

Membránové domény jsou důležitou strukturou v plazmatické membráně. Koncentrují se v nich různé signální molekuly. Jejich hlavní strukturální složkou je cholesterol a jeho odstraněním dochází k jejich narušení. Předkládaná práce se zabývá vlivem, jaký má deplece cholesterolu na signalizaci iniciovanou thyreotropním hormonem (TRH), jehož signální kaskáda se pravděpodobně nachází v membránových doménách, ač on sám není jejich součástí.

S pomocí látky -cyclodextrin jsme depletovali cholesterol z plazmatických membrán. Ukázali jsme, že deplece cholesterolu vede k uvolňování Gq/11 proteinů a kaveolinu 2 z membránových domén. Také jsme ukázali, že tato deplece vede ke snížení schopnosti TRH aktivovat trimerní G proteiny stejně jako indukovat výlev Ca^{2+} z intracelulárních zásob.

V poslední části jsme prozkoumali efekt deplece cholesterolu na mobilitu TRH receptoru v plazmatické membráně a na jeho internalizaci indukovanou TRH. K tomuto účelu byla použita linie buněk HEK 293 stabilně exprimující fuzní protein TRH-R-eGFP. Studie s pomocí konfokálního mikroskopu ukázaly, že internalizace receptoru je výrazně potlačena. Detailní analýza návratu fluorescence TRH-R-eGFP do vybělených oblastí o různých velikostech ukázala, že deplece cholesterolu zvyšuje mobilitu receptoru. Jsme přesvědčeni, že návrat fluorescence probíhá kombinací difuze a výměny molekul receptoru na „vazebných místech“ představovaných membránovými doménami. V buňkách ve kterých byl odstraněn cholesterol z membrány docházelo k migraci molekul receptoru do vybělené oblasti rychleji, než k jejich výměně na vazebných místech, zatímco u kontrolních buněk byla rychlost migrace vyšší než rychlost výměn na vazebných místech.

Intaktní struktura membrány tak představuje nezbytnou podmínku pro optimální funkci TRH iniciované signální kaskády.