

## ABSTRAKT

### *Charakterizace vazebných míst pro kalmodulin a S100A1 na intracelulárních koncích TRPC6 receptoru*

Skupina TRP (transient receptor potential) iontových kanálů je rozsáhlou třídou membránových receptorů. Součástí této skupiny jsou i kanonické kanály TRPC se sekvencí analogickou TRP kanálům poprvé objevených u octomilky (*Drosophila melanogaster*). Tyto membránové kanály jsou zapojeny do mnoha fyziologických procesů v různých typech buněk a tkání. TRPC6 je neselektivní kationtový kanál, který řídí intracelulární rovnováhu vápenatých iontů eukaryotických buněk (včetně senzoryckých a receptorových buněk) jako odpověď na vnější podněty. TRPC6 obsahuje vazebnou doménu CIBR (Calmodulin inositol binding region), který je schopen vázat vápník vázající protein S100A1. Cílem práce je charakterizace vazebného místa CIBR lokalizovaného na C intracelulárním konci TRPC6 pro kalmodulin (CaM) a S100A1. Pomocí bodové mutace byl připravený rozpustný proteinový fragment TRPC6 CT (801-878) se záměrně vyměněnými aminokyselinami. V případě některých vybraných bazických aminokyselin (Arg852, Lys856, Lys859, Arg860 a Arg864) nesoucích pozitivní náboj byl měřením anizotropie fluorescence potvrzen jejich vliv a účast na tvorbě komplexu TRPC6 s CaM i S100A1. Obě interakce jsou závislé na přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  iontů. Homologní model komplexu TRPC6-CaM prokázal sekvenční rozpoznávací motiv 1-5-10 vhodný pro CaM. Avšak výsledky naznačují jedinečnou interakci překrývajícího vazebného místa pro S100A1 na C konci TRPC6, protože trojitá mutace Arg852/Lys859/Arg860 významně narušila vazbu komplexu S100A1-TRPC6.

**Klíčová slova:** anizotropie fluorescence,  $\text{Ca}^{2+}$  vazebný protein, iontové kanály, kalmodulin, S100A1, TRPC receptor, TRPC6

### **Identifikační záznam:**

BÍLÝ, Jan. *Charakterizace vazebných míst pro kalmodulin a S100A1 na intracelulárních koncích TRPC6 receptoru. [Identification of the binding sites on transient receptor potential cation channel TRPC6 for Calmodulin and S100A1]* Praha, 2016. 105 s., 7 příl. Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, Ústav 2. LF UK. Vedoucí práce Teisinger, Jan.