

[文章编号] 1671-587X(2024)02-0579-08

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240235

## 环核苷酸门控离子通道及其功能的研究进展

方琳<sup>1</sup>, 李世鹏<sup>2</sup>

(1. 长春医学高等专科学校基础医学部病原教研室, 吉林 长春 130031; 2. 吉林大学植物科学学院基础生物系, 吉林 长春 130062)

**[摘要]** 环核苷酸门控(CNG)离子通道是一种非选择性的四聚体阳离子通道, 可以直接被细胞内信使小分子——环核苷酸活化, 是钙离子进入细胞的主要通道之一。CNG通道蛋白由6种不同基因编码: 4个A亚单位和2个B亚单位。CNG离子通道的活性可被钙离子/钙调素( $Ca^{2+}/CaM$ )及磷酸化或膜上磷酸肌醇作用调节, 从而改变细胞内钙离子浓度, 参与多种生物学功能的调控。自从在视杆细胞中发现CNG离子通道以来, 经历了对其生理功能、克隆相关基因、理解调控方式、解析晶体结构和开发相关的基因治疗方法等研究过程, 在视觉和嗅觉感觉神经元(OSNs)的信号转导中发挥着重要作用。现就CNG离子通道的功能、结构、调控机制及其与相关疾病关系等方面进行简要综述, 以期为CNG离子通道相关疾病的治疗提供理论依据。

**[关键词]** 环核苷酸门控离子通道; 钙离子; 调控机制; 视网膜

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A

## Research progress in cyclic nucleotide-gated ion channels and its function

FNAG Lin<sup>1</sup>, LI Shipeng<sup>2</sup>

(1. Department of Pathogenic Biology, College of Basic Medical Science, Changchun Medical College, Changchun 130031, China; 2. Department of Basic Biology, College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, China)

**ABSTRACT** Cyclic nucleotide-gated (CNG) ion channel is a type of non-selective tetrameric cation channel that can be directly activated by intracellular signaling molecules—cyclic nucleotides, and is one of the main pathways for calcium ions to enter the cells. The CNG channel proteins are encoded by six different genes: four A subunits and two B subunits. The activity of CNG ion channel can be modulated by calcium/calmodulin ( $Ca^{2+}/CaM$ ) as well as phosphorylation or the action of phosphatidylinositol on the membrane, thereby altering intracellular calcium ion concentrations and participating in the regulation of a variety of biological functions. Since the discovery of CNG ion channels in rod photoreceptors, it has undergone research processes such as physiological functions, cloning related genes, understanding regulatory mechanisms, analyzing crystal structures, and developing related gene therapy methods. They play an important role in signal transduction in olfactory sensory neurons (OSNs) of vision and smell. This article briefly reviews the function, structure, regulatory mechanism, and relationship with related diseases of CNG ion channel, in order to provide the theoretical basis and reference for the treatment of

[收稿日期] 2022-12-06

[基金项目] 吉林省教育厅“十三五”科研项目(JJKH20201327KJ); 吉林省卫健委技术创新项目(2019J100)

[作者简介] 方琳(1978-), 女, 吉林省长春市人, 医学博士, 教授, 主要从事神经免疫方面的研究。

[通信作者] 李世鹏, 副教授, 硕士研究生导师(E-mail: lisp@jlu.edu.cn)

CNG ion channel-related diseases.

**KEYWORDS** Cyclic nucleotide-gated ion channel; Calcium ion; Regulatory mechanism; Retina

1985年FESENKO等<sup>[1]</sup>最早在脊椎动物视网膜的视杆细胞外段中发现环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)能直接激活视网膜杆状体中光依赖性通道,即环核苷酸门控(cyclic nucleotide-gated, CNG)离子通道,该离子通道允许Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Li<sup>+</sup>和Rb<sup>+</sup>等多种离子的跨膜转运,对膜电势不敏感,通过与cGMP直接结合参与视觉调控。在视锥体光感受器和嗅觉感觉神经元(olfactory sensory neurons, OSNs)等组织中发现了相似的通道<sup>[2]</sup>。CNG离子通道作为动物组织细胞和植物细胞中的重要离子通道之一,近年来在通道蛋白纯化、CNG离子通道分子的克隆及基因功能性表达、CNG离子通道的信号调控和CNG通道基因突变动物模型的构建等方面研究的进展迅速。随着CNG离子通道的研究深入,其广泛的生理作用日益受到关注,然而国内相关研究进展的报道较少,现结合国内外近年来的研究报道对CNG离子通道功能、结构、调控机制和CNG离子通道病变等方面进行综述。

## 1 CNG离子通道的功能

### 1.1 CNG离子通道在视觉信号转导中的作用

CNG离子通道通过直接与细胞内环核苷酸结合而被激活,在视觉信号转导中发挥着关键作用<sup>[1]</sup>。在视杆细胞和视锥细胞中,在无光的情况下,cGMP与CNG离子通道直接结合并活化开启CNG离子通道,Ca<sup>2+</sup>通过开启的CNG离子通道进入介导阳离子内流(暗电流);当光投射到视网膜上时,光激活的视蛋白依次激活G蛋白和cGMP特异的磷酸二酯酶(phosphodiesterase, PDE),触发一系列酶促反应,从而导致cGMP的水解和CNG离子通道的关闭<sup>[3]</sup>。CNG离子通道的关闭降低了细胞内Ca<sup>2+</sup>的浓度,Ca<sup>2+</sup>浓度降低负反馈刺激cGMP合成从而介导视觉信号转导级联反应,增加通道对cGMP的亲和力<sup>[4]</sup>。Ca<sup>2+</sup>减少导致细胞膜的超极化,神经递质向二级细胞的释放减少;同时,位于双极细胞锥状光感受器突触上的CNG离子通道可以调节突触传递及介导一氧化氮的信号传递<sup>[5]</sup>,细胞膜超极化抑制神经递质释放,光信号被传递给周围的神经细胞。

### 1.2 CNG离子通道在嗅觉信号转导中的作用

CNG通道不仅参与视觉信号传递,在嗅觉信号转导中也发挥了重要作用<sup>[6]</sup>。嗅觉上皮细胞中OSNs通过不同的G蛋白偶联嗅觉受体来检测气味,空气中的各种气味分子随呼吸气流进入鼻腔作为配体与上皮细胞中OSNs膜上的特异性气味受体(odorant receptors, ORs)结合,进而启动嗅觉信号的转导过程,激活腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC),从而导致胞内环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)的合成增多。增加的cAMP通过结合嗅觉CNG离子通道使其开放,从而使嗅觉神经元去极化<sup>[2]</sup>。嗅觉CNG离子通道主要参与转运Ca<sup>2+</sup>,Ca<sup>2+</sup>通过激活Cl<sup>-</sup>通道进一步放大嗅觉信号,沿着嗅神经传导通路到大脑嗅皮质而产生嗅觉。胞内Cl<sup>-</sup>外流使OSN去极化,有助于诱导神经递质从嗅觉受体细胞释放到二级神经元<sup>[6]</sup>。

### 1.3 CNG离子通道的其他生理学功能

CNG离子通道除了在经典的视觉和嗅觉传导中起作用,还参与许多其他的生理过程:①CNG离子通道可以响应信号素3A(Sema3A),从而使胞内Ca<sup>2+</sup>浓度升高,以控制发育中神经生长锥的迁移方向<sup>[7]</sup>;②CNG离子通道还作为NO/cGMP信号靶点参与抑制脊髓内炎症性疼痛过敏<sup>[8]</sup>,以及参与周围神经损伤后的病理性神经疼痛过程<sup>[9]</sup>;③大脑中CNG离子通道可能参与调节海马体可塑性和依赖于杏仁核的恐惧记忆<sup>[10]</sup>。总之,CNG离子通道参与了体内诸多的生理过程,但其具体机制有待进一步阐明。

## 2 CNG离子通道的结构

CNG离子通道的基本结构类似于电压依赖的K<sup>+</sup>通道,由4个亚基组成一个跨膜通道。每个CNG离子通道亚基有6个跨膜区段(S1~S6),其中S1~S4为退化的电压传感器样结构域,由部分孔环连接S5和S6区段以及远端S6区域共同构成一个离子传导通路。每个亚基的氨基(N)和羧基(C)末端结构域均位于胞内,CNG离子通道的C末端包含1个环核苷酸结合域(cyclic nucleotide-binding domain, CNBD)和1个将CNBD连接到S6片段的C-linker结构域。C-linker结构域将

CNBD结构域连接到成孔结构域上, 协助配体结合开启通道。

**2.1 CNG离子通道亚基** 哺乳动物中共有6个旁系同源基因编码CNG离子通道的亚基, 根据基因序列的相似性将其分为2个亚型: CNGA和CNGB<sup>[11]</sup>。最早克隆的CNG离子通道基因是牛视网膜视杆细胞 $\alpha$ -亚基(cyclic nucleotide-gated channel alpha 1, CNGA1)<sup>[12]</sup>。随后, 分别克隆出CNGA2、CNGA3、CNGA4、CNGB1和CNGB3等亚基的cDNA<sup>[13]</sup>。在秀丽隐杆线虫中, 已经克隆出了Tax-2和Tax-4 2个CNG离子通道亚基<sup>[14]</sup>。从黑腹果蝇触角和视觉系统中克隆出1个CNG离子通道亚基CNG-P1<sup>[15]</sup>。从黑腹果蝇触角中克隆出CNG通道亚基L(cyclic nucleotide-gated channel L, CNGL), 并发现CNGL基因在其大脑中表达<sup>[16]</sup>。CNG亚基CNGA1-3单独表达为同源多聚体时可形成有功能的通道。视杆细胞CNG离子通道由3个CNGA1和1个CNGB1a亚基组成<sup>[17]</sup>; 视锥细胞CNG离子通道则由2个CNGA3和2个CNGB3亚基组成<sup>[18]</sup>; 嗅觉细胞CNG离子通道由2个CNGA2、1个CNGA4和1个CNGB1b亚基组成<sup>[19]</sup>。

CNG离子通道的多样性来自于前体mRNA的选择性剪接。最先发现CNG离子通道亚基可变剪切的是CNGB1基因, 1个长型CNGB1亚基CNGB1a在视杆细胞中表达, 而嗅觉受体神经元产生一个较短的亚型CNGB1b, 该亚型缺乏长变体中存在的大部分N-端细胞质结构域。此外, 选择性剪接可以产生2种可溶性异构体, 其中仅含有CNGB1的N-端富含谷氨酸蛋白(glutamic acid-rich protein, GARP)结构域, 而无通道形成结构域。CNGB1a的GARP结构域及其相关的可溶性形式已被证明对光感受器外段的蛋白质-蛋白质相互作用至关重要<sup>[20]</sup>。

**2.2 CNBD结构域** CNG离子通道的CNBD结构域与其他环状核苷酸结合蛋白序列相似, 包括cGMP依赖的蛋白激酶G(protein kinase G, PKG)和cAMP依赖的蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)以及大肠杆菌代谢基因激活蛋白(catabolite gene activator protein, CAP)。CAP和PKA的晶体结构非常相似<sup>[21]</sup>, 因此, CAP的CNBD结构通常被用作CNG离子通道配体结合域的模式。

CNG离子通道具有高度的环核苷酸特异性。cGMP、环次黄嘌呤单磷酸核苷(inosine 3', 5'-cyclic monophosphate, cIMP)和cAMP仅存在嘌呤环的差异, 这3个环状核苷酸都可以与牛CNGA1离子通道亚基的CNBD结合。然而, 结合cGMP促进通道变构开放的效率比结合cIMP约高10倍, 比结合cAMP高1000倍<sup>[22]</sup>。在CNBD中至少有2个重要的氨基酸参与决定配体效率的差异: 第1个是CNGA1离子通道中 $\beta$ 折叠中的苏氨酸T560, T560突变降低了该通道对cGMP的表现亲和力, 但对cAMP的表现亲和力影响不大<sup>[23]</sup>; 第2个参与配体特异性的残基位于C-螺旋中, 牛视杆细胞CNGA1离子通道C-螺旋上的天冬氨酸残基D604的突变显著改变了配体的特异性<sup>[22]</sup>。环核苷酸主要通过其核糖和环磷酸与 $\beta$ 折叠之间的相互作用与封闭的通道相结合。环核苷酸与通道相结合导致CNBD构象的变化, 随之孔道打开。同时CNBDs的这种构象变化可能是由于C-螺旋向每个亚基的 $\beta$ 折叠靠拢, 从而使C-螺旋上的D604残基得以与环核苷酸的嘌呤环发生相互作用<sup>[22]</sup>。

**2.3 C-linker结构域** C-linker位于连接跨膜区段S6和CNBD之间, 是偶联配体与视杆细胞、视锥细胞和嗅觉细胞CNG离子通道结合开放的关键因子<sup>[24]</sup>。在视杆细胞CNGA1离子通道中, S6段下方的组氨酸残基H420及相邻亚基与 $\text{Ni}^{2+}$ 形成配位键, 对开放状态的通道有较高的亲和力<sup>[25]</sup>。爪蟾卵母细胞中表达牛视杆细胞CNG离子通道的研究<sup>[24]</sup>发现: CNGA2离子通道中396位的一个组氨酸, 相当于CNGA1离子通道中的第417位氨基酸, 也与 $\text{Ni}^{2+}$ 形成配位键, 但在封闭状态下对 $\text{Ni}^{2+}$ 具有较高的亲和力。 $\text{Ni}^{2+}$ 配位的状态依赖性研究<sup>[24]</sup>表明: C-linker区域的螺旋结构相对于孔隙中心轴的平移和顺时针旋转激活了CNG通道。研究<sup>[26]</sup>表明C-linker区域中B'-螺旋的残基在有cAMP存在的情况下, 相对于通道对称轴向外移动, 而cGMP则无此效应。

**2.4 CNG离子通道其他结构域** CNG离子通道的氨基末端区域也可能与通道的变构开放有关。CNGA2离子通道开放自由能低于CNGA1离子通道, CNGA2氨基末端区域的缺失降低了cAMP的开放概率和对cGMP的表现亲和力, 表明该区域对通道门控具有自兴奋作用<sup>[27]</sup>。钙离子/钙调素(calmodulin, CaM)结合到CNGA2氨基末端结构

域的自兴奋区域,抑制了该通道的变构开放转变<sup>[27]</sup>。利用在细菌中表达的多肽,发现CNGA2的氨基端和羧基端区域可以直接相互作用,添加Ca<sup>2+</sup>/CaM阻断了CNGA2的氨基末端与羧基末端的相互作用,而单独添加Ca<sup>2+</sup>或CaM则无此效应<sup>[28]</sup>。推测其可能的机制是CNGA2氨基端结构域通过与其羧基端结构域相互作用而具有自兴奋作用,而Ca<sup>2+</sup>/CaM通过阻止这种相互作用来抑制CNGA2通道。

Ca<sup>2+</sup>/CaM通过结合CNGB1的氨基端结构域来抑制视杆细胞CNG离子通道,并破坏氨基和羧基末端的相互作用<sup>[29]</sup>。然而,在视杆细胞通道中,Ca<sup>2+</sup>/CaM结合到CNGB1的氨基端结构域,阻止了该结构域与异聚体通道中CNGA1的CNBD远端羧基端区域(post-CNBD区域)相互作用。CNGB1中CaM结合域或post-CNBD区域的缺失并不影响通道门控特性<sup>[29]</sup>。

CNGA亚基的post-CNBD区域包含1个亮氨酸拉链域,在溶液中形成三聚体,表明该区域在产生异聚通道的3:1(CNGA:CNGB)化学计量中发挥了作用<sup>[17]</sup>。CNGA1亚基post-CNBD结构域被敲除的突变体可能导致视网膜色素变性,截断post-CNBD结构域可能影响同型CNG离子通道<sup>[30]</sup>和异型视杆细胞CNG离子通道的运输<sup>[29]</sup>。

**2.5 CNG门控机制** CNG离子通道通过环状核苷酸与CNBDs的结合而被激活。环状核苷酸结合诱导其构象发生变化,并通过C连接体、内螺旋(S6)、孔螺旋和选择性过滤器转导,最终打开CNG离子通道离子传导途径。配体与CNG离子通道的CNBD相互作用有2个基本步骤:第一步是初始配体与CNBD对接;第二步是CNBD的构象变化,促使环核苷酸结合到通道上并使其打开<sup>[22, 31]</sup>。研究<sup>[32]</sup>表明:CNG离子通道孔的胞质侧开口狭窄,通道打开时变宽。在CNGA1离子通道的无半胱氨酸变体中,取代S6(假定的内螺旋)的半胱氨酸(S399C),通过自发形成亚基间二硫键促进通道关闭<sup>[32]</sup>。

配体与CNBD结构域相结合继而激活通道打开的机制存在2种假说:一种是协同变构模型(MWC模型)<sup>[33]</sup>,CNG离子通道的MWC模型假设了4个等效的结合位点,配体结合的协同性依赖于协同的构象变化和纯加性的配体结合自由能;另一种是顺序模型,包括2~4个配体结合步骤和

CNBD构象变构开放进而激活CNG离子通道<sup>[25]</sup>。与顺序模型比较,MWC模型的优点是能够解释在无配体结合的情况下,CNG离子通道可以自发打开,这反映了通道与配体无关的内在门控特性<sup>[33]</sup>。

尽管在生理浓度下,视杆细胞CNG离子通道表现出相当大的电压依赖性<sup>[34]</sup>,但CNG离子通道被普遍认为“实际上对电压不敏感”。这主要源于当Na<sup>+</sup>和(或)K<sup>+</sup>离子作为电流载流子时,在饱和浓度下获得的电记录,这是许多结构功能研究的常见实验条件。然而,当使用Na<sup>+</sup>或K<sup>+</sup>以外的离子时,在饱和激动剂浓度下,CNG离子通道门控也受到膜电压的有效调节,其开放概率随着膜去极化的增加而显著增加。人视杆细胞CNGA1亚基E365Q突变体晶体结构的解析<sup>[35]</sup>,为CNG离子通道的电压依赖门控特性提供了合理的解释。

### 3 CNG离子通道的调节

CNG离子通道的调节对于视网膜光感受器昼夜节律控制和嗅觉感受器神经元的适应等非常重要。CNG离子通道能够通过Ca<sup>2+</sup>依赖的反馈机制、磷酸化或膜上磷酸肌醇(phosphoinositide, PI)在不同时间内作出反应,从而调节通道活性。

**3.1 Ca<sup>2+</sup>依赖性调节** 对CNGB1b中的CaM结合域缺失小鼠模型的研究<sup>[36]</sup>表明:Ca<sup>2+</sup>/CaM对嗅觉CNG离子通道的调节并不改变嗅觉神经元对重复刺激的敏感性,而主要导致气味反应的快速终止(100 ms内)。爪蟾卵母细胞中表达小鼠嗅觉CNG离子通道研究<sup>[37]</sup>发现:CNGB1b亚单位参与嗅觉CNG离子通道的配体门控激活,有助于嗅觉感觉神经元中气味信号的快速终止。使用Ca<sup>2+</sup>螯合剂快速降低Ca<sup>2+</sup>浓度的研究发现:仅在视锥细胞内检测到Ca<sup>2+</sup>依赖的调节方式,而在完整的地鼠视杆细胞中未检测到<sup>[38]</sup>。

**3.2 磷酸化调节** 牛CNGA1的Y498位点和CNGB1a的Y1097位点的酪氨酸残基磷酸化抑制了CNGA1+CNGB1a离子通道的活性,导致cGMP表观亲和力下降<sup>[39]</sup>。蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)磷酸化CaM结合位点的丝氨酸残基,能够明显增加CNG离子通道对cGMP的亲和力。牛CNGA3通道受到PKC介导的CNBD结构域内丝氨酸残基磷酸化的调控,导致同型CNGA3离子通道对cGMP的亲和力降低<sup>[40]</sup>。

**3.3 磷酸肌醇调节** 膜结合的PI是普遍存在的离子通道调节剂,在调节CNG离子通道活性中起重

要作用。PI (4和5) P<sub>2</sub>和PI (3、4和5) P<sub>3</sub>对杆状<sup>[41]</sup>及锥状<sup>[42]</sup>CNG离子通道起抑制作用。PI (3、4和5) P<sub>3</sub>可以抑制大鼠OSNs中的嗅觉CNG离子通道以及异源重组表达的CNGA2离子通道<sup>[43]</sup>。然而,这种调节在光感受器中的生理作用还不确定。光感受器内磷酸肌醇水平受到光、细胞内Ca<sup>2+</sup>、旁分泌信号和昼夜节律振荡器等多种因素的调节<sup>[44]</sup>。

**3.4 昼夜节律调节** 天然视锥细胞CNG离子通道对配体亲和力还受到视网膜昼夜节律振荡的调节,白天CNG离子通道对cGMP的亲和力较低,而夜间对cGMP亲和力增加<sup>[44-45]</sup>。研究<sup>[45]</sup>表明:白天的鸡视锥细胞多巴胺表达水平高于夜间,应用多巴胺D2受体激动剂在夜间降低了CNG离子通道的cGMP亲和力,但在白天未降低。无突触视网膜细胞释放的生长激素抑制素在夜间高而白天低;白天可能是通过激活磷脂酶C (phospholipase C, PLC)和PKC,生长激素抑制素受体的激活增加了天然视锥细胞CNG离子通道的配体亲和力<sup>[44]</sup>。此外,cAMP-PKA信号通路、小单体G蛋白、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路和钙-钙调蛋白激酶II (Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMK II)均有助于视锥细胞CNG离子通道的昼夜节律调控<sup>[46]</sup>。

**3.5 其他调节方式** 光除了通过内在的生物钟调节光感受器CNG离子通道外,还能间接调节CNG离子通道活性。Grb14是一种胰岛素受体结合蛋白,以光依赖的方式直接结合到CNGA1的C端区域来抑制视杆细胞CNG离子通道的活性<sup>[47]</sup>。进一步研究<sup>[48]</sup>表明光诱导的胰岛素受体激活是通过磷酸化CNGA1中的酪氨酸残基Y498和Y503来抑制视杆细胞CNG离子通道。此外,光依赖胰岛素受体发生磷酸化后,PI3-激酶活性增强,这可能通过调节光感受器外段的膜PIP<sub>3</sub>和PIP<sub>2</sub>水平来调节光感受器CNG离子通道活性<sup>[49]</sup>。后期研究<sup>[50]</sup>表明光照可以诱导光感受器外段内PIP<sub>3</sub>水平显著增加。

## 4 CNG离子通道与疾病

**4.1 CNG离子通道与色素性视网膜炎** 编码视杆细胞CNG离子通道亚基(CNGA1和CNGB1)的基因突变与常染色体隐性视网膜色素变性 (autosomal recessive retinitis pigmentosa, arRP)有关联<sup>[51]</sup>。视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa,

RP)的特征是视杆细胞的进行性退化,后期发展为视锥细胞的消失。遗传学研究<sup>[52]</sup>分析表明:多个CNGA1基因突变位点直接导致色素性视网膜炎。CNG离子通道结构解析阐明了3:1亚单位化学计量的结构机制、cGMP激活的不对称门控以及天然视杆细胞CNG离子通道的独特药理学特性<sup>[53]</sup>。在CNGB1缺陷犬模型中采用基因疗法评估人类RP的治疗效果,为CNGB1-RP疗法早日用于临床试验奠定了基础<sup>[54]</sup>。

**4.2 CNG离子通道与色盲** 通过对视杆细胞单色症 (rod monochromacy, RM)遗传病家族CNGA3基因序列的鉴定发现:CNG离子通道中保守氨基酸的错义突变可能导致RM或完全色盲,这是一种罕见的常染色体隐性遗传和先天性疾病,其特征表现为畏光、视力下降、眼球震颤和完全不能辨别颜色。遗传分析研究<sup>[55]</sup>表明:CNGB3移码突变可能造成视觉缺陷、进行性视锥细胞营养不良和双侧黄斑变性等遗传性疾病。天然四聚体视锥细胞高分辨率低温电镜结构的解析研究<sup>[56]</sup>表明:CNGB3在视锥细胞光响应过程中起着关键作用。R410W是人类CNGA3中一种与色盲相关的功能缺失突变,R421W为秀丽隐杆线虫类似突变。R421位于门控环中,在关闭状态下与S4段相互作用。R421W会破坏这种相互作用,破坏闭合状态通道的稳定性,并稳定开放状态。R421W通道在无cGMP的情况下自发激活并诱导细胞死亡,表明自发CNG离子通道活动引发的锥体变性可能是导致色盲的原因<sup>[57]</sup>。

**4.3 CNG离子通道与嗅觉疾病** 缺乏CNGA4的小鼠仍然具有嗅觉,但表现出异常的嗅觉脱敏,这与通道Ca<sup>2+</sup>/CaM调节的改变有关<sup>[11]</sup>。CNGA2基因敲除小鼠先天性嗅觉缺失,嗅觉系统生理异常,此外,KARSTENSEN等<sup>[58]</sup>报道了2例嗅觉缺失的兄弟,均由体内CNGA2基因发生突变导致。通过分析家族性孤立型先天性失嗅症发现,对5例受影响家庭成员和5名健康成员的全外显子组测序结果显示其CNGA2基因中均包含有提前终止突变位点<sup>[59]</sup>;上述结果表明关键嗅觉信号通路基因的突变与嗅觉疾病密切相关。

## 5 总结与展望

目前,不同组织中CNG离子通道确切的生理功能尚未完全了解。尽管已知CNG离子通道有可变剪切现象存在,但对其可变剪切的重要意义知之

甚少。虽然 CNG 离子通道 N-C 末端相互作用对于控制通道的门控特性有重要意义,但是 CNG 离子通道是如何在精细水平上相互作用的机制仍然有待进一步研究,尤其是在动态水平上,研究各个结构域之间的相互作用对各种疾病的治疗具有非常重要的意义。目前已有很多关于 CNG 的疾病相关单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点的研究,如编码 CNG 离子通道的基因突变与多种视网膜疾病以及嗅觉疾病有关,因此,进一步研究 CNG 门控的分子机制将有助于预防和治疗 CNG 离子通道上的通道病变。随着 CNG 离子通道基因突变动物模型的构建,可用于模拟与疾病相关的人类 CNG 离子通道的基因突变,为探索 CNG 离子通道病变的复杂病因提供了研究平台,从而揭示相关疾病的发病机制,对人类研究多种视网膜疾病及嗅觉疾病具有深远意义。同时相关疾病动物模型的建立和可接受高通量药物筛选,为治疗相关疾病的新药研发及临床应用奠定了坚实基础。

#### 利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

#### 作者贡献声明:

方琳负责论文的撰写,李世鹏负责论文的整体设计。

#### [参考文献]

- [1] FESENKO E E, KOLESNIKOV S S, LYUBARSKY A L. Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segment [J]. *Nature*, 1985, 313(6000): 310-313.
- [2] NAKAMURA T, GOLD G H. A cyclic nucleotide-gated conductance in olfactory receptor cilia[J]. *Nature*, 1987, 325(6103): 442-444.
- [3] BURNS M E, ARSHAVSKY V Y. Beyond counting photons: trials and trends in vertebrate visual transduction[J]. *Neuron*, 2005, 48(3): 387-401.
- [4] HSU Y T, MOLDAY R S. Modulation of the cGMP-gated channel of rod photoreceptor cells by calmodulin[J]. *Nature*, 1993, 361(6407): 76-79.
- [5] SAVCHENKO A, BARNES S, KRAMER R H. Cyclic-nucleotide-gated channels mediate synaptic feedback by nitric oxide[J]. *Nature*, 1997, 390(6661): 694-698.
- [6] FRINGS S. Chemoelectrical signal transduction in olfactory sensory neurons of air-breathing vertebrates[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58(4): 510-519.
- [7] TOGASHI K, VON SCHIMMELMANN M J, NISHIYAMA M, et al. Cyclic GMP-gated CNG channels function in Semaphorin 3A-induced growth cone repulsion[J]. *Neuron*, 2008, 58(5): 694-707.
- [8] HEINE S, MICHALAKIS S, KALLENBORN-GERHARDT W, et al. CNGB3: a target of spinal nitric oxide/cGMP signaling and modulator of inflammatory pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(31): 11184-11192.
- [9] KALLENBORN-GERHARDT W, METZNER K, LU R R, et al. Neuropathic and cAMP-induced pain behavior is ameliorated in mice lacking CNGB1 [J]. *Neuropharmacology*, 2020, 171: 108087.
- [10] MICHALAKIS S, KLEPPISCH T, POLTA S A, et al. Altered synaptic plasticity and behavioral abnormalities in CNGB3-deficient mice [J]. *Genes Brain Behav*, 2011, 10(2): 137-148.
- [11] BRADLEY J, REUTER D, FRINGS S. Facilitation of calmodulin-mediated odor adaptation by cAMP-gated channel subunits[J]. *Science*, 2001, 294(5549): 2176-2178.
- [12] KAUPP U B, NIIDOME T, TANABE T, et al. Primary structure and functional expression from complementary DNA of the rod photoreceptor cyclic GMP-gated channel [J]. *Nature*, 1989, 342(6251): 762-766.
- [13] GERSTNER A, ZONG X, HOFMANN F, et al. Molecular cloning and functional characterization of a new modulatory cyclic nucleotide-gated channel subunit from mouse retina[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(4): 1324-1332.
- [14] COBURN C M, BARGMANN C I. A putative cyclic nucleotide-gated channel is required for sensory development and function in *C. elegans* [J]. *Neuron*, 1996, 17(4): 695-706.
- [15] BAUMANN A, FRINGS S, GODDE M, et al. Primary structure and functional expression of a *Drosophila* cyclic nucleotide-gated channel present in eyes and antennae[J]. *EMBO J*, 1994, 13(21): 5040-5050.
- [16] MIYAZU M, TANIMURA T, SOKABE M. Molecular cloning and characterization of a putative cyclic nucleotide-gated channel from *Drosophila melanogaster*[J]. *Insect Mol Biol*, 2000, 9(3): 283-292.
- [17] ZHONG H N, MOLDAY L L, MOLDAY R S, et al. The heteromeric cyclic nucleotide-gated channel adopts a 3A: 1B stoichiometry [J]. *Nature*, 2002, 420(6912): 193-198.
- [18] PENG C H, RICH E D, VARNUM M D. Subunit

- configuration of heteromeric cone cyclic nucleotide-gated channels[J]. *Neuron*, 2004, 42(3): 401-410.
- [19] ZHENG J, ZAGOTTA W N. Stoichiometry and assembly of olfactory cyclic nucleotide-gated channels[J]. *Neuron*, 2004, 42(3): 411-421.
- [20] RITTER L M, KHATTREE N, TAM B, et al. In situ visualization of protein interactions in sensory neurons: glutamic acid-rich proteins (GARPs) play differential roles for photoreceptor outer segment scaffolding[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(31): 11231-11243.
- [21] SU Y, DOSTMANN W R, HERBERG F W, et al. Regulatory subunit of protein kinase A: structure of deletion mutant with cAMP binding domains [J]. *Science*, 1995, 269(5225): 807-813.
- [22] VARNUM M D, BLACK K D, ZAGOTTA W N. Molecular mechanism for ligand discrimination of cyclic nucleotide-gated channels [J]. *Neuron*, 1995, 15 (3): 619-625.
- [23] ALTENHOFEN W, LUDWIG J, EISMANN E, et al. Control of ligand specificity in cyclic nucleotide-gated channels from rod photoreceptors and olfactory epithelium[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, 88(21): 9868-9872.
- [24] GORDON S E, DOWNING-PARK J, ZIMMERMAN A L. Modulation of the cGMP-gated ion channel in frog rods by calmodulin and an endogenous inhibitory factor[J]. *J Physiol*, 1995, 486(Pt 3): 533-546.
- [25] GORDON S E, DOWNING-PARK J, TAM B, et al. Diacylglycerol analogs inhibit the rod cGMP-gated channel by a phosphorylation-independent mechanism[J]. *Biophys J*, 1995, 69(2): 409-417.
- [26] EVANS E G B, MORGAN J L W, DIMAIO F, et al. Allosteric conformational change of a cyclic nucleotide-gated ion channel revealed by DEER spectroscopy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(20): 10839-10847.
- [27] LIU M, CHEN T Y, AHAMED B, et al. Calcium-calmodulin modulation of the olfactory cyclic nucleotide-gated cation channel [J]. *Science*, 1994, 266 (5189): 1348-1354.
- [28] VARNUM M D, ZAGOTTA W N. Interdomain interactions underlying activation of cyclic nucleotide-gated channels[J]. *Science*, 1997, 278(5335): 110-113.
- [29] TRUDEAU M C, ZAGOTTA W N. Mechanism of calcium/calmodulin inhibition of rod cyclic nucleotide-gated channels [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(12): 8424-8429.
- [30] MALLOUK N, ILDEFONSE M, PAGÈS F, et al. Basis for intracellular retention of a human mutant of the retinal rod channel alpha subunit [J]. *J Membr Biol*, 2002, 185(2): 129-136.
- [31] FLYNN G E, BLACK K D, ISLAS L D, et al. Structure and rearrangements in the carboxy-terminal region of SpIH channels [J]. *Structure*, 2007, 15 (6): 671-682.
- [32] FLYNN G E, ZAGOTTA W N. Conformational changes in S6 coupled to the opening of cyclic nucleotide-gated channels[J]. *Neuron*, 2001, 30(3): 689-698.
- [33] TIBBS G R, GOULDING E H, SIEGELBAUM S A. Allosteric activation and tuning of ligand efficacy in cyclic-nucleotide-gated channels [J]. *Nature*, 1997, 386(6625): 612-615.
- [34] CRAVEN K B, ZAGOTTA W N. CNG and HCN channels: two peas, one pod [J]. *Annu Rev Physiol*, 2006, 68: 375-401.
- [35] XUE J, HAN Y, ZENG W Z, et al. Structural mechanisms of gating and selectivity of human rod CNGA1 channel[J]. *Neuron*, 2021, 109(8): 1302-1313.
- [36] SONG Y J, CYGNAR K D, SAGDULLAEV B, et al. Olfactory CNG channel desensitization by  $Ca^{2+}$ /CaM via the B1b subunit affects response termination but not sensitivity to recurring stimulation [J]. *Neuron*, 2008, 58(3): 374-386.
- [37] NACHE V, WONGSAMITKUL N, KUSCH J, et al. Deciphering the function of the CNGB1b subunit in olfactory CNG channels[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29378.
- [38] REBRIK T I, KORENBROT J I. In intact mammalian photoreceptors,  $Ca^{2+}$ -dependent modulation of cGMP-gated ion channels is detectable in cones but not in rods[J]. *J Gen Physiol*, 2004, 123(1): 63-75.
- [39] MOLOKANOVA E, KRAJEWSKI J L, SATPAEV D, et al. Subunit contributions to phosphorylation-dependent modulation of bovine rod cyclic nucleotide-gated channels[J]. *J Physiol*, 2003, 552(Pt 2): 345-356.
- [40] MÜLLER F, VANTLER M, WEITZ D, et al. Ligand sensitivity of the 2 subunit from the bovine cone cGMP-gated channel is modulated by protein kinase C but not by calmodulin[J]. *J Physiol*, 2001, 532(Pt 2): 399-409.
- [41] WOMACK K B, GORDON S E, HE F, et al. Do phosphatidylinositides modulate vertebrate phototransduction?[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(8): 2792-2799.
- [42] BRIGHT S R, RICH E D, VARNUM M D. Regulation of human cone cyclic nucleotide-gated channels by endogenous phospholipids and exogenously applied phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate [J]. *Mol Pharmacol*, 2007, 71(1): 176-183.

- [43] ZHAINAZAROV A B, SPEHR M, WETZEL C H, et al. Modulation of the olfactory CNG channel by PtdIns (3, 4, 5)P3[J]. *J Membr Biol*, 2004, 201(1): 51-57.
- [44] CHEN S K, KO G Y P, DRYER S E. Somatostatin peptides produce multiple effects on gating properties of native cone photoreceptor cGMP-gated channels that depend on circadian phase and previous illumination[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(45): 12168-12175.
- [45] KO G Y P, KO M L, DRYER S E. Circadian phase-dependent modulation of cGMP-gated channels of cone photoreceptors by dopamine and D2 agonist[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(8): 3145-3153.
- [46] KO G Y P, KO M L, DRYER S E. Circadian regulation of cGMP-gated channels of vertebrate cone photoreceptors: role of cAMP and Ras[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(6): 1296-1304.
- [47] GUPTA V K, RAJALA A, DALY R J, et al. Growth factor receptor-bound protein 14: a new modulator of photoreceptor-specific cyclic-nucleotide-gated channel[J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(11): 861-867.
- [48] GUPTA V K, RAJALA A, RAJALA R V. Insulin receptor regulates photoreceptor CNG channel activity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 303(11): E1363-E1372.
- [49] RAJALA R V, MCCLELLAN M E, ASH J D, et al. *In vivo* regulation of phosphoinositide 3-kinase in retina through light-induced tyrosine phosphorylation of the insulin receptor beta-subunit[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(45): 43319-43326.
- [50] LI G Y, RAJALA A, WIECHMANN A F, et al. Activation and membrane binding of retinal protein kinase Balpha/Akt1 is regulated through light-dependent generation of phosphoinositides[J]. *J Neurochem*, 2008, 107(5): 1382-1397.
- [51] PAQUET-DURAND F, BECK S, MICHALAKIS S, et al. A key role for cyclic nucleotide gated (CNG) channels in cGMP-related retinitis pigmentosa[J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(5): 941-947.
- [52] WANG L, ZOU T D, LIN Y Q, et al. Identification of a novel homozygous variant in the CNGA1 gene in a Chinese family with autosomal recessive retinitis pigmentosa[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(3): 2516-2520.
- [53] XUE J, HAN Y, ZENG W Z, et al. Structural mechanisms of assembly, permeation, gating, and pharmacology of native human rod CNG channel[J]. *Neuron*, 2022, 110(1): 86-95.e5.
- [54] PETERSEN-JONES S M, OCCELLI L M, WINKLER P A, et al. Patients and animal models of CNG $\beta$ 1-deficient retinitis pigmentosa support gene augmentation approach[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(1): 190-206.
- [55] MICHAELIDES M, ALIGIANIS I A, AINSWORTH J R, et al. Progressive cone dystrophy associated with mutation in CNGB3[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(6): 1975-1982.
- [56] ZHENG X, HU Z, LI H, et al. Structure of the human cone photoreceptor cyclic nucleotide-gated channel[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2022, 29(1): 40-46.
- [57] ZHENG X D, LI H, HU Z S, et al. Structural and functional characterization of an achromatopsia-associated mutation in a phototransduction channel[J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 190.
- [58] KARSTENSEN H G, MANG Y, FARK T, et al. The first mutation in CNGA2 in two brothers with anosmia[J]. *Clin Genet*, 2015, 88(3): 293-296.
- [59] SAILANI M R, JINGGA I, MIRMAZLOMI S H, et al. Isolated congenital anosmia and CNGA2 mutation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2667.