

CHARAKTERIZÁCIA VÁPNIKOVEJ HOMEOSTÁZY V MIKROORGANIZMOCH

Eva Kadlečíková, Martin Šimkovič, Ľudovít Varečka

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU, Bratislava
e-mail: eva.kadlecikova@stuba.sk

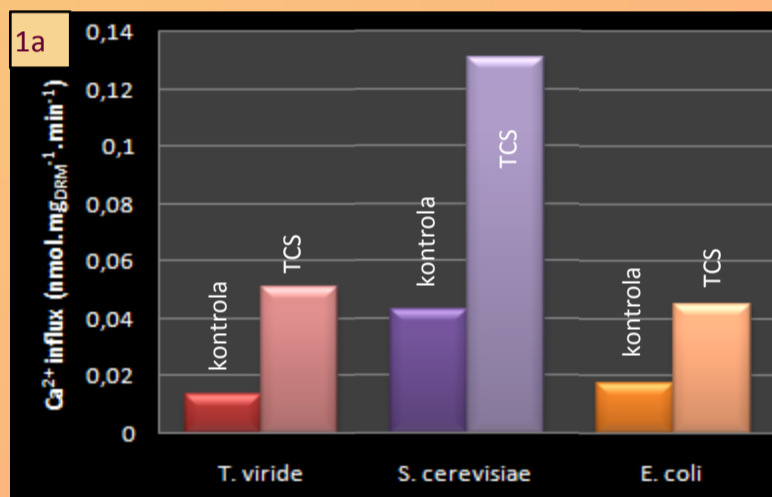
Úvod

Ca²⁺ ióny sa pokladajú za univerzálne signálne ióny, ktoré sa podieľajú na mnohých fyziologických pochodoch, napr. transmembránovej signalizácii, udržiavaní a distribúcii organel, distribúcii iónov a tiež diferenciácii buniek a ich delení. Kľúčom k objasneniu biologických funkcií Ca²⁺ iónov vo fyziológii živých buniek je pochopenie transportných a regulačných mechanizmov ovplyvňujúcich cytosolickú hladinu Ca²⁺. V prípade mikroorganizmov sú tieto procesy menej známe v porovnaní so živočíšnymi bunkami. Cieľom tohto projektu je zistiť a charakterizovať úlohu protónmotívnej sily (PMS) pri influxe a efluxe Ca²⁺ v rôznych typoch mikroorganizmov (baktérie, kvasinky, vláknité huby). Na alternatívny prístup ku charakterizácii hnacej sily sme použili kation s delokalizovaným nábojom z triedy kyanínových farbív a tiež látku amprolium, ktorá sa využíva pri liečbe parazitóz vo veterinárnom lekárstve.

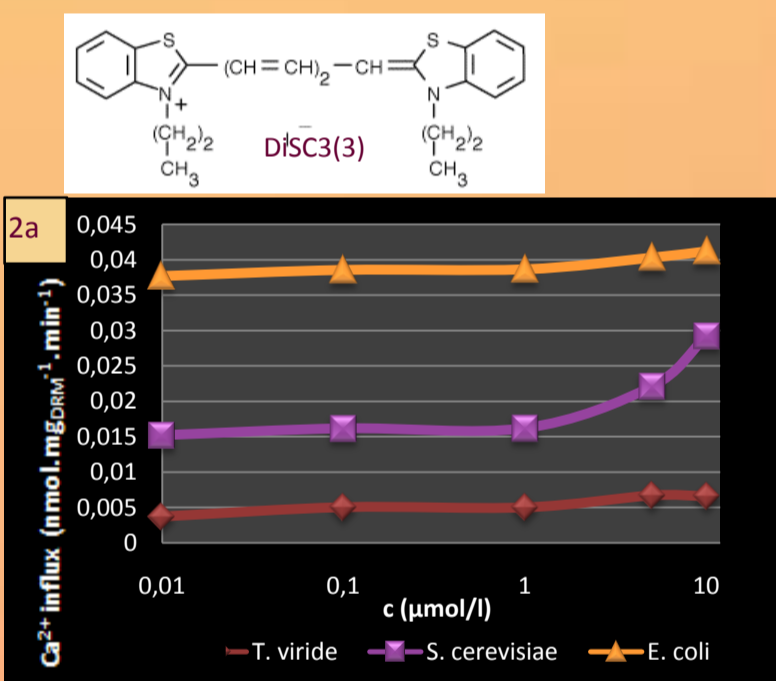
Materiál a metódy

Homeostáza Ca²⁺ iónov sa charakterizovala na základe merania transportu rádioaktívneho izotopu ⁴⁵Ca²⁺ do a z buniek mikroorganizmov. Meranie influxu bolo odštartované prídavkom CaCl₂ (špecifická aktivita 1000 CPM/nmol) a zastavené v čase 60 min. Študované látky boli k suspenzii buniek pridané 5 min pred začiatkom merania. Na meranie efluxu boli použité Ca²⁺-predznačené bunky, ktoré boli kultivované 16 hodín v médiu, resp. sacharóze s rádioaktivitou 1μCi/ml. Uvoľňovanie Ca²⁺ z predznačených buniek sa meralo ako prírastok rádioaktivity v kvapalnom prostredí po centrifugácii cez DBF:DOF vrstvu. Ako model sme použili tri typy mikroorganizmov – vláknitú hubu *Trichoderma viride*, kvasinku *Saccharomyces cerevisiae* a baktériu *Escherichia coli*.

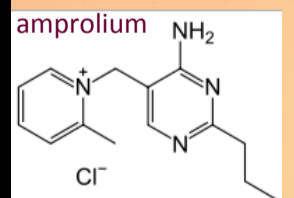
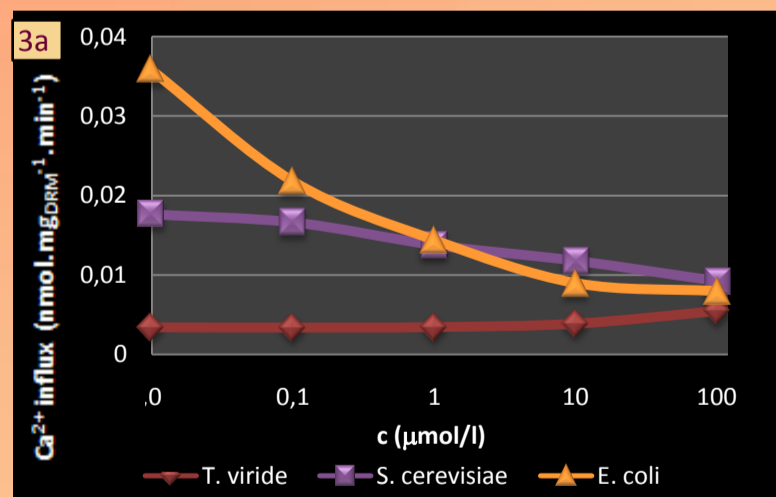
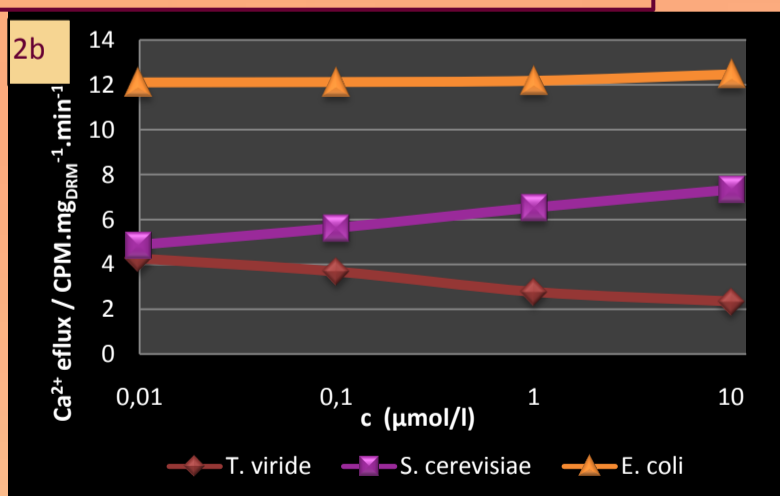
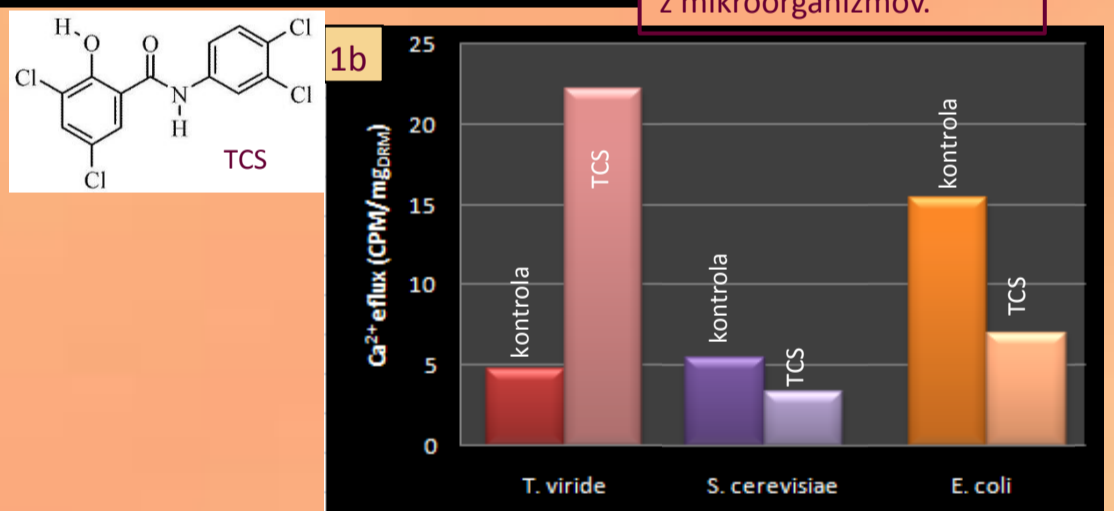
Výsledky



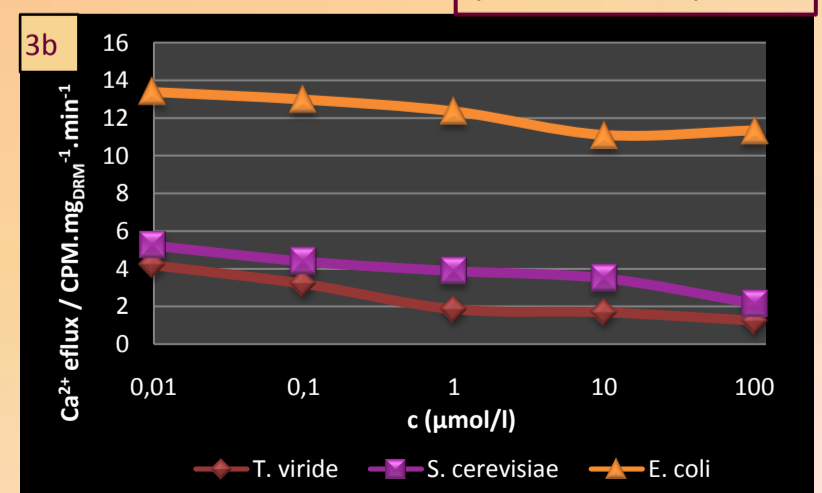
Obr. 1 Vplyv odpojovača TCS (30μmol/l) na influx (1a) a eflux (1b) Ca²⁺ do a z mikroorganizmov.



Obr. 2 Influx (2a) a eflux (2b) Ca²⁺ do a z mikroorganizmov v prítomnosti kyanínového farbiva DiSC3(3).



Obr. 3 Influx (3a) a eflux (3b) Ca²⁺ do a z mikroorganizmov v prítomnosti amprolia.



Záver

- Odpojovač TCS stimuloval vtok Ca²⁺ do všetkých troch typov mikroorganizmov. Eflux Ca²⁺ z kvasiniek aj baktérii bol v prítomnosti TCS inhibovaný, kým vo *T. viride* bol stimulovalý.
- Kyanínové farbivo DiSC3(3) stimulovalo influx podobne ako odpojovač, hoci v *E. coli* bola stimulácia veľmi malá. Eflux Ca²⁺ z *T. viride* táto látka inhibovala, ale naopak, eflux zo *S. cerevisiae* a *E. coli* stimulovala.
- Amprolium stimuloval influx Ca²⁺ v *T. viride*, ale v *S. cerevisiae* a *E. coli* došlo ku výraznej inhibícii vtoku Ca²⁺, kým eflux bol inhibovaný vo všetkých troch mikroorganizmoch.