

## Abstrakt

Vzhledem k absenci regulačních mechanismů zajišťujících vylučování iontů železa z organismu je velmi přísně kontrolována jejich absorpce. Předmětem našeho zájmu je tedy transportní mechanismus nehemových iontů železa zprostředkovaný molekulami DMT1 (divalent metal transporter 1, membránový importér železa), Dcytb (duodenal cytochrom b, membránová ferrireduktáza), ferroportinem 1 (membránový exportér železa), hefestinem (membránová ferroxidáza) a ceruloplasminem (cytoplazmatická ferroxidáza), který umožňuje příjem iontů železa z potravy až po jeho navázání na cytoplazmatický transferin.

Projekt je zaměřen na sledování vlivu dostupnosti železa na expresi zmíněných molekul zúčastněných v transportu netransferinových iontů železa s cílem zjistit, jak při deprivaci, respektive nadbytku železa, dochází k regulaci příjmu železa danými proteiny u buněčných linií reprezentujících různé typy tkání.

Buněčné linie jsme kultivovali v mediu RPMI-1640 doplněném o další složky. Expresi jednotlivých molekul jsme sledovali na úrovni mRNA pomocí metody „Real-Time“ PCR s reverzní transkripcí v *in vitro* studii na lidských buněčných liniích K562 a Caco-2. Buňky K562 (lidská erytroleukemie) jsou modelem neenterocytárních buněk představující významné utilizátory iontů železa. Model enterocytárních buněk s odlišnou apikální a bazální membránou představují buňky Caco-2 (lidský kolorektální karcinom). Hladinu exprimované mRNA jsme ovlivňovali množstvím iontů železa přítomných v mediu po dobu 24 h ve snaze simulovat zvýšení či snížení hladiny těchto iontů v organismu při onemocněních spojených s narušením jejich metabolismu.

Vlivem deprivace iontů železa u linie K562 došlo ke statisticky signifikantnímu snížení exprese mRNA u transportních molekul DMT1 a ferroportinu 1 (40%). V případě buněčné linie Caco-2 pozorujeme oproti tomu signifikantní zvýšení hladiny mRNA, a to u všech sledovaných molekul s výjimkou ceruloplasminu. Na druhé straně, zvýšená hladina iontů železa v mediu vedla v buňkách K562 ke zvýšení exprese mRNA molekuly ferroportinu 1 (70%) a u buněk Caco-2 k signifikantnímu zvýšení exprese mRNA kódující molekuly Dcytb, ferroportin 1 a hefestin (40% - 60%).

Na základě našich výsledků můžeme shrnout, že v případě buněk K562, jako modelu buněk využívajících ionty železa, dostupnost těchto iontů v mediu koresponduje se změnou exprese transportních molekul. Oproti tomu, u buněk Caco-2, coby modelu střevních enterocytů, však pozorujeme, že dostupnost netransferinových iontů železa v mediu vede ke

zvýšení exprese většiny transportních molekul, a to jak v případě deprivace, tak i v případě zvýšeného množství iontů železa v mediu.

**Klíčová slova** Transport netransferinového železa; DMT1; Dcytb; ferroportin; hefeitin; ceruloplasmin