

TÖBB MECHANIZMUS IS HOZZÁJÁRUL A FESZÜLTSGKAPUZOTT PROTONCSATORNA FLUOROMETRIÁS JELÉHEZ

Fehér Ádám¹, Gilman Toombes², Pethő Zoltán^{1,3}, Bagosi Adrienn¹, Almássy János⁴, Panyi György¹, Varga Zoltán¹ és Papp Ferenc¹

¹ Debreceni Egyetem, ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet;

² Molecular Physiology and Biophysics Section, Porter Neuroscience Research Center, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, United States;

³ Institut für Physiologie II, Robert-Koch-Str. 27b, 48149, Münster, Germany;

⁴ Debreceni Egyetem, ÁOK, Élettani Intézet

A VCF (Voltage-Clamp Fluorometry) technika információt szolgáltat a feszültség-kapuzott fehérjék konformáció-változásairól. A fehérje egyik extracelluláris részéhez csatolt festék fluoreszcencia-intenzitásának változása jelenti a VCF jelet magát, amikor a fehérje konformációs átrendeződését a membránpotenciál elektródák általi megváltoztatása hozza létre. A festék lokális környezetének a változása idézi elő a fluoreszcencia intenzitás növekedését vagy csökkenését. Méréseink során a VCF jel keletkezésének vizsgálatához a Hv1 feszültség-kapuzott protoncsatornát használtuk eszközként, amely hasonló feszültségérzékelő szerkezettel rendelkezik, mint a többi feszültség-kapuzott ioncsatorna, de hiányzik belőle a pórus, amelyen keresztül az ionok áthaladhatnak a sejtmembránon. Az extracelluláris oldathoz hozzáadott lipidek segítségével, valamint pontmutációk létrehozásával azt találtuk, hogy a VCF jelet kettős hatása hozza létre: 1) a lipidek hatása a festékmolekulára a festék mozgása során, amikor a festék a membrán síkjához képest mozog; 2) az aminosavak fluoreszcencia-kioltó hatás. Egyszerű háromállapotú modellünkkel sikeresen le tudjuk írni a különböző mutánsok VCF jeleit, ami kompatibilis a feszültség-kapuzott fehérjék két fő feszültségérzékelő mozgásának elfogadott modelljével.