

ALLOSZTÉRIA: IONCSATORNÁK ÉS RECEPTOROK

Maksay Gábor
MTA Kémiai Kutatóközpont

Összefoglalás

Az allosztéria kölcsönhatások láncolata, amelyben egy ligandum kötődése megváltoztatja egy biopolimer egymástól távoli kötőhelyeinek affinitását, alegységei kooperativitását, vagy funkciója (pl. jelátvitel, katalízis) hatékonyságát. A fogalmat ötven éve vezették be a biokémia területén. Számos tudományág átvette, elsősorban a farmakológia. Jelentése bővült a fehérjék és receptorok oligomerszerkezetének egyre részletesebb megismerése következtében. Jelen közleményben áttekintem a fogalom változását és az allosztéria modelljeit. A példák óriási tárházából, a molekuláris farmakológia területéről, elsősorban ioncsatorna funkciójú neurotranszmitter receptorokkal illusztrálom az allosztéria mechanizmusát. A Biokémia következő számában az allosztéria molekuláris evolúciójáról és tervezhetőségéről lesz szó.

Bevezetés

Mint megannyi tudományos elnevezés, az allosztéria is görög eredetű. Az *allos* jelentése „más”, a *stereos* pedig „térbeli”-t (objektum, hatás) jelent. Pontosan ötven éve Max Perutz röntgenkristallográfiával feltárta a hemoglobin szerkezetét és megnyitotta az utat a fehérje oligomerek kooperativitása [1] és az allosztéria felismeréséhez. Munkája jelentőségét 1962-ben kémiai Nobel díjjal ismerték el. A kooperativitás úgy definiálható, mint (fehérje) alegységek kölcsönhatása, amelyben egy alegység konformációs változása megváltoztatja a többi alegység konformációját. Az allosztériát sokféleképpen definiálják. Összevetve a kooperativitás és allosztéria fenti definícióját (lásd az összefoglalásban), látható, hogy hasonló értelemben használt fogalmak, de míg a kooperativitás az alegységek egészének, az allosztéria inkább távoli (kötő)helyeknek a kölcsönhatására utal.

Ha egy adatbázisban az *alloster* szótőre végzünk keresést, a kapott tíz-húsz ezer közlemény mintegy fele még mindig az allosztéria fogalmát bevezető biokémia területére esik. Az ismert szerkezetű fehérjék többsége (50-70 %) ugyanis oligomer. A találatok másik fele más (élet)tudományokra esik, és ezek közül a 90-es évek óta egyre inkább kiemelkedik a farmakológia. Ez arra vezethető vissza, hogy egyre több farmakológiai receptor oligomerszerkezetét ismerjük meg.

Allosztéria modellek

A hemoglobin és enzim oligomerek működésének értelmezésére Monod, Wyman és Changeux (MWC) bevezették az allosztéria '*concerted*', vagy szimmetria modelljét [2]. Az eredeti MWC modell egyensúlyt feltételez a ligandum nélküli homooligomerek különböző állapotai, konformációi között. Az oligomer szerkezete szimmetrikus, a protomerek konformációja összehangoltan és együtt változik meg (minden-vagy-semmi). A ligandumok kötődése során a protomerek szimmetrikus elrendeződése megmarad, de az eleve meglévő oligomer konformációk

egyensúlya eltolódik. Az MWC modellt kiterjesztették monomer enzimekre [3]. Ha ugyanis a katalitikus lépést egy lassú, tranziens folyamat (konformáció változás vagy másik ligandum kötődése) előzi meg, pozitív vagy negatív kooperativitás jön létre [3]. Az MWC modellel szemben áll Koshland, Némethy és Filmer (KNF) szekvenciális allosztéria modellje [4]. A KNF modell szerint a protomerek konformációs változása aszimmetrikus és nem egyidejű. A ligandumok egymás után, növekvő affinitással kötődnek, a ligandum és kötőhely ugyanis egymáshoz idomul (*induced fit*).

Az igen gyors folyamatokat követő nagyműszerek (pl. NMR) egyre inkább feltárják a fehérjék konformációs együttesének dinamikáját [5]. Kimutatták, hogy a ligandum szelektál a fehérje eleve létező konformációi között, kötődése a leginkább megfelelőhöz eltolja a konformációk egyensúlyát, az MWC modellhez hasonlóan [5-7]. De a ligandum kötődése mégis átrendezi, optimalizálja a biopolimer oldalláncait, a KNF modell szerint. A konformációs szelekció és '*induced fit*' egyaránt szerepet játszik a kötődés molekuláris felismerés fázisában [5], viszont az '*induced fit*' hatása nem feltétlenül gyűrűzik távolabbra. Mindazonáltal úton vagyunk az MWC és KNF modellek antitéziséből szintézisük felé.

Farmakológiai allosztéria

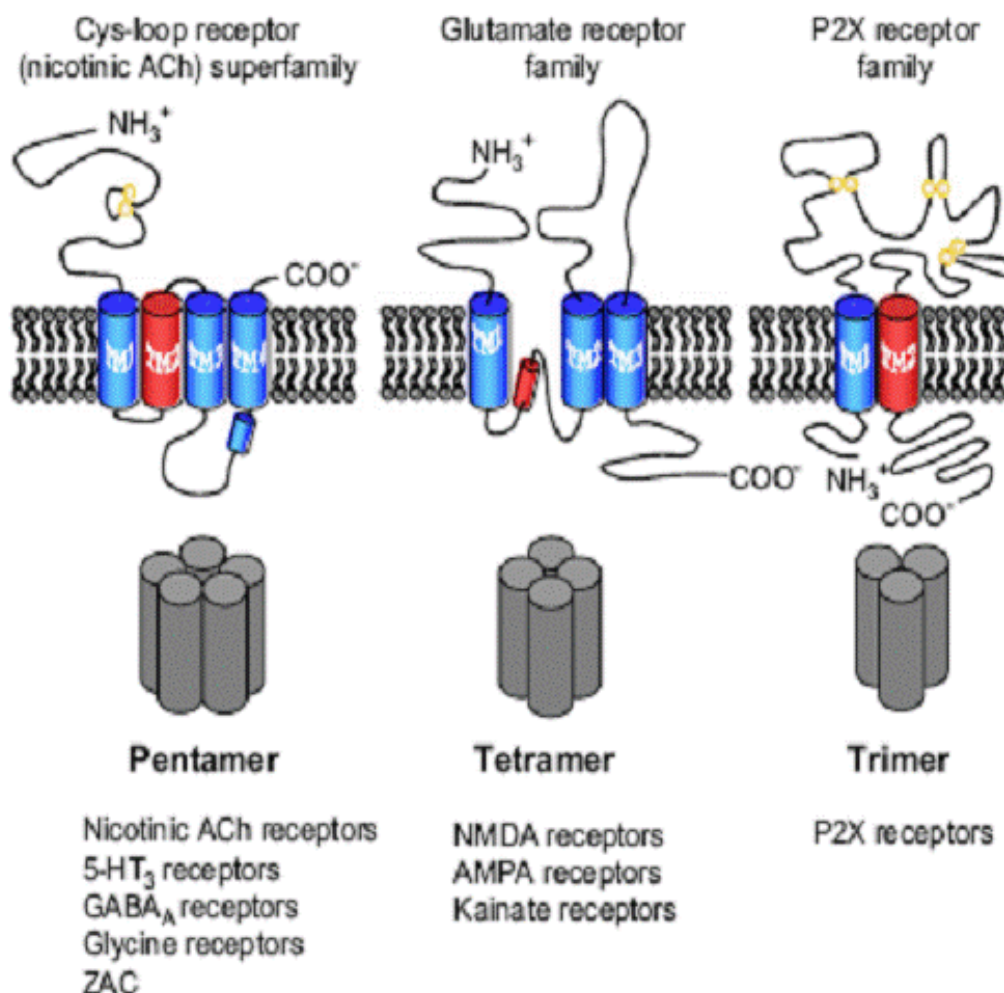
Kezdetben tehát az allosztéria fehérje alegységek kölcsönhatására vonatkozott. Farmakológiai alkalmazását azonban kiterjesztették az egy alegységen lévő kötőhelyek kölcsönhatásaira, amelyekben az agonista kötőhelye kitüntetett, és máshol vannak az allosztérikus kötőhelyek. A farmakológia fejlődéstörténetének egy olyan időszakában vette át az allosztéria fogalmát, amikor a receptor még szerkezet/arc nélküli fogalom volt. Radioaktív ligandumok kötődésvizsgálata segítségével lehetett eldönteni, hogy ha egy ligandum fokozza a kötődést, az máshol, tehát allosztérikus helyen kötődik. A kompetitív leszorító viszont azonos, új keletű kifejezéssel *ortosztérikus* helyen kötődik. Látni fogjuk azonban, hogy a farmakológiai receptorok szerkezetének megismerése időközben az ortosztérikus és allosztérikus kötőhelyek megkülönböztetését bizonytalanná tette.

Changeux az MWC modellt kiterjesztette a kémiai jelátvitelre [8], és a nikotinos acetilkolin receptort (nAChR) választotta vizsgálati modellnek [9]. Az allosztéria ugyanolyan kulcsfontosságú számos más folyamatban, mint az enzimkatalizált metabolizmus, protein *folding*, receptor *trafficking*, génszabályozás és apoptózis. Mindazonáltal a jelátvitel jó választásnak bizonyult, a kémiai neurotranszmisszió feltárása ugyanis az elmúlt évtizedek egyik sikertörténete. Farmakológiailag nem optimális, hogy az agonisták és kompetitív antagonisták a neurotranszmissziót közvetlenül, nagy vonalakban befolyásolják. Az allosztérikus szabályozás alkalmasabb a neurotranszmisszió farmakológiai finomhangolására. Másrészt az allosztérikus kötőhelyek szerkezete kevésbé konzervatív, különbségeik lehetővé teszik alegység-szelektív gyógyszerek kifejlesztését.

Ioncsatorna receptorok: szerkezet és jelátvitel

A membránba ágyazott receptorokat nehéz kristályosítani, ezért röntgenkristallográfiai szerkezetük csak részben ismeretes. Viszont a feszültségfüggő K⁺ (Kv) ioncsatornák finomszerkezete az ezredforduló óta ismert [10]. MacKinnon

ezért már 2003-ban kémiai Nobel díjat kapott, Agre-vel, aki az aquaporinok (víz-csatornák) szerkezetét tárta fel. A kémia területén legrangosabb díj odaítélése egyrészt azt támasztja alá, hogy a sejtmembrán csatornái kiemelkedően fontosak, másrészt azt, hogy szerkezetük feltárása már kémiai, atomi szintű felbontást ért el.

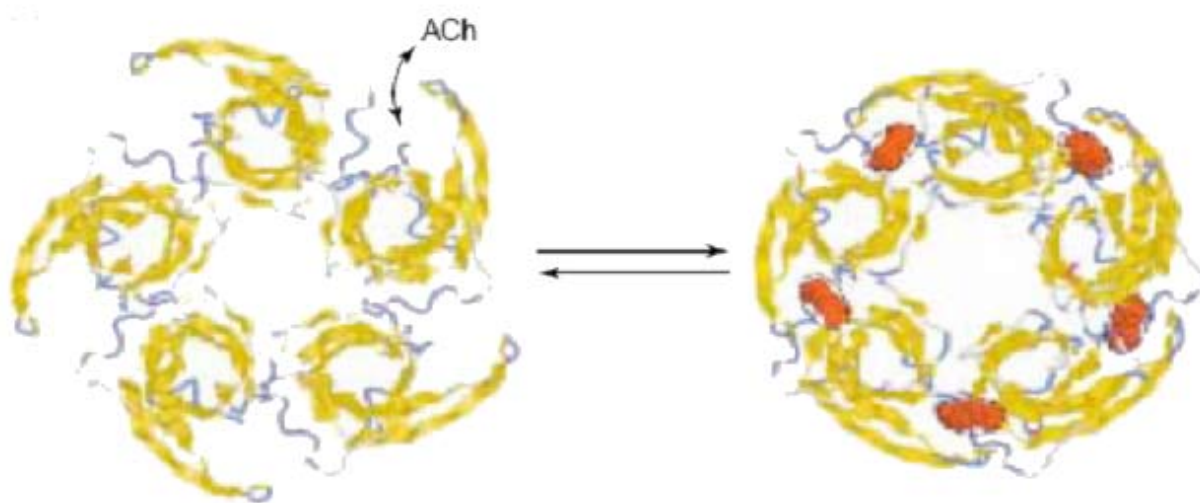


1. ábra. Ligandum-kapuzott ioncsatornák (LGIC) három szerkezeti csoportja [11]. ZAC: Zn²⁺-aktivált kation csatorna.

Mi indokolta a nAChR-ok kiválasztását az allosztéria MWC modellje érvényességének kiterjesztésére? Ennek belátásához tekintsük át az ioncsatorna receptorok szerkezeti csoportosítását. Az *International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification* szerint a G proteinekhez kapcsolt, hét transzmembrán (TM) hélixet tartalmazó receptorok szupercsaládja mellett az ionotróp (ioncsatorna) receptorok a legjelentősebbek. Az 1. ábrán látható a ligandum-kapuzott ioncsatornák (*ligand-gated ion channel*, LGIC) három szerkezeti csoportja [11]. Legtöbbjüket neurotranszmitter nyitja. Az első csoportot egy jellegzetes diszulfid hídról 'Cys-loop' családnak nevezték el. Újabban azonban elterjedt a pLGIC elnevezés, utalva pentamer szerkezetükre, ami megkülönbözteti őket a másik két csoporttól. Az NMDA, AMPA és kainát típusú glutamát receptorok ugyanis tetramer, az ATP-kapuzott P2X receptorok kation

csatornái pedig trimer szerkezetűek.

A pLGIC alegységek négy TM hélixet tartalmaznak. Az öt alegység TM2 régiója fog közre egy ioncsatornát. A pLGIC szupercsalád igen jelentős receptorokat tartalmaz. A nAChR-ok mellett ide tartoznak a szerotonin 5-HT₃ típusú receptorai, a γ -aminovajsav A-típusú receptora (GABA_AR) és a glicin receptor (GlyR). A GABA az agyban, a glicin pedig a gerincvelőben a legfontosabb gátló típusú neurotranszmitter. Az elektromos rája nAChR-okban gazdag, ezért ez volt az első pLGIC-klónozás forrása. Changeux munkacsoportja kimutatta, hogy a nAChR alegységek hat (A-F) (kötő)régiója fogja közre az agonista acetilkolin kötőhelyét. A nAChR után klónozták számos hasonló szekvenciájú pLGIC receptor alegységeit. A nAChR azonban mindmáig vezető szerepet játszik a szupercsalád szerkezetének megismerésében. Feltárták a nyitott nAChR pentamer szerkezetét elektron mikroszkópiával, acetilkolin jelenlétében gyorsfagyasztva, a deszenzitizáció és visszacsukódás megelőzésére [12]. A pórusnyitás modellje szerint a TM2 hélixek 'félrebecsáklása' nyitja a csatornát [12]. Aztán csigából izoláltak egy acetilkolint kötő fehérjét (AChBP), amelyben az alegységek aminosav-sorrendje ~30%-ban homológ a pLGIC alegységek extracelluláris, N-terminális szakaszával. Az AChBP röntgenszerkezetében a gyűrűs pentamer alegységei között kötőüregek vannak [13], amelyeket a Changeux kötőhely modell A-F szakaszai fognak közre. Az MWC modell szerint a pentamer szerkezete nyitott és zárt kötőüreggel egyaránt hengersizmetrikus (2. ábra).



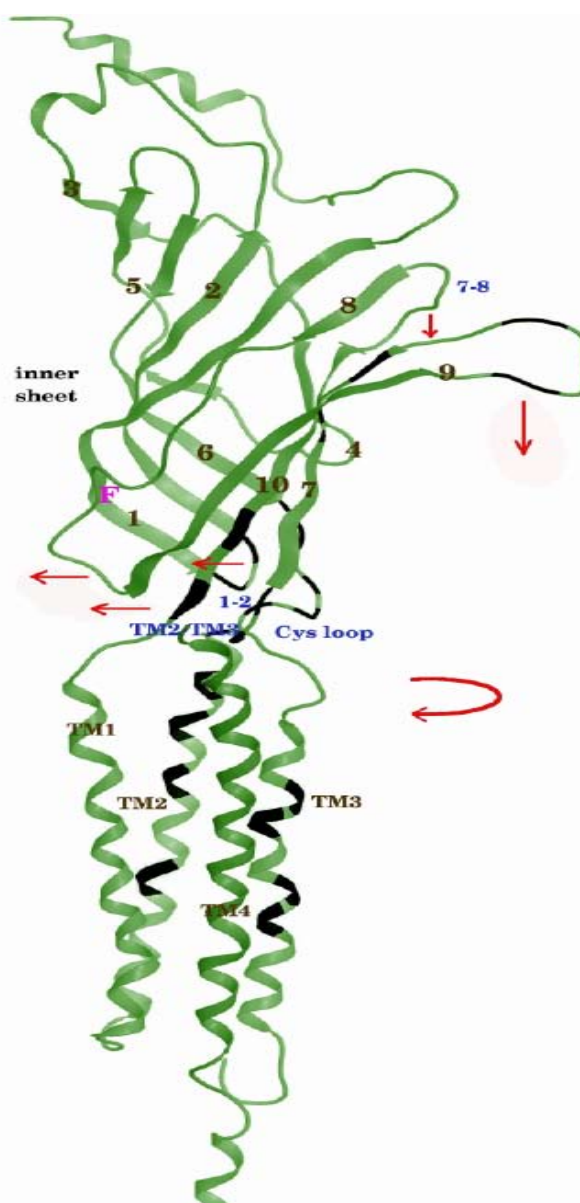
2. ábra. Nikotinos acetilkolin receptorok extracelluláris részének felülnézete a szimmetrikus MWC modell szerint [8]. Nyitott kötőüregekkel az öt alegység zárt ioncsatornát fog közre. Acetilkolin (piros) kötődése zárja az üregeket és eltolja az egyensúlyt a nyitott csatornák felé.

A pLGIC pentamerek szerkezete homológia modellezéssel vizsgálható, kezdetben csak a csatorna extracelluláris torzója, aztán a teljes csatorna is, kombinálva a nAChR elektronmikroszkópos képével. Manapság molekuladinamikai szimulációval már a jelátvitel, pórusnyitás folyamata is tanulmányozható [14]. Az alegységek közötti üregben az agonisták kötődése behúzza a C-(hajtű)kanyart, ami csapóajtóként a kötőüregre zárul. A kötőüreg bezáródását modellezni lehet AChBP

alegységek dimerje alapján. Ha az A-C kötőrégiókat tartalmazó fő alegységet lépésenként elforgatjuk, a C-kanyar ráfordul a kötőüregre, a komplementer alegységre (lásd a 2. ábrán). Ilyen módon modelleztük a szerotonin receptor 5-HT_{3AB} heterodimer kötőüregének kontrakcióját az 5-HT_{3A} alegység rotációjával [15]. A konformációs átmenetekbe szerotonint dokkolva képet kaptunk az agonista és a kötőrégiók kölcsönhatásának változásáról, ami a jelátvitelt elindítja. A kontrakció során a kation- π kölcsönhatások és hidrogén hidak hálózata átrendeződik [15, 16].

Az utóbbi években számos ismeret halmozódott fel a pLGIC alegységek pontmutációinak a jelátvitelre kifejtett hatására [17]. A 3. ábrán, az AChBP egy alegysége és a hozzákapcsolt TM régiók peptidvázán feketén vannak jelölve azok a pLGIC szekvencia szakaszok, amelyekben a pontmutációk befolyásolták az agonisták pLGIC-nyitó hatását [18].

3. ábra. Egy pLGIC alegység szerkezete (az intracelluláris, C-terminális szakasz nélkül) az AChBP röntgen- és a nAChR elektromikroszkópiás szerkezete alapján. A peptidváz zöld szalag diagramján feketével van jelölve azoknak a homológ aminosavaknak a pozíciója, amelyek mutációi a pLGIC jelátvitelt befolyásolták. A β -redők és TM hélixek jelölése barna, az összekötő hurkoké kék, piros nyilak pedig a jelátvitel konformációs változásainak irányát mutatják molekuladinamikai szimuláció alapján [14, 18].



A mutánsok termodinamikai vizsgálatából arra lehet következtetni, hogy agonisták kötődése az ioncsatorna kinyílásához vezető konformációs hullámot indít [19]. Ez az allosztérius kommunikációs kaszkád (*trajectory*) a feketével jelölt szakaszok mentén halad. A 3. ábrán piros nyilak jelzik a kaszkád lépcsőit. Molekuladinamikai szimuláció is alátámasztja ezt a folyamatot [14]. A C-kanyarral összekötött merev β -redők (3. ábra, **9** és **10**) másik vége mérleghintaként ellentétesen (a 3. ábrán balra) mozdul el, magával húzva az **1-2** és Cys hurkokat, valamint a

TM2 és TM3 régiók „tetejét”, ami velük ionos kölcsönhatásban van. Ez a TM3 és a csatornafali TM2 hélixek elfordulásához vezet, ami a pórust kitágítja, és lehetővé teszi a penetráló ionok áthaladását. Ilyen allosztérikus jelátviteli kaszkád érvényes az összes pLGIC-re [17], amit megerősít egy nyitott és zárt, teljes pLGIC röntgenszerkezetének összehasonlítása is [20]. Összefoglalva, a pLGIC család alegységeinek szerkezete részben feltárható pontmutációk hatása és homológia modellezés alapján. Az agonisták kötődéséből aktivációt kiváltó konformációs változásokat pedig számos közvetett bizonyíték és molekuladinamikai szimuláció valószínűsíti.

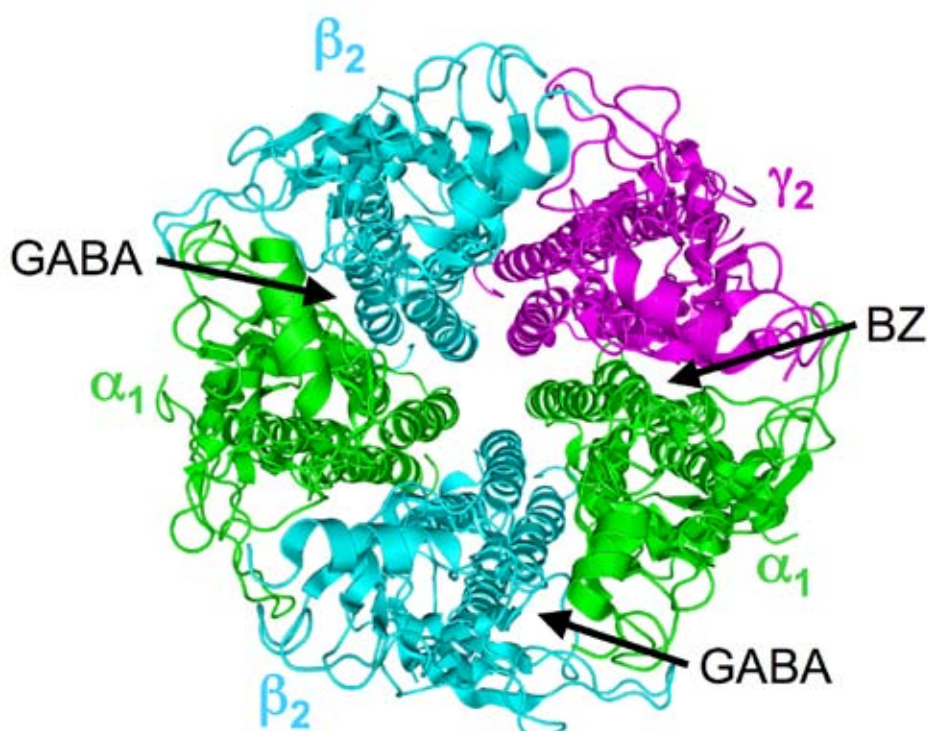
A pLGIC receptorok a kémiai jelátvitel mechanizmusát illusztrálták. Más ioncsatornák fizikai inger (elektromos és mechanikai feszültségváltozás) hatására nyílnak. A feszültségfüggő K^+ ioncsatornák három doménjének, a feszültség-szenzor, aktivációs kapu és ionszelektivitás-szűrő allosztérikus csatolását is feltárták [21]. Pontmutációik sokad-rendű termodinamikai ciklusainak csatolása (*high-order cycle-coupling*) kimutatta az allosztéria pályája (*trajectory*) menti aminosavak energetikai csatolását. A szimmetrikus homotetramer ioncsatorna kooperatív kinyitása, protomerjeinek állapotváltozása együtt zajlik, az MWC modell szerint [21]. Összegezve az ioncsatornák jelátviteli konformációs változásait, a protomerek ligandumkötő vagy szenzor doménjétől az aktivációs kapuig gyűrűznek tova a kölcsönhatások, lefolyásuk viszont párhuzamos mindegyik protomerben.

pLGIC kötőhelyek kölcsönhatása

Az ioncsatorna receptorok aktivációjához több agonista kötődése szükséges. Kérdés, hogy hány agonista és hol? Ezt tisztázta alegységenként jelölt homopentamer pLGIC csatornák egyenkénti (*single channel patch-clamp*) elektrofiziológiai vizsgálata [22]. Már három, nem szomszédos (1/2, 3/4, 4/5) alegység között kötődő agonista is elégséges az ötnek megfelelő maximális ion fluxus (*full agonizmus*) kiváltásához. Ez pedig a betöltött kötőüregek ugyanolyan térbeli viszonyát jelenti, mint ami benzodiazepin ligandumok allosztérikus hatásához szükséges $GABA_A$ R-on. A sokféle $GABA_A$ R heteropentamer egyik leggyakoribb szerkezeti összetétele a 4. ábrán és a címlapon látható.

Két (nem szomszédos) β/α alegység-határfelületen kötődik egy-egy GABA molekula, a benzodiazepinek pedig α/γ határfelületen kötődnek. Szerkezetüktől függően pozitív vagy negatív irányban módosíthatják a GABA jelátvitelét, a 'neutrális' benzodiazepinek pedig mindkét hatást antagonizálják. A kétirányú, allosztérikus farmakológiai szabályozás jelenségét éppen benzodiazepinekre ismerték fel először. Két agonista molekula hatásához képest a harmadik úgy növeli a homopentamer kooperativitását, mint egy benzodiazepin két GABA hatását. Tehát az allosztéria MWC modellje érvényes a pszeudo-szimmetrikus oligomerszerkezetre is.

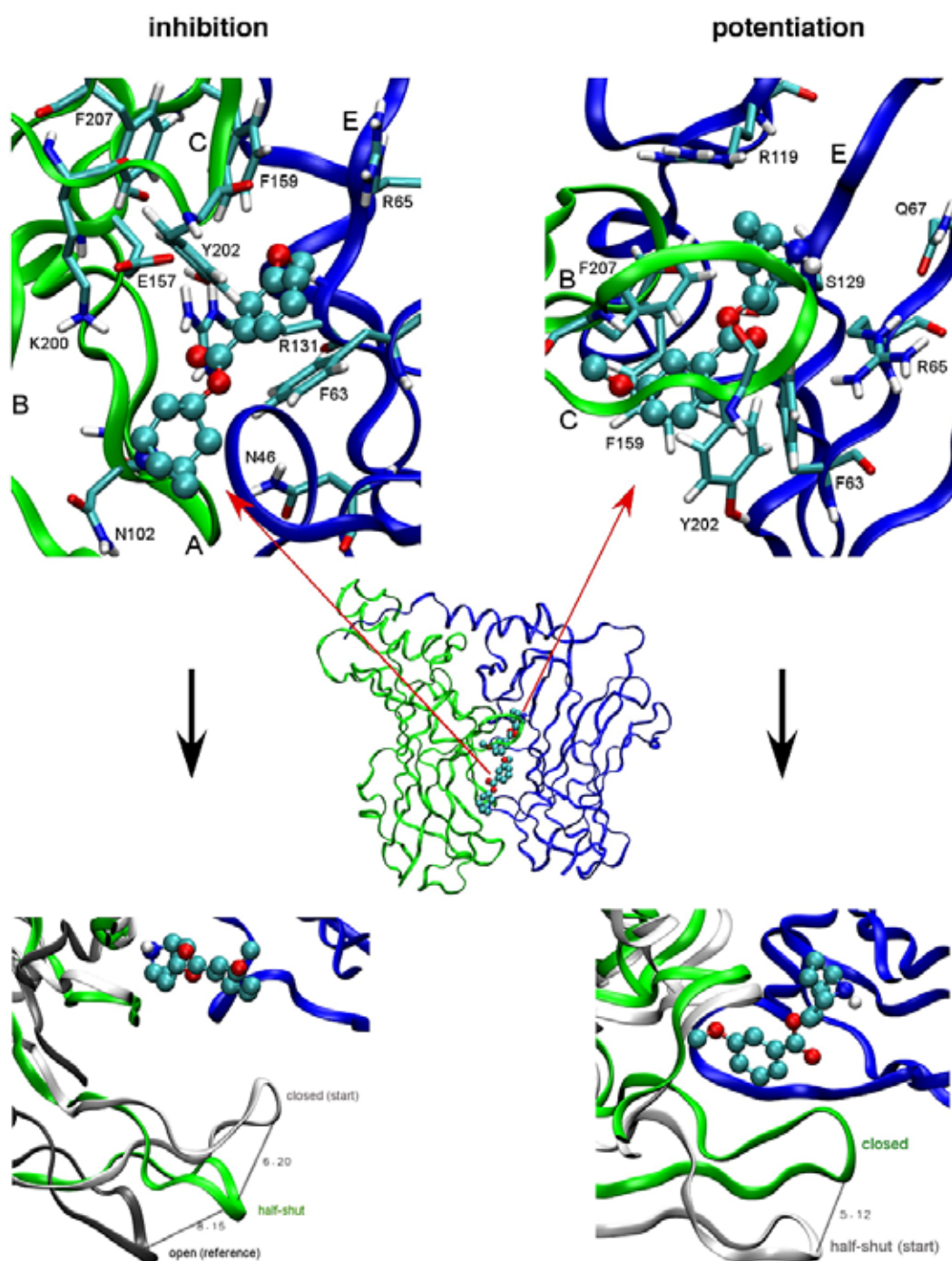
A pLGIC ioncsatornák kinyitásához egy agonista több molekulájának kötődése szükséges, az NMDA típusú glutamát receptor-csatornákat pedig kétféle ko-agonista, glutamát és glicin nyitja [23]. Tehát az agonista kötőhely, a kitüntetett viszonyítási pont (*origo*) nem egyértelmű. Ráadásul a hengerszimmetrikus ioncsatornák alegységei között nagyon hasonló ortosztérikus és allosztérikus kötő-



4. ábra. A GABA_AR pentamer szerkezete felülnézetben. A GABA és benzodiazepin (BZ) kötőüregeket nyilak jelzik (a nAChR szerkezete alapján, N. Unwin, 2005, PDB: 2BG9).

üreges található, lásd a GABA és benzodiazepinek kötőhelyeit (4. ábra). Egyazon ligandum pedig különböző irányban befolyásolhatja a funkciót. Ez többnyire különböző kötőhelyeken történik. Így például egyes barbiturátok különböző kötőhelyeken, mikromólos affinitással potenciálják GABA_AR agonisták csatornanyitó hatását, szubmillimólos koncentrációban pedig közvetlenül kinyitják a csatornát [24]. A neuroszteroidok, a GABA_AR alegység-szelektív endogén ligandumai, a TM hélixek közötti különböző üregekben nanomólos affinitással potenciálják a GABA-t, mikromólosan pedig közvetlenül kinyitják az ioncsatornákat [25]. Mikromólos koncentrációban Zn^{2+} -ionok kötődése a GlyR alegységek fázishatárán fokoz, millimólos Zn^{2+} pedig a pórusokban gátol [26, 27]. Az érzéstelenítő hatású etomidát, propofol és az alifás alkoholok a GABA_AR TM2 és TM3 hélicei közti üregben kötődve mikromólos koncentrációban potenciálják az agonistákat [28]. Alkohol kötőüreg több, hasonló szerkezetű pLGIC receptoron található, akárcsak neuroszteroid és barbiturát kötőhely. Tehát a pLGIC-ek allosztérikus szabályozása nem korlátozódik a GABA_AR -okra, viszont kiemelkedő farmakológiai jelentőségük miatt ezek a gyógyszerkutatás preferált célpontjai. Számos alegység-szelektív és nagyaffinitású allosztérikus modulátort fejlesztettek gyógyszerre a GABA_AR -ok különböző kötőhelyeire.

A pLGIC GlyR-okkal viszont a gyógyszerkutatás sokáig mostohán bánt. Eddig allosztérikus modulátoraik egyikét sem fejlesztették gyógyszerre [26]. Minthogy a GlyR α -alegységei homopentamerjeként is funkcióképes, mechanizmus vizsgálatokra alkalmasabb, mint a heteromer pLGIC receptorok. Egy-egy ligandum többnyire különböző kötőhelyeken fejt ki különböző hatásokat, viszont egyes tropeinek, tropin észterek, az α_1 GlyR azonos, ortosztérikus kötőhelyein, külön-



5. ábra. Tropeinek gátló és fokozó hatása rekombináns α_1 GlyR funkciójára [29]. A homopentamer homológia modellezése az AChBP szerkezetére és tropeinek dokkolása alapján. Fent: azok az aminosavak vannak feltüntetve, amelyek mutációja befolyásolta a tropein (golyós ábra) gátló (bal) és potenciáló (jobb) hatását. Az alegységek peptidvázán A-F kötőrégiók. Középen: molekuladinamikai szimuláció és dokkolás a tropein kétféle stabil kötődésmódját eredményezte az agonisták kötőüregénél, két (zöld és kék) alegység között. Felül: a pentamer receptor oldalnézeti részlete. Lent: a kötőüreg és C-kanyar felülnézetben. Balra lent: a tropein gátló kötődése, C-kanyar pozíciója közepén (alul, zöld), a kötőüreg nyitva. Jobbra lent: a tropein potenciáló pozíciójában behúzza a C-kanyart, mint az agonisták; az üreg bezárul, ami jelátvitelt eredményez.

bőző módon kötődve fejtenek ki ellentétes hatást [29]. Nanomólos affinitással az agonistákat potenciálják, mikromólos koncentrációban pedig gátolnak. Az α_1 alegység egyes pont mutációi hasonlóan, mások eltérően hatottak egy tropein gátló és potenciáló hatására [29]. Az 5. ábra bal felső részén látható, hogy azok az aminosavak, amelyek mutációja eliminálta a gátlást, közrefogják a kötőüreget, amelyben a tropein dokkoláskor kiköt. Molekuladinamikai szimuláció során a tropein egy másik pozícióban is stabilan megül (5. ábra, jobbra fent), miközben a C-kanyart magára húzza. Ezt a pozíciót azon aminosavak övezik, amelyek mutációi a potenciáló hatást befolyásolták. Tehát a tropein kétféle kötődésmódja a kötőüreg eltérő konformációival társul.

A gátló kötődés a kötőüreget nyitva hagyja (balra lent), úgy, mint a kompetitív antagonisták kötődése. A 'potenciáló' kötődésmódban azonban a kötőüreg bezárul (5. ábra, jobbra lent), úgy, mint az agonisták kötődése következtében, ami csatornanyitást vált ki. Mivel a tropeinek gátló kötődése is az agonisták kötőüregében történt, egyértelműen ortosztérikus gátlásnak nevezhető. Ugyanaz a tropein azonban ugyanolyan kötőüregben, más kötődésmódban potenciáló hatású. Ez vajon ortosztérikus vagy allosztérikus potenciálás? Ha ennek megválaszolásához a 4. ábra öt alegységét a modellben GlyR α alegységekre cseréljük, a pentamerhez glicin kötődik a GABA helyén. A tropeinek, ugyanott kötődve, kompetitív gátlást fejtenek ki. Egy másik ugyanolyan, de glicin-mentes kötőüregben viszont allosztérikusan potenciálják a glicin hatását. Érdekes módon az α_1 GlyR egyik (E jelű) kötőrégiójában R119 különböző mutációi ellentétesen hatottak a tropein gátló és fokozó hatására [29]. R119A a gátlásra nem hatott, de a növekményt felszámolta. R119K pedig a gátlást szüntette meg, a potenciálást viszont erősen fokozta. Tehát a 119. aminosav szerkezete mikro-kapcsolóként befolyásolja a jelátvitel irányát, jellegét. Figyelemre méltó, hogy egy másik pLGIC-ben a homológ helyzetű Y143 szerepet játszik az 5-HT₃ receptor aktivációjában, valamint az agonisták és a kötőüreg hidrogén híd hálózatának átrendeződésében [15]. De a G proteinhez kapcsolt receptorok aktivációjában is kimutattak egy-egy evolúciósan konzervált arginin és tirozin mikro-kapcsolót, amelyek különböző rotamer konformációkban a hét TM hélix kapcsolatrendszerét állítanák át a receptor aktív és inaktív állapotai között [30].

A fenti példák pLGIC receptorok allosztérikus szabályozására vonatkoztak, de számos allosztérikus modulátort fejlesztettek ki glutamát receptorokra is, különösen az NMDA típusúakra, kognitív hatású gyógyszerré. Bár receptoraik alegységszerkezete másfajta, de működésük és allosztérikus szabályozásuk jellege sok hasonlóságot mutat a pLGIC receptorokéval. Szintén szimmetrikusak, dimerek dimerjei [23, 31]. Az NMDA receptor működése koincidencia detektorhoz hasonlít. A membrán depolarizáció megszünteti a Mg^{2+} gátló hatását, az NMDA agonisták (glutamát és glicin) pedig az alegységek N-terminális lebenyeibe ágyazott kötőüregeket kagylóhéjszerűen bezárják, ami elindítja a csatornanyitáshoz vezető jelátviteli kaszkádot. Modulátoraik (Zn^{2+} , Mg^{2+} , H^+ , poliaminok, neurosteroidok és ifenprodil) kötőüregeinek hasonló bezárulása allosztérikus szabályozást eredményez [23]. A bemutatott példák azt illusztrálják, hogy a receptorok oligomerszerkezetének egyre részletesebb megismerése a farmakológiai allosztéria mechanizmusának egyre mélyebb megértéséhez vezet, és a

fogalom felülvizsgálatára késztet.

Az idén kettős Darwin jubileumot ünneplünk: a tudós 200 éve született, és a „Fajok Eredete” című korszakalkotó műve 150 éve, novemberben jelent meg. A jubileum tiszteletére a *Biokémia* mostani számának címlapja a pLGIC receptorok evolúciójának egyfajta festészeti parafrázisa, ahogy én látom; Boros Borbála „Aranyhalak-acetilcolin receptor” című festménye kiegészítve a 4. ábrával. A *Biokémia* következő számában az allosztéria hajtóerejéről, tervezhetőségéről és molekuláris evolúciójáról lesz szó.

Irodalom

- [1] Perutz, M.F., Rossmann, M.G., Cullis, A.F., Muirhead, H., Will, G., North, A.C.T. (1960) Structure of haemoglobin. A three-dimensional Fourier synthesis at 5.5Å resolution, obtained by X-ray analysis. *Nature* **185**, 416-422.
- [2] Monod, J., Wyman, J., Changeux, J.P. (1965) On the nature of allosteric transitions: A plausible model. *J. Mol. Biol.* **12**, 88-118.
- [3] Ainslie, G.R., Shill, J.P., Neet, K.E. (1972) Transients and cooperativity. *J. Biol. Chem.* **247**, 7088-7096.
- [4] Koshland, D.E., Némethy, G., Filmer, D. (1966) Comparison of experimental binding data and theoretical models in proteins containing subunits. *Biochemistry* **5**, 365-385.
- [5] Boehr, D.D., Nussinov, R., Wright, P.E. (2009) The role of dynamic conformational ensembles in biomolecular recognition. *Nature Chem. Biol.* doi: 10.1038/nchembio.232.
- [6] Tsai, C.J., Ma, B., Nussinov, R. (1999) Folding and binding cascades: Shifts in energy landscapes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 9970-9972.
- [7] Smock, R.G., Gierasch, L.M. (2009) Sending signals dynamically. *Science* **324**, 198-203.
- [8] Changeux, J.P., Edelstein, S.J. (2005) Allosteric mechanisms of signal transduction. *Science* **308**, 1424-1428.
- [9] Changeux, J.P., Devillers-Thiéry, A., Chemouilli, P. (1984) Acetylcholine receptor: an allosteric protein. *Science* **225**, 1335-1345.
- [10] Zhou, M., Morais-Cabral, J.H., Mann, S., MacKinnon, R. (2001) Potassium channel receptor site for the inactivation gate and quaternary amine inhibitors. *Nature* **411**, 657-661.
- [11] Collingridge, G.L., Olsen, R.W., Peters, J., Spedding, M. (2009) A nomenclature for ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology* **56**, 2-5.
- [12] Unwin, N. (1995) Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* **373**, 37-43.
- [13] Brejc, K., van Dijk, W.J., Klaassen, R.V., Schuurmans, M., van der Oost, J., Smit, A.B., Sixma, T.K. (2001) Crystal structure of an ACh-binding protein reveals the ligand-binding domain of nicotinic receptors. *Nature* **411**, 269-276.
- [14] Cheng, X.; Wang, H.; Grant, B.; Sine, S.M.; McCammon, J.A. (2006) Targeted molecular dynamics study of C-loop closure and channel gating in nicotinic receptors. *PLOS Comput. Biol.* **2**, 1173-1184.
- [15] Maksay, G.; Simonyi, M.; Bikádi, Z. (2004) Subunit rotation models activation of serotonin 5-HT_{3AB} receptors by agonists. *J. Computer-Aided Mol. Design* **18**, 651-664.
- [16] Dougherty, D.A. (1996) Cation- π interactions in chemistry and biology: a new view of benzene, Phe, Tyr, and Trp. *Science* **271**, 163-168.

- [17] Sine, S.M., Engel, A.G. (2006) Recent advances in Cys-loop receptor structure and function. *Nature* **440**, 448-455.
- [18] Maksay, G. (2009) Ligand-gated pentameric ion channels, from binding to gating. *Current Molecular Pharmacology*, **2**, 253-262.
- [19] Grosman, C., Zhou, M., Auerbach, A. (2000) Mapping the conformational wave of acetylcholine receptor channel gating. *Nature* **403**, 773-776.
- [20] Bocquet, N., Nury, H.; Baaden, M., Le Poupon, C., Changeux, J.P., Delarue, M., Corringer, P.J. (2009) X-ray structure of a pentameric ligand-gated ion channel in an apparently open conformation. *Nature* **457**, 111-114.
- [21] Zandany, N., Ovadia, M., Orr, I., Yifrach, O. (2008) Direct analysis of cooperativity in multisubunit allosteric proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 11697-11702.
- [22] Rayes, D., De Rosa, M.J., Sine, S.M., Bouzat, C. (2009) Number and locations of agonist binding sites required to activate homomeric Cys-loop receptors. *J. Neurosci.* **29**, 6022-6032.
- [23] Gielen, M., Le Goff, A., Stroebel, D., Johnson, J.W., Neyton, J., Paoletti, P. (2008) Structural rearrangements of NR1/NR2A NMDA receptors during allosteric inhibition. *Neuron* **57**, 80-93.
- [24] Amin, J., Weiss, D.S. (1993) GABA_A receptor needs two homologous domains of the beta-subunit for activation by GABA but not by pentobarbital. *Nature* **366**, 565-569.
- [25] Hosie, A.M., Wilkins, M.E., da Silva, H.M.A., Smart, T.G. (2006) Endogenous neurosteroids regulate GABA_A receptors through two discrete transmembrane sites. *Nature* **444**, 486-489.
- [26] Laube, B., Maksay, G., Schemm, R., Betz, H. (2002) Modulation of glycine receptor function: a novel approach for the therapeutic intervention at inhibitory synapses? *Trends Pharmacol. Sci.* **23**, 519-527.
- [27] Miller, P.S., Topf, M., Smart, T.G. (2008) Mapping a molecular link between allosteric inhibition and activation of the glycine receptor. *Nature Struct. Mol. Biol.* **15**, 1084-1093.
- [28] Mihic, S.J., Ye, Q., Wick, M.J., Koltchine, V.V., Krasowski, M.D., Finn, S.E., Mascia, M.P., Valenzuela, C.F., Hanson, K.K., Greenblatt, E.P., Harris, R.A., Harrison, N.L. (1997) Sites of alcohol and volatile anaesthetic action on GABA_A and glycine receptors. *Nature* **389**, 385-389.
- [29] Maksay, G., Laube, B., Schemm, R., Grudzinska, J., Drwal, M., Betz, H. (2009) Different binding modes of tropeines mediating inhibition and potentiation of α_1 glycine receptors. *J. Neurochem.* **109**, 1725-1732.
- [30] Nygaard, R., Frimurer, T.M., Holst, B., Rosenkilde, M.M., Schwartz, T.W. (2009) Ligand binding and micro-switches in 7TM receptor structures. *Trends Pharmacol. Sci.* **30**, 249-259.
- [31] Sobolevsky, A.I., Rosconi, M.P. Gouaux, E. (2009) X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-sutype glutamate receptor. *Nature* **462**, 745-756.



Maksay Gábor vegyészként diplomázott az ELTE-n 1973-ban. Azóta az MTA Kémiai Kutatóközpontban dolgozik, 1984-től a Biomolekuláris Kémiai Intézet Molekuláris Farmakológiai Osztályán, osztályvezető és tudományos tanácsadó munkakörökben. MTA Ifjúsági Díjas (1982), a biológiai tudomány doktora (1993), az MTA Bioorganikus Kémiai Munkabizottság titkára (1986-2005), a *Current Molecular Pharmacology* szerkesztőbizottsági tagja. Hosszabb tanulmányút: *Univ. of Texas Health Science Center at San Antonio, TX, USA*, associate professor (1982-1984). A *Max-Planck-Institute für Hirnforschung* (Frankfurt/M, NSzK) és *Neuroscience Research Centre of MSD* (Harlow, UK) intézetekben töltött el rövidebb időt. Szakterületei: receptorológia, ionotróp neurotranszmitter receptorok, kötődés, funkció és modellezés.