

钙调素参与离子通道和受体功能的调控*

董先平¹ 智刚² 徐天乐^{1**}

1. 中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230027; 2. The University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, USA

摘要 离子通道和受体是神经细胞信号发生及传递的结构基础. 近年来的研究证明, 离子通道和受体的功能受到细胞内及细胞外许多化学物质和信号分子的调控. 越来越多的证据表明, 正是这些以离子通道和受体为靶标的调控机制决定了中枢神经系统功能的复杂性和可塑性. 在众多复杂的调控机制中, Ca^{2+} 信号途径对于神经细胞的正常活动和病理改变均是至关重要的. 经离子通道和受体内流的 Ca^{2+} 可对 Ca^{2+} 内流进行反馈调控, 或是调控其他离子通道和受体的功能, 它们的共同特点是都有 Ca^{2+} /钙调素(CaM)的参与. Ca^{2+} /CaM 通过对离子通道和受体进行反馈调控来保持通道之间的功能协调性和胞内的 Ca^{2+} 平衡. 文中阐述了 Ca^{2+} /CaM 参与调控离子通道和受体功能的分子过程, 进一步说明了细胞编码 Ca^{2+} 信号的机理.

关键词 Ca^{2+} /钙调素 受体 离子通道 失活 易化

钙是细胞内重要的信号分子, 参与许多重要细胞过程的调控. 在生物进化过程中, 真核细胞形成了一个包括离子通道、离子泵和离子交换体等复杂的 Ca^{2+} 转运系统, 以此来维持胞质中的 Ca^{2+} 平衡^[1]. 细胞内 Ca^{2+} 浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 的瞬间变化可触发许多胞内信号事件, 它们对正常细胞活动和细胞功能的病理性改变都是至关重要的. 大多数依赖 Ca^{2+} 的细胞过程都是通过 Ca^{2+} 结合蛋白而实现的. 在众多的 Ca^{2+} 结合蛋白中, 钙调素(CaM)是最重要的一种, 它广泛存在于各种真核细胞中, 参与许多生物功能, 如肌肉收缩、突触传递、神经递质的合成与释放、激素分泌和基因表达等^[2-6]. 大量研究证明, Ca^{2+} /CaM 参与离子通道和受体的功能调控.

1 Ca^{2+} 介导电压依赖性 Ca^{2+} 通道的 Ca^{2+} 依赖性失活和易化

电压依赖性 Ca^{2+} 通道介导的 Ca^{2+} 内流参与许多细胞内信号传导过程, 其中对通道自身活动的调控就是一种重要的形式. 这种自调控包括使通道开放减少的失活作用 (inactivation) 和使通道开放增强的易化作用 (facilitation)^[7]. 这两种类型的自调控对

细胞重复活动时的 Ca^{2+} 流量及其下游活动都有十分重要的影响. 许多试验^[8-20] 证明: Ca^{2+} /CaM 介导了电压依赖性 Ca^{2+} 通道的失活和易化.

1.1 CaM 对 L 型 Ca^{2+} 通道的调控

早在 20 年前, Brehm 等^[16] 就报道了一个奇怪的现象: 电压依赖性的 Ca^{2+} 通道不仅可以被去极化打开, 也可因持续的去极化而失活, 这种失活是 Ca^{2+} 依赖性的, 即 Ca^{2+} 通道打开引起 Ca^{2+} 内流, 内流的 Ca^{2+} 反过来引起 Ca^{2+} 通道的失活 (图 1). 近年来, 人们还注意到 Ca^{2+} 也参与 Ca^{2+} 通道的易化.

在许多类型的电压依赖性 Ca^{2+} 通道中, L 型 Ca^{2+} 通道的失活和易化现象尤为明显. 由于经 L 型 Ca^{2+} 通道介导的 Ca^{2+} 内流, 可以触发心肌收缩, 控制分泌细胞的激素分泌, 调控神经元基因表达和触发与学习记忆相关的转录过程, 因而, L 型 Ca^{2+} 通道的 Ca^{2+} 依赖性失活和易化等自调控作用具有重要的生物学意义. 最近对 L 型 Ca^{2+} 通道失活和易化的分子机制研究发现, CaM 作为普遍存在的 Ca^{2+} 感受器, 在 L 型 Ca^{2+} 通道的 Ca^{2+} 依赖性失活和易化中起主要作用^[11].

2001-03-26 收稿, 2001-05-14 收修改稿

* 国家自然科学基金资助项目 (批准号: 39770248, 39970200)

** 联系人, E-mail: xutianle@ustc.edu.cn

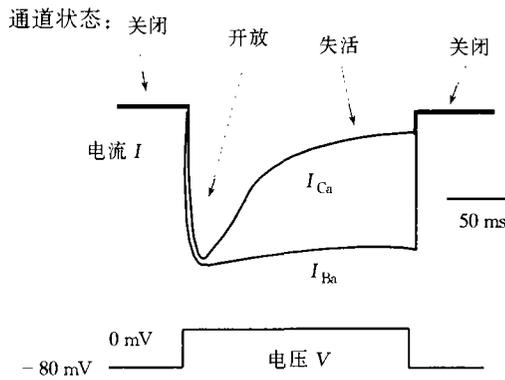


图1 Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活

当细胞膜由-80 mV去极化到0 mV时,电压依赖性Ca²⁺通道打开,Ca²⁺内流.由于这种通道有Ca²⁺依赖性失活现象,因而Ca²⁺电流(*I_{Ca}*)在整个去极化过程中逐渐减小.电压依赖性Ca²⁺通道对Ba²⁺的通透性更大,而Ba²⁺又不会引起通道失活,因而通过该通道的Ba²⁺电流(*I_{Ba}*)在整个去极化过程中基本保持稳定.说明电压依赖性Ca²⁺通道的失活是Ca²⁺依赖性的^[12]

Zühlke等^[9,10,14]及Peterson等^[11]分别发现L型Ca²⁺通道的 α_{1C} 亚基的C末端结构域中有一个可结合Ca²⁺/CaM的IQ motif (isoleucine-glutamine, 1624Ile~Leu1635)(图2),是它介导了L型Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活和易化.Zühlke等^[9,10,14]证明,L型Ca²⁺通道的调控依赖于IQ motif内的一些氨基酸残基.当IQ motif内C末端第1624位的异亮氨酸(Ile)突变为丙氨酸(Ala)时,可消除通道的Ca²⁺依赖性失活,而使通道在连续激活时呈现强烈的Ca²⁺依赖性易化现象;而当第1624位的Ile突变为谷氨酸(Glu)时,Ca²⁺依赖性失活和易化现象都消失(图2).他们还发现,L型Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活和易化都依赖于正常的CaM与IQ motif的结合.当CaM(从N端到C端有4个EF hand)中的任意3个EF hand的门冬氨酸(Asp)突变为Ala时,也可消除通道的Ca²⁺依赖性失活和易化.所以,不论是 α_{1C} 亚基IQ motif内C末端第1624位的Ile突变妨碍IQ motif对Ca²⁺/CaM的结合,还是CaM的突变降低CaM对Ca²⁺的亲合力,都可抑制L型Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活和易化.可见,L型Ca²⁺通道的失活和易化是 α_{1C} 亚基的IQ motif与Ca²⁺/CaM相互作用的结果,任何一方结构和功能的改变都影响通道的特性(图3).这些结果也显示Ca²⁺/CaM对通道的调控可以是正性的,也可以是负性的^[7,10].但是,Ca²⁺/CaM的真正作用位点仍存在争议,它可能直接结合于通道的孔区形成亚基

α_{1C} 亚基(图2,3),或作用于其他目标,如蛋白激酶或磷酸酶,从而调控Ca²⁺通道的活性^[7].Lee等^[8]和Peterson等^[11]发现,Ca²⁺/CaM除了结合到 α_{1C} 亚基C末端的IQ motif外,还可结合到第2个结合位点——EF hand结构域(图3),从而产生较弱的Ca²⁺依赖性失活;Ca²⁺/CaM结合到第2个结构域对长时程的Ca²⁺依赖性易化也是必要的.最近,Peterson等^[15]证明,尽管CaM在L型Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活中担当Ca²⁺感受器的作用,但是在Ca²⁺/CaM的结合和通道失活之间起桥梁作用的却是 α_{1C} 亚基的C末端的EF hand结构域.

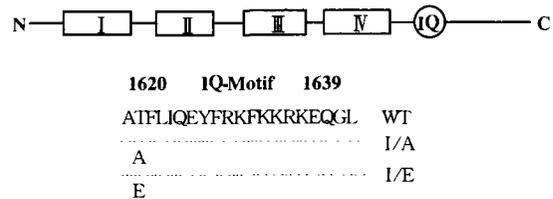


图2 L型Ca²⁺通道 α_{1C} 亚基模型^[10]

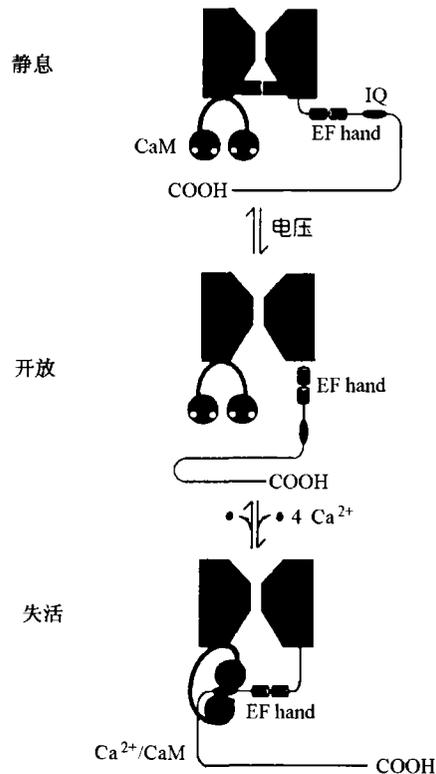


图3 L型Ca²⁺通道的Ca²⁺依赖性失活

静息状态下,CaM不能与IQ motif结合.当去极化打开Ca²⁺通道时,内流的Ca²⁺与CaM结合激活CaM,Ca²⁺/CaM容易与IQ motif结合使通道失活.CaM中白色圆表示Ca²⁺结合位点^[11]

1.2 CaM对P/Q, N和R型Ca²⁺通道的调控

在许多突触中,神经递质的释放依赖于P/Q, N和R型Ca²⁺通道介导的Ca²⁺内流^[8,17,18].由于神经递质的释放与Ca²⁺浓度的四次方成比例^[19],所以通过这些Ca²⁺通道内流的Ca²⁺能极大地影响神经信号传递. Ca²⁺/CaM除了对L型Ca²⁺通道有调控作用外,对神经元中的P/Q, N和R型Ca²⁺通道也有影响^[7,8,20],这表明Ca²⁺/CaM在Ca²⁺通道家族中有广泛的调控作用.

据Lee等^[8]和Peterson等^[11]报道, P/Q和R型Ca²⁺通道的孔形成亚基分别为 α_{1A} 亚基和 α_{1E} 亚基,它们的C末端也都有IQ样motif,并且IQ样motif以Ca²⁺依赖性方式与CaM结合,但是P/Q和R型Ca²⁺通道并不表现Ca²⁺依赖性的失活,说明Ca²⁺/CaM与 α_{1A} 亚基和 α_{1E} 亚基的IQ样motif的结合可能另有其他重要功能.在P/Q型Ca²⁺通道的 α_{1A} 亚基的C末端IQ样motif的下游还有一个由32个氨基酸残基构成的Ca²⁺/CaM结合结构域,其氨基酸序列与腺苷环化酶8(AC8)有高度的同源性^[8].此结构域的功能与L型Ca²⁺通道的第2个结合位点一样, Ca²⁺/CaM与其结合会使P/Q型Ca²⁺通道产生较弱的Ca²⁺依赖性的失活和长时程的Ca²⁺依赖性易化.这些结果进一步说明,电压依赖性Ca²⁺通道具有不止一个Ca²⁺/CaM结合位点, Ca²⁺/CaM与不同位点结合时会产生不同的效应. Lee等^[8]的实验结果支持了一个模型:经P/Q型Ca²⁺通道内流的Ca²⁺促进了Ca²⁺/CaM与 α_{1A} 亚基的第2个Ca²⁺/CaM结合位点的结合,从而加速通道的失活,并促进通道从失活状态中恢复,产生长时程的Ca²⁺电流易化,进而增加Ca²⁺内流,以至于通道从失活状态完全恢复后Ca²⁺电流比原先还大.这是一种较慢的调控方式,它可使细胞在一系列连续刺激时积聚大量的Ca²⁺, Ca²⁺的积聚加快了P/Q型通道的失活,缩短了Ca²⁺瞬态,促进Ca²⁺信号的终止.总的结果是使具有P/Q型Ca²⁺通道的树突和神经末梢的Ca²⁺信号更快、更强.

总之,目前的研究认为,在电压依赖性L型Ca²⁺通道中,经通道内流的Ca²⁺可结合到通道孔形成亚基—— α_{1C} 亚基的IQ motif而引起通道反馈性的Ca²⁺依赖性失活和易化,其中CaM是真正的Ca²⁺感受器,其可能的机理是:结合在通道孔形成亚基的CaM和内流的Ca²⁺结合, Ca²⁺/CaM与构成通道孔区的 α_{1C} 亚基的IQ样motif相互作用,进

而引起Ca²⁺依赖性失活和易化^[11](图3).由于Ca²⁺螯合剂很难抑制Ca²⁺依赖性的失活,说明引起失活的Ca²⁺/CaM结合位点离通道孔很近^[12].而在P/Q, N和R型Ca²⁺通道中, IQ样motif的作用尚不清楚,通道的Ca²⁺依赖性失活和易化有赖于Ca²⁺/CaM与通道的第2个结合位点的结合.

2 CaM介导N-甲基-D-门冬氨酸受体(NMDAR)的Ca²⁺依赖性失活

NMDAR是由NR1亚基和NR2亚基构成的复合体,它在哺乳动物中枢神经系统(CNS)的突触传递、突触可塑性、突触形成和兴奋性毒性细胞死亡等现象中起关键作用. NMDAR的一个主要特性是它对Ca²⁺有很高的通透性. Ehlers, Zhang等^[21,22], Krupp等^[23]以及我们的工作^[24]证明, NMDAR介导的Ca²⁺内流可导致NMDAR的开放频率降低,加速通道的失活.这种Ca²⁺依赖性的失活可反馈性地调控NMDAR介导的Ca²⁺内流^[24](图4).

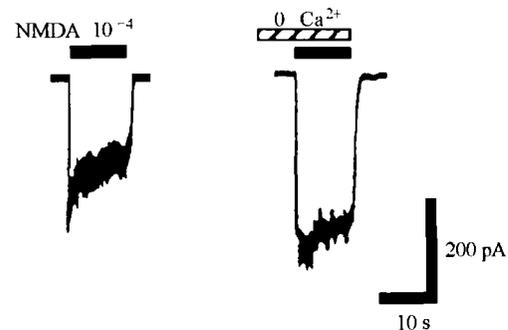


图4 NMDAR的Ca²⁺依赖性失活

NMDA诱导的电流在胞外无Ca²⁺的情况下会增大,说明NMDAR的失活是Ca²⁺依赖性的^[24]

最近的分子生物学研究显示,在NR1亚基中的C末端有3个结构域,从C末端起分别称为C2, C1和C0.在C0和C1结构域中分别有一个Ca²⁺/CaM结合位点: CBS(CaM binding site)1(Lys839~Gln863)和CBS2(Lys875~Lys898)^[22](图5).当CBS1

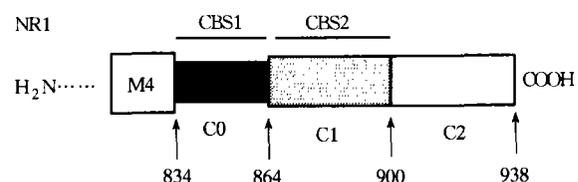


图5 NR1亚基C末端模式图^[22]

中的一段氨基酸序列 847Gln-Met-Gln-Leu850 突变为 4 个 Ala 时, 只轻微地降低 CaM 与 C0 结构域的亲和力; 而突变为 4 个 Glu 时, 则完全阻止 CaM 对 C0 结构域的结合, 从而阻止 NMDAR 的 Ca^{2+} 依赖性失活. 而且, 当细胞内灌注 CaM 抑制肽时也可明显抑制 NMDAR 的 Ca^{2+} 依赖性失活^[21~23]. 这说明 Ca^{2+} / CaM 是结合到 NR1 亚基的 C0 结构域而调控 NMDAR 的 Ca^{2+} 依赖性失活的. 随后的研究进一步揭示, NMDAR 的失活还涉及 NR1 亚基的另一个结合伙伴——肌动蛋白结合蛋白 α -actinin(如 α -actinin2). 通常

情况下, NR1 亚基通过 C 末端与 α -actinin2 结合而锚靠在肌动蛋白细胞骨架上. 当 NMDAR 被激活时, Ca^{2+} 内流激活 CaM, Ca^{2+} / CaM 竞争 α -actinin2 对 NR1 亚基 C0 区的结合, 结果导致 C0 区从肌动蛋白细胞骨架上解离, 使 NR1 亚基的 C 末端游离(图 6)^[22,25]. 游离的 C 末端进一步引起 NMDAR 的结构变化或直接与 NMDAR 的其他部位作用, 从而降低通道的开放概率, 导致通道的 Ca^{2+} 依赖性失活. 至于 NMDAR 中 C1 结构域中的 CBS2 的功能, 至今还不太清楚, 它可能参与调控 NR1 的定位^[25].

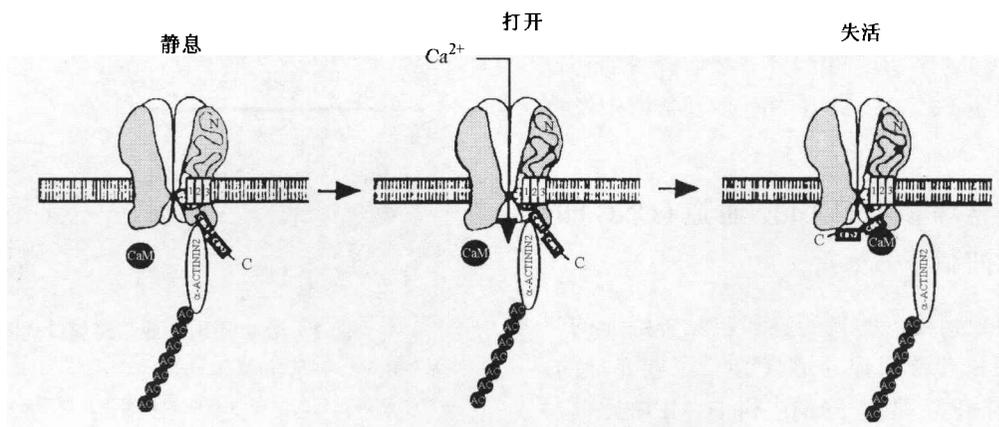


图 6 NMDAR 的 Ca^{2+} 依赖性失活

静息状态下 α -actinin2 与 CBS1 结合, 当 NMDAR 打开时, Ca^{2+} 内流激活 CaM. Ca^{2+} / CaM 竞争 α -actinin2 与 CBS1 结合, 结果导致 NMDAR 失活. CBS: CaM 结合位点^[22]

最近研究还发现, NR2 亚基在 NMDAR 的 Ca^{2+} 依赖性失活中也起一定的作用, 它可能参与调控 CaM 与 C0 结构域的结合, 或与 NR1 亚基 C 末端以 Ca^{2+} 依赖性方式相互作用^[26].

3 CaM 介导 Ca^{2+} 激活的 K^+ 通道(K_{Ca})的激活

钙激活的 K^+ 通道(K_{Ca})是一种 Ca^{2+} 依赖性的 K^+ 通道, 它受电压和 Ca^{2+} 双重门控, 可因去极化和 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高而激活. 根据电导大小, K_{Ca} 又可分为 SK (small conductance), IK (intermediate conductance) 和 BK (large conductance) 3 种.

SK 介导动作电位 (AP) 之后的慢后超级化 (sAHP), 并借此调控神经元 AP 的发放频率. 同时, 它对正常的神经传递也是必要的, 并在调控神经元兴奋性中起基础性作用^[27,28]. 对 SK 通道家族已知的 3 个成员 SK1, SK2, SK3 的分析表明, 它们的氨基酸序列具有高度的同源性, 但与其他类型的

K^+ 通道亚家族的同源性却很低. 现已证明, SK 通道是电压非依赖性的、高亲和力的 Ca^{2+} 感受器, 可被胞内低于微摩尔浓度的 Ca^{2+} 激活^[28], 从而使胞内 Ca^{2+} 浓度的变化转换为膜电位的变化. SK 通道的激活不是由于 Ca^{2+} 直接结合到形成通道的 α 亚基上引起的, 而与 CaM 有关. SK 的 α 亚基胞浆侧 C 末端有 4 个重复序列 ($\text{S}_7, \text{S}_8, \text{S}_9, \text{S}_{10}$), 它们形成一个“壳” (shell), CaM 就紧密地结合在里面, 这种结合是 Ca^{2+} 非依赖性的. CaM 甚至可以看作是 SK 通道的 β 亚基, 功能性的 SK 通道是 SK 与 CaM 结合而成的异聚体^[29,30]. Xia 等^[29] 利用酵母双杂交分析和生化技术显示, CaM 的第 3, 4 EF hand 中的 Asp 突变为 Ala ($\text{D}_{\text{EF}3,4}\text{A}$), 或第 2, 3, 4 EF hand 中的 Asp 突变为 Ala ($\text{D}_{\text{EF}2,3,4}\text{A}$) 或第 1, 2, 3, 4 EF hand 中的 Asp 突变为 Ala ($\text{D}_{\text{EF}1,2,3,4}\text{A}$) 时, 都会使 CaM 对 Ca^{2+} 的亲和力有所降低. 当这些突变型 CaM 与 SK 通道共表达时, 通道的 Ca^{2+} 敏感性明显降低. 这说明 CaM 参与 SK 通道的调控. 同时他们

还证明, SK通道的激活是由于 Ca^{2+} 结合到CaM上引起CaM的结构变化, 随后引起SK通道 α 亚基结构的变化, 进而导致其 Ca^{2+} 依赖性门控。

最近, 在包括造血细胞在内的非神经细胞的IK, BK家族中也有与SK通道调控很相似报道: CaM可以结合到IK通道上而调控通道的功能, 突变型CaM对IK通道电流则产生强烈的抑制效应^[31,32]。BK通道的孔区形成亚基—— α 亚基的C末端有一个被称为“calcium bowl”的结构域, 它含有许多酸性氨基酸残基, 尤其是Asp, 并且在不同物种中具有高度的同源性。“calcium bowl”对 Ca^{2+} 有高度的选择性, 与通道的 Ca^{2+} 敏感性有关, 这也是通过 Ca^{2+} /CaM来实现的^[32,33]。然而, 目前还没有直接证据表明 Ca^{2+} /CaM在BK通道激活中发挥作用。

4 CaM介导环核苷酸门控通道(CNG)的 Ca^{2+} 依赖性抑制

视杆细胞光感受器的光转换和嗅觉神经元的嗅觉转换是由环核苷酸门控通道(CNG)家族介导的, 这些通道的打开需要有cAMP和cGMP的结合。CNG通道打开可使 Na^+ 和 Ca^{2+} 进入感觉细胞, 结果导致胞内cAMP(嗅觉神经元)或cGMP(视杆光感受器)信号的改变。很久以来, Ca^{2+} 就被认为在视觉和嗅觉适应性反应中起关键作用, 但对其作用机理却了解很少。最近, 许多实验室的研究认为 Ca^{2+} /CaM与CNG通道活动的调控有关^[34~39]。

Ca^{2+} /CaM影响视杆细胞CNG通道的方式与其影响嗅觉细胞CNG通道的方式相似, 都是由于 Ca^{2+} /CaM与通道结合, 降低了CNG通道门控敏感性, 进而降低通道活性, 但在具体细节上有一些不同。例如在嗅觉细胞CNG通道中, Ca^{2+} /CaM主要是结合到 α 亚基上的; 而在视杆细胞CNG通道中, Ca^{2+} /CaM却主要与 β 亚基相互作用^[35]。虽然视杆细胞CNG通道的 α 亚基也有 Ca^{2+} /CaM结合位点, 但由 α 亚基构成的同聚体CNG通道的功能却不受 Ca^{2+} /CaM调控。而由嗅觉细胞CNG通道的 α 亚基构成的同聚体通道的功能则受 Ca^{2+} /CaM调控。Varum等^[36]研究发现, Ca^{2+} /CaM可结合到嗅觉细胞CNG通道 α 亚基的N末端上, 通过影响通道N末端和位于C末端上的环核苷酸结合结构域的相互作用而降低通道开放概率(图7)。Scott等^[37]在研究果蝇视杆细胞时发现, 光刺激时, 经CNG通道内流的 Ca^{2+} 与

CaM结合而激活CaM, 活化的CaM反过来引发通道的失活, 从而构成一种负反馈调控。

最近研究还发现, 在植物中也存在CNG通道, Ca^{2+} /CaM也能与它结合, 但是其结合位点在CNG通道的C末端, 这与动物不同。说明在进化过程中, 动植物分别形成了不同的CNG通道调控机制^[38,39]。总之, Ca^{2+} /CaM对CNG通道活性的调控作用具有重要的生理意义, 它提供了一种使通道失活并恢复到静息状态的负反馈机制。

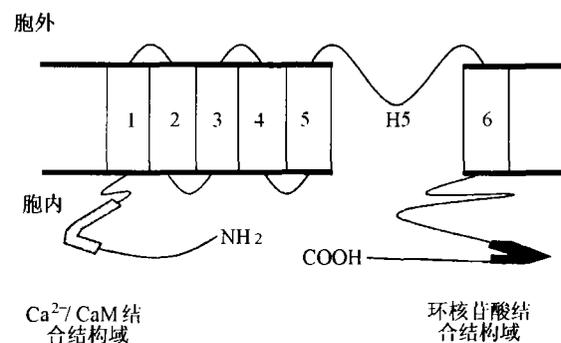


图7 CNG通道 α 亚基跨膜模式图

α 亚基有6个跨膜结构域(1~6)和一个疏水环(H5), 其N末端和C末端都在胞内, 在N末端和C末端分别有 Ca^{2+} /CaM结合结构域和环核苷酸结合结构域

5 CaM对离子通道和受体调控的广泛性

Ca^{2+} /CaM除了主要对上述几种离子通道和受体进行调控外, 还对许多其他离子通道和受体, 如N型乙酰胆碱受体(nAChR)^[40], α -氨基-3-羧基-5-甲基异噁唑-4-丙酸受体(AMPA)^[41,42], 红藻氨酸受体(KAR)^[43], γ -氨基丁酸受体A型受体(GABA_AR)^[44], 甘氨酸受体(GlyR)^[45,46]以及电压依赖性 Na^+ 通道(VDSC)^[47,48]等均有调控作用。

据Liu等^[40]研究发现, 对于高通透 Ca^{2+} 的 $\alpha 7$ -nAChR来说, 它的反应过程中有活动依赖性功能“下调”(activity-dependent rundown)现象, 这是 Ca^{2+} 内流和/或胞浆 Ca^{2+} 库的释放激活CaM, Ca^{2+} /CaM再激活 Ca^{2+} /CaM依赖性蛋白激酶II(CaMKII)的结果。钙调神经磷酸酶(CaN)可抑制这一现象, 而CaM则可促进这一现象。据Ghetti等^[43]报道, 在新生大鼠海马神经元中, 由NMDAR或其他 Ca^{2+} 内流通路介导的突触活动, 可能经CaN和CaMKII途径调控KAR的功能。最近, 我们发现在大鼠骶髓后连合核(SDCN)神经元中, 经NMDAR内流的 Ca^{2+} 对GABA_AR有抑制作用, 这种抑

制作用也是 CaM 依赖性的^[44]. 我们还证明, 经 NMDAR 和 AMPAR 内流的 Ca^{2+} 可通过 CaM KII 和 CaN 的共激活而调控 GlyR 的功能, 其中 Ca^{2+}/CaM 起重要的作用^[45, 46](图 8). Saimi 等^[47]报道, CaM 也是 Na^+ 通道激活的一种决定性的生理因子, 并且是 Na^+ 通道门控的 Ca^{2+} 感受器. Mori 等^[48]用酵母双杂交方法研究电压依赖性 Na^+ 通道的孔区形

成亚基—— α 亚基时发现, 它的 C 末端有一个由 38 个氨基酸残基组成的结构域, 此结构域包含 IQ 样 motif 和 Baa motif, Baa motif 只能与 Ca^{2+}/CaM 结合, 而 IQ 样 motif 可结合 Ca^{2+}/CaM 和 CaM. CaM 或 Ca^{2+}/CaM 与通道复合体的 C 末端结构域的 IQ 样 motif 和 Baa motif 直接作用引起通道的 Ca^{2+} 依赖性构象转变, 从而对其进行调控.

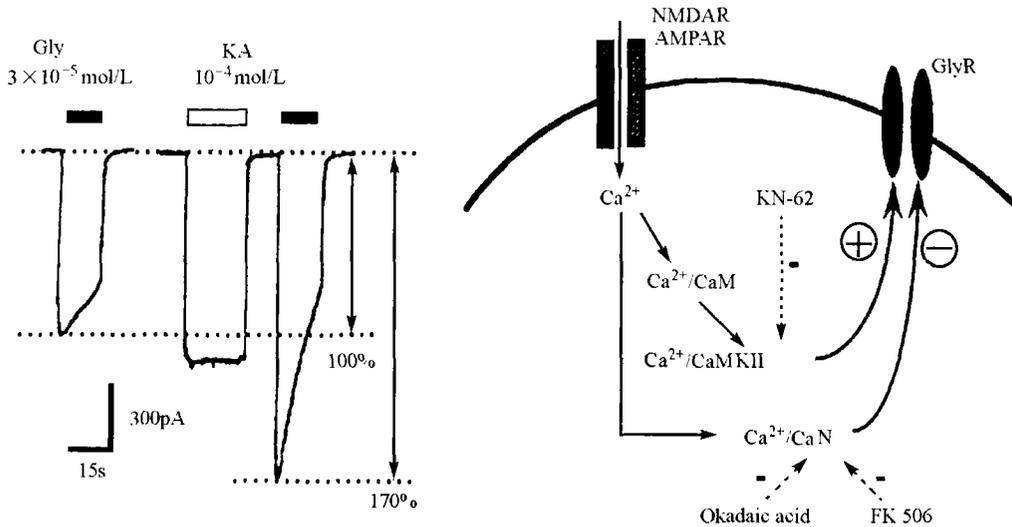


图 8 CaM 介导的 GlyR 的调控

通过 NMDAR/AMPA 内流的 Ca^{2+} 可激活 CaM 和 CaN, 被激活的 CaM 通过 CaM KII 上调 GlyR 的活动, 这种效应可被 KN-62 抑制. 被激活的 CaN 则下调 GlyR 的活动, Okadaic acid 和 FK506 可抑制这种效应. 因此, NMDA/AMPA 受体通过 CaM 和 CaN 对 GlyR 进行共调控, 使 GlyR 活动保持平衡

总之, Ca^{2+}/CaM 对离子通道和受体具有广泛的调控作用. 在电压依赖性通道中, 大多数情况下 Ca^{2+}/CaM 是通过结合到通道的胞质侧 C 末端的 IQ 样 motif 而起作用的.

6 总结

综上所述, Ca^{2+} 内流反馈调控 Ca^{2+} 继续进入细胞, 或是调控其他离子通道和受体的活性, 它们的共同特点是都有 Ca^{2+}/CaM 的参与. 在 L 型电压依赖性 Ca^{2+} 通道、CNG 通道和 NMDAR 中, 这种反馈调控的主要结果是导致通道的失活(图 9). 对于 K_{Ca} 来说, 目前认为至少一些 K_{Ca} 是位于电压依赖性 Ca^{2+} 通道附近^[29, 49], 在 CaM 的参与下, 它可感受经 Ca^{2+} 通道内

流的 Ca^{2+} , 使胞内 Ca^{2+} 浓度的波动转换为膜电位的变化, 进而反馈调控 Ca^{2+} 通道(图 9). 此外, Ca^{2+}/CaM 对许多其他离子通道和受体均有调控作用. Ca^{2+}/CaM 通过对离子通道和受体进行反馈调控从而保持通道之间功能的协调性和胞内的 Ca^{2+} 平衡.

将来的研究将集中解决是否所有受 Ca^{2+}/CaM 调控的离子通道和受体都有 IQ motif? 在不同的离子通道和受体中 IQ motif 作用有何不同? 是否 IQ motif 既作为结合位点又作为效应位点? 病理条件下(如缺血缺氧), Ca^{2+}/CaM 对离子通道和受体的调控作用及其对疾病发生的作用机制, 以及针对 Ca^{2+}/CaM 与离子通道和受体的作用靶位的研究开发新型药物等.

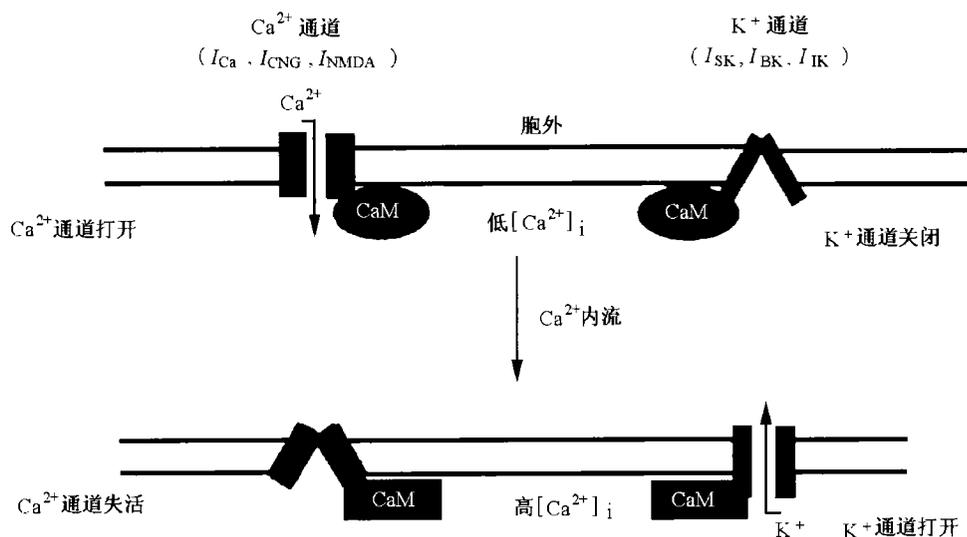


图9 CaM对离子通道的反馈调控机制

静息状态时,胞内低 Ca^{2+} 不足以激活CaM, Ca^{2+} 通道处于可通透状态,而 K_c 处于关闭状态.去极化时, Ca^{2+} 通道打开, Ca^{2+} 内流与CaM结合激活CaM,导致 Ca^{2+} 通道失活.同时, K_c 打开使细胞超极化,进而抑制电压依赖性的 Ca^{2+} 内流.CaM对不同离子通道作用的共同特征是:担当 Ca^{2+} 感受器和限制内流的 Ca^{2+} 量. I_{Ca} :电压依赖性 Ca^{2+} 通道电流; I_{CNG} :环核苷酸门控通道 Ca^{2+} 电流; I_{NMDA} :NMDAR通道 Ca^{2+} 电流; I_{SK} :小电导 K_c ; I_{BK} :大电导 K_c ; I_{IK} :中等电导 K_c [12]

致谢 本文得到了徐州医学院生物化学与分子生物学研究中心张光毅教授的细致审阅,在此表示由衷的感谢.

参考文献

- 徐天乐. 神经元钙信号的分子机制. 神经解剖学杂志, 1998, 14: 195
- 徐天乐, 等. 钙调素的研究. 神经解剖学杂志, 1993, 9: 143
- 徐天乐, 等. 钙调素与细胞增殖的调控. 细胞生物学杂志, 1993, 15: 54
- 徐天乐, 等. 钙调素在文昌鱼神经系统中的分布. 科学通报, 1994, 38: 650
- 徐天乐, 等. 钙调素在文昌鱼性腺和表皮分布的研究. 动物学报, 1995, 41: 62
- 徐天乐, 等. 豚鼠胰腺内钙调素的免疫组织化学定位研究. 科学通报, 1993, 38: 2089
- Ehlers M D, et al. Calmodulin at the channel gate. Nature, 1999, 399: 105
- Lee A, et al. Ca^{2+} /calmodulin binds to and modulates P/Q-type calcium channels. Nature, 1999, 399: 155
- Zühlke R D, et al. Ca^{2+} -sensitive inactivation of L-type Ca^{2+} channels depends on multiple cytoplasmic amino acid sequences of the α_{1c} subunit. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 3287
- Zühlke R D, et al. Calmodulin supports both inactivation and facilitation of L-type calcium channels. Nature, 1999, 399: 159
- Peterson B Z, et al. Calmodulin is the Ca^{2+} sensor for Ca^{2+} -dependent inactivation of L-type calcium channels. Neuron, 1999, 22: 549
- Levitan I B. It is calmodulin after all! Mediator of the calcium modulation of multiple ion channels. Neuron, 1999, 22: 645
- Dzhura I, et al. Calmodulin kinase determines calcium-dependent facilitation of L-type calcium channels. Nat Cell Biol, 2000, 2: 173
- Zühlke R D, et al. Ca^{2+} -sensitive inactivation and facilitation of L-type Ca^{2+} channels both depend on specific amino acid residues in a consensus calmodulin-binding motif in the α_{1c} subunit. J Biol Chem, 2000, 275: 21121
- Peterson B Z, et al. Critical determinants of Ca^{2+} -dependent inactivation within an EF-hand motif of L-type Ca^{2+} channels. Biophys J, 2000, 78: 1906
- Brehm P, et al. Calcium entry leads to inactivation of calcium channel in Paramecium. Science, 1978, 202: 1203
- Tsien R W, et al. Molecular diversity of voltage-dependent calcium channels. Trends Neurosci, 1991, 12: 349
- Dunlap K, et al. Exocytotic Ca^{2+} channels in mammalian central neuron. Trends Neurosci, 1995, 18: 89
- Mintz J M, et al. Calcium control of transmitter release at a cerebellar synapse. Neuron, 1995, 15: 675
- Forsythe I D, et al. Inactivation of presynaptic calcium current contributes to synaptic depression at a fast central synapse. Neuron, 1998, 20: 797
- Ehlers M D, et al. Inactivation of NMDA receptors by direct interaction of calmodulin with the NR1 subunit. Cell, 1996, 84: 745
- Zhang S, et al. Calmodulin mediates calcium-dependent inactivation of N-methyl-D-aspartate receptors. Neuron, 1998, 21: 443
- Krupp J J, et al. Interactions of calmodulin and α -actinin with the NR1 subunit modulate Ca^{2+} -dependent inactivation of NMDA recep-

- tors. *J Neurosci*, 1999, 19: 1165
- 24 徐天乐, 等. 激活 AMPA 受体抑制大鼠脑髓后连合核神经元 NMDA 反应—制酶菌素穿孔膜片钳研究. *神经解剖学杂志*, 1996, 12: 349
- 25 Wyszynski M, et al. Competitive binding of α -actinin and calmodulin to the NMDA receptor. *Nature*, 1997, 385: 439
- 26 Krupp J J, et al. N-terminal domains in the NR2 subunit control desensitization of NMDA receptors. *Neuron*, 1998, 20: 317
- 27 Lancaster B, et al. Calcium activates two types of potassium channels in rat hippocampal neurons in culture. *J Neurosci*, 1990, 11: 23
- 28 Köhler M. Small-conductance calcium-activated potassium channels from mammalian brain. *Science*, 1996, 273: 1709
- 29 Xia X M, et al. Mechanism of calcium gating in small-conductance calcium-activated potassium channels. *Nature*, 1998, 395: 503
- 30 Kong I D, et al. Small conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels are regulated by Ca^{2+} -calmodulin-dependent protein kinase II in murine colonic myocytes. *J Physiol(Lond)*, 2000, 524: 331
- 31 Fanger C M, et al. Calmodulin mediates calcium-dependent activation of the intermediate conductance K_{Ca} channel, IK_{Ca} . *J Biol Chem*, 1999, 274: 5746
- 32 Schreiber M, et al. A novel calcium-sensing domain in the BK channel. *Biophys J*, 1997, 73: 1355
- 33 Sansom S C, et al. Regulation of Ca^{2+} -activated K^+ channels by multifunctional Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, 279: 283
- 34 Liu M, et al. Calcium-calmodulin modulation of the olfactory cyclic nucleotide-gated cation channel. *Science*, 1994, 266: 1348
- 35 Grunwald M E, et al. Identification of a domain on the β -subunit of the rod cGMP-gated cation channel that mediates inhibition by calcium-calmodulin. *J Biol Chem*, 1998, 273: 9148
- 36 Varnum M D, et al. Interdomain interactions underlying activation of cyclic nucleotide-gated channels. *Science*, 1997, 278: 110
- 37 Scott K, et al. Calmodulin regulation of *Drosophila* light-activated channels and receptor function mediates termination of the light response *in vivo*. *Cell*, 1997, 91: 375
- 38 Kohleer C, et al. Characterization of calmodulin binding to cyclic nucleotide-gated ion channels from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett*, 2000, 471: 133
- 39 Kohleer C, et al. Characterization of a novel gene family of putative cyclic nucleotide- and calmodulin-regulated ion channels in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 1999, 18: 97
- 40 Liu Q S, et al. Actin filaments and the opposing actions of CaM kinase II and calcineurin in regulating α 7-containing nicotinic receptors on chick ciliary ganglion neurons. *J Neurosci*, 1999, 19: 10280
- 41 McGlade-McCulloch E, et al. Phosphorylation and regulation of glutamate receptors by calcium/calmodulin-dependent protein kinase. *Nature*, 1993, 362: 640
- 42 Wang J H, et al. Postsynaptic injection of Ca^{2+} /CaM induces synaptic potentiation requiring CaMKII and PKC activity. *Neuron*, 1995, 15: 443
- 43 Ghetti A, et al. NMDA-dependent modulation of hippocampal kainate receptors by calcineurin and Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase. *J Neurosci*, 2000, 20: 2766
- 44 王殿仕, 等. NMDA 对 GABA_A 受体的抑制作用由钙-钙调素依赖性蛋白激酶 II 介导. *中国科学, C 辑*, 2000, 30: 541
- 45 Xu T L, et al. N-methyl-D-aspartate enhancement of the glycine response in the rat sacral dorsal commissural neurons. *Eur J Neurosci*, 2000, 12: 1647
- 46 Xu T L, et al. Modulation of the glycine response by Ca^{2+} -permeable AMPA receptors in rat spinal neurons. *J Physiol(Lond)*, 1999, 541: 701
- 47 Saimi Y, et al. Paramecium Na^+ channels activated by Ca^{2+} -calmodulin: calmodulin is the Ca^{2+} sensor in the channel gating mechanism. *J Membr Biol*, 1995, 144: 257
- 48 Mori M, et al. Novel interaction of the voltage-dependent sodium channel (VDSC) with calmodulin: does VDSC acquire calmodulin-mediated Ca^{2+} -sensitivity? *Biochemistry*, 2000, 9: 1316
- 49 Neil V M, et al. Selective activation of Ca^{2+} -activated K^+ channels by co-localized Ca^{2+} channels in hippocampal neurons. *Nature*, 1999, 395: 900