اثر ایجاد موتاسیون V364D در انتهای کربوکسیل کانال پتاسیمی ROMK2 ($K_{ir}1.1b$) بر روی روند آندوسیتوز آنها

دکتر سعید حاجی هاشمی[1 *]، دکتر استنلی وایت[2]

1- استادیار، دکتری تخصصی فیزیولوژی، عضو هیئت علمی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک

2- استاد، دکتری تخصصی فیزیولوژی، عضو هیئت علمی، انستیتوی غشاء و بیولوژی سیتم‌ها، دانشگاه لیدز، انگلستان

تاریخ دریافت ۸۵/۹/۲۲، تاریخ پذیرش ۸۶/۱/۲۲

چکیده

مقدمه: مطالعات انجام شده نشان داده که آندوسیتوز کانال‌های پتاسیمی ROMK برای تنظیم ترشح K^+ در قسمت‌های انتهای نفرون و مجاری جمع کننده مهم می‌باشد. در این مطالعه اثرات موتاسیون V364D بر پایداری کانال پتاسیمی ROMK2 هنگامی که در غشاء اووسیت بیان می‌شود بررسی گردیده است.

روش کار: در این پژوهش تجربی اووسیت‌های *Xenopus laevis* به روش استاندارد با استفاده از کلاژناز جدا گردیدند. با استفاده از روش quick-change در انتهای کربوکسیل کانال پتاسیمی ROMK2 موتاسیون زای مستقیم ایجاد گردید. cRNA که ROMK2 وموتاسیون V364D را کد می‌کرد، سه روز قبل از قرار دادن در محلول BFA (زمان صفر) به اووسیت‌ها تزریق می‌شد. به محیط کشت برفلدین A (BFA+) به مقدار 5-25 میکرومولار (مهار کننده انتقال پروتئین‌های ساخته شده به غشاء) یا اتانول به عنوان حلال BFA (BFA -) اضافه گردید. با استفاده از تکنیک ثابت نگه داشتن ولتاژ با استفاده از دو الکترود جریان یونی و پتانسیل استراحت غشاء اووسیت‌ها پس از بیان کانال‌های پتاسیمی ROMK2 و موتاسیون V364D اندازه‌گیری گردید. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تی آموزشی استفاده شد.

نتایج: یافته‌های حاصل نشان داد اثر BFA بر روی میزان جریان به صورت وابسته دوز است. بر خلاف کانال‌های پتاسیمی ROMK2 اووسیت‌هایی که موتاسیون V354D را بیان می‌کردند در هیچ کدام از زمان‌های ثبت مورد نظر در طی دوره انکوبه شدن در BFA در هر دو غلظت 5 و 25 میکرو مولار کاهشی در میزان جریان یونی این کانال پتاسیمی دیده نشد. برای ROMK2 پس از این که اووسیت‌ها 48 ساعت تحت تأثیر BFA بودند میزان کسر جریان برابر با 0/05±0/24 (n=16) بود در حالی که برای موتاسیون V364D برابر با 0/09±1/17 بود.

نتیجه گیری: نتایج، افزایش پایداری و توقف آندوسیتوز کانال‌های پتاسیمی ROMK2 غشاء با ایجاد موتاسیون V364D را نشان می‌داد. بنابر این باید بین انتهای کربوکسیل کانال‌های پتاسیمی ROMK2 و اجزاء مسیر آندوسیتوز تداخل عمل وجود داشته باشد و قسمت داخلی ناحیه PDZ (S-E-V) در آندوسیتوز و پایداری کانال‌های پتاسیمی ROMK2 در غشاء دخالت دارد.

واژگان کلیدی: ROMK2، موتاسیون V364D ، BFA ، ناحیه PDZ

* **نویسنده مسئول:** اراک ،میدان بسیج ، مجتمع دانشگاه علوم پزشکی اراک ، دانشکده پزشکی ،گروه فیزیولوژی

Email:s.hajihashemi@gmail.com