

KATARZYNA SOBIERAJSKA i STANISŁAW FABCZAK

Zakład Biologii Komórki

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Pasteura 3, 02-093 Warszawa

e-mail: k.sobierajska@nencki.gov.pl

s.fabczak@nencki.gov.pl

KANAŁY JONOWE AKTYWOWANE PRZEZ CYKLICZNE NUKLEOTYDY

WPROWADZENIE

Kanały jonowe, bezpośrednio aktywowane przez cykliczne nukleotydy (ang. cyclic nucleotide gated channels, CNG), zostały po raz pierwszy zidentyfikowane w komórkach fotoreceptorowych i komórkach węchowych kręgowców w połowie lat 80. ubiegłego stulecia. W 1985 r. FESENKO ze współpracownikami wykazał, że w aktywacji kanałów jonowych w pręcikach siatkówki oka kręgowców bezpośrednio uczestniczy cykliczny 3',5'-monofosforan guanozyny (cGMP). Tym samym została podważona, uznawana dotychczas teoria, w której zakładano, że aktywacja kanałów jonowych pośredniczących w przekazywaniu sygnału świetlnego następuje w wyniku fosforylacji z udziałem kinaz białkowych zależnych od cyklicznych nukleotydów (RASMUSSEN i GOODMAN 1977). W 1985 r. stwierdzono także obecność tego typu kanałów w czopkach, drugim typie komórek fotoreceptorowych siatkówki oka kręgowców (COBBS i współaut. 1985, HAYNES i YAU 1985). Natomiast dwa lata później NAKAMURA i GOLD (1987) wykazali istnienie kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy w komórkach nabłonka węchowego. Obecnie wiadomo, że kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy mogą występować również w komórkach fotoreceptorowych wielu bezkręgowców. Udało się je zidentyfikować u *Drosophila melanogaster* (BAUMANN i współaut. 1994, MIYAZU i

współaut. 2000), *Ceanorabditis elegans* (WILSON i współaut. 1994), *Limulus* (CHEN i współaut. 1999), mięczaków (GOTOW i NISHI 1991, GOTOW i współaut. 1994) oraz u głowonogów (HUPPERTZ 1995). Obecność tego typu kanałów jonowych nie ogranicza się jedynie do komórek sensorycznych, zostały one znalezione m. in. w komórkach budujących różne przedziały mózgu, w plemnikach kręgowców i bezkręgowców, w nerce (KAUPP i SEIFERT 2002). Najnowsze doniesienia stwierdzają, że w roślinach, *Arabidopsis thaliana* (LENG i współaut. 1999), oraz u orzęsków, *Stentor coeruleus* (KOPROWSKI i współaut. 1997, WALERCZYK i współaut. 2000), również występują kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy.

Oprócz kanałów jonowych aktywowanych bezpośrednio poprzez przyłączenie cząsteczek cyklicznego nukleotydu do białka tworzącego kanał jonowy, znana jest druga grupa kanałów jonowych, nazwanych kanałami modulowanymi przez cykliczne nukleotydy. W odróżnieniu od kanałów CNG, w tej grupie kanałów jonowych aktywacja następuje przez zmianę napięcia elektrycznego na błonie komórkowej, a przyłączenie cząsteczki cyklicznego nukleotydu zmienia jedynie prawdopodobieństwo otwarcia kanału jonowego (FINN i współaut. 1996). Kanały tego typu zlokalizowano m. in. w komórkach mięśnia sercowego, jąder i nerek

ssaków (AHMAD i współaut. 1990; DIFRANCESCO i TORTORA 1991; MARUNAKA i współaut. 1991; BIEL i współaut. 1993, 1994).

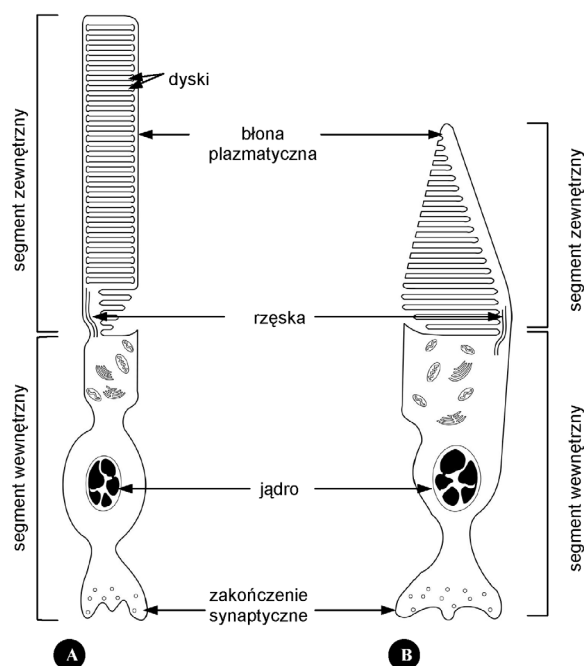
W artykule tym główna uwaga zostanie poświęcona kanałom jonowym aktywowanym przez cykliczne nukleotydy, występującym w ko-

mórkach sensorycznych układu wzrokowego (pręciki i czopki siatkówki) i węchowego kręgowców. Szczegółowo omówimy strukturę kanałów CNG, sekwencję aminokwasową, a także stopień wrażliwości na bodźce, sposoby aktywacji i modulacji oraz selektywność jonową.

FUNKCJA KANAŁÓW CNG W KOMÓRKACH FOTORECEPTOROWYCH KRĘGOWCÓW

Kanały jonowe aktywowane przez cGMP występują, jak podano na wstępie artykułu, w błonie komórkowej zarówno pręcików, jak i czopków, czyli w obu typach komórek fotoreceptorowych kręgowców (COBBS i współaut. 1985, FESENKO i współaut. 1985, HAYNES i YAU 1985, YAU i BAYLOR 1989).

Omawiane komórki fotoreceptorowe wykazują wyraźną polaryzację budowy oraz funkcji. Składają się one z dwóch segmentów, zewnętrznego i wewnętrznego, połączonych ze sobą zmodyfikowaną, nieruchomą rzęską. Segment wewnętrzny w obu typach komórek zbudowany jest podobnie. Mieszczą się w nim organelle niezbędne komórce do funkcjonowania, m. in. aparat Golgiego, siateczka endoplazmatyczna oraz mitochondria. W tej części komórki zlokalizowane jest także jądro, położone w pobliżu elementu presynaptycznego (Ryc. 1) (PETERS i współaut. 1983).

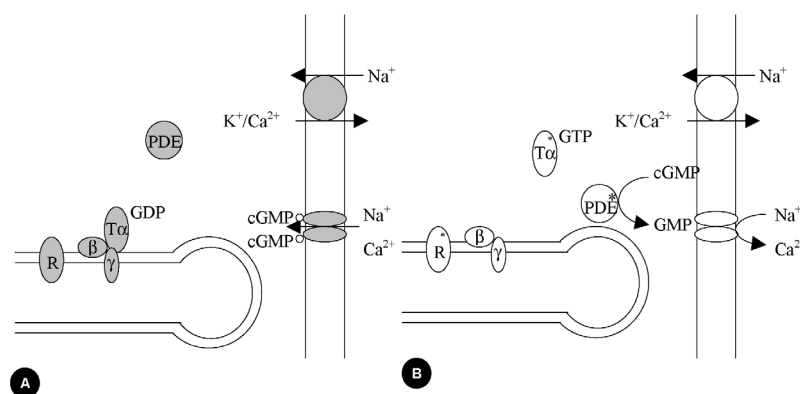


Ryc. 1. Schemat budowy komórek fotoreceptorowych siatkówki oka A – pręcik, B – czopek (wg PETERSA i współaut. 1983, RAYERA i współaut. 1990, zmodyfikowane)

Błona komórkowa segmentu zewnętrznego czopków, stanowiąca w tych komórkach jedyny wrażliwy na światło układ, wpukła się przeszło tysiącrotnie, w znakomity sposób zwiększając swoją powierzchnię (Ryc. 1B) (RAYER i współaut. 1990). W segmencie zewnętrznym pręcików można natomiast wyróżnić dwa oddzielone od siebie, fotoczule systemy. Jeden system stanowi błona komórkowa, a drugi, to równoległe do siebie ułożone dyski, których liczba w jednej komórce może dochodzić do około tysiąca. Są to zamknięte, spłaszczone cysterny o grubości ok. 15 nm i odległe od siebie o ok. 15 nm. W dyskach mieszczą się białka szlaku fotoreceptorowego, rodopsyna (R) oraz transducyna (T), specyficzne dla komórek fotoreceptorowych oraz heterotrimeryczne białko G, wiążące GTP (ROOF i HEUSER 1982, STRYER 1999). Stymulacja światłem adaptowanych do ciemności pręcików prowadzi do hiperpolaryzacji błony komórkowej i generacji potencjału fotoreceptorowego. Zmiany elektryczne na błonie komórkowej są konsekwencją zamknięcia kanałów jonowych aktywowanych przez cGMP. U podstaw tego zjawiska leży dobrze poznany szlak enzymatyczny, który inicjowany jest absorpcją fotonów przez fotoreceptor, rodopsynę. Fotoaktywacja receptora prowadzi do wymiany GDP na GTP w transducynie i oddysocjowanie α -podjednostki ($T\alpha$) tego białka. W stanie aktywnym $T\alpha$ aktywuje fosfodiesterazę (PDE), enzym hydrolizujący cGMP do GMP, w wyniku czego następuje spadek poziomu cGMP w komórce. W ciemności poziom cGMP w komórkach fotoreceptorowych kręgowców utrzymuje się na wysokim poziomie, wynoszącym, np. 40,7 pmoli/mg białka u żaby (KILBRIDE 1980) i 146-155 pmoli/mg białka u ropuchy (COHEN i BLĄZYŃSKI 1988), co zapewnia wysycenie wszystkich miejsc wiązania tego nukleotydu w cząsteczce białka kanałowego i utrzymuje kanał w stanie otwartym. Obniżenie poziomu cGMP w cytoplazmie po stymulacji światłem powoduje zmniejszenie prawdopodobieństwa przyłącze-

Obniżenie stężenia jonów wapnia w komórce fotoreceptorowej w wyniku stymulacji świetlnej włącza mechanizm ujemnego sprzężenia zwrotnego, który kontroluje proces przekazywania sygnału świetlnego poprzez nastę-

W drugim typie komórek fotoreceptorowych kręgowców, czopkach, proces przekazywania sygnału świetlnego przebiega bardzo podobnie. Biorą w nim udział izomeryczne for-



A – w ciemności, B – w świetle oznaczenia: R – rodopsyna, T – transducyna (α, β, γ – podjednostki), PDE – fosfodiesteraza.

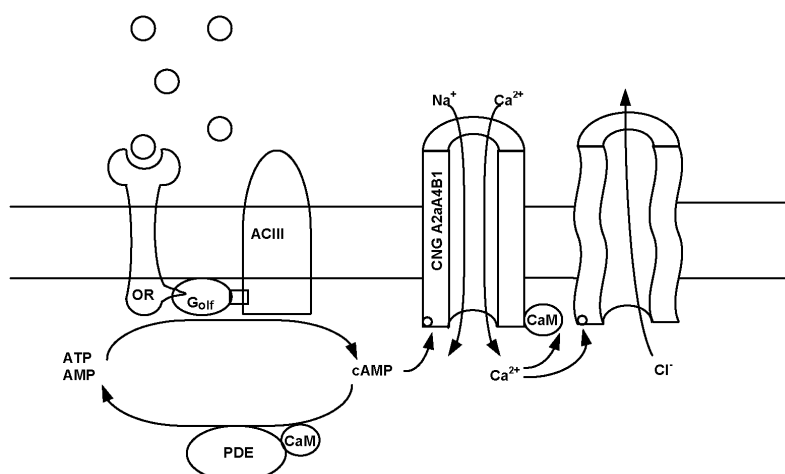
my tych samych białek. Jednak wrażliwość czopków na światło jest od trzydziestu do stu razy niższa niż ma to miejsce w pręcikach. Prawdopodobnie może to być związane z ustaleniem na różnym poziomie homeostazy wapniowej w tych obu typach komórek fotoreceptorowych (KAUPP i SEIFERT 2002).

FUNKCJA KANAŁÓW CNG W KOMÓRKACH WĘCHOWYCH KREGOWCÓW

pojedynczy akson biegnie aż do opuszki węchowej. Ze szczytu dendrytu wyrasta od 20–50 rzęsek, które łączą się ze śluzem pokrywającym powierzchnię nabłonka. W rzęskach tych następuje przetworzenie dochodzącej do nich informacji chemicznej (odorant) na sygnał elektryczny (PRASAD i REED 1999). Rzęski w komórkach węchowych pełnią podobną

funkcję do tej, jaką spełniają zewnętrzne segmenty w pręcikach siatkówki oka. Odorant, wiążąc się z mieszczącym się w błonie komórki węchowej chemoreceptorem, aktywuje białko G (G_{olf}), które z kolei stymuluje cyklazę adenylanową typu III (ACIII). Pod wpływem działania cyklazy dochodzi do wzrostu poziomu cAMP w komórce, aktywacji kanałów jonowych zależnych od cyklicznych nukleoty-

kanalów jonowych przewodzących jony chloru (Ryc. 3). Wypływ Cl^- z komórki pogłębia jej depolaryzację i zwiększa amplitudę potencjału chemoreceptorowego. Wzrost stężenia Ca^{2+} działa, w przypadku komórek węchowych, również jako regulator ujemnego sprzężenia zwrotnego. Po pierwsze, obniża wrażliwość kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy na działanie ligandu oraz stymulu-



Ryc. 3. Schemat przekształcania sygnału w komórkach węchowych kręgowców z udziałem cAMP.

Ca^{2+} – jony wapnia, Na^+ – jony sodowe, Cl^- – jony chlorkowe, OR – receptor węchowy, G_{olf} – białko G_{olf} , ACIII – cyklaza adenylanowa, CNG A2aA4B1 – kanał aktywowany przez cykliczne nukleotydy (A2aA4B1 – podjednostki kanału), PDE1C2 – zależna od kalmoduliny fosfodiesteraza, CaM – kalmodulina.

dów i napływu do komórki jonów sodu i wapnia. Efektem tych zmian w błonie komórkowej jest jej depolaryzacja. Dodatkowo, wzrostowi stężenia jonów wapnia w cytoplazmie towarzyszy aktywacja zależnych od Ca^{2+}

je hydrolizę cAMP poprzez aktywowanie fosfodiesterazy cyklicznych nukleotydów. Oba procesy kontrolowane są za pośrednictwem białka wiążącego wapń, kalmoduliny (MENINI 1999, KAUPP i SEIFERT 2002).

BUDOWA MOLEKULARNA KANAŁÓW CNG

Natywne kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy zbudowane są z dwóch typów podjednostek (α i β lub A i B) tworzących zawsze heterotetramer, przy czym udział poszczególnych podjednostek w jego tworzeniu jest różny w zależności od typu komórek (patrz Ryc. 6, 7) (GORDON i ZAGOTTA 1995a). Kanały CNG u ssaków kodowane są przez 6 różnych genów. Ponieważ początkowy system nazewnictwa podjednostek kanałów był dość zagmatwany, został on niedawno znowelizowany (RICHARDS i GORDON 2000). Podjednostki podzielono na dwie grupy. Do pierwszej zaliczono te, które mogą samodzielnie tworzyć kanały jonowe – podklasa A (dawniej α), z wyjątkiem podjednostki A4, do drugiej,

podjednostki, które nie są w stanie samodzielnie utworzyć kanałów jonowych – B (dawniej β). Poszczególne podjednostki należące do danej podgrupy nazywane są kolejnymi liczbami (Tabela 1).

Oczyszczenie białka kanału regulowanego przez cGMP z pręcika siatkówki oka wołu (COOK i współaut. 1986, 1987) oraz sklonowanie jego cDNA (KAUPP i współaut. 1989), stały się podstawą do określenia struktury tych kanałów jonowych. Na podstawie rozdzielania na żelu poliakrylamidowym w obecności SDS, zidentyfikowano białko o masie cząsteczkowej około 63 kDa. Okazało się, że jest to podjednostka A1 kanału jonowego. Jednak w oparciu o sekwencje cDNA masę tej podjednostki okre-

ślono na 79,6 kDa (690 aminokwasów). MOLDAJ i współpracownicy (1991) zakładają, że różnica ta może wynikać z potranslacyjnej modyfikacji białka, w trakcie której dochodzi do usunięcia 92 aminokwasów na N-końcu. Podjednostkę A1 zlokalizowano w zewnętrznym segmencie komórek fotoreceptorowych siatkówki oka, m. in. u człowieka, szczura oraz myszy (KUSAKA i współaut. 1996, YU i

cje silnie konserwowane. Istnieje przypuszczenie, że powtórzenia te są związane z oddziaływaniami białko-białko pomiędzy GARP i fosfodiesterazą, cyklazą guanylanową z kasetą wiążącą ATP specyficznego dla siatkówki transportera (ABCR) (KÖRSCHEN i współaut. 1999). Różnice między B1a i B1b dotyczą N-końca i związane są z brakiem domeny GARP. Krótszy wariant (B1b), w którym na N-końcu

Tabela 1. Nomenklatura podjednostek kanałów CNG (wg. KAUPPA i SEIFERTA 2002).

Podjednostka	Lokalizacja podjednostki	Nazwy
CNGA1	Podjed. kanału w pręcikach	CNG1, CNG α 1 RCNC1
CNGA2	Podjed. kanału w komórce węchowej	CNG2, CNG α 3, OCNC1
CNGA3	Podjed. kanału w czopkach	CNG3, CNG α 2, CCNC1
CNGA4	Druga/modulatorowa podjed. kanału w komórce węchowej	CNG5, CNG β 2, CNG α 4, OCNC2
CNGB1	Druga/modulatorowa podjed. kanału w pręcikach	CNG4, CNG β 1
CNGB3	Druga/modulatorowa podjed. kanału w czopka	CNG6, CNG β 3

współaut. 1996, WISSINGER i współaut. 1997, GERSTNER i współaut. 2000). Krótszą formę podjednostki A1 znaleziono w ekstrakcie z oka kury (BÖNIGK i współaut. 1993).

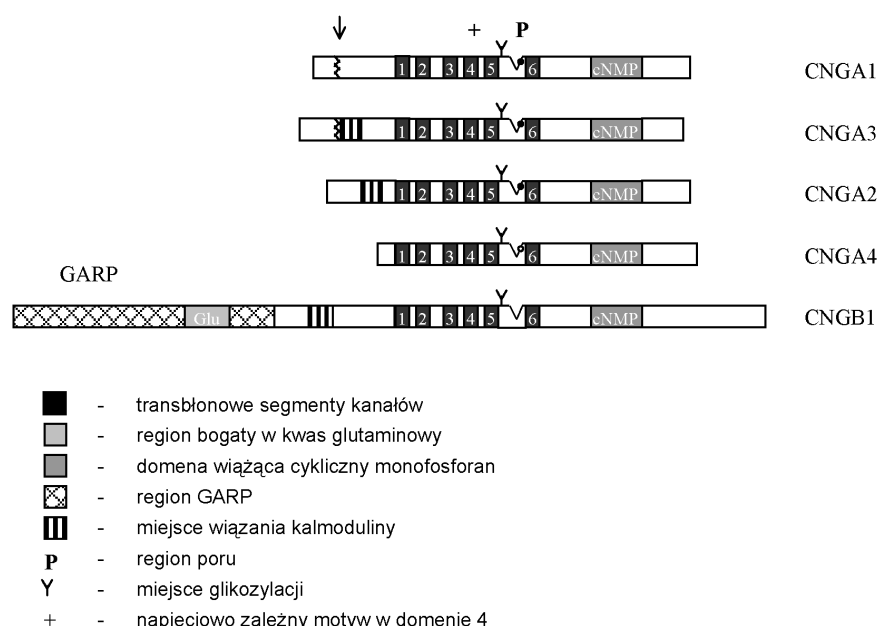
W przypadku podjednostki B1, która występuje, jako produkt alternatywnego składania genów, w co najmniej dwóch zasadniczych wariantach, B1a i B1b, sytuacja jest bardziej skomplikowana. W pręcikach siatkówki polipeptyd o masie cząsteczkowej 240 kDa został zidentyfikowany jako podjednostka B1a (KÖRSCHEN i współaut. 1995). Ma on unikalną, dwuczęściową strukturę, nie występującą w innych podjednostkach B tworzących kanały CNG (Ryc. 4). Cytoplazmatyczny N-koniec, określany terminem GARP, ma masę cząsteczkową 102,3 kDa i zbudowany jest z 909 aminokwasów. Wykazuje on bardzo wysoki stopień podobieństwa do dwóch rozpuszczalnych form białka bogatego w kwas glutaminowy (ang. glutamic acid rich protein, GARP1 i GARP2), specyficznym występujących jedynie w pręcikach siatkówki. Różne formy tego białka powstają zapewne w wyniku alternatywnego składania genów. Domena GARP, wchodząca w skład podjednostki B1a pręcika, składa się z czterech krótkich, około piętnastoaminokwasowych powtórzeń bogatych w prolinę. Są to sekwen-

występuje polipeptyd o masie cząsteczkowej 70,8 kDa zawierający 623 aminokwasy, zlokalizowany został w komórkach węchowych i smakowych. Oprócz domeny GARP, na N-końcu zlokalizowano również domenę wiążącą kalmodulinę. Koniec karboksylowy podjednostki B nosi nazwę β -odcinka i jest we wszystkich wariantach homologiczny do A1 (CHEN i współaut. 1993, MOLDAJ i HSU 1995, KAUPP i SEIFERT 2002).

Kanały CNG, ze względu na sposób aktywacji, zaliczane są do tzw. klasy kanałów jonowych aktywowanych poprzez przyłączenie ligandu (cAMP lub cGMP). Jednak strukturalnie podobne są one do zależnych od napięcia błonowych kanałów potasowych typu *shaker* (NUMA 1989, EISMANN i współaut. 1993, RANGANATHAN 1994, BIEL i współaut. 1995). Podjednostka A i homologiczny do niej C-koniec podjednostki B zbudowane są z sześciu transbłonowych, hydrofobowych fragmentów, oznaczanych od S1 do S6, połączonych ze sobą hydrofilowymi pętlami wychodzącymi poza obszar błony (Ryc. 4, 5). Segment S4, tj. tzw. sonda napięciowa, jest zbudowany z czterech bądź też pięciokrotnie powtarzających się sekwencji aminokwasowych, utworzonych z dodatnio naładowanych reszt argininy lub lizy-

ny, rozdzielonych przez dwa hydrofobowe aminokwasy (KAUPP 1997, JAN i JAN 1990, GOULDING i współaut. 1993, BIEL i współaut.

zny rotacji. Ruch ten byłby wystarczający do umożliwienia transferu dodatniego ładunku z wnętrza komórki do środowiska (CHA i

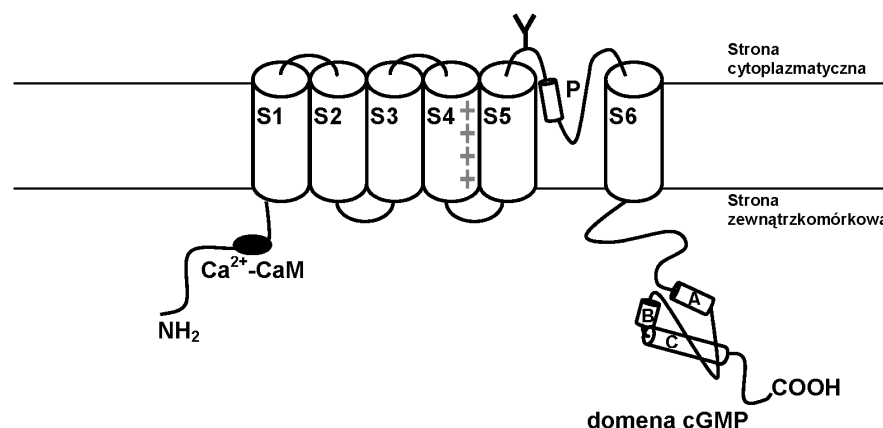


Ryc. 4. Różnice strukturalne pomiędzy podjednostkami kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy.

Nomenklatura wg KAUPPA i SAIFERTA 2002.

1995). W kanale potasowym regulowanym napięciem, domena ta składa się z siedmiu powtarzających się sekwencji aminokwasowych. Obejmuje ona całą grubość błonowej dwuwar-

współaut. 1999, GLAUNER i współaut. 1999). Jednak ostatnio zespół MacKinnona na podstawie analizy krystalograficznej kanału K^+ zależnego od napięcia z *Aeropyrum pernix* (termo-



Ryc. 5. Model podjednostki kanału aktywowanego przez cykliczny GMP.

S1-S6 – segmenty transbłonowe, P – por kanału, Ca²⁺-CaM – domena wiążąca kompleks wapń-kalmodulina, domena cGMP – domena wiążąca cGMP.

stwy lipidowej. Do niedawna uważano, że podczas depolaryzacji błony komórkowej helisa w segmencie S4 wykonuje rotację o 180° odchylając się nieznacznie w stosunku do płaszczy-

filna archaebakteria) zaproponował odmienny mechanizm odpowiedzialny za otwarcie kanałów regulowanych zmianami napięcia na błonie komórkowej. Por kanału przewodzący

K⁺ umieszczony jest centralnie i otoczony przez napięciowo zależne wypustki (ang. voltage-sensor paddle) zlokalizowane na zewnętrznym obwodzie kanału. Wypustki utworzone są przez hydrofobowe kationowe struktury uformowane z dwóch helis (ang. helix-turn-helix structure) segmentu S4. Otwarcie kanału pod wpływem zmian napięcia na błonie komórkowej związane jest z przemieszczeniem ładunku dodatnio naładowanych reszt argininy wchodzących w skład segmentu S4 i zmianą położenia napięciowo zależnych wypustek. W stanie zamkniętym wypustki umiejscowione są w błonie od strony cytoplazmy. Zmiana ich pozycji w obrębie błony w kierunku powierzchni

które wybiórczo przewodzą jony K⁺, mogą przewodzić zarówno kationy jedno, jak i dwuwartościowe. Poznanie krystalicznej struktury kanału przewodzącego jony K⁺ u *E. coli*, pozwoliło wyjaśnić kwestię selektywności tego kanału. Otóż, motyw utworzony przez tyrozynę, otoczoną dwoma glicynami (GYG), oddziałuje z dwoma resztami tryptofanu. Taki układ aminokwasów tworzy sieć aminokwasów aromatycznych (w strukturze tetramerycznej 12 aminokwasów), które kształtują mankiety (ang. cuff) w obszarze filtru. W ten sposób powstaje rodzaj warstwy wypustek ustawionych promieniście i skierowanych do otworu poru, zabezpieczających jego właściwą

Tabela 2. Sekwencja aminokwasów w obrębie poru w kanałach jonowych aktywowanych przez cykliczne nukleotydy

kanal K ⁺	428	S	I	P	D	A	F	W	W	A	V	V	T	M	T	T	V	G	Y	G	D	M	T	P	V	G	V	453
CNG1	346	K	Y	V	Y	S	L	Y	W	S	T	L	T	L	T	T	I	G	-	-	E	T	P	P	P	V	R	369
CNG3	370	K	Y	I	Y	S	L	Y	W	S	T	L	T	L	T	T	I	G	-	-	E	T	P	P	P	V	K	393
CNG2	323	E	Y	I	Y	C	L	Y	W	S	T	L	T	L	T	T	I	G	-	-	E	T	P	P	P	V	K	346
CNG4	489	S	Y	I	R	C	Y	Y	W	A	V	K	T	L	I	T	I	G	-	-	G	L	P	D	P	R	T	512

zwróconej do środowiska następuje w odpowiedzi na zmianę napięcia na błonie komórkowej i powodując otwarcie kanału (JIANG współaut. 2003a, b). W kanałach aktywowanych przez cykliczne nukleotydy sonda napięciowa jest znacznie krótsza, a część reszt argininy wchodzących w skład tej domeny jest zamieniona na aminokwasy posiadające ładunek ujemny. W wymienionych wyżej czynnikach należy przypuszczalnie szukać przyczyn braku aktywności tych kanałów w odpowiedzi na zmiany w fizjologicznym zakresie napięcia elektrycznego na błonie (YAU i BAYLOR 1989, KAUPP 1991, MOLDAI i HSU 1995).

Błonowy fragment odcinka łączącego segment S5 i S6 tworzy por kanału (P) (RANGANTHAN 1994, MACKINNON 1995, BIEL i współaut. 1995). Łączy się on z domeną S5 poprzez glikolizowany segment położony na zewnątrz komórki (Ryc. 4, 5) (WOHLFART i współaut. 1992). Por kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy wykazuje wysokie podobieństwo do analogicznego fragmentu kanałów K⁺. Zasadnicza różnica między tymi dwoma klasami kanałów dotyczy odcinka odpowiedzialnego za przewodność i selektywność, tzw. kanałowego filtru. Kanały aktywowane przez cAMP lub cGMP, w odróżnieniu od kanałów zależnych od napięcia elektrycznego,

średnicę (DOYLE i współaut. 1998). W przypadku kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy przyczyną utraty selektywności jest brak dwóch sąsiednich nukleotydów, tyrozyny i glicyny z motywu (GYG) i obecność w tym miejscu ujemnie naładowanych aminokwasów kwasu glutaminowego lub asparaginowego (Tabela 2). Wprawdzie zmiany w obszarze filtru wprowadzone przez cztery ładunki ujemne w tetramerycznej strukturze kanału są trudne do przewidzenia, ale w nich właśnie także upatruje się utraty selektywności oraz możliwość blokowania tych kanałów przez jony wapnia i magnezu (MOLDAI i HSU 1995, KAUPP i SEIFERT 2002).

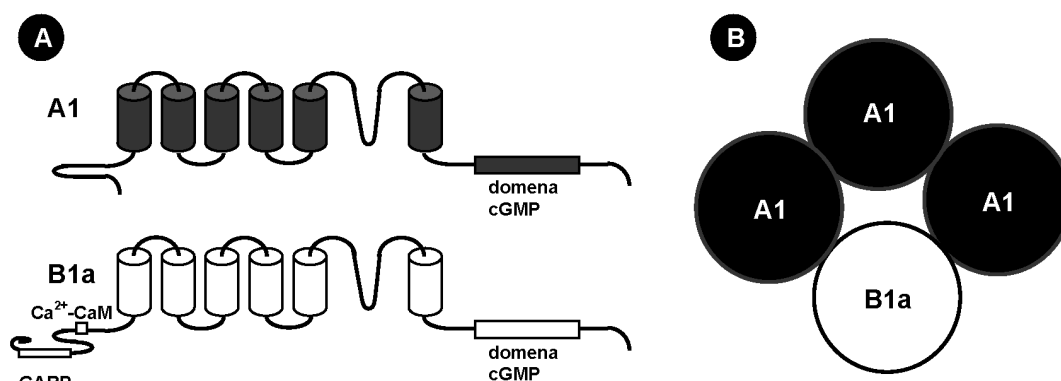
Końce aminowy i karboksylowy łańcucha polipeptydowego tworzącego podjednostkę kanału są zlokalizowane w cytoplazmie i mają charakter hydrofilowy (COOK i współaut. 1989, MOLDAI i współaut. 1991, 1992; MOLDAI i HSU 1995). We wszystkich kanałach aktywowanych przez cykliczne nukleotydy na końcu C znajduje się region wiążący cGMP lub cAMP (Ryc. 4). Domena ta zbudowana jest z około 80–100 aminokwasów i wykazuje wysoki stopień homologii z domenami wiążącymi cykliczne nukleotydy, występującymi w kinazach białkowych zależnych od cGMP (PKG) i cAMP (PKA) oraz białku wiążącym cAMP (CAP) u

E. coli (FINN i współaut. 1996). Poznanie krystalicznej struktury tego białka wykazało, że miejsce wiązania cAMP tworzy rodzaj kieszeni zbudowanej z wielu β -pasm i α -helis. Cykliczny nukleotyd przyłączony jest do miejsca wiązania przez sieć polarnych i niepolarnych oddziaływań. Arginina, glutamina i glicyna zostały zidentyfikowane w białku CAP jako układ reszt aminokwasowych, oddziałujących z fosforem w cząsteczce rybozy cAMP. Ten sam motyw reszt aminokwasowych występuje w kanałach jonowych pręcików siatkówki (Arg-559, Glu-544, Gly-543) oraz w kinazach białkowych PKA i PKG. Brak jest jednoznacznych danych mówiących o tym, co decyduje, że cGMP a nie cAMP jest specyficznie przyłączane w przypadku kanałów jonowych w komórkach fotoreceptorowych kręgowców (FINN i współaut. 1996).

W pręciku siatkówki oka kanał CNG regulowany jest, jak już wspomniano wcześniej, przez cGMP i składa się z dwóch typów podjednostek, A1 i B1a (Ryc. 6), które występują w stosunku stechiometrycznym 3:1 (ZHENG i współaut. 2002). Podjednostka A1 jest zdolna do samodzielnego

tryczny podjednostek wynosi odpowiednio 3:1. Wykazano, że także w tych komórkach fotoreceptorowych podjednostka A3 jest zdolna do samodzielnego formowania poru. Kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy, występujące w obu typach komórek fotoreceptorowych, wykazują wysoką wrażliwość na działanie specyficznego blokera, 1-*cis*-diltiazemu.

Kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy w komórkach węchowych, w przeciwieństwie do kanału z komórek fotoreceptorowych, składają się z trzech rodzajów podjednostek, tj. A2, A4 i B1b (BÖNIGK i współaut. 1999). Występujące w nim dwie podjednostki typu A2 oraz po jednej typu A4 i B1b tworzą tetrameryczną formę kanału (Ryc. 7). Możliwe jest uzyskanie, tak jak w komórkach fotoreceptorowych, funkcjonalnego homomerycznego kanału zbudowanego jedynie z podjednostki A2. Jednak i tutaj zauważono kolejną analogię do komórek fotoreceptorowych, gdyż własności takiego homomerycznego kanału różnią się od własności kanałów natywnych. Należy zaznaczyć, że w



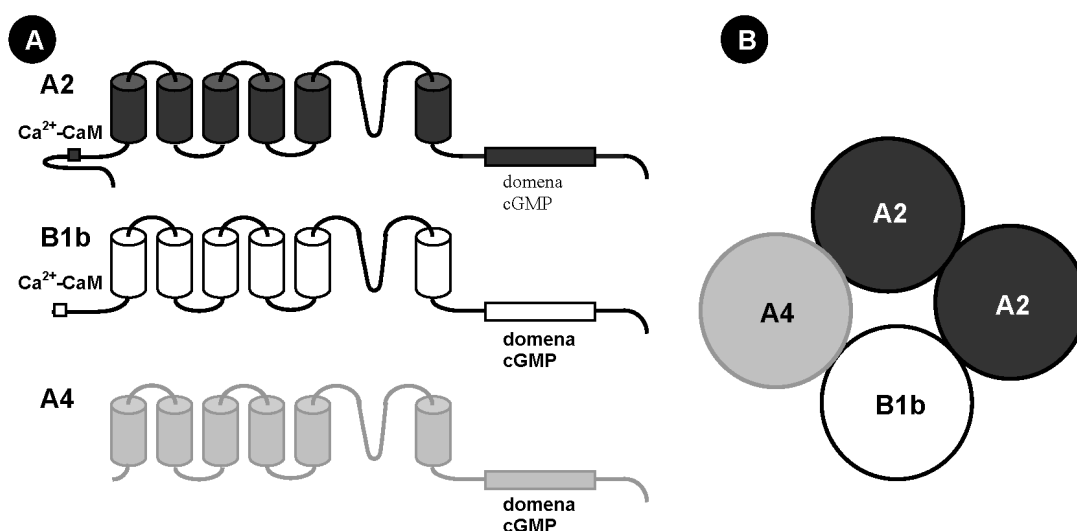
Ryc. 6. Model kanału jonowego aktywowanego przez cGMP w pręciku oka kręgowców.

A – schemat budowy podjednostek kanału, B – schemat ustawienia podjednostek w kanale. Opis w tekście.

tworzenia w pełni funkcjonalnego kanału jonowego. Ekspresja tej podjednostki w oocytach *Xenopus laevis* wykazała jednak, że własności takiego kanału są jedynie zbliżone, ale nie identyczne z własnościami kanałów natywnych (CHEN i współaut. 1993, KÖRSCHEN i współaut. 1995), natomiast sama podjednostka B1a nie formuje funkcjonalnego kanału jonowego.

Kanał CNG w czopkach składa się, podobnie jak w pręcikach, z dwóch rodzajów podjednostek, A3 i B3 (WISSINGER i współaut. 1997). Także i w tych komórkach stosunek stechiome-

przeciwieństwie do podjednostki A1 z komórek fotoreceptorowych, podjednostka A2 posiada na N-końcu domenę wiążącą kompleks Ca^{2+} – kalmodulina (Ryc. 4). Natomiast, podjednostka A4 została zakwalifikowana do grupy A ze względu na duże podobieństwo sekwencji do podjednostek należących do tej z klasy. Identyczność sekwencji wynosi 49,2% i 51,7% w stosunku do podjednostek A1 i A2, natomiast w porównaniu z podjednostkami B1 i B3, wartości te wynoszą zaledwie 24,9% i 16,3% (KAUPP 1995).



Ryc. 7. Model kanału jonowego aktywowanego przez cykliczne nukleotydy w komórce węchowej.

A – schemat budowy podjednostek kanału, B – schemat ustawienia podjednostek w kanale. Opis w tekście.

WRAŻLIWOŚĆ NA WIĄZANIE LIGANDA I SELEKTYWNOŚĆ JONOWA KANAŁÓW CNG

AKTYWACJA KANAŁÓW JONOWYCH

Kanały aktywowane przez cykliczne nukleotydy charakteryzują krótkotrwałe, nie przekraczające kilku milisekund, częste otwarcia (ang. flickering channels). W czasie otwarcia amplituda prądu przepływającego przez kanał ulega stałym zmianom. Przyczyną tego zjawiska jest luźne przyłączenie nukleotydu do miejsca wiązania. Niskie powinowactwo nukleotydu do miejsc wiązania umożliwia szybką dysocjację cyklicznego GMP, zamknięcie kanału i związane z tym zmiany przewodności błony (LINCOLN i CORNWELL 1993). Opisany mechanizm oddziaływania pomiędzy nukleotydem i białkiem kanałowym umożliwia komórkom szybkie i skuteczne generowanie potencjału receptorowego w odpowiedzi na zmiany wewnątrzkomórkowego poziomu cGMP, które zachodzą w chwili uruchomienia procesu przetwarzania sygnału w wyniku działania światła. Kanał ulega częściowej aktywacji po przyłączeniu do niego więcej niż jednej cząsteczki cGMP. Maksymalna amplituda przewodzonego prądu to stan, w którym wszystkie miejsca wiązania w białku kanałowym są wysyczone (YAU i BAYLOR 1989). Aby doszło do pełnej aktywacji białka przynajmniej cztery cząsteczki cGMP muszą związać się z białkiem tworzącym kanał (KAUPP 1991, KAUPP i ALTENHOFEN 1992, ZUFALL i współaut. 1994). Dowodzi tego sigmoidalny przebieg zależności rejestrowanego prądu od stężenia cGMP w komórkach fotoreceptorowych, adaptowanych

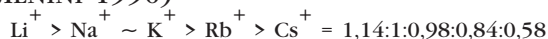
do ciemności. Hipotezę tę potwierdziły badania prowadzone na pojedynczych kanałach utworzonych z podjednostki A1 z komórek fotoreceptorowych (RUIZ i KARPEN 1997). Ekspresja tej podjednostki w oocytach żaby szponiastej, *Xenopus*, a następnie rejestracja aktywności takiego kanału metodą patch-clamp w obecności cGMP, uwalnianego przez fotoaktywację „związku uwięzionego” (ang. caged), pozwoliła precyzyjnie określić zależność wielkości przewodności jonowej od liczby cząsteczek cGMP przyłączonych do białka kanałowego. Stwierdzono, że związanie dwóch cząstek cGMP z białkiem kanałowym powoduje powstanie prądu o wartości 0,01% maksymalnego prądu, przyłączenie zaś trzech cząsteczek dawało już przewodność równą jednej trzeciej maksymalnego prądu, a po przyłączeniu czterech cząsteczek uzyskano maksymalną aktywację kanału. Wartość $K_{1/2}$ dla kanałów aktywowanych przez cykliczne cGMP w komórkach fotoreceptorowych adaptowanych do ciemności wynosi od 10 do 50 μM .

JONOWA PRZEWODNOŚĆ KANAŁÓW

Kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy są przepuszczalne dla kationów jedno- i dwuwartościowych. Kanały te są zdolne do przewodzenia także dużych kationów organicznych (TORRE i MENINI 1994). Kationy jednowartościowe przepuszczane są przez por kanału z różną selektywnością, która zmienia

się w zależności od typu komórki. Poniżej zamieszczono przykładowo uszeregowane wartości przepuszczalności dla poszczególnych kationów jednowartościowych w kanałach pochodzących z kilku typów komórek:

(a) w przecikach z siatkówki oka salamandry (MENINI 1990)



(b) w czopkach z siatkówki oka okonia przegowanego (PICONES i KORENBROT 1992)



(c) w komórkach węchowych (GOULDING i współaut. 1992)



MODULACJA AKTYWNOŚCI KANAŁÓW JONOWYCH

Modulacja przez jony dwuwartościowe

Wspominano już wcześniej, że kanały aktywne przez cykliczne nukleotydy nie są selektywne i mogą przewodzić kationy jedno- i dwuwartościowe. Zdolność przewodzenia kationów dwuwartościowych, w tym głównie jonów wapnia i w mniejszym stopniu jonów magnezu, ma poważne konsekwencje związane z funkcjonowaniem tych kanałów. Jony dwuwartościowe są równocześnie blokerami kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy. Jony Ca^{2+} blokują w sposób zależny od napięcia prąd tworzony przez jony jednowartościowe. Odpowiedzialną za tę sytuację jest reszta kwasu glutaminowego, niosąca ładunek ujemny, obecna we fragmencie polipeptydu budującego por kanału w podjednostkach A1, A2 i A3 (patrz Tabela 2) (ROOT i MACKINNON 1993, EISMANN i współaut. 1994). Zatem w homotetrametrycznych kanałach utworzonych z podjednostki A miejsce wiązania jonów Ca^{2+} w rejonie poru, uformowane z 4 reszt kwasu glutaminowego, charakteryzuje się wyższym powinowactwem wiązania kationów dwuwartościowych niż ma to miejsce w przypadku kanałów heterotetramerycznych (natywnych) (MORI i współaut. 1991, YANG i współaut. 1993). Zamiana kwasu glutaminowego na aminokwas neutralny, na przykład na glutaminę (ROOT i MACKINNON 1993) lub asparaginę (GAVAZZO i współaut. 2000), wiąże się z usunięciem ujemnego ładunku i w konsekwencji powoduje redukcję wiązania jonów wapnia lub magnezu w rejonie poru (MORI i współaut. 1991, YANG i współaut. 1993). Należy podkreślić, że warianty homotetramerycznych kanałów, utworzonych z różnej kombinacji

podjednostek A1, A2, A3, są blokowane przez zewnątrzkomórkowe jony Ca^{2+} w zmiennym stopniu. Ponieważ reszta kwasu glutaminowego występuje we wszystkich rodzajach podjednostek A i jest to miejsce silnie konserwowane, to zróżnicowanie z jakim blokowane są homomeryczne kanały może wskazywać na istnienie innych reszt aminokwasowych, poza rejonem poru, mających wpływ na wiązanie jonów wapnia i geometryczne ułożenie reszty kwasu glutaminowego (KAUPP i SEIFERT 2002). SEIFERT i współautorzy (1999) wykazali, że wiele reszt aminokwasowych zlokalizowanych w zewnątrzkomórkowych odcinkach, wystających poza obręb błony i łączących pętle tworzącą por z segmentami S5 i S6, odgrywa kluczową rolę w regulacji wiązania jonów Ca^{2+} z resztą kwasu glutaminowego w obrębie poru (Ryc. 5).

Podobnie jak jony magnezu lub wapnia, jony niklu i cynku modulują aktywność kanałów CNG (KARPEN i współaut. 1993). Doświadczenia na tych kanałach zlokalizowanych w przecikach siatkówki i komórkach węchowych wykazały, że działanie jonów Ni^{2+} jest odmienne w obu typach komórek. W przypadku kanałów z przecików siatkówki kluczową rolę odgrywa w tym procesie histydyna, zlokalizowana na C-końcu łańcucha polipeptydowego podjednostki A1 (u człowieka His-418, u wołu His-420). Związanie jonów Ni^{2+} przez resztę aminokwasową histydyny zwiększa wrażliwość kanałów dla cGMP (ILDEFONSE i BENNETT 1991, KARPEN i współaut. 1993, GORDON i ZAGOTTA 1995a). Odwrotny efekt obserwowany jest w przypadku kanałów w komórkach węchowych, gdzie podjednostka A2 pozbawiona jest histydyny w tej pozycji, posiada ona natomiast resztę histydynową w pozycji 396, która wiąże jony Ni^{2+} . W obecności jonów niklu następuje nieznaczne zmniejszenie prawdopodobieństwa otwarcia kanału w komórkach węchowych (GORDON i ZAGOTTA 1995b).

Modulacja przez kompleks typu jony wapnia-kalmodulina

Regulacja, przez kompleks jony wapnia-kalmodulina (Ca^{2+} -CaM), aktywności jonowej kanałów CNG jest ważna ze względów fizjologicznych. Zjawisko to nie dotyczy tylko tej grupy kanałów, spotyka się je często, gdyż mechanizm ten ma na celu przerwanie wpływu jonów wapnia do komórki. W przypadku komórek fotoreceptorowych i węchowych, kom-

pleks Ca^{2+} -CaM powoduje obniżenie czułości kanałów na wiązanie liganda. Kalmodulina odgrywa szczególnie ważną rolę w przeciekach siatkówki oka i komórkach węchowych (MOLDAY 1998). W przypadku czopków siatkówki nie stwierdzono zasadniczych zmian aktywności jonowej kanałów po przyłączeniu kompleksu Ca^{2+} -CaM (KAUPP i SEIFERT 2002). Sytuacja ta wydaje się dziwna ze względu na to, że w podjednostce A3 budującej kanał jonowy w czopkach siatkówki, podobnie jak w A2 w komórkach węchowych, zidentyfikowano na N-końcu łańcucha polipeptydowego domenę wiążącą kompleks Ca^{2+} -CaM (HSU i MOLDAY 1993, 1994; CHEN i współaut. 1994, KÖRSCHEN i współaut. 1995). Prawdopodobnie w przypadku czopków inne, dotychczas jeszcze nie poznane, białko wiążące wapń bierze udział w modulacji aktywności tych kanałów (REBRIK i KORENBROT 1998). W przeciekach siatkówki oka jedynie w kanałach natywnych (podjednostka A1 pozbawiona jest domeny wiążącej kalmodulinę) obserwuje się zmniejszenie wrażliwości na wiązanie liganda w obecności Ca^{2+} -CaM. Kompleks ten, po przyłączeniu do domeny wiążącej zlokalizowanej na N-końcu podjednostki B, powoduje dwukrotny wzrost wartości współczynnika $K_{1/2}$ dla cGMP (HSU i MOLDAY 1994, GORDON i współaut. 1995a, WEITZ i współaut. 1998). W natywnych kanałach z komórek węchowych dołączenie kompleksu Ca^{2+} -CaM powoduje znacznie wyższy, bo 50-krotny wzrost $K_{1/2}$ dla cAMP (CHEN i YAU 1994, LIU i współaut. 1994). Prawdopodobnie bezpośrednią przyczyną tego zjawiska, w obu typach komórek, jest zerwanie oddziaływań pomiędzy N- i C-końcem danej podjednostki po przyłączeniu kompleksu Ca^{2+} -CaM do miejsca wiązania zlokalizowanego na N-końcu (VARNUM i ZAGOTTA 1997, KRAMER i SIEGELBAUM 1992).

Regulacja przez tlenek azotu

Tlenek azotu (NO), wytwarzany w komórkach przez syntazę tlenku azotu, jest agonistą rozpuszczalnej formy cyklicznej guanylanowej, enzymu syntetyzującego cGMP, i w ten sposób może aktywować kanały regulowane przez cGMP (KAUPP i SEIFERT 2002). W niektórych komórkach węchowych, nawet przy braku w nich cyklicznych nukleotydów, tlenek azotu ma zdolność bezpośredniej aktywacji kanałów aktywowanych przez cykliczne nukleotydy

(BROILLET i FIRESTEIN 1996). Prawdopodobnie cząsteczka NO przyłącza się w wyniku S-nitrozylacji do cysteiny (Cys-460), która zlokalizowana jest na N-końcu podjednostki A2 kanału w komórkach węchowych (BROILLET 2000). Pomimo, że cysteina w pozycji 460 jest silnie konserwowana i występuje również w obu podjednostkach tworzących kanał jonowy w przeciekach siatkówki oka, to nie stwierdzono, aby cząsteczka NO bezpośrednio aktywowała te kanały jonowe (TRIVEDI i KRAMER 1998).

Regulacja przez metabolity lipidowe

W oparciu o wyniki ostatnich badań stwierdzono, że niektóre lipidy, a szczególnie diacylglicerol (DAG), produkt hydrolizy dwufosfatydilinozytolu przez fosfolipazę C (PLC), może hamować aktywność kanałów regulowanych przez cGMP w przeciekach siatkówki oka (GORDON i współaut. 1995b, CRARY i współaut. 2000, WOMACK i współaut. 2000). Sposób działania tego metabolitu nie jest jasny. Mimo że jest on aktywatorem białkowej kinazy C (PKC) wykluczono jej udział w regulacji aktywności kanałów regulowanych przez cGMP (GORDON i współaut. 1995b). Przypuszcza się, że może on bezpośrednio oddziaływać z hydrofobową domeną kanału, bądź po wbudowaniu w błonę komórkową w sąsiedztwie kanału powodować jej deformację wpływając na zdolność otwarcia kanału (KRAMER i MOLOKANOVA 2001). Intrigującym pozostaje stale problem, dlaczego metabolity rozpadu dwufosfatydilinozytolu zmieniają aktywność kanałów jonowych regulowanych przez cGMP w komórkach fotoreceptorowych kręgowców. Wprawdzie w komórkach tych znaleziono pojedyncze ogniwa szlaku inozytolowego (immunolokalizacja fosfolipazy C typu $\beta 4$ i $\gamma 1$ oraz białko Gq), nie stwierdzono jednak, aby wprowadzone do cytoplazmy PLC, trisfosfoinozytol lub PKC zmieniały odpowiedź elektryczną tych komórek na działanie światła (KRAMER i MOLOKANOVA 2001).

Regulacja przez fosforylację

Pierwsze doświadczenia dotyczące modulacji aktywności kanałów poprzez ich fosforylację miały na celu określenie zmian w aktywności kanałów pod wpływem działania białkowych kinaz lub fosfataz (GORDON i współaut. 1992, MOLOKANOVA i współaut. 1997). W celu

określenia, które z enzymów zmieniają aktywność kanałów jonowych, wykorzystano ich specyficzne inhibitory. Wyselekcjonowane w ten sposób kinazy i fosfatazy wprowadzano bezpośrednio podczas badań metodą patch-clamp (MÜLLER i współaut. 1998). Wyniki otrzymane w ten sposób okazały się niewiarygodne, gdyż w systemach pozakomórkowych, białka które *in vivo* nie są substratami tych enzymów, często ulegają fosforylacji lub defosforylacji. Pomimo tych trudności, doświadczenia przeprowadzone przez MOLOKANOVĄ i współpracowników (1997, 1999a) na homotetramerycznym kanale utworzonym z podjednostki A1 pręcika siatkówki oka wołu wykazały, że aktywność jonowa kanału może być modulowana poprzez zmianę poziomu fosforylacji tyrozyny. Stwierdzono, że fosforylacja tych kanałów przez kinazy tyrozynowe powoduje dwu-, a nawet trzykrotny wzrost współczynnika $K_{1/2}$ dla cGMP. Miejsce fosforylacji zlokalizowano poprzez zamianę tyrozyny na fenyloalaninę w pozycji 498 podjednostki A1, w domenę wiążącą cGMP. Poziom fosforylacji kanału jest zależny od stanu w jakim znajduje się kanał. Ulega on fosforylacji w swoim stanie zamknięcia, a defosforylacji podczas otwarcia (MOLOKANOVA i współaut. 1999b). Według autorów miejsce wiązania kinaz i fosfataz tyrozynowych nie zmienia się, ale zmiany konformacyjne wywołane przez stan otwarty kanału sprzyjają przyłączeniu fosfatazy, podczas, gdy w stanie zamkniętym z większym powinowactwem przyłącza się kinaza (MOLOKANOVA i współaut. 1999b).

W komórkach węchowych nie stwierdzono modulacji kanałów bramkowanych przez cykliczne nukleotydy poprzez fosforylację z udziałem kinaz tyrozynowych. W podjednostce A2 kanału w pozycji, w której w kanale komórek fotoreceptorowych występuje reszta tyrozynowa, w węchowych znajduje się fenyloalaninowa i dopiero mutacja polegająca na podstawieniu w tym miejscu reszty tyrozynowej przywraca modulację kanału przez kinazy tyrozynowe (KRAMER i MOLOKANOVA 2001).

Oprócz kinaz tyrozynowych, także kinazy serynowo-treoninowe mogą zmieniać niektóre własności kanałów bramkowanych przez cykliczne nukleotydy. Znacznie lepiej poznany jest to zjawisko w komórkach węchowych. W homotetramerycznym kanale utworzonym z podjednostek A2 fosforylacja białka kanału przez kinazę C powoduje czterokrotne zmniej-

szenie $K_{1/2}$ dla cAMP. Miejsce fosforylacji znajduje się na reszecie serynowej (Ser-33) na N-końcu łańcucha polipeptydowego w bliskim sąsiedztwie domeny wiążącej kompleks Ca^{2+} -CaM. Zmiana poziomu fosforylacji nie wpływa na wiązanie i funkcjonowanie tego kompleksu w kanałach komórek węchowych. Przyłączenie jednak reszty fosforanowej do seryny powoduje pogłębienie efektu wywołanego przez kalmodulinę, tzn. zmniejszenia wrażliwości kanału na wiązanie cAMP w porównaniu z kanałem nie ufosforylowanym (MÜLLER i współaut. 1998). Znakomita większość badań mających na celu wykazanie efektu stanu ufosforylowania białek tworzących kanał jonowy bramkowany cyklicznymi nukleotydami, ogranicza się tylko do układów sztucznych, a nie kanałów jonowych *in situ* i dlatego trudno na podstawie tych danych wytłumaczyć fizjologiczne funkcje tego procesu.

Modulowanie poprzez neurotransmitery

W komórkach siatkówki kręgowców niektóre neurotransmitery mogą wpływać na aktywność kanałów jonowych bramkowanych przez cykliczne nukleotydy. Do tej grupy neurotransmiterów można zaliczyć: dopaminę (AKOPIAN i WITKOVSKY 1996, STELLA i THORESON 2000), kwas gamma-aminomasłowy (GABA) (BARNES i HILLE 1989) i glutaminę (PICAUD i współaut. 1995). Obecnie niewiele jeszcze wiadomo o tym typie modulacji w omawianych kanałach. Jednym z receptorów, którego obecność stwierdzono w błonie zewnętrznego segmentu pręcika siatkówki oka jest receptor dla insulino-podobnego czynnika wzrostu typu I (IGF-I) (WALDBILLIG i współaut. 1991). Czynniki te są syntetyzowane w pigmentowych epitelialnych komórkach siatkówki, leżących w bezpośrednim sąsiedztwie zewnętrznego segmentu pręcików siatkówki oka. Podanie IGF-I do zewnętrznego segmentu pręcików powoduje dwu-, a nawet trzykrotny wzrost wrażliwości kanałów na cykliczne nukleotydy (SAVCHENKO i współaut. 2001). Efekt ten pojawia się w ciągu kilku sekund, znika natychmiast po usunięciu IGF-I i występuje jedynie w komórkach, które w pozycji 498 posiadają resztę tyrozynową. Jest to miejsce specyficznie fosforylowane przez kinazy tyrozynowe (patrz rozdział: Regulacja przez fosforylację). Ponadto przypuszcza się, że IGF-I może brać udział w wolnej, trwającej minuty, a na-

wet godziny, adaptacji komórek fotoreceptorowych do światła. Sugestie te wysunięto na podstawie obserwacji związanych ze zmianą przewodności kanałów CNG w komórkach fotoreceptorowych w obecności IGF-I, pole-

gającej na wzroście przepływu prądu jonowego w ciemności (ang. dark current) (SAVCHENKO i współaut. 2001, KRAMER i MOLOKANOVA 2001).

PODSUMOWANIE

Kanały jonowe aktywowane przez cykliczne nukleotydy biorą udział w przekazywaniu różnych bodźców zarówno u kręgowców jak i u bezkręgowców. Stanowią one kluczowe ogniwo w procesie przekazywania sygnału świetlnego poczynając od jednokomórkowców przez nicienie, mięczaki, a kończąc na ssakach. Kanały te pełnią również istotną rolę w przetwarzaniu bodźców chemicznych w

komórkach węchowych i smakowych. Również u roślin znaleziono i sklonowano kanał zależny od cyklicznych nukleotydów (*Arabidopsis thaliana*). Tak duża różnorodność organizmów i miejsc występowania czyni bez wątpienia omawiane kanały jonowe bardzo interesującym obiektem szerokiego spektrum badań.

CYCLIC NUCLEOTIDE-GATED ION CHANNELS

S u m m a r y

Cyclic nucleotide-gated (CNG) channels are a novel class of cation channels first identified in retinal photoreceptor cells and subsequently found also in other sensory and nonsensory cells. CNG channels form heterotetrameric complexes consisting of two or three different types of channel subunits. Six different genes encoding CNG channels, four A subunits (A1 to A4) and two B subunits (B1 and B3), give rise to three different channel types. Functionally, CNG channels belong to the class of ligand-gated channels, which are activated by binding of ligand (cGMP) to a

domain in the carboxyl terminal region, but structurally they are similar to voltage-dependent K^+ channels. All channel subunits include six transmembrane segments (S1 to S6), a voltage-sensor motif (S4), a pore region (P) and a cGMP-binding domain. These channels are nonselective cation channels that do not discriminate well between monovalent and divalent ions and even pass divalent cations, in particular Ca^{2+} . Activity of CNG channel is modulated by Ca^{2+} /calmodulin and by phosphorylation. Other factors may also be involved in channel regulation.

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.
- AKOPIAN A., WITKOVSKY P., 1996. *D2 dopamine receptor-mediated inhibition of a hyperpolarization-activated current in rod photoreceptors*. J. Neurophysiol. 76, 1828–1835.
- BARNES S., HILLE B., 1989. *Ionic channels of the inner segment of tiger salamander cone photoreceptors*. J. Gen. Physiol. 94, 719–743.
- BAUMANN A., FRINGS S., GODDE M., SEIFERT R., KAUPP U. B., 1994. *Primary structure and functional expression of a Drosophila cyclic nucleotide-gated channel 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., KLUGBAURE N., MURAKAMI M., FLOCKERZI V., HOFMANN F., 1994. *Another member of the cyclic nucleotide-gated channel 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.
- BÖNIGK W., ALTENHOFEN W., MÜLLER F., DOSE A., ILLING M., MOLDAY R. S., KAUPP U. B., 1993. *Rod and cone photoreceptor cell express distinct genes for cGMP-gated channels*. Neuron 10, 865–877.
- BÖNIGK W., BRADLEY J., MÜLLER F., SESTI F., BOEKHOFF I., RONNETT G. U., KAUPP U. B., FRINGS S., 1999. *The native rat olfactory cyclic nucleotide-gated channel is composed of three distinct subunits*. J. Neurosci. 19, 5332–5347.
- BROILLET M. -C., 2000. *A single intracellular cysteine residue is responsible for the activation of the olfactory cyclic nucleotide-gated channel by NO*. J. Biol. Chem. 275, 15135–15141.
- BROILLET M. -C., FIRESTEIN S., 1996. *Direct activation of the olfactory cyclic nucleotide-gated channel through modification of sulfhydryl groups by NO compounds*. Neuron 16, 377–385.

- CHA A., SNYDER G. E., SELVIN P. R., BEZANILLA F., 1999. *Atomic scale movement of the voltage-sensing region in a potassium channel measured via spectroscopy*. *Nature* 402, 809–813.
- CHEN F. H., UKHANOVA M., THOMAS D., AFSHAR G., TANADA S., BATTELLE B. -A., PAYNE R., 1999. *Molecular cloning of a putative cyclic nucleotide-gated ion channel cDNA from Limulus polyphemus*. *J. Neurochem.* 72, 461–471.
- 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., MOLDAY L. L., HSU Y. -T., YAU K. -W., MOLDAY 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., AHAMED 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. 3rd, PUGH E. N. jr., 1985. *Cyclic GMP increases photocurrent and light sensitivity of retinal cones*. *Nature* 317, 64–66.
- COHEN A. I., BLAZYSKI C., 1988. *Light-induced losses and dark recovery rates of guanosine 3', 5' -cyclic monophosphate in rod outer segment of intact amphibian photoreceptors*. *J. Gen. Physiol.* 92, 731–746.
- 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 segment*. *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., MOLDAY L. L., REID D., KAUPP U. B., MOLDAY R. S., 1989. *The cGMP-gated channel of bovine rod photoreceptors is localized exclusively in the plasma membrane*. *J. Biol. Chem.* 264, 6996–6999.
- CRARY J. I., DEAN D. M., NGUITRAGOOL W., KURSHAN P. T., ZIMMERMAN A. L., 2000. *Mechanism of inhibition of cyclic nucleotide-gated channels by diacylglycerol*. *J. Gen. Physiol.* 116, 755–768.
- DIFRANCESCO D., TORTORA P., 1991. *Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP*. *Nature* 351, 145–147.
- DOYLE D. A., CABRAL J. M., PFUETZNER R. A., KUO A., GULBIS J. M., COHEN S. L., CHAIT B. T., MACKINNON R., 1998. *The structure of the potassium channel: molecular basis of K^{+} conduction and selectivity*. *Science* 280, 69–77.
- EISMANN E., BÖNIGK W., KAUPP U. B., 1993. *Structure features of cyclic nucleotide-gated channels*. *Cell Physiol. Biochem.* 3, 332–351.
- EISMANN E., MÜLLER F., HEINAMANN S. H., KAUPP U. B., 1994. *A single negative charge within the pore region of a cGMP-gated channel controls rectification, Ca^{2+} blockage and ionic selectivity*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 1109–1113.
- FINN J. T., GRUNWALD M. E., YAU K. -W., 1996. *Cyclic nucleotide-gated ion channels: an extended family with diverse functions*. *Annu. Rev. Physiol.* 58, 395–426.
- FESENKO 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.
- GAVAZZO P., PICCO C., EISMANN E., KAUPP U. B., MENINI A., 2000. *A point mutation in the pore region alters gating, Ca^{2+} blockage, and permeation of olfactory cyclic nucleotide-gated channels*. *J. Gen. Physiol.* 116, 311–326.
- GERSTNER A., ZONG X., HOFMANN F., BIEL M., 2000. *Molecular cloning and functional characterization of a new modulatory cyclic nucleotide-gated channel subunit from mouse retina*. *J. Neurosci.* 20, 1324–1332.
- GLAUNER K. S., MANNUZZO L. M., GANDHI C. S., ISACOFF E. Y., 1999. *Spectroscopic mapping of voltage sensor movement in the Shaker potassium channel*. *Nature* 402, 813–817.
- GORDON S. E., ZAGOTTA W. N., 1995a. *A histidine residue associated with the gate of the cyclic nucleotide-activated channels in rod photoreceptors*. *Neuron* 14, 177–183.
- GORDON S. E., ZAGOTTA W. N., 1995b. *Localization of region affecting an allosteric transition in cyclic nucleotide-activated channel*. *Neuron* 14, 857–864.
- 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., 1995a. *Modulation of the cGMP-gated ion channel in frog rods by calmodulin and an endogenous inhibitory factor*. *J. Physiol. London* 486, 533–546.
- GORDON S. E., DOWNING-PARK J., TAM B., ZIMMERMAN A. L., 1995b. *Diacylglycerol analogs inhibit the rod cGMP-gated channel by a phosphorylation-independent mechanism*. *Biophys. J.* 69, 409–417.
- GOTOW T., NISHI T., 1991. *Roles of cyclic GMP and inositol triphosphate 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 cyclic GMP in molluscan extra-ocular photoreceptor cells*. *Brain Research* 557, 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., TIBBS G. R., LIU D., SIEGELBAUM S. A., 1993. *Role of H5 domain in determining pore diameter and ion permeation through cyclic nucleotide-gated channels*. *Nature* 364, 61–64.
- HAYNES L. W., YAU K. -W., 1985. *Cyclic GMP-sensitive conductance in outer segment membrane of catfish cones*. *Nature* 317, 61–64.

- HSU Y. T., MOLDAY R. S., 1993. *Modulation of the cGMP-gated channel of rod photoreceptor cells by calmodulin*. Nature 361, 76–79.
- HSU Y. T., MOLDAY R. S., 1994. *Interaction of calmodulin with the cyclic GMP-gated channel of rod photoreceptor cells. Modulation of activity, affinity purification, and localization*. 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.
- ILDEFONSE M., BENNETT N., 1991. *Single-channel study of the cGMP-dependent conductance of retinal rods from incorporation of native vesicles into planar lipid bilayers*. J. Membr. Biol. 123, 133–147.
- JAN L. Y., JAN Y. N., 1990. *A superfamily of ion channels*. Nature 345, 672.
- JIANG Y., LEE A., CHEN J., RUTA V., CADENE M., CHAIT B. T., MACKINNON R., 2003a. *X-ray structure of a voltage-dependent K^+ channel*. Nature 423, 33–41.
- JIANG Y., RUTA V., CHEN J., LEE A., MACKINNON R., 2003b. *The principle of gating charge movement in a voltage-dependent K^+ channel*. Nature 423, 42–48.
- KARPEN J. W., BROWN R. L., STRYER L., BAYLOR D. A., 1993. *Interaction between divalent cations and the gating machinery of cyclic GMP-activated channels in salamander retinal rods*. J. Gen. Physiol. 101, 1–25.
- KAUPP U. B., 1991. *The cyclic nucleotide-gated channels of vertebrate photoreceptors and olfactory epithelium*. Trends Neurosci. 14, 150–157.
- KAUPP U. B., 1995. *Family of cyclic nucleotide gated ion channels*. Curr. Opin. Neurobiol. 5, 434–442.
- KAUPP U. B., 1997. *Cyclic nucleotide-gated channels – a short overview*. Nova Acta Leopoldina 302, 57–64.
- KAUPP U. B., ALTENHOFEN W., 1992. *Cyclic nucleotide-gated channels of vertebrate photoreceptor cells and olfactory epithelium*. [W:] Sensory Transduction. COREY D. P., ROPER S. D. (red.). The Rockefeller University Press NJ, 133–150.
- KAUPP U. B., SEIFERT R., 2002. *Cyclic nucleotide-gated ion channels*. Physiol. Rev. 82, 769–824.
- KAUPP U. B., NIIDOME T., TANABE T., TERADA S., BONIGK W., STUHMER 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.
- KILBRIDE P., 1980. *Calcium effect on frog retinal cyclic guanosine 3',5'-monophosphate levels and their light-initiated rate of decay*. J. Gen. Physiol. 75, 457–426.
- KOCH K. -W., 1992. *Biochemical mechanism of light adaptation in vertebrate photoreceptors*. Trends Biochem. Sci. 17, 307–311.
- KOPROWSKI P., WALERCZYK M., FABCZAK H., KUBALSKI A., 1997. *Modified patch-clamp method for studying ion channels in Stentor coeruleus*. Acta Protozool. 36, 121–124.
- KÖRSCHEN H. G., ILLING M., SEIFERT R., SESTI F., WILLIAMS A., GOTZES S., COLVILLE C., MÜLLER F., DOSE A., GODDE M., MOLDAY L., KAUPP U. B., MOLDAY R. S., 1995. *A 240kDa protein represents complete beta subunit of the cyclic nucleotide-gated channel from rod photoreceptor*. Neuron 15, 627–636.
- KÖRSCHEN H. G., BEYERMANN M., MÜLLER F., HECK M., VANTLER M., KOCH K. -W., KELLNER R., WOLFRUM U., BODE C., HOFMANN K. P., KAUPP U. B., 1999. *Interaction of glutamic-acid-rich proteins with the cGMP signaling pathway in rod photoreceptors*. Nature 400, 761–766.
- KRAMER R. H., SIGELBAUM S. A., 1992. *Intracellular Ca^{2+} regulates the sensitivity of cyclic nucleotide-gated channels in olfactory receptor neurons*. Neuron 9, 897–906.
- KRAMER R. H., MOLOKANOVA E., 2001. *Modulation of cyclic-nucleotide-gated channels and regulation of vertebrate phototransduction*. J. Exp. Biol. 204, 2921–2931.
- KUSAKA S., DABIN I., BARNSTABLE C. J., PURO D. G., 1996. *cGMP-mediated effects on the physiology of bovine and human retinal Müller (glial) cells*. J. Physiol. 497, 813–824.
- LENG Q., MERCIER R. W., YAO W., BERKOWITZ G. A., 1999. *Cloning and first characterization of a plant cyclic nucleotide-gated cation channel*. Plant Physiol. 121, 753–761.
- LICOLN 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 olfactory cyclic nucleotide-gated channel*. Science 266, 1348–1354.
- MARUNAKA Y., OHARA A., MATSUMOTO P., EATON D. C., 1991. *Cyclic GMP-activated channel activity in renal epithelial cell (A6)*. Biochim. Biophys. Acta 1070, 152–156.
- MACKINNON R., 1995. *Pore loops: an emerging theme in ion channel structure*. Neuron 14, 889–892.
- MENINI A., 1990. *Currents carried by monovalent cations through cyclic cGMP-activated channels in excised patches from salamander rods*. J. Physiol. 424, 167–185.
- MENINI A., 1999. *Calcium signaling and regulation in olfactory neurons*. Neurobiology 9, 419–426.
- MIYAZU M., TANIMURA T., SOKABE M., 2000. *Molecular cloning and characterization of a putative cyclic nucleotide-gated channel from Drosophila melanogaster*. Insect Mol. Biol. 9, 283–292.
- MOLDAY R. S., 1996. *Calmodulin regulation of cyclic-nucleotide-gated channels*. Curr. Opin. Neurobiol. 6, 445–452.
- MOLDAY R. S., 1998. *Photoreceptor membrane proteins, phototransduction, and retinal degenerative diseases*. The Friedenwald Lecture. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 39, 2491–2513.
- MOLDAY 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.
- MOLDAY R. S., MOLDAY 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.
- MOLDAY R. S., REID D. M., CONNELL G., MOLDAY 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*. Springer-Verlag.
- MOLOKANOVA E., TRIVEDI B., SAVCHENKO A., KRAMER R. H., 1997. *Modulation of rod photoreceptor cyclic nucleotide-gated channels by tyrosine phosphorylation*. J. Neurosci. 17, 9068-9076.
- MOLOKANOVA E., MADDOX F., LUETJE C. W., KRAMER R. H., 1999a. *Activity-dependent modulation of rod photoreceptor cyclic nucleotide-gated channels mediated by phosphorylation of a specific tyrosine residue*. J. Neurosci. 19, 4786-4795.
- MOLOKANOVA E., SAVCHENKO A., KRAMER R. H., 1999b. *Noncatalytic inhibition of cyclic-nucleotide-gated channels by tyrosine kinase induced by genistein*. J. Gen. Physiol. 113, 45-56.
- MORI Y., FRIEDRICH T., KIM M. -S., MIKAMI A., NAKAI J., RUTH P., BOSSE E., HOFMAN F., FLOCKERZI 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.
- MÜLLER F., BÖNIGK, W., SESTI, F., FRINGS S., 1998. *Phosphorylation of mammalian olfactory cyclic nucleotide-gated channels increases ligand sensitivity*. J. Neurosci. 18, 164-173.
- NAKAMURA T., GOLD G. H., 1987. *A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia*. Nature 325, 442-444.
- NUMA S., 1989. *A molecular views of neurotransmitter receptors and ionic channels*. The Harvey Lectures, 83, 121-165.
- PALCZEWSKI K., POLANS A. S., BAEHR W., AMES J. B., 2000. *Ca²⁺-binding proteins in the retina: structure, function, and the etiology of human visual diseases*. Bioassays, 22, 337-350.
- PETERS K. R., PALADE G. E., SCHNEIDER B. G., PAPERMASTER D. S., 1983. *Fine structure of a periciliary ridge complex of frog retinal rod cells revealed by ultrahigh resolution scanning electron microscopy*. J. Cell. Biol. 96, 265-276.
- PICAUD S., LARSSON H. P., WELLIS D. P., LECAR H., WERBLIN F., 1995. *Cone photoreceptors respond to their own glutamate release in the tiger salamander*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 9417-9421.
- PICONES A., KORENBROT J. I., 1992. *Permeation and interaction of monovalent cations with the cGMP-gated channel of cone photoreceptors*. J. Gen. Physiol. 100, 647-673.
- PRASAD B. C., REED R. R., 1999. *Chemosensation: molecular mechanism in worms and mammals*. Trends Genet. 15, 150-153.
- PUGH E. N. jr., LAMB T. D., 1993. *Amplification and kinetics of the activation steps in phototransduction*. Biochim. Biophys. Acta 1411, 111-149.
- RANGANATHAN R., 1994. *Evolutionary origins of ion channels*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 3484-3486.
- RASMUSSEN H., GOODMAN D. B., 1977. *Relationships between calcium and cyclic nucleotides in cell activation*. Physiol. Rev. 57, 421-509.
- RAYER B., NAYNERT M., STIEVE H., 1990. *Phototransduction: different mechanisms in vertebrates and invertebrates*. J. Photochem. Photobiol. B. 7, 107-148.
- REBRİK T. I., KORENBROT J. L., 1998. *In intact cone photoreceptors, a Ca²⁺-dependent, diffusible factor modulates the cGMP-gated ion channels differently than in rods*. J. Gen. Physiol. 112, 537-548.
- RICHARDS M. J., GORDON S. E., 2000. *Cooperativity and cooperation in cyclic nucleotide-gated ion channels*. Biochemistry 39, 14003-14011.
- ROOF D. J., HEUSER J. E., 1982. *Surfaces of rod photoreceptor disk membranes: integral membrane components*. J. Cell Biol. 95, 487-500.
- 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.
- SAVCHENKO A., KRAFT T. W., MOLOKANOVA E., KRAMER R. H., 2001. *Growth factor regulate phototransduction by modulating cyclic nucleotide gated channels*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 5880-5885.
- SEIFERT R., EISMANN E., LUDWIG J., BAUMANN A., KAUPP U. B., 1999. *Molecular determinants of a Ca²⁺-binding site in the pore of cyclic nucleotide-gated channels: S5/S6 segments control affinity of intrapore glutamates*. EMBO J. 18, 119-130.
- STELLA S. L., THORENSEN W. B., 2000. *Differential modulation of rod and cone calcium currents in tiger salamander retina by D2 dopamine receptors and cyclic AMP*. Eur. J. Neurosci. 12, 3537-3548.
- STRYER L., 1999. *Biochemia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 353-354.
- TORRE V., MENNINI A., 1994. *Selectivity and single-channel properties of the cGMP-activated channel in amphibian retinal rods*. Academic Press Inc. USA 345-358.
- TRIVEDI B., KRAMER R. H., 1998. *Real-time patch-clamp detection of intracellular cGMP reveals long-term suppression of responses NO and muscarinic agonists*. Neuron 21, 895-906.
- VARNUM M. D., ZAGOTTA W. N., 1997. *Interdomain interactions underlying activation of cyclic nucleotide-gated channels*. Science 278, 110-113.
- WALDBILLING R. J., PFEFFER B. A., SCHOEN T. J., ADLER A. A., SHEN-ORR Z., SCAVO L., LEROITH D., CHADER G. J., 1991. *Evidence for an insulin-like growth factor autocrine-paracrine system in the retinal photoreceptor-pigment epithelial cell complex*. J. Neurochem. 57, 1522-1533.
- WALERCZYK M., FABCZAK H., FABCZAK S., 2000. *Reakcja fotofobowa u orzęska Stentor coeruleus – badania elektrofizjologiczne*. Post. Hig. Med. Dośw. 54, 329-339.
- WEITZ D., ZOCHÉ M., MÜLLER F., BEYERMANN M., KÖRSCHEN H. G., KAUPP U. B., KOCH K. -W., 1998. *Calmodulin controls the rod photoreceptor CNG channel through an unconventional binding site in the N-terminus of the β -subunit*. EMBO J. 17, 2273-2284.
- WILSON R., AINSOUGH R., ANDERSON K., BAYNES C., BERKS M., BONFIELD J., BURTON J., CONNELL M., COPSEY T., COOPER J., 1994. *2,2 Mb of contiguous nucleotide*

- sequence from chromosome III of C. elegans*. Nature 368, 32–38.
- WISSINGER B., MÜLLER F., WEYAND I., SCHUFFENHAUER S., THANOS S., KAUPP U. B., ZRENNER E., 1997. *Cloning, chromosomal localization and functional expression of the gene encoding the α -subunit of the cGMP-gated channel in human cone photoreceptors*. Eur. J. Neurosci. 9, 2512–2521.
- WOHLFART P., HAASE W., MOLDAY R. S., COOK N. J., 1992. *Antibodies against synthetic peptides used to determine the topology and site of glycosylation of the cGMP-gated channel from bovine rod photoreceptors*. J. Biol. Chem. 267, 644–648.
- WOMACK K. B., GORDON S. E., HE F., WENSEL T. G., LU C. C., HILGEMANN D. W., 2000. *Do phosphatidylinositides modulate vertebrate phototransduction?* J. Neurosci. 8, 2792–2799.
- YANG J., ELLINOR P. T., SAYHER W. A., ZHANG J. -F., TSIEH 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.
- YU W. P., GRUNWALD M. E., YAU K. -W., 1996. *Molecular cloning, functional expression and chromosomal localization of a human homolog of the cyclic nucleotide-gated ion channel of retinal cone photoreceptor*. FEBS Lett. 393, 211–215.
- ZHENG J., TRUDEAU M. C., ZAGOTTA W. N., 2002. *Rod cyclic nucleotide-gated channels have a stoichiometry of three CNGA1 subunits and one CNGB1 subunit*. Neuron 36, 891–896.
- 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.