



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Analytical Approaches to Study Vesicular and Exosomal Release

Kim Long Le Vo

Institutionen för kemi och molekylärbiologi
Naturvetenskapliga fakulteten

Akademisk avhandling för filosofie doktorsexamen i Naturvetenskap, som med tillstånd från Naturvetenskapliga fakulteten kommer att offentligt försvaras måndagen den 11 mars 2024 kl. 10 i Sal 2123 Energin, Natrium, Institutionen för kemi och molekylärbiologi, Medicinargatan 7B, Göteborg.

ISBN 978-91-8069-633-3 (PRINT)

ISBN 978-91-8069-634-0 (PDF)

Tillgänglig via <http://hdl.handle.net/2077/79553>



GÖTEBORGS UNIVERSITET

Svensk summering

Vesiklar, som är en speciell typ av nanometerstora enheter, är avgörande för multicellulära organismers överlevnad. Intracellulära vesiklar innehåller huvudsakligen specifika signalmolekyler, transmittorer och modulatorer, medan extracellulära vesiklar (EVs) är bioaktiva organeller som innehåller ett brett spektrum av proteiner, genetiska material och andra molekyler. Utsöndring från vesiklar är avgörande för att manipulera många biologiska vägar och intercellulär kommunikation. Att förstå reglermekanismerna för vesikulär utsöndring är nödvändigt för att avslöja patologin bakom neurologiska sjukdomar och utveckla relaterade läkemedel.

Flera elektrokemiska tekniker har föreslagits och utvecklats för att kartlägga vesikulära neurotransmittorer på cell och subcellulär nivå. Dessa metoder ger hög spatiotemporal upplösning och känslighet samtidigt som de möjliggör direkt kvantifiering av elektroaktiva molekyler från enskilda vesiklar. Single cell amperometry (SCA) kan användas för att bestämma antalet signalsubstanser som frisätts under en exocytos. Vesicle impact electrochemical cytometry (VIEC) och intracellular vesicle impact electrochemical cytometry (IVIEC) är två metoder som möjliggör kvantifiering av antalet signalmolekyler som lagras i enskilda vesiklar från isolerade respektive intracellulära vesiklar.

I detta avhandlingsarbete har vesikulär struktur samt deras innehåll och frisättning undersökts. I artikel I användes öppna carbon nanopipettes (CNPs) med olika radier mellan 50 och 600 nm för att kvantifiera vesikulärt innehåll i isolerade vesiklar från kromaffin celler med hjälp av VIEC. Artikel II var en fortsättning på arbetet från artikel I, den mekanistiska studien av L-DOPA utfördes med hjälp av IVIEC med CNPs i olika storlekar. SCA introducerades för att fänga den dynamiska frisättningen av enstaka exosomer från en enda levande cell i artikel III. I artikel IV användes en kombination av elektrokemi och masspektrometri för att undersöka effekterna av ketamin på dopaminlagring och exocytos, samt förändringarna av cellulär lipidsammansättning. Generellt har elektrokemiska metoder ansetts vara kraftfulla verktyg för att förstå strukturer hos vesiklar och deras biologiska funktioner.