

Štěpána Boukalová

Mechanismy aktivace a modulace vaniloidních TRP receptorů

TRPV1 a TRPV3 receptory jsou teplocitlivé iontové kanály patřící do rodiny vaniloidních TRP receptorů. TRPV1 receptor, jenž je specificky exprimován v nociceptivních neuronech, představuje klíčovou molekulu v transdukční dráze bolestivých podnětů, včetně nociceptivního tepla. Význam TRPV3 receptorů ve vnímání tepelných podnětů je prozatím sporný, dobře prokázána je však jeho úloha v regulaci proliferace a diferenciaci keratinocytů. TRP receptory, podobně jako napěťově ovládané draslíkové kanály (K_v), jsou tvořeny čtyřmi podjednotkami, jež každá obsahuje šest transmembránových segmentů (S1–S6).

V první části své dizertační práce jsem se zaměřila na úlohu S1 transmembránové oblasti ve funkčních vlastnostech TRPV1 receptoru. Z našich výsledků vyplývá, že část S1 směřující do extracelulárního prostředí hraje významnou úlohu ve vrátkování iontového kanálu. Konzervativní mutace kladně nabitého rezidua v dané oblasti (R455K mutace) vedla ke vzniku TRPV1 iontových kanálů se zvýšenou aktivitou, jež však nebyly citlivé ke stimulačnímu působení sníženého pH prostředí. Naopak, zvýšená koncentrace protonů v extracelulárním prostředí vedla ke stabilizaci zavřeného stavu mutantního iontového kanálu. Velmi podobné fenotypické vlastnosti jako u R455K konstruktů jsme pozorovali i u dalších mutantů se záměnou v S4/S4–S5 oblasti a v pórovém helixu. Extracelulární část S1 je u K_v kanálů v přímém kontaktu s pórovým helixem a zajišťuje efektivní přenos aktivačního signálu z domény napěťového senzoru na pórovou doménu (Lee et al., 2009). Naše výsledky naznačují, že by obdobná interakce mezi S1 a pórovým helixem mohla být klíčová pro správné vrátkování TRPV1 receptoru.

Druhá část mé dizertační práce je zaměřená na stanovení účinku epidermálního růstového faktoru (EGF) na aktivitu TRPV3 receptorů endogenně exprimovaných v linii immortalizovaných lidských keratinocytů – HaCaT. V elektrofyziologických pokusech prováděných na HaCaT buňkách se nám podařilo zaznamenat specifickou aktivitu TRPV3 receptorů vyvolanou aplikací chemických agonistů. Již krátkodobá stimulace buněk EGF vedla k výraznému zvýšení citlivosti TRPV3 iontových kanálů. Při současné inkubaci buněk s inhibitory MAPK (mitogenem aktivovaná protein kináza) dráhy byly účinky EGF potlačeny. Stimulační vliv EGF na činnost TRPV3 receptoru je tudíž pravděpodobně zprostředkovan aktivací MAPK dráhy.