

Un canal sans pore ? La structure primaire d'un canal perméable aux protons enfin dévoilée

Mohamed Chahine, Jonathan Blanchet,
Antoun El Chemaly, Patrick Bois

M. Chahine, J. Blanchet : Institut de cardiologie de Québec,
Centre de recherche, Hôpital Laval,
2725, chemin Sainte-Foy, Québec (Québec), G1V 4G5 Canada
et Département de Médecine, Université Laval,
Québec (Québec), G1K 7P4 Canada.

Mohamed.Chahine@phc.ulaval.ca

A. El Chemaly, P. Bois : Institut de physiologie
et biologie cellulaires, CNRS UMR 6187,
Université de Poitiers, Poitiers Cedex, France.

> Les canaux à protons activés par le voltage, ont été identifiés pour la première fois en 1982 dans les neurones d'escargots [1] et ont été caractérisés également dans les cellules épithéliales alvéolaires, les macrophages, les granulocytes, les ostéoclastes, les microglies [2] et, plus récemment, dans les fibroblastes cardiaques humains [3, 4]. Ces canaux jouent, entre autres, un rôle important dans la régulation de la production des anions superoxyde (O_2^-) durant le processus de la défense immunitaire, le remodelage osseux et, plus généralement, dans le contrôle du pH intracellulaire. Contrairement à d'autres

canaux cationiques, la nature moléculaire des protéines responsables de ces conductances est demeurée longtemps obscure. Récemment, deux équipes (l'une japonaise et l'autre américaine) ont annoncé le clonage d'un ADN complémentaire (ADNc) d'une protéine ayant une haute homologie avec le domaine senseur de voltage des canaux ioniques dépendants du voltage [5, 6]. L'équipe de Sasaki [5] a cloné cette protéine, nommée mVSOP (*membrane voltage sensor only protein*), chez la souris. De leur côté, Ramsey et ses collaborateurs [6] sont arrivés à la même séquence chez

l'homme et, par conséquent, ont nommé la protéine Hv1 (*human voltage sensor one*). Dans ces deux études, la séquence primaire de la protéine clonée est homologue au senseur de voltage et ne contient aucune autre région homologue à un pore de canal ionique ou à une enzyme (Figure 1). Ces travaux font suite à la découverte, par l'équipe de Okamura [7], d'un senseur de voltage lié à une phosphatase (Figure 1). L'activité de cette enzyme ou Ci-VSP (*ascidian C. intestinalis voltage-sensor-containing phosphatase*) est dépendante de la variation du potentiel transmembranaire. L'expression de ces protéines engendre un courant sortant qui possède les mêmes propriétés électrophysiologiques que le courant protonique décrit depuis quinze ans sur les préparations excitables et non excitables. Ce courant dépendant du voltage dépolarisant présente des cinétiques d'activation lentes, une sensibilité au pH et aux ions Zn^{2+} . D'autres études sur le tissu natif ont montré que l'inhibition par le zinc est dépendante du pH externe. À $pH_o=7$, les courants sont bloqués par le zinc à $10 \mu M$ tandis qu'il faut $100 \mu M$ à $pH_o=6$. L'inhibition augmente de dix fois pour une diminution d'une unité du pH_o . Les potentiels d'inversion du courant, mesurés à différents pH intra- et extracellulaires, correspondent aux potentiels d'équilibre pour les protons tel que prédits par l'équation de Nernst, suggérant que ce canal serait hautement sélectif aux protons. Contrairement à la pompe aux protons, par exemple la F-ATPase (Figure 2), le mouvement des protons est passif puisqu'il suit le gradient électrochimique des H^+ . Par ailleurs, des expériences réalisées en imagerie montrent que le pH intracellulaire, après surcharge acide, se rétablit beaucoup plus rapidement dans les cellules transfectées avec le gène codant mVSOP que dans les cellules non transfectées [5]. Dans ce modèle expérimental, les propriétés d'activation, les cinétiques et les propriétés pharmacologiques (inhibition par les

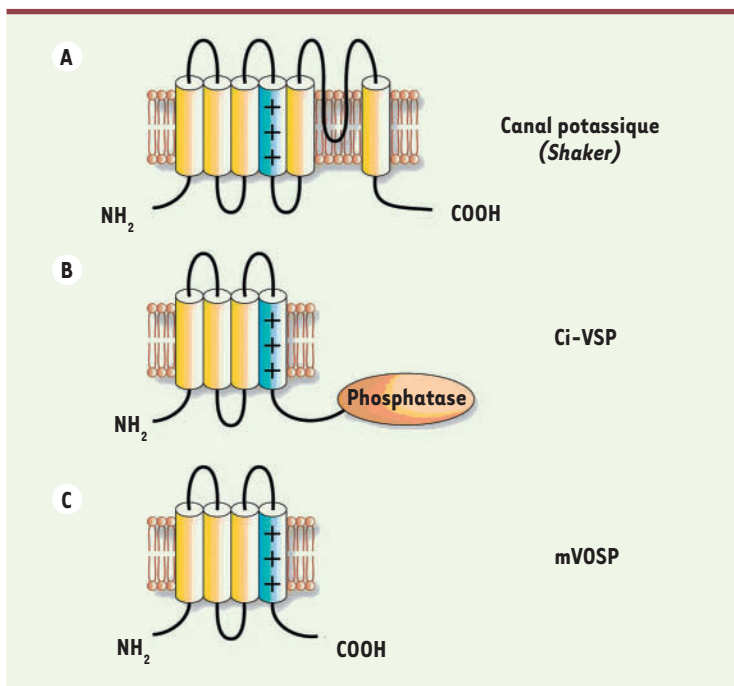


Figure 1. Topologie de trois types de protéines membranaires avec un domaine senseur de voltage. **A.** un canal potassique *Shaker*. **B.** Ci-VSP une phosphatase régulée par le voltage. **C.** mVSOP, senseur de voltage perméable aux protons.

cations divalents tels que le Zn^{2+} et le Cd^{2+}) des courants produits par mVSOP sont identiques à celles des courants macroscopiques sélectifs aux protons enregistrés dans les tissus natifs. De même que les courants à protons décrits dans les tissus natifs, les canaux exprimés sont très sensibles aux changements de température [2]. Ces travaux montrent également, par analogie aux expérimentations décrites sur le senseur de voltage d'un canal ionique bactérien [8], que la neutralisation des charges positives du segment transmembranaire S4 provoque un déplacement du seuil d'activation vers des potentiels plus positifs (estimé à 50 mV pour mVSOP).

Les régions S2, S3 et S4 du canal à protons contiennent des acides aminés chargés positivement (S4) et des résidus chargés négativement (S2-S3). Ces résidus, conservés dans tous les domaines senseurs de voltage des canaux ioniques, joueraient donc un rôle de détecteur de voltage dans les canaux protons. Ainsi, une variation du voltage membranaire, par suite d'une stimulation électrique, ferait changer la conformation du canal pour permettre le passage des protons de part et d'autre de la membrane cellulaire. Dans ces conditions, comment le segment S4 se déplace-t-il dans le champ

électrique ? L'équipe de Mackinnon [9], après avoir cristallisé le domaine senseur du voltage du canal potassique de *Aeropyrum pernis* (ou KvAP), a montré que le mouvement est grand et de type *paddles*. Ce mouvement est incompatible avec les données biophysiques qui prônent un mouvement plus discret de l'hélice α du segment S4. La cristallisation du canal à protons pourrait s'avérer importante pour élucider les diverses hypothèses et répondre aux récentes controverses [10].

Quelle est la région limitant sélectivement le passage des protons, connue sous le terme de filtre sélectif, et comment fonctionne-t-elle ? Deux hypothèses ont été émises : soit la perméabilité aux protons requiert un mouvement de la région S4 pour aligner les résidus et permettre le passage de protons (comme dans le cas de la gramicidine [11]), soit le mouvement du senseur de voltage expose des résidus accepteurs de protons et permet ainsi leur perméabilité. Des travaux réalisés sur le canal potassique *Shaker* montrent que la substitution d'un résidu arginine du segment S4 par une histidine (R362H) rend le canal potassique

perméable aux protons à des potentiels plus hyperpolarisants [12]. Fait intéressant, les mutations des résidus histidine au niveau de Hvl, localisés à proximité de la région S4, n'ont aucun effet sur la perméabilité, suggérant que d'autres résidus joueraient

un rôle dans le transfert des protons à travers ce canal [6]. Il n'est pas exclu que cette protéine ne serait qu'une sous-unité régulatrice et que la perméabilité dépendrait de la présence d'une protéine encore non identifiée qui serait présente de façon endogène dans les cellules utilisées. Comme pour toute nouvelle découverte fondamentale, les travaux de Sasaki et de Ramsey engendrent plusieurs questions liées au rôle de la protéine mVSOP dans l'organisme. Existe-t-il des mutations à l'origine d'un dysfonctionnement de ce canal, qui aboutiraient à une perte de fonction de cette nouvelle protéine et, par conséquent, sous-jacentes à une pathologie humaine ? Des études de génomique et des expériences sur des souris *knock-out* seront nécessaires pour évaluer ce rôle. Enfin, considérant la ressemblance des canaux à protons avec les domaines de senseur de voltage des canaux ioniques, on peut également se questionner sur le lien évolutif qu'il y a entre les deux gènes. ♦

A channel without pore?

The primary structure of a proton permeable channel is finally revealed

RÉFÉRENCES

1. Thomas RC, Meech RW. Hydrogen ion currents and intracellular pH in depolarized voltage-clamped snail neurones. *Nature* 1982; 299 : 826-28.
2. DeCoursey TE. Voltage-gated proton channels and other proton transfer pathways. *Physiol Rev* 2003; 83 : 475-579.
3. El Chemaly A., Guinamad R, Demion M, et al. A voltage-activated proton current in human cardiac fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340 : 512-6.
4. Cherny VV, Murphy R, Sokolov V, et al. Properties of single voltage-gated proton channels in human eosinophils estimated by noise analysis and by direct measurement. *J Gen Physiol* 2003; 121 : 615-28.
5. Sasaki M, Takagi M, Okamura Y. A voltage sensor-domain protein is a voltage-gated proton channel. *Science* 2006; 312 : 589-92.
6. Ramsey IS, Moran MM, Chong JA, Clapham DE. A voltage-gated proton-selective channel lacking the pore domain. *Nature* 2006; 440 : 1213-6.
7. Murata Y, Iwasaki H, Sasaki M, et al. Phosphoinositide phosphatase activity coupled to an intrinsic voltage sensor. *Nature* 2005.
8. Chahine M, Pilote S, Pouliot V, et al. Role of arginine residues on the S4 segment of the *Bacillus halodurans* Na⁺ channel in voltage-sensing. *J Membr Biol* 2004; 201 : 9-24.
9. Jiang Y, Lee A, Chen J, et al. X-ray structure of a voltage-dependent K⁺ channel. *Nature* 2003; 423 : 33-41.
10. Ahern CA, Horn R. Stirring up controversy with a voltage sensor paddle. *Trends Neurosci* 2004; 27 : 303-7.
11. Pomes R, Roux B. Molecular mechanism of H⁺ conduction in the single-file water chain of the gramicidin channel. *Biophys J* 2002; 82 : 2304-16.
12. Starace DM, Bezanilla F. A proton pore in a potassium channel voltage sensor reveals a focused electric field. *Nature* 2004; 427 : 548-53.

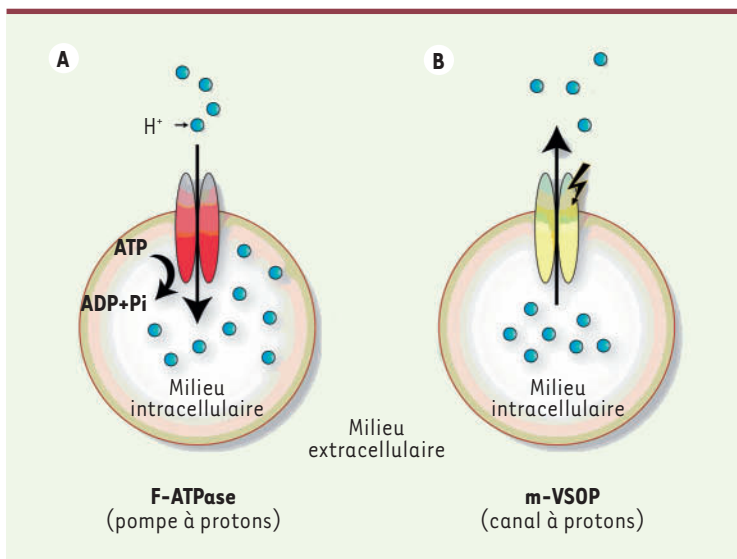


Figure 2. Représentation schématique de deux différentes voies d'entrée des protons. A. La pompe aux protons qui fait entrer des protons accompagnée de l'hydrolyse de l'ATP. Cela permet l'entrée des protons à l'encontre de leur gradient de concentration à travers la membrane plasmique ce qui requiert de l'énergie. En revanche, la protéine mVSOP (B), fait passer les protons selon leurs gradients électrochimiques. Les courants macroscopiques engendrés par l'expression de mVSOP augmentent avec la dépolarisation et lorsque la différence de pH entre le milieu extra- et intracellulaire devient importante.

perméable aux protons à des potentiels plus hyperpolarisants [12]. Fait intéressant, les mutations des résidus histidine au niveau de Hvl, localisés à proximité de la région S4, n'ont aucun effet sur la perméabilité, suggérant que d'autres résidus joueraient



> Depuis 20 ans, grâce à m/s,
vous vivez en direct les progrès
des sciences biologiques et médicales

Chaque mois,
avec les articles de référence de M/S

Chaque jour,
sur www.medecinesciences.org



Médecine/Sciences

est indexé dans
Index Medicus/Medline

Current Contents, série Life Sciences
EMBASE/Excerpta Medica
PASCAL
CABS
BIOSIS

- > Des articles rédigés par des médecins et des chercheurs reconnus sur la scène internationale qui posent avec rigueur les bases des débats scientifiques.
- > Des synthèses, éditoriaux, dossiers techniques et analyses toujours replacés dans leur contexte pour que l'information soit la plus exacte, intelligible et objective.
- > La dimension humaine privilégiée, avec l'analyse des retombées diagnostiques, thérapeutiques, la prévention et l'éthique liées aux nouvelles avancées.
- > Un panorama clair et concis de l'actualité scientifique : des nouvelles, des brèves, des données chiffrées, des repères et perspectives pour qu'aucun fait significatif ne vous échappe.



Tarifs d'abonnement pour M/S - 2006

**Abonnez-vous
à Médecine/Sciences**

Mon règlement:

Par mail edk@edk.fr

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

Par fax en envoyant ce bulletin au 05 61 37 16 01

Uniquement pour les paiements par carte bancaire

N°

Date d'expiration Signature: _____

Par chèque à l'ordre de Médecine/Sciences, en envoyant ce bulletin à:

Interconnexion-Éditions EDK

BP 78

31151 Fenouillet Cedex, France

Pour recevoir une facture, cochez cette case

Tarifs Canada-USA-Mexique:

Contactez
Médecine/Sciences
500, rue Sherbrooke Ouest,
bureau 800, Montréal, Québec H3A 3C6, Canada
medecine.sciences@bellnet.ca

Je souhaite m'abonner à M/S:

Nom: Prénom:

Adresse:

Code postal Ville:

Pays:

E-mail obligatoire:

Je choisis l'abonnement:

	Particuliers		Institutions			Étudiants*		Enseignants*	
	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier	Papier + Électronique	Électronique seul	Papier + Électronique	Électronique seul
France	<input type="checkbox"/> 158 €	<input type="checkbox"/> 110 €	<input type="checkbox"/> 350 €	<input type="checkbox"/> 220 €	<input type="checkbox"/> 342 €	<input type="checkbox"/> 73 €	<input type="checkbox"/> 57 €	<input type="checkbox"/> 105 €	<input type="checkbox"/> 80 €
UE + autres	<input type="checkbox"/> 208 €	<input type="checkbox"/> 110 €	<input type="checkbox"/> 425 €	<input type="checkbox"/> 220 €	<input type="checkbox"/> 406 €	<input type="checkbox"/> 105 €	<input type="checkbox"/> 57 €	<input type="checkbox"/> 158 €	<input type="checkbox"/> 80 €

* Joindre un justificatif