

Abstrakt

TRPA1 je teplotně citlivý iontový kanál z ankyrinové podrodiny Tranzientních Receptorových Potenciálových (TRP) receptorů. Tyto proteiny hrají významnou roli v převodu širokého spektra vnějších a vnitřních signálů. Kanál TRPA1, který je hojně exprimován v primárních aferentních neuronech, je významný převodník různých škodlivých a dráždivých podnětů a účastní se také detekce změn teploty. Podobně jako ostatní TRP kanály je TRPA1 tvořen čtyřmi podjednotkami, přičemž každá podjednotka obsahuje šest transmembránových segmentů (S1-S6) ohraničených cytoplazmatickým N- a C-koncem. V nativních tkáních je receptor TRPA1 regulován několika fosforylačními místy, která jsou významná z hlediska aktivity TRPA1 za fyziologických a různých patofyziologických podmínek.

Za použití mutační metody jsme predikovali a prozkoumali roli potenciálních fosforylačních míst pro proteinkinasu C ve funkci TRPA1, která zvyšuje aktivitu tohoto receptoru. Naše výsledky identifikují rezidua, u kterých fosfomimikující mutace ovlivnila schopnost kanálu reagovat na napěťové a chemické podněty, zatímco mutace za alanin nebo glycin, která znemožňuje fosforylaci na daném místě, funkci kanálu neovlivnila. Identifikovali jsme serin 602 v rámci šestnácté N-koncové ankyrinové repetice, jehož substituce za aspartát překvapivě zcela blokovala aktivitu TRPA1, přičemž míra exprese daného proteinu na povrchu buňky byla zachována. Kromě toho bylo zjištěno, že fyzikálně-chemické vlastnosti tohoto rezidua mají kritický význam pro funkci kanálu. Byly využity metody molekulárního modelování pro prozkoumání nezbytných strukturních požadavků pro aktivaci kanálu. Zjistili jsme, že nejen náboj, ale také velikost Ser602 a jeho specifické okolí jsou důležité pro správnou funkci kanálu.

Naší hypotézou je, že Ser602 může být potenciálním fosforylačním místem TRPA1, které je nezbytné pro vrátkování kanálu. Určení příslušné kinasy zodpovědné za snížení aktivity TRPA1 vyžaduje další studium. Alternativním vysvětlením je, že správná konformace N-koncové ankyrinové repetice 16 v okolí Ser602, je nepostradatelná pro správnou funkci kanálu.

Klíčová slova: ankyrinový tranzientní potenciálový kanál 1; fosforylace; TRP kanál; serin/threonin kinasa; vrátkování; ankyrinová repetice; PKC