

Abstrakt

TRPA1 je teplotně citlivý iontový kanál patřící do rodiny TRP (transient receptor potential) receptorů. V primárních sensorických neuronech představuje TRPA1 klíčovou molekulu v transdukční dráze bolestivých podnětů, kde se podílí na detekci pálivých, dráždivých a zánětlivých látek endogenního i exogenního původu. Hlavním mechanismem chemické aktivace TRPA1 je kovalentní modifikace cysteinových a lysinových reziduí elektrofilními látkami. Účinnost agonistů je navíc zvýšena napětovou citlivostí TRPA1, jež se významně uplatňuje při depolarizaci buněčné membrány. Dosud byla prokázána účast několika N-terminálních cysteinů na aktivaci TRPA1, úloha šesti cysteinů v transmembránové oblasti však dosud nebyla systematicky prozkoumána.

Předložená diplomová práce se zaměřuje na funkční úlohu transmembránově lokalizovaných cysteinů v aktivaci lidského TRPA1 receptoru. Z výsledků vyplývá, že cysteinová rezidua nereagují přímo s elektrofilními látkami, čtyři z nich se však specificky uplatňují při napětové aktivaci a vrátkování iontového kanálu, dvě cysteinová rezidua ovlivňují modulaci TRPA1 vápenatými ionty.

Druhá část práce je zaměřená na zjištění topologické blízkosti dvou opačně nabitých reziduí, již dříve vytypovaných pro interakci prostřednictvím solných můstků. Současná substituce těchto reziduí za cystein (E854C/K868C) umožnila prokázat interakce mezi sousedními podjednotkami, stabilizující konformaci spojenou s chemickým a napětovým vrátkováním TRPA1 iontového kanálu.