

A SEJTMEMBRÁN HATÁSA A LOKÁLIS LIGANDUM KONCENTRÁCIÓRA

Absztrakt szerzője: Szabó Ágnes¹

További szerzők: Szöllősi János^{1,2}, Nagy Péter²

¹MTA-DE Sejtbiológiai és Jelátviteli Kutatócsoport, Debreceni Egyetem

²Debreceni Egyetem ÁOK Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Bevezetés: A plazmamembrán kulcsfontosságú szerepet tölt be jelátviteli folyamatokban, mivel a hírvivők és a gyógyszermolekulák vagy kötődnek a membránhoz, vagy áthaladnak rajta. Bár a ligandum kötődése triviális egyensúlyi folyamat, a jelenséget jelentősen módosíthatja a ligandumok dinamikus asszociációja és disszociációja, ill. különböző membránjelenségek (membránkörforgalom, membrángörbület). Ezért célul tűztük ki, hogy megvizsgáljuk, milyen hatással van a membrán közelsége a ligandum lokális koncentrációjára.

Módszerek: A mérések során eGFP-ErbB1 receptorokat stabilan kifejező (~600.000 db/sejt) CHO sejteket (továbbiakban F1-4 sejtvonal) használtunk, melyek egy részét pECFP-ErbB2 plazmiddal transzfektáltuk a mérések előtt két nappal. Az ErbB1 fluoreszcensen jelölt ligandumával (TAMRA-EGF) inkubáltuk a sejteket, és FCS-sel megmértük a koncentrációját a sejtmembrántól való távolság függvényében. Ezt követően megvizsgáltuk, hogy az aktív depolimerizáló Latrunculin-B hogyan befolyásolja a TAMRA-EGF helyi koncentrációját.

Eredmények: A csak ErbB1-et kifejező F1-4 sejtvonal esetében a sejtmembrán ~5 µm-es környezetében ~3-szor nagyobb volt az EGF koncentráció, mint a szabad oldatban. Az ErbB2 expresszió befolyásolta a membrán közelében az ErbB1 ligandumának koncentrációját, ugyanis ErbB2 jelenlétében a TAMRA-EGF lokális koncentrációja a sejtmembrán felett 10-20 µm-rel maximumot mutatott. Az ErbB2-vel nem transzfektált F1-4 sejtek esetében a membrán lokális EGF koncentrációra kifejtett hatását a sejtek fixálása megszüntette, a Latrunculin-B kezelés viszont hatástalan volt. Az ErbB2-vel transzfektált sejtek esetében azonban mind a Latrunculin-B jelenléte, mind a fixálás csökkentette a membránhatás mértékét.

Konklúzió: Bár a kísérletek értelmezése és kvantitatív modellezése még folyamatban van, az eredmények egyértelműen alátámasztják, hogy a sejtmembrán jelentősen módosítja a ligandumok membránban expresszált receptorok környezetében mérhető koncentrációját.

Rövidítések:

EGF: epidermális növekedési faktor

ErbB1: epidermális növekedési faktor receptor (EGFR)

FCS: fluoreszcencia korrelációs spektroszkópia

F1-4: ErbB1-eGFP-vel stabilan transzfektált CHO sejtvonal