SYNTROPHIN BINDING TO AQUAPORIN-4 WATER CHANNEL PROTEIN AND POTASSIUM CHANNEL (Kir 4.1 SUBUNIT): ROLE IN WATER HOMEOSTASIS IN MICE RETINA

WIMOLRAT PUWARAWUTTIPANIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (NEUROSCIENCE) FACULTY OF GRADUATE STUDIES MAHIDOL UNIVERSITY 2004

ISBN 974-04-4706-6
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ซินโทรฟินเป็นที่จับของช่องทางผ่านของน้ำที่4และช่องทางผ่านของโปแทสเซียมชนิด 4.1: บทบาทในการรักษาสมดุลของน้ำในจอตาหนู (SYNTROPHIN BINDING TO AQUAPORIN-4 WATER CHANNEL PROTEIN AND POTASSIUM CHANNEL (Kir4.1 SUBUNIT): ROLE IN WATER HOMEOSTASIS IN MICE RETINA)

วิมลรัตน์ ภู่วราวุฒิพานิช 4236853 STNS/D

ปร.ด. (ประสาทวิทยาศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: นัยพินิจ คชภักดี, Ph.D. (Neurosciences), OLE PETTER OTTERSEN, M.D., Ph.D, MAHMOOD AMIRY-MOGHADDAM, M.D., Ph.D, ปิยะรัตน์ โกวิทตรพงศ์, Ph.D. (Neurosciences)

บทคัดย่อ

ช่องทางผ่านของน้ำที่4 (AQP4) และช่องทางผ่านโปแทสเซียมชนิด4.1 (Kir4.1) อยู่ร่วมกันและพบมากรอบๆหลอดเลือดและที่วิทเทรียล endfeet ของมูลเลอร์เซลล์ที่จอตาโดยยังไม่ทราบกลไกการสร้างโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ ช่องทางผ่านของน้ำที่4และช่องทางผ่านของโปแทสเซียมชนิด 4.1 มีส่วนที่เกาะกับพีดีซีที่ปลายของส่วนซีทำให้เกาะกับโปรตีนที่ส่วนพีดีซี (PDZ) ซินโทรฟิน (Syntrophin) เป็นกลุ่มโปรตีนที่อยู่กับกลุ่มโปรตีนดิสโทรฟิน(Dystrophin)พบอยู่ในมูลเลอร์เซลล์ จากการศึกษาในหนูหลังจากเอายีนดิสโทรฟินออกพบว่ามีการลดลงของกลุ่มช่องทางผ่านของน้ำที่4 และช่องทางผ่านของโปแทสเซียมชนิด 4.1 ที่endfeet ของมูลเลอร์เซลล์ จากการศึกษาวิจัยพบช่องทางผ่านของน้ำที่4 endfeet ของแอสโทรไซต์รอบหลอดเลือดในสมองขึ้นอยู่กับแอลฟาซินโทรฟิน นอกจากนี้ทางชีวเคมีพบความเกี่ยวข้องของช่องทางผ่านโปแทสเซียมชนิด 4.1กับแอลฟาซินโทรฟินซึ่งบ่งชี้ว่าแอลฟาซินโทรฟินเป็นที่จับขอช่องทางผ่านของน้ำที่4และช่องทางผ่านโปแทสเซียมชนิด4.1ที่จอตาเพื่อเป็นการทดสอบสมมติฐานงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการกระจายของโมเลกุลเหล่านี้ในหนูที่เอายีนแอลฟาซินโทรฟินออกโดยใช้เทคนิคอิมมิวโนโกลเชิงปริมาณ จากการศึกษาในหนูที่นำยีนซินโทรฟินออกพบว่ามีการลดปริมาณของช่องทางผ่านของน้ำที่4 ลงประมาณ 60 % ในขณะที่การติดของช่องทางผ่านของโปแทสเซียมชนิด4.1 ที่ endfeet ของมูลเลอร์เซลล์รอบหลอดเลือดและวิทเทรียลไม่ลดลง แสดงให้เห็นว่าแอลฟาซินโทรฟินที่ endfeet ของมูลเลอร์เซลล์ที่จอตาเป็นที่จับขอช่องทางผ่านของน้ำที่4 เพียงบางส่วนและการติดของช่องทางผ่านโปแทสเซียมชนิด4.1ไม่ขึ้นกับแอลฟาซินโทรฟินนอกจากนี้ข้อมูลที่ศึกษาพบว่ามีการติดเบต้าวันซิโทรฟินที่ endfeet ของมูลเลอร์เซลล์รอบหลอดเลือดและที่วิทเทรียลในกลุ่มหนูปกติเท่ากับหนูกลุ่มที่เอายีนแอลฟาซินโทรฟินออกจึงมีข้อเสนอแนะว่าเบต้าวันซินโทรฟินอาจเป็นที่จับของโปแทสเซียมชนิด 4.1 และ ช่องทางผ่านของน้ำที่4 ที่จอตา

111 หน้า ISBN 974-04-4706-6

SYNTROPHIN BINDING TO AQUAPORIN-4 WATER CHANNEL PROTEIN AND POTASSIUM CHANNEL (Kir4.1 SUBUNIT): ROLE IN WATER HOMEOSTASIS IN MICE RETINA

WIMOLRAT PUWARAWUTTIPANIT 4236853 STNS/D

Ph.D. (NEUROSCIENCES)

THESIS ADVISORS: NAIPHINICH KOTCHABHAKDI, Ph.D., OLE PETTER OTTERSEN, M.D. Ph.D, MAHMOOD AMIRY-MOGHADDAM, M.D. Ph.D, PIYARAT GOVITRAPONG, Ph.D.

ABSTRACT

Aquaporin-4 water channel (AQP4) and the inward rectifying potassium channel Kir4.1 are co-expressed in a highly polarized manner at the perivascular and vitreal endfeet of the retinal Müller cells. The anchoring mechanisms responsible for their expression at the Müller cell endfeet are unknown. Both AQP4 and Kir4.1 contain PDZ-domain binding motifs at their C-terminals, making them able to interact with the PDZ domain containing proteins present at these membrane domains. Syntrophin are PDZ-domain containing scaffold proteins attached to the dystrophin complex which is present in the Müller cells. Study of mice with targeted disruption of the dystrophin gene (mdx mice) shows impaired clustering of AQP4 and Kir4.1 at the Müller cell endfeet. The expression of AQP4 at perivascular astrocyte endfeet in the brain depends on α-syntrophin. Moreover, recent biochemical studies have shown an association between Kir4.1 and α-syntrophin pointing at α-syntrophin as the main candidate for anchoring of AQP4 and Kir4.1 in the retina. To test this hypothesis, we studied the distribution of these molecules in α-syntrophin null mice retina using quantitative immunogold cytochemistry. Our data showed only a partial removal (by 60%) of AQP4 labeling at the Müller cell endfeet following α-syntrophin deletion, while the Kir4.1 labeling at the perivascular or subvitreal Müller cell endfeet was not significantly affected. These findings suggest that, unlike the situation in the brain, α-syntrophin in retina is only partly responsible for the polarized expression of AQP4 at the Müller cell endfeet, and that Kir4.1 expression at these sites does not depend on α-syntrophin. Furthermore, our data also revealed strong β1 syntrophin labeling at the perivascular and subvitreal of Müller cell endfeet of the wild type as well as α-syntrophin null mice, suggesting that this molecule might contribute to anchoring of Kir4.1 and AQP4 in retina.

KEY WORDS: SYNTROPHIN/ AQUAPORIN-4 (AQP4)/ POTASSIUM CHANNEL (Kir4.1) / MüLLER CELL/ WATER HOMEOSTASIS

111 pp. ISBN 974-04-4706-6