

# K<sup>+</sup>离子通道及其研究进展

徐秀知<sup>1</sup> 展永<sup>1</sup> 纪青<sup>1</sup> 安海龙<sup>1</sup> 卓益忠<sup>2</sup>

(1 河北工业大学理学院 天津 300130) (2 中国原子能科学院 北京 102413)

细胞是通过细胞膜与外界隔离的,在细胞膜上有很多离子通道,细胞通过这些通道与外界进行离子交换。离子通道在许多细胞活动中都起关键作用,它是生物电活动的基础,在细胞内和细胞间信号传递中起着重要作用。离子通道通过调控细胞内pH值和离子浓度来维持正常的细胞体积及细胞内生物分子活性所需的离子浓度范围。特别是通过改变作为第二信使的钙离子浓度,来调控各种生化过程。生命的很多过程如发育、生长、分泌、兴奋、运动,甚至于学习和记忆都与离子通道功能的正常发挥有直接联系。目前,离子通道的研究已成为分子生物学、分子药理学、生物物理学、神经生物学等多种学科的热点。对离子通道的研究主要集中在解释它的选择性通透机制与门控机制。为什么K<sup>+</sup>通道可以让K<sup>+</sup>以高达每秒钟10<sup>8</sup>个离子的速率通透,好像没有一点障碍,而对略小一点的Na<sup>+</sup>却坚硬如墙?是什么机制使离子通道转导速率如此之快?怎样在分子水平上解释其门控机制?离子通道以其独特的魅力吸引着人们参与到对它的研究中来。对这一问题的研究,有助于人们在分子水平上理解通道蛋白

的一些机制,帮助人们搞清膜的物质、信息输运机制,深入认识生命活动的本质。

## 一、K<sup>+</sup>离子通道简介

离子通道是镶嵌在脂质双分子层中的大蛋白质分子,可以选择性地介导不同的离子。离子通道的实验研究最初主要来源于生理学实验。1949~1952年,Hodgkin等发展的“电压钳技术”为离子通透性的研究提供了技术条件。60年代中期,一些特异性通道抑制剂的发现为离子通道的研究提供了有力武器。1964年,用放射性同位素标记脉冲法,找出了钙通道的证据。1976年,Neher和Sakmann发展的膜片钳技术直接记录了离子单通道电流,为从分子水平上研究离子通道提供了直接手段。80年代中期,生化技术的进步、分子生物学以及基因重组技术的发展,使人们能够分离纯化许多不同的通道蛋白,直接研究离子通道的结构与功能关系。目前,以MacKinnon工作组为首的研究人员利用电生理学方法和X射线晶体学对离子通道进行了更为细致的研究。对离子通道的运动机制提出了新的见解。

离子通道具有3个显著特征:一是离子选择性,

广泛和密切的国际合作是高能物理研究的基本特点。北京正负电子对撞机从设计之日起,就一直得到国际高能物理界,特别是李政道教授的大力支持。20多年来,中国科学院和美国能源部每年都举行会谈,重点讨论双方在北京正负电子对撞机和北京谱仪的合作。国家自然科学基金委员会对北京谱仪的研究工作也一直给予大力支持。北京正负电子对撞机和北京谱仪在1999年初完成了升级改造后,整体综合性能大幅度提高,每天获取的数据量是改造前的3~4倍,数据的质量良好。北京谱仪国际合作组对这些数据进行了深入细致的分析和研究,此次发现新粒子是这批数据的重大物理成果之一。

北京正负电子对撞机和北京谱仪运行在20亿—50亿电子伏特的能量区域,尽管在世界上这个能量不是很高,但属于国际高能物理实验研究两大前沿之一的精确测量前沿,具有重大的物理意义,

不断出现新的重大成果,成为国际高能物理研究的一个新热点,竞争十分激烈。国家有关部门已经批准对北京正负电子对撞机和北京谱仪进行重大改造,预期加速器提供的数据量将提高两个数量级,探测器的性能也将大幅度提高。这个重大改造完成后,北京正负电子对撞机将能继续保持在粲夸克物理和强子谱等研究领域的国际领先地位。

新的发现,也是新的挑战。高能物理所的科学家表示:目前我们的研究结果只是确定了这个新粒子的存在,要最终明确这个新粒子的基本性质和物理意义,还要北京谱仪合作组的中外科学家进一步做大量的深入细致的数据分析工作,更需要与国内外的理论物理学家密切配合,认真研究,也可能需要更大量的数据才能最终回答这些问题。

(转载自《光明日报》2003年8月8日“科技周刊”)

离子通道对被转运离子的大小与电荷都有高度的选择性。根据通道可通过的不同离子,可将离子通道分为  $K^+$  通道、 $Na^+$  通道、 $Ca^{2+}$  通道等。二是高速转运特性,神经细胞膜上的单个通道最高转运速度可达  $10^8$  个/秒。三是离子通道是门控的,即离子通道的活性由通道开或关两种构象所调节,并通过开关应答于相应的信号。根据门控机制,离子通道可分为电压门控通道、配体门控通道和压力激活通道。

随着科学技术的不断进步,对离子通道的研究也日新月异。 $K^+$  通道是数目最大、家族最为多样的离子通道,对跨膜电流的产生是必要的,在细胞兴奋性的调节中起着重要作用。 $K^+$  通道功能的分子基础是普遍保守的,对通道不适宜的调控会导致病变。由于  $K^+$  通道在调控细胞膜的兴奋性中的基础地位,对它的研究为我们理解神经生理学提供了一个有用的框架。最近,许多生理学与晶体学的研究,使我们对  $K^+$  通道有了新的见解。目前得到的一种细菌  $K^+$  通道 KcsA 的晶体结构,结构比较简单,是离子通道研究的又一个里程碑。而在介绍 KcsA 的  $K^+$  通道之前,我们有必要回顾一下  $K^+$  通道结构的一些共同特征。

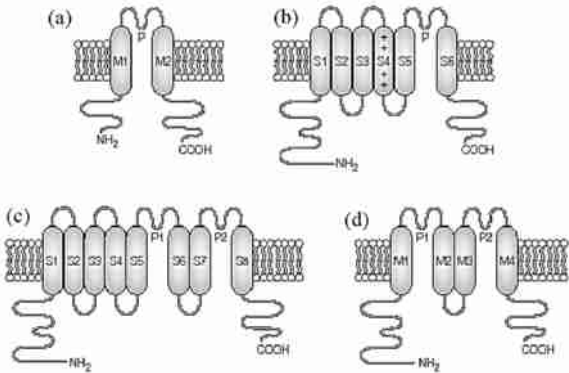


图1 不同家族  $K^+$  通道亚基上不同数目的跨膜链

单个  $K^+$  通道是同源四聚体,4 个亚基对称的围成一个传导离子的中央孔道,恰好让单个  $K^+$  通过。对于不同的家族,每个亚基有不同数目的跨膜链组成。两个跨膜链与它们之间的 P- 回环是  $K^+$  通道结构的标志(2TM/P) [图 1(a)],不同家族的  $K^+$  通道都有这样一个结构。例如,内部整流  $K^+$  通道与 KcsA 等细菌  $K^+$  通道都是典型的 2TM/P 型通道。再例如,配体门控  $K^+$  通道与电压门控  $K^+$  通道是主要的 6TM/P 型通道 [图 1(b)]。电压门控  $K^+$  通道在 2TM/P 之前有 4 条跨膜链(S1 ~ S4),使得通道具有感受并响应膜电位的能力。S4 跨膜链每隔两个残

基就有一个带正电荷的精氨酸或赖氨酸,其他位置则是疏水性残基。通常认为 S4 片段对门控起着重要作用。另外还有 8TM/2P 型与 4TM/2P 型  $K^+$  通道都是典型的  $K^+$  通道,它们的特点是有两个 2TM/P 结构[图 1(c), (d)]。

1998 年首次得到来自于链霉菌的一种  $K^+$  通道的结构(KcsA 的  $K^+$  通道),分辨率达到 0.32nm,使人们看到了从分子水平揭示通道结构的希望。目前,纽约 Rockefeller 大学的 MacKinnon 工作组得到



图2 KcsA 的  $K^+$  通道 (图中只表出两个亚基上的链)

了 KcsA 的  $K^+$  通道-Fab 复合体更为精确的 X 射线晶体结构(图 2),分辨率达 0.2nm,为从原子水平上研究离子通道的运动机制提供结构基础。离子通透过程中离子的选择性主要发生在狭窄的选择性过滤器中(图 3)。X 射线晶体学显示选择性过滤器长 1.2 nm,孔径约为 0.3nm,  $K^+$  脱水后(直径约 0.26nm)

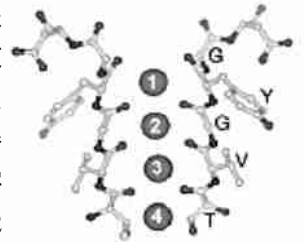


图3 选择性过滤器

恰好可以通过。过滤器中每一个亚基都存在一个保守的 TVGYG 序列,每一个序列氨基酸上的羰基氧原子都指向孔道。每 8 个氧原子以一个近似方形棱镜的形式包围成一个  $K^+$  适宜的结合位点,过滤器中存在 4 个位点,从胞内到胞外分别定义为位点 1 ~ 4。  $K^+$  通道一个独特的结构特征是孔道内有一个部位可以膨胀到 1.0nm,称为中心腔,位于选择性过滤器的胞内侧,细胞膜的中间。中心腔中可以容纳一个  $K^+$ ,其他空间则充满了水。另外,通道胞外侧的出口处存在两个  $K^+$  适宜的结合位点。

最近得到了一种由  $Ca^{2+}$  激活的配体门控  $K^+$  通道(MthK 的  $K^+$  通道)在 0.33nm 分辨率下的三维结构(图 4)。电压门控通道每个亚基上都存在一个整体上跨膜的电压感受器(如上面提到的 S4 跨膜链)。而配体门控通道在膜表面附近的水溶液中通常附加有一个配体结合域,它的功能便是改变孔道的开关

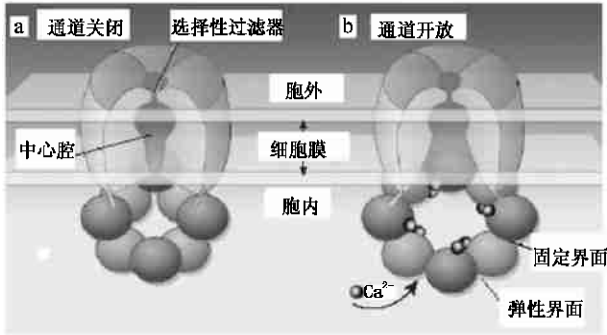


图4 MthK的K<sup>+</sup>通道结构示意图

构象。通过X射线晶体学显示每个亚基包含两个跨膜片段,通道的4个亚基下面存在4个RCK二聚体(通常孔道下面有一个对门控有重要作用的结构域,可能是配体结合的地方,叫做RCK)。这4个RCK二聚体在胞质侧形成一个门控环。它们之间存在两种界面:固定界面和弹性界面。由固定界面连在一起的两个RCK称为一个严格单元。门控环很大,大约有1800个氨基酸,直径可达20nm。

## 二、K<sup>+</sup>离子通道的相关实验及运动机制

驱动带电的溶质跨膜转运的净驱动力来自于两种力的合力。一是溶质的浓度梯度,另一种是跨膜电位差,这种净驱动力构成溶质跨膜的电化学梯度,决定溶质跨膜的被动运输方向。MacKinnon利用X射线晶体学和电子密度图,对不同浓度下KcsA的K<sup>+</sup>通道对K<sup>+</sup>和Rb<sup>+</sup>的通透进行了对比研究。他们认为过滤器中的4个位点不能同时被K<sup>+</sup>占据,这4个位点被脱水的K<sup>+</sup>与单个水分子交替占据。从而形成两个构型(图5):K<sup>+</sup>-水-K<sup>+</sup>-水(1,3构型)和水-K<sup>+</sup>-水-K<sup>+</sup>(2,4构型)。在过滤器中,这两个构型交替存在,对于K<sup>+</sup>来说,研究发现两构型之间转换时,能量障碍很低,即将进入通道的离子很容易施加一个斥力将通道另一端的K<sup>+</sup>推出。K<sup>+</sup>在K<sup>+</sup>通道中扩散速度之快,正是由于两个构型之间的自由能几乎相等。对于Rb<sup>+</sup>两个构型之间存在能量差,因此Rb<sup>+</sup>在K<sup>+</sup>通道中扩散速度很小。

选择性过滤器在大约10ns内催化K<sup>+</sup>的脱水、转导、再水合,这一过程在生物体中对电信号的产生是至关重要的。实验发现,在中心腔中,8个离散的水分子有序地与一个K<sup>+</sup>完全水合,而其他空间容纳了大量无序的水分子。在选择性过滤器中,K<sup>+</sup>脱水分子与孔道内羰基氧原子相结合。在胞外侧存在的2个K<sup>+</sup>结合位点,一个K<sup>+</sup>分别半水合与完全水合地交替存在于两个位点之间。K<sup>+</sup>脱水后才能

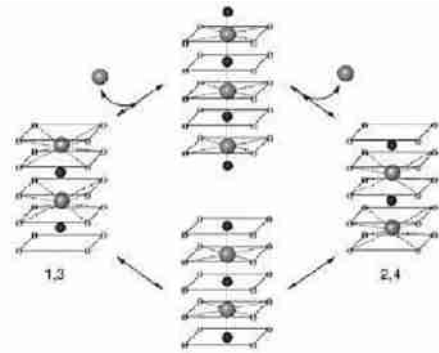


图5 1,3构型与2,4构型之间的转换

进入孔道,K<sup>+</sup>与水上氧原子的结合在孔道内转变为与羰基氧原子的结合。因此脱水损失的能量,在孔道内有K<sup>+</sup>(半径0.13nm)与蛋白质上羰基氧原子结合能补偿。只有当离子与氧原子处于合适的距离时,这种补偿才有可能。对于Na<sup>+</sup>(半径0.09nm)或其他离子,在K<sup>+</sup>通道内能量不能完全补偿,所以脱水损失的能量阻碍了离子的进入。这就是离子通道具有离子选择性的原因。

MacKinnon工作组对不同浓度下KcsA的K<sup>+</sup>通道进行研究发现,选择性过滤器存在两种不同的结构。在低K<sup>+</sup>浓度(3mM)时,位点2,3没有发现K<sup>+</sup>,并且Val76与Gly77残基为适应新的结构发生较大的变化,羰基氧原子不再指向孔道。Gly77的-碳链向内扭曲,阻塞了孔道。无疑,低K<sup>+</sup>浓度下的结构代表了过滤器的一种非转导状态。而在高K<sup>+</sup>浓度(200mM)下的结构处于转导状态。K<sup>+</sup>通道的激活门位于选择性过滤器与胞质之间。这就意味着当激活门打开时,过滤器面向胞内高K<sup>+</sup>浓度,处于高浓度结构。当激活门关闭时,过滤器面向胞外低K<sup>+</sup>浓度,处于低浓度结构。但并不是说过滤器便是激活门。选择性过滤器在胞外侧负责选择和转导离子,而激活门在胞内侧负责开关孔道。过滤器与激活门的功能很可能是相互耦合的。

通道的门控问题研究最为详细的是电压门控通道,对于这一家族,通道在膜的去极化时打开,通道的打开与S4跨膜链变化密切耦合,大量证据都证明S4跨膜链是电压感受器。但S4的变化是怎样传到通透途径,这一问题仍未完全解决。将电压门控K<sup>+</sup>通道的2TM/P部分用KcsA的等同部分代替,发现杂交通道对电压仍具有敏感性,但杂交通道必须包括电压门控通道S5、S6跨膜链胞质侧的片段。由此说明了细胞膜与胞质侧结合处的构象变化对于电压感受与门控的耦合是很重要的。

### 三、离子通道的理论研究

电压钳技术的发明使人们能够精确地测量离子通道的 I-V 曲线,但由于缺少离子通道结构方面的信息,在理论研究方面多数用势垒模型来解释测试结果。这一模型将渗透过程看做离子跨越通道内一系列势垒的跳跃,其参数以适合生理学测得的实验数据来确定,而不是直接从通道的结构信息得出,这对于研究通道的结构功能关系是不合适的。将结构信息包括在内的最简单的方法是电扩散的连续体理论—Poisson-Nernst-Planck 方程(又称 PNP 理论)。但这一理论把通道看做平均场,这对于半径小于两个德拜长度(生理条件下大约是 1.6nm)的通道是不适用的。

近几年对于离子通道结构功能关系的理解有了很大的进步。这一突破性的进展主要来源于两个方面的原因:一是离子通道高分辨率三维结构的确定,尤其是 KcsA 的  $K^+$  通道晶体结构的测定,不仅使人们可以观测到过滤器内外的  $K^+$  结合位点,而且可以观测到与  $K^+$  相结合的水分子。二是计算机模拟技术的快速发展,允许对生物系统进行大尺度的模拟。理论研究方法主要集中在用分子动力学(MD)与随机动力学(BD)进行模拟。离子通道的许多宏观可观测量都可用分子动力学与随机动力学来描述。离子的通透性与选择性等运动机制开始由直观地解释被严格的物理定律来定量地描述。

分子动力学运用牛顿运动方程考虑  $N$  个离子在多体势作用下的轨迹,即:

$$m_i d^2 r_i / dt^2 = - \nabla_i U(r_1, \dots, r_N) \\ i = 1, \dots, N$$

$m_i, r_i$  分别指第  $i$  个粒子的质量与位置,  $U(r_1, \dots, r_N)$  是势函数。通过模拟过程中多粒子轨道的统计分析就可以确定一个系统的结构与动力学性质。势函数是分子动力学模拟最关键的输入参数,分子动力学模拟成功与否在于势函数的选择。1980 年以后的大量工作在于寻找与生物大分子适应的势函数,发展了 AMBER、CHARMM、GROMOS 等较为流行的模拟包。在这些程序中,原子间的非价键相互作用一般只包括两体库仑势和 12-6 Lennard-Jones (LJ) 势,而没有考虑极化的作用,这对于脂-蛋白系统的模拟是很成功的。但运用于离子通道可能会存在一些问题,到目前为止还没有运用包含极化的势对真实的通道进行模拟。目前的分子动力学存在的另一个问题是,水的转动是很快的,为了维持精度,

在对牛顿方程进行数值积分时,必须采用约为 1fs 的时间步长,对于离子通道,要计算整个通道必须考虑几千个原子和每一个原子通透的时间范围,目前的计算机速度是难以做到的。但分子动力学在理解通道的选择性上具有独特的优势,而且可以为布朗动力学的模拟提供扩散系数、介电常数等基本参数。

水分子在生物系统中是无处不在的,对它的显式模型(MD)要求的计算机速度目前不能满足。如果将水分子做隐式处理,时间尺度的提高足以有能力计算离子通道的电导率。布朗随机动力学可以提供这样的隐式处理。布朗动力学用朗之万方程描述电解液中  $N$  个离子的轨迹。

$$m_i dv_i / dt = - \gamma_i v_i + R_i + F_i \\ i = 1, \dots, N$$

其中,  $m_i, v_i$  和  $\gamma_i$  分别指第  $i$  个离子的质量、速度和摩擦系数。等式右方的 3 项分别代表摩擦力、随机力和系统力。前两项是离子与周围水分子的连续碰撞引起的,它们通过涨落扩散理论相联系,不是相互独立的。系统力主要起源于电场对离子的作用,可由解泊松方程得出。更为精确的布朗动力学模拟还要在右方加上短程斥力和水合力。朗之万方程比牛顿方程更为复杂,其数值积分也更为繁琐。但其边界条件与势函数比分子动力学简单。到目前为止,尽管布朗动力学一些观点是不够具体的,如将水和蛋白质看成了连续的电解质,没有考虑离子与组成通道的蛋白的运动关系,这些需要求助于分子动力学,但用布朗动力学模拟离子通道的电导率基本上没有出现矛盾。用布朗动力学成功地解释了  $K^+$  通道与  $Ca^{2+}$  的一些生理学特性,说明这一方法对于研究生物离子通道的结构功能关系是合适的。而且这一方法不需要更为详尽的通道三级结构,只需要通道的总体结构和通道上电荷集团的大体位置就够了。

KcsA 的  $K^+$  通道与其他所有已知的  $K^+$  通道具有类似的序列,所有的通道都具有 TVGYG 序列。对它的研究有助于理解大量重要的生物通道。离子通道的能量与动力学因素是试验难以获得的,一个静态的空间结构对于理解它的功能与通透过程中的构象变化是远远不够的。我们有必要用 MD、BD 等甚至更为精确的理论模拟方法研究原子水平上的功能结构。我们认为,各种方法对通道模拟的关键就在于确定更为精确的势场,理论上可以用 Gaussian 98

## Z 加速器上产生了聚变中子

周 书 华

(中国原子能科学研究院 北京 102413)

美国圣地亚国家实验室的 Z 加速器上生成的热密等离子体产生了热核中子。圣地亚的研究者今年 4 月在费城召开的美国物理学会年会的新闻发布会上宣布了这一消息。

Z 加速器是世界上功率最大、效率最高的实验室 X 射线源,于 1996 年 9 月开始运行。这台加速器包括 36 台同时驱动的脉冲功率装置。脉冲持续期小于一亿分之一秒。在这样短的瞬间,Z 加速器可以产生 X 射线的功率为 290 万亿瓦,能量达到 190 万焦耳。这台加速器主要用于国防上的武器研究以及聚变能的研究。

聚变能是宇宙中最普遍的能源。太阳能及氢弹释放的能量都源自原子核的聚变反应。驾驭聚变能,使之能为人类提供清洁的、几乎是取之不尽的能源,是科学家们半个多世纪来一直向往与奋斗的目标。但是在实验室条件下实现受控的聚变反应是极困难的,这需要产生极高温的等离子体,并将它约束足够长的时间,以引出能量。

过去,常研究的方法是利用托卡马克装置的强磁场对等离子体进行磁约束,或利用强激光束进行惯性约束。圣地亚小组则采用了 Z 压缩的方法。他们用强电脉冲迅速加热一簇只有头发的十分之一粗细的钨丝,使之成为等离子体状态,并在电脉冲产生的强磁场的作用下发生内爆,向径向压缩(即 Z

pinch),使等离子体的温度和密度大大增高,产生高强度的 X 射线,轰击放在轴心的装有氙气的靶室。X 射线能量所产生的冲击波对氙气加热并压缩,导致氙核发生聚变反应。该研究小组估计实验中产生了 100 亿个聚变中子,相当于 4 毫焦耳的能量输出。

中子脉冲早在去年夏季就观测到了。但当时研究人员怀疑中子是氙靶与 Z 压缩过程中生成的离子之间的作用产生的,而不是氙靶内的氙核与氙核聚变产生的。离子产生的中子不会通过提高 Z 加速器功率而获得高的产额,因而不是实验所要研究的。今年 3 月下旬该研究组的成员进行了一系列检验实验。他们将氙气注入到氙靶中,以阻止氙靶在受到压缩时变热。他们发现,这样一来,如所预计的那样,中子产额急速下降。此外,理论估计中子产额也在 100 亿的数量级,并依赖于等离子体的密度、温度和体积,这也为 X 射线谱学的测量所证实。

放在装置中心的产生聚变中子的靶只有橡皮头大小,而驱动聚变反应的 Z 加速器是直径 33 米、高 6 米的大型设备。人们期望未来更大的 Z 加速器将提高聚变产额,使所产生的能量超过反应能够持续进行所需的能量,多余的能量可用于发电,实现人类驾驭聚变能的理想。

(周书华 编译自 4 月 9 日 Physics Web, 9 April 2003)

等一些量子化学的软件计算通道内的势场及电荷分布,从而将结果应用于布朗动力学。

目前,还没有一种计算机模拟理论能够描述离子通道所有的功能性质。例如连续体理论与随机动力学不能区分等价键的不同离子。因此,理解  $K^+$  通道对  $K^+$  的选择性通透,而对  $Na^+$  几乎不通透,只能用分子动力学模拟。另一方面,在计算通道的转导率时,由于分子动力学计算速度问题,其他模拟方法更具优势。

从概念的确立,到宏观的生理学尤其是电生理学和随后的生物物理学研究,直到目前原子水平上的研究,使我们对离子通道的认识水平不断提高。分子

生物学和基因重组技术为离子通道的研究带来了无限生机。近年来刚刚兴起的蛋白质设计,可以设计自然不存在的全新通道蛋白,为理解结构复杂、功能多样的离子通道,提供了有效途径。电生理学、X 射线晶体学的发展为通道结构的研究提供了直观信息。计算机的发展为实验和理论的研究提供了强大的工具。对这一问题分子水平上的研究,将有助于理解脑和神经系统等信号网络的活动机制,有助于提高对于脑的高级功能,诸如感知、运动控制、学习记忆、情绪、语言、意识等的认识。新的通道不断被发现,对离子通道的认识将不断深入与完善,这一领域的研究已成为当前生命科学的一个重要生长点。