

Ионные каналы подразделяют на несколько основных групп в зависимости от механизма их активации (инактивации):

- лиганд-активируемые (хемозависимые) каналы открываются при конформационном взаимодействии лиганда (медиатора или модулятора) с рецепторной частью канала;
- каналы, активируемые фосфорилированием (или дефосфорилированием) и инактивируемые дефосфорилированием (или фосфорилированием);
- каналы, напрямую активируемые ГТФ-связывающими белками (G-белками), открываются в результате связывания с димером из $\beta\gamma$ -субъединиц G-белков;
- каналы, напрямую активируемые (инактивируемые) циклическими нуклеотидами (цАМФ и цГМФ);
- потенциал-активируемые (потенциал-зависимые) каналы открываются в результате воздействия электрического поля на активационные ворота - часть белковой молекулы канала, имеющую дипольную природу;
- каналы, активируемые растяжением или сжатием участка клеточной мембраны, прилежащего к каналу;
- и некоторые другие.

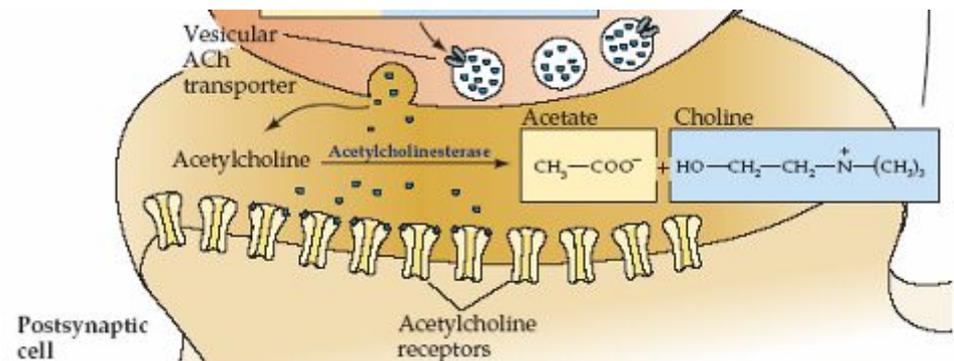
Мембранные рецепторы, активируемые медиаторами

Медиаторы, выделяясь из пресинаптических нейронов в межклеточное пространство по механизму экзоцитоза, связываются с **мембранными рецепторами**.

В результате такого связывания мембранные рецепторы в зависимости от их свойств опосредуют различные процессы, в результате которых происходят

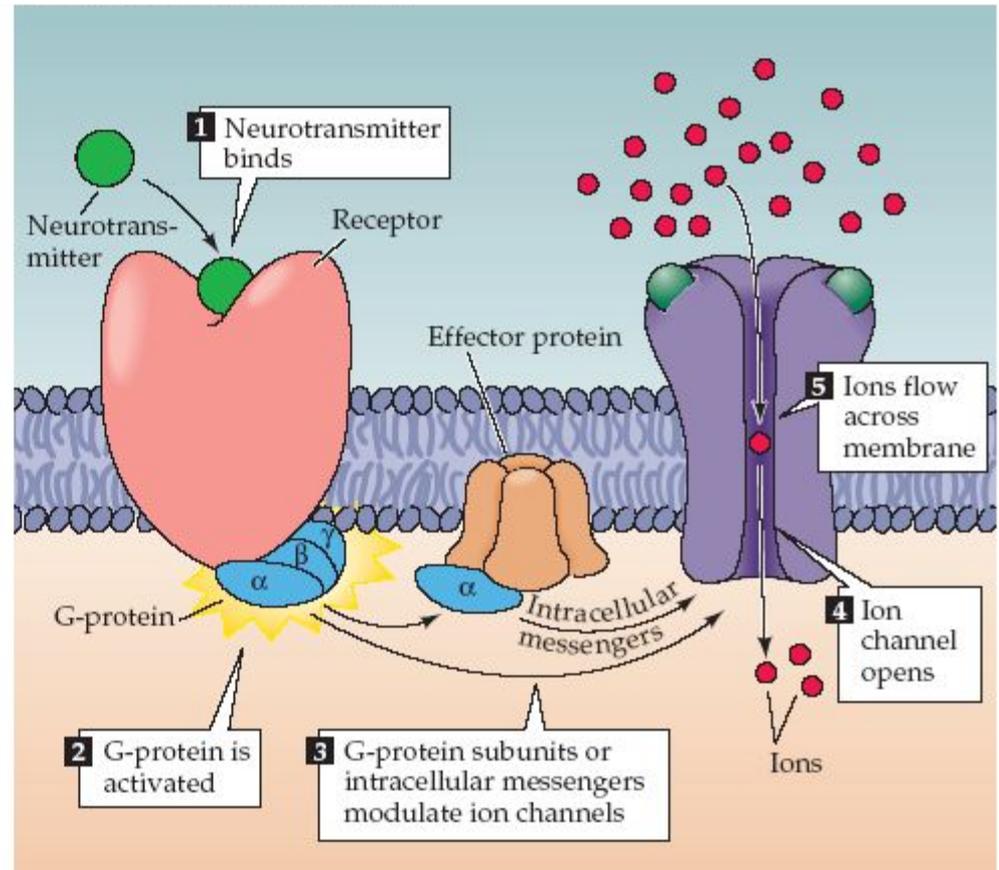
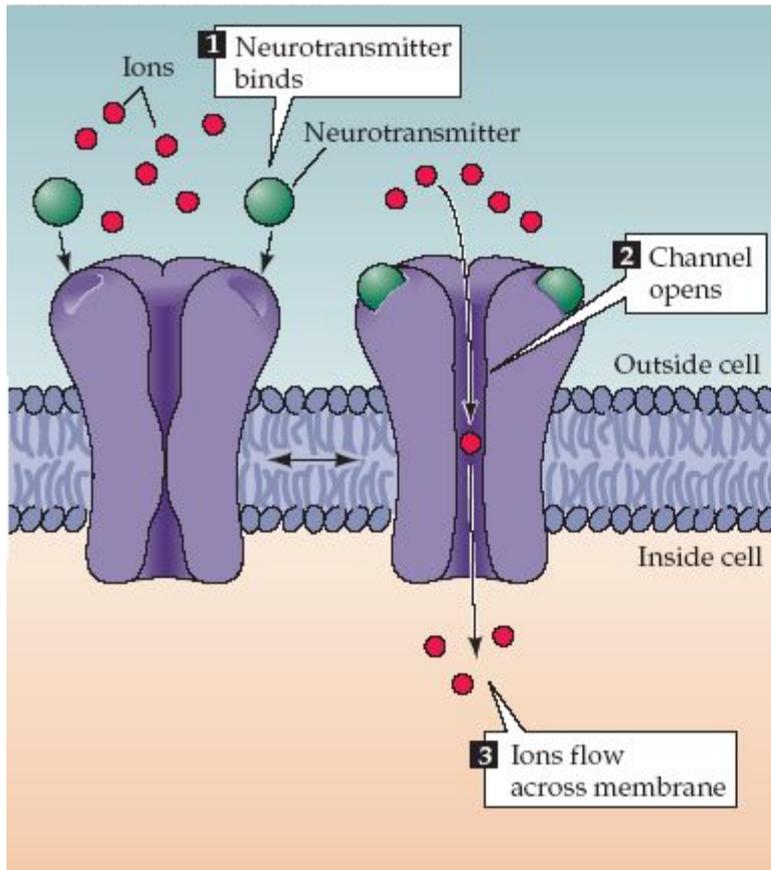
- либо изменение **ионной проводимости**,
- либо запускаются химические **внутриклеточные каскады**, приводящие к самым разнообразным эффектам.

Рецепторы подразделяют на различные типы по **медиаторам**, которые аффинно связываются с ними.



Мембранные рецепторы, активируемые медиаторами

По **механизму активации** различных процессов (в том числе и изменения ионной проводимости) мембранные рецепторы подразделяют на **ионотропные** и **метаботропные**.

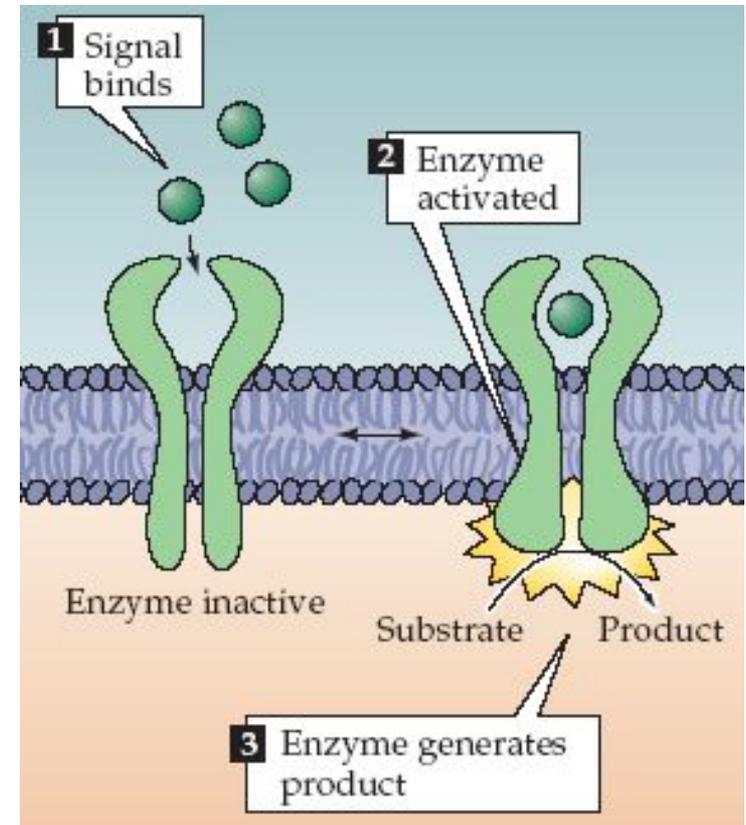


Еще один тип мембранных рецепторов, активируемых медиаторами

Фермент-связанные рецепторы представляют собой встроенные в мембрану молекулы ферментов с рецепторными свойствами, каталитическая функция которых регулируется внеклеточными лигандами (медиаторами).

Активируемый внеклеточным сигналом внутриклеточный домен такого рецептора проявляет каталитические функции.

Большинство таких рецепторов являются **протеин киназами** (чаще **тирозин киназами**), которые фосфорилируют внутриклеточные белки-мишени.



Еще один тип немембранных рецепторов, активируемых сигнальными молекулами

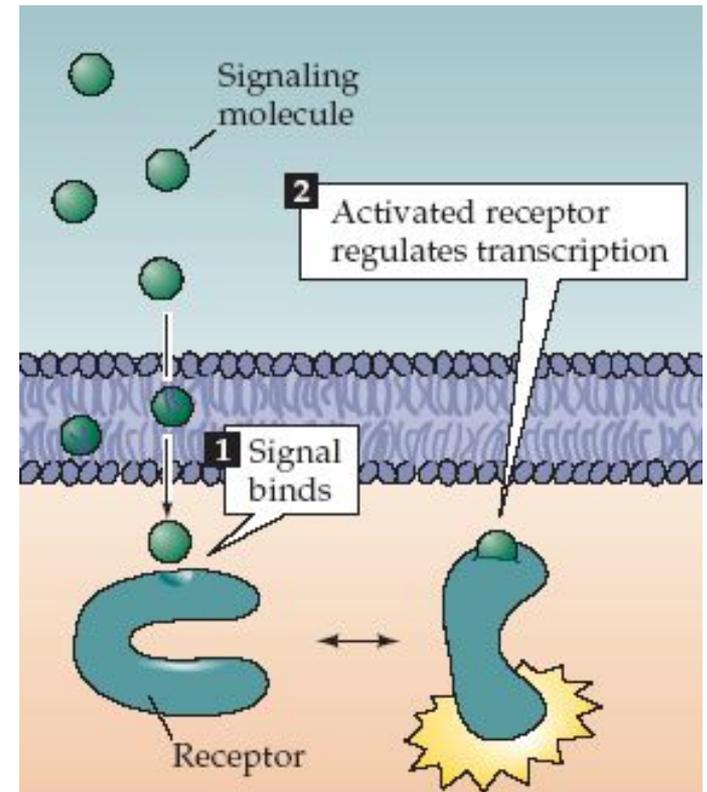
Внутриклеточные рецепторы локализованы в цитоплазме или ядре клетки.

Эти рецепторы активируются сигнальными молекулами, проникающими через клеточную мембрану, или липофильными лигандами.

Запускают внутриклеточные каскады, которые вызывают **синтез мРНК** и **белков** в клетках-мишенях.

Часто такие рецепторы представляют собой рецепторные белки, связанные с **суппрессорными белковыми** комплексами.

Когда сигнальные молекулы взаимодействуют с этими рецепторами, **суппрессорные комплексы диссоциируют** и освобождают **рецепторный домен**, например, связывающийся с ДНК.



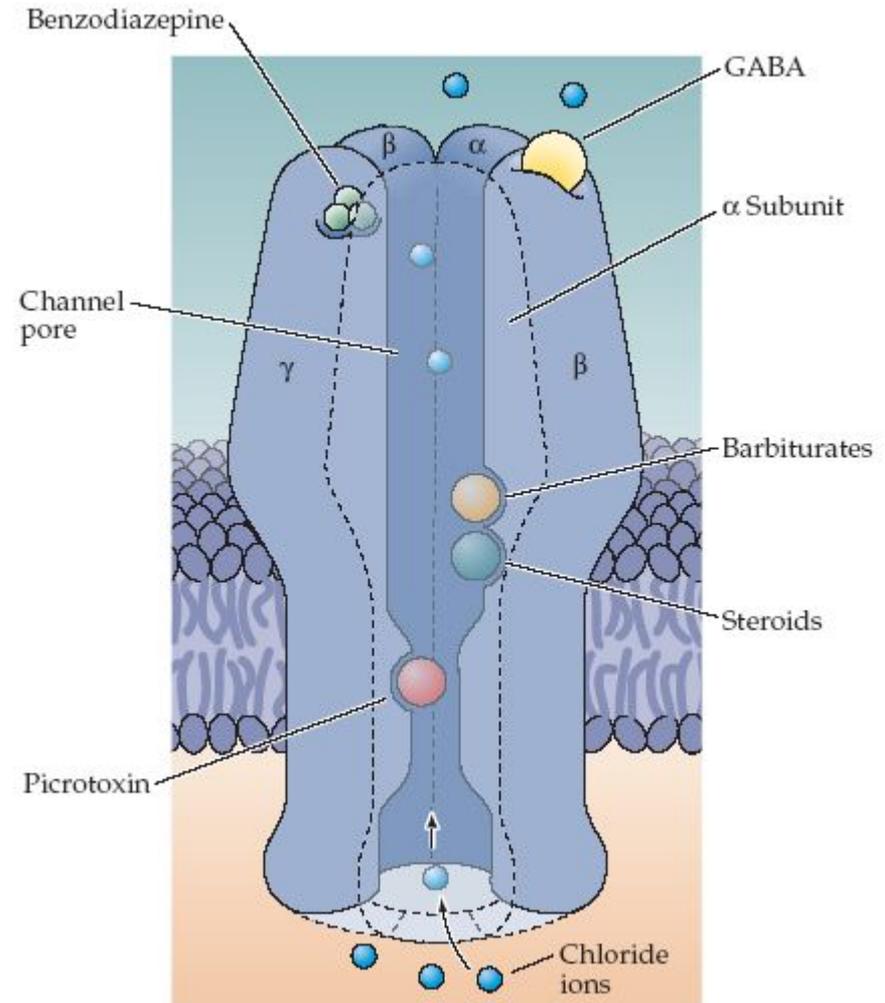
Ионотропные рецепторы

Ионотропные рецепторы представляют собой лиганд-активируемые, или лиганд-зависимые ионные каналы и обеспечивают **прямую синаптическую передачу**.

Функциональные **рецепторная** и **канальная** части ионотропного рецептора входят в состав одной молекулы.

Связывание лиганда часто происходит на участке аминокислотной петли между субъединицами (трансмембранными доменами), составляющими молекулу рецептора.

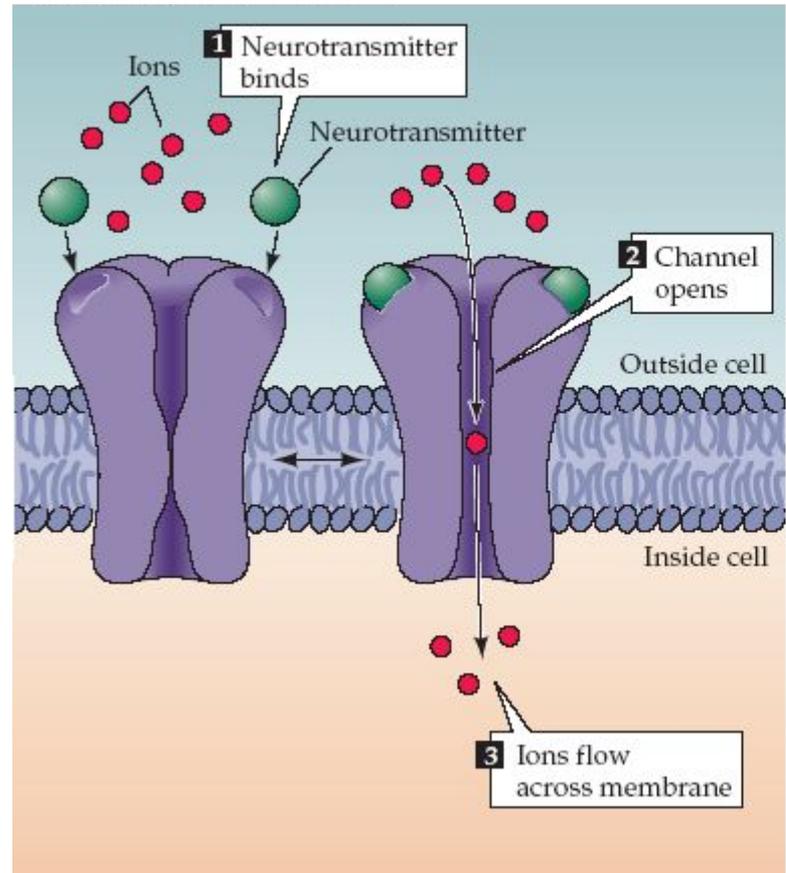
Большинство рецепторов имеют в своем составе специальные места для связывания (кроме медиаторов) **различных лигандов**, и их совместное связывание приводит к открытию (или закрытию) ионных каналов.



Ионотропные рецепторы

Важной особенностью ионотропного рецептора является то, что влияние медиатора на состояние ионного канала определяется **временем**, в течение которого **медиатор** связан с **рецептором**.

Ионотропные рецепторы обеспечивают **быстрое начало** и **быстрое прекращение** синаптической передачи в течение порядка нескольких миллисекунд.



Подразделение ионотропных рецепторов по химическому составу

Включают три подсемейства:

- 1) **никотинподобные** рецепторы,
- 2) **ионотропные глутаматные** рецепторы,
- 3) **пуриновые** (АТФ-активируемые) рецепторы с неселективными каналами.

подсемейство рецепторов	лиганд (медиатор)	рецептор(ы)
никотинподобные	ацетилхолин серотонин ГАМК* глицин	никотиновые 5-НТ ₃ ГАМК _А , ГАМК _С стрихниновые
ионотропные глутаматные	глутамат	NMDA*, каиновые, АМРА*
пуриновые	АТФ	P2X

* ГАМК – Гамма-Аминомасляная Кислота,
 NMDA - N-Methyl-D-Aspartate,
 АМРА - α-Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazole Propionic Acid

Молекулярная структура ионотропных рецепторов (каналов)

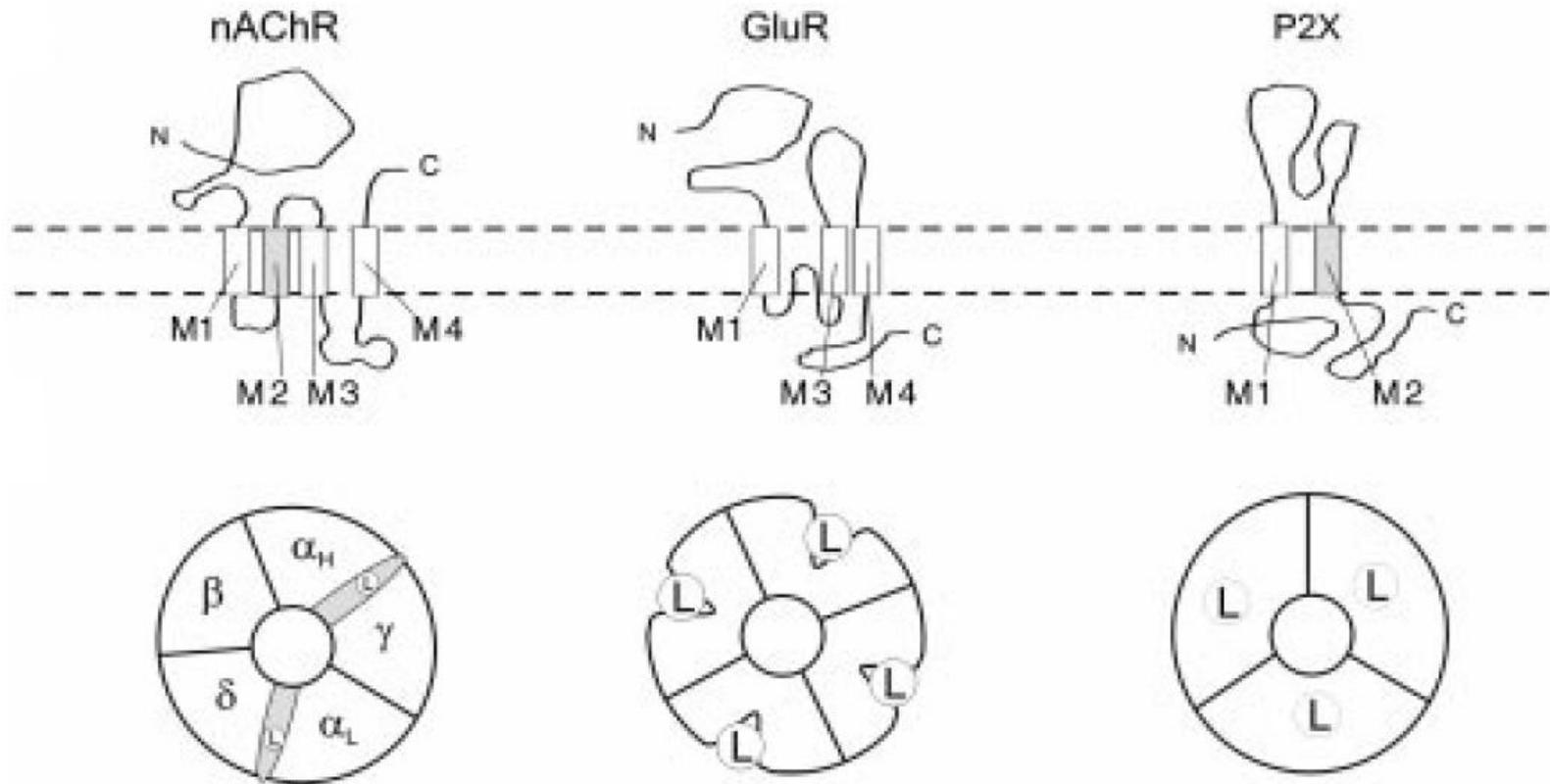
Трансмембранная конфигурация субъединиц и схематичная четвертичная структура ионотропных ионных каналов.

L – участок связывания с лигандом

никотинподобные

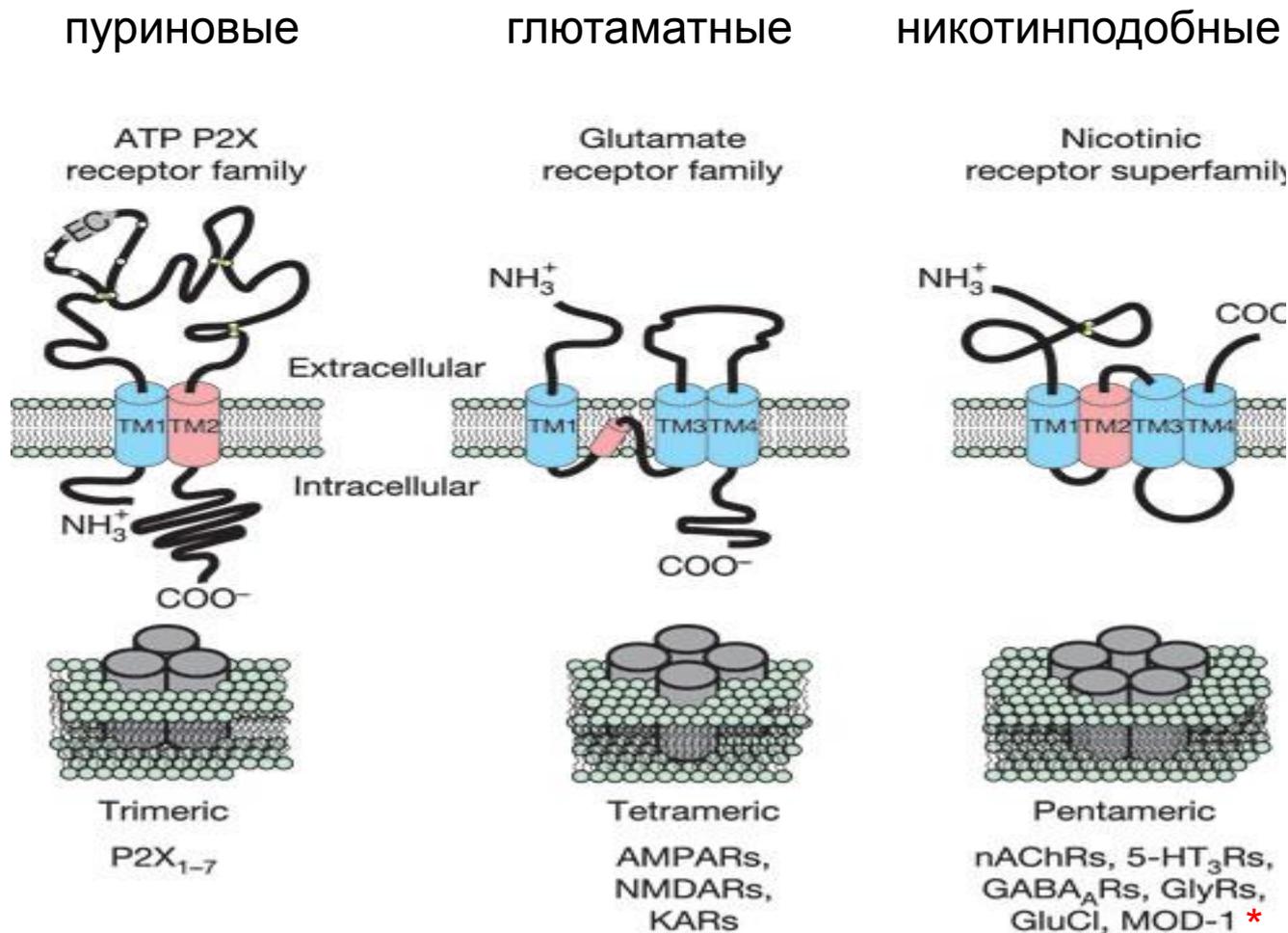
глутаматные

пуриновые



Молекулярная структура ионотропных рецепторов (каналов)

Трансмембранная конфигурация субъединиц и схематичная четвертичная структура ионотропных ионных каналов.

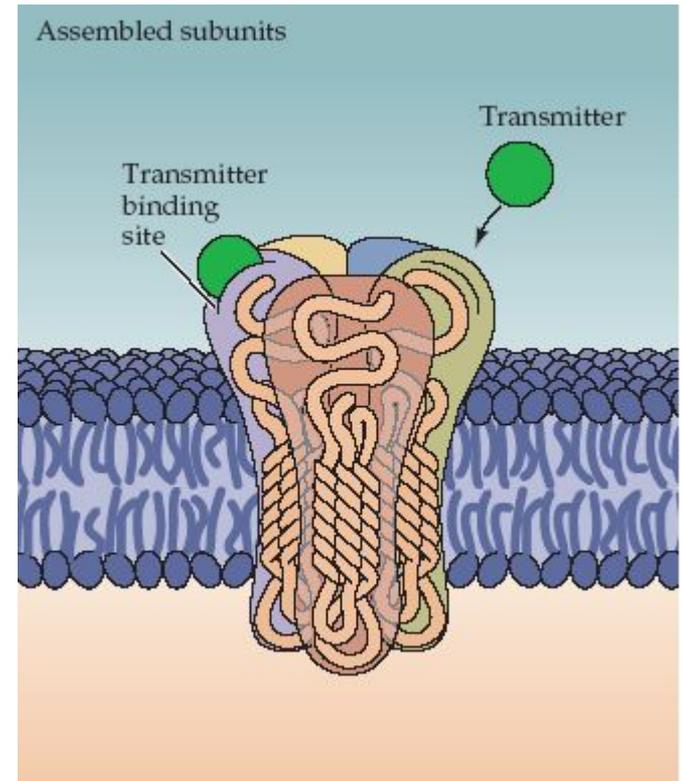
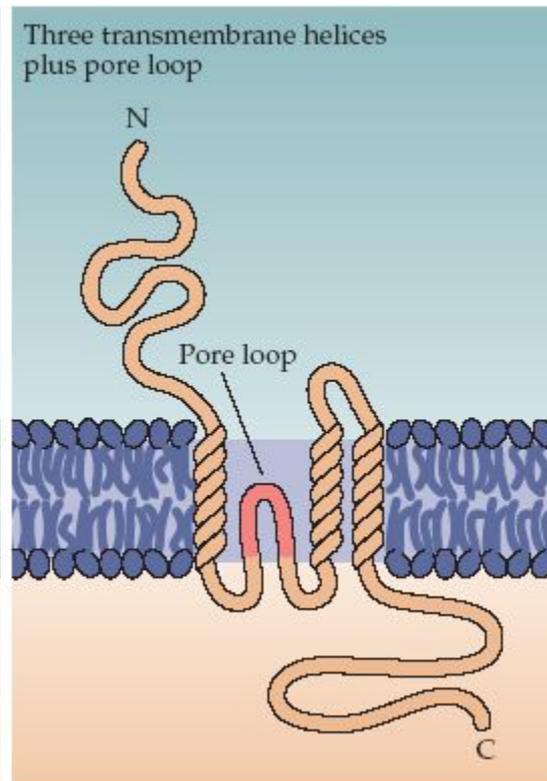
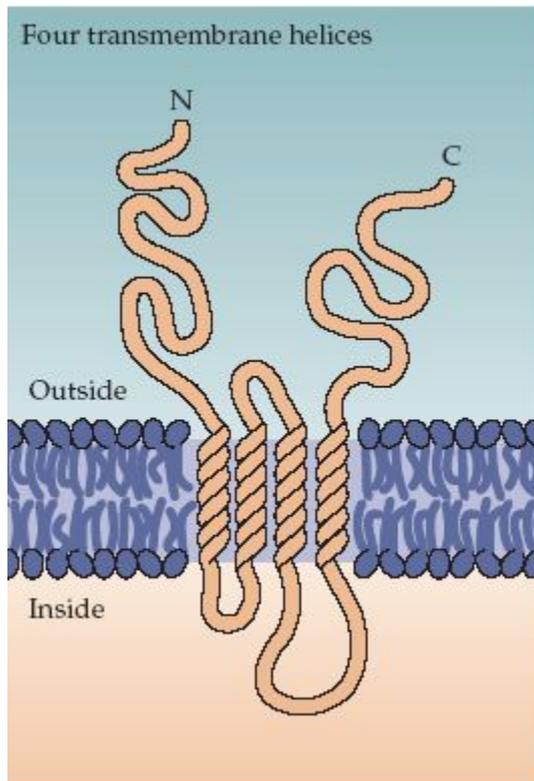


* MOD-1 - ionotropic 5-HT receptor, a 5-HT-gated chloride channel from the nematode *Caenorhabditis elegans*

Молекулярная структура ионотропных рецепторов (каналов)

Трансмембранная конфигурация субъединиц и схематичная четвертичная структура ионотропных ионных каналов.

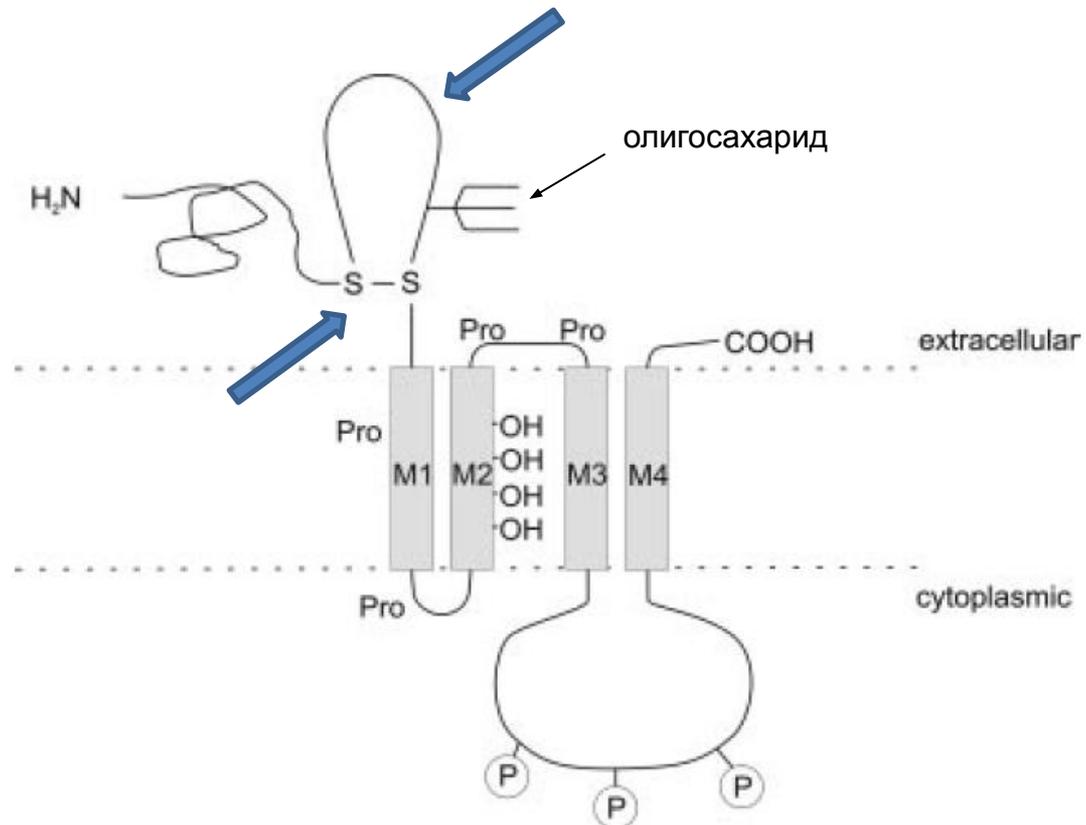
четвертичная структура
никотинподобные глутаматные рецептора из 4-5 субъединиц



Никотинподобные рецепторы

В составе внеклеточной N-терминали имеют **два цистеиновых остатка**, которые формируют **дисульфидный мостик**, отделяющий высоко консервативную для рецепторов этого подсемейства петлю из 15 аминокислот.

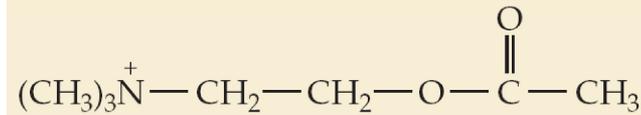
Поэтому их называют рецепторами с **цистеинообразованной петлей** (англ., *Cys-loop receptors*).



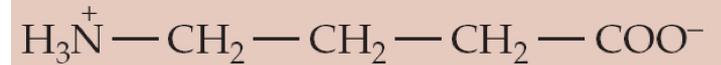
Никотинподобные рецепторы

Цистеинообразованная петля является характерной для всех никотинподобных рецепторов, включающих

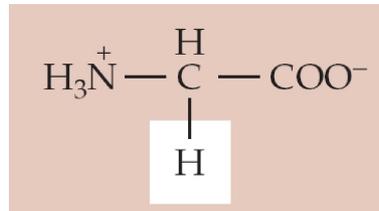
- никотиновые ацетилхолиновые,



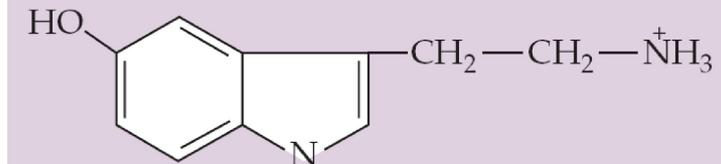
- ионотропные гамма-аминомасляные (А и С-типов),



- глициновые



- и ионотропные серотониновые рецепторы.



Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАцХР)

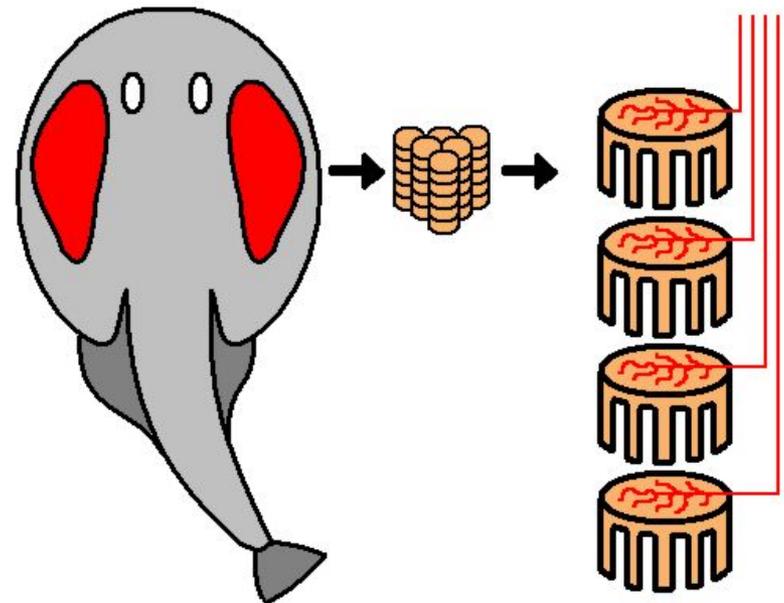
Впервые выделены из мембран **электроцитов** (редуцированные мышечные клетки) **электрического органа ската *Torpedo***.

Агонисты: никотин, карбамилхолин, эпибатидин, эпибоксидин, алтиниклин

Антагонисты: α -бунгаротоксин, декаметоний, гексаметоний, галламин (и для мАцХР), ТЕА.

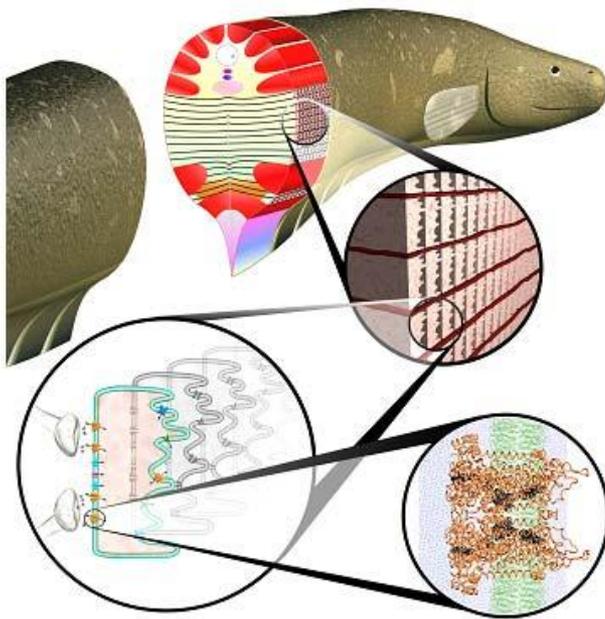
Блокатор проводимости: β -тубокурарин

Специфичность зависит от субъединиц рецептора.



Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАцХР)

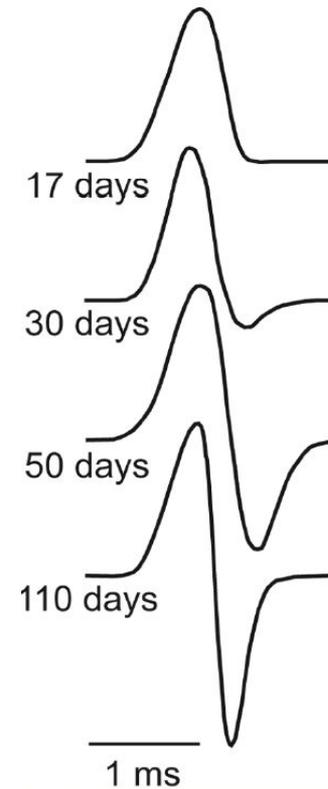
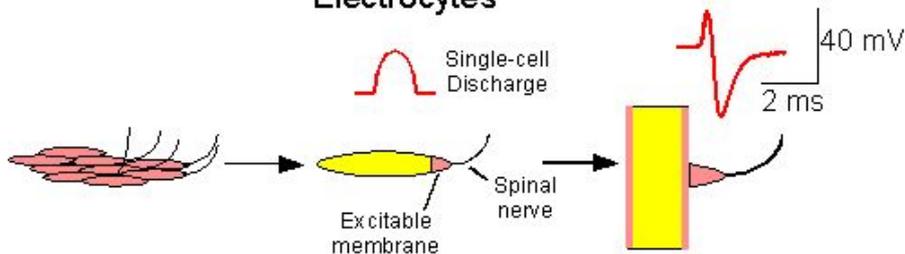
Локализованы в мембранах **электроцитов** (редуцированные мышечные клетки) **электрического органа** некоторых рыб.



Myocytes

Larval Electrocytes

Mature Electrocytes



Никотиновые рецепторы

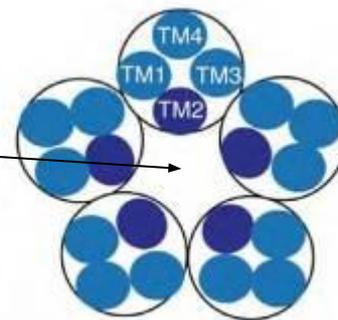
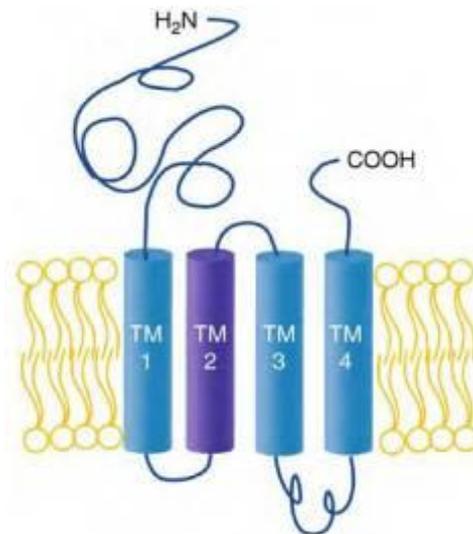
Представлены гетеропентамером – состоят из пяти разных субъединиц.

Идентифицированы α , β , γ (ϵ) и δ субъединицы.

Каждая субъединица рецептора состоит из четырех трансмембранных сегментов, обозначаемых как TM1-TM4, у которых обе N- и C-терминали обращены во внеклеточное пространство.

Пять таких субъединиц формируют комплексную структуру, содержащую 20 трансмембранных сегментов, которые окружают центральную пору.

Собственно пору образуют пять TM2-сегментов.

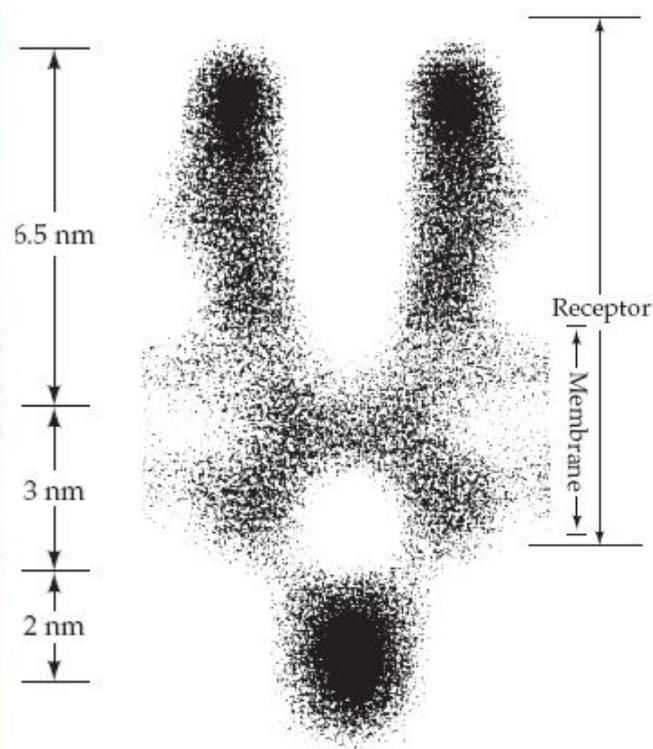
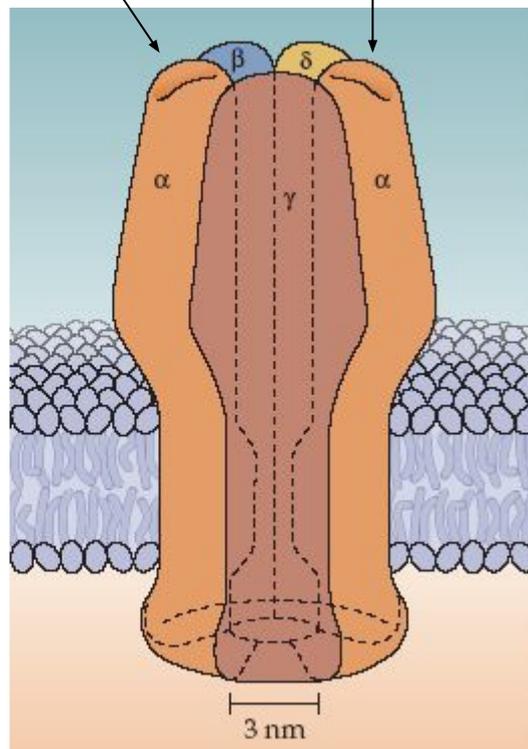
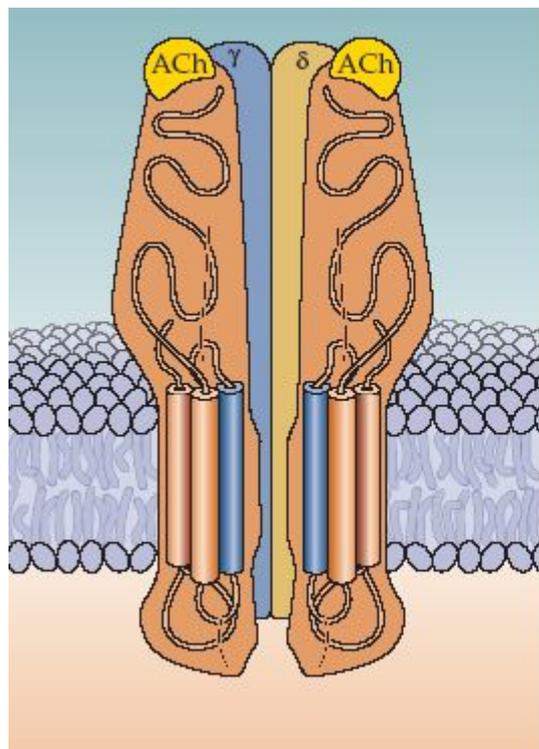


Никотиновые рецепторы

Две α -субъединицы связывают по одной молекуле ацетилхолина.

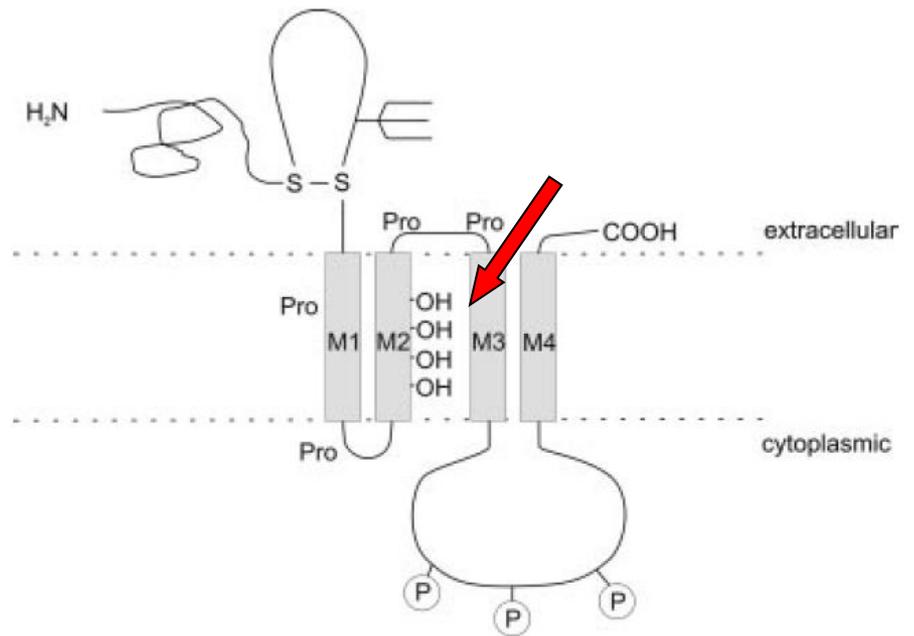
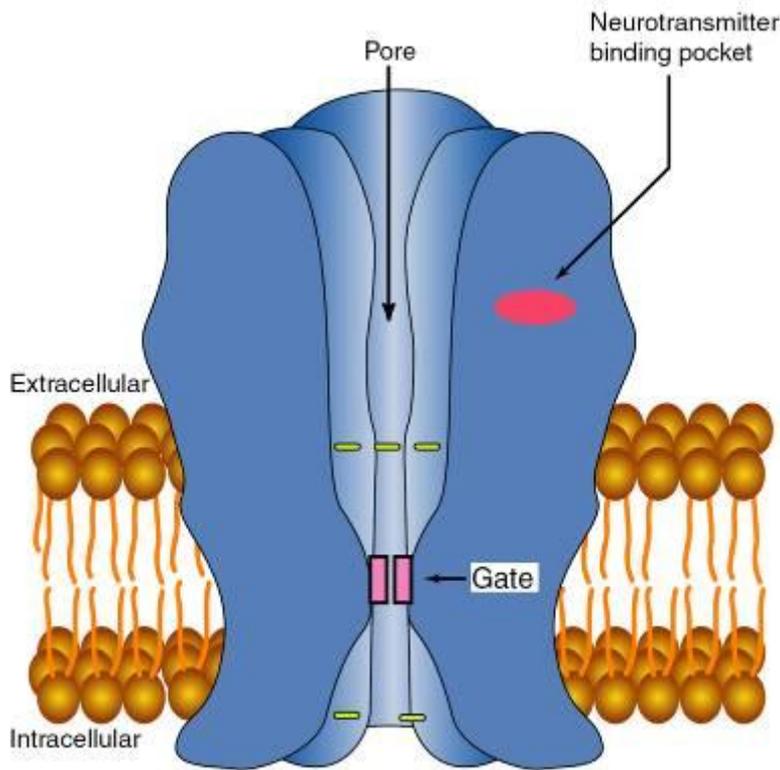
Каждая α -субъединица характеризуется разной аффинностью к ацетилхолину (высокой, α_H и низкой, α_L), поскольку такое стереохимическое свойство зависит от соседних субъединиц (α_H - рядом с β , α_L - рядом с δ).

Электронная
микрофотография рецептора



Никотиновые рецепторы

Отрицательные заряды остатков аминокислот по обе стороны ворот формируют селективный фильтр для катионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} .



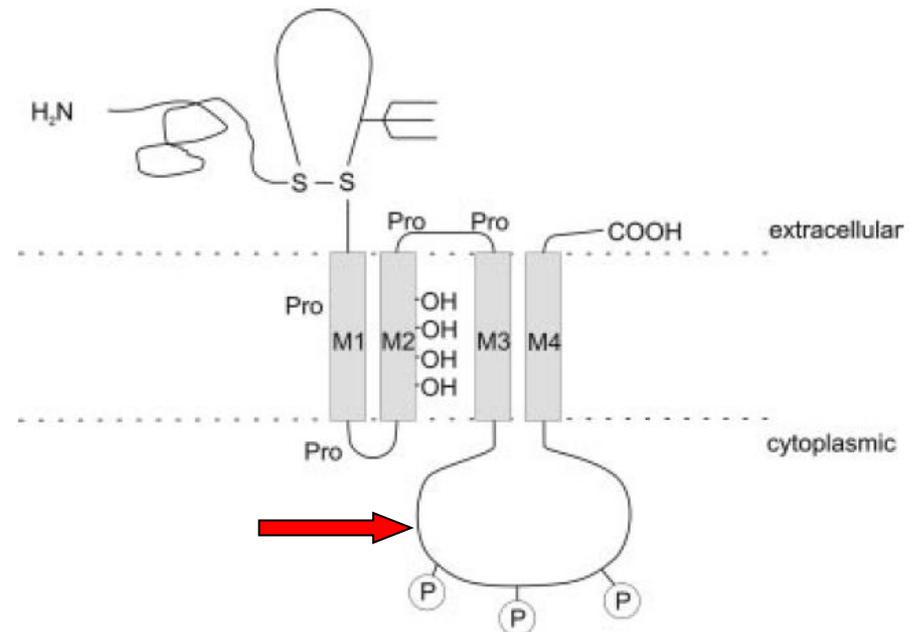
Фосфорилирование никотиновых рецепторов

Субъединицы многих ионотропных рецепторов (в том числе и нАцХР) имеют **участки фосфорилирования**.

нАцХР фосфорилируются тремя протеин киназами:

- цАМФ-зависимая протеин киназа (РКА) (γ - и δ -субъединицы),
- Ca^{2+} /фосфолипид-зависимая протеин киназа (РКС) (δ -субъединицу)
- неидентифицированная тирозин киназа (β -, γ - и δ -субъединицы).

Участки фосфорилирования у всех субъединиц локализованы на внутриклеточной петле между ТМ3 и ТМ4 трансмембранными сегментами.



Десенситизация никотиновых рецепторов

Функциональное значение фосфорилирования рецепторов состоит в увеличении степени десенситизации.

Десенситизация ионотропных рецепторов состоит в уменьшении и, в конечном счете, устранении ионного тока из-за перехода ионного канала в закрытое состояние, в то время как медиатор остается связанным с рецептором (!!!).

Для нАцХР динамика десенситизации значительно варьирует в зависимости от комбинаций α - и β - субъединиц: постоянная времени процесса десенситизации может изменяться в диапазоне от 50-500 мс до 2-20 с.

нАцХР тесно взаимодействует с мембранным белком рапсином (англ., *RAPSYN*, *Receptor Associated Protein of the SYNapse*), который соединяет рецептор с элементами цитоскелета, обеспечивая его агрегацию и стабильность в мембране.

Постсинаптическая модуляция: ауторегуляция

Отрицательная ауторегуляция

Десенситизация (десенсибилизация) рецепторов при длительном воздействии медиатора.

Пример:

Если постсинаптическая мембрана подвергается действию увеличенных концентраций АцХ, наблюдается медленное снижение постсинаптического ответа. При этом не меняется сродство рецептора к АцХ, снижение ответа происходит из-за того, что ионные каналы не открываются.

АцХ является не только медиатором, но и (авто)нейромодулятором.

Механизмы десенситизации:

- через **фосфорилирование**
- физическое **удаление** рецептора из мембраны (**интернализация** и **деградация**).

Субъединицы никотиновых рецепторов

Методами гибридизации ДНК и генной инженерии всего идентифицировано

10 вариаций α -

четыре - β -

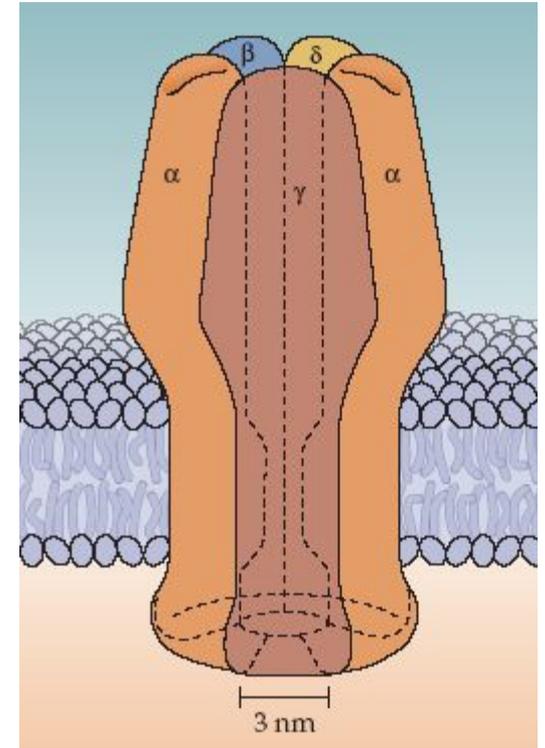
и по одной γ -, ϵ - и δ -субъединиц.

нАцХР мембран мышечных клеток состоит из пяти субъединиц и представлен комплексом $\alpha_2\beta\gamma\delta$ (у эмбрионов) и $\alpha_2\beta\epsilon\delta$ (у взрослых).

Эмбриональная форма рецептора отличается более продолжительным временем открытого состояния канала, но меньшей ионной проницаемостью.

В **мембранах нейронов нАцХР** образованы разнообразными комбинациями различных α и β -субъединиц ($\alpha_2\beta_3$).

В нейронах идентифицирован также рецептор, состоящий только из α_7 -субъединиц (α_5).



Субъединицы никотиновых рецепторов

17 субъединиц подразделяют на один мышечный и три нейронных (два в ЦНС и один в вегетативной НС) типа по сходству их аминокислотных последовательностей.

Подсемейство III подразделяют еще на три группы.

Neuronal-type					Muscle-type
I	II	III			IV
$\alpha 9, \alpha 10$	$\alpha 7, \alpha 8$	1	2	3	$\alpha 1, \beta 1, \delta, \gamma, \epsilon$
		$\alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 6$	$\beta 2, \beta 4$	$\beta 3, \alpha 5$	

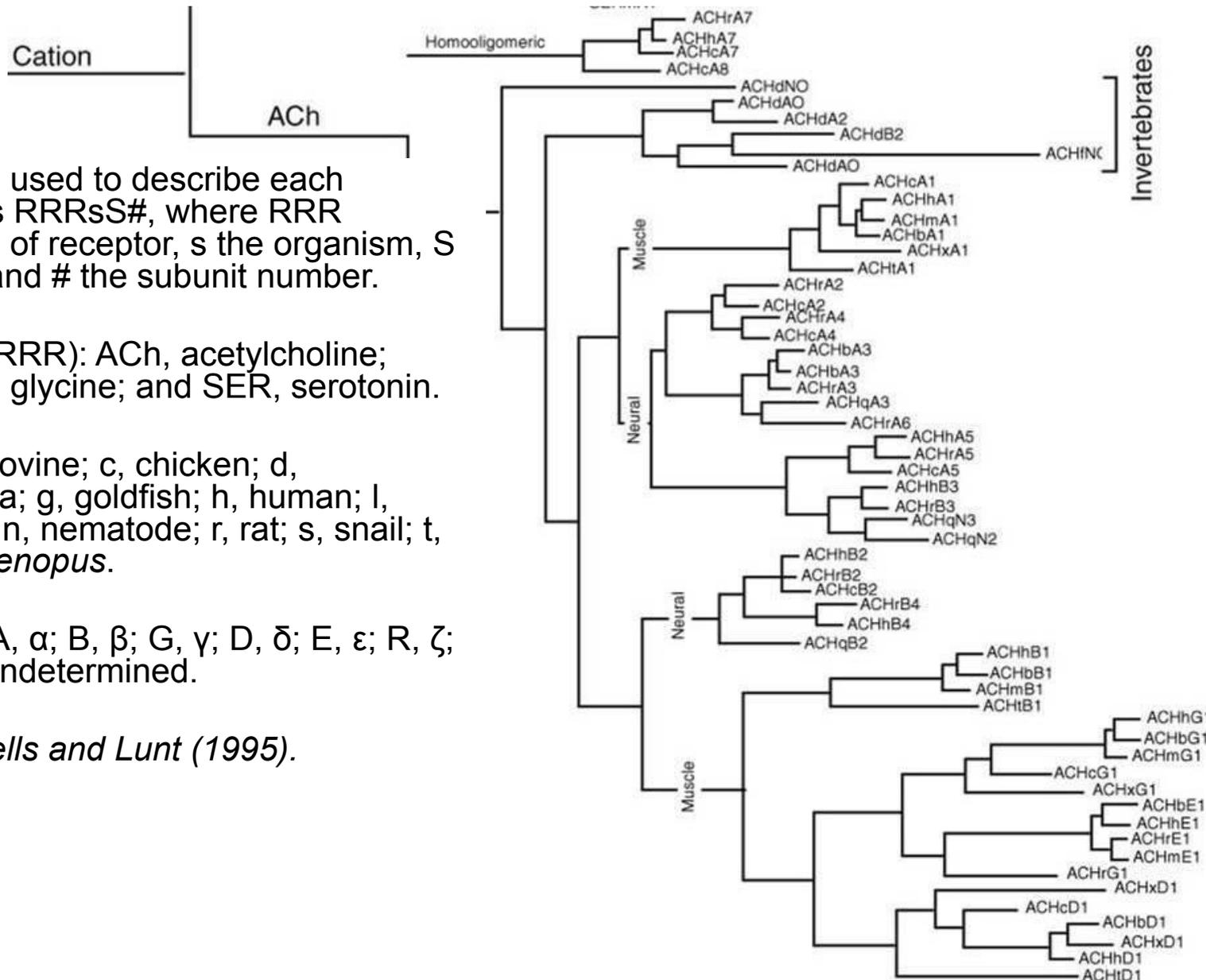
Graham A., Court J.A., Martin-Ruiz C.M., Jaros E., Perry R., Volsen S.G., Bose S., Evans N., Ince P., Kuryatov A., Lindstrom J., Gotti C., and Perry E.K. 2002. Immunohistochemical localisation of nicotinic acetylcholine receptor subunits in human cerebellum. *Neuroscience*, 113(3), 493-507

Субъединицы никотиновых рецепторов

Примеры рецепторов 4-х подсемейств

Receptor type	Location	Effect	Agonists	Antagonists
Muscle type: $(\alpha 1)_2\beta 1\delta\varepsilon$ or $(\alpha 1)_2\beta 1\delta\gamma$	Neuromuscular junction	EPSP, mainly by increased Na^+ and K^+ permeability	acetylcholine carbachol suxamethonium	α -bungarotoxin α -conotoxin tubocurarine pancuronium hexamethonium
Ganglion type: $(\alpha 1)_2(\beta 4)_3$	Autonomic ganglia	EPSP, mainly by increased Na^+ and K^+ permeability	acetylcholine carbachol nicotine epibatidine dimethylphenylpiperazine zinium	α -bungarotoxin mecamylamine trimetaphan
CNS type: $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$	Brain	Post- and presynaptic excitation, mainly by increased Na^+ and K^+ permeability	nicotine epibatidine acetylcholine cytosine	mecamylamine methylnaconitine α -conotoxin
another CNS type: $(\alpha 7)_5$	Brain	Post- and presynaptic excitation, mainly by increased Ca^{2+} permeability	epibatidine dimethylphenylpiperazine zinium	mecamylamine α -bungarotoxin

Субъединицы никотиновых рецепторов



The nomenclature used to describe each receptor subunit is RRRsS#, where RRR represent the type of receptor, s the organism, S the subunit type, and # the subunit number.

Type of receptor (RRR): ACh, acetylcholine; GAB, GABA; GLY, glycine; and SER, serotonin.

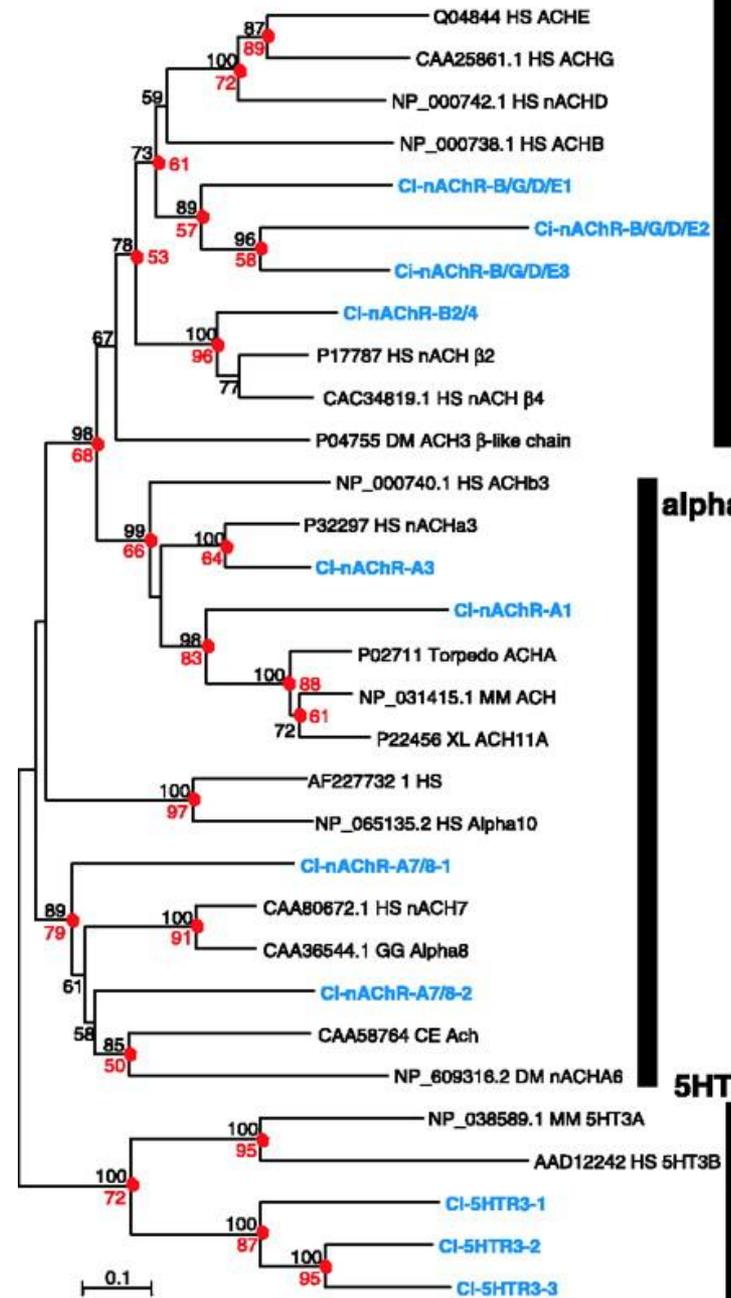
Organism (s): b, bovine; c, chicken; d, *Drosophila*; f, filaria; g, goldfish; h, human; l, locust; m, mouse; n, nematode; r, rat; s, snail; t, *Torpedo*; and x, *Xenopus*.

Subunit type (S): A, α ; B, β ; G, γ ; D, δ ; E, ϵ ; R, ζ ; N, non- α ; and ?, undetermined.

Adpated from Ortells and Lunt (1995).

Субъединицы никотиновых рецепторов

A AChR/5HT3R



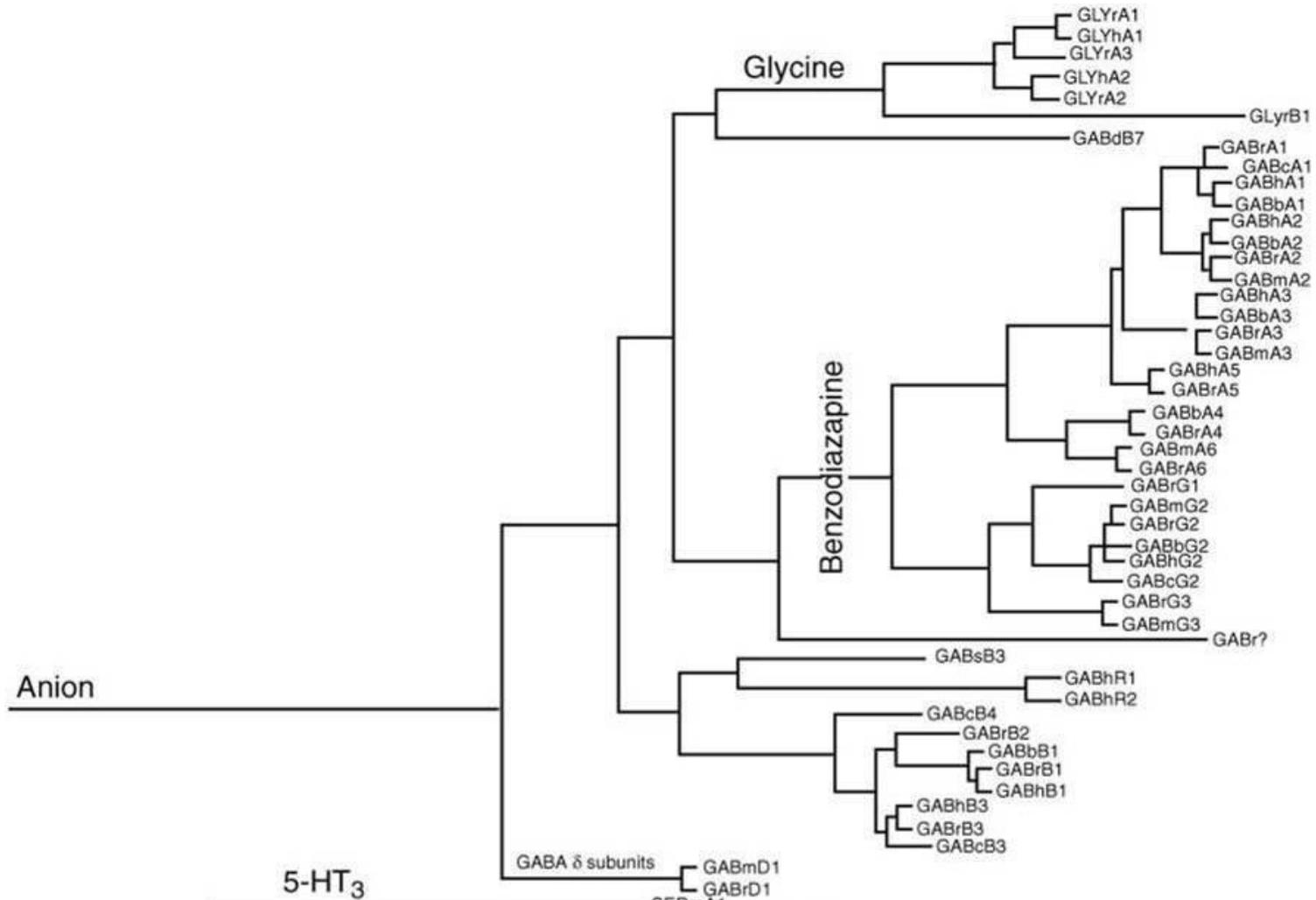
Non-alpha

alpha

5HT3R

Ионотропные ГАМК-рецепторы (А и С типов)

Гетерометрические пентамеры, состоят из 19 различных субъединиц: 6 α , 4 β , 4 γ , 1 δ , 1 ϵ , и 3 ρ (только в некоторых нейронах сетчатки).



Ионотропные ГАМК_A-рецепторы

Наиболее типичный в мозге ГАМК_A рецептор состоит из 2 α -, 2 β - и 1 γ -субъединиц ($\alpha_2\beta_2\gamma$), окружающих центральную ионную пору.

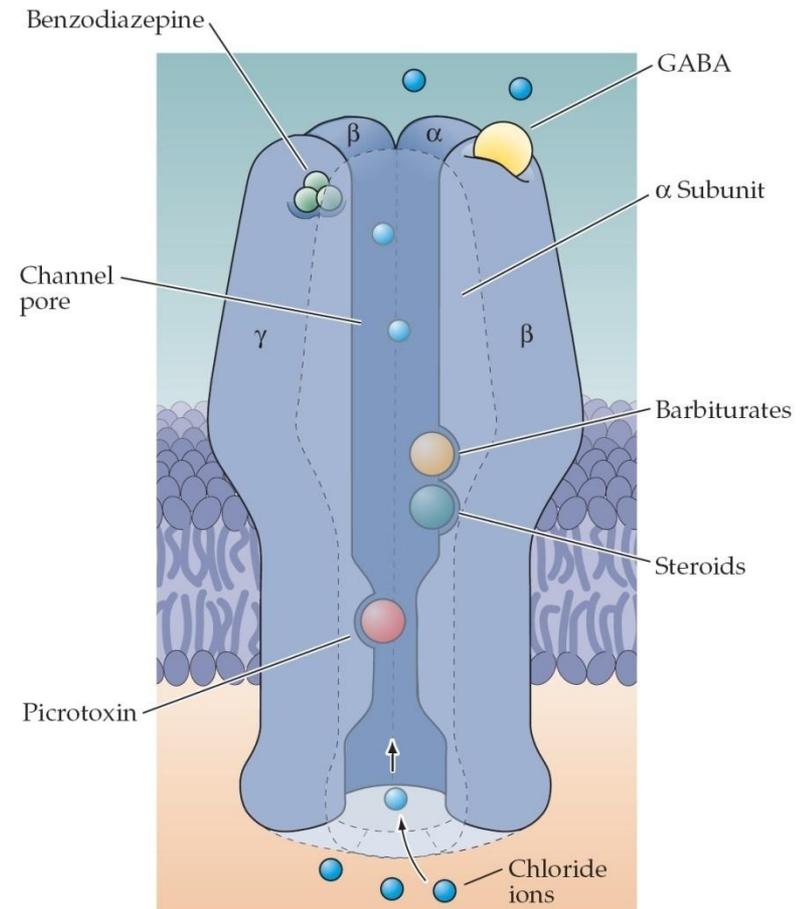
При активации канала две молекулы ГАМК взаимодействуют с двумя α -субъединицами, барбитураты – с β -субъединицами, а бензодиазепины – с γ -субъединицей.

Агонисты: ГАМК, мусцимол

Аллостерические медиаторы: бензодиазепины, барбитураты, нейроактивные стероиды (с β -)

Антагонисты: бикикуллин

Блокатор проводимости: пикротоксин



Ионотропные ГАМК_A-рецепторы

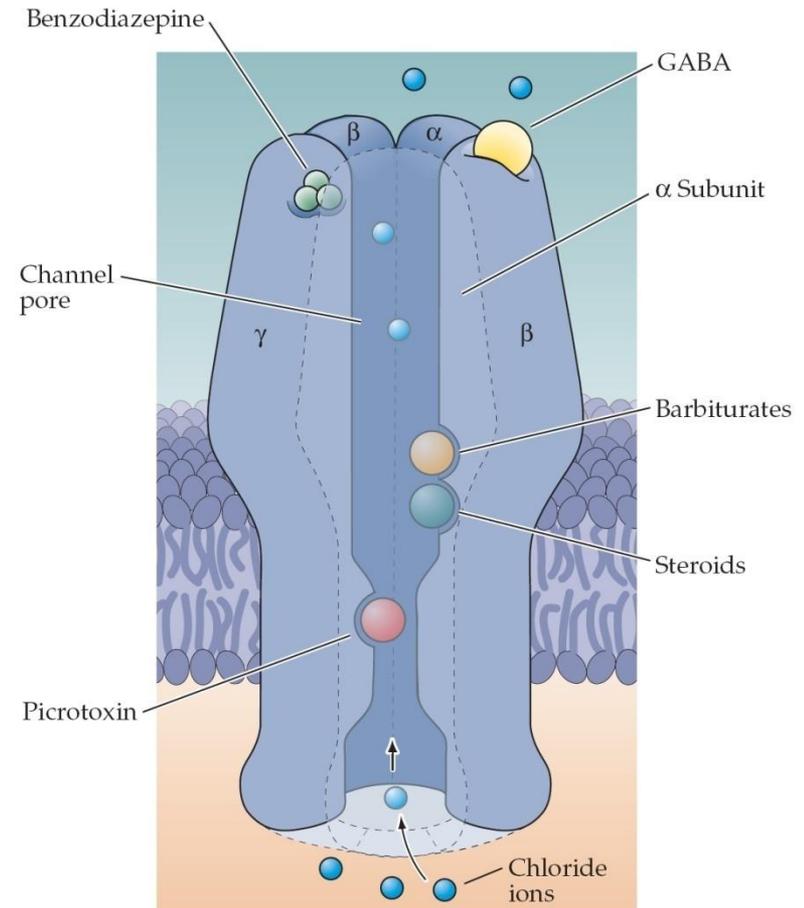
Бензодиазепины увеличивают эффективность связывания ГАМК с рецептором

Барбитураты увеличивают время открытого состояния Cl⁻-канала

Нейроактивные стероиды (прогестерон, кортикостерон, тестостерон) также открывают Cl⁻-каналы.

Бикукуллин ингибирует рецептор, препятствуя связыванию ГАМК с α-субъединицей.

Пикротоксин существенно снижает Cl⁻-проводимость.



Ионотропные ГАМК_C-рецепторы

ГАМК_C рецепторы нечувствительны к агонистам ГАМК_A рецепторов – к бензодиазепинам, барбитуратам и нейроактивным стероидам, а также к антагонисту бикикуллину, но блокируются пикротоксином. Эти рецепторы имеют свои специфические агонисты и антагонисты.

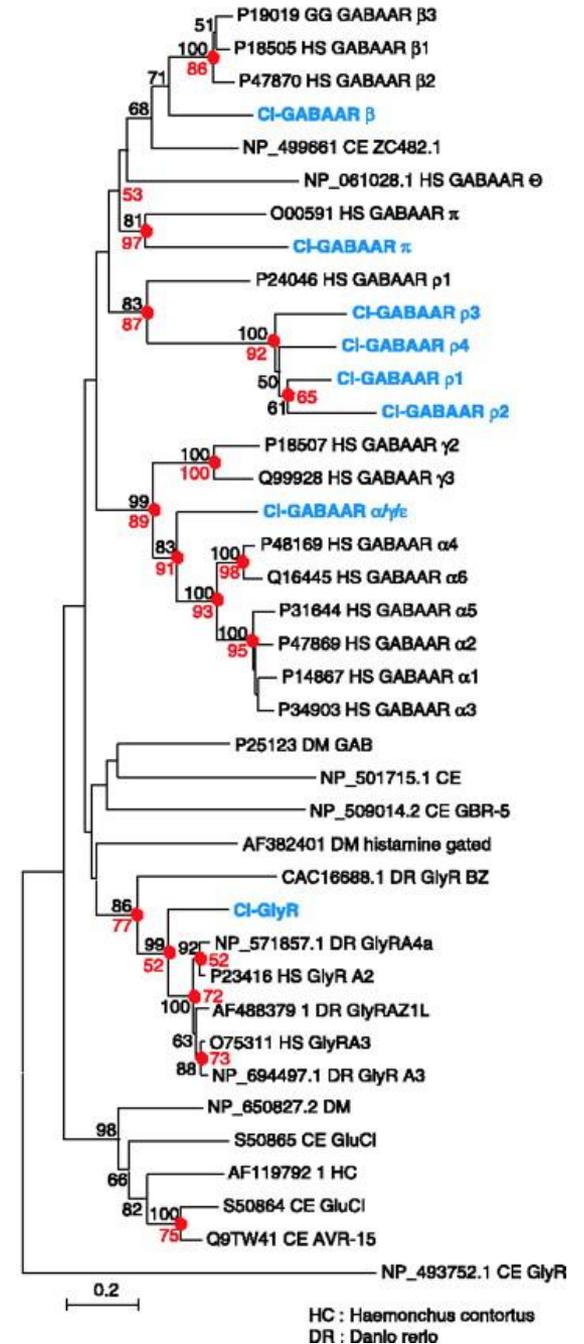
Состоят из трех изоморфных ρ -субъединиц, которые формируют три различных гомопентамера ($\rho 1_5$, $\rho 2_5$, $\rho 3_5$) или несколько гетеропентамеров ($\rho 1_m \rho 2_n$, $\rho 2_m \rho 3_n$, где $m+n=5$).

Обнаружены в мембранах горизонтальных и биполярных клеток, в синапсах амакриновых клеток на пресинаптических мембранах палочковых биполяров сетчатки позвоночных.

ГАМК_C рецепторы обеспечивают меньшую Cl^- -проводимость, чем ГАМК_A рецепторы, и управляемые ими Cl^- -токи медленнее затухают после удаления ГАМК.

Сравнительно мало известно о функциях ГАМК_C рецепторов в мозге, хотя они широко распределены в ЦНС. Например, все три ρ -субъединиц обнаружены в мембранах клеток Пуркинье мозжечка.

Субъединицы ГАМК и глициновых рецепторов



Глициновые рецепторы

При биохимической очистке из ткани вместе с белком глицинового рецептора выделяется также полипептид **гефирин**, который связывает рецептор с элементами цитоскелета.

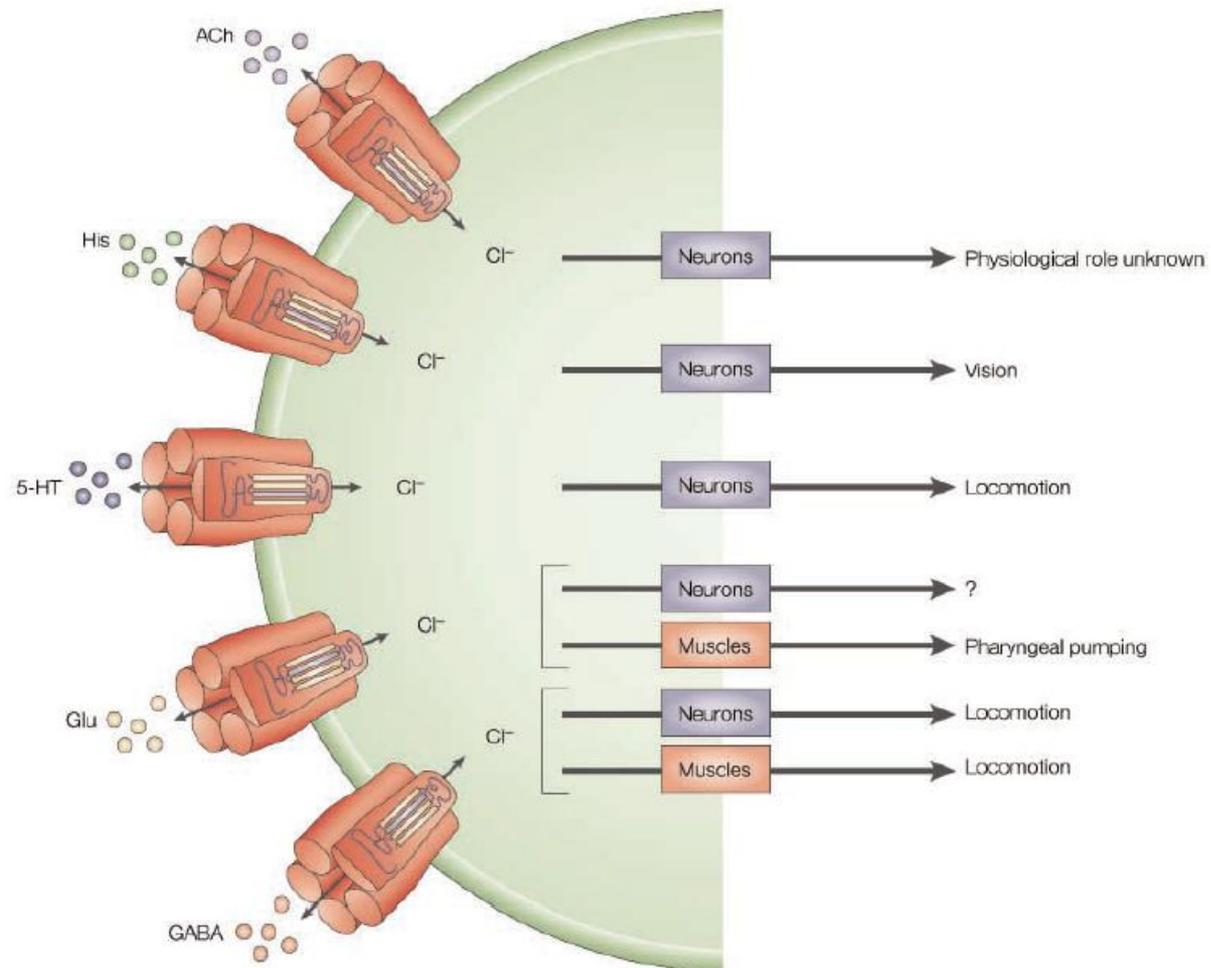
Глициновый рецептор активируется и открывает Cl⁻-канал, когда **три молекулы глицина** связываются с **тремя α-субъединицами**.

Ионная проводимость этого рецептора сходна с проводимостью ГАМК_A рецептора.

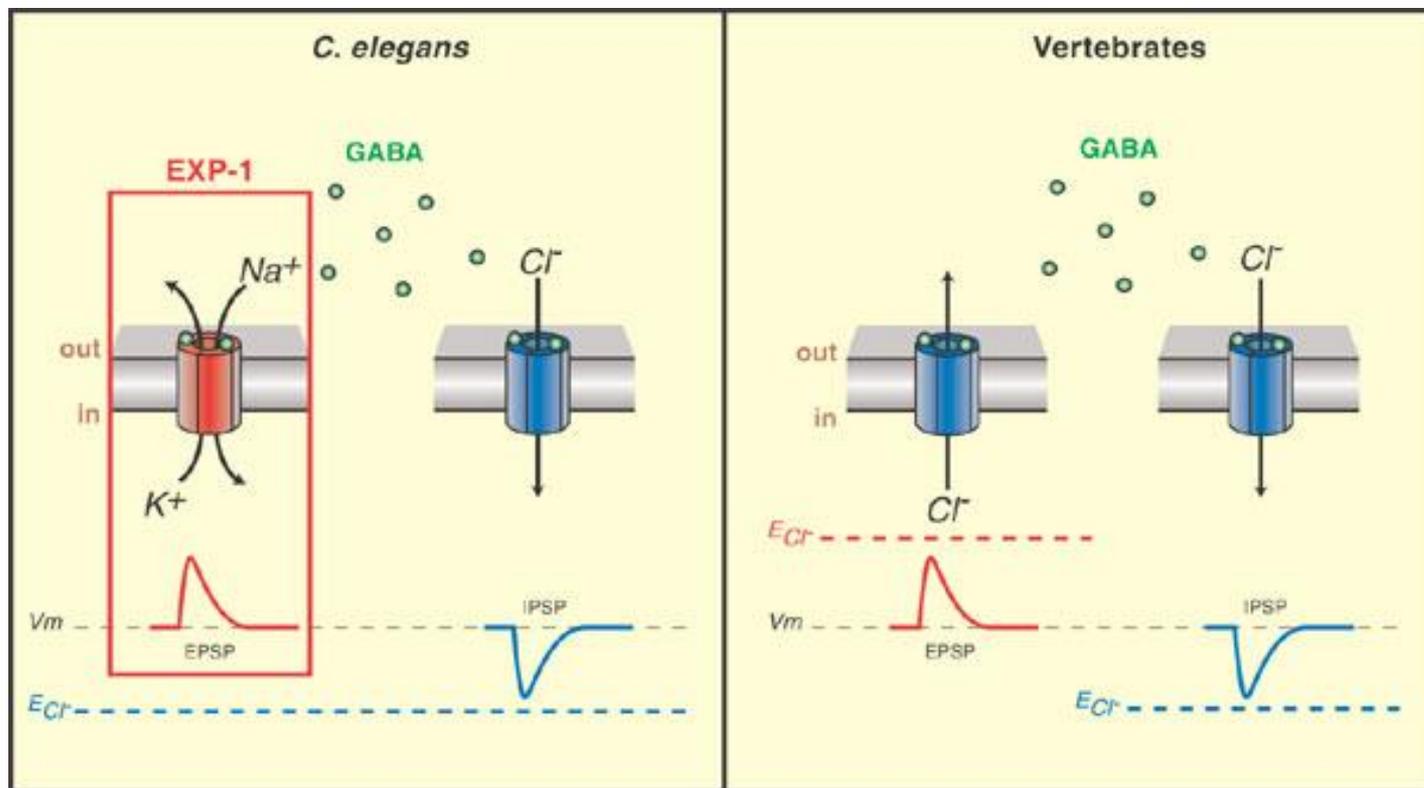
Антагонист: стрихнин

Другие рецепторы, управляющие Cl⁻-проводимостью

У беспозвоночных открыты ацетилхолиновые, серотониновые, глутаматные и гистаминовые ионотропные рецепторы, управляющие хлорным каналом. Все являются представителями семейства никотинподобных рецепторов.



!!! ГАМК является возбуждающим медиатором

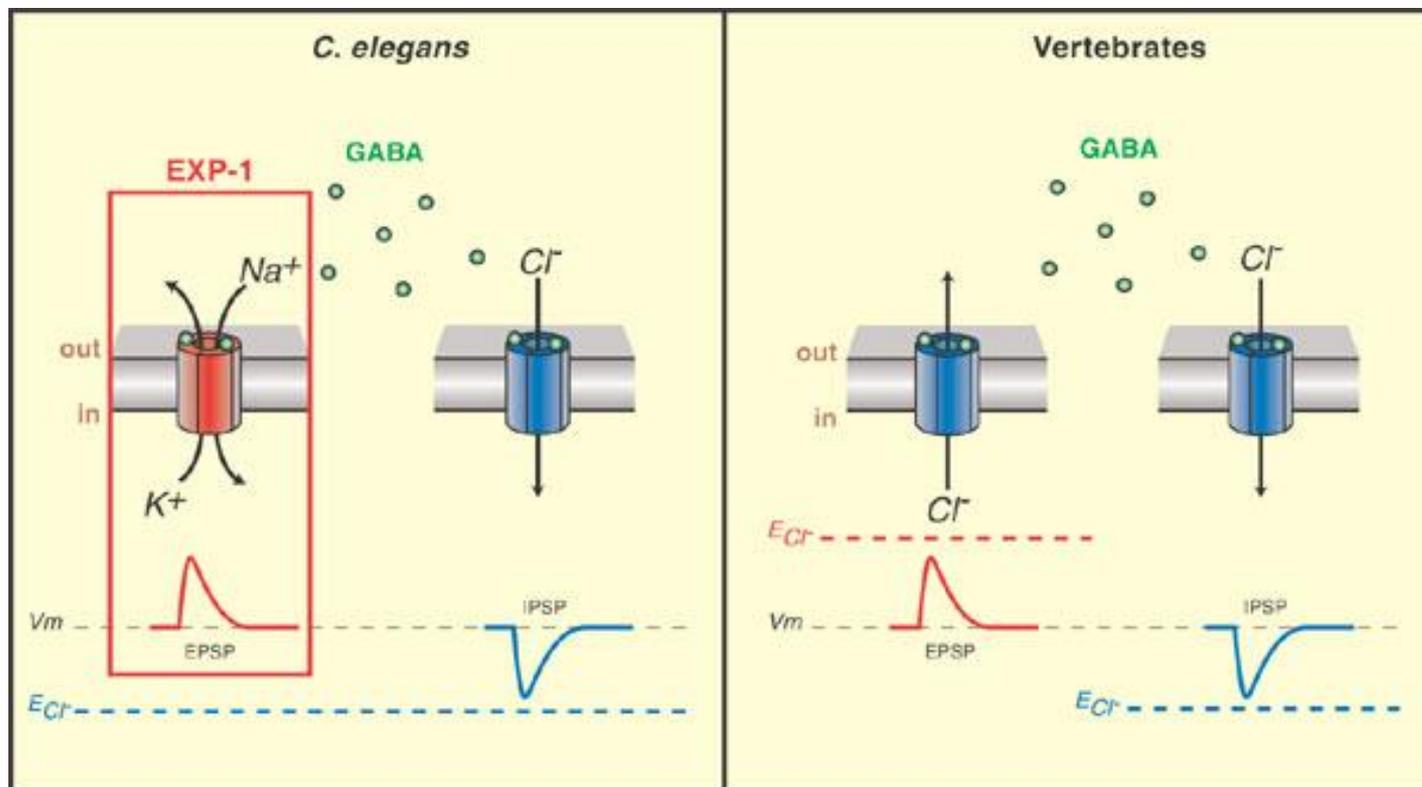


*Caenorhabditis
elegans*

Рецептор EXP-1 круглого червя *C. elegans* связывается с ГАМК, но вызывает ВПСР, обусловленный катионной проводимостью.

Этот рецептор напоминает по структуре никотиновый АцХ-рецептор позвоночных.

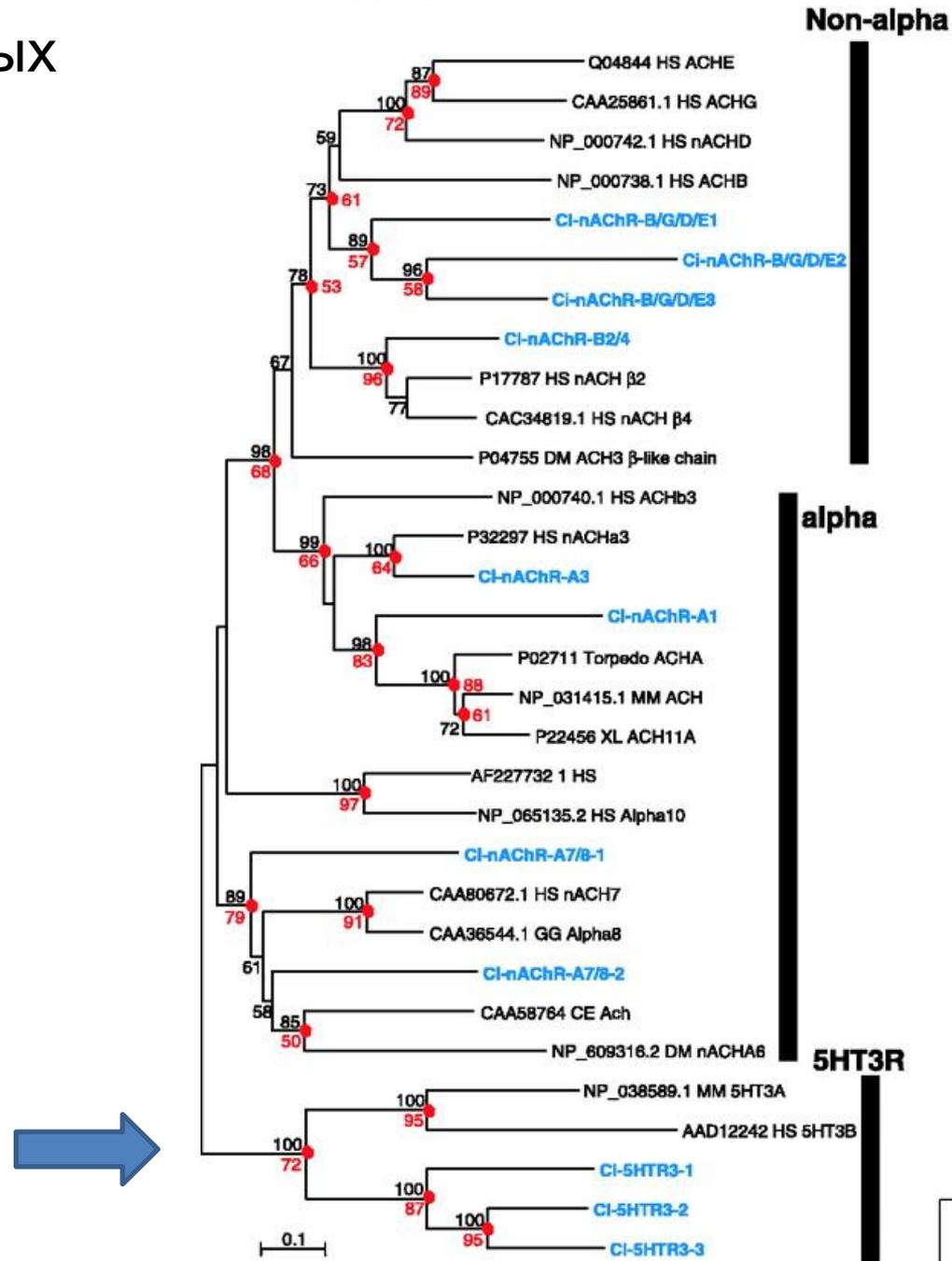
!!! ГАМК является возбуждающим медиатором



У позвоночных (справа) возбуждающее действие ГАМК определяется анионной проводимостью, когда равновесный потенциал для хлора смещен в сторону деполяризации относительно ПП.

Субъединицы серотониновых рецепторов

A AChR/5HT3R



Серотониновые ионотропные рецепторы (5-HT₃)

Структура близка к структуре nAцХР.

Идентифицировано две субъединицы 5-HT₃-А и 5-HT₃-В.

Синтезированные 5-HT₃-А-субъединицы формируют функциональный гомопентамер, состоящий из пяти копий этой субъединицы, сходной с α7-субъединицей нейронального nAцХР, который также состоит из пяти α7-субъединиц.

Такой гомопентамер из 5-HT₃-А-субъединиц характеризуется меньшей проводимостью ионного канала по сравнению с нативным 5-HT₃-рецептором, который, вероятно, является гетеропентамером, состоящим из 5-HT₃-А и 5-HT₃-В-субъединиц.

В отличие от 5-HT₃-А 5-HT₃-В-субъединицы не формируют функциональный рецептор-гомопентамер.

Серотониновые ионотропные рецепторы (5-НТ₃)

При активации 5-НТ₃-рецепторы обеспечивают проводимость моновалентных катионов (Na⁺ и K⁺).

Также как и нАцХР блокируются β -тубокурарином.

В отличие от нАцХР серотониновый рецептор практически **не проводит Ca²⁺**, хотя диаметр его ионной поры близок к таковому для нАцХР (7,6 против 8,4 Å).

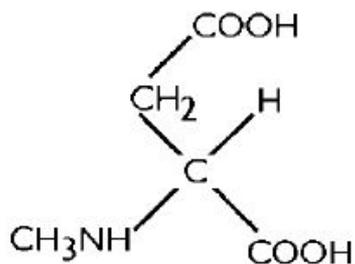
Для активации рецептора необходимо, чтобы, по крайней мере, две молекулы серотонина связывались с субъединицами. При этом связывание с агонистом и открытие ионного канала происходит примерно в 10 раз медленнее, чем у большинства лиганд-активируемых ионных каналов.

Десенситизация серотониновых рецепторов развивается также медленно (с постоянной времени 1-5 с). Эти рецепторы относительно редко встречаются в окончаниях первичных сенсорных нервов на периферии и широко, но в малой концентрации распространены в ЦНС млекопитающих.

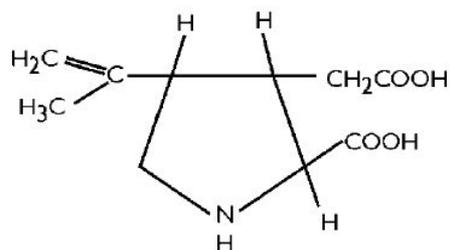
Ионотропные глутаматные рецепторы

В 1970-х г.г. с использованием различных фармакологических агентов ионотропные глутаматные рецепторы были разделены на четыре типа по числу выявленных **агонистов**:

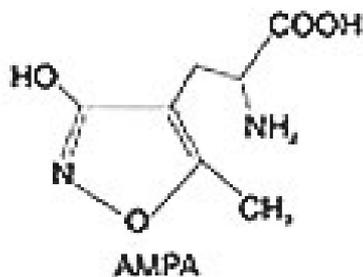
- 1) *N-Methyl-D-Aspartate* (**NMDA** рецепторы),
- 2) α -*Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazole Propionic Acid* (**AMPA** рецепторы),
- 3) **каинат** (каиновые рецепторы, англ., *kainate*, KA)
- 4) и **квисквалат** (квисквалатные рецепторы, англ., *quisqualate*).



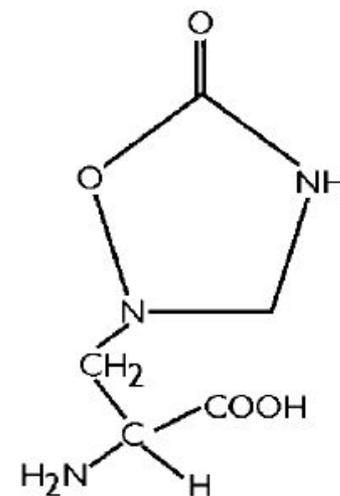
N-Methyl-D-aspartic acid (NMDA)



Kainic acid (KA)



AMPA



Quisqualic acid (Q)

Ионотропные глутаматные рецепторы

В 1970-х г.г. с использованием различных фармакологических агентов ионотропные глутаматные рецепторы были разделены на четыре типа по числу выявленных **агонистов**:

- 1) *N-Methyl-D-Aspartate* (**NMDA** рецепторы),
- 2) *α -Amino-3-hydroxy-5-Methyl-4-isoxazole Propionic Acid* (**AMPA** рецепторы),
- 3) **каинат** (каиновые рецепторы, англ., *kainate*, KA)
- 4) и **квисквалат** (квисквалатные рецепторы, англ., *quisqualate*).

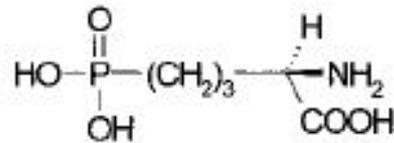
По функциональным свойствам ионотропные глутаматные рецепторы подразделяют на две группы:

- **NMDA**
- **не-NMDA** (AMPA и каиновые).

Среди агонистов **квисквалат** занимает особое место, поскольку он активировать как ионотропные, так и metabotropic глутаматные рецепторы.

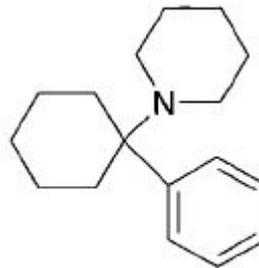
Ионотропные глутаматные рецепторы

Конкурентным антагонистом всех глутаматных рецепторов является 2-амино-5-фосфо-валериановая кислота (D-AP5 или APV, англ., *2-Amino-5-Phospho(5 или V)pentatonic acid*).



D-AP5

Неконкурентным антагонистом глутаматных рецепторов, высокоаффинно связывающимся с частью ионного канала, является фенциклидин, который при этом проявляет свойства как блокатора проводимости, так и снижает аффинность глутамата.



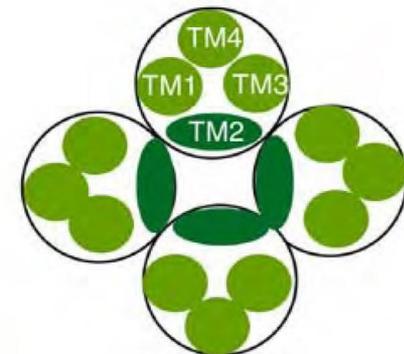
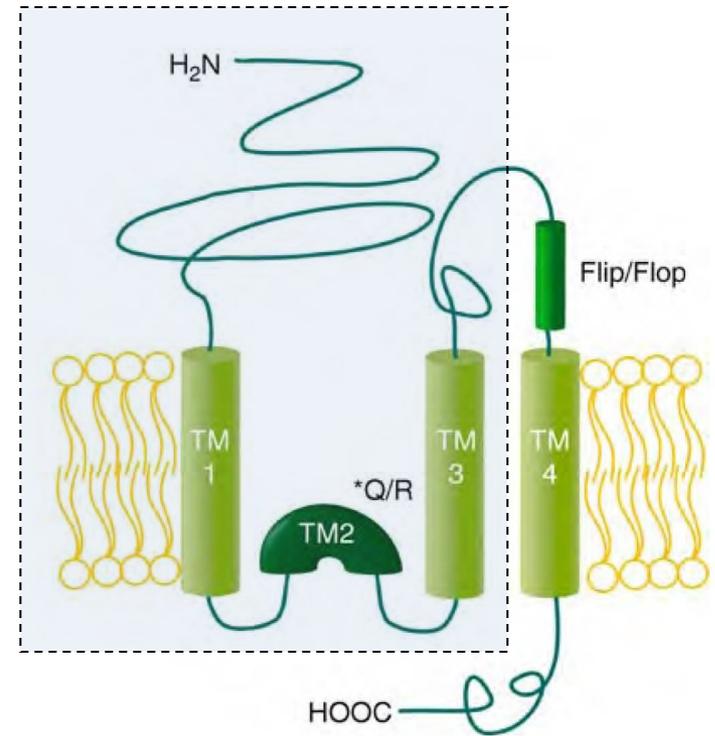
Phencyclidin

Молекулярная структура ионотропных глутаматных рецепторов

Глутаматные рецепторы происходят от потенциал-зависимых K^+ -каналов 2TM семейства.

Субъединица ионотропных глутаматных рецепторов, предположительно, содержит инвертированную α -субъединицу K_{IR} -канала (выделена рамкой), к которой присоединяется дополнительный домен (TM4).

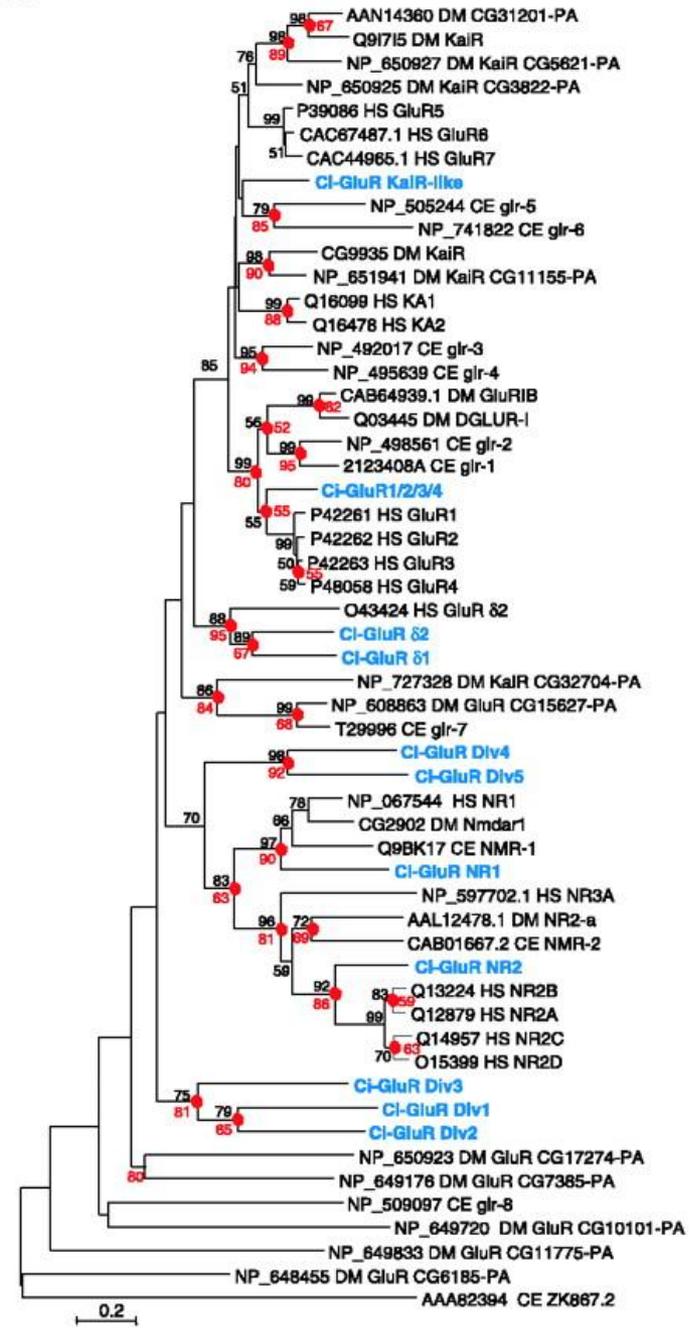
Четыре таких субъединицы формируют комплексную структуру, которая включает центральную пору, ограниченную TM2-сегментами.



Субъединицы глутаматных рецепторов

ha

B GluR



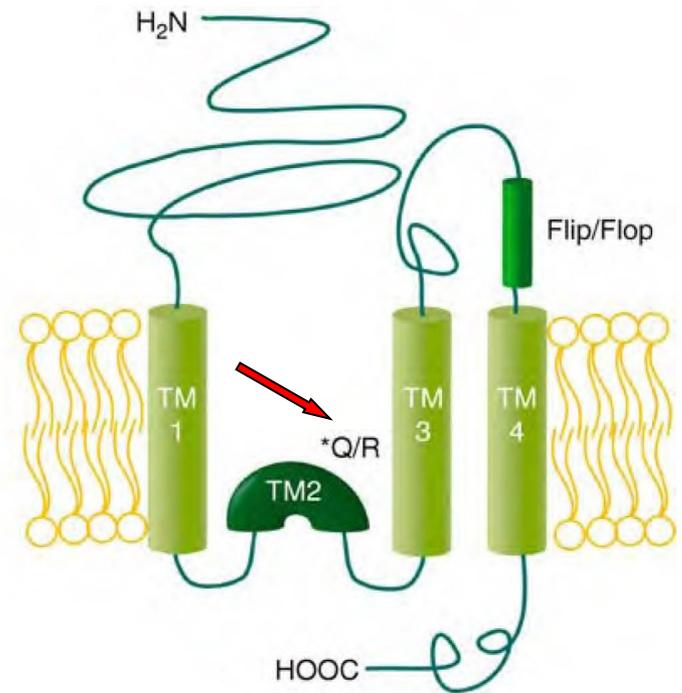
Молекулярная структура ионотропных глутаматных рецепторов

Q/R участок на сегменте TM2 в составе разных субъединиц глутаматных рецепторов соответствует **глутаминовому** (Q) или **аргининовому** (R) остатку.

Аминокислоты в этой позиции определяют свойство канала пропускать ионы Ca^{2+} .

Глутаминовый остаток (Q) имеет место в GluR1, GluR3 и GluR4 субъединицах **AMPA** рецепторов, тогда как субъединица GluR2 содержит **аргининовый** остаток (R).

Flip/Flop – короткий участок из 38 аминокислот, который представлен во всех субъединицах двумя вариациями сплайсинга (Flip или Flop).

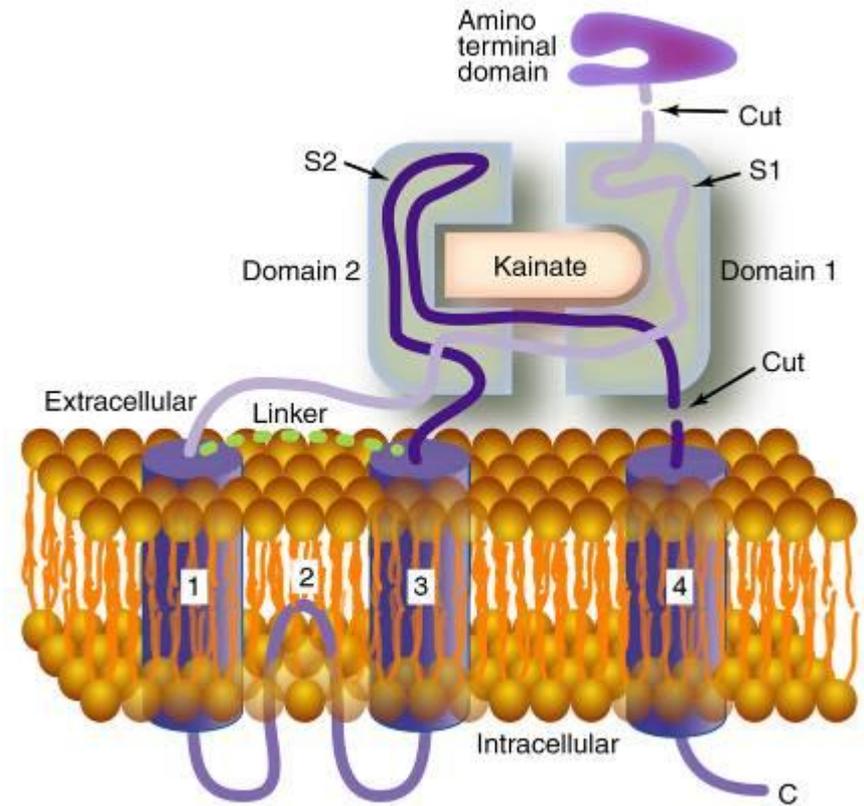


Молекулярная структура ионотропных глутаматных рецепторов

Схема связывания кинамата с
глутаматным рецептором.

Сегменты TM1-TM4 обозначены как 1-4.

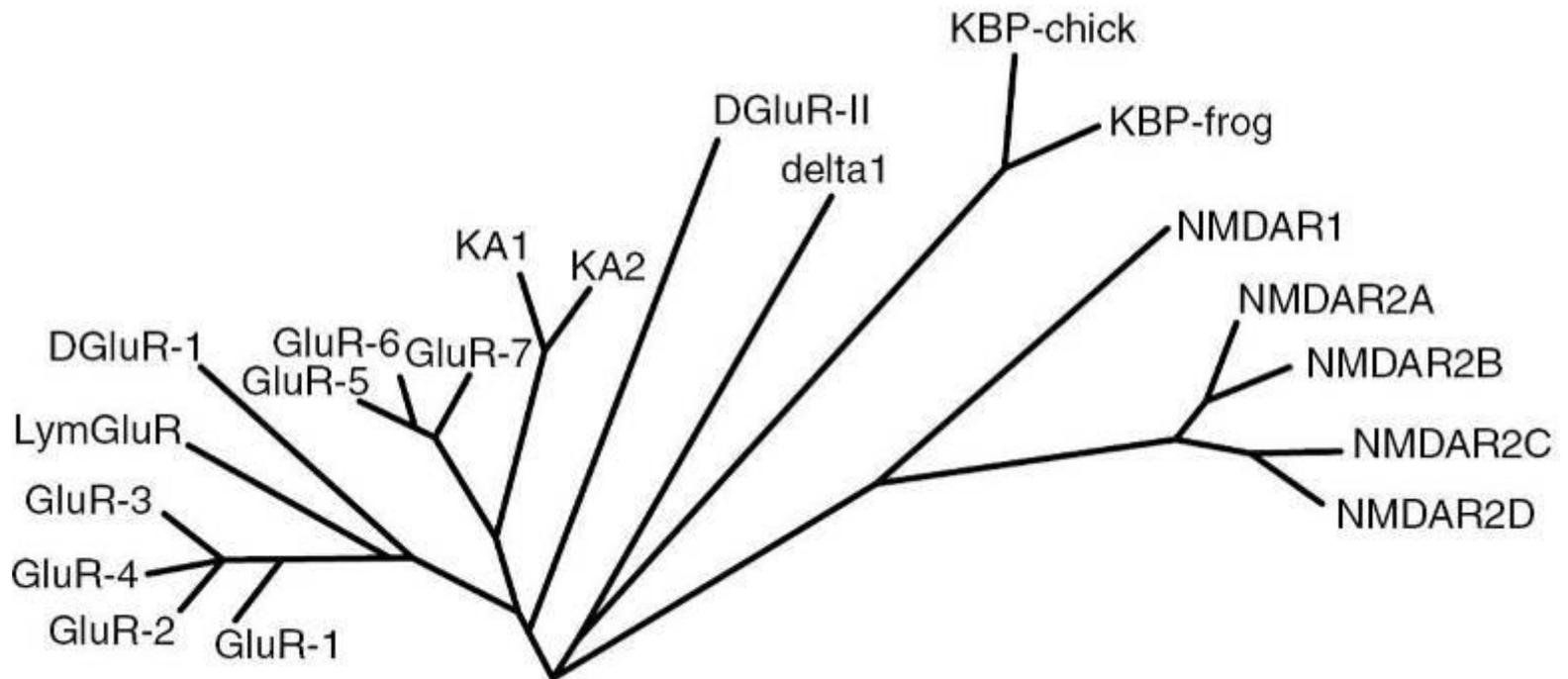
Два внеклеточных домена - N-терминаль
TM1 сегмента (S1) и петля между TM3 и
TM4 сегментами (S2) - образуют место
связывания с агонистом (каинатом).



Эволюционное родство ионотропных глутаматных рецепторов

Один из ионотропных глутаматных рецепторов (GluR-K1) впервые был клонирован в 1989 г.

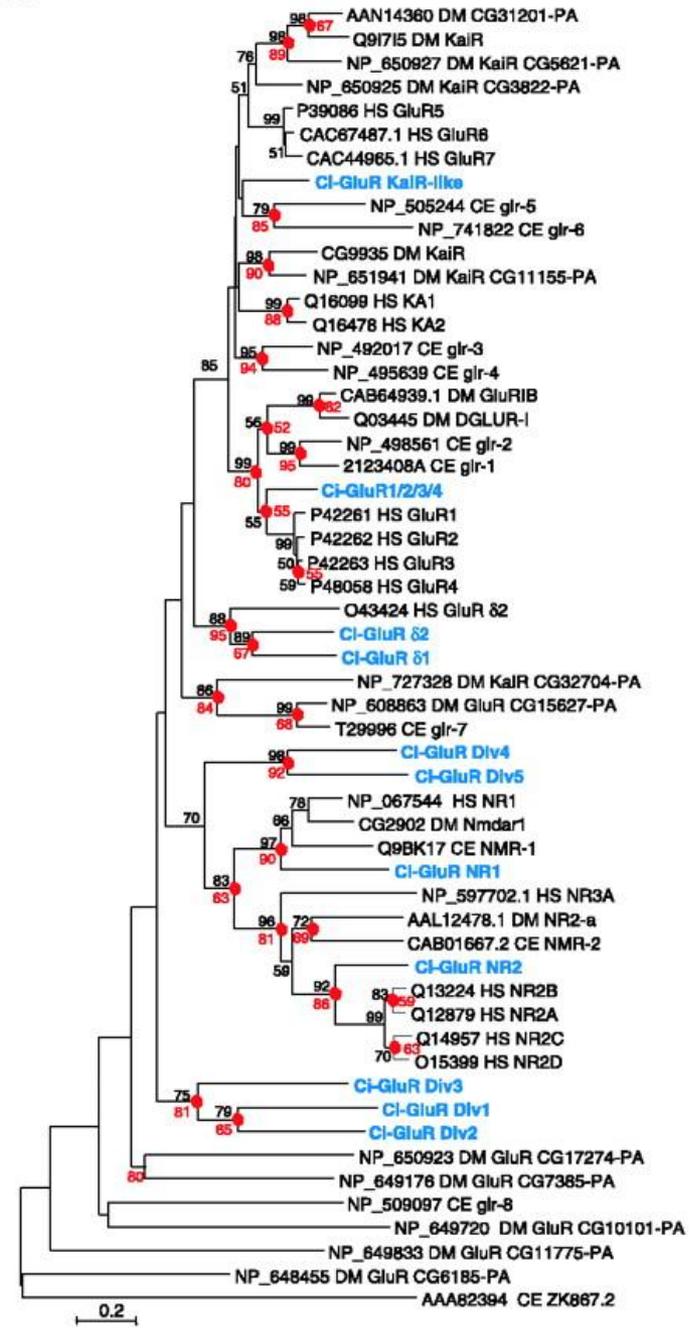
У млекопитающих идентифицировано 18 генов кодирующих различные субъединицы глутаматных рецепторов. В соответствии со структурной гомологией в настоящее время их подразделяют на несколько подсемейств.



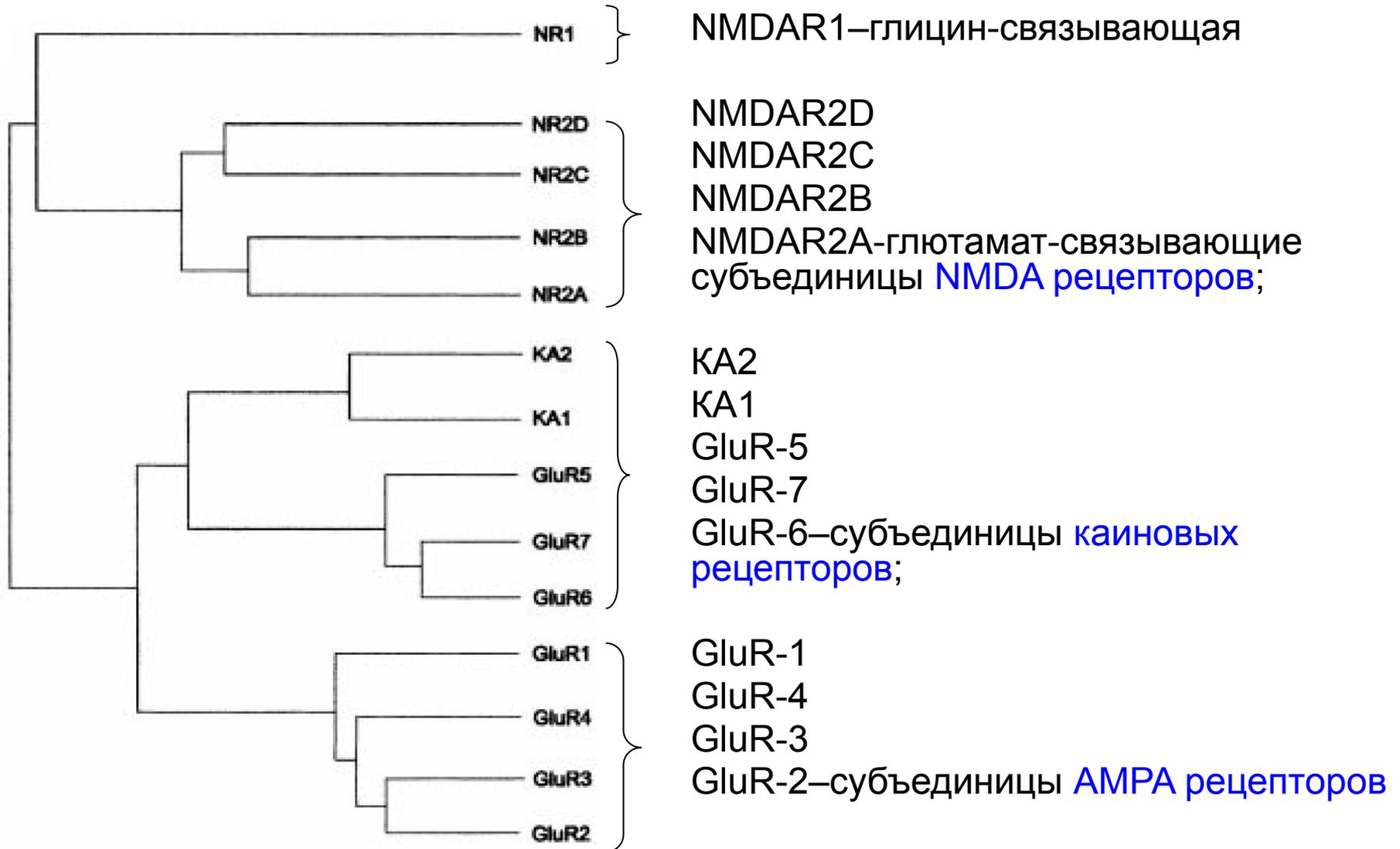
Субъединицы глутаматных рецепторов

ha

B GluR



Эволюционное родство ионотропных глутаматных рецепторов



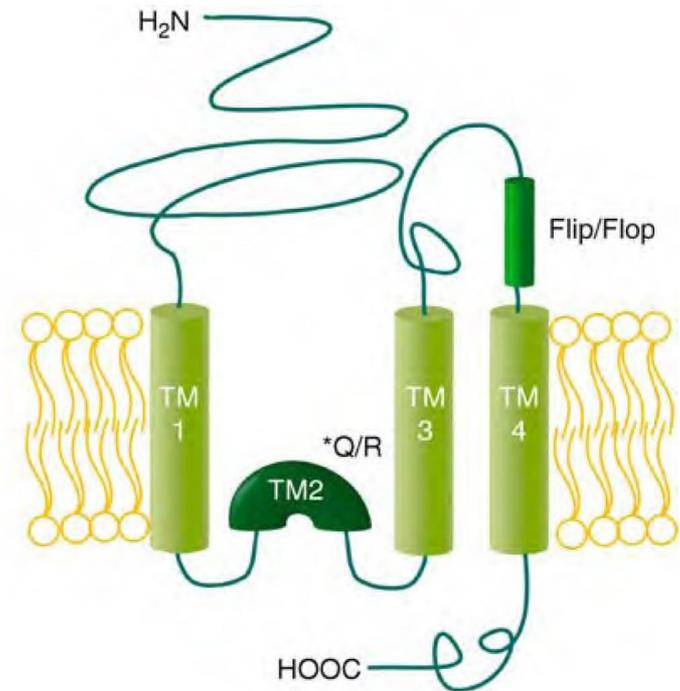
Hollmann, Heinemann, 1994

AMPA рецепторы

AMPA рецептор, состоящий только из GluR1 или GluR3 (или их комбинации) с **глутаминовым** (Q) остатком в сегменте TM2, при активации демонстрирует высокую Ca^{2+} -проводимость.

Если AMPA рецептор имеет в своем составе субъединицу GluR2 с **аргининовым** (R) остатком в сегменте TM2, то такой рецептор значительно в меньшей степени проводит Ca^{2+} по сравнению с разновидностями рецептора, содержащими другие субъединицы.

Замена **аргининового** на **глутаминовый** (Q) остаток в субъединице GluR2 (методом **РНК монтирования**, англ. *RNA editing*) приводит к увеличению Ca^{2+} -проводимости канала.



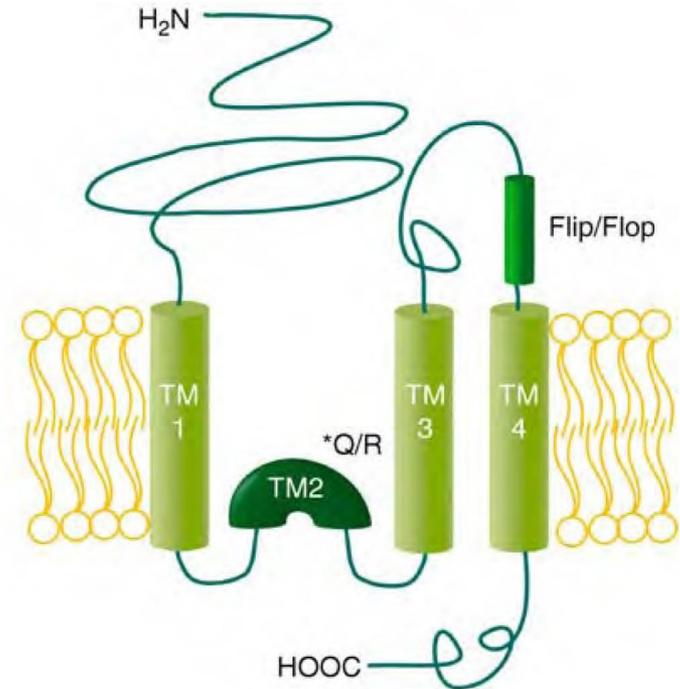
AMPA рецепторы

Flip/Flop – участок из 38 аминокислот, который представлен во всех субъединицах двумя вариациями *flip*- или *flop*-сплайсинга, т.е. этот участок кодируется разной мРНК в зависимости от варианта сплайсинга экзонов из пре-мРНК.

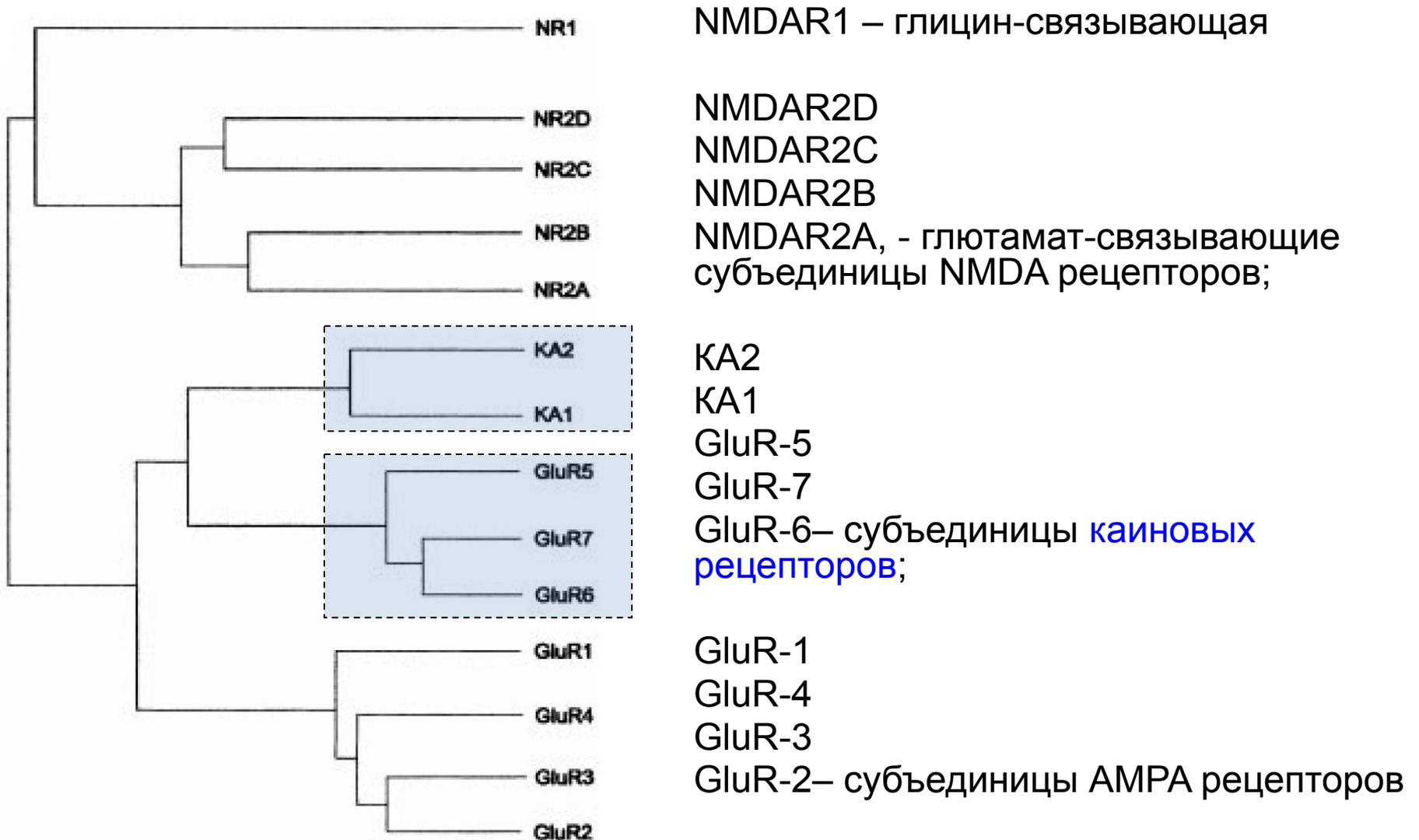
Вариант *flop*-сплайсинга характеризуется более **выраженной десенситизацией** рецептора, т.е. уменьшением чувствительности к глутамату при длительной активации, чем у рецепторов с вариантом *flip*-сплайсинга.

Рецепторы пирамидных нейронов **CA3** в гиппокампе крыс содержат субъединицы *flip*-сплайсинга, что обеспечивает **длительные глутамат-активируемые токи** из-за низкой десенситизации рецептора.

Соседние пирамидные нейроны **CA1** и гранулярные клетки **зубчатой извилины**, напротив, содержат субъединицы *flop*-сплайсинга. Они относительно быстро десенситизируются и проводят **непродолжительные глутамат-активируемые токи**.



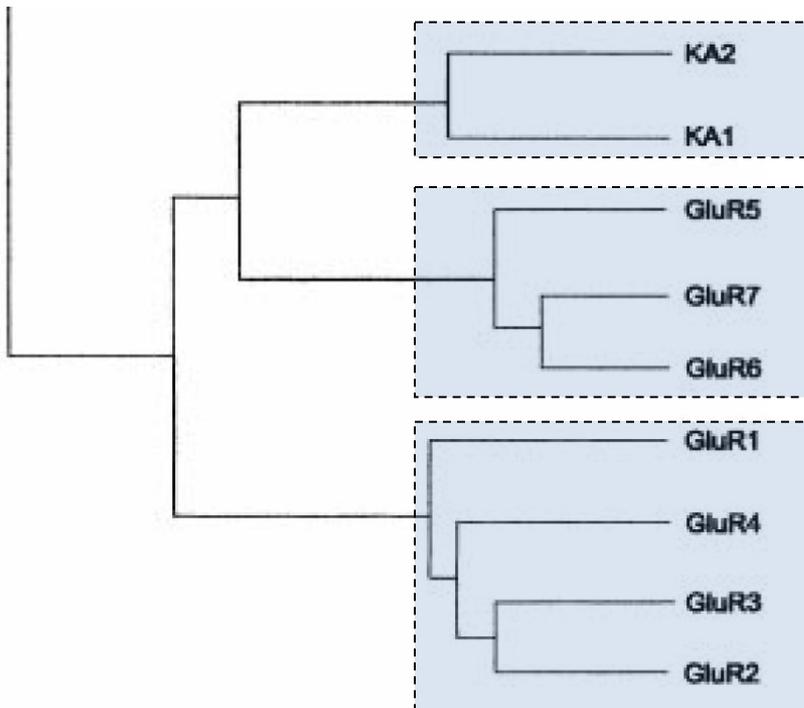
Каиновые рецепторы



Hollmann, Heinemann, 1994

AMPA и каиновые рецепторы

AMPA и каиновые рецепторы широко распространены в ЦНС и при активации глутаматом открывают каналы для моновалентных (Na^+ и K^+) ионов, что приводит к деполяризации постсинаптической клетки.



KA2

KA1

GluR-5

GluR-7

GluR-6 – субъединицы **каиновых рецепторов**;

GluR-1

GluR-4

GluR-3

GluR-2 – субъединицы **AMPA рецепторов**

Hollmann, Heinemann, 1994

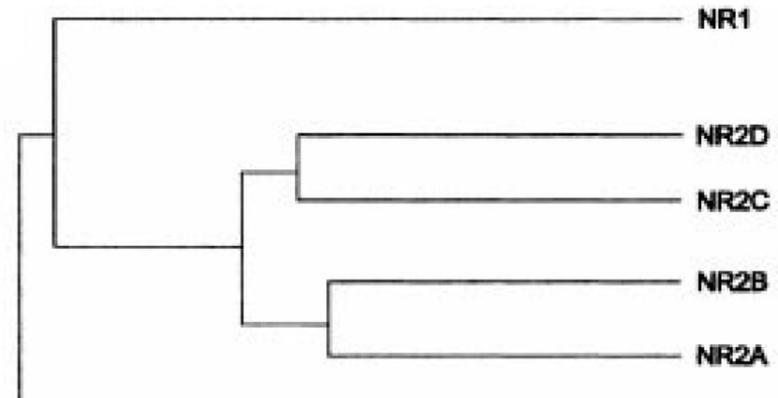
NMDA рецепторы

NMDA рецепторы состоят из комбинации каких-либо **трех** глутамат-связывающих субъединиц (из четырех возможных (NR2A, NR2B, NR2C и NR2D)) и облигатно **одной** глицин-связывающей субъединицы (NR1), насчитывающей 8 разновидностей.

Структура субъединиц NMDA рецептора аналогична структуре других ионотропных глутаматных рецепторов.

Один специфический **аспарагиновый** остаток (N) (аналогично **глутаминовому** участку (Q) у не-NMDA-рецепторов) сегмента TM2 всех субъединиц NMDA рецептора определяет его высокую Ca^{2+} -проводимость.

Этот же остаток частично формирует участок связывания Mg^{2+} , который блокирует проводимость канала при ПП.



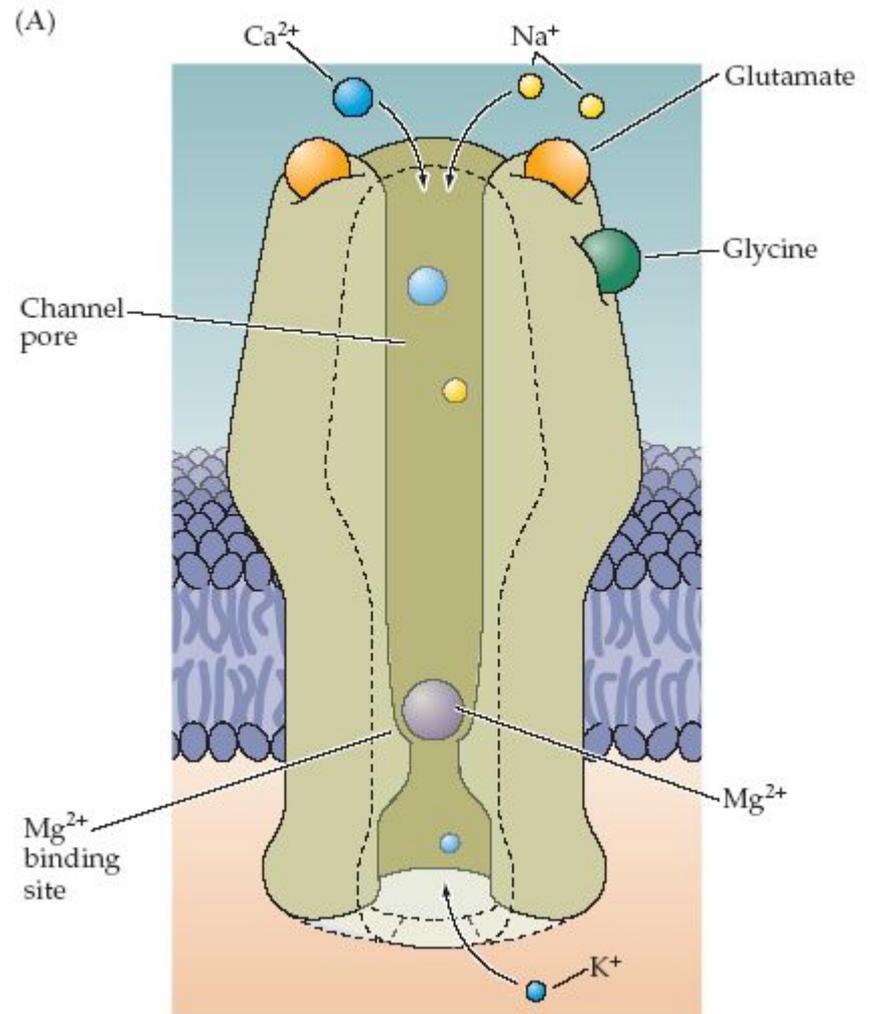
NMDA рецепторы

Их проводимость зависит от уровня **мембранного потенциала** и от **глицина**.

При потенциале покоя (-75 мВ) NMDA-рецептор блокирован ионами Mg^{2+} .

При **деполяризации**, возникающей при активации **не-NMDA** рецепторов, Mg^{2+} -блок снимается, и через канал течет смешанный $Na^+/K^+/Ca^{2+}$ -ток, вызывающий более продолжительную деполяризацию.

Активация NMDA-рецептора может вызвать продолжительный ток.



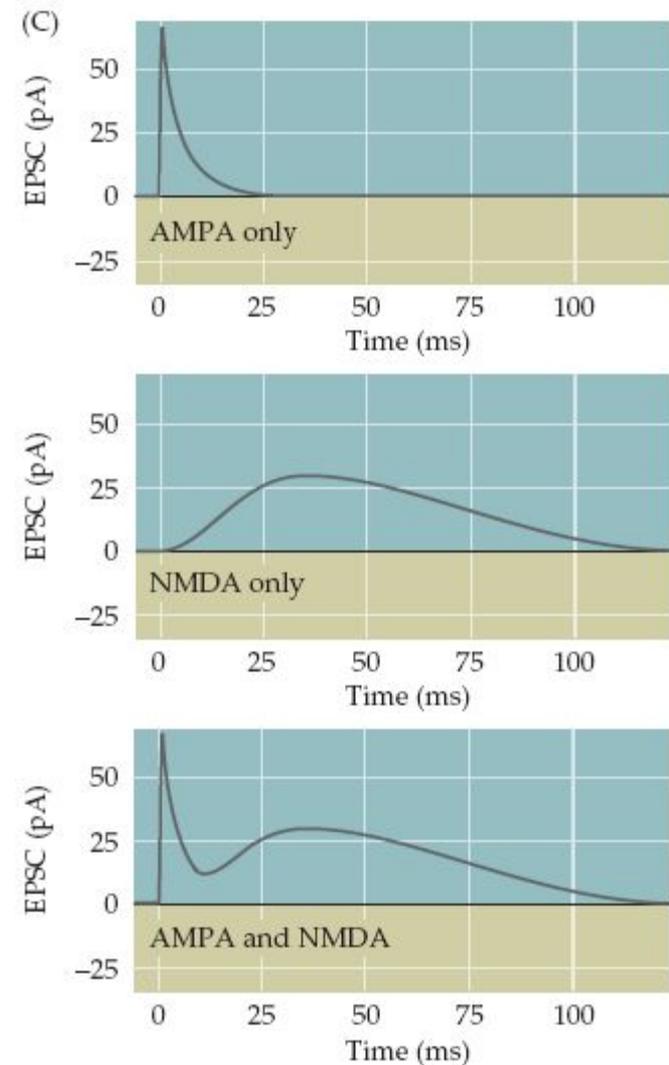
NMDA рецепторы

Их проводимость зависит от уровня **мембранного потенциала** и присутствия **глицина**.

При ПП (-75 мВ) NMDA-рецептор блокирован ионами Mg^{2+} .

При **деполяризации**, возникающей при активации **не-NMDA** рецепторов, Mg^{2+} -блок снимается, и через канал течет смешанный $Na^+/K^+/Ca^{2+}$ -ток, вызывающий более продолжительную деполяризацию.

Активация NMDA-рецептора может вызвать продолжительный ток.

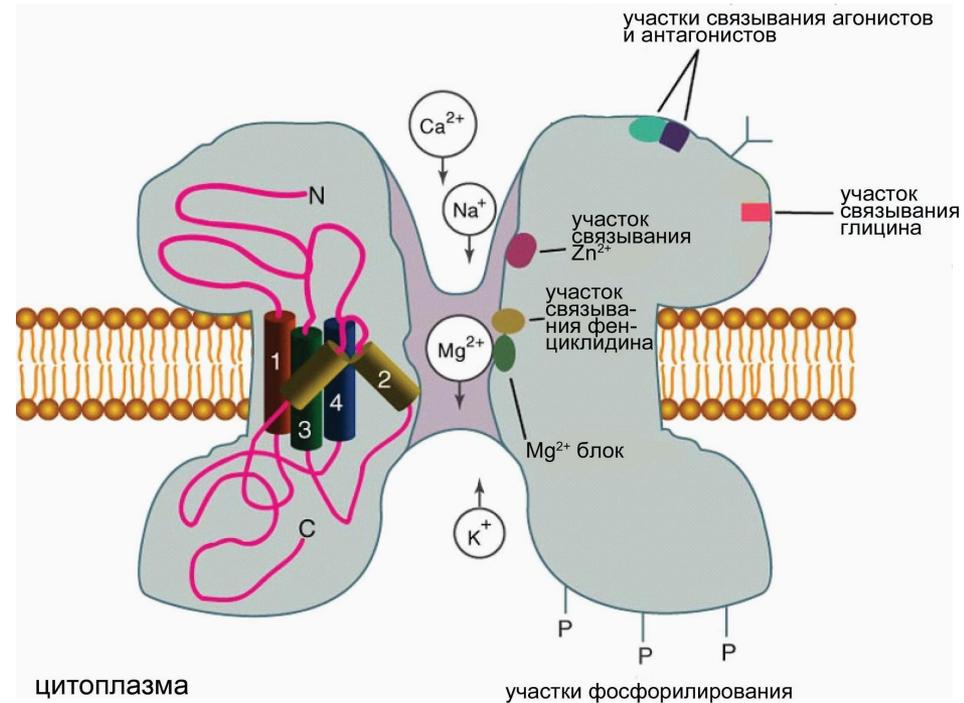


NMDA рецепторы

NMDA-рецептор имеет несколько участков, взаимодействующих аллостерически:

- 1) участок связывания **медиатора**;
- 2) регуляторный, или коактивирующий, **глициновый** участок, представленный в субъединице NR1;
- 3) внутренний участок, связывающий **фенциклидин**;
- 4) потенциал-зависимый **Mg²⁺-связывающий** участок;
- 5) **тормозный** участок связывания двухвалентных катионов (например, Zn²⁺).

В рецепторе имеются еще несколько регуляторных участков.



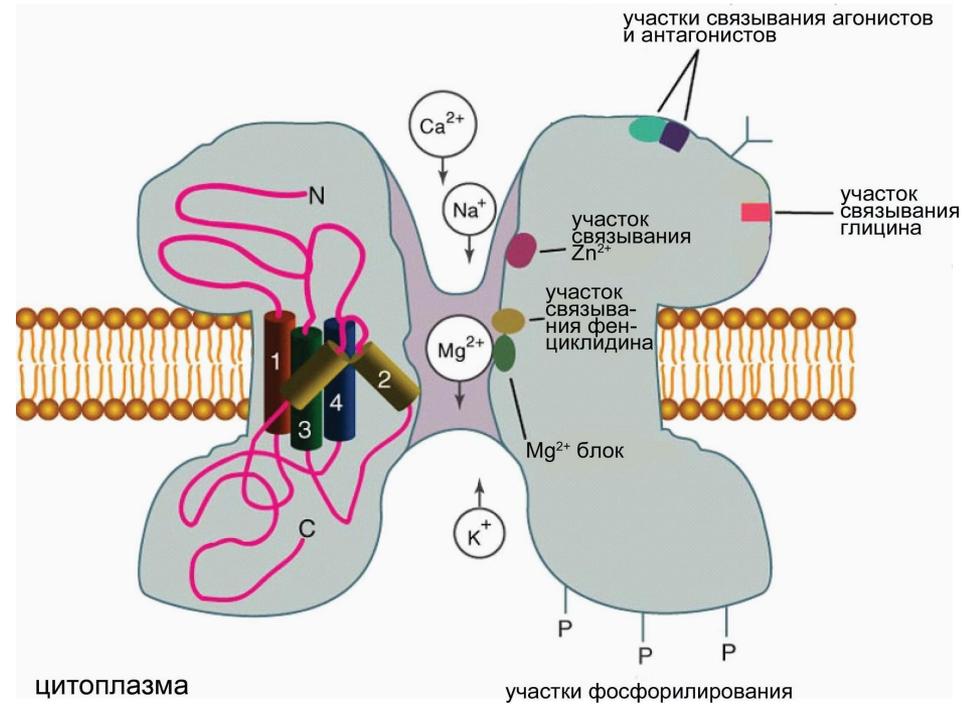
NMDA рецепторы

Сам **глицин** не вызывает ответа, но **усиливает** активацию NMDA-рецептора, увеличивая частоту открывания канала.

При отсутствии глицина рецептор не активируется L-глутаматом.

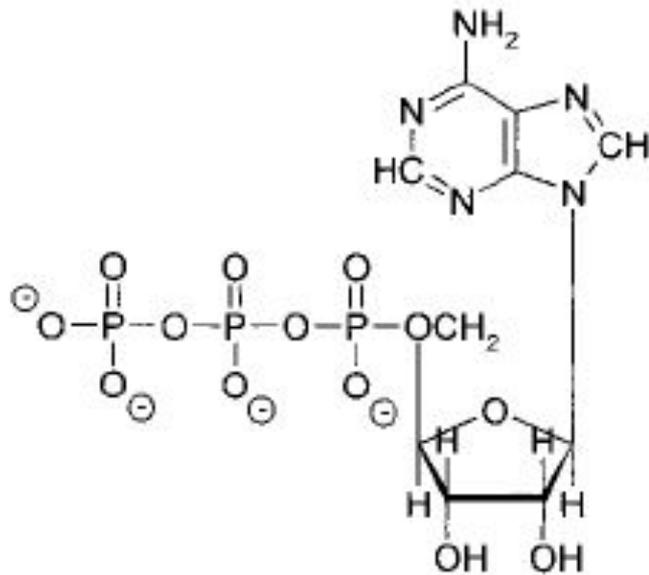
Наибольшие токи при активации рецептора возникают при деполяризации **от -30 до -20 мВ** и существенно уменьшаются при гиперполяризации или деполяризации; при таких сдвигах потенциала ионы Mg^{2+} селективно блокируют рецептор.

Ионы Zn^{2+} также ингибируют ответ рецептора, но не имеют потенциал-зависимого действия.

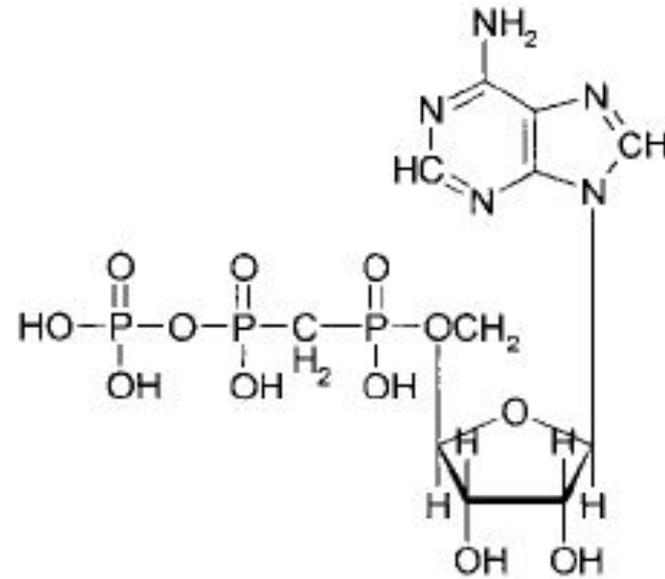


Пуриновые ионотропные рецепторы

Связываются с внеклеточной АТФ или ее производными (например, α,β -метилированной АТФ).



АТФ



α,β -Methylene-АТФ

Пуриновые ионотропные рецепторы

Связываются с внеклеточной АТФ или ее производными (например, α,β -метирированной АТФ).

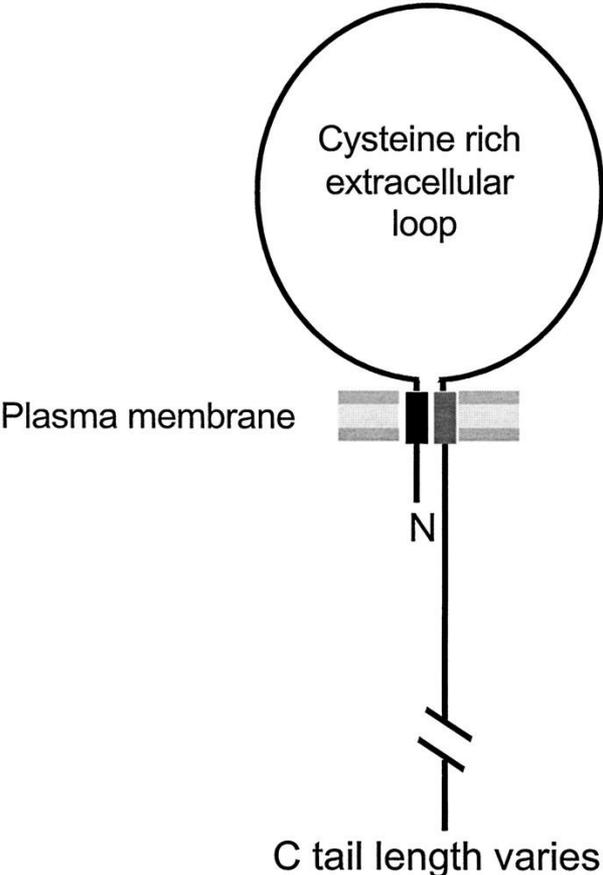
АТФ-связывающие рецепторы подразделяют на два подтипа - $P2_x$ и $P2_z$.

Рецепторы семейства $P2_x$ представляют собой неселективные катионные каналы, обеспечивающие быструю деполяризацию в мембранах нейронов и мышц. Клонировано семь субъединиц этих рецепторов, которые характеризуются 38-48% сходством аминокислотных последовательностей при отсутствии какой-либо гомологии с другими ионотропными каналами.

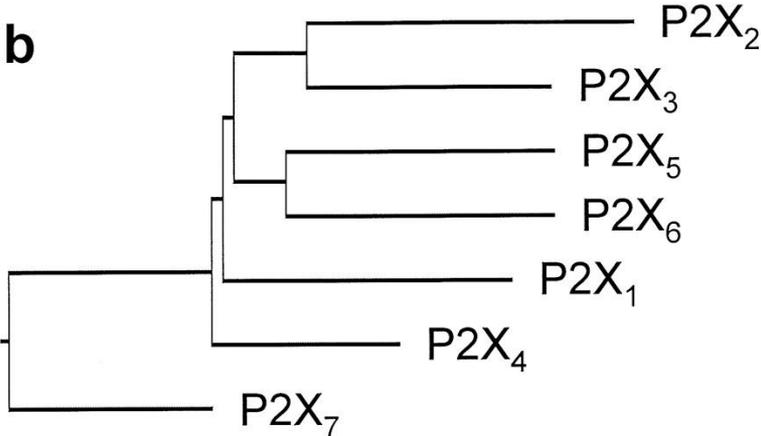
Канал рецепторов семейства $P2_z$ при связывании с АТФ проводит как катионы, так и анионы, а также молекулы весом до 900 Да.

Разнообразие пуриновых ионотропных рецепторов

a



b



c

		% Identity						
		P2X ₁	P2X ₂	P2X ₃	P2X ₄	P2X ₅	P2X ₆	P2X ₇
100	31.8	37.3	46.6	35.8	39.8	32.1	P2X ₁	
	100	40.6	39.2	37.1	35.1	26.3	P2X ₂	
		100	40.5	37.5	35.1	31.0	P2X ₃	
			100	45.6	40.9	38.1	P2X ₄	
				100	45.4	26.8	P2X ₅	
					100	28.2	P2X ₆	
						100	P2X ₇	

Пуриновые ионотропные рецепторы

Все субъединицы $P2_x$ рецепторов имеют структурную топологию, сходную с фрагментом потенциал-зависимых K^+ _{IR}-каналов, образующим водную пору. Субъединицы $P2_x$ типа содержат два трансмембранных сегмента M1 и M2.

связывание АТФ

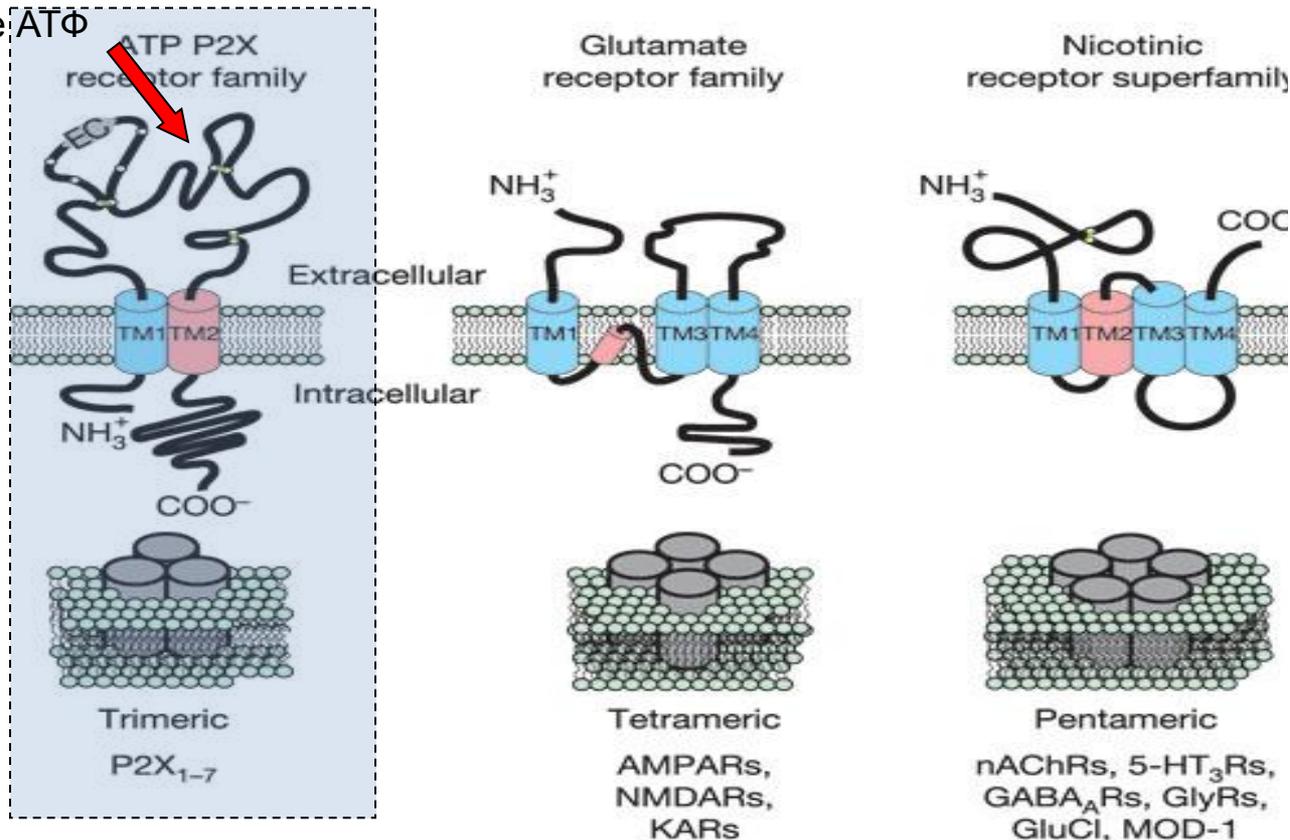


Схема связывания с АТФ

Lys69, Lys71 and Lys313 are involved in coordinating the binding of the negatively charged phosphate of ATP

