

Практикум 1

Файл с выбранным для данного практикума PDB_ID 2xxt содержит комплекс LBD-домена каинатного рецептора и каиновой кислоты. Каинатные рецепторы (GluK) – это подтип ионотропных глутаматных рецепторов, агонистом действия которых является каиновая кислота.

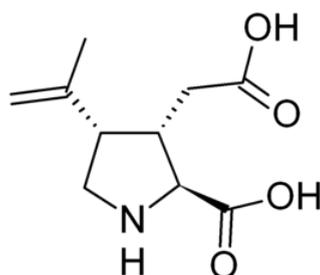


Рис.1. Структура каиновой кислоты.

Каинатные рецепторы изучены в меньшей степени, чем другие типы глутаматных рецепторов, в частности, из-за их меньшей распространенности в нервной системе. Тем не менее, на данный момент изучена их роль в передаче информации в обонятельной луковице¹, а также в пластичности синапсов в некоторых структурах мозга, в частности, в гиппокампе².

Каиновая кислота является агонистом GluK, “мимикрируя” под глутамат, эта молекула активирует рецепторы, соответственно при отравлении каинатом происходит гиперстимуляция нейронов, приводящая к судорогам и последующей смерти. Из-за такого эффекта каинат используют при моделировании эпилепсии³
4.

Весьма актуальным вопросом, касающихся GluK-рецепторов, является их димеризация. Дело в том, что для предотвращения гиперстимуляции нейронов и вообще всего мозга после активации у глутаматных рецепторов (AMPA-типа и каинатных) наступает фаза десенситизации⁶, во время которой лиганд остаётся связанным с рецептором, однако тока ионов не наблюдается. На данный момент известно, что фаза десенситизации тесно связана с дестабилизацией димера GluK⁷, соответственно, стабилизируя данный димер, можно добиться большей стимуляции нейронов. Формирование димера происходит при помощи LBD (ligand-binding domain), и по большей части в PDB хранится структура только LBD-домена GluK-рецепторов.

Изучив структуру каината, можно прийти к выводу, что взаимодействие каината с рецептором с большой вероятностью будет таким же, как взаимодействие глутамата с последним. Все функциональные группы каината идентичны группам глутамата – две карбоксильные группы и азот. Более того, они и в пространстве примерно так же расположены, поэтому с точки зрения функциональных групп эти молекулы почти одинаковы.

Единственное различие, которое можно выделить заключается с взаимодействием молекулы каината с аминокислотными остатками PRO'516 и GLU'738 - у каината на атоме азота один водород, и, в то время как глутамат может взаимодействовать с обоими аминокислотными остатками, каинат такой возможности лишён. Мне кажется, здесь могут иметь место два альтернативных состояния, потому что я не знаю, как выбрать, с каким же именно аминокислотным остатком будет образовываться водородная связь (Рис 2а и 2b).

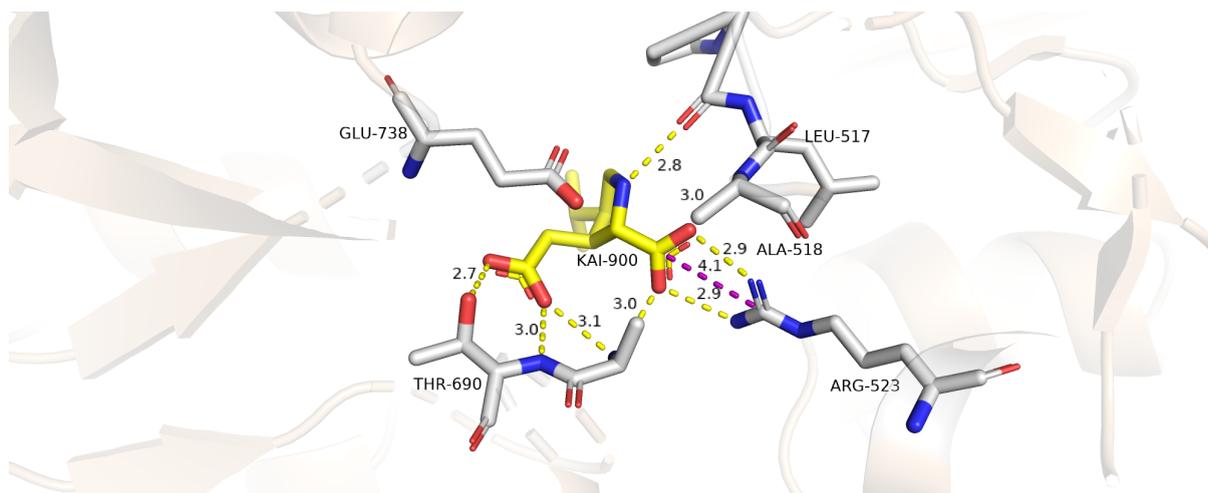


Рис.2а. Взаимодействие каиновой кислоты с каинатным рецептором (вариант 1). Солевой мостик между -COOH- группой каината и аминокислотным остатком аргинина показан фиолетовым цветом, водородные связи показаны жёлтым.

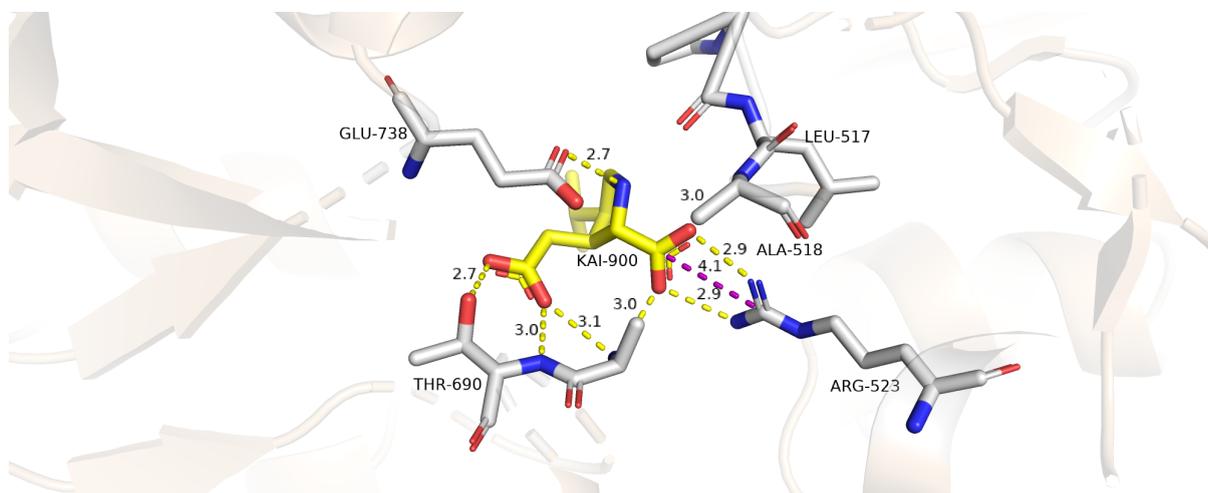


Рис.2b. Взаимодействие каиновой кислоты с каинатным рецептором (вариант 2). Солевой мостик между -COOH- группой каината и аминокислотным остатком аргинина показан фиолетовым цветом, водородные связи показаны жёлтым.

Для сравнения и удовлетворения своего любопытства посмотрим на взаимодействие каинатного рецептора с глутаматом.

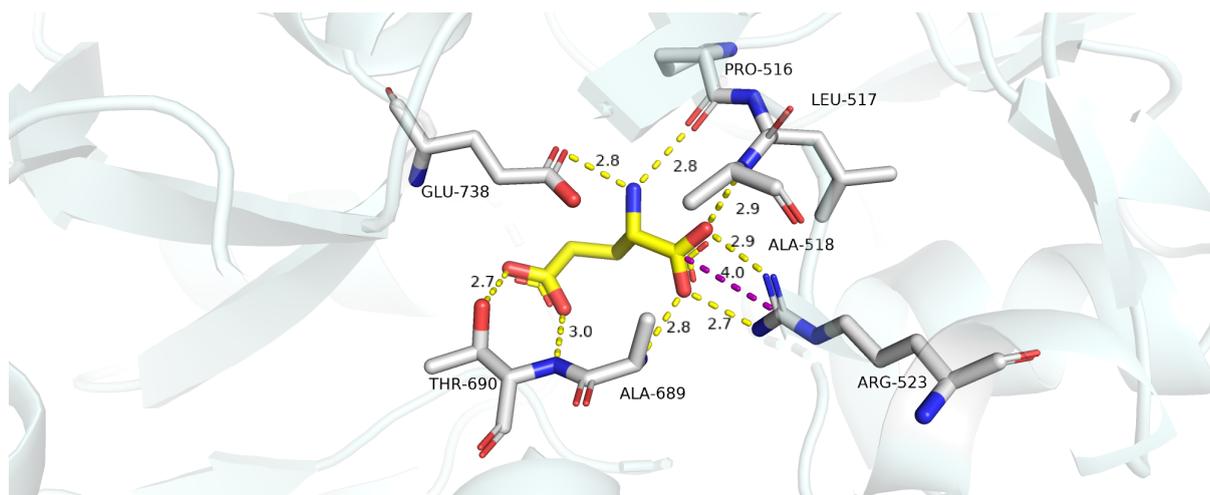


Рис.3. Взаимодействие глутамата с кайнатным рецептором. Солевой мостик между -COOH-группой кайната и аминокислотным остатком аргинина показан фиолетовым цветом, водородные связи показаны жёлтым.

В статье, в которой анализировалась структура 2xht (вместе с другими структурами), представлены взаимодействия глутамата с рецептором, и они вроде как сходятся с представленными картинками.

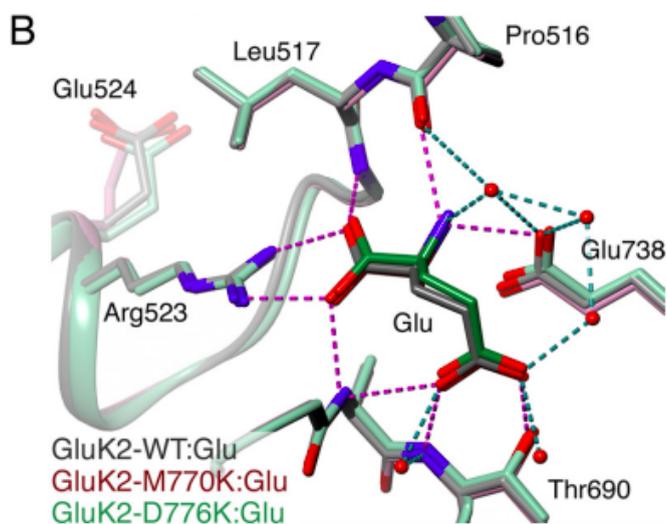


Figure 2. LBD dimer overview and ligand-binding site in GluK2-WT:Glu, GluK2-M770K:Glu, and GluK2-D776K:Glu. **A**, Diagram of GluK2-WT:Glu dimer, showing ligand (cyan), the residues mutated in this study (Met770, gray; Asp776, orange) and ions (sodium, purple; chloride, green) as spheres. The D1 and D2 domains are indicated. **B**, Ligand interactions at the binding sites of GluK2-WT:Glu (gray), GluK2-M770K:Glu (pink), and GluK2-D776K:Glu (Po form; green) (all protomer B). The structures of GluK2-WT and GluK2-M770K superimpose almost exactly. Side-chains and main-chain sections that interact with the ligand Glu are displayed as sticks. Glu524, which forms part of the cation-binding pocket, is also shown. Interacting waters (from WT only) are shown as nonbonded spheres. Dashed lines represent interactions in GluK2-WT between ligand and either protein (magenta) or waters (blue-green).

Рис.4. Взаимодействие глутамата с кайнатным рецептором, согласно литературным данным⁵.

Дополнительная часть - ионы натрия

Как уже было обозначено ранее, формирование димера GluK происходит при помощи LBD (ligand-binding domain). В статье, из которой была получена выбранная структура, среди прочих проверялась гипотеза влияния мутации D776K в LBD-домене на стабильность структуры GluK.

С WT-GluK в области LBD связываются ионы натрия (две штуки - по одной на каждую субъединицу). Ион натрия удерживается в рецепторе с помощью отрицательно заряженных карбоксильных групп соседствующих аминокислотных остатков.

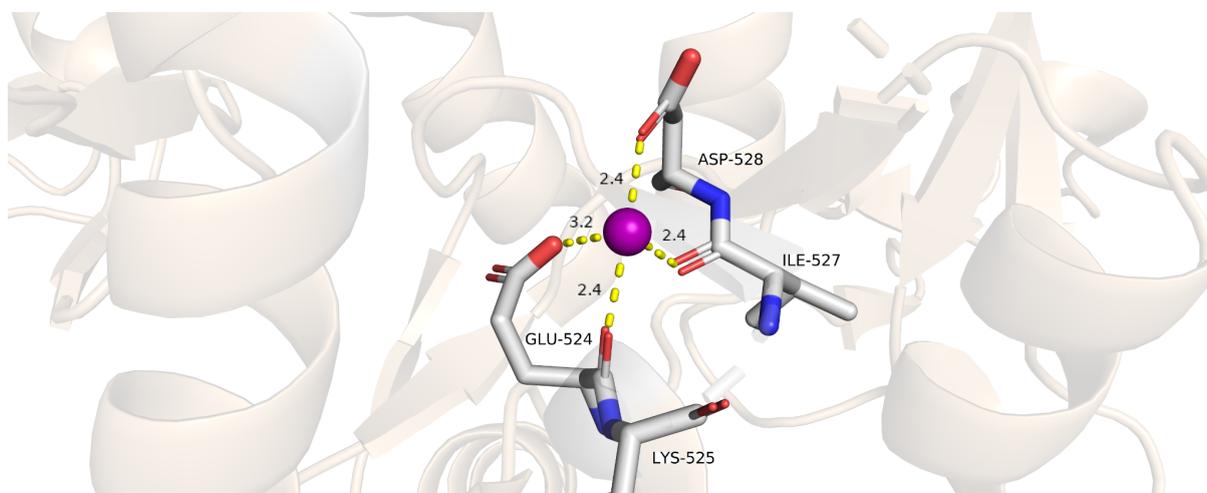


Рис.5. Стабилизация иона натрия в WT-GluK. Жёлтым выделены контакты иона с аминокислотными остатками.

При замене Asp776 на Lys776 происходит ситуация, показанная на рисунке 6.

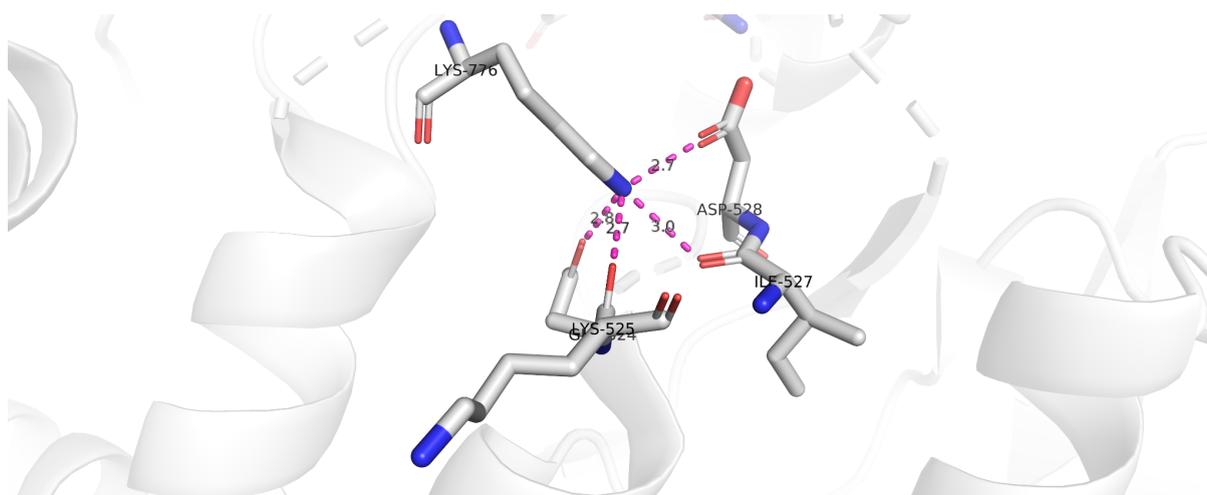


Рис.6. Положение дел в мутантном GluK-D776K. Фиолетовым показаны солевые мостики.

Длинный боковой радикал лизина не даёт иону натрия зайти в область, в которой он обычно сидит. Более того, между боковым радикалом лизина и карбоксильными

группами аминокислот, которые раньше удерживали натрий, формируются солевые мостики. Таким образом, получаем укрепление димера. Забавно.

Приложение

Файл сессии, в которой визуализировались связи каината, можно скачать [здесь](#)

Файл сессии, в которой визуализировались связи глутамата, можно скачать [здесь](#)

Список литературы:

1. Blakemore, L. J., Corthell, J. T. & Trombley, P. Q. Kainate Receptors Play a Role in Modulating Synaptic Transmission in the Olfactory Bulb. *Neuroscience* **391**, 25–49 (2018).
2. Bloss, E. B. & Hunter, R. G. Hippocampal kainate receptors. *Vitam. Horm.* **82**, 167–184 (2010).
3. Lévesque, M. & Avoli, M. The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **37**, 2887–2899 (2013).
4. Rusina, E., Bernard, C. & Williamson, A. The Kainic Acid Models of Temporal Lobe Epilepsy. *eNeuro* **8**, (2021).
5. Nayeem, N., Mayans, O. & Green, T. Conformational flexibility of the ligand-binding domain dimer in kainate receptor gating and desensitization. *J. Neurosci.* **31**, 2916–2924 (2011).
6. Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D. & Traynelis, S. F. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol. Rev.* **51**, 7–61 (1999).
7. Armstrong, N., Jasti, J., Beich-Frandsen, M. & Gouaux, E. Measurement of conformational changes accompanying desensitization in an ionotropic glutamate receptor. *Cell* **127**, 85–97 (2006).