

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-137

ВОЗМОЖНОСТЬ ФОТОКОНТРОЛЯ ПРОТОН-АКТИВИРУЕМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ***THE POSSIBILITY OF PHOTOCONTROL OF ACID-SENSING ION CHANNELS**

Э. Д. Гатаулина, М. В. Николаев

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург

E. D. Gataulina, M. V. Nikolaev

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, Saint Petersburg

✉ maileen2013@yandex.ru

Аннотация

В работе исследовано действие азобензол-содержащего производного спермина на протон-активируемые ионные каналы ASIC1a. Вещество оказывало угнетающее действие на каналы в условиях комнатного освещения, облучение синим светом восстанавливало токи через ASIC1a. Таким образом, обнаружена принципиальная возможность контроля ASIC1a с помощью фотохромных лигандов. Это открывает новые перспективы для разработки оригинальных светуправляемых инструментов.

Abstract

In this work, we investigated the effect of an azobenzene-containing polyamine on the acid-sensing ion channel (ASIC1a). The compound inhibited the ion channels under room light condition, but irradiation with blue light restored currents. Thus, we have discovered the possibility to control ASIC1a using photochromic ligands. This finding is of great importance for the development of new light-controlled tools to study the role of these channels in the CNS.

Протон-активируемые ионные каналы (ASICs) представляют собой Na^+ ионные каналы, которые широко представлены в центральной и периферической нервной системе. Существует четыре гена, кодирующие, как минимум, шесть разных субъединиц, которые образуют гомо- и гетеротримерные комплексы. Активация ASICs происходит при восприятии боли, различных нейродегенеративных процессах, эпилепсии, ишемии. Появляется все больше доказательств того, что ASICs участвуют в синаптической передаче и пластичности, формировании памяти и обучении [1, 2]. Поэтому разработка фармакологических инструментов для изучения ASICs — важная проблема нейрофизиологии.

Перспективным направлением в изучении ионных каналов выступает использование фотохромных лигандов. Фотофармакология данных каналов только начинает свое развитие, но на сегодняшний день существуют блестящие примеры использования фотохромных лигандов для контроля различных ионных каналов с высочайшей пространственной и временной точностью. Данные лиганды для ASICs в настоящее время не описаны. Единственный пример фотохромной модуляции ASICs требует генетических модификаций белка [3].

Ранее было показано, что природный полиамин спермин при внеклеточной подаче оказывает модулирующее влияние на ASIC1a в экспериментах на изолированных культурах *ex vivo* и в моделях ишемии *in vivo* [4]. Мы разработали производное спермина, обладающее свойством фотоизомеризации. Цель данной работы состояла в экспериментальной проверке возможности фотоконтроля ASIC1a с помощью азобензол-содержащих производных спермина.

Эксперименты проводили на гомомерных каналах ASIC1a, экспрессированных в клетках линии CHO-K1. Токи через каналы регистрировали методом patch-clamp в конфигурации «целая клетка» в режиме фиксации напряжения. Рецепторы активировали подачей внеклеточного закисленного раствора. Оптический контроль осуществляли монохроматическим светом (лазер 450 нм). Оценивали изменение ответа ASIC1a в присутствии вещества в темноте (вытянутое транс-конформация) и при облучении светом (свернутое цис-состояние). Тестовая концентрация составила 30 μM .

При подаче соединения в омывающий раствор амплитуда ответов ASIC1a падала примерно в 2 раза по сравнению с контролем ($52 \pm 16 \%$, $n = 6$). Свет волны длиной 450 нм, который индуцирует транс-цис переход для данного соединения, практически полностью восстанавливал амплитуду ответа, угнетение снижалось до $10 \pm 5 \%$, $n = 6$ относительно контроля.

* Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭФБ РАН № 075-00264-24-00.

© Э. Д. Гатаулина, М. В. Николаев, 2024

Варьирование мембранного потенциала не приводило к существенным изменениям действия азобензол-содержащего производного спермина, поэтому оно не является каналоблокатором. Активность соединения также не зависела от величины активирующего рН — вещество не изменяло чувствительность каналов к протонам. Однако стоит отметить, что светозависимость угнетения слабо, но статистически достоверно уменьшалась при активации каналов растворами с наиболее сильным закислением (рН = 4,5). Молекулярные механизмы угнетающего действия соединения неизвестны и требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, азобензол-содержащее производное спермина эффективно угнетает ASIC1a в условиях комнатного освещения в вытянутом транс-состоянии и теряет свою активность при облучении светом, переходя в свернутое цис-состояние. Активность соединения относительно невысока, чтобы рассматривать его как готовый инструмент для исследования. Тем не менее это первый уникальным пример контроля протон-активируемых ионных каналов свободно-диффундирующим фотохромным соединением, что позволяет в дальнейшем развивать фотофармакологию этих каналов. В настоящее время ведется поиск более активных соединений с выраженным эффектом фотопереключения. Учитывая, что во многом роль ASICs в физиологии ЦНС не ясна, такие разработки могут быть особенно интересны.

Литература

1. Sivils A., Yang F., Wang J. Q., Chu X. P. Acid-Sensing Ion Channel 2: Function and Modulation // *Membranes* (Basel). 2022. Vol. 12 (2). P. 113.
 2. Storozhuk M., Cherninskyi A., Maximyuk O., Isaev D., Krishtal O. Acid-Sensing Ion Channels: Focus on Physiological and Some Pathological Roles in the Brain // *Current Neuropharmacology*. 2021 Vol. 19 (9). P. 1570–1589.
 3. Browne L. E., Nunes J. P., Sim J. A. et al. Optical control of trimeric P2X receptors and acid-sensing ion channels // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014. Vol. 111 (1). P. 521–526.
- Duan B., Wang Y. Z., Yang T. et al. Extracellular spermine exacerbates ischemic neuronal injury through sensitization of ASIC1a channels to extracellular acidosis // *The Journal of Neuroscience*. 2011. Vol. 9, № 31 (6). P. 2101–2112.