



溶酶体膜上的离子通道

曲莉丽*, 辛竞, 仓春蕾*

中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230027

联系人, E-mail: lilisqu@ustc.edu.cn; ccang@ustc.edu.cn

收稿日期: 2016-09-30; 接受日期: 2016-10-15; 网络版发表日期: 2017-01-18

国家自然科学基金(批准号: 31570836)和中央高校基本科研业务费专项资金资助

摘要 溶酶体是真核细胞中广泛存在的一种囊泡状细胞器,其内部含有多种酸性水解酶,是细胞降解生物大分子的主要位点.在溶酶体膜上也存在多种不同类型的蛋白质,包括离子通道、转运体、结构蛋白、酶等,其中离子通道蛋白由于他们在溶酶体离子动态平衡和跨膜转运、溶酶体膜电位和pH以及细胞营养代谢水平的调控中的重要作用,受到越来越多的关注,多种溶酶体离子通道也被相继鉴定出来.本文简要综述了近年来关于不同类型溶酶体膜离子通道蛋白的研究工作,阐述这些离子通道的特性、功能调控和在溶酶体生理活动中的作用.

关键词 溶酶体, 内体, 离子通道, 膜电位, TRPML1, TPC, K_{EL}

溶酶体是真核细胞内由脂质双分子层包裹的囊泡状细胞器,其内部含有60多种水解酶,可以降解多糖、核酸、蛋白、脂肪、病原体、衰老的细胞器及衰老损伤和死亡的细胞等多种生物大分子以满足机体自身更新组织的需要,是细胞内主要的“消化性”细胞器.细胞自溶、防御以及对某些物质的再利用均与溶酶体的消化降解功能有关.除细胞内消化作用外,溶酶体还参与多个细胞生理过程,如细胞膜的损伤修复、自噬、凋亡以及细胞内信号转导等^[1,2].例如,在神经系统中,胶质细胞的溶酶体内部含有高浓度的ATP可以经胞吐作用释放到细胞外,激活周围细胞膜上的嘌呤受体,进而介导胶质细胞间的“钙波”传导,并参与对神经元突触传递的调节^[3,4].此外,溶酶体还是细胞内蛋白激酶复合体mTORC1的主要作用位点,参与调控细胞营养水平、氨基酸代谢和基因转录^[5-7].

溶酶体膜上有50多种膜蛋白.由于溶酶体的酸性环境,这些膜蛋白通常高度糖基化,在膜内侧形成连续的糖蛋白层.例如,分布最广泛的溶酶体相关膜蛋白LAMP-1, LAMP-2,它们不仅对维持溶酶体稳定性和完整性有重要作用,而且还参与调控胞吐过程中溶酶体膜与吞噬体、自噬体或者质膜的融合^[8].溶酶体膜上还存在多种离子通道蛋白,参与调节溶酶体离子稳态平衡、膜电位、营养感知以及囊泡融合等多种细胞生理现象,其在溶酶体信号传导中的作用也越来越受到人们关注.随着技术的发展和研究的深入,目前已经有多种溶酶体膜通道被鉴定出来,如非选择性阳离子通道TRPML家族、钠通道TPC家族、钾通道K_{EL}等(图1).本文将简要综述这些离子通道蛋白相关的研究,并对研究溶酶体离子通道的重要方法——溶酶体膜片钳技术进行介绍.

引用格式: 曲莉丽, 辛竞, 仓春蕾. 溶酶体膜上的离子通道. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 108-115

Qu L L, Xin J, Cang C L. Lysosomal membrane ion channels. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 108-115, doi: 10.1360/N052016-00345

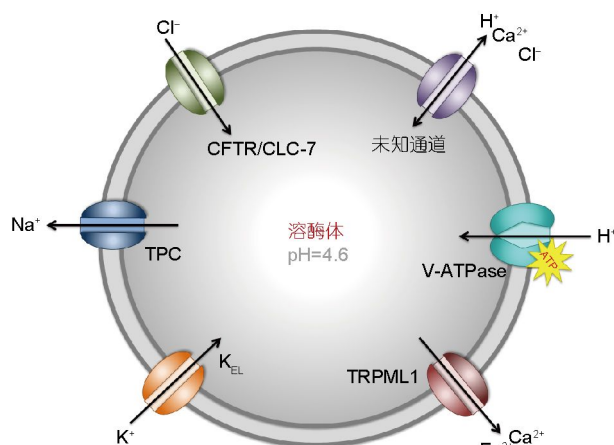


图1 溶酶体膜上的离子通道类型(网络版彩图)

1 溶酶体膜片钳技术

膜片钳是研究离子通道的最有效实验技术之一, 被广泛应用于细胞膜上的离子通道研究. 然而, 膜片钳技术所采用的玻璃微管电极直径为微米级, 因而对记录对象有尺寸要求. 与细胞不同的是, 溶酶体的个体非常微小, 平均直径不足 $1\ \mu\text{m}$, 传统的膜片钳实验方法无法直接在溶酶体上进行, 因此研究人员只能采用其他方法对溶酶体离子通道进行研究. 其中一种早期研究方法为提取纯化溶酶体离子通道蛋白, 将其嵌入到人工磷脂双分子层上记录通道电流^[9]. 另一种方法则是改变离子通道蛋白负责亚细胞定位的氨基酸序列使其可以表达在细胞膜上, 再使用全细胞膜片钳技术进行记录^[10]. 此外, 也有研究人员通过离心的方法在细胞匀浆中分离出溶酶体, 然后采用带有微孔的记录芯片^[11,12]记录溶酶体膜电流. 这些方法均会显著改变这些离子通道或是溶酶体所处的微环境, 会对通道性质有较大的影响. 这些局限性使得对溶酶体离子通道的研究进展缓慢, 可能也是很多研究结果存在争议的原因.

随后一种名为vacuolin-1的小分子化合物的应用使得对溶酶体膜离子通道的研究得到了极大改观. 这种化合物可以通过刺激溶酶体进行同型膜融合而使溶酶体体积在短时间内成倍增加^[13], 使得在溶酶体上进行膜片钳记录成为可能. 受Saito等人^[14]在增大的内体上进行传统膜片钳记录的启发, 美国密歇根大学Xu研究组^[15~18]实现了在vacuolin-1增大的溶酶体上进

行全溶酶体膜片钳记录, 并将其运用到对TRPML1和TPC的研究中. 随后本研究组也开始采用这一方法研究溶酶体钠离子和钾离子通道的调控和功能, 并首次采用溶酶体电流钳的方法动态监控溶酶体膜电位的变化^[19~21].

溶酶体膜片钳实验方法如图2所示, 先用vacuolin-1处理细胞将溶酶体增大, 然后用玻璃电极尖端在细胞膜上划开一个缺口, 用电极将增大的溶酶体通过缺口挤出细胞, 最后更换新的玻璃电极靠近分离出来的溶酶体形成高阻封接, 进而将封接处的膜破坏以实现全溶酶体膜片钳记录.

溶酶体膜片钳技术得到广泛应用, 极大地促进了溶酶体离子通道的研究, 并逐渐拓展到对其他细胞器的研究中^[20,22]. 除vacuolin-1外, 研究人员也在探索其他增大溶酶体的方法并尝试应用于溶酶体膜片钳技术中, 如化合物YM201636, Apilimod, TRPML1基因敲除^[23], PIKfyve表达和功能抑制等^[24].

2 溶酶体非选择性阳离子通道TRPML家族

TRPML(transient receptor potential cation channel, mucolipin subfamily)是一类主要分布在内体-溶酶体膜

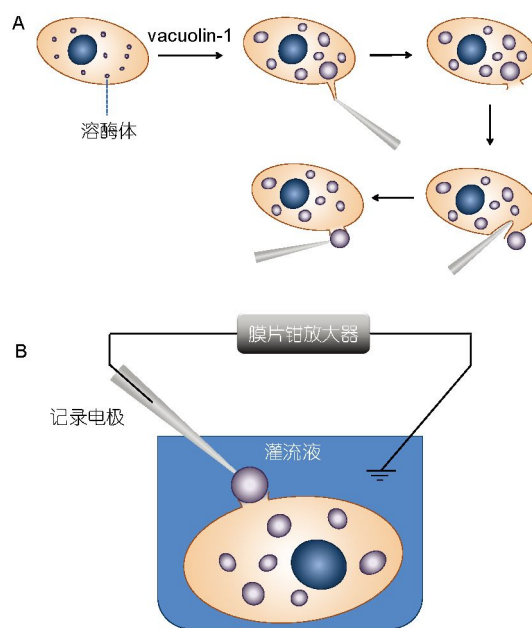


图2 溶酶体膜片钳技术(网络版彩图)

A: 溶酶体膜片钳操作步骤示意图; B: 溶酶体膜片钳记录示意图

上的非选择性阳离子通道, 对多种阳离子如 Na^+ , Ca^{2+} , Fe^{2+} 和 Zn^{2+} 等都有较好的通透性. TRPML家族属于TRP超级家族, 它在大部分哺乳动物中表达3种亚型: TRPML1, TRPML2, TRPML3^[15,25~29].

TRPML1主要在次级内体-溶酶体膜上表达, 其通道活性受 PIP_2 的调控. $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$ 可以激活TRPML1, 而 $\text{PI}(4,5)\text{P}_2$ 则对其有抑制作用^[17]. TRPML1是维持细胞铁离子稳态平衡的重要因子, 它对钙离子的通透性使它具有介导溶酶体钙释放的基础^[15,17,30]. TRPML1的功能缺失性突变会引起ML4型溶酶体贮积症^[31~33]. 一种合成小分子ML-SA1可以激活TRPML1并使溶酶体功能恢复正常^[30].

TRPML2主要分布在淋巴器官和肾脏. 它们在细胞膜、胞内囊泡和长管状细胞器上都有表达. 而在细胞内TRPML2也主要表达在次级内体-溶酶体膜上, 与TRPML1类似^[25].

TRPML3的分布受TRPML1和TRPML2的影响. 如果单独表达, TRPML3主要分布在内质网, 但如果和TRPML1或者TRPML2共表达的话, TRPML3会主要表达到溶酶体膜上. 而且经过过表达处理之后, TRPML3会表达在很多细胞器, 如初级、次级内体、内质网、细胞膜、自噬体. 这提示TRPML3在细胞内非常活跃, 可能参与内体-溶酶体通路或者自噬等过程^[25].

3 溶酶体钠通道TPC家族

TPC(two-pore channel)是一种具有2X6次跨膜结构的膜蛋白(图3A), 它在动物中主要表达3种亚型: TPC1, TPC2和TPC3. 在动物细胞中, TPC主要表达在溶酶体和内体膜上^[34~37]. 早期研究认为, TPC可能是NAADP激活的钙离子通道, 介导NAADP诱发的细胞内钙浓度升高, 在TPC基因敲除的细胞中也的确可检测到NAADP效果的明显减弱^[38~40]. 但Wang等人^[18]2012年发表于*Cell*的研究工作提示, TPC家族实际上是一种选择性 Na^+ 通道, 他们可以被 $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$ 而不是NAADP所激活, 这一结论随后也在本研究组的相关研究中得到验证^[19,20].

在对巨噬细胞溶酶体进行电生理分析时, 本研究组记录到一种对ATP敏感的钠电流, 通过一系列的筛选分析, 发现这种钠电流正是由TPC1及TPC2所介导的, 而其ATP敏感性则是由与TPC1/TPC2相结合的mTOR(mechanistic target of rapamycin)所实现的. mTOR是细胞内非常重要的一种蛋白激酶, 其活性和功能调控与多种人类疾病密切相关, 如糖尿病、肥胖、癫痫、抑郁症、自闭症、阿兹海默症和某些癌症等^[41~45]. 溶酶体是细胞内mTORC1的主要活动位点, 参与了对细胞营养水平和氨基酸代谢等的调控. 本研

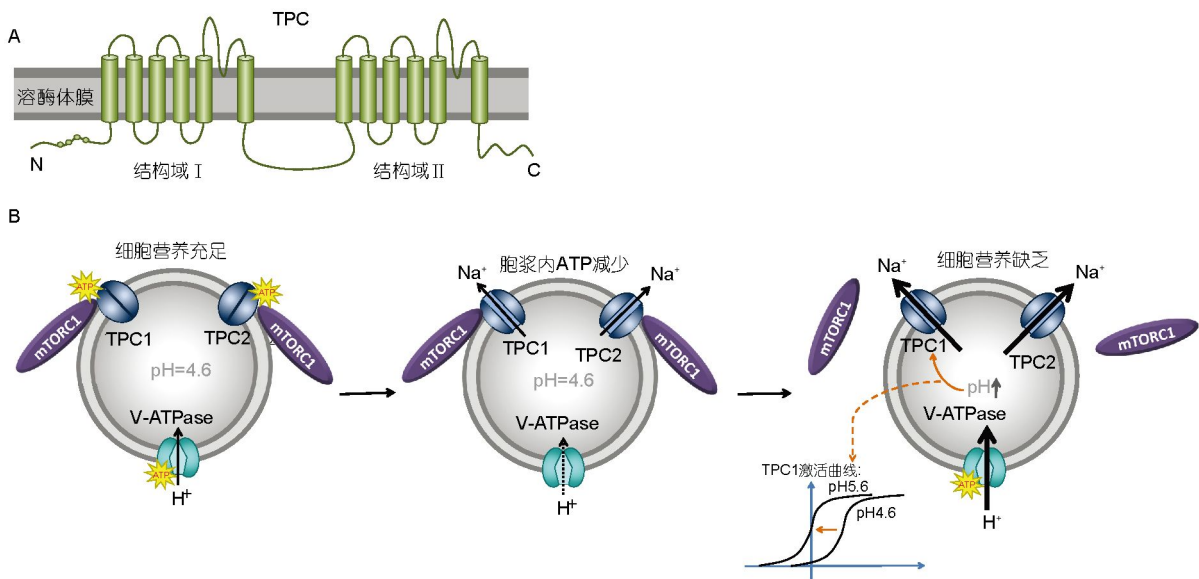


图3 TPC的结构和功能调控(网络版彩图)

A: TPC跨膜结构示意图; B: TPC受细胞营养状态调控示意图

究组进一步的研究发现,细胞的营养状态也可以调控TPC活性,进而调节溶酶体的生理状态.如图3B所示,在分子水平,当细胞营养物质缺乏,尤其是细胞外氨基酸浓度或细胞内ATP浓度降低都会减弱mTOR对TPC的抑制作用,从而激活TPC通道,促使溶酶体/内体内部钠离子向胞浆流动. TPC通道的激活在亚细胞水平对维持溶酶体膜电位和内部酸性环境平衡具有重要作用,TPC1/TPC2双基因敲除的细胞在营养缺乏时会造成溶酶体内部pH升高,这会显著降低其内部酸性水解酶的活性,从而影响溶酶体的降解功能. 在整体动物水平TPC1/TPC2双基因敲除小鼠(*Mus musculus*)在正常营养状态下即食物充足时,与正常小鼠无明显差异,但在禁食72 h后,敲除小鼠的运动耐力有非常明显的降低. 由于动物在野外环境中经常会面临食物匮乏的情况,因此TPC的这一功能对维持动物野外生存具有重要意义^[19,46].

随后对TPC家族的几个成员分别进行了研究,比较了他们在通道特性、表达定位和功能上差别. TPC1表达在内体-溶酶体上且主要表达在内体上^[38,47],它介导一种慢激活、不失活的电压敏感型钠电流,而TPC2主要表达在溶酶体上,介导一种电压不敏感的leak型钠电流. TPC1的电压依赖性对溶酶体内pH非常敏感,pH升高1个单位会造成TPC1电压依赖性向超极化方向移动约60 mV^[20]. 在多数情况下溶酶体内部pH可以维持在5以下^[48]. 当溶酶体pH升高时,TPC1被激活,引起内部钠离子向胞浆流动,造成溶酶体内部的阴性环境,这将促进氢离子向溶酶体内部转运,从而降低pH,而pH的降低又会降低TPC1的活性,最终达到一种动态平衡.

在兴奋性细胞的细胞膜上,电压门控型钠离子通道的开放是诱发动作电位的基础. 而在溶酶体膜上,TPC1的激活能诱发一种长时程动作电位,从而赋予了溶酶体电兴奋性^[20]. 在兴奋性细胞如神经元等的细胞膜上,电压门控离子通道及动作电位的产生是细胞内外及细胞间信号传递的关键因素,而溶酶体上的电压门控钠离子通道TPC1是否也参与了溶酶体与其他细胞器间的信号传导目前还不清楚. 在神经元中,动作电位的时程大约为几个毫秒,这有利于神经元对刺激快速反应和信号的快速传导. 在心室肌细胞中,动作电位的时程为几百个毫秒,这种较慢的动作电位有利于钙离子的内流和心室肌细胞的收缩. 而TPC1诱发

的溶酶体动作电位时程则可以达到几分钟甚至十几分钟,其在溶酶体生理功能中的作用也尚不清楚.

TPC3在灵长类和某些啮齿类如大鼠(*Rattus norvegicus*)、小鼠无表达,其通道性质与TPC1比较类似,也是一种电压门控型、慢激活、不失活的钠通道,但其电压依赖性和药理学特性与TPC1略有不同^[49]. TPC1和TPC3共同构成一类新的电压门控钠通道家族. 由于TPC1和TPC3的激活电位都远高于NaV家族,因而与电压门控钙离子通道类似,电压门控钠离子通道也可被分为低电压激活(NaVs)和高电压激活(TPC1和TPC3)两个大类.

此外,除了在溶酶体膜上表达外,TPC3在细胞膜上也有表达,本研究组发现TPC3在爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞中介导了一种慢激活的钠电流. NaV家族是细胞膜上诱发短时程动作电位的基础,但在某些细胞膜上还存在可持续几秒甚至半小时以上的长时程动作电位,其机制并不是很清楚. TPC3的通道性质提示它在某些细胞中可能正是诱发长时程动作电位的分子基础.

4 溶酶体钾离子通道

对溶酶体钾离子通道的研究起步比较晚,直到2014年本研究组才首次采用溶酶体膜片钳技术直接在溶酶体上记录到钾离子电流^[20],随后Cao等人^[50]于2015年发现,溶酶体膜上表达有Ca²⁺激活的钾通道BK,并发现它可以从结构上和功能上与TRPML1耦合,可被TRPML1释放的Ca²⁺激活进而易化溶酶体Ca²⁺的释放和膜转运,而BK的过表达也可以缓解NPC1(Niemann-Pick C1)病人细胞内溶酶体的异常储存. BK通道的激活需要胞浆内存在较高浓度的钙离子^[51-53],但静息状态下胞浆内的钙离子浓度非常低,此时BK的活性也非常低,但先前有研究表明低钙情况下溶酶体膜对钾离子仍有较好的通透性^[54,55],而本研究组也在胞浆低钙的实验条件下在溶酶体上记录到较大的leak型钾电流,提示溶酶体膜上其他类型钾离子通道的存在.

为了寻找介导这种钾电流的离子通道,本研究组对多种已被证明表达于溶酶体膜上的候选离子通道或转运体蛋白进行了筛选,最终发现一种名为TMEM175的功能未知的蛋白,其外源表达可以显著增强溶酶体膜上的leak型钾电流,同时敲低或敲除TMEM175都

可以显著降低或消除内源的leak型钾电流, 证明这种电流正是由TMEM175所介导的. 荧光定位分析显示, TMEM175不仅表达于溶酶体膜上, 还表达于内体膜上, 因此将这种新型的钾离子通道命名为 K_{EL} (E: endosome; L: lysosome)^[21].

以往发现的钾离子通道约有80种, 他们的离子选择性均由一段包含GYG/GFG结构的P-loop实现^[56], 但 K_{EL} 却并不含有这种经典的钾通道标志性结构, 这极大地改变了对钾通道的传统认识. 此外, K_{EL} 在跨膜结构、离子选择性及药理学特性等方面均与已知的钾离子通道不同, 也表明其是一种全新类型的钾离子通道.

通过对 K_{EL} 敲除的细胞系进一步分析发现, 与TPC1/TPC2类似, K_{EL} 也参与对溶酶体膜电位和pH的调节. 此外 K_{EL} 还影响了溶酶体与自噬体的融合效率(图4). 由于全身 K_{EL} 基因敲除动物和特异性工具药物的缺乏, 对 K_{EL} 在组织器官和动物水平的功能还不清楚, 其在细胞内的调控机制也有待进一步研究.

5 溶酶体氯离子通道

目前已知的介导溶酶体膜氯离子通透性的膜蛋白包括CFTR和CLC-7两类. CFTR(cystic fibrosis transmembrane-conductance regulator)是一种受cAMP调控的氯离子通道, 它在质膜和膜状细胞器如反面高尔基体网络(trans-Golgi network, TGN)、内体和溶酶体上均有表达. 在肺泡巨噬细胞中, 溶酶体CFTR与V-ATPase(vacuolar proton ATPase)共同作用促进溶酶体酸化并维持在低pH水平, 可有效阻止入侵细菌的生长^[57].

CLC-7分布于次级内体、溶酶体及破骨细胞褶皱

状的细胞膜上, 它是一种 Cl^-/H^+ 逆向转运体, 需要结合Ostm1亚基才能发挥正常的转运体功能^[45]. CLC-7/Ostm1通过一种离子通道机制通透 Cl^- , 并被认为是溶酶体对 Cl^- 通透的主要因素, 同时也在溶酶体的酸化过程中发挥重要作用^[58]. CLC-7/Ostm1在细胞膜上介导一种慢激活的外向整流型氯电流, 这与溶酶体内源性氯电流性质有所不同, 目前也没有在溶酶体上直接记录到CLC-7电流的报道, 它在溶酶体中的功能还有待进一步研究. CLC-7缺失的小鼠会表现出严重的骨质疏松病和视网膜退化^[59].

6 总结和展望

近年来, 关于溶酶体膜离子通道的研究取得了很大的进展, 多种离子通道相继被鉴定出来, 如TRPML家族、TPC家族和 K_{EL} 等, 但仍然还存在很多问题尚未解决, 如NAADP诱导溶酶体钙离子释放的分子基础、 K_{EL} 通道的功能和调控、mTOR抑制TPC通道的机制等. 在溶酶体膜上还有一些未知的离子通道有待鉴定, 如介导某些溶酶体氢电流和氯电流的通道等. 此外, 很多离子通道缺乏特异性的工具药物, 在很大程度上限制了对它们研究的进一步展开, 也是急需解决的重要问题. 这些问题也是未来计划开展的研究方向.

溶酶体功能在多种细胞类型和疾病中的作用也受到越来越多的关注, 也为溶酶体膜离子通道的研究提供了广阔的应用前景. 调控溶酶体离子通道活性进而调控溶酶体功能有望成为治疗某些溶酶体相关疾病, 如溶酶体贮积症、神经退行性疾病、肿瘤等的新手段.

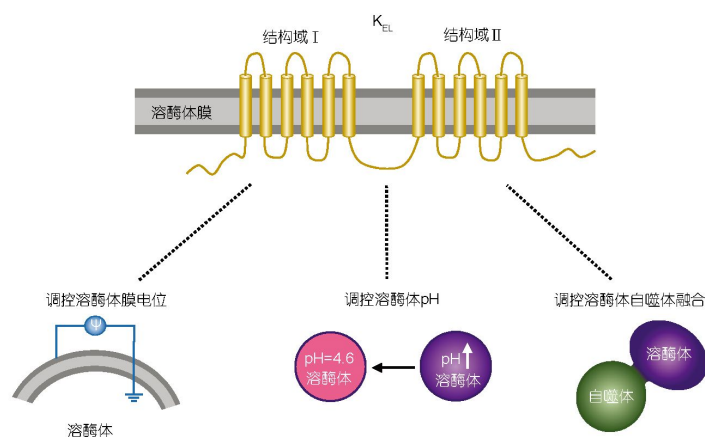


图4 K_{EL} 的结构和功能示意图(网络版彩图)

参考文献

- 1 Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 623–635
- 2 甘启文, 陈迪笛, 杨崇林. 凋亡细胞清除的分子和细胞生物学机制. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45: 524–531
- 3 Jung J, Jo H W, Kwon H, et al. ATP release through lysosomal exocytosis from peripheral nerves: the effect of lysosomal exocytosis on peripheral nerve degeneration and regeneration after nerve injury. *BioMed Res Int*, 2014, 2014: 1–6
- 4 Zhang Z, Chen G, Zhou W, et al. Regulated ATP release from astrocytes through lysosome exocytosis. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 945–953
- 5 Efeyan A, Zoncu R, Sabatini D M. Amino acids and mTORC1: from lysosomes to disease. *Trends Mol Med*, 2012, 18: 524–533
- 6 Roczniak-Ferguson A, Petit C S, Froehlich F, et al. The transcription factor TFEB links mTORC1 signaling to transcriptional control of lysosome homeostasis. *Sci Signal*, 2012, 5: ra42
- 7 Xiong J, Zhu M X. Regulation of lysosomal ion homeostasis by channels and transporters. *Sci China Life Sci*, 2016, 59: 777–791
- 8 Schwake M, Schröder B, Saftig P. Lysosomal membrane proteins and their central role in physiology. *Traffic*, 2013, 14: 739–748
- 9 Pitt S J, Funnell T M, Sitsapesan M, et al. TPC2 is a novel NAADP-sensitive Ca^{2+} release channel, operating as a dual sensor of luminal pH and Ca^{2+} . *J Biol Chem*, 2010, 285: 35039–35046
- 10 Brailoiu E, Rahman T, Churamani D, et al. An NAADP-gated two-pore channel targeted to the plasma membrane uncouples triggering from amplifying Ca^{2+} signals. *J Biol Chem*, 2010, 285: 38511–38516
- 11 Schieder M, Rötzer K, Brüggemann A, et al. Characterization of two-pore channel 2 (TPCN2)-mediated Ca^{2+} currents in isolated lysosomes. *J Biol Chem*, 2010, 285: 21219–21222
- 12 Ruas M, Davis L C, Chen C C, et al. Expression of Ca^{2+} -permeable two-pore channels rescues NAADP signalling in TPC-deficient cells. *EMBO J*, 2015, 34: 1743–1758
- 13 Cerny J, Feng Y, Yu A, et al. The small chemical vacuolin-1 inhibits Ca^{2+} -dependent lysosomal exocytosis but not cell resealing. *EMBO Rep*, 2004, 5: 883–888
- 14 Saito M, Hanson P I, Schlesinger P. Luminal chloride-dependent activation of endosome calcium channels: patch clamp study of enlarged endosomes. *J Biol Chem*, 2007, 282: 27327–27333
- 15 Dong X P, Cheng X, Mills E, et al. The type IV mucopolipidosis-associated protein TRPML1 is an endolysosomal iron release channel. *Nature*, 2008, 455: 992–996
- 16 Dong X, Wang X, Shen D, et al. Activating mutations of the TRPML1 channel revealed by proline-scanning mutagenesis. *J Biol Chem*, 2009, 284: 32040–32052
- 17 Dong X P, Shen D, Wang X, et al. $\text{PI}(3,5)\text{P}_2$ controls membrane trafficking by direct activation of mucolipin Ca^{2+} release channels in the endolysosome. *Nat Commun*, 2010, 1: 1–11
- 18 Wang X, Zhang X, Dong X P, et al. TPC proteins are phosphoinositide-activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes. *Cell*, 2012, 151: 372–383
- 19 Cang C, Zhou Y, Navarro B, et al. mTOR regulates lysosomal atp-sensitive two-pore Na^+ channels to adapt to metabolic state. *Cell*, 2013, 152: 778–790
- 20 Cang C, Bekele B, Ren D. The voltage-gated sodium channel TPC1 confers endolysosomal excitability. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 463–469
- 21 Cang C, Aranda K, Seo Y, et al. TMEM175 is an organelle K^+ channel regulating lysosomal function. *Cell*, 2015, 162: 1101–1112
- 22 Bellono N W, Escobar I E, Lefkovith A J, et al. An intracellular anion channel critical for pigmentation. *eLife*, 2014, 3: e04543
- 23 Treusch S, Knuth S, Slaughterhaupt S A, et al. *Caenorhabditis elegans* functional orthologue of human protein h-mucolipin-1 is required for lysosome biogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 4483–4488
- 24 Kerr M C, Wang J T H, Castro N A, et al. Inhibition of the $\text{PtdIns}(5)$ kinase PIKfyve disrupts intracellular replication of *Salmonella*. *EMBO J*, 2010, 29: 1331–1347
- 25 Venkatachalam K, Hofmann T, Montell C. Lysosomal localization of TRPML3 depends on TRPML2 and the mucopolipidosis-associated protein TRPML1. *J Biol Chem*, 2006, 281: 17517–17527
- 26 Clapham D E. TRP channels as cellular sensors. *Nature*, 2003, 426: 517–524
- 27 Nilius B, Owsianik G, Voets T, et al. Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiol Rev*, 2007, 87: 165–217
- 28 Venkatachalam K, Wong C O, Zhu M X. The role of TRPMLs in endolysosomal trafficking and function. *Cell Calcium*, 2015, 58: 48–56
- 29 Cheng X, Shen D, Samie M, et al. Mucolipins: intracellular TRPML1-3 channels. *FEBS Lett*, 2010, 584: 2013–2021
- 30 Shen D, Wang X, Li X, et al. Lipid storage disorders block lysosomal trafficking by inhibiting a TRP channel and lysosomal calcium release. *Nat Commun*, 2012, 3: 731

- 31 Bassi M T, Manzoni M, Monti E, et al. Cloning of the gene encoding a novel integral membrane protein, mucolipidin—and identification of the two major founder mutations causing mucopolidosis type IV. [Am J Human Genets](#), 2000, 67: 1110–1120
- 32 Sun M. Mucopolidosis type IV is caused by mutations in a gene encoding a novel transient receptor potential channel. [Human Mol Genets](#), 2000, 9: 2471–2478
- 33 Manzoni M, Monti E, Bresciani R, et al. Overexpression of wild-type and mutant mucolipin proteins in mammalian cells: effects on the late endocytic compartment organization. [FEBS Lett](#), 2004, 567: 219–224
- 34 Ishibashi K, Suzuki M, Imai M. Molecular cloning of a novel form (two-repeat) protein related to voltage-gated sodium and calcium channels. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2000, 270: 370–376
- 35 Hedrich R, Neher E. Cytoplasmic calcium regulates voltage-dependent ion channels in plant vacuoles. [Nature](#), 1987, 329: 833–836
- 36 Guo J, Zeng W, Chen Q, et al. Structure of the voltage-gated two-pore channel TPC1 from *Arabidopsis thaliana*. [Nature](#), 2015, 531: 196–201
- 37 Kintzer A F, Stroud R M. Structure, inhibition and regulation of two-pore channel TPC1 from *Arabidopsis thaliana*. [Nature](#), 2016, 531: 258–264
- 38 Calcraft P J, Ruas M, Pan Z, et al. NAADP mobilizes calcium from acidic organelles through two-pore channels. [Nature](#), 2009, 459: 596–600
- 39 Brailoiu E, Churamani D, Cai X, et al. Essential requirement for two-pore channel 1 in NAADP-mediated calcium signaling. [J Cell Biol](#), 2009, 186: 201–209
- 40 Zong X, Schieder M, Cuny H, et al. The two-pore channel TPCN2 mediates NAADP-dependent Ca^{2+} -release from lysosomal stores. [Pflugers Arch](#), 2009, 458: 891–899
- 41 Beevers C S, Li F, Liu L, et al. Curcumin inhibits the mammalian target of rapamycin-mediated signaling pathways in cancer cells. [Int J Cancer](#), 2006, 119: 757–764
- 42 Kennedy B K, Lamming D W. The mechanistic target of rapamycin: the grand conductTOR of metabolism and aging. [Cell Metab](#), 2016, 23: 990–1003
- 43 Tang G, Gudsnuk K, Kuo S H, et al. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits. [Neuron](#), 2014, 83: 1131–1143
- 44 Chano T, Okabe H, Hulette C M. RB1CC1 insufficiency causes neuronal atrophy through mTOR signaling alteration and involved in the pathology of Alzheimer's diseases. [Brain Res](#), 2007, 1168: 97–105
- 45 Leisle L, Ludwig C F, Wagner F A, et al. CIC-7 is a slowly voltage-gated $2\text{Cl}^-/\text{H}^+$ -exchanger and requires Ostm1 for transport activity. [EMBO J](#), 2011, 30: 2140–2152
- 46 Wrighton K H. Cell signalling: where the mTOR action is. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2013, 14: 191
- 47 Morgan A J, Platt F M, Lloyd-Evans E, et al. Molecular mechanisms of endolysosomal Ca^{2+} signalling in health and disease. [Biochem J](#), 2011, 439: 349–378
- 48 Mindell J A. Lysosomal acidification mechanisms. [Annu Rev Physiol](#), 2012, 74: 69–86
- 49 Cang C, Aranda K, Ren D. A non-inactivating high-voltage-activated two-pore Na^+ channel that supports ultra-long action potentials and membrane bistability. [Nat Commun](#), 2014, 5: 5015
- 50 Cao Q, Zhong X Z, Zou Y, et al. BK channels alleviate lysosomal storage diseases by providing positive feedback regulation of lysosomal Ca^{2+} release. [Dev Cell](#), 2015, 33: 427–441
- 51 Berkefeld H, Fakler B, Schulte U. Ca^{2+} -activated K^+ channels: from protein complexes to function. [Physiol Rev](#), 2010, 90: 1437–1459
- 52 Fakler B, Adelman J P. Control of K_{Ca} channels by calcium nano/microdomains. [Neuron](#), 2008, 59: 873–881
- 53 Salkoff L, Butler A, Ferreira G, et al. High-conductance potassium channels of the SLO family. [Nat Rev Neurosci](#), 2006, 7: 921–931
- 54 Casey R P, Hollemans M, Tager J M. The permeability of the lysosomal membrane to small ions. [Biochim Biophys Acta](#), 1978, 508: 15–26
- 55 Henning R. pH gradient across the lysosomal membrane generated by selective cation permeability and donnan equilibrium. [Biochim Biophys Acta](#), 1975, 401: 307–316
- 56 Doyle D A, Morais Cabral J, Pfuetzner R A, et al. The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. [Science](#), 1998, 280: 69–77
- 57 Swanson J. CFTR: helping to acidify macrophage lysosomes. [Nat Cell Biol](#), 2006, 8: 908–909
- 58 Graves A R, Curran P K, Smith C L, et al. The Cl^-/H^+ antiporter CIC-7 is the primary chloride permeation pathway in lysosomes. [Nature](#), 2008, 453: 788–792
- 59 Kornak U, Kasper D, Bösl M R, et al. Loss of the CIC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. [Cell](#), 2001, 104: 205–215

Lysosomal membrane ion channels

QU LiLi, XIN Jing & CANG ChunLei

School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

Lysosomes are common vesicular organelles within eukaryotic cells. There are various acidic hydrolases within lysosomes, making these organelles the major site for large biomolecule degradation. Many types of proteins are expressed on the lysosomal membrane, including ion channels, transporters, structural proteins, and enzymatic proteins. Among these lysosomal proteins, ion channels have been found to play important roles in regulating lysosomal ion transportation, lysosomal membrane potential, luminal pH, cellular nutrient metabolism, and homeostasis and have therefore been extensively investigated. Several lysosome-specific ion channels have been identified in recent years. In this review, we briefly summarize research studies on various types of lysosomal membrane ion channels and explore their characteristics, regulation, and roles in physiological activities of lysosomes.

lysosome, endosome, ion channel, membrane potential, TRPML1, TPC, K_{EL}

doi: [10.1360/N052016-00345](https://doi.org/10.1360/N052016-00345)