

FUNCIONES NO-CANÓNICAS DE LOS CANALES DE POTASIO ACTIVADOS POR VOLTAJE*

Mayra Delgado Ramírez y Aldo Azmar Rodríguez Menchaca

Departamento de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, SLP. Correo E: aldo.rodriguez@uaslp.mx

RESUMEN

Los canales de potasio activados por voltaje (K_v) son proteínas que forman poros selectivos a potasio (K^+) en las membranas celulares. Los canales K_v abren o cierran en respuesta a cambios en el potencial transmembranal y son esenciales en la repolarización de los potenciales de acción y por lo tanto para el funcionamiento de los tejidos excitables. Además de estas bien conocidas funciones, en años recientes se ha propuesto que los canales K_v pueden influenciar eventos celulares de manera independiente a su función como canales iónicos. Esta revisión presenta ejemplos sobre las funciones que desarrollan los canales K_v a través de vías no-canónicas, es decir independientes del flujo de iones K^+ .

ABSTRACT

Voltage gated potassium (K_v) channels are proteins that form potassium (K^+) selective pores in cell membranes. They open or close in response to changes in the transmembrane potential and are essential for repolarizing action potentials, and thus for the functioning of excitable tissue. In addition to these well-known functions, it has recently been proposed that some K_v channels can influence cellular events in ways that do not depend on their function as ion channels. This review present examples of the non-canonical functions of K_v channels.

Introducción

Los canales de potasio activados por voltaje (K_v) son proteínas transmembranales que forman poros selectivos al ion potasio (K^+) en las membranas celulares. Estos canales son activados por la despolarización de la membrana y están involucrados en numerosos procesos fisiológicos (1). Estructuralmente, los canales K_v están conformados por cuatro subunidades α idénticas o similares, es decir son homotetrámeros o heterotetrámeros. Cada subunidad α consta a su vez de seis segmentos transmembranales (S1-S6), con los extremos amino y carboxilo orientados hacia el interior de la célula (Fig. 1). Los primeros cuatro segmentos transmembranales (S1-S4) conforman el sensor de voltaje, el cual se conecta a través del asa S4-S5 a los dos segmentos transmembranales restantes (S5-S6) que forman parte del poro de conducción

PALABRAS CLAVE:

Canales de K^+ , vías de señalización, dependencia de voltaje.

KEY WORDS:

K^+ channels, signaling pathways, voltage dependence.

del canal (Fig. 1). Además, los canales K_v pueden interaccionar con subunidades accesorias (β), mismas que regulan sus propiedades biofísicas, su tráfico hacia la membrana plasmática y su localización en la misma (2).

Los canales K_v desarrollan funciones fundamentales en células excitables y no excitables. En células excitables, la despolarización generada durante un potencial de acción induce la apertura de los canales K_v , permitiendo con ello un eflujo de K^+ que repolariza la membrana y termina con dicho potencial; de tal forma, los canales K_v son responsables de regular la duración y frecuencia de los potenciales de acción. Por otro lado, en células no excitables, estos canales regulan diferentes procesos tales como la respuesta inmune, el volumen celular, la secreción de hormonas y neurotransmisores, la proliferación celular y la apoptosis. La participación de los canales K_v en dichas funciones ha sido atri-

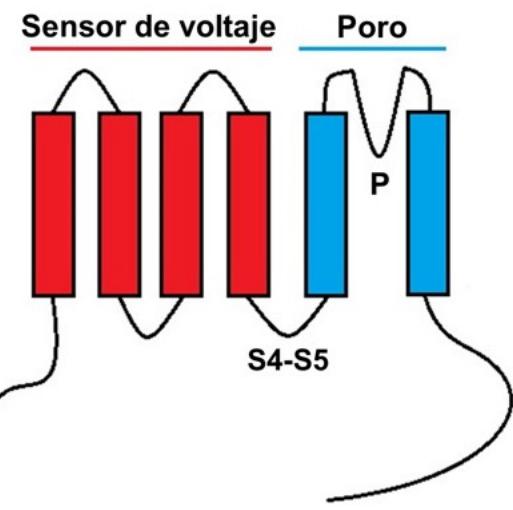
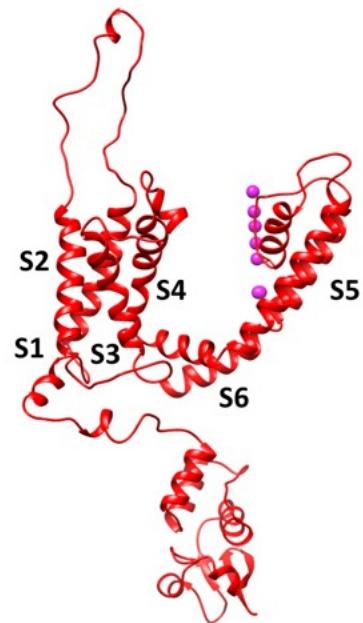
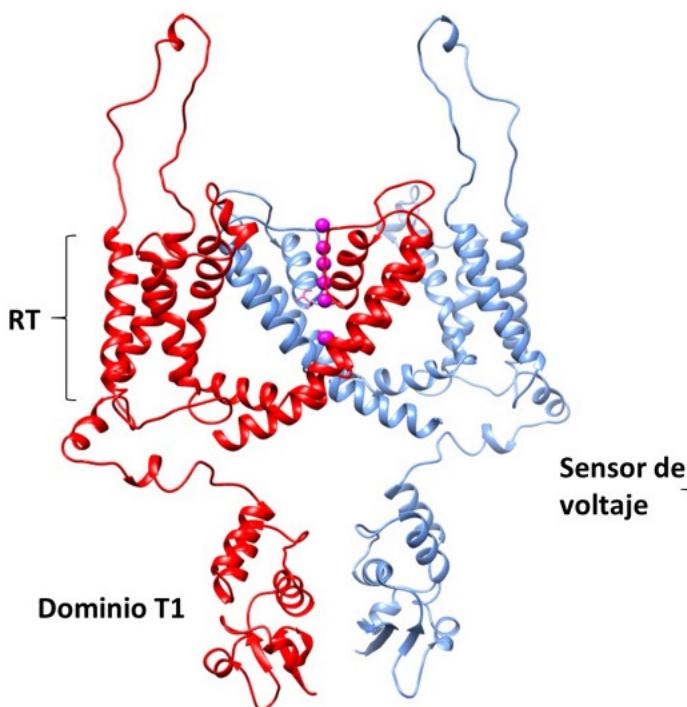
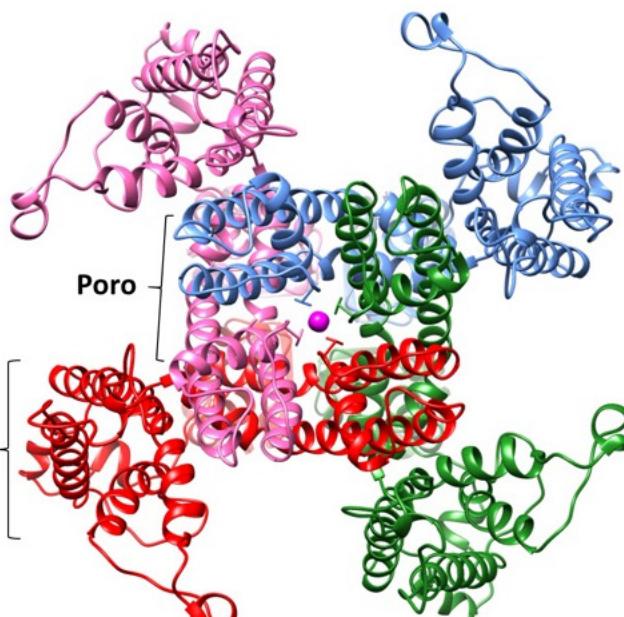
A**B****C****D**

Figura 1. Estructura de los canales Kv. **A.** Modelo topológico de los canales Kv. Cada subunidad está constituida por 6 segmentos transmembranales conectados entre sí por asas intra- y extracelulares. Los segmentos 1 al 4 forman el sensor de voltaje del canal, mientras que los segmentos 5 y 6 conforman el poro de conducción. **B.** Estructura tridimensional de una subunidad a del canal Kv1.2. **C.** Vista lateral de dos subunidades mostrando la región transmembranal (RT) y el dominio de tetramerización (T1). **D.** Vista superior (desde el lado extracelular) mostrando el ensamblaje simétrico de 4 subunidades para formar un canal funcional. El poro se localiza en la región central rodeado por los 4 sensores de voltaje. La figura fue creada con las coordenadas depositadas en el Protein Data Bank, código de acceso 2A79.

buida a su función canónica, es decir la conducción de iones K⁺ (3-6). Sin embargo, estudios recientes involucran a algunos canales Kv en la regulación de fenómenos biológicos en los cuales su función depende exclusivamente de su naturaleza proteica y/o de su interacción con subunidades accesorias u otras proteínas de señalización, sin que su función canónica sea requerida (7).

El propósito de esta breve revisión es dar un panorama general sobre las funciones no-canónicas de los canales Kv en cuatro eventos celulares fundamentales: la proliferación celular, la exocitosis, el tráfico de proteínas y la regulación de la dinámica del citoesqueleto (Fig. 2).

I.- Función de los canales Kv en la proliferación celular

La proliferación celular es el proceso que resulta en un aumento del número de células y se define por el equilibrio entre las divisiones celulares y la pérdida de células a través de la muerte o diferenciación celular. La regulación de este proceso es esencial para el correcto funcionamiento del organismo; la pérdida de dicha regulación es la causa de enfermedades como el cáncer, patología que se caracteriza por la proliferación descontrolada de las células.

Evidencias acumuladas en los últimos 34 años han puesto de manifiesto la importancia de los canales Kv en la regulación de la proliferación celular (8). La primera evidencia fue reportada por DeCoursey y cols. (9) estudiando los efectos de la fitohemaglutinina (un potente agente mitogénico) en la proliferación de los linfocitos T. En dicho trabajo se demostró que el mecanismo de acción de la fitohemaglutinina para incrementar la proliferación celular se da a través de la modulación de los canales Kv presentes en los linfocitos. El uso de inhibidores de canales Kv (TEA, 4-aminopiridina y quinidina) inhibió el efecto mitogénico de la fitohemaglutinina (9). Este trabajo dio inicio al estudio del papel de los canales Kv en la proliferación celular. Actualmente numerosas evidencias han llevado a proponer cuatro mecanismos por las cuales los canales Kv pueden controlar la proliferación celular: 1) estableciendo oscilaciones en el potencial de membrana durante el ciclo celular; los cambios en el potencial de membrana controlan el paso de una fase del ciclo celular a otra, 2) controlan la dinámica del volumen celular; un incremento en el eflujo de potasio promueve condiciones que propician la mitosis celular, 3) regulan la señalización mediada por calcio; la hiperpolarización subsecuente a la salida de potasio favorece la entrada de calcio,

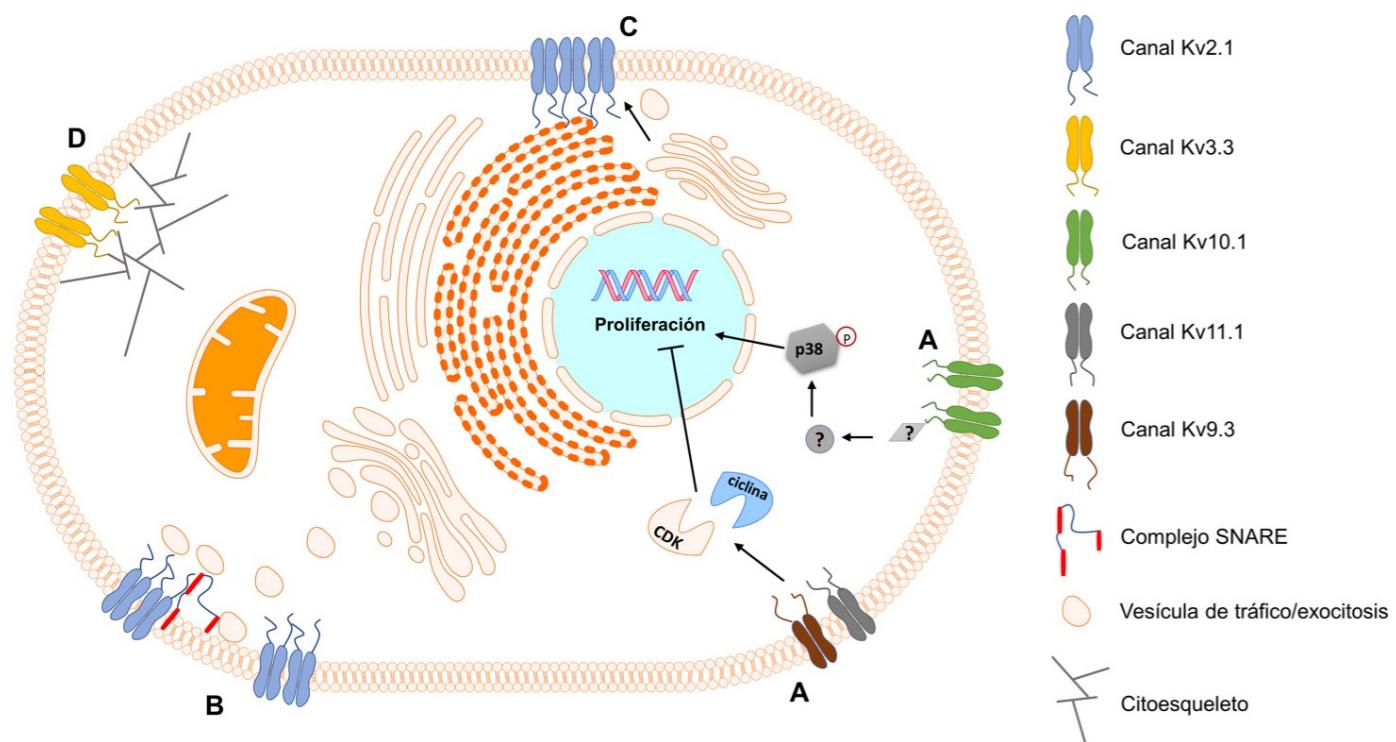


Figura 2. Esquema que representa algunas de las funciones no-canónicas de los canales Kv. A) en la proliferación celular. B) en la exocitosis. C) en el tráfico de proteínas. D) en la regulación de la dinámica del citoesqueleto.

favoreciendo la proliferación celular por vías de señalización dependientes de calcio, 4) a través de vías no-canónicas; los canales pueden interactuar con otras proteínas y regular cascadas de señalización involucradas en la proliferación celular (6).

En esta revisión nos enfocaremos en las vías no-canónicas por las cuales los canales Kv regulan la proliferación celular.

Los canales Kv10.1 son tal vez los canales que más se han estudiado en relación a la participación de los canales de K⁺ en la proliferación celular. En individuos sanos, los canales Kv10.1, también conocidos como EAG1 (ether-a-go-go-1), se expresan primordialmente en el cerebro y en bajos niveles en la placenta, testículos y glándulas suprarrenales (10); sin embargo, se encuentran también expresados de manera atípica en la mayoría de los tumores de humano (10), jugando un importante papel en la proliferación de las células tumorales. Estos canales, a diferencia de la mayoría de los canales Kv, poseen en su extremo amino terminal un dominio Per-Arnt-Sim (PAS), mientras que en el extremo carboxilo terminal contienen un dominio homólogo de unión a nucleótidos cíclicos (CNBHD), los cuales parecen ser importantes en la regulación que estos ejercen sobre la proliferación celular (11). Estudios recientes sugieren que la capacidad tumorigénica de los canales Kv10.1 es mediada por vías no-canónicas. Hegle y cols. (12) reportaron que la expresión del canal EAG de *Drosophila melanogaster* en células que no lo expresan endógenamente (fibroblastos NIH 3T3), incrementa la tasa proliferativa de estas células por un mecanismo independiente del flujo iónico. Dicho incremento en la proliferación celular parece estar relacionado con la activación de vías de señalización intracelular como respuesta a cambios conformacionales del sensor de voltaje del canal, aun cuando los canales no puedan conducir iones. Notablemente, la inhibición de la vía de la MAP cinasa p38, la cual es fundamental en la proliferación de diversos tipos celulares, inhibió la proliferación inducida por canales EAG no conductivos, sugiriendo que esta vía está involucrada en esta función no-canónica de los canales EAG (Fig. 2-A) (12). Un mecanismo similar fue descrito para el incremento en la proliferación de las células HEK-293 inducido por la expresión de los canales Kv1.3, donde los cambios conformacionales del canal parecen ser los responsables de modular la proliferación celular, sin necesidad del flujo de K⁺ (13). Los canales Kv11.1 también se han visto involucrados en la proliferación celular sin que su función canónica sea necesaria. En diversas líneas celulares de cáncer de pulmón microcítico, la supresión de la expresión de los canales Kv11.1 por

medio de RNA de interferencia (RNAi), disminuyó la proliferación de estas líneas celulares cancerosas; mientras que el inhibidor selectivo de estos canales, el fármaco E-4031, no presentó el mismo efecto, indicando que la supresión de la corriente de canal no es suficiente para detener la proliferación celular (14). También se ha observado que subunidades de canales de K⁺ silenciosos (p. ej. Kv9), es decir que no forman canales homotetraméricos funcionales (1), pueden influenciar la proliferación en algunos tipos celulares. En células de cáncer de colon (HCT15) y pulmón (A594) se encontró que reducir la expresión del canal Kv9.3 mediante RNAi, induce un arresto del ciclo celular en la fase G0/G1 y una alteración en la expresión de proteínas reguladoras del ciclo celular, tales como p21, p27, ciclina D3 y CDK2 (Fig. 2-A). Además, la reducción de la expresión del canal Kv9.3 disminuyó el crecimiento tumoral *in vivo* (15).

II.- Función de los canales Kv en la exocitosis

La exocitosis comprende el movimiento de vesículas intracelulares a la membrana, donde se fusionan y liberan su contenido en el fluido que la rodea. En las neuronas y células neuroendocrinas la exocitosis es un proceso regulado (exocitosis regulada) y dependiente de calcio. En estas células el aumento en el calcio intracelular activa la maquinaria exocítica, en la cual participan varias proteínas especializadas (proteínas SNARE), llevando a la liberación de neurotransmisores y hormonas (16).

Se ha demostrado que los canales Kv2.1 participan en el proceso de exocitosis y han sido catalogados como facilitadores de este proceso (17). Inicialmente se demostró que los canales Kv2.1 interactúan físicamente con la proteína sintaxina-1A, una de las proteínas que conforman el complejo SNARE (acrónimo derivado de su nombre en inglés "SNAP -Soluble NSF Attachment Protein- REceptor"), complejo cuya función principal es la fusión de vesículas a la membrana (Fig. 2-B). La sintaxina-1A se une al extremo carboxilo terminal del canal Kv2.1 y regula su funcionamiento (18). Además, se ha mostrado que los canales Kv2.1 interactúan preferencialmente con la conformación abierta de la sintaxina-1A y de manera dependiente de calcio (19). Estos hallazgos permitieron proponer que la regulación de los canales Kv2.1 por la sintaxina-1A, estaría limitando el eflujo de K⁺ y como consecuencia alargando la despolarización de la membrana durante la exocitosis, optimizando de esta manera dicho proceso (18, 19). Estudios posteriores confirmaron que la interacción del canal Kv2.1 con la sintaxina-1A facilita la exocitosis en células PC12 (línea celular derivada de feocromocitoma); sin

embargo, el mecanismo involucrado es independiente de la conducción iónica del canal (20, 21). Para determinar que la facilitación de la exocitosis inducida por el canal Kv2.1 es independiente de su función canónica (la conducción de iones K^+) se utilizó un canal mutado en la región del poro (Kv2.1-W365C/Y380T) el cual no permite el paso de iones potasio, pero conserva su interacción con la sintaxina-1A. El canal Kv2.1-W365C/Y380T fue igual de efectivo en facilitar la exocitosis que los canales Kv2.1 tipo silvestre (Kv2.1-WT). Además, se mostró que interrumpir la interacción del canal Kv2.1 con la sintaxina-1A evita la facilitación de la exocitosis inducida por estos canales (20, 21). La facilitación de la exocitosis inducida por vías no-canónicas de los canales Kv2.1 ha sido también demostrada en células cromafines de bovino (17), neuronas del ganglio de la raíz dorsal (22) y células β -pancreáticas de humano y de rata (23).

III.- Función de los canales Kv en el tráfico de proteínas

El tráfico de proteínas en la membrana plasmática (MP) involucra la secreción de proteínas a la MP (exocitosis, secreción, tráfico anterógrado), la captura de proteínas para reciclar o regular su actividad (endocitosis o tráfico retrógrado) y el movimiento de proteínas de un lugar a otro en la MP (transcitosis). La presencia y abundancia de proteínas en la MP es regulada por varios mecanismos (16). Evidencias recientes muestran que los canales Kv2.1 están involucrados en el tráfico de proteínas (24-26). Los canales Kv2.1 tienen la característica inusual de formar agregados micrométricos (clusters) en la MP (27, 28). Sorpresivamente, los canales localizados dentro de estos agregados no conducen corriente iónica durante la despolarización de la membrana, aun cuando poseen sensores de voltaje funcionales, y por lo tanto no participan en la regulación de la excitabilidad celular, siendo este proceso regulado por los canales Kv2.1 localizados fuera de dichos agregados (29). Estudios posteriores, utilizando técnicas de microscopía de alta resolución revelaron que los agregados de canales Kv2.1 pueden funcionar como plataformas de inserción de otros canales Kv. Dichos estudios mostraron que vesículas intracelulares contenido canales Kv2.1 o Kv1.4, son capaces de unirse y fusionarse de manera discreta en la superficie de la membrana donde se localizan los agregados de canales Kv2.1, sugiriendo que estos agregados funcionan como microdominios especializados para el tráfico de proteínas en la MP (24). De manera interesante, se ha reportado que los agregados de canales Kv2.1 se localizan en regiones de la membrana plasmá-

tica yuxtapuestas al retículo endoplásmico cortical (REc), que es el retículo endoplásmico que reside dentro de 100 nm de la superficie celular y hace contacto con la membrana plasmática. Además, se observó que el reciclaje del receptor a transferrina (TfR) y de los canales Kv1.4, ocurre en regiones de la MP enriquecidas en retículo endoplásmico cortical, sugiriendo que la maquinaria endo- y exocítica rodea estos dominios (25).

Las uniones entre el REc y la MP son una característica sutil pero omnipresente en las células de los mamíferos; sin embargo, se sabe muy poco acerca de las funciones e interacciones moleculares que están asociadas con las uniones REc-MP y cómo éstas son estabilizadas. En un interesante estudio, Fox y cols. (26) demostraron que los agregados no conductivos de los canales Kv2.1 no solo se localizan en estas regiones de contacto REc-MP, sino que inducen la formación de estas estructuras a través de un remodelamiento substancial del REc; siendo la primera proteína de la membrana plasmática identificada capaz de regular la formación de dichos contactos en condiciones de reposo (Fig. 2-C). La presencia de canales Kv2.1 no conductivos permite que se formen agregados con un gran número de canales, los cuales son requeridos para inducir la formación de los contactos REc-MP, sin comprometer la señalización eléctrica (26).

IV.- Función de los canales Kv en regulación de la dinámica del citoesqueleto

El citoesqueleto de una célula está conformado por microtúbulos, filamentos de actina y filamentos intermedios. Estas estructuras dan a las células su forma y resistencia a la deformación. Además, proporcionan una base para el movimiento y división celular. Las proteínas del citoesqueleto tienen la habilidad inherente de auto-ensamblarse en polímeros, los cuales existen en equilibrio dinámico con las proteínas monoméricas, resultando en un constante recambio en la célula. Existen diversas proteínas citosólicas que regulan este proceso altamente dinámico (p. ej. formina, complejo Arp2/3, Ena/VASP, etc.) (30). Diversos estudios han reportado que este proceso también es regulado por proteínas de membrana (31), incluyendo canales iónicos (32).

En un elegante estudio, Zhang y cols. (32) reportaron que los canales Kv3.3, además de ser reguladores de la excitabilidad celular, pueden regular la dinámica del citoesqueleto por vías independientes de su conducción iónica. En este trabajo los autores muestran que una región rica en prolinas en el extremo carboxilo terminal de los canales Kv3.3 interacciona con las proteínas Hax-1

y cortactina para reclutar al factor de nucleación Arp2/3, dando como resultado la formación de una red de filamentos de actina cortical relativamente estables (Fig. 2-D). Además, mostraron que canales Kv3.3 con una mutación puntal dentro de la región rica en prolinas (G592R), misma que se ha encontrado en pacientes con ataxia espinoce-rebelosa tipo 13 (SCA13), es incapaz de reclutar Arp2/3, lo que genera conos de crecimiento neural con redes de filamentos de actina deficientes en neuronas derivadas de células madre de un paciente con SCA13. En palabras de los autores, esta es la primera evidencia de que un canal iónico ejerce efectos regulatorios en el citoesqueleto de actina dependiente de Arp2/3 (32).

Conclusión

Los reportes que hemos compilado en esta pequeña revisión muestran que los canales de potasio dependientes de voltaje pueden mediar eventos fisiológicos de forma independiente a su función canónica. Las evidencias que demuestran lo anterior han ido en aumento, haciendo notar la complejidad de las funciones fisiológicas que pueden tener los canales Kv, obligando a la consideración de estos escenarios en estudios futuros. Dichos escenarios pueden ser muy complejos si consideramos que algunos canales pueden contribuir a un fenómeno fisiológico por vías canónicas y no-canónicas simultáneamente.

REFERENCIAS

1. González C, Baez-Nieto D, Valencia I, Oyarzún I, Rojas P, Naranjo D, Latorre R (2012) K(+) channels: function-structural overview. *Compr Physiol* 2:2087-2149.
2. Pongs O, Leicher T, Berger M, Roeper J, Bähring R, Wray D, Giese KP, Silva AJ, Storm JF (1999) Functional and molecular aspects of voltage-gated K⁺ channel beta subunits. *Ann N Y Acad Sci* 868:344-355.
3. Hille B (2001) Ion Channels of Excitable Membranes, 3rd ed. Editor: Sinauer, Sunderland, Mass.
4. Feinshreiber L, Chikvashvili D, Michaelovski I, Lotan I (2009) Syntaxin modulates Kv1.1 through dual action on channel surface expression and conductance. *Biochemistry* 48:4109-4114.
5. Szabò I, Zoratti M, Gulbins E (2010) Contribution of voltage-gated potassium channels to the regulation of apoptosis. *FEBS Lett* 584:2049-2056.
6. Huang X, Jan LY (2014) Targeting potassium channels in cancer. *J Cell Biol* 206:151-162.
7. Kaczmarek LK (2006) Non-conducting functions of voltage-gated ion channels. *Nat Rev Neurosci* 7:761-771.
8. Urrego D, Tomczak AP, Zahed F, Stühmer W, Pardo LA (2014) Potassium channels in cell cycle and cell proliferation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369:20130094.
9. DeCoursey TE, Chandy KG, Gupta S, Cahalan MD (1984) Voltage-gated K⁺ channels in human T lymphocytes: a role in mitogenesis? *Nature* 307:465-468.
10. Pardo LA, Sühmer W (2008) Eag1 as a cancer target. *Expert Opin Ther Targets* 12:837-843.
11. Haitin Y, Carlson AE, Zagotta WN (2013) The structural mechanism of KCNH-channel regulation by the eag domain. *Nature* 501:444-448.
12. Hegle AP, Marble DD, Wilson GF (2006) A voltage-driven switch for ion-independent signaling by ether-à-go-go K⁺ channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:2886-2891.
13. Cidat P, Jiménez-Pérez L, García-Arribas D, Miguel-Velado E, Tajada S, Ruiz-McDavitt C, López-López JR, Pérez-García MT (2012) Kv1.3 channels can modulate cell proliferation during phenotypic switch by an ion-flux independent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32:1299-1307.
14. Glassmeier G, Hempel K, Wulfsen I, Bauer CK, Schumacher U, Schwarz JR (2012) Inhibition of HERG1 K⁺ channel protein expression decreases cell proliferation of human small cell lung cancer cells. *Pflugers Arch* 463:365-376.
15. Lee JH, Park JW, Byun JK, Kim HK, Ryu PD, Lee SY, Kim DY (2015) Silencing of voltage-gated potassium channel KV9.3 inhibits proliferation in human colon and lung carcinoma cells. *Oncotarget* 6:8132-8143.
16. Jahn R (2004) Principles of exocytosis and membrane fusion. *Ann N Y Acad Sci* 1014:170-178.
17. Feinshreiber L, Singer-Lahat D, Ashery U, Lotan I (2009) Voltage-gated potassium channel as a facilitator of exocytosis. *Ann N Y Acad Sci* 1152:87-92.

18. Leung YM, Kang Y, Gao X, Xia F, Xie H, Sheu L, Tsuk S, Lotan I, Tsushima RG, Gaisano HY (2003) Syntaxin 1A binds to the cytoplasmic C terminus of Kv2.1 to regulate channel gating and trafficking. *J Biol Chem* 278:17532-17538.
19. Leung YM, Kang Y, Xia F, Sheu L, Gao X, Xie H, Tsushima RG, Gaisano HY (2005) Open form of syntaxin-1A is a more potent inhibitor than wild-type syntaxin-1A of Kv2.1 channels. *Biochem J* 387:195-202.
20. Singer-Lahat D, Sheinin A, Chikvashvili D, Tsuk S, Greitzer D, Friedrich R, Feinshreiber L, Ashery U, Benveniste M, Levitan ES, Lotan I (2007) K⁺ channel facilitation of exocytosis by dynamic interaction with syntaxin. *J Neurosci* 27:1651-1658.
21. Singer-Lahat D, Chikvashvili D, Lotan I (2008) Direct interaction of endogenous Kv channels with syntaxin enhances exocytosis by neuroendocrine cells. *PLoS One* 3:e1381.
22. Feinshreiber L, Singer-Lahat D, Friedrich R, Matti U, Sheinin A, Yizhar O, Nachman R, Chikvashvili D, Rettig J, Ashery U, Lotan I (2010) Non-conducting function of the Kv2.1 channel enables it to recruit vesicles for release in neuroendocrine and nerve cells. *J Cell Sci* 123:1940-1947.
23. Dai XQ, Manning Fox JE, Chikvashvili D, Casimir M, Plummer G, Hajmrle C, Spigelman AF, Kin T, Singer-Lahat D, Kang Y, Shapiro AM, Gaisano HY, Lotan I, Macdonald PE (2012) The voltage-dependent potassium channel subunit Kv2.1 regulates insulin secretion from rodent and human islets independently of its electrical function. *Diabetologia* 55:1709-1720.
24. Deutsch E, Weigel AV, Akin EJ, Fox P, Hansen G, Haberkorn CJ, Loftus R, Krapf D, Tamkun MM (2012) Kv2.1 cell surface clusters are insertion platforms for ion channel delivery to the plasma membrane. *Mol Biol Cell* 23:2917-2929.
25. Fox PD, Haberkorn CJ, Weigel AV, Higgins JL, Akin EJ, Kennedy MJ, Krapf D, Tamkun MM (2013) Plasma membrane domains enriched in cortical endoplasmic reticulum function as membrane protein trafficking hubs. *Mol Biol Cell* 24:2703-2713.
26. Fox PD, Haberkorn CJ, Akin EJ, Seel PJ, Krapf D, Tamkun MM (2015) Induction of stable ER-plasma-membrane junctions by Kv2.1 potassium channels. *J Cell Sci* 128:2096-2105.
27. O'Connell KM, Tamkun MM (2005) Targeting of voltage-gated potassium channel isoforms to distinct cell surface microdomains. *J Cell Sci* 118:2155-2166.
28. Sarmiere PD, Weigle CM, Tamkun MM (2008) The Kv2.1 K⁺ channel targets to the axon initial segment of hippocampal and cortical neurons in culture and *in situ*. *BMC Neurosci* 9:112.
29. O'Connell KM, Loftus R, Tamkun MM (2010) Localization-dependent activity of the Kv2.1 delayed-rectifier K⁺ channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:12351-12356.
30. Dominguez R (2009) Actin filament nucleation and elongation factors--structure-function relationships. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 44:351-366.
31. Bezanilla M, Gladfelter AS, Kovar DR, Lee WL (2015) Cytoskeletal dynamics: a view from the membrane. *J Cell Biol* 209:329-337.
32. Zhang Y, Zhang XF, Fleming MR, Amiri A, El-Hassar L, Surguchev AA, Hyland C, Jenkins DP, Desai R, Brown MR, Gazula VR, Waters MF, Large CH, Horvath TL, Navaratnam D, Vaccarino FM, Forscher P, Kaczmarek LK (2016) Kv3.3 Channels Bind Hax-1 and Arp2/3 to Assemble a Stable Local Actin Network that Regulates Channel Gating. *Cell* 165:434-448.