

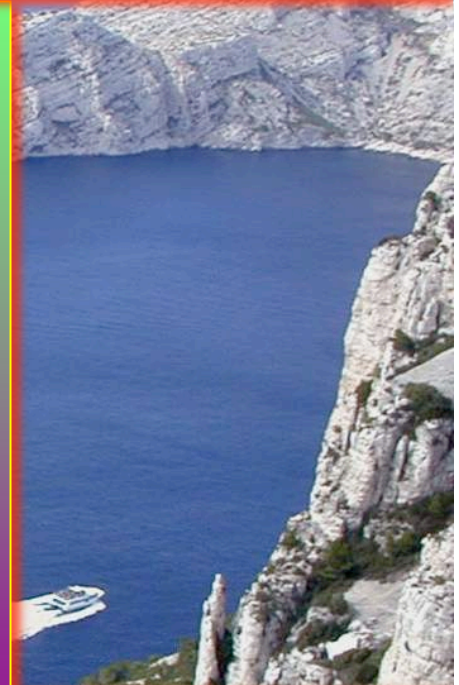
Молекулярная организация нервной системы
**Лекция 12: Молекулярная архитектура
потенциал-управляемых ионных каналов**

**Казанский медицинский
университет**

Казань

Лекция

ноябрь 2015



П.Д. Брежестовский

Институт динамики мозга

Факультет медицины

Университет Aix-Marseille

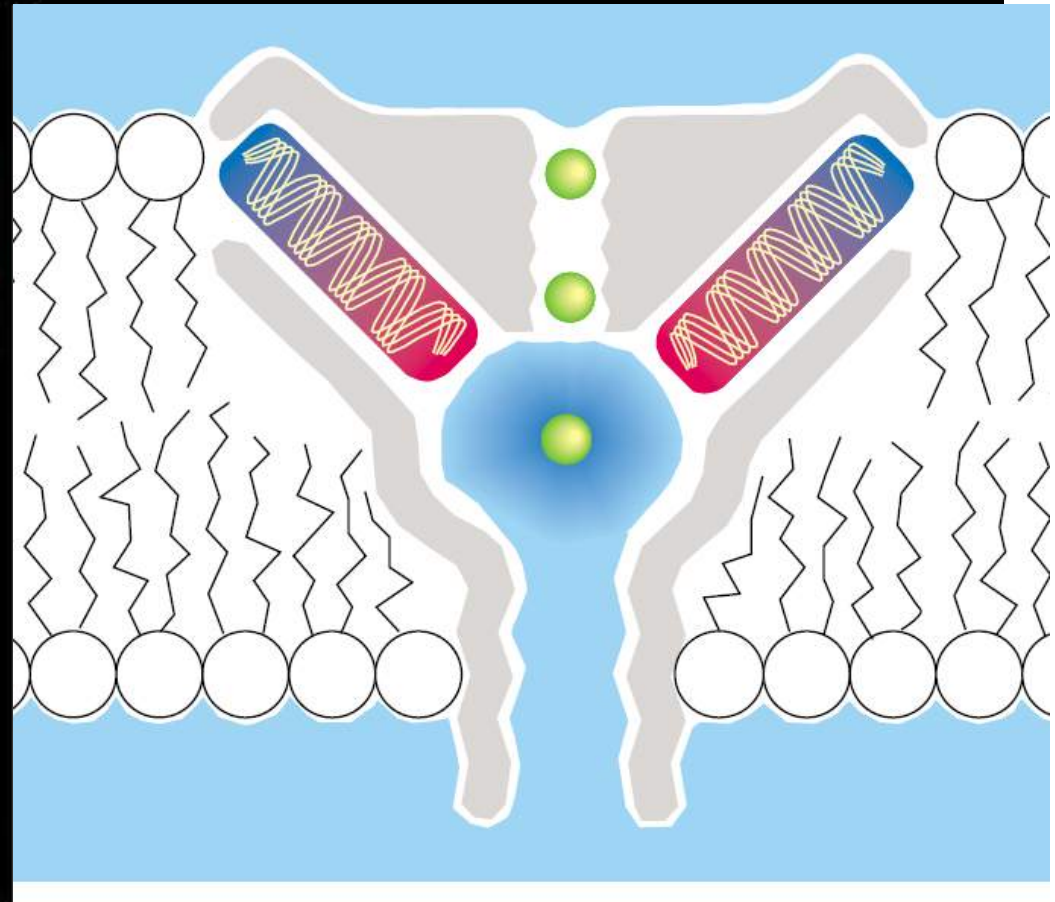
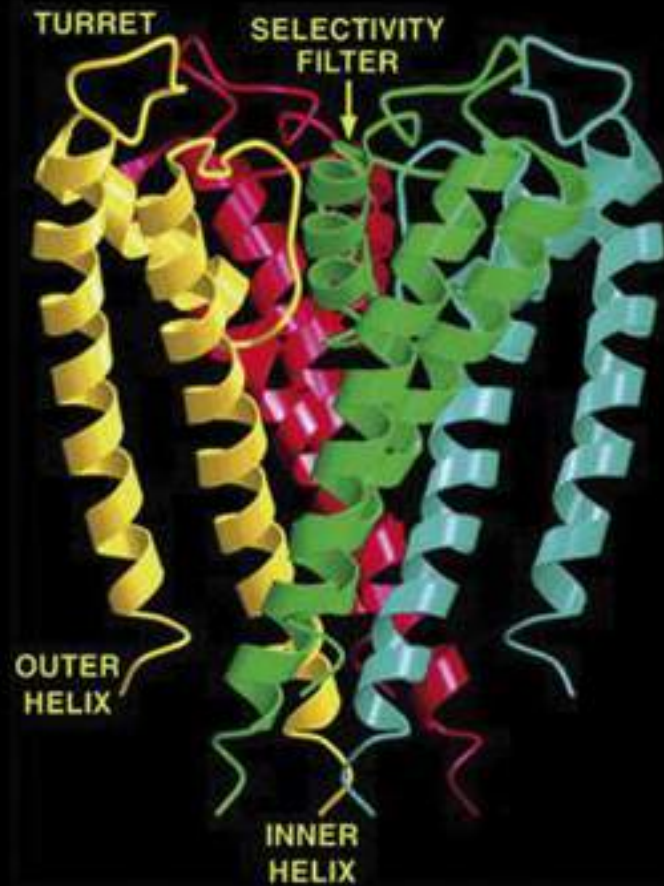
Марсель, Франция

pbreges@gmail.com

План

- Калиевые каналы: молекулярная организация
- Молекулярные основы ионной избирательности
- Калиевые каналы: кристаллическая структура
- Натриевые каналы: кристаллическая структура
- Некоторые болезни из-за нарушения каналов

The crystal structure of K⁺ channel



MacKinnon R. Nobel price - 2003

Albert Lasker Basic Medical Research Award

Clay Armstrong, Bertil Hille and Roderick MacKinnon

For elucidating the functional and structural architecture of ion channel proteins, which govern the electrical potential of membranes throughout nature, thereby generating nerve impulses and controlling muscle contraction, cardiac rhythm, and hormone secretion. (More >)



Clay Armstrong

University of Pennsylvania
School of Medicine



Bertil Hille

University of Washington
School of Medicine



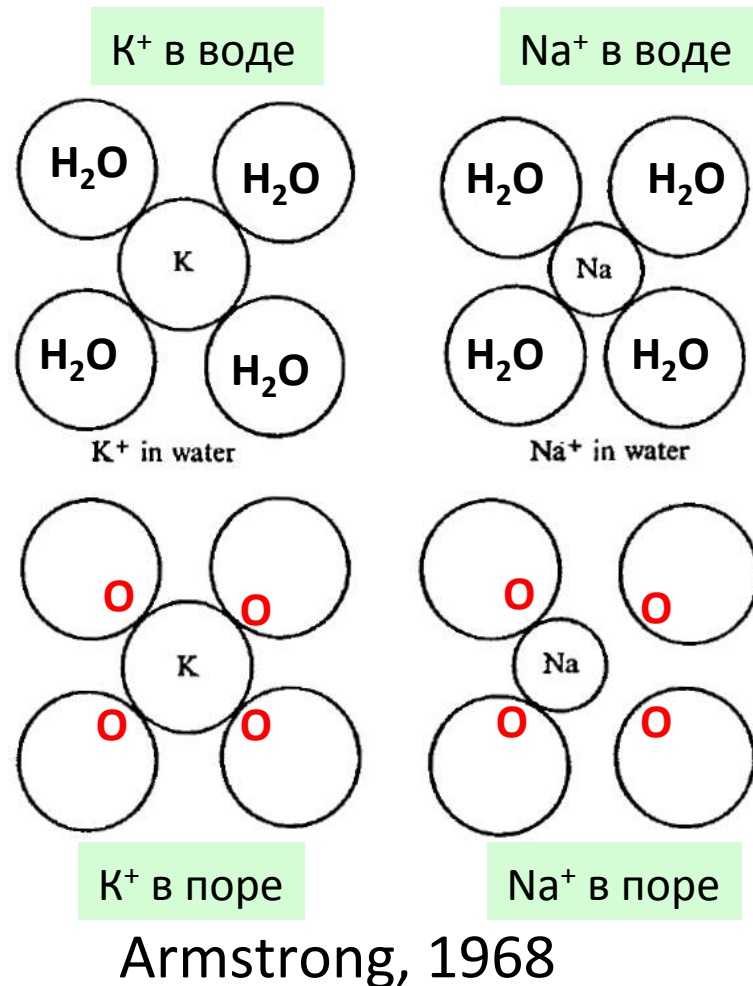
Roderick MacKinnon

The Rockefeller University
Howard Hughes Medical
Institute

Премия Альберта Ласкера 1999

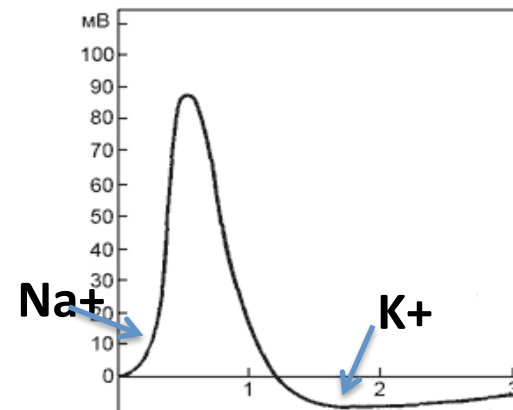
Идея о механизме избирательности каналов

Идея - 1968



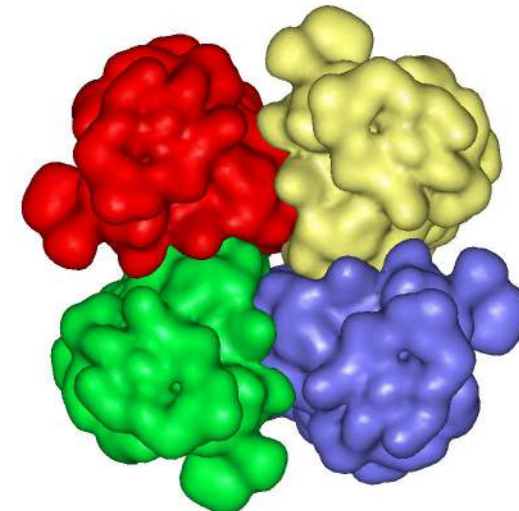
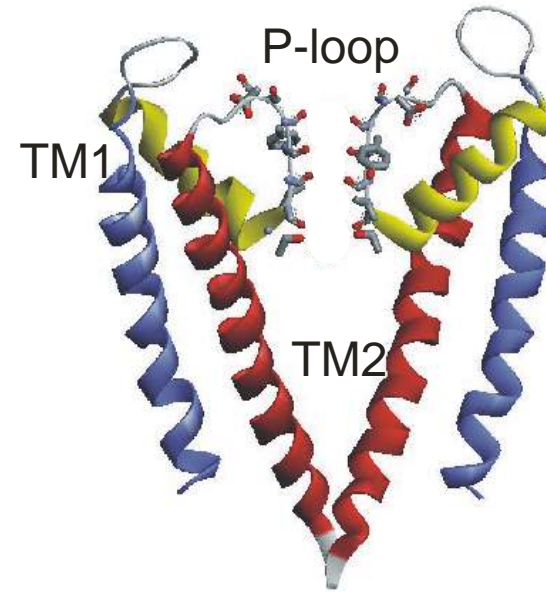
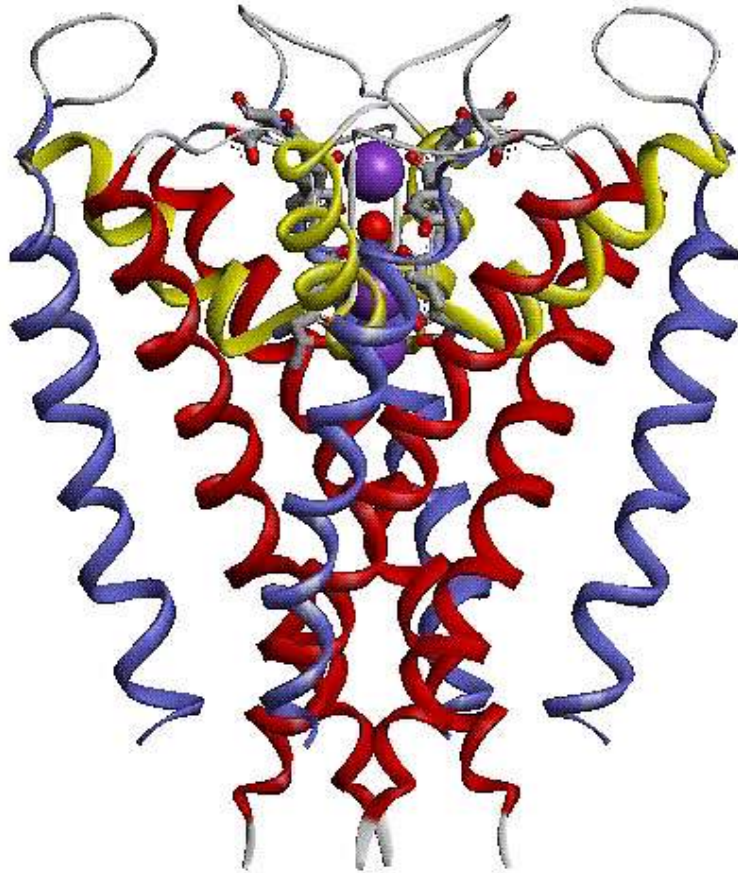
Хилле и Армстронг

- ионные каналы для натрия и калия — это разные белковые образования;
- ионные каналы имеют распахивающиеся (swinging) ворота, открывающиеся в результате кратковременной конформации белковой макромолекулы;
- ионная избирательность достигается благодаря устройству ионной поры

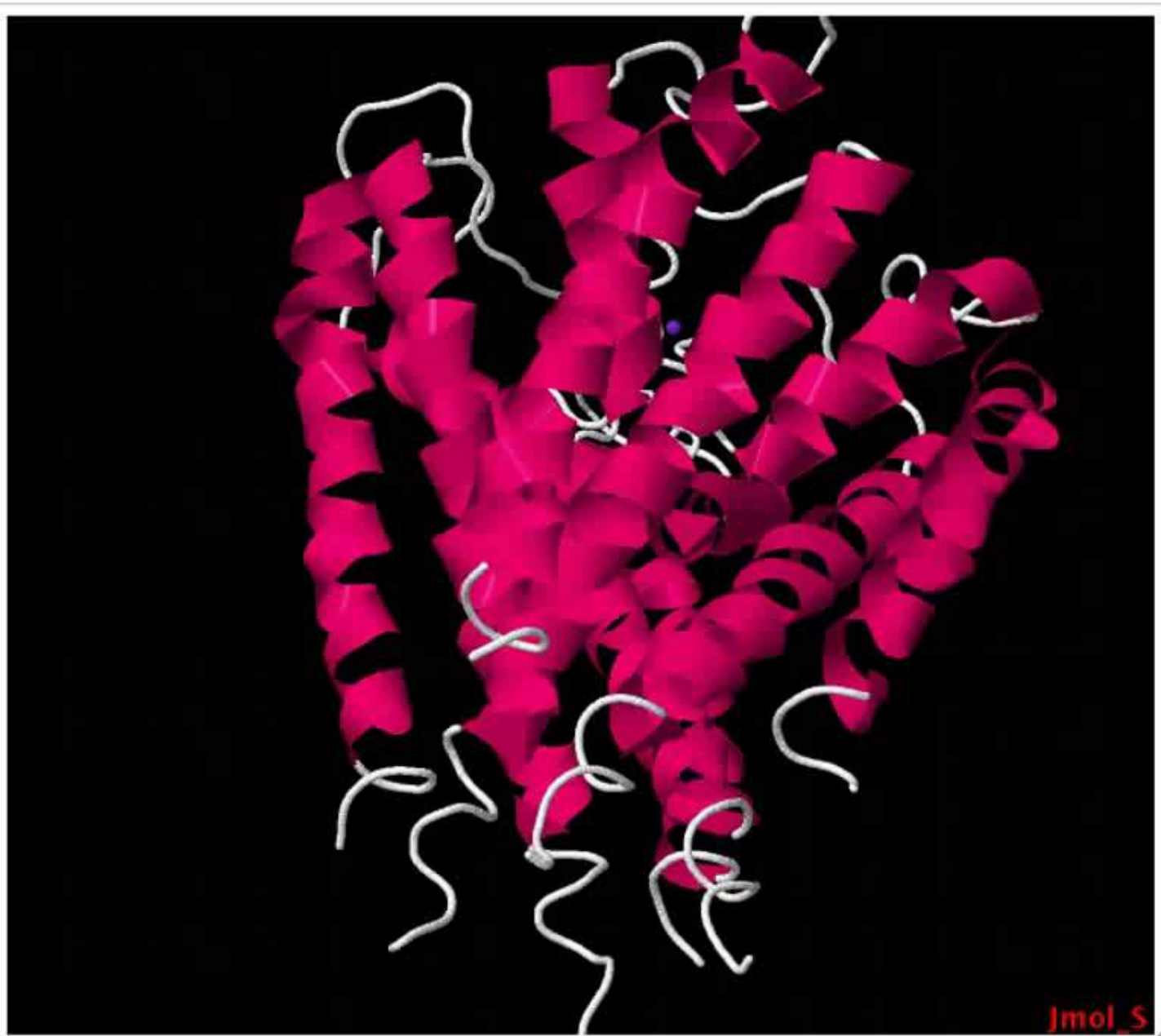


Crystal Structure of the Streptomyces K⁺ Channel

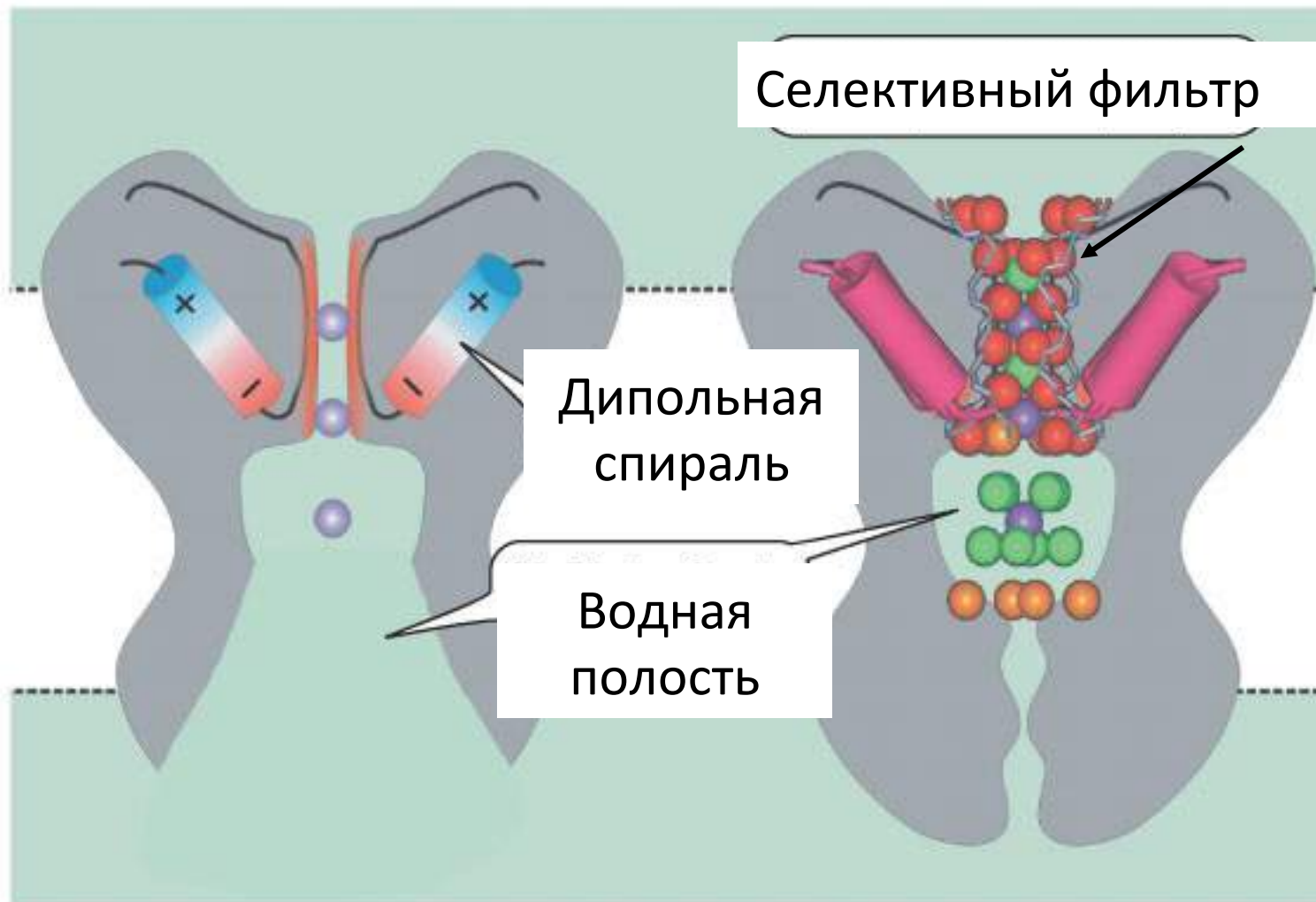
Doyle et al. 1998



- KcsA – тетрамер (формируется 4-мя субъединицами)
- Каждая субъединица имеет 2 ТМ сегмента
- Селективный фильтр формируется петлями расположенными в верхней части канала

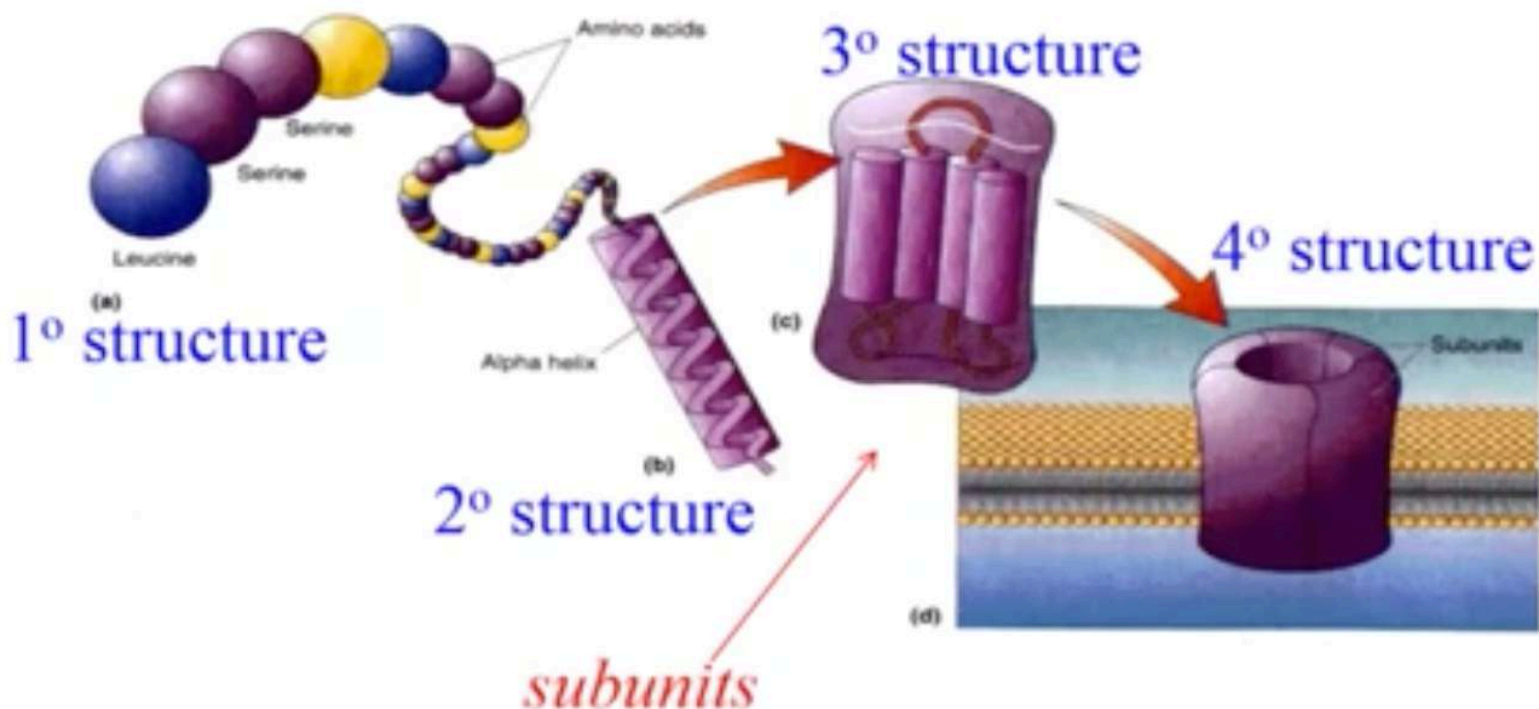


Потенциал-управляемый калиевый канал. Структурная схема



Натриевые каналы: молекулярная организация

Ионные каналы – мультимерные
трансмембранные белки



Ключевые свойства Na^+ каналов

- 1- Потенциал-зависимая активация.
- 2- Быстрая инактивация.
- 3- Высокая избирательность к ионам Na^+

Какие молекулярные блоки определяют эти свойства?

Аминокислотная последовательность натриевого канала



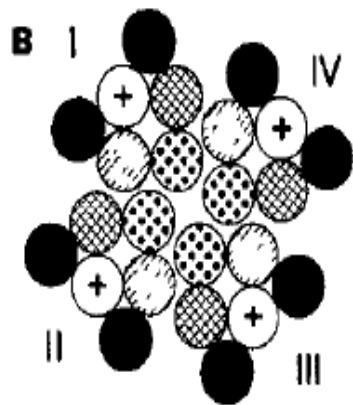
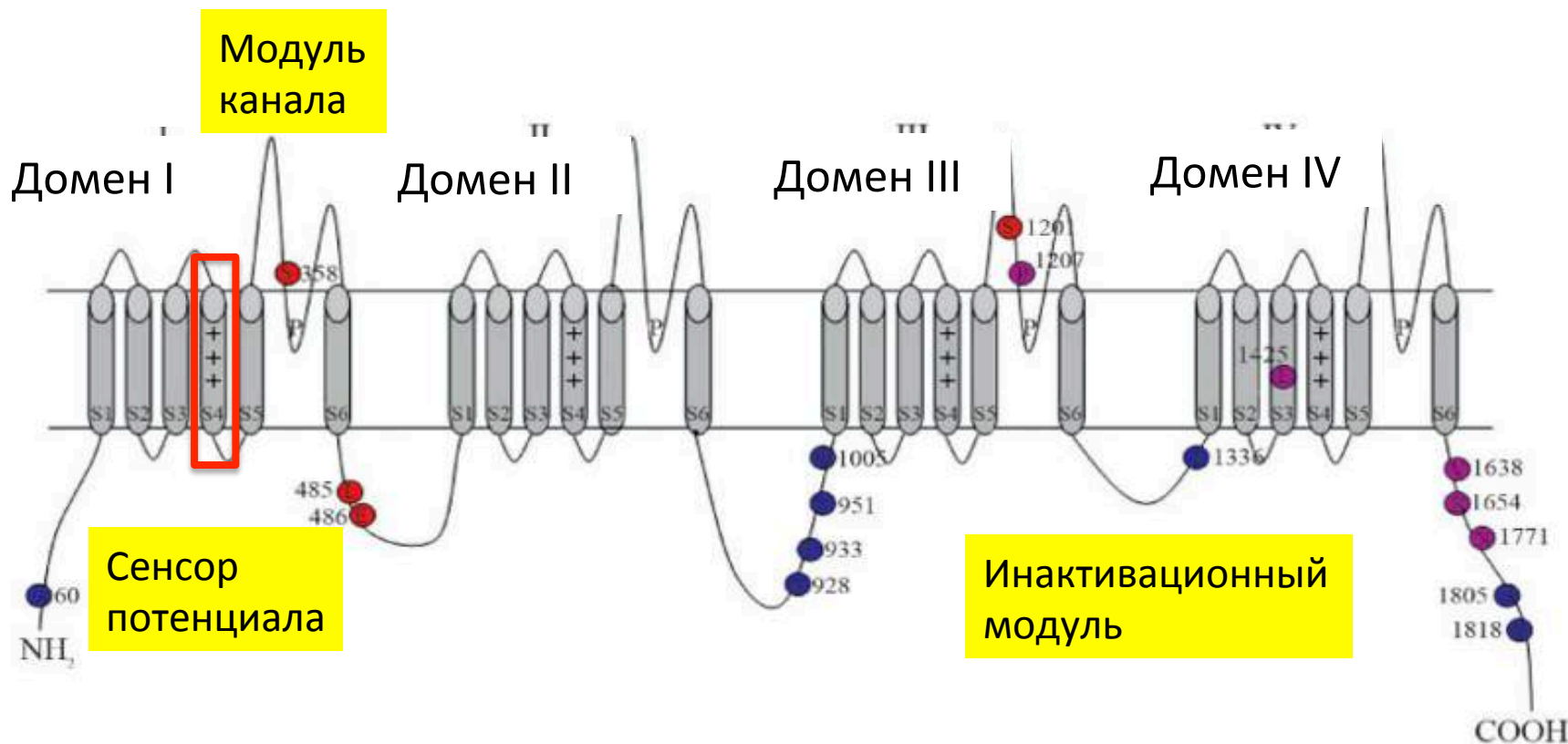
Shosaku Numa
(1929–1992)



Noda, Numa et al., 1984

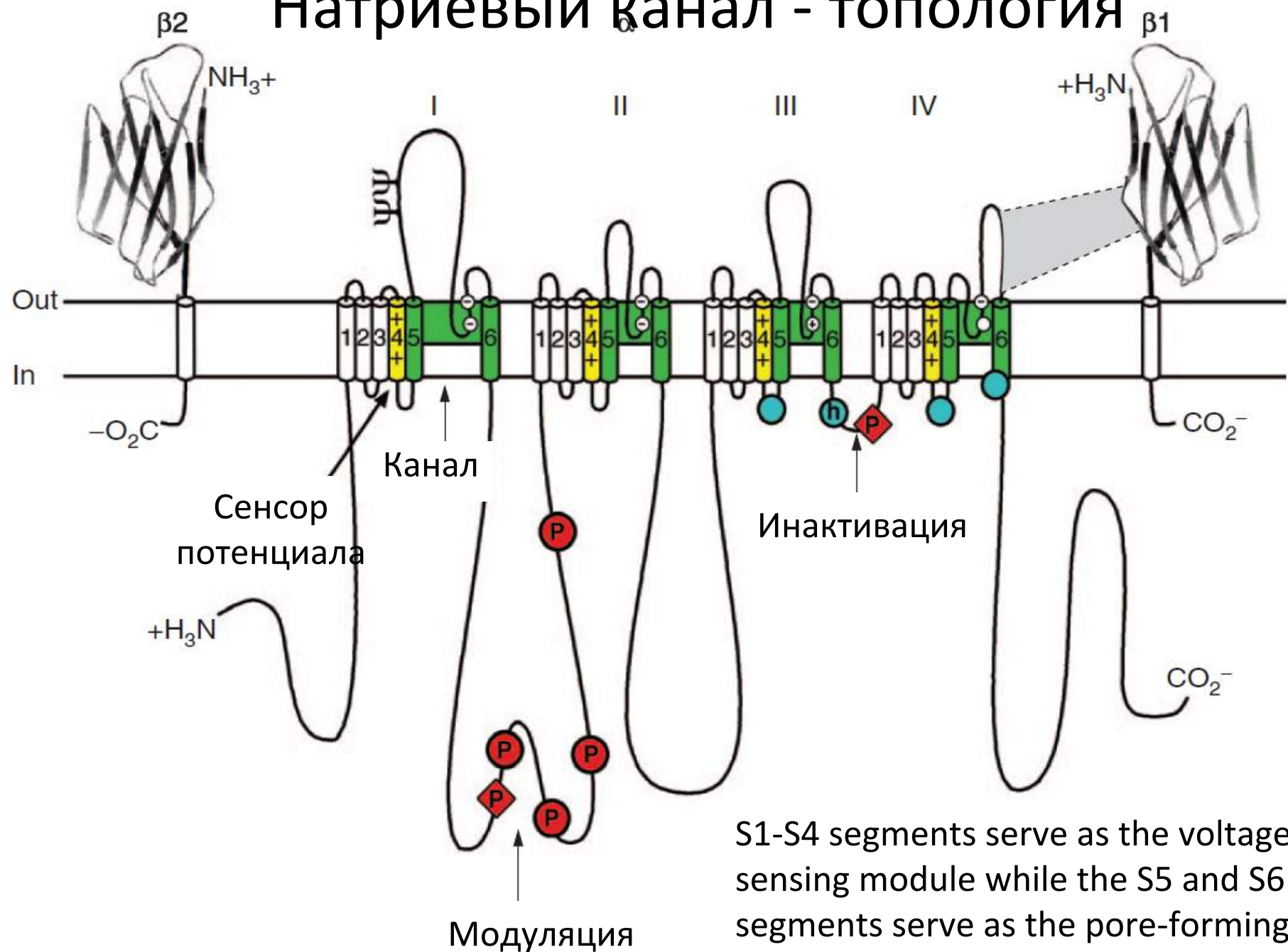
Na⁺ канал – белок - 1 800 аминокислот

Предполагаемая топология натриевого канала



- Состоит из 4-х повторяющихся доменов (I–IV)
 - Каждый домен имеет 6 трансмембранных сегментов (S1–S6)
 - S4 сегмент имеет 4 положительно заряженных аминокислоты (обычно аргинин), которые могут определять потенциал-зависимое открытие канала

Натриевый канал - топология



S1-S4 segments serve as the voltage-sensing module while the S5 and S6 segments serve as the pore-forming module

Сенсор потенциала

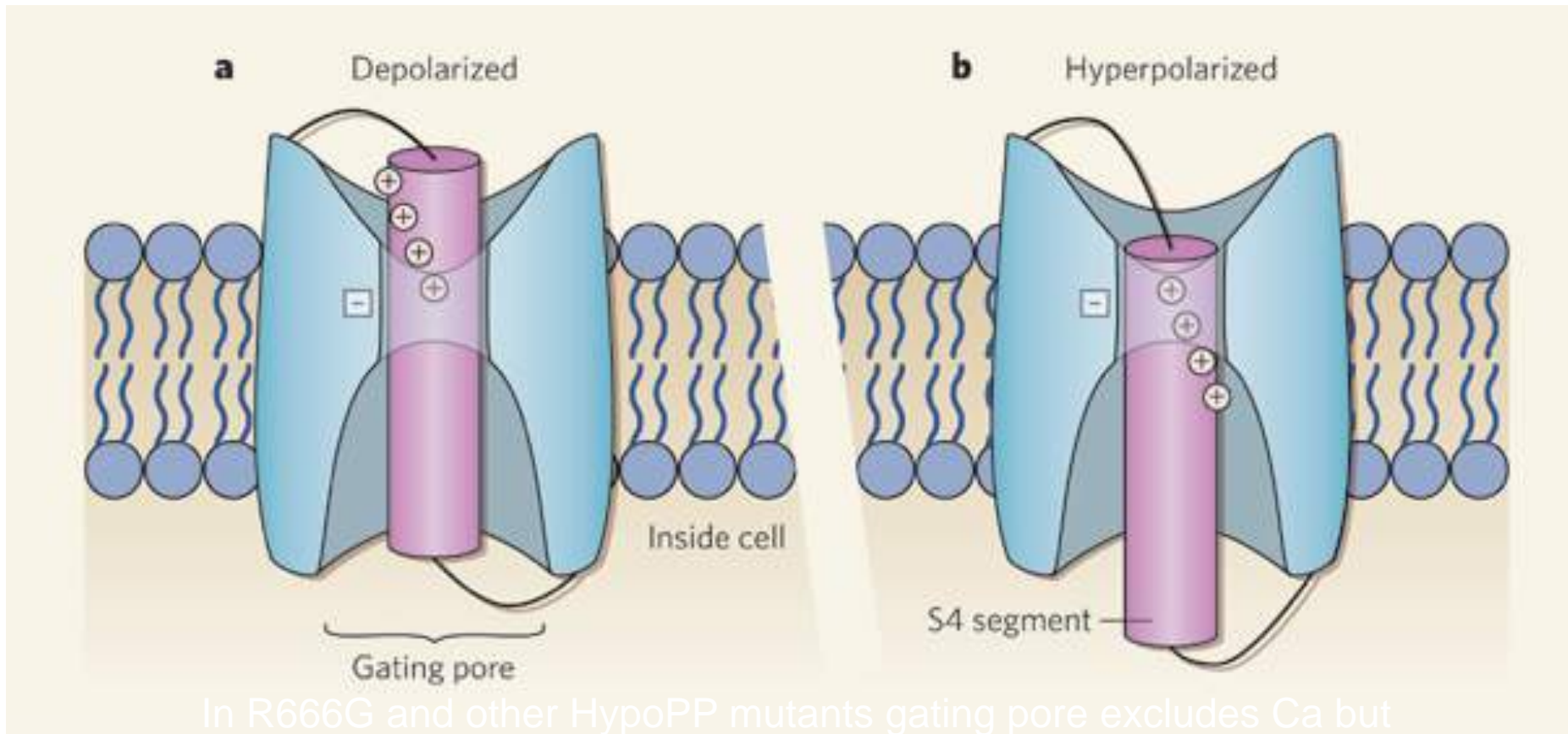
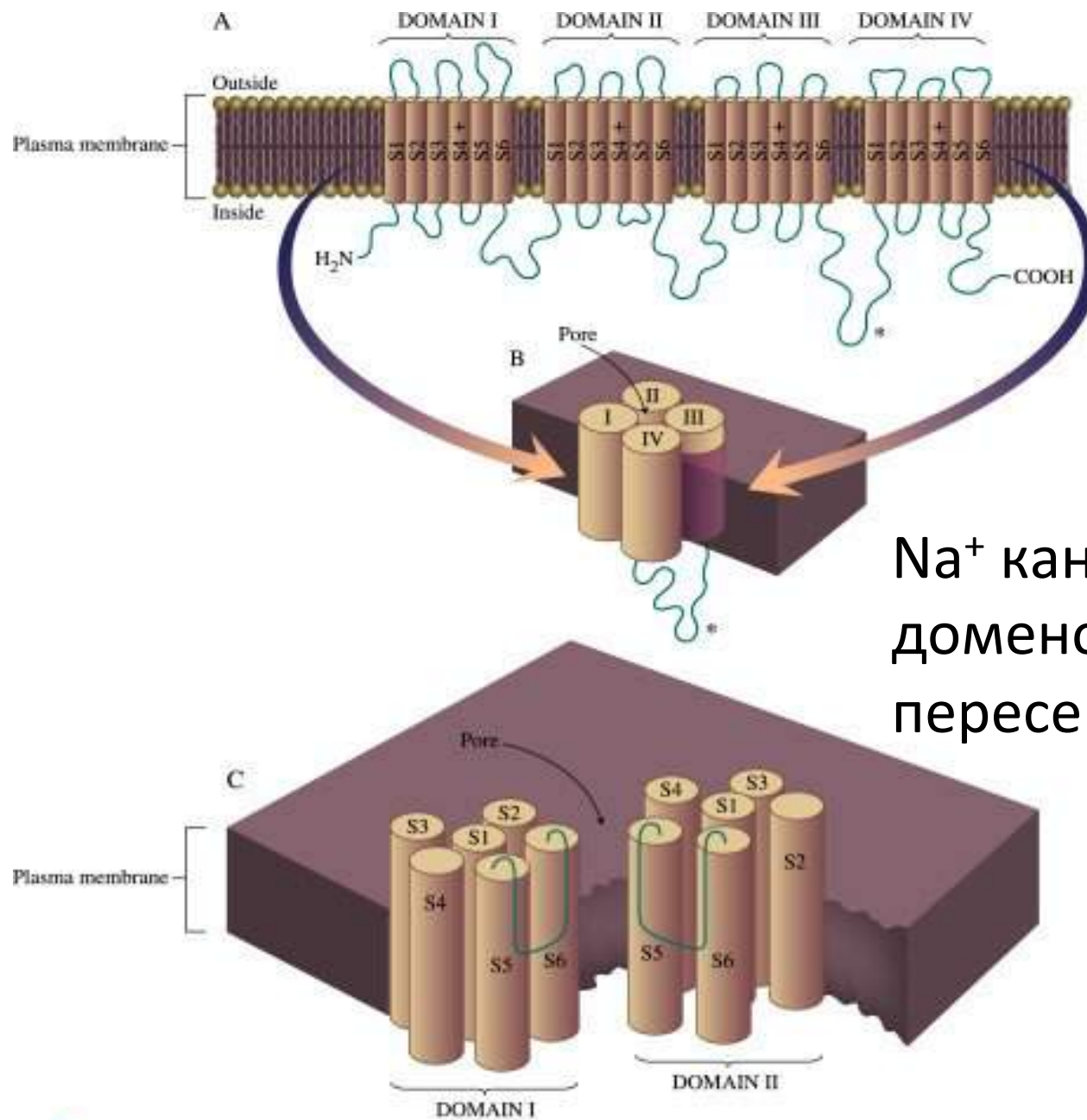
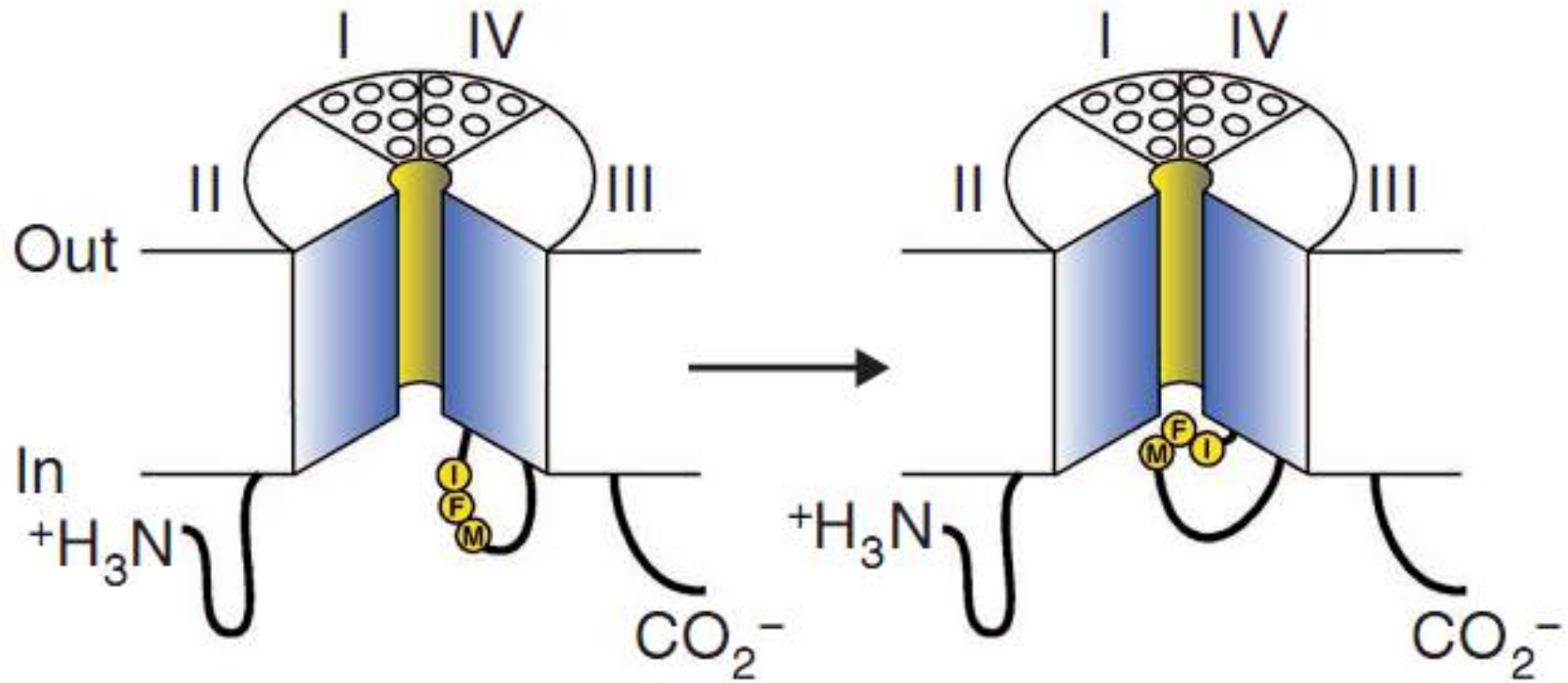


Схема организации натриевого канала



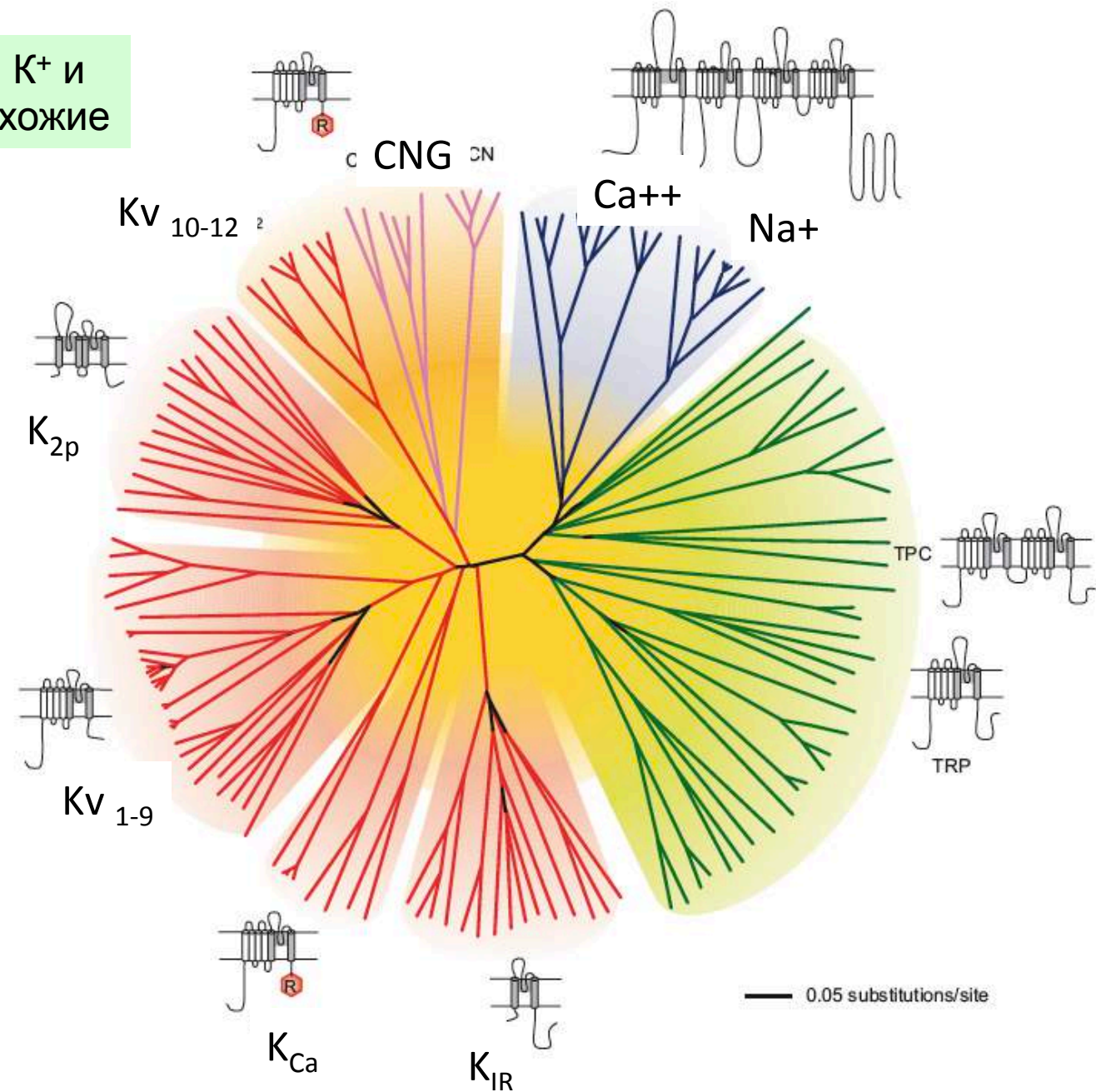
Na^+ канал – состоит из 4-х доменов, каждый домен пересекает мембрану 6 раз.

Инактивационные порота

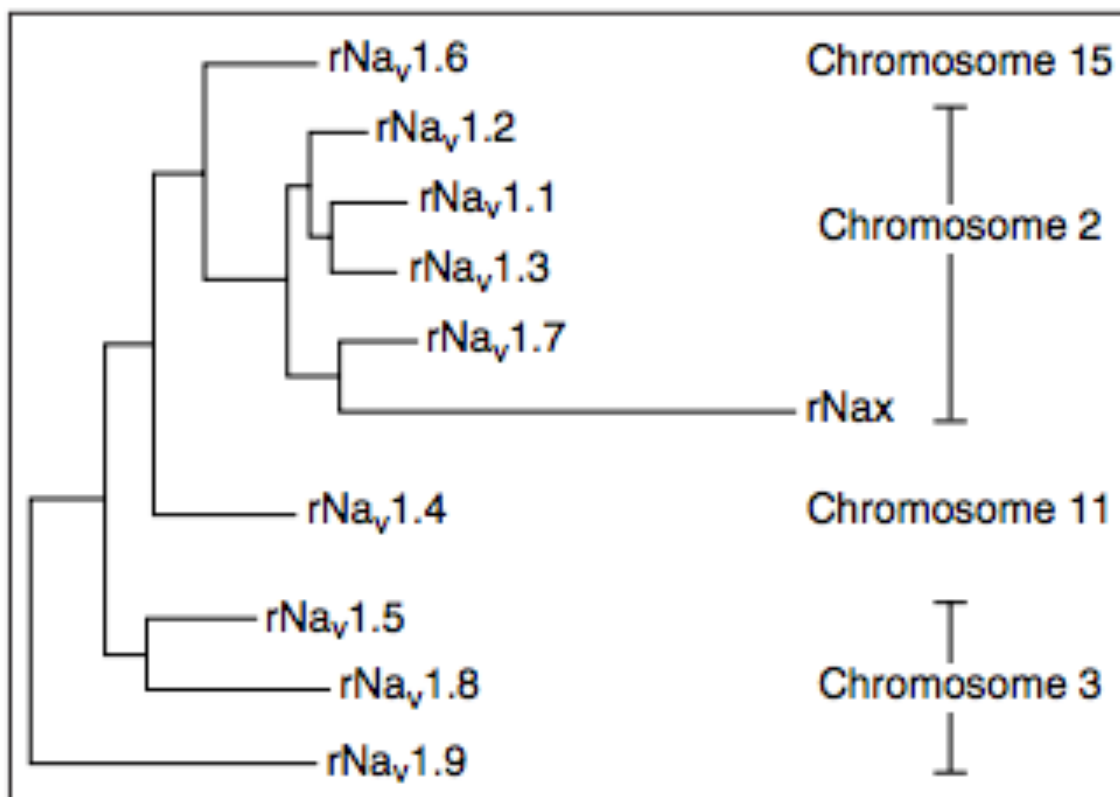


Семейства потенциал-управляемых каналов

- идеи организации K^+ и Na^+ каналов очень схожие



Филогенез и общая организация потенциал-управляемых каналов



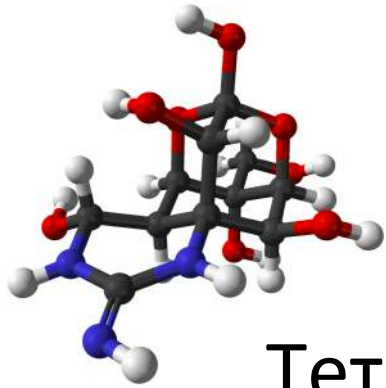
Семейство Na⁺ каналов и их локализация

Name	Location
Na _v 1.1	CNS/PNS
Na _v 1.2	CNS
Na _v 1.3	CNS
Na _v 1.4	Skeletal Muscle
Na _v 1.5	Heart/Denervated skeletal muscle
Na _v 1.6	CNS/PNS
Na _v 1.7	PNS
Na _v 1.8	PNS
Na _v 1.9	PNS
TRP	Widely expressed
ENaC	Kidneys/Neurons/Lungs
NACHR	CNS/Muscle

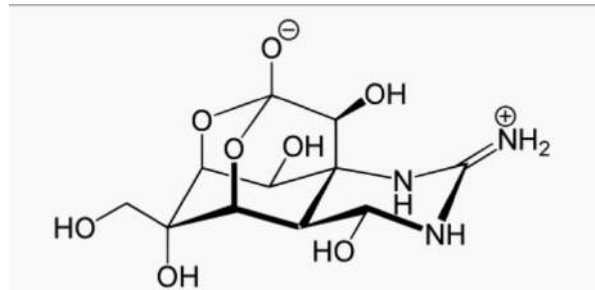
TABLE 8-4 Chemicals That Affect Electrical Signals in Neurons

<i>Name of Chemical</i>	<i>Channel Blocked</i>	<i>Comments</i>
Tetrodotoxin (TTX)	Voltage-gated Na ⁺	Made in ovaries and liver of Japanese puffer fish
Saxitoxin	Voltage-gated Na ⁺	Made by marine organism that causes "red tide"
Procaine	Voltage-gated Na ⁺	Local anesthetic
Tetraethylammonium chloride (TEA)	Voltage-gated K ⁺	Amine derivative
Ethanol	Ca ²⁺ and assorted receptor-operated channels	Depresses action potentials and depolarizes the membrane; inhibitory in higher doses and excitatory in low doses

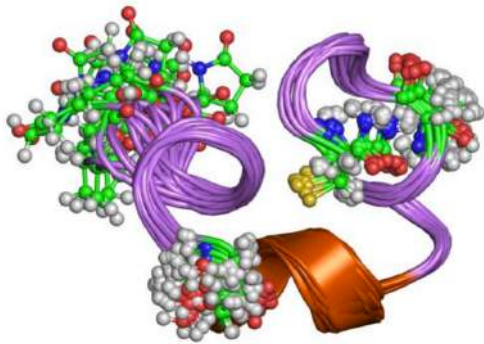
Блокаторы Na⁺ каналов



Тетродотоксин



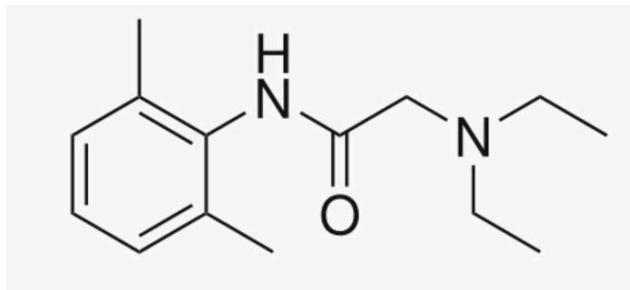
Рыба фугу



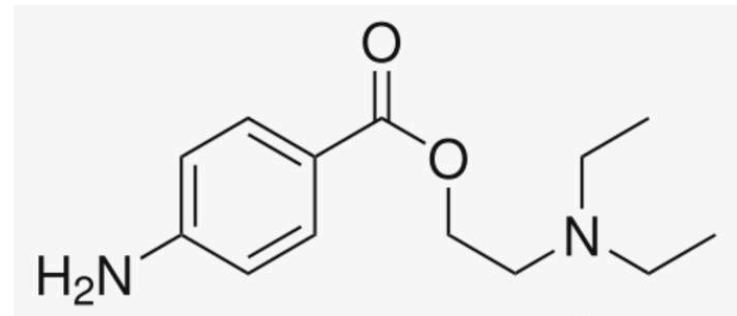
Мю-конотоксин



Улитка конус

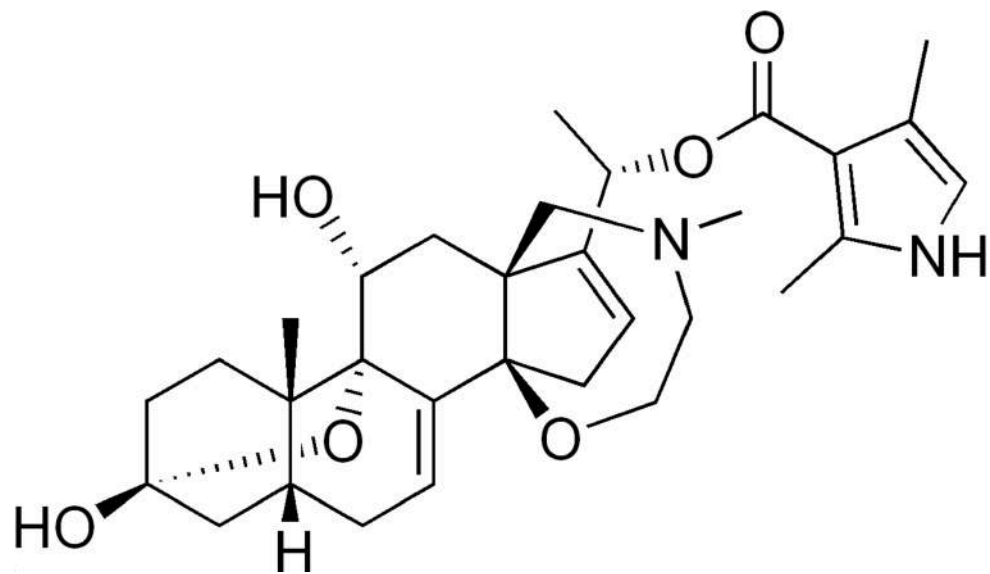


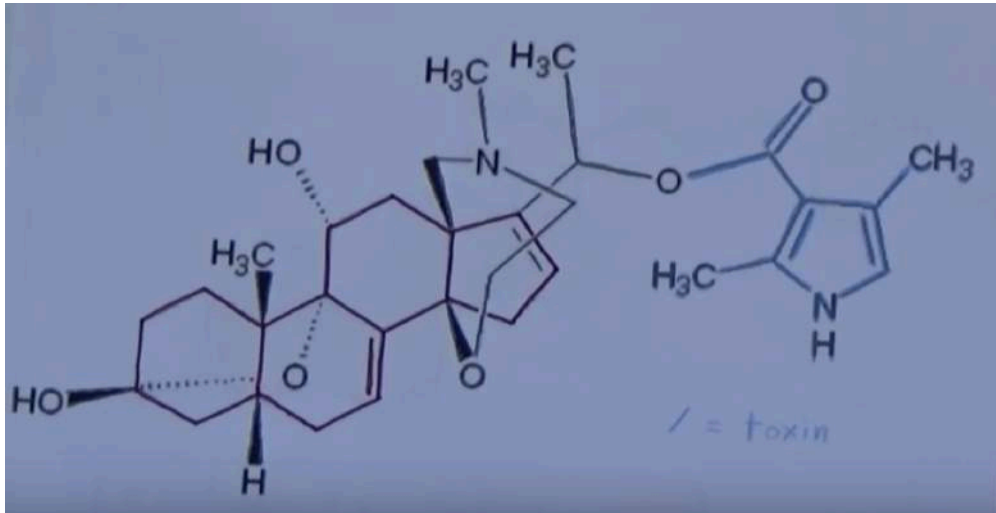
Лидокаин



Прокаин (Новокаин)

Батрахотоксин



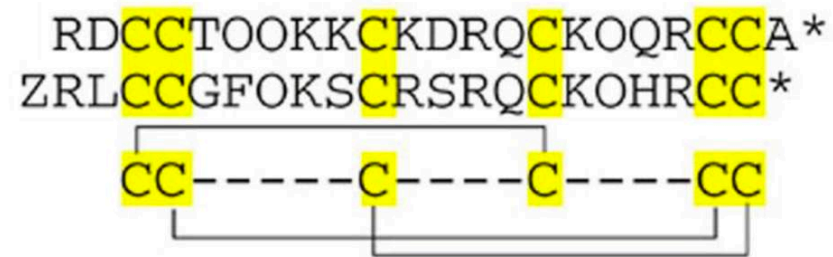


μ – Conotoxins

G_{IIIA}

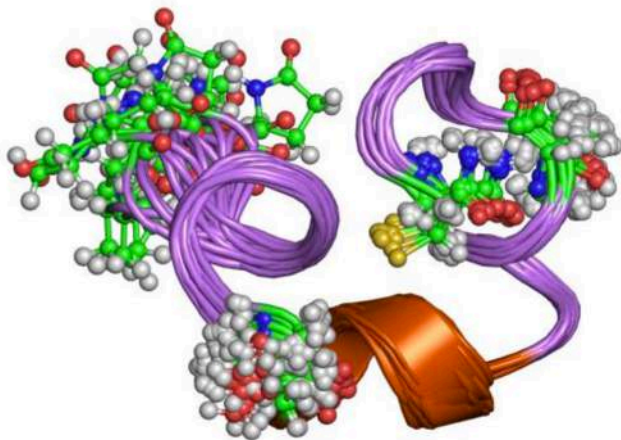
P_{IIIA}

Disulfide
Bridges



C. geographus

C. purpurascens



22 аминокислоты

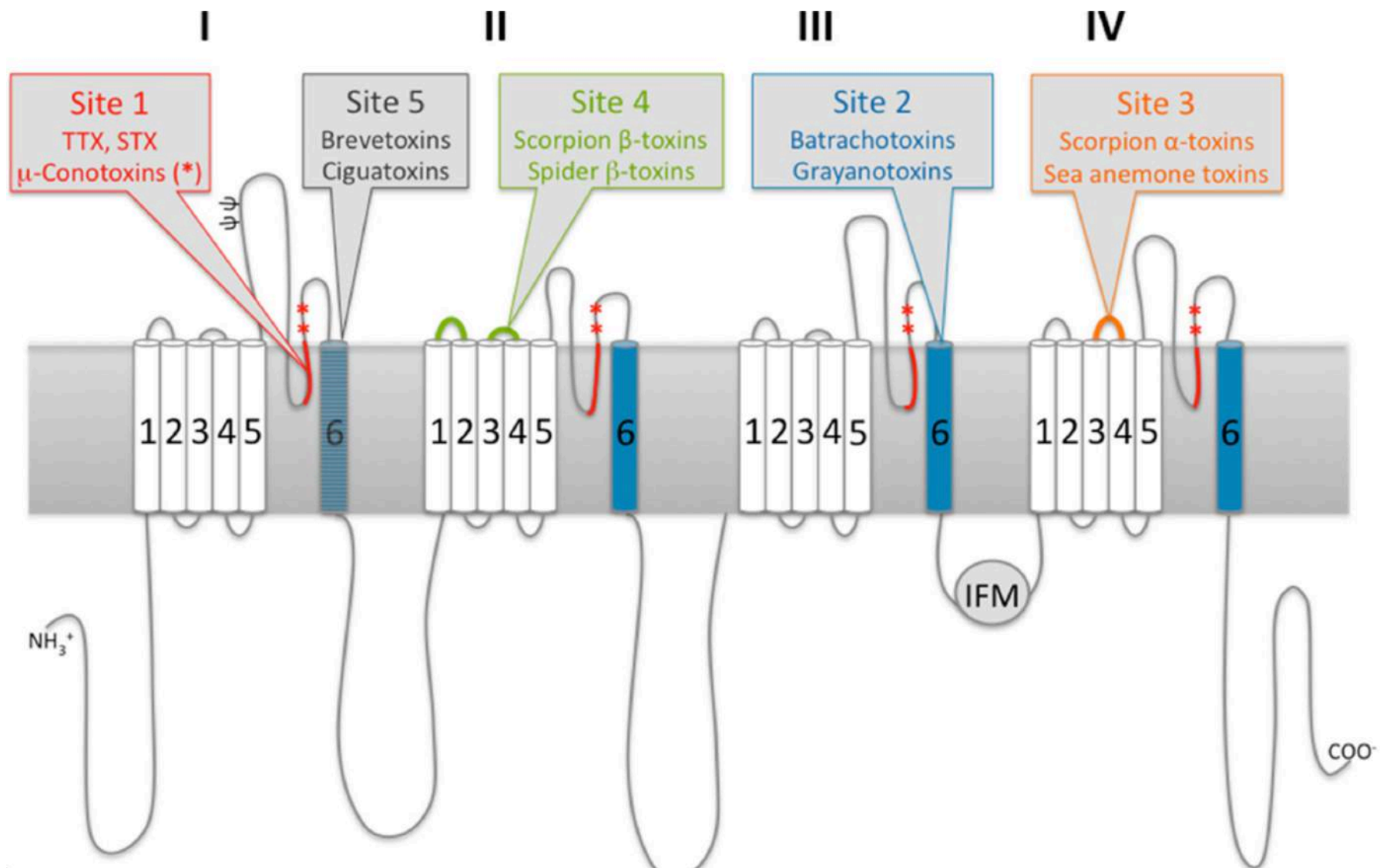
6 цистеинов

несколько лизинов и аргининов

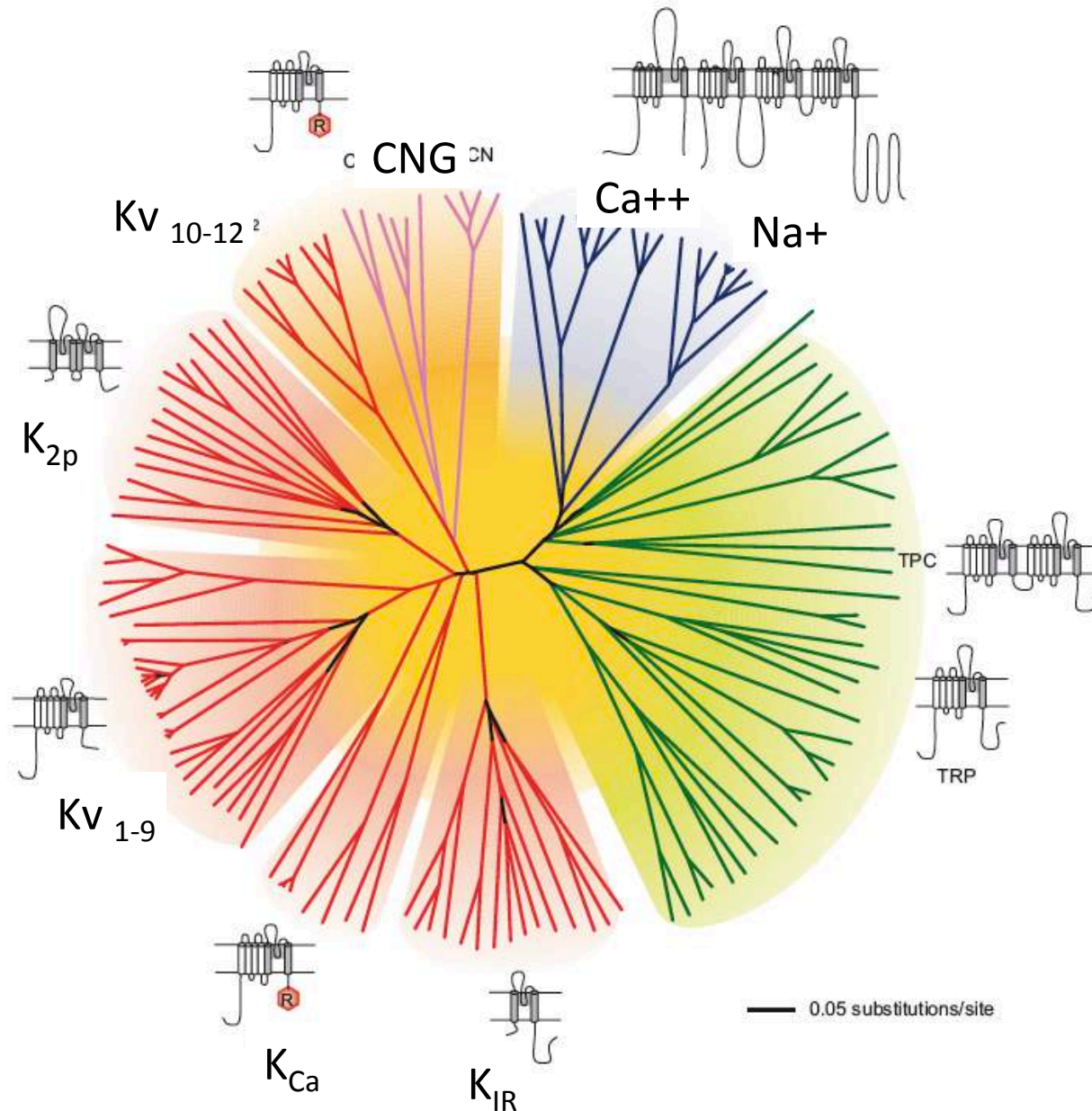
Улитка конус



Блокаторы Na⁺ каналов



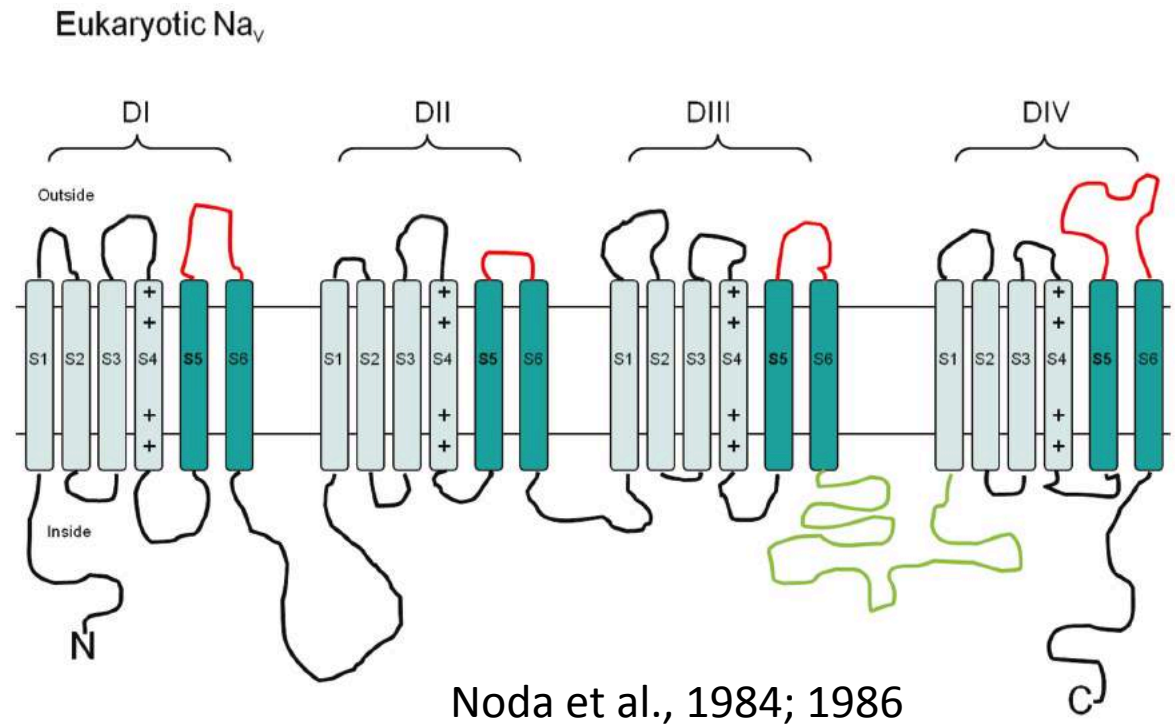
Сходство в топологии потенциал-активируемых каналов



- идеи организации K⁺ и Na⁺ каналов очень схожие

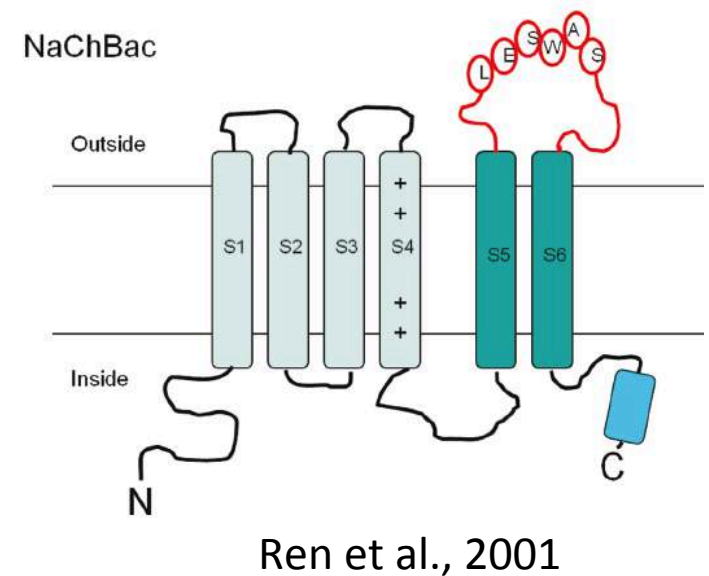
- кристаллизации поддаются прежде всего каналные белки бактериального происхождения

Топология Na⁺ канала эукариот и бактерий

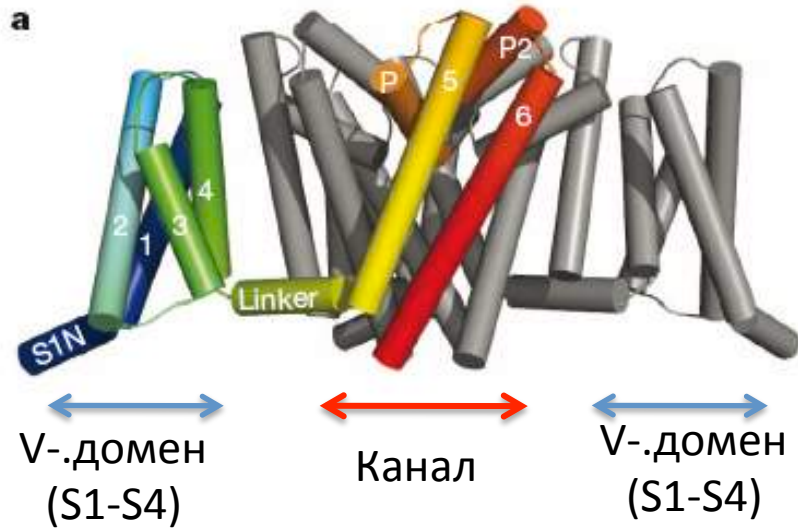


Na⁺ channel from *Bacillus halodurans* :

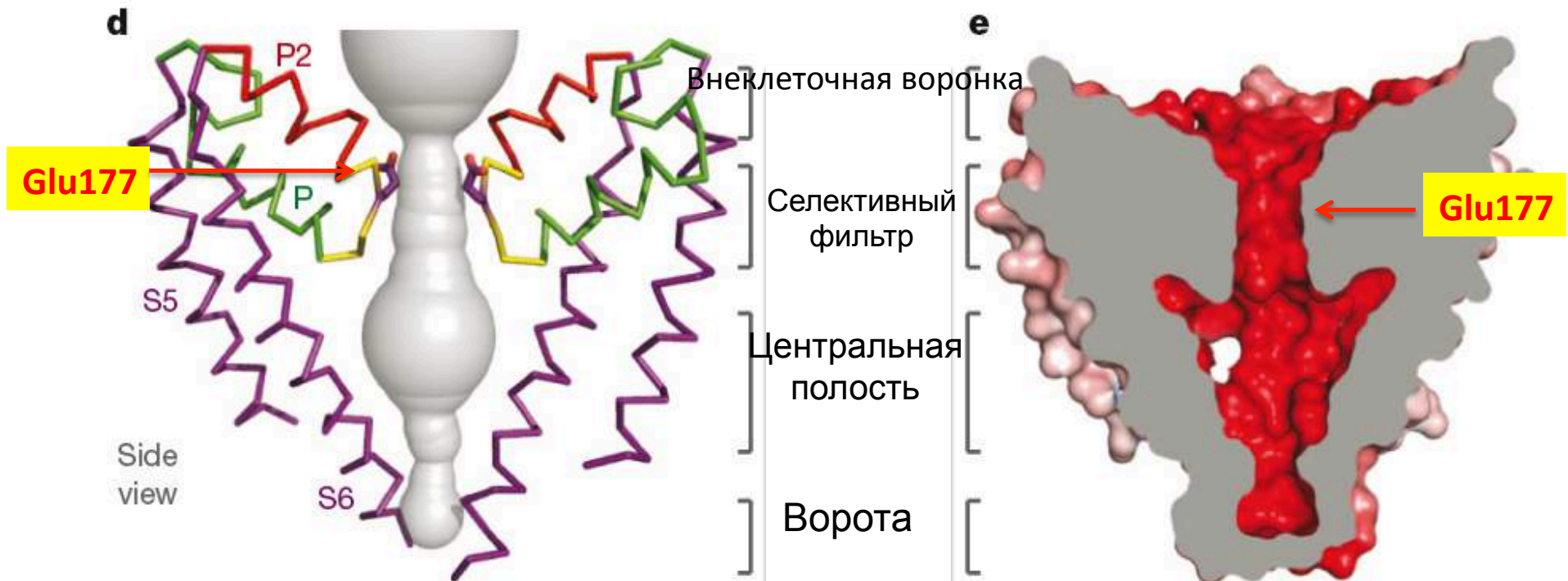
- contains a single 6TM domain of 274 amino acids
- forms a tetramer.
- voltage-dependent activation and inactivation kinetics are 10–100 times slower than that of Na_v



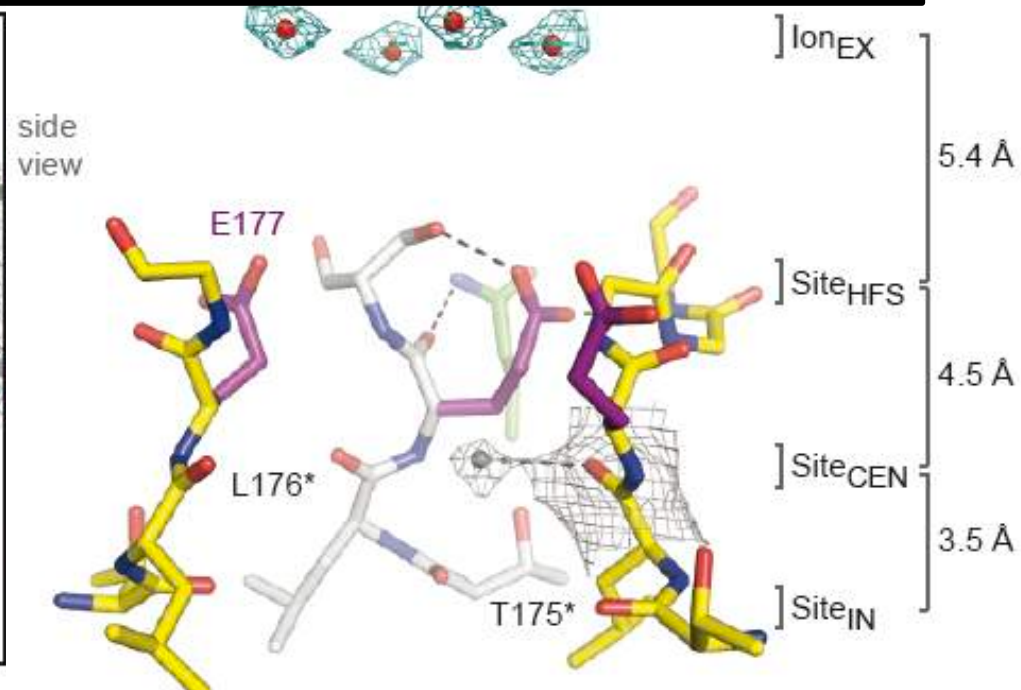
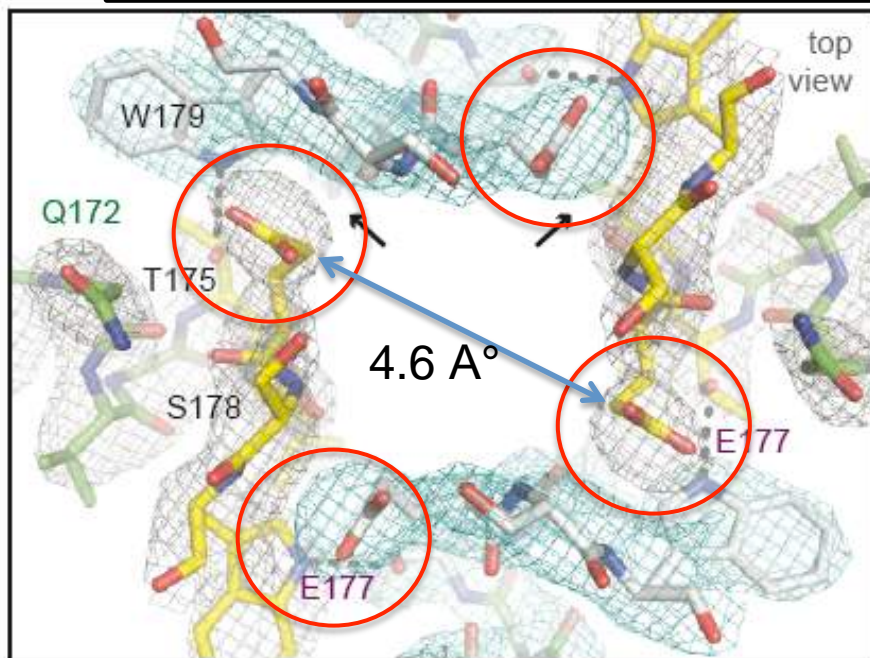
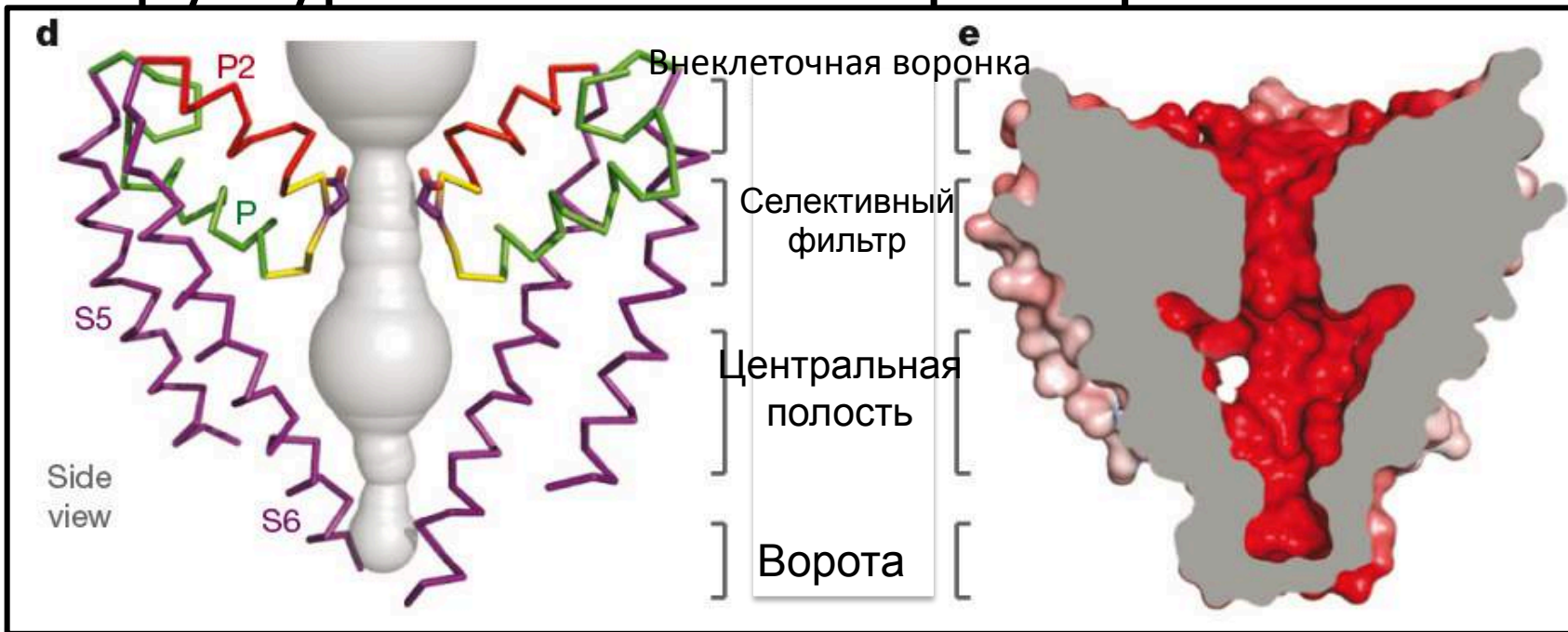
Структурные элементы Na⁺ канала из бактерии *A. butzleri*



- большая наружная воронка для ионов
- ионный путь строго электроотрицательный
- селективный фильтр представляет самый узкий участок около наружной части мембраны
- четыре Glu 177 формируют отверстие 4.6x4.6Å² через которое частично гидратированный Na⁺ может проходить

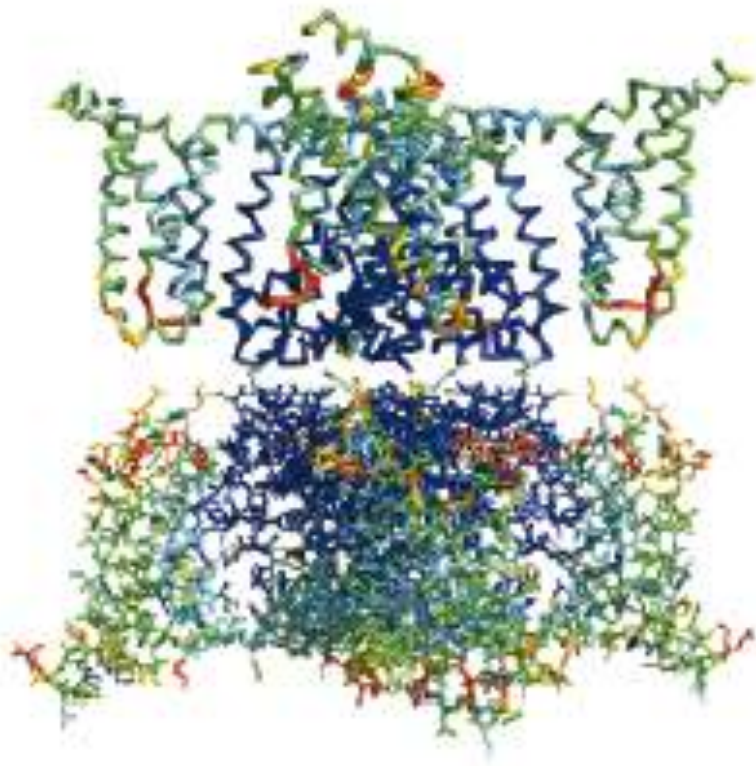


Структура селективного фильтра Na^+ канала

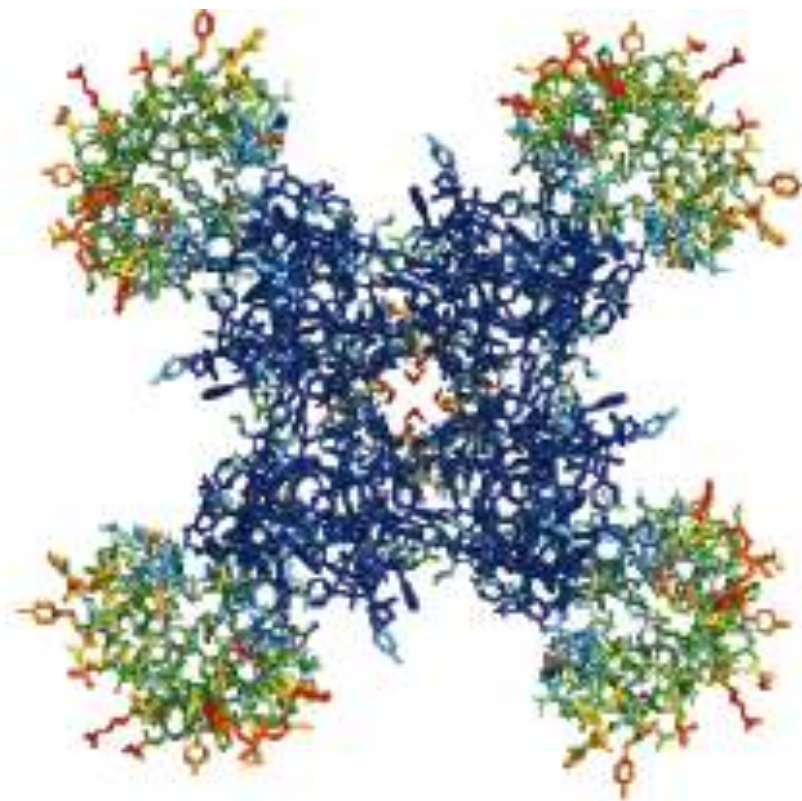


Na⁺ канал из бактерии *A.butzleri*

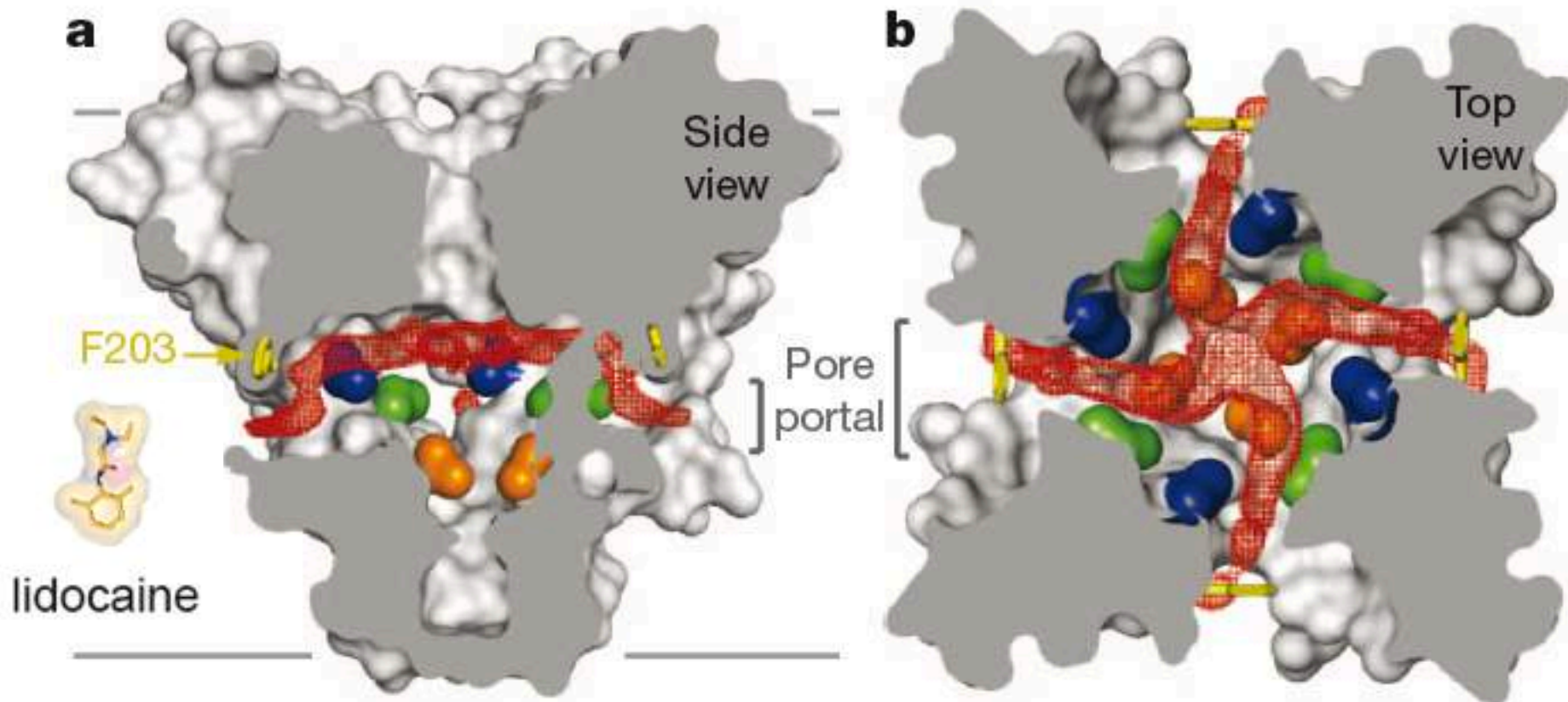
Вид сбоку



Вид сверху

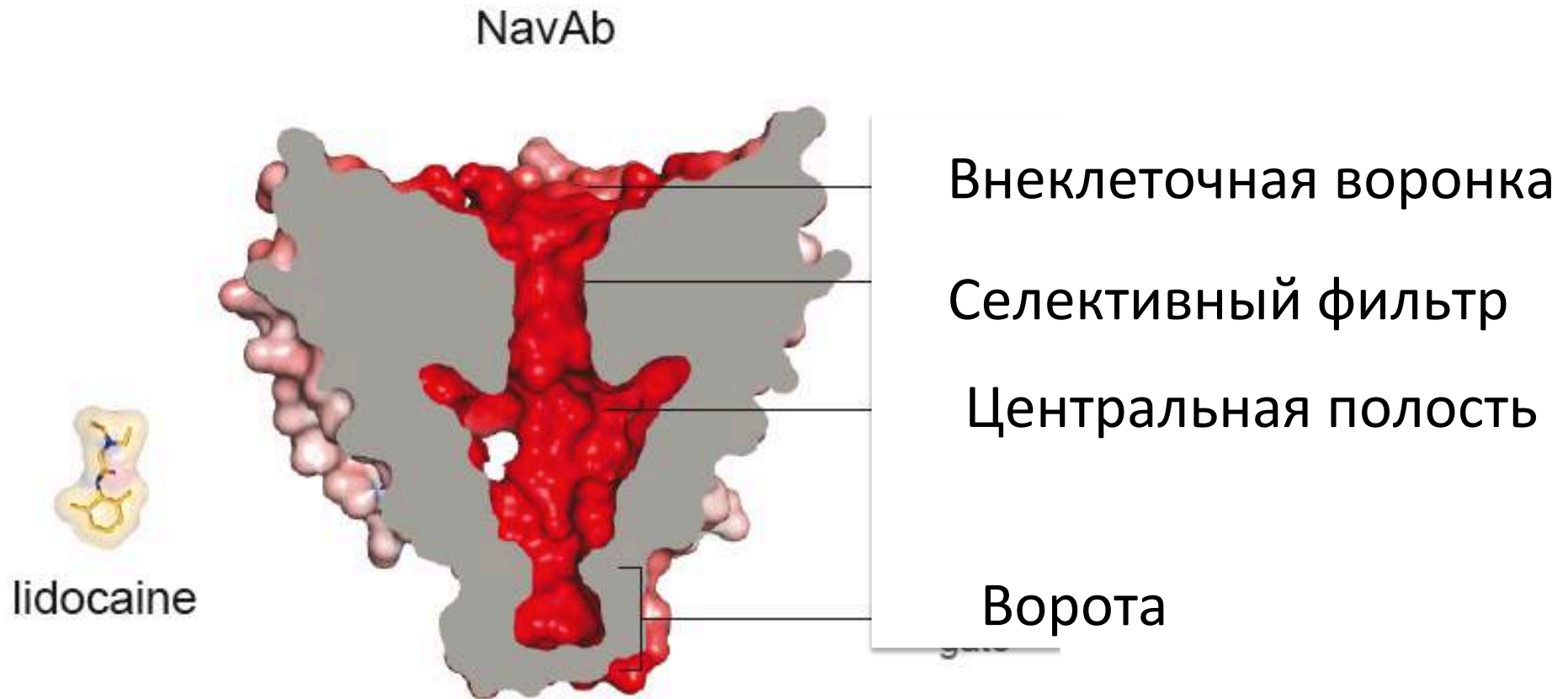


Гидрофобные щели в Na⁺ канале – возможные пути действия анестетиков

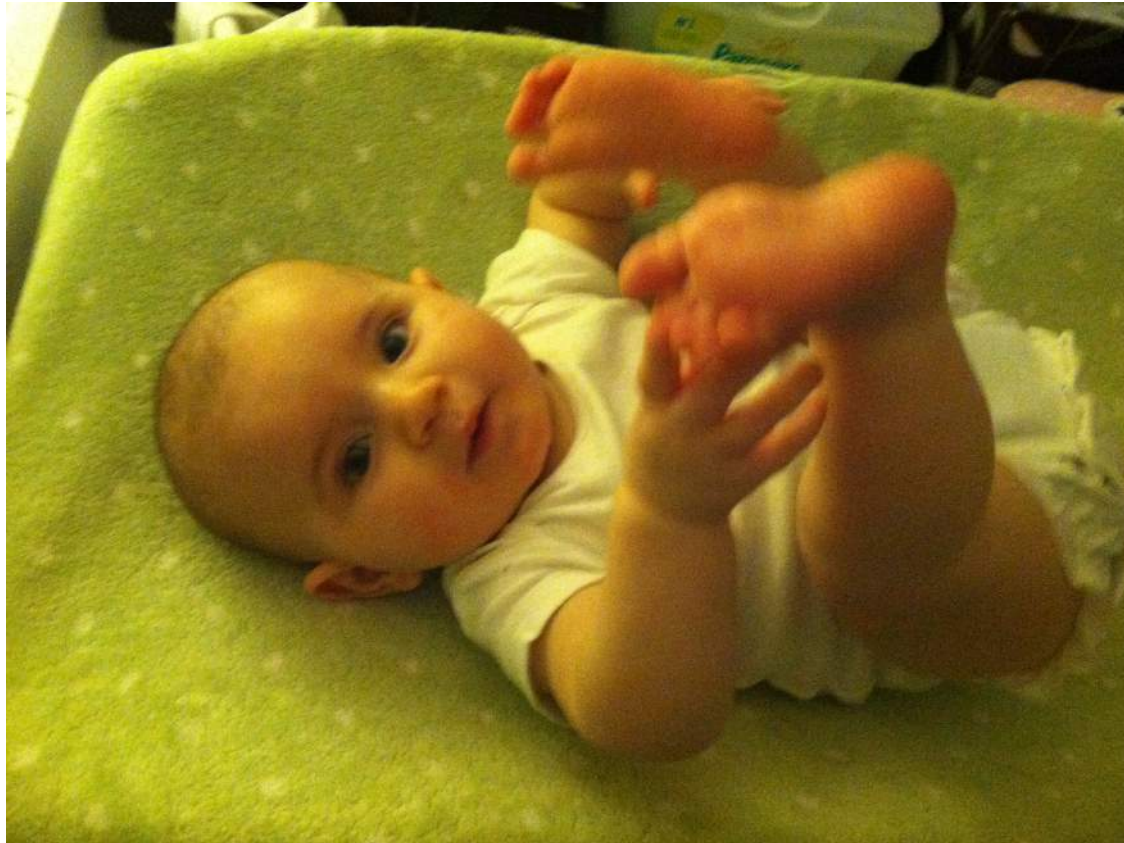


- four lateral openings leading from the membrane to the lumen of the closed pore
- size 8x10 Å²
- lipids penetrate through these side portals and lie deep within the central cavity, occluding the ion conduction pathway

Сравнение организации Na^+ и K^+ каналов из бактерий



The process of coating axons with myelin is incomplete when humans are born. This is part of the reason why babies are uncoordinated and slow learners.

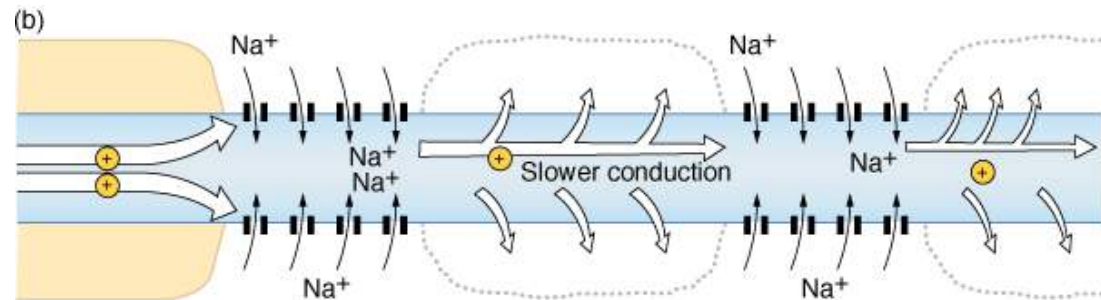


Babies need lots of fat – not only for energy storage but also to myelinate their neurons.

Jacqueline du Pré died of Multiple Sclerosis



- In demyelinating diseases, such as multiple sclerosis, the loss of myelin in the nervous system slows down the conduction of APs. Multiple sclerosis patients complain of muscle weakness, fatigue, difficulty with walking and a loss of vision.



Multiple Sclerosis

- Demyelination of axons
 - Impaired AP conduction
 - Symptom depends on nerves affected
 - Optic nerve → blindness
 - Motor nerves → weakness or paralysis