

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteell.		Eläintieteen laitos, Fysiologian osasto	
Tekijä — Författare			
Alinen, Sirpa			
Työn nimi — Arbets titel			
Solunsisäisen pH:n (pH _i) säätelyyn vaikuttavat tekijät rotan kilpirauhassoluissa (FRTL-5 solut) <u>in vitro</u> .			
Oppiaine — Läroämne			
Fysiologinen eläintiede			
Työn laji — Arbets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Pro gradu -työ		Maaliskuu 1992	61 s. + 2 liites.
Tiivistelmä — Referat			
<p>Työssä selvitettiin solunsisäisen pH:n (pH_i:n) säätelyyn vaikuttavia tekijöitä soluviljelyssä rotan kilpirauhassoluissa (FRTL-5 solut). Solunsisäinen pH määritettiin jatkuvana mittauksena solunsisäisellä fluoresoivalla pH-indikaattorilla, BCECF:lla (2',7'-bis(carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein). HBSS-puskurissa (Hank's Basal Salt Solution) solujen lepotila pH_i oli 7,13±0,10. Korvattaessa solunulkoiset Na⁺-ionit ekvimolaarisesti koliini⁺-ioneilla, laski pH_i arvoon 6,89±0,21. FRTL-5 solujen puskurikapasiteetti määritettiin ammoniumkloridi-prepulssimenetelmällä ja arvoksi saatiin 84±7 mM/ph-yksikköä/ minuutti.</p> <p>FRTL-5 solujen pH_i:ta säätelää solukalvolla sijaitseva Na/H-vaihtaja. Sen toimintaa voitiin inhiboida amiloridilla (100 µM) ja poistamalla solunulkoiset Na⁺-ionit. Ionofori monensiini aiheutti sytosolin alkalinisoitumisen, kun solunulkoisessa tilassa oli Na⁺-ioneja ja happamoitumisen, kun Na⁺-ionit puuttuivat. Solunulkoisen natriumpitoisuuden ja alkalinisaationopeuden välistä riippuvuutta selvitettiin happamoitetuilla FRTL-5 soluilla. Alkalinisaationopeus kasvoi solunulkoisen natriumpitoisuuden kasvaessa ja se noudatti Michaelis-Mentenin saturaatiokinetiikkaa. Natriumin K_m-arvoksi saatiin 44±26 mM ja V_{max}-arvoksi 0,3±0,10 pH-yksikköä/min.</p> <p>Na/H-vaihtajan aktivoitumista selvitettiin nigerisiinillä happamoitetuilla FRTL-5 soluilla. Stimuloitaessa soluja tyrotropiinilla ja jodidilla, ei pH_i:ssa tapahtunut muutoksia. 200 nM TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) nosti pH_i:ta 0,03±0,02 pH-yksikköä. Amiloridi (100 µM) ja solunulkoisten Na⁺-ionien poistaminen inhiboi alkalinisoitumisen. Proteiini kinaasi C:n (PKC) "down-regulointi" esti TPA:n aiheuttaman alkalinisaation. Tämän perusteella Na/H-vaihtaja aktivoituu PKC:n välityksellä. Purinergisen agonistin ATP:n (30 µM) aiheuttama alkalinisoituminen (0,04±0,02 pH-yks./min) inhiboitui amiloridilla ja Na⁺-ionien poistamisella. "Down-reguloiduissa" soluissa ATP aiheutti alkalinisoitumisen, mikä viittaa PKC:stä riippumattoman aktivaatiotien olemassaoloon. Kalsium/kalmoduliini-kinaasin antagonistti W-7 (N-(6-aminohexyl)-5-chloro-1-naphtalensulfonamide) esti ATP:n aiheuttaman alkalinisaation. Näin ollen muutokset solunsisäisessä kalsiumpitoisuudessa vaikuttavat myös pH_i:n säätelyyn. Jatkotutkimuksissa kannattaa selvittää tarkemmin, miten pH_i ja solunsisäisen kalsiumpitoisuuden säätely liittyvät toisiinsa.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
Solunsisäinen pH, Na/H-vaihtaja, proteiini kinaasi C			
Säilytyspaikka — Förvaringställe			
Eläintieteen laitoksen fysiol. os. kirjasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			