Abstrakt

Purinergní P2X receptory jsou membránové kationtové kanály stimulované extracelulárním ATP. U savců bylo dosud nalezeno sedm různých podtypů, označovaných jako P2X1-7, které svojí stavbou představují novou rodinu ligandem řízených iontových kanálů s výjimečnými strukturně-funkčními vlastnostmi. Tyto receptory jsou součástí rozsáhlého purinergního signalizačního komplexu, který se uplatňuje jak v nervovém systému tak v somatických tkáních. V centrálním nervovém systému jsou P2X receptory velmi hojně zastoupeny v hypotalamu a hypofýze, kde se podílí na řízení základních homeostatatických a reprodukčních funkcí organismu.

Hlavní část mé práce pojednává o expresi a funkční úloze neuronálních P2X receptorů v supraoptických jádrech hypotalamu v mozku potkana. V magnocelulárních supraoptických neuronech jsou syntetizovány hormony oxytocin a arginin-vasopresin, které regulují porod a laktaci, respektive hospodaření organismu s vodou a udržování krevního tlaku. Výlev obou hormonů do systémového oběhu ze zadního laloku hypofýzy závisí na elektrické aktivitě supraoptických neuronů, která je řízena synaptickými vstupy aferentních neuronů. V nedávné době bylo nalezeno, že sekrece hormonu je stimulována také extracelulárním ATP. Cílem mé práce bylo zjistit podtypy přítomných P2X receptorů a jejich význam pro elektrickou aktivitu a synaptický přenos v supraoptických neuronech.

Druhou část mé práce tvoří studie strukturně-funkčních vlastností vybraných rekombinantních P2X receptorů. Funkční P2X receptor je tvořen 3 podjednotkami, kde každá podjednotka má dvě transmembránové domény. Krystalografická data ukazují, že pór iontového kanálu se nachází mezi druhými transmembránovými doménami. Krystalová struktura však byla vyřešena pro receptor v uzavřeném stavu a bez navázaného ATP, a proto mechanismus otevírání iontového kanálu a přesná struktura vazebného místa pro ATP nejsou dosud známy. Technikou bodové mutageneze jsme řešili otázku vazebného místa P2X4 receptoru pro alosterický modulátor ivermektin, funkční význam konzervovaných aromatických aminokyselin v horní části první transmembránové domény u P2X1, P2X2, P2X3, P2X4 a P2X7 receptorů, a úlohu pěti konzervovaných cysteinových párů v ektodoméně P2X4 receptoru.

Svojí dizertační práci předkládám jako soubor čtyř původních prací a jednoho přehledu publikovaných v recenzovaných časopisech.