

14.12.2009

Metoda izolacji dobrze oczyszczonych mitochondriów oraz błon oddziałujących z mitochondriami (MAM) z tkanek zwierzęcych oraz hodowli komórkowych.

Mitochondria pobierają jony wapniowe poprzez elektrogeny uniporter wapniowy działający jednokierunkowo (z cytozolu do mitochondriów). Jednakże jego niskie powinowactwo w stosunku do jonów Ca^{2+} sprawiało, że długo nie przypisywano mitochondriom istotnej roli w regulacji homeostazy wapniowej. Ostatnie badania wykazały jednak, że lokalizacja mitochondriów w pobliżu błony plazmatycznej oraz retikulum endoplazmatycznego (ER), gdzie lokalne stężenia wapnia w czasie pobudzenia komórki sięgają znacznie wyższych poziomów ($50\mu\text{M}$) niż wymaganego do aktywacji uniportera wapniowego ($\sim 10\mu\text{M}$), umożliwia im efektywne pobieranie jonów Ca^{2+} . Ze względu na to, iż miejsca kontaktowe pomiędzy mitochondriami i ER (frakcja błon MAM) stanowi ułamek procenta całkowitej „masy” frakcji błonowej poszczególnych organelli, celem naszych badań było opracowanie wydajnej metody izolacji takich miejsc kontaktowych aby dokładnie poznać ich skład białkowy oraz lipidowy.

Rola takich bezpośrednich oddziaływań błon mitochondriów i ER może być decydująca dla generowania prawidłowych sygnałów wapniowych, apoptozy oraz wewnątrzkomórkowego transportu fosfolipidów. Identyfikacja białek odpowiedzialnych za takie oddziaływania, nie tylko może przyczynić się do wyjaśnienia mechanizmu powstawania sygnału wapniowego w prawidłowej komórce ale także może wyjaśnić mechanizmy powstawania pewnych stanów patologicznych komórki, w których istotną rolę odgrywa zaburzone wzajemne oddziaływanie między błonami plazmatyczną i organelli komórkowych.

Mariusz R Wieckowski, Carlotta Giorgi, Magdalena Lebiezinska, Jerzy Duszyński and Paolo Pinton (2009) **Isolation of mitochondria-associated membranes and mitochondria from animal tissues and cells**. Nature Protoc. 2009; 4 (11): 1582-90.