

A CFTR KLORID IONCSATORNA MOLEKULÁRIS EVOLÚCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA

Simon Márton András^{1,2}, Csanády László^{1,2}

¹Semmelweis Egyetem, Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet, Budapest;

²HCEMM-SE Molekuláris Csatornabetegségek Kutatócsoport

Az ABC fehérjék szupercsaládjába tartozó CFTR klorid ioncsatorna hámsejtek luminális membránjában kifejeződve kulcsfontosságú szerepet játszik a só-víz transzportfolyamatokban. A CFTR mutációi egy örökletes, jelenleg gyógyíthatatlan betegség, a cisztás fibrózis kialakulásához vezethetnek. A CFTR két transzmembrán (TMD1/2) és két nukleotid-kötő doménből (NBD1/2) áll, a homológ molekulafeleket (TMD1-NBD1, TMD2-NBD2) a szabályozó szerepet betöltő R domén köti össze. Ez utóbbi PKA-hoz való kötődése és foszforilációja teszi lehetővé a csatorna ATP-függő kapuzását.

A humán CFTR (hCFTR) stabilabb nyitott konformációjával szemben korábban azt találták, hogy a zebraahal CFTR (zCFTR) fehérjét rövidebb átlagos nyitvatartási idő és nyitvatartási valószínűség jellemzi, mely összhangban áll a krio-elektron mikroszkópia által megoldott szerkezetekkel. Szekvenciaillesztések révén azt találtuk, hogy szemben a konszenzus ATP kötőhellyel, a degenerált ATP kötőhelyen számos fontos különbség található az ortológok szekvenciái között, melyek közül kiemelhető az NBD2-ben található cisztein (hCFTR) – tirozin (zCFTR) csere. A CFTR ortológok molekuláris evolúciójának kvázi két végpontja közt változást szenvedő pozíciók vizsgálata révén feltérképezhető az inaktív, ATP hidrolízisére képtelen degenerált kötőhely fejlődésbiológiája, funkciója.

Nem-hidrolizáló konszenzus kötőhely háttérben 'inside-out' 'patch clamp' mérésekkel vizsgáltuk a szekvenciaillesztés alapján azonosított pozíciókba bevitt mutációk makroszkópos záródási sebességekre gyakorolt hatását. Azt találtuk, hogy humán csatorna megfelelő pozícióiba a zCFTR-ben található oldalláncot helyettesítve a hCFTR makroszkópos záródási sebessége kivétel nélkül csökkent, stabilabb nyitott állapotot eredményezve. A zCFTR makroszkópos záródási sebességének vizsgálata során viszont meglepetésre azt tapasztaltuk, hogy – az emlős sejtekben korábban tapasztaltakkal szemben – a béka petesejtekben kifejezett zCFTR nyitott állapota stabilabb a hCFTR-énél, azaz a zCFTR stabilitása nagymértékben membránfüggő. Ezen eredmények jelentősen árnyalják a CFTR fejlődéséről és működéséről alkotott eddigi tudásunkat.

(h/z)CFTR – (humán / zebraahal) cisztás fibrózis transzmembrán konduktancia regulátor,
TMD1/2 – transzmembrán domén 1/2, NBD1/2 – nukleotid-kötő domén 1 / 2, PKA –
protein kináz A, ATP – adenzin-trifoszfát, ABC – ATP binding cassette