

Jedną z głównych przyczyn śmierci we współczesnym świecie jest niedotlenie mięśnia sercowego oraz mózgu. W ostatnich latach wykazano, że w wewnętrznej błonie mitochondriów znajdują się białka regulujące przepływ jonów potasu, tzw. mitochondrialne kanały potasowe. Podobne białka zidentyfikowano już wcześniej w błonie plazmatycznej. Dzięki licznym badaniom wykazano, że otwarcie kanałów potasowych za pomocą substancji farmakologicznych nazywanych aktywatorami kanałów potasowych może zainicjować procesy chroniące mitochondria przed uszkodzeniem spowodowanym różnymi czynnikami, w tym niedotlenieniem. Niestety, mechanizm tego procesu nie jest jeszcze w pełni poznany.

Jednym z kanałów potasowych zlokalizowanych w wewnętrznej błonie mitochondriów jest kanał potasowy o dużym przewodnictwie aktywowany jonami wapnia. Kanał ten jest odpowiednikiem białka kodowanego przez ten sam gen z błony plazmatycznej. Aktywność zarówno kanału potasowego z błony plazmatycznej jak i wewnętrznej błony mitochondrialnej hamowana jest przez heminę, która jest utlenioną formą hemu. Hem jest niezwykle istotny dla prawidłowego funkcjonowania naszego organizmu. Obecny jest między innymi w hemoglobinie, gdzie odpowiada za wiązanie tlenu i tym samym umożliwia transport tlenu z krwią. Poza tlenem, hem może również wiązać inne cząsteczki jak np. tlenek węgla czy siarkowodór. Zarówno tlenek węgla jak i siarkowodór przez wiele lat uznawane były wyłącznie za toksyczne cząsteczki, jednakże ostatnio wykazano, że produkowane w niewielkich ilościach w komórkach, odgrywają ważną dobroczynną rolę w wielu procesach w naszym organizmie. Jak donoszą najnowsze badania, powyższe gazy mogą reagować z kanałami potasowymi powodując ich otwarcie, czego efektem może być ochrona komórek przed szkodliwym działaniem wielu różnych czynników, między innymi niedokrwieniem - jest to zjawisko zwane cytoprotekcją.

Badania wskazują, że hem/hemina wywołuje zahamowanie aktywności kanału potasowego o dużym przewodnictwie poprzez wiązanie się do miejsca wiążącego hem obecnego w części kanału umiejscowionej w macierzy mitochondrialnej. Moje wstępne wyniki pokazują, że możliwe jest również wiązanie heminy po drugiej stronie kanału – zlokalizowanej w mitochondrialnej przestrzeni międzybłonowej. Nigdy dotąd nie zostało to opisane. Działanie heminy z drugiej strony kanału świadczy o istnieniu nowego miejsca wiązania hemu/heminy w międzybłonowej części kanału potasowego o dużym przewodnictwie aktywowanego jonami wapnia. Celem niniejszego projektu jest identyfikacja i charakteryzacja tego miejsca. Badania regulacji aktywności mitochondrialnych kanałów potasowych przez heminę aplikowaną od strony przestrzeni międzybłonowej wykonywane będą z wykorzystaniem wyrafinowanej techniki elektrofizjologicznej – „patch-clamp”, która pozwala na rejestrację aktywności pojedynczych kanałów potasowych. Z komórek wyizolowane zostaną mitochondria, a ponieważ w ich strukturze wyróżnia się dwie błony, z których tylko wewnętrzna zawiera kanały potasowe, konieczne jest pozbycie się zewnętrznej błony mitochondrialnej. W tym celu przeprowadza się pęcznienie mitochondriów, dzięki czemu powstają mitoplasty, które nie mają zewnętrznej błony mitochondrialnej. Tak uzyskane preparaty zostaną wykorzystane do rejestracji elektrofizjologicznych właściwości kanałów potasowych. Z danych literaturowych wynika, że głównie cysteiny i histydyny odpowiadają za tworzenie motywów wiążących hem. Aby zidentyfikować cysteiny i histydyny odpowiedzialne za wiązanie hemu, wprowadzę mutacje mające na celu zamianę cystein i histydyn zlokalizowanych po stronie przestrzeni międzybłonowej kanału na aminokwasy charakteryzujące się innymi właściwościami. Następnie sprawdzę, czy hem/hemina są w stanie zahamować aktywność tak przygotowanych mutantów kanału, co pozwoli scharakteryzować nowe miejsca wiązania hemu/heminy zlokalizowane w zewnętrznej części kanału.

Identyfikacja nowego miejsca wiążącego hem może mieć istotne znaczenie dla fizjologicznej regulacji kanału potasowego o dużym przewodnictwie regulowanego jonami wapnia. Hem, związany w odpowiednim motywie wiążącym, może być niejako pośrednikiem dla oddziaływania gazotransmiterów z kanałem, tym samym może pośredniczyć w mechanizmach cytoprotekcji. Powyższy mechanizm może w przyszłości przyczynić się do opracowania nowych terapii przeciwko niedokrwieniu komórek serca i mózgu.