

# Молекулярная организация нервной системы

## Лекция 14: Молекулярные основы функционирования и архитектура глутаматных рецепторов

**Казанский медицинский университет**

**Казань**

**Лекция**

**декабрь 2015**

**П.Д. Брежестовский**

Институт динамики мозга

Факультет медицины

Университет Aix-Marseille

Марсель, Франция

[piotr.bregestovski@univ-amu.fr](mailto:piotr.bregestovski@univ-amu.fr) [pbreges@gmail.com](mailto:pbreges@gmail.com)

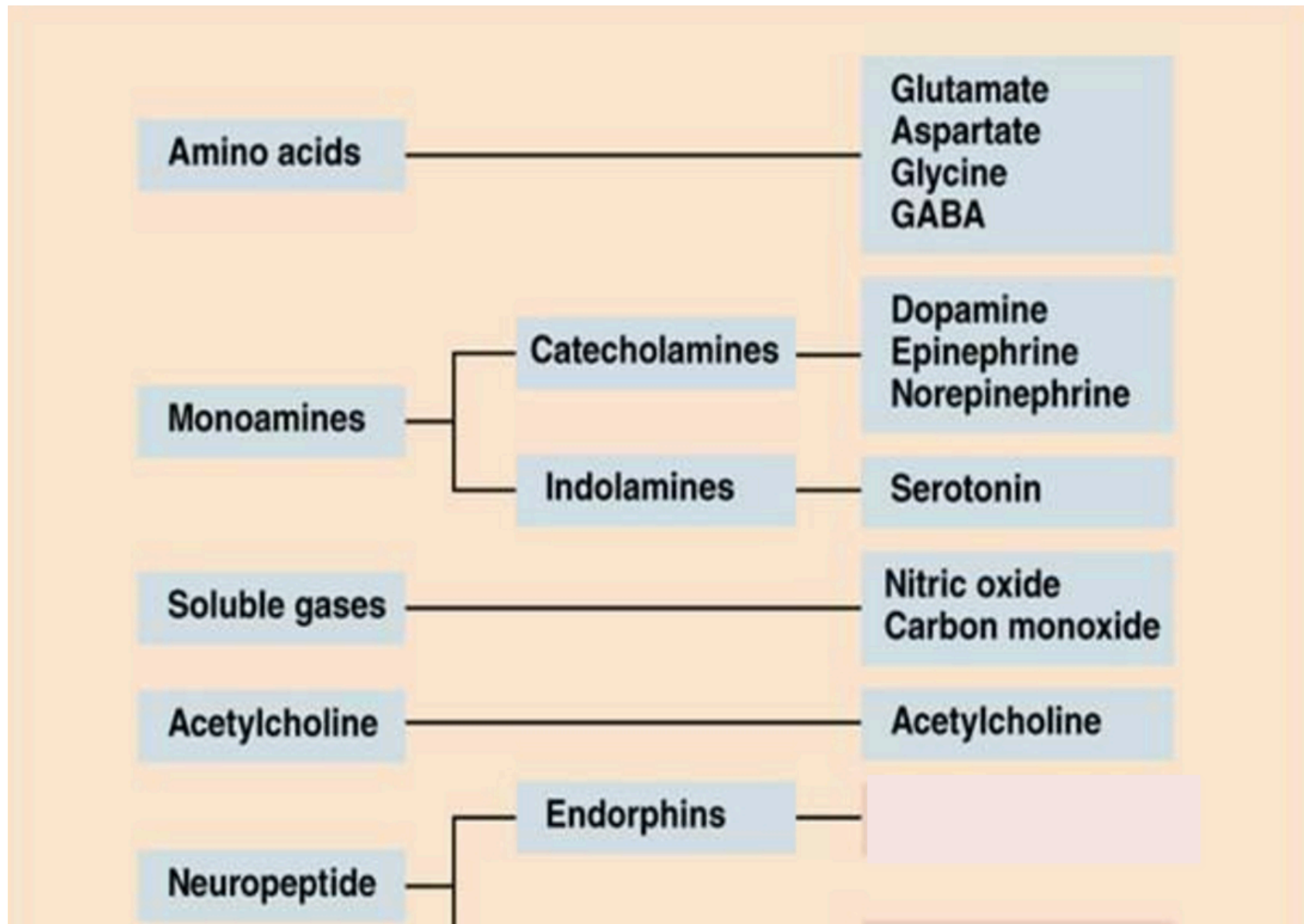
# Молекулярные основы функционирования возбуждающих рецепторов

- Классы нейромедиаторов
- Семейства рецепторов быстрой синаптической передачи
- Глутаматные ионотропные рецепторы:
  - Классификация
  - Фармакология глутаматных рецепторов
  - молекулярная организация
  - кристаллическая структура:
- NMDA рецептор: уникальная сложность организации и управления:
  - блок ионами Mg
  - высокая проницаемость к ионам кальция
  - коактивация глицином или серином

# Нейромедиаторы

- Аминокислоты:
  - Глутамат, аспартат, глицин, ГАМК
- Биогенные амины
  - Допамин (ДА)
  - Норепинерфин (норадреналин) (НА)
  - Епинерфин (адреналин)
  - Гистамин
  - Серотонин (5-НТ)
- Пурины (АТФ)
- Эндоканабиноиды
- Ацетилхолин
- Пептиды
- Малые молекулы (NO)

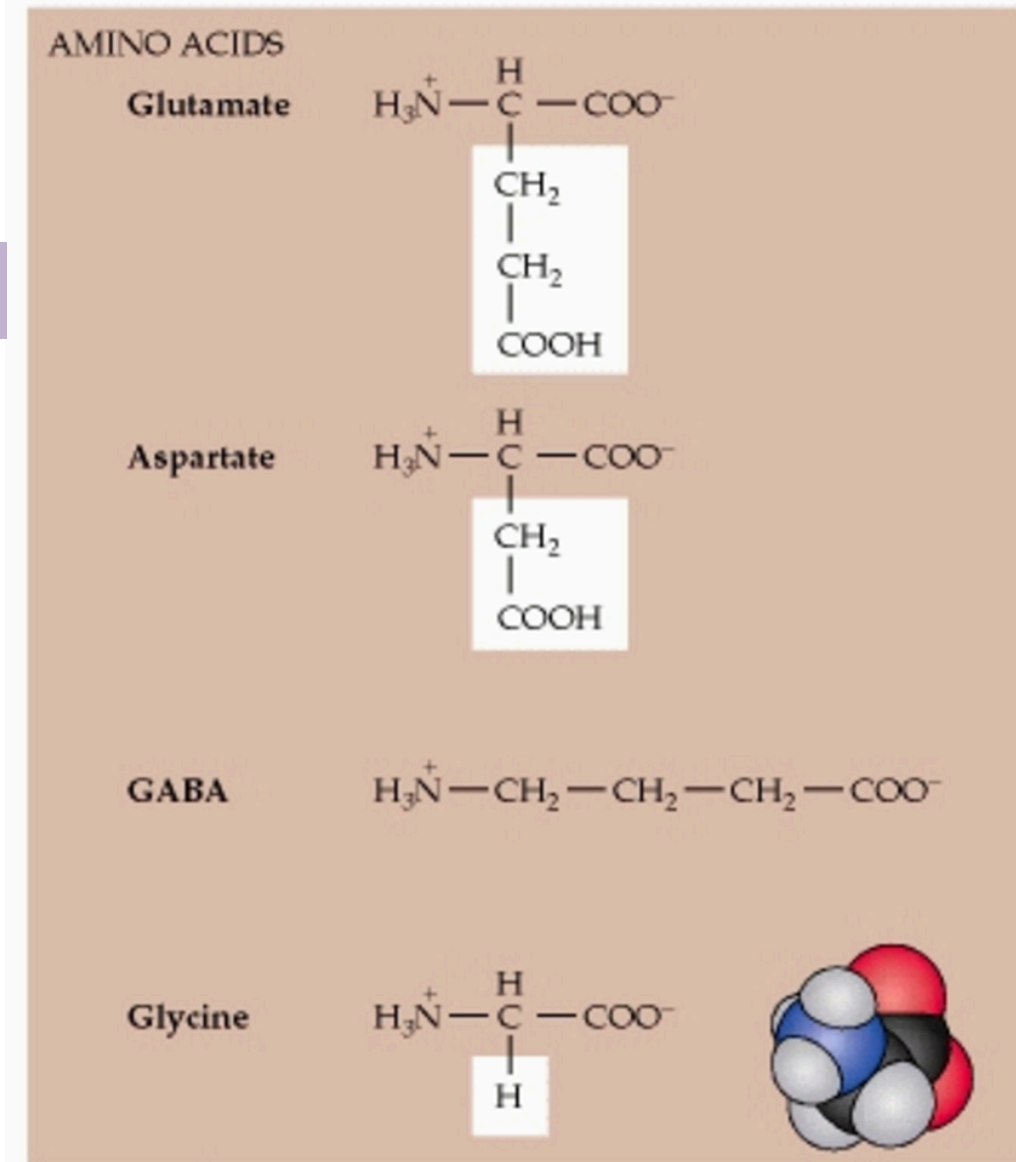
# Классы нейромедиаторов



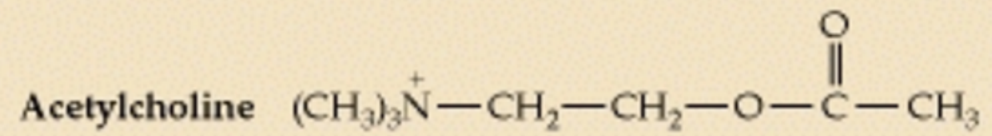
# Нейромедиаторы быстрой синаптической передачи

Возбуждение

Торможение

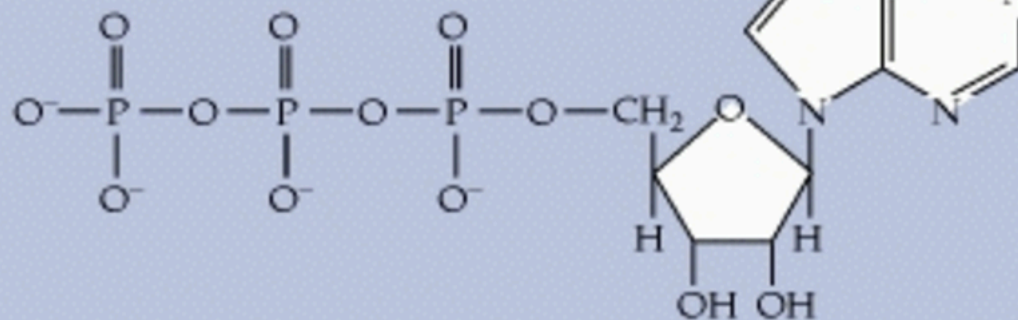


# Нейромедиаторы быстрой синаптической передачи



PURINES

ATP



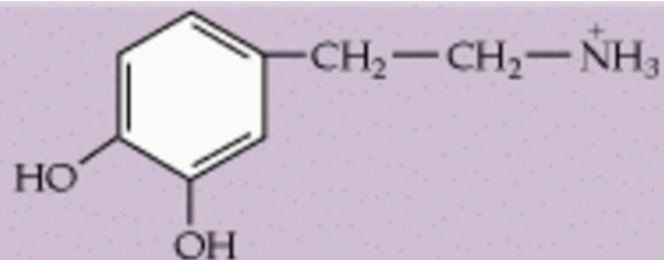
# Семейства рецепторов быстрой синаптической передачи

(C)

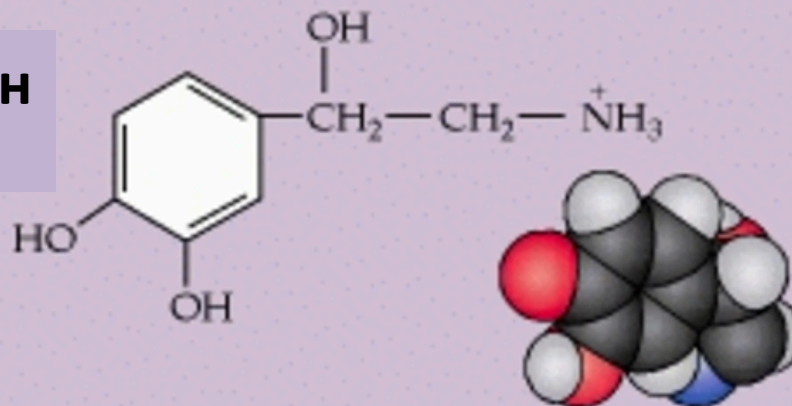
Receptor	AMPA	NMDA	Kainate	GABA	Glycine	nACh	Serotonin	Purines
Subunits (combination of 4 or 5 required for each receptor type)	Glu R1	NR1	Glu R5	$\alpha_{1-7}$	$\alpha 1$	$\alpha_{2-9}$	5-HT <sub>3</sub>	P <sub>2X1</sub>
	Glu R2	NR2A	Glu R6	$\beta_{1-4}$	$\alpha 2$	$\beta_{1-4}$		P <sub>2X2</sub>
	Glu R3	NR2B	Glu R7	$\gamma_{1-4}$	$\alpha 3$	$\gamma$		P <sub>2X3</sub>
	Glu R4	NR2C	KA1	$\delta$	$\alpha 4$	$\delta$		P <sub>2X4</sub>
		NR2D	KA2	$\epsilon$	$\beta$			P <sub>2X5</sub>
				$\rho_{1-3}$				P <sub>2X6</sub>
								P <sub>2X7</sub>

# Биогенные амины-1

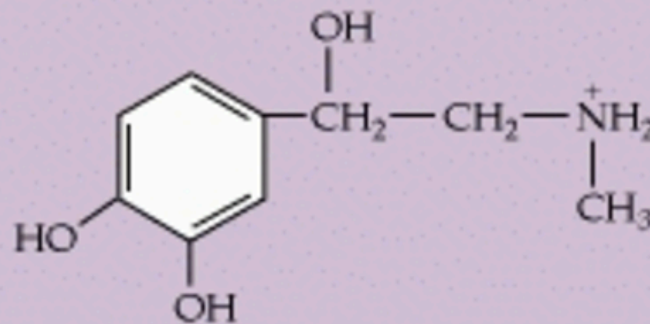
Дофамин



Норадреналин  
(Норэпинефрин)



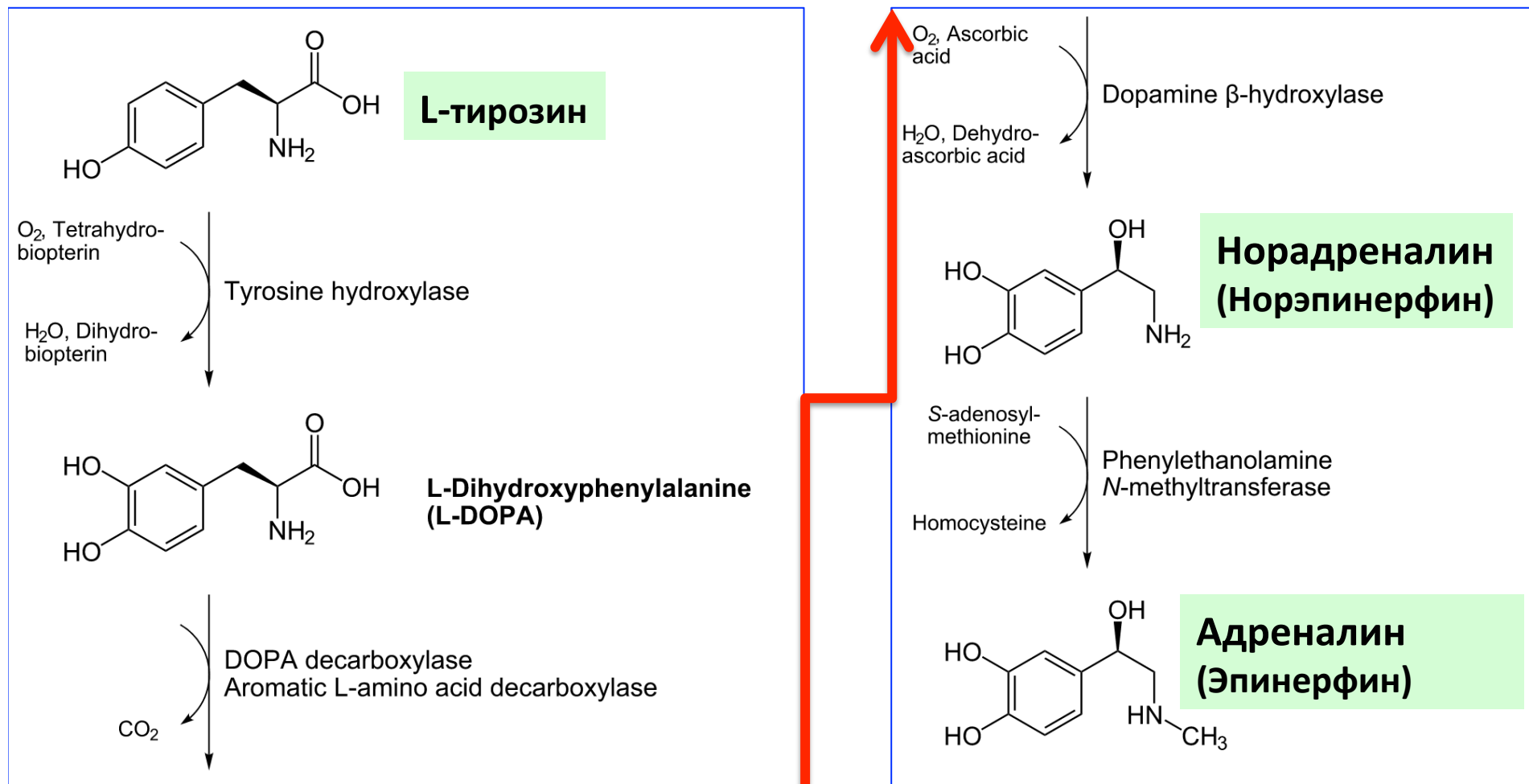
Адреналин  
(Эпинефрин  
вещество  
надпочечников)





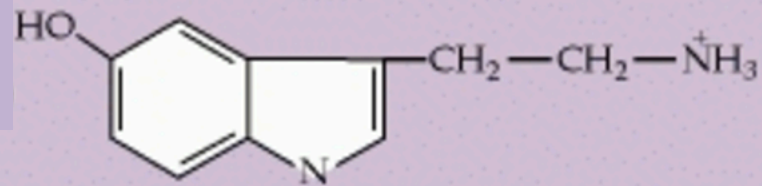
# Синтез катехоламинов:

Тирозин → ДОФА → Дофамин →  
Норадреналин → Адреналин

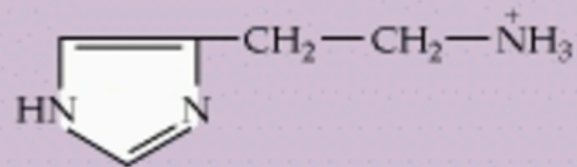


# Биогенные амины-2

**Серотонин  
(5-НТ)**



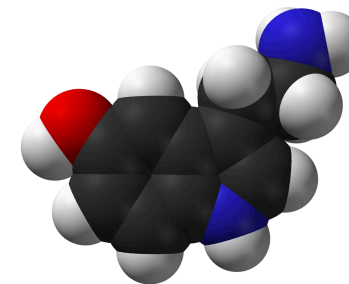
**Гистамин**



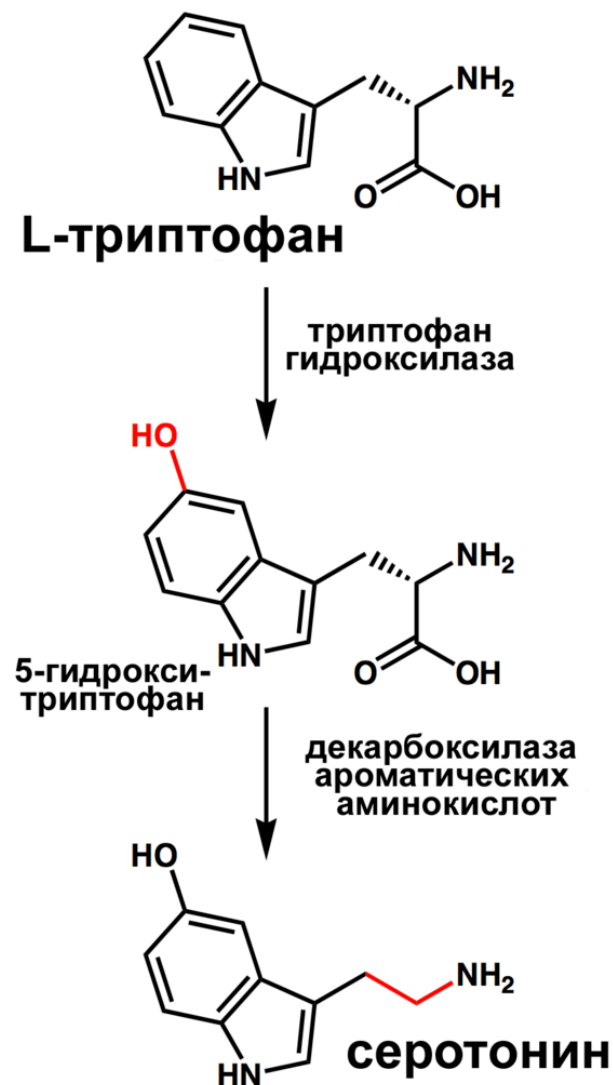


Витторио Эрспамер  
1909-1999

# Серотонин $C_{10}H_{12}N_2O$ – нейромедиатор счастья



- 1935 – вещество из ЖКТ – "энтерамин"
- 1948 - Раппорт, Грин и Пейдж (Кливленд) вещество в сыворотке крови: «серотонин»
- 1952 – Энтерамин = Серотонин
- 1953 – Серотонин обнаружен в мозге
- 1957 – ЛСД - мощный галлюциноген и агонист в периферических тканях
- 14 видов серотониновых рецепторов
- Серотонин «руководит» очень многими функциями. Снижение 5-НТ - усиление болевых систем организма



# Семейства рецепторов медленной синаптической передачи

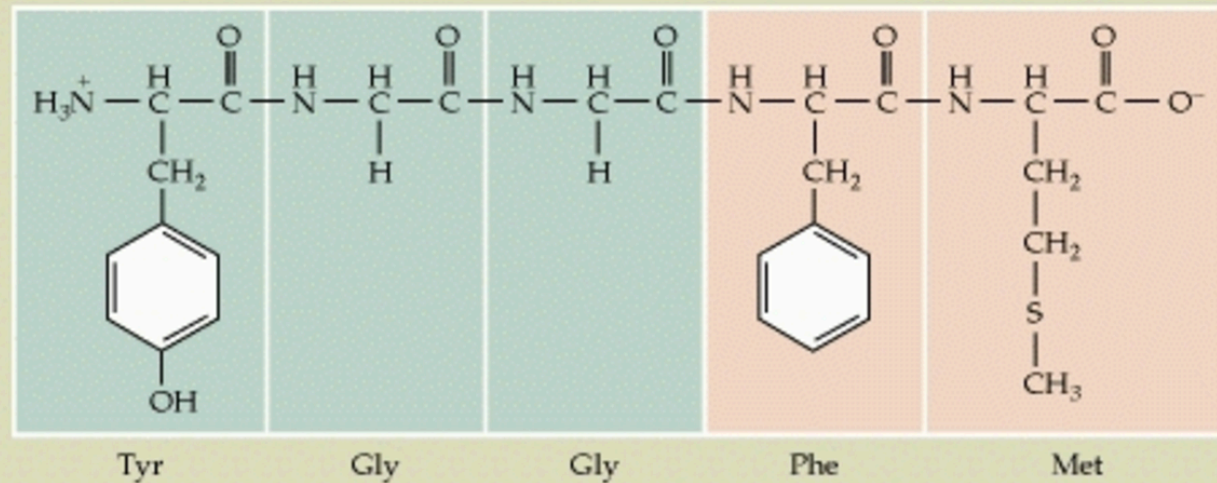
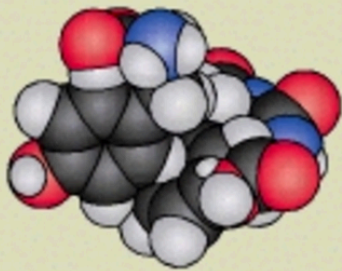
(B)

Receptor class	Glutamate	GABA <sub>B</sub>	Dopamine	NE, Epi	Histamine	Serotonin	Purines	Muscarinic
Receptor subtype	Class I	GABA <sub>B</sub> R1	D1 <sub>A</sub>	α1	H1	5-HT 1	A type	M1
	mGlu R1	GABA <sub>B</sub> R2	D1 <sub>B</sub>	α2	H2	5-HT 2	A1	M2
	mGlu R5		D2	β1	H3	5-HT 3	A2a	M3
	Class II		D3	β2		5-HT 4	A2b	M4
	mGlu R2		D4	β3		5-HT 5	A3	M5
	mGlu R3					5-HT 6	P type	
	Class III					5-HT 7	P2x	
	mGlu R4						P2y	
	mGlu R6						P2z	
	mGlu R7						P2t	
	mGlu R8						P2u	

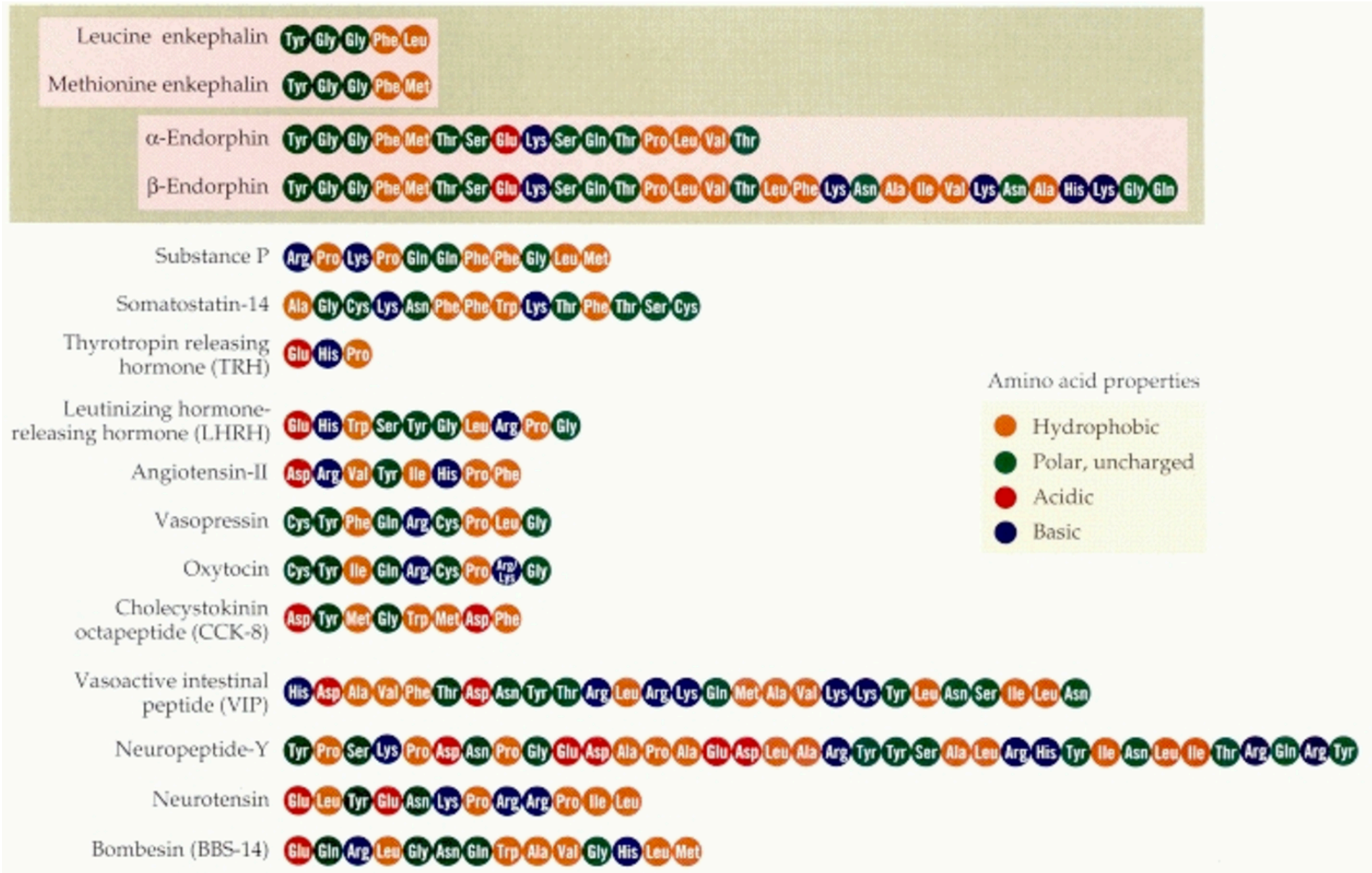
# Пептиды-нейропередатчики

PEPTIDE NEUROTRANSMITTERS (more than 100 peptides, usually 3–30 amino acids long)

Example: **Methionine enkephalin** (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met)



# Некоторые пептиды-нейропередатчики



# Более детальное рассмотрение классов рецепторов

# Глутамат – ключевой возбуждающий нейропередатчик в нервной системе ПОЗВОНОЧНЫХ

- Нейропередатчик в 75-80% синапсов ЦНС
- Синтезируется в мозге из:
  - Глюкозы (цикл Кребса)
  - Глютамина (из глиальных клеток)
- Действие прекращается поглощением аминокислотными транспортерами в нейроны и астроциты

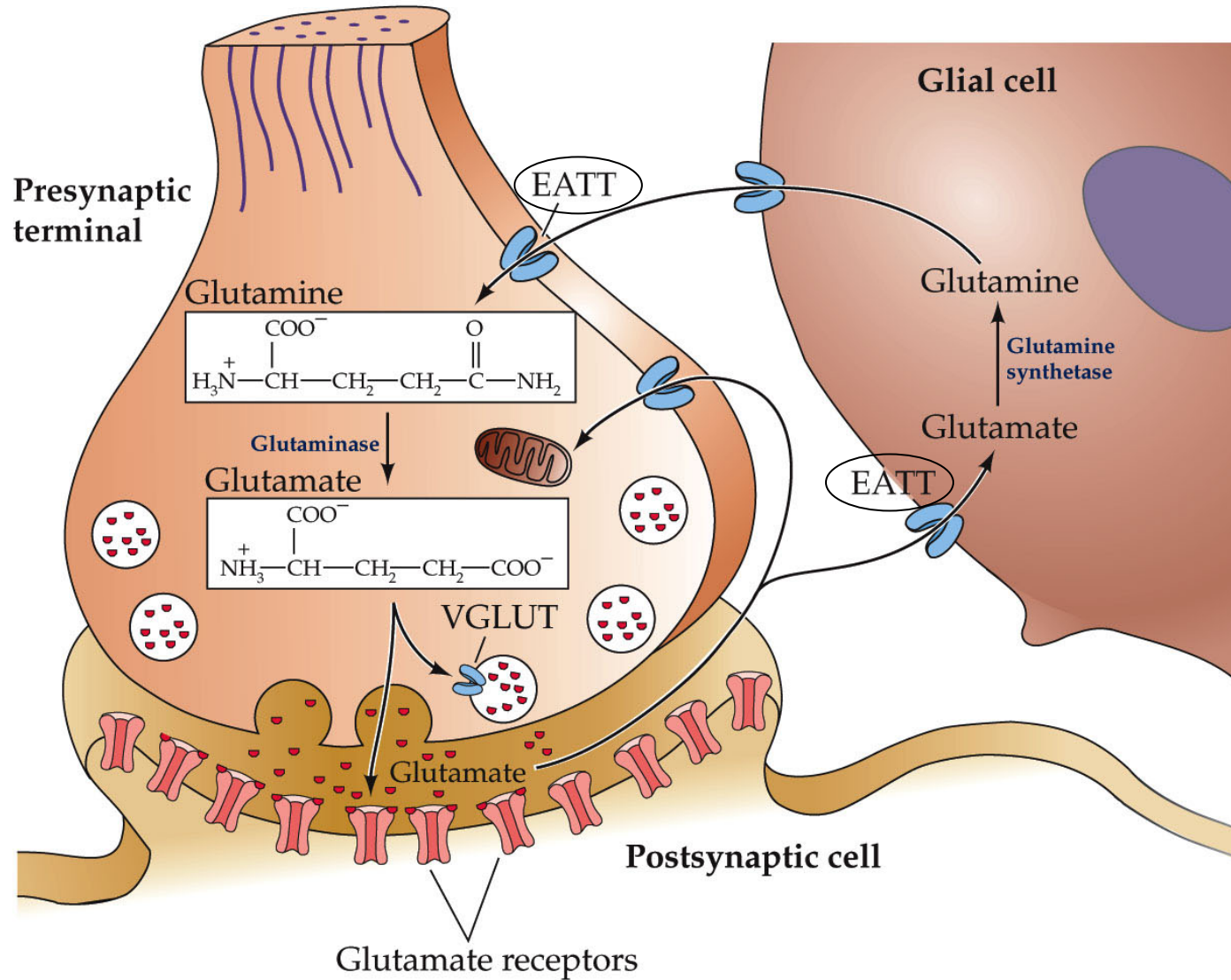


# Глутаматные рецепторы

- Классификация:
  - АМПА
  - NMDA
  - Каинатные
- Молекулярная организация
- Функция и электрофизиология
- Кристаллическая структура

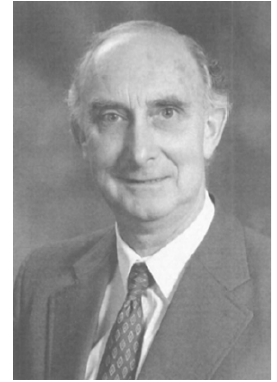
# Glutamate fast neurotransmission

Synthesis, packaging, reuptake, degradation



**NEUROSCIENCE, Fourth Edition, Figure 6.6**

# Short pre-history



**1954 Hayashi** показал, что инъекция в мозг L-глутамата вызывает судороги у собак и обезьян и предположил, что он может быть нейромедиатором в ЦНС

**1959 Curtis, Phillis and Watkins** показали, что L-glutamate возбуждает нейроны НС, как это должен делать возбуждающий нейромедиатор

**1981 Watkins и Evans** - Классификация глутаматных рецепторов на основании чувствительности к фармакологическим препаратам :  
**NMDA, quisqualate, kainate**

**1983 Nowak, Bregestovski, Ascher et al.** – первые регистрации одиночных NMDA каналов, открытие Mg блока.

**1989 Hollmann, Heinemann** – клонирование глутаматного рецептора

**2009 Gouaux et al.** - кристаллическая структура глутаматного рецептора

# Молекулярные классы глутаматных рецепторов на основании чувствительности к фарм. агентам: AMPA, kainate, N-methyl d-aspartate (NMDA)

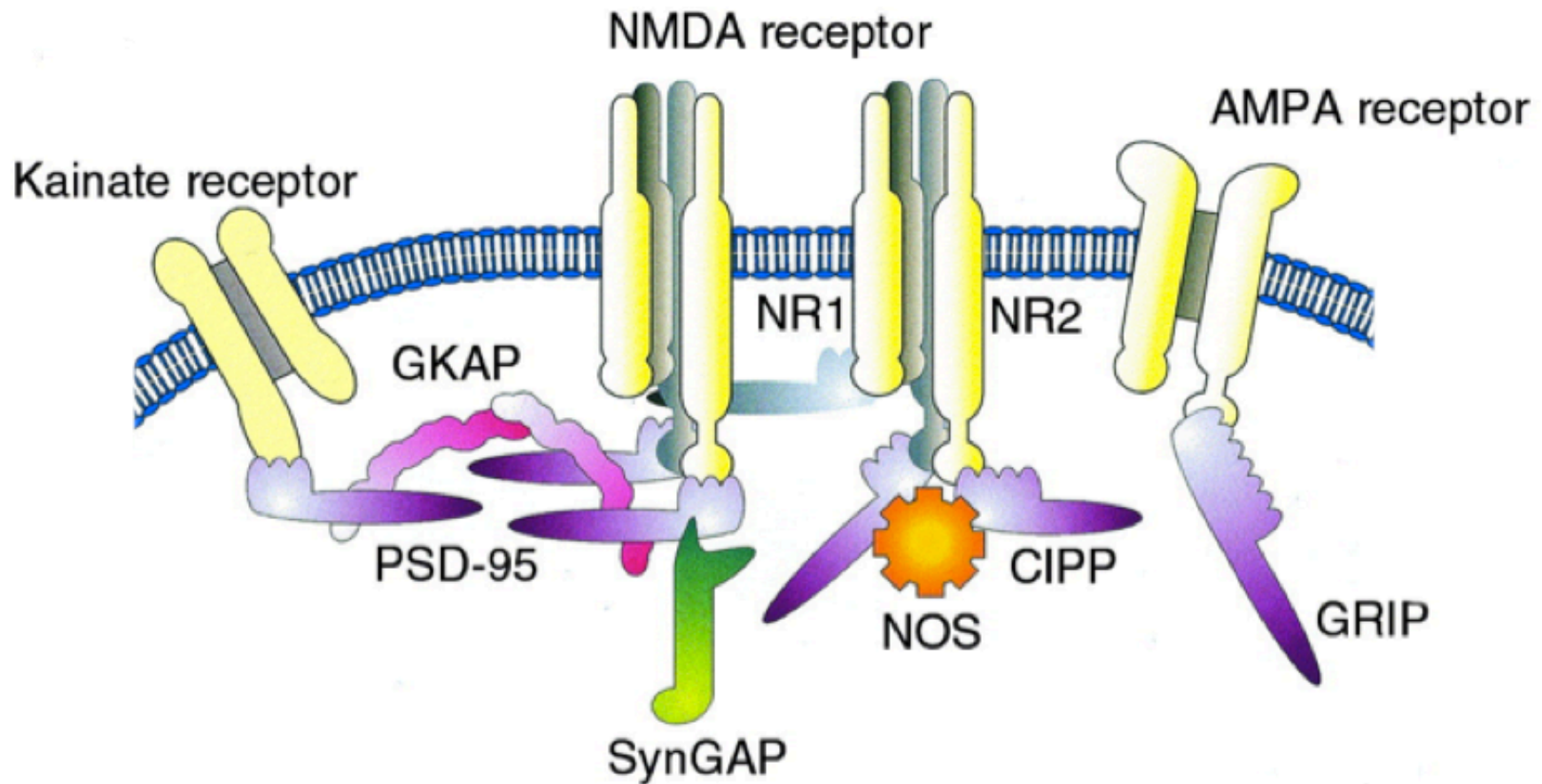
Receptor	AMPA	NMDA	Kainate
Subunits (combination of 4 or 5 required for each receptor type)	Glu R1	NR1	Glu R5
	Glu R2	NR2A	Glu R6
	Glu R3	NR2B	Glu R7
	Glu R4	NR2C	KA1
		NR2D	KA2

**AMPA рецепторы:** гомо- или гетеропентамеры из Glu R1-4 субъединиц

**NMDA рецепторы:** гетеропентамеры из NR1 и NR2 субъединиц. Играют ключевую роль в синаптической пластичности, памяти и связаны со многими нервными заболеваниями.

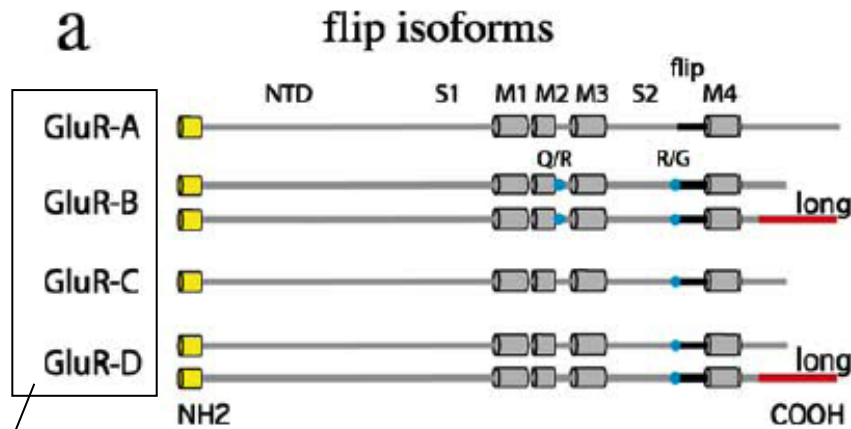
**Каинатные рецепторы:** гетеропентамеры из KA1,2 и GluR5-7 субъединиц

# Subfamilies of glutamate receptors

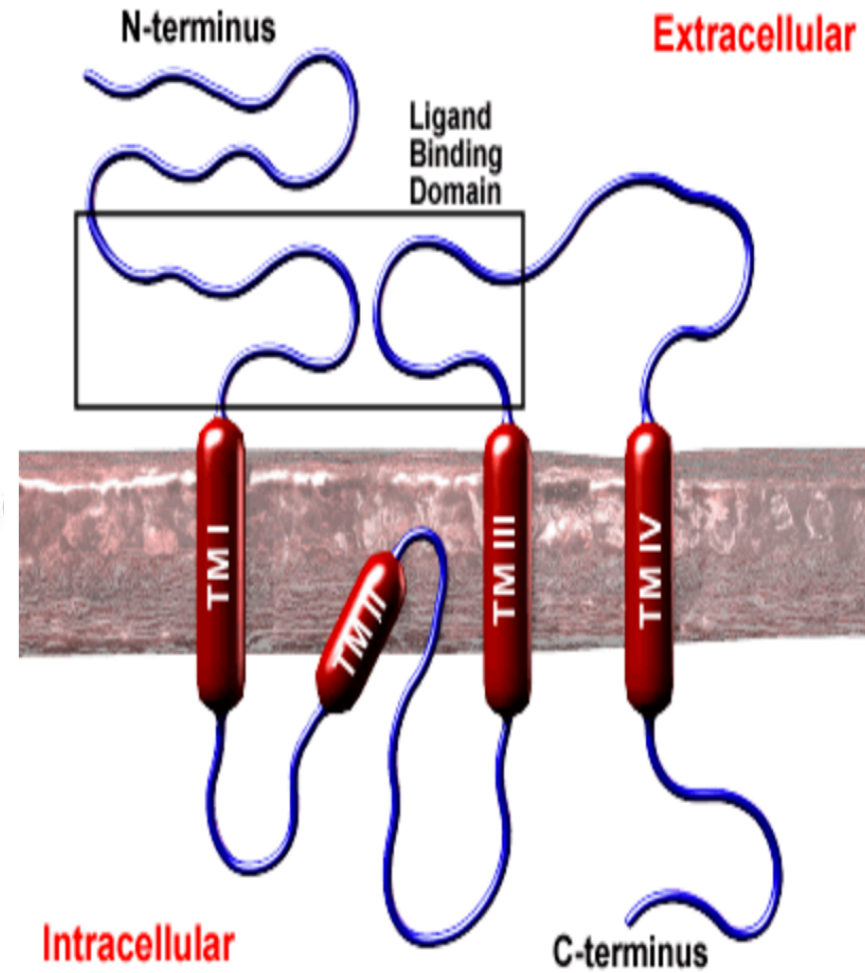
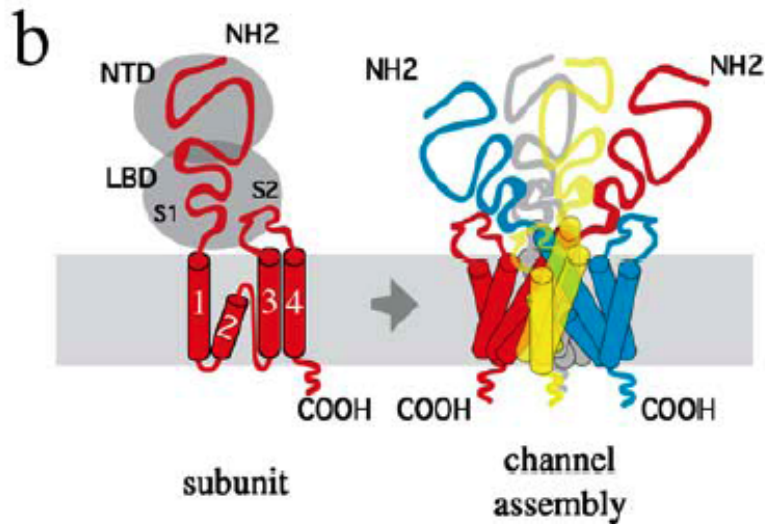


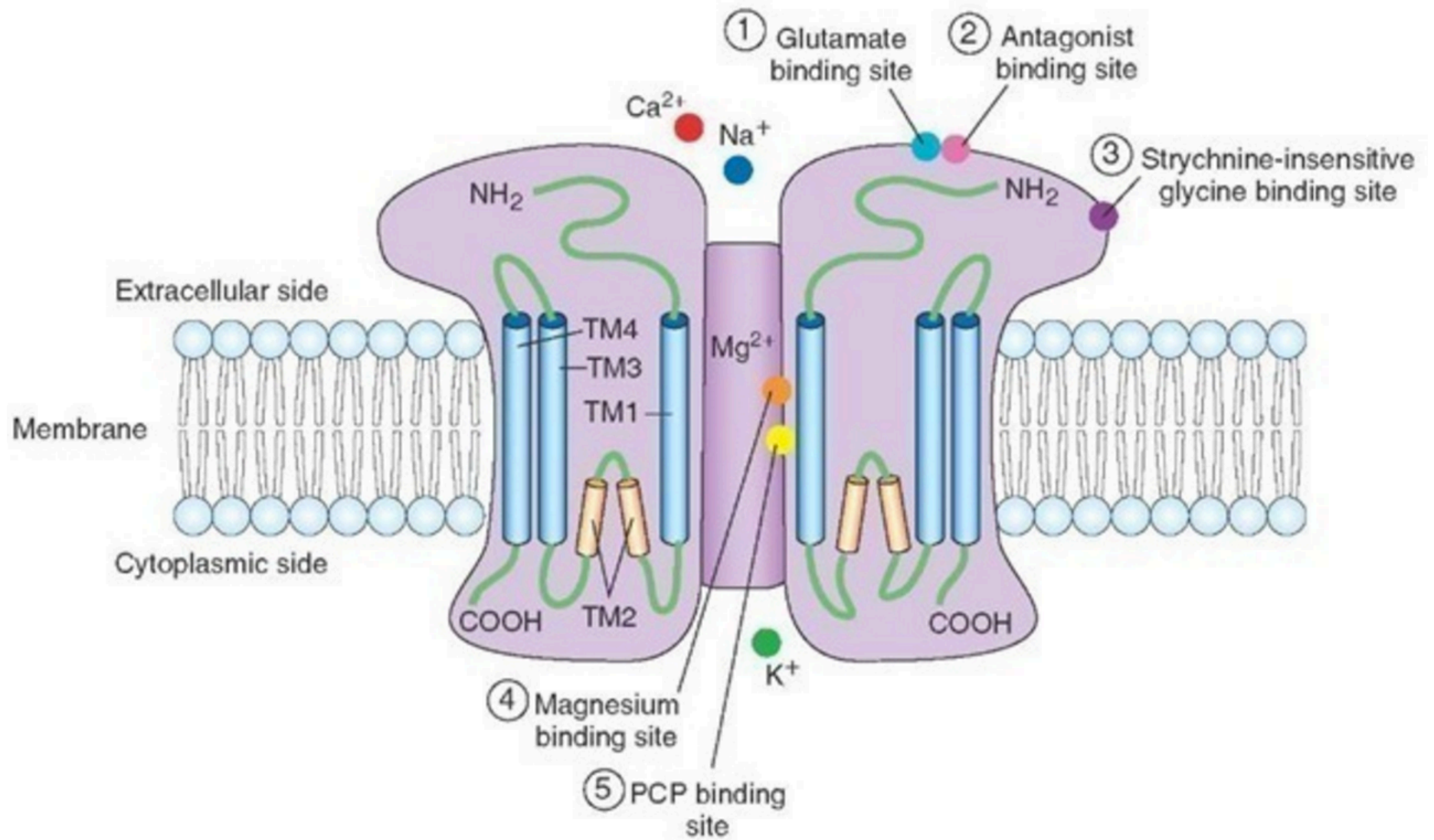
# AMPA receptor structure

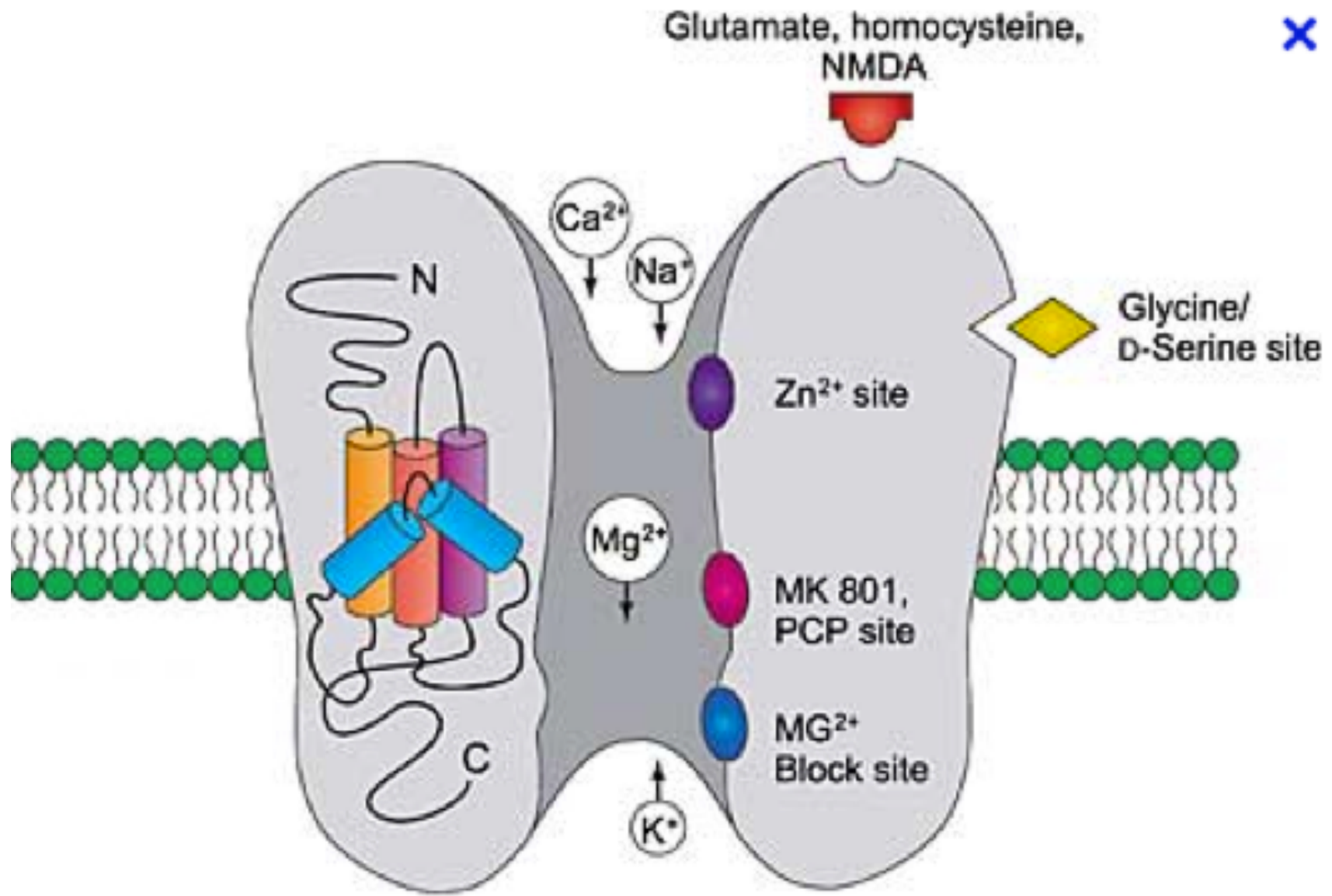
(NMDA, kainate receptors have the same principal structural features)



Also called GluR-1 through 4









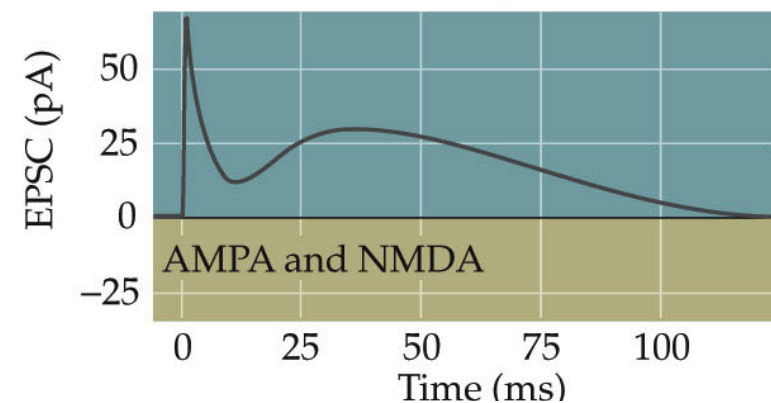
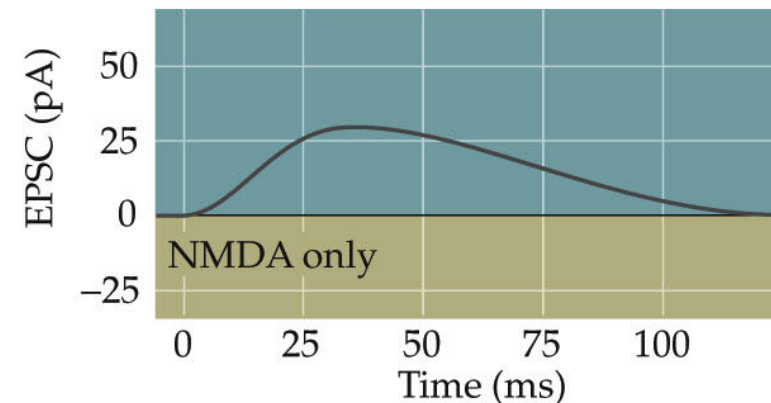
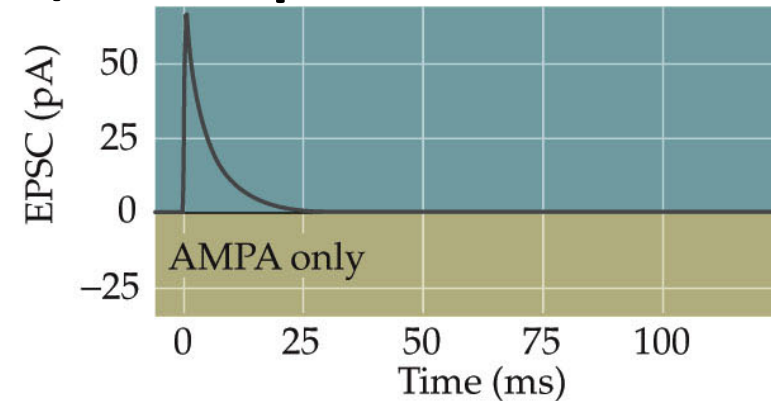
# Синаптические ответы генерируемые AMPA и NMDA рецепторами

AMPA рецепторы – очень быстрое нарастание и спад

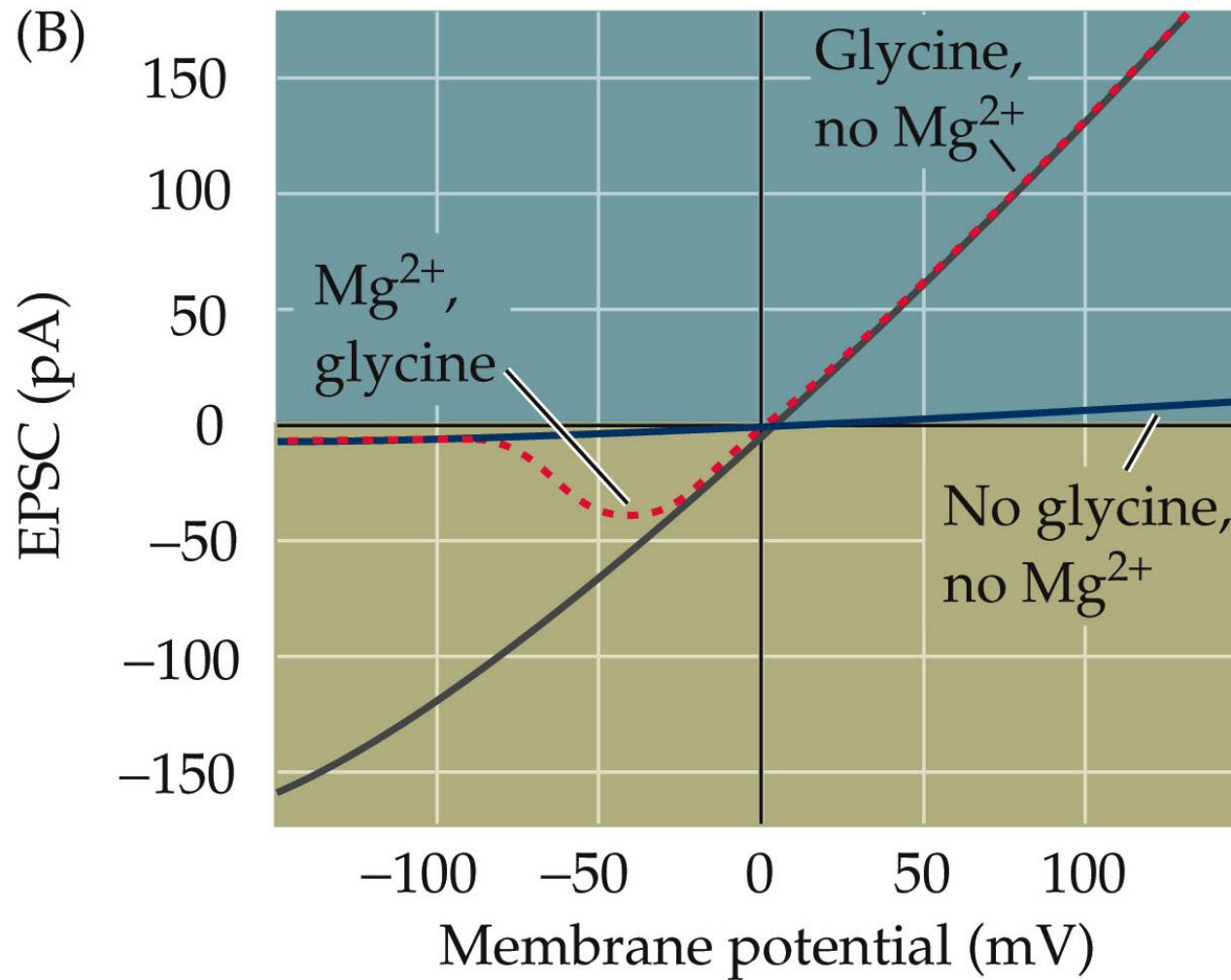
NMDA рецепторы - медленное нарастание и спад

Многие синапсы имеют оба типа глутаматных рецепторов и производят двух-компонентную кинетику

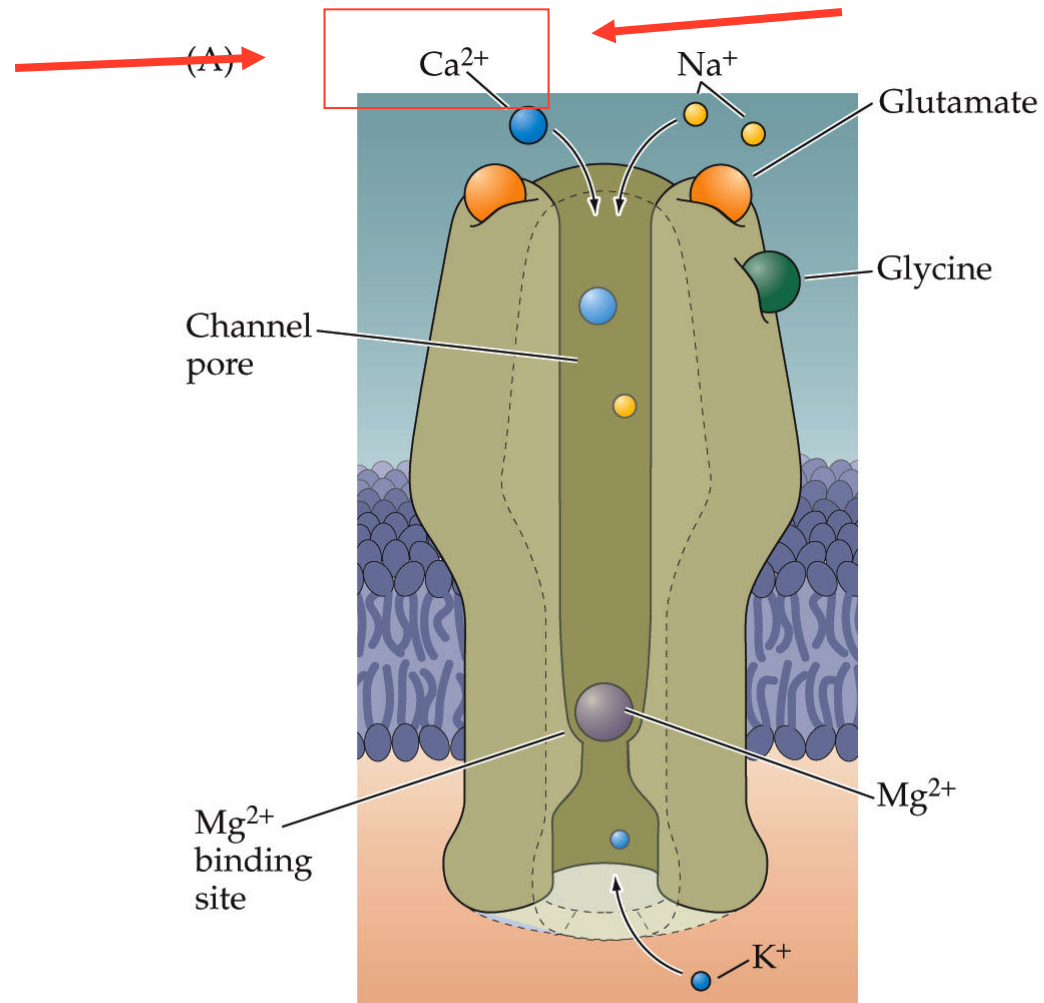
(C)



**NMDA receptors are strongly rectifying because of  $Mg^{++}$  block**  
Coincidence detector in learning and memory



## NMDA receptors are calcium permeable



**NEUROSCIENCE, Fourth Edition, Figure 6.7 (Part 1)**

© 2008 Sinauer Associates, Inc.

This property is particularly significant because calcium is a second messenger that plays many important regulatory roles

# Фармакология глутаматных рецепторов

## **AMPA**

agonists: AMPA, glutamate

antagonists: CNQX, NBQX

## **Kainate**

agonists: kainic acid, glutamate

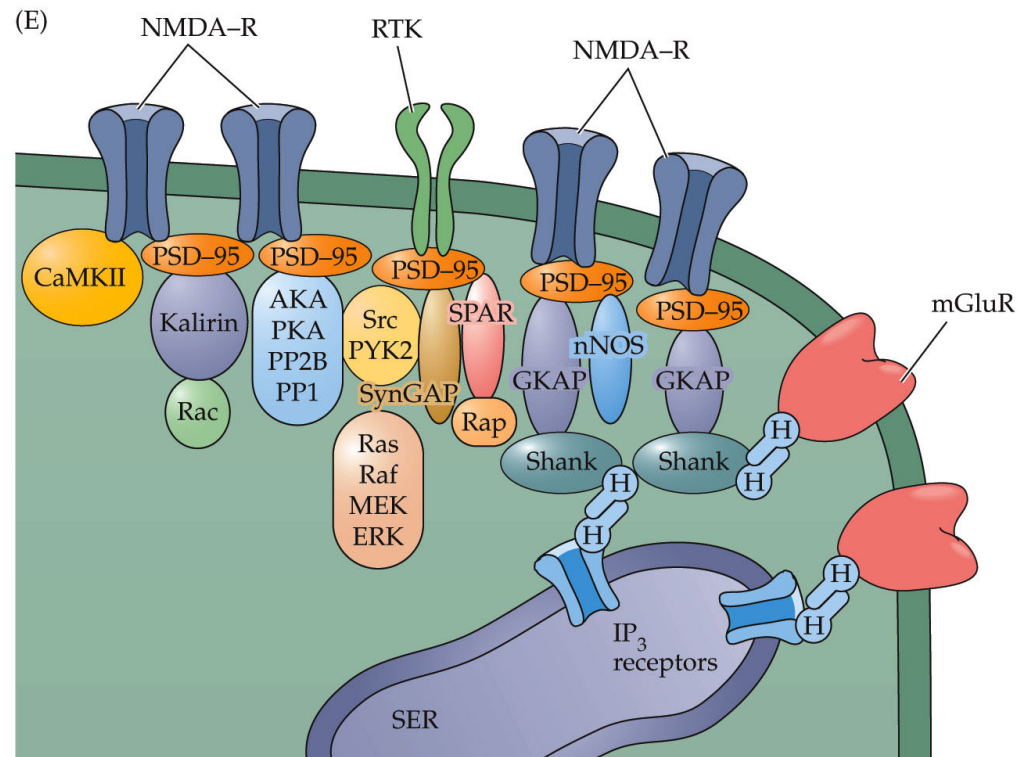
antagonist: CNQX

## **NMDA**

agonists: glutamate, aspartate, NMDA

antagonists: D-APV, D-AP5, MK-801, Ketamine,  
Phencyclidine, ( $Mg^{++}$ )

# Glutamate receptors are physically tethered at synapses and associated with signaling molecules



NEUROSCIENCE, Fourth Edition, Box 7B (2, Part 2)

© 2008 Sinauer Associates, Inc.

AMPA receptors interact with GRIP, SAP-97 and others

Synaptic strength and  $Ca^{++}$  permeability of glutamate postsynaptic complexes is a major determinant of synaptic plasticity, and probably underlies learning and memory - stay tuned



# NMDA рецепторы $Mg^{2+}$ блок



Philippe Ascher

Linda Nowak

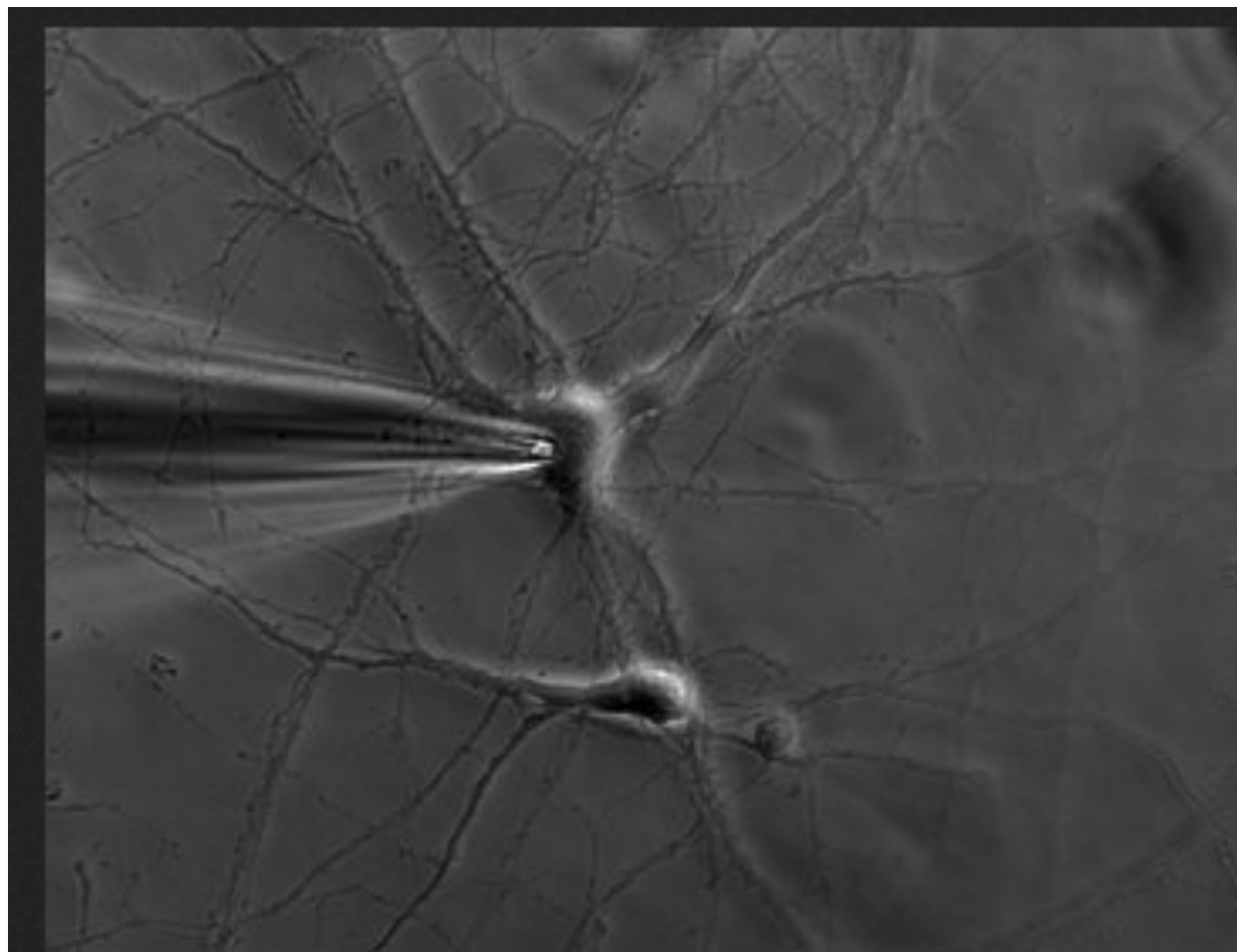
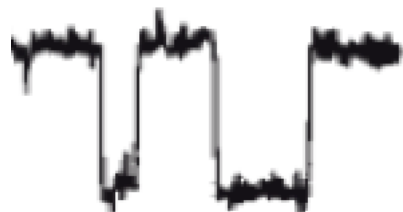
Piotr Bregestovski

## Conditions:

-whole-cell and  
outside-out patches

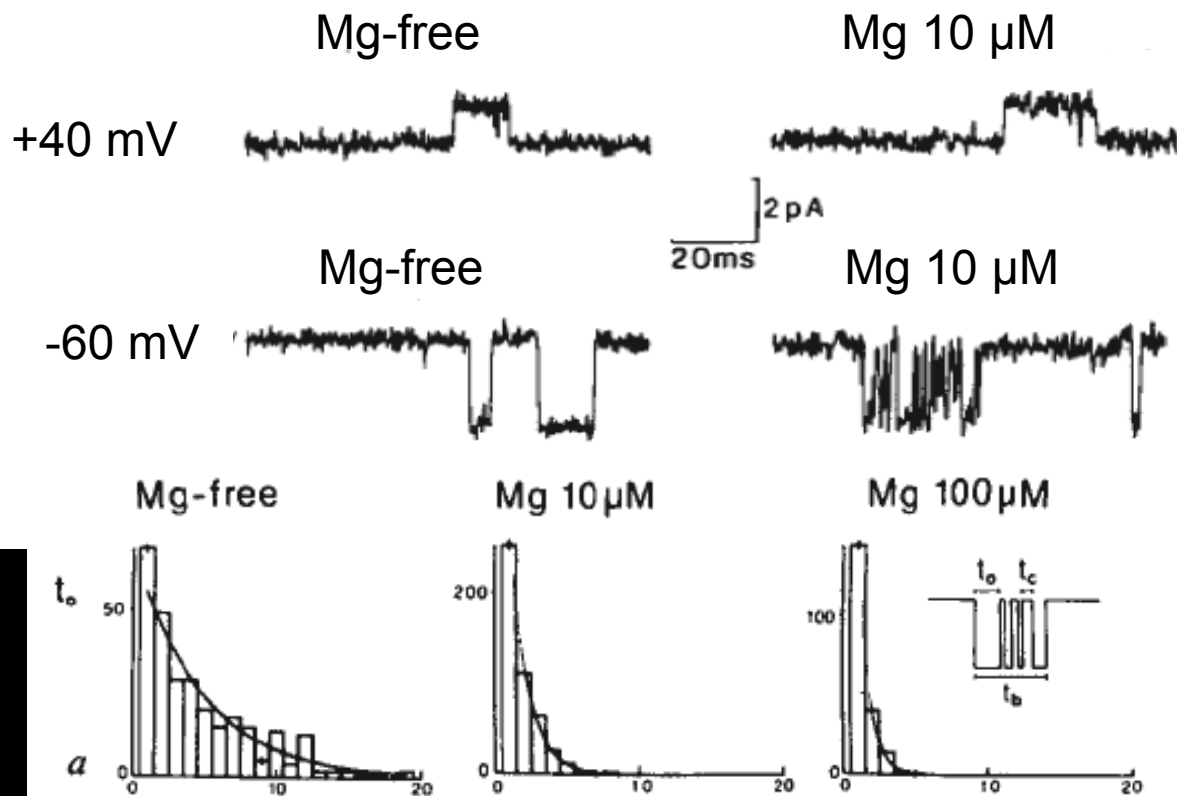
-very slow perfusion

Токи одиночных каналов

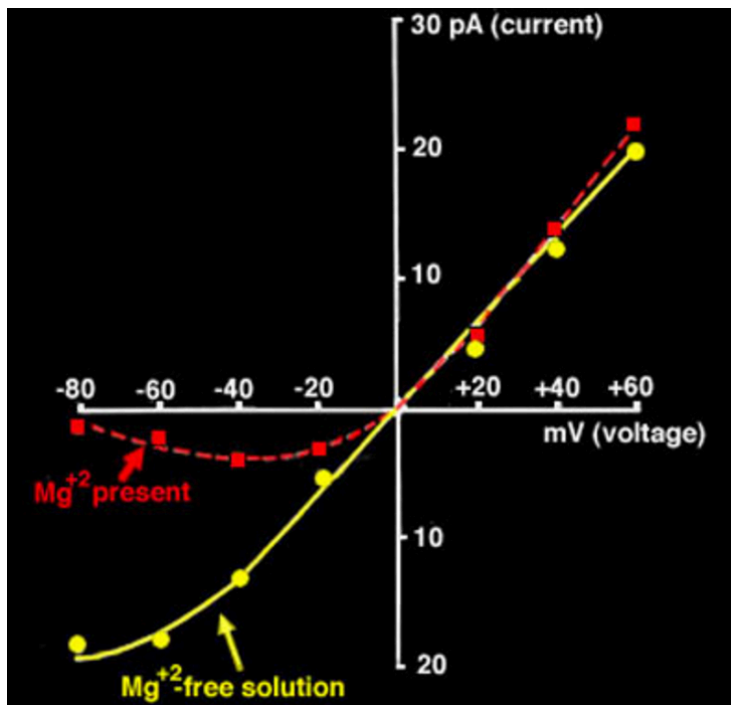


# Потенциал-зависимый блок NMDA каналов $Mg^{2+}$

Активность  
одиночных каналов

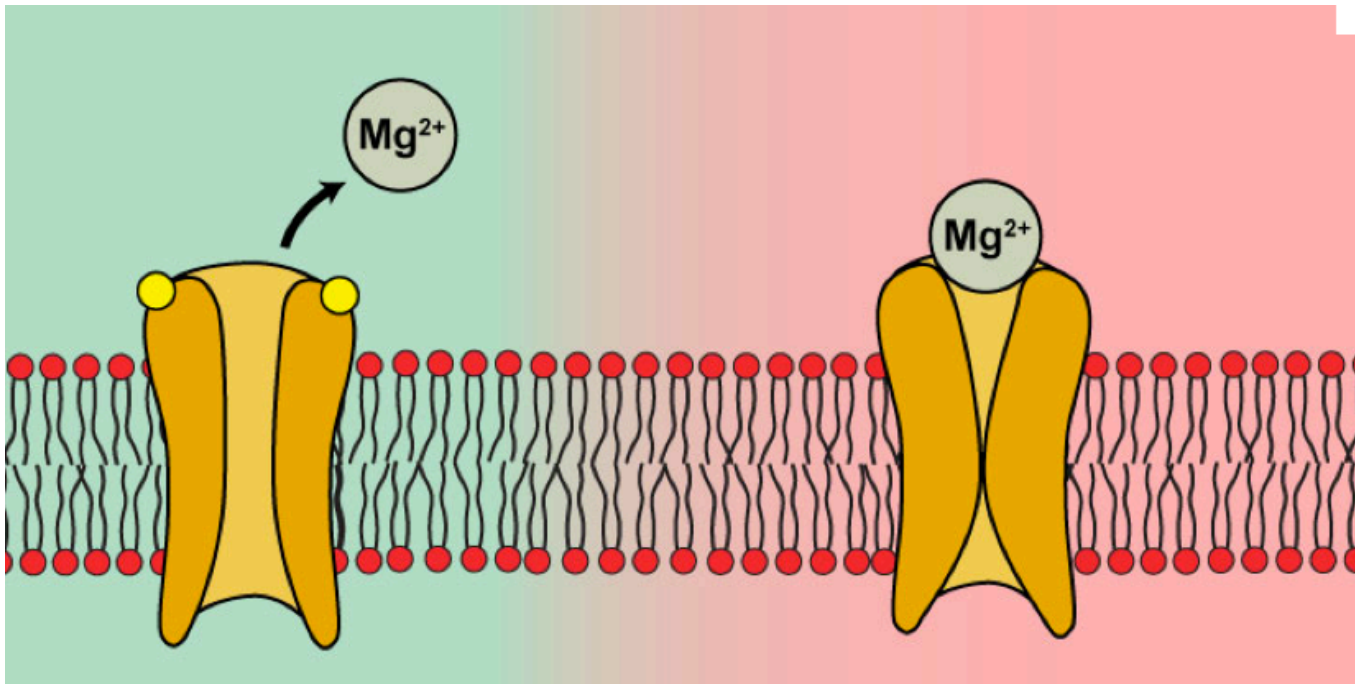


Гистограммы времен открытого  
состояния



Nowak, Bregestovski, Ascher et al., Nature, 1984

# NMDA receptor operates as coincidence detector



Depolarized potential

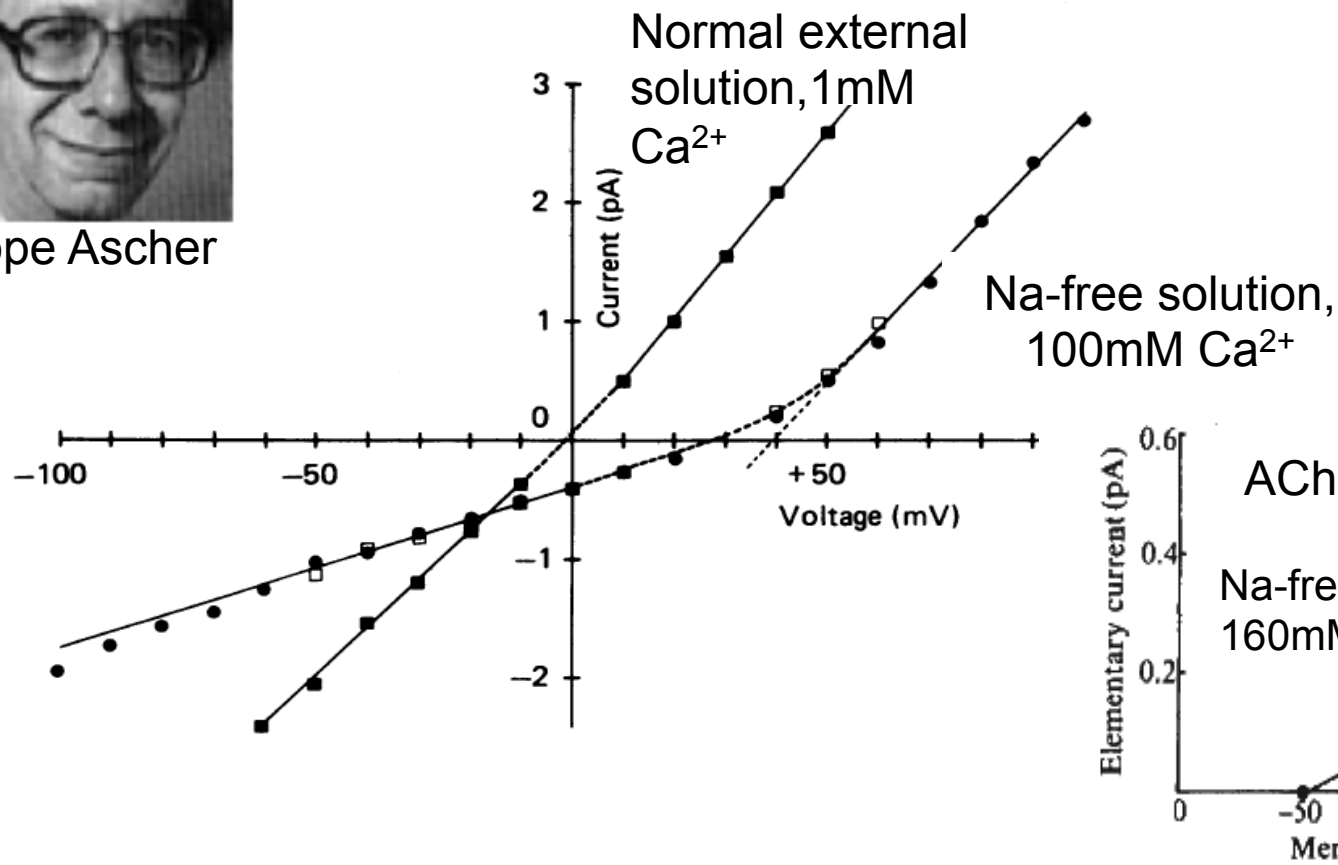
Negative potential



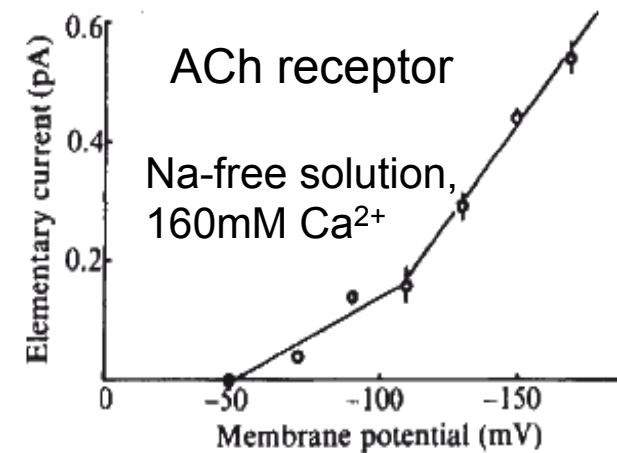


Philippe Ascher

## NMDA receptor is highly permeable for $\text{Ca}^{2+}$



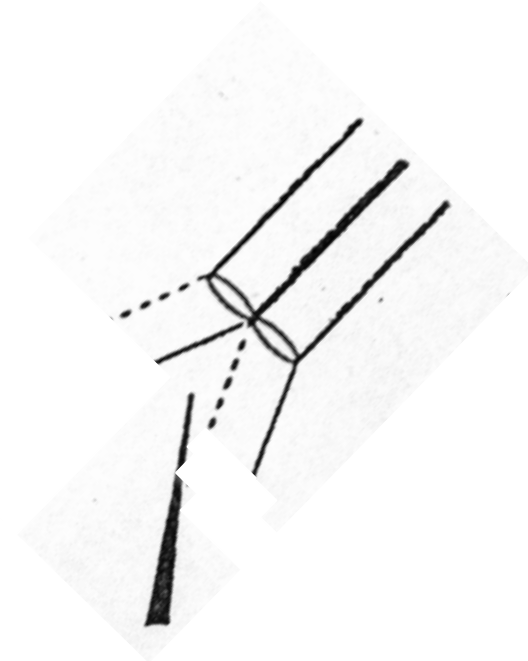
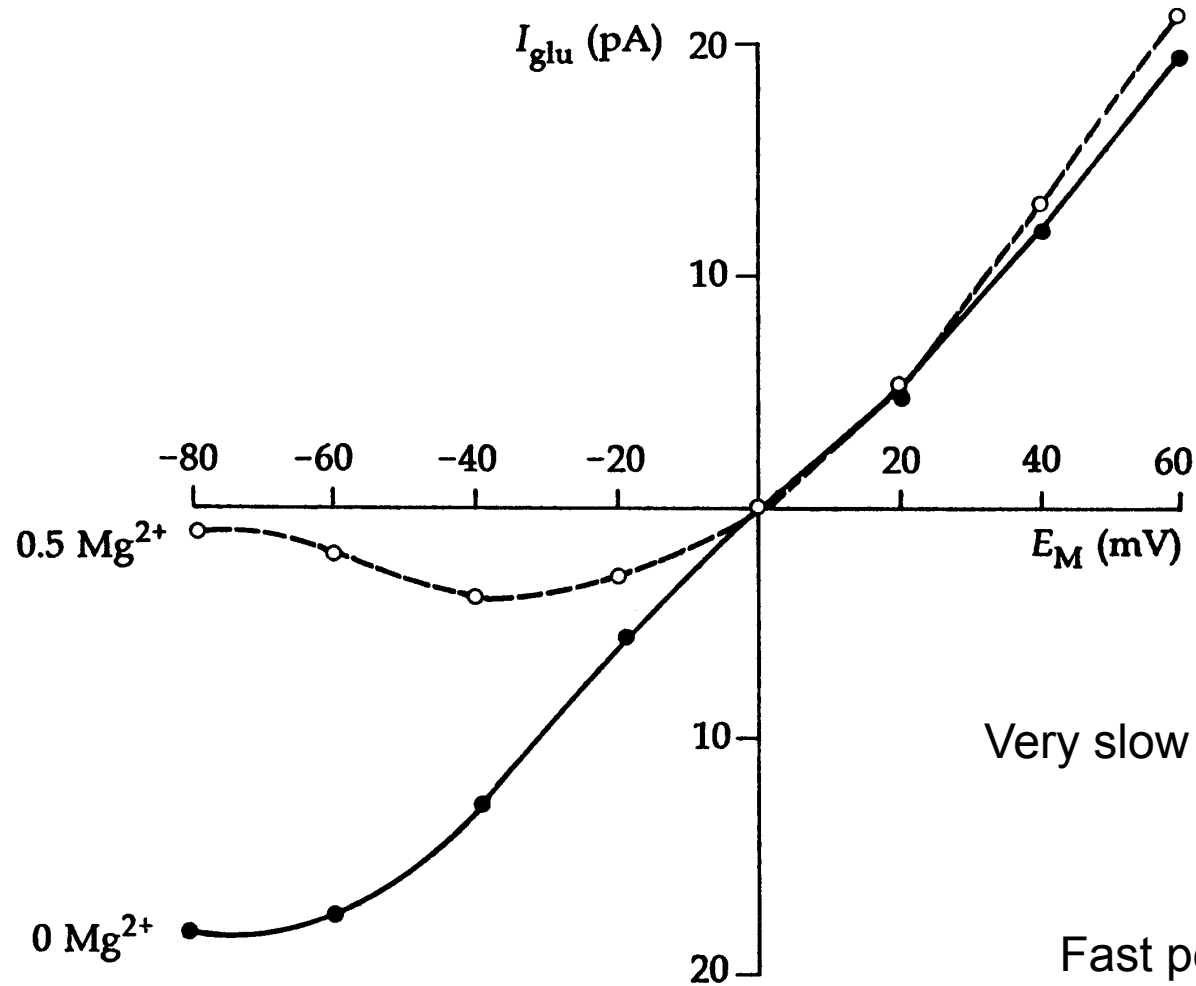
Linda Nowak



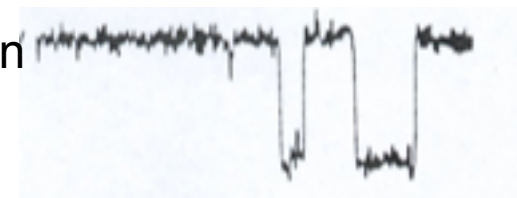
Mayer ML, Westbrook GL. Permeation and block of N-methyl-D-aspartic acid receptor channels by divalent cations in mouse cultured central neurones. **J Physiol.** 1987 394:501-27.

Ascher P, Nowak L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. **J Physiol.** 1988 May;399:247-66.

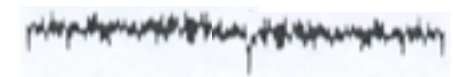
Bregestovski, P. D., R. Miledi, and I. Parker. "Calcium conductance of acetylcholine-induced endplate channels." (1979): 638-639.



Very slow perfusion



Fast perfusion



## Puzzles:

- extremely small whole-cell current amplitude
- spontaneous activity
- complete disappearing of spontaneous and NMDA-induced activity at fast perfusing

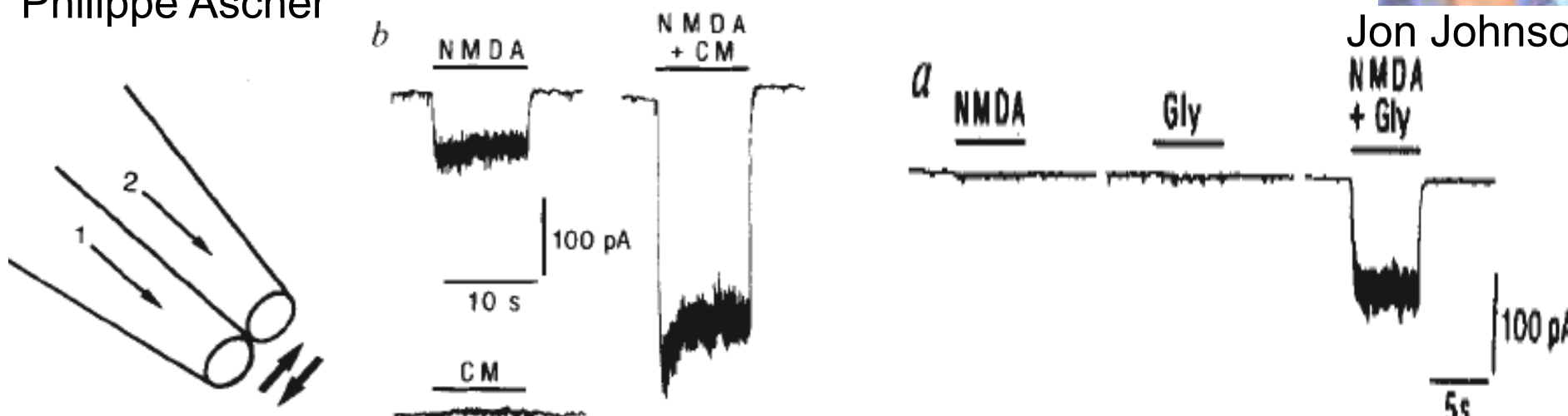


Philippe Ascher

## Глицин – ко-активатор NMDA рецепторов



Jon Johnson



- Глицин – ко-агонист NMDA рецепторов
- серин также вызывает потенциацию NMDA рецепторов

NMDA рецептор – уникальный пример двойной регуляции: негативный контроль  $Mg^{2++}$  и позитивный контроль глицином

Johnson & Ascher, Nature, Feb 5, 325:529, 1987



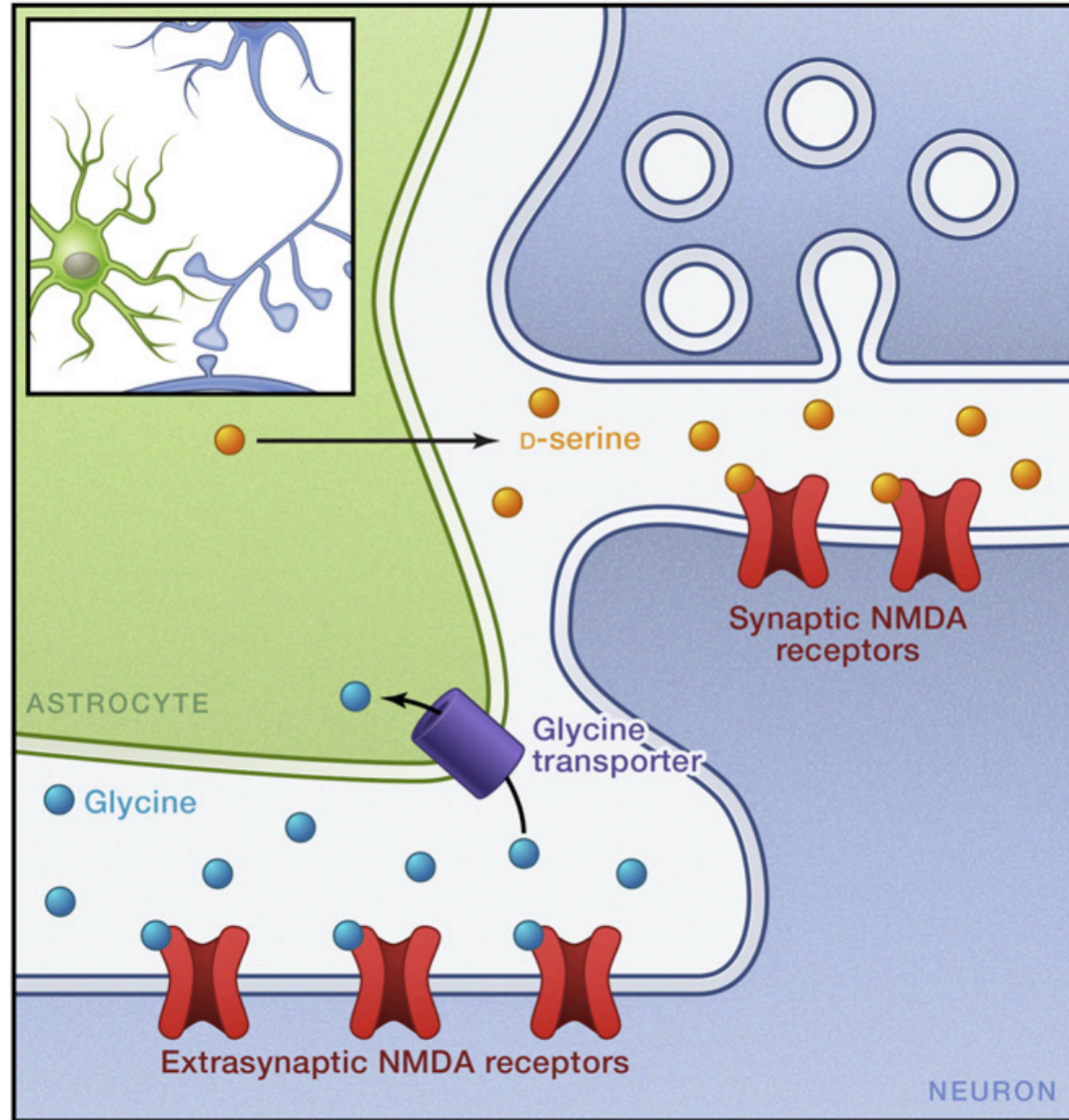
Jon Johnson 2004, Marseille



## Era 3: Synaptic and Extrasynaptic NMDA Receptors Use Different Coagonists



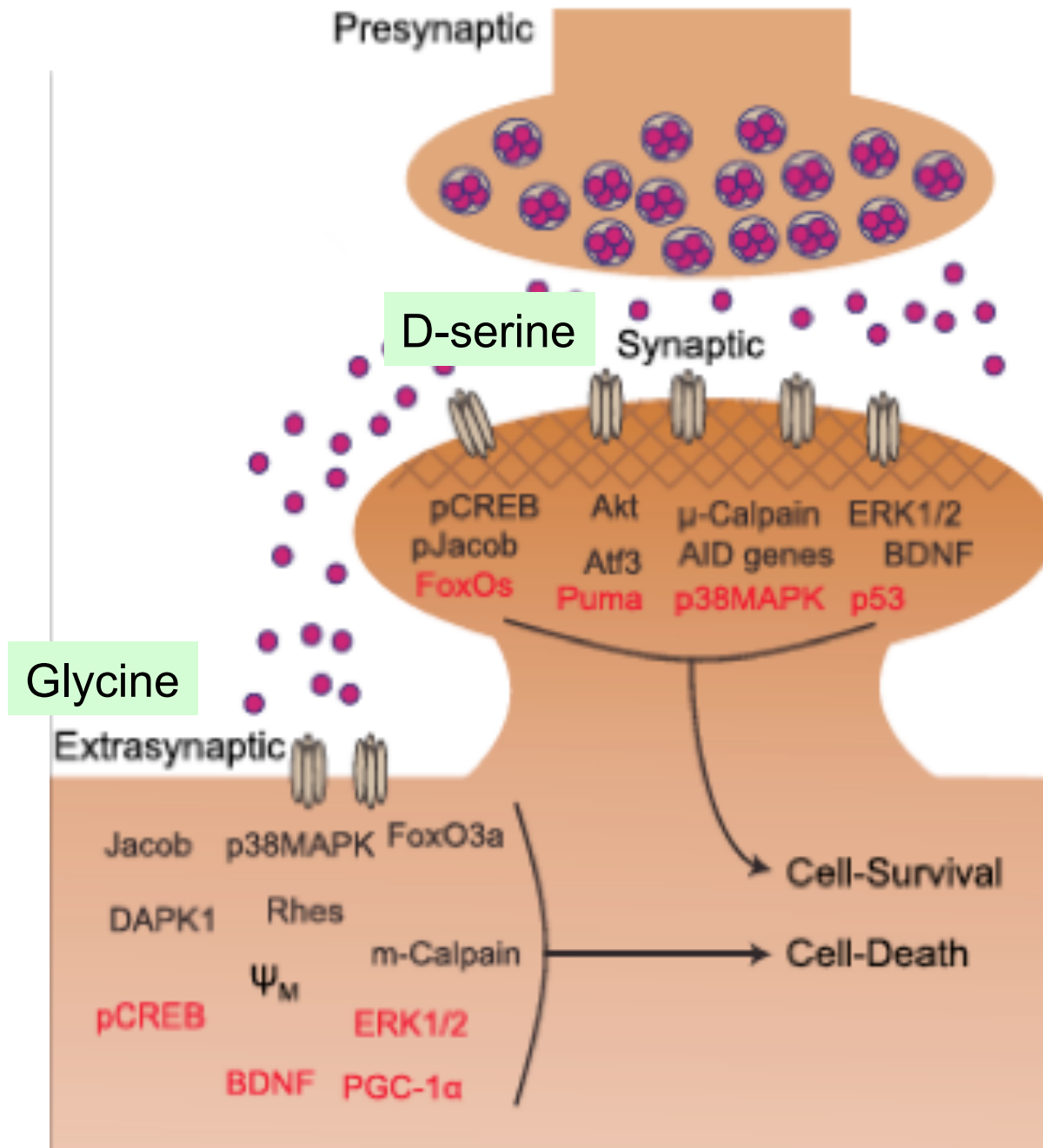
Solomon Snyder



J-P Mothet

Papouin, Mothet et al. Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors are gated by different endogenous coagonists. **Cell**, 2012 150(3):633-46.

# Important difference in function of synaptic and extrasynaptic NMDARs



Philippe Ascher - 2003



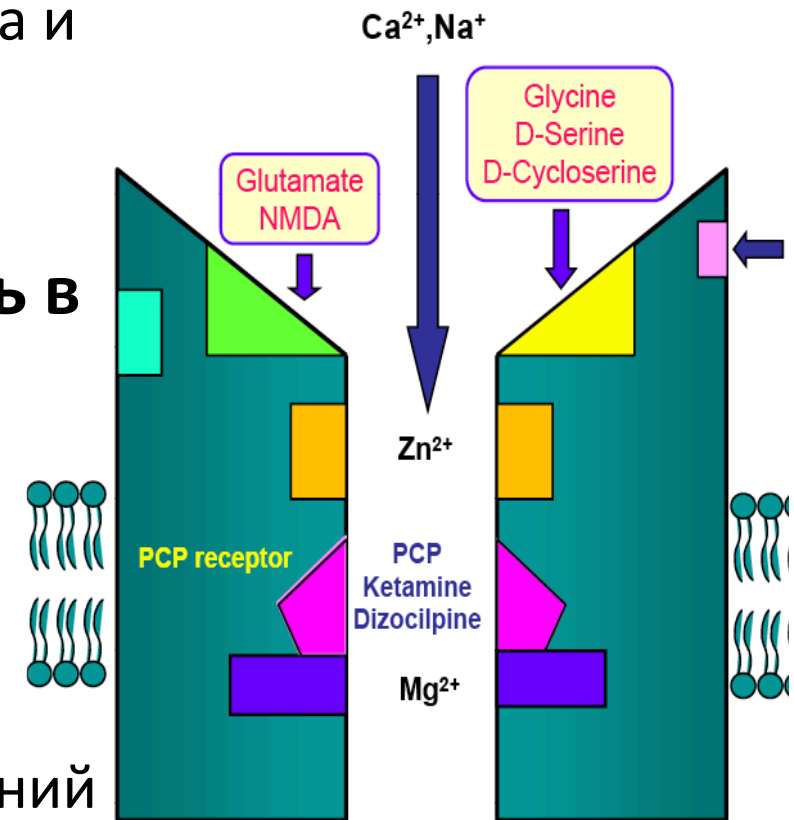
## Beauty of NMDA receptor:

- $Mg^{2+}$  block
- glycine – activator
- high  $Ca^{2+}$  permeability



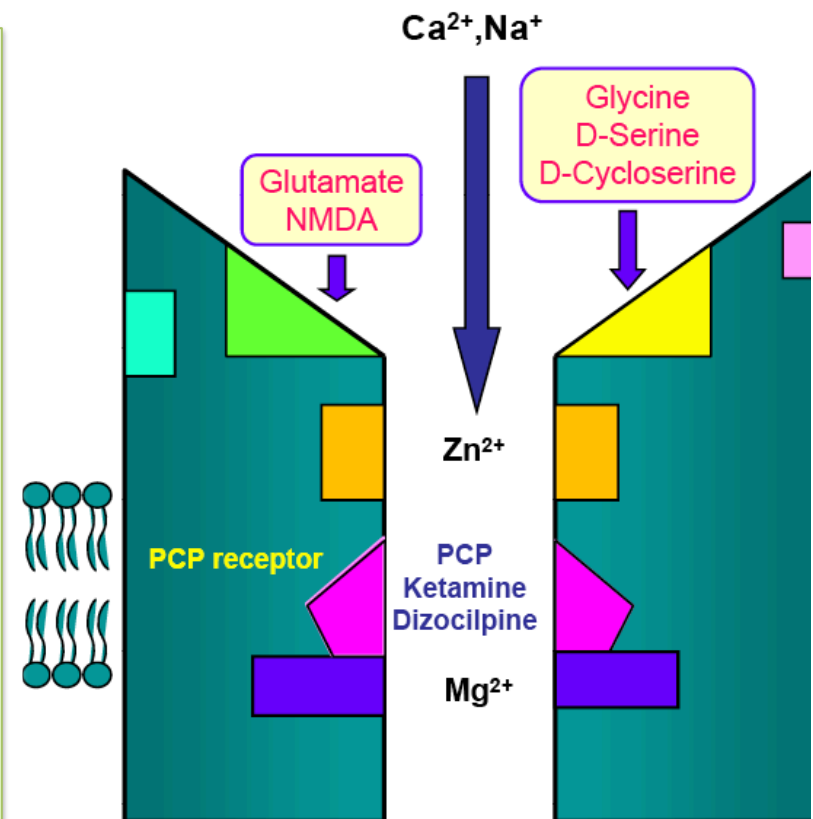
# Уникальная сложность НМДА рецептора

- детектор совпадения: для генерации тока требуется действие агониста, коагонста и деполянизация
- -высоко проницаемый для  $\text{Ca}^{2+}$
- **НМДА р-р играет ключевую роль в**
  - синаптической передаче;
  - синаптической пластичности
  - памяти и обучении
  - проявлении многих нейропсихиатрических и нейродегенеративных заболеваний
- -является мишенью для лечения:
  - болезни Альцгеймера (мемантин)
  - шизофрении (кетамин, РСР)



# НМДА р-р играет ключевую роль в:

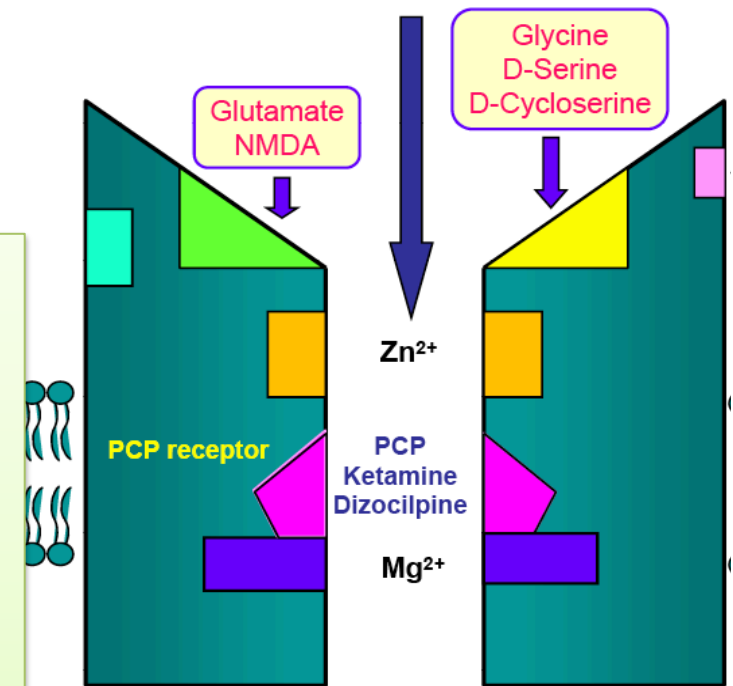
- синаптической передаче;
- -синаптической пластичности
- - памяти и обучении
- - проявлении многих нейропсихиатрических и -- нейродегенеративных заболеваний
- **Является мишенью для лечения:**
  - болезни Альцгеймера (мемантин)
  - шизофрении (кетамин, РСР)



# Уникальная сложность НМДА рецептора

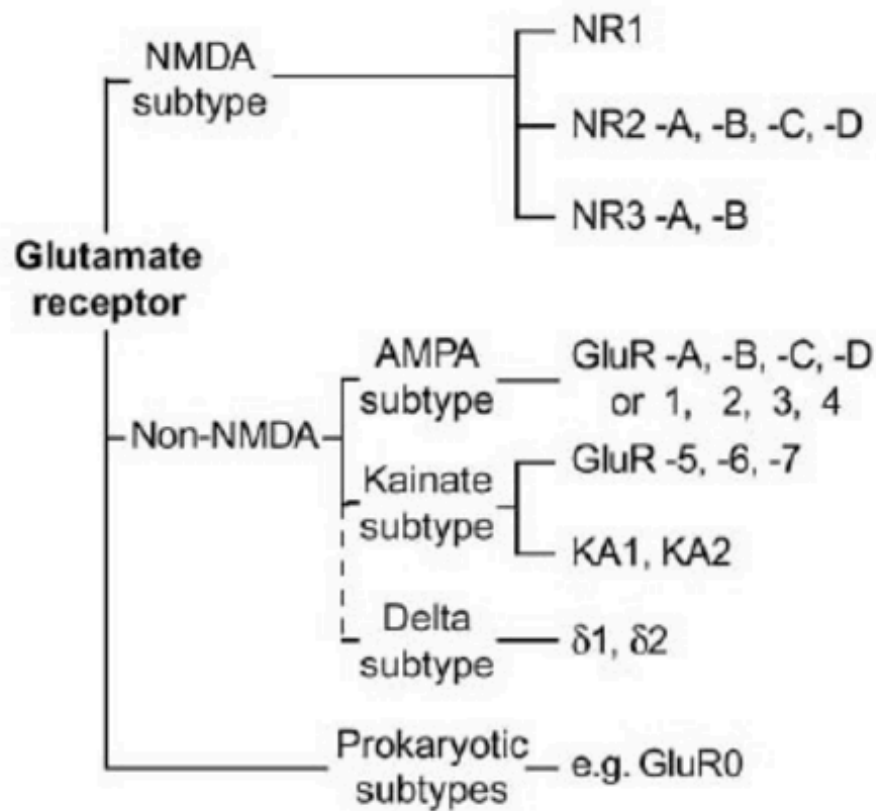
Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>

- Для активации требуется агонист (глутамат и коагонист)
- Детектор совпадения (для генерации тока требуется действие агониста, коагонста и деполянизация)
- Высоко проницаемый для Ca<sup>2+</sup>

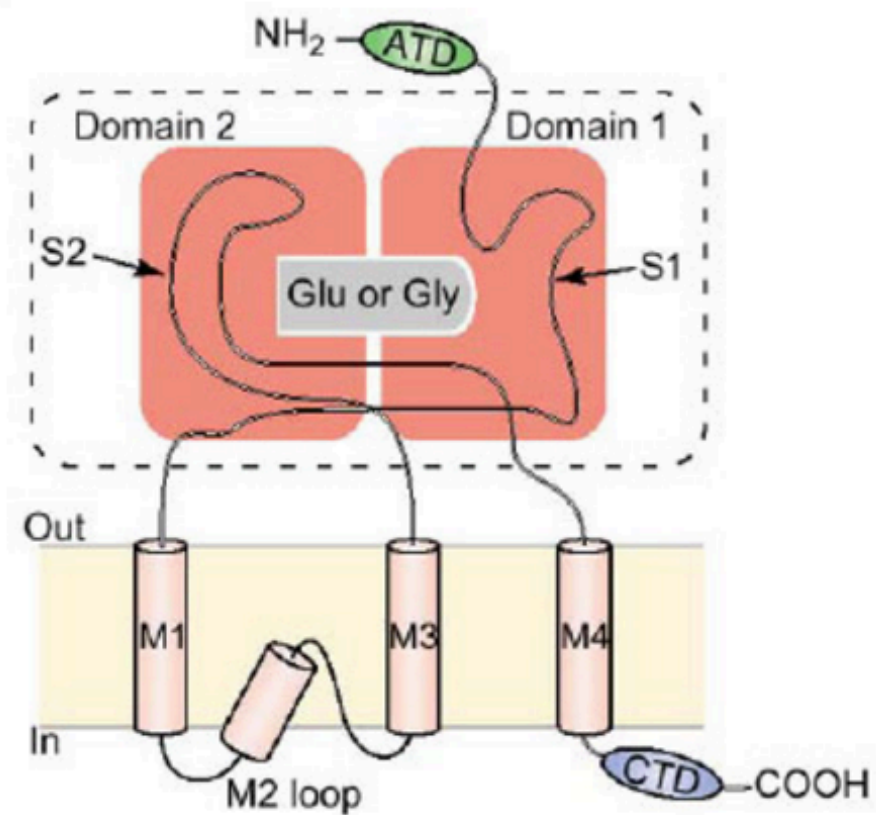


# Семейства НМДА и не-НМДА рецепторов

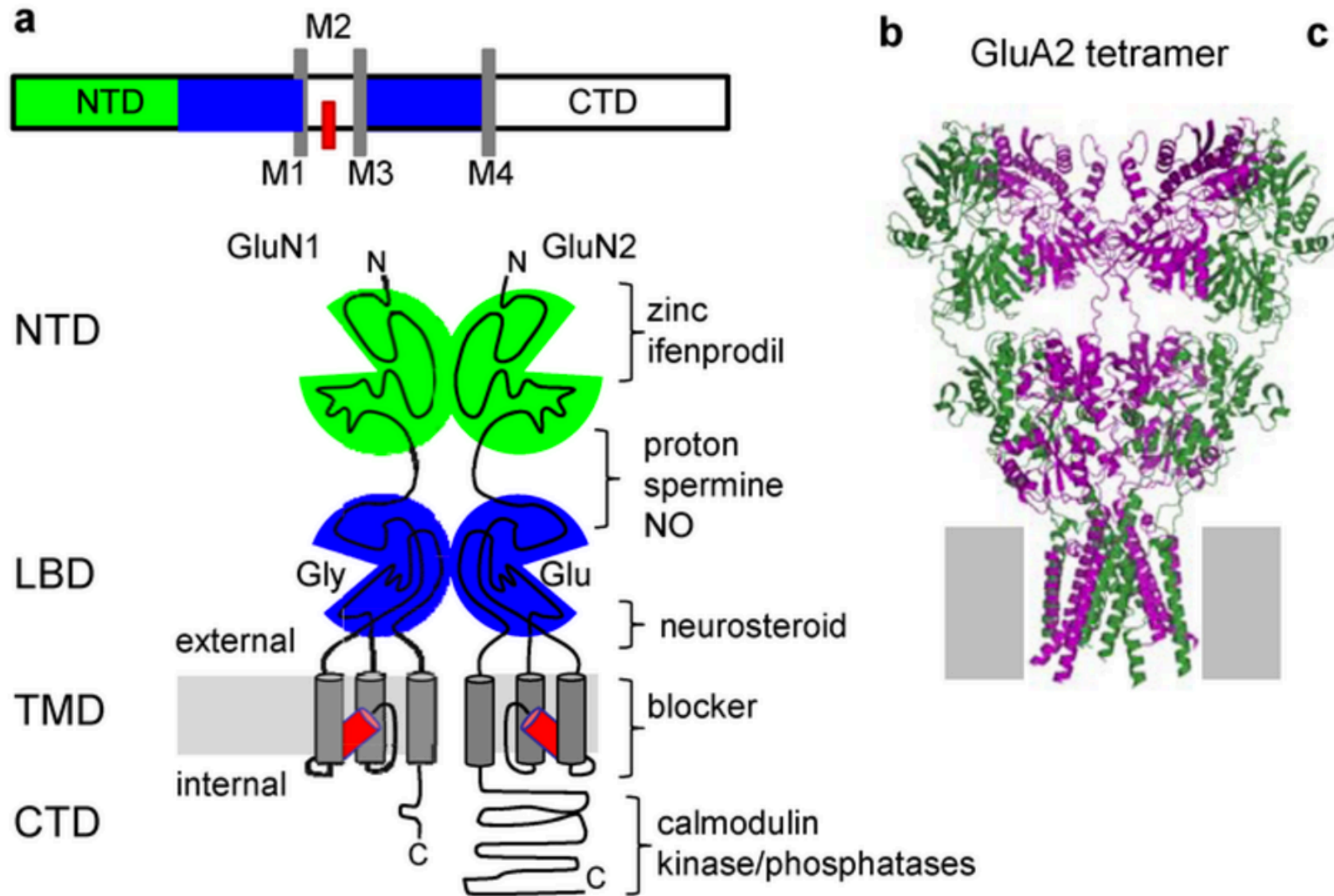
A



B

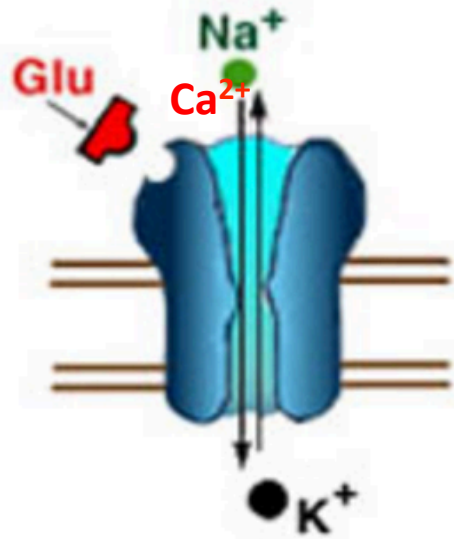


# Архитектура NMDA рецепторов



# На память

non NMDA receptor



NMDA receptor

