

Štúdium redoxnej regulácie mitochondriových chloridových kanálov kardiomyocytov

Tuesday, 24 May 2016 09:15 (15 minutes)

Mitochondrie sú typickým príkladom bunkových organel, ktorých funkcia je úzko spätá s udržiavaním redoxnej rovnováhy. Kyslík, ako jedna z kľúčových molekúl v procese oxidačnej fosforylácie, je vysoko reaktívna molekula, zodpovedná za produkciu tzv. reaktívnych kyslíkových foriem (ROS, z angl. reactive oxygen species), ktoré môžu ireverzibilne poškodiť proteíny a ich funkciu v membráne mitochondrií. K týmto proteínom patria aj iónové kanály, ktorých porucha môže spôsobiť vážne poškodenie funkcie buniek alebo dokonca ich smrť. V našej štúdiu sme sa venovali výlučne iba mitochondriovým chloridovým kanálom kardiomyocytov izolovaných zo srdca potkana. Pre získanie čistej frakcie submitochondriových vezikul (SMP) sme použili diferenciálnu centrifugáciu v Percoll gradiente. Na zisťovanie jedнокanálových (tzv. „single-channel“) charakteristík sme použili metódu inkorporácie iónových kanálov do planárnej lipidovej dvojvrstvy (BLM, z angl. bilayer/black lipid membrane). Redoxnú reguláciu týchto kanálov sme sledovali aplikovaním redukovanej a oxidovanej formy glutatiónu (GSH a GSSG) a ditiotreitolu (DTT), bežne používaného reduktanta disulfidových väzieb, na obe strany kanálu (tzv. cis a trans strana). Rôzne pomery GSH:GSSG z cis a trans strany nemali efekt, rovnako ako zvyšujúca sa koncentrácia DTT z cis strany. Koncentrácia DTT 500 $\mu\text{mol/l}$, aplikovaná do trans oddielu, spôsobila zvýšenie reverzného potenciálu. Skúmaním napäťovej závislosti mitochondriových chloridových kanálov sme zistili, že sú napäťovo závislé – s rastúcim kladným napätím sa zvýšila pravdepodobnosť otvorenia kanálu Popen. Kanály, ktoré sme skúmali, pravdepodobne nezodpovedajú proteínu CLIC4. Keďže oxidačný stres úzko súvisí s transmembránovým potenciálom, experimentom napäťovej závislosti sme načrtli ďalšiu možnú oblasť výskumu mitochondriových chloridových kanálov.

Sekce

Biofyzika a fyzika molekulárných systémů

Primary author: Ms HAVLÍKOVÁ, Jana (Fakulta matematiky, fyziky a informatiky)

Presenter: Ms HAVLÍKOVÁ, Jana (Fakulta matematiky, fyziky a informatiky)

Session Classification: Biofyzika a fyzika molekulárných systémů