

Kanał potasowy zewnętrznej rdzenia nerkowego (ROMK) jest ważnym elementem w układzie transportu jonów w nerkach. Można go porównać do bramy, która pomaga utrzymać prawidłową równowagę elektrolitową w naszym organizmie. Jednak gdy ROMK funkcjonuje nieprawidłowo z powodu określonych mutacji, może prowadzić do tzw. wrodzonego zespołu Barttera i mieć wpływ na ciśnienie krwi u ludzi. Specjalna forma ROMK, zwana ROMK2, może występować nie tylko w błonie komórkowej lub siateczce śródplazmatycznej, ale także w mitochondriach jako część tzw. kanału mitoK(ATP), odpowiedzialnego za cytoprotekcję podczas zdarzeń niedokrwiennie-reperfuzyjnych.

W naszych ostatnich badaniach odkryliśmy, że ROMK tworzy kompleksy białkowe z kinazami lipidowymi: acylglicerolową (AGK) i diacyloglicerolową ϵ (DGKE). Te partnerstwa występują w różnych przedziałach komórkowych, takich jak mitochondria i siateczka śródplazmatyczna.

Aktywność wielu kanałów potasowych, w tym ROMK w zewnętrznej błonie komórek, jest regulowana przez lipid o nazwie PIP2. Jednak mitochondria i siateczka śródplazmatyczna mają niewiele PIP2. Odkryliśmy jednak, że produkty aktywności enzymatycznej AGK i DGKE, które to są odpowiednio kwas lizofosfatydowy (LPA) i kwas fosfatydowy (PA), faktycznie stymulują aktywność ROMK2 w warunkach laboratoryjnie stworzonych środowiskach lipidowych. Sugeruje to, że lokalna synteza lipidów przez te kinazy lipidowe może mieć wpływ na kontrolowanie aktywności ROMK2 w tych przedziałach komórkowych.

W związku z tym, w tym wniosku grantowym, naszym celem jest zagłębienie się w te interakcje między ROMK2, AGK i DGKE. Po pierwsze, chcemy zrozumieć szczegóły interakcji na poziomie molekularnym. Wykorzystamy specjalne techniki, aby zidentyfikować konkretne części białek odpowiedzialnych za tę interakcję. Przeanalizujemy również strukturę tych kompleksów białkowych za pomocą krioelektronowej mikroskopii.

Następnie, chcemy dowiedzieć się, czy te interakcje mają wpływ na lokalizację i aktywność ROMK2 w żywych komórkach. Wykorzystamy komórki nabłonka kanalików proksymalnych nerek, które mają wysoki poziom ekspresji ROMK. Usunięcie AGK i DGKE w tych komórkach pozwoli nam zobaczyć, jak ROMK zachowuje się bez swoich partnerów kinaz lipidowych. Będziemy obserwować, gdzie ROMK się znajduje w komórkach i mierzyć poziomy jonów potasu, aby lepiej zrozumieć, jak te interakcje wpływają na jego funkcję.

Na koniec, zbadamy wpływ interakcji między ROMK a kinazami lipidowymi na funkcję nabłonka nerkowego (komórek wyściełających kanaliki nerkowe). Wykorzystamy zaawansowane techniki do badania ruchu jonów i wody przez te komórki oraz zobaczymy, jak interakcja ROMK z kinazami lipidowymi wpływa na przeżycie komórek podczas zdarzeń niedokrwiennie-reperfuzyjnych. Poprzez manipulację aktywnością ROMK i obserwację efektów na transport jonów, możemy zdobyć wgląd w jego rolę w utrzymaniu właściwej funkcji nerek.

Ostatecznie, naszym celem jest odkrycie istotnych mechanizmów regulujących kanały ROMK. Poprzez zrozumienie współdziałania między ROMK2 a kinazami lipidowymi, mamy nadzieję poszerzyć naszą wiedzę na temat fizjologii nerek. Dodatkowo, badania te mogą prowadzić do identyfikacji nowych celów terapeutycznych w leczeniu stanów związanych z zaburzeniami równowagi potasu, zaburzeniami elektrolitowymi oraz zdarzeniami niedokrwiennie-reperfuzyjnymi, otwierając tym samym potencjalne możliwości rozwoju przyszłych terapii, np. wobec ostrej niewydolności nerek.