

Abstrakt

U onemocnění zvaného cystická fibróza dochází k narušení fungování proteinu CFTR, jehož hlavní funkcí je transport chloridových iontů z buňky. Stanovení schopnosti CFTR kanálu transportovat chloridové ionty je považováno za jediný způsob, jak stanovit jeho aktivitu. V této práci byl transport chloridových iontů prostřednictvím CFTR kanálu studován u buněčných linií plicního epitelu zdravých pacientů (NuLi-1) a pacientů trpících cystickou fibrózou (CuFi-1). Pro studium byla vybrána a optimalizována metoda fluorescenčního značení za použití fluorescenčního barviva *N*-(ethoxycarbonylmethyl)-6-methoxychinolinu (MQAE), které poskytuje fluorescenci v modré oblasti spektra a je nejcitlivější fluorescenční sloučeninou vůči chloridovým iontům, která byla doposud navržena. V rámci vývoje optimální metody byly pomocí fluorescenčního značení testovány dva způsoby měření transportu chloridových iontů a to stanovení jejich množství uvolněných buňkou do pufru obsahujícího MQAE a stanovení jejich množství v buňce přímo obarvené MQAE. Druhé stanovení se ukázalo jako vhodnější a reprodukovatelnější metoda pro prokázání transportu chloridových iontů. Zároveň byl sledován vliv sloučeniny forskolinu, která zvyšuje intracelulární koncentraci cAMP a tím urychluje otevírání CFTR kanálu, díky čemuž může být ověřeno, zda měřený transport chloridových iontů probíhá prostřednictvím tohoto kanálu. Vliv této sloučeniny se však nepodařilo jednoznačně prokázat a bude to předmětem dalšího studia.

Klíčová slova

Cystická fibróza, epiteliální buňky, CFTR kanál, fluorescenční značení, MQAE, forskolin