

MIROSLAWA WALERCZYK, HANNA FABCZAK i STANISŁAW FABCZAK

Zakład Biologii Komórki

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

E-mail: hannaFab@nencki.gov.pl

BUDOWA I WŁASNOŚCI KANAŁÓW JONOWYCH AKTYWOWANYCH PRZEZ cGMP W KOMÓRKACH FOTORECEPTOROWYCH KRĘGOWCÓW

WPROWADZENIE

Zainteresowanie kanałami jonowymi, które są aktywowane cyklicznymi nukleotydami ma swój początek w połowie lat 80-tych. Wówczas po raz pierwszy wykazano, że kanały kationowe, pośredniczące w przekazywaniu sygnału świetlnego w pręcikach z siatkówki oka kręgowców, są aktywowane bezpośrednio przez przyłączenie cyklicznego 3',5'-monofosforanu guanozyny (cGMP) (FESENKO i współaut. 1985), a nie jak do tej pory uważano poprzez ich fosforylację. Wkrótce po tym odkryciu kanały jonowe zależne od cGMP zostały zidentyfikowane w czopkach, drugim rodzaju komórek fotoreceptorowych występujących również w siatkówce oka i odpowiedzialnych za widzenie w kolorach (COBBS i współaut. 1985, HAYNES i YAU 1985). Kanały podobnie funkcjonujące zlokalizowano później w nabłonku węchowym, lecz w tym przypadku mogą one być aktywowane zarówno przez cGMP, jak i cAMP (NAKAMURA i GOLD 1987). We wszystkich tych komórkach przewodnictwo jonowe kanałów jest kontrolowane bezpośrednio przez wiązanie cyklicznych nukleotydów. Funkcjonalnie ten rodzaj regulacji przypomina kanały aktywowane przez ligandy w synapsach z

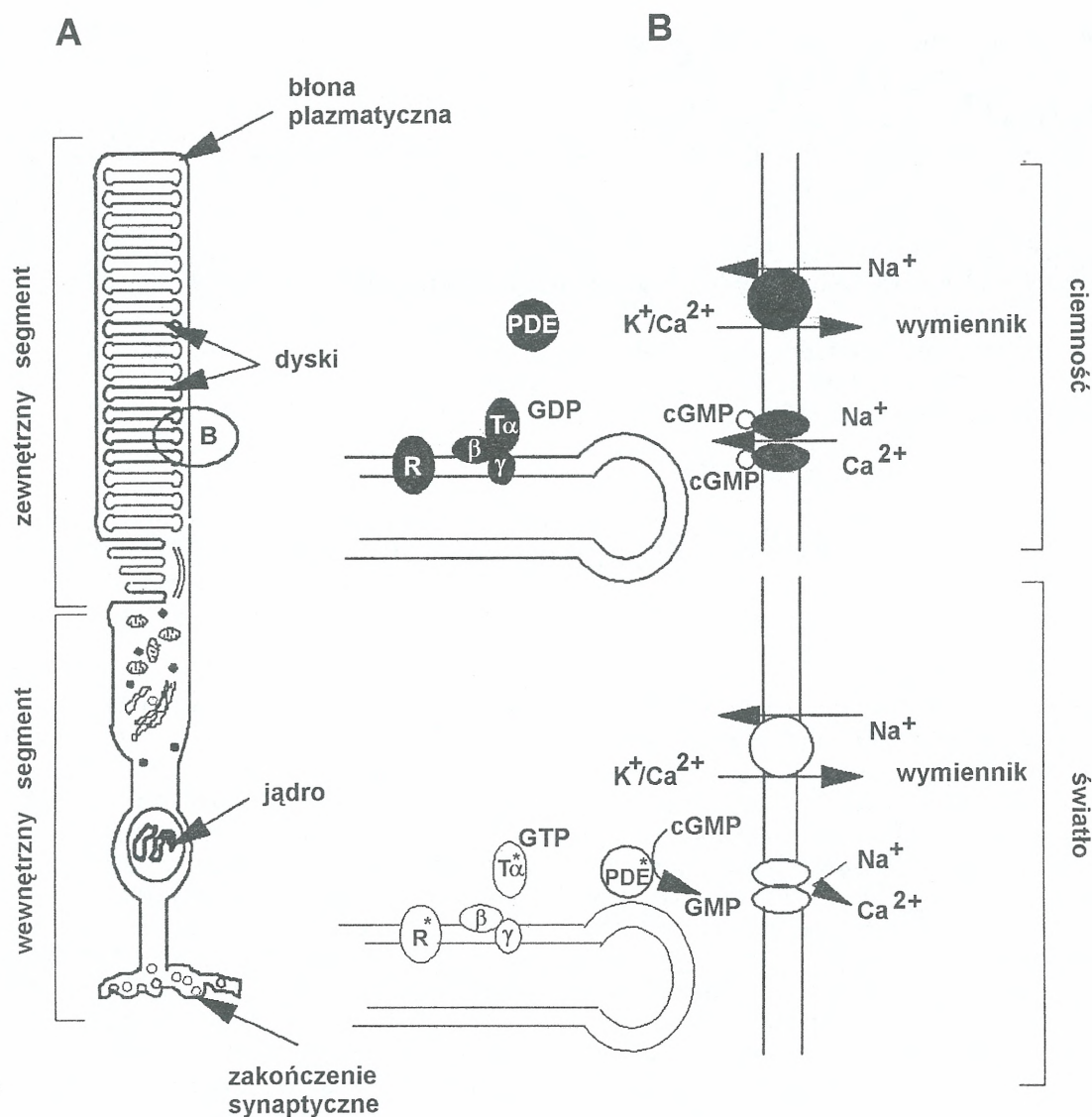
tą różnicą, że miejsce wiązania liganda do białka znajduje się w przypadku kanałów aktywowanych cyklicznymi nukleotydami w domkach zlokalizowanych od strony cytoplazmy.

Odmienny typ kanałów jonowych, których przewodnictwo jest regulowane również przez cykliczne nukleotydy, został odkryty w komórkach mięśnia sercowego, jąder oraz nerek ssaków (AHMAD i współaut. 1990, DiFRANCESCO i TORTORA 1991, MARUNAKA i współaut. 1991, BIEL i współaut. 1993, 1994, DISTLER i współaut. 1994). Według FINN'a i współpracowników (1996) ten rodzaj kanałów powinien być nazwany raczej kanałami modulowanymi, a nie aktywowanymi przez cykliczne nukleotydy gdyż przewodzenie przez nie jonów jest niezależne od przyłączenia cząsteczki cyklicznego nukleotydu. Cykliczne nukleotydy w tych kanałach jonowych zmieniają tylko prawdopodobieństwo otwarcia. W poniższy artykule zasadnicza uwaga zostanie poświęcona omówieniu wyłącznie kanałów aktywowanych cyklicznymi nukleotydami ze szczególnym uwzględnieniem kanałów występujących w błonie zewnętrznego segmentu pręcika siatkówki oka kręgowców.

FUNKCJA KANAŁÓW AKTYWOWANYCH PRZEZ cGMP

W pręcikach i czopkach siatkówki oka można wyróżnić dwie strukturalne części: segment zewnętrzny i wewnętrzny, połączone ze sobą

poprzez zmodyfikowaną rzęskę (rys. 1). Absorpcja światła i jego przetworzenie ma miejsce w segmencie zewnętrznym pręcika, zbudowanym



Rys. 1. A — Schemat budowy pręcika z siatkówki oka kręgowców z zaznaczonym segmentem zewnętrznym i wewnętrznym. B — Powiększony fragment pręcika siatkówki oka kręgowców w dwóch stanach fizjologicznych: w ciemności i podczas stymulacji światłem. R — rodopsyna, T — transducyna (heteromeryczne białko G zbudowane z podjednostek α , β i γ), PDE — fosfodiesteraza.

z szeregu równolegle ułożonych płaskich dysków mieszczących fotoreceptor, rodopsynę i białko wiążące GTP, transducynę, otoczonych błoną komórkową. W błonie komórkowej są zlokalizowane kanały jonowe, które w ciemności, na skutek przyłączenia cząsteczek cGMP, pozostają w stanie otwartym. Absorpcja fotonu przez rodopsynę uruchamia kaskadę enzymatyczną, w której transducyna aktywuje enzym hydrolizujący cGMP, fosfodiesterazę, powodując obniżenie poziomu cGMP w cytoplazmie i oddysocjowanie cGMP od cząsteczki białka tworzącego kanał. W końcowym efekcie kanał zamyka się i następuje przerwanie wpływu jonów

sodu i wapnia do wnętrza komórki fotoreceptorowej. Natomiast istniejący w komórce system ATP-az i wymienników jonowych, regulujących wpływ jonów na zewnątrz, pozostaje na takim samym poziomie aktywności, jak przed stymulacją światłem. W wyniku tych procesów następuje obniżenie stężenia kationów w cytoplazmie, błona komórkowa ulega hiperpolaryzacji i dochodzi do wytworzenia potencjału fotoreceptorowego. W ten sposób absorpcja bodźca świetlnego zostaje przekształcona na odpowiedź elektryczną na błonie komórkowej (PUGH i LAMB 1993).

MOLEKULARNA BUDOWA KANAŁÓW AKTYWOWANYCH PRZEZ cGMP

Poznanie struktury kanałów jonowych, regulowanych cyklicznymi nukleotydami, stało się możliwe dopiero po otrzymaniu oczyszczonego białka kanału regulowanego przez cGMP z pręcika siatkówki oka wołu (COOK i współaut. 1986, 1987) i sklonowaniu jego cDNA (KAUPP i współaut. 1989). W oczyszczonym preparacie, na podstawie rozdzielania na żelu poliakrylamidowym, stwierdzono obecność białka, którego przybliżony ciężar cząsteczkowy wynosi 63 kDa. Polipeptydem tym okazała się α -podjednostka kanału jonowego. Na podstawie zaś sekwencji cDNA określono jego ciężar na 80 kDa (690 aminokwasów). Różnica między tymi wartościami prawdopodobnie wynika z potranslacyjnej modyfikacji białka polegającej na usunięciu 92 aminokwasów z N-końca (MOLDAY i współaut. 1991).

Wyniki, jakie otrzymano po zastosowaniu metod biologii molekularnej sugerują, że istnieją dwie formy β -podjednostki, powstałe na skutek różnicowego składania (alternative splicing) mRNA tego polipeptydu. Krótszy polipeptyd, o ciężarze cząsteczkowym 70,8 kDa, jest zbudowany z 623 aminokwasów, a dłuższy o ciężarze 102,3 kDa składa się z 909 aminokwasów. Te dwa polipeptydy różnią się między sobą jedynie odcinkiem 286 aminokwasów na N-końcu, który występuje w dłuższym polipeptydzie (CHEN i współaut. 1993, MOLDAY i HSU 1995). Jednak w oczyszczonych preparatach pręcików oka wołu nie stwierdzono obecności polipeptydów (70–102 kDa) odpowiadających β -podjednostce. Znalezione natomiast oprócz α -podjednostki dodatkowo polipeptyd o masie cząsteczkowej 240 kDa (COOK i współaut. 1987, MOLDAY i współaut. 1990, CHEN i współaut. 1994). Białko to początkowo uznano za białko cytoszkieletu, spektrynę, ze względu na zbliżony ciężar cząsteczkowy, zdolność wiązania kalmoduliny oraz pozytywną reakcję immunologiczną przeciwiał monoklonalnych wytworzonych przeciw temu polipeptydowi ze spektryną (MOLDAY i współaut. 1990). Jednakże na podstawie analizy sekwencyjnej aminokwasów ta hipoteza została wykluczona (MOLDAY i HSU 1995). Stwierdzono natomiast, że polipeptyd 240 kDa ma niespotykaną dwuczęściową strukturę, gdzie C-koniec (823 aminokwasy) ma sekwencję odpowiadającą β -podjednostce, w 86% homologiczną do β -podjednostki kanału regulowanego cGMP z siatkówki oka człowieka. Ta część polipeptydu posiada miejsce wiązania cGMP. Hydrofilowy N-koniec tego polipeptydu zawiera wiele reszt

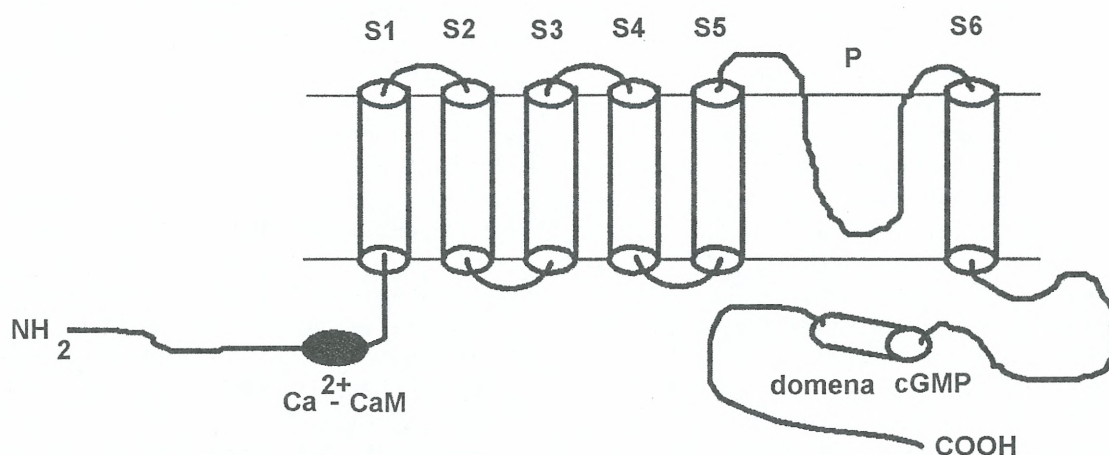
kwasy glutaminowego a jego sekwencja aminokwasów jest prawie identyczna z sekwencją białka GARP (glutamic acid-rich protein) (KORSCHEN i współaut. 1995). Odkrycie to wyjaśniło niezrozumiałe do tej pory wyniki doświadczeń, w których białko o ciężarze 240 kDa wiązało znakowane cGMP (SHINOZAWA i współaut. 1987, BROWN i współaut. 1993).

Na podstawie współczynnika Hilla dla białka kanałów regulowanych przez cGMP, którego wartość wynosi 2 do 3,5 (współczynnik określający minimalną liczbę cząsteczek cGMP wymaganych do aktywacji kanału) uważa się, że kanały aktywowane cyklicznymi nukleotydami mogą być zbudowane z 4 lub 5 podjednostek. Podjednostka α wydaje się być głównym elementem funkcjonalnym tego kanału, zdolna sama utworzyć homomeryczny, funkcjonalny kanał jonowy, różniący się jednak niektórymi właściwościami od kanału występującego w błonie komórkowej (KAUPP i współaut. 1989). Natomiast żadna z form β -podjednostki nie jest w stanie utworzyć w pełni funkcjonalnego kanału, który byłby regulowany przez cykliczne nukleotydy. Wydaje się więc, że kanał zależny od cGMP jest heterooligomeryczny, zbudowany przynajmniej z dwóch typów podjednostek, α i β , przy czym β -podjednostka wchodzi w skład białka o ciężarze cząsteczkowym 240 kDa. Wzajemne oddziaływanie tych podjednostek gwarantuje prawidłowe funkcjonowanie kanału w błonie komórkowej, zapewnia takie jego własności, jak zależność aktywności kanału od kalmoduliny, jonów dwuwartościowych oraz od poziomu cGMP (MOLDAY i HSU 1995).

Pomimo że funkcjonalnie kanały aktywowane cyklicznymi nukleotydami należą do klasy kanałów regulowanych poprzez wiązanie ligandów, to budową swoją przypominają one zależne od napięcia błonowego kanały potasowe (CATTERALL 1988, NUMA 1989, EISMANN i współaut. 1993, RANGANATHAN 1994, BIEL i współaut. 1995), analogicznie do kanałów zależnych od napięcia, α -podjednostka kanału aktywowanego cyklicznymi nukleotydami składa się z 6 transbłonowych hydrofobowych segmentów, oznaczanych kolejno od S1 do S6 (rys. 2). Szczególnie sekwencja aminokwasowa dwóch z nich przypomina kanał regulowany napięciem. Segment S4 (sonda napięciowa) jest zbudowany z 4 lub 5 powtarzających się sekwencji aminokwasów, w skład których wchodzi dodatkowo naładowane reszty arginy lub lizyny rozdzielone przez 2 hydrofobowe aminokwasy (KAUPP i

współaut. 1989, JAN i JAN 1990, GOULDING i współaut. 1992, BIEL i współaut. 1995). W przypadku kanału potasowego, regulowanego napięciem, ta zależna od zmian potencjału błonowego domena jest zbudowana z 7 powtarzających się sekwencji aminokwasów, obejmujących całą grubość dwuwarstwy lipidowej. Przypuszcza się, że zmiany potencjału błonowego indukują zmiany konformacyjne tego segmentu, co w konsekwencji może regulować zmiany w przewodnictwie jonów przez kanał. W komórkach fotoreceptorowych i komórkach nabłonka węchowego zależna od napięcia domena jest znacznie skrócona i nie obejmuje swym zasięgiem całej grubości błony, ponadto w skład jej wchodzi kilka aminokwasów posiadających ujemny ładunek. Postuluje się, że właśnie te czynniki lub nieefektywne połączenie segmentu S4 z regionem poru mogą być przyczyną braku zmian aktywności kanałów regulowanych przez cykliczne nukleotydy w odpowiedzi na zmiany napięcia na błonie w zakresie fizjologicznym (YAU i BAYLOR 1989, KAUPP 1991, MOLDAI i HSU 1995).

aminokwasów, które w dwuwarstwie lipidowej tworzą dwa antyrównoległe β -segmenty (strands). Mutacja białka tworzącego kanał potasowy, polegająca na usunięciu w regionie poru dwóch sąsiednich aminokwasów, tyrozyny i glicyny, nie występujących w kanale aktywowanym cGMP, powoduje nie tylko utratę selektywności kanału dla jonów potasu, ale również blokowanie kanału przez jony dwuwartościowe (HEGINBOTHAM i współaut. 1992, MOLDAI i HSU 1995). Zarówno N- i C-koniec łańcucha polipeptydowego α -podjednostki mają charakter hydrofilowy i są zlokalizowane od strony cytoplazmy (COOK i współaut. 1989, MOLDAI i współaut. 1991, 1992, MOLDAI i HSU 1995). Na C-koncu występuje domena zbudowana z około 130 aminokwasów, odpowiedzialna za wiązanie cyklicznych nukleotydów. Domena ta prawdopodobnie współdziała z porem kanału i może regulować przepływ jonów przez kanał. We wszystkich tych typach kanałów region wiążący nukleotydy wykazuje wysoki stopień homologii (30–50%) do domeny wiążącej cykliczne nukleotydy w kinazach białkowych, zależnych od cAMP i cGMP



Rys. 2. Hipotetyczny model organizacji kanału aktywowanego cyklicznymi nukleotydami. Widoczne 6 segmentów transbłonowych S1-S6 z zaznaczonym fragmentem poru kanałowego P. Na C-koncu widoczna domena wiążąca cGMP; na N-koncu zaznaczono domenę wiążącą kompleks Ca^{2+} -CaM, która w komórkach fotoreceptorowych występuje w β -podjednostce.

Podobnie jak w przypadku kanału potasowego zależnego od napięcia, w kanałach aktywowanych cyklicznymi nukleotydami pomiędzy segmentem S5 i S6 znajduje się region, którego sekwencja aminokwasów odpowiada wewnętrz-błonowej domenie P, formującej por kanału (GUY i współaut. 1991, RANGANATHAN 1994, MACKINNON 1995, BIEL i współaut. 1995). W przeciwieństwie do kanału potasowego zależnego od napięcia, kanał aktywowany cyklicznymi nukleotydami jest kationoselektywny. W kanale potasowym odcinek ten jest zbudowany z 21

(PKA i PKG), a u bakterii z białkiem wiążącym cAMP (cAMP receptor protein [CRP], znanym też pod nazwą catabolite gene activator protein [CAP]) (FINN i współaut. 1996). Dzięki poznaniu krystalograficznej struktury tego właśnie białka stwierdzono, że każde z dwóch miejsc wiążących cAMP formuje kieszeń zbudowaną z wielu β -segmentów i α -helisy. Cząsteczka nukleotydu zostaje związana za pomocą wiązań wodorowych i niepolarnych oddziaływań z białkiem. Reszty argininy, glutaminy i glicyny zostały zidentyfikowane w tym białku jako aminokwasy

oddziaływujące z fosforylowaną rybozą w cząsteczce cAMP. Identyczna sekwencja aminokwasów również jest obecna w cząsteczce białka kanałowego (Arg-559, Glu-544, i Gly-543). Jak wykazano ostatnio (VARNUM i współaut. 1995), za selektywność w wiązaniu cGMP do białka kanałowego jest odpowiedzialny ujemnie naładowany kwas asparaginowy zlokalizowany na α -helisie w pozycji 604. Zamiana jego na aminokwas neutralny, na przykład metioninę, tak jak ma to miejsce w β -podjednostce białka kanałów komórek fotoreceptorowych lub komórek nabłonka węchowego, zwiększa powinowactwo do wiązania cAMP. Prawdopodobnie ujemnie naładowany aminokwas w pozycji 604 tworzy parę wiązań wodorowych z atomami azotu w pierścieniu guaniny (VARNUM i współaut. 1995).

Cechą charakterystyczną domeny wiążącej cGMP w kanale jonowym, w odróżnieniu od domen wiążących cykliczne nukleotydy w kinazach białkowych PKA i PKG, jest słabe wiązanie cGMP. Ma to uzasadnienie fizjologiczne, gdyż po stymulacji światłem na skutek hydrolizy cGMP

obniża się poziom tego nukleotydu w cytoplazmie komórek fotoreceptorowych oka kręgowców, a niskie powinowactwo do miejsca wiązania umożliwia szybką dysocjację cGMP od cząsteczki białka kanałowego, zamknięcie kanału i związane z tym zmiany przewodnictwa błony komórkowej (LINCOLN i CORNWELL 1993).

Podjednostka β kanału regulowanego przez cGMP w pręciku siatkówki oka wołu jest zbudowana podobnie jak α -podjednostka tego kanału. Również składa się z 6 hydrofobowych segmentów, chociaż niektóre z nich charakteryzują się niższym stopniem hydrofobowości niż analogiczne segmenty α -podjednostki. Również w β -podjednostce można wyróżnić segment S4 wrażliwy na zmiany napięcia na błonie oraz region poru, który charakteryzuje się brakiem ujemnie naładowanych aminokwasów. Sekwencja aminokwasowa β -podjednostki jest w 30% homologiczna do α -podjednostki, a domena wiążąca cGMP wykazuje aż 50% homologii do odpowiedniej domeny α -podjednostki (CHEN i współaut. 1993, MOLDAI i HSU 1995).

WŁASNOŚCI KANAŁÓW AKTYWOWANYCH PRZEZ cGMP

ZALEŻNOŚĆ OD POZIOMU cGMP

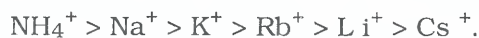
W jaki sposób zmiany stężenia cGMP w cytoplazmie są przekształcane na sygnał elektryczny na błonie? Odpowiedzi na to pytanie po raz pierwszy dostarczyły badania z zastosowaniem metody „patch-clamp” — (elektrofizjologicznej metody pomiaru prądów jonowych na fragmentach błony (łatkii), które wykazały, że oddzielony od całej błony komórkowej jej mały fragment (łatka) z zewnętrznego segmentu pręcika siatkówki oka wołu, umieszczonej w roztworze zawierającym cGMP, zawiera nieselektywne kanały kationowe (FESENKO i współaut. 1985). W środowisku całkowicie pozbawionym jonów dwuwartościowych analiza stanów otwarcia pojedynczego kanału wskazuje na istnienie kilku poziomów przewodnictwa kanału, przy czym najwyższa wartość nie przekracza 25 pS. Kanały aktywowane przez cGMP charakteryzują się częstymi krótkotrwałymi otwarciami. Czas otwarcia kanału nie przekracza kilku milisekund, podczas których stale zmienia się amplituda prądu przepływającego przez kanał (flickering channels). Prawdopodobnie przyczyną tego zjawiska jest luźne przyłączanie cGMP do miejsc jego wiązania. Maksymalna amplituda przewodzonego prądu jest odbiciem stanu, w którym wszystkie miejsca wiązania w cząste-

czce białka kanałowego są wysycane przez ligand (YAU i BAYLOR 1989). Analiza aktywności kanału w zależności od stężenia cGMP pozwoliła ustalić, że co najmniej 4 cząsteczki cGMP muszą związać się z białkiem kanału, aby w pełni go aktywować (YAU i BAYLOR 1989, KAUPP 1991, KAUPP i ALTENHOFEN 1992, ZUFALL i współaut. 1994). Zależność prądu rejestrowanego w komórkach fotoreceptorowych, adaptowanych do ciemności (prąd ciemnościowy) od stężenia cGMP ma charakter sigmoidalny, co z kolei sugeruje, że więcej niż jedna cząsteczka cGMP musi być przyłączona do białka kanału, aby uległ on nawet częściowej aktywacji. Te wstępne badania zostały całkowicie potwierdzone przez ostatnie wyniki doświadczeń (RUIZ i KARPEN 1997) na pojedynczych kanałach. Badacze ci poddali ekspresji w oocytach żaby szponiastej *Xenopus* α -podjednostkę kanału z komórek fotoreceptorowych. Następnie metodą patch-clamp i fotoaktywowanych substancji uwalniających cGMP bardzo precyzyjnie określili zależność wielkości przewodnictwa jonowego kanałów od ilości cząsteczek cGMP przyłączonych do białka kanału. Wyodrębniono kilka stanów przewodnictwa kanału aktywowanego przez cGMP. Związanie dwóch cząsteczek cGMP z białkiem kanału pozwoliło rejestrować zaledwie 1% maksymalnego prądu. Przyłączenie trzech cząsteczek cGMP powodowało bardzo znaczny

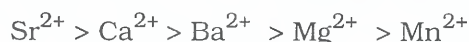
wzrost przewodnictwa (33% maksymalnego prądu), a 100% aktywności kanału obserwowano po związaniu czterech cząsteczek nukleotydu. W badaniach na całych komórkach określono wartość współczynnika $K_{1/2}$ (stężenie cGMP, przy którym rejestrowany prąd osiągał połowę wartości prądu maksymalnego) dla kanałów aktywowanych przez cGMP w komórkach fotoreceptorowych w ciemności, która wynosi 10 do 50 μM . Depolaryzacja błony komórkowej zwiększa aktywność kanałów w obecności cGMP i przyczynia się do obniżenia wartości $K_{1/2}$ (HAYNES i współaut. 1986, YAU i współaut. 1986, KARPEN i współaut. 1988).

SELEKTYWNOŚĆ JONOWA KANAŁU

O selektywności kanałów jonowych, aktywowanych cyklicznym GMP, wspomniano wcześniej w rozdziale omawiającym strukturę poru kanałowego. Kanały aktywowane przez cGMP przewodzą zarówno jednowartościowe i dwuwartościowe kationy oraz duże kationy organiczne (TORRE i MENINI 1994). Uszeregowanie kationów jednowartościowych w zależności od współczynnika selektywności przebiega następująco:



W łatkach błonowych z pręcików siatkówki wykazano, że przynajmniej 13 organicznych jednowartościowych kationów jest przepuszczalnych przez kanał aktywowany przez cGMP, wśród których jony: metyloamonowy, dwumetyloamonowy i etyloamonowy są przewodzone stosunkowo dobrze (PICCO i MENINI 1993, TORRE i MENINI 1994). Szereg selektywności dla kationów dwuwartościowych, wyznaczony na podstawie doświadczeń patch-clamp, układa się następująco:



(MENINI i współaut. 1988, YAU i BAYLOR 1989, TORRE i MENINI 1994). W ciemności prąd wpływający do komórki fotoreceptorowej przez kanał aktywowany cGMP w około 70% jest tworzony przez jony Na^+ , 15% przez jony Ca^{2+} i 5% przez jony Mg^{2+} oraz w 8% przez jony Na^+ wpływające przez wymiennik typu $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$ (NAKATANI i YAU 1988, KAUPP i ALTENHOFEN 1992).

BLOKOWANIE KANAŁÓW AKTYWOWANYCH PRZEZ cGMP

BLOKOWANIE PRZEZ JONY DWUWARTOŚCIOWE

Jony dwuwartościowe nie tylko są przewodzone przez kanał jonowy aktywowany przez cGMP, ale również mogą go częściowo blokować (FESENKO i współaut. 1985, HODGKIN i współaut. 1985, HAYNES i współaut. 1986, ZIMMERMAN i BAYLOR 1986, 1992, LAMB i MATTHEWS 1988, COLAMARTINO i współaut. 1991). Podobnymi właściwościami charakteryzują się zależne od napięcia błonowego kanały wapniowe (FINN i współaut. 1996). Przewodnictwo pojedynczego kanału aktywowanego cyklicznym GMP w nieobecności Ca^{2+} lub Mg^{2+} wynosi 20–25 pS (HAYNES i współaut. 1986, ZIMMERMAN i BAYLOR 1986, MATTHEWS i WATANABE 1987, HANKE i współaut. 1988), a obecność 1 mM któregoś z tych jonów w środowisku komórki powoduje obniżenie przewodnictwa do wartości 0,1 pS (BODOIA i DETWILER 1985, MATTHEWS 1986, KAUPP i ALTENHOFEN 1992). Stwierdzono, że miejscem odpowiedzialnym za ten efekt hamowania jest kwas glutaminowy zlokalizowany w pozycji 363 w regionie poru przy zewnętrznej stronie błony komórkowej. Zamiana tego aminokwasu na aminokwas obojętny (np. glutaminę) powo-

duje, że efekt blokowania kanału przez zewnątrzkomórkowy Mg^{2+} i Ca^{2+} jest znacznie zredukowany (ROOT i MCKINNON 1993). W przypadku homotetramerycznego kompleksu (cztery α -podjednostki) aż 4 reszty kwasu glutaminowego, współoddziaływując tworzą dwa niezależne miejsca wiązania dwuwartościowych kationów. Taki układ jest charakterystyczny dla kanałów wapniowych zależnych od napięcia na błonie komórkowej (MORI i współaut. 1991, YANG i współaut. 1993). W warunkach naturalnych kanał aktywowany przez cGMP jest heteromerym. Podjednostka β -kanału zamiast kwasu glutaminowego posiada glicynę, istnieje więc przypuszczalnie tylko jedno miejsce wiązania jonów wapnia lub magnezu do domeny poru (CHEN i współaut. 1994).

BLOKOWANIE PRZEZ SUBSTANCJE ORGANICZNE

Wiele substancji organicznych posiada właściwości blokowania kanałów aktywowanych przez cGMP. Jedną z najbardziej znanych jest L-cis-diltiazem. Jego izomer, D-cis diltiazem, jest blokerem kanałów wapniowych zależnych od napięcia i ma znacznie mniejszy efekt na kanały aktywowane cyklicznym GMP (KOCH i KAUPP

1985). Znaczna redukcja aktywności kanałów aktywowanych przez cGMP w łatkach błonowych zachodzi już przy mikromolarnych stężeniach L-cis-diltiazemu (KOCH i KAUPP 1985, STERN i współaut. 1986, QUANDT i współaut. 1991, HAYNES 1992, McLATCHIE i MATTHEWS 1992, 1994). Stopień spadku aktywności kanałów w wyniku działania blokera rośnie wraz ze wzrostem depolaryzacji błony, co sugeruje, że miejsce wiązania L-cis-diltiazemu znajduje się w transbłonowym zależnym od napięcia segmencie. Z drugiej strony wiadomo, że efektywność działania L-cis-diltiazemu jest zależna od obecności β -podjednostki i w kanałach homo-

merycznych (zbudowanych tylko z α -podjednostki) jego wpływ na aktywność kanału jest 100 razy mniejszy. Można więc przypuszczać, że głównym miejscem wiązania L-cis-diltiazemu jest segment zależny od napięcia na błonie w β -podjednostce (CHEN i współaut. 1993). Oprócz L-cis-diltiazemu kanały regulowane cyklicznymi nukleotydami mogą być blokowane również przez inne blokery kanałów wapniowych, takich jak pimozyd (NICOL 1993), 3'4'-dichlorobenzamil pochodną amiloridu (NICOL i współaut. 1987) i anestetyk tetrakainę (SCHNETKAMP 1987, 1990, QUANDT i współaut. 1991).

MODULOWANIE AKTYWNOŚCI KANAŁÓW

MODULOWANIE PRZEZ KOMPLEKS KALMODULINA — JONY WAPNIA

Aktywność kanałów regulowanych przez cykliczne nukleotydy może być modulowana przez związanie kompleksu kalmodulina-jony Ca^{2+} (Ca^{2+} -CaM) do białka kanałowego, bez udziału kinazy białkowej zależnej od kalmoduliny (ZAGOTTA 1996). W obecności kompleksu, Ca^{2+} -CaM wartość $K_{1/2}$ dla kanałów z komórek fotoreceptorowych wzrasta dwukrotnie (HSU i MOLDAY 1993, 1994, GORDON i współaut. 1995). Współczynnik $K_{1/2}$ w przypadku kanałów regulowanych cyklicznymi nukleotydami z komórek receptorowych nabłonka węchowego jest 20-krotnie wyższy w obecności kompleksu Ca^{2+} -CaM (CHEN i YAU 1994). Przyczyną tak dużej rozpiętości wpływu kalmoduliny na przewodnictwo kanałów jonowych może być miejsce wiązania Ca^{2+} -CaM do cząsteczki białka kanałowego. W przypadku kanałów jonowych z komórek fotoreceptorowych jest to β -podjednostka (CHEN i współaut. 1994). Natomiast w kanałach z nabłonka węchowego miejsce wiązania kalmoduliny znajduje się na N-koncu łańcucha polipeptydowego α -podjednostki (LIU i współ-

aut. 1994). Przypuszcza się, że jest to domena, która współdziałając z dwoma pierwszymi transbłonowymi segmentami, S1 i S2, jest odpowiedzialna za połączenie między podjednostkami i proces otwierania (gating) kanału (GOULDING i współaut. 1994). Antagonista kalmoduliny, mastoparan, powoduje częściowe zniesienie wpływu Ca^{2+} -CaM na aktywność kanału (HSU i MOLDAY 1994, MOLDAY i HSU 1995).

MODULOWANIE PRZEZ FOSFORYLACJĘ

Wprawdzie aktywność kanałów jonowych z komórek fotoreceptorowych zależy bezpośrednio od związania cyklicznego nukleotydu do odpowiedniej domeny na C-koncu białka kanałowego, a nie od jego ufosforylowania, to stopień fosforylacji białka kanału może mieć jednak wpływ na wartość $K_{1/2}$. Dwie fosfatazy białkowe typu 1 i 2A mają odmienny efekt na powinowactwo cGMP do białka kanałowego, co może wskazywać na istnienie dwóch różnych miejsc fosforylacji. Ostatnie badania wykazują, że kinaza białkowa C i kinaza białkowa A mogą fosforylować N-koniec łańcucha polipeptydowego (GORDON i współaut. 1992, BIEL i współaut. 1995).

PODSUMOWANIE

Kanały aktywowane przez cykliczne nukleotydy uczestniczą w przekazywaniu różnych bodźców nie tylko u kręgowców. Zlokalizowano je w komórkach fotoreceptorowych mięczaków (GOTOW i NISHI 1991, GOTOW i współaut. 1994) i głowonogów (HUPPERTZ 1995). Ostatnio pojawiły się doniesienia o sklonowaniu białka kanałowego z *Drosophila melanogaster* (BAUMAN i współaut. 1994). Sekwencja DNA homologiczna

do sekwencji kanału regulowanego cyklicznymi nukleotydami została również zidentyfikowana jako część genomu nicienia, *Caenorhabditis elegans*, (WILSON i współaut. 1994). W czułym na światło orzęsku, *Stentor coeruleus*, również stwierdzono obecność kanałów aktywowanych przez cGMP (KOPROWSKI i współaut. 1997). Kanały aktywowane cyklicznymi nukleotydami stanowią zatem ważną, ciągle powiększającą się

grupe kanałów jonowych o ogromnym znaczeniu w wielu różnorodnych procesach komórkowych. Są one istotnym elementem szlaku

przekazywania bodźców tak u kręgowców, jak i bezkręgowców, a nawet mikroorganizmów, co czyni z nich niezwykle interesujący obiekt badań.

STRUCTURE AND PROPERTIES OF ION CHANNELS ACTIVATED BY cGMP IN PHOTORECEPTOR CELLS OF VERTEBRATES

Summary

Cyclic nucleotide-gated channels are a novel class of ion channels detected initially in photoreceptor and olfactory receptor cells. The cGMP-gated channel plays a central role in the phototransduction process in rod and cone photoreceptor cells. Functionally the cGMP-gated channel belongs to the class of ligand-gated channels, which are activated by the binding of ligand (cGMP) to a domain in the carboxyl terminal region. On the other hand, structurally they are clearly related to the superfamily of voltage-gated cation channels. Recent biochemical and molecular biology

studies indicate that the cGMP channel is composed of a complex of two subunits α and β . Primary structural analysis indicates that α and β subunits contain the cGMP-binding domain, a number of transmembrane segments, a voltage-sensor motif, and pore region. This channel is permeable to monovalent and divalent cations. Recent studies also indicate that calmodulin binds to the channel complex and modulates its sensitivity for cGMP in a Ca^{2+} -dependent manner.

LITERATURA

- AHMAD I., REDMOND L. J., BARNSTABLE C. J., 1990. *Developmental and tissue-specific expression of the rod photoreceptor cGMP-gated ion channel gene*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 173, 463-470.
- BAUMAN A., FRINGS S., GODDEN., SEIFERT R., KAUPP U. B., 1994. *Primary structure and functional expression of a Drosophila cyclic nucleotide-gated channels present in eyes and antennae*. EMBO J. 13, 5040-5050.
- BIEL M., ALTENHOFEN W., HULLIN R., LUDWIG J., FREICHEL M., FLOCKERZI V., DASCAL N., KAUPP U. B., HOFMANN F., 1993. *Primary structure and functional expression of a cyclic nucleotide-gated channel from rabbit aorta*. FEBS Lett. 329, 134-138.
- BIEL M., ZONG X., DISTLER M., BOSSE E., KLUGBAUER N., MURAKAMI M., FLOCKERZI V., HOFMANN F., 1994. *Another member of the cyclic nucleotide-gated channels family expressed in testis, kidney and heart*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 3505-3509.
- BIEL M., ZONG X., HOFMANN F., 1995. *Molecular diversity of cyclic nucleotide-gated cation channels*. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 353, 1-10.
- BODOIA R. D., DETWILER P. B., 1985. *Patch-clamp recordings of the light-sensitive dark noise in retinal rods from the lizard and frog*. J. Physiol. London 367, 183-216.
- BROWN R. L., BERT R. J., EVANS F. E., KARPEN J. W., 1993. *Activation of retinal rod cGMP-gated channels: what makes for an effective 8-substituted derivative of cGMP?* Biochemistry 32, 10089-10095.
- CATTERALL W. A., 1988. *Structure and function of voltage-sensitive ion channels*. Science 242, 50-61.
- CHEN T-Y., YAU K-W., 1994. *Direct modulation by Ca^{2+} -calmodulin of cyclic nucleotide-activated channel of rat olfactory receptor neurons*. Nature 368, 545-548.
- CHEN T-Y., ILLING M., HSU Y-T., YAU K-W., MOLDAI R. S., 1994. *Subunit 2 (or β) of retinal rod cGMP-gated cation channel is a component of the 240-kDa channel-associated protein and mediates Ca^{2+} -calmodulin modulation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 11757-11761.
- CHEN T-Y., PENG Y-W., DHALLAN R. S., AHMED B., REED R. R., YAU K-W., 1993. *A new subunit of the cyclic nucleotide-gated cation channel in retinal rods*. Nature 362, 764-767.
- COBBS W. H., BARKDOLL A. E. III, PUGH E. N. Jr., 1985. *Cyclic GMP increases photocurrent and light sensitivity of retinal cones*. Nature 317, 64-66.
- COLAMARTINO G., MENINI A., TORRE V., 1991. *Blockage and permeation of divalent cations through the cyclic GMP-activated channel from tiger salamander retinal rods*. J. Physiol. 440, 189-206.
- COOK N. J., ZEILINGER C., KOCH K-W., KAUPP U. B., 1986. *Solubilization and functional reconstitution of the cGMP-dependent cation channel from bovine rod outer segments*. J. Biol. Chem. 261, 17033-17039.
- COOK N. J., HANKE W., KAUPP U. B., 1987. *Identification, purification and functional reconstitution of the cyclic GMP-dependent channel from rod photoreceptors*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 585-589.
- COOK N. J., MOLDAI R. S., REID D., KAUPP U. B., MOLDAI R. S., 1989. *The cGMP-gated channel of bovine rod photoreceptors is localized exclusively in plasma membrane*. J. Biol. Chem. 264, 6996-6999.
- DI FRANCESCO D., TORTORA P., 1991. *Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP*. Nature 351, 145-147.
- DISTLER M., BIEL M., FLOCKERZI V., HOFMANN F., 1994. *Expression of cyclic nucleotide-gated cation channels in nonsensory tissues and cells*. Neuropharmacology 33, 1275-1282.
- EISMANN E., BONIGK W., KAUPP U. B., 1993. *Structural features of cyclic nucleotide-gated channels*. Cell Physiol. Biochem. 3, 332-351.
- FESSENKO E. E., KOLESNIKOV S. S., LYUBARSKY A. L., 1985. *Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment*. Nature 313, 310-313.
- FINN J. T., GRUNWALD M. E., YAU K-W., 1996. *Cyclic nucleotide-gated ion channels: An extended family with diverse functions*. Ann. Rev. Physiol. 58, 395-426.
- GORDON S. E., BRAUTIGAN D. L., ZIMMERMAN A. L., 1992. *Protein phosphatases modulate the apparent agonist affinity of the light-regulated ion channel in retinal rods*. Neuron 9, 739-748.
- GORDON S. E., DOWNING-PARK J., ZIMMERMAN A. L., 1995. *Modulation of the cGMP-gated ion channel in frog rods by calmodulin and an endogenous inhibitory factor*. J. Physiol. London 486, 533-546.
- GOTOW T., NISHI T., 1991. *Roles of cyclic GMP and inositol trisphosphate in phototransduction of the molluscan extraocular photoreceptor*. Brain Research 557, 121-128.
- GOTOW T., NISHI T., KIJIMA H., 1994. *Single K^+ channels closed by light and opened by cGMP in molluscan extra-ocular photoreceptor cells*. Brain Research 662, 268-272.
- GOULDING E. H., NGAI J., KRAMER R. H., COLICOS S., AXEL R., SIEGELBAUM S. A., CHESS A., 1992. *Molecular cloning and*

- single-channel properties of the cyclic nucleotide-gated channel from catfish olfactory neurons. *Neuron* 8, 45–58.
- GOULDING E. H., TIBS G. R., SIEGELBAUM S. A., 1994. Molecular mechanism of cyclic-nucleotide-gated channel activation. *Nature* 372, 369–374.
- GUY H. R., DURELL S. R., WARMKE J., DRYSDALE R., GANETZKY B., 1991. Similarities in amino acid sequences of *Drosophila eag* and cyclic nucleotide-gated channels. *Science* 254, 730.
- HANKE W., COOK N. J., KAUPP U. B., 1988. cGMP-dependent channel protein from photoreceptor membranes: Single-channel activity of the purified and reconstituted protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 94–98.
- HAYNES L. W., 1992. Block of the cyclic GMP-gated channel of vertebrate rod and cone photoreceptors by *L*-cis-diltiazem. *J. Gen. Physiol.* 100, 783–801.
- HAYNES L. W., YAU K-W., 1985. Cyclic GMP-sensitive conductance in outer segment membrane of catfish retinal cones. *Nature* 317, 61–64.
- HAYNES L. W., KAY A. R., YAU K-W., 1986. Single cyclic GMP-activated channel activity in excised patches of rod outer segment membrane. *Nature* 321, 66–70.
- HEGINBOTHAM L., ABRAMSON T., MACKINNON R., 1992. A functional connection between the pores of distantly related ion channels as revealed by mutant K^+ channels. *Science* 258, 1152–1155.
- HODGKIN A. L., MCNAUGHTON P. A., NUNN B. J., 1985. The ionic selectivity and calcium dependence of the light-sensitive pathway in toad rods. *J. Physiol. London* 358, 447–468.
- HSU Y-T., MOLDAI R. S., 1993. Modulation of the cGMP-gated channel of rod photoreceptor cells by calmodulin. *Nature* 361, 76–79.
- HSU Y-T., MOLDAI R. S., 1994. Interaction of calmodulin with the cyclic GMP-gated channel of rod photoreceptor cells. *J. Biol. Chem.* 269, 29765–29770.
- HUPPERTZ B., 1995. Evidence for a cGMP gated cation channel in photoreceptor cell membranes of *Sepia officinalis*. *FEBS Lett.* 364, 198–192.
- JAN L. Y., JAN Y. N., 1990. A superfamily of ion channels. *Nature* 345, 672.
- KARPEN J. W., ZIMMERMAN A. L., STRYER L., BAYLOR D. A., 1988. Gating kinetics of the cyclic GMP-activated channel of retinal rods: flash photolysis and voltage-jump studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 287–291.
- KAUPP U. B., 1991. The cyclic nucleotide-gated channels of vertebrate photoreceptors and olfactory epithelium. *Trends in Neuroscience* 14, 150–157.
- KAUPP U. B., ALTENHOFEN W., 1992. Cyclic nucleotide-gated channels of vertebrate photoreceptor cells and olfactory epithelium. [W:] *Sensory Transduction*, (red.) The Rockefeller University Press, strony od 133 do 150.
- KAUPP U. B., NIIDOME T., TANABE T., TERADA S., BONICK W., SSUHRMER W., COOK N. J., KANGAWA K., MATSUO H., HIROSE T., MIYATA T., NUMA S., 1989. Primary structure and functional expression from complementary DNA of the rod photoreceptor cyclic GMP-gated channel. *Nature* 342, 762–766.
- KOCH K-W., KAUPP U. B., 1985. Cyclic GMP directly regulates a cation conductance in membranes of bovine rods by a cooperative mechanism. *J. Biol. Chem.* 260, 6788–6800.
- KOPROWSKI P., WALERCZYK M., GROSZYŃSKA B., FABCZAK H., KUBALSKI A., 1997. Modified patch-clamp method for studying ion channels in *Stentor coeruleus*. *Acta Protozool.* 36, 121–125.
- KORSCHEN H. G., ILLING M., SEIFERT R., SESTI F., WILLIAMS A., GOTZES S., COLVILLE C., MULLER F., DOSE A., GODDE M., MOLDAI L., KAUPP U. B., MOLDAI R. S., 1995. A 240 kDa protein represents the complete β subunit of the cyclic nucleotide-gated channel from rod photoreceptor. *Neuron* 15, 627–636.
- LAMB T. D., MATTHEWS H. R., 1988. External and internal actions on the response of salamander retinal rods: a rejection of the calcium hypothesis of phototransduction. *J. Physiol. London* 403, 473–494.
- LINCOLN T. M., CORNWELL T. L., 1993. Intracellular cyclic GMP receptor proteins. *FASEB J.* 7, 328–338.
- LIU M., CHEN T-Y., AHAMED B., LI J., YAU K-W., 1994. Calcium-calmodulin modulation of the olfactory cyclic nucleotide-gated cation channel. *Science* 266, 1348–1354.
- MACKINNON R., 1995. Pore loops: an emerging theme in ion channel structure. *Neuron* 14, 889–892.
- MARUNAKA Y., OHARA A., MATSUMOTO P., EATON D. C., 1991. Cyclic GMP-activated channel activity in renal epithelial cells (A6). *Biochim. Biophys. Acta* 1070, 152–156.
- MATTHEWS G., 1986. Comparison of the light-sensitive and cyclic GMP-sensitive conductances of the rod photoreceptor: noise characteristics. *J. Neurosci.* 6, 2521–2526.
- MATTHEWS G., WATANABE S-I., 1987. Properties of ion channels closed by light and opened by guanosine 3',5'-cyclic monophosphate in toad retinal rods. *J. Physiol. London* 389, 691–715.
- MCLATCHIE L. M., MATTHEWS H. R., 1992. Voltage-dependent block by *L*-cis-diltiazem of the cyclic GMP-activated conductance of salamander rods. *Proc. R. Soc. London, Ser. B* 247, 113–119.
- MCLATCHIE L. M., MATTHEWS H. R., 1994. The effect of pH on the block by *L*-cis-diltiazem and amiloride of the cyclic GMP-activated conductance of salamander rods. *Proc. R. Soc. London, Ser. B* 255, 231–236.
- MENINI A., RISPOLI G., TORRE V., 1988. The ion selectivity of the light-sensitive current in isolated rods of the tiger salamander. *J. Physiol. London* 402, 279–300.
- MOLDAI R. S., HSU Y-T., 1995. The cGMP-gated channel of photoreceptor cells: Its structural properties and role in phototransduction. *Behav. Brain Sci.* 18, 441–451.
- MOLDAI L. L., COOK N. J., KAUPP U. B., MOLDAI R. S., 1990. The cGMP-gated cation channel of bovine rod photoreceptor cells is associated with a 240-kDa protein exhibiting immunochemical crossreactivity with spectrin. *J. Biol. Chem.* 265, 18690–18695.
- MOLDAI R. S., MOLDAI L. L., DOSE A., CLARK-LEWIS I., ILLING M., COOK N. J., EISMANN E., KAUPP U. B., 1991. The cGMP-gated channel of the rod photoreceptor cell: characterization and orientation of the amino terminus. *J. Biol. Chem.* 266, 21917–21922.
- MOLDAI R. S., REID D. M., CONNELL G., MOLDAI L. L., 1992. Molecular properties of the cGMP-gated channel of rod photoreceptor cells as probed with monoclonal antibodies. [W:] *Signal transduction in photoreceptor cells*, P. A. HARGRAVE, K. P. HOFMANN, U. B. KAUPP (red.) Springer-Verlag.
- MORI Y., FRIEDRICH T., KIM M-S., MIKAMI A., NAKAI J., RUTH P., BOSSE E., HOFMAN F., FLOCKERZ V., FURUICHI T., MIKOSHIBA K., IMOTO K., TANABE T., NUMA S., 1991. Primary structure and functional expression from complementary DNA of a brain calcium channel. *Nature* 350, 398–402.
- NAKAMURA T., GOLD G. H., 1987. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia. *Nature* 325, 442–444.
- NAKATANI K., YAU K-W., 1988. Calcium and magnesium fluxes across the plasma membrane of the toad rod outer segment. *J. Physiol. London* 395, 695–729.
- NICOL G. D., 1993. The calcium channel antagonist, pimozide, blocks the cyclic GMP-activated current in rod photoreceptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265, 626–632.
- NICOL G. D., SCHNETKAMP P. P. M., SAIMI Y., CRAGOE E. J., BOWDENS M. D., 1987. A derivative of amiloride blocks both the light- and cyclic GMP-regulated conductance in rod photoreceptors. *J. Gen. Physiol.* 90, 651–670.

- NUMA S., 1989. *A molecular view of neurotransmitter receptors and ionic channels*. [W:] KABACK H. R., KIRSCHNER M. W., NUMA S., ORKIN H., ROSSMANN M. G., RUBIN G. M., VARMUS H. (red.) *The Harvey Lectures*, Ser. 83, 1987-1988. Alan R. Liss, New York, strony od 121 do 165.
- PICCO C., MENINI A., 1993. *The permeability of the cGMP-activated channel to organic cations in retinal rods of the tiger salamander*. *J. Physiol. London* 460, 741-758.
- PUGH E. N. Jr., LAMB T. D., 1993. *Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction*. *Biochim. Biophys. Acta* 1141, 111-149.
- QUANDT F. N., NICOL G. D., SCHNETKAMP P. P. M., 1991. *Voltage-dependent gating and block of the cyclic-GMP-dependent current in bovine rod outer segments*. *Neuroscience* 42, 629-638.
- RANGANATHAN R., 1994. *Evolutionary origins of ion channels*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 3484-3486.
- ROOT M. J., MACKINNON R., 1993. *Identification of an external divalent cation-binding site in the pore of a cGMP-activated channel*. *Neuron* 11, 459-466.
- RUIZ M. L., KARPEN J. W., 1997. *Single cyclic nucleotide-gated channels locked in different ligand-bound states*. *Nature* 389, 389-392.
- SCHNETKAMP P. P. M., 1987. *Sodium ions selectively eliminate the fast component of guanosine cyclic 3'5'-phosphate induced Ca^{2+} release from bovine rod outer segment disks*. *Biochemistry* 26, 3249-3253.
- SCHNETKAMP P. P. M., 1990. *Cation selectivity of and cation binding to the cGMP-dependent channel in bovine rod outer segment membranes*. *J. Gen. Physiol.* 96, 517-534.
- SHINOZAWA T., SOKABE M., TERADA S., MATSUAKA H., YOSHIZAWA T., 1987. *Detection of cyclic GMP binding protein and ion channel activity in frog rod outer segments*. *J. Biochem.* 102, 281-290.
- STERN J. H., KAUPP U. B., MACLEISH P. R., 1986. *Control of the light-regulated current in rod photoreceptors by cyclic GMP, calcium and L-cis-diltiazem*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1163-1167.
- TORRE V., MENINI A., 1994. *Selectivity and single-channel properties of the cGMP-activated channel in amphibian retinal rods*. [W:] *Handbook of Membrane Channels: Molecular and Cellular Physiology*, (red.) C. PERACCHIA, Academic Press, Inc. USA, 345-358.
- VARNUM M. D., BLACK K. D., ZAGOTTA W. N., 1995. *Molecular mechanism for ligand discrimination of cyclic nucleotide-gated channels*. *Neuron* 15, 619-625.
- WILSON R., AINSCOUGH R., ANDERSON K., BAYNES C., BERKS M., BONFIELD J., BURTIN J., CONNELL M., COPSEY T., COOPER J., 1994. *2 MB of contiguous nucleotide sequence from chromosome III of C. elegans*. *Nature* 368, 32-38.
- YANG J., ELLINOR P. T., SATHER W. A., ZHANG J-F., TSIEN R. W., 1993. *Molecular determinants of Ca^{2+} selectivity and ion permeation in L-type Ca^{2+} channels*. *Nature* 366, 158-161.
- YAU K-W., BAYLOR D. A., 1989. *Cyclic GMP activated conductance of retinal photoreceptor cells*. *Annu. Rev. Neurosci.* 12, 289-327.
- YAU K-W., HAYNES L. W., NAKATANI K., 1986. *Roles of calcium and cyclic GMP in visual transduction*. [W:] *Membrane Control of Cellular Activity*, (red.) H. Ch. LUTTGAW, Stuttgart: G. FISHER, strony od 343 do 366.
- ZAGOTTA W. N., 1996. *Molecular mechanisms of cyclic nucleotide-gated channels*. *J. Bioenerg. Biomembr.* 28, 269-278.
- ZIMMERMAN A. L., BAYLOR D. A., 1986. *Cyclic GMP-sensitive conductance of retinal rods consists of aqueous pores*. *Nature* 321, 70-72.
- ZIMMERMAN A. L., BAYLOR D. A., 1992. *Cation interactions within the cyclic GMP-activated channel of retinal rods from the tiger salamander*. *J. Physiol.* 449, 759-783.
- ZUFALL F., FIRESTEIN S., SHEPHERD G. M., 1994. *Cyclic nucleotide-gated ion channels and sensory transduction in olfactory receptor neurons*. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 23, 577-607.