

LA STRUTTURA DEL PORO DEI CANALI REGOLATI DAI NUCLEOTIDI CICLICI:
UNO STUDIO MEDIATO DA CYSTEINE-SCANNING MUTAGENESIS E DA PROVE
DI INIBIZIONE CON CADMIO

P. Roncaglia^{*+}, A. Becchetti^{*+}, K. Gamel^{*+} e V. Torre^{*+}

^{*}SISSA, Trieste, ⁺INFM, Trieste

I canali ionici regolati dai nucleotidi ciclici (canali CNG) hanno una sequenza aminoacidica altamente omologa a quella dei canali ionici dipendenti dal voltaggio (cioè canali al potassio, al sodio e al calcio). Perciò tutti questi canali appartengono probabilmente alla stessa superfamiglia di proteine.

La struttura del poro dei canali dipendenti dal voltaggio è stata ampiamente studiata facendo uso della mutagenesi per sostituzione seriale dei vari residui con cisteine (o cysteine scanning mutagenesis, CSM); è stato quindi proposto un abbozzo della localizzazione spaziale degli aminoacidi della regione del poro, in base ai risultati ottenuti sui suddetti mutanti della proteina con prove di inibizione con composti, come i derivati dell'MTS e il cadmio, che reagiscono specificamente con il gruppo sulfidrilico delle cisteine. Non è possibile applicare la stessa procedura alla subunità alfa dei canali CNG dei fotorecettori bovini, dal momento che i suddetti composti bloccano significativamente il canale CNG wild type. Tuttavia il blocco da cadmio non si osserva inserendo la mutazione E363A nel canale ed è quindi possibile ottenere una mappa di accessibilità dei residui del poro partendo da questo background. Inoltre, il mutante E363A desensitizza in presenza di una concentrazione stabile di GMP ciclico. In base a ciò e sfruttando la tecnica CSM, si può abbozzare una mappa di accessibilità dei vari aminoacidi della regione del poro nello stato chiuso, aperto e desensitizzato.

I nostri risultati suggeriscono che le strutture tridimensionali dei canali al potassio voltaggio-dipendenti e dei canali CNG siano significativamente diverse e mostrano la presenza di un riarrangiamento strutturale dei residui della regione del poro in seguito alla desensitizzazione del mutante E363A; tale riarrangiamento appare particolarmente rilevante a livello del residuo T360C che è accessibile al cadmio nello stato desensitizzato ma non nello stato non desensitizzato.

Progetto supportato dai finanziamenti E.C. Biotech. Project Trans PL 960593.