

CHARAKTERIZÁCIA VÁPNIKOVEJ HOMEOSTÁZY V MIKROORGANIZMOCH

Eva Kadlečíková, Martin Šimkovič, Ľudovít Varečka¹

Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 81237 Bratislava
e-mail: eva.kadlecikova@stuba.sk

Ca²⁺ ióny sa pokladajú za univerzálne signálne ióny, ktoré spúšťajú alebo určujú mnohé fyziologické pochody, napr. transmembránovú signalizáciu, udržiavanie a distribúciu organel, migráciu cytoplazmy, kontraktilné a cytoskeletálne funkcie, distribúciu iónov a tiež diferenciáciu buniek a ich delenie. 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). Nevýhodou štúdia transportu Ca²⁺ je, že nie sú známe jeho inhibítory.

Východiskom projektu bolo naše zistenie, že vo vláknitej hube *Trichoderma viride* je influx aj eflux Ca²⁺ stimulovaný odpojovačom. Toto zistenie vylučuje možnosť, že transport Ca²⁺ je v jednom alebo druhom smere hnaný PMS.

Homeostáza Ca²⁺ iónov sa charakterizovala na základe merania transportu rádioaktívneho izotopu ⁴⁵Ca²⁺ do a z buniek mikroorganizmov. V prvom kroku sme testovali, či aj v iných hubách (*S. cerevisiae*) alebo v baktériách (*E. coli*) sú podobne ovplyvňované odpojovačom. Ukázalo sa, že v *S. cerevisiae* je influx stimulovaný odpojovačom, ktorý však eflux slabo inhiboval. V *E. coli* bol influx Ca²⁺ významne stimulovaný, ale eflux bol značne inhibovaný. To naznačuje, že účinok odpojovača na Ca²⁺ homeostázu nie je identický, ale odráža určité špecifiká jednotlivých buniek. Stimulácia influxu Ca²⁺ do kvasiniek i baktérií tiež vylučuje úlohu PMS pri hnaní influxu Ca²⁺. Na alternatívny prístup ku charakterizácii hnacej sily sme použili kation s delokalizovaným nábojom z triedy kyanínových farbív. Táto látka, ktorá by mala eliminovať elektrickú zložku PMS, stimulovala influx podobne ako odpojovač, hoci v *E. coli* bola stimulácia malá. To ukazuje, že eliminácia PMS univerzálne stimuluje influx Ca²⁺ do mikroorganizmov. Kyanínové farbivo inhibovalo eflux Ca²⁺ z *T. viride*, ale naopak, eflux zo *S. cerevisiae* stimulovalo a v *E. coli* bola stimulácia veľmi malá. Je možné si predstaviť, že stimulácia influxu Ca²⁺ bola dôsledkom inhibície efluxu v testovanej vláknitej hube, ale v *E. coli* a *S. cerevisiae* tento predpoklad neplatí. V rámci týchto experimentov sme použili aj látku amprolium, ktorá sa využíva pri liečbe parazitóz vo veterinárnom lekárstve, ktorý by mohol byť tiež kationom s delokalizovaným nábojom. Ukázalo sa, že amprolium ovplyvňuje homeostázu Ca²⁺ v testovaných organizmoch inak ako kyanínové farbivo. Amprolium 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. To znamená, že amprolium alebo jeho analógy by mohli byť nádejnými, aj keď nie univerzálnymi inhibítormi influxu Ca²⁺ v mikroorganizmoch.

Tento projekt bol podporený grantovými agentúrami APVV 0642-07 a VEGA 1/3251/06