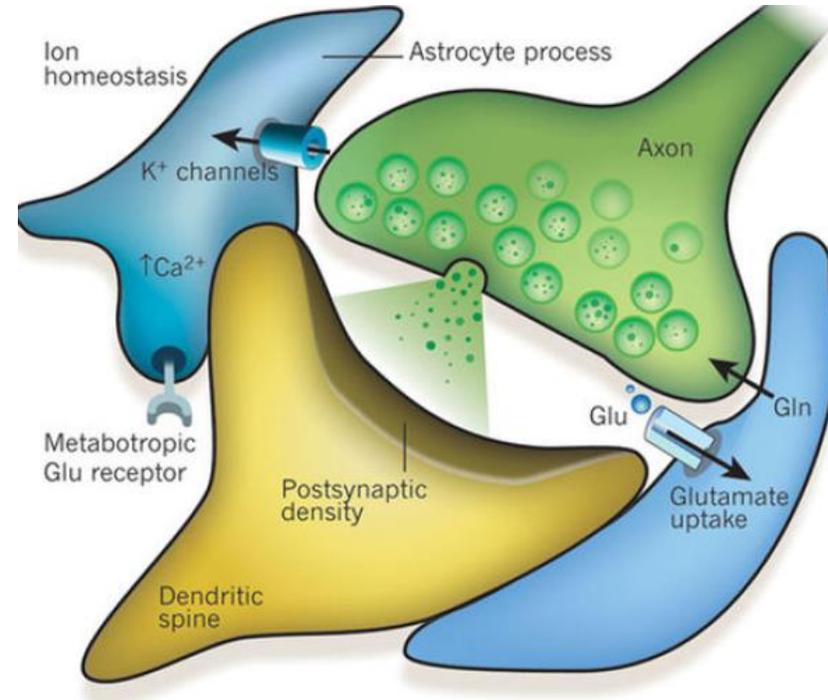
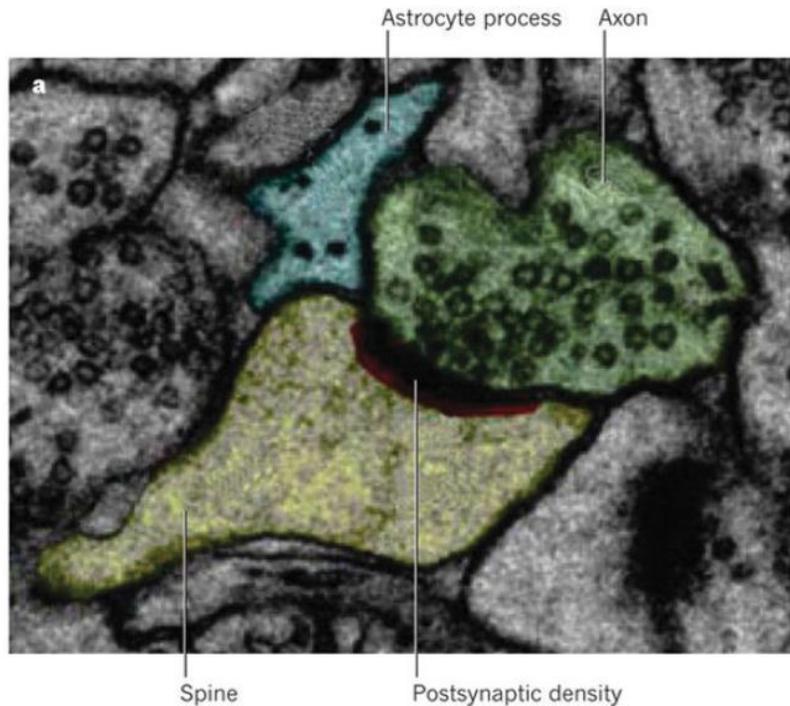
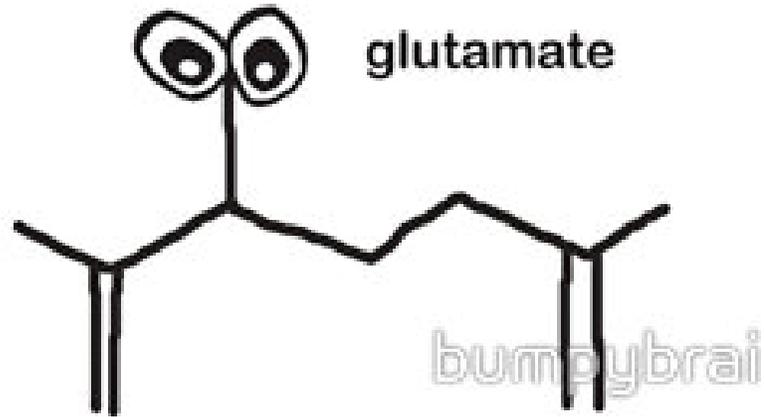


Récepteurs ionotropiques du glutamate: structure, propriétés électriques et rôles à la synapse



Sommaire



récepteurs ionotropiques du glutamate:

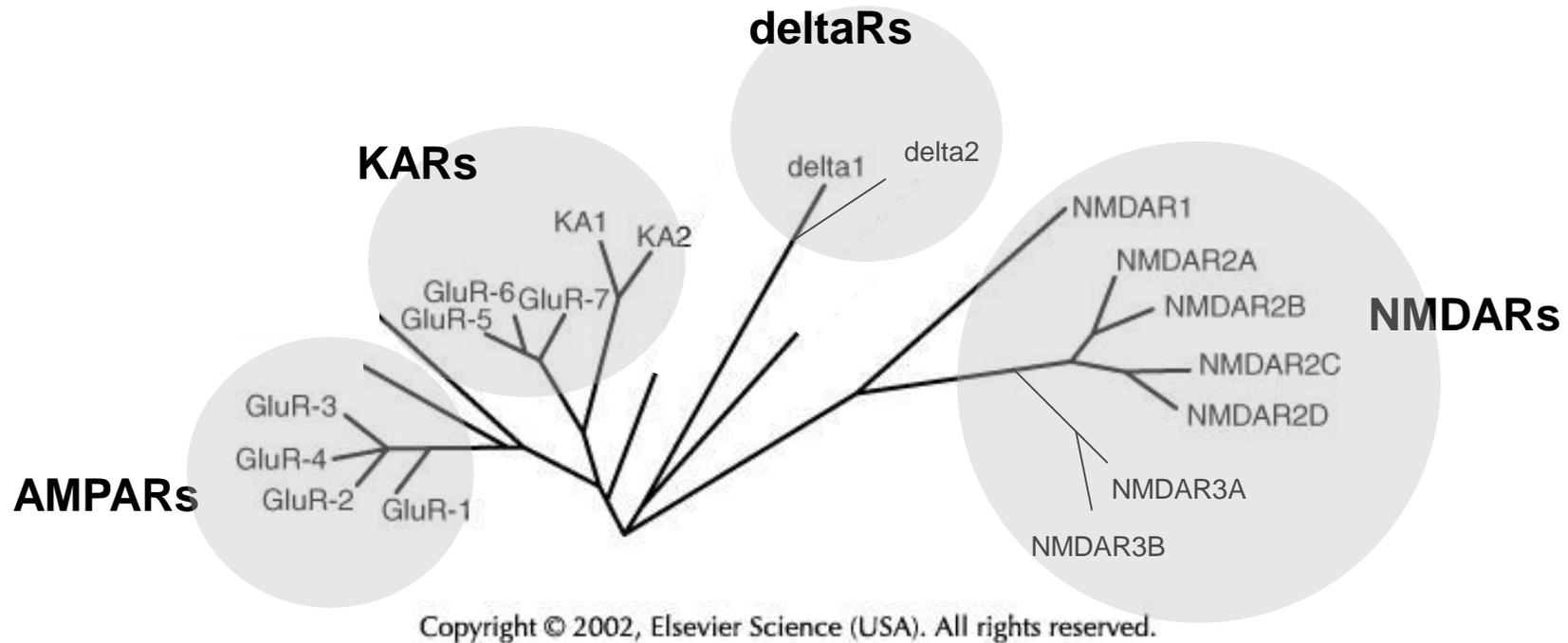
- structure, composition en sous-unités et propriétés électrophysiologiques des récepteurs de type AMPA et NMDA (4h)
- rôle à la synapse (1h)
- implication dans plasticité synaptique à long terme (LTP)

Il y a une grande variété de récepteurs et de transporteurs du glutamate

	Ionotropic Glu Receptors			Metabotropic Glu Receptors			Glu Transporters	
	AMPA	KA	NMDA	Group I	Group II	Group III	HCT	LCT
Subtypes	GluA1	GluK1	GluN1	mGluR1	mGluR2	mGluR4	EAAT1	EAAT4
	GluA2	GluK2	GluN2A	mGluR5	mGluR3	mGluR6*	EAAT2	EAAT5*
	GluA3	GluK3	GluN2B			mGluR7	EAAT3	
	GluA4	GluK4	GluN2C			mGluR8		
		GluK5	GluN2D					
			GluN3A					
			GluN3B					

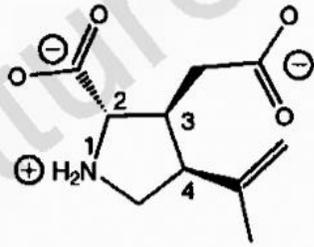
*Subtype not expressed in the CNS

Il y a trois classes de récepteurs ionotropiques du glutamate:

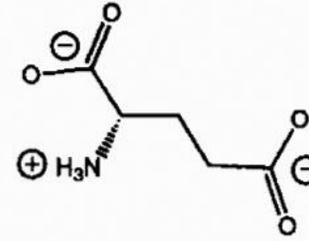


(Adapté de « Fundamental Neuroscience », Squire, Bloom)

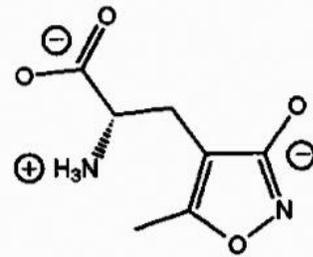
Agonistes des récepteurs ionotropiques du glutamate



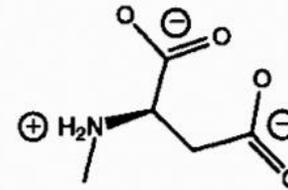
Kainate



Glutamate



AMPA

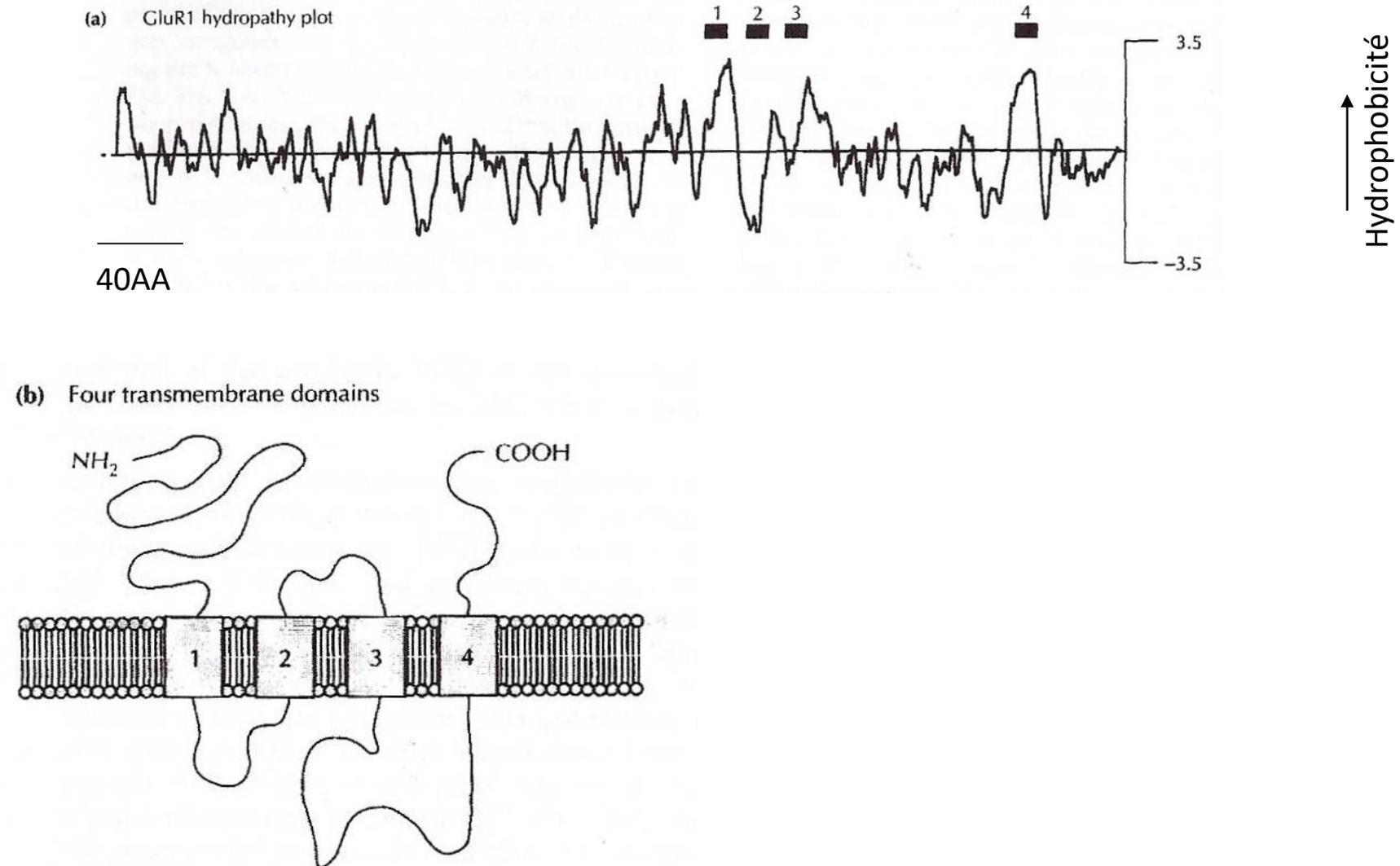


NMDA

Inhibiteurs des récepteurs ionotropiques du glutamate

	type de récepteur		
	AMPA	Kaïnate	NMDA
composés actifs			
antagonistes compétitifs	NBQX, DNQX CNQX (agon. part.)	NBQX, DNQX CNQX (agon. part.)	D-AP5, CPP
antagonistes non compétitifs	GYKI 53655		7-chlorokynurenate
bloquants			MK-801

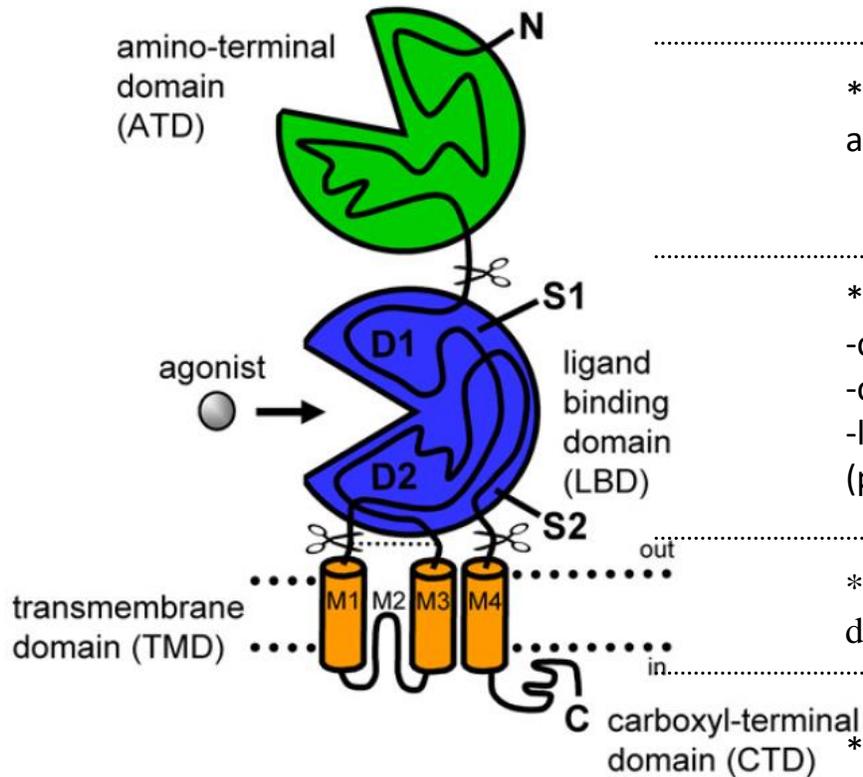
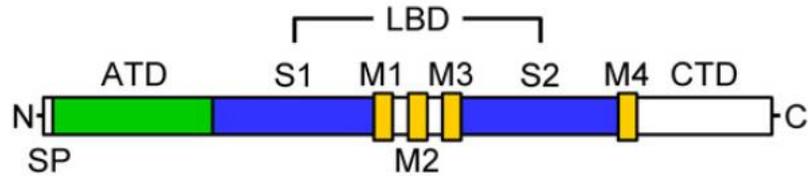
Organisation transmembranaire de la sous-unité du récepteur ionotropique au glutamate



4 segments transmembranaires, ex du nAChR

(Dani & Mayer, 1995)

Topologie schématique de la sous-unité du récepteur ionotropique du glutamate



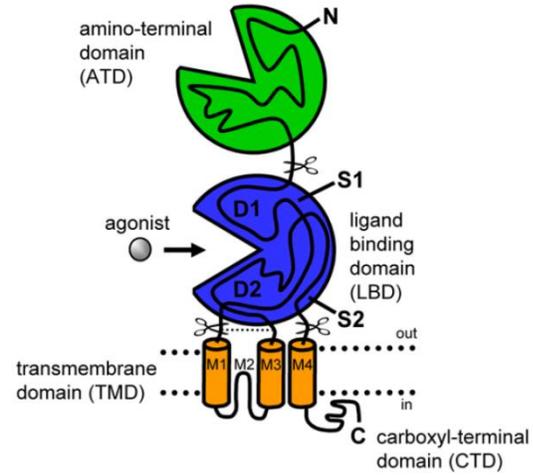
***Région N-terminale (ATD):**
assure l'association des sous-unités

***Région de fixation du glutamate (LBD ou ABD):**
-comprend deux segments S1 et S2
-cristallisation du site de liaison du ligand
-la fixation du ligand induit la fermeture du domaine (pacman!)

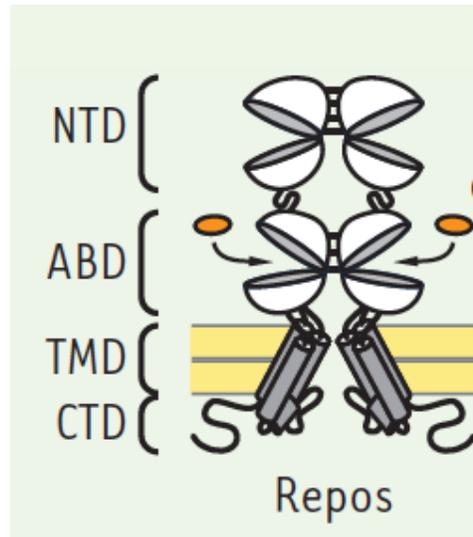
***Trois domaines** transmembranaires (TM1, 3, 4) et **un** domaine intra-membranaire (TM2, forme le pore du récepteur)

***Région C-terminale:**
-interaction avec les protéines intracellulaires impliquées dans le «trafique» et l'ancrage du récepteur à la membrane

Mécanisme d'activation du récepteur ionotropique du glutamate

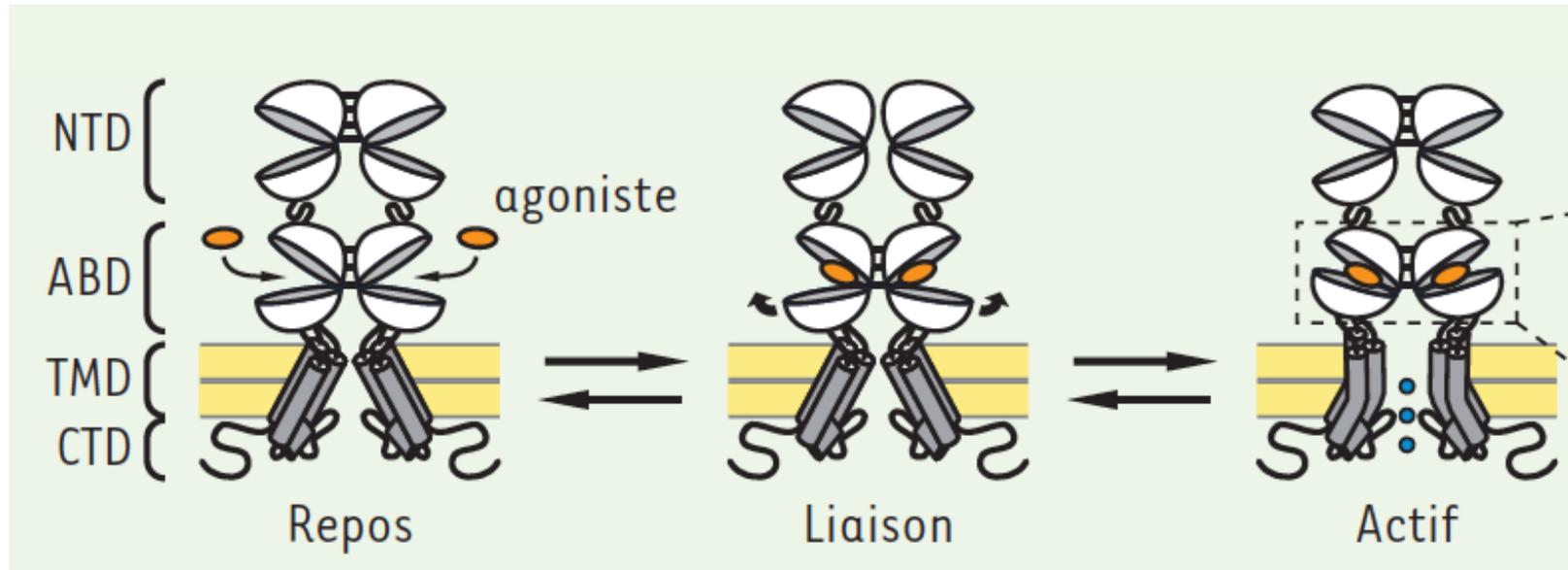


1 sous-unité



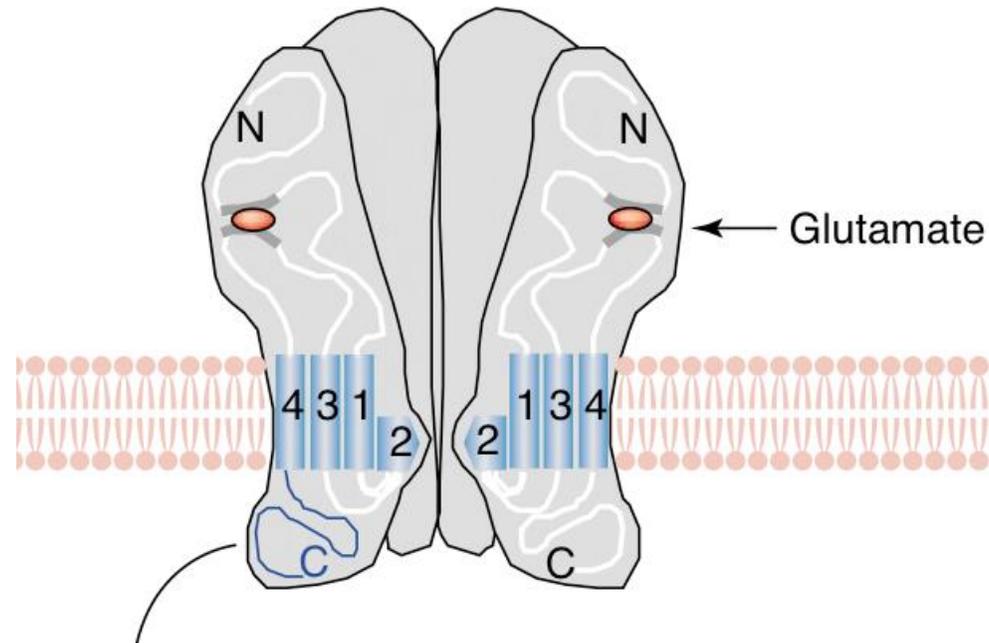
2 sous-unités

Mécanisme d'activation du récepteur ionotropique du glutamate



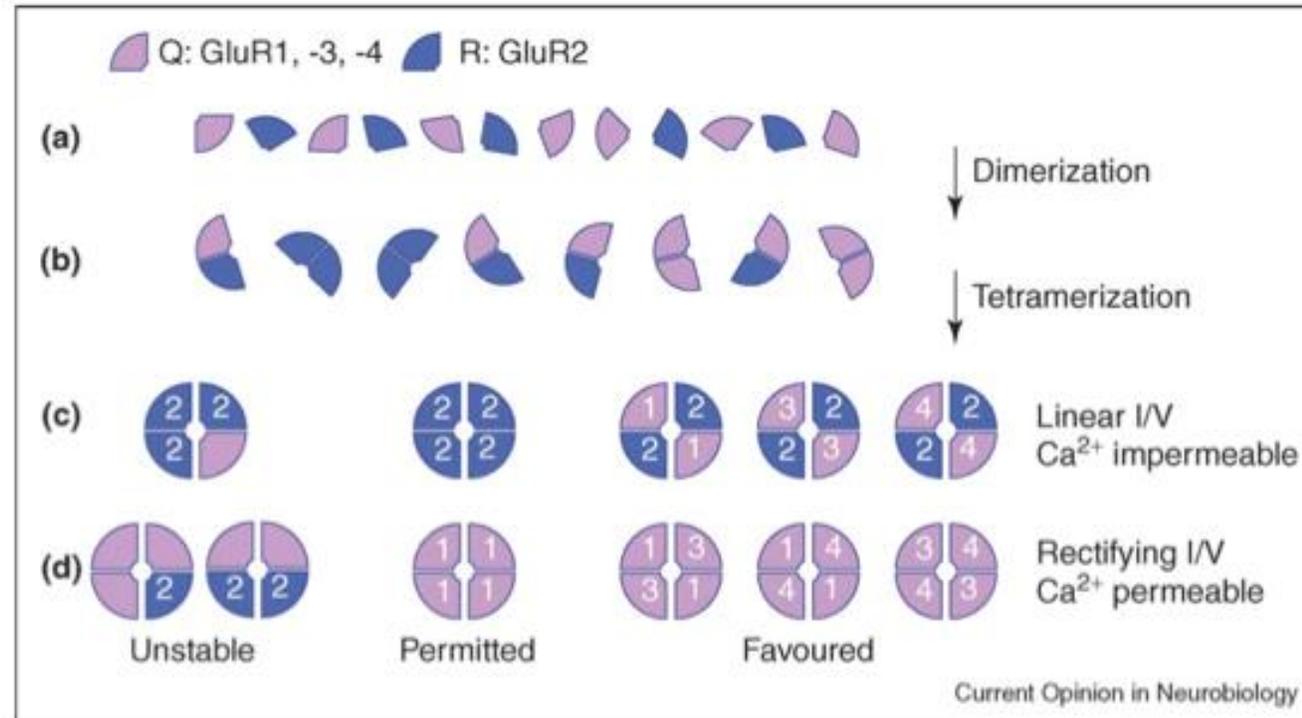
Les récepteurs AMPA (AMPA_Rs)

Schéma d'un récepteur AMPA



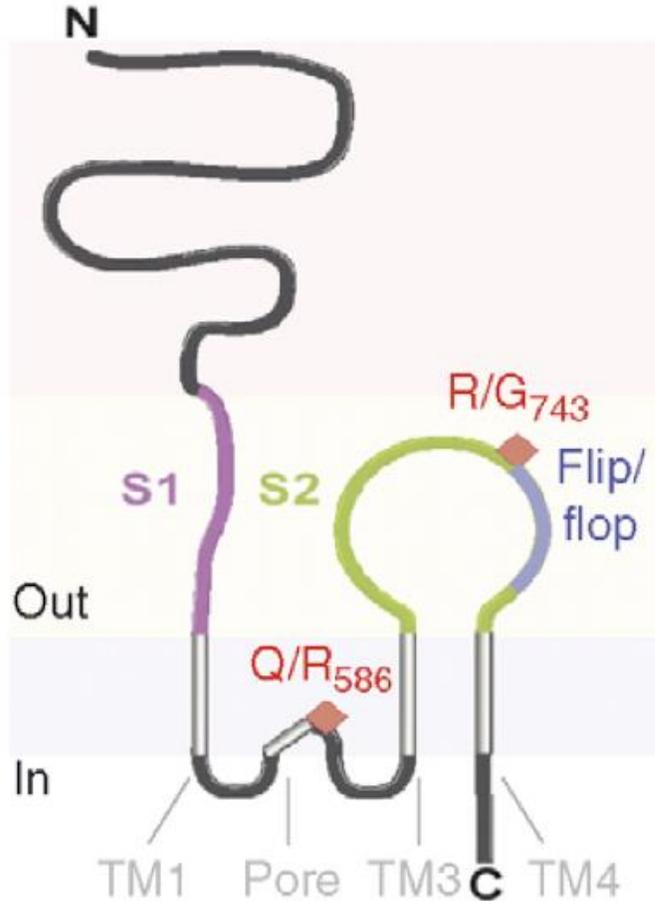
4 types de sous-unités: GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 (~70% homologie)

Formation des tétramères et compositions en sous-unités



(Cull-Candy et al., 2006)

Les AMPARs sont diversifiés par des procès d'édition de l'ARN

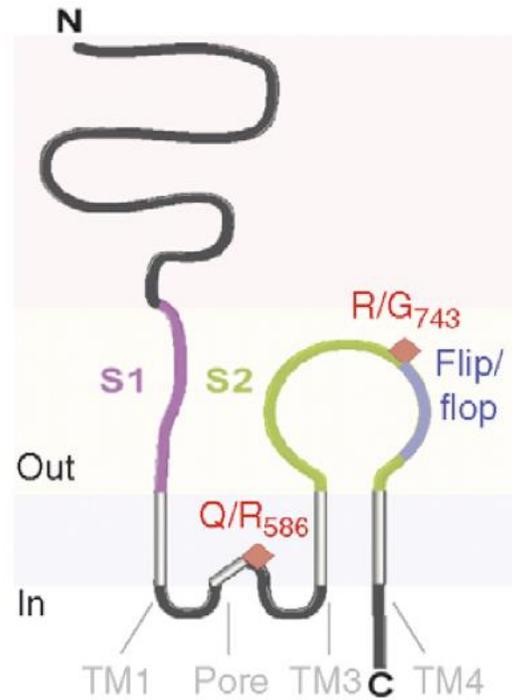


Edition de l'ARN:

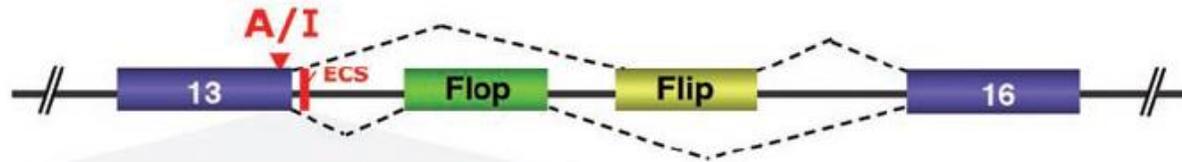
***site Q/R de GluR2:** glutamine Q remplacée par une arginine R dans 99.9% des cas comporte une faible perméabilité au Ca^{2+} du récepteur.

***site R/G de GluR2-4:** une arginine R remplacée par une glycine G joue un rôle dans la désensibilisation du récepteur.

Les AMPARs sont diversifiés par des procès d'épissage alternatif



Epissage alternatif de GluR1-4



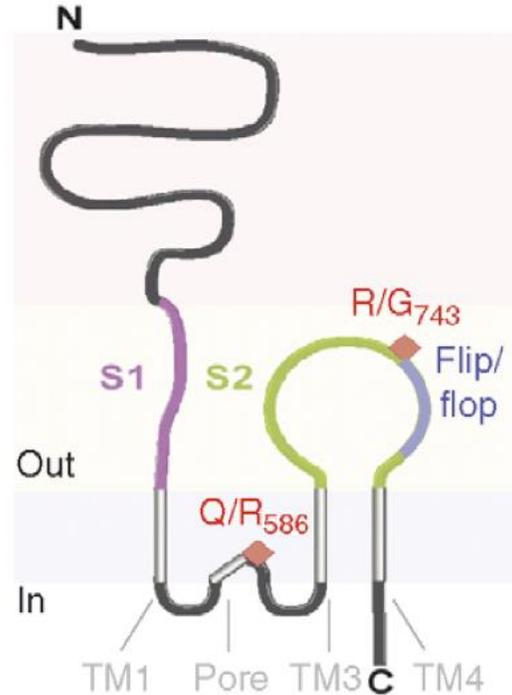
5' Splice site	Score
A AG gtgggt	7.98
A I G gtgggt	5.79
-3-2-1 1 2 3 4 5 6	

Consensus 5' splice site

^C
_AAG|gt ^a
_g agt

(Penn & Greger, 2009)

Les AMPARs sont diversifiés par des procès d'épissage alternatif

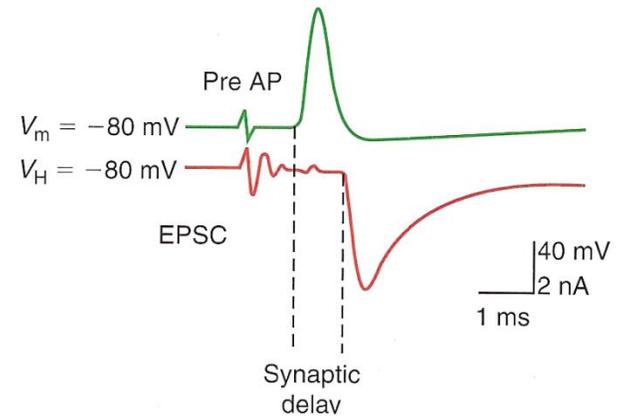
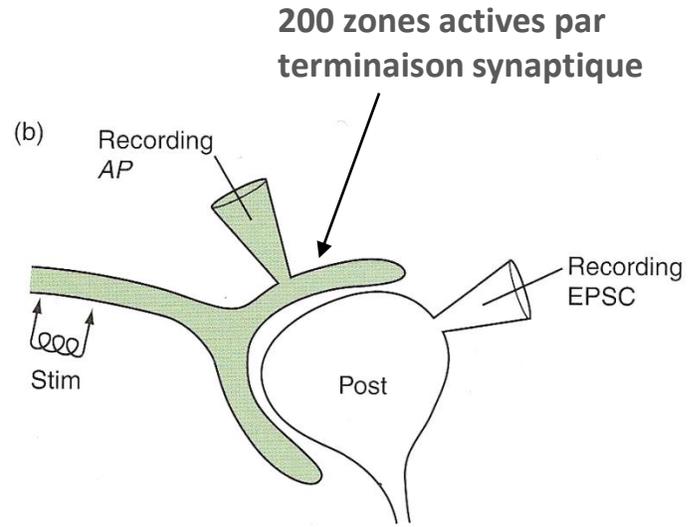


Épissage alternatif de GluR1-4 :

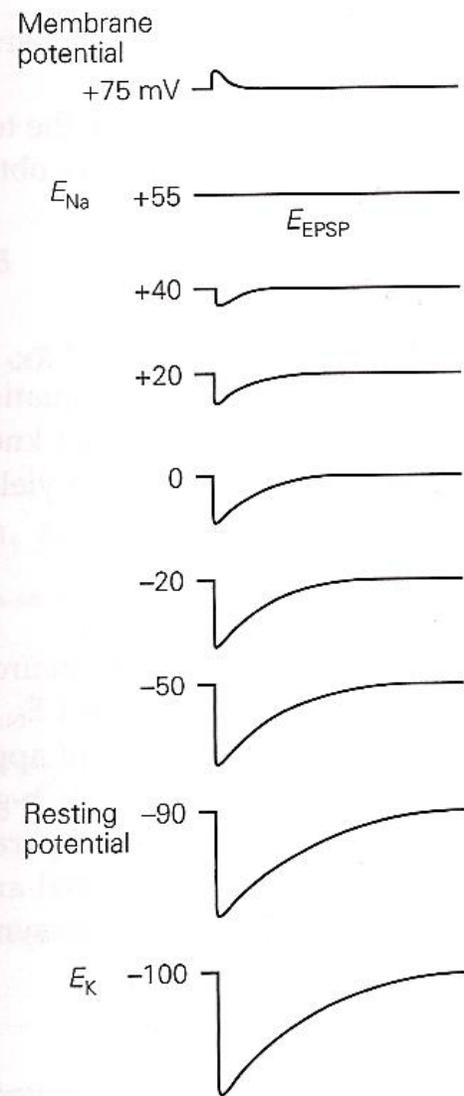
- *∀ sous-unité, il existe deux variantes d'épissage: flip-flop
- *l'épissage de chaque sous-unité est régulé indépendamment
- *impact sur les cinétiques et propriétés pharmacologiques du récepteur

(Greger et al., 2007)

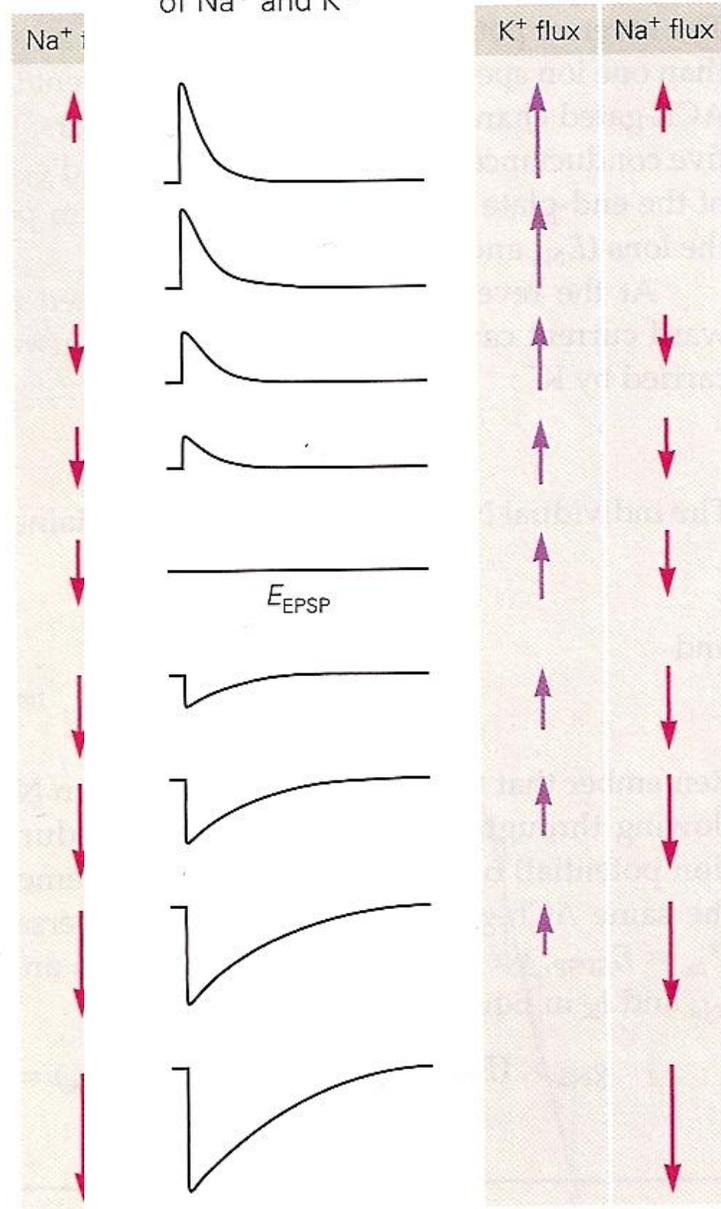
Calix de Held



A Hypothetical synaptic current due to movement of Na^+ only

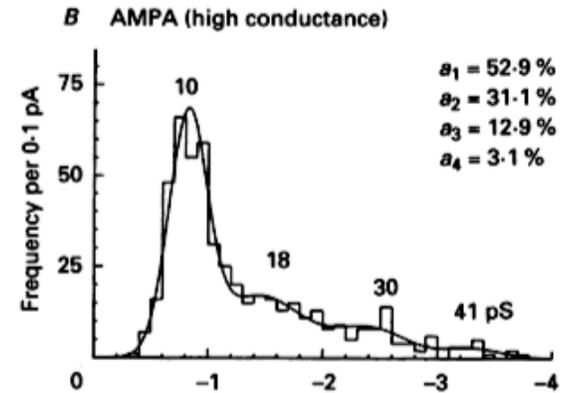
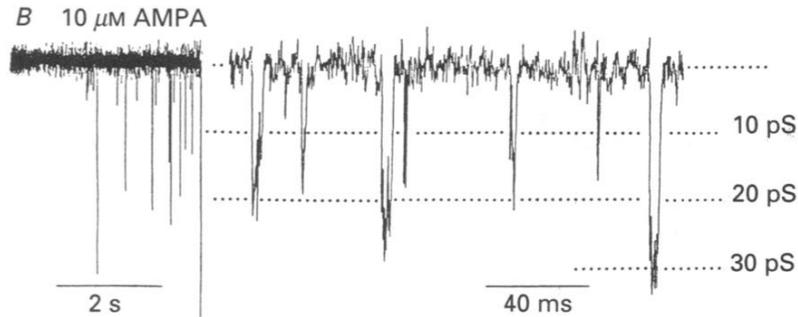
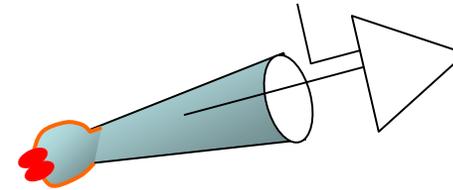


B Synaptic current reflecting movement of Na^+ and K^+

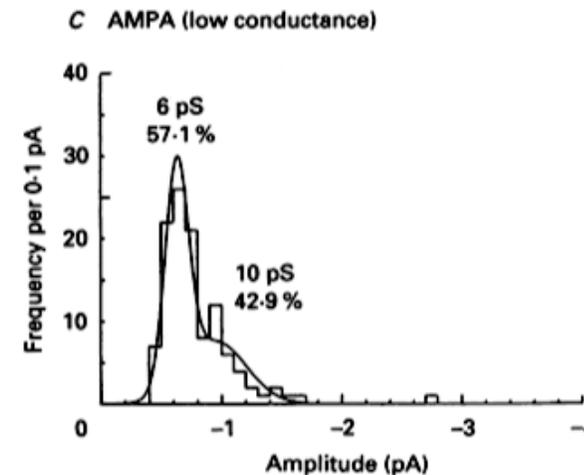
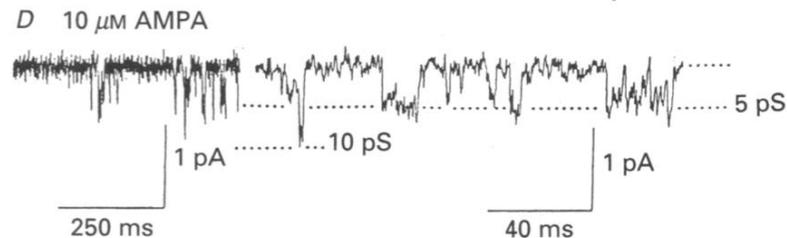


Mesure de la conductance unitaire du AMPAR

modèle utilisé: cultures cellulaires de grains du cervelet
patch-clamp, voltage imposé, configuration outside-out



$V_h = -80$ mV

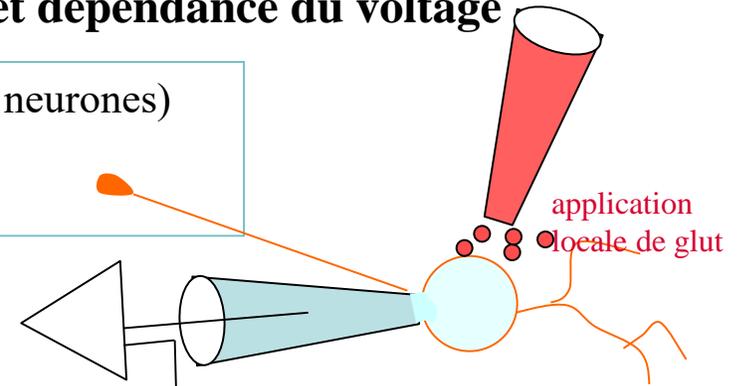


Les récepteurs AMPA présentent plusieurs niveaux de conductance

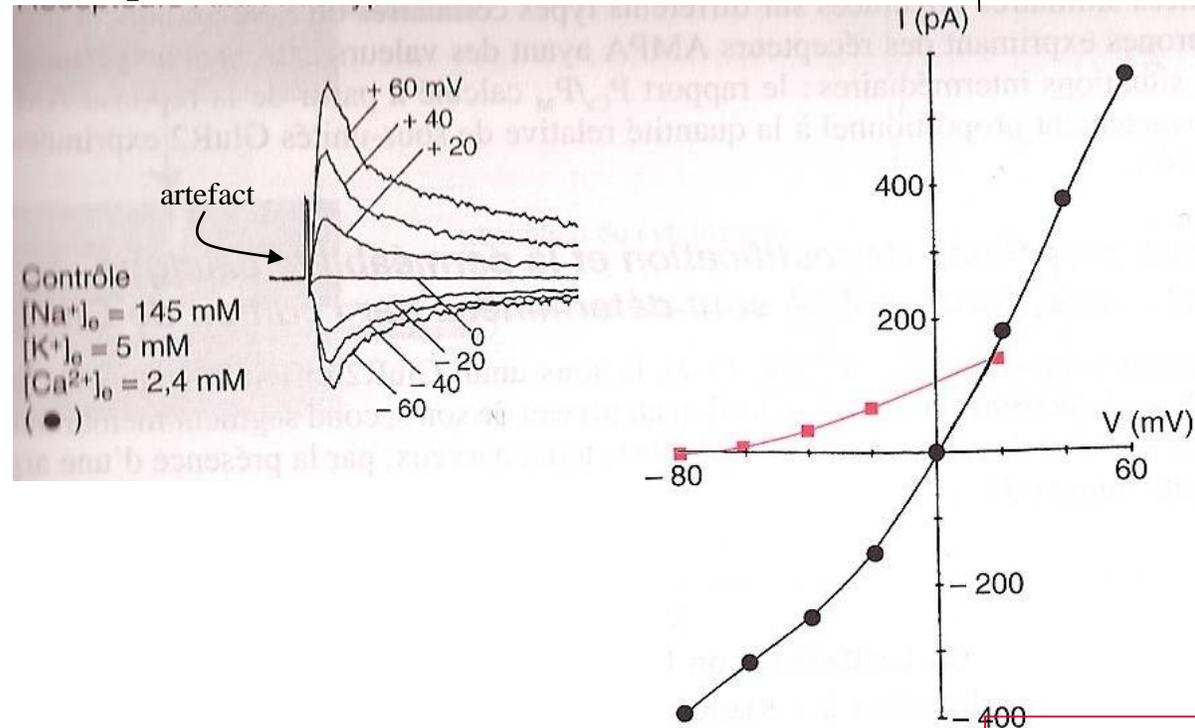
(David & Cull-Candy, 1992)

Potentiel d'inversion, perméabilité ionique et dépendance du voltage

modèle utilisé: cultures de neurones d'hippocampe (\Rightarrow \neq types de neurones)
patch-clamp, voltage imposé, configuration cellule entière
Bicuculline+APV dans le milieu externe



exemple 1



*courbe I/V quasi-linéaire
*perméabilité au Ca²⁺ faible
*propriété des neurones principaux

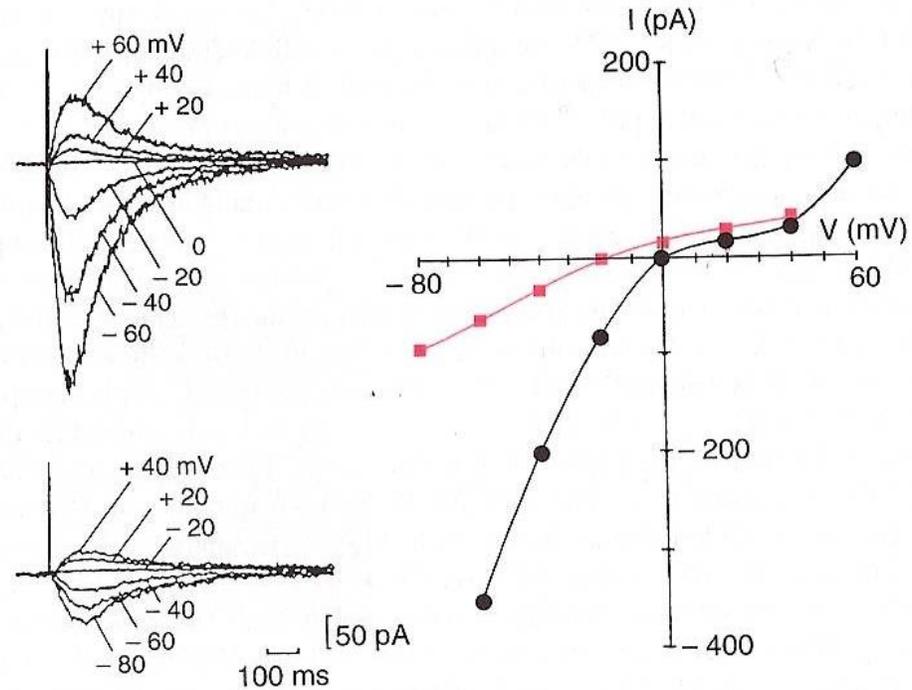
Potentiel d'inversion, perméabilité ionique et dépendance du voltage

exemple 2

Contrôle
[Na⁺]_e = 145 mM
[K⁺]_e = 5 mM
[Ca²⁺]_e = 2,4 mM
(●)

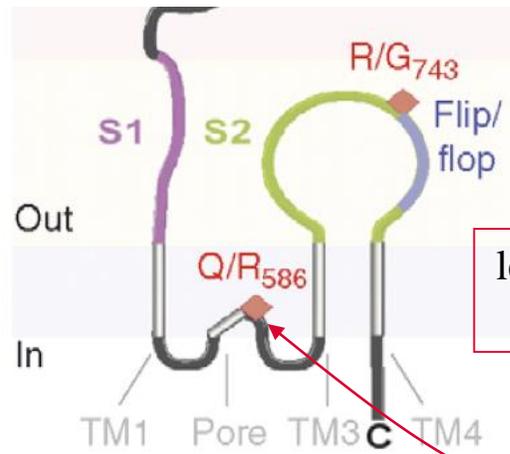
*substitution du Na⁺ et
K⁺ avec du NMDG⁺
(non-perméant)
*augmentation du Ca²⁺

[Na⁺]_e = 0 mM
[K⁺]_e = 0 mM
[Ca²⁺]_e = 10 mM
(■)



*courbe I/V à rectification
entrante
*forte perméabilité au Ca²⁺
*propriété des
interneurones et de
certaines cellules gliales

Perméabilité au Ca^{2+} et rectification sont liées à la présence de la sous-unité GluR2



le site Q/R de la sousunité GluR2 est édité dans 99.9% des AMPARs natifs
(=>arginine à la place de glutamine)

Quand la forme non-éditée de GluR2 est exprimée sur des ovocytes de Xénope:

- AMPAR **très** perméable au Ca^{2+}
- courbe I/V rectifiante

Suite à l'éditation du site Q/R de GluR1, GluR3 ou GluR4:

- AMPAR **peu** perméable au Ca^{2+}
- courbe I/V non-rectifiante

Perméabilité au Ca^{2+} et rectification sont liées à la présence de la sous-unité GluR2

Il y a une dominance de n'importe quelle sous-unité exprimant une arginine R à la place d'une glutamine Q au site Q/R, vis-à-vis des autres sous-unités composant le récepteur

La perméabilité au Ca^{2+} des AMPARs s'accompagne d'une courbe I/V rectifiante,
ces 2 propriétés sont reliées au segment TM2
MAIS elles ne sont pas dues au même mécanisme

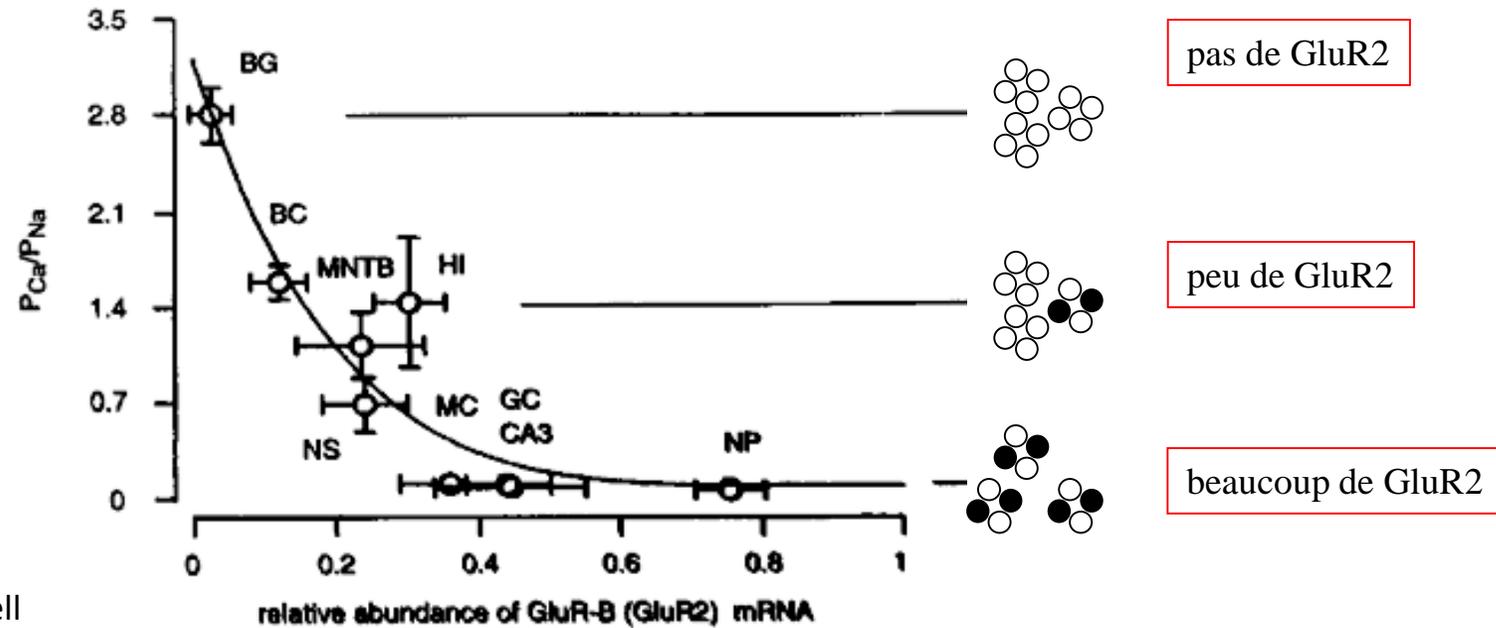
Dans le cas du récepteur AMPA natif c'est donc GluR2 qui détermine la perméabilité au Ca^{2+}

RT-PCR sur cellule unique confirme les données d'électrophysiologie

*interneurones expriment des AMPARs contenant principalement GluR1 et GluR4

*cellules pyramidales expriment des AMPARs contenant GluR2 +

GluR1
GluR3
GluR4



BG: Bergmann glial cell

BC: basket cell

MNTB: medial nucleus of trapezoid body

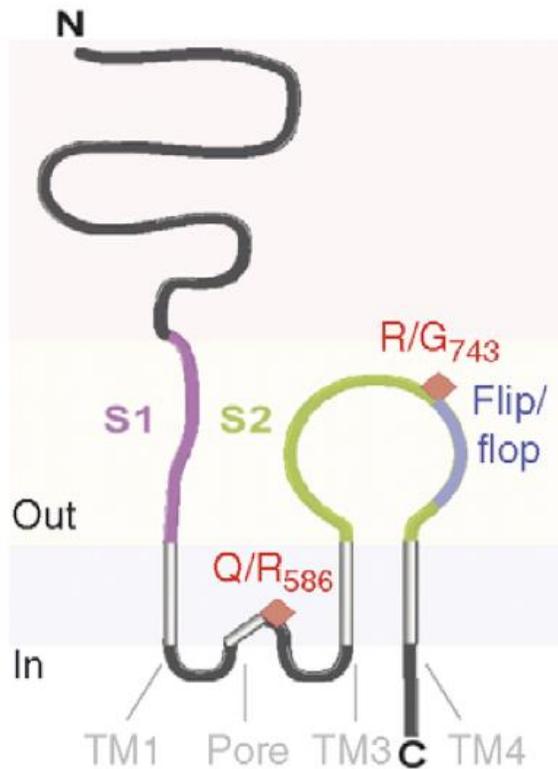
NS: neocortical stellate cells

GC: granule cells

MC: hilar mossy cells (grain d'hippocampe)

NP: neocortical pyramidal neuron

(Jonas & Burnashev, 1995)



les AMPARs contenant des variants d'épissage « flop » ont, en générale, des τ plus rapides que ceux contenant les variants « flip »

Plus récemment, il a été montré que les TARP affectent aussi la vitesse de désensibilisation des AMPARs
(Tomita *et al.* 2005, 2007,...)