

**Das Gehirn:**  
**Eine Einführung in die**  
**Molekulare Neurobiologie**

**Ligandengesteuerte**

**Ionenkanäle**

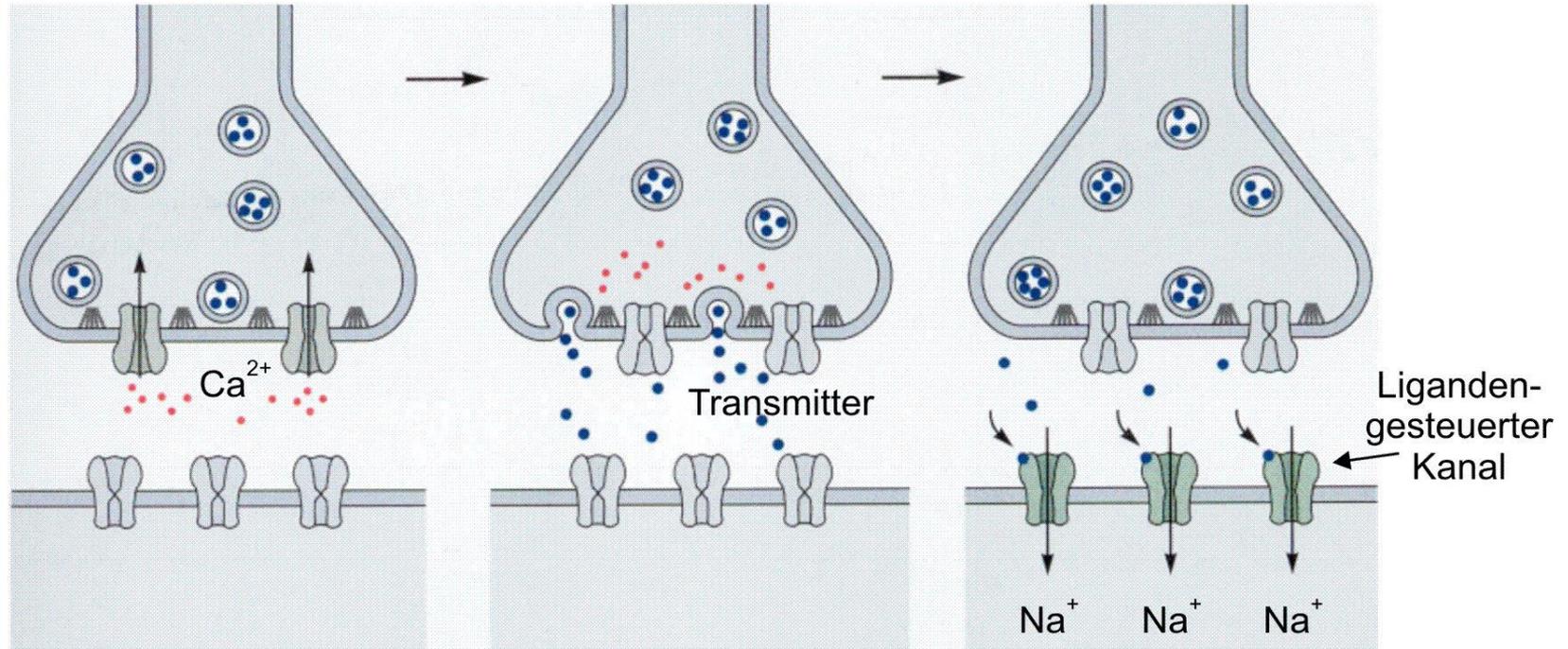
Ligandengesteuerte Kanäle

Ligand-gated ion channels

LGIC

Ionotrope Rezeptoren

# Neurotransmission



Ligandengesteuerte Kanäle „übersetzen“ chemische in elektrische Signale

# Liganden

Acetylcholin

Glutamat

GABA

Glycin

ATP; cAMP; cGMP;  $\text{Ca}^{2+}$  ;  $\text{IP}_3$ ; Serotonin

# Liganden

Acetylcholin

Glutamat



exzitatorisch

GABA

Glycin



inhibitorisch

# Ligandengesteuerte Kanäle

**Exzitatorisch:** Kationenkanäle ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ )

**Inhibitorisch:** Anionenkanäle ( $\text{Cl}^-$ )

# Ligandengesteuerte Kanäle

Nikotinscher Acetylcholin Rezeptor

Glutamat Rezeptoren

GABA Rezeptoren

Glycin Rezeptoren

# Der nikotinsche Acetylcholin Rezeptor

# Übersicht

Vorkommen: Neuromuskuläre Endplatte, CNS

Aufbau: Pentamer

Zusammensetzung:

Muskel:  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  (embryonal)

Muskel:  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\varepsilon$  (adult)

CNS:  $\alpha_x\beta_{5-x}$

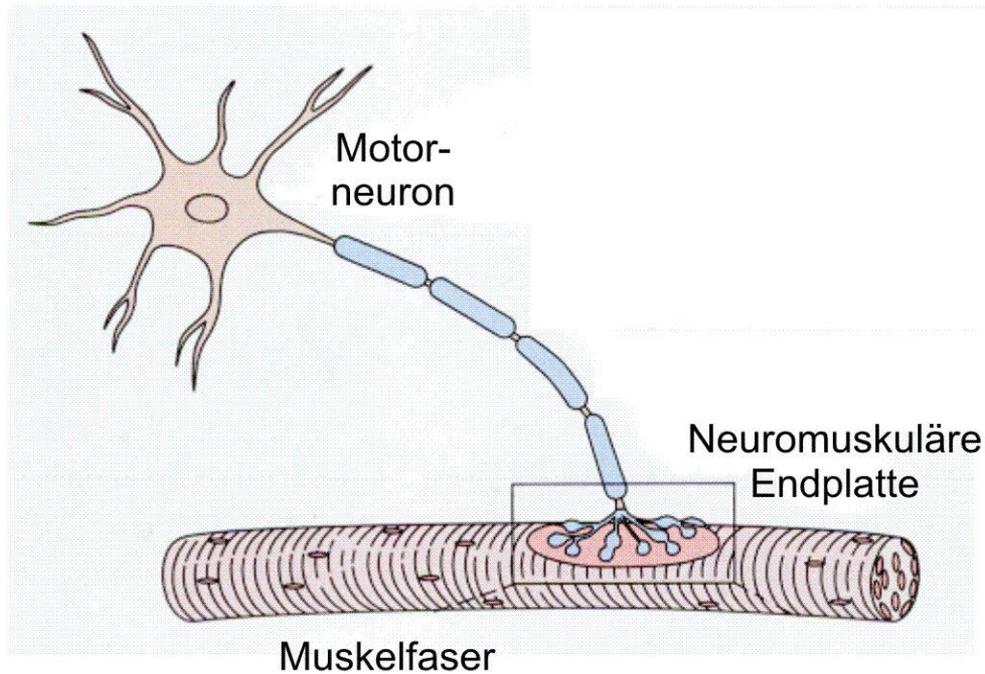
$\Sigma$ :  $\alpha 1-10$ ;  $\beta 1-4$ ;  $\gamma$ ;  $\delta$ ;  $\varepsilon$

Ionenselektivität:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$

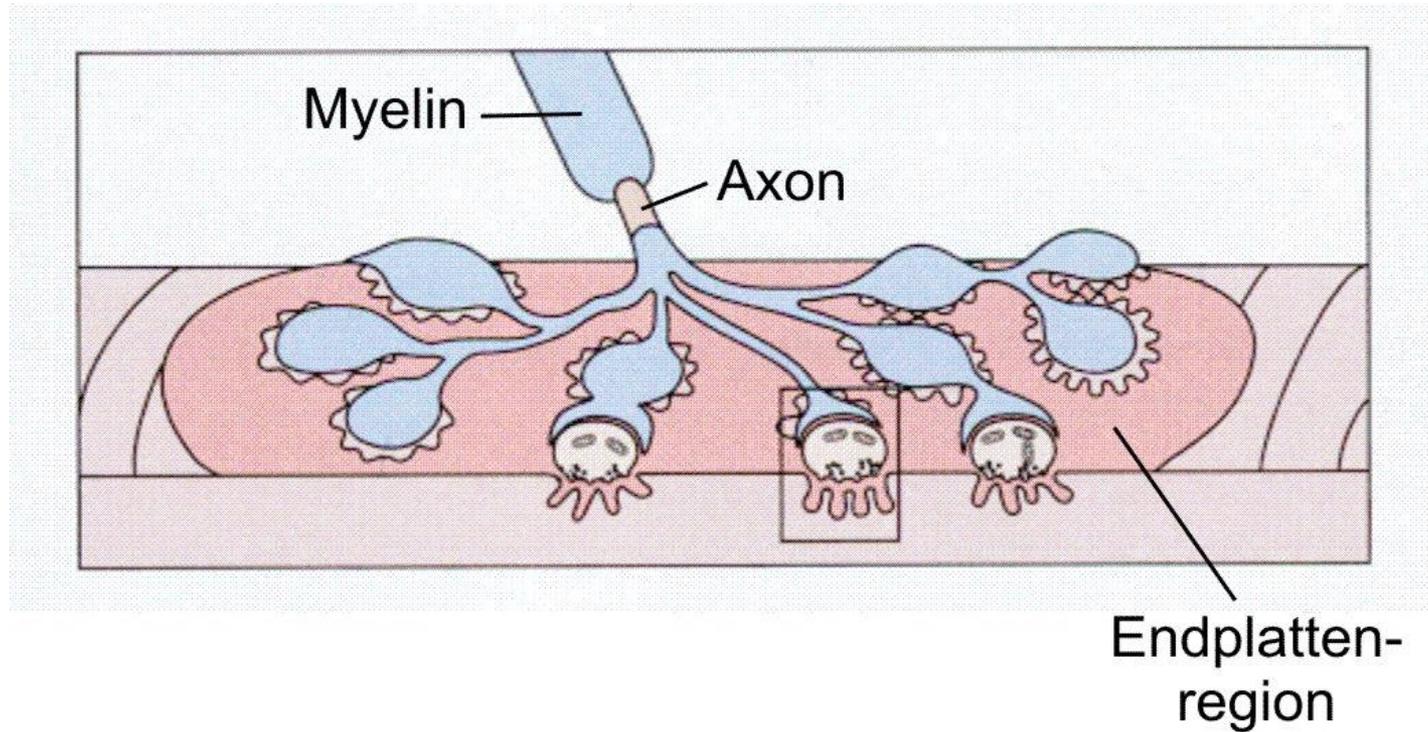
Agonisten: Acetylcholin, Nikotin

Antagonisten:  $\alpha$ Bungarotoxin, D-Tubocurarin

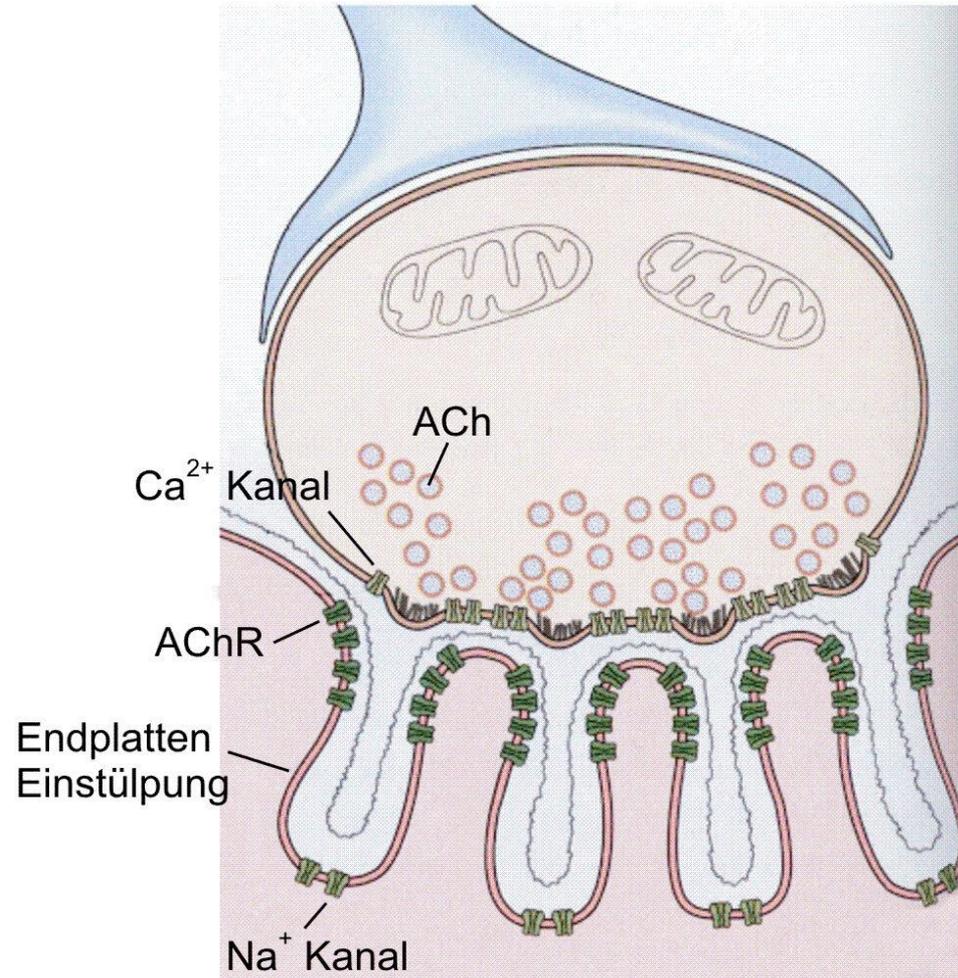
# Die Neuromuskuläre Endplatte



# Die Neuromuskuläre Endplatte



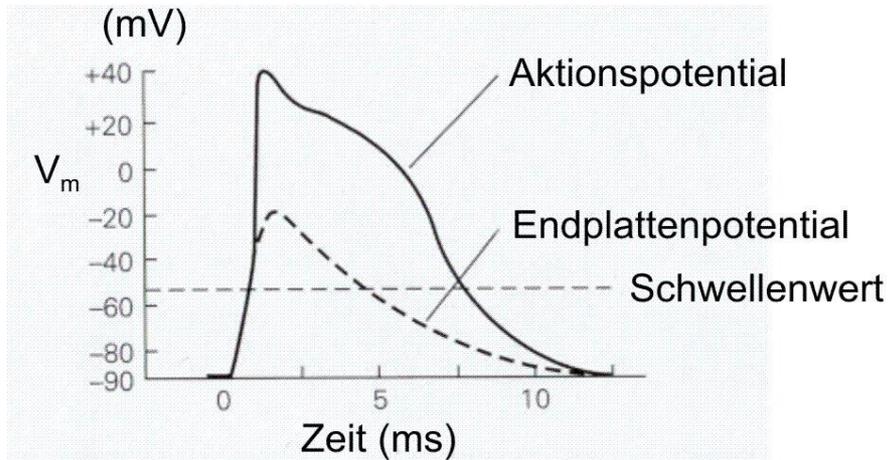
# Die Neuromuskuläre Endplatte



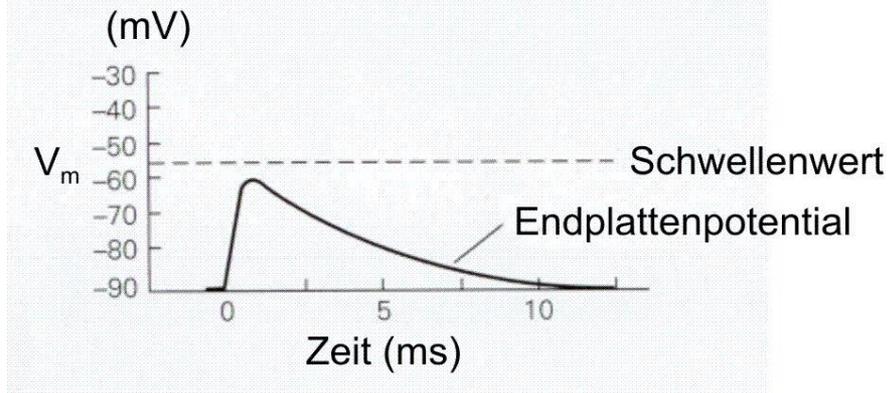
Aktionspotenzial: Öffnung nAChR, gefolgt von  $Na_v$ -, gefolgt von  $Ca_v$ -Kanälen

# Endplattenpotential

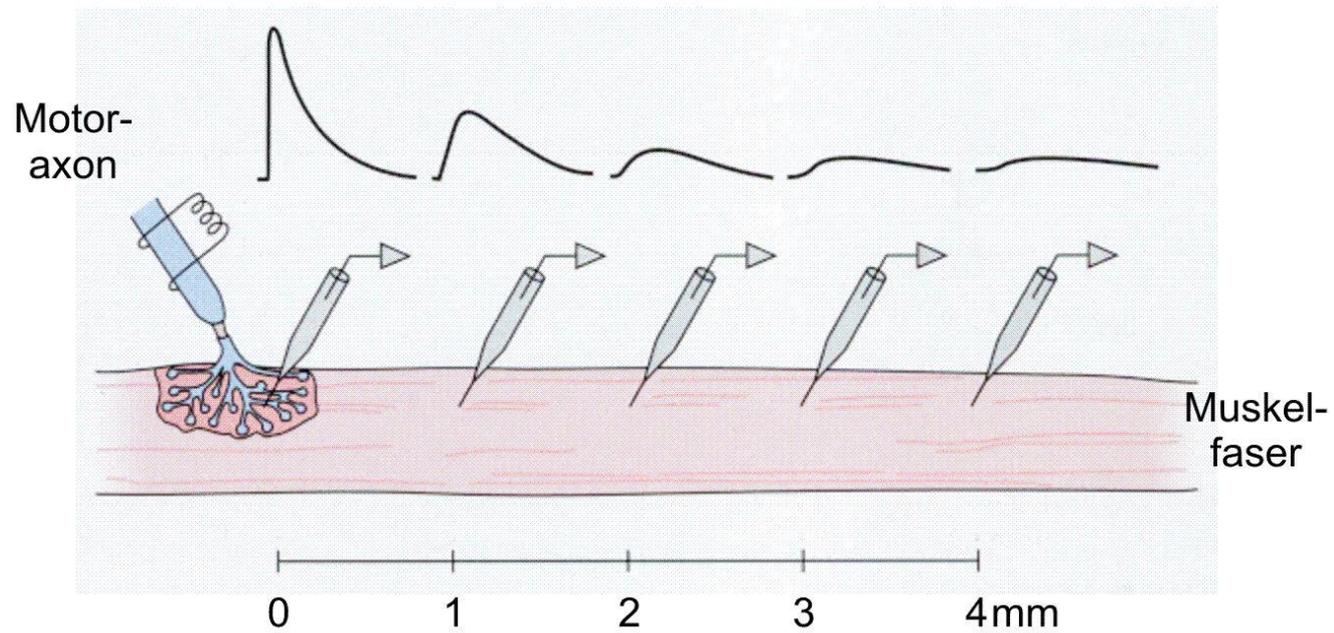
Normal



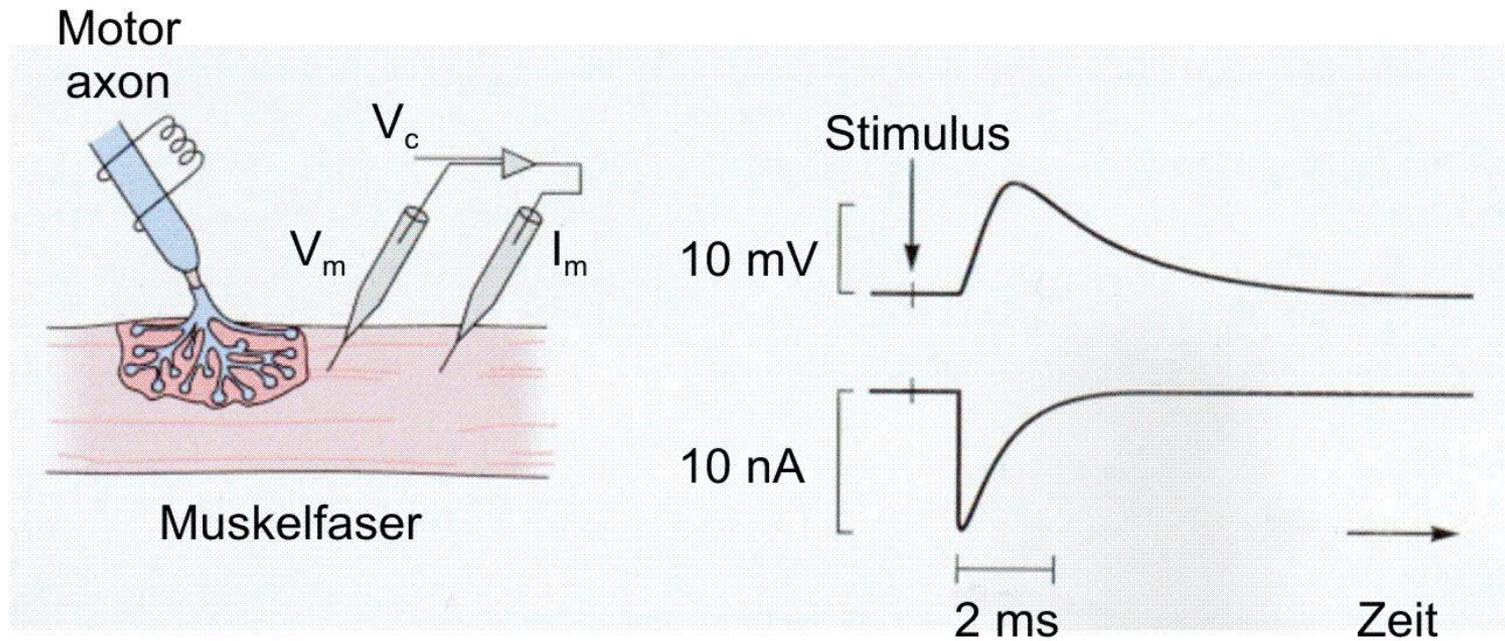
+ Curare



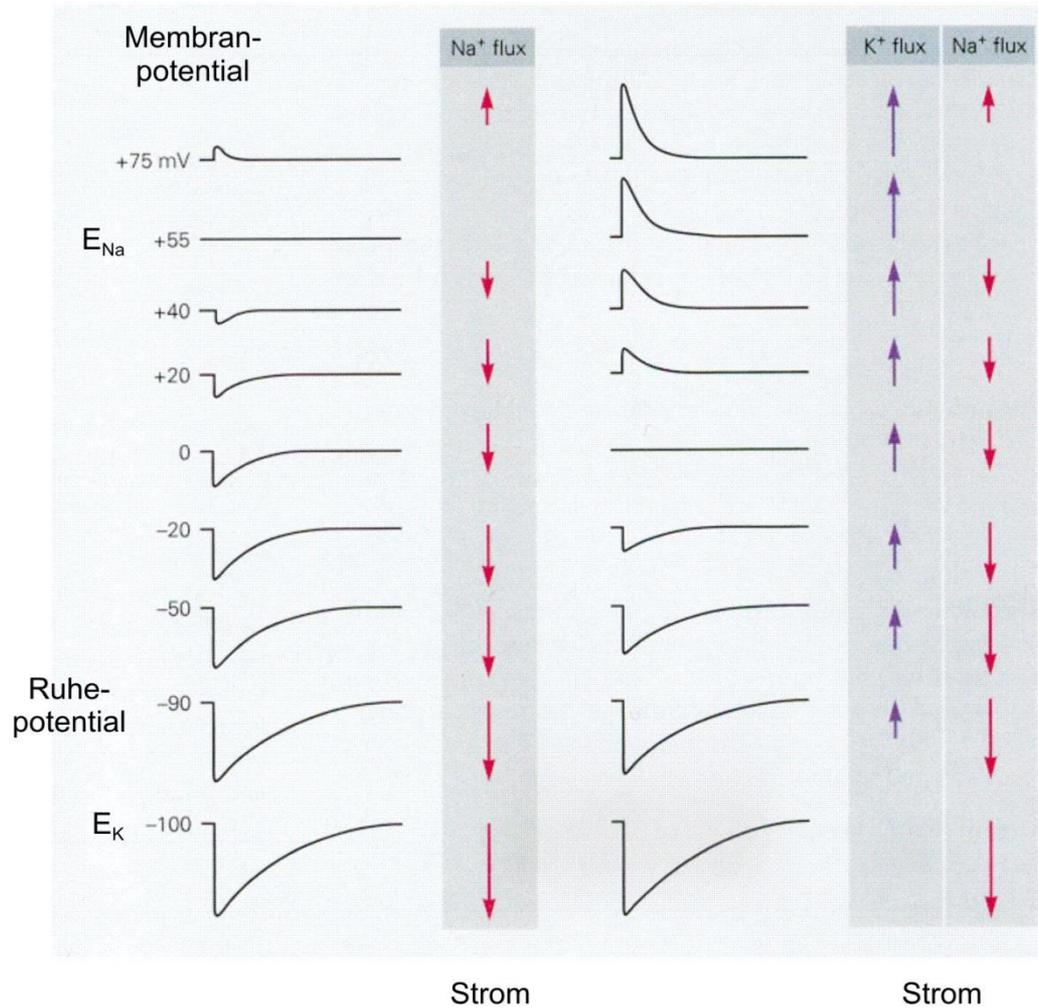
# Endplattenpotential



# Endplattenpotential



# Endplattenpotential



# Klonierung

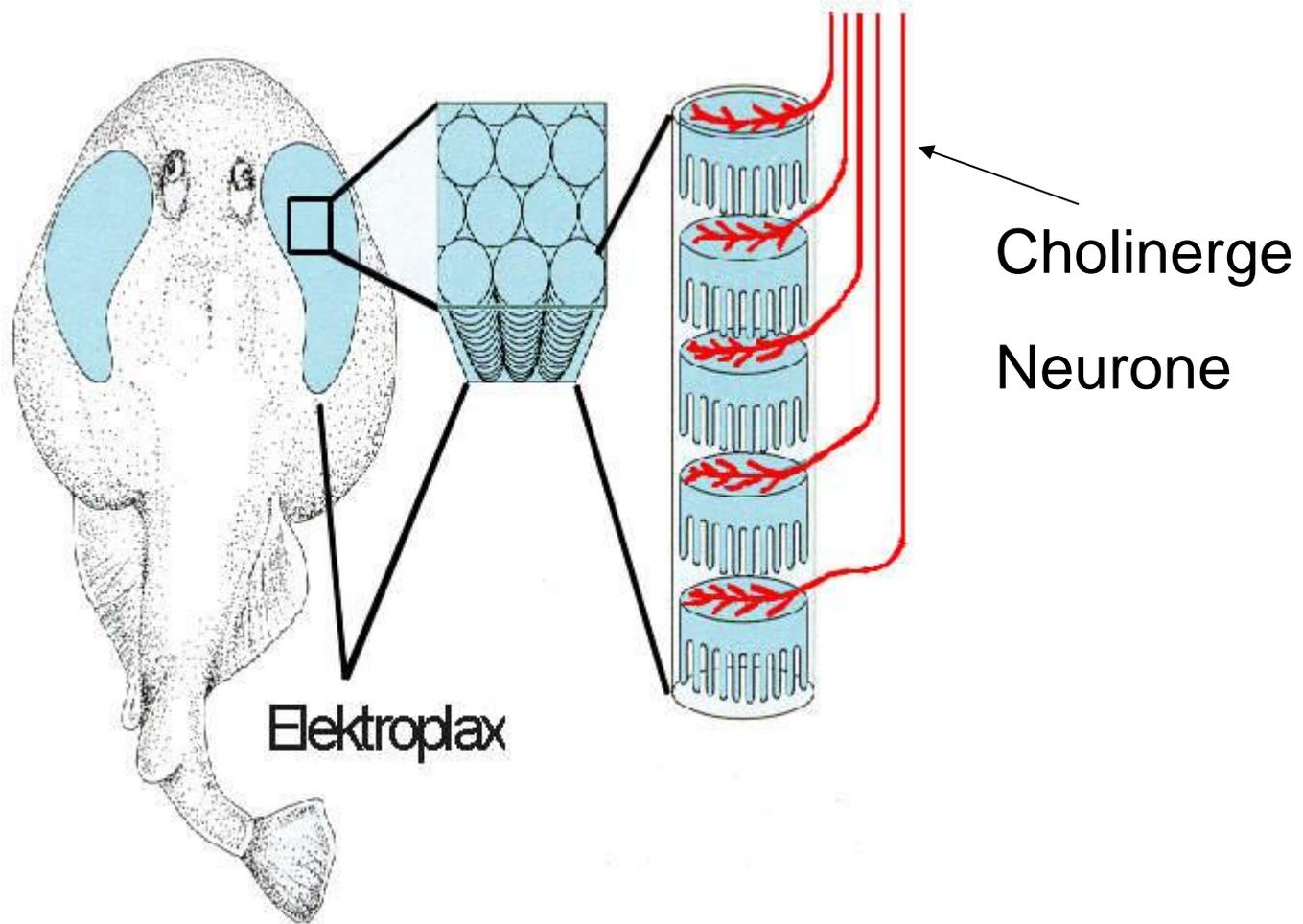
Klonierung der ersten Untereinheiten

Noda et al. (1982) Nature **299**, 793ff; *Shosaku Numa*



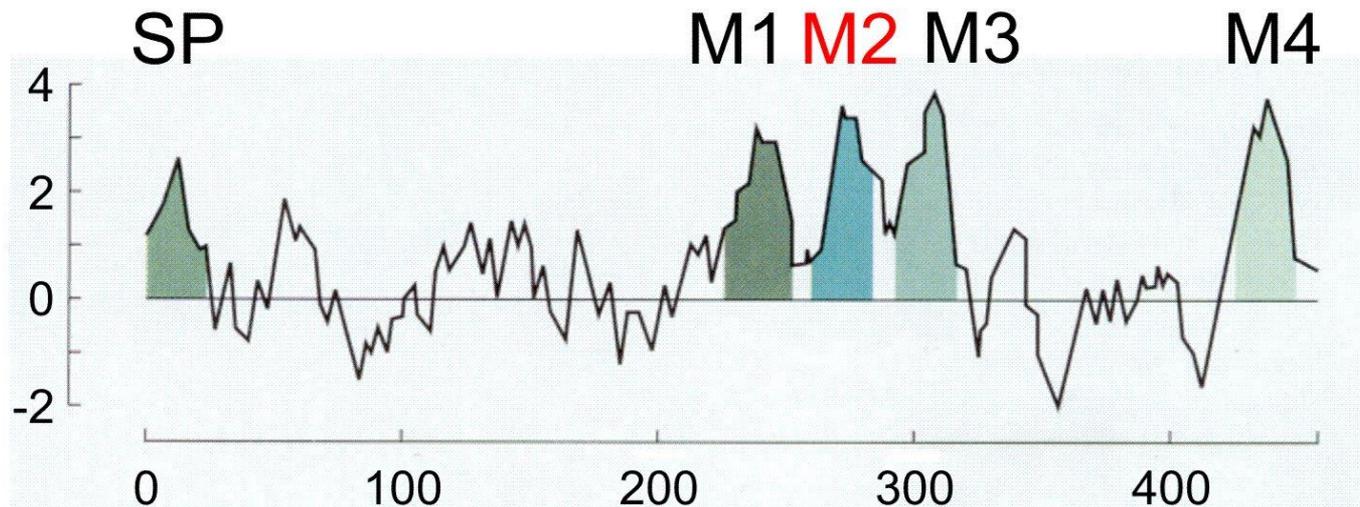
Zitterrochen

# Klonierung



Elektrisches Organ enthält sehr viele nAChR

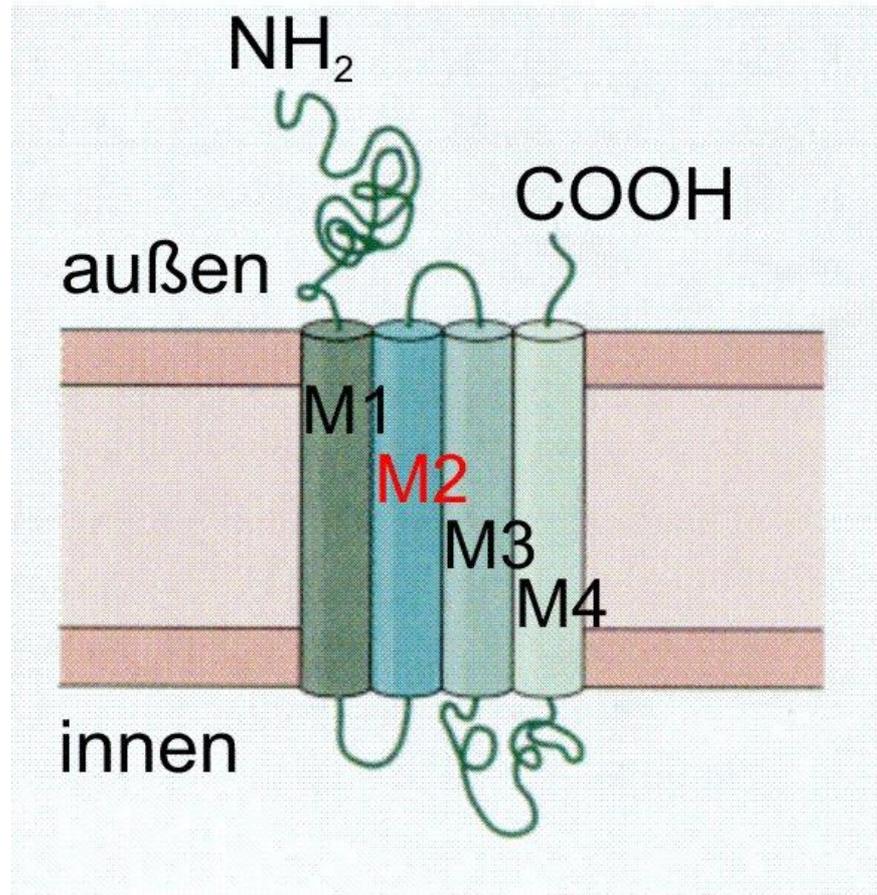
# Hydropathieanalyse



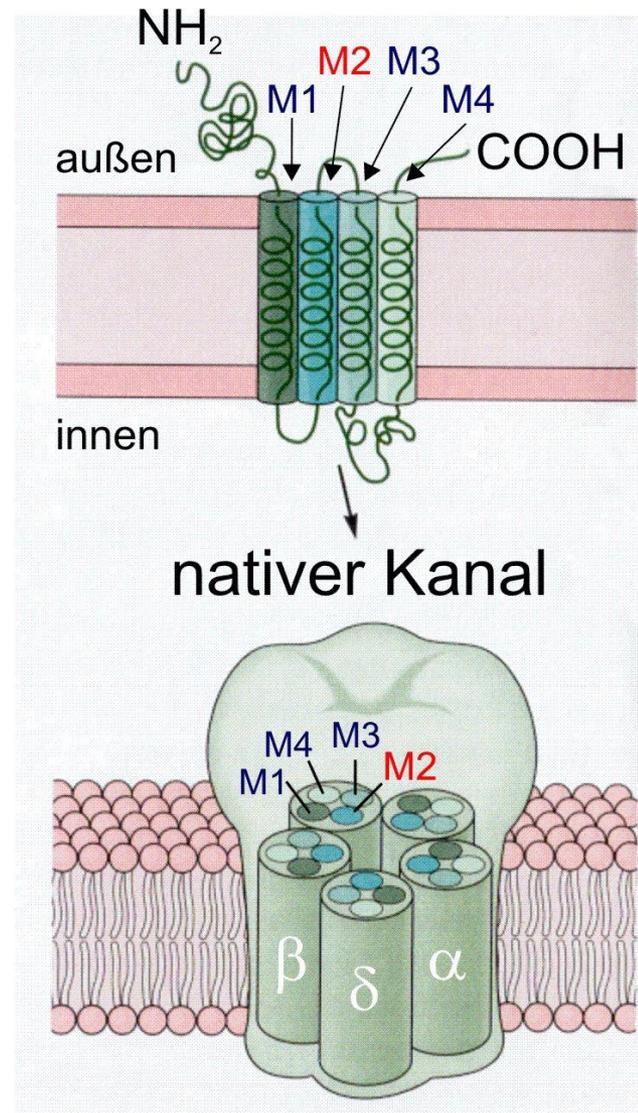
Aminosäuren

u.a. Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) J. Mol. Biol. **157**, 105ff  
Vorhersage, ob ein Protein potenziell die Plasmamembran durchspannt:  
Mittelwert Hydrophobizität (20 Aminosäuren)  $\geq 1,6$  ( $\Rightarrow$   $\alpha$ -Helix)

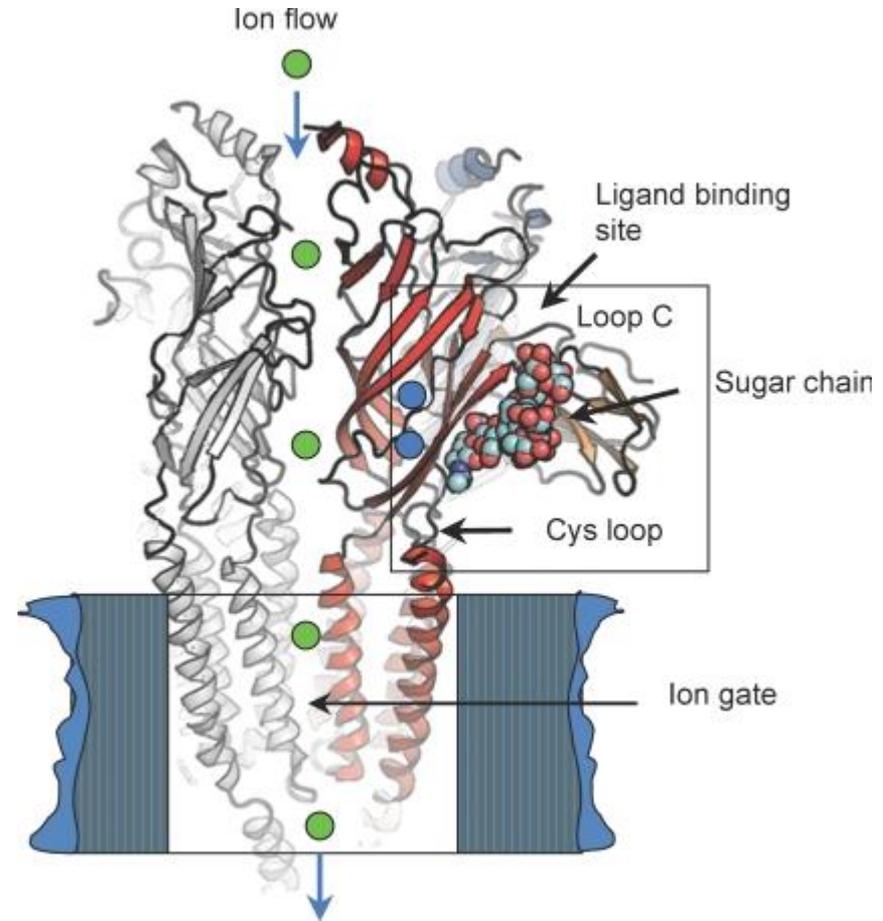
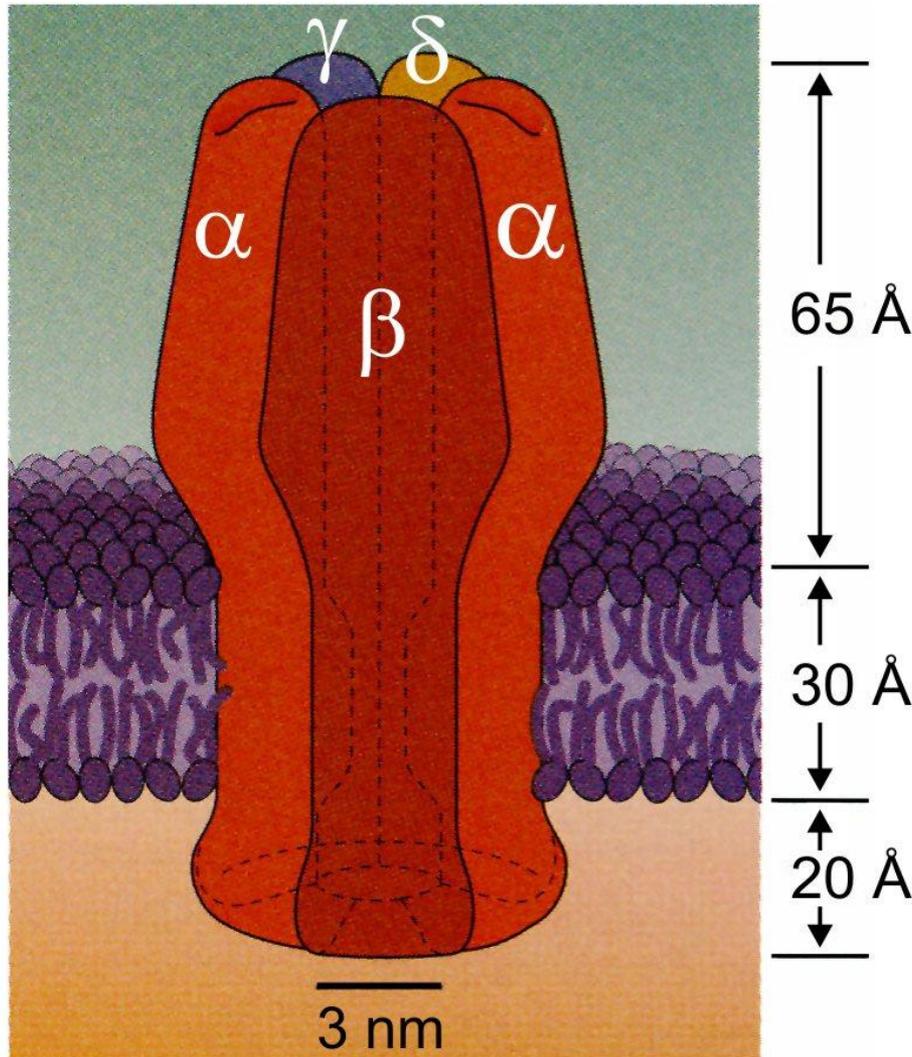
# Membrantopologie



# Rezeptor Oligomer

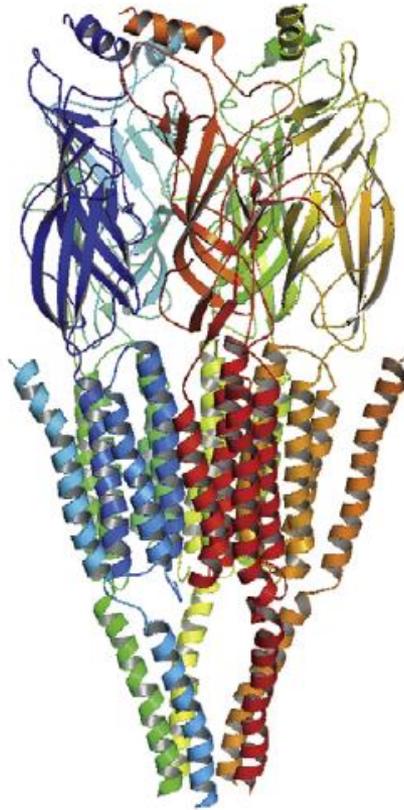


# Rezeptorstruktur

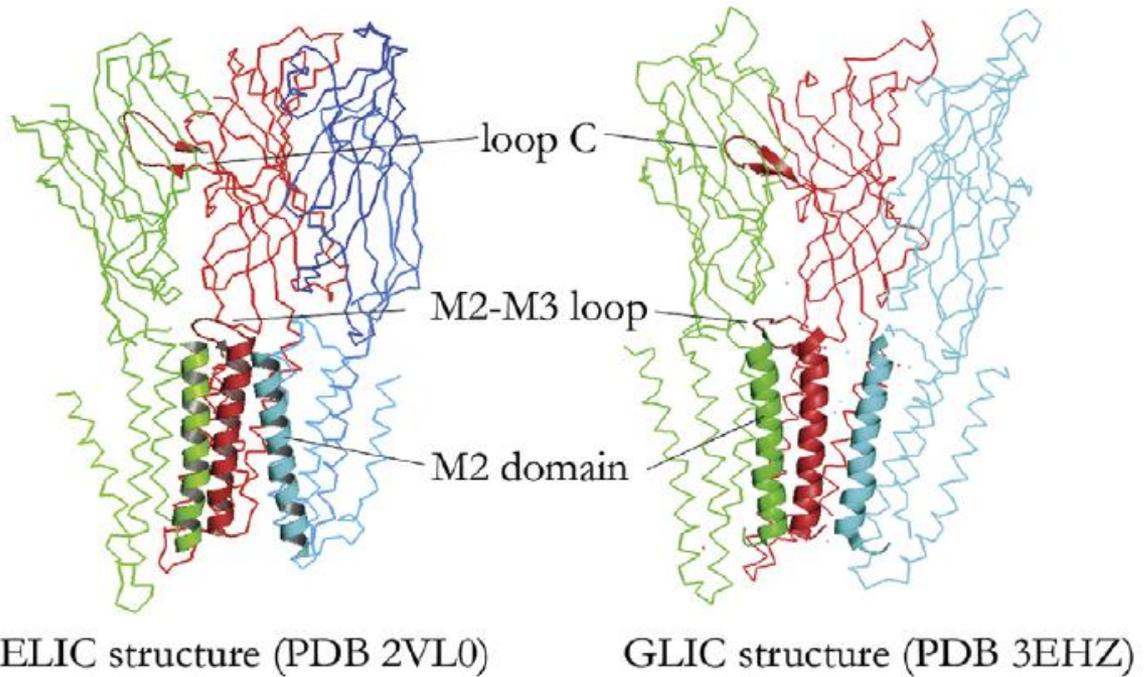


Chen (2010), J Physiol. **15**, 557-564

# Rezeptorstruktur



AChR structure (PDB 2BG9)



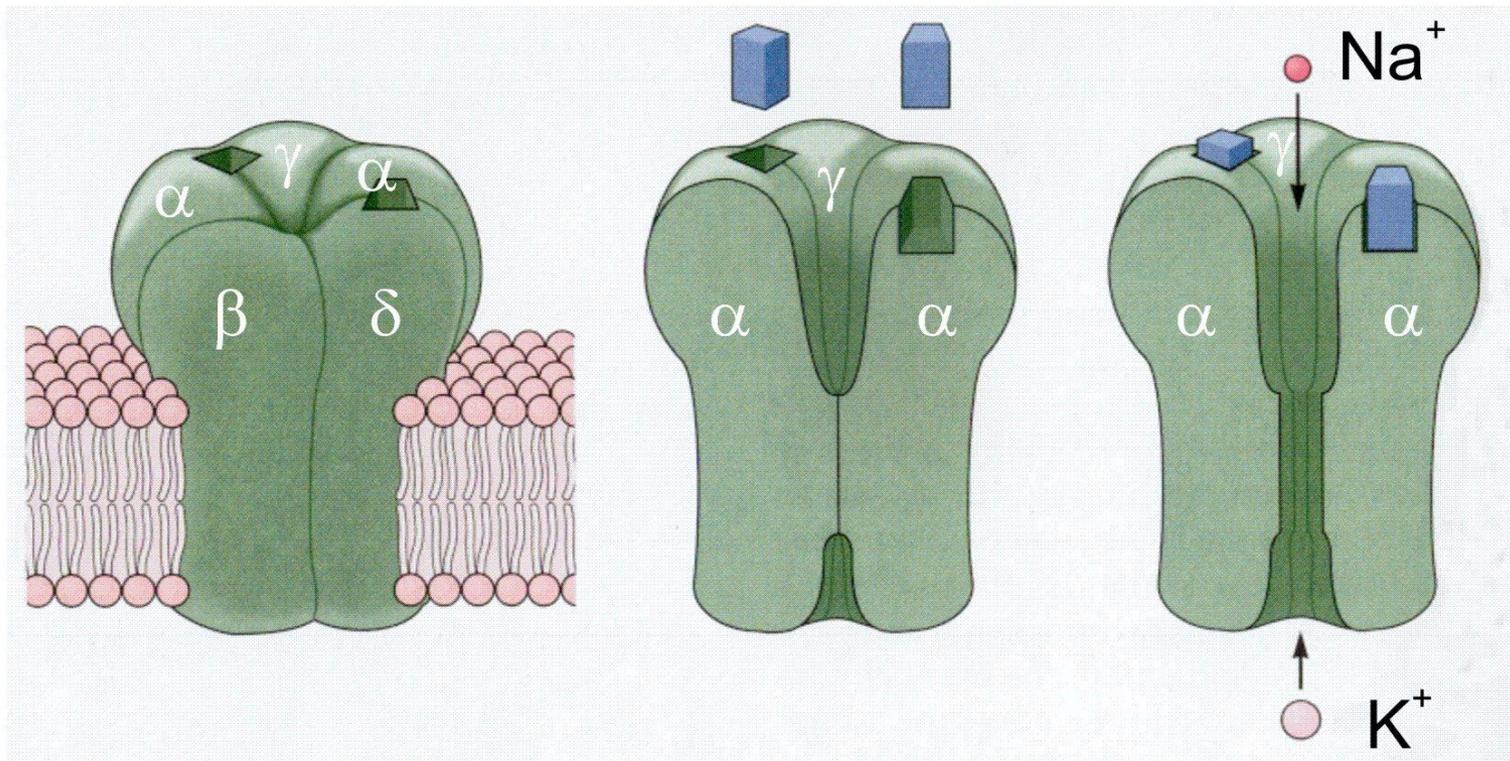
**Pentamere Liganden-gesteuerte Kanäle**

*Erwinia chrysanthemi*

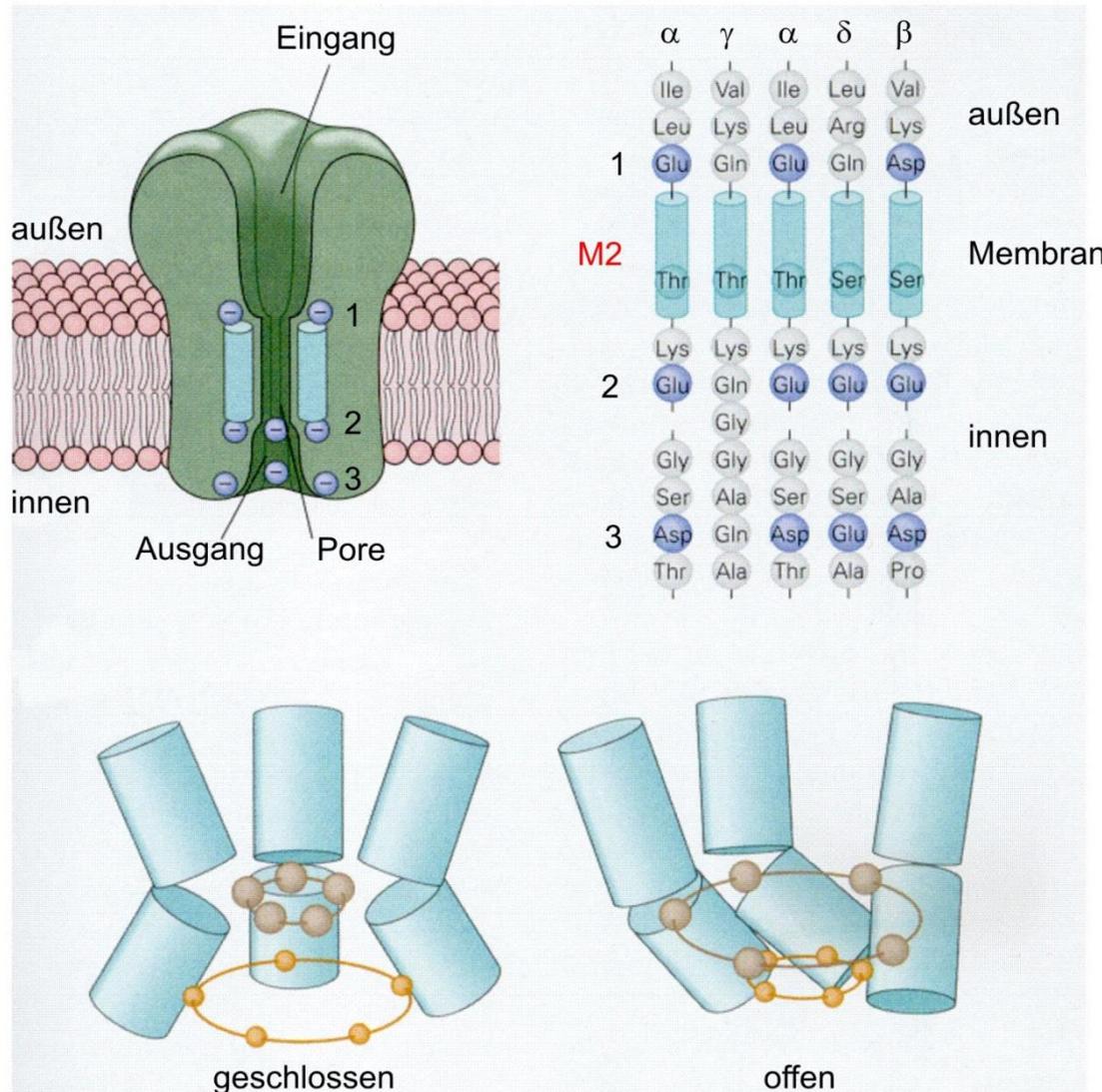
*Gloeobacter violaceus*

# Aktivierung

Acetylcholin

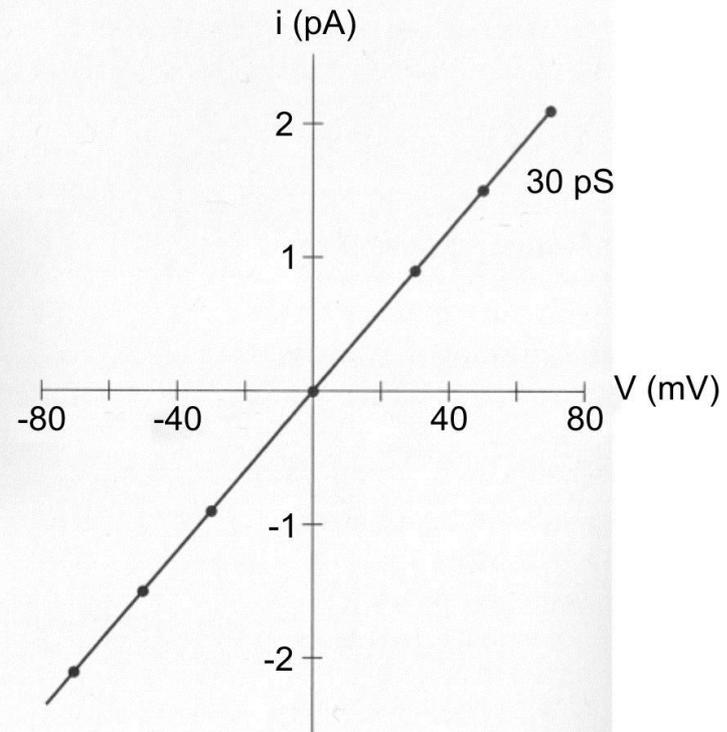
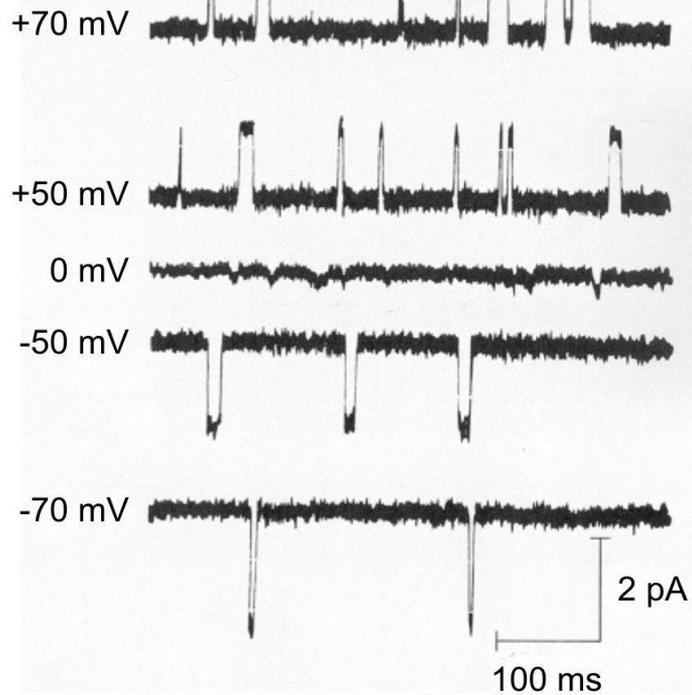


# Öffnungsmechanismus



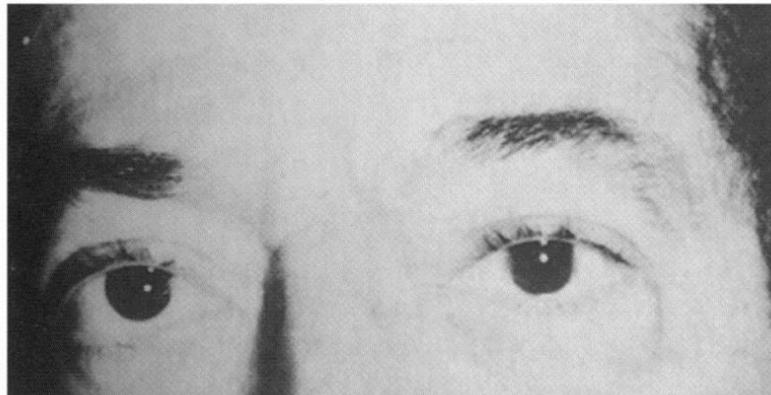
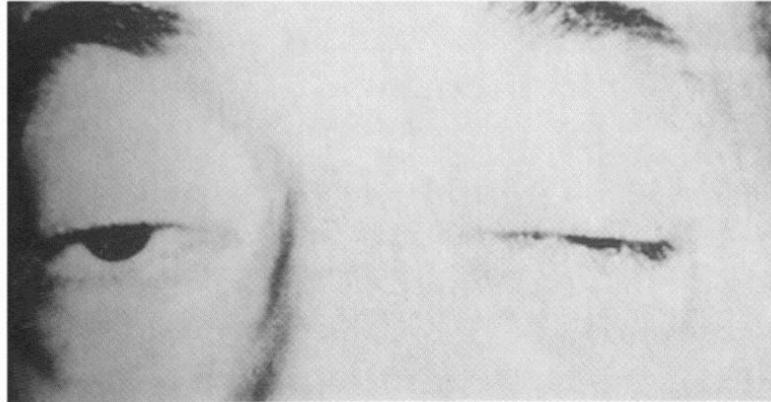
# Einzelkanal Eigenschaften

Membranpotential



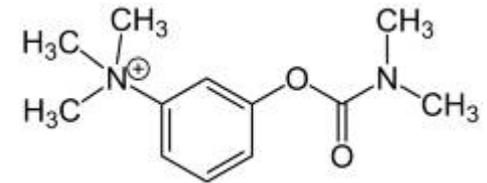
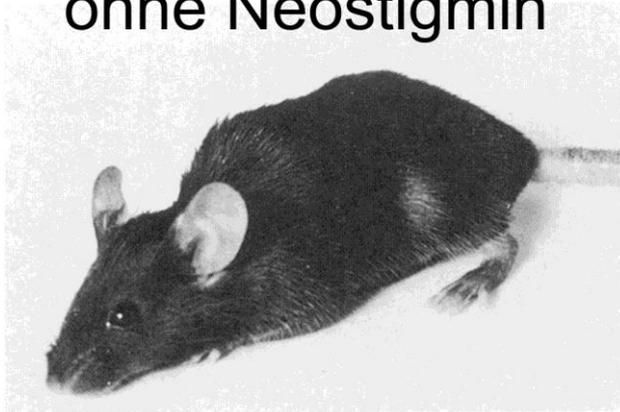
# Myasthenia gravis

# Myasthenia gravis



# Myasthenia gravis

ohne Neostigmin



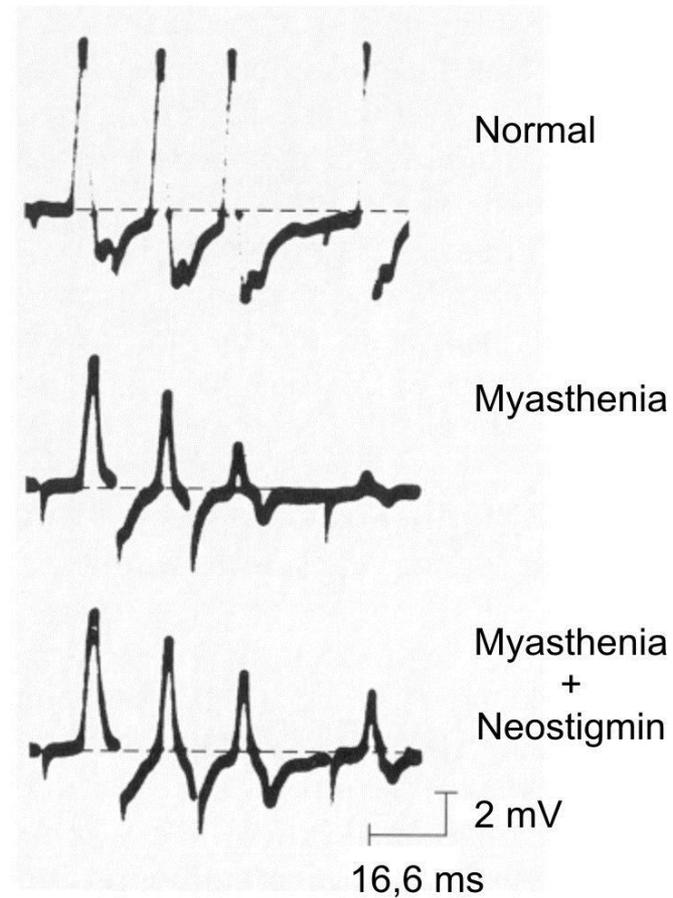
Neostigmin

= Cholinesterasehemmer

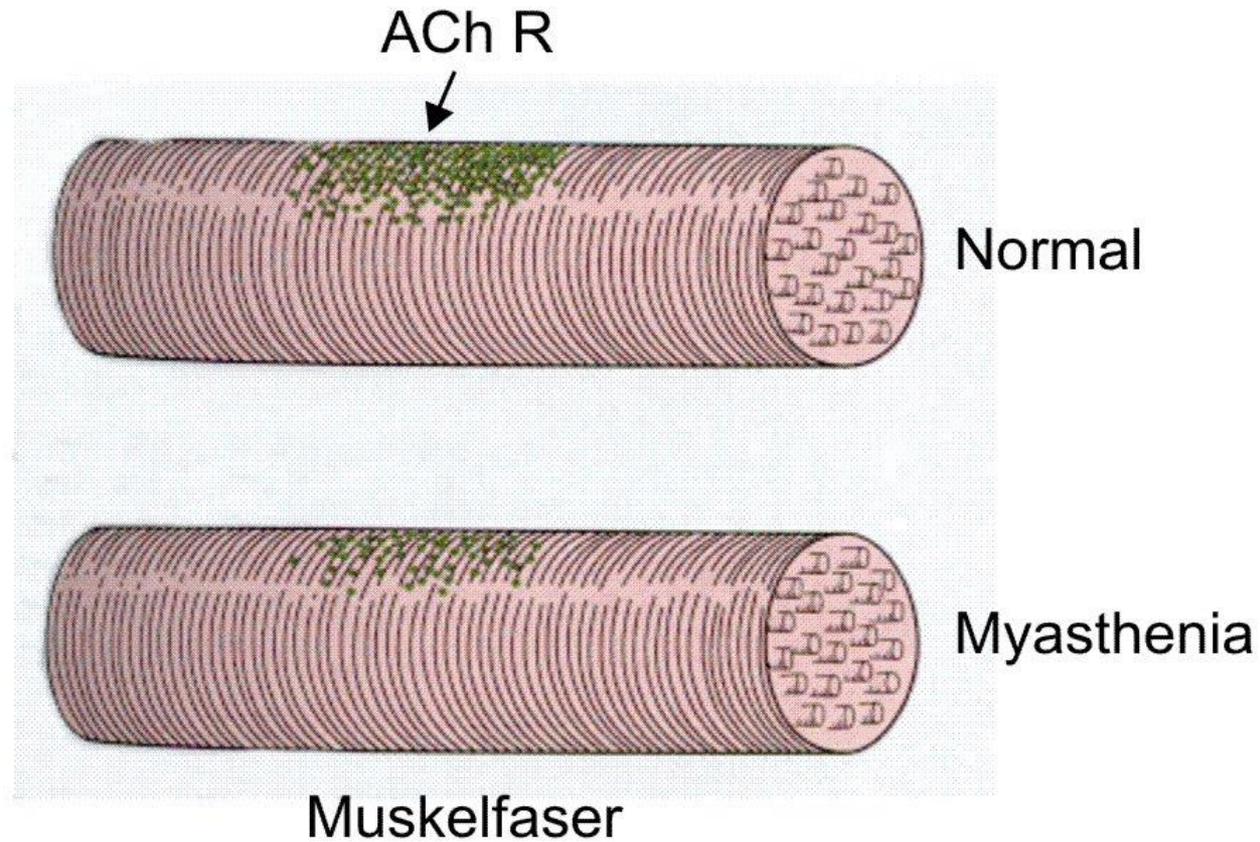


mit Neostigmin

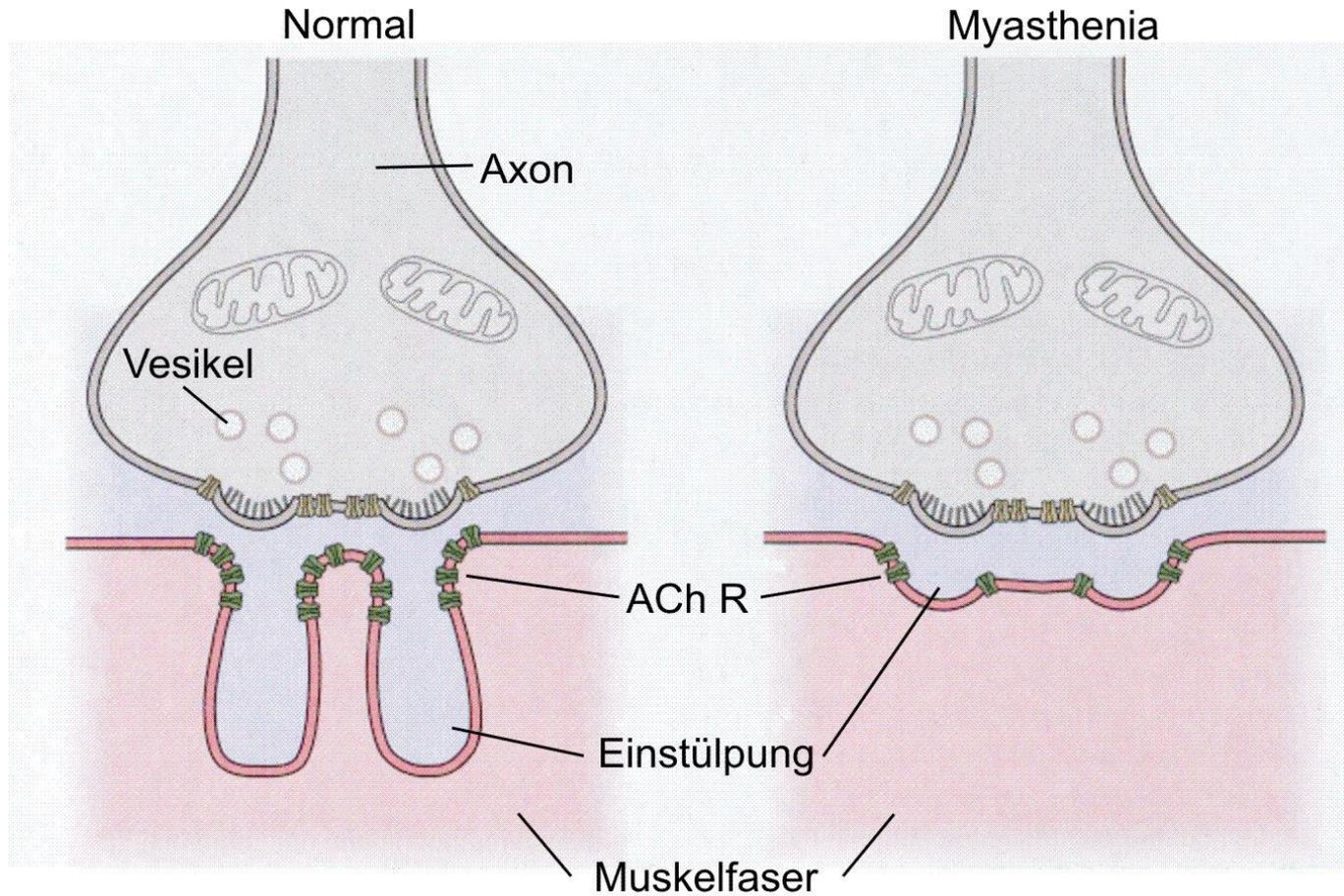
# Myasthenia gravis



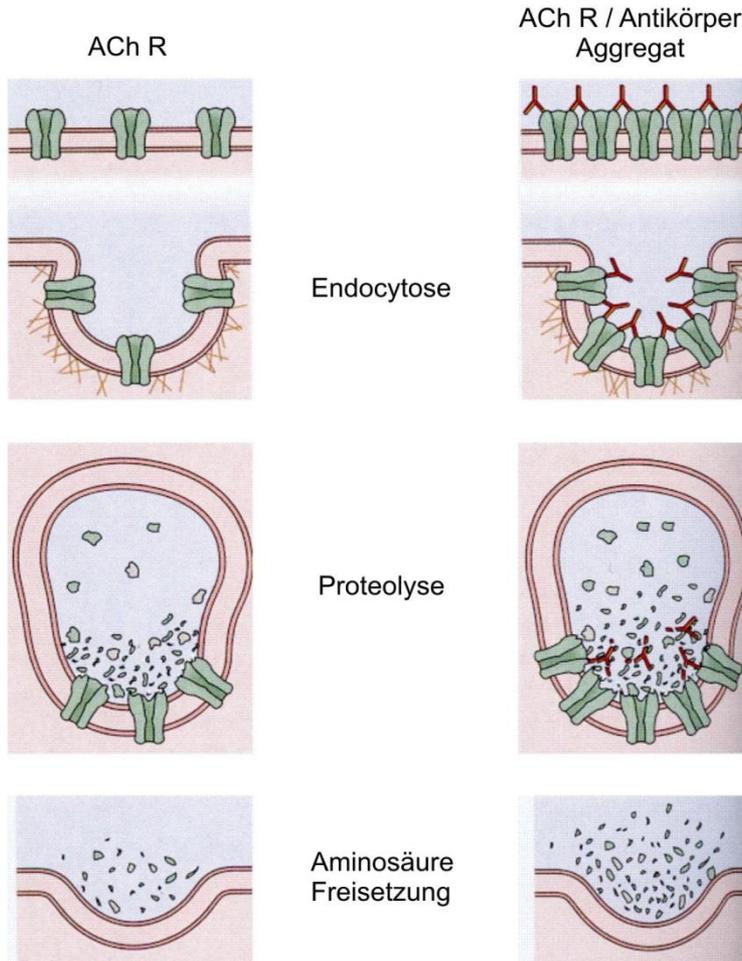
# Myasthenia gravis



# Myasthenia gravis



# Myasthenia gravis



Verringerung der  
Rezeptor Halbwertszeit:

**~7 Tage**

**~2,5 Tage**



# Glutamat Rezeptoren

# Übersicht

Vorkommen:	CNS
Aufbau:	Tetramer
Ionenselektivität:	Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup>
Agonisten:	NMDA, AMPA, Kainat
Antagonisten:	Memantine, Phencyclidine

# Glutamat

wichtigster exzitatorischer Botenstoff im CNS

## Rezeptortypen

N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)

$\alpha$ -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)

Kainat

# Klonierung

## Expressionsklonierung / Homologie Screening

Klonierung der ersten Untereinheiten

**AMPA:** Hollmann, M. et al. (1989) Nature **342**, 643ff

**Kainat:** Bettler, B. et al. (1990) Neuron **5**, 583ff

**NMDA:** Moriyoshi, K. et al. (1991) Nature **354**, 31ff

# Glutamat Rezeptortypen

NMDA

AMPA

Kainat

GluN1

GluA1-A4

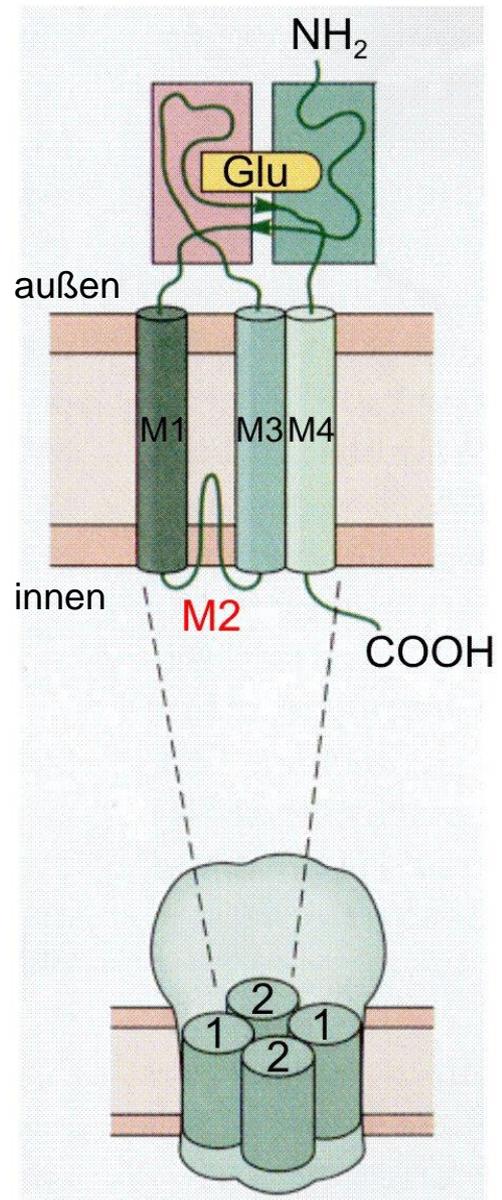
GluK1-K5

GluN2A-D

GluN3A/3B

Heterooligomere  
(immer)

Homooligomere  
*in vivo* Heterooligomere



Membrantopologie

Nativer Kanal

# Rezeptorstruktur

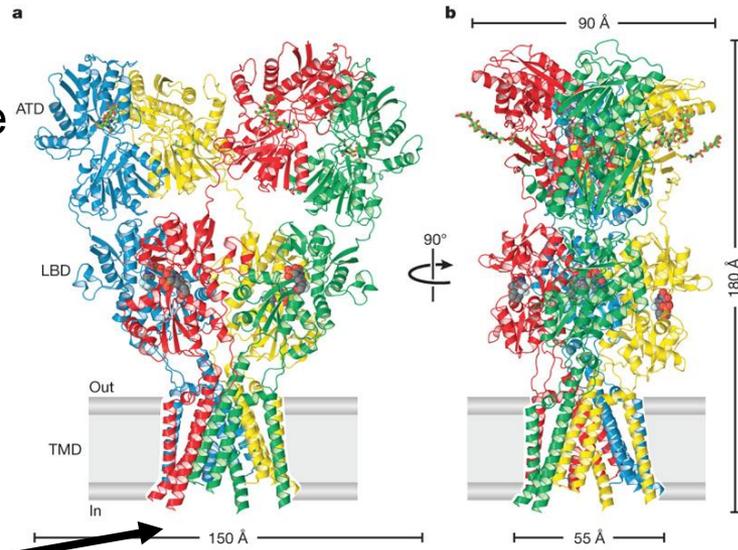
ATD = Amino-terminale Domäne

LBD = Ligandbindungs Domäne

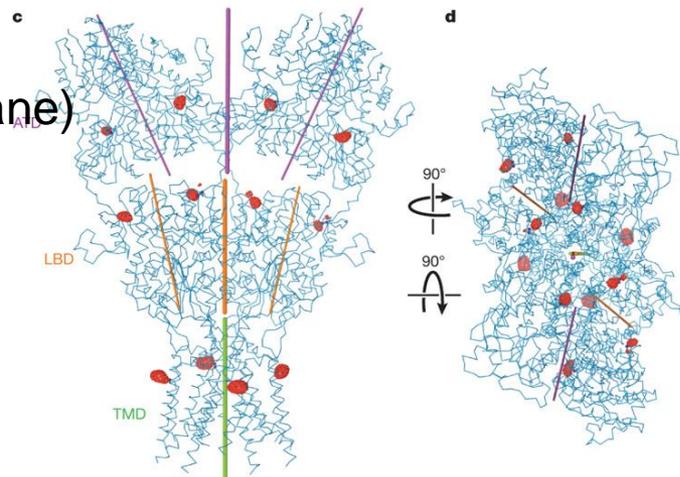
TMD = Transmembran Domäne

(CTD = Carboxyterminale Domäne)

Lokalisierung / Regulation

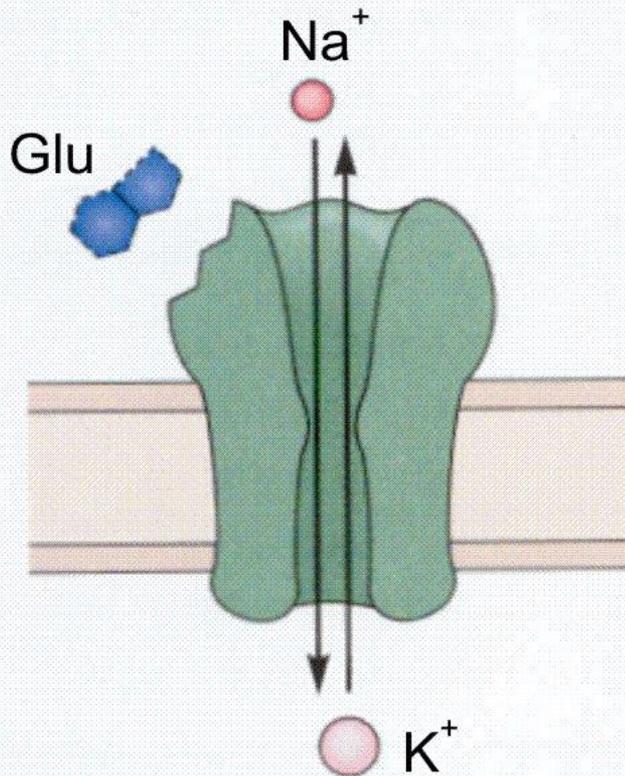


„Y“ shape

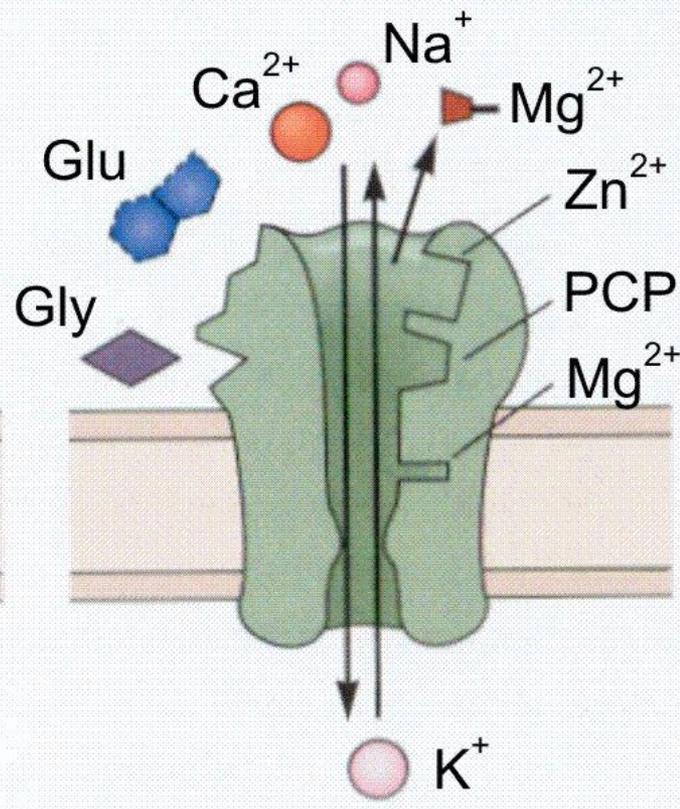


# Rezeptoreigenschaften

## Non-NMDA



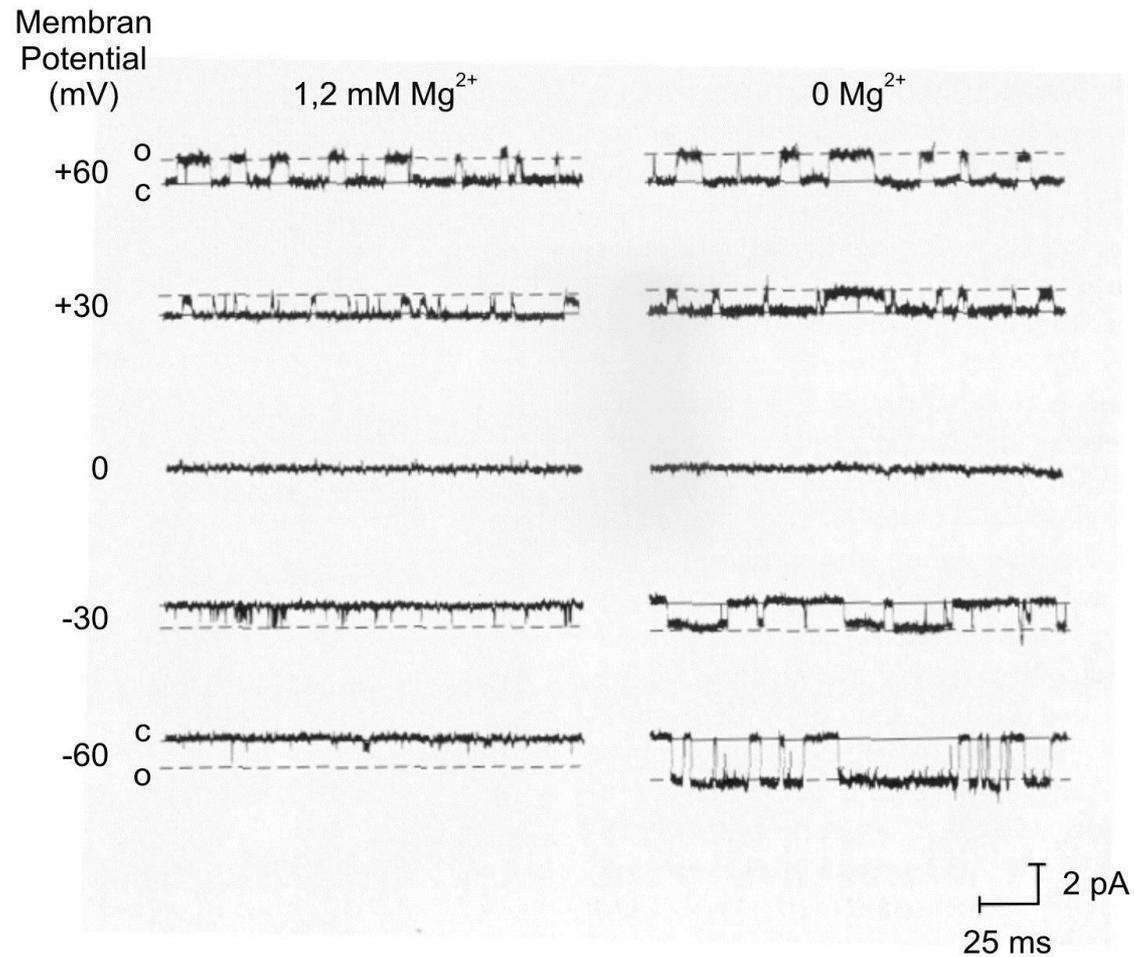
## NMDA



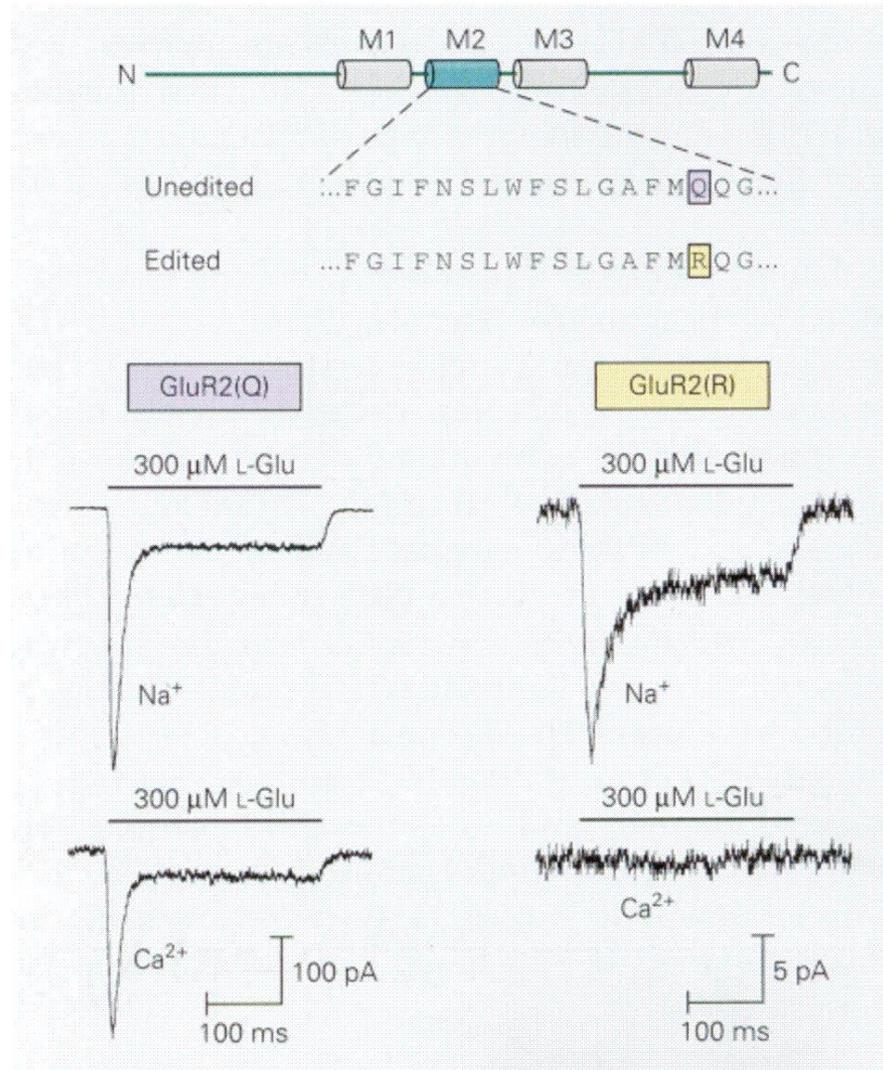
Mg<sup>2+</sup> Blockierung der NMDA Rezeptoren  
wird durch Depolarisierung aufgehoben.

⇒ Non-NMDA Rezeptoren

# NMDA Rezeptoren



# RNA Editing



# Glutamat Rezeptoren und Krankheiten

Alzheimer:

erhöhte Glutamat Konzentration  
⇒ Erregung

Neurotoxizität:

NMDA/GluR ⇔ erhöhter  $\text{Ca}^{2+}$  Einstrom



# GABA Rezeptoren

# Übersicht

Vorkommen:	CNS
Aufbau:	Pentamer
Zusammensetzung:	GABA <sub>A</sub> : $\alpha$ 1-6, $\beta$ 1-4, $\gamma$ 1-4, $\delta$ , $\epsilon$ , $\pi$ GABA <sub>C</sub> : $\rho$ 1-3
Ionenselektivität:	Cl <sup>-</sup>
Agonisten:	GABA, Muscimol
Antagonisten:	Picrotoxin, Bicuculline
Modulatoren:	Benzodiazepine, Barbiturate

# Klonierung

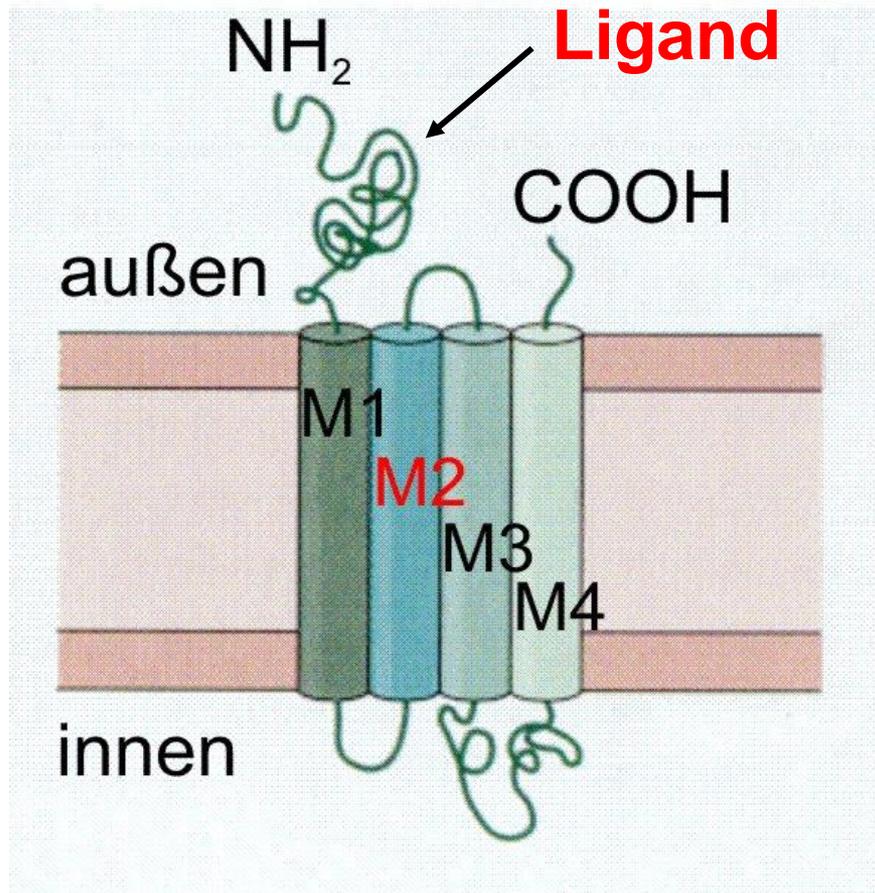
## Affinitätsreinigung (Benzodiazepin) / Screening

Klonierung der ersten Untereinheiten

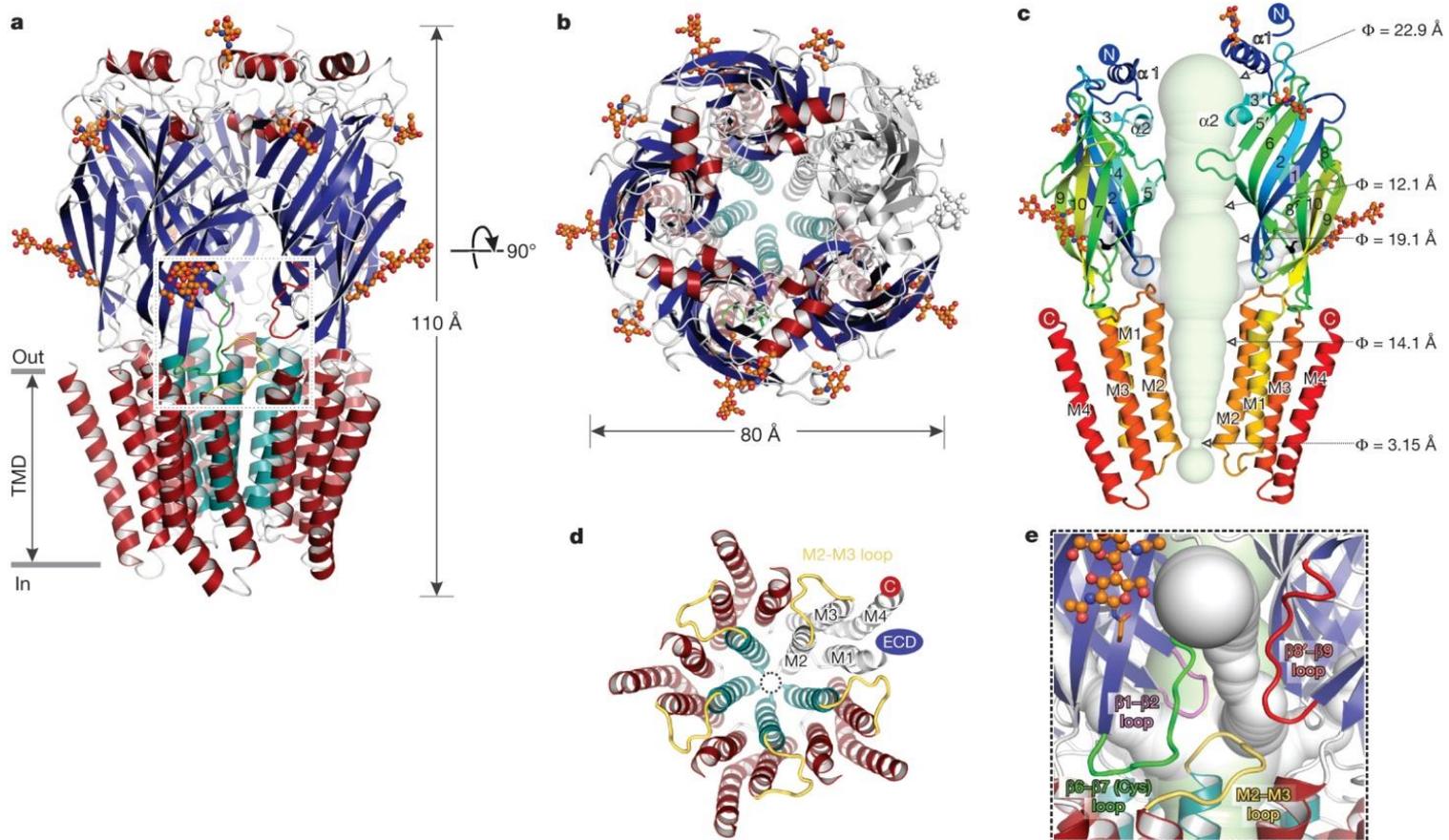
Schofield, P.R. et al. (1987) Nature **328**, 221ff;

*Peter Seeburg / Eric Barnard*

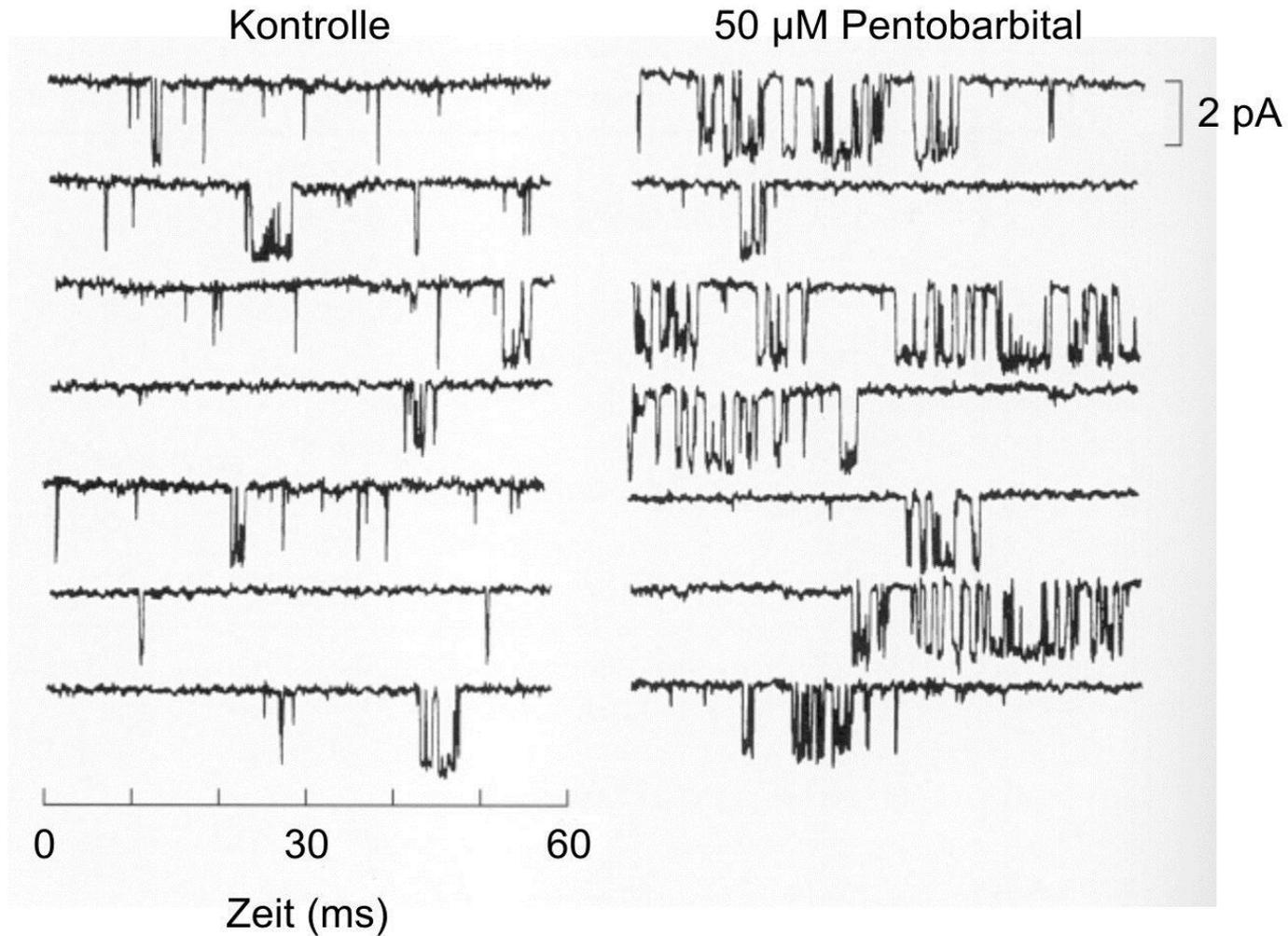
# Membrantopologie



# Rezeptorstruktur



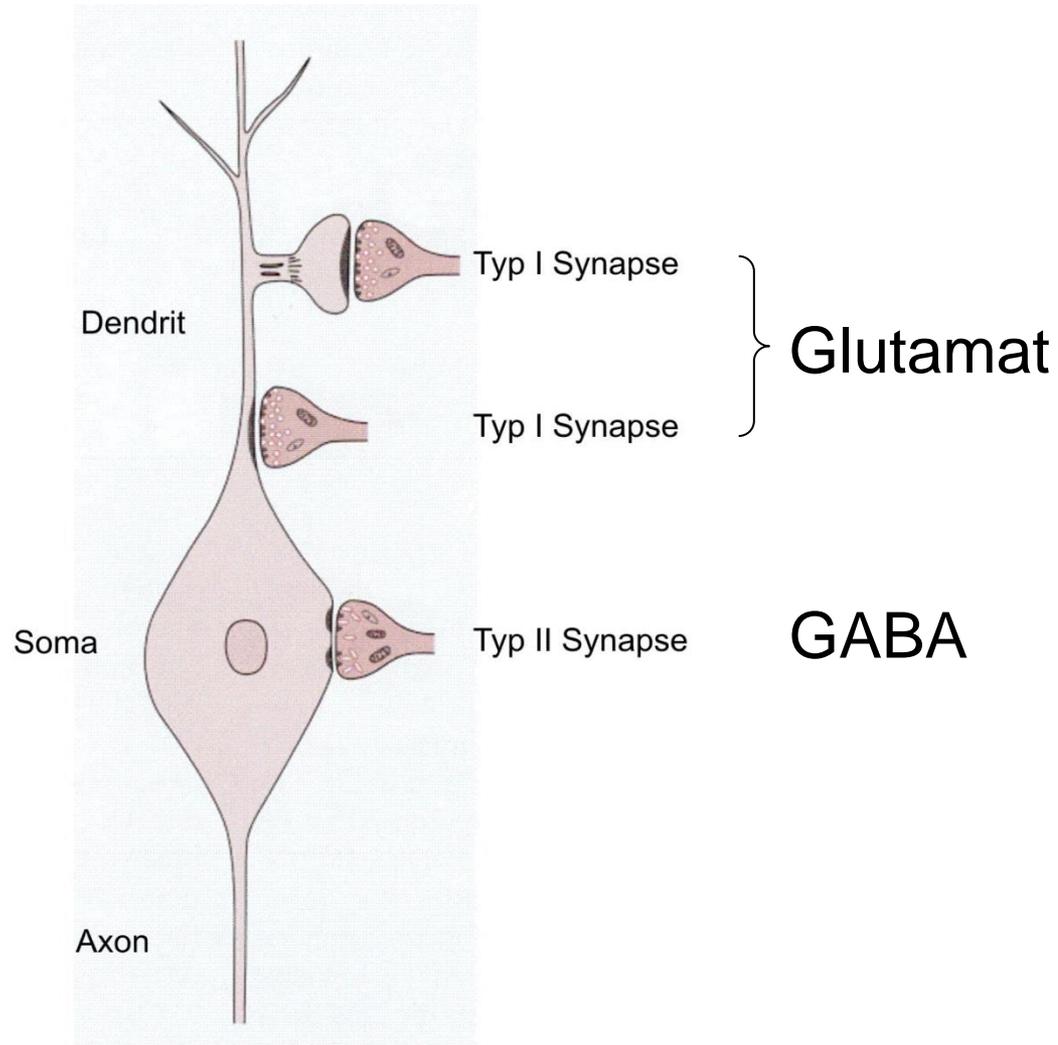
# GABA Rezeptoren



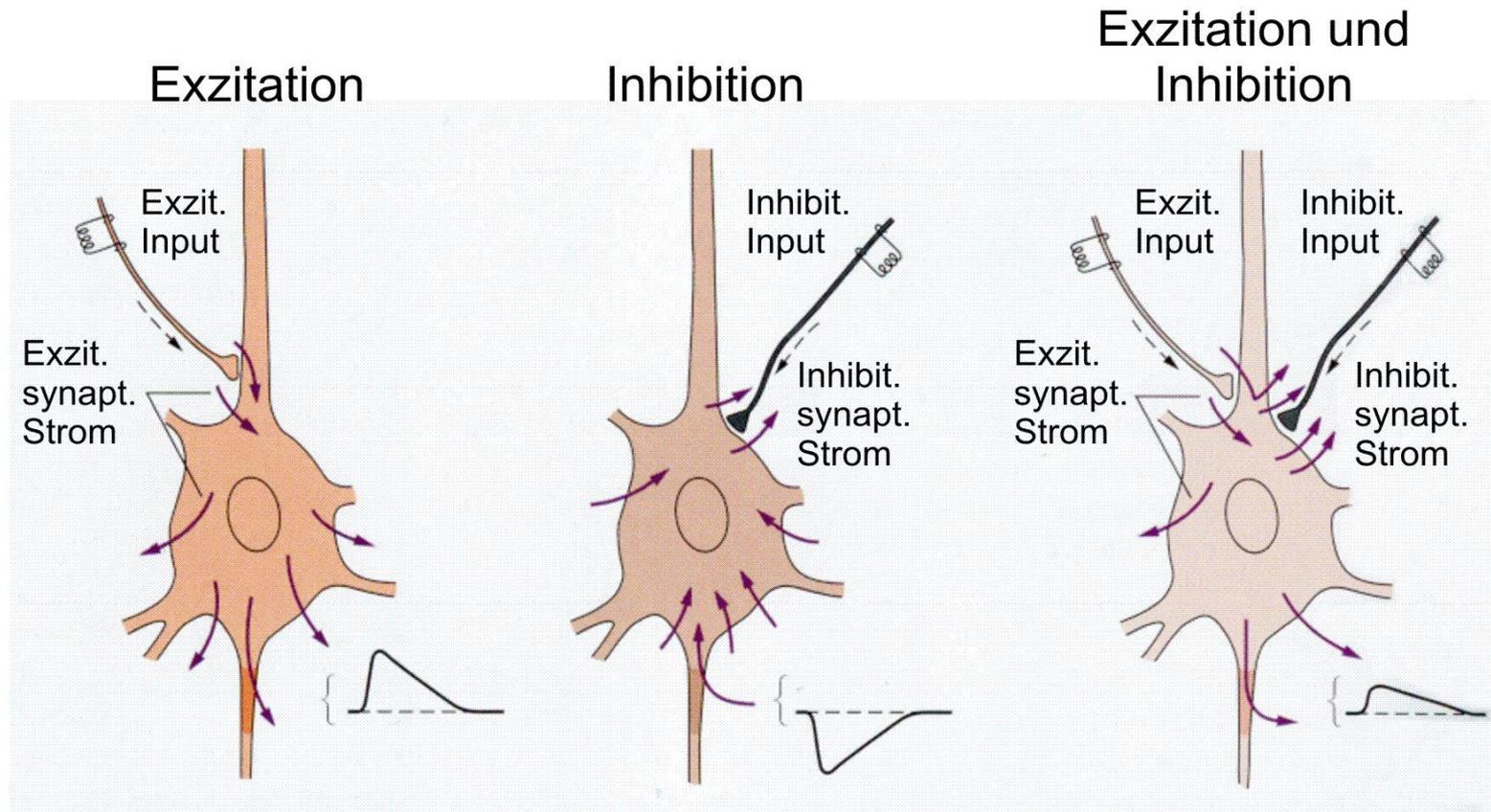
Warum sind inhibitorische  
Rezeptoren wichtig?

Wo wirken sie effizient?

# Exzitation $\Leftrightarrow$ Inhibition

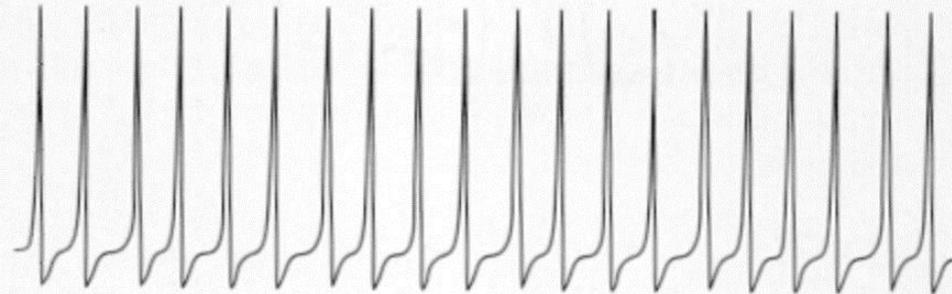


# Exzitation $\Leftrightarrow$ Inhibition

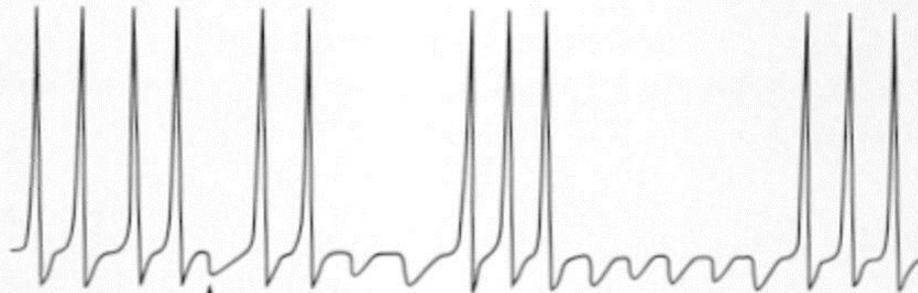


# Exzitation $\Leftrightarrow$ Inhibition

ohne  
inhibitorischen Input



mit  
inhibitorischem Input



↑  
IPSP



# Glycin Rezeptoren

# Übersicht

Vorkommen: PNS, CNS

Aufbau: Pentamer

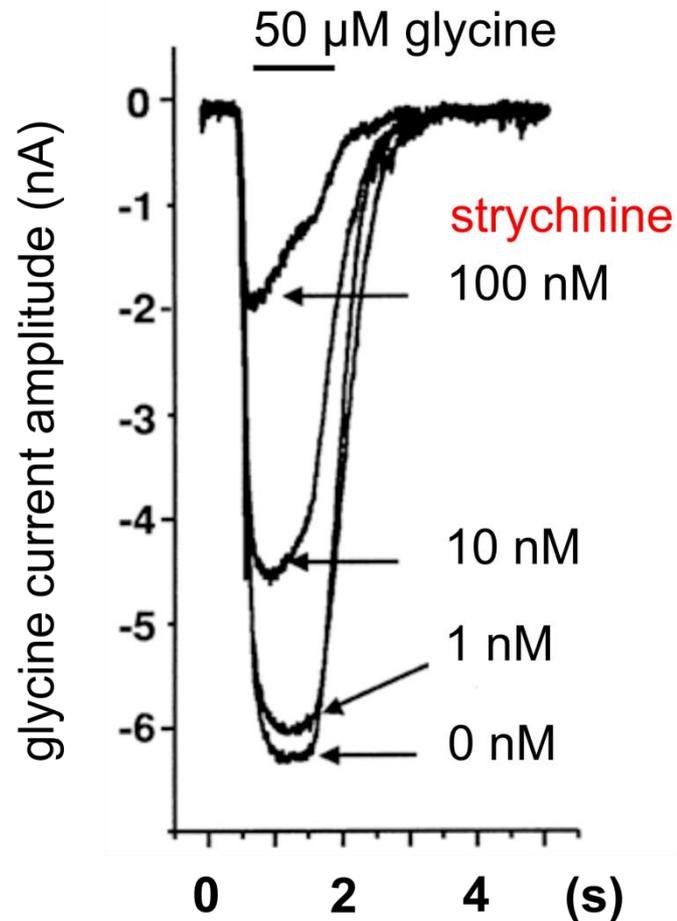
Zusammensetzung:  
 $\alpha 1-4$ ,  $\beta 1$

Ionenselektivität:  $\text{Cl}^-$

Agonisten: Glycin, Taurin

Antagonisten: Strychnin

# Klonierung

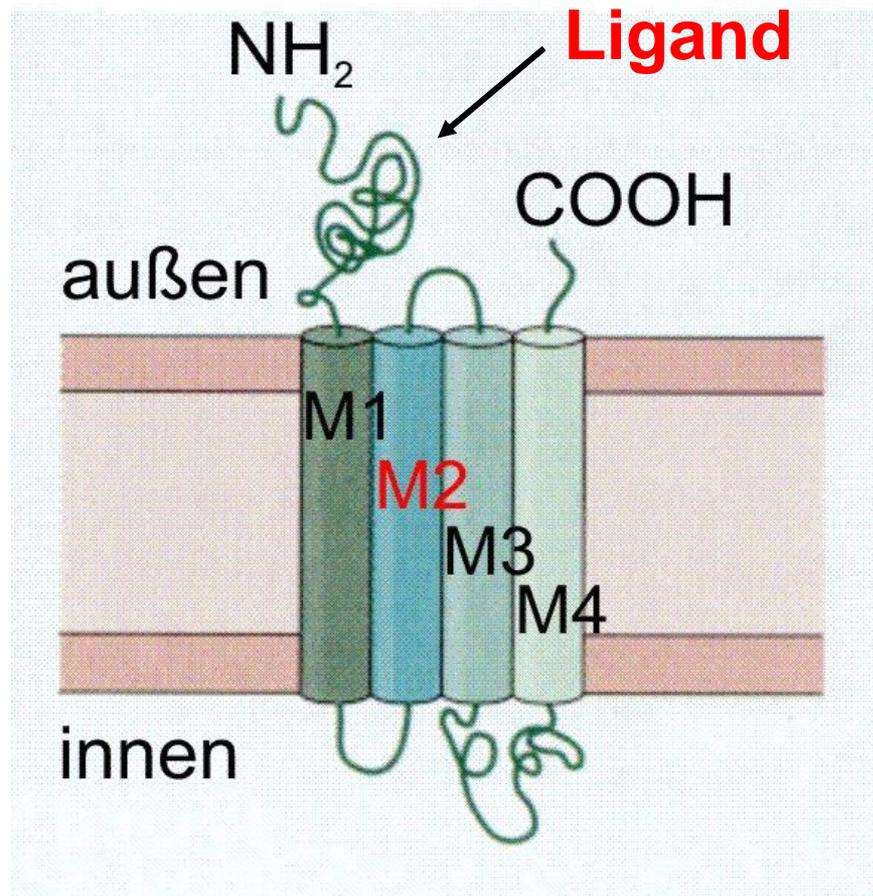


Affinitätsreinigung (Strychnin)/  
Screening

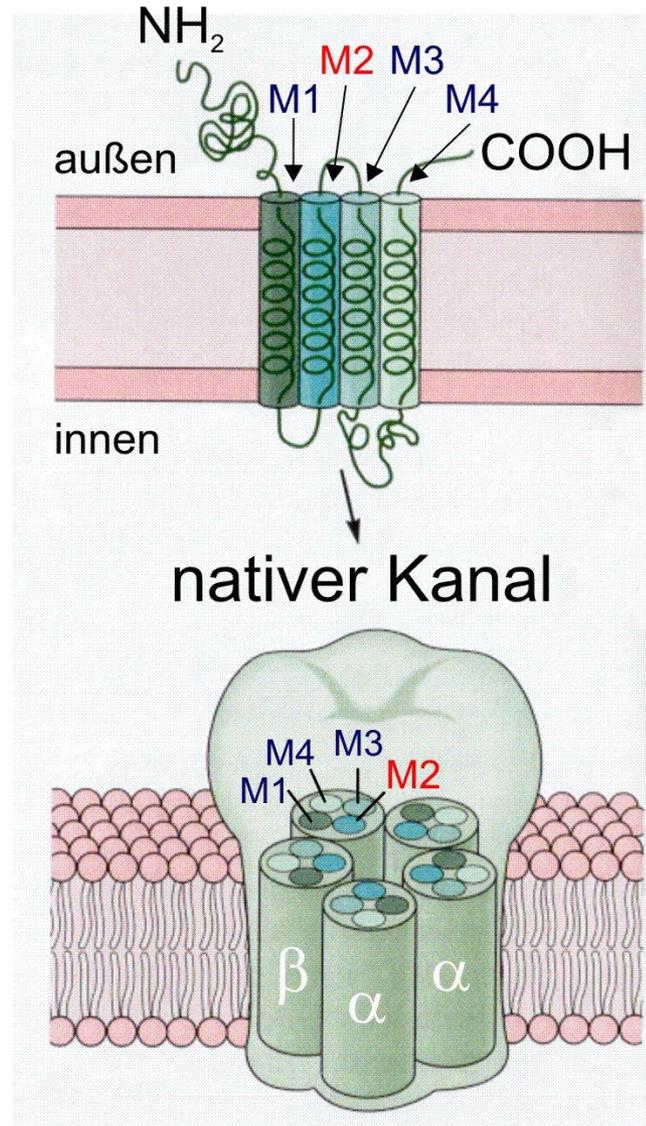
Klonierung der ersten Untereinheit

Grenningloh, G. et al. (1987)  
Nature **328**, 215ff; *H. Betz*

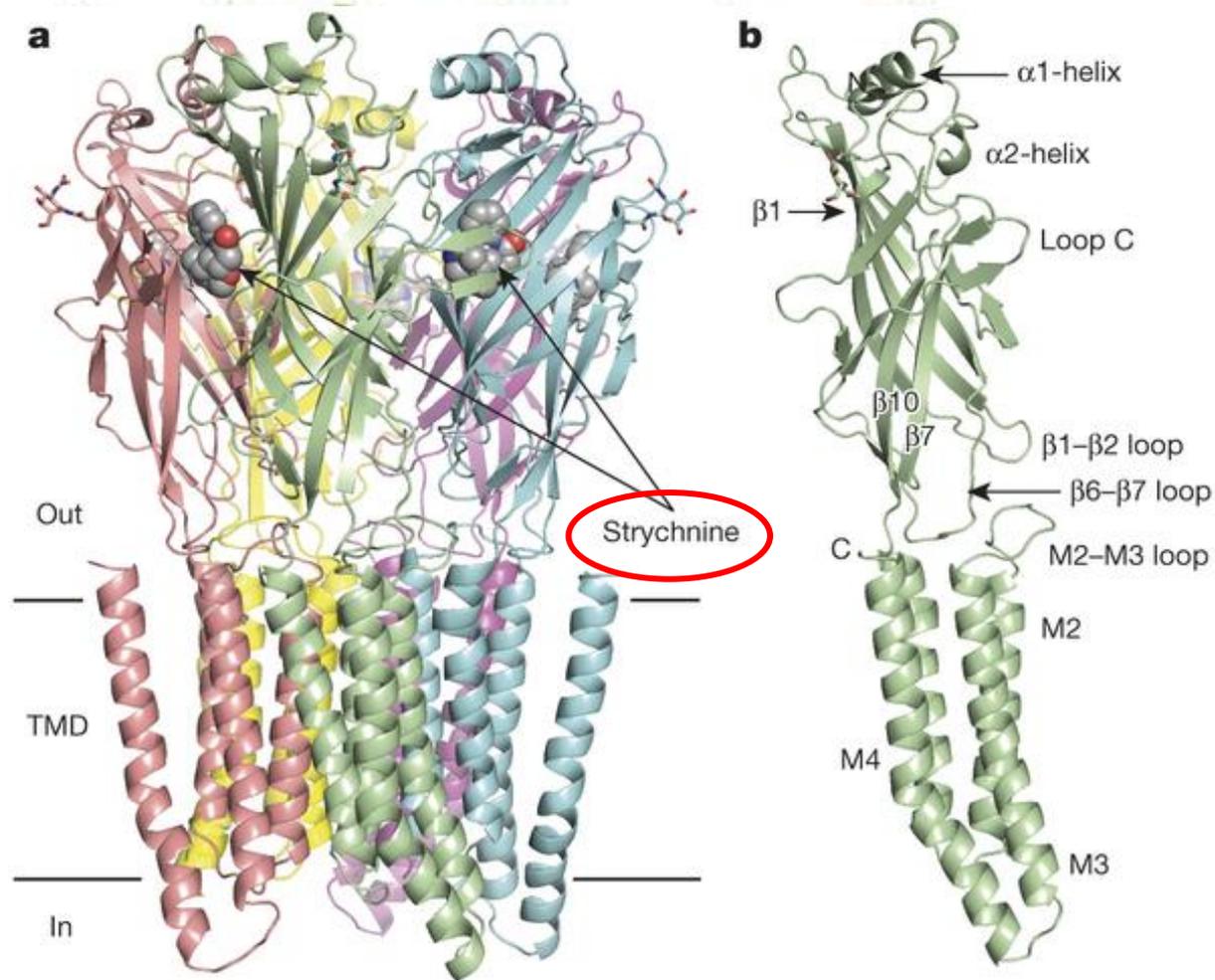
# Membrantopologie



# Rezeptor Oligomer



# Rezeptorstruktur



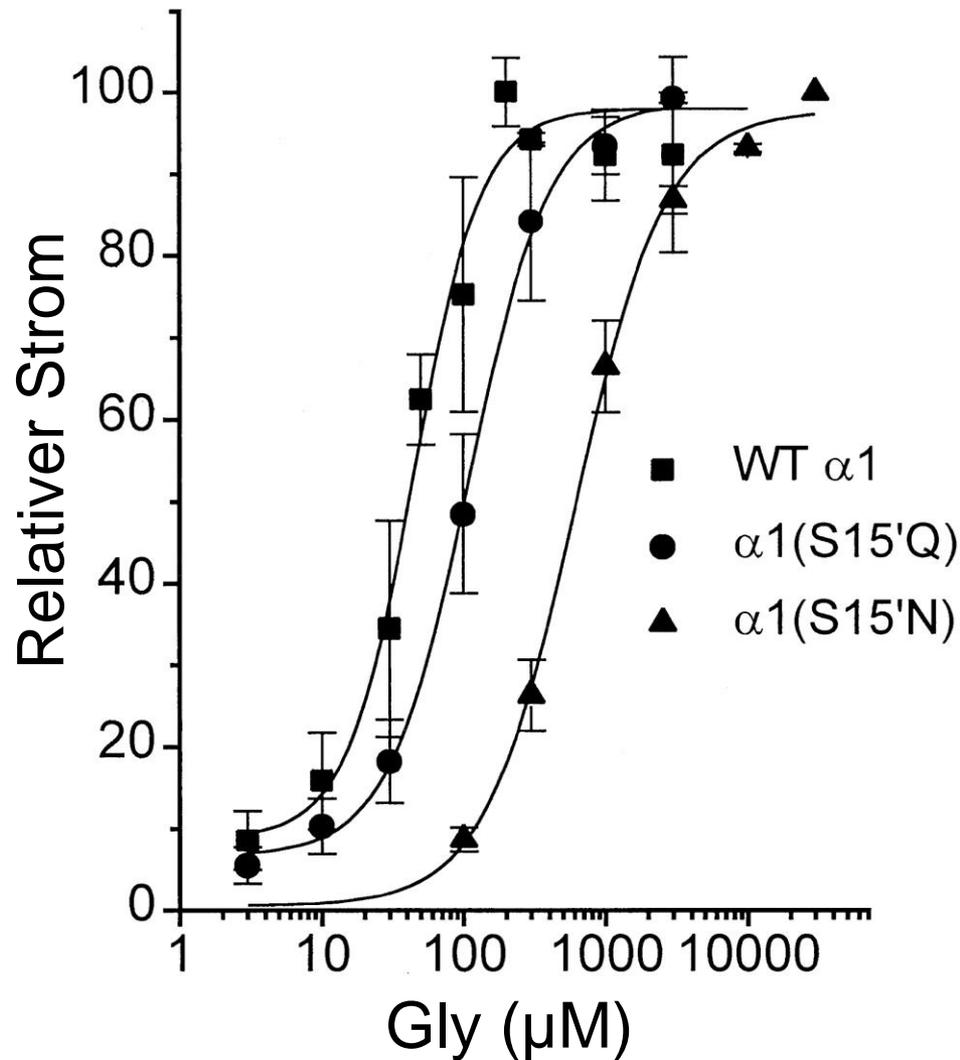
# Glycin Rezeptoren und Krankheiten

## Hypertonische Motorische Störungen (Spasmen)

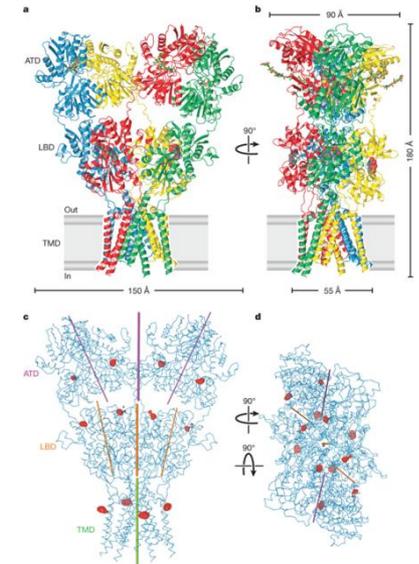
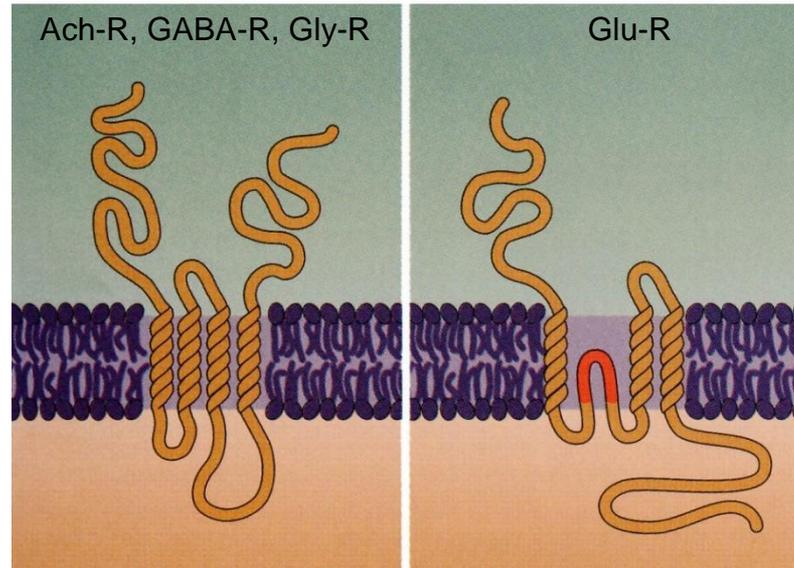
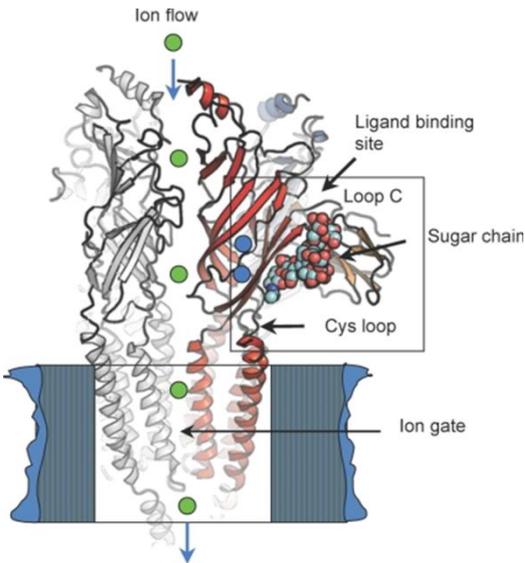
Mensch: Startle disease (Mutation  $\alpha 1$ )

Maus: spasmodic:  $\alpha 1$   
oscillator:  $\alpha 1$   
spastic:  $\beta$

# Glycin Rezeptor Mutationen



# Zusammenfassung



Exzitatorische Rezeptoren: exzitatorische postsynaptische Potentiale  
EPSP  
ACh; Glutamat

Inhibitorische Rezeptoren: inhibitorische postsynaptische Potentiale  
IPSP  
GABA; Glycin