



УДК 577.354.3

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ ВКУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ

© 2009 г. Д. А. Гиляров, Т. А. Сахарова, А. А. Буздин[#]Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 ГСП, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступила в редакцию 31.10.2007 г. Принята к печати 03.03.2008 г.

Способность к дифференцированному распознаванию питательной и ядовитой пищи, по-видимому, присуща всем представителям высших эукариот. Наилучшим образом молекулярные механизмы передачи вкусовой информации исследованы у млекопитающих и мух рода *Drosophila*. В обзоре рассматриваются рецепторные механизмы и сопряженные первичные сигнальные процессы, лежащие в основе возбуждения вкусовых рецепторных клеток стимулами различной вкусовой модальности.

Ключевые слова: вкусовые рецепторы, ассоциированные с G-белками рецепторы, вкусовые рецепторные клетки, ионные каналы.

Способность к распознаванию питательной, полезной и ядовитой пищи необходима для успешной жизнедеятельности всех организмов. При этом распознавание вкуса играет определяющую роль в избирательном поедании или избегании пищи. Как правило, для млекопитающих питательные вещества, например, сахара и аминокислоты, имеют сладкий вкус, тогда как ядовитые – горький. Распознавание веществ, имеющих тот или иной вкус, осуществляется при помощи специализированных мембранных белков-рецепторов. Удивительно, что один и тот же рецептор способен связываться с десятками и сотнями значительно различающихся по химическому строению веществ, обладающих в силу этого одним и тем же вкусом. Например, согласно современным данным, всего один рецептор отвечает за восприятие всех сладких соединений, другой – за восприятие всех аминокислот. Число горьких веществ, с которыми может столкнуться организм, потенциально неограниченно, поэтому “горькие” рецепторы наиболее разнообразны. Ощущения же кислого и соленого, по-видимому, воспринимаются непосредственно с

помощью соответствующих ионных каналов или транспортеров.

ОБЩЕЕ СТРОЕНИЕ ВКУСОВОЙ
РЕЦЕПТОРНОЙ СИСТЕМЫ
У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Клетки, воспринимающие вкусовые раздражения (вкусовые рецепторные клетки, ВРК), у млекопитающих расположены во вкусовых почках на поверхности языка и некоторых зон нёба. Вкусовая почка представляет собой группу из 50–150 рецепторных и опорных клеток, выстроенных подобно долькам апельсина, и окруженную эпителиальными клетками. Апикальные части клеток соединены плотными контактами и выступают в открытую наружу вкусовую пору. Эпителий языка образует три типа сосочков, содержащих вкусовые почки. Окаймленные сосочки, окруженные валиком, находятся у основания языка и содержат (у человека) тысячи вкусовых почек. Листовидные сосочки располагаются на боковых поверхностях и содержат от нескольких десятков до сотен почек. Самые мелкие грибовидные сосочки содержат одну или несколько почек и покрывают примерно 2/3 передней поверхности языка. Различные виды сосочков по-разному отвечают на вкусовые раздражители: так, окаймленные сосочки наиболее чувствительны к веществам, имеющим горький вкус, листовидные – к горьким и кислым, грибовидные – к сладким и соленым веществам [1]. Вкусовые почки, расположенные на нёбе, наиболее чувствительны к сладкому.

Вкусовые рецепторные клетки, в отличие от обонятельных, являются вторичными рецепторными клетками и образуют синапсы с афферентными нервными волокнами, входящими в состав VII и IX пары черепно-мозговых нервов. В ответ на деполя-

Сокращения: ASIC – протончувствительный ионный канал (acid-sensing ion channel); RASSL – рецептор, активирующийся только искусственными лигандами (receptor activated solely by synthetic ligands); ENaC – эпителиальный натриевый канал (epithelium Na⁺ channel); GPCR – рецепторы, ассоциированные с G-белками (G-protein coupled receptors); PKD2L – ген полицистита почки (polycystic kidney disease 2-like gene); PLCβ2 – фосфолипаза C β2 (phospholipase C β2); T1R – вкусовой рецептор, тип 1 (taste receptor, type 1); T2R – вкусовой рецептор, тип 2 (taste receptor, type 2); TRPM – потенциальный рецептор семейства меластатина (transient receptor potential Melastatine family); TRPV – потенциальный рецептор ваниллоидного типа (transient receptor potential vanilloid type); VR-1 – ваниллоидный рецептор (vanilloid receptor-1); ВРК – вкусовые рецепторные клетки.

[#] Автор для связи (тел.: (495) 330-65-74; тел./факс: (495) 330-65-38; эл. почта: anton@humgen.siobc.ras.ru).

ризацию они выбрасывают медиатор, действующий на дендритные окончания афферентов. Волокна сенсорных нервов входят в базальную пластинку вкусовой почки и достигают рецепторных клеток. Поскольку происходит постоянная замена выходящих из строя клеток вкусовых почек, окончания нервных волокон находятся в процессе непрерывного поиска новых синаптических контактов. Новые вкусовые сенсорные клетки связываются с афферентными волокнами, не изменяя их специфичность, то есть ВРК, обладающая конкретным набором рецепторов, образует синаптический контакт со строго определенным чувствительным нервным волокном [2]. Каждая ВРК обладает специальным набором рецепторов и воспринимает строго определенный вид вкусовых ощущений, в то время как каждая вкусовая почка содержит все или несколько видов ВРК [3].

РЕЦЕПТОРЫ СЛАДКИХ ВЕЩЕСТВ

В 1999–2001 гг. была открыта новая группа рецепторов, ассоциированных с G-белками (GPCR), предположительно участвующих в распознавании сладкого вкуса. Эта группа, состоящая из трех рецепторов, была названа T1R. Они принадлежат к подклассу GPCR C, куда также входят рецептор кальция CaSR, рецепторы феромонов V2R и метаболитный рецептор глутамата mGluR. Все эти белки обладают очень длинным N-концевым доменом, предположительно отвечающим за узнавание и связывание лиганда. Белки группы T1R на 30–40% гомологичны между собой и обладают характерными признаками GPCR: серией консервативных остатков цистеина в N-концевой части цепи, семью трансмембранными доменами и рядом других коротких консервативных участков [1]. Кодированные их гены расположены в одном районе хромосомы 4 мыши (хромосомы 1 у человека).

Представители T1R экспрессируются в отдельных популяциях ВРК грызунов и человека. Были обнаружены клетки, коэкспрессирующие белки T1R1 и T1R3, T1R2 и T1R3, а также клетки, экспрессирующие только T1R3 [4]. Было показано, что эти клетки участвуют в распознавании сладкого вкуса и вкуса “умами” (вкус L-глутамата) (см. ниже).

Ген *T1R3* был картирован на 4-й хромосоме мыши в районе локуса *Sac*, определяющего способность различных линий мышей чувствовать вкус сахарозы, сахарина и других сладких веществ; оказалось, что “чувствительные” и “нечувствительные” к сладкому линии мышей несут разные аллели T1R3 [5–8]. Также было показано, что “нечувствительные” к сладкому мыши приобретают нормальную чувствительность при трансгенном введении T1R3 [4]. В дальнейшем были обнаружены три полиморфизма T1R3, определяющих разницу между аллелями, “чувствительными” и “нечувствительными” к сладкому [4–6, 9].

В системах гетерологической экспрессии в клетках линии НЕК-293 были получены данные, что белки T1R2 и T1R3 образуют гетеродимер, узнающий все известные сладкие вещества – природные сахара, сахарозаменители, сладкие пептиды и D-аминокислоты [4, 10]. Решающие доказательства того, что гетеродимер T1R2/T1R3 действительно является молекулярным рецептором сладкого у млекопитающих *in vivo*, были получены в работе Жао и др. в 2003 г. [11]. Исследователи создали линии нокаутных мышей с делециями по генам *T1R2* и *T1R3*, каждая из которых оказалась в значительной мере лишенной возможности чувствовать сладкий вкус (слабый ответ возникал только на высокие концентрации природных сахаров, но не заменителей). Двойные мутанты T1R2/T1R3, по данным как электрофизиологических, так и поведенческих экспериментов, были полностью лишены способности чувствовать сладкий вкус. Были созданы линии мышей, несущие ген человеческого рецептора *T1R2*. Такие мыши распознавали вкус некоторых сладких веществ, вкус которых обычные мыши не способны ощущать. Клетки, экспрессирующие только ген *T1R3*, по всей видимости, являются дополнительными низкоаффинными сенсорами сахаров. Наличие таких клеток может объяснять причину того, что искусственные заменители сахара никогда не ощущаются настолько сладкими, как некоторые природные углеводы в высоких концентрациях [4, 11].

Любопытно, что все представители семейства кошачьих лишены возможности чувствовать сладкий вкус. Они несут в геноме делецию, затрагивающую ген *T1R2*, и не способны образовывать функциональный сладкий рецептор [12]. Согласно данным Ксю и др., рецептор сладкого – первый известный представитель GPCR, имеющий несколько сайтов для связывания агониста (например, подсластители аспартам и неотам связываются с N-концевым доменом T1R2, в то время как цикламат связывается с трансмембранным доменом T1R3 [13]).

РЕЦЕПТОРЫ ВЕЩЕСТВ, ОБЛАДАЮЩИХ ВКУСОМ “УМАМИ”

Umami (от яп. *umai* – приятный) – это название специфического вкусового ощущения, которое вызывают некоторые виды японской пищи, например, водорослей *Laminaria japonica*. В 1909 г. было обнаружено, что компонентом, определяющим этот вкус, воспринимаемый как приятный (сладковатый), является глутамат [14]. У человека такой характерный вкус вызывают всего два вещества: L-глутамат натрия и L-аспаратат, в то время как для других млекопитающих большое число L-аминокислот обладает привлекательным вкусом. Интересно, что и в том и в другом случае вкусовое ощущение во много раз усиливается пуриновыми мононуклеотидами, например IMP или GMP [15].

Изучение специфичности рецепторов в гетерологичной системе (экспрессия в клетках линии НЕК293) показало, что гетеродимер белков T1R1/T1R3 мышши функционирует как сенсор разнообразных *L*-аминокислот, причем IMP многократно усиливал ответ T1R1 + T1R3-котрансфицированных клеток на *L*-аминокислоты [16]. В то же время клетки, трансфицированные генами T1R1, T1R3 или T1R2 + T1R3, не давали ответа на *L*-аминокислоты. В дальнейшем было показано, что человеческие белки T1R1 и T1R3 также образуют гетеродимер, селективно узнающий *L*-глутамат натрия и аспаратат, вызывающие ощущение вкуса умами у человека [10]. Ни мышинный, ни человеческий рецепторы не связываются с *D*-аминокислотами, а сладкий вкус глицина и многих *D*-аминокислот, например *D*-триптофана, определяется взаимодействием только с рецептором сладких веществ [10, 16].

Белок T1R3 по-разному воспринимает сладкий вкус и вкус умами: так, полиморфизмы в мышшином гене T1R3, влияющие на чувствительность к сладким веществам, не влияют на восприятие *L*-глутамата [16]. По-видимому, в гетеродимере T1R1/T1R3 глутаматсвязывающий сайт находится на белке T1R1. G-Белок, вероятно, также связывается с T1R1 [13]. Решающие доказательства того, что гетеродимер T1R1/T1R3 является молекулярным рецептором вкуса умами у млекопитающих *in vivo*, были получены в работах с линиями мышшей, дефектными по генам T1R1 или T1R3 [11]. По данным электрофизиологических экспериментов, животные оказались почти полностью лишены возможности чувствовать вкус умами и не отдавали предпочтения пище, содержащей *L*-аминокислоты.

Таким образом, рецепторные системы привлекаемых для животных вкусов сладкого и "умами", весьма похожи и имеют общее эволюционное происхождение. На примере белков семейства T1R можно видеть, насколько может изменяться специфичность комплекса GPCR в зависимости от комбинации составляющих его субъединиц (T1R1 + T1R2 или T1R1 + T1R3).

РЕЦЕПТОРЫ ГОРЬКИХ ВЕЩЕСТВ

Горечь вызывает реакцию отвергания. Токсичные для организма соединения могут иметь совершенно различное химическое строение, но большинство из них при этом обладают предупредительным горьким вкусом. Важно, что горький вкус имеют растительные алкалоиды – хинин, стрихнин, цианид в горьком миндале и т.д. Сильная горечь вызывает рефлекторную рвоту – важный защитный механизм. Молекулярными рецепторами горьких веществ у млекопитающих служат белки семейства T2R. Для каждого организма это примерно 30 различных G-белок-ассоциированных рецепторов, которые селективно экспрессируются в эпителии языка и нёба. В отличие от белков семейства T1R,

эти рецепторы не имеют длинного *N*-концевого внеклеточного домена и гомологичны рецепторам феромонов V1R и опсидам. Белки T2R обнаруживаются от 30 до 70% гомологии по аминокислотной последовательности. Консервативные участки были найдены в первом, втором, третьем и седьмом трансмембранных сегментах, а также во второй цитоплазматической петле. Кодированные их гены расположены кластерами на 6-й хромосоме мышши (7-й и 12-й хромосомах у человека), в локусах, связанных с рецепцией горького [17].

Роль большого количества белков семейства T2R в качестве рецепторов горького была продемонстрирована в системах гетерологичной экспрессии и системах *in vitro*. Так, было показано, что мышшиный белок T2R5 является высокоаффинным рецептором для циклогексимида [18], человеческий T2R16 служит рецептором для β-глюкопиранозидов [19], T2R38 – для фенилтиокарбамида [20]; были найдены также некоторые другие лиганд-рецепторные пары [21, 22]. Решающие доказательства того, что представители семейства T2R являются необходимыми и достаточными для рецепции горького, были получены в экспериментах с трансгенными животными. Мыши в норме не чувствуют вкуса фенилтиокарбамида и в экспериментах с двумя поилками, когда животному предлагается на выбор вода и раствор исследуемого вещества [4], а также в других поведенческих тестах не показывают какого-либо особого отношения к нему [23]. Были получены трансгенные мыши, экспрессирующие ген человеческого рецептора фенилтиокарбамида (имеющего для человека горький вкус), T2R38, для которого вкус этого вещества был отталкивающим. Аналогичные результаты были получены при введении мышам гена человеческого рецептора глюкопиранозидов (чувствительность к некоторым β-глюкопиранозидам, например, фенил-β-*D*-глюкопиранозиду, у мышшей и у людей в норме отличается).

В другом эксперименте была получена линия мышшей, лишенная гена T2R5, кодирующего рецептор циклогексимида. Такие мыши не избегали циклогексимида даже в миллимолярных концентрациях, тогда как в норме для вызывания отвергания в 80% случаев достаточно было концентрации порядка 10 мкМ. Любопытно, что судя по записям потенциалов действия вкусовых афферентных нейронов, у T2R5(-/-)-мышшей сохраняется некая остаточная способность чувствовать циклогексимид в миллимолярных концентрациях, видимо, за счет вовлечения других рецепторов семейства T2R, обладающих низкой аффинностью к циклогексимиду. Наконец, экспрессия гена человеческого рецептора β-глюкопиранозидов T2R16 в ВПК, в норме экспрессирующего сладкий рецептор T1R2/T1R3, вызывала сильное предпочтение этого соединения по сравнению с водой. Эти данные подтверждают, что кодирование

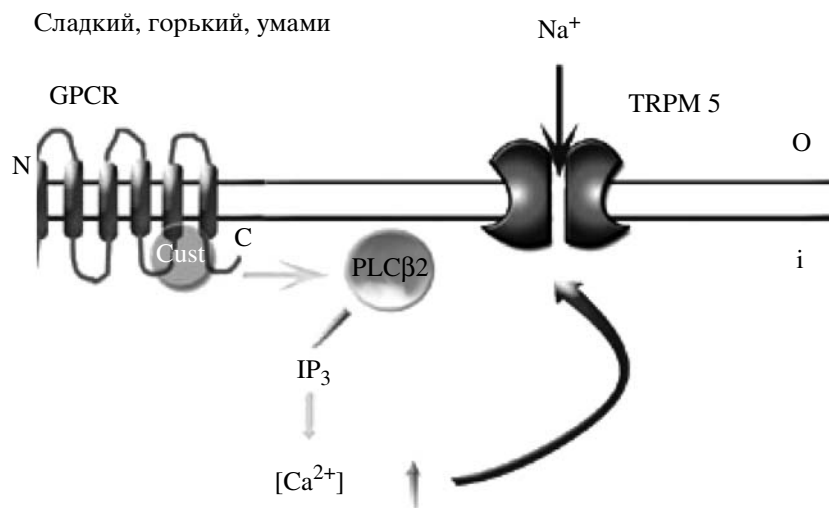


Рис. 1. Схема передачи сигнала в ВРК при помощи G-белок-связанных рецепторов. Связывание лигандов рецепторов сладкого, горького и умами с GPCR вызывает активацию G_{α} -белка густудина (Gust). Далее сигнал передается через фосфолипазу C (PLC β 2) и инозитолтрифосфат (IP $_3$). Повышение концентрации свободного кальция в цитоплазме активирует катионный канал TRPM5, вызывая входящий натриевый ток и, как следствие, деполяризацию клетки и выброс нейромедиатора в район синапса.

вкусовых стимулов осуществляется на уровне вкусовых рецепторных клеток [23].

Во всех вышеприведенных экспериментах никак не затрагивалось восприятие других вкусовых модальностей. В каждой клетке, осуществляющей рецепцию горького, экспрессируются сразу многие гены семейства *T2R* (хотя их набор в каждой клетке может немного отличаться), поэтому млекопитающие, скорее всего, не способны дискриминировать различные горькие вещества [17]. *T2R*-рецепторы были также найдены в клетках дыхательного эпителия [24], а также желудка и двенадцатиперстной кишки [25] грызунов. Возможно, такие клетки выполняют защитную функцию, способствуя возникновению, соответственно, рефлексов чихания, задержки дыхания или рвоты.

МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА G-БЕЛОК-АССОЦИИРОВАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ВКУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ

В 2003 г. был продемонстрирован единый путь передачи сигнала для рецепторов, участвующих в детекции сладкого, горького и умами (рис. 1) [26]. Активация GPCR приводит к активации связанного с ним G-белка. Специфичность конкретного G-белка определяется его альфа-субъединицей (G_{α}). Густудин – это α -субъединица G-белка, специфически экспрессируемого во вкусовых клетках. Густудин родственен трансдуцинам зрительных рецепторных клеток [27]. У нокаутных по гену густудина линий мышей была значительно снижена способность чувствовать сладкий и горький вкус, а также вкус умами, в то время как восприятие кислого и соленого не менялось [28, 29]. При связывании

лиганда с рецептором G-белок переходит в конформацию с низким сродством к GDP и повышенным сродством к GTP. После связывания GTP G_{α} -субъединицей, она предположительно, диссоциирует и активирует локализованную в цитоплазматической мембране фосфолипазу C PLC β 2, специфичную для вкусовых рецепторных клеток [30].

Фосфолипаза C расщепляет молекулы фосфатидилинозит-4,5-дифосфата на инозит-1,4,5-трифосфат и диацилглицерин. Инозиттрифосфат открывает кальциевые каналы в эндоплазматическом ретикулуме, вызывая выброс кальция в цитоплазму. Повышения уровня кальция активирует находящийся в плазмалемме ионный канал – белок TRPM5, ток через который вызывает деполяризацию мембраны клетки. Белок TRPM5 имеет шесть трансмембранных доменов и работает в виде тетрамера, образуя канал, пропускающий однозарядные катионы. Канал активируется микромолярными концентрациями Ca^{2+} и ингибируется в кислой среде. Непосредственное влияние на работу канала также оказывают температура, концентрация фосфатидилинозитидов и разность потенциалов на мембране [30]. Арахидоновая кислота является липидным активатором канала; клетки эпителия языка, экспрессирующие TRPM5, коэкспрессируют также ферменты метаболизма арахидоновой кислоты (фосфолипазу A2, моноглицеридлипазу, циклооксигеназу-2) [31].

В экспериментах на мышцах было показано, что повышение температуры с 15 до 35°C вызывает увеличение входящего тока через канал, соответствующее усилению ответа сенсорных нервов на сладкие вещества. Таким образом, температурная чувстви-

тельность канала может лежать в основе известной увеличенной чувствительности к сладкому при повышенной температуре у людей, а также вкусовых ощущений, возникающих при нагревании или охлаждении языка в отсутствие других раздражителей [32]. Нокаутные линии по гену *PLCβ2* или *TRPM5* демонстрируют почти полную потерю восприятия сладкого, горького и умами. При этом ощущения кислого и соленого вкусов не изменяются [26]. С другой стороны, важно понимать, что *TRPM5* – существенный, но, по-видимому, не единственный компонент передачи сигнала T1R- и T2R-рецепторов; более подробные исследования показали, что делеция *TRPM5* по-разному влияет на восприятие сладкого, умами и горького вкусов в поведенческих и электрофизиологических тестах [33].

РЕЦЕПТОРЫ СОЛЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Детектирование и регуляция количества минеральных солей, попадающих с пищей внутрь организма, имеет большое значение для животных, поскольку является ключевым этапом контроля ионного гомеостаза. Было показано [34], что ионы Na^+ воздействуют на чувствительные к соленому ВРК, непосредственно входя в специальные ионные каналы на апикальной поверхности клетки, а не включая систему G-белков (рис. 2). Часть таких каналов блокируется амилоридом, специфическим блокатором Na^+ -каналов. При измерении трансэпителиального тока было показано, что поток Na^+ внутрь клеток устраняется амилоридом [34]. Локальная фиксация потенциала одиночной ВРК также показывает, что поток Na^+ внутрь устраняется амилоридом [35]. Было сделано заключение, что поток Na^+ внутрь клетки вызывает деполяризацию ВРК, приводящую к выделению медиатора на соседние нервные окончания [36]. По некоторым данным, в клетках существуют две амилоридчувствительные рецепторные компоненты с разной кинетикой связывания лиганда [37]. Соли одновалентных катионов – KCl и NH_4Cl так же, как и NaCl , имеют соленый вкус. Амилорид подавляет ответ ВРК на KCl и NH_4Cl , хотя и в меньшей степени, чем на NaCl . Тем не менее, возможно, что специфичные для Na^+ амилоридчувствительные каналы могут участвовать и в трансдукции вкуса KCl и NH_4Cl . 5-(*N,N*-Диметил)амилорид – ингибитор Na^+/H^+ транспортера – также уменьшает ответ на все три катиона, особенно на NH_4^+ . Возможно, что Na^+/H^+ -транспортер тоже участвует в детекции соленого [38]. Амилоридчувствительные каналы характеризуются общими электрофизиологическими и фармакологическими свойствами с эпителиальными Na^+ -каналами (ENaC). ВРК экспрессируют гены субъединиц ENaC, причем существуют различия в представленности трех субъединиц (α , β и γ), необходимых для

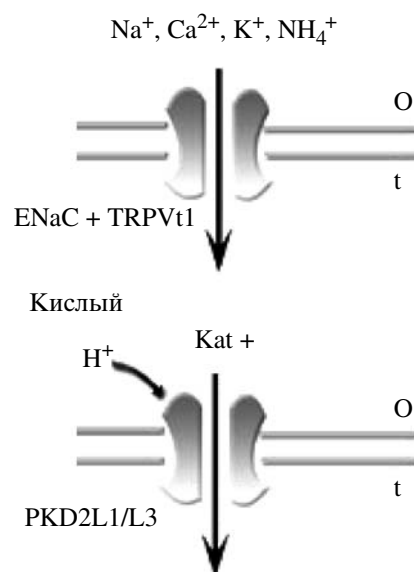


Рис. 2. Схема рецепции соленого и кислого у млекопитающих. Верх: соленый вкус воспринимается с помощью ионных каналов ENaC и TRPVt1 и, возможно, других катионных каналов. Вход катионов непосредственно вызывает деполяризацию клетки. Низ: кислый вкус воспринимается с помощью гетомера PKD2L1/PKD1L3, активирующегося протонами.

образования функционального канала; соответствующие мРНК и их белковые продукты легко обнаруживаются во вкусовых рецепторных клетках передней части языка крысы, в то время как клетки задней части языка экспрессируют на высоком уровне только гены α -субъединицы. Возможно, что чувствительность к соленому, требующая наличия всех трех субъединиц, присутствует только в передней части языка [39].

На настоящий момент в ВРК идентифицирован по крайней мере один амилориднечувствительный канал TRPVt1. Этот белок является изоформой ваниллоидного рецептора (VR-1, TRPV1), агонистами которого являются капсаицин и резинифератоксин [40]. TRPVt1 – конститутивно активный неспецифический катионный канал. Высокая (>38°C) температура способствует увеличению его проводимости. Этот канал, возможно, отвечает за одну из компонент амилориднечувствительного восприятия Na^+ и других ионов, имеющих соленый вкус. У мышей наблюдается повышенная чувствительность к соленому при высокой температуре (>38°C), действии ваниллоидов и сниженная чувствительность при действии антагонистов VR-1 (капсазепина и SB-366791). У мышей с дефектным геном *VR-1* ни один из этих эффектов не проявляется, и они не способны ощущать соленый вкус Na^+ в присутствии амилорида [40, 41].

С другой стороны, используя поведенческие тесты, Руиз и коллеги [42] проанализировали вкусо-

вую чувствительность к NaCl и KCl у мышей с нокаутированным геном *TRPV1*, которая оказалась сопоставимой с таковой у мышей дикого типа. Амилорид повышал чувствительность к солям нокаутных животных вместо того, чтобы подавлять ее. Авторы работы предполагают, что TRPV1 может отвечать за неспецифическое отвержение солей. Таким образом, вопрос о вкладе TRPV1 в амилориднечувствительную компоненту ответов на соленые стимулы может быть однозначно решен лишь на уровне отдельных вкусовых клеток, а не в экспериментах на животных.

Интересно, что амилоридчувствительные каналы в соседних с ВРК эпителиальных клетках могут играть важную роль в усилении ответа на все вкусовые стимулы. Апикальные амилоридчувствительные каналы вместе с базальной K^+/Na^+ -АТФ-азой формируют систему транспорта натрия в межклеточное пространство. Вслед за натрием туда устремляются ионы хлора, снижая суммарный положительный заряд мембраны и увеличивая степень ее деполаризации при активации рецептора [43].

Чувствительность к соленому находится под гормональным контролем. Так, внесение гормона коры надпочечников альдостерона в перфузионную жидкость кровеносного сосуда языка лягушки увеличивает ответ языкоглоточного нерва на NaCl. Этот эффект сохраняется в течение 3–6 ч после перфузии [44]. Альдостерон увеличивает количество функциональных амилоридчувствительных Na^+ -каналов и ВРК, отвечающих на соленое, а также амплитуду тока, проходящего через каждый канал [45, 46]. Другим гормоном, влияющим на чувствительность к соленому, является вазопрессин (антидиуретический гормон). Аппликация этого гормона также вызывает медленное усиление ответа языкоглоточного нерва на соленое. Вазопрессин выделяется гипофизом, когда осмотическое давление плазмы возрастает. Если это одновременно делает ВРК более чувствительными к NaCl, животное, по-видимому, уменьшает потребление соленой пищи и, таким образом, компенсирует повышение осмолярности [47].

РЕЦЕПТОРЫ КИСЛЫХ ВЕЩЕСТВ

Детектирование степени кислотности также имеет важнейшее значение для поддержания гомеостаза внутренней среды. Детектирование кислого также важно, чтобы предупредить употребление в пищу некачественных продуктов, например, незрелых или скисших фруктов. Ранее было предложено множество возможных механизмов рецепции кислого, в качестве участников которых рассматривались эпителиальные натриевые каналы (ENaCs), протончувствительные ионные каналы (ASICs), калиевые (K_2P) каналы, H^+ -активируемые кальциевые каналы и многие другие [48]. За последние годы были получены данные, достовер-

но свидетельствующие о возможной роли протончувствительных ионных каналов ASIC2a и ASIC2b в восприятии кислого у крысы [49] и о необходимом участии ионного канала PKD2L1 в восприятии кислого у мыши.

Протончувствительные ионные каналы принадлежат к семейству эпителиальных натриевых каналов, или “дегенеринов”, и вовлечены в рецепцию боли, механорецепцию, процессы обучения и памяти. Канал представляет из себя гомотример, каждая субъединица которого состоит из двух трансмембранных доменов и многодоменного внеклеточного участка, сопрягающего связывание протонов и открывание канала [50]. Белки ASIC2a и ASIC2b специфично экспрессируются во вкусовых сосочках крысы. ASIC2b взаимодействует с ASIC2a, образуя гетеромер. Кривая зависимости проводимости от pH для такого канала хорошо совпадает с наблюдаемым в ходе электрофизиологических экспериментов ответом ВРК крысы на кислоты [49]. Более того, при гетерологичной экспрессии белка ASIC2a в ооцитах *Xenopus* было обнаружено, что органические кислоты вызывают гораздо более сильный клеточный ответ, чем неорганические при том же значении pH. Этот феномен наблюдается и *in vivo* – органические кислоты имеют более кислый вкус, чем неорганические при той же концентрации протонов. Тем не менее у мышей экспрессия белков ASIC2 во вкусовых сосочках не наблюдается, поэтому вопрос о роли этих каналов в восприятии вкуса у млекопитающих в целом остается открытым [51].

В 2006 г. была предпринята еще одна попытка найти специфические белки-рецепторы кислого вкуса, присутствующие только в отдельной популяции вкусовых рецепторных клеток (как описанные выше рецепторы сладкого, горького и умами) [52]. В качестве кандидатов на роль таких рецепторов были предложены белки PKD2L1 и PKD1L3. Белки PKD принадлежат к обширному семейству ионных каналов TRP, имеющих шесть трансмембранных доменов и функционирующих как тетрамеры. Эти каналы участвуют в детекции ощущений жара и холода, боли, некоторых феромонов и др. [52]. Другие члены этого семейства, принимающие участие в рецепции соленого и трансдукции сигнала рецепторов горького, сладкого и умами, уже обсуждались выше (TRPV1, TRPM5). Белок PKD2L1 экспрессируется в отдельной популяции ВРК, изолированной от рецепторных клеток сладкого, горького и умами. В окаймленных и листовидных сосочках PKD2L1 коэкспрессируется вместе с белком-партнером PKD1L3. Белки взаимодействуют друг с другом и образуют олигомер. Коэкспрессия гена *PKD1L3* необходима для того, чтобы PKD2L1 обнаруживался на поверхности клетки. Вероятно, в грибовидных сосочках у белка PKD2L1 существует какой-то другой партнер [53, 54]. Трансгенные мыши, экспрессирующие дифтерийный токсин под промоторм гена *PKD2L1*, полностью лишены восприятия

кислого вкуса, сохраняя при этом неизменную способность детектировать остальные вкусовые модальности. Таким образом, ВРК, экспрессирующие *PKD211*, являются единственными рецепторными клетками кислого, и сам белок *PKD2L1*, вместе со своим партнером *PKD1L3*, скорее всего, является рецептором кислого вкуса у мыши [54]. Этот эксперимент также подтверждает гипотезу кодирования “на периферии”, согласно которой, каждая вкусовая рецепторная клетка настроена на восприятие одного определенного вкуса (см. ниже “Кодирование вкусовых стимулов”).

Рецепция кислотности крови и спинно-мозговой жидкости имеет важное физиологическое значение. Было показано, что *PKD211* также экспрессируется в группе нейронов, окружающих спинно-мозговой канал и контролирующими рН спинно-мозговой жидкости. Это еще один пример того, как разные физиологические функции могут осуществляться на основе общего механизма [53].

РЕЦЕПЦИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Крысы и мыши способны чувствовать вкус жирных кислот, содержащихся в пище [55, 56]. Возможно, что у них существует специальный рецептор, узнающий жирные кислоты. На роль такого рецептора предлагается транспортер жирных кислот *CD36/FAT*. Было показано, что он экспрессируется во вкусовых сосочках языка грызунов [55, 57]. Были получены линии мышей, лишённые гена *CD36*, такие мыши были совершенно равнодушны к пище, обогащенной жирными кислотами [55]. Также во вкусовых сосочках крыс экспрессируется G-белок-ассоциированный рецептор *GPR120*, выполняющий функцию сенсора жирных кислот в жировых тканях и энтероэндокринных клетках кишечника [58, 59]. Жирные кислоты обостряют реакцию крыс на вкусовые раздражители: сладкие растворы становятся еще более привлекательными, а горькие и кислые – более отталкивающими. Возможно, это происходит за счет усиления деполаризации вкусовых афферентных нейронов [60]. Человек, согласно последним данным, тоже способен чувствовать вкус жирных кислот, изменение рецепции которых может играть роль в развитии нарушений питания [61].

КОДИРОВАНИЕ ВКУСОВЫХ СТИМУЛОВ

Долгое время господствовала гипотеза, что индивидуальные ВРК экспрессируют разнообразные рецепторы и воспринимают несколько вкусовых модальностей, и каждое афферентное волокно тоже несет информацию о нескольких вкусовых модальностях сразу [62]. Однако новые данные заставляют полностью пересмотреть это представление. Как было показано в экспериментах с целевой экспрессией гена дифтерийного токсина [54], рецепто-

ры кислого, горького и сладкого находятся в независимых популяциях клеток и могут быть “выключены” независимо друг от друга. Фосфолипаза *PLC β 2* необходима для трансдукции сигнала от сладкого, горького и умами рецепторов. Мыши с дефектным геном *PLC β 2* лишены способности чувствовать все эти вкусы. Было показано, что у таких мышей целевая экспрессия гена фосфолипазы *C* в клетках, экспрессирующих горькие рецепторы *T2R*, избирательно восстанавливает восприятие горького вкуса [26]. Действительно, если бы вместе с горькими рецепторами коэкспрессировались рецепторы других модальностей, то в той или иной мере у мыши восстанавливались бы и другие вкусовые ощущения.

Жао и др. экспрессировали модифицированный опиоидный рецептор *RASSL* в трансгенных мышцах, которые обнаруживали влечение к абсолютно безвкусному для мышей дикого типа синтетическому веществу – лиганду *RASSL* [11]. Аналогично, Кен Мюллер с коллегами продемонстрировали, что экспрессия *RASSL* в “горьких” клетках вызывает реакцию отвращения к лиганду *RASSL* [23]. Эти эксперименты доказывают, что кодирование вкусовых модальностей осуществляется на уровне отдельных вкусовых рецепторных клеток, каждая из которых экспрессирует какой-то один класс вкусовых рецепторов и связана с “выделенным” афферентным волокном, так что активация такой клетки ведет к активации строго определенного нерва, соответствующего определенной вкусовой модальности (рис. 3) [23]. Такая модель соответствует уже установленному принципу работы обонятельных рецепторных клеток, каждая из которых экспрессирует только один рецептор и образует синапс со строго определенным местом в обонятельной луковице.

РЕЦЕПТОРЫ ВКУСОВЫХ ВЕЩЕСТВ И КОДИРОВАНИЕ ВКУСОВЫХ СТИМУЛОВ У *Drosophila*

По-видимому, вкусовые рецепторы дрозофилы кодируются семейством из приблизительно 70 генов [63–65]. Экспрессия генов вкусовых рецепторов изучалась *in vivo* с помощью *UAS-Gal4*-системы. Под промотор исследуемого гена помещали последовательность транскрипционного активатора дрожжей *gal4*, который контролировал экспрессию репортерного гена (*lacZ* или *gfp*, слитые с последовательностью *UAS*, с которой связывается *gal4*) [63, 65]. У дрозофилы можно выделить две перекрывающиеся клеточные популяции предположительно вкусовых нейронов: одна из них содержит клетки, экспрессирующие только ген *Gr5a*, другая включает клетки, коэкспрессирующие ген *Gr66a* и некоторые другие гены [66]. Ранние генетические исследования показали, что ген *Gr5a* сообщает мухе чувствительность к одному из ее основных компонентов питания – моносахариду трегалозе [67].

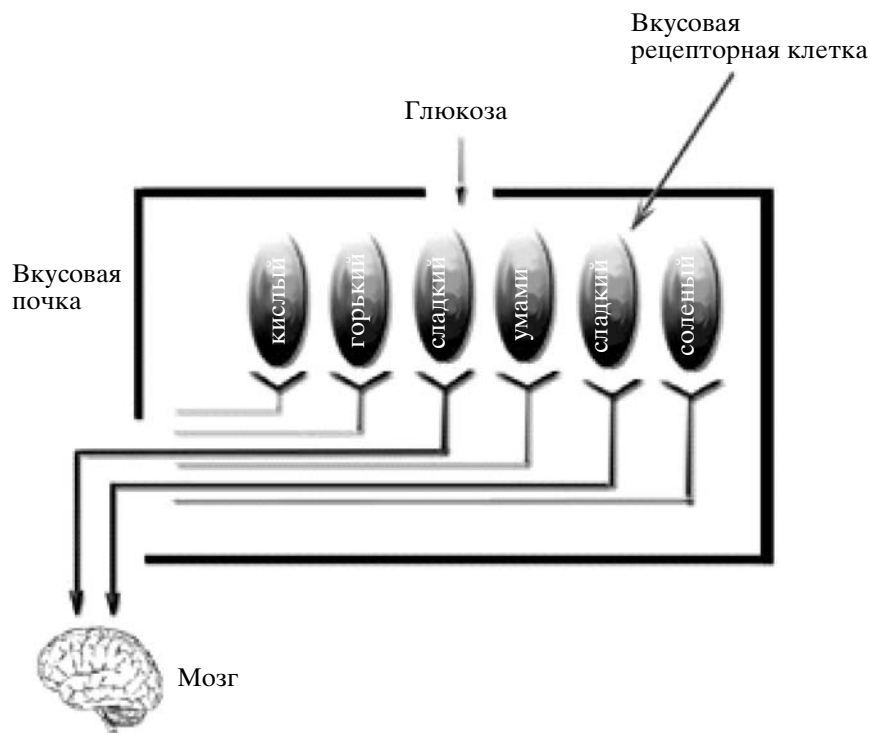


Рис. 3. Схема устройства вкусовой почки. Вкусовой стимул, например молекула глюкозы, попадая во вкусовую почку, контактирует с ВРК. Каждая из этих клеток несет определенный набор рецепторов и способна воспринимать определенный вид вкусовых ощущений. В данном случае активируются две клетки, несущие рецепторы сладкого. Они деполаризуются и передают сигнал по афферентным нервным волокнам, образующим синапсы с ВРК. Каждой клетке соответствует "выделенное" афферентное нервное волокно.

Гетерологичная экспрессия рецептора в культуре клеток подтвердила эти результаты [68]. *In vivo* в поведенческих тестах и электрофизиологических экспериментах было доказано, что Gr66a является рецептором кофеина, имеющего горький вкус и вызывающего реакцию отвергания у мух [69]. С использованием методических подходов, примененных ранее на ВРК млекопитающих и аналогичных им [11, 26], – экспрессия дифтерийного токсина или тетанус-токсина под контролем промотора интересующего гена – было показано, что популяции клеток, экспрессирующие гены *Gr5a* и *Gr66a*, отвечают за рецепцию сладкого и горького вкусов соответственно. Проекции этих групп нейронов в мозге не перекрываются.

Таким образом, модель кодирования вкусовых стимулов "на периферии" оказывается верной и для *Drosophila* [66, 70]. Для окончательного подтверждения этой модели был проведен другой ряд экспериментов. С помощью кальциевого мониторинга вкусовых рецепторных нейронов у мухи *in vivo* была показана независимая активация двух неперекрывающихся групп клеток в ответ на различные сладкие или горькие стимулы. При экспрессии гена *VR-1* (рецептора капсаицина) под контролем промотора *Gr5a* мухи демонстрировали повышенное предпочтение к агару, содержа-

щему капсаицин, а при экспрессии того же гена под промотором *Gr66a* – противоположное поведение [71].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре проанализированы данные современных исследований, посвященных декодированию функций вкусовой рецепции на молекулярном уровне. Подробно рассмотрены имеющиеся данные прежде всего по первому звену рецепции: связыванию мембранных рецепторов с лигандом и активации первичных систем дальнейшей передачи сигнала. На настоящий момент, молекулярные основы рецепции вкуса достаточно полно изучены лишь у млекопитающих, частично – у дрозофилы и некоторых других беспозвоночных. Представляется очевидным, что исследования в данной области будут иметь большую важность как для дальнейших фундаментальных работ, так и для биотехнологических приложений.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума Российской академии наук по молекулярной и клеточной биологии, а также гранта Президента РФ МК-4227.2007.4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hoon M.A., Adler E., Lindemeier J., Battey J.F., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Cell*. 1999. V. 96. P. 541–551.
2. Ninomiya Y. // *PNAS*. 1998. V. 95. P. 5347–5350.
3. Chandrashekar J., Hoon M.A., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Nature*. 2006. V. 444. P. 288–294.
4. Nelson G., Hoon M.A., Chandrashekar J., Zhang Y., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Cell*. 2001. V. 106. P. 381–390.
5. Montmayeur J.P., Liberles S.D., Matsunami H., Buck L.B. // *Nat. Neurosci.* 2001. V. 4. P. 492–498.
6. Max M., Shanker Y.G., Huang L., Rong M., Liu Z., Campagne F., Weinstein H., Damak S., Margolskee R.F. // *Nat. Genet.* 2001. V. 28. P. 58–63.
7. Kitagawa M., Kusakabe Y., Miura H., Ninomiya Y., Hino A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001. V. 283. P. 236–242.
8. Sainz E., Korley J.N., Battey J.F., Sullivan S.L. // *J. Neurochem.* 2001. V. 77. P. 896–903.
9. Reed D.R., Li S., Li X., Huang L., Tordoff M.G., Starling-Roney R., Taniguchi K., West D.B., Ohmen J.D., Beauchamp G.K., Bachmanov A.A. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 938–946.
10. Li X., Staszewski L., Xu H., Durick K., Zoller M., Adler E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99. P. 4692–4696.
11. Zhao G.Q., Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J., Erlenbach I., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Cell*. 2003. V. 115. P. 255–266.
12. Li X., Li W., Wang H., Cao J., Maehashi K., Huang L., Bachmanov A.A., Reed D.R., Legrand-Defretin V., Beauchamp G.K., Brand J.G. // *PLoS Genet.* 2005. V. 1. P. 27–35.
13. Xu H., Staszewski L., Tang H., Adler E., Zoller M., Li X. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. P. 14258–14263.
14. Ikeda K. // *J. Tokyo Chem. Soc.* 1909. V. 30. P. 820–836.
15. Yamaguchi S. // *J. Foodsci.* 1967. V. 32. P. 473–478.
16. Nelson G., Chandrashekar J., Hoon M.A., Feng L., Zhao G., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Nature*. 2002. V. 416. P. 199–202.
17. Adler E., Hoon M.A., Mueller K.L., Chandrashekar J., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Cell*. 2000. V. 100. P. 693–702.
18. Chandrashekar J., Mueller K.L., Hoon M.A., Adler E., Feng L., Guo W., Zuker C.S., Ryba N.J. // *Cell*. 2000. V. 100. P. 703–711.
19. Bufe B., Hofmann T., Krautwurst D., Raguse J.D., Meyerhof W. // *Nat. Genet.* 2002. V. 32. P. 397–401.
20. Kim U.K., Jorgenson E., Coon H., Leppert M., Risch N., Drayna D. // *Science*. 2003. V. 299. P. 1221–1225.
21. Pronin A.N., Tang H., Connor J., Keung W. // *Chem. Senses*. 2004. V. 29. P. 583–593.
22. Sainz E., Cavenagh M.M., Gutierrez J., Battey J.F., Northup J.K., Sullivan S.L. // *Biochem. J.* 2007. V. 403. P. 537–543.
23. Mueller K.L., Hoon M.A., Erlenbach I., Chandrashekar J., Zuker C.S., Ryba N.J. // *Nature*. 2005. V. 434. P. 225–229.
24. Finger T.E., Bottger B., Hansen A., Anderson K.T., Alimohammadi H., Silver W.L. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. P. 8981–8986.
25. Wu S.V., Rozengurt N., Yang M., Young S.H., Sinnett-Smith J., Rozengurt E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99. P. 2392–2397.
26. Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J., Mueller K.L., Cook B., Wu D., Zuker C.S., Ryba N.J. // *Cell*. 2003. V. 112. P. 293–301.
27. McLaughlin S.K., McKinnon P.J., Margolskee R.F. // *Nature*. 1992. V. 357. P. 563–569.
28. Wong G.T., Gannon K.S., Margolskee R.F. // *Nature*. 1996. V. 381. P. 796–800.
29. He W., Yasumatsu K., Varadarajan V., Yamada A., Lem J., Ninomiya Y., Margolskee R.F., Damak S. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 7674–7680.
30. Liman E.R. // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2007. V. 179. P. 287–298.
31. Oike H., Wakamori M., Mori Y., Nakanishi H., Taguchi R., Misaka T., Matsumoto I., Abe K. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2006. V. 1761. P. 1078–1084.
32. Talavera K., Yasumatsu K., Voets T., Droogmans G., Shigemura N., Ninomiya Y., Margolskee R.F., Nilius B. // *Nature*. 2005. V. 438. P. 1022–1025.
33. Damak S., Rong M., Yasumatsu K., Kokrashvili Z., Perez C.A., Shigemura N., Yoshida R., Mosinger B., Jr., Glendinning J.I., Ninomiya Y., Margolskee R.F. // *Chem. Senses*. 2006. V. 31. P. 253–264.
34. Avenet P., Lindemann B. // *J. Membr. Biol.* 1988. V. 105. P. 245–255.
35. Doolin R.E., Gilbertson T.A. // *J. Gen. Physiol.* 1996. V. 107. P. 545–554.
36. Heck G.L., Mierson S., DeSimone J.A. // *Science*. 1984. V. 223. P. 403–405.
37. Ninomiya Y. // *J. Neurophysiol.* 1996. V. 76. P. 3550–3554.
38. Lundy R.F., Jr., Pittman D.W., Contreras R.J. // *Am. J. Physiol.* 1997. V. 273. P. R1923–R1931.
39. Kretz O., Barbry P., Bock R., Lindemann B. // *J. Histochem. Cytochem.* 1999. V. 47. P. 51–64.
40. Lyall V., Heck G.L., Vinnikova A.K., Ghosh S., Phan T.H., Alam R.I., Russell O.F., Malik S.A., Bigbee J.W., DeSimone J.A. // *J. Physiol.* 2004. V. 558. P. 147–159.
41. Lyall V., Heck G.L., Vinnikova A.K., Ghosh S., Phan T.H., DeSimone J.A. // *Chem. Senses*. 2005. V. 30. Suppl. 1. P. i42–i43.
42. Ruiz C., Gutknecht S., Delay E., Kinnamon S. // *Chem. Senses*. 2006. V. 31. P. 813–820.
43. Li X.J., Blackshaw S., Snyder S.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994. V. 91. P. 1814–1818.
44. Okada Y., Miyamoto T., Sato T. // *Comp. Biochem. Physiol. A*. 1990. V. 97. P. 535–536.
45. Herness M.S. // *Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol.* 1992. V. 103. P. 269–273.
46. Lin W., Finger T.E., Rossier B.C., Kinnamon S.C. // *J. Comp. Neurol.* 1999. V. 405. P. 406–420.
47. Okada Y., Miyamoto T., Sato T. // *Comp. Biochem. Physiol. A*. 1991. V. 100. P. 693–696.
48. DeSimone J.A., Lyall V., Heck G.L., Feldman G.M. // *Respir. Physiol.* 2001. V. 129. P. 231–245.
49. Shimada S., Ueda T., Ishida Y., Yamamoto T., Uga S. // *Arch. Histol. Cytol.* 2006. V. 69. P. 227–231.

50. Jasti J., Furukawa H., Gonzales E.B., Gouaux E. // *Nature*. 2007. V. 449. P. 316–323.
51. Richter T.A., Dvoryanchikov G.A., Roper S.D., Chaudhari N. // *J. Neurosci.* 2004. V. 24. P. 4088–4091.
52. Clapham D.E. // *Nature*. 2003. V. 426. P. 517–524.
53. Ishimaru Y., Inada H., Kubota M., Zhuang H., Tominaga M., Matsunami H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 12569–12574.
54. Huang A.L., Chen X., Hoon M.A., Chandrashekar J., Guo W., Trankner D., Ryba N.J., Zuker C.S. // *Nature*. 2006. V. 442. P. 934–938.
55. Laugerette F., Passilly-Degrace P., Patris B., Niot I., Febbraio M., Montmayeur J.P., Besnard P. // *J. Clin. Invest.* 2005. V. 115. P. 3177–3184.
56. McCormack D.N., Clyburn V.L., Pittman D.W. // *Physiol. Behav.* 2006. V. 87. P. 582–594.
57. Fukuwatari T., Kawada T., Tsuruta M., Hiraoka T., Iwanaga T., Sugimoto E., Fushiki T. // *FEBS Lett.* 1997. V. 414. P. 461–464.
58. Matsumura S., Mizushige T., Yoneda T., Iwanaga T., Tsuzuki S., Inoue K., Fushiki T. // *Biomed. Res.* 2007. V. 28. P. 49–55.
59. Gotoh C., Hong Y.H., Iga T., Hishikawa D., Suzuki Y., Song S.H., Choi K.C., Adachi T., Hirasawa A., Tsujimoto G., Sasaki S., Roh S.G. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. V. 354. P. 591–597.
60. Pittman D.W., Labban C.E., Anderson A.A., O'Connor H.E. // *Chem. Senses*. 2006. V. 31. P. 835–843.
61. Chale-Rush A., Burgess J.R., Mattes R.D. // *Chem. Senses*. 2007. V. 32. P. 423–431.
62. Caicedo A., Kim K.N., Roper S.D. // *J. Physiol.* 2002. V. 544. P. 501–509.
63. Scott K., Brady R., Jr., Cravchik A., Morozov P., Rzhetsky A., Zuker C., Axel R. // *Cell*. 2001. V. 104. P. 661–673.
64. Clyne P.J., Warr C.G., Carlson J.R. // *Science*. 2000. V. 287. P. 1830–1834.
65. Dunipace L., Meister S., McNealy C., Amrein H. // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 822–835.
66. Wang Z., Singhvi A., Kong P., Scott K. // *Cell*. 2004. V. 117. P. 981–991.
67. Ueno K., Ohta M., Morita H., Mikuni Y., Nakajima S., Yamamoto K., Isono K. // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 1451–1455.
68. Chyb S., Dahanukar A., Wickens A., Carlson J.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. V. 100. Suppl 2. P. 14526–14530.
69. Moon S.J., Kottgen M., Jiao Y., Xu H., Montell C. // *Curr. Biol.* 2006. V. 16. P. 1812–1817.
70. Thorne N., Chromey C., Bray S., Amrein H. // *Curr. Biol.* 2004. V. 14. P. 1065–1079.
71. Marella S., Fischler W., Kong P., Asgarian S., Rueckert E., Scott K. // *Neuron*. 2006. V. 49. P. 285–295.

Molecular Receptors of Taste Agents

D. A. Gilyarov, T. A. Sakharova, and A. A. Buzdin[#]

[#]Phone +7 (495) 330-6574; phon/fax: +7 (495) 330-6538; e-mail: anton@humgen.siobc.ras.ru
 Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
 ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia

All representatives of higher eukaryotes can probably differentially perceive nutrients and poisonous substances. Molecular mechanisms of transduction of taste information have been best studied for mammals and for the fruit fly *Drosophila*. Here, we consider receptor mechanisms and conjugated primary signal processes of stimulation of taste receptor cells by stimuli of various taste modalities.

Key words: taste receptors, G-protein-associated receptors, taste receptor cells, ion channels