1 Einleitung

Neuronale spannungsabhängige Ca^{2+}-Kanäle nehmen eine Schlüsselfunktion bei einer Vielzahl zellulärer Prozesse erregbarer Zellen ein, wie beispielsweise der Neurotransmission, der Ausbildung von Aktionspotentialen am Herzen, der Erregungs-Kontraktionskopplung am Skelettmuskel (Mc Cleskey et al., (1987), Hille et al., (1994)) wie auch der Ca^{2+} vermittelten Regulation der Genexpression (Bito et al., (1996)). Zur Vermittlung dieser zellulären Funktionen wird der intrazelluläre Calciumspiegel streng kontrolliert. Während die extrazelluläre Ca^{2+}-Konzentration bei circa 1-2 mM liegt, beträgt die intrazelluläre Ca^{2+}-Konzentration kaum mehr als 10^{-4} mM. Durch dieses Konzentrationsgefälle liegt ein relativ grosser chemischer Ca^{2+}-Gradient über der Plasmamembran. Diese Ca^{2+}-Homöostase wird zum einen durch die Öffnung von Ca^{2+}-Ionenkanälen, die in der Plasmamembran lokalisiert sind, wie auch durch intrazelluläre Speicher wie dem Endo- und Sarkoplasmatischen Retikulum oder Mitochondrien reguliert. Über aktive Ionenpumpen, Transportproteine und Ca^{2+}-chelatierende Proteine werden andererseits Ca^{2+}-Ionen wiederum aus dem Cytosol entfernt. Eine besondere Bedeutung bei der Ca^{2+}-Homöostase kommt einer Klasse von Membranproteinen zu, den sogenannten spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanälen. Diese Ionenkanäle werden, wie ihr Name angibt, in Abhängigkeit vom Membranpotential aktiviert. Kommt es zu einer Depolarisation der Plasmamembran, vermittelt diese, durch eine Konformtionsänderung des Ca^{2+}-Kanals, den selektiven Einstrom von Ca^{2+}-Ionen in das Zelllumen.

Ein einzelner spannungsabhängiger Ca^{2+}-Kanal stellt einen heteromultimeren Proteinkomplex aus einer porenbildenden α_1-Untereinheit sowie weiteren assoziierten β-, $\alpha_2\delta$- und teilweise γ-Untereinheiten dar (Curtis und Catterall, (1984)), welche die biophysikalischen Eigenschaften der porenbildenden α_1-Untereinheit modulieren. Von allen Ca^{2+}-Kanaluntereinheiten sind bereits mehrere Gene mit häufig vorkommenden alternativen Splicevarianten bekannt, die entwicklungs- und gewebsspezifisch exprimiert werden.

Phylogenetisch ähneln sich alle spannungsabhängigen Ionenkanäle wie K^+-, Na^+- und Ca^{2+}-Kanäle in Aufbau und Struktur ihrer Kanalpore, weshalb man spekulativ davon ausgeht, dass alle spannungsabhängigen Ionenkanäle auf ein gemeinsames Ursprungsgen zurück zuführen sind. Bis zum heutigen Zeitpunkt konnten 10 verschiedene Gene für Ca^{2+}-Kanal α_1-

Untereinheiten ($\alpha_{1\ A\text{-}I,\ S}$) kloniert und charakterisiert werden (Tanabe et al., (1987), Mikami et al., (1989), Biel et al., (1990), Snutch et al., (1990), Mori et al., (1991), Starr et al., (1991), Williams et al., (1992a und 1992b), Seino et al., (1992), Dubel et al., (1992), Niidome et al., (1992), Wiliams et al., (1994), Schneider et al., (1994), Perez-Reyes et al., (1998), Cribbs et al., (1998)). Die α_1-Untereinheit ist mit einem Molekulargewicht von 190-250 kDa die grösste Kanaluntereinheit der spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanäle und bildet die eigentliche Kanalpore aus. Eine einzelne α_1-Untereinheit besteht aus vier homologen Transmembrandomänen (I-IV), die über cytosolisch gelegene Peptidbrücken (Linker) unterschiedlicher Länge miteinander verbunden sind. Jede einzelne Transmembrandomäne setzt sich wiederum aus sechs hydrophoben, α-helikalen Transmembransegmenten (S1-S6) zusammen, die über kurze intra- wie auch extrazelluläre Peptidbrücken miteinander verbunden sind. Von besonderer Bedeutung für die Kanalfunktion sind die transmembranen S4-Segmente, die als sogenannte Spannungssensoren fungieren. Diese S4-Segmente sind durch eine Anhäufung positiv geladener Aminosäuren gekennzeichnet. Man findet in der α-helikalen Struktur dieser Segmente an jeder dritten Aminosäureposition einen Lysin- oder Argininrest (Tanabe et al., (1987)). Diese Ladungsanhäufung bewirkt, dass im geschlossenen Zustand des Kanals die S4-Segmente teilweise in das Cytosol hineinragen. Wird die Cytoplasmamembran durch einen elektrischen Impuls depolarisiert, so verschieben sich die S4-Segmente, der Ladungsverschiebung folgend, in Richtung der extrazellulären Oberfläche, wodurch es zu einer Konformationsänderung der α_1-Untereinheit des Kanals kommt und die Kanalpore geöffnet wird.

Ein weiteres Strukturelement der spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheit stellt der eigentlich extrazelluläre Peptidbereich zwischen den Segmenten S5 und S6 jeder homologen Transmembrandomäne dar. Dieser Peptidbereich, auch als P-Segment bezeichnet (P für porenbildend), besteht aus einer extrazellulären Schleife („turrent“), gefolgt von einer kurzen Porenhelix und einer daran anschliessenden Peptidschleife, die im S6 Segment mündet und ragt weitgehendst als „hairpin“-Struktur in die Cytoplasmamembran hinein. Diese P-Segmente tragen den eigentlichen Selektivitätsfilter für Ionen und bilden durch die „hairpin-Konfigurationen“, gemeinsam mit den S5 und S6 Segmenten der vier Transmembrandomänen, die eigentliche Kanalpore aus (Doyle et al., (1998)). Der in den P-Segmenten spannungsabhängiger Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheiten enthaltene Selektivitätsfilter für Ca^{2+}-Ionen wird im wesentlichen durch vier Glutaminsäurereste (ein Glutaminsäurerest

pro P-Segment), die im transmembranen Bereich der P-Segmente lokalisiert sind, vermittelt (Kim et al., (1993), Yang et al., (1993)).

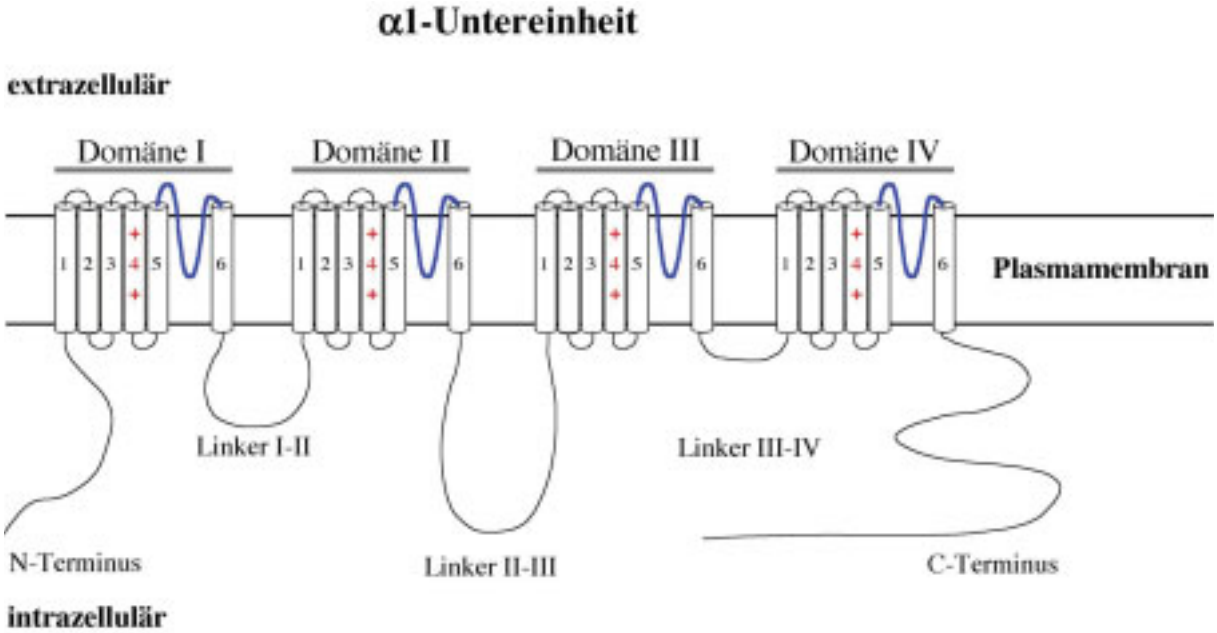

Abb. 1: Schematische Struktur der α_1-Untereinheit spannungsabhängiger Ca^{2+}-Kanäle. Die Strukturelemente sowohl der Spannungssensoren (S4-Segmente) wie auch der P-Segmente der vier homologen Transmembrandomänen (Domäne I-IV) sind farblich (rot und blau) gekennzeichnet.

Die β-Untereinheiten von spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanälen sind hydrophile, intrazellulär lokalisierte Proteine mit einem Molekulargewicht von 50-72 kDa. Gegenwärtig kann man vier verschiedene Gene (β_1-β_4) unterscheiden, die für Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten codieren (Ruth et al., (1989), Hullin et al., (1992), Perez-Reyes et al., (1992), Castellano et al., (1993a und 1993b)) und von denen inzwischen mehrere gewebsspezifische Splicevarianten bekannt sind. Im Homologievergleich der primären Aminosäurestrukturen der vier verschiedenen Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten zeigt sich, dass alle β-Untereinheiten zwei zentralgelegene, hochkonservierte Bereiche aufweisen, während Amino- und Carboxylterminus wie auch ein kleiner zentraler Bereich zwischen den konservierten Domänen I und II signifikant unterschiedlich sind (Walker und de Waard, (1998)). Alle vier bekannten β-Untereinheiten sind befähigt, mit Ausnahme der α_1-Untereinheiten (α_{1G}, α_{1H}, α_{1I}) der Ca_V3 Familie, mit Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheiten über eine hochkonservierte Bindungsdomäne (BID = beta interaction domain) zu interagieren (Scott et al., (1996), Liu et

al., (1996), Ludwig et al., (1997), Pichler et al., (1997), Volsen et al., (1997), Vance et al., (1998)). Das Äquivalent zur BID innerhalb der α_1-Untereinheit wird als AID (AID = alpha interaction domain) bezeichnet. Diese AID ist im cytosolischen Linker I-II der α_1-Untereinheit lokalisiert und beinhaltet ein ebenfalls hochkonserviertes Aminosäuresequensmotiv (Abb. 3) (de Waard et al., (1994 und 1995)). Neben dieser AID konnten zudem Interaktionen zwischen α_1- und β-Untereinheiten am Carboxylterminus von α_{1E} ($Ca_V2.3$) mit β_{2a} (Tareilus et al., (1997)) und sowohl amino- als auch carboxylterminal zwischen α_{1A} ($Ca_V2.1$) und β_4 (Walker et al., (1998 und 1999)) nachgewiesen werden.

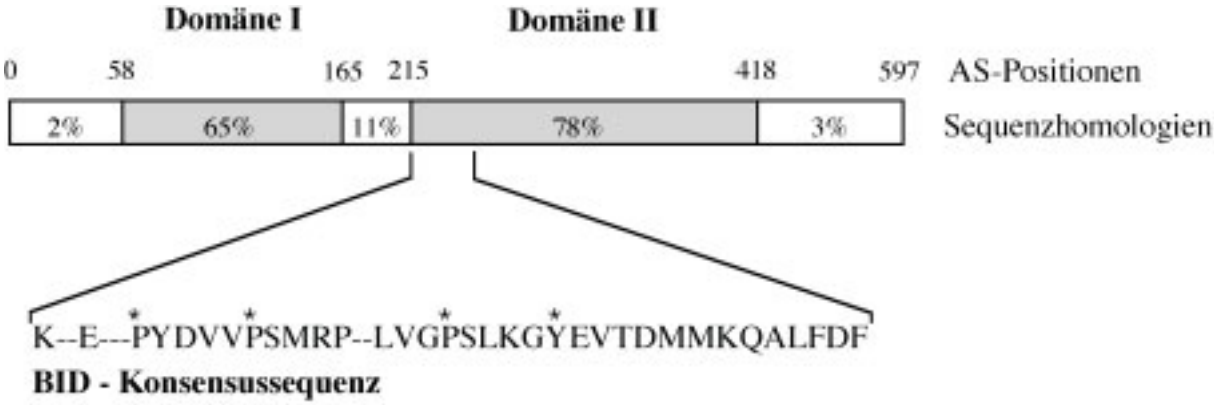

Abb. 2: Sequenzhomologievergleich der Aminosäureprimärstrukturen von Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten. Die angegebenen Aminosäurepositionen wurden exemplarisch von der β_{1b}-Untereinheit aufgeführt. Die grau unterlegten Bereiche stellen die hochkonservierten Regionen, gekennzeichnet als Domäne I und II, dar. In Prozentzahlen sind die prozentualen Übereinstimmungen innerhalb der verschiedenen β-Untereinheiten angegeben. Die BID – Konsensussequenz gibt schematisch den Bereich an, der für die Interaktion mit der AID der α_1-Untereinheit verantwortlich gemacht wird (de Waard et al., (1994)). Modifiziert nach Walker und de Waard, (1998).

Die Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten modulieren die elektrophysiologischen Eigenschaften der Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheiten. So konnte gezeigt werden, dass es bei Koexpression einer Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheit in Gegenwart von Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten zu einer Erhöhung der messbaren Stromamplitude kommt (Singer et al., (1991)). Mit Ausnahme der Ca^{2+}-Kanal β_{2a}-Untereinheit beschleunigen darüberhinaus alle β-Untereinheiten die Aktivierungs- und Inaktivierungseigenschaften der Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheiten und verschieben die spannungsabhängige Inaktivierung der Kanäle zu hyperpolarisierten Membranpotentialen (Singer et al., (1991), Wei et al., (1991), Hullin et al., (1992), Castellano et al., (1993a und 1993b)). Neben der modulatorischen Wirkung auf die Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheit besitzt die Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheit eine Art Chaperonfunktion, die für den Einbau der porenbildenden α_1-Untereinheit in die Plasmamembran, und der

gerichteten Verteilung der α_1-Untereinheiten in einer Zelle verantwortlich gemacht wird (Chien et al., (1995), Brice et al., (1997), Yamaguchi et al., (1998), Brice und Dolphin, (1999), Bichet et al., (2000)).

Neben den vier β-Untereinheiten der spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanäle konnten bis heute zudem drei verschiedene $\alpha_2\delta$-Gene ($\alpha_2\delta$ 1-3) (Ellis et al., (1988), Klugbauer et al., (1999a)) kloniert und identifiziert werden, von denen bisher noch fünf weitere gewebsspezifische Splicevarianten ($\alpha_2\delta$-1_{a-e}) beschrieben wurden (Angelotti und Hofmann, (1996)). Die $\alpha_2\delta$-Untereinheit ist ein hochgradig glykosyliertes Protein mit einem Molekulargewicht von circa 125 kDa (Ellis et al., (1998)). Es besteht aus zwei heterogenen Proteinen, die von ein und dem selben Gen codiert sind. Das primäre Genprodukt von $\alpha_2\delta$ wird posttranslationel gespalten und über eine Disulfidbrücke wieder miteinander verbunden (De Jongh et al., (1990)). Über die δ-Untereinheit wird das dimere Protein in der Membran, flankierend zur α_1-Untereinheit, verankert. Die α_2-Untereinheit wird posttranslationel stark glykosyliert und ist extrazellulär lokalisiert. (Brickley et al., (1995), Gurnett et al., (1996), Wiser et al., (1996), Felix et al., (1997)). Der modulatorische Effekt, den die $\alpha_2\delta$-Untereinheit auf den Ca^{2+}-Kanal ausübt, ist nur partiell verstanden und geht meist einher mit der Koexpression der β-Untereinheit des Ca^{2+}-Kanals. So konnte man bisher beobachten, dass die $\alpha_2\delta$ -Untereinheit, koexprimiert mit Ca^{2+}-Kanal α_1- und Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheiten, zu einer Erhöhung der Gesamtzell-Stromamplitude, einer beschleunigten Kinetik von Aktivierung und Inaktivierung der Ca^{2+}-Kanäle sowie einer Verschiebung der spannungsabhängigen Aktivierung und Inaktivierung zu hyperpolarisierten Membranspannungen führt (Singer et al., (1991), De Waard et al., (1995), Gurnett et al., (1996 und 1997), Bangalore et al., (1996), Felix et al., (1997), Qin et al., (1998), Klugbauer et al., (1999a)).

Die γ-Untereinheit der spannungsabhängigen Ca^{2+}-Kanäle ist ein integrales Membranprotein mit einem Molekulargewicht von 25-32 kDa (Bosse et al., (1990), Jay et al., (1990)). Nach neuesten Erkenntnissen sind gegenwärtig acht für Ca^{2+}-Kanal γ-Untereinheiten kodierende Gene (γ_{1-8}) bekannt, die im Skelettmuskel (γ_1, γ_4) und in unterschiedlichen Regionen des Gehirns (γ_{2-5}, $\gamma_{7\&8}$) exprimiert werden (Eberst et al., (1997), Letts et al. (1998), Black und Lennon, (1999), Burgess et al., (1999 und 2001), Klugbauer et al., (2000), Fraser et al., (2002)). Die Ca^{2+}-Kanal γ-Untereinheiten sind strukturell durch vier α-helikale Transmembrandomänen und durch cytosolisch lokalisierte Amino- und Carboxyltermini gekennzeichnet (Burgess et al., (2001)). Phylogenetisch unterscheiden sich die verschiedenen

Mitglieder dieser Subfamilie teilweise sehr stark voneinander. So weisen beispielsweise die γ_1-Untereinheit, die fast ausschliesslich in der Skelettmuskulatur, und die γ_2-Untereinheit, die vornehmlich im zentralen Nervensystem exprimiert wird, nur eine 25%-ige Aminosäuresequenzhomologie auf (Letts et al., (1998)). Über die genaue Funktion dieser heterogenen Subfamilie der Ca^{2+}-Kanal γ-Untereinheiten ist gegenwärtig noch relativ wenig bekannt. Man konnte jedoch zeigen, dass diese, ebenso wie die β-Untereinheiten der Ca^{2+}-Kanäle, die spannungsabhängige Inaktivierung zu hyperpolarisierten Membranpotentialen verschieben (Singer et al., (1991), Letts et al., (1998)).

Spannungsgesteuerte Ca^{2+}-Kanäle werden aufgrund ihrer pharmakologischen und elektrophysiologischen Eigenschaften in wenigstens sechs Klassen von Ca^{2+}-Kanälen unterschieden, die als L-, N-, P-, Q-, R- und T-typ Kanäle bezeichnet werden (Hofmann et al., (1994), Zhang et al., (1993)). Nach Klonierung von mehreren neuronalen α_1- und assoziierten β-, $\alpha_2\delta$- und γ-Untereinheiten konnten durch Koexpression der rekombinanten Untereinheiten in verschiedenen Expressionssystemen folgende Zuordnungen, in Abhängigkeit zur porenbildenden α_1-Untereinheit, getroffen werden: α_{1C} ($Ca_V1.2$), α_{1D} ($Ca_V1.3$), α_{1F} ($Ca_V1.4$) und α_{1S} ($Ca_V1.1$) sind verantwortlich für L-typ Ströme, α_{1B} ($Ca_V2.2$) für N-typ Ströme, α_{1A} ($Ca_V2.1$) für sowohl P- als auch Q-typ Ca^{2+}-Ströme, α_{1E} ($Ca_V2.3$) für R-typ Ströme und α_{1G} ($Ca_V3.1$), α_{1H} ($Ca_V3.2$) und α_{1I} ($Ca_V3.3$) für T-typ Ca^{2+}-Ströme (Hofmann et al., (1994), Snutch und Reiner, (1992), Perez-Reyes et al., (1998), Ertel et al., (2000)). Nach der von Ertel et al., (2000) neu eingeführten Nomenklatur spannungsgesteuerter Ca^{2+}-Kanäle werden diese nun ergänzend aufgrund ihrer phylogenetischen Homologien in drei Familien ($Ca_V1.X$, $Ca_V2.X$, $Ca_V3.X$) unterteilt.

Die Mitglieder der Familie der Ca_V1 beziehungsweise L-typ Ca^{2+}-Kanäle werden fast ubiquitär im Körper exprimiert. So findet man diese Ca^{2+}-Kanäle im Herzen, in der Glatten- wie auch Skelettmuskulatur, in der Niere und Pankreas, der Cochlea und Retina sowie im zentralen Nervensystem, wo sie vornehmlich im Zellsoma und in dentritischen Ausläufern von Neuronen lokalisiert sind (Hofmann et al., (1999), Catterall W.A., (2000), Ertel et al., (2000)). L-typ Kanäle vermitteln in den unterschiedlichen Geweben manigfaltige Funktionen wie beispielsweise die Erregungs-Kontraktionskopplung in der Muskulatur oder auch die Regulation der Genexpression in Neuronen (Hille, (1994), Bito et al., (1996)). Alle L-typ Kanäle zeichnen sich in ihren pharmakologischen und elektrophysiologischen Eigenschaften

dadurch aus, dass sie selektiv durch Dihydropyridin blockierbar sind und nur durch starke Depolarisationsimpulse (HVA = „high voltage activated“) aktiviert werden.

Die Familienmitglieder der Ca_V3 beziehungsweise T-typ Ca^{2+}-Kanäle werden vornehmlich in der Herzmuskulatur und in Neuronen exprimiert und heben sich dadurch hervor, dass sie kaum oder nur geringfügig durch koexprimierte Ca^{2+}-Kanaluntereinheiten in ihren elektrophysiologischen Eigenschaften moduliert werden (Cribbs et al., (1998), Perez-Reyes et al., (1998), Klugbauer et al., (1999b), Lacinová et al., (1999)). Charakteristisch für die Ca_V3 - Familie ist das Aktivierungs- und Inaktivierungsverhalten der Kanäle, da diese schon bei geringer Depolarisation (LVA = „low voltage activated“) aktiviert werden, aber schnell wieder inaktivieren (Carbone und Lux, (1984), Nowychy et al., (1985)). Darüberhinaus besteht ein weiteres elektrophysiologisches Charakteristika dieser Ca^{2+}-Kanalfamilie in ihrer geringen Einzelkanalleitfähigkeit (Catterall, (2000)). Aufgrund ihrer elektrophysiologischen Eigenschaften sind T-typ Ca^{2+}-Kanäle (T steht für transient) von zentraler Bedeutung bei der Schrittmacherfunktion im Herzen und im zentralen Nervensystem. Pharmakologisch sind T-typ Kanäle selektiv durch Mibefradil oder das Scorpiongift *Kurtoxin* blockierbar (Cribbs et al., (1998), Chuang et al., (1998)).

Die Familie der Ca_V2 beziehungsweise P/Q-typ, N-typ und R-typ Ca^{2+}-Kanäle, welche die α_{1A}- , α_{1B}- bzw. die α_{1E}-Untereinheiten beinhalten, werden ebenso wie L-typ Kanäle durch starke Depolarisationsimpulse (HVA = „high voltage activated“) aktiviert und können gezielt durch Peptidtoxine blockiert werden. So wirkt das Gift der Meeresschnecke *Conus geographus*, ω-contoxin GVIA, als spezifischer Kanalblocker auf N-typ Ca^{2+}-Kanäle (McCleskey et al., (1987)), das Gift der Trichterspinne *Agelenopsis aperta*, ω-agatoxin IVA, hingegen als spezifischer Kanalblocker auf P/Q-typ Ca^{2+}-Kanäle (Scott et al., (1990), Mintz et al., (1992)). P/Q-typ, N-typ und R-typ Ca^{2+}-Kanäle werden hauptsächlich im Gehirn und im periphären Nervensystem exprimiert, wo sie zumeist in den präsynaptischen Endigungen wie auch den Dendriten lokalisiert sind (Mori et al., (1991), Starr et al. (1991), Williams et al., (1992b und 1994), Dubel et al, (1992), Niidome et al., (1992), Westenbroek et al., (1992 und 1995), Fujita et al., (1993), Soong et al., (1993), Schneider et al. (1994)). Eine bedeutende Funktion erfüllen diese Kanäle bei der Regulation der Transmission chemischer Synapsen. Durch die präsynaptische Lokalisation der Ca_V2 Kanäle vermitteln diese, bei Eintreffen eines Aktionspotentials an der axonalen Endigung, den Einstrom von Ca^{2+}-Ionen in die präsynaptische Endigung. Durch den spannungsinduzierten Anstieg der intrazellulären Ca^{2+}-

Konzentration kommt es in deren Folge zur Fusion von Neurotransmittervesikel mit der Zellmembran und somit zur exocytotischen Freisetzung von Neurotransmitter in den synaptischen Spalt.

Ca_V1 wie auch Ca_V2 Kanäle werden durch starke Depolarisationsimpulse aktiviert. Die Mitglieder der Ca_V2 Familie mit α_{1A}-, α_{1B}- und α_{1E}-Untereinheiten unterscheiden sich jedoch von Ca_V1 Kanälen mit beispielsweise den α_{1C}- bzw. α_{1D}-Untereinheiten, neben ihren unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften, unter anderem in der Art der G-Proteinmodulation (Hille, (1994)). P/Q-, N- und R-typ Ca^{2+}-Kanäle werden durch Neurotransmitterrezeptoren über einen membranständigen Weg moduliert. So kommt es bei der synaptischen Transmission nicht nur zu einer chemischen Erregung oder Hemmung der Postsynapse, sondern auch zu einer retrograden Modulation der Präsynapse durch Bindung von Neurotransmitter an präsynaptisch lokalisierte, metabotrope 7 Transmembranrezeptoren (7TM). Diese Rezeptorenfamilie vermittelt die Aktivierung von rezeptorassoziierten G-Proteinen. Namensgebend für die Proteinfamilie der G-Proteine ist ihre Fähigkeit, Guanylnukleotide (GDP oder GTP) an ihre α-Untereinheit zu binden. Im inaktiven Zustand bildet das G-Protein aus monomeren α-, β- und γ-Untereinheiten einen Heterotrimerkomplex, der über die G-Protein α-Untereinheit, intrazellulär an den 7 (TM) Transmembranrezeptor gekoppelt ist. Bindet ein Neurotransmittermolekül an den Rezeptor, so erfolgt eine Konformationsänderung, welche die Freisetzung des im inaktiven Zustand an die G-Protein α-Untereinheit gebundenen GDPs bewirkt. Durch diese Freisetzung des GDPs wird an seiner Stelle GTP an die G-α-Untereinheit gebunden, wodurch diese in ihre aktive Form überführt wird. Durch diese Aktivierung dissoziiert der heterotrimere G-Proteinkomplex in ein freies G-α-GTP und ein freies G-Protein β/γ-Dimer, die beide als Effektoren in einer Vielzahl von Signalwegen wirken (Morris und Malbon, (1999)).

Die G-Proteinmodulation von neuronalen Ca^{2+}-Kanälen (Ca_V2) wird durch die G-Protein $\beta\gamma$-Untereinheit vermittelt (Herlitze et al., (1996), Ikeda, (1996)), die mit dem intrazellulären Bereich zwischen der ersten und zweiten Transmembrandomäne (Linker I-II) und dem C-Terminus der α_1-Untereinheit des Ca^{2+}-Kanals interagiert (De Waard et al., (1997), Herlitze et al., (1997), Page et al., (1997), Qin et al., (1997), Zamponi et al., (1997)). Innerhalb des Linker I-II Bereichs der α_1-Untereinheit (AID) bindet auch die β-Untereinheit (BID) des Ca^{2+}-Kanals (DeWaard et al., (1994), Pragnell et al., (1994)), die wie bereits beschrieben, für die Modulation des Kanals notwendig ist (Campbell et al., (1995), Bourinet

et al., (1996), Mark et al., (2000), Canti et al., (2000)). Die G-Protein vermittelte Modulation der neuronalen Ca^{2+}-Kanälen (Ca_V2) führt zu einer Verschiebung der Aktivierungskurve des Kanals zu positiveren Membranpotentialen und verändert ihre Steilheit. Diese inhibitorische Aktivierungsänderung kann durch depolarisierende Vorpulse rückgängig gemacht werden, einen Vorgang, der als Vorpulsfacilitation bezeichnet wird (Elmslie et al. (1990), Hille (1994), Dolphin (1996)). P/Q-typ, N-typ und R-typ Ca^{2+}-Kanäle unterscheiden sich hinsichtlich des Ausmaßes der G-Proteinmodulation und ihren Facilitationseigenschaften (Zhang et al., (1996), Currie und Fox, (1997), Herlitze et al., (1997), Arnot et al., (2000)).

Von besonderem Interesse für die G-Proteinmodulation der Ca_V2 Kanäle ist der Linker I-II Bereich dieser neuronalen Ca^{2+}-Kanäle, da dort, innerhalb der AID-Konsensussequenz, sowohl das G-Protein β/γ-Dimer als auch die Ca^{2+}-Kanal β-Untereinheit binden und somit Einfluss auf die biophysikalischen Eigenschaften der Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheit ausüben. Im N-terminalen Bereich dieser AID der P/Q-typ, N-typ und R-typ Ca^{2+}-Kanäle befindet sich ein konserviertes Aminosäuresequenzmotiv (QXXER), welches bereits in G-Proteinmodulierten Proteinen wie der Adenylatcyclase Typ-2 wie auch der Phospholipase C-β gefunden wurde (Chen et al., (1995)) und das man ebenso für die Interaktion von G-Protein β/γ mit der Ca^{2+}-Kanal α_1-Untereinheit verwantwortlich macht.

Abb. 3: Konsensussequenzen der AID („alpha interaction domain“) und BID („beta interaction domain“), die für die Wechselwirkung von Ca^{2+}-Kanal α_1- und β-Untereinheiten identifiziert worden sind. Die mit einem (*) gekennzeichneten Aminosäuren der BID sind essentiell für die Wechselwirkung mit der α_1-Untereinheit (de Waard et al., 1994). Das QXXER-Sequenzmotiv ist in allen α_1-Untereinheiten der Ca_V2 Familie enthalten und ist maßgeblich an der Interaktion mit G-Protein β/γ und der dadurch vermittelten Modulation beteiligt (Herlitze et al., 1997).