

HARMADIK

SÁNTHA-FÜZET

A 2018/2019-es tanév
Tudományos Kerekasztal
előadásainak absztraktkötete



SÁNTHA KÁLMÁN
SZAKKOLLÉGIUM



Szabó Máté

A DIPÓLPOTENCIÁL MÉRÉSE NAGY ÁTERESZTŐKÉPESSÉGŰ ÁRAMLÁSI CITOMETRIÁS MÓDSZERREL

Gyógyszerésztudományi Kar, III. évfolyam

A membrán dipólpotenciálja (DP) a lipidekhez asszociált interfaciális vízmolekulák, illetve a foszfolipidek és szterolok dipoláris szegmentumainak rendezett térbeli orientációjából ered. A dipólok elrendeződése révén ≈ 300 mV-os pozitív potenciál jön létre, amely a transzmembrán és felületi potenciáloknál jóval nagyobb intramembrán elektromos erőteret eredményez, befolyásolva a membránfehérjék konformációját és funkcióit. A DP nagyságát főleg a membrán lipidösszetétele, különösen a szterolok mennyisége határozza meg. Elhelyezkedése miatt mérése rendkívül nehéz, erre főleg a feszültség-szenzitív di-8-ANEPPS fluorofórt használják spektrofluoriméteres vagy konfokális mikroszkópos excitációs aránymérési assay során. Ezen módszerek azonban jelentős hátrányokkal rendelkeznek, így célul tűztük ki egy új DP mérési módszer kifejlesztését. Kísérleteink során egy újonnan leírt 3-hidroxiflavon-származék használatával kidolgoztunk és optimalizáltunk egy áramlási citometriás technikát a DP mérésére. Alkalmazásának alapja, hogy excitáció után a fluorofórban gerjesztett állapotú intramolekuláris proton transzfer reakció megy végbe. Az így kialakuló normál és tautomer forma emissziója elkülönül és mivel a két forma relatív előfordulása az intramembrán elektromos erőter függvénye, a fluorofor alkalmas a DP meghatározására emissziós aránymérési assay segítségével. Ismert DP-t módosító kezelések (phloretin, 6-ketocholestanol) használatával bizonyítottuk módszerünk alkalmazhatóságát, di-8-ANEPPS-sel végzett spektrofluorimetriás referenciamérések mellett. JY lymphoblastoid és THP-1 monocita sejtekben kimutattuk, hogy a membrán koleszterin, illetve 7-dehidrokoleszterin tartalmának metil- β -ciklodextrin/szterol komplexekkel történő növelése dóziszfüggő módon növeli a DP nagyságát. A munkánk során optimalizált új áramlási citometriás módszer alkalmazható nagy mennyiségű élő sejt DP-jának gyors, egyszerű és megbízható mérésére.