

44.

MEMBRÁN-TRANSPORT KONFERENCIA



2014. május 20-23. Sümeg

Membrán-Transzport Konferenciák Választmánya
Romhányi György Alapítvány

74

A PÓRUSBAN LEVŐ MUTÁCIÓK HATÁSA A *SHAKER* KÁLIUMCSATORNA KAPUZÁSÁRA

Zákány Florina, Dr. Szilágyi Orsolya, Prof. Dr. Panyi György,
Dr. Szántó G. Tibor

Debreceni Egyetem ÁOK, Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

Korábban bizonyítást nyert, hogy a feszültségkapuzott ioncsatornák közé sorolható *Shaker* káliumcsatorna aktivációs és C-típusú inaktivációért felelős inaktivációs kapui csatoltak, melyet a pórust közvetlenül határoló S6-os transzmembrán helikális szegmensek inaktiváció során bekövetkező forgása biztosíthat. Kísérleteimben azt vizsgáltam, hogy az S6-os szegmensek pórus felé tekintő pozícióit érintő mutációk hatással vannak-e a két kapu közti csatolási mechanizmus befolyásolásán keresztül az ioncsatorna kapuzására.

Méréseimhez olyan mutáns *Shaker*-IR (N-típusú inaktivációtól mentes) csatornákat használtam, melyek az S6-os szegmensek 470-es pozíciójában különböző méretű, töltésű, illetve hidrofobicitású aminosavakat (Ala, Trp, Glu, Asp) tartalmaztak. A kísérleteket a tsA₂₀₁ sejtekbe tranziensen transzfektált mutáns ioncsatornákon a patch-clamp technika feszültség-zár üzemmódjában, inside-out konfigurációban végeztem. Az elektrofiziológiai mérések során a mutáns csatornák kapuzását jellemző biofizikai paramétereket határoztam meg (aktivációs- és inaktivációs időállandó; konduktancia- és inaktiváció feszültségfüggése, inaktivációból való visszatérés időállandója) és hasonlítottam össze a kontrollként használt T449A/I470 ioncsatorna megfelelő paramétereivel.

A vizsgált paraméterek közül a legjelentősebb eltérést az inaktivált állapot kialakulását jellemző inaktivációs időállandóban tapasztaltam. Míg az inaktivációs időállandó értéke a kontroll csatorna esetén ~70 ms, addig ez az érték a T449A/I470A ioncsatorna esetén ~315 ms. A 470-es pozícióba helyezett szintén apoláris oldalláncú triptofán, valamint a negatív töltésű glutamát és aszpartát kevésbé lassította az inaktivációs kinetikát (az inaktivációs időállandók rendre ~110 ms, ~125 ms, ~145 ms). A mutáns ioncsatornák inaktivációs kapuzását jellemző további, valamint az aktivációs kapuzást jellemző paraméterek esetén kisebb mértékű változást tapasztaltam a kontrollhoz képest.

Az eredmények azt mutatják, hogy a pórusban levő aminosavak fizikokémiai tulajdonságai együttesen képesek befolyásolni a *Shaker* csatorna C-típusú inaktivációját, amely alátámasztja az S6-os szegmensek aktivációs és inaktivációs kapu közti csatolásban betöltött szerepét.

TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001, TÁMOP 4.2.2-A-11/1/KONV-2012-0025, TÁMOP-4.2.3-12/1/KONV-2012-0048