

BK_{Ca} 通道的结构与功能

马彬云, 汲娟娟

(中国科学院生物物理研究所, 脑与认识科学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: BK_{Ca} 通道将细胞膜电特性与细胞信号系统联系在一起, 在细胞功能实现中起着重要作用。该通道广泛且又较高密度地表达于许多物种的多种组织, 其分子结构复杂, 丰富的超家族成员具有各自不同的表达分布。BK_{Ca} 通道的分子结构由 α 亚单位和 β 亚单位构成, 其中 α 亚单位形成通道的孔道区和活性调节区域, β 亚单位修饰通道活性的调节特性。BK_{Ca} 通道开放几率大、电导率高、调控位点多, 并且不同的超家族成员表现出不同的功能特征, 如细胞膜电位感受性、细胞内游离钙离子敏感性等。文章概述 BK_{Ca} 通道的分子结构和功能特征。

关键词: BK_{Ca} 通道; 表达; 结构; 功能; 调控

中图分类号: Q615

0 引言

大电导 Ca²⁺ 激活的 K⁺ 通道 (large-conductance, Ca²⁺-activated K⁺ channels, BK_{Ca} 通道), 也称为 *Slo* 或 *MaxiK* 通道, 因其分子结构的多样性及其在生物体内的广泛表达, 而参与很多重要的生物学过程, 如神经递质的释放和激素的分泌, 以及神经信息加工^[1]。有报道认为 BK_{Ca} 通道的机能不良与某些个体功能障碍有关^[2,3]。

BK_{Ca} 通道电流最早在 1981 年被观察于牛嗜铬细胞 (chromaffin cells)^[4], 此后关于其结构与功能的研究成果陆续被报道。

BK_{Ca} 通道的 α 亚单位广泛表达于许多物种, 如线虫类 (*Caenorhabditis*, nematodes)、昆虫类 (*Drosophila*, insects) 以及哺乳动物 (mammals)。1991 年 Atkinson 等首次获得并确定了果蝇 (*Drosophila*) *Slowpoke* 基因座上的 BK_{Ca} 通道的 α 亚单位, 由于果蝇 *Slowpoke* 基因的突变消除了肌肉和神经元中 Ca²⁺ 激活的 K⁺ 通道的电流。所以这些通道又被简称为 *dSlo*^[5]。近年发现有两个与 *Slo* 在结构上相关的基因 *Slo2* 和 *Slo3*^[6], 但是在人类基因组中只有位于 10q22.3 染色体上的 *Slo* 编码 BK_{Ca} 通道蛋白^[7]。*Slowpoke* 基因所具有的多转录启动子 (multiple transcriptional promoters)^[8] 以及 *Slowpoke* mRNA 的可变性剪接 (alternative splicing)^[9,10], 使得 BK_{Ca} 通道表现出电生理特征和功能的多样性。目前, 小鼠 (*mSlo*)^[11] 和人 (*hSlo*)^[7] 等物种的 BK_{Ca} 通道基因已获得了克隆, β 亚单位也有四种被克隆, $\beta 1$ 从牛气管平滑肌^[12], $\beta 2$ 从大鼠嗜铬细胞^[13], $\beta 3$ 从人睾丸^[14], $\beta 4$ 从人类大脑^[15]。

BK_{Ca} 通道以其多重调控特性, 参与细胞功能调节, 如神经递质的释放、激素的分泌、心率和血管抗逆性以及平滑肌的紧张等。在多种神经细胞, BK_{Ca} 通道的阻断或遗传剪辑可延长动作电位复极化过程^[1]。目前有关 BK_{Ca} 通道在代谢负荷下的功能研究也受到广泛关注^[16,17]。

本文主要就 BK_{Ca} 通道的分子结构、组织分布、通道调控机制及其相应的生理学研究进展做一综述。

1 BK_{Ca} 通道的表达与分子结构

1.1 BK_{Ca} 通道的分子结构

BK_{Ca} 通道的分子结构由四个 α 亚单位和四个 β 亚单位组成。每个 α 亚单位结合一个 β 亚单位之后再形成 BK_{Ca} 通道的四聚体结构^[5] (图 1)。 α 亚单位约由 1200 个氨基酸残基组成, 质量约为 125 kDa。在 β 亚单位的四个亚型中, $\beta 1$ 由 191 个氨基酸残基组成, 质量约为 22 kDa; $\beta 2$ 由 235 个氨基酸残基组成, 质量约为 27.1 kDa; $\beta 3$ 由 257~279 个氨基酸残基组成, 质量约为 29.1~31.6 kDa; $\beta 4$ 由 210 个氨基酸残基组成, 质量约为 29 kDa。

BK_{Ca} 通道 α 亚单位包含 N (NH₂-) 末端的 7 个跨膜结构域 (S0~S6), 以及位于细胞质内的 C (COOH-) 末端的 4 个疏水性片段 (S7~S10)。其中

收稿日期: 2007-01-04

通讯作者: 汲娟娟, 电话: (010)64888534,

E-mail: jijj@sun5.ibp.ac.cn

S0与 β 亚单位接合^[18] (图 1A,B), S5、S6 结构域与其之间的 P 环 (P-loop) 共同构成 K^+ 选择性过滤器 (selective filter)^[19], S2 和 S3 结构域中的酸性位点与 S4 结构域中的碱性位点共同构成电压感受器 (voltage sensor)^[20,21], 在胞质 C 末端结构上存在 K^+ 电导调节元件 (regulator of conductance for potassium, RCK) 结构域^[22], 该 RCK 结构域还与同在 C 末端的 Ca^{2+} 球 (Ca^{2+} bowl) 共同调节通

道的钙离子依存性^[23]。

BK_{Ca} 通道 β 亚单位由两个跨膜 (transmembrane, TM) 单位组成, 二者由一个大的胞外环状结构 (loop) 相连, β 亚单位的 COOH- 末端和 NH_2 - 末端均位于胞质 (cytoplasm) 中。 β 亚单位的多样性也是构成 BK_{Ca} 通道功能多样性的结构学基础^[18] (图 1A,C)。

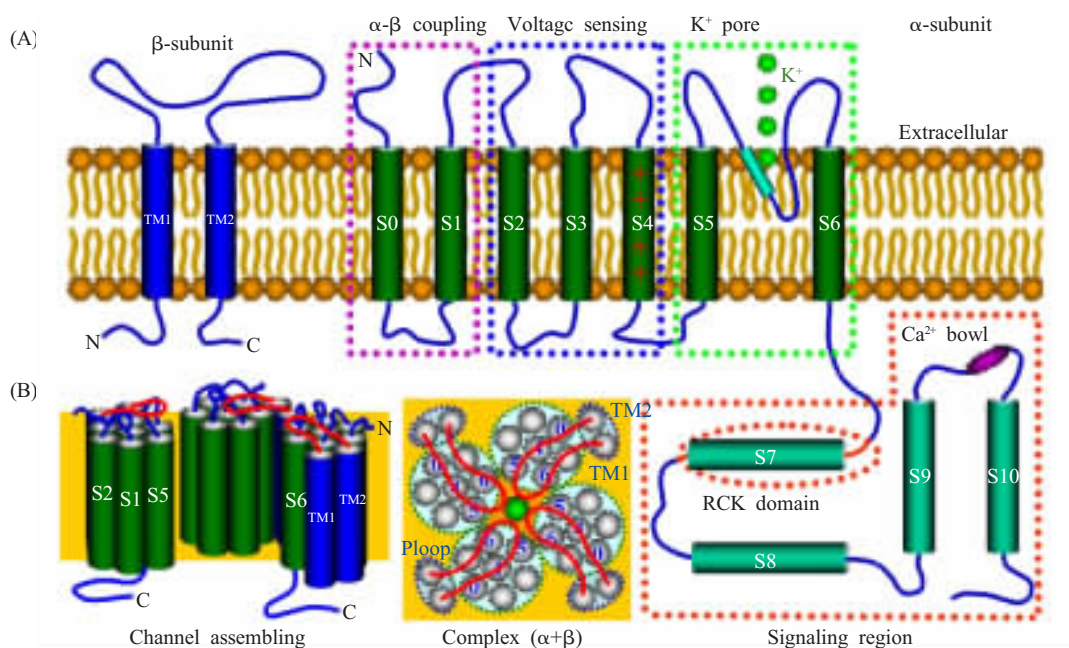


图 1 BK_{Ca} 通道 α 亚单位和 β 亚单位结构和通道复合物的组装示意图. (A) 构成 BK_{Ca} 通道的 α 亚单位和 β 亚单位。 α 亚单位包括电压依赖性 K^+ 通道的共性结构 S1~S6, 独特的 N 末端 S0 跨膜结构, 以及含有四个疏水区 S7~S10 的胞质 C 末端, 其中 S0 和 S1 构成 α/β 亚单位结合区, S2,S3 和 S4 构成电压敏感区, S5, P-loop 和 S6 构成 K^+ 孔道, S7-S10 构成通道的调节区域; 在 β 亚单位中存在两个跨膜区 (TM1 和 TM2) 和一个大的胞外环. (B) BK_{Ca} 通道 α 亚单位和 β 亚单位通过结合区 S0 组装的模式图. (C) α/β 亚单位四聚体俯视图

目前, 关于 BK_{Ca} 通道亚单位的调控位点已经有一些初步的报道^[19,22-25] (表 1)。

表 1 BK_{Ca} 通道重要的功能结构域及其区域定位

功能结构域和位点	亚单位及区域定位
α/β 亚单位结合区	α : S0, S1
孔道环 (P 环)	α : S5, S6
选择性过滤区	α : Pore, S5, S6
电压感受区	α : S2, S3, S4
Ca^{2+} 信号区	α : S7, S8, S9, S10
RCK 结构域	α : S7
Ca^{2+} 球	α : S9-S10
大的胞外环 (loop)	β : TM1-TM2
LZ 结构域	α : C 末端 “尾巴” 区
磷酸化位点: cAMP-PK, PKC, CK2	α, β
糖基化位点	α, β

在 BK_{Ca} 通道上同时还存在着蛋白 - 蛋白相互作用的亮氨酸拉链 (Leucine zipper, LZ) 结构域^[24], cAMP/cGMP 依赖的蛋白激酶 (cAMP- and cGMP-dependent protein kinases, cAMP-PK) 磷酸化 (phosphorylation) 位点, 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 磷酸化位点和酪蛋白激酶 II (casein kinase II, CK2) 磷酸化位点以及糖基化 (glycosylation) 位点等^[25] (表 1)。

1.2 BK_{Ca} 通道的组织分布

原位杂交和蛋白质免疫学检测表明, BK_{Ca} 通道的 α 、 β 亚单位广泛分布于哺乳动物多种组织细胞 (表 2)。如海马、苍白球、纹状体等神经组织细胞^[3,5,26], 心肌细胞、平滑肌细胞等肌细胞^[27], 以及脑垂体细胞、胰 β 细胞、肾细胞等腺细胞^[14,28]。

表 2 BK_{Ca} 通道 α 和 β 亚单位在动物组织中的分布

动物组织	BK _{Ca} 通道亚单位				
	α	$\beta 1$	$\beta 2$	$\beta 3$	$\beta 4$
大脑 (brain)					
垂体 (hypophysis)	+				+
海马 (hippocampal)	+		+		+
耳蜗毛细胞 (cochlear hair cell)	+				+
黑质 (SN)	+				
苍白球 (globus pallidus)	+				
嗅球 (olfactory bulb)	+				+
脚间核 (interpeduncular nucleus)	+				+
前脑束 (forebrain bundle)	+				+
小脑皮质 (cerebellar cortex)	+				+
新大脑皮层 (neocortex)	+				+
松果体缰 (habenula)	+				+
纹状体 (striatum)	+				+
肌肉 (muscle)					
骨骼肌 (skeleton muscle)	+	+			
心肌 (heart muscle)	+	+			+
血管 (vascular) 平滑肌	+	+			
气管 (tracheal) 平滑肌	+	+	+		
腺体 (gland)					
肾上腺 (adrenal)	+		+	+	
胰腺 (pancreas)	+		+	+	
睾丸 (testis)	+		+		
肝脏 (liver)	+				+

另外,在黑质致密带尽管没有获得该 BK_{Ca} 通道表达的化学依据,但是通过膜片钳等电生理技术却在该部位记录到具有该通道特征的通道电流^[16]。事实上脑内还有许多兴奋性核团,应该表达有 BK_{Ca} 通道,对其具体描述还有待于功能研究工作的进一步拓展和分子识别方法的开发。

1.3 BK_{Ca} 通道的分子识别

目前,用于识别 BK_{Ca} 通道分子的手段主要有免疫组织化学^[26,29]、免疫印迹^[29]、原位杂交^[26]等几种技术,其中抗体和抗原是最为关键的因素。

至今已经报道的 BK_{Ca} 通道的特异性抗体主要有两大类:针对 α 抗原决定簇的抗体和针对 β 抗原决定簇的抗体(表 3, 图 2)。针对 α 亚单位的抗原决定簇均位于 C 末端 L_{S8-S9} 之后的区域,针对 β 亚单位的抗原决定簇则主要分布在 N 末端 TM1 之前的区域,它们均位于胞质内(图 1A, 图 2)。

2 BK_{Ca} 通道的功能结构域及调控

2.1 K⁺ 的选择性通透

BK_{Ca} 通道的孔道部分由每个 α 亚单位上的

表 3 BK_{Ca} 通道的抗体与抗原决定簇及其分子特性

抗体 / 抗原决定簇 Anti-BK _{Ca}	抗原来源 GenBank accession	抗体来源	种属反应	应用 *
α (665-1164)	<i>dSlo</i> (Q8MR31)	兔	果蝇	IH, IB
α (674-1115)	<i>bSlo</i> (AY033472)	兔	小鼠	IH, IB, IF
α (690-1196)	<i>mSlo</i> (AAA39746)	小鼠	大鼠,人	IH, IB
α (1098-1196)	<i>mSlo</i> (A48206)	兔	大鼠,小鼠	IH, IB
α (913-926)	<i>mSlo</i> (AAA39746)	兔	大鼠,人	IH, IB, IF
α (1118-1135)	<i>mSlo</i> (AAA39746)	小鼠	大鼠,人	IH, IB
α (1184-1200)	<i>mSlo</i> (Q08460)	兔	大鼠,人	IH, IB
$\beta 1$ (2-17)	<i>rSlo</i> (P97678)	兔	大鼠,人	IH, IB
$\beta 2$ (14-32)	<i>hSlo</i> (Q9Y691)	兔	大鼠	IH, IB
$\beta 4$ (2-17)	<i>rSlo</i> (Q9ESK8)	兔	大鼠	IB, IF

*IH, immunohistochemistry; IB, immunoblotting; IF, immunofluorescence

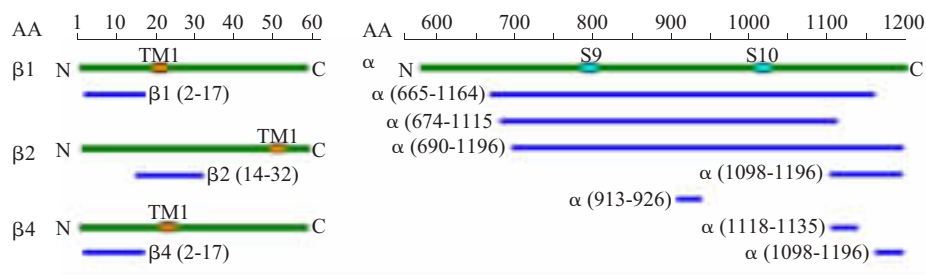


图 2 BK_{Ca} 通道抗体 - 抗原决定簇在通道 β 亚单位和 α 亚单位上的定位。“AA”表示 β 亚单位和 α 亚单位对应的氨基酸 (amino acid, AA) 位点; 绿色线段表示 β 亚单位 (NH₂- 末端) 和 α 亚单位 (COOH- 末端) 氨基酸序列; “TM1”表示 β 亚单位第一跨膜区; “S9”, “S10” 分别表示 α 亚单位第 9 和 10 疏水性拓扑结构; 蓝色线段表示 BK_{Ca} 通道 β 亚单位和 α 亚单位对应位点的抗体 - 抗原决定簇 (参阅表 3)

S5、S6 和 P-loop 共同构成，位于 4 个 α 亚单位的中心（图 1）。决定着离子选择特异性的结构域由六个保守的氨基酸残基（TVGYGD）组成，位于第 5、6 跨膜区之间的孔道区内^[22]（图 1,3），其中 S6 结构域被认为是该 K^+ 选择性孔道的闸门^[19]。根据 MacKinnon 的假说，BK_{Ca} 通道选择性过滤区的氧原

子排列逼真地模拟了 K^+ 水合物中氧原子排列的情形，使得 K^+ 有足够大的几率进入孔道，一旦 K^+ 通过选择性过滤器后，它又重新被水分子包裹。水化后的 K^+ 在降低静电排斥力的同时，亦为 K^+ 的高效率转运提供了基础，使离子传导过程重复地进行^[30-32]。

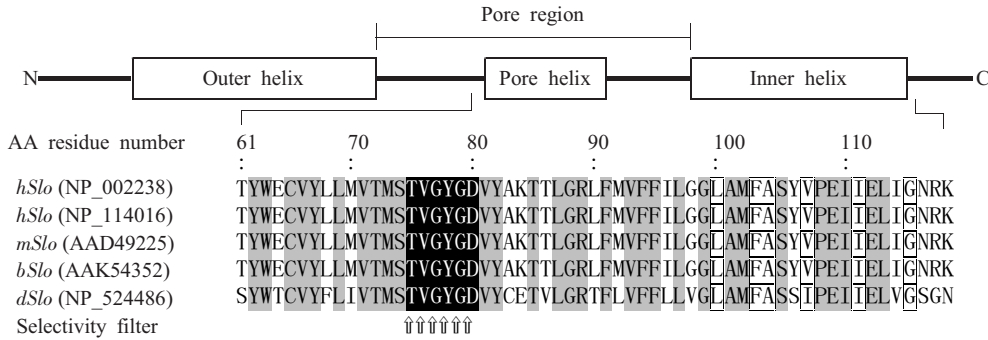


图 3 BK_{Ca} 通道 K^+ 选择性过滤器氨基酸序列比对。 *hSlo*, human (*Homo sapiens slo*); *rSlo*, norway rat (*Rattus norvegicus slo*); *mSlo*, house mouse (*Mus musculus slo*); *bSlo*, cattle (*Bos taurus slo*) 和 *dSlo*, fruit fly (*Drosophila melanogaster slo*)。箭头表示 K^+ 选择性过滤器 (TVGYGD)；方框表示的氨基酸残基构成通道的内衬 (lining)；阴影部分表示保守的氨基酸^[32]

2.2 BK_{Ca} 通道的 Ca²⁺敏感性

BK_{Ca} 通道 α 亚单位 C 末端具有通过细胞内游离 Ca^{2+} 调节通道活性的区域。在该区存在两个可能的结构单元: RCK 结构域和 Ca^{2+} 球，其在果蝇和哺乳动物的克隆之间表现了最高的序列保守性（图 4, 5）。现在认为，该区域作为一个相对独立的结构域参与该通道对胞质 Ca^{2+} 的依存性^[33]。

RCK 结构域位于 C 末端结构中，与多种类型的 K^+ 通道高度同源^[34]（图 1A, 图 4）。RCK 的三维结构已经在两个原核生物中得到确定^[19,22]。 Ca^{2+}

球是细胞内 Ca^{2+} 的敏感区域和高亲和性结合位点，位于 S9-S10 结构中（图 1A, 图 5），其包含一个酸性区域 (DQDDDDDPD)。有报道表明，该酸性区域中 5 个连续的天冬氨酸 (aspartic acid, D) 的突变抑制了 Ca^{2+} 与 Ca^{2+} 球的结合^[35]。

RCK 结构域具有两个附加的二价阳离子 (divalent cations) 结合位点: 一个位点与 Ca^{2+} 球一起在 Ca^{2+} 的直接参与下调节通道的开闭; 另一个位点则通过胞质 Mg^{2+} 来修饰这种调控^[34,36]。 Mg^{2+} 的上述修饰现象在核苷也有表现^[19]。

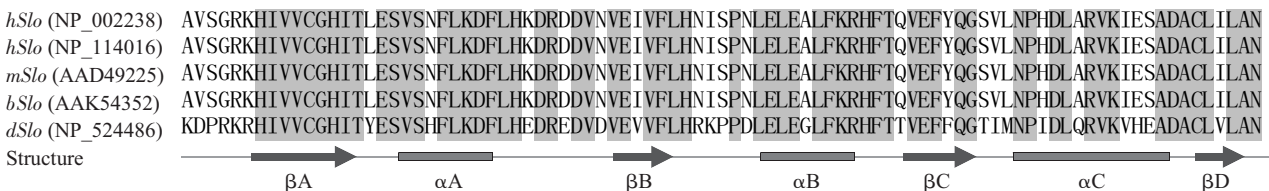


图 4 BK_{Ca} 通道 RCK 结构域序列的比对。 *hSlo*, human *slo*; *rSlo*, norway rat *slo*; *mSlo*, house mouse *slo*; *bSlo*, cattle *slo* 和 *dSlo*, fruit fly *slo*。阴影部分表示这些物种间完全保守的氨基酸位点; 粗箭头表示 β 折叠; 粗线表示 α 螺旋^[34]

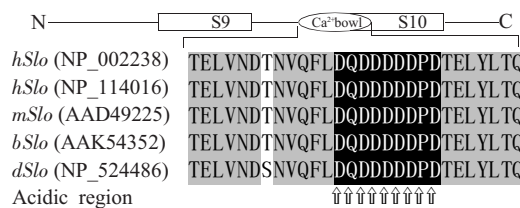


图 5 BK_{Ca} 通道高度保守的“Ca₂₊bowl”氨基酸序列。 *hSlo*, human *slo*; *rSlo*, norway rat *slo*; *mSlo*, house mouse *slo*; *bSlo*, cattle *slo* 和 *dSlo*, fruit fly *slo*。箭头表示存在于 Ca^{2+} 球中一个富含天冬氨酸的酸性结构域，由保守的短肽 (DQDDDDDPD) 构成，具有 Ca^{2+} 敏感特性; 阴影部分表示这些物种间完全保守的氨基酸^[37]

2.3 BK_{Ca} 通道的电压感受性

S4 跨膜区是 BK_{Ca} 通道的膜电位感受器，高度保守，其每隔两个疏水性氨基酸残基即有一个带正电荷的精氨酸或赖氨酸残基^[21,38]（图 6）。在细胞膜去极化时，原本埋在细胞膜内的精氨酸因其正电荷受到膜电场力的作用，而被推向细胞膜外^[39]，其正

电荷的定向移动形成了所谓的门控电流，而通道蛋白亚基的构象改变引起孔道的开放，导致持续性的外向 K⁺ 电流^[21]。研究表明，完成通道的一次开放，需要来自四个 S4 跨膜片段约 12~14 个正电荷的相对移动^[40]。

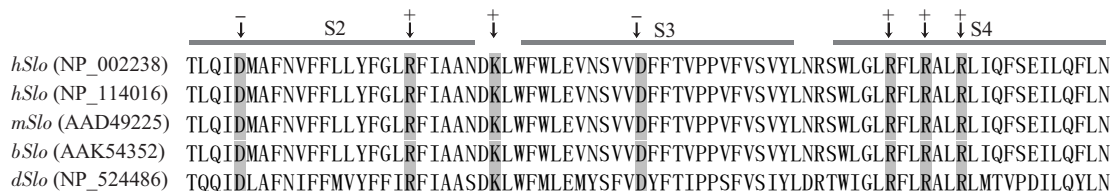


图 6 BK_{Ca} 通道电压感受器 (S2, S3, S4) 多序列比对. *hSlo*, human *slo*; *rSlo*, norway rat *slo*; *mSlo*, house mouse *slo*; *bSlo*, cattle *slo* 和 *dSlo*, fruit fly *slo*. 箭头表示保守的负有电荷的氨基酸残基; “+”和“-”分别表示载有正或负电荷; S2, S3 上的负电荷与 S4 上的正电荷相互作用介导了通道的电压门控机制^[20]

2.4 β 亚单位对 BK_{Ca} 通道调控特性的影响

在 BK_{Ca} 通道，β 亚单位对几乎所有的通道调控特征都起到修饰作用。4 种 β 亚单位的特性各不相同，β1 亚单位可使通道快速活化，β2 亚单位调控通道关闭和开放的转换，β3 亚单位则快速关闭通道，而 β4 亚单位则钝化通道的调节特性^[41-44]。不同 β 亚单位表型与孔道 α 亚单位的组装改变了通道的 Ca²⁺ 敏感性^[45]，电压依赖性^[46]，药理学特性^[15,47]等通道的动力学特征（表 4）。

表 4 β 亚单位对 BK_{Ca} 通道的调控特性^[42,43]

通道的调控特性	BK _{Ca} 通道 β 亚单位			
	β1	β2	β3	β4
Ca ²⁺ sensitivity	↗	↗	↗	↘
Voltage dependent	↗	↗	↗	↘
Toxin sensitivity	↘	↘	↘	↘
Activation rate	↗	↘	↘	↘
Deactivation rate	↘	↗	↗	↗

↗, 增强或上调; ↘, 降低或下调

2.5 BK_{Ca} 通道功能的修饰位点

如同其它类型的蛋白质，BK_{Ca} 通道也受翻译后修饰的调控（表 1, 表 5）。

可逆蛋白磷酸化作用作为一个基本的细胞调控机制，使 BK_{Ca} 通道更容易与信号复合体包括同源蛋白激酶和蛋白磷酸化酶组装，以控制通道的活性与功能^[48]。正是由于 BK_{Ca} 通道直接受电压和细胞内游离 Ca²⁺ 的激活以及可逆磷酸化作用的有效调节，所以其在与代谢相关的细胞兴奋性的调控中发挥着关键作用，如在血管平滑肌兴奋性调节以及神经递质和激素释放过程中，BK_{Ca} 通道在化学信号作用下有效地调节了动作电位的持续时间和频率。另外，有研究表明，蛋白激酶和哺乳动物 BK_{Ca} 通道的共表达能够导致该通道对钙离子敏感性的增强^[49]。

糖基化作用可影响 BK_{Ca} 通道的功能表达。如 β4 亚单位的糖基化作用降低了毒素对通道的

表 5 BK_{Ca} 通道功能性调控元件

调控元件	BK _{Ca} 通道 (α+β) 调控位点	
	α亚单位 Norway rat*	β亚单位 Norway rat**
N端糖基化位点	N ¹³⁴ GSS,N ²⁶⁶ RSW,N ⁹⁸¹ DTN	N ⁸⁸ VSI,N ¹⁹⁶ CSF, N ¹¹⁹ LTS
cAMP-PK磷酸化位点	K ¹¹⁷⁵ KSS	K ³³ RKT
PKC磷酸化位点	T ¹¹¹ LK,T ¹⁴² LK,S ¹⁶² VK,T ¹⁷⁷ GR,S ²⁰⁸ IK,S ⁴⁰⁶ GR,S ⁵¹² IK,S ⁵⁷⁸ MR,S ⁶⁴⁵ RK, S ⁷¹² PK,S ⁷²⁹ PK,T ¹¹²⁶ KR,S ¹¹⁷³ SK	S ⁶ GR,S ¹² YR, T ¹³⁵ MK
CK2磷酸化位点	S ⁶¹ VHE,S ¹³⁷ QAD,S ¹⁶² VKD,S ²⁴⁹ VVD,T ³³⁹ YWE,T ⁴⁶² QVE,T ⁶¹⁸ VCE, T ⁷⁷⁶ RSE,S ⁸⁵⁵ RAD,S ⁸⁸⁴ LQD,S ⁹²⁴ SPD,S ¹⁰¹⁵ VLD	S ⁹⁰ ITE,S ¹²² SGE, S ¹⁷⁶ DPE
N端酰基化位点	G ⁴ GGGG,G ¹⁰ CSSGS,G ¹⁷ GGGG,G ²³ GGETA,G ¹³⁵ SSQAD, G ¹⁶⁸ VMISA,G ³⁹⁹ GSYSA,G ⁷²⁰ GMRNS,G ⁸⁵¹ TPLSR,G ⁹⁰⁷ VLQAN, G ⁹²⁰ MDRSS,G ¹⁰⁰⁹ TAFAV,G ¹⁰⁹⁰ GCYGD,G ¹¹⁵⁷ QSRAS	G ¹⁸⁰ NQKSV

*GenBank Accession Numbers: Q62976; **GenBank Accession Numbers: Q811Q0

阻断能力^[50]。

BK_{Ca}通道亮氨酸拉链(LZ)是一个结构性短肽,具有DNA亲和性^[24],在通道的自身组装与蛋白激酶和蛋白磷酸酶信号复合物的组装调节中发挥着重要作用^[51,52]。

在BK_{Ca}通道 α 亚单位中,还有粘多糖结合位点、氨基化作用位点、N-6腺嘌呤特异DNA甲基化酶信号、细胞色素c家族亚铁血红素结合位点信号等可能的功能调控位点。另外,细胞膜脂质双分子层的粘滞性可通过影响通道关闭的稳定状态来调控通道的活性。

2.6 BK_{Ca}通道的药理学特性

一些外源性配体也能通过阻断和活化BK_{Ca}通道调控宿主细胞的状态,如iberiotoxin(IbTX)、charybdotoxin(ChTX)、paxilline、NS1619、tetraethylammonium(TEA)等。目前发现不同的配体对不同组织表达的BK_{Ca}通道亚型的作用不同(表6),这将为单独控制不同组织中的BK_{Ca}通道带来方便。

表6 BK_{Ca}通道常用阻断剂与开放剂及其作用的靶细胞

阻断剂和开放剂	靶细胞
阻断剂(blockers)	
IbTX	冠状动脉,肺动脉,嗜中性粒细胞,嗜酸性白细胞,肾上皮细胞,海马神经元,浦肯野细胞,心肌细胞,乳腺动脉
ChTX	冠状动脉,T淋巴细胞,平滑肌细胞,副交感神经细胞,肾叶间动脉,胚胎成神经细胞,生长锥,神经胶质瘤细胞,心肌细胞
Paxilline	(大动脉)平滑肌细胞,嗜中性粒细胞,嗜酸性白细胞
Penitrem	大动脉平滑肌细胞
Tetraandrine	内皮细胞
TEA	兴奋性细胞
开放剂(openers)	
NS1619	嗜中性粒细胞,嗜酸性白细胞,平滑肌细胞,皮质神经元,视丘下部
NS004	平滑肌细胞
NS1608	平滑肌细胞
Arachidonic acid	垂体GH3细胞,血管平滑肌细胞

2.7 ATP对BK_{Ca}通道的调控作用

电生理实验表明BK_{Ca}通道受细胞内ATP、GTP调控^[53,54]。一般认为这种调控是多个蛋白激酶和磷酸化酶作用的可逆蛋白磷酸化的结果,这一过

程可能需要ATP水解的能量^[55],从而将细胞内代谢水平和细胞膜兴奋性联系起来。BK_{Ca}通道的此项功能与KATP通道相似,二者可能相互配合共同参与细胞防御机制,如在缺血(ischaemic)和缺氧(hypoxic)等代谢负荷损伤中^[41]。另外,也有报道认为ATP的抑制作用也可能与 α 亚单位的特定功能域有关^[55]。

3 BK_{Ca}通道的生物学功能

BK_{Ca}通道以其在很多生物组织中较普遍、较高密度的表达,以及大电导、多重门控机制等特性,在生物系统中起到重要的作用。

3.1 BK_{Ca}通道的调控信号与细胞功能密切相关

BK_{Ca}通道敏感于细胞内游离Ca²⁺、蛋白激酶和细胞膜电位等与细胞功能密切相关的重要信号。细胞膜电位是细胞生命现象的关键特征,细胞动作电位更是兴奋性细胞实现其功能的必要条件,而细胞内游离钙离子是众所周知的细胞内第二信使,蛋白激酶则是细胞信号通路中的关键调控分子,它们都接受细胞代谢相的调控。大量研究表明,细胞内外的代谢环境、信号环境等对上述BK_{Ca}通道的调控因素都具有明显的调控作用。因此,BK_{Ca}通道的功能状态与细胞状态密切相关^[6]。

3.2 BK_{Ca}通道是细胞膜电位的关键调控元件

BK_{Ca}通道以其在宿主细胞的高表达、高电导和高开放几率,在神经细胞、心肌细胞、平滑肌细胞和骨骼肌细胞等兴奋性细胞显示出较强的膜电位调节能力。当细胞膜电位发生去极化时,BK_{Ca}通道在其电压门控区的作用下开放,使胞内主要的K⁺外流,使膜电位迅速回复,当细胞膜电位发生超极化时则发生相反的过程,因此BK_{Ca}通道能够有效维持细胞膜静息电位、辅助动作电位复极化。当BK_{Ca}通道因通道阻断剂等因素失去活性时,很多细胞显示出明显的去极化或动作电位周期变长^[43]。已有报道表明,BK_{Ca}通道参与了神经细胞、心肌细胞在代谢负荷下的细胞膜电位应答。许多细胞过程会导致细胞内游离Ca²⁺等第二信使的浮动,这些信息也将通过BK_{Ca}通道反馈给细胞膜电位和细胞功能输出。代表细胞代谢水平的细胞内ATP浓度也通过BK_{Ca}通道调节细胞功能,即当细胞内ATP水平上升,使得其开放几率下降,阻滞细胞内K⁺外流,使细胞膜保持在兴奋状态,起到维持细胞功能输出的作用;反之,使细胞膜进入抑制状态,起到减少

细胞能量消耗保护细胞功能的作用。因此, BK_{Ca}通道在神经、心肌等大量组织细胞的生理功能实现中起到重要作用^[3,5,6]。

3.3 BK_{Ca}通道是具有潜在临床意义的药物靶点

如上所述,从多种意义上讲可以认为BK_{Ca}通道是协调细胞环境与细胞功能的关键膜蛋白质,同时其分子结构的多样性及其相应特异性表达,为选择性控制不同部位、不同生理功能的BK_{Ca}通道提供了方便。因此,在代谢负荷等导致的细胞功能损伤研究中,BK_{Ca}通道正在受到越来越多的关注^[6]。

另外,有关BK_{Ca}通道分子识别及其特异性阻断剂和激活剂的陆续开发,以及体内分子定向运载、分子修饰、基因操作等技术的进步与协调,也将为选择性地调控不同部位、不同功能的BK_{Ca}通道提供重要手段^[5]。

4 BK_{Ca}通道研究展望

在BK_{Ca}通道的研究中,还存在着一些关键问题有待于进一步探究。如其在神经元突触后膜的功能表达已经获得实验证明,但是还缺乏相关的分子生物学依据;有研究表明,BK_{Ca}通道敏感于细胞内ATP和蛋白激酶等,但是与之对应的分子结构上的作用位点和作用机理还缺乏实验证据;目前已开发出调节该通道的制剂,但其作用原理还不很清楚。

随着系统科学理论研究的深化,人们对于细胞行为在生命系统中的意义愈发关注,并进一步提出了细胞的“社会性(sociality)”概念,强调(神经)细胞与动物习性的社会性的联系,以及细胞的行为在维持生命系统秩序中的意义。BK_{Ca}通道分子具有多重调控位点,意味着其必须对不同调控因子引起的结构信息变化进行统合,决定自身的开闭状态,我们认为BK_{Ca}通道有可能是“细胞的社会性”实现中的重要分子,同时BK_{Ca}通道也将成为研究细胞膜蛋白质分子内部结构信息相互作用的绝好模型。

参考文献:

- [1] Xu JW, Slaughter MM. Large-conductance calcium-activated potassium channels facilitate transmitter release in salamander rod synapse. *J Neurosci*, 2005,25(33):7660~7668
- [2] Sausbier M, Hu H, Arntz C, Feil S, Kamm S, Adelsberger H, Sausbier U, Sailer CA, Feil R, Hofmann F, Korth M, Shipston MJ, Knaus HG, Wolfer DP, Pedroarena CM, Storm JF, Ruth P. Cerebellar ataxia and Purkinje cell dysfunction caused by Ca²⁺-activated K⁺ channel deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004,101:9474~9478
- [3] Beurg M, Evans MG, Hackney CM, Fettiplace R. A large-conductance calcium-selective mechanotransducer channel in mammalian cochlear hair cells. *J Neurosci*, 2006, 26(43):10992~11000
- [4] Marty A. Ca²⁺-dependent K⁺ channels with large unitary conductance in chromaffin cell membranes. *Nature*, 1981,291: 497~500
- [5] Ghatta S, Nimmagadda D, Xu X, O'Rourke ST. Large-conductance, calcium-activated potassium channels: structural and functional implications. *Pharmacology & Therapeutics*, 2006, 110:103~116
- [6] Salkoff L, Butler A, Ferreira G, Santi C, Wei A. High-conductance potassium channels of the SLO family. *Nat Rev Neurosci*, 2006,7(12):921~931
- [7] Tseng-Crank J, Foster CD, Krause JD, Mertz R, Godinot N, DiChiara TJ, Reinhart PH. Cloning, expression, and distribution of functionally distinct Ca²⁺-activated K⁺ channel isoforms from human brain. *Neuron*, 1994,13:1315~1330
- [8] Bohm RA, Wang B, Brenner R, Atkinson NS. Transcriptional control of Ca²⁺-activated K⁺ channel expression: identification of a second, evolutionarily conserved, neuronal promoter. *J Exp Biol*, 2000,203:693~704
- [9] Yu JY, Upadhyaya AB, Atkinson NS. Tissue-specific alternative splicing of BK channel transcripts in *Drosophila*. *Genes Brain Behav*, 2006,5(4):329~339
- [10] Lai GJ, McCobb DP. Regulation of alternative splicing of Slo K⁺ channels in adrenal and pituitary during the stress-hyporesponsive period of rat development. *Endocrinology*, 2006,147(8):3961~3967
- [11] Butler A, Tsunoda S, McCobb DP, Wei A, Salkoff L. mSlo, a complex mouse gene encoding “maxi” calcium-activated potassium channels. *Science*, 1993,261:221~224
- [12] Knaus HG, Folander K, Garcia-Calvo M, Garcia ML, Kaczorowski GJ, Smith M, Swanson R. Primary sequence and immunological characterization of beta-subunit of high conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel from smooth muscle. *J Biol Chem*, 1994,269:17274~17278
- [13] Wallner M, Meera P, Toro L. Molecular basis of fast inactivation in voltage and Ca²⁺-activated K⁺ channels: a transmembrane beta-subunit homolog. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999,96:4137~4142
- [14] Brenner R, Jegla TJ, Wickenden A, Liu Y, Aldrich RW. Cloning and functional characterization of novel large conductance calcium-activated potassium channel beta subunits, hKCNMB3 and hKCNMB4. *J Biol Chem*, 2000,275: 6453~6461
- [15] Meera P, Wallner M, Toro L. A neuronal beta subunit (KCNMB4) makes the large conductance, voltage- and Ca²⁺-activated K⁺ channel resistant to charybdotoxin and iberiotoxin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000,97:5562~5567

- [16] Jiang C, Haddad GG. Oxygen deprivation inhibits a K^+ channel independently of cytosolic factors in rat central neurons. *J Physiol*, 1994,481(1):15~26
- [17] Jiang C, Haddad GG. A direct mechanism for sensing low oxygen levels by central neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994,91:7198~7201
- [18] Wallner M, Meera P, Toro L. Determinant for beta-subunit regulation in high-conductance voltage-activated and Ca^{2+} -sensitive K^+ channels: an additional transmembrane region at the N terminus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996,93:14922~14927
- [19] Jiang Y, Lee A, Chen J, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R. Crystal structure and mechanism of a calcium-gated potassium channel. *Nature*, 2002,417:515~522
- [20] Papazian DM, Shao XM, Seoh SA, Mock AF, Huang Y, Wainstock DH. Electrostatic interactions of S4 voltage sensor in Shaker K^+ channel. *Neuron*, 1995,14:1293~1301
- [21] Hu L, Shi J, Ma Z, Krishnamoorthy G, Sieling F, Zhang G, Horrigan FT, Cui J. Participation of the S4 voltage sensor in the Mg^{2+} -dependent activation of large conductance (BK) K^+ channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100 (18):10488~10493
- [22] Jiang Y, Pico A, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R. Structure of the RCK domain from the *E.coli* K^+ channel and demonstration of its presence in the human BK channel. *Neuron*, 2001,29:593~601
- [23] Sheng JZ, Weljie A, Sy L, Ling S, Vogel HJ, Braun AP. Homology modeling identifies C-terminal residues that contribute to the Ca^{2+} sensitivity of a BK_{Ca} channel. *Biophys J*, 2005,89(5):3079~3092
- [24] Tian L, Coghill LS, MacDonald SH, Armstrong DL, Shipston MJ. Leucine zipper domain targets cAMP-dependent protein kinase to mammalian BK channels. *J Biol Chem*, 2003,278:8669~8677
- [25] Zhou XB, Arntz C, Kamm S, Motejlek K, Sausbier U, Wang GX, Ruth P, Korth M. A molecular switch for specific stimulation of the BK_{Ca} channel by cGMP and cAMP kinase. *J Biol Chem*, 2001,276:43239~43245
- [26] Knaus HG, Schwarzer C, Koch RO, Eberhart A, Kaczorowski GJ, Glossmann H, Wunder F, Pongs O, Garcia ML, Sperk G. Distribution of high-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels in rat brain: targeting to axons and nerve terminals. *J Neurosci*, 1996,16:955~963
- [27] Carre-Pierrat M, Grisoni K, Gieseler K, Mariol MC, Martin E, Jospin M, Allard B, Segalat L. The SLO-1 BK channel of *Caenorhabditis elegans* is critical for muscle function and is involved in dystrophin-dependent muscle dystrophy. *J Mol Biol*, 2006,358(2):387~395
- [28] Pluznick JL, Sansom SC. BK channels in the kidney: role in K^+ secretion and localization of molecular components. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006,291(3):517~529
- [29] Sausbier U, Sausbier M, Sailer CA, Arntz C, Knaus HG, Neuhuber W, Ruth P. Ca^{2+} -activated K^+ channels of the BK-type in the mouse brain. *Histochem Cell Biol*, 2006,125(6):725~741
- [30] 陈联万, 李姗姗, 汲娟娟. 生命科学研究的又一个里程碑 (记 2003 年度诺贝尔化学奖). *生物化学与生物物理进展*, 2003, 30(6): 833~837
- [31] Zhou Y, Morais-Cabral JH, Kaufman A, MacKinnon R. Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K^+ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution. *Nature*, 2001, 414:43~48
- [32] Doyle DA, Morais Cabral J, Pfuetzner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL, Chait BT, MacKinnon R. The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and sensitivity. *Science*, 1998,280:69~77
- [33] Wei A, Solaro C, Lingle C, Salkoff L. Calcium sensitivity of BK-type K_{Ca} channels determined by a separable domain. *Neuron*, 1994,13:671~681
- [34] Xia XM, Zeng X, Lingle CJ. Multiple regulatory sites in large-conductance calcium-activated potassium channels. *Nature*, 2002,418:880~884
- [35] Bian S, Favrev I, Moczydlowski E. Ca^{2+} -binding activity of a COOH-terminal fragment of the *Drosophila* BK channel involved in Ca^{2+} -dependent activation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001,98:4776~4781
- [36] Zhang X, Solaro C, Lingle C. Allosteric regulation of BK channel gating by Ca^{2+} and Mg^{2+} through a non-selective, low affinity divalent cation site. *J Gen Physiol*, 2001,118:607~635
- [37] Bao L, Kaldany C, Holmstrand EC, Cox DH. Mapping the BKCa channel's "Ca²⁺ bowl": side-chains essential for Ca^{2+} sensing. *J Gen Physiol*, 2004,123:475~489
- [38] Rothberg BS, Magleby KL. Voltage and Ca^{2+} activation of single large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channels described by a two-tiered allosteric gating mechanism. *J Gen Physiol*, 2000,116:75~99
- [39] Yang N, George AL, Horn R. Molecular basis of charge movement in voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 1996, 16:113~122
- [40] Bezanilla F, Perozo E, Papazian DM, Stefani E. Molecular basis of gating charge immobilization in Shaker potassium channels. *Science*, 1991,254:679~683
- [41] Xia XM, Ding JP, Zeng XH, Duan KL, Lingle CJ. Rectification and rapid activation at low Ca^{2+} of Ca^{2+} -activated, voltage-dependent BK currents: consequences of rapid inactivation by a novel beta subunit. *J Neurosci*, 2000,20 (13): 4890~4903
- [42] Bentrop D, Beyermann M, Wissmann R, Fakler B. NMR structure of the "Ball-and-chain" domain of KCNMB2, the β 2-subunit of large conductance Ca^{2+} - and voltage-activated potassium channels. *J Biol Chem*, 2001,276:42116~42121
- [43] Weiger TM, Holmqvist MH, Levitan IB, Clark FT, Sprague S, Huang WJ, Ge P, Wang C, Lawson D, Jurman ME,

- Glucksmann MA, Silos-Santiago I, DiStefano PS, Curtis R. A novel nervous system beta subunit that downregulates human large conductance calcium-dependent potassium channels. *J Neurosci*, 2000,20(10):3563~3570
- [44] Wang B, Rothberg BS, Brenner R. Mechanism of beta4 subunit modulation of BK channels. *J Gen Physiol*, 2006,127(4):449~465
- [45] Ramanathan K, Michael TH, Fuchs PA. Beta subunits modulate alternatively spliced, large conductance, calcium-activated potassium channels of avian hair cells. *J Neurosci*, 2000,20:1675~1684
- [46] Ramanathan K, Michael TH, Jiang GJ, Hiel H, Fuchs PA. A molecular mechanism for electrical tuning of cochlear hair cells. *Science*, 1999, 283:215~217
- [47] Dworetzky SI, Boissard CG, Lum-Ragan JT, McKay MC, Post-Munson DJ, Trojnacki JT, Chang CP, Gribkoff VK. Phenotypic alteration of a human BK (hSlo) channel by hSlo β subunit coexpression: changes in blocker sensitivity, activation/relaxation and inactivation kinetics, and protein kinase A modulation. *J Neurosci*, 1996,16:4543~4550
- [48] Widmer HA, Rowe IC, Shipston MJ. Conditional protein phosphorylation regulates BK channel activity in rat cerebellar Purkinje neurons. *J Physiol*, 2003,552(2):379~391
- [49] Ling SZ, Woronuk G, Sy L, Lev S, Braun AP. Enhanced activity of a large conductance, calcium-sensitive K⁺ channel in the presence of Src Tyrosine Kinase. *J Biol Chem*, 2000, 275:30683~30689
- [50] Jin P, Weiger TM, Levitan IB. Reciprocal modulation between the alpha and beta 4 subunits of hSlo calcium-dependent potassium channels. *J Biol Chem*, 2002,277:43724~43729
- [51] Hulme JT, Ahn M, Hauschka SD, Scheuer T, Catterall WA. A novel leucine zipper targets AKAP15 and PKA to the C-terminus of the skeletal muscle Ca²⁺ channel and modulates its function. *J Biol Chem*, 2002,277:4079~4087
- [52] Marx SO, Kurokawa J, Reiken S, Motoike H, D'Armiento J, Marks AR, Kass RS. Requirement of a macromolecular signaling complex for β adrenergic receptor modulation of the KCNQ1-KCNE1 potassium channel. *Science*, 2002,295:496~499
- [53] Ahern GP, Hsu SF, Jackson MB. Direct actions of nitric oxide on rat neurohypophysial K⁺ channels. *J Physiol*, 1999, 520(1):165~176
- [54] Fukao M, Mason HS, Kenyon JL, Horowitz B, Keef KD. Regulation of BKCa channels expressed in human embryonic kidney 293 cells by epoxyeicosatrienoic acid. *Mol Pharmacol*, 2001,59(1):16~23
- [55] Clark AG, Hall SK, Shipston MJ. ATP inhibition of a mouse brain large-conductance K⁺ (mslo) channel variant by a mechanism independent of protein phosphorylation. *J Physiol*, 1999,516:45~53

STRUCTURE AND FUNCTION OF THE BK_{Ca} CHANNEL

MA Bin-yun, JI Juan-juan

(State Key Laboratory of Brain and Cognitive Science, Institute of Biophysics,
The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: BK_{Ca} channel couples the plasma membrane electrical property with the intracellular signal system, thus plays important roles for cellular functions. This channel, which molecular structure is complicated, expresses in various tissues of many species widely, densely and area-specifically. The molecular structure of the BK_{Ca} channel is comprised of the α -subunit and the β -subunit, in which α -subunit forms the pore region and the regulation region of channel activity, and β -subunit modifies the role of the regulation region. BK_{Ca} channel has higher open-possibility, larger conductance and multi-regulation sites; furthermore its different superfamily members show different functional properties, such as the membrane voltage activity and intracellular free calcium activity. In the review, the authors summarized the molecular structure and functional properties of the BK_{Ca} channel.

Key Words: BK_{Ca} channel; Expression; Structure; Function; Regulation

Received: Jan 4, 2007

Corresponding author: JI Juan-juan, Tel: +86(10)64888534, E-mail: jijj@sun5.ibp.ac.cn