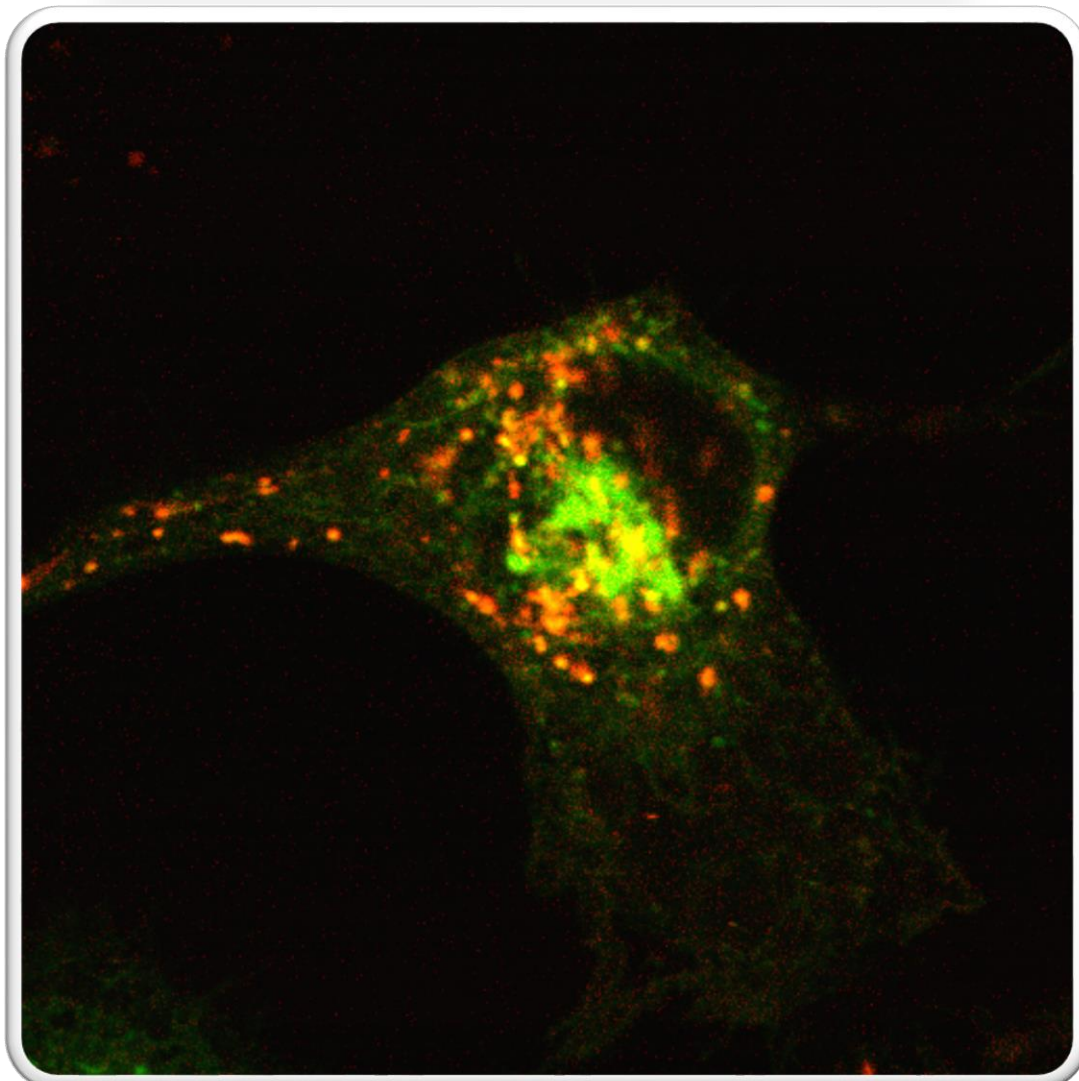




A MAGYAR BIOFIZIKAI TÁRSASÁG
XXVII. KONGRESSZUSA



DEBRECENI
EGYETEM

2019. augusztus 26 – 29.

Debrecen

Debreceni Egyetem

Élettudományi Központ

A dipólpotenciál mérése membránösszetétel-változással járó betegségek membránbiofizikai modellrendszereiben új áramlási citométeres módszerrel (E7)

Szabó Máté, Zákány Florina, Cs. Szabó Bence, Varga Zoltán, Nagy Péter, **Kovács Tamás**¹

¹ Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

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-hidroxi-flavon-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 fluorofór 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-dehidro-koleszterin 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.