



Research projects (co)funded by the Slovenian Research Agency .

Project

Member of University of Ljubljana	UL Faculty of Electrical Engineering
Code	J2-4447
Project	Cell membrane uptake of bacteria, virions and anorganic particles controlled by membrane mechanics and topology
Period	2022-2025
Range on year	2.454 FTE
Head: prof. dr. Aleš Iglíč	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/researcher/5196
Research activity	numerical modelling, Monte Carlo simulations, mechanics and statistical physics of surfaces and interfaces
Research Organisation	https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/organization/758

Abstract

New theoretical approaches of mechanics and physics in modelling of the cell shape changes influenced by attached, intercalated or encapsulated inorganic NPs, bacteria and virions will be developed or elaborated in this project. These new theoretical approaches will take into account the active forces of the cell cytoskeleton, the anisotropic membrane mechanical properties and topological defects (TDs), which are favourable points for membrane interactions with NPs and highly-curved parts of nanoparticles-decorated surfaces (NPSs). The corresponding novel computer programs for numerical modelling and Monte Carlo (MC) simulations of the shape changes and the topology of cell membranes (in contact with NPs or NPSs) will be developed, comprising the main goal of this project proposal. Our newly developed numerical and simulations tools to study the 3-D shapes and topological defect distributions on the membranes along with their interactions with NPs and NPSs will be universal. Our numerical calculations and MC simulations will serve as an initial guide for experimental measurements.

Researchers

<https://cris.cobiss.net/ecris/si/sl/project/20204>

Citations for bibliographic records

<https://bib.cobiss.net/biblioweb/cit/si/slv/citprj/20204>

The phases of the project and their realization

Mejniki (milestones), ki so bili izpolnjeni po načrtu:

M2. Razvit numerični program za numerično določanje orientacijskega urejanja ukrivljenih membranskih komponent in oblik osnosimetričnih celic/veziklov :

-v delu Mesarec in sod., Scientific Reports 13:10663, 2023 (COBISS.SI-ID 157604867) smo razvili numerični program za orientacijsko urejanje ukrivljenih membranskih komponent in oblik osnosimetričnih celic/veziklov, ki vključuje izračun ravnovesnih nematskih orientacijskih vzorcev (tekstur) z uporabo standardne metode Monte Carlo. Za numerični izračun skupne proste energije se v programu izvede numerična integracija po površini zaključene lupine s pomočjo ustrezne Jacobijeve determinante. Ravnovesne 3-D oblike lupin smo potem določili z numerično minimizacijo proste energije kot funkcije več spremenljivk (Fourierjeve amplitude). V tem procesu se najprej uporabi metoda Monte Carlo za pridobitev ravnovesne nematske konfiguracije na zaključeni površini fiksne oblike.

Nato pa se oblika površine variira na podlagi trenutne nematske teksture in postopek ponovi iterativno, dokler ne dobimo končne 3-D ravnovesne oblike zaključene fleksibilne nematske lupine in ustrezno nematske teksture po celotni površini. V procesu minimizacije vzdržujemo konstantno površino zaključene lupine in konstantno prostornino, ki jo omejuje zaključena lupina. Na ta način vzdržujemo tudi fiksno vrednost relativne prostornine zaključene lupine, ki jo potem lahko spreminjamo, da dobimo ustrezen fazni diagram.

Poročilo izpolnitve delovnih nalog D1 (WP1), ki vključuje:

D 1.1: Poročilo o razvitem numeričnem programu za orientacijsko urejanje ukrivljenih membranskih komponent in oblik osnosimetričnih celic/veziklov je podano v gornjem delu poročila o izpolnitvi mejnika M2, ki je bil objavljen v delu Mesarec in sod., Scientific Reports 13:10663, 2023 [COBISS.SI-ID 157604867]. V tem članku smo razvito numerično metodo uporabili za študij vpliva intrinzične ukrivljenosti anizotropnih gradnikov nematske zaključene fleksibilne lupine na 3-D oblike lupin in ustreznih specifičnih tekstur orientacijskega urejanja v lupini. Omenjeni rezultati v preteklosti še niso bili izvedeni s strani drugih avtorjev v okviru mezoskopskih numeričnih študij 3-D oblik zaprtih fleksibilnih nematskih lupin.

D 1.2: Razvili smo prvo verzijo simulacijskega programa Monte Carlo (MC) za izračun neosnosimetričnih oblik veziklov, kjer je lahko prosta energija membrane/lupine funkcija deviatorne ukrivljenosti in Gaussove ukrivljenosti. Članek/poglavje o tem dosežku sprejet v objavo v Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly, vol.19, Elsevier, 2023. Predobjava dosežka je na voljo na: <http://arxiv.org/abs/2403.02885>

Publications in the year 2023 connected to the project

WP1: Development of the Monte Carlo simulation program for calculation of vesicle shapes emphasizing the role of the curvature deviator and Gaussian curvature

Mesarec in sod., Scientific Reports 13:10663, 2023 [COBISS.SI-ID 157604867] . For non-axisymmetric shapes – first version: Ravid in sod., Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly, vol.19, Elsevier, 2023, glejte: <http://arxiv.org/abs/2403.02885>

WP2: Development of numerical procedures to study positional assembling of topological defects (TDs) in biological membranes and their interaction with nanoparticles (NPs)

Mesarec et al., Scientific Reports 13:10663, 2023 [COBISS.SI-ID 157604867] in Hölbl et al., ACS Omega 8, 169–179, 2023 [COBISS.SIID 137430275].

WP3: Development of the computer programs for predictions and simulations of lipid vesicles adhesion to the flat surface and nanoparticles-decorated surface (NPS)

Front. Cell Dev. Biol. 11: 1193793, 2023 [COBISS.SI-ID 154483715]; Ravid et al., Front. Mol. Biosci. 10: 1153420, 2023 [COBISS.SI-ID 191016195]; Sadhu et al., J. Cell Science, 136 (14): jcs260744, 2023 [COBISS.SI-ID 191020291]; Raval J.L., Shapes and shape transformations of vesicles induced by their adhesion to rigid surfaces, PhD thesis, Warsaw, 2022 (mentorja: A. Iglič, W. Gozdz) [COBISS.SIID 129972995]; Sadhu et al., Nature Communications 14: 5612, 2023 [COBISS.SI-ID 166115587].

WP4: Simulations of NPs-membrane interactions (phagocytosis)

Sadhu et al., Soft Matter 19, 31-43, 2023 [COBISS.SI-ID 134945539]; Pandur et al., J. Coll. Interface Science, 650(B): 1193-1200, 2023 [COBISS.SI-ID 159013379]; Drabik et al., Scientific Reports 13:18570, 2023 [COBISS.SI-ID 171022339].

WP5: Experimental study of NPs-lipid bilayer and NPSs-lipid bilayer interactions

Rawat et al., ACS Appl. Bio Mater., 6: 5481–5492, 2023 [COBISS.SI-ID 178187523]; Jeran et al., Int. J. Mol. Sci. 24: 4349, 2023 [COBISS.SIID 142622467].

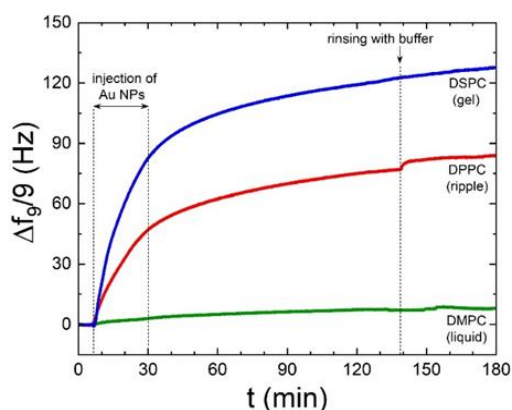
Eksperimentalno testiranje (vspostavitve eksperimentalnega sistema in prve meritve) interakcij celične membrane z NSP z uporabo QCM-D opisano posebej kot sledi:

Proučevali smo interakcije sferičnih Au nanodelcev (premera 10 nm, površinsko prevlečenih z PEG-OMe brez električnega naboja) z dvema vrstama biomimetičnih membran: podprti lipidni dvosloji (SLB) in podprti lipidni vezikli (SLV). SLB so ravni, medtem ko so SLVs ukrivljeni. Uporabili smo kvarčno mikrotehniko z nadzorom dissipacije Q-Sense Analyzer (QCMD), ki v realnem času meri spremembe v adsorbirani masi preko sprememb frekvenc in dissipacije.

Kar zadeva SLB, pri uporabi »zwitterionskega« lipida DMPC, adsorbiranega na substrat SiO₂ pri 37 °C (tekoča faza), nismo mogli zaznati nobene interakcije. Nekatere manjše spremembe signala, tik nad eksperimentalnim šumom, so lahko povezane s počasno časovno difuzijo. Pri spreminjanju koncentracije raztopine nanodelcev Au (0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml in 0,5 mg/ml) ni bilo opaziti nobene razlike.

Kar zadeva SLV, smo skozi 100 nm filtre ekstrudirali tri zwitterionske (dipolne) lipide, in sicer DMPC, DPPC in DSPC; pri 37 °C so v tekoči, »ripple« in gel fazi. SLV so bili adsorbirani na Au podlagah (substratih). V tem primeru so bile spremembe frekvence in disipacije večje v primerjavi s SLB, kar kaže na to, da Au nanodelci počijo nekaj veziklov. Velikost učinka je močno odvisna od lipidne faze, pri čemer sta bolj prizadeti faza gela in »ripple« faza, kot je razvidno iz Slike 1.

Sedanji rezultati, kot tudi drugi nedavni rezultati [1], kažejo, da je vloga električnega naboja bistvena za interakcijo med nanodelci in lipidnimi membranami. Zato trenutno proučujemo interakcije med Au nanodelci enake velikosti, a drugačne prevleke ([PEG]12-COOH, negativno nabiti pri pH ~ 7,4) in pozitivno nabitimi lipidnimi membran. Z ohranjanjem enakih lastnosti jedra nanodelcev in spreminjanjem prevleke želimo odkriti učinek naboja.



Slika 1. Spremembe frekvence QCMD (deveti prizvok), opažene pri 37 °C za DSPC (gel faza), DPPC (»ripple« faza) in DMPC (tekoča faza) SLB, adsorbirane na Au substrate. Učinek Au nanodelcev je veliko močnejši pri interakciji z lipidi v gel in »ripple« fazah.

Referenca

[1] L. Bar, F. Perissinotto, L. Redondo-Morata, M.I. Giannotti, J. Goole, P. Losada-Pérez, Coll. Surf. B: Biointerfaces, 210: 112239 (2022).

PUBLICATIONS in 2023
connected to the project

1. COBISS ID 166115587, **Nature communications**; 2023; Vol. 14, [article no.] 5612; str. 1-13; Impact Factor: 16.600
Title: **Experimental and theoretical model for the origin of coiling of cellular protrusions around fibers**
Naslov: **Eksperimentalni in teoretični model ovijanja membranskih celičnih protruzij okoli tankih podolgastih vlaken**
Authors: Kumar Sadhu Raj, Hernandez-Padilla Christian, Eshed Eisenbach
Yael, Penič Samo, Zhang Lixia, Vishwasrao Harshad D., Behkam Bahareh, Konstantopoulos Konstantinos, Shroff Hari, Igljič Aleš, Peles Elior, Nain Amrinder S., Gov Nir S.

DESCRIPTION: Protrusions at the leading-edge of a cell play an important role in sensing the extracellular cues during cellular spreading and motility. Recent studies provided indications that these protrusions wrap (coil) around the extracellular fibers. However, the physics of this coiling process, and the mechanisms that drive it, are not well understood. In this paper we describe the mathematical modelling and Monte Carlo simulation of the membrane interactions with tubular nanostructures in the presence of active forces. We present also a combined theoretical and experimental study of the coiling of cellular protrusions on fibers of different geometry. Our theoretical model describes membrane protrusions that are produced by curved membrane proteins that recruit the protrusive forces of actin polymerization, and identifies the role of bending and adhesion energies in orienting the leading-edges of the protrusions along the azimuthal (coiling) direction. Our model predicts that the cell's leading-edge coils on fibers with circular cross-section (above some critical radius), but the coiling ceases for flattened fibers of highly elliptical cross-section. These predictions are verified by 3D visualization and quantitation of coiling on suspended fibers using Dual View light-sheet microscopy (diSPIM).

OPIS: Protruzije na sprednjem robu celice igrajo pomembno vlogo pri zaznavanju zunajceličnega okolja znakov med celičnim širjenjem in gibljivostjo. Nedavne študije so pokazale, da se te membranske protruzije lahko ovijajo okoli zunajceličnih proteinskih vlaken. Fiziki do sedaj tega procesa ovijanja niso zadovoljivo teoretično opisali. V članku uporabimo matematično modeliranje in Monte Carlo simulacije membranskih interakcij s cevastimi nanostrukturami (vlakni) v prisotnosti aktivnih sil. Predstavimo tudi kombinirano teoretično in eksperimentalno študijo ovijanja membranskih celičnih izrastkov na proteinska vlakna različnih geometrij. Naš teoretični model lahko opiše membranske protruzije, ki jih proizvajajo ukrivljeni membranski proteini, ki rekrutirajo protruzivne aktivne sile polimerizacije aktina, in opredeljuje vlogo upogibnih in adhezijskih energij pri usmerjanju vodilnih robov membranskih protruzij vzdolž smeri ovijanja.

Naš model predvideva, da je energijsko ugodno, da se vodilni rob celice ovije na vlakna nanodimenzij s krožnim prečnim prerezom (nad nekim kritičnim polmerom), vendar zvijanje energijsko ni več ugodno pri sploščenih vlaknih z visoko eliptičnim prečnim presekom. Naše teoretične (simulacijske) napovedi smo preverili s 3D vizualizacijo in kvantificiranjem ovijanja okoli vlaken z uporabo napredne mikroskopije. Na splošno nudimo teoretični okvir, podprt z eksperimenti, ki pojasnjuje fizični izvor pojava ovijanja celičnih membranskih izrastkov okoli tankih in dolgih proteinskih nanodimenzij.

2. COBISS ID 134945539, Soft matter; 2023; Vol. 19, iss. 1; str. 31-43; Impact Factor: 3.400;
Title: **A theoretical model of efficient phagocytosis driven by curved membrane proteins and active cytoskeleton forces**

Naslov: **Teoretični mehanski model učinkovite fagocitoze pod vplivom aktivnih citoskeletnih sil v navezi na ukrivljene membranske proteine**

Authors: Kumar Sadhu Raj, Barger Sarah R., Penič Samo, Iglič Aleš, Krendel Mira, Gauthier Nils C., Gov Nir S.;

DESCRIPTION: We study the process of phagocytosis of nanoparticles of different shapes by using Monte Carlo model of a three-dimensional cell with the membrane containing curved membrane-bound protein complexes or curved membrane nano-domains, which in turn recruit active cytoskeletal forces. Complete engulfment of nanoparticles is achieved when the bending energy cost of the vesicle is balanced by the gain in the adhesion energy. The presence of curved (convex) proteins reduces the bending energy cost by self-organizing with a higher density at the highly curved leading edge of the engulfing cell membrane, which forms the circular rim of the phagocytic cup that wraps around the nanoparticle. This allows the engulfment to occur at much smaller adhesion strength. When the curved membrane-bound protein complexes locally recruit actin polymerization machinery, which leads to outward active forces being exerted on the membrane, we found that engulfment is achieved more quickly and at a lower protein density.

We consider spherical and non-spherical particles and found that non-spherical particles are more difficult to engulf in comparison to the spherical particles of the same surface area. For non-spherical particles, the engulfment time crucially depends on the initial orientation of the particles with respect to the vesicle. Our theoretical mechanical model offers a mechanism for the spontaneous selforganization of the actin cytoskeleton at the phagocytic cup, in good agreement with recent high-resolution microscopy observations.

OPIS: Proces fagocitoze nanodelcev različnih oblik smo preučevali teoretično z uporabo Monte Carlo modela simulacijskega modela tridimenzionalne celice z membrano, ki vsebuje ukrivljene membransko proteinske komplekse (nanodomene), ki lahko rekrutirajo aktivne citoskeletne sile. Rezultati Monte Carlo simulacij so pokazali, da je kompletno membransko zajetje nanodelcev (fagocitoza) energijsko ugodno takrat, ko je povečanje upogibne energije membrane uravnovežen s povečanjem negativne adhezijske energije. Prisotnost ukrivljenih (konveksnih) proteinov zmanjša povečanje upogibne energije membrane pri upogibanju med fagocitozo s samoorganiziranjem ukrivljenih proteinov z večjo gostoto na močno ukrivljenem vodilnem robu celične membrane, ki tvori krožni rob fagocitnega dela membrane ("membranske skodelice"), ki se ovija okoli nanodelca. To omogoča, da pride do enkapsulacije nanodelca pri veliko manjši adhezijski jakosti med nanodelcem in membrano.

Ko ukrivljeni proteinski kompleksi, vezani na membrano, lokalno rekrutirajo molekularne sisteme za polimerizacijo aktina, ta proces vodi do delovanja aktivnih aktinskih sil, ki delujejo na membrano tako, da olajšajo fagocitozo hitreje in pri nižji gostoti ukrivljenih membranskih proteinov. Teoretično smo študirali fagocitozo sferičnih in nesferičnih nanodelcev in ugotovili, da je fagocitoza nesferičnih nanodelcev energijsko manj ugodna v primerjavi s fagocitozo sferičnih nanodelcev enake površine. Pri nesferičnih nanodelcih je čas zajetja (enkapsulacije) bistveno odvisen od začetne orientacije nanodelcev glede na površino celične membrane. Naš teoretični mehanski model nudi fizikalni (mehanski) mehanizem za spontano samoorganizacijo aktinskega citoskeleta na fagocitnem delu membrane, kar se dobro ujema z nedavnimi mikroskopskimi opazovanji z visoko ločljivostjo.

3. COBISS ID 157604867, **Scientific reports**; 2023; 13, article number 10663; str. 1-11; Impact Factor: 4.600

Title: **Coupling of nematic in-plane orientational ordering and equilibrium shapes of closed flexible nematic shells**

Naslov: **Povezava med nematskim orientacijskim redom anizotropnih gradnikov in ravnovesnimi oblikami zaključenih upogljivih nematskih lupin**

Authors: Mesarec Luka, Gózdź Wojciech, Kralj-Iglič Veronika, Kralj Samo, Iglič Aleš

DESCRIPTION: The impact of the intrinsic curvature of in-plane orientationally ordered curved flexible nematic molecules attached to closed 3D flexible shells was studied numerically. A Helfrich-Landau-de Gennes-type mesoscopic approach was adopted where the flexible shell's curvature field and inplane nematic field are coupled and concomitantly determined in the process of free energy minimisation. We demonstrate that this coupling has the potential to generate a rich diversity of qualitatively new shapes of closed 3D nematic shells and the corresponding specific in-plane orientational ordering textures, which strongly depend on the shell's volume-to-surface area ratio, so far not predicted in mesoscopic-type numerical studies of 3D shapes of closed flexible nematic shells.

OPIS: Vpliv intrinzične ukrivljenosti anizotropnih gradnikov v ravnini orientacijsko urejenih ukrivljenih upogljivih nematskih molekul, pritrjenih na zaprte 3-D upogljive lupine, so smo proučevali z numerično minimizacijo elastomehanske energije zaključenih tankih upogljivih lupin. Privzeli smo mezoskopski pristop tipa Helfrich-Landau-de Gennes teoretičnih modelov, kjer sta polje ukrivljenosti upogljive lupine in nematsko polje v ravnini lupine združena in sočasno določena v procesu minimizacije proste energije lupine. Dokazali smo, da je ta sklopitev izvor bogate raznolikosti kvalitativno novih teoretično napovedanih oblik zaključenih 3-D nematskih upogljivih anizotropnih lupin in ustreznih specifičnih tekstur orientacijskega urejanja v ravnini, ki so močno odvisne od razmerja med prostornino in površino lupine. Pred tem še niso bile objavljene teoretične napovedi v okviru mezoskopskih numeričnih študij 3-D oblik zaprtih fleksibilnih nematskih lupin kot so predstavljene v tem delu.

4. COBISS ID 178187523, ACS applied bio materials; 2023; 12

Title: Fine-tuning the nanostructured titanium oxide surface for selective biological response

Naslov: Modifikacija nanostrukturiranih titanovih površin za selektivni odziv adheziranih bioloških celic

Authors: Rawat Niharika, Benčina Metka, Paul Domen, Kovač Janez, Lakota

Katja, Žigon Polona, Kralj-Iglič Veronika, Ho Hsin-Chia, Vukomanović Marija, Iglič Aleš, Junkar Ita

DESCRIPTION: Cardiovascular diseases are a pre-eminent global cause of mortality in the modern world. Typically, surgical intervention with implantable medical devices such as cardiovascular stents is deployed to reinstate unobstructed blood flow. Unfortunately, existing stent materials frequently induce restenosis and thrombosis, necessitating the development of superior biomaterials. These biomaterials should inhibit platelet adhesion (mitigating stent-induced thrombosis) and smooth muscle cell proliferation (minimizing restenosis) while enhancing endothelial cell proliferation at the same time.

To optimize the surface properties of Ti6Al4V medical implants, we investigated two surface treatment procedures: gaseous plasma treatment and hydrothermal treatment. We analyzed these modified surfaces through scanning electron microscopy (SEM), water contact angle analysis (WCA), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and X-ray diffraction (XRD) analysis.

Additionally, we assessed in vitro biological responses, including platelet adhesion and activation, as well as endothelial and smooth muscle cell proliferation. Herein, we report the influence of pre/post oxygen plasma treatment on titanium oxide layer formation via a hydrothermal technique. Our results indicate that alterations in the titanium oxide layer and surface nanotopography significantly influence cell interactions. This work offers promising insights into designing multifunctional biomaterial surfaces that selectively promote specific cell types' proliferation which is a crucial advancement in next-generation vascular implants.

OPIS: Bolezni srca in ožilja so najpomembnejši svetovni vzrok umrljivosti v sodobnem svetu. Kirurška vstavljanja žilnih opornic se izvajajo, da se ponovno vzpostavi neoviran pretok krvi. Na žalost obstoječi materiali za žilne opornice pogosto povzročijo restenozo in trombozo, zaradi česar je potreben razvoj boljših površin tovrstnih opornic, ki bi zavirali adhezijo trombocitov (zmanjšanje tromboze, ki jo povzroči žilna opornica) in proliferacijo gladkih mišičnih celic (zmanjšanje restenoze), hkrati pa povečali proliferacijo endotelijskih celic.

Za optimizacijo površinskih lastnosti žilnih opornic smo raziskali dva postopka površinske obdelave površin, ki se uporabljajo za izdelavo žilnih opornic: obdelavo s plinsko plazmo in hidrotermalno obdelavo. Tako spremenjene površine smo nato analizirali z vrstično elektronsko mikroskopijo (SEM), analizo kontaktnega kota vodne kapljice (WCA) na naših modificiranih površinah, rentgensko fotoelektronsko spektroskopijo (XPS) in analizo rentgenske difrakcije (XRD). Poleg tega smo in vitro ocenili biološke odzive, vključno z adhezijo in aktivacijo trombocitov, kot tudi proliferacijo endotelijskih in gladkih mišičnih celic.

Študirali smo lastnosti površin (pripravljeno z našo na novo razvito hidrotermalno tehniko priprave nanostrukturiranih površin) pred/po obdelavi površin s kisikovo plazmo in vpliv tega tretiranja na tvorbo plasti titanovega oksida na površinah. Naši rezultati kažejo, da lahko inducirane spremembe v plasti titanovega oksida in površinski nanotopografiji pomembno vplivajo na celične interakcije s tako obdelanimi površinami. Naši rezultati tako nudijo perspektivno metodo za modificiranje večnamenskih površin biomaterialov za uporabo pri izdelovanju žilnih opornic, ki selektivno spodbujajo proliferacijo specifičnih vrst celic, kar je ključno za napredek pri načrtovanju vaskularnih vsadkih naslednje generacije.

5. COBISS ID 142622467, **International journal of molecular sciences**; 2023; Vol. 24, no 5, [article no.] 4349; str. 1-16; Impact Factor: 5.600

Title: **Small cellular particles from European spruce needle homogenate**

Naslov: **Majhni celični delci (vesikli) iz homogenata smrekovih iglic**

Authors: Jeran Marko, Romolo Anna, Spasovski Vesna, Hočevar Matej, Novak Urban, Štukelj Roman, Šuštar Vid, Kisovec Matic, Bedina Zavec Apolonija, Kogej Ksenija, Iglič Aleš, Trebše Polonca, Kralj-Iglič Veronika

DESCRIPTION: Small cellular particles (SCPs) are being considered for their role in cell-to-cell communication. We harvested and characterized SCPs from spruce needle homogenate. SCPs were isolated by differential ultracentrifugation. They were imaged by scanning electron microscope (SEM) and cryogenic transmission electron microscope (cryo TEM), assessed for their number density and hydrodynamic diameter by interferometric light microscopy (ILM) and flow cytometry (FCM), total phenolic content (TPC) by UV-vis spectroscopy, and terpene content by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The supernatant after ultracentrifugation at 50.000 x g contained bilayer enclosed vesicles whereas in the isolate we observed small particles of other types and only a few vesicles. The number density of cell-sized particles (CSPs) (larger than 2 µm) and mesosized particles (MSPs) (cca 400 nm – 2 µm) was about four orders of magnitude lower than the number density of SCPs (sized below 500 nm). The average hydrodynamic diameter of SCPs measured was 161 ± 133 nm. TCP decreased considerably due to 5-day aging. Volatile terpenoid content was found in the pellet after 300× g. The above results indicate that spruce needle homogenate is a source of vesicles to be explored for potential delivery use.

OPIS: Majhni celični delci (SCP) so zanimivi zaradi njihove vloge pri komunikaciji (transportu) med celicami. Izolirali in karakterizirali smo SCP iz homogenata smrekovih iglic. SCP smo izolirali z diferencialnim ultracentrifugiranjem. Posneli smo jih z vrstičnim elektronskim mikroskopom (SEM) in kriogenim transmisijskim elektronskim mikroskopom (cryo TEM), ocenili njihovo številčno gostoto in hidrodinamični premer z interferometrično svetlobno mikroskopijo (ILM) in pretočno citometrijo (FCM), celotno vsebnost fenolov (TPC) z UV -vis spektroskopijo in vsebnost terpenov s plinsko kromatografijo-masno spektrometrijo (GC-MS). Supernatant po ultracentrifugiranju pri 50.000 g je vseboval membranske dvoslojne zaključene (zaprte) vezikle, medtem ko smo v izolatu opazili majhne delce drugih vrst in le nekaj veziklov. Gostota števila delcev velikosti celic (CSP) (večjih od 2 μm) in delcev mezo velikosti (MSP) (cca 400 nm – 2 μm) je bila približno štiri velikostne rede nižja od gostote števila SCP (velikosti pod 500 nm). Povprečni izmerjeni hidrodinamski SCP premer je bil 161 ± 133 nm. TCP se je znatno zmanjšal zaradi 5-dnevnega staranja. Vsebnost hlapnih terpenoidov je bila ugotovljena v peletu po centrifugiranju pri 300 g. Zgornji rezultati kažejo, da je homogenat smrekovih iglic vir veziklov, ki jih je treba raziskati za morebitno dostavo.

6. COBISS ID 154483715, *Frontiers in cell and developmental biology*; 2023; Vol. 11, [article no.] 1193793; str. 1-10; Impact Factor: 5.500
Title: **Modelling how curved active proteins and shear flow pattern cellular shape and motility**

Naslov: **Modeliranje vpliva ukrivljenih aktivnih proteinov in aktivnih sil citoskeleta na oblike in gibljivosti adheziranih celic v toku tekočine**

Authors: Sadhukhan Shubhadeep, Penič Samo, Iglič Aleš, Gov Nir S.

DESCRIPTION: Cell spreading and motility on an adhesive substrate are driven by the active physical forces generated by the actin cytoskeleton. We have recently shown that coupling curved membrane complexes to protrusive forces, exerted by the actin polymerization that they recruit, provides a mechanism that can give rise to spontaneous membrane shapes and patterns. In the presence of an adhesive substrate, this model was shown to give rise to an emergent motile phenotype, resembling a motile cell. Here, we utilize this "minimal-cell" model to explore the impact of external shear flow on the cell shape and migration on a uniform adhesive flat substrate. We find that in the presence of shear the motile cell reorients such that its leading edge, where the curved active proteins aggregate, faces the shear flow. The flow-facing configuration is found to minimize the adhesion energy by allowing the cell to spread more efficiently over the substrate. For the non-motile vesicle shapes, we find that they mostly slide and roll with the shear flow. We compare these theoretical results with experimental observations, and suggest that the tendency of many cell types to move against the flow may arise from the very general, and non-cell-type-specific mechanism predicted by our model.

OPIS: Širjenje in gibljivost celic na adhezivni podlagi (substratu) določajo aktivne sile, ki jih generirajo aktinski elementi citoskeleta. Pokazali smo, da sklopitev ukrivljenih membranskih kompleksov z protruzivnimi silami, ki so posledica polimerizacija aktina in se rekrutirajo ob ukrivljenih membranskih kompleksih, določa fizikalni mehanizem spreminjanja celičnih oblik in gibanja celic, ki so adhezirane na ravni površini (substratu). V članku predpostavljamo minimalni fizikalni model adhezirane celice, ki opiše njeno gibanje in spremembo oblike v zunanjem strižnem toku tekočine. Ugotavljamo, da se v prisotnosti delovanja strižnih sil na površino celice smer gibanja celice lahko preusmeri tako, da je njen sprednji rob, kjer se akumulirajo ukrivljeni aktivni membranski proteini, obrnjen v nasprotni smeri strižnega toka. Ugotovljeno je bilo, da konfiguracija, obrnjena proti toku, minimizira energijo adhezije celice in tako omogoča celici, da se učinkoviteje razleze po substratu. Za negibljive oblike celic smo ugotovili, da večinoma drsijo in se kotalijo v smeri strižnega toka tekočine.

Naše teoretične rezultate smo primerjali z eksperimentalnimi opazovanji in zaključili, da lahko nagnjenost mnogih vrst celic, da se gibljejo proti toku tečine pojasnimo s predlaganim zelo splošnim fizikalnim mehanizmom, ki ni specifičen za posamezen tip celice, pač pa popolnoma spošen in bazira na osnovnih fizikalnih zakonih.

7. COBISS ID 159013379, **Journal of colloid and interface science**; 2023; Vol. 650, Part B; str. 1193-1200; Impact Factor: 9.900

Title: **Surfactin molecules with a cone-like structure promote the formation of membrane domains with negative spontaneous curvature and induce membrane invaginations**

Naslov: **Molekule surfaktina s stožčasto obliko spodbujajo nastanek membranskih nanodomov z negativno spontano ukrivljenostjo in inducirajo membranske invaginacije**

Authors: Pandur Žiga, Penič Samo, Igljč Aleš, Kralj-Igljč Veronika, Stopar David, Drab Mitja

DESCRIPTION: Surfactin uniquely influences lipid bilayer structure by initially inducing membrane invaginations before solubilization. In this study, we exposed DOPC giant vesicles to various surfactin concentrations at different temperatures and observed surfactin-induced membrane invaginations by using differential interference contrast and confocal laser fluorescence microscopy. These invaginations were stable at room temperature but not at high temperatures. Surfactin molecules induce membrane nanodomains with negative spontaneous curvature and membrane invaginations despite their intrinsic conical shape and intrinsic positive curvature. Considering the experimentally observed capacity of surfactin to fluidize lipid acyl chains and induce partial dehydration of lipid headgroups, we propose that the resulting surfactin-lipid complexes exhibit a net negative spontaneous curvature.

We further conducted 3D numerical Monte Carlo (MC) simulations to investigate the behaviour of vesicles containing negative curvature nanodomains within their membrane at varying temperatures. MC simulations demonstrated strong agreement with experimental results, revealing that invaginations are preferentially formed at low temperatures, while being less pronounced at elevated temperatures. Our findings go beyond the expectations of the Israelachvili molecular shape and packing concepts analysis. These concepts do not take into account the influence of specific interactions between neighboring molecules on the inherent shapes of molecules and their arrangement within curved membrane nanodomains. Our work contributes to a more comprehensive understanding of the complex factors governing vesicle morphology and membrane organization and provides in-sight into the role of detergent-lipid interactions (nanoparticle-lipid interactions) in modulating vesicle morphology.

OPIS: Surfaktin poseben vpliva na strukturo lipidnega dvosloja tako, v začetni fazi interakcije z membrano (t.j. pred solubilizacijo) inducira membranske invaginacije. V tej študiji smo sintetizirali vezikle DOPC različnim koncentracijam molekul surfaktina pri različnih temperaturah in opazovali invaginacije membrane, ki jih povzroča surfaktin, z uporabo diferencialne interferenčne kontrastne mikroskopije in konfokalne laserske fluorescenčne mikroskopije. Opažene membranske invaginacije so bile stabilne pri sobni temperaturi, vendar ne tudi pri višjih temperaturah. Molekule surfaktina inducirajo membranske nanodomene z negativno spontano ukrivljenostjo in membranskimi invaginacijami kljub svoji intrinzični konični obliki in intrinzični pozitivni ukrivljenosti. Glede na eksperimentalno opaženo sposobnost surfaktina na fluidizacijo lipidnih acilnih verig in induciranje delne dehidracije glav okolnih lipidnih molekul, smo sklepali, da nastali surfaktinsko-lipidni nanokompleksi (nanodomene) izkazujejo neto negativno spontano ukrivljenost.

V nadaljevanju smo izvedli 3-D Monte-Carlo (MC) numerične simulacije, da bi raziskali obnašanje veziklov, ki vsebujejo v membrani nanodomene negativne ukrivljenosti pri različnih temperaturah. MC simulacije so pokazale močno ujemanje z rezultati eksperimentov s surfaktinom in razkrile, da se membranske invaginacije prednostno oblikujejo pri nizkih temperaturah, medtem ko so manj izrazite pri povišanih temperaturah. Naše ugotovitve nadgrajujejo napovedi v okviru uveljavljenega konceptov molekularne oblike Israelachvili-ja, katerega koncept ne upošteva vpliva specifičnih interakcij med sosednjimi molekulami na lastne oblike molekul in njihovo razporeditev znotraj ukrivljenih membranskih nanodomen. Naše delo tako prispeva k celovitejšemu razumevanju kompleksnih dejavnikov, ki urejajo morfologijo veziklov in organizacijo membrane, ter zagotavlja vpogled v vlogo interakcij detergent-lipid (in interakcij nanodelcev in lipidov) pri določanju oblike membranskih veziklov in celic.

8. COBISS ID 171022339, **Scientific reports**; 2023; 13, article number 18570; str. 1-14; Impact Factor: 4.600;

Title: **Investigation of nano- and microdomains formed by ceramide 1 phosphate in lipid bilayers**

Naslov: **Raziskava nano- in mikro-domen v lipidnih dvoslojih**

Authors: Drabik Dominik, Drab Mitja, Penič Samo, Iglič Aleš, Czogalla Aleksander

DESCRIPTION: Biological membranes are renowned for their intricate complexity, with the formation of membrane domains being pivotal to the successful execution of numerous cellular processes. However, due to their nanoscale characteristics, these domains are often understudied, as the experimental techniques required for quantitative investigation present significant challenges. In this study we employ spotvariation z-scan fluorescence correlation spectroscopy (svzFCS) tailored for artificial lipid vesicles of varying composition and combine this approach with high-resolution imaging. This method has been harnessed to examine the lipid-segregation behavior of distinct types of ceramide-1-phosphate (C1P), a crucial class of signaling molecules, within these membranes.

Moreover, we provide a quantitative portrayal of the lipid membranes studied and the domains induced by C1P at both nano and microscales. Given the lack of definitive conclusions from the experimental data obtained, it was supplemented with comprehensive in silico studies—including the analysis of diffusion coefficient via molecular dynamics and domain populations via Monte Carlo simulations. This approach enhanced our insight into the dynamic behavior of these molecules within model lipid membranes, confirming that nano- and microdomains can co-exist in lipid vesicles.

OPIS: Biološke membrane so znane po svoji zapleteni kompleksnosti, pri čemer je oblikovanje membranskih naondomen in domen ključnega pomena za uspešno izvajanje številnih celičnih procesov. Vendar pa so zaradi velikosti v nanometrski skali membranske nanodomene in domene premalo raziskane, saj ustrezne eksperimentalne tehnike, potrebne za kvantitativno preiskavo, predstavljajo velik izziv. V tej študiji uporabljamo variacijsko fluorescenčno korelacijsko spektroskopijo, prilagojeno za študij umetnih lipidnih veziklov različnih sestav, in ta pristop združujemo s slikanjem z mikroskopom z visoko ločljivostjo. Opisana metoda je bila v tem delu uporabljena za preučevanje obnašanja lipidne segregacije različnih vrst ceramid-1-fosfata (C1P), ključnega predstavnika signalnih molekul v membranah.

Poleg tega nudimo kvantitativni prikaz proučevanih lipidnih membran in domen, ki jih inducira C1P, tako na nano kot na mikroskali. Glede na pomanjkanje dokončnih zaključkov iz pridobljenih eksperimentalnih podatkov je bila naša študija dopolnjena z analizo difuzijskega koeficienta in ostalih lastnosti v okviru Monte Carlo simulacij. Naš pristop je izboljšal vpogled v dinamično obnašanje obravnavanih membranskih molekul znotraj modelnih lipidnih membran, kar je potrdilo, da lahko nano- in mikro-domene soobstajajo v lipidnih veziklih.

9. COBISS ID 122079235, Elsevier; Academic Press; 2023; Str. 393-413

Title: Physical principles of cellular membrane shapes

Naslov: Fizikalni principi določanja oblike celične membrane

Authors: Gov Nir S., Kralj-Iglič Veronika, Kumar Sadhu Raj, Mesarec Luka, Iglič Aleš

DESCRIPTION: In this work, we introduced the physical mechanisms that allow cells to deform their lipid membrane to achieve various dynamic or stable shapes. The cell controls its shape using its protein components, which adsorb to the membrane and elicit the shape changes. We did not describe the biochemical details of each protein component that deforms the membrane but rather focused on the physics of bending the membrane into various shapes by considering the energy and forces involved in this process. We kept the description mostly in non-technical terms and referred the interested reader to the original papers for more technical details. While many mechanisms that produce specific membrane shapes in cells have been already exposed, there are still fundamental processes that involve cellular membrane dynamics, which we do not fully understand, from cell migration to endocytosis. Whatever will be the biochemical and biophysical mechanisms that will be unraveled in the future, it is important to realize that the membrane shapes will be governed by the same basic energies and forces, which we have described earlier.

OPIS: V tem delu smo predstavili fizikalne mehanizme, ki omogočajo celicam, da deformirajo svojo lipidno membrano ter dosežejo različne dinamične ali stabilne oblike. Celica nadzira svojo obliko s pomočjo svojih membranskih proteinskih komponent, ki so vgrajeni v membrano ali adsorbirani na membrani in lahko izzovejo spremembe oblike membrane (celice). V tem delu smo se osredotočili na fiziko upogibanja membrane v različne oblike z upoštevanjem membranske energije in citoskeletnih sil, vključenih v ta proces. Medtem ko so bili s strani mnogih avtorjev številni mehanizmi, ki določajo specifične oblike membran v celicah, že izpostavljeni, še vedno obstajajo nerazjasnjeni nekateri temeljni procesi, ki vključujejo dinamiko celične membrane, ki je še ne razumemo popolnoma, od celične migracije do endocitoze, kar je eden izmed predmetov obravnave tega dela. Ne glede na to, kakšni so biokemijski mehanizmi, ki jih še bodo odkriti v prihodnosti, se je pomembno zavedati, da je oblika in dinamika membran določena z minimizacijo energije membrane in vplivom sil citoskeleta, ki smo jih opisali v tem delu.

10. COBISS ID 137430275, **ACS omega**; 2023;
Vol. 8, iss. 1; str. 169-179; Impact Factor: 4.100
Title: **Stable assemblies of topological defects
in nematic orientational order**
Naslov: **Stabilni skupki topoloških defektov v
nematskem orientacijskem redu**
Authors: Hölbl Arbresha, Mesarec Luka,
Polanšek Juš, Iglič Aleš, Kralj Samo;

DESCRIPTION: We considered general mechanisms enabling the stabilization of localized assemblies of topological defects (TDs). There is growing evidence that physical fields represent fundamental natural entities, and therefore these features are of interest to all branches of physics. In general, cores of TDs are energetically costly, and consequently, assemblies of TDs are unfavorable. Owing to the richness of universalities in the physics of TDs, it is of interest to identify systems where they are easily experimentally accessible, enabling detailed and well-controlled analysis of their universal behavior, and cross-fertilizing knowledge in different areas of physics. In this respect, thermotropic nematic liquid crystals (NLCs) represent an ideal experiment testbed for such studies. In addition, TDs in NLCs could be exploited in several applications.

We present examples that emphasize the importance of curvature imposed on the phase component of the relevant order parameter field. In NLCs, it is represented by the nematic tensor order parameter. Using a simple Landau-type approach, we show how the coupling between chirality and saddle splay elasticity, which can be expressed as a Gaussian curvature contribution, can stabilize Meron TDs. The latter have numerous analogs in other branches of physics. TDs in 2D curved manifolds reveal that the Gaussian curvature dominantly impacts the assembling and stabilization of TDs. Furthermore, a strong enough curvature that serves as an attractor for TDs is a respective field that could be imposed in a fast enough phase transition. Assemblies of created TDs created in such a disordered environment could be stabilized by appropriate impurities.

OPIS: Razvili smo modele, s katerimi smo preučevali vpliv topoloških defektov (TD) na stabilnost tekoče kristalnih (TK) membran sferične topologije in njihovo interakcijo z nanodelci. V modeliranju smo predpostavili nematično orientacijsko urejenost, za katero je značilna aksialna simetrija. Izhajali smo iz mezoskopskega opisa, kjer smo TK urejenost opisali z nematičnim tenzorskim ureditvenim parametrom Q in lokalno ukrivljenost membrane s tenzorskim poljem ukrivljenosti C . S tenzorjema Q in C smo izrazili gostoto proste energije sistema, kjer smo uporabili Landau-ov razvoj in smo upoštevali ključne simetrijsko dovoljene člene. Z uporabo paralelnega transporta smo izpeljali geometrijski potencial V , katerega krajevna odvisnost za dano geometrijo napoveduje atraktorska mesta za TD v TK urejenosti. Za izračun slednjega potenciala potrebujemo samo geometrijsko obliko membrane (torej ni potrebno izračunati ravnovesne konfiguracije Q).

Predpostavili smo, da lokalni maksimumi delujejo kot atraktorji topoloških defektov. Napovedno moč izpeljanega geometrijskega potenciala smo preverili s številnimi numeričnimi simulacijami, kjer smo izračunali tenzorsko ureditveno polje Q za tri kvalitativno različne membranske strukture. Razvili smo tudi povezavo med dvo- (2D) in tridimenzionalnim (3D) modeliranjem nematične urejenosti membran. Pokazali smo, da jedra TD v 3D opisu v splošnem izkazujejo negativno enoosnost, v 2D opisu pa je orientacijski red v jedrih staljen. Pokazali smo tudi možnost obstoja linearnih defektov v efektivno 2D membranskih strukturah. Iz naših raziskav sledi, da je 2D modeliranje, ki je numerično občutno manj zahtevno, izjemno učinkovito za napoved 3D obnašanja tankih membran. Nadalje smo preučevali vpliv lastne ukrivljenosti fleksibilnih molekul pritrjenih na fleksibilne 3D membrane na strukturne in geometrijske lastnosti sistema. V ta namen smo dodali v naš mezoskopski model dodatno interakcijo, ki sklaplja lokalno ukrivljenost membrane in pritrjene molekule. Demonstrirali smo, da lahko lastna ukrivljenost molekul generira bogato raznovrstnost kvalitativno različnih konfiguracij.

11. COBISS ID 191016195, *Frontiers in Molecular Biosciences*. May 2023, vol. 10, [article no.] 1153420, str. 1-18, ilustr. ISSN 2296-889X. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2023.1153420/full>, DOI: 10.3389/fmolb.2023.1153420.
Title: **Theoretical model of membrane protrusions driven by curved active proteins**
Naslov: **Theoretical model of membrane protrusions driven by curved active proteins**
Authors: Y. Ravid, S. Penič, Y. Mimori-Kiyosue, S. Suetsugu, A. Iglič, N. S. Gov

DESCRIPTION: We characterize the phase diagrams of this model, as function of the magnitude of the active forces, nearest-neighbor protein interactions and the proteins' spontaneous curvature. It was previously shown that this model can explain the formation of lamellipodia-like flat protrusions, and here we explore the regimes where the model can also give rise to filopodia-like tubular protrusions. We extend the simulation with curved components of both convex and concave species, where we find the formation of complex ruffled clusters, as well as internalized invaginations that resemble the process of endocytosis and macropinocytosis. We alter the force model representing the cytoskeleton to simulate the effects of bundled instead of branched structure, resulting in shapes which resemble filopodia.

OPIS: Evkariontske celice lahko spremenijo svojo obliko, tako da spremenijo sestavo svoje membrane ali/in prestrukturirajo osnovni citoskelet. V tem delu opišemo rezultate študij na podlagi razširjenega minimalnega fizikalnega modela celice, ki se sestoji iz zaključenega membranskega vezikla l z mobilnimi ukrivljenimi membranskimi proteinskimi kompleksi. Citoskeletne sile opišemo kot posledico polimerizacije aktina ob ukrivljenih membranskih proteinih. Fazne diagrame opisanega modela predstavimo kot funkcijo velikosti aktivnih sil, moči interakcije med ukrivljenimi molekulami v membrani ter in intrinzične/spontane ukrivljenosti membranskih proteinov. Opisani model lahko pojasni nastanek filopodne cevaste membranske izrastke. Rezultati Monte Carlo simulacij v okviru minimalnega fizikalnega modela celice posplošimo na dve vrsti ukrivljenih proteinov, konveksne in konkavne intrinzične oblike vrst. Med drugim tako pojasnimo nastanek kompleksnih grozdastih membranskih izrastkov, pa tudi membranske invaginacije, ki lahko razložijo proces endocitoze in makropinocitoze. Variacija sile citoskeletnih aktinskih elementov lahko dobro simulira nastanek membranskih izrastkov, ki spominjajo na filopodije.

12. COBISS ID 191020291, **Journal of Cell Science**. Jul. 2023, vol. 136, iss. 14, str. 1-13, ilustr. ISSN 1477-9137.
<https://journals.biologists.com/jcs/article/136/14/jcs260744/324865/A-minimal-cell-model-for-lamellipodia-based>, DOI: 10.1242/jcs.260744.

Title: A minimal cell model for lamellipodia-based cellular dynamics and migration

Naslov: Minimalni celični model za celično dinamiko in migracijo na osnovi delovanja lamelipodijev

Authors: R. Sadhu, A. Iglič, N. S. Gov

DESCRIPTION: We review here recent theoretical works where we have demonstrated that membrane bound protein complexes that have intrinsic curvature and recruit the protrusive forces of the cytoskeleton result in a simple, yet highly robust, organizing feedback mechanism that organizes the cytoskeleton and the membrane. This self-organization mechanism accounts for the formation of flat lamellipodia at the leading edge of cells spreading over adhesive substrates, allowing for the emergence of a polarized, motile 'minimal cell' model. This article highlights that despite the complexity of cellular composition, there might be simple general physical principles that are utilized by the cell to drive cellular shape dynamics.

OPIS: Vseprisotna celična struktura, ki igra pomembno vlogo razširjanju in migraciji celice po zunanjih površinah, je membranska tanka ploščata protruzija, ki jo imenujemo lamelopodija. Lamelopodija "poganja" sprednji rob celice. Kljub podrobnemu znanju o številnih komponentah te celične strukture še ni popolnoma razumljeno, kako se komponente lamelopodije samoorganizirajo prostorsko in časovno, da tvorijo strukturo lamelipodije. V tem članku opišemo rezultate naših nedavnih teoretičnih in simulacijskih študij v katerih smo dokazali, da na membrano vezani proteinski kompleksi, ki imajo intrinzično/spontano ukrivljenost in spodbujajo protruzivne aktinske sile citoskeleta, lahko pojasnijo nastanek in funkcijo ravnih lamelipodijev na vodilnem robu celic, ki se širijo po adhezivnih površinah. Opisan model razloži nastanek polariziranega, gibljivega dela celice. Isti mehanizem lahko tudi pojasni samo-organizacijo lamelipodija v procesu zajetje delcev med fagocitozo. Dalje opisani model razloži v okviru preprostih fizikalnih predpostavk širjenje in migracijo celic po vlaknih in drugih ukrivljenih površinah. Zaključujemo, da kljub zapletenosti celične sestave lahko obstajajo preprosta splošna fizikalna načela, ki jih celica uporablja za spodbujanje dinamike celične oblike.