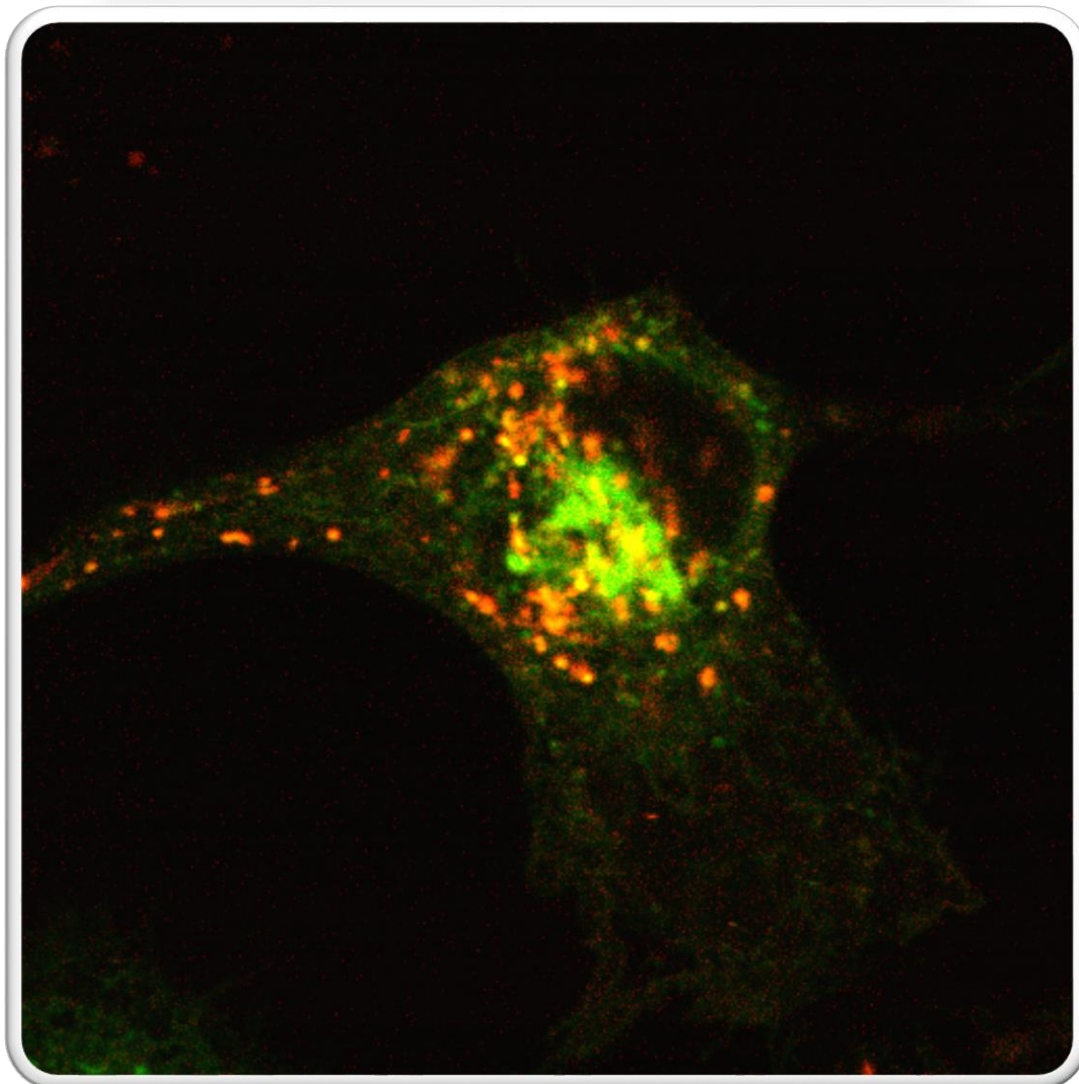




A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG
XXVII. KONGRESSZUSA



DEBRECENI
EGYETEM

2019. augusztus 26 – 29.

Debrecen

Debreceni Egyetem

Élettudományi Központ

Szterolok és többszörösen telítetlen zsírsavak dipólpotenciálra gyakorolt hatásának vizsgálata új áramlási citometriás módszerrel (P2)

Szabó Máté, Zákány Florina, Cs. Szabó Bence, Varga Zoltán, Nagy Péter, Kovács Tamás¹

¹DE ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A dipólpotenciál (DP) +300 mV-os intramembrán potenciál, amely jelentősen befolyásolja a transzmembrán fehérjék konformációját és funkcióit. A membrán szterol tartalmának emelése növeli a DP nagyságát, így hiperkoleszterinémiában (HC), illetve Smith-Lemli-Opitz szindrómában (SLOS), ahol a membrán koleszterin, illetve 7-dehidrokoleszterin (7DHC) tartalma emelkedik, várható a DP patofiziológiai jelentőséggel bíró növekedése. A DP mérésére a legelterjedtebb módszer a di-8-ANEPPS fluorofórt alkalmazó spektrofluoriméteres vagy mikroszkópos excitációs aránymérés, melynek alkalmazhatósága azonban erőteljesen korlátozott, így célunk volt egy hatékony DP mérési módszer fejlesztése és tesztelése a fenti betegségek membránbiofizikai modelljeiben.

Munkánk során kidolgoztunk egy F66 feszültség-szenzitív fluorofórt alkalmazó, emissziós aránymérésen (R_{em}) alapuló áramlási citométeres technikát a DP mérésére, összevetve eredményeinket spektrofluorimetriás referenciaméréseink adataival. Ismert DP-t módosító kezelések (phloretin, 6-ketocholestanol) használatával bizonyítottuk módszerünk alkalmazhatóságát, az F66 R_{em} negatív korrelációt mutatott a DP nagyságával (szenzitivitás: kb. -15%/100 mV). Ezután JY és THP-1 sejtvonalakon és humán PBMC-ken létrehoztuk a fenti betegségek modelljeit és meghatároztuk a DP nagyságát új módszerünkkel.

A HC, illetve SLOS modelljében kimutattuk, hogy a membrán koleszterin, illetve 7DHC tartalmának növelése a megfelelő metil-béta-ciklodextrin/szterol komplexekkel dóziszfüggő módon növelte a DP nagyságát ($\Delta R_{em,max}$ -14%, illetve -8%). A HC terápiájában kiegészítésként használt magas telítetlen zsírsav tartalmú diéta hatásának vizsgálata során omega-3 zsírsav alkalmazása dóziszfüggően csökkentette, míg omega-6 zsírsav növelte a DP-t ($\Delta R_{em,max}$ +10%, illetve -5%).

Új áramlási citometriás módszerünk alkalmazható nagyszámú élő sejt DP-jának gyors, egyszerű és megbízható mérésére és a sejtmembrán összetételének megváltozásával járó betegségek vizsgálatára.