

OSCA/TMEM63家族离子通道的研究进展*

吴惊香^{1,2)} 陈 雷^{1,2,3)**}⁽¹⁾ 膜生物学国家重点实验室, 北京大学分子医学研究所, 北京心血管代谢分子医学重点实验室, 北京 100871;²⁾ 北京-清华生命科学联合中心, 北京 100871; ³⁾ 北京大学前沿交叉学院, 北京 100871)

摘要 高渗促钙内流蛋白 (hyperosmolality-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase, OSCA) /跨膜蛋白 63 (transmembrane protein 63, TMEM63) 家族蛋白是一类多次跨膜蛋白质, 它们在真核细胞中有广泛分布. 研究表明拟南芥中 OSCA1.1 蛋白介导了高渗刺激的钙离子内流. 进一步研究发现 OSCA1.1 及其同源蛋白质是机械力敏感的离子通道. 高分辨率冷冻电镜结构显示 OSCA 蛋白是对称的二聚体, 每个亚基含有一个离子可通透的孔道. 本文将从 OSCA 通道的功能、结构以及结构与功能的关系几方面介绍该领域的研究进展.

关键词 高渗促钙内流蛋白, 跨膜蛋白63, 机械力敏感的离子通道, 跨膜蛋白16, 似跨膜通道蛋白

中图分类号 Q6

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0245

细胞膜将细胞的内环境与外环境分离开来, 使细胞内众多生化反应得以发生, 是细胞的重要屏障. 基因组中编码的蛋白质有 20%~30% 是膜蛋白, 膜蛋白镶嵌在细胞膜上, 起着信号转导、物质交换和催化反应等重要生物学功能. OSCA/TMEM63 家族蛋白是一种多次跨膜蛋白质, 广泛存在于真菌、植物界和动物界.

1 OSCA/TMEM63蛋白的功能研究

早在 1994 年, 植物中脱水早期反应蛋白 4 (early-responsive to dehydration, ERD4, 即 OSCA3.1) 已被克隆出来^[1], 这是第一个被克隆的 TMEM63 家族成员. ERD4 的 mRNA 会在植物受到干旱胁迫下启动转录^[1]. 2013 年, 全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 研究表明, 人的 TMEM63B 基因与糖尿病肾病相关^[2]. 这些研究对探究 TMEM63 蛋白的功能有一定指引作用, 但 TMEM63 蛋白具体行使怎样的功能尚不清楚.

直至 2014 年, 该领域获得了突破性进展. Yuan 等^[3] 用拟南芥为研究对象, 研究高渗胁迫促进细胞内钙离子浓度增加的过程. 水母发光蛋白是一种能够结合钙离子并发蓝光的钙离子指示剂. Yuan 等

首先建立了广泛表达水母发光蛋白的转基因拟南芥, 然后在此拟南芥上用甲磺酸乙酯做随机化学诱变, 并筛选高渗条件下细胞内钙离子升高过程有缺陷的子代植株. 他们将第一个通过验证得到的突变体植株命名为“降低的高渗促钙内流” (reduced hyperosmolality-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase 1, *osca1*)^[3]. 他们还发现, 该突变体叶片上的叶孔在高渗刺激下的关闭过程也出现了缺陷, 但由脱落酸刺激引发的叶孔关闭过程不受影响, 证明该突变体叶孔的生理结构并没有改变, 并且具有开关的功能^[3]. 通过图位克隆, 该研究组发现这株突变体中发生突变的基因为 OSCA1 (OSCA1.1), 突变位点为 G59R+G507D, 野生型 OSCA1 基因的表达也能够挽救 *osca1* 突变体的性状^[3]. 更进一步的研究表明, OSCA1 蛋白在拟南芥的叶片和根中均有表达, 并且蛋白质定位于植物细胞膜上^[3]. 如果将拟南芥中 OSCA1 蛋白异源表达在人肾上皮 293 细胞

* 中国科技部重点研发计划 (2016YFA0502004), 国家自然科学基金 (91957201, 31622021, 31870833 和 31821091), 北京市自然科学基金 (5192009) 和千人计划资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 010-62760700, E-mail: chenlei2016@pku.edu.cn

收稿日期: 2019-10-18, 接受日期: 2020-01-03

(HEK293) 中, 则可以获得高渗引起的全细胞或外侧朝外模式下的阳离子电流, 进而推测 OSCA1 是一个阳离子通道. 离子选择性实验表明, 该通道对阳离子的选择性为: 钾离子 > 钙离子 > 钠离子^[3]. 该项研究是一个经典的用功能缺失突变 (loss-of-function) 来进行植物遗传筛选的研究.

与此同时, Hou 等^[4] 也关注植物中高渗引起的钙内流现象. 他们将拟南芥的 cDNA 文库转染至中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 中, 用 Fura-2 染料指示细胞内钙离子浓度的变化, 并用高渗作为刺激条件进行筛选. 筛选结果表明, At4G22120 基因的转入可以让 CHO 细胞在有高渗刺激时发生明显的钙离子内流^[4], 他们将该基因命名为拟南芥胁迫门控钙通道 (Arabidopsis calcium permeable stress-gated cation channel 1, AtCSC1, 即 OSCA1.2). 随后, 该研究组将体外转录的 OSCA1.2 mRNA 注射入爪蟾卵母细胞中, 发现可以记录到高渗引起的全细胞阳离子电流, 并且离子选择性约为钾离子 = 钠离子 > 钙离子^[4]. 更有意思的是, 酵母的 CSC1 和人的 CSC1 (即 TMEM63C) 基因同样可以在高渗条件下引起 CHO 细胞的钙内流, 它们的 mRNA 也可以使爪蟾卵母细胞具有高渗引起的阳离子电流^[4]. 这是一个典型的功能获得性 (gain-of-function) 筛选过程.

以上两项开拓性的研究表明, 拟南芥中的 OSCA1.1 及 OSCA1.2 基因在异源表达的细胞模型中使动物细胞具有了高渗引起的阳离子电流, 暗示着这两个蛋白质可能是通道蛋白质, 并且该通道可以让钙离子通过. 但这些实验不能排除这两个基因是某个通道蛋白质的调节亚基, 因为在 HEK293 细胞、CHO 细胞和爪蟾卵母细胞膜上有内源通道的存在.

2018 年本实验室^[5] 发现, 在 HEK293F 细胞中异源表达的 OSCA1.1 蛋白引起的电流具有机械力敏感性, 可以响应施加在细胞膜上的张力: 在内侧朝外记录模式下, 在记录电极内部施加负压可以记录到稳定的电流, 而且所获得的电流的大小和负压的大小成正相关. 所获得 OSCA1.1 的压力响应曲线和机械力敏感的人源钾离子通道 K 家族 4 蛋白 (potassium channel subfamily K member 4, KCNK4) 的相似^[5]. 如后文所述, 在获得了该蛋白质结构后, 我们证明了 OSCA1.1 孔道区突变会改变 OSCA1.1 蛋白引起单通道电流的大小, 即改变了通道的导通特性^[5], 这表明该蛋白质本身是

一个离子通道. 机械力敏感的通道按机械力感知方式可以分为感受膜传递力 (force from lipid) 的通道和感受细胞骨架传递力 (force from tether) 的通道^[6]. 此前研究表明, 感受膜传递力的通道包括细菌中的大电导机械力敏感通道 (large-conductance mechanosensitive channel, MscL)^[7-9]、压力通道 (piezo)^[10-11]、双孔钾离子通道 (two-pore domain potassium channel, K2P)^[12-13] 等; 感受细胞骨架传递力 (force from tether) 的通道包括昆虫中的无机机械力受体电势通道 (no mechanoreceptor potential C, NOMPC)^[14-15] 等. 为了研究 OSCA1.1 通道是通过何种机制感受机械力的, 用微管聚合抑制剂诺考达唑处理内侧朝外的膜片, 发现并不会导致 OSCA1.1 电流变化, 这与感受细胞骨架传递力的 NOMPC 截然不同, NOMPC 通道经诺考达唑处理后电流会显著降低^[15]. 相反地, 用锥形磷脂——溶血磷脂胆碱处理内侧朝外的膜片则会使电流明显变大^[5], 这可能是由于锥形磷脂插入细胞膜的一侧, 改变了膜的曲率所导致的. 这和感受膜传递力的通道, 比如 MscL^[9], 具有相同的现象. 至此, 我们证明 OSCA1.1 是一个感受膜传递力的机械力敏感通道. 此外, 还发现 OSCA3.1 也是一个机械力敏感的通道, 但其感受机械力的门限会明显高于 OSCA1.1^[5].

几乎与此同时, Murthy 等^[16] 发现在 peizo1 敲除的 HEK293T 细胞中, 转染 OSCA1.1 或 OSCA1.2 可以获得玻璃棒按压刺激引起的全细胞电流, 在外侧朝外的模式下也可以记录到压力引起的电流. 进一步, 他们将 OSCA1.2 表达纯化后重组在脂质体上, 用内侧朝外的模式记录到了压力引起的电流^[16], 这个实验完美地表明 OSCA1.2 蛋白本身就是一个感受膜传递力的机械力敏感离子通道. 此外, 他们还测得了果蝇 TMEM63、老鼠 TMEM63 A、B、C 以及人 TMEM63A 蛋白过表达在细胞中通过压力刺激引起的电流^[16]. 但这些电流与 OSCA1.1 及 OSCA1.2 的电流相比较小, 有数量级的差异, 因此机械力是否是激活这些通道的有效刺激还有待进一步地探究.

以上实验证明了拟南芥的 OSCA1.1 和 OSCA1.2 蛋白是感受膜传递力的对机械力敏感的离子通道. 有意思的是, 与细菌中渗透压感受相关的 MscL 等通道不同, OSCA 通道是受高渗刺激激活, 而 MscL 通道在低渗条件下感受膜的张力而激活. 因此, OSCA 通道是否在低渗条件下也会激活

仍有待研究. 此外, OSCA 通道被渗透压激活的机制和被机械力激活的机制是否一致也有待探索.

对哺乳动物细胞 TEME63 家族成员的研究在近几年取得了一定进展. 有研究表明: TMEM63A 蛋白是寄生虫捻转血矛线虫半乳凝素的结合蛋白, 并参与介导山羊外周血单核细胞的胞吞、一氧化氮生成和迁移^[17]; TMEM63A 的杂合突变会导致人类婴儿时期的髓鞘形成不足型脑白质营养不良^[18]; 在 HEK293T 细胞中, 过表达 TMEM63B 会显著增强细胞迁移^[19]. 最近有报道发现: 在高血压模型老鼠中, TMEM63C 和肾脏损伤相关^[20]; 在局灶结节性肾小球硬化患者的足细胞中, TMEM63C 表达缺失^[20]; 在斑马鱼模型中, TMEM63C 在肾小球过滤屏障的形成中发挥作用^[20].

2 OSCA/TMEM63蛋白的结构研究

OSCA 蛋白的序列与此前报道的机械力敏感的离子通道完全不同, 对其结构的研究具有重要意义. 本实验室用去垢剂纯化了拟南芥来源的 OSCA1.1 通道蛋白, 发现其在凝胶过滤层析柱上

分子质量大概为二聚体位置^[5]. 去糖基化酶处理实验和突变体实验表明, 该蛋白质在第 138 位天冬酰胺残基上有糖基化修饰. 这个糖基化位点的鉴定辅助了我们随后对该蛋白质拓扑结构的指认 (图 1d). 通过单颗粒冷冻电镜技术, 我们获得了该蛋白质在去垢剂中分辨率为 3.5Å 的电子密度图, 并进行了模型搭建. OSCA1.1 的结构清晰地显示, 该蛋白质是一个对称的二聚体 (图 1a~c), 而且二聚体相互作用界面主要由胞内结构域介导 (图 1b, c), 突变相互作用界面上的氨基酸会导致二聚体组装比例的降低. 两个亚基的跨膜结构域之间有一个巨大的空腔, 和外界连通^[5]. OSCA1.1 的后 10 个跨膜螺旋结构与 TMEM16A 的 10 个跨膜螺旋结构有相似性, 为了结构比对和讨论方便, 我们将 OSCA1.1 多出的第一个螺旋命名为 M0, 后 10 个螺旋依次命名为 M1~10 (图 1d). 对比 OSCA1.1 和 TMEM16A 的结构, 我们发现 TEME16 家族中保守的钙结合位点在 OSCA1.1 中并不保守, 暗示着 OSCA1.1 在该位点并不结合钙离子^[5]. 我们随后解析了 OSCA3.1 分辨率为 4.8Å 的结构, 该结构和 OSCA1.1 在整体上相同^[5].

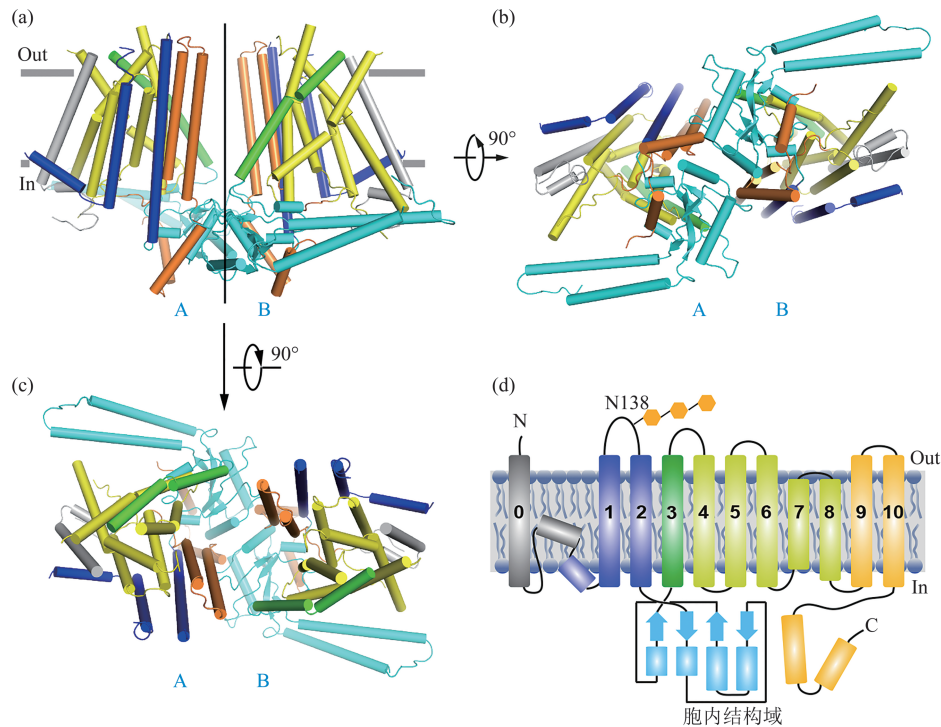


Fig. 1 Structure of OSCA1.1 channel

图1 OSCA1.1通道结构示意图

(a) ~ (c), OSCA通道结构 (PDB: 6JPF) 正面图 (a), 仰视图 (b) 和俯视图 (c). OSCA二聚体A和B分子的各个区域分别用以下颜色标记: M0, 灰色; M1~2, 蓝色; M3, 绿色; M2~3间的胞质区, 天蓝色; M4~M8孔道区, 黄色; M9~M10以及羧基端, 橙色. 磷脂双分子层用灰色线条显示. (d) OSCA结构的拓扑示意图. 各区域颜色显示同图1a. 胞外区N138残基的糖基化修饰显示为橙色.

在相近的时间内,另两个研究组分别解析了拟南芥 OSCA1.2 在纳米盘 (nanodisc) 中分辨率为 3.1Å 的结构^[21]和在去垢剂中分辨率为 3.5Å^[21]/3.7Å^[22]的结构,以及 OSCA2.2 分辨率为 5.4Å 的结构^[22]. OSCA1.2 的结构和我们解析的 OSCA1.1 的结构基本相同.有意思的是,在纳米盘中分辨率为

3.1Å 的 OSCA1.2 电子密度图中可以更清楚地观察到若干和跨膜区结合的磷脂 (lipid)^[21].此后,水稻中的 OSCA1.2 通道的结构于 2019 年被解析出来,分辨率为 4.9Å^[23],该结构和前文所述拟南芥的 OSCA1.1 结构类似.上述所有解析的 OSCA 的结构总结于表 1.

Table 1 Published structures of OSCA channels

图1 已发表的OSCA通道结构

蛋白名称	物种	膜蛋白载体	分辨率	PDB	EMDB	Reference
OSCA1.1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Detergent	3.52 Å	6JPF	6822	[5]
OSCA3.1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Detergent	4.8 Å	5Z1F	6875	[5]
OSCA1.2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Nanodisc	3.1 Å	6MGV	9112	[21]
OSCA1.2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Detergent	3.68 Å	6MGW	9113	[21]
OSCA1.2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Detergent	3.68 Å	6IJZ	9682	[22]
OSCA2.2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Detergent	5.4 Å		9677	[22]
OSCA1.2	<i>Oryza sativa</i> subsp. japonica	Detergent	4.9 Å	6OCE	20017	[23]

3 OSCA/TMEM63蛋白的结构与功能关系的研究

TMEM16A 通道结构和功能研究表明其孔道区由跨膜螺旋 M3~M7 围成^[24-25].由于 OSCA1.1 通道结构类似于 TMEM16A,因此我们推测 OSCA1.1 的孔道区也由 M3~M7 组成.为了验证该假设,我们突变了位于 M5 上侧链朝向孔道区的第 462 位谷氨酸,并发现 E462A 和 E462K 突变体对 OSCA1.1 通道压力激活曲线影响不大,即不改变门控特性,但是却明显地降低了单通道电导^[5],这和我们孔道区的指认是吻合的(图 2).在电生理实验中,我们发现有机阴离子葡萄糖酸可以很好地从 OSCA1.1 中通透,这说明在完全开放的情况下,OSCA1.1 孔道最窄处的直径应大于 5.5Å^[5].通过计算该孔道区的轮廓,发现在解析的 OSCA1.1 结构中,该孔道区处于关闭状态,多个疏水氨基酸阻挡了离子的通透.我们的合作实验室用 OSCA1.1 的结构模型进行了持续时间为 200 ns 的全原子分子动力学模拟,发现在有膜张力存在的情况下,该孔道区

最窄部分的直径增大了^[5].Jojoa-Cruz 等^[21]发现位于 OSCA1.2 孔道区附近的 E531A 突变体可以降低单通道电导,该突变位置对应于 OSCA1.1 的 E532 位(图 2b).这些数据和我们孔道区的指认相吻合.

OSCA 蛋白的机械力门控机制值得深入研究,但由于缺乏 OSCA 通道在完全开放状态下的结构,只能从 OSCA 关闭状态的结构、突变体功能数据以及 OSCA 结构相似的 TMEM16A 通道入手,推测其可能的门控机制. TMEM16A 通道在被钙离子激活而开放的过程中, M6 螺旋产生了较大的构象变化(图 2a)^[25].结构比对表明,位于 644 位点柔性的甘氨酸是 TMEM16A M6 构象变化的枢纽氨基酸(图 2a),将其突变为有侧链的丙氨酸或更加刚性的脯氨酸后都会使 TME16A 通道更容易被钙离子激活^[25].为了验证 OSCA1.1 通道是否具有相似的机制,我们将 M6 上的 3 个甘氨酸分别突变,发现将 G528 位点突变为丙氨酸或脯氨酸都会引起压力激活曲线的左移,即突变体更容易被压力激活(图 2)^[5].因此推测在 OSCA 通道受压力激活的过程中

M6 螺旋可能有类似 TMEM16A 的构象变化. 为了理解 OSCA1.1 和 OSCA3.1 对压力感受范围不同的机制, 我们进行了序列比对. 发现 OSCA1.1 和感受高压的 OSCA3.1 相比, 在 M0 上有数个氨基酸不同. 于是将 OSCA1.1 在 M0 上的某些氨基酸突变为

OSCA3.1 上相应的氨基酸, 并发现 G8L 或 A11L 突变体会使 OSCA1.1 的压力曲线明显右移, 即向感受更高压力方向变化 (图 2b)^[5]. 因此, M0 螺旋可能参与膜传递的机械力的感知.

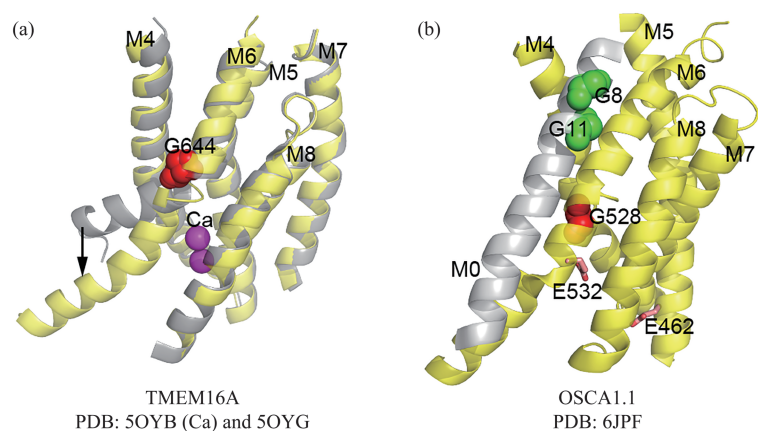


Fig. 2 Structural comparison of OSCA1.1 and mmTMEM16A pore
图2 OSCA1.1和TMEM16A孔道区结构比较

(a) TMEM16A的钙结合位点. 灰色为无钙结合的结构 (PDB: 5OYG); 黄色为钙结合的结构 (PDB: 5OYB); 箭头显示钙结合后M6螺旋的变化; TMEM16A M6构象变化的枢纽氨基酸G644显示为红色小球. (b) OSCA相应区域 (PDB: 6JPF). M6上可能的枢纽氨基酸G528显示为红色小球; OSCA1.1 M0上可能参与机械力感知的G8和G11显示为绿色小球; 孔道区上与离子导通相关的氨基酸E462和E532的侧链显示为棍状模型.

据此, 我们推测了 OSCA1.1 蛋白受机械力激活的机制 (图 3). 在没有机械力刺激的情况下, OSCA1.1 蛋白的 M6 螺旋处于弯曲状态, 孔道区是

关闭的; M0 螺旋参与了机械力刺激的感知; 并且在机械力的作用下, M6 螺旋发生了构象变化, 通道的孔道区打开.

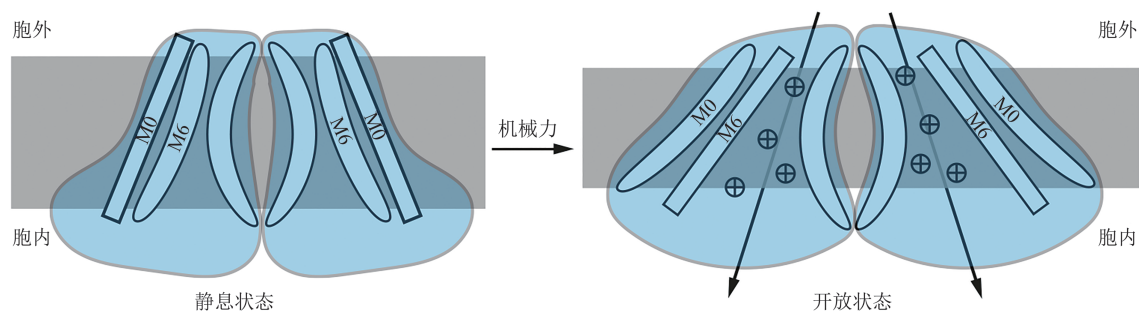


Fig. 3 Model of OSCA activation by force
图3 OSCA通道受机械力刺激而激活的模式图

静息状态下OSCA通道的孔道是关闭的. 在机械力刺激下, 磷脂双分子层的物理性质发生了变化, 该变化被OSCA上包括M0在内的一些结构元件所感知, 并进一步导致M6螺旋发生构象变化, 最终使孔道开放.

4 展 望

OSCA通道在真核生物中进化上的保守性暗示着其重要的生物学功能. 虽然OSCA1.1在拟南芥中的功能已较为清楚, 但该家族其他同源蛋白质在植物中的功能有待进一步发掘. 哺乳动物TMEM63家族成员的功能研究依赖于组织特异性基因敲除/敲低动物模型的构建. OSCA蛋白的结构研究方兴未艾, 其结构和功能的关系, 特别是分子机制层次上的很多问题仍有待探究. 离子通道具有最重要的两大属性: 离子选择性和门控机制. 但对OSCA蛋白来讲, 这两大属性的结构基础都不清楚, 最主要的原因是技术上的瓶颈. 目前还没有一种成熟的方法能够在溶液中的蛋白质分子上均一地施加张力或渗透压差, 进而用于冷冻电镜或X-射线晶体衍射研究. 或许脂质体技术在不久的将来可以应用于该问题的研究^[26]. 除此之外, 为了获得OSCA通道在开放状态的结构, 还可以筛选组成型激活突变体或小分子激活剂等. 最后, 分子动力学模拟和突变体实验相结合也能提供结构上重要机制. 此外, 经预测, 听毛细胞上的重要的机械力敏感通道——似跨膜通道蛋白 (transmembrane channel-like, TMC) 和OSCA通道有结构上的相似性, 但其结构尚不清楚^[27]. OSCA通道结构和功能关系的深入研究对TMC通道的研究将有积极的促进作用.

参 考 文 献

- [1] Kiyosue T, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Cloning of cDNAs for genes that are early-responsive to dehydration stress (ERDs) in *Arabidopsis thaliana* L.: identification of three ERDs as HSP cognate genes. *Plant Mol Biol*, 1994, **25**(5): 791-798
- [2] Lin H J, Huang Y C, Lin J M, *et al.* Association of genes on chromosome 6, GRIK2, TMEM217 and TMEM63B (linked to MRPL14) with diabetic retinopathy. *Ophthalmologica*, 2013, **229**(1): 54-60
- [3] Yuan F, Yang H, Xue Y, *et al.* OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis*. *Nature*, 2014, **514**(7522): 367-371
- [4] Hou C, Tian W, Kleist T, *et al.* DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes. *Cell Res*, 2014, **24**(5): 632-635
- [5] Zhang M, Wang D, Kang Y, *et al.* Structure of the mechanosensitive OSCA channels. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, **25**(9): 850-858
- [6] Haswell E S, Phillips R, Rees D C. Mechanosensitive channels: what can they do and how do they do it? . *Structure*, 2011, **19**(10): 1356-1369
- [7] Sukharev S I, Blount P, Martinac B, *et al.* A large-conductance mechanosensitive channel in *E. coli* encoded by *mscL* alone. *Nature*, 1994, **368**(6468): 265-268
- [8] Perozo E, Cortes D M, Sompornpisut P, *et al.* Open channel structure of MscL and the gating mechanism of mechanosensitive channels. *Nature*, 2002, **418**(6901): 942-948
- [9] Perozo E, Kloda A, Cortes D M, *et al.* Physical principles underlying the transduction of bilayer deformation forces during mechanosensitive channel gating. *Nat Struct Biol*, 2002, **9**(9): 696-703
- [10] Cox C D, Bae C, Ziegler L, *et al.* Removal of the mechanoprotective influence of the cytoskeleton reveals PIEZO1 is gated by bilayer tension. *Nat Commun*, 2016, **7**: 10366
- [11] Syeda R, Florendo M N, Cox C D, *et al.* Piezo1 channels are inherently mechanosensitive. *Cell Rep*, 2016, **17**(7): 1739-1746
- [12] Brohawn S G, Campbell E B, Mackinnon R. Physical mechanism for gating and mechanosensitivity of the human TRAAK K^{+} channel. *Nature*, 2014, **516**(7529): 126-130
- [13] Brohawn S G, Su Z, Mackinnon R. Mechanosensitivity is mediated directly by the lipid membrane in TRAAK and TREK1 K^{+} channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, **111**(9): 3614-3619
- [14] Yan Z, Zhang W, He Y, *et al.* Drosophila NOMPC is a mechanotransduction channel subunit for gentle-touch sensation. *Nature*, 2013, **493**(7431): 221-225
- [15] Zhang W, Cheng L E, Kittelmann M, *et al.* Ankyrin repeats convey force to gate the NOMPC mechanotransduction channel. *Cell*, 2015, **162**(6): 1391-1403
- [16] Murthy S E, Dubin A E, Whitwam T, *et al.* OSCA/TMEM63 are an evolutionarily conserved family of mechanically activated ion channels. *Elife*, 2018, **7**. pii: e41844
- [17] Yuan C, Zhang H, Wang W, *et al.* Transmembrane protein 63A is a partner protein of *Haemonchus contortus* galectin in the regulation of goat peripheral blood mononuclear cells. *Parasit Vectors*, 2015, **8**: 211
- [18] Yan H, Helman G, Murthy S E, *et al.* Heterozygous variants in the mechanosensitive ion channel TMEM63A result in transient hypomyelination during infancy. *Am J Hum Genet*, 2019, **105**(5): 996-1004
- [19] Marques M C, Albuquerque I S, Vaz S H, *et al.* Overexpression of osmosensitive Ca^{2+} -permeable channel TMEM63B promotes migration in HEK293T cells. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, **58**(26): 2861-2866
- [20] Schulz A, Muller N V, Van De Lest N A, *et al.* Analysis of the genomic architecture of a complex trait locus in hypertensive rat models links Tmem63c to kidney damage. *Elife*, 2019, **8**: pii e42068
- [21] Jojoa-Cruz S, Saotome K, Murthy S E, *et al.* Cryo-EM structure of the mechanically activated ion channel OSCA1.2. *Elife*, 2018, **7**:

- pii e41845
- [22] Liu X, Wang J, Sun L. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel OSCA1.2. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 5060
- [23] Maity K, Heumann J M, Mcgrath A P, *et al.* Cryo-EM structure of OSCA1.2 from *Oryza sativa* elucidates the mechanical basis of potential membrane hyperosmolality gating. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, **116**(28): 14309-14318
- [24] Dang S, Feng S, Tien J, *et al.* Cryo-EM structures of the TMEM16A calcium-activated chloride channel. *Nature*, 2017, **552**(7685):426-429
- [25] Paulino C, Kalienkova V, Lam A K M, *et al.* Activation mechanism of the calcium-activated chloride channel TMEM16A revealed by cryo-EM. *Nature*, 2017, **552**(7685):421-425
- [26] Wang L. Random spherically constrained single-particle (RSC) method to study voltage-gated ion channels. *Methods Mol Biol*, 2018, **1684**:265-277
- [27] Yue X, Sheng Y, Kang L, *et al.* Distinct functions of TMC channels: a comparative overview. *Cell Mol Life Sci*, 2019, **76**(21):4221-4232

Recent Progress on The Studies of OSCA/TMEM63 Family Ion Channels*

WU Jing-Xiang^{1,2)}, CHEN Lei^{1,2,3)**}

⁽¹⁾State Key Laboratory of Membrane Biology, Institute of Molecular Medicine, Peking University,
Beijing Key Laboratory of Cardiometabolic Molecular Medicine, Peking University, Beijing 100871, China;

²⁾Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;

³⁾Academy for Advanced Interdisciplinary Studies, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract Hyperosmolality-induced $[Ca^{2+}]_i$ increase (OSCA)/Transmembrane protein 63 (TMEM63) family proteins are multi-pass membrane proteins. They are broadly presented in eukaryotic cells. Previous study showed that OSCA1.1 from *Arabidopsis* mediated the hyperosmolality induced calcium increase in plants. Additional studies showed OSCA1.1 and its homologues were mechanosensitive ion channels. High resolution cryo-EM structures revealed that OSCA proteins were symmetric dimers and each subunit harbored an ion permeation pathway. The review will focus on recent progress on the studies of the function, structure and structural-functional relationship of OSCA channels.

Key words OSCA, TMEM63, mechanosensitive ion channel, TMEM16, TMC

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0245

* This work was supported by grants from the Ministry of Science and Technology of China (2016YFA0502004), The National Natural Science Foundation of China (91957201, 31622021, 31870833, 31821091), Beijing Natural Science Foundation (5192009) and Young Thousand Talents Program of China.

** Corresponding author.

Tel: 86-10-62760700, E-mail: chenlei2016@pku.edu.cn

Received: October 18, 2019 Accepted: January 3, 2020