

A PROTEIN-FOSZFATÁZ Z1 ENZIM MEMBRÁNFUNKCIÓINAK VIZSGÁLATA MODERN BIOFIZIKAI MÓDSZEREKKEL

Hajdu Tímea¹, Szabó Krisztina², Jakab Ágnes³, Pócsi István³, Dombrádi Viktor², Nagy Péter¹

¹Debreceni Egyetem- Általános Orvostudományi Kar, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet;

²Debreceni Egyetem- Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet;

³Debreceni Egyetem- Természettudományi és Technológiai Kar, Molekuláris Biotechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék

A gombaszpecifikus protein-foszfataz Z1 (PPZ1) enzim jelentős szerepet játszik a gomba sejtfa integritásában, a sótoleranciában és az oxidatív stresszel szembeni védelemben. Kísérleteink során a PPZ1 membránra gyakorolt funkcióit vizsgáltuk normál körülmények között és oxidatív stressz esetén, *Candida albicans* modellrendszerben. A rendelkezésünkre álló PPZ1 deléciós mutáns (KO) és a kontroll QMY23 kontroll sejtvonalakon végeztünk összehasonlítást az oxidatív terc-butyl-hidroperoxiddal (tBOOH) szembeni védekezés vonatkozásában.

Mértük a sejtek generalizált polarizációját (GP), ami a membránhidrációt jellemzi, továbbá a membránlipidek mobilitását és a lipid peroxidáció mértékét. A konfokális mikroszkóppal készült képeken a sejtek membránját Matlab szoftverben egy neurális hálózat segítségével azonosítottuk.

Eredményeink arra utalnak, hogy a tBOOH-val történő kezelés következtében a sejtmembrán víztartalma megnő, ami a KO sejtvonala esetén a legjelentősebb. A kiszámított GP értékek membránpixelenkénti eloszlásának tanulsága szerint a KO sejteken normál körülmények között kevesebb rendezett, magas GP értékkel bíró domén található, vagyis valószínűsíthetően a PPZ1 hiánya miatt látens oxidatív károsodást szenvednek.

FRAP méréseink szerint a KO genotípus és az oxidatív stressz egyaránt lecsökkenti a membránlipidek laterális diffúzióját, kombinálva pedig a marker immobilizációját tapasztaltuk, ami egyrészt a fehérjék és a lipidek keresztkötéseinek, másrészt vélhetően a lipidek peroxidációjának a következménye. Mérésekkel alátámasztottuk, hogy a KO genotípusú sejteknél 50%-kal magasabb lipid peroxidáció figyelhető meg a tBOOH-val történő kezelés következtében, mint a kontrollnál.

Összegzésképpen elmondható, hogy a PPZ1 kiemelkedően fontos szerepet játszik a *Candida albicans* oxidatív stresszel szembeni védekezésében. Következésképpen az enyhe oxidálószer specifikus PPZ1 inhibitor molekulákkal kombinálva hatékonyan alkalmazhatóak lehetnek a jelenleg elérhető gyógyszerekre rezisztens *Candida* fajok okozta fertőzések kezelésében.

Rövidítések:

PPZ1: Protein-Phospatase Z1

KO: knockout

tBOOH: tert-butyl-hydroperoxide

GP: Generalized Polarization

FRAP: Fluorescence Recovery After Photobleaching