

Abstrakt

N-methyl-D-aspartátové (NMDA) receptory řadíme mezi ionotropní glutamátové receptory ovlivňující excitační synaptický přenos a synaptickou plasticitu v centrálním nervovém systému (CNS) savců. Aktivace NMDA receptorů hraje klíčovou roli ve vývoji mozku nebo při formování paměti. Abnormální regulace NMDA receptorů je jedna z hlavních příčin vzniku různých neurologických a psychiatrických onemocnění. NMDA receptory vytvářejí heterotetramerní komplexy složené z GluN1, GluN2(A-D) a/nebo GluN3(A a B) podjednotek. Povrchová exprese NMDA receptorů je regulovaná na mnoha úrovních, včetně zpracování a kontroly v endoplazmatickém retikulu (ER), intracelulárního transportu přes Golgiho aparát (GA), internalizace, recyklace a následné degradace. NMDA receptory jsou na úrovni časného transportu regulovány: volnou dostupností GluN podjednotek v ER, přítomností ER- retenčního a exportního signálu a posttranslačními modifikacemi, včetně fosforylace a palmitoylace. Avšak role *N*-glykosylace v regulaci transportu NMDA receptorů dosud nebyla plně objasněna. Cílem této práce proto bylo objasnění mechanismů regulace povrchové exprese a funkčních vlastností NMDA receptorů. V předložené práci jsme použili kombinaci nejmodernějších metod z oblasti molekulární biologie, mikroskopie, biochemie a elektrofyziologie. Rovněž jsme využili několik heterologních i nativních expresních systémů, včetně COS-7 a HEK293 buněk a kultur hipokampálních a granulárních mozečkových (CGC) neuronů, což nám umožnilo celistvý pohled na danou problematiku. Z výsledků naší práce vyplývá, že transport GluN1/GluN2C receptorů je regulovaný třemi specifickými oblastmi v rámci GluN2C podjednotky: i) oblastí A2 segmentu v amino-terminální doméně (ATD), ii) M3 doménou a iii) proximální částí C-terminální domény (CTD) obsahující sekvenci pěti aminokyselin, tvořících SLPSP motiv. Dále jsme zjistili, že: iv) pro regulaci transportu NMDA receptorů z ER na buněčný povrch je klíčová přítomnost dvou *N*-glykosylačních míst, N203 a N368. v) Po odstranění *N*-glykanů z nativních NMDA receptorů dojde ke změně afinity těchto receptorů ke glutamátu. vi) Mozečkové NMDA receptory asociují s 23 různými typy lektinů, které mají unikátní specifitu pro glykanové struktury a jsou schopné měnit biofyzikální vlastnosti těchto receptorů. vii) Většina predikovaných *N*-glykosylačních míst na GluN1 a GluN2B podjednotkách skutečně obsahuje glykanové struktury.

Klíčová slova: glutamátový receptor; granulární mozečkové neurony; HEK293 buňky; iontový kanál; intracelulární transport; endoplazmatické retikulum; *N*-glykosylace, biochemie, elektrofyziologie