

Purinergní P2X receptory, aktivované extracelulárním ATP (adenosin-5'-trifosfátem), reprezentují nový strukturální typ ligandem otevíraných iontových kanálů.

V excitabilních i neexcitabilních tkáních bylo doposud nalezeno sedm podtypů P2X receptoru. S novými poznatky o fyziologických účincích extracelulárního ATP a roli jednotlivých P2X podtypů dramaticky roste zájem o podrobné studium P2X receptoru.

Je známo, že purinergní signalizace má významnou úlohu v prenosu bolesti, poranění

CNS a v imunitních procesech. Málo se však ví o molekulární struktuře P2X receptoru,

mechanismu otevírání a zavírání iontového kanálu, lokalizaci P2X receptoru a způsobu

ukončení působení ATP prostřednictvím ektonukleotidáz. V případě detailní znalosti těchto mechanismů a znalosti struktury P2X proteinu se otevírá možnost vývoje nových

léčiv například v oblasti chronické bolesti.

Cílem této práce je shrnout nové poznatky v oblasti P2X signalizace a popsat náš podíl v objasnění struktury P2X receptoru. Byla studována sekundární struktura transmembránových domén P2X<sub>4</sub> receptoru, hlavního P2X podtypu v CNS, mechanismus otevírání a uzavírání iontového kanálu a citlivost receptoru k agonistům

a alosterickému modulátoru ivermektinu. K identifikaci aminokyselin, které mohou hrát

roli v těchto funkcích, byla provedla skenovací mutagenese obou transmembránových domén P2X<sub>4</sub> receptoru. Bylo zameneno celkem 42 aminokyselin, jedna po druhé, za cystein nebo alanin, mutované receptory byly exprimovány v HEK293 buňkách a kinetika zkoumána elektrofyziologickou technikou patch clamp. Bylo zjištěno, že obe

transmembránové domény P2X<sub>4</sub> receptoru mají pravděpodobně strukturu  $\alpha$ -helixu, a byla identifikována funkčně důležitá rezidua. Dále byla studována úloha konzervovaného tyrosinu v první transmembránové doméne u pěti podtypů P2X rodiny,

u P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub> a P2X<sub>7</sub> receptoru, a bylo zjištěno, že toto aromatické reziduum hraje důležitou úlohu v 3D struktuře většiny P2X receptoru a specificky ovlivňuje vazbu agonisty anebo gating kanálu.