

蝎毒素 BmkTXK β 对家兔心房肌细胞 瞬间外向钾电流的抑制作用*

胡 丹^{1)**} 黄从新¹⁾ 江 洪¹⁾ 李庚山¹⁾ 曹志贱²⁾ 李文鑫²⁾ 王世敏³⁾

(¹⁾ 武汉大学人民医院内科, 武汉 430060; ²⁾ 武汉大学生命科学院, 武汉 430072;

³⁾ University at Buffalo, State University of New York, USA)

摘要 为研究蝎毒素 BmkTXK β 对家兔心房肌细胞瞬间外向钾电流 (I_{to}) 的影响, 采用全细胞膜片钳技术记录应用 BmkTXK β 前后的 I_{to} 电流. 结果显示 BmkTXK β (1 μ mol/L) 使心房肌细胞 I_{to} (刺激电压为 +50 mV) 从 (13.63 $\pm$ 0.87) pA/pF 减少到 (7.98 $\pm$ 0.78) pA/pF, 抑制率为 41.4% ($n = 16$, $P < 0.001$). 冲洗后, I_{to} 部分恢复至 (11.18 $\pm$ 0.82) pA/pF ($n = 6$, $P < 0.01$, 与给药后比较). 在 0.01~100 μ mol/L 范围内 BmkTXK β 呈浓度依赖性地抑制 I_{to} , IC_{50} 的均值为 0.95 μ mol/L ($n = 10$, $P < 0.01$), 但无频率依赖性 ($n = 6$, $P > 0.05$). 1 μ mol/L 的 BmkTXK β 可使 I_{to} 通道的失活动力学曲线明显左移, $V_{1/2}$ 分别为 (-23.6 $\pm$ 2.7) mV 和 (-35.3 $\pm$ 3.6) mV ($n = 8$, $P < 0.05$), 曲线斜率基本不变. 同时可使 I_{to} 通道的恢复过程明显减慢, 恢复曲线右移, τ 值从 (51.2 $\pm$ 8.5) ms 延长至 (93.5 $\pm$ 13.4) ms ($n = 9$, $P < 0.01$), 但不影响其激活过程. 据此推断 BmkTXK β 对家兔心房肌细胞 I_{to} 具有显著的抑制作用, 主要作用于失活过程, 延长该通道的恢复时间.

关键词 蝎毒素, 瞬间外向钾电流, 全细胞膜片钳, 心房, 兔

学科分类号 R331.3

近年来细胞电生理实验已证实, 在哺乳动物心肌细胞上存在明显的瞬时外向钾电流 (transient outward potassium current, I_{to}), 它是心肌复极早期的重要钾电流之一, 对动作电位 (action potential, AP) 的形态和时程有较大影响^[1]. 目前, 很多研究表明, 动植物的有效成分如青蒿素^[2]、小檗碱^[3]、甲基莲心碱等, 因具有阻滞 I_{to} 等钾通道的特性而产生抗心律失常作用, 且毒性很低. Sachs 等^[4]发现从智利狼蛛中提取出一种名为肽 GsMtx-4 的活性成分, 它能特异地抑制家兔心房颤动 (atrial fibrillation, AF) 的发生率和 AF 的时程. 近年来发现和研究此类物质抗心律失常作用的电生理机制, 筛选和研制出高效、低毒的新药, 已成为药物治疗的一个新方向. 其中, 蝎毒因具有复杂的成分及性质而产生多种生理和药理活性. 蝎毒素多肽不但可作为十分有价值的探针被广泛应用于与靶离子通道相关的分子基础研究^[5], 还为构建系列肽类药物提供了理想的分子模板^[6]. 已有证据显示蝎毒能有效地作用于心血管系统, 并具有抗心律失常的特点^[7]. 蝎毒的种类很多, 我国主要盛产东亚钳蝎 (*Buthus martensii* Karsch). BmkTXK β 就是新近从其毒腺组织 cDNA 文库中提取到的一种新的长链 (含 61 个氨基酸残基) 钾通道毒素样肽^[8], 然而其对心脏的电生理特性的具

体作用还未被系统地阐明. 本实验采用全细胞膜片钳技术研究了 BmkTXK β 对家兔心房肌细胞 I_{to} 的作用, 为详细了解这类分子作用于心肌相应钾通道的机制提供理论依据, 为设计和开发有关的新型药物提供线索.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品和试剂: 东亚钳蝎毒素 BmkTXK β 由武汉大学生命科学院提供. 河豚毒素 (TTX) 购自河北省水产研究所. E-4031 为纽约州立大学王世敏教授惠赠 (Calbiochem, USA). 胶原酶 II、蛋白酶 XXV、牛血清白蛋白 (BSA)、HEPES、EGTA、MgATP、CdCl₂、BaCl₂ 均为 Sigma 公司产品. 其余为国产分析纯, 溶液由去离子水配制.

1.1.2 溶液: 标准台氏液成分为 NaCl 135 mmol/L, KCl 5.4 mmol/L, MgCl₂ 1.0 mmol/L, CaCl₂ 1.8 mmol/L, NaH₂PO₄ 0.33 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, pH 值用 NaOH

* 湖北省自然科学基金资助项目 (SJ-971073).

** 通讯联系人.

Tel: 027-88859566, Fax: 86-27-88042292

E-mail: hudan0716@hotmail.com

收稿日期: 2002-10-29, 接受日期: 2002-11-28

调至 7.4. 无钙台氏液为台氏液中不加 CaCl_2 . 记录钾电流的电极内液成分为 KCl 45 mmol/L, 天门冬氨酸钾 85 mmol/L, 丙酮酸钠 5.0 mmol/L, MgATP 5.0 mmol/L, EGTA 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, 葡萄糖 11 mmol/L, 以 KOH 调节 pH 值至 7.3. 记录钾电流的细胞外液成分为无钙台氏液加入 100 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2 阻断 L 型钙电流 ($I_{\text{Ca,L}}$) 和钙激活的氯电流 ($I_{\text{Cl,Ca}}$, 即 I_{to2}), 100 $\mu\text{mol/L}$ BaCl_2 阻断内向整流性钾电流 (I_{K1}), 50 $\mu\text{mol/L}$ TTX 阻断钠电流 (I_{Na}) 及 100 $\mu\text{mol/L}$ E-4031 阻断快速激活的延迟整流性钾电流 (I_{Kr}).

1.2 方法

1.2.1 心房肌细胞的分离: 采用酶解法制备心房肌单细胞. 取健康新西兰大耳白家兔 (购自武汉大学医学院实验动物中心), 体重 2.0~2.5 kg. 耳缘静脉注射肝素钠 400 U/kg 后开胸, 迅速切取心脏, 置于 100% 氧饱和的 0℃ 生理盐水中, 剪去心包, 心脏经修饰后连接在 Langendorff 心脏灌流装置上, 在 37℃ 恒温 and 持续通氧条件下, 经主动脉根部逆行用无钙台氏液灌流 5 min, 再用含 Ca^{2+} (100 $\mu\text{mol/L}$)、胶原酶 II (0.33 g/L), 蛋白酶 XXV (0.25 g/L) 的低钙台氏液灌流 10 min, 至心脏膨大、松弛后从灌流装置上取下. 去除心室肌, 加数滴含酶台氏液后, 将心房肌剪碎成 1 mm³ 组织块, 37℃ 下温孵 5~10 min 后, 弃去上清液, 加入含酶及含有去脂肪小牛血清蛋白 (BSA, 0.4 g/L) 的低钙台氏液 5~10 ml. 温孵、磁力棒搅拌、复钙至 0.8 mmol/L, 在细胞数量与质量达到最佳时收集, 以含 BSA 的低钙台氏液保存细胞, 即得所需的单个心房肌细胞, 室温保存备用.

1.2.2 膜片钳全细胞记录: 按 Hamill 等^[9] 的方法进行膜片钳全细胞记录. 玻璃毛坏分两步拉制成尖端为 1~1.5 μm 的微电极, 充灌电极内液, 入水后阻抗 2~5 M Ω . 吸数滴心房肌细胞悬液加于 1.5 ml 灌流槽中, 置于倒置生物显微镜 (IMT-2 型, Olympus) 载物台上. 细胞静置后沉底贴壁 8~10 min, 通过 BPS-4 灌流装置给予 100% O_2 饱和的细胞外液灌流, 冲去细胞残片, 流速 1.5 ml/min, 温度 (22±2)℃. 选取表面光洁、横纹清晰、边缘整齐、无气泡、无收缩的心房肌细胞试验. 用负压使电极尖端与细胞膜表面形成 1 G Ω 以上的高阻抗封接, 补偿快电容并吸破细胞膜形成全细胞记录模式, 调节慢电容补偿和串联电阻补偿以减少瞬时充放电电流和钳位误差. 脉冲信号由

Pluse+ Plusefit8.31 膜片钳软件系统 (德国 Heka 公司) 进行控制, 经 AD/DA 转换器 (Digidata 1200, 美国 Axon 公司) 及 EPC-9 膜片钳放大器 (德国 Heka 公司) 放大后, 通过 Ag-AgCl 电极丝和充填电极内液的玻璃微电极导入细胞, 产生的电流信号经 A/D 转换后, 以数字信号的方式存储于计算机的硬盘中.

1.2.3 统计学处理: 离子流的大小以钳制电压下电流与细胞膜电容的比值 (pA/pF) 表示. 按以下公式计算膜电容, $C_m = \tau_c I_o / \Delta V_m (1 - I_{oc} / I_o)$ ^[10]. 其中, C_m : 膜电容, τ_c : 膜电容时间常数, I_o : 最大膜电容电流值, ΔV_m : 阶跃电压值, I_{oc} : 稳态膜电容电流值. 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间用方差分析. 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

2.1 BmkTXK β 对家兔心房肌细胞 I_{to} 的 $I-V$ 曲线的影响

除在细胞外液中加各种离子通道阻断剂外, 为尽可能减少 TTX 不敏感性内向电流对所记录 I_{to} 的影响, 采用预脉冲 (prepulse) 刺激的方法^[9]. 即阶跃脉冲前给一持续 25 ms 从保持电位 (holding potential, HP) -80 mV 至 -40 mV 的预刺激, 然后再给予去极化脉冲刺激, 以跃阶 10 mV, 去极化至 +50 mV、钳制时间 300 ms, 刺激频率 0.2 Hz, 记录 I_{to} . I_{to} 的幅值取峰电流值与除极脉冲结束时

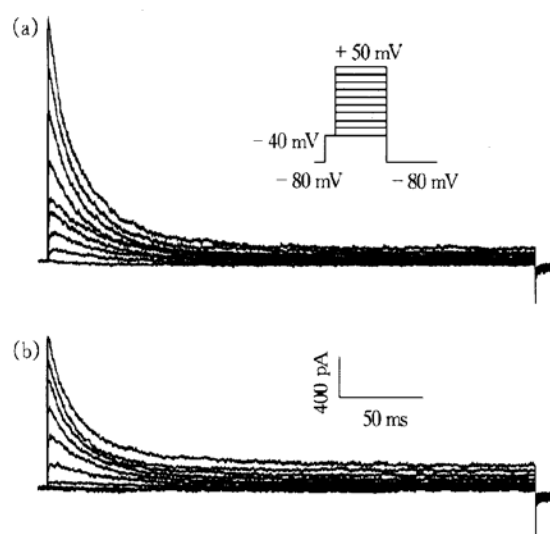


Fig 1 Representative experiment showing BmkTXK β block of I_{to} . I_{to} was activated with voltage protocols shown in inset. (a) control; (b) BmkTXK β 1 $\mu\text{mol/L}$.

电流值之差. 心房肌细胞的 I_{to} 自 -30 mV 开始激活, 随膜电位去极化程度增加而增加. 在细胞外液加入 $1 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β , 作用 5 min 后, I_{to} 明显减小 (图 1). 指令电位为 $+50$ mV 时, 心房肌细胞 I_{to} 从 $(13.63 \pm 0.87) \text{ pA/pF}$ 减少到 $(7.98 \pm 0.78) \text{ pA/pF}$, 二者之间有显著性差异 ($n = 16$, $P < 0.001$). 冲洗 15 min 后, I_{to} 部分恢复至 $(11.18 \pm 0.82) \text{ pA/pF}$ ($n = 6$, $P < 0.01$, 与给药后比较), 接近给药前的峰值, 表明该药在兔心房肌细胞对 I_{to} 的抑制作用是可逆的. 以各脉冲下电流密度幅值对相应膜电位作图得 $I-V$ 曲线. $1 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β 使各膜电位水平 I_{to} 减小, $I-V$ 曲线下移 (图 2).

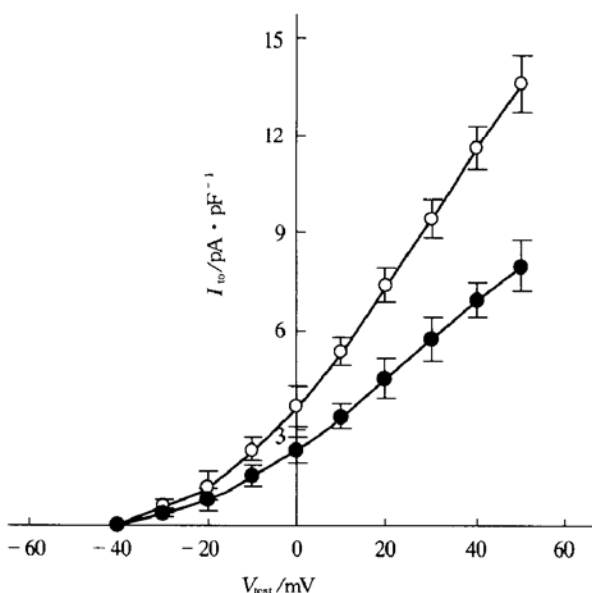


Fig. 2 $I-V$ relationship of I_{to} before and after the exposure to BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$)

$n = 16$, $\bar{x} \pm s$. $\circ - \circ$: control; $\bullet - \bullet$: BmkTXK β .

2.2 BmkTXK β 对 I_{to} 浓度依赖性的影响

采用细胞外液中累积给药法观察各浓度的 BmkTXK β 作用, 每个细胞平均给予 3 个浓度. 药物约于 3 min 内作用稳定, 给药约 5 min 后观察指标的变化, 然后给另一个药物浓度. 结果表明 BmkTXK β 对 I_{to} 的抑制作用表现为浓度依赖性, 0.01 、 0.1 、 1 、 10 及 $100 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β 的抑制率分别为 $(2 \pm 1)\%$ 、 $(10.7 \pm 3)\%$ 、 $(41.4 \pm 5)\%$ 、 $(72.7 \pm 2.5)\%$ 和 $(81.8 \pm 6)\%$ ($n = 10$, $P < 0.01$) (图 3). IC_{50} 的平均值为 $0.95 \mu\text{mol/L}$ (95% 的可信限: $0.76 \sim 1.14 \mu\text{mol/L}$).

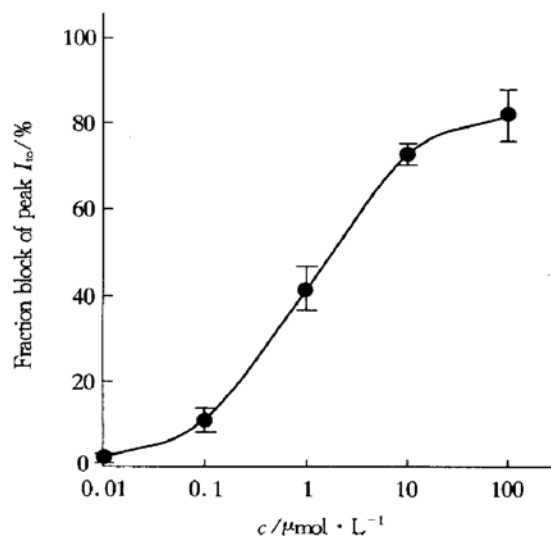


Fig. 3 Concentration-response curve for the inhibitory effects of BmkTXK β on I_{to}

$n = 10$, $\bar{x} \pm s$.

2.3 BmkTXK β 对 I_{to} 作用的频率依赖性

分别应用 0.5 、 1.0 、 2.0 及 3.0 Hz 的刺激程序, 观察 BmkTXK β 对 I_{to} 作用的频率依赖性. 结果显示应用 BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$) 后, I_{to} 的抑制率分别为 41% 、 38.5% 、 38% 和 39% , 各组间无差别 ($n = 6$, $P > 0.05$), 表明 BmkTXK β 对 I_{to} 的抑制呈非频率依赖性 (图 4).

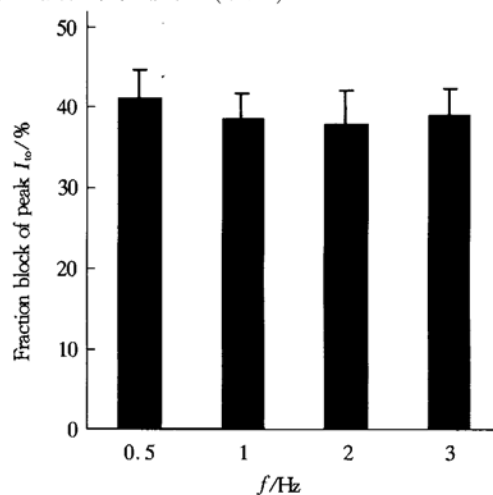


Fig. 4 Percentage block at different frequencies on I_{to} current by BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$)

$n = 6$.

2.4 BmkTXK β 对 I_{to} 激活, 失活和失活后恢复的影响

参照文献 [11], 采用双脉冲模式记录 I_{to} 的稳

态激活. 标准化各电流幅值, 以相对电流对各膜电位作图得稳态激活曲线. 用 Boltzmann 方程 $I/I_{\max} = 1 / \{1 + \exp [(V_{1/2} - V_m) / k]\}$ 拟合, I 代表脉冲电流, V 代表脉冲电压, 求出半激活电压 ($V_{1/2}$) 和激活曲线斜率 (k). 用 $1 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β 前后, 激活曲线接近重叠, $V_{1/2}$ 和 k 基本无变化 ($n = 6$, $P > 0.05$) (图 5).

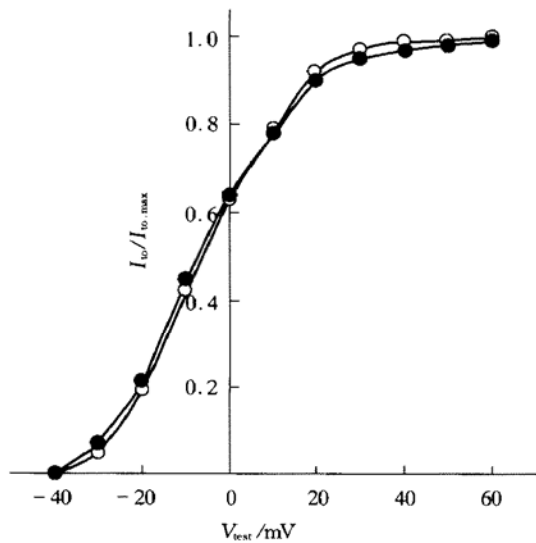


Fig. 5 Effect of BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$) on the steady-state activation of I_{to}

$n = 6$. $\circ$ — $\circ$: control; $\bullet$ — $\bullet$: BmkTXK β .

同样, 采用双脉冲模式记录 I_{to} 的稳态失活^[11]. 标准化各电流幅值, 以相对电流对各膜电位作图得稳态失活曲线. 用 Boltzmann 方程 $I/I_{\max} = 1 / \{1 + \exp [(V_m - V_{1/2}) / k]\}$ 拟合, I 代表脉冲电流, V 代表脉冲电压, 求出半失活电压 ($V_{1/2}$) 和失活曲线斜率 (k). 给予 $1 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β 后, I_{to} 的失活动力学曲线明显左移, 即向超极化方向移动, 说明 BmkTXK β 的抑制表现为电压依赖性. 在用药前后, $V_{1/2}$ 分别为 $(-23.6 \pm 2.7) \text{ mV}$ 和 $(-35.3 \pm 3.6) \text{ mV}$ ($n = 8$, $P < 0.05$), k 分别为 $(5.0 \pm 0.4) \text{ mV}$ 和 $(4.8 \pm 0.3) \text{ mV}$, 基本无变化 ($n = 8$, $P > 0.05$) (图 6).

观察 I_{to} 失活后的恢复, 应用递增间歇的双激活刺激法. 保持电位 -80 mV , 施予 -40 mV , 20 ms 的预刺激, 紧接着给予 $+40 \text{ mV}$, 1000 ms 的脉冲, 分别间隔 $5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 \text{ ms}$ 后再施予第二次 300 ms , $+40 \text{ mV}$ 的方波刺激. 实验数据通过下述公式进行拟合, 可得到恢复曲线的时间常数: $I(\%) = A$

$+ B \exp (-t/\tau)$. 其中: $I(\%)$ 为第二脉冲电流与第一脉冲电流的比值, t 为两脉冲之间间隔的时间, τ 为灭活后再激活的时间常数. 结果显示, 应用 $1 \mu\text{mol/L}$ BmkTXK β 后 I_{to} 通道的恢复过程明显减慢, 恢复曲线右移, τ 值从 $(51.2 \pm 8.5) \text{ ms}$ 延长至 $(93.5 \pm 13.4) \text{ ms}$ ($n = 9$, $P < 0.01$) (图 7).

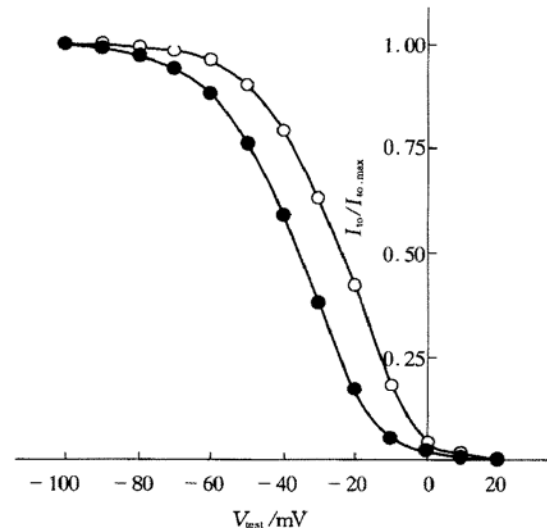


Fig. 6 Effect of BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$) on the steady-state inactivation of I_{to}

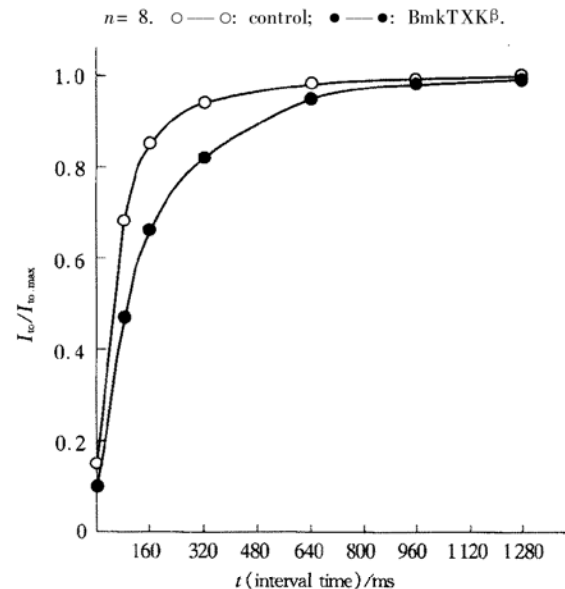


Fig. 7 Effect of BmkTXK β ($1 \mu\text{mol/L}$) on the recovery from inactivation of I_{to}

$n = 9$. $\circ$ — $\circ$: control; $\bullet$ — $\bullet$: BmkTXK β .

3 讨 论

I_{to} 是在 AP 早期或细胞去极化早期出现的外向钾电流, 它呈现电压依赖的快速激活和迅速灭活. 它影响 AP 的早期快速复极, 决定 AP 平台相早期

的电位, 进而影响其他离子通道的活性. 它的改变可对 AP 形态和时限产生较大影响. Elizabeth 等^[12]曾指出定位于 1 种或几种恰当的钾通道亚型进行药物干预, 对于治疗室上性心律失常可能产生较理想的心房选择性, 而 I_{to} 就是这样一个重要靶点^[13]. 这是因为 I_{to} 的分布在心房肌较显著, 心室肌很少^[14], I_{to} 抑制剂可明显延长多种动物心房组织的动作电位时程 (APD) 及有效不应期 (ERP), 而在心室肌中较少发挥作用^[15]. 为此, 本试验特地选用了家兔心房肌细胞作为实验对象. I_{to} 分为二型: I_{to1} (对 4-AP 敏感的、非钙离子依赖性的亚型) 和 I_{to2} (钙激活的氯电流、钙离子依赖性的亚型). 本实验中, 电极外液中加 100 $\mu\text{mol/L}$ CdCl_2 以阻断后者, 电极内液中含 EGTA 以缓冲细胞内钙浓度变化, 这样就保证了所记录的 I_{to} 是非钙离子依赖性的亚型 (I_{to1}).

事实上, 家兔心房肌与人心房和心室的 I_{to} 在生理和药理学特性上极为相似^[16,17]. 分子生物学研究也证实, 家兔和人克隆的 I_{to} 钾通道有 98% 的氨基酸序列同源性^[18]. 因此, 尽管本研究是以家兔心房细胞为标本观察了药物对 I_{to} 的作用, 但有可能应用到人心房细胞.

大多数蝎毒素多肽已被证实通过静电作用而机械地堵塞 K^+ 通道^[19]. 本研究表明在 0.01 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ 范围内 BmkTXK β 可浓度依赖性地抑制 I_{to} 通道, 这与其他类型蝎毒素截然不同. 其阻遏效应是通过降低 I_{to} 通道的半失活电压, 减慢 I_{to} 通道从失活状态恢复速率的方式, 提示 BmkTXK β 可能作用于与 K^+ 通道的失活和恢复动力学有关的不同位点. 在接近生理条件下, BmkTXK β 对心肌细胞 I_{to} 抑制作用的非频率依赖, 有助于在频率变化情况下保持心肌细胞 APD 一致, 从而避免了大多数 III 类抗心率失常药的负性频率依赖性作用. 来自正常兔右心房肌细胞的研究显示心房肌的 I_{to} 恢复过程缓慢, 在较快心率时呈部分失活状态, 此通道的特点以及通道的表达发生改变可能是心房 ERP 远期缩短及其频率适应性减弱、逆转或消失的机制^[20], 而后者则是持续性 AF 等心律失常的特征之一. 此外, I_{to} 也是导致跨心肌壁复极不均一性的主要电流. 因此, BmkTXK β 通过抑制该电流将有效延长心房肌 APD, 减少跨壁复极不均一性和跨壁折返微环路的形成, 从而避免心律失常的发生.

参 考 文 献

- Knollmann B C, Knollmann-Ritschel B E, Weissman N J, *et al.* Remodelling of ionic currents in hypertrophied and failing hearts of transgenic mice overexpressing calsequestrin. *J Physiol*, 2000, **525** (Pt 2): 483~498
- Yang B F, Xu C Q, Luo D L, *et al.* Effects of Artemisinin on transmembrane K^+ currents in mammalian ventricular myocytes. *Asia Pac J Pharm*, 1998, **13** (1): 9~17
- Li B X, Yang B F, Zhou J, *et al.* Inhibitory effects of berberine on I_{K1} , I_K and HERG channels of cardiac myocytes. *Acta Pharm Sin*, 2001, **22** (2): 125~131
- Sachs F, Bode F, Franz M. Tarantula peptide inhibits atrial fibrillation. *Nature*, 2001, **409** (6816): 35~36
- Hélène V, Régine R L, Christiane M, *et al.* A new class of scorpion toxin binding sites related to an A-type K^+ channel: pharmacological characterization and localization in rat brain. *FEBS Lett*, 2001, **501** (1): 31~36
- Stewart L M D, Hirst M, Ferber M L, *et al.* Construction of an improved baculovirus insecticide containing an insect-specific toxin gene. *Nature*, 1991, **352** (6330): 85~88
- Wang R, Moreau P, Deschamps A, *et al.* Cardiovascular effects of *Buthus martensii* (Karsch) scorpion venom. *Toxicon*, 1994, **32** (2): 191~200
- Zhu S Y, Li W X, Zeng X C, *et al.* Molecular cloning and sequencing of two short chain and two long chain K^+ channel blocking peptides from the Chinese scorpion *Buthus martensii* Karsch. *FEBS Lett*, 1999, **457** (3): 509~514
- Hamill O P, Marty A, Neher E, *et al.* Improved patch clamp techniques for high resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch*, 1981, **391** (2): 85~100
- Christe G. Localization of K^+ channels in the tubules of cardiomyocytes as suggested by the parallel decay of membrane capacitance, I_{K1} and I_{KATP} during culture and by delayed I_{K1} response to barium. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, **31** (12): 2207~2213
- 李 洪, 傅丽英, 姚伟星, 等. 苄基四氢巴汀对大鼠心室肌细胞瞬态外向钾电流的影响. *中国药理学与毒理学杂志*, 2001, **15** (5): 358~361
- Li Y, Fu L Y, Yao W X, *et al.* *Chin J Pharmac Toxicol*, 2001, **15** (5): 358~361
- Elizabeth P B, Joseph J L. Differential atrial versus ventricular activities of class III potassium channel blockers. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, **285** (1): 135~142
- Yue L, Feng J L, Wang Z, *et al.* Effects of ambasilide, quinidine, flecainide and verapamil on ultra-rapid delayed rectifier potassium currents in canine atrial myocytes. *Cardiovasc Res*, 2000, **46** (1): 151~161
- Coraboeuf E, Coulombe A, Deroubaix E, *et al.* Transient outward potassium current and repolarization of cardiac cells. *Bull Acad Natl Med*, 1998, **182** (2): 325~333
- Hondeghem L M. Development of class III antiarrhythmic agents. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, **20** (Suppl 2): 17~22
- Escande D, Coulombier A, Faivre J F, *et al.* Two types of transient outward currents in adult human atrial cells. *Am J Physiol*, 1987, **252** (1 Pt 2): H142~148
- Shibata E F, Drury T, Refsum H, *et al.* Contributions of a transient outward current to repolarization in human atrium. *Am J Physiol*, 1989, **257** (6 Pt 2): H1773~1781
- Tamkun M M, Knoth K M, Walbridge J A, *et al.* Molecular cloning and characterization of two voltage-gated K^+ channel

- cDNAs from human ventricle. *FASEB J*, 1991, **5** (3): 331~337
- 19 Gomez-Lagunas F, Olamendi-Portugal T, Possani L D. Block of ShakerB K⁺ channels by P11, a novel class of scorpion toxin. *FEBS Lett*, 1997, **400** (2): 197~200
- 20 Giles W R, van Ginneken A C. A transient outward current in isolated cells from the crista terminalis of rabbit heart. *J Physiol*, 1985, **368** (5): 243~264

Inhibitory Effect of BmkTXK β on Transient Outward Potassium Current in Rabbit Atrial Myocytes*

HU Dan^{1)**}, HUANG Cong-Xin¹⁾, JIANG Hong¹⁾, LI Geng-Shan¹⁾,
CAO Zhi-Jian²⁾, LI Wen-Xin²⁾, WANG Shi-Min³⁾

(¹⁾ Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;

(²⁾ School of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China;

(³⁾ University at Buffalo, State University of New York, USA)

Abstract In order to study the effects of BmkTXK β on transient outward potassium current (I_{to}) of isolated rabbit atrial myocytes, standard whole-cell patch clamp technique was used to record I_{to} before and after administration of extracellular BmkTXK β with multiple concentrations. The results showed that: (1) At a dose of 1 μ mol/L, it decreased I_{to} by 41.4% ($n = 16$, $P < 0.001$) at membrane potential of + 50 mV [from (13.63 ± 0.87) pA/pF to (7.98 ± 0.78) pA/pF]. After washout, I_{to} restored to (11.18 ± 0.82) pA/pF ($n = 6$, $P < 0.01$). (2) It significantly reduced I_{to} in a clearly concentration-dependent manner at the range of 0.01~100 μ mol/L with an IC_{50} value of 0.95 μ mol/L ($n = 10$, $P < 0.01$), but without any change in frequency-dependence ($n = 6$, $P > 0.05$). (3) In the absence and presence of BmkTXK β (1 μ mol/L), the activation curves from relative conductance almost overlapped, whereas steady-state inactivation curve shifted to left from (-23.6 ± 2.7) mV to (-35.3 ± 3.6) mV at $V_{1/2}$ point significantly ($n = 8$, $P < 0.05$). The time for 50% recovery delayed obviously from (51.2 ± 8.5) ms to (93.5 ± 13.4) ms in the absence and presence of 1 μ mol/L BmkTXK β ($n = 9$, $P < 0.01$). The results show that BmkTXK β exerts direct blocking effect on I_{to} in rabbit atrial myocytes, which is mainly caused by a strong suppression effect on inactivation duration and prolongation of the recovery duration from inactivation.

Key words BmkTXK β , transient outward potassium current, patch-clamp, atrium, rabbit

* This work was supported by a grant from The Natural Science Foundation of Hubei Province (SJ971073).

** Corresponding author. Tel: 86-27-88042292, Fax: 86-27-88042292, E-mail: hudan0716@hotmail.com

Received: October 29, 2002 Accepted: November 28, 2002