

A TMEM175 lizoszómális kálium csatorna vizsgálata

Csigi Gergely Imre SE, ÁOK V.

Bevezetés Pár évvel ezelőtt írtak le egy új kálium csatornát, a TMEM175 (Transmembrane protein 175) -öt. Ez a fehérje egy lizoszómális kálium csatorna, amelyet nehéz vizsgálni intracelluláris lokalizációja miatt. Azóta kiderült, hogy ubikviter és a Parkinson kór patomechanizmusában feltételezik fontos szerepét. Kutatócsoportunk talált egy olyan anyagot, amelynek alkalmazása azelőtt soha nem látott mértékű TMEM175 áramokat idézett elő a plazmamembránon keresztül a modellünkben. Ez az anyag a Dyngo-4a, amely a sejtekben történő vezikuláris transzport egyik kulcsmolekuláját, a dinamint, gátolja.

Célkitűzés Kísérleteinkkel a TMEM175 alapvető elektrofiziológiai tulajdonságait szeretttük volna meghatározni. További célunk volt a Dyngo-4a hatásainak mechanizmusát megismerni. A közelmúltban a protein kináz B (PKB) fehérje TMEM175-re kifejtett szabályozásával kapcsolatban jelentek meg közlemények. Szerettük volna megérteni, hogy vajon a közlemények eredményei milyen kapcsolatban állnak a Dyngo-4a hatásaival.

Módszer Az egér TMEM175 csatornát afrikai karmosbéka petékben fejeztük ki és két-elektrodos feszültségzár módszerrel vizsgáltuk. A PKB hatását konstitutívan aktív, csonkolt PH (pleckstrin homology) doménű konstrukcióval vizsgáltuk.

Eredmények Kutatócsoportunknak sikerült a világon elsőként plazmamembránban vizsgálni a TMEM175 kálium csatornát. Ezt a Dyngo-4a nevű molekula alkalmazásával sikerült elérni, amellyel a mért kálium áram körülbelül a 20-szorosára emelkedett. Az említett módszerrel bizonyítottuk, hogy valóban a TMEM175-ön keresztül megvalósuló áramról van szó és megmértük a csatorna feszültségfüggését. Emellett az injektált cRNS és a Dyngo-4a dózis-hatás görbáját is felrajzoltuk. További érdekes eredményünk, hogy a Dyngo-4a alkalmazásával plazmamembránba irányított TMEM175 csatornát is szabályozza a PKB.

Következtetés A TMEM175 kódoló régió pontmutációk (SNP) bizonyított kapcsolata a Parkinson kórral jól mutatja a csatorna szerepét a betegség kialakulásában. A TMEM175 p.M393T kódoló variánsa a negyedik legerősebb ismert genetikai kockázat a Parkinson kór vonatkozásában. Általunk lehetővé vált a csatorna felszíni mérése két-elektrodos feszültségzár módszerrel, a jóval körülményesebb organellum patch-clamp mellett. Azt reméljük, hogy ezen módszer alkalmazása és a csatorna általunk leírt alapvető elektrofiziológiai tulajdonságainak ismerete más kutatócsoportokat is hozzásegít majd a TMEM175 egyszerűbb vizsgálatához.