

Mehansko-občutljivi ionski kanalčki

Nuša Brdnik, Maja Deutsch, Mark Loborec, Klara
Razboršek, Teja Spruk

Uvod

01

Mehanski dražljaj

Tlak, dotik, zvok, gravitacija

02

Prehod ionov

Selektiven ali neselektiven

03

Hiter odziv

Manj kot 1 ms

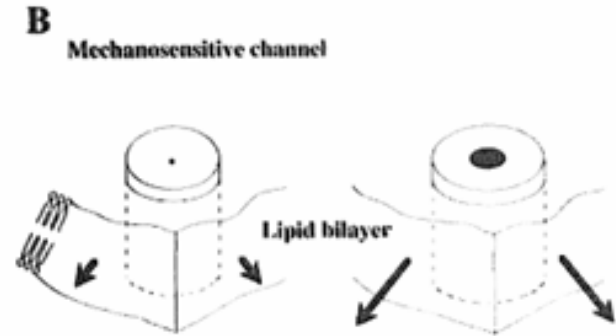
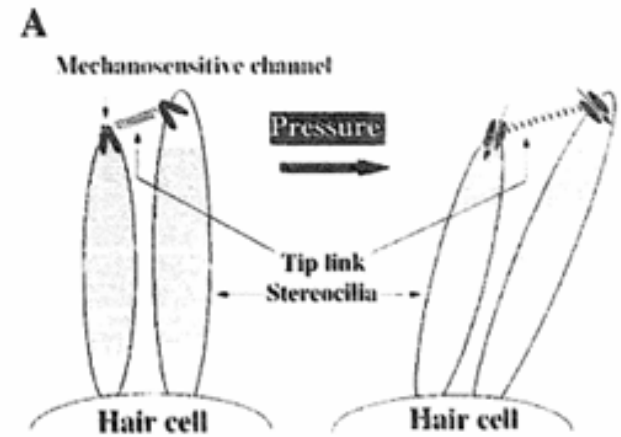
04

Raznolikost

Tako strukture kot funkcije

Delovanje

- Mehanski dražljaj povzroči prehod kanalčka v odprto stanje
- Dva modela: “force from lipids” in “tethered”
- Vsaj dve transmembranski domeni
- Različne vloge (senzorična, odgovor na osmotski tlak)
- Nizek nivo izražanja—problem proučevanja



- Najzgodnejše oblike življenja
- Zaščita pred osmotskim šokom (ohranjeno v bakterijah in arhejah, nekaterih rastlinah)
- Pri evkariontih kompleksnejša vloga
- Verjetno so novi kanalčki nastajali neodvisno

Delitev

01

Piezo kanalčki

02

DEG/ENaC kanalčki

03

Kalijeви kanalčki

04

TRP kanalčki



01

Piezo kanalčki



Piezo kanalčki

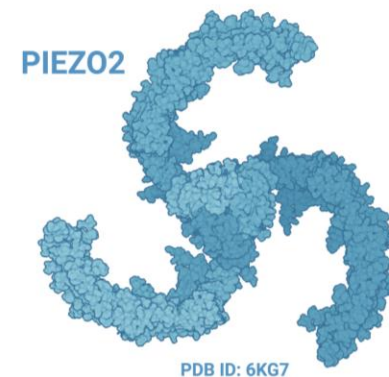
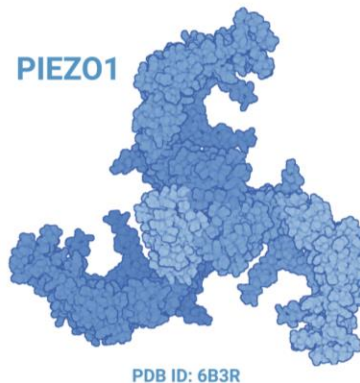
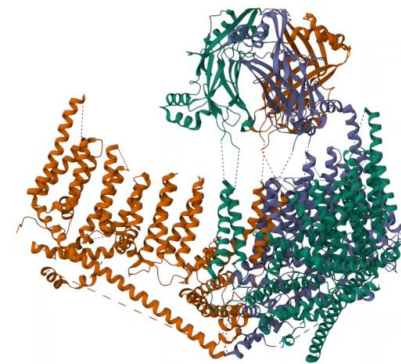
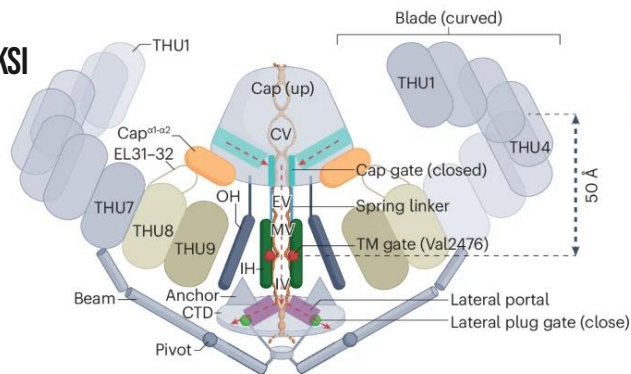
- Transmembranski proteini - omogočajo pretok pozitivno nabitih ionov
- Aktivacija: mehanski dražljaj npr.
 - RAZTEZANJE
 - PRITISK
 - TOK TEKOCINE
- Odkritje šele leta 2010
- Prisotni izključno pri evkariontih
 - Pri vretenčarjih Piezo1 (2521 aa) in Piezo2 (2752 aa) --> več kot **30 transmembranskih vijačnic**
 - Pri nevretenčarjih en Piezo homolog



Dr. Ardem Patapoutian je leta 2010 odkril Piezo kanale in za njih 2021 prejel Nobelovo nagrado.

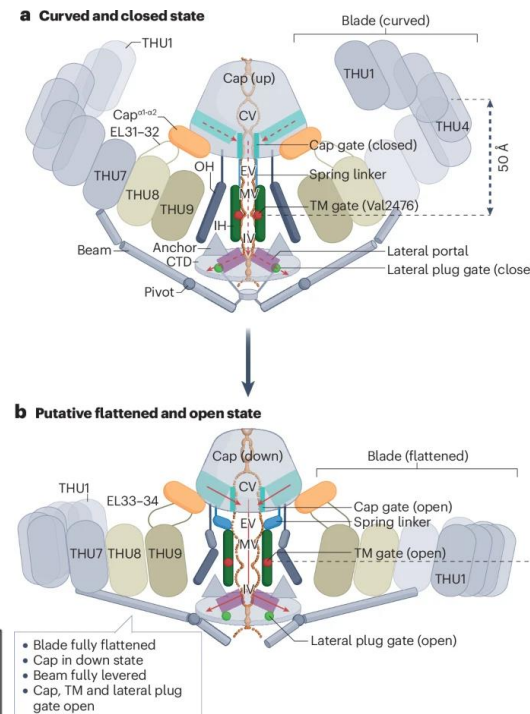
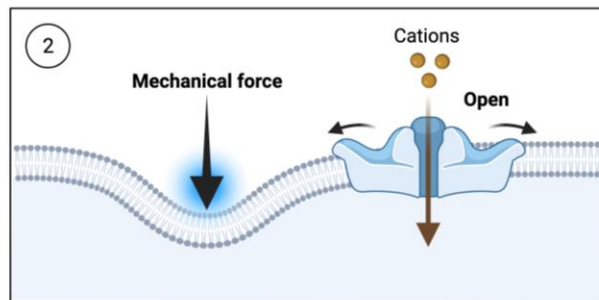
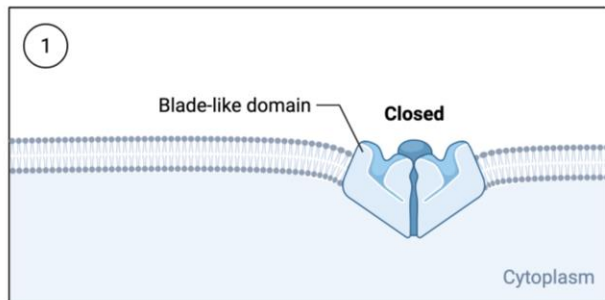
Struktura

- **homotrimer** --> zvijanje v propeler
- Prevodna pora na stiku zadnjih dveh transmembranskih regij (OH in IH)
- Modularna mehanosenzorična domena (omogoča prenos signala)
 - **SIDRO (ANCHOR)**
 - **NOSILEC (BEAM)**
 - **REZILO (BLADE)**
 - **PERIFERNI HELIKSI**



Mehanizem aktivacije

- Glavni signal **sprememba lastnosti membrane**
- Neujemanje hidrofobnega dela membrane in proteina, pri čemer se odpre prevodna pora
- Pomaga mehanizem, ki temelji na principu vzvoda
- Piezo1
 - NIZEK VZDRAŽNI PRAG
 - POLEG MEHANSKIH DRAŽLJAJEV AKTIVACIJA TUDI S KEMIJSKIMI SPOJINAMI
- Piezo2
 - BOLJ SELEKTIVEN ZA TIP DRAŽLJAJA



Izražanje in vloga

Piezo1 bolj pogost v celicah, ki so izpostavljene razliki v tlaku tekočin,
Piezo2 pogosto prisoten v celicah senzoričnih tkiv



Eritrociti

Zaznavanje volumna celic
in osmotskega pritiska



Rastoči nevroni

Vpliv na medcelične
interakcije in mobilnost celic



Alveole

Sodelovanje pri
transportu kisika



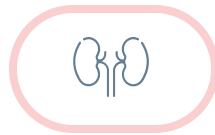
Merklove celice

Ključno za propiocepcijo



Debelo črevo

Pomoč pri pravilni
prebavi, absorpciji hranil

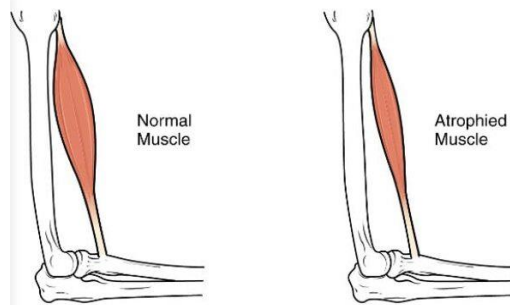


Sečni mehur

Sodelovanje pri
mikcijskem ciklu

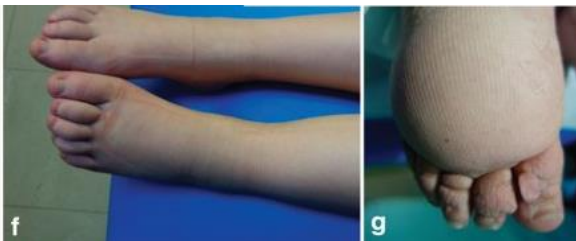
Perinatalna stiska, mišična atrofija ...

Piezo2 loss-of-function mutacije
Motena mehanosenzacija v
proprioceptivnih nevronih, mišicah,
sklepi



Limfna displazija

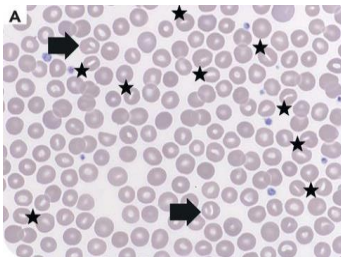
Piezo1 loss-of-function mutacije
Motnje v nastanku limfnih žil



Patologija

Kserocitoza

Piezo1 gain-of-function mutacije
Povečan pretok ionov skozi
membrano --> dehidracija
eritrocitov



Nevromišični sindromi

Piezo2 gain-of-function mutacije
DA5, Gordonov sindrom, Marden-
Walkerjev sindrom
Motena senzorna povratna
informacija iz mišic in sklepov



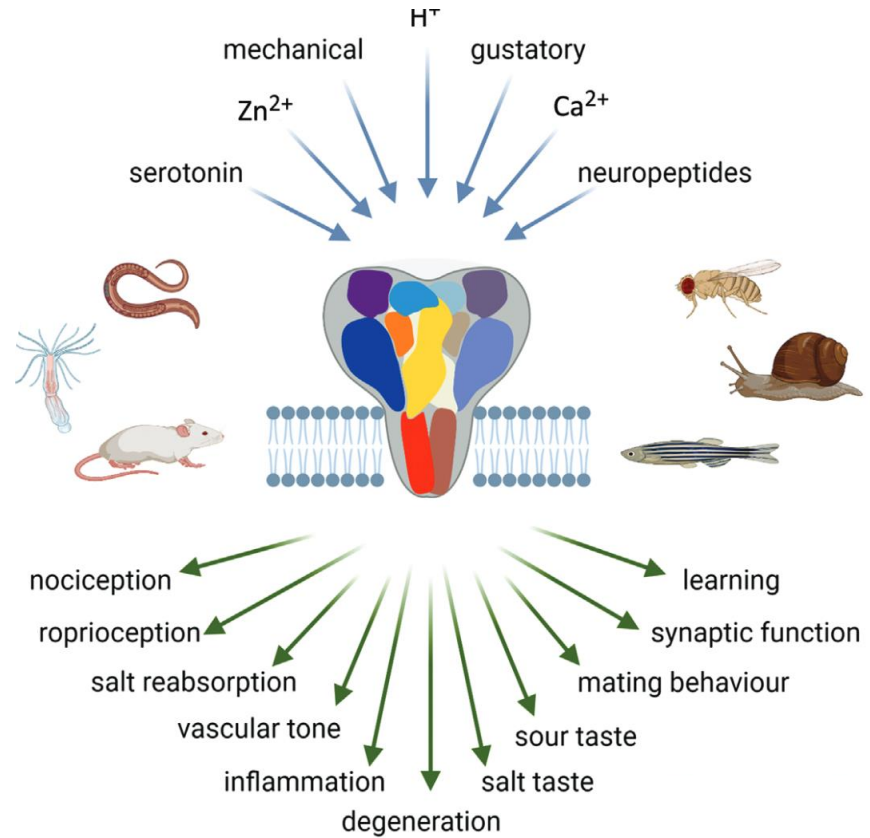


02

DEGenerin/Epitelijski natrijevi kanalčki



Razviti specializirani organi za reprodukcijo, prebavo in koordinacijo



- Visoka funkcionalna heterogenost (kar ni značilno za ostale družine genov ionskih kanalčkov)
- Oblika aktivacije
 - **STALNO AKTIVNI**
 - **MEHANSKO AKTIVIRANI**
 - **AKTIVACIJA Z VEZAVO PEPTIDA (FANAC)**
 - **AKTIVACIJA Z VEZAVO PROTONA (ASIC)**

Razdelitev

ENaC

Epitelijski Na⁺ kanalčki



Esencialna vloga pri
kontroliranju Na⁺
reabsorpcije v ledvicah
in arterijah (odziv na
laminarno strižno silo)

ASIC

„Acid-Sensing Ion
Channels“

Živčni sistem, epitelijske
in imunske celice
Prehodni ali dvofazni
prehod ionov ob
zunanjem zakisanju

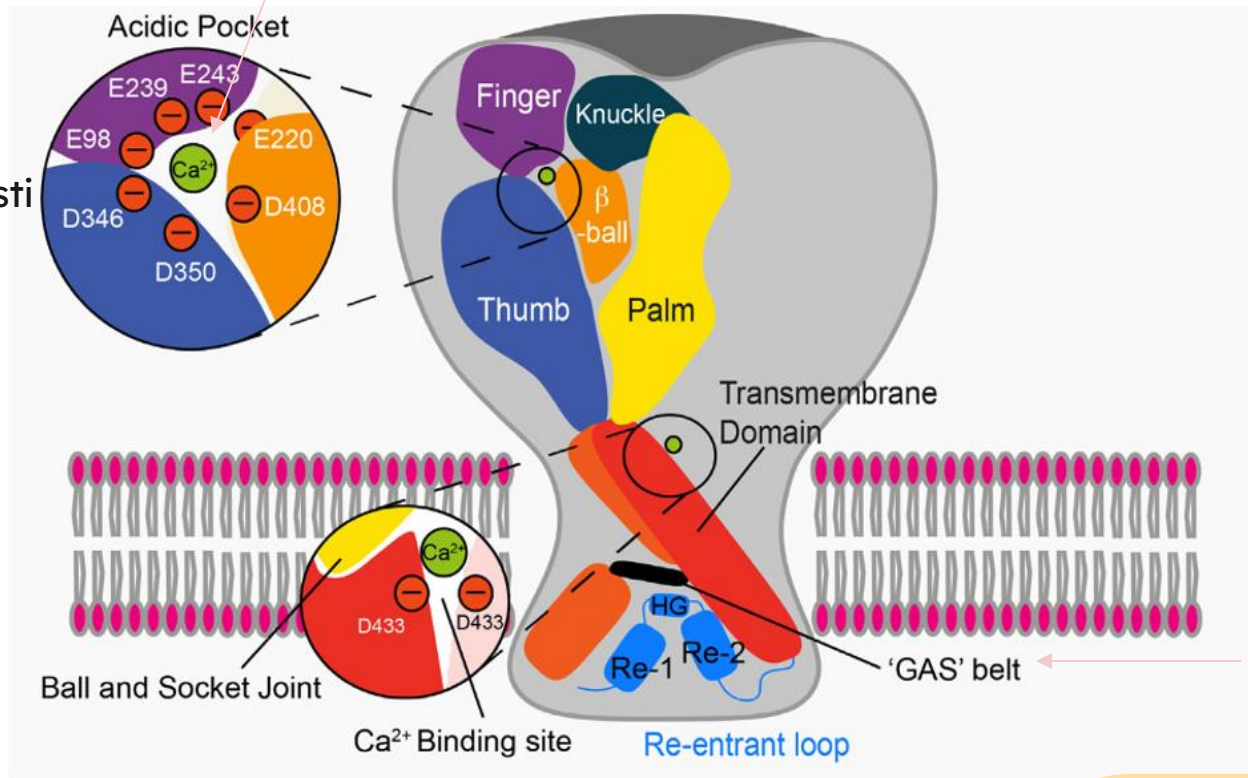
DEGENERINI

Caenorhanditis elegans
– mehanosenzorično
vedenje (občutenje
dotika in propriocepcija)

Struktura

Zaporne lastnosti
kanalčka

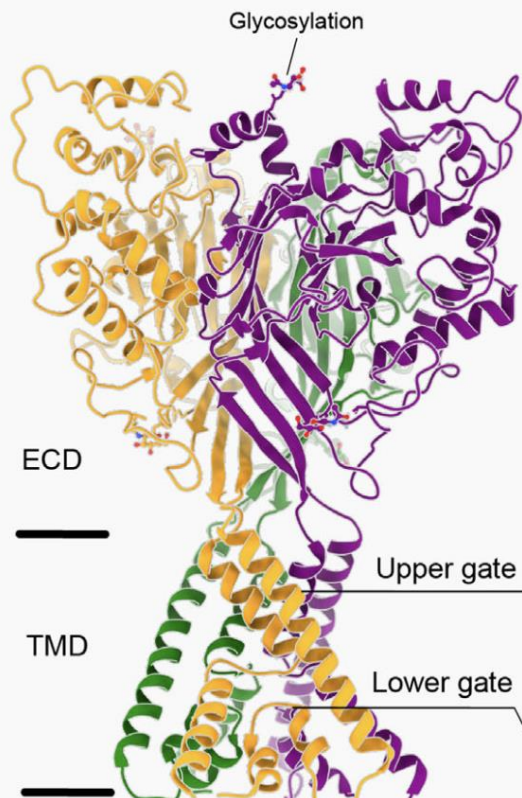
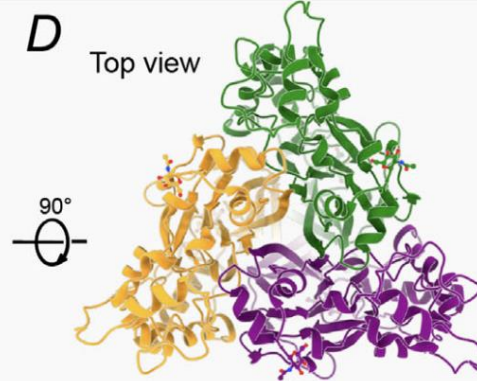
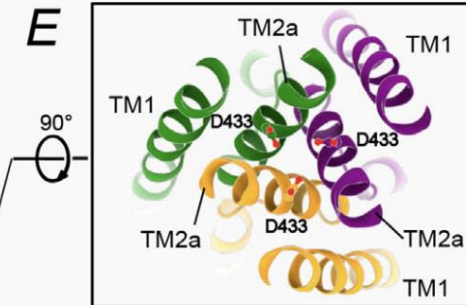
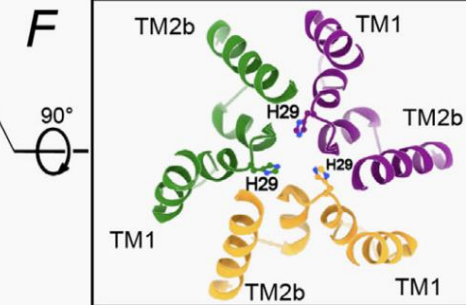
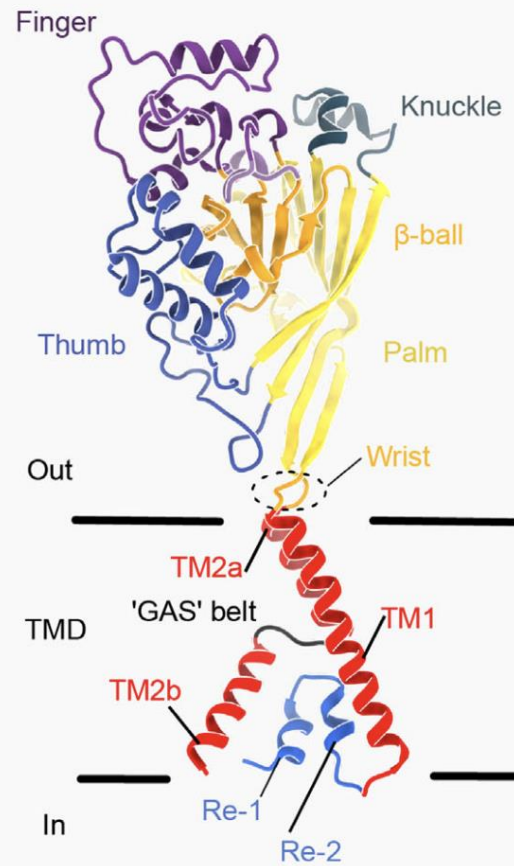
Vezavno mesto za H^+



„Gly-Ala-Ser“
pas

Zanka za ponovni vhod z
organjenim „HG“ motivom

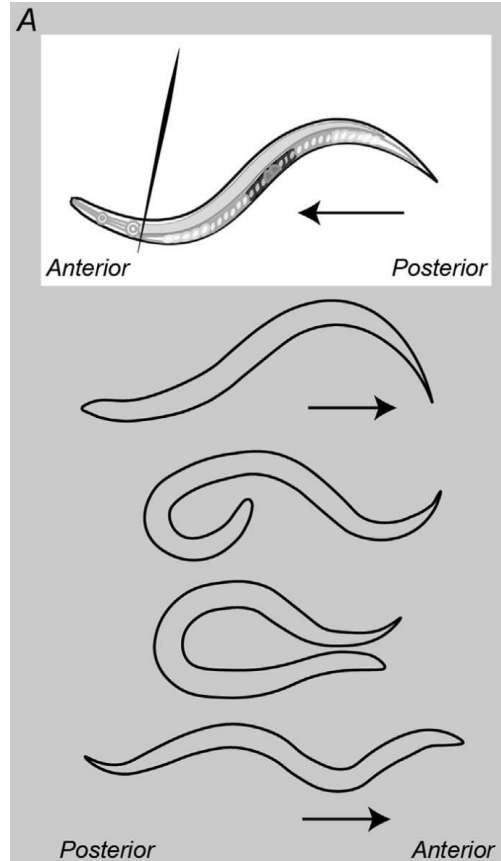
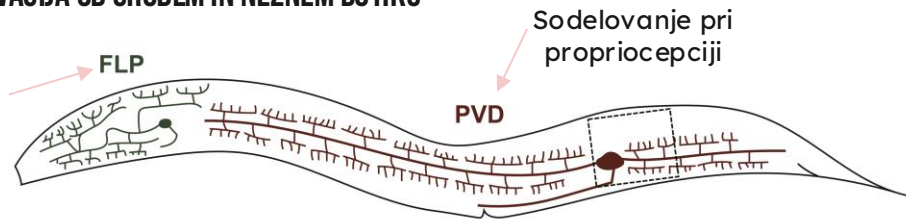
Ohranjena motiva
Zaporna in ionska selektivnost

C**D****E****F****G**

Vloga in izražanje

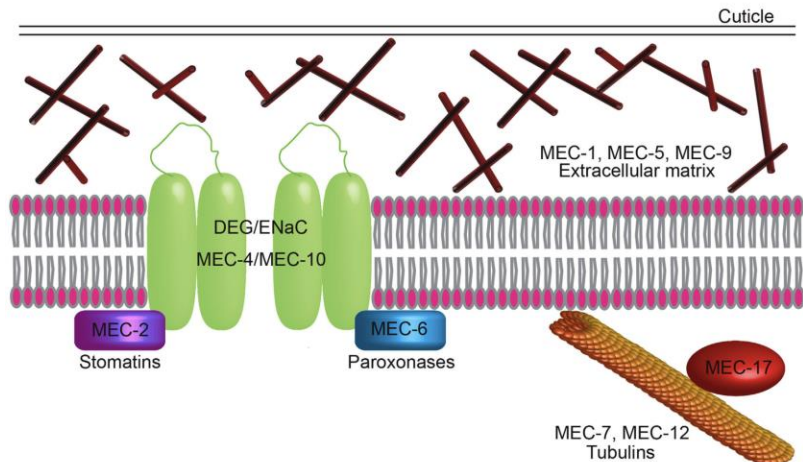
- *C. elegans* – odziv na mehanske stimuluse
 - POBEG OZ. HITRA SPREMEMBA LOKOMOCIJE
 - UPOČASNITEV V PRISOTNOSTI HRANE
 - MODULACIJA PROPRIOCEPCIJE LOKOMOCIJE
- MEC-4
 - NEVRONI OBČUTLJIVI NA DOTIK
 - POBEG OB DOTIKU IN MEHANSKO INDUCIRANIH TOKOVIH
 - NI POTREBEN PRI ODZIVU NA GROB DOTIK
- MEC-10
 - NEVRONI OBČUTLJIVI NA DOTIK
 - AKTIVACIJA OB GROBEM IN NEŽNEM DOTIKU

Odziv na grob dotik
glave in dotik nosa



Vloga in izražanje

- Lokalizacija MEC-4
 - MIKROTUBULARNE PODENOTE
 - ZUNAJCELIČNI MATRIKS
 - KANALČEK PRIVEZAN MED NJIJU – ZAPORNA VZMET



SESALČJI ENaC

- Tvorijo interakcije z aktinom in aktin-vezavnimi proteini
 - AKTIN REGULIRA TRANSPORT ENaC, LOKALIZACIJO IN DELOVANJE
- Glikozilacija
 - N-GLIKOZILACIJA
 - LOKALIZACIJA NA POVRŠINI
 - 2 GLIKOZILIRANA ASPARAGINA → POMEMBNA ZA ZAZNAVANJE SILE

Patologija

- ENaC
 - IZGUBA FUNKCIJE → POVEČANA KOLIČINA POVRŠINSKE TEKOČINE NA DIHALNI POTI (VEČSISTEMSKI PSEVDOKONGENITALNI SALINARNI DIJAZI)
 - POVEČANA AKTIVNOST → ZMANJŠANA KOLIČINA POVRŠINSKE TEKOČINE NA DIHALNI POTI (CISTIČNA FIBROZA)
- ASIC
 - AKTIVACIJA KANALČKOV → POVEČANA KONC. Ca^{2+} → POŠKODBE NEVRONOV MED MOŽGANSKO ISHEMIJO
 - DEGENERACIJA AKSONOV (MULTIPLA SKLEROZA)
 - NAPAKE V ASIC KANALČKIH → EPILEPTIČNI NAPADI

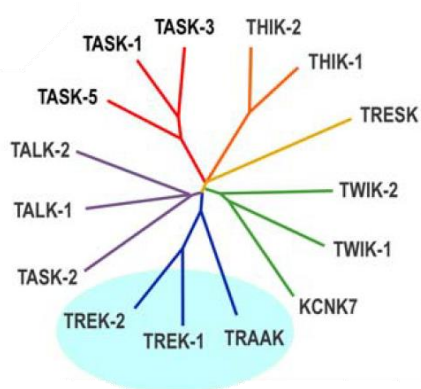
03

Mehansko občutljivi kalijevi kanalčki

TREK-1, TREK-2 in TRAAK

TREK kanalčki

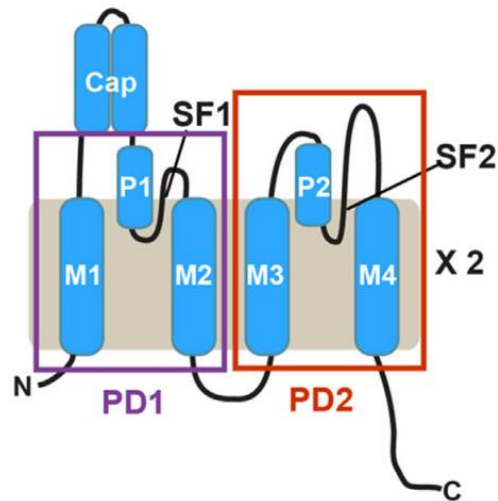
Kalijevi dvoporotvorni kanalčki



- Prevajajo K^+ ione izven celice in povzročijo hiperpolarizacijo in s tem zmanjšano ekscitabilnost celic
- **Poleg mehanske stimulacije, se aktivirajo s številnimi signali**
- Mehanska aktivacija po **mehanizmu sile iz membrane** (angl. *force from lipids*)
- Odzivajo se na vse oblike mehanske stimulacije
- Zelo nizek prag in širok razpon aktivacije

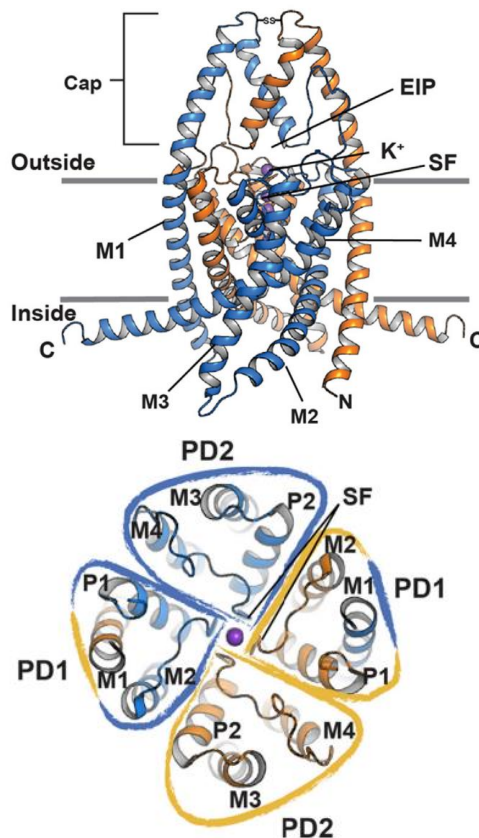


Struktura



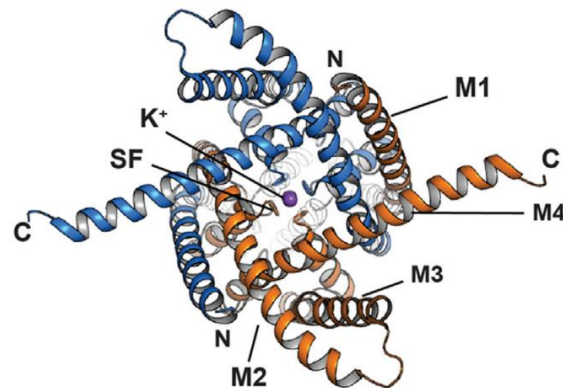
Topologija: **4M/2P**

- 4 transmembranski heliksi (M)
- zanki P1 in P2 tvorita poro
- Podaljšana zanka med TM1 in TM2 tvori ekstracelularno kapico



Ključni strukturni element =
selektivnostni filter

Selektivna sekvenca TVGYG



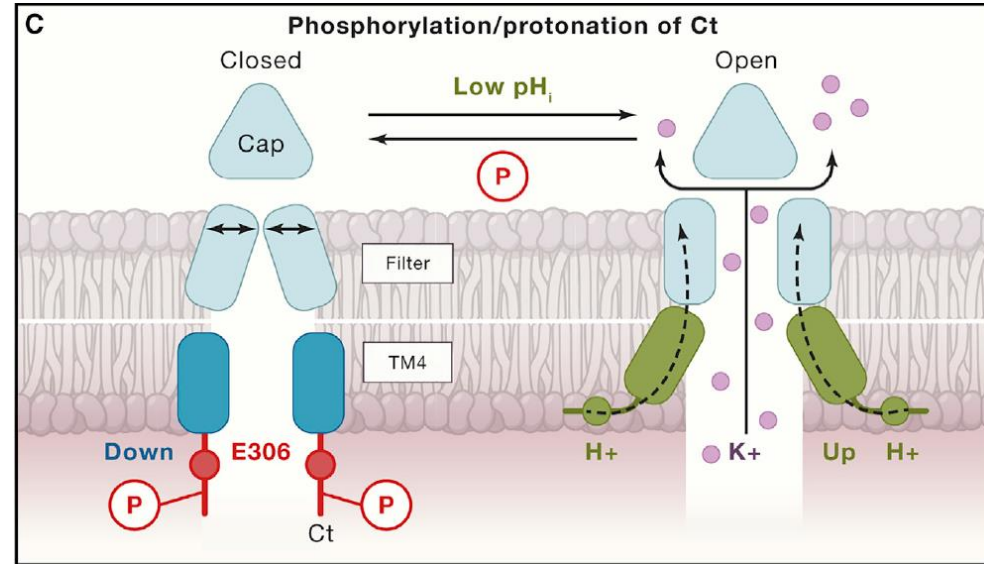
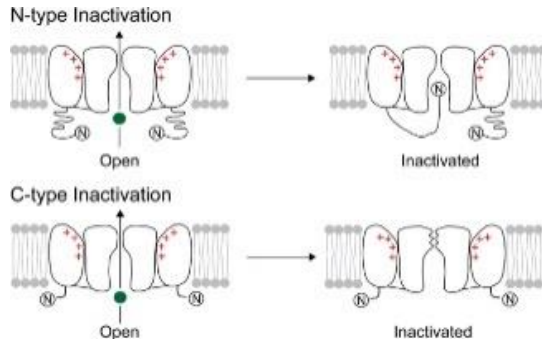
Hetero/homodimerne podenote= PD1 in PD2

Dve podenoti tvorita kanalček s **tetramerno poro**

Mehanizem delovanja

Glavni modeli delovanja

- Konformacijska sprememba TM4 (transmembranskega heliksa 4)
- Mehanizem odpiranja vrat tipa C
- Regulacija znotrajcelične c-končne regije



Izražanje in vloga

- **Širok nabor izražanja** (centralni in periferni živčni sistem, notranji votli organi, kardiovaskularni sistem,...)
- **Odpiranje kanalčkov sproži hiperpolarizacijo celic in zmanjša proženje akcijskega potenciala**
- Vloga pri vzdrževanju membranskega mirovnega potenciala
- **V notranjih votlih organih preprečijo neželene kontrakcije**
- Vloga v nevroprotekciji in odzivu na bolečino
- Vloga v zaznavanju toplote in mehanskih dražljajev

Pregled (pato)fizioloških funkcij TREK kanalčkov



Gastrointestinal tract

- Adaptive relaxation
- Hirschprung's disease:
Decreased channel expression



Bladder

- Stretch-induced relaxation
- Bladder overactivity:
Decreased channel activity



Uterus

- Quiescence during pregnancy
- Regulation of expression:
Stretch and sexual hormones



Heart

- Sinoatrial pacemaking, atrioventricular conduction
- Atrial fibrillation, ventricular arrhythmia
- Increased expression in cardiac hypertrophy



Vasculature

- Pressure-induced vasodilation
- Endothelium-dependent vasodilation



Nervous system

- Peripheral nervous system:
 - Sensitivity to heat and mechanical stimuli
 - Inflammatory and migraine pain
- Central nervous system:
 - Fetal development
 - Neuroprotection during ischaemia

Patologija

- Drugačnosmiselne mutacije v TM3/4 TRAAK povzročajo **nevrorazvojni sindrom**
- TREK-1 $-/-$ miši kažejo:
 - Večja občutljivost na ishemijo, epileptične napade in bolečino
 - Fenotip, odporen proti depresiji
- Terapevtski potencial v razvijanju **antidepresivov, ki inhibirajo TREK-1**

Simptomi nevrorazvojnega sindroma, ki ga povzročajo TRAAK mutacije



Subject 1 c.515C>A (p.Ala172Glu)



Subject 2 c.730G>C (p.Ala244Pro)



Subject 3 c.515C>A (p.Ala172Glu)

04

Kanalčki prehodnega tranzicijskega potenciala

angl. *transient receptor potential (TRP) channels*

TRP kanalčki

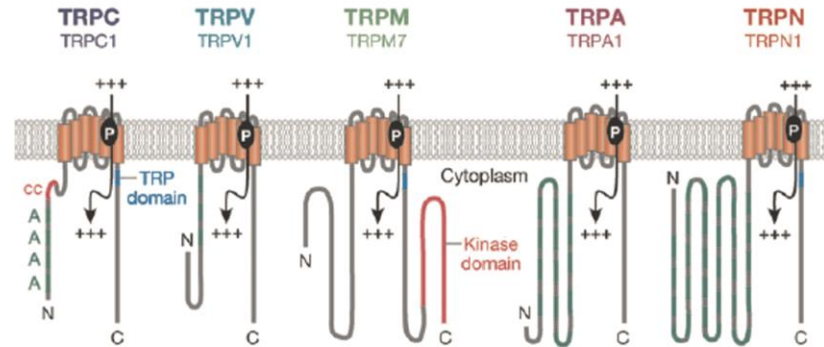
- senzorji za celične in okoljske signale
- aktivacija
 - OKOLJSKI STRESNI DEJAVNIKI
 - POŠKODBE TKIVA
 - SPREMEMBE TEMPERATURE, PH IN OSMOLARNOSTI
 - HLAPLJIVE SPOJINE, CITOKINI, RASTLINSKE SPOJINE
- odkritje TRP kanalčkov v *Drosophili melanogaster* → 60. leta 20. stoletja



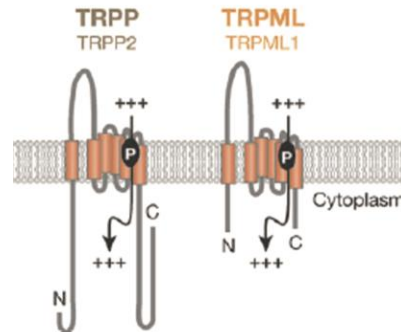
TRP kanalčki

- 28 različnih genov
- 7 poddružin:
 - TRPA - ANKIRINSKI
 - TRPC - KANONIČNI
 - TRPM - MELASTATINSKI
 - TRPML - MUKOLIPINSKI
 - TRPN - NOMP
 - TRPP - POLICISTINSKI
 - TRPV - VANILOIDNI
- razvrščamo v dve 2 skupini

skupina 1

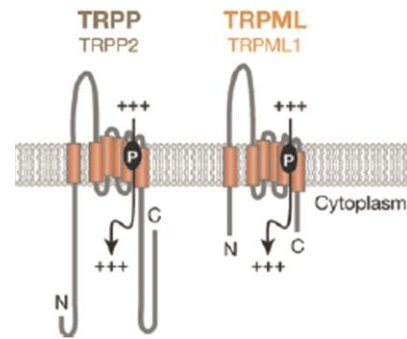
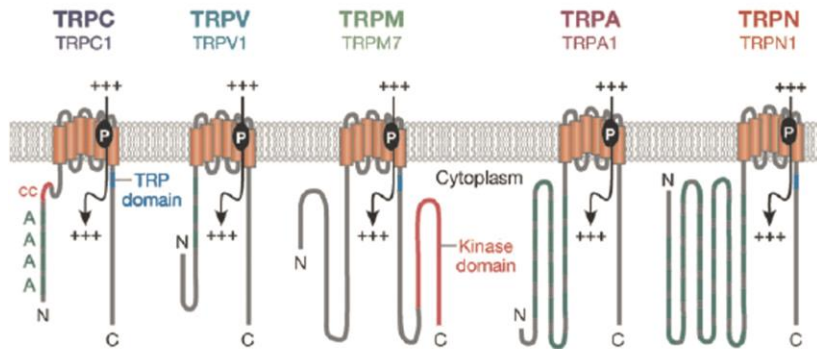


skupina 2



Struktura

- **kationski** kanalčki s **6 transmembranskimi vijačnicami**
- ankirinske ponovitve (N-končni del), TRP domena, kinazna domena (C-končni del)
- zelo variabilno tudi med kanalčki iz iste poddružine



Struktura

TRPC1
793 aa



TRPV1
839 aa



TRPM2
1503 aa



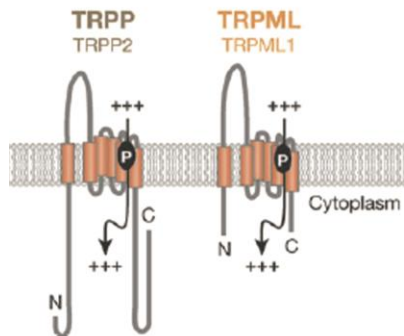
TRPA1
1119 aa



TRPML1
580 aa



TRPP2
968 aa



Red box: Transmembrane span

White box: EF hand

Green box: CaM binding

Orange box: Coiled coil

Blue box: PH-like domain

Yellow star: Phosphorylation site

Purple box: TRP box

Grey box: Ankyrin repeat

Blue dot: N-glycosylation site

Pink box: ER retention signal

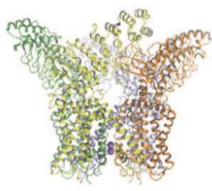
Pink box: NUDIX domain

skupina 1

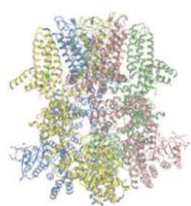
skupina 2



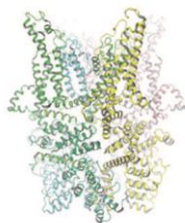
TRPA



TRPV



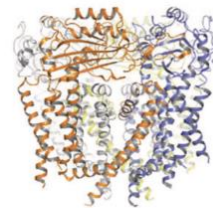
TRPM



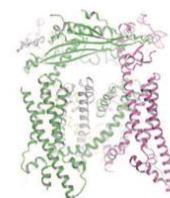
TRPC



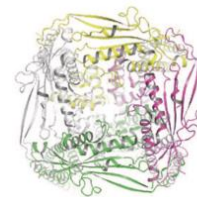
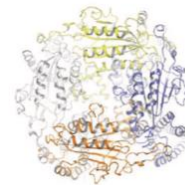
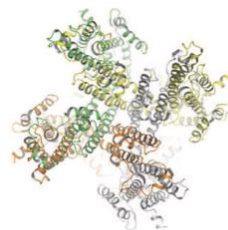
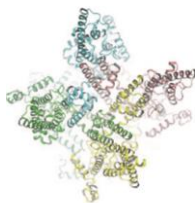
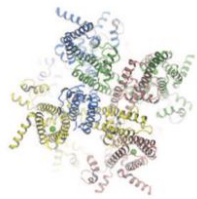
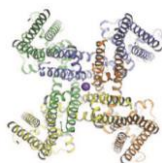
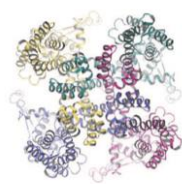
TRPN



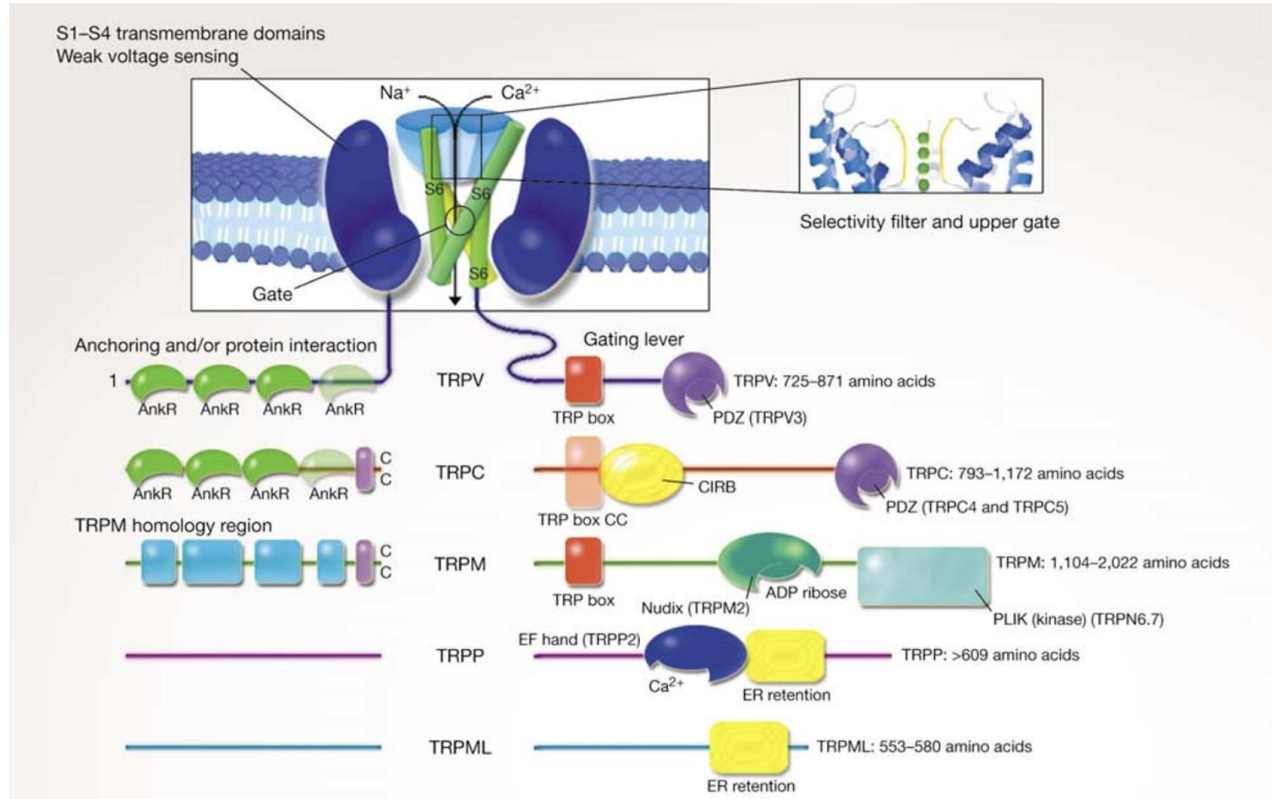
TRPP



TRPML



TRP kanálčki

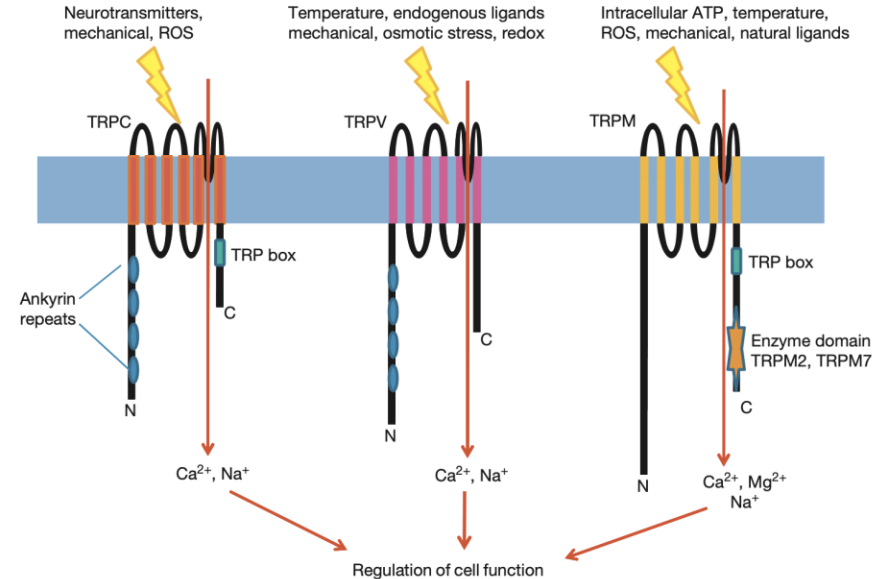


Mehanizem

- različni mehanizmi aktivacije:
 - VEZAVA LIGANDA
 - SPREMEMBE V TEMPERATURI IN NAPETOSTI
 - KOVALENTNE MODIFIKACIJE AMINOKISLINSKIH OSTANKOV
 - DIREKTNNA AKTIVACIJA Z MEHANSKIMI IN OSMOTSKIMI DRAŽLJAJI
 - KONSTITUTIVNA AKTIVACIJA
- regulacija aktivnosti kanalčkov:
 - POSTTRANSKRIPCijske MODIFIKACIJE
 - MEHANIZMI, POVEZANI Z GPCR
 - (DE)FOSFORILACIJA
 - UBIKVITINACIJA

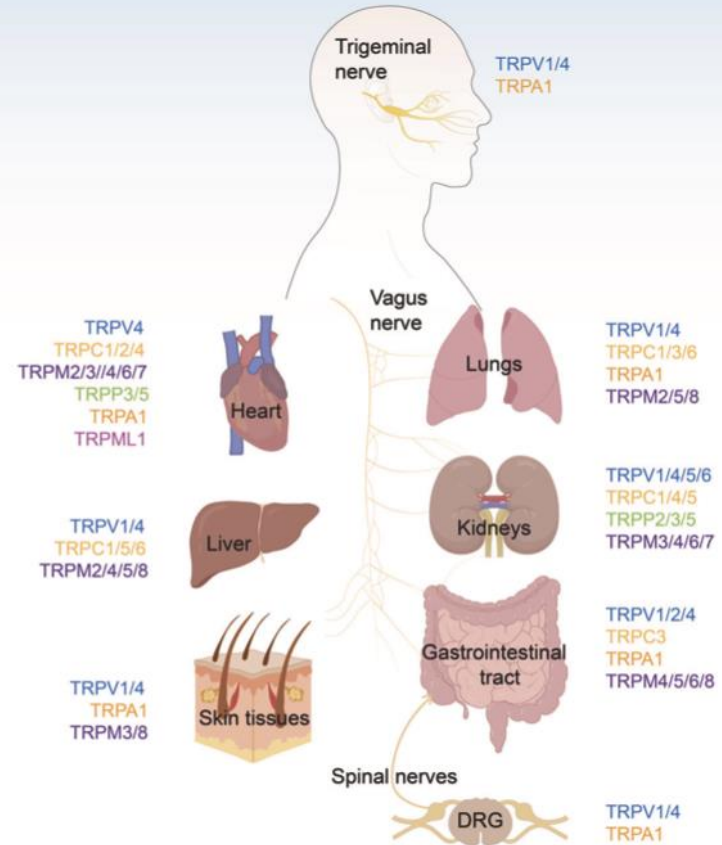
Mehanizem

- napetost membrane
 - **LIGANDI IN SPREMENBE TEMPERATURE LAHKO SPREMENIJO PRAG AKTIVACIJE**
 - **ARG IN LYS OSTANKI**
- membranski fosfolipidi
 - **PIP2 – FOSFATIDILINOZITOL 4,5-BISFOSFAT**
 - **TRPM5 IN 8 → Ca^{2+} - PLC – INAKTIVACIJA / DESENZITIZACIJA**
- fosforilacija
 - **PROTEIN KINAZA C**
 - **DIREKтна AKTIVACIJA ALI SAMO SENZITIZACIJA (TRPV1)**
 - **TUDI INAKTIVACIJA (TRPM8)**
- ligandi
 - **EKSOGENI IN ENDOGENI**
 - **TRPM8 → MRAZ IN MENTOL**



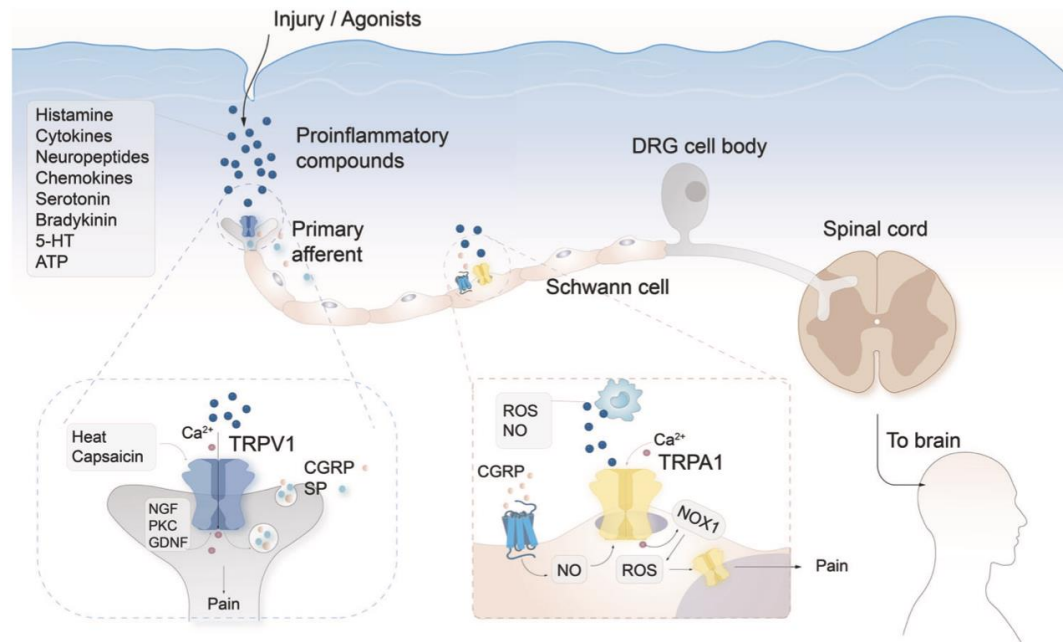
Izražanje in vloga

- vsi tipi tkiv in celic
- vse celične membrane (razen jedro in mitohondriji)
- plazemska membrana
 - **TRANSPORT Ca^{2+} , Mg^{2+} IN DRUGI KOVINSKI IONI**
- senzorne funkcije
 - **FEROMONSKO SIGNALIZIRANJE**
 - **OKUS**
 - **NOCICEPCIJA**
 - **OBČUTENJE TEMPERATURE**
- homeostatske funkcije
 - **OSMOREGULACIJA**
 - **REABSORPCIJA Ca^{2+} IN Mg^{2+}**



Patologija

- rakava obolenja
 - TRPM7 → RAK JAJČNIKOV, MEHURJA, DOJK IN GLIOBLASTOM
 - TRPV4 → MEHANIZMI, POVEZANI Z NASTANKOM RAKA
- vnetni procesi
 - TRPA1 → ARTRITIS
- imunski odziv
 - TRPA1 → ANAFILAKSA
- (kronična) bolečina
 - TRPA1 IN TRPV1



Povzetek vseh kanalčkov

Tip kanalčka	Predstavniki	Strukturne značilnosti	Model mehanizma	Izražanje	(Pato)fiziološki pomen
Piezo kanalčki	Piezo1 Piezo2 Piezo homolog (nevretenčarji)	Homotrimer v obliki propelerja Topologija +30TM	Sprememba lastnosti membrane	Piezo1 (celice izpostavljene razlikam v tlaku tekočin) Piezo2 (celice senzoričnih tkiv)	Piezo1 (zaznavanje volumna, transport kisika ...) Piezo2 (prepoznavanje lahkega dotika)
DEGenerin/ Epitelijski natrijevi kanalčki	ENaC ASIC Degenerini FNaC	Struktura roke Hetero/homotrimeri	Model, privezan na citoskelet in membranske proteine in model sile iz membrane Stalno aktivni, Aktivacija z vezavo peptida ali protonov	Epitelijsko tkivo, nevronske celice, mišično tkivo, celice imunskega sistema	Mehanosenzorično vedenje, nocicepcija, ohranitev sestave tekočine v dihalni poti, sekrecija K ⁺ v lumen tubulov
Mehansko odvisni kalijevi kanalčki	TREK-1, TREK-2, TRAAK	Topologija 4TM/2P Tetramerna pora	Sila iz membrane	Periferni in centralni živčni sistem, Gladkomišične celice	Zaznavanje dražljajev, vloga pri bolečini, nevroprotekciji, depresij i in anesteziji
TRP kanalčki	TRPA, TRPC, TRPM, TRPN, TRPV, TRPP, TRPML	6 transmembranskih vijačnic, homotetramer	Ligandi, napetost membrane, fosfolipidi, fosforilacija	Vsi tipi celic v vseh tkivih	Vloga pri rakavih obolenjih, imunski odziv, vnetja, bolečina