

УДК 577.25

Храмов Алексей

Парамонович

доцент, к.б.н. ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И.

Скрябина

Уграицкая Василиса Маратовна

Студентка 2 курса магистратуры “Зоотехния”

ФГБОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И.

Скрябина

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ASIC КАНАЛОВ.

Аннотация: В этой статье приведены обзорные сведения о электрофизиологических свойствах ASIC каналов.

Ключевые слова: ASIC-каналы, электрофизиологические свойства, десенситизация, протон-зависимая активация.

Authors:

Hramov Alexey Paramonovich

Russia, Moscow Associate

Professor, Candidate of Biological Sciences,

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow

state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MVA by K.I.

Skryabin

Vasilisa Maratovna Ugraitskaya

2nd year student of the Master's degree in "Animal Science"

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Moscow

state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology - MVA by K.I.

Skryabin

Abstract: This article provides an overview of the electrophysiological properties of ASIC channels.

Keywords: ASIC channels, electrophysiological properties, desensitization, proton-dependent activation.

Электрофизиологические свойства каналов ASIC

Каналы ASIC способны к активации за счёт быстрого увеличения концентрации внеклеточных протонов [29]

При этом, ASIC каналы обычно быстро снижают чувствительность и инактивируются после активации протонами. Это создаёт специфические переходные токи. [13; 29]

Но при медленном закислении внеклеточной среды или присутствия pH недостаточно низкого для активации каналов наблюдается устойчивая десенситизация. [3]

ASIC каналы не способны реагировать на дополнительное снижение внеклеточного pH.

Немало исследований продемонстрировали, что стабильная десенситизация не допускает гибель нейронов, вызванную закислением внеклеточной среды, а также изменяет поведение грызунов. [7; 29; 28; 35]

Вызванная кислотой устойчивая десенситизация.

ASICs подвергаются устойчивой десенситизации (также называемой устойчивой инактивацией), при которой канал переходит в десенситизированное состояние без очевидного перехода в открытое состояние [3]. Этот процесс происходит при воздействии слабого повышения концентрации протонов в течение времени порядка от нескольких секунд до нескольких минут [3; 11; 27]. После того, как

произошла десенситизация в устойчивом состоянии, при дальнейшем увеличении концентрации протонов ток практически не наблюдается. Фактически, ингибитор ASIC псалмотоксин 1 (PsTx1) вызывает нейропротекторный эффект, способствуя устойчивой десенситизации канала. [5; 29; 30] Стабильная десенситизация, как и активация, опосредуется связыванием протонов с внеклеточным доменом канала [3]. Многочисленные исследования показывают, что протон-зависимая активация и устойчивая десенситизация связаны между собой [4; 21; 25]. Например, домены белка, участвующие в десенситизации в стационарном состоянии, перекрываются с доменами, участвующими в протонзависимой активации. [4; 21; 25] Остатки в кислотном кармане играют роль в кажущейся чувствительности к протонам при десенситизации и активации в стационарном состоянии. [34] Кроме того, концентрация кальция обратно пропорционально влияет на кажущуюся протонную аффинность как стационарной десенситизации, так и активации [3; 27]. Наконец, пептид PsTx1, будучи сильным ядом, также влияет на протонную зависимость как стационарной десенситизации, так и активации ASIC1a [5]. Эти результаты позволяют предположить, что существуют сходные механизмы, ответственные за протон-зависимую активацию и стационарную десенситизацию. Однако существуют важные различия между индуцированной протонами десенситизацией и активацией в стационарном состоянии. Видимое сродство к протону для стационарной десенситизации намного выше, чем активация, и происходит при более нейтральном pH [3]. Кривая реакции на дозу протона при стационарной десенситизации имеет большой коэффициент Хилла и демонстрирует значительно большую кооперативность [3]. Эти результаты позволяют предположить, что стационарная десенситизация может использовать "высокоаффинные" протонсвязывающие сайты, которые способствуют десенситизации с течением времени, а не активации. В поддержку этой идеи, изменения определенных титруемых остатков (в частности, E235 и E254 в hASIC1a) могут специфически влиять на видимую протонную чувствительность устойчивой десенситизации без значительного влияния на pH50 для активации

[21]. Модуляторы каналов также могут специфически влиять на десенситизацию в стационарном состоянии или дифференцированно влиять на кажущуюся протонную аффинность десенситизации и активации в стационарном состоянии [24]. Кроме того, некоторые аминокислоты играют важную роль в определении кажущейся протонной чувствительности активации или десенситизации в стационарном состоянии, что позволяет предположить, что остатки могут играть различные роли в протон-зависимом открытии. [8; 18; 21] Важно отметить, что мутация N415 (сASIC1) в линкере $\beta 11$ - $\beta 12$ преимущественно влияет на кажущуюся протонную чувствительность десенситизации в стационарном состоянии (рис. 3B и D) [18]. Другое соображение заключается в том, что конформация канала, вызванная стационарной десенситизацией, похожа на десенситизированное состояние, которое возникает после опосредованной протонами активации. [11] Таким образом, можно ожидать, что участки белка, участвующие в десенситизации после активации, также влияют на десенситизацию в стационарном состоянии. Тот факт, что для индукции стационарной десенситизации, вероятно, требуется большое конформационное изменение, предполагает, что мутации во многих остатках могут влиять на видимую протонную чувствительность. Дальнейшее понимание различий между индуцированной протонами десенситизацией и активацией в стационарном состоянии может дать конкретное представление о механизмах этих двух потенциально терапевтически важных состояний работы ASIC каналов.

Механизмы протон-зависимого открывания ASIC-каналов.

Многое еще предстоит выяснить, как связывание протонов с внеклеточным доменом вызывает активацию и десенситизацию канала. Кислотный карман расположен между большим пальцем и пальцем, и было предложено, что взаимодействие между этими доменами является важным аспектом работы ASIC [12]. Мутации, которые, как предполагается, дестабилизируют это

взаимодействие, снижают кажущуюся протонную чувствительность активации канала, а мутации, которые, как предполагается, стабилизируют это взаимодействие, повышают кажущуюся протонную чувствительность [32]. Область у основания большого пальца играет критическую роль в переводе сигналов во внеклеточном домене на изменения в трансмембранных областях. В частности, область петли у основания большого пальца, которая связывает $\beta 9$ ладони с $\alpha 4$ большого пальца, является критической для кислотозависимого функционирования. [17;32] В этой петле остатки пролина создают резкий поворот, который позволяет триптофану 288 взаимодействовать с тирозином 72 в домене запястья рядом с трансмембранным доменом 1 (рис. 3) [17]. Специфические мутации W288, P287 или Y72 могут устранить кислотозависимое открытие и закрытие ASICs [17;22;32]. Дополнительные конформационные изменения в области запястья, как внеклеточные к TM1, так и TM2, происходят при открытии канала и важны для нормальной активности канала. [17;22;32] Предполагается, что конформационные изменения в запястье приводят к скручиванию или изгибающему движению трансмембранных доменов, что инициирует открывание канала. [10; 19; 28; 31; 32] Множество доказательств указывает на то, что и TM1, и TM2 претерпевают конформационные изменения при открытии и закрытии канала. [1;19; 23] Однако определенное скручивающее движение TM2 (трансмембранной спирали, которая преимущественно выстраивается в поре) не было подтверждено исследованиями доступности ASIC1 миноги. [19] Вместо этого данные поддерживают модель, в которой активация включает уменьшение наклона трансмембранных спиралей, что расширяет внешнее устье и формирует сужение в глубине поры (возможно, фильтр избирательности). Аналогичный механизм используется рецепторами P2X, которые имеют общие структурные особенности и характеристики открытия ASICs. [10]

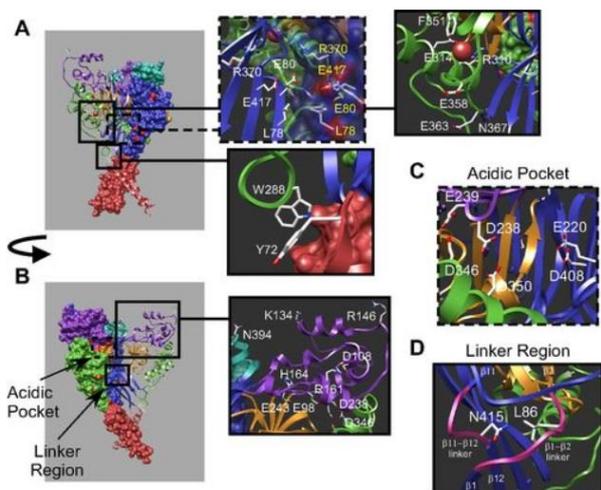


Рисунок 3.

Переход из закрытого состояния в открытое и десенситизированное состояние включает другие конформационные изменения во внеклеточном домене. Мутация остатков в области линкера $\beta 1$ - $\beta 2$ в ладони, нити $\beta 1$ в ладони, линкера $\beta 11$ - $\beta 12$, а также домена запястья влияет на кинетику открытия и закрытия поры. [6;8;26]

Эти события макроскопически проявляются в виде изменения скорости десенситизации, протонной зависимости активации, протонной зависимости устойчивой десенситизации или устойчивого открытия канала. [8; 16; 26]

В области $\beta 1$ ладони ASIC3, E79 (E80 в cASIC1) становится менее доступным, когда канал находится в десенситизированном состоянии по сравнению с закрытым состоянием. [8]

Это подтверждает идею о том, что эта область претерпевает конформационные изменения во время открытия. Аналогично, аминокислота 110 в акульем ASIC1a (соответствующая A82 в cASIC1) в $\beta 1$ - $\beta 2$ линкере также более доступна, когда канал закрыт по сравнению с десенситизированным. [26] Кроме того, по-видимому, существует плотное прилегание между этим остатком в линкере $\beta 1$ - $\beta 2$ и остатком компонента (соответствующим V413 в cASIC1) в области линкера $\beta 11$ - $\beta 12$, когда канал десенситизирован. [26]

Было показано, что другие остатки в области линкера $\beta 11$ - $\beta 12$ также играют роль в открытии канала, в частности в десенситизации, что подтверждает идею о том, что перемещение этих областей является критическим для нормального стробирования. В совокупности эти данные позволяют предположить, что активация и в частности десенситизация, связано с перемещением доменов ладони. Мутации остатков в области контакта между β -шариком, пальцем и верхним доменом ладони также влияют на активацию канала и экспрессию канала на поверхности. В частности, остатки в пределах петли β -шарик-палец (остатки 94-97, 101 в hASIC1a), палец (163-164 в hASIC1a) и петля ладонь-палец (224, 226, 228-229 в hASIC1a) являются критическими для нормальной активности [4]. Кроме того, имеются данные о том, что эта область также претерпевает конформационные изменения при активации [4]. Таким образом, несколько областей внеклеточного домена перемещаются во время стробирования канала. Эта идея согласуется с другими, более общими, исследованиями, предполагающими, что при переходе от закрытого к десенситизированному состоянию происходит большое конформационное изменение внеклеточного домена. [2]

ИСТОЧНИКИ:

1. Adams CM, Snyder PM, Price MP, Welsh MJ. Protons activate brain Na⁺ channel 1 by inducing a conformational change that exposes a residue associated with neurodegeneration. *J Biol Chem* 273: 30204–30207, 1998.
2. Askwith CC, Benson CJ, Welsh MJ, Snyder PM. DEG/ENAC ion channels involved in sensory transduction are modulated by cold temperature. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 6459–6463, 2001.
3. Babini E, Paukert M, Geisler HS, Grunder S. Alternative splicing and interaction with di- and polyvalent cations control the dynamic range of acid-sensing ion channel 1 (ASIC1). *J Biol Chem* 277: 41597–41603, 2002.
4. Bargeton B, Kellenberger S. The contact region between three domains of the extracellular loop of ASIC1a is critical for channel function. *J Biol Chem* 285: 13816–13826, 2010.
5. Chen X, Kalbacher H, Grunder S. The tarantula toxin psalmotoxin 1 inhibits acid-sensing ion channel (ASIC) 1a by increasing its apparent H⁺ affinity. *J Gen Physiol* 126: 71–79, 2005.
6. Coric T, Zhang P, Todorovic N, Canessa CM. The extracellular domain determines the kinetics of desensitization in acid-sensitive ion channel 1. *J Biol Chem* 278: 45240–45247, 2003.
7. Coryell MW, Ziemann AE, Westmoreland PJ, Haeflner JM, Kurjakovic Z, Zha XM, Price M, Schnizler MK, Wemmie JA. Targeting ASIC1a reduces innate fear and alters neuronal activity in the fear circuit. *Biol Psychiatry* 62: 1140–1148, 2007.
8. Cushman KA, Marsh-Haffner J, Adelman JP, McCleskey EW. A conformational change in the extracellular domain that accompanies desensitization of acid-sensing ion channel (ASIC) 3. *J Gen Physiol* 129: 345–350, 2007.
9. Cushman KA, Marsh-Haffner J, Adelman JP, McCleskey EW. A conformational change in the extracellular domain that accompanies desensitization of acid-sensing ion channel (ASIC) 3. *J Gen Physiol* 129: 345–350, 2007.
10. Gonzaless EB, Kawate T, Gouaux E. Pore architecture and ion sites in acid-sensing ion channels and P2X receptors. *Nature* 460: 599–604, 2009.
11. Immke DC, McCleskey EW. Protons open acid-sensing ion channels by catalyzing relief of Ca²⁺ blockade. *Neuron* 37: 75–84, 2003.
12. Jasti J, Furukawa H, Gonzales EB, Gouaux E. Structure of acid-sensing ion channel 1 at 1.9 Å resolution and low pH. *Nature* 449: 316–323, 2007.
13. Krishtal OA, Pidoplichko VI. A receptor for protons in the nerve cell membrane. *Neuroscience* 5: 2325–2327, 1980.
14. Li M, Chang TH, Silberberg SD, Swartz KJ. Gating the pore of P2X receptor channels. *Nat Neurosci* 11: 883–887, 2008.
15. Li M, Kawate T, Silberberg SD, Swartz KJ. Pore-opening mechanism in trimeric P2X receptor channels. *Nat Commun* 1: 44, 2010.
16. Li T, Yang Y, Canessa CM. Asn415 in the beta11-beta12 linker decreases proton-dependent desensitization of ASIC1. *J Biol Chem* 285: 31285–31291, 2010.
17. Li T, Yang Y, Canessa CM. Interaction of the aromatics Tyr-72/Trp-288 in the interface of the extracellular and transmembrane domains is essential for proton gating of acid-sensing ion channels. *J Biol Chem* 284: 4689–4694, 2009.
18. Li T, Yang Y, Canessa CM. Leu85 in the beta1-beta2 linker of ASIC1 slows activation and decreases the apparent proton affinity by stabilizing a closed conformation. *J Biol Chem* 285: 22706–22712, 2010.
19. Li T, Yang Y, Canessa CM. Outlines of the pore in open and closed conformations describe the gating mechanism of ASIC1. *Nat Commun* 2: 399, 2011.
20. Li T, Yang Y, Canessa CM. Two residues in the extracellular domain convert a nonfunctional ASIC1 into a proton-activated channel. *Am J Physiol Cell Physiol* 299: C66–C73, 2010.
21. Liechti LA, Berneche S, Bargeton B, Iwaszkiewicz J, Roy S, Michielin O, Kellenberger S. A combined computational and functional approach identifies new residues involved in pH-dependent gating of ASIC1a. *J Biol Chem* 285: 16315–16329, 2008.
22. Passero CJ, Okumura S, Carattino MD. Conformational changes associated with proton-dependent gating of ASIC1a. *J Biol Chem* 284: 36473–36481, 2009.
23. Pfister Y, Gautschi I, Takeda AN, van Bemmelen M, Kellenberger S, Schild L. A gating mutation in the internal pore of ASIC 1a. *J Biol Chem* 281: 11787–11791, 2006.
24. Sherwood TW, Askwith CC. Dynorphin opioid peptides enhance acid-sensing ion channel 1a activity and acidosis-induced neuronal death. *J Neurosci* 29: 14371–14380, 2009.

25. Sherwood TW , Askwith CC. Endogenous arginine-phenylalanine-amide-related peptides alter steady-state desensitization of ASIC1a. *J Biol Chem* 283: 1818–1830, 2008.
26. Springauf A , Bresenitz P , Grunder S. The interaction between two extracellular linker regions controls sustained opening of acid-sensing ion channel 1. *J Biol Chem* 286: 24374–24384, 2011.
27. Todovic N , Coric T , Zhang P , Canessa C. Effects of extracellular calcium on fASIC1 currents. *Ann NY Acad Sci* 1048: 331–336, 2005.
28. Tolino LA , Okumura S , Kashlan OB , Carattino MD. Insights into the mechanism of pore opening of acid-sensing ion channel 1a. *J Biol Chem* 286: 16297–16307, 2011.
29. Waldmann R , Bassilana F , de Weille J , Champigny G , Heurteaux C , Lazdunski M. Molecular cloning of a non-inactivating proton-gated Na⁺ channel specific for sensory neurons. *J Biol Chem* 272: 20975–20978, 1997.
30. Xiong ZG , Chu XP , Simon RP. Ca²⁺-permeable acid-sensing ion channels and ischemic brain injury. *J Membr Biol* 209: 59–68, 2006.
31. Yang H , Yu Y , Li WG , Xu TL , Jiang H. Conformational sampling on acid-sensing ion channel 1 (ASIC1): implication for a symmetric conformation. *Cell Res* 19: 1035–1037, 2009.
32. Yang H , Yu Y , Li WG , Yu F , Cao H , Xu TL , Jiang H. Inherent dynamics of the acid-sensing ion channel 1 correlates with the gating mechanism. *PLoS Biol* 7: e1000151, 2009.
33. Yokokawa M , Carnally SM , Henderson RM , Takeyasu K , Edwardson JM. Acid-sensing ion channel (ASIC) 1a undergoes a height transition in response to acidification. *FEBS Lett* 584: 3107–3110, 2010.
34. Yu Y , Chen Z , Li WG , Cao H , Feng EG , Yu F , Liu H , Jiang H , Xu TL. A nonproton ligand sensor in the acid-sensing ion channel. *Neuron* 68: 61–72, 2010.