

·研究简报·

镧对心肌细胞钾通道的作用研究

薛绍武 杨 频* 杜会枝

(山西大学分子科学研究所 太原 030006)

摘要 用全细胞膜片钳记录方式研究了 La^{3+} 对大鼠心室肌细胞钾通道的作用机理. 对酶解分离的大鼠心室肌细胞施一跃迁电压可引出一非钙依赖性电压去激活的外向钾电流. 将 $10 \mu\text{mol/L}$ La^{3+} 加入细胞外液后, 非钙依赖性电压去激活的外向钾电流明显减小, 这提示在大鼠心室肌细胞钾通道上存在 La^{3+} 结合位点.

关键词 心室肌细胞, 钾通道, 全细胞膜片钳, La^{3+}

Determination of Lanthanum Effect on Myocardiac Potassium Channels

XUE, Shao-Wu YANG, Pin* DU, Hui-Zhi

(Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan, 030006)

Abstract Whole-cell patch-clamp recording mode was used to study the action mechanism of La^{3+} on rat ventricular myocytes potassium channels. The Ca^{2+} -independent voltage-activated outward K^+ current was activated by the depolarizing pulse in enzymatically isolated rat ventricular myocytes. When $10 \mu\text{mol/L}$ La^{3+} was added to the bath solution, the Ca^{2+} -independent voltage-activated outward K^+ current was distinctly suppressed. It implies that there may exist one or more binding-sites in potassium channels for La^{3+} .

Keywords ventricular myocytes, potassium channels, whole-cell patch-clamp, La^{3+}

稀土元素对农作物具有增产作用, 在药用上有抗凝血、杀菌、消炎作用^[1]. 然而, 稀土元素对动植物的作用机理却不清楚, 虽然其毒理学研究作了大量的工作, 但从细胞水平、分子水平的毒理学研究才刚刚开始. 本文用全细胞膜片钳方法, 从细胞水平研究了稀土镧离子对成年大鼠心室肌细胞钾通道的作用.

1 实验部分

按文献[2]方法灌流分离大鼠心室肌细胞. 用全细胞膜片钳技术研究去极化激活的钾电流, 所有实验都在室温下进行. 记录电极由玻璃毛吸管经微电极拉制仪(日本 Narishige 公司)拉制, 用前抛光, 阻抗 $3 \sim 5 \text{ M}\Omega$. 形成全细胞状态后, 阻抗大于 $1 \text{ G}\Omega$. 电流信号由 Axopatch-200B 膜片钳放大器(美国 Axon Instrument 公司)、Lab Master 数据采集卡和 pClamp

6.0.4 软件(美国 Axon Instrument 公司)采集、储存和分析. 镧氧化物(99.9%)购自湖南稀土研究所, 镧离子溶液: 镧氧化物加入浓盐酸加热溶解至盐酸挥发至近干, 加入三蒸水溶解定容, 配成 20 mmol/L 浓度转移至塑料瓶中 $0 \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用. 细胞外液含: NaCl 135 mmol/L , KCl 5.4 mmol/L , MgCl_2 1 mmol/L , NaH_2PO_4 0.33 mmol/L , HEPES 10 mmol/L , 葡萄糖 10 mmol/L , CdCl_2 0.1 mmol/L , $\text{pH} = 7.4$. 电极内液含: KCl 135 mmol/L , MgCl_2 1 mmol/L , EGTA 10 mmol/L , HEPES 10 mmol/L , 葡萄糖 5 mmol/L , Na_3ATP 3 mmol/L , $\text{pH} = 7.2$.

本实验重复测定 5 次以上, 均得到稳定信号.

2 结果与讨论

给大鼠心室肌细胞施一从保持电位(-40 mV)

* E-mail: yangpin@sxu.edu.cn

Received June 5, 2001; revised August 20, 2001; accepted September 25, 2001.

国家自然科学基金重大基金(No.29890280)和山西省自然科学基金资助项目.

到 +60 mV, 以 10 mV 跃迁的电压刺激, 引出一系列的电流图形(图 1). 此电流即为非钙依赖性电压去激活的外向钾通道电流^[3]. 在保持电压位 -40 mV 时钠通道失活, 无钠电流产生. 将细胞内液 K^+ 用等摩尔的 Cs^+ 取代时, 则记录不出这些外向电流, 提示该电流的主要载体是钾离子, 所记录的电流即为钾电流. 将钙内流用 Cd^{2+} 阻断后钾电流不受影响, 提示所记录的电流为非钙依赖性的钾电流. 将细胞外液中加入 $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$, 记录的电流图形前后变化如图 2.

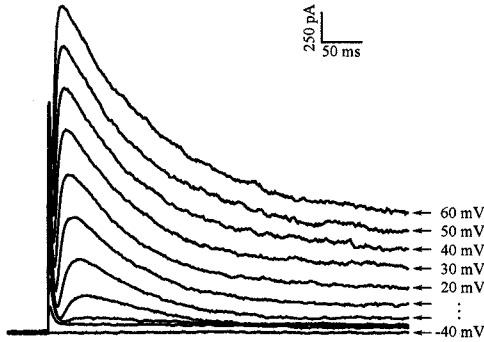


图 1 非钙依赖性电压去激活的外向钾电流

Figure 1 Ca^{2+} -independent voltage-activated K^+ currents

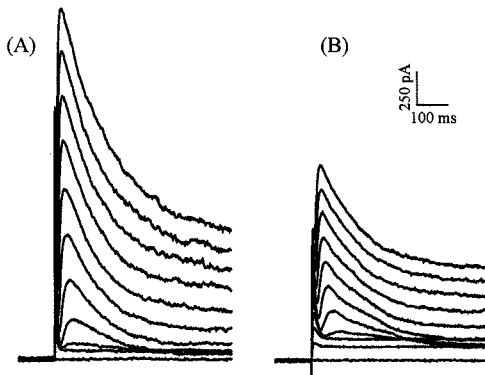


图 2 La^{3+} 对钾电流的作用

(A) 正常的钾电流; (B) 加入 $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ 后的钾电流

Figure 2 Effect of La^{3+} to the potassium channels

(A) K^+ currents in the control bath solution; (B) K^+ currents after addition of $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$

在图 2 中, (A) 和 (B) 是在与图 1 相同的跃迁电压刺激下记录的电流, (A) 是正常细胞外液的电流, (B) 是细胞外液加入 La^{3+} 后的电流. (B) 电流的大小较 (A) 电流发生了明显的减小, 由此可见 $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ 对钾电流产生了明显的抑制作用. 在其它大鼠心肌细胞上也得到了相同的结果. 在正常细胞外液和加入了 $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ 的细胞外液的钾通道电流的电流-电压关系曲线 ($I-V$ 曲线) 如图 3. 激活电

压达 60 mV 时, 正常细胞外液的电流是 2497.5 pA, 细胞外液中加入 $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ 后电流减小到 1419.2 pA. $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ 对钾电流的抑制率达 43.2%.

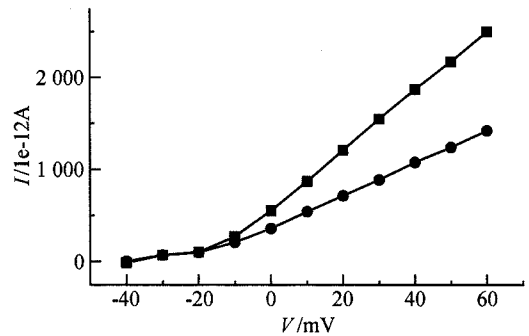


图 3 钾电流的电流-电压关系

Figure 3 Current-voltage relation of K^+ currents

■—Control solution; ●—addition of $10 \mu\text{mol/L La}^{3+}$ in bath solution

Zalman 等^[4]研究了二价阳离子对大鼠心肌细胞瞬时钾电流的作用影响, 他们认为通道蛋白存在特异的金属离子结合位点. 由于镧和钙具有相近的离子半径, 相似的化学性质, 同时由于镧与钙通道蛋白的结合作用比钙强, 因此镧对钙通道的抑制作用较强. 本文的实验发现, 镧在胞外对心肌细胞的钾通道也产生作用, 这提示我们心肌细胞钾通道对镧十分敏感. 以后的工作是进一步研究其它不同浓度的镧和镧在胞内对钾通道的作用以及其它稀土离子对钾通道的作用. 心肌细胞钾通道电流是心肌的主要复极化电流^[5], 对心肌动作电位的平台期有关, 抑制钾电流会延长动作电位平台期. 由此提示我们, 研究稀土的生物效应要重视稀土与心肌病的关系.

References

- 1 Ni, J.-Z. *Bioinorganic Chemistry of Rare Earth*, Science Press, Beijing, 1995, p. 13 (in Chinese). (倪嘉缙, 稀土生物无机化学, 科学出版社, 北京, 1995, p. 13.)
- 2 Raman, M.; Martin, M. *Am. J. Physiol.* **1985**, 249, H1056.
- 3 Michael, A.; Jeanne, M. N. *J. Gen. Physiol.* **1991**, 97, 973.
- 4 Zalman, S. A.; Iain, D. D.; Martin, M. *Am. J. Physiol.* **1991**, 261, C310.
- 5 Arnold, M. K. *N. Engl. J. Med.* **1993**, 328, 1244.