

Abstrakt

P2X7 receptor je trimerní ligandem otevíraný iontový kanál, aktivovaný extracelulárním ATP. Tento receptor je exprimovaný v mnoha tkáních a buněčných typech, jako jsou například gliové buňky, buňky imunitního systému, různé epitely a spermie, a hraje roli v mnoha buněčných a fyziologických procesech, jako například fagocytóza, regulace metabolismu nebo apoptóza. Podjednotka P2X7 receptoru se sestává z intracelulárního N- a C-konce, dvou transmembránových domén (TM1 a TM2) a velké extracelulární ligand vazebné domény. P2X7 má nízkou sensitivitu pro svůj přirozený ligand, avšak jeho dlouhá nebo opakovaná aplikace zvyšuje sensitivitu k agonistovi spolu s amplitudou proudové odpovědi receptoru. Aktivace P2X7 receptoru je také spojena s akumulací velkých organických kationtů, například fluorescentního barviva ethidium bromidu. Sensitizace receptoru je spojena s prodloužením deaktivace, jejíž mechanismus nebyl dosud zcela objasněn, a která může být měřena jako pokles proudu při odmytí agonisty. Tato práce se zabývá rolí jednotlivých aminokyselin v TM1 v kinetice deaktivace naivního a sensitizovaného P2X7 receptoru. Elektrofyziologická hole-cell patch clamp metoda byla použita k zaznamenání agonistou stimulovaného proudu a jeho poklesu u divokého typu P2X7 (P2X7-WT) a alaninových nebo leucinových mutantů TM1. U mutací, které výrazně pozměnily kinetiku deaktivace, byla také tudována jejich schopnost regulovat akumulaci ethidium bromidu. Konkrétně u Gly27Ala, Trp31Ala, Leu33Ala, Thr36Ala a Val41Ala byla pozorována změna v deaktivaci naivní odpovědi oproti P2X7-WT, přičemž všechny, kromě Thr36Ala, se také lišily v sensitizované odpovědi, která se navíc změnila u Phe38Ala. Změna v akumulaci ethidium bromidu byla pozorována u všech zmíněných mutací s výjimkou Thr36Ala. Model potkaního P2X7 receptoru odhalil, že Trp31, Leu3 a Val41 jsou důležité pro interakci TM1 a TM2 anebo interakci s lipidy a lipofilními molekulami v membráně. Tato práce identifikovala aminokyseliny v TM1, které regulují kinetiku deaktivace P2X7 receptoru a ovlivňují jeho schopnost akumulovat ethidium bromid.

Klíčová slova:

P2X7 receptor, extracelulární ATP, purinergní signalizace, deaktivace receptoru, transmembránová doména