je zelo odziven na različne zunanje dražljaje. Odzivi na dražljaje se kažejo v spremembah dvolomnosti, elastičnih lastnostih in površinskega sidranja. Spremembe so optično zaznavne, kar omogoča sestavo materialov, ki hitro podajo informacije o spremembi v okoliškem mediju [1-3]. V našem eksperimentu smo za pripravo nematskih TK kapljic z enkapsuliranimi vodnimi mikrokapljičami z barvilom uporabili kapilarni mikrofluidični čip. TK kapljice so nastajale v vodi z dodanim polimernim surfaktantom, ki zagotavlja stabilnost kapljic. Takšne kapljice so odzivne na zunanje dražljaje, kot sta segrevanje in sprememba tipa in koncentracije surfaktanta v vodnem mediju. Sproščanje vodnih mikrokapljič z barvilom smo dosegli z lokalnim segrevanjem TK kapljice z optično pinceto čez temperaturo prehoda nematskega TK v izotropno fazo in z dodajanjem različnih koncentracij kationskega surfaktanta v okoliški vodni medij. Ustrezna toplotna ali kemična stimulacija napolnjenih TK kapljic omogoča kontrolirano in pospešeno sproščanje enkapsulirane vsebine v okolico. Podobno, vendar bistveno počasnejše sproščanje mikrokapljič, se opazi tudi pri staranju vzorca brez zunanjih dražljajev [4]. Omenjen pristop priprave na zunanje dražljaje odzivnih TK emulzij je uporaben in zanimiv na področju razvoja biosenzorike in v raziskavah na področju fizike mehke snovi.



Slika 2: Časovno zaporedje slik sproščanja vodnih mikrokapljič iz TK kapljice pri manipulaciji z optično pinceto.

[1] Y.-K. Kim, X. Wang, P. Mondkar, E. Bukusoglu in N. L. Abbott, *Nature* **557**, 539 (2018).

[2] G. Jin-kun, S.-H. Hong, H.-J. Yoon, G. Babakhanova, O. Lavrentovich in J.-K. Song, *Adv. Sci.* **6**, 1900785 (2019).

[3] E. Bukusoglu, M. Pantoja, P. Mushenheim, X. Wang, in N. L. Abbott, *Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.* **7**, 6.1 (2016).

[4] R. Štanc, *Magistrsko delo*, Univerza v Mariboru (2020).

Preučevanje mehanizmov širjenja kalcijevih valov v epiteliju človeške leče: večcelično snemanje in analiza numeričnega modela

Marko Šterk^{1,2}, Elena Spasovska³, Aleš Fajmut², Marko Hawlina³, Marko Gosak^{1,2} in Sofija Andjelić³

¹*Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor*

²*Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor*

³*Očesna klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Ljubljana*

Medcelična komunikacija je bistvena za sinhronizirane celične odzive in usklajevanje fizioloških procesov v različnih organih in tkivih. V epiteliju očesne leče morajo celice delovati usklajeno, da pravilno uravnavajo večino homeostatskih funkcij [1], spremenjena medcelična signalizacija celic lečnega epitelija pa je povezana s kataraktogenezo – nastankom sive mreže [2,3]. Podobno kot v drugih epitelijih naj bi obstajala dva različna načina medcelične komunikacije, in sicer: i) difuzija signalnih molekul (kalcijevih ionov, Ca^{2+} in inozitol 1,4,5-trifosfata, IP_3) skozi presledkovne stike, ki povezujejo sosednje celice, ter ii) parakrina signalizacija z difuzijo zunajceličnega sporočevalca (adenozin trifosfata, ATP) v medceličnem prostoru. Načina komunikacije delujeta sovisno, ni pa jasno, katera od obeh poti bistveno prispeva k širjenju medceličnih Ca^{2+} valov v epiteliju očesne leče. V študiji smo vprašanje nagovorili s kombinacijo eksperimentalnega in numeričnega pristopa. Uporabili smo večcelično snemanje Ca^{2+} dinamike v preparatih operativno odstranjenih sprednjih obojnic človeške očesne leče, ki vsebujejo sloj epitelij celic, in analizirali značilnosti mehansko povzročenih Ca^{2+} valov. Prispevek različnih medceličnih signalnih mehanizmov smo ocenili z dodatno uporabo encima apiraza, ki hidrolizira ATP, ter z uporabo blokatorja presledkovnih stikov karbenoksolona. Rezultati kažejo, da apiraza zmanjša doseg Ca^{2+} valov (prepotovano razdaljo in število aktiviranih celic), nekoliko zmanjša trajanje in amplitudo Ca^{2+} signala, ampak ne vpliva na hitrost širjenja signala med celicami. Nasprotno pa dodatek karbenoksolona skoraj popolnoma onemogoči širjenje Ca^{2+} valov, tako da se aktivirajo le celice v neposredni bližini točke mehanske stimulacije. Za podrobnejše preučevanje mehanizmov širjenja medceličnih Ca^{2+} valov smo zasnovali tudi večcelični numerični model, ki vključuje podroben opis znotrajceličnih procesov lečnih epitelij celic, medceličnih interakcij in različne medcelične komunikacijske načine. Model ne le da lahko natančno reproducira različne prostorsko-časovne vzorce širjenja Ca^{2+} valov, ki jih opazujemo v eksperimentih, temveč tudi kaže, da za skladnost z eksperimentalnimi meritvami zadostuje medcelična sklopitev s presledkovnimi stiki in pasivna difuzija zunajceličnega sporočevalca brez mehanizma aktivne ojačitve.

[1] O. A. Candia, *Experimental Eye Research* **78**(3), 527 (2004).

[2] M. Gosak, R. Markovič, A. Fajmut, M. Marhl, M. Hawlina, S. Andjelić, *PLoS One*, **10**(12), e0143781 (2015).

[3] M. Gosak, D. Gojić, E. Spasovska, M. Hawlina, S. Andjelić, *Life*, **11**(5), 11050369 (2021).

Vertikalna veriga vrednosti: od novega znanja do tržno zanimivih novih tehnologij

Iztok Urbančič¹ in Janez Štrancar^{1,2}

¹*Laboratorij za biofiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

²*Infinite d.o.o., Maribor*

V Laboratoriju za biofiziko (LBF) raziskujemo molekularne mehanizme in biofizikalne interakcije, ki vodijo od prvih stikov našega telesa s tujki, npr. vdihanimi nanodelci iz onesnaženega okolja, do razvoja bolezni. Žive celice spremljamo z naprednimi metodami optične mikroskopije (superločljiv STED ipd.), slike analiziramo z zmogljivimi algoritmi (tudi s strojnim učenjem) in modeliramo opazovane procese, s čimer odkrivamo nove celične dogodke za napovedovanje neželenih učinkov. Pred kratkim smo pokazali, da lahko na podlagi strukturnih sprememb razložimo mehanizem proženja kroničnega vnetja v pljučih, s pomočjo katerega lahko pojav vnetja napovemo, še preden se razvije (glej prispevka H. Kokot in T. Koklič). Zdaj raziskujemo razširitve pristopa na napoved srčno-žilnih in nevrodegenerativnih obolenj ter imunskega odziva na medicinske vsadke.

Da novo znanje čim hitreje prenesemo v prakso, smo ustanovili odcepljeno podjetje (spin-out) *Infinite d.o.o.*, namen katerega je razvoj tehnologij alternativnega testiranja varnosti materialov, kemikalij, cepiv in zdravil na osnovi celičnih procesorjev – torej brez dragih, počasnih in nezanesljivih poskusov na živalih. S tehnologijami tkivnih čipov in mikroskopa na čipu nameravamo ponuditi učinkovito preverjanje varnosti materialov in kemikalij proizvajalcem in regulatorjem za varnejšo družbo prihodnosti. Dolgoročno partnerstvo LBF in Infinite tako tvori vertikalno verigo vrednosti, ki usmerja osnovne raziskave proti uporabnim in tržno zanimivim rešitvam.

Analiza razvejanosti genomov RNA-virusov

Domen Vaupotič¹, Luca Tubiana², Angelo Rosa³ in Anže Rapoš Božič¹

¹*Odsek za teoretično fiziko, Institut Jožef Stefan, Ljubljana*

²*Univerza v Trentu, Trento*

³*SISSA, Trst*

Prostorska struktura RNA bistveno vpliva na njeno funkcijo, vendar strukture dolgih molekul RNA še zmeraj ni mogoče enostavno eksperimentalno določiti. Večina eksperimentalnih metod se zato osredotoča na določanje motivov v sekundarni strukturi RNA, te pa lahko napovemo tudi računsko z energijskimi modeli, ki vsebujejo eksperimentalno izmerjene biofizikalne parametre. Topološke značilnosti sekundarne strukture lahko nadalje predstavimo z grobim modelom razvejanega polimera, za katerega lahko uporabimo teoretične in simulirane rezultate iz teorije polimerov. Sekundarna struktura dobro opiše tudi prostorsko kompaktnost RNA, ki je pomemben dejavnik pri učinkovitosti samosestavljanja RNA-virusov. Primerjava genomskih virusnih RNA z naključnimi zaporedji iste dolžine pokaže, da je struktura genomov ikozaedričnih RNA-virusov znatno kompaktnejša v primerjavi z naključnimi zaporedji. Še zmeraj ostaja nepojasnjeno, kako evolucijski pritisk odbira mutacije na virusnih genomih, da ohranja in zagotavlja njihovo kompaktnost. Odprto ostaja tudi vprašanje, katere topološke lastnosti sekundarne strukture najboljše opišejo to prostorsko kompaktnost. V ta namen smo analizirali ~ 1700 referenčnih genomov iz 45 družin virusov ssRNA(+) ter jih primerjali z naključnimi zaporedji RNA različnih dolžin in z različno pojavnostjo nukleotidov. Za vsak genom smo s programsko opremo *ViennaRNA* napovedali termični ansambel sekundarnih struktur in jih pretvorili v matematična drevesa. Za posamezno drevo smo izračunali najpomembnejše lastnosti iz teorije grafov, kot sta porazdelitev stopnje vozlišč in dolžine povezav, ter količine, s katerimi ovrednotimo kompaktnost strukture, kot so porazdelitev poti med vozlišči in velikosti vej, Laplaceov spekter in indeksa Zagreb. Termično povprečene lastnosti smo primerjali med virusnimi in naključnimi RNA. Čeprav so krajši virusni genomi kompaktnjši od naključnih, smo ugotovili, da je pri daljših genomih ta razlika manjša. Podrobneje smo ovrednotili, kolikšen delež h kompaktnosti strukture prispeva neenakomerna pojavnost nukleotidov. Na nivoju virusnih družin smo določili tudi skalirne eksponente. Naša analiza omogoča karakterizacijo globalnih strukturnih lastnosti raznolikih RNA-molekul na nivoju njihove sekundarne strukture ter primerjavo z drugimi že znanimi razvejanimi polimeri.

[1] A. M. Yoffe *et al.*, *PNAS* **105**, 16153 (2008).

[2] S. W. Singaram *et al.*, *The Journal of Physical Chemistry B* **119**, 13991 (2015).

[3] A. Borodavka *et al.*, *Biophysical Journal* **111**, 2077 (2016).

[4] A. Rosa, R. Everaers, *Physical Review E* **95**, 012117 (2017).

[5] A. L. Božič *et al.*, *Journal of Physics: Condensed Matter* **30**, 084006 (2018).

Anizotropna deformacija sfero-cilindričnih lupin kot mehanizem za relaksacijo notranjih napetosti

Jan Zavodnik in Miha Brojan

Laboratorij za nelinearno mehaniko

Fakulteta za strojništvo, Univerza v Ljubljani, Ljubljana

Pri mehanističnih opisih in izračunih deformacij bioloških tkiv se zaradi enostavnosti pogosto zanemari dejstvo, da so biološki materiali anizotropni, kar je v večini primerov pomembna poenostavitev za računsko uspešnost [1]. V primerih, kjer pa je anizotropija ključna lastnost, ki zagotavlja funkcionalnost, pa lahko ta poenostavitev vodi do napačnih rezultatov in interpretacij.

S pomočjo teorije anizotropno elastičnih sfero-cilindričnih lupin [2], kjer je dolžina npr. več kot 3x daljša od premera, debelina pa znaša manj kot prbl. 5 % premera (toliko, da lahko rečemo, da je lupina tankostenska) bi lahko aproksimirali obnašanje paličastih bakterij izpostavljenih hidrostatičnemu tlaku. V takih lupinah se zaradi zunanjega hidrostatičnega nadtlaka pojavijo krožne in vzdolžne notranje napetosti, ki pa so odvisne od radija sfero-cilindrične lupine. Zaradi anizotropne zgradbe lupine se struktura pod vplivom hidrostatičnega tlaka deformira drugače kot bi se, če bi bila zgrajena iz izotropne snovi. Tako se pod vplivom homogenega tlaka lupina močno podaljša in zoži, zaradi česar se notranje napetosti v strukturi precej zmanjšajo. Izkaže se celo, da obstaja optimalen kot usmeritve anizotropije v steni sfero-cilindrične lupine, ki povzroča največje razmerje med podaljšanjem in zoženjem in s tem povzroči največjo relaksacijo notranjih napetosti.

Na ta način bi lahko mehanistično razložili sposobnost nekaterih anizotropno grajenih paličastih bakterij, da s pomočjo sprostitve notranjih napetosti, ki je posledica podaljšanja in zoženja zaradi anizotropne zgradbe [3], preživijo ekstremno visoke nadtlake.

[1] G. Cicconofri, A. DeSimone, *European Physical Journal E* **39**, 72 (2016).

[2] L. D. Landau, E. M. Lifshitz, *Theory of elasticity*, (Pergamon press, 2011), str. 37.

[3] Dai X, idr., *mBio* **9**, e02375-17 (2018).

Modelska napoved vpliva presnovnih in signalnih poti celice alfa na izločanje glukagona

Jan Zmazek¹, Vladimir Grubelnik², Rene Markovič^{1,2} in Marko Marhl^{1,3,4}

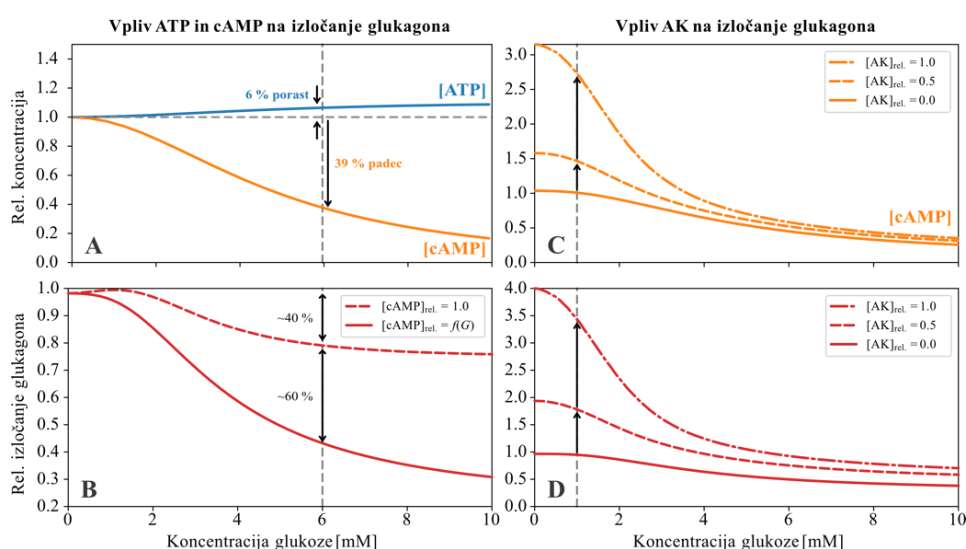
¹Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru, Maribor

²Fakulteta za elektrotehniko, računalništvo in informatiko, Univerza v Mariboru, Maribor

³Pedagoška fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor

⁴Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru, Maribor

Homeostazo glukoze (G), aminokislin (AK) in prostih maščobnih kislin (PMK) v človeškem organizmu natančno regulirata hormona inzulin in glukagon, ki ju izločajo celice beta in alfa endokrinega dela trebušne slinavke. Zaznavanje in ustrezen odziv obeh celic je močno odvisen od presnovnih in znotrajceličnih signalnih poti, ki se sprožijo ob različnih zunajceličnih signalih, kot je povišana plazemska koncentracija G. Okvara mehanizmov zaznave ali ustreznega odziva vodi do sladkorne bolezni tipa 2 oz. drugih presnovnih motenj. Za kvantitativno proučevanje vpliva različnih presnovnih stanj na izločanje hormonov smo razvili enoten matematični model celic alfa in beta, ki vključuje najpomembnejše presnovne poti G in PMK [1]. V sklopu modela celice alfa smo predlagali mehanizem, pri katerem dvig pH zaradi znižane G preko ključnega sekundarnega sporočevalca cAMP predstavlja dodatno varnostno stikalo za stimulacijo izločanja glukagona [2]. Ker so celice alfa močno odzivne na plazemsko koncentracijo nekaterih AK, smo model dopolnili z mehanizmom zaznave glutamina kot najpogostejše AK po obroku [3]. Presnova G temelji na dvojnem stikalu, ki ga sestavljata dvig koncentracije ATP in padec koncentracije cAMP (panel A). Rezultati kažejo, da je glukozno-odvisno izločanje glukagona v ~40 % odvisno od (glikolitske) presnove, v ~60 % pa od signaliziranja preko cAMP (panel B). Model napoveduje močno zvišano koncentracijo cAMP ob dodajanju AK (panel C). Modelsko G- in AK-odvisno izločanje glukagona je prilagojeno eksperimentalnim podatkom (panel D).



[1] V. Grubelnik, J. Zmazek, R. Markovič, M. Gosak, M. Marhl, *Journal of Theoretical Biology* **493**, 110213 (2020).

[2] J. Zmazek, V. Grubelnik, R. Markovič, M. Marhl, *Cells* **10**(4), 896 (2021).

[3] J. Zmazek, V. Grubelnik, R. Markovič, M. Marhl, *Metabolites* **12**(4), 348 (2022).

Comparison of the inhibitory effects of several anti-oxidants on aggregation of stefin B and cystatin C

Alma Jahić Mujkić¹, Samra Hasanbašić¹, Selma Berbić¹, Magda Tušek Žnidarič²,
and Eva Žerovnik³

¹*Faculty of Pharmacy, Department of Biochemistry, University of Tuzla, Tuzla*

²*National Institute of Biology, Ljubljana*

³*Department of Biochemistry and Molecular and Structural Biology, Jožef Stefan Institute, Ljubljana*

Amyloid fibril formation is a shared property of all proteins; therefore, model proteins can be used to study this process. We measured protein aggregation of the amyloid forming human proteins stefin B and cystatin C in presence and absence of several antioxidants. Amyloid fibril formation by stefin B was routinely induced at pH 5 and 10% TFE, at r.t., while cystatin C formed fibrils at more extreme conditions of pH 4 and 50°C. The effect of antioxidants: Vit C - vitamin C, NAC – (N-acetyl-L-cysteine) and three polyphenols: resveratrol, quercetin and curcumin (Cur) on the kinetics of amyloid fibril formation were followed using ThT fluorescence, while morphology and amount of aggregates vs. fibrils was checked by transmission electron microscopy (TEM). The concentration of the antioxidants was varied and it was observed that different modes of action apply at low or high concentrations relative to the binding constant.

For stefin B (an intracellular protein with one free cysteine) we have shown (Hasanbašić S. et al., *Oxid Med Cell Longev.*, 2018) that Vit C inhibits amyloid fibril formation, both, by prolonging the lag phase and by diminishing the final amount of the fibrils. Similarly, the concentration of 50 μ M Cur both prolongs the lag phase and reduces the amount of mature fibrils. The quantity and morphology of the fibrils at 50 μ M Cur were checked by TEM, because one cannot neglect a possible quenching effect on ThT fluorescence. For cystatin C (a secreted protein with 2 disulphide bonds) we have shown (Jahić A. et al., *Neurochem. Intern.*, 2020) that different substances affect its amyloid fibril formation. Apart from sulphoraphane, NAC and Vit C exhibit the largest inhibitory effect on amyloid fibril growth. The effects of polyphenols are not significant, apart from resveratrol, which partly inhibits the amyloid fibril growth.

SEZNAM UDELEŽENCEV

- | | |
|--------------------------|-------------------------------|
| 01. Andrenšek Urška | 38. Ntarakas Nikolaos |
| 02. Arh Katja | 39. Oberčkal Pluško Izak |
| 03. Bajrić Amra | 40. Pajk Stane |
| 04. Barać Uroš | 41. Podlipec Rok |
| 05. Blažević Tina | 42. Polanšek Juš |
| 06. Božič Bojan | 43. Potisk Tilen |
| 07. Brojan Miha | 44. Potočnik Zala |
| 08. Cindrič Alenka | 45. Potrč Melani |
| 09. Čopar Simon | 46. Praprotnik Matej |
| 10. Čotar Petra | 47. Prošek Jakob |
| 11. Derganc Jure | 48. Rajh Karin |
| 12. Dobovišek Andrej | 49. Rogelj Boris |
| 13. Ficko Anica | 50. Sebastijanović Aleksandar |
| 14. Gnidovec Andraž | 51. Sočan Jaka |
| 15. Golmajer Zima Neža | 52. Stanić Nino |
| 16. Goršič Nika | 53. Sterle Anej |
| 17. Gosak Marko | 54. Svenšek Daniel |
| 18. Gradišar Centa Urška | 55. Svetina Saša |
| 19. Humar Matjaž | 56. Šarlah Andreja |
| 20. Kanduč Matej | 57. Šentjunc Marjeta |
| 21. Kangler Ajda | 58. Štalc Anton |
| 22. Koklič Tilen | 59. Štanc Rok |
| 23. Kokot Boštjan | 60. Šterk Marko |
| 24. Kokot Hana | 61. Tkalec Uroš |
| 25. Kotnik Nina | 62. Tuljak Marko |
| 26. Kos Maligoj Filip | 63. Urbančič Iztok |
| 27. Krajnc Matej | 64. Vadnjal Neža |
| 28. Krišelj Ana | 65. Vaupotič Domen |
| 29. Kukovičič Andraž | 66. Vilfan Andrej |
| 30. Lah Darin | 67. Vitas Dominik |
| 31. Ljubetič Ajasja | 68. Zavodnik Jan |
| 32. Majaron Boris | 69. Zemljič Jokhadar Špela |
| 33. Mally Mojca | 70. Ziherl Primož |
| 34. Marhl Marko | 71. Zmazek Jan |
| 35. Mencinger Blaž | 72. Žekš Boštjan |
| 36. Meštrović Katarina | 73. Železnik Urban |
| 37. Naglič Peter | 74. Žerovnik Eva |