



Reinigung und Charakterisierung von mTMEM16A und der C-terminalen Endodomäne des hP2X7-Rezeptors für die 2D-Kristallisation

By Frederik Rudolph

Cuvillier Verlag Nov 2011, 2011. Buch. Condition: Neu. Neuware - Strukturelle Charakterisierung der C-terminalen Endodomäne des hP2X7-Rezeptors Der P2X7-Rezeptor (P2X7R) gehört zur P2X-Rezeptorfamilie ATP-gesteuerter Kationenkanäle. Die sieben Isoformen (P2X1-P2X7) teilen eine gemeinsame Topologie mit zwei Transmembranregionen, einer großen extrazellulären Schleife und intrazellulären N- und C-terminalen Domänen. Drei Untereinheiten einer Isoform assemblieren zu einem funktionellen homotrimeren Rezeptor. Aufgrund seiner Lokalisation in Zellen mit Beteiligung an Schmerzentstehung, Entzündungsprozessen und neurodegenerativen Erkrankungen ist der P2X7R ein interessanter Angriffspunkt für die Entwicklungen neuer Arzneimittel gegen verschiedene Krankheiten. Strukturell unterscheidet sich die 595 Aminosäuren umfassende P2X7R-Untereinheit von anderen P2XR-Subtypen (P2X1R-P2X6R) durch eine um 120-200 Aminosäuren längere C-terminale Endodomäne. Funktionelle und biochemische Daten, die von unserer Arbeitsgruppe zusammen mit der Arbeitsgruppe von Prof. Markwardt in Halle publiziert wurden (Becker et al., 2008), lassen den Schluss zu, dass die C-terminale Endodomäne des P2X7-Rezeptors ein Gating-Modul darstellt, wobei eine trimere Anordnung des Moduls zur trimeren Struktur der P2X7-Rezeptoren passen würde. Modelle, wie solche cytoplasmatische Domänen das Öffnen von Ionenkanälen regulieren, wurden bereits für spannungsabhängige K⁺-Kanäle durch Kombination funktioneller Daten mit Kristallographie-Strukturdaten abgeleitet. Die C-terminale Endodomäne des hP2X7-Rezeptors (hP2X7355-595-Protein) wurde in dieser Arbeit in der methylophilen Hefe *P. pastoris* überexprimiert und durch Ni²⁺-NTA-Affinitätschromatographie aufgereinigt. Nach Optimierung der Aufreinigungsbedingungen konnte ~1,5 mg hP2X7355-595-Protein in hoher Reinheit pro Liter Kulturmedium aufgereinigt werden. 2D-Kristallisationsversuche mit dem His-hP2X7355-595-Protein wurden in Kooperation mit Prof....



READ ONLINE
[1.5 MB]

Reviews

This kind of publication is every little thing and taught me to looking ahead of time and a lot more. It is packed with wisdom and knowledge Once you begin to read the book, it is extremely difficult to leave it before concluding.

-- **Ida Herman**

It is an amazing publication which i actually have at any time go through. It really is written in easy words and phrases rather than hard to understand. Its been developed in an extremely easy way which is merely following i finished reading through this pdf in which actually changed me, affect the way i think.

-- **Garry Lind**