

参 考 文 献

- Lockridge O. Genetic variants of human serum cholinesterase influence metabolism of the muscle relaxant succinylcholine. *Pharmac Ther*, 1990, **47** (1): 35~ 60
- Mattes C E, Lynch T J, Singh A, *et al*. Therapeutic use of butyrylcholinesterase for cocaine intoxication. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1997, **145** (2): 372~ 380
- Alber R, Sporns O, Weikert T, *et al*. Cholinesterase and peanut agglutinin being related to cell proliferation and axonal growth in embryonic chick limbs. *Anat Embryol Berl*, 1994, **190** (5): 429~ 438
- Arpagaus M, Kott M, Vatsis K P, *et al*. Structure of gene for human butyrylcholinesterase. Evidence for a single copy. *Biochemistry*, 1990, **29** (1): 124~ 131
- Lockridge O, Adkens S, La Da B N. Location of disulfide bonds within the sequence of human serum cholinesterase. *J Biol Chem*, 1987, **262** (27): 12945~ 12952
- 李 松, 焦克芳. 人脑及人血清胆碱酯酶三维结构的计算机模拟研究. *生物化学与生物物理学报* (Li S, Jiao K F. *Acta Biochem Biophys Sin*), 1995, **27** (4): 423~ 429
- Harel M, Sussman J L, Krejci E, *et al*. Conversion of Ache to Bche: modeling and mutagenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (22): 10827~ 10831
- Shafferman A, Velan B, Ordentlich A, *et al*. Substrate inhibition of acetylcholinesterase identification of residues involved in catalytic activity and in polypeptide folding. *EMBO J*, 1992, **11** (10): 3561~ 3568
- Loewenstein-Lichtenstein Y, Glick D, Gluzman N, *et al*. Overlapping drug interaction sites of human butyrylcholinesterase dissected by site-directed mutagenesis. *Molecular Pharmacology*, 1996, **50** (6): 1423~ 1431
- Barak D, Kronman C, Ordentlich A, *et al*. Acetylcholinesterase peripheral anionic site degeneracy conferred by amino acid arrays sharing a common core. *J Biol Chem*, 1994, **269** (9): 6296~ 6305
- Masson P, Froment M T, Bartels C F, *et al*. Asp70 in the peripheral anionic site of human butyrylcholinesterase. *Eur J Biochem*, 1996, **235** (1~ 2): 36~ 48
- Masson P, Lockridge O, Schopfer L M, *et al*. Role of aspartate 70 and tryptophan 82 in binding of succinylthiocholine to human butyrylcholinesterase. *Biochemistry*, 1997, **36** (8): 2266~ 2267
- Masson P, Lockridge O, Bartels C F, *et al*. Importance of aspartate 70 in organophosphate inhibition oxime reactivation and aging of human butyrylcholinesterase. *Biochem J*, 1997, **325** (Pt1): 53~ 61
- Masson P, Lockridge O, Bartels C F, *et al*. Aging of diisopropyl phosphorylated human butyrylcholinesterase. *Biochem J*, 1997, **327** (Pt2): 601~ 607
- Bhanumathy C D, Balasubramanian A S. Evidence for a Zn (2+) -binding site in human serum butyrylcholinesterase. *Biochem J*, 1996, **315** (Pt1): 127~ 131
- Millard C B, Broomfield C A, Lockridge O. Design and expression of organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase. *Biochemistry*, 1995, **34** (49): 15925~ 15933
- Lockridge O, Millard C B, Broomfield C A, *et al*. A single amino acid substitution, Gly117His, confers phosphotriesterase (organophosphorus acid anhydride hydrolase) activity on human butyrylcholinesterase. *Biochemistry*, 1997, **36** (4): 786~ 795
- Millard C B, Lockridge O, Broomfield C A. Organophosphorus acid anhydride hydrolase activity in human butyrylcholinesterase: synergy results in a somanase. *Biochemistry*, 1998, **37** (1): 237~ 247

Progress in Structure of Human Butyrylcholinesterase. WEI Wan-Li, SUN Man-Ji (*Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, The Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

Abstract Human butyrylcholinesterase (BChE, EC, 3.1.1.8) is capable of binding with organophosphate poisons and pesticides. Besides, it is able to catalyse the hydrolysis of many esters, peptides and amides. It is effective in prophylaxis or therapy of the intoxication of these compounds. Its structure study was made important progress by modeling and site-directed mutagenesis. It shed a light on the structure of peripheral anionic site of human BChE, and made the enzyme exhibiting organophosphorus acid anhydride hydrolase activity by amino acid substitution.

Key words butyrylcholinesterase, protein structure, site-directed mutagenesis

真菌诱导的植物几丁酶蛋白

于雪梅 郭顺星¹⁾

(中国医学科学院 药用植物研究所, 北京 100094)
(中国协和医科大学)

摘要 几丁酶, 水解几丁质-真菌细胞壁的主要成分, 该酶广泛存在于微生物和动植物中. 近年来, 植物几丁酶在植物抗真菌侵染过程中的作用和巨大的应用前景, 已引起了人们的广泛关注. 重点综述亲和组合、不亲和组合及内生菌根中真菌对植物几丁酶蛋白的诱导、几丁酶的组织细胞学定位及其抗真菌活性研究.

¹⁾ 通讯联系人. Tel: (010) 62899729; E-mail: shunxing.guo@bj.col.com.cn 收稿日期: 1998-12-16, 修回日期: 1999-05-19

关键词 植物几丁酶, 真菌, 诱导, 定位, 抗真菌活性
学科分类号 Q71

1 几丁酶概述

几丁酶都是小分子蛋白质, 分子质量在 25~40 ku 之间, 最适 pH 在 6 左右, 多为单体分子, 50 °C 仍很稳定. 通过内切作用或外切作用水解几丁质. 等电点有的偏酸, 有的偏碱, 常称为酸性或碱性几丁酶. 植物体内通常含有一种或几种几丁酶. 有些植物既含有酸性几丁酶, 又含有碱性几丁酶. 酸性酶, 体外无抑菌效果, 主要分布在细胞间隙内; 碱性酶, 体外具抑菌活性, 位于液泡内^[1].

植物几丁酶的产生可分为组成型和诱导型. 植物体内没有几丁酶作用底物, 但几丁酶广泛存在于单子叶、双子叶植物中. 有些植物在正常情况下体内就有几丁酶, 但含量较低, 在外源因子的诱导下, 植物体内几丁酶含量迅速升高, 增加几倍到几百倍. 这些外源因子包括: 生物因子, 如真菌, 细菌, 病毒、类病毒等; 非生物因子, 如机械损伤、虫伤、真菌细胞壁及其组成成分、乙烯、水杨酸、紫外光、重金属盐等. 因此, 植物几丁酶除作为植物防御系统的组成部分, 还可参与植物的发育调节^[2].

现已对多种植物的几丁酶的氨基酸序列进行了研究. 根据其三维结构和氨基酸序列的不同, 不同文献将几丁酶分为 2~6 类^[3,4]. 但总的说来植物几丁酶前体都含有一个 N 端信号区和一个主结构区 (催化区), 有的酶在 N 端信号区之后有一个富含半胱氨酸的几丁质结合区, 几丁质结合区通过铰链区与高度保守的催化区连接. 有些酶还含有 N 端延伸区^[5].

2 真菌诱导的植物几丁酶

植物受病原菌侵染会诱导产生多种防卫反应. 根据 Flor 的基因对基因假说: 寄主抗性是寄主抗病基因的直接产物和病原无毒基因的直接产物相互识别, 启动寄主防卫反应的结果. a. 从表观形态看植物在病原菌侵染点的周围形成坏死病斑, 病原被限制在坏死病斑周围的细胞区. b. 产生一些小分子抗真菌物质, 如异黄酮类、植保素 (phytoalexin)、毒性甙元、毒性不饱和脂肪酸和毒性小分子酚类化合物. c. 细胞壁加厚, 被多种沉积的大分子物质加强巩固, 如碳水化合物 (纤维素)、胼胝体 (callose)、富含羟脯氨酸的糖蛋白、

木质素、富含硫的毒性小肽等. d. 释放各种活性氧^[5]. 上述的变化有些只局限于侵染点周围, 最重要的变化是各种病程相关蛋白 (PR 蛋白) 的产生.

植物抵抗病原真菌的侵染其中 PR 蛋白研究得最为广泛. PR 蛋白可在离侵染点较远的部位产生, 甚至在未接种植株和接种植株未侵染部位检测到 PR 蛋白的产生. PR 蛋白在远离侵染点的产生和系统获得抗病性与侵染点的关系人们还未搞清楚. PR 蛋白具有特殊的物化特性, 容易检测和分离: a. 在低 pH 值下仍然保持稳定和可溶状态 (如在 pH 2.8 的提取缓冲液中), 而大多数植物蛋白在这一 pH 值下变性. b. 对内外源蛋白水解酶具相对抗性. c. 一般为单体, 分子质量较低 (8~50 ku). d. 定位于区室中, 如液泡、细胞壁、质体中. 上述 a~c 3 个特点与它们所发生的极端环境相符合. PR 蛋白在细胞内外具有不同等电点同工酶. 最早从烟草中发现 PR 蛋白具有几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶活性. 在第三届蛋白国际会议上最终决定将植物 PR 蛋白分为 5 组 (group), 其中 PR-3 group 为几丁酶, PR-2 group 为 β -1, 3-葡聚糖酶^[6].

寄主与病原的关系可分为亲和 (compatible) 和不亲和组合 (incompatible) 两类, 亲和组合中的寄主感病, 不亲和组合中的寄主抗病^[5].

植物受病原菌侵染后几丁酶活性迅速提高, 且不亲和组合酶活性升高早于亲和组合, 并通常伴随特异几丁酶产生. 几丁酶的产生具组织特异性.

易感与具抗性的向日葵苗接种霍尔斯单轴霉 (*Plasmopara halstedii*) 后几丁酶活性明显升高, 抗性植株中酶活性升高早于易感植株. 几丁酶在胚轴中活性最高, 在根中以同工酶形式存在. 在易感和抗性的健康植株中只分离到碱性几丁酶, 二者在接种真菌后均被诱导产生酸性和中性几丁酶^[7]. 几丁酶 3 存在于未接种真菌的大麦叶片中, 只有真菌侵染后才生成几丁酶 1、2, 且组成型几丁酶 3 在真菌侵染后也开始起作用^[8]. 易感与具抗性的中国甘蓝的根感染芸苔根肿菌 (*Plasmodiophora brassicae*) 后几丁酶活性均高于未感染根中的几丁酶活性, 且感染前期具抗性根中的酶活性为易感根中的 2 倍, 但随后抗性根中几丁酶活性降至对照以下. 茎中几丁酶活性与真菌侵染无关^[9]. 真菌、

真菌激发子脱乙酰几丁质与机械损伤处理豌豆苗比较实验表明, 机械损伤诱导几丁酶 mRNA 的量增加较少, 且持续时间短暂. 在所有的处理中苗基部几丁酶 mRNA 的量最高^[10].

植物的防御反应在内生菌根中也得到了研究. 内生菌根是植物根与内生真菌的共生体, 植物与真菌互惠互利. 菌根真菌也可诱导植物产生 PR 蛋白, 包括几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶. 韭葱菌根 (VA 菌根) 形成早期 (10~20 d) 几丁酶含量增加, 菌根形成后期 (60~90 d) 降至未接种时几丁酶水平以下^[11]. 苜蓿菌根 (VA 菌根) 在形成 13~16 d 时几丁酶活性增高, 菌根形成 19 d 后酶活性降至未接种根酶水平以下^[12]. 天麻是真菌寄生植物, 蜜环菌侵入初生球茎并在其皮层被消化, 营养物供初生球茎生长需要, 蜜环菌不能侵染生长中的次生球茎. 杨增明等^[13] (1990 年) 从初生球茎分离并纯化的几丁酶分子质量为 31.5 ku, 具内切酶与外切酶活性. 初生球茎中酶活为次生球茎的 34 倍, 能抑制木霉菌丝生长, 但抑菌活性较天麻抗真菌蛋白 (GAFP) 低. 几丁酶在天麻初生球茎消化蜜环菌菌丝的过程中起重要作用, 而天麻阻止和限制蜜环菌侵染的抗菌作用主要属于抗真菌蛋白. 内生菌根突变型和野生型豌豆根接种病原真菌或菌根真菌后均可检测到新的组成型和诱导型几丁酶. 而接种菌根真菌后根中还另外产生一酸性几丁酶同工酶, 这一同工酶不被化学物质诱导产生, 确定了其菌根特异性^[14].

由此可见, 几丁酶在植物体内的诱导表达与植物种类、植株抗性、侵染真菌的类型、侵染部位及侵染程度有关.

3 几丁酶的细胞定位

研究几丁酶细胞定位有助于了解植物在防御过程中积累多种水解酶的意义. 常用免疫化学的手段进行几丁酶的细胞定位. 通常类型 (class) I 几丁酶位于液泡内, 其他的则主要位于细胞间隙^[15]. 几丁酶定位与真菌分布密切相关, 通常存在于细胞内外的菌丝周围. 在真菌细胞扭曲的地方常累积几丁酶, 没有累积几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的真菌细胞壁未被损伤. 液泡内几丁酶存在于电子致密的蛋白质聚集体上, 最终散布于细胞质中, 有的还定位于胞质的小泡中. 在胞外空间中, 几丁酶常存在于寄主细胞壁与菌丝紧密靠近的地方, 与胞外基质相结合, 无胞外基质的地方通常没有几丁酶标记.

番茄根分别接种尖镰孢菌 (*Fusarium oxysporum*) 亲和菌株和不亲和菌株, 液泡和胞内未发现有几丁酶. 不亲和组合中真菌被限制在皮层、外皮层中, 几丁酶主要分布于被侵染的组织中, 其量的增加是在 72 h 后; 亲和组合中真菌侵染到维管组织中, 几丁酶的累积是在接种 96 h 后, 并很快遍布于全部组织中^[16]. 番茄叶接种亲和菌株和不亲和菌株的几丁酶定位表明, 几丁酶最先定位于叶肉细胞液泡内电子致密的蛋白质聚集体上, 只有叶肉细胞将菌丝细胞紧密包围起来时才发现菌丝附近几丁酶的积累, 真菌细胞壁上没有几丁酶. 不亲和组合比亲和组合产生蛋白质聚集体的细胞数目多且几丁酶的含量也高些. 另外, 只有在不亲和组合中才在叶肉细胞胞外发现抗体标记的电子致密物, 在不亲和组合中产生的真菌类似物被几丁酶和 β -1, 3-葡聚糖酶的抗体强烈标记, 可能为降解的菌丝尖端^[17].

韭葱菌根中几丁酶存在于皮层组织中, 定位于胞内液泡和胞外间隙. 细胞内外的真菌细胞壁上无免疫标记^[11].

4 几丁酶生物活性检测

4.1 直接抑菌活性

Abeles (1971 年) 指出几丁酶具抗真菌功能. 1986 年 Schlumbaum^[18] 首次证明几丁酶在离体条件下可高度抑制绿色木霉的生长.

研究植物几丁酶离体抗真菌活性有不同的生物测定法: 最初报道采用抑制琼脂板上绿色木霉生长. 后改良在琼脂板上铺放小圆滤纸片, 将酶液滴加滤纸上. 后用微量滴定板观察液体基质中相同几丁酶作用下真菌的生长情况, 发现单独滴加纯化的几丁酶与 β -1, 3-葡聚糖酶只抑制个别真菌的生长, 当二者共同作用时, 多数真菌生长受到抑制, 与蛋白质粗提液抗真菌活性相似. 以后进行了详细的单独水解酶及不同水解酶协同的离体抗真菌实验, 研究发现 class I 几丁酶与 class I β -1, 3-葡聚糖酶共同作用时抑菌活性最强, class II 几丁酶在多种组合中只表现有限的抑菌活性; 同时观察到新生几丁质最易被几丁酶水解, 而成熟细胞壁相对较难被降解. 菌丝降解伴随糖苷酶活性的升高. 表明几丁质在暴露给几丁酶之前其他水解酶等因素已先作用于真菌细胞壁. 几丁质可能包埋在一些多聚体 (如蛋白质、多糖、糖蛋白) 中, 不易被几丁酶直接水解. 将植物几丁酶与离体真菌细胞壁相互作用, 可观察到几丁质寡糖的释放^[16]. 可见几丁酶通过水

解真菌细胞壁中几丁质的糖苷键抑制真菌生长。

几丁酶的细胞定位表明体外几丁酶的抑菌作用可能也发生在活体内。

4.2 间接抑菌活性

几丁酶与 β -1, 3-葡聚糖酶将真菌细胞壁降解为寡糖后, 这些寡糖可被植物细胞获得, 作为信号物质在植物受侵染时诱发积极的防御反应。实际上, 几丁质和脱乙酰几丁寡糖体可诱导一系列代谢反应, 尤其是防卫反应。在植物与病原物相互作用过程中, 几丁酶和脱乙酰几丁酶水解释放寡几丁质和脱乙酰几丁质, 这些水解产物反过来又促进几丁酶与葡聚糖酶的合成, 导致防卫反应扩大^[19]。真菌激发子成分主要为葡聚糖。已证明大豆的内源葡聚糖酶可从真菌细胞壁上释放激发子的活性成分。

总之, 几丁酶与葡聚糖酶具有双重角色: a. 通过水解真菌的结构组分直接抗真菌。b. 释放寡糖作为防卫反应的激发子, 同时扩大防卫反应^[6]。

5 结 语

随着几丁酶与植物防卫反应机制研究的深入, 利用分子生物学手段将带有强启动子的几丁酶基因转入某些植物, 转化植株超量表达几丁酶, 增强其抗病性, 已在油菜、烟草、大豆、棉花、水稻、玉米、番茄、莴苣等多种植物中获得成功。转基因植物不仅可抗真菌还对植物线虫、昆虫和其他一些病原物具有抗性。把几丁酶与 β -1, 3-葡聚糖酶基因或其他水解真菌细胞壁基因同时导入植物, 可获得更大抗性^[1]。但转基因植物表达高水平组成型水解酶的应用价值还需继续探讨, 因为体外实验表明, 几丁酶只能暂时抑制真菌生长, 真菌可适应更高水平的酶蛋白的表达, 因此在基因防卫过程中组成型高水平水解酶的表达可能不是十分有效的方法。一个解决方法是在生长的菌丝附近迅速提高酶表达水平。相信几丁酶产生和作用机理研究与基因工程相结合一定会为植物抗病工程做出贡献。

参 考 文 献

- 1 陈三凤, 李季伦. 几丁质酶研究历史与发展. 微生物学通讯 (Chen S F, Li J L. Microbiology), 1993, **20** (3): 156~160
- 2 高必达. 植物几丁酶的分子生物学研究. 湖南农业大学学报 (Gao B D. J Hunan Agri Univ), 1996, **22** (6): 587~602
- 3 Beintema J J. Structure feature of plant chitinase and chitin-binding proteins. FEBS Lett, 1994, **350** (2~3): 159~163
- 4 Brameld K A, Goddard W A. The role of enzyme distortion in the single displacement mechanism of family 19 chitinase. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95** (8): 4276~4281
- 5 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学. 第2版. 北京: 科学出版社 (Yu S W, Tang Z C. Plant Physiology and Molecular Biology. 2nd. Beijing: Science Press), 1998. 784~808
- 6 Stintzi A, Heitz T, Prasad V, et al. Plant 'pathogenesis related' proteins and their role in defense against pathogens. Biochimie, 1993, **75** (8): 687~706
- 7 Cschinero J M, Cabello F, Jorrin J, et al. Induction of different chitinase and β -1, 3-glucanase isoenzymes in sunflower seedlings in response to infection by *Plasmopara halstedii*. Eur J Plant Pathol, 1996, **102** (4): 401~405
- 8 Rothe G M, Elschllog N, Reiss E. Molecular size and net charge of pathogenesis related enzymes from barley infected with *Drechslera teres*. f. teres Shoem. Electrophoresis, 1998, **19** (5): 745~751
- 9 Ludwig-Muller J, Thermann P, Preper K, et al. Peroxidase and chitinase isoenzyme activities during root infection of Chinese cabbage with *Plasmodiophora brassicae*. Physiologia Plantarum, 1994, **9** (4): 661~670
- 10 Ming-Mei Chang, Horovitz D, Culley D, et al. Molecular cloning characterization of a pea chitinase gene expressed in response to wounding, fungal infection and the elicitor chitosan. Plant Mol Biol, 1995, **28** (1): 105~111
- 11 Spanu P, Boller R, Ludwig A, et al. Chitinase in roots of mycorrhizal *Allium porrum*: regulation and localization. Planta, 1989, **177** (4): 447~455
- 12 Volpin H, Elkind Y, Okon Y, et al. A vesicular arbuscular mycorrhizal fungus induces a defense response in alfalfa roots. Plant Physiol, 1994, **104** (2): 683~689
- 13 杨增明, 胡忠. 天麻球茎几丁质酶和 β -1, 3-葡聚糖的初步研究. 云南植物研究 (Yang Z M, Hu Z. Acta Botanica Yunnanica), 1990, **12** (4): 421~426
- 14 Dassi B, Dumas Gaudot E, Asselin A, et al. Chitinase and glucanase isoforms expressed in pea roots inoculated with arbuscular mycorrhizal or pathogenic fungi. Eur J Plant Pathol, 1996, **102** (1): 105~109
- 15 曾艳, 赵南明, 刘进元. 几丁质与植物防卫反应. 生物工程进展 (Zeng Y, Zhao N M, Liu J Y. Prog Biotech), 1997, **17** (4): 31~34
- 16 Wubben J P, Joosten M H A J, De Wit P J G M. Subcellular localization of chitinase and of its potential in tomato root tissues infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Plant Physiol, 1990, **92** (1): 1018~1120
- 17 Wubben J P, Joosten M H A J, Van J A L K, et al. Subcellular localization of plant chitinases and glucanases in *Cladosporium fulvum* infected tomato leaves. Physiol Mol Plant Pathol, 1992, **41** (1): 23~32
- 18 Schlumbaum A, Mauch F, Vogeli U, et al. Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. Nature, 1986, **324** (6095): 365~367
- 19 王士奎, 王汉潜. 几丁质及脱乙酰几丁质的微生物降解作用. 微生物通报 (Wang S K, Wang H Q. Microbiology), 1994, **21** (3): 180~183

Progress on Plant Chitinase Induced by Fungi. YU Xue-Mei, GUO Shun-Xing (Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College. Beijing 100094, China).

Abstract Chitinase, degrading chitin—a major component of most fungal cell walls exists in microbe, plant and animal. In recent years, much attention has been focused on antifungal function and their

practical prospects, which chitinases play within the plant. A detailed summary of the literature, the induction, subcellular location and antifungal activity of chitinases in compatible combination, incompatible

combination and endomycorrhiza is provided.

Key words plant chitinase, fungi, induction, location, antifungal activity

ATP 敏感钾通道的研究进展

刘杰 姜勇¹⁾ 赵克森

(第一军医大学病理生理学教研室, 广州 510515)

摘要 ATP 敏感钾通道 (K_{ATP}) 是一组将细胞膜电活动与细胞代谢联系在一起的重要通道。该通道是由磺酰脲受体 (SUR) 和内向整流钾通道 ($K_{IR6.x}$) 亚单位组成的异源四聚体 ($SUR/K_{IR6.x}$)₄。SUR 与 $K_{IR6.x}$ 基因在染色体上配对存在。 $K_{IR6.x}$ 亚单位形成通道的电流孔道, SUR 使通道对磺酰脲类药物、钾通道开放剂和 Mg^{2+} -NDPs 等调节因子敏感。不同亚型 K_{ATP} 通道特性由 SUR 与 $K_{IR6.x}$ 亚单位组成决定。 K_{ATP} 通道门控受 $[ATP]_i$ 和 $[ADP]_i$ 调节, 膜磷脂 (PIPs) 抑制通道对 ATP 的敏感性, 细胞磷酸转移系统也参与 ATP/ADP 对通道的调节机制; 磺酰脲类复合物 (SUs) 抑制 K_{ATP} 通道, 钾通道开放剂 (KCOs) 激活 K_{ATP} 通道; G 蛋白以及 PKA、PKC、PKG 等信使物质也参与通道的调节。 K_{ATP} 通道对胰岛素的分泌、心肌缺血预适应以及血管的张力起重要调节作用。

关键词 ATP 敏感钾通道, 磺酰脲受体, 内向整流钾通道, 二磷酸核苷

学科分类号 R329.2⁺5

1 K_{ATP} 通道定义

继 1983 年 Noma^[1] 在心脏首次发现 ATP 敏感 K^+ (K_{ATP}) 通道后, 又先后在许多组织, 包括胰腺 β 细胞、骨骼肌、平滑肌、神经元、内皮以及肾上皮细胞等发现该通道, 它是将细胞电活动与代谢联系在一起的重要通道。早期对 K_{ATP} 通道的定义是根据 K^+ 通道对 ATP 的敏感性, 如果通道活动能被细胞内 ATP 抑制, 就定义为 K_{ATP} 通道^[1,2]。近年的深入研究表明, 这一定义已不足以概括该通道的所有特性, 因此又根据单通道电流特性、核苷调节模式、药理学特性等对通道定义进行了扩充: K_{ATP} 通道是弱的内向整流 K^+ 选择性通道; 通道活动的显著特征是呈簇状开放, 通道被细胞内 ATP 抑制, 被 Mg^{2+} NDP 激活; K_{ATP} 通道还有两个显著的药理学特性, 即被磺酰脲类 (sulfonylureas, SUs) 复合物抑制, 被多种钾通道开放剂 (potassium channel openers, KCOs) 激活^[3]。

2 K_{ATP} 通道结构

K_{ATP} 通道是由完全不同的两类亚单位, 内向整流亚单位 ($K_{IR6.x}$, 包括 $K_{IR6.1}$ 和 $K_{IR6.2}$) 和

磺酰脲受体 (sulfonylurea receptor, SUR) 组成的大异源多聚体。 $K_{IR6.x}$ 属内向整流钾通道超家族成员^[4,5], 含有两个跨膜螺旋, 其侧端有一个含 Gly-Phe-Gly- (或 Gly-Tyr-Gly-) 序列的片段, 该片段为 K^+ 选择性通道所共有。 $K_{IR6.x}$ 第二跨膜螺旋 (M2) 决定通道内向整流的程度, 用天冬氨酸 (D) 替换 $K_{IR6.2}$ M2160 位天冬酰胺 (N), $SUR1/K_{IR6.2}$ 通道由弱内向整流通道变成强内向整流通道, 提示 M2 上的这一残基参与电流通路的形成^[6]; 此外, 平截 $K_{IR6.2}$ 的碳端 ($\Delta C18$, $\Delta C26$, $\Delta C36$) 可以表达一个功能通道, 在 SUR 缺乏时仍形成与野生型通道具有相同电导的钾电流^[7]。上述事实表明 $K_{IR6.x}$ 形成 K_{ATP} 通道的 K^+ 通透孔道。

磺酰脲受体 SUR 亚单位对优降糖具有亲和力。SUR 是 ATP 结合盒 (ATP binding cassette, ABC) 或转运 ATP 酶超家族多相关耐药蛋白 (multidrug resistance associated protein, MRP) 成员, 其胞浆面有多个跨膜区和两个结合核苷的折叠区 (nucleotide binding fold, NBF)。虽然 SURs 的拓

¹⁾ 通讯联系人。

Tel: (020) 85148376; E-mail: yjiang@public.guangzhou.gd.cn

收稿日期: 1998-12-07, 修回日期: 1999-07-21