



● 主编 黎明江 黄鹤 吴钢
● 主审 黄从新

瞬时受体电位离子通道

——
生理功能与疾病

SHUNSHI SHOUTI DIANWEI LIZI TONGDAO

湖北科学技术出版社

• 主 编 黎明江 黄 鹤 吴 钢
• 主 审 黄从新

瞬时受体电位离子通道

——生理功能与疾病

SHUNSHI SHOUTI DIANWEI

湖北科学技术出版社

江苏工业学院图书馆
藏书章

图书在版编目(CIP)数据

瞬时受体电位离子通道: 生理功能与疾病 / 黎明江主编.

武汉: 湖北科学技术出版社, 2007.11

ISBN 978-7-5352-3906-8

I. 瞬… II. 黎… III. 离子通道—研究 IV. Q25

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 190263 号

瞬时受体电位离子通道 ——生理功能与疾病

© 黎明江 黄鹤 吴钢 主编

责任编辑: 熊木忠 李大林

封面设计: 王 梅

出版发行: 湖北科学技术出版社

电话: 87679468

地 址: 武汉市雄楚大街 268 号

湖北出版文化城 B 座 12-13 层

邮政编码: 430070

印 刷: 荆州市翔羚印刷有限公司

邮政编码: 434000

850 毫米 × 1168 毫米

32 开

10.5 印张

243 千字

2007 年 11 月第 1 版

2007 年 11 月第 1 次印刷

定价: 22.00 元

本书如有印装质量问题 可找承印厂更换

主 编 黎明江 黄 鹤 吴 钢
主 审 黄从新
副主编 包明威 胡成林 曹 锋
王跃岭 李小娥 徐 威

编者（按姓氏笔画排列）

王跃岭 包明威 吴 钢 李小娥 李彦博
邹永光 苏华俊 罗松辉 周志鸿 杨汉杰
胡成林 徐 威 徐世刚 钱 进 黄 鹤
黄峥嵘 曹 锋 谢 强 黎明江

学术秘书 胡成林

主 编 黎明江 吴 钢 黄 鹤
副主编 王跃岭 胡成林 包明威 曹 锋 李小娥 徐 威

编 者

黎明江 武汉大学人民医院心内科
胡成林 武汉大学人民医院心内科
华中理工大学同济医学院药理学教研室
吴 钢 武汉大学人民医院心内科
黄 鹤 武汉大学人民医院心内科
王跃岭 武汉大学人民医院心内科
包明威 武汉大学人民医院心内科
曹 锋 武汉大学人民医院心内科
徐 威 武汉大学人民医院心内科
李彦博 武汉大学人民医院心内科博士生
钱 进 湖北省随州市中心医院心内科
罗松辉 湖北省武汉市第五医院心内科
周志鸿 武汉市武昌医院内三科
谢 强 福建医科大学附属厦门第一医院心内科
黄峥嵘 福建医科大学附属厦门第一医院心内科
徐世刚 武汉市十三医院内科
苏华俊 武汉市十三医院内科
李小娥 武汉市十三医院内科
杨汉杰 湖北省大冶市人民医院心内科
邹永光 湖北省孝感市中心医院心内科
邓克崇 湖北省安陆市二医院内科

学术秘书 胡成林

序

人类基因编码了数百个组织细胞跨膜双脂层的离子通道蛋白，参与维持细胞内外各种离子的稳态平衡。现已证实，许多人体正常的生理现象及病理条件下多种疾患的发生发展与这些离子通道结构或功能的异常紧密相关，其中以神经、心血管、消化和呼吸系统中所谓的离子通道病最为常见。器官的生理节律和信号转导异常，以及组织纤维化相关疾病和一些代谢遗传性疾病的分子机制一直是人们不断探索的领域。

近年来，随着科学技术的不断发展和完善，一种新型的离子通道家族——瞬时受体电位（TRP）被成功发现与克隆，为揭示以往机制不详的病理生理现象提供了新的证据和解释，并且将来完全可能在某个环节取得突破性进展。关于 TRP 离子通道的研究还有许多方面仍不清楚，它的研究涉及到最新的分子生物学、细胞免疫学、细胞影像学以及膜片钳等技术。同时也要求研究者具备较深的基础知识，实验有一定难度。目前国内刚开始这类离子通道的研究，但尚缺乏介绍这方面理论知识和实验技术的具体指导性资料。

本书由一直从事基础电生理及分子生物学研究的博士和博士后研究生组织撰写，他们有在国外系统进行 TRP 离子通道研究并完成博士课题，以及在国外期刊发表多篇包括 TRP 离子通道的电生理学术论文的成员，具备系统的理论知识和丰富的实践经验，有些章节为编者在国外完成的博士论文修改而成，其他素材亦全部来源于近年发表的外文资料。此书系国内首部系

统介绍 TRP 离子通道特点与功能及其相关实验技术的专著,内容丰富新颖、层次分明、插图详实、实用性强。因此,本书对于从事该项工作的学者及广大研究生在这方面的理论知识和实验技能的提高有很大参考作用,并可增加我们对新型离子通道 TRP 的认识,以及将来有望在这一学科的研究取得甚至超越外国同行们的水平,为进一步探索人体生理现象及临床病理的离子机制作出贡献。

江 洪

2007 年 11 月 8 日于武昌两湖院

前 言

为什么辛辣食物让人感到热，而薄荷等则带来清凉？这些看似简单的问题，只有当 TRP（transient receptor potential，瞬时受体电位）这一离子通道的新家族被发现后才有了较完满的答案。

对 TRP 通道研究的历史并不长。1969 年 Cosens 和 Manning 最早在果蝇视觉换能器中发现 TRP 通道。1989 年，TRP 基因首次被克隆，发现该基因编码一种具有钙离子通透性的阳离子通道。随后在蝇、蠕虫和哺乳动物体内陆续克隆了序列和结构上类似的蛋白，这些蛋白构成了 TRP 超家族。Peterson 首次在无脊椎动物以外的动物体内发现了 TRP 通道。这些里程碑式的事件距今都没有很长的时间，和人们对传统的电压门控通道和配体激活通道的研究历史比较，是比较短暂的。但就是在这短短的时间内，已经有 7 个 TRP 亚家族、数十个 TRP 通道亚组被相继发现，纷繁复杂的 TRP 通道家族成员雨后春笋般地涌现出来。

目前认识到，TRP 通道在人体分布广泛，可以说是无处不在。并且涉及到多种人体生理活动，如参与细胞钙信号调控、血管舒张、光反应、味觉、温度、渗透压、代谢等重要的生理活动，其中除了人们熟知的介导感觉信号传递的功能外，其他重要的功能包括调节细胞钙镁离子平衡、影响生长发育以及参与组织纤维化形成等。它不仅涉及到心血管疾病、神经系统疾病、呼吸道疾病及肿瘤这四大领域，而且与一些罕见的遗传性

疾病也相关。因此，研究 TRP 通道对于阐明疾病的病理生理机制以及寻找疾病治疗的新靶点具有重要的理论和实际意义，是当前乃至将来电生理领域离子通道研究的新热点。

电生理学、分子生物学及遗传学试验技术的联合应用，使我们对 TRP 的研究取得了长足进步。但是，目前对于 TRP 通道的功能和调节机制仍知之较少，特别是在我国基本还处于初步阶段。因此，我们组织编写这本专著供大家参考，尤其是广大从事电生理学研究的专家和研究生们，相信都能从这书中拓宽视野，并获得实验技术方面的指导性益处。

本专著受国家自然科学基金：“肌浆网钙泵与心力衰竭后室性心律失常的关系（项目编号：30600241）”和“缝隙连接重构与心力衰竭后室性心律失常关系的研究（项目编号：30700312）”以及湖北省自然科学基金：“TRPM7 离子通道在 TGF- β 诱导的心脏纤维化中的作用（项目编号：2007AA402C67）”之资助，在此一并致谢。

由于 TRP 的研究进展日新月异，加之编者水平有限，疏漏之处在所难免，请大家予以批评指正。

黎明江

2007 年 9 月 5 日于武昌两湖院

目 录

第一章 TRP 通道的结构与生理功能	1
第一节 TRP 通道的发现	1
第二节 TRP 通道的分类与命名	2
第三节 TRP 通道的结构特征	3
一、6 次跨膜结构	4
二、TRP 域	6
三、锚定重复序列	6
四、TRP 与其他蛋白的相互作用	6
第四节 TRP 通道的调控与生理功能	9
第五节 TRPC 亚家族	11
一、第一亚组	12
二、第二亚组	14
三、第三亚组	15
第六节、TRPV 亚家族	17
一、第一亚组	18
二、第二亚组	21
第七节、TRPM 亚家族	22
一、第一亚组	23
二、第二亚组	24
三、第三亚组	26
四、TPRM2 和 TPRM8	27
第八节、TRPA 亚家族	29

第九节、TRPN 亚家族	30
第十节、TRPP 亚家族	31
第十一节、TRPML 亚家族	34
参考文献	35
第二章 TRP 通道电流的主要特征及信号调节通路	42
第一节 TRP 通道电流的主要特性	42
一、通道电流及通道动力学	43
二、对 Ca^{2+} 的高通透性	47
三、 Mg^{2+} 的传输和阻滞	48
四、对 K^{+} 的通透性	49
第二节 各种 TRP 家族的电生理特性	56
一、TRPC	56
二、TRPV	59
三、TRPM	62
四、TRPP	73
第三节 TRP 通道的激活	73
一、光线	74
二、温度	74
三、机械力	75
四、膜电位	75
五、化学刺激	76
第四节 TRP 通道的信号转导通路	77
一、受体操控理论	77
二、钙库操控理论	78
三、固有阳离子通道	81
四、压力激活阳离子通道	82
第五节 TRP 亚家族的激活及信号转导途径	83
一、TRPC 的激活及信号转导途径	83

二、TRPM	87
三、TRPV	91
参考文献	96
第三章 TRP通道与疾病	99
第一节 TRPC 亚族与疾病	100
一、TPRC1	100
二、TPRC2	101
三、TPRC3	101
四、TPRC4	101
五、TPRC6	102
第二节 TRPV 亚族与疾病	110
一、TRPV1	110
二、TRPV2	130
三、TRPV4	130
四、TRPV5 和 TRPV6	131
第三节 TRPM 亚族与疾病	133
一、TRPM1	134
二、TRPM2	135
三、TRPM3	135
四、TRPM4	136
五、TRPM5	136
六、TRPM6 和 TRPM7	136
七、TRPM8	139
第四节 TRPML 与疾病	141
第五节 TRPPs 与疾病	142
第六节 TRPA1 与疾病	142
参考文献	143

第四章 TRP通道的研究方法 with 展望	150
第一节 电生理学技术	150
一、膜片钳技术	150
二、卵母细胞双电极电压钳技术	157
三、脑片膜片钳实验方法	160
四、在体膜片钳技术	165
五、全自动膜片钳技术	166
六、与膜片钳技术相结合的其他研究方法	167
七、电生理技术在 TRP 通道研究中的应用	168
第二节 分子生物学技术	169
一、逆转录多聚酶链式反应技术	170
二、实时荧光定量 PCR 技术	172
三、蛋白免疫印迹技术	174
四、基因敲除技术	176
五、基因沉默	178
六、分子生物学技术在 TRP 通道研究中的应用	191
第三节 光学成像技术	192
一、近场光学成像技术	193
二、全内反射荧光显微术	193
三、荧光共振能量转移技术	194
四、激光扫描共聚焦显微镜技术	198
五、光学成像技术在 TRP 通道研究中的应用	205
第四节 其他研究方法	206
一、生物纳米技术	206
二、蛋白质组技术	206
三、生物芯片技术	207
四、X 射线晶体衍射技术	208
参考文献	210

附件 1	TRPM7 离子通道电生理特征及在小鼠心脏成纤维细胞的表达	214
第一部分	酸性 pH 值对 TRPM7 通道电生理特性影响的研究	223
第二部分	TRPM6 与 TRPM7 同源和异源四聚体型通道电生理特性的研究	252
第三部分	TRPM7 突变子钙镁通透性改变及质子对其内向电流的影响	284
第四部分	瞬时受体电位亚族 M7 在小鼠心肌梗死后的表达变化及其意义	304
附件 2	专业词汇	318

第一章 TRP 通道的结构与生理功能

第一节 TRP 通道的发现

瞬时受体电位 (transient receptor potential, TRP) 通道最早在果蝇视觉换能器中发现。1969 年 Cosens 和 Manning 发现在持续光照下, 果蝇眼的感光细胞出现瞬时受体电位, 该电位的离子基础是胞外钙离子的内流。Mink 等在研究果蝇的一种自发性突变个体时发现, 该突变个体的眼感光细胞对持续光照产生的电位反应比野生型个体短。进一步研究发现, 若将野生型蝇眼细胞置于无钙环境中 1h, 也可使其对光照的电位反应缩短。处于一定发育阶段的野生型蝇眼细胞在胞内钙离子耗竭时也对光照无反应。在细胞外液中加入微摩尔级的镧离子可模拟突变果蝇感光细胞对光照的短暂反应。

1989 年, 首次克隆了 TRP 的基因, 接着发现该基因编码一种具有钙离子通透性的阳离子通道。随后在蝇、蠕虫和哺乳动物体内陆续克隆了序列和结构上类似的蛋白, 这些蛋白构成了 TRP 超家族。

Peterson 首次在无脊椎动物以外的动物体内发现了 TRP 通道, 在蟾蜍卵细胞和鼠脑的 cDNA 文库中发现了 TRP 的同源类似物。最初鉴定哺乳动物 TRP 通道的目的是为了阐明一种所谓钙池调控钙离子内流的过程, 该过程在非兴奋性细胞中是由一种高度钙离子选择性通道介导的。非兴奋性细胞受到生长因子

或激素刺激后会激活磷脂酶 C，产生三磷酸肌醇（ IP_3 ）和甘油二酯（DAG）， IP_3 进而引起内源性的钙离子释放。但这种短暂的钙离子释放却引起持续的胞外钙离子内流和胞内钙离子浓度升高。这种钙离子内流与 T 细胞凋亡程序的激活、细胞增殖、流体分泌和细胞迁移等有关。

哺乳动物 TRP 通道是介导钙池调控钙离子内流的通道之一。从 10 年前第一次报道 TRP 通道以来，在这一领域中有许多惊人的发现，诸如，TRP 超家族出乎预料的规模、某些家族成员的罕见的结构、阳离子的选择范围和完善的激活机制。

TRP 通道广泛分布在哺乳动物的各种组织中，包括可兴奋性细胞和非兴奋性细胞。TRP 通道介导阳离子顺电化学梯度的跨膜移动，调节细胞内钠、钙等离子的浓度和除极速率，并参与细胞膜电位除极。可兴奋性细胞跨膜电位的变化，引起神经动作电位的传播和肌肉收缩。在非兴奋性细胞中膜电位也起到重要作用，如通过控制钙、钾、钠通道的门控，而决定钙离子跨膜进入细胞内的驱动力大小。钙离子经膜通道进入胞内本质上是一种细胞信号事件。胞内钙离子浓度升高激活效应蛋白，调控一系列细胞生命活动，如核转录、细胞迁移和增殖。

第二节 TRP 通道的分类与命名

TRP 通道超家族是根据序列同源性来区分的。依据基因和氨基酸同源性不同，28 个 TRP 通道可分为 7 个亚家族：TRPC、TRPM、TRPV、TRPA、TRPN、TRPP、TRPML。脊椎动物体内，每个亚组均至少有 1 个具有代表性的通道。在哺乳动物体内，除 TRPN 外，其他 6 个亚组均有代表性的通道。

TRPC（Classical 或 Canonical，经典的或规范的）家族由 7

个不同的通道组成, TRPC1~TRPC7。TRPM (Melastatin) 由 8 个不同的通道组成, TRPM1~TRPM8, 根据家族中第一个成员 TRPM1 被克隆的细胞命名。TRPV (Vanilloid) 目前认为由 6 个通道组成, TRPV1~TRPV6。TRPA (Ankyrin) 在哺乳动物仅有 1 个成员, TRPA1。TRPP (Polycystin) 和 TRPML (Mucolipin) 家族尚不完全清楚。

可进一步将 TRP 通道分为 2 组。第一组 TRP 通道亚家族, 包含 TRPC、TRPV、TRPM、TRPN 和 TRPA, 它们在跨膜区域有着一样的序列。TRPC、TRPM 和 TRPN(除了 NOMPC)通道蛋白除了 6 个跨膜区域外在 C 端还包含一个含 23~25 个氨基酸残基的“TRP 区域”。由于 TRPP 和 TRPML 亚家族的主要氨基酸序列和空间结构相似而被归于第二组, 第二组与第一组序列相似性较差, 而且在第 1、2 跨膜区之间存在一个较大的胞外环状结构, 而与第一组有较远的同源性。

除 TRPN 外的 6 个 TRP 亚家族在不同的物种中十分保守, 如蠕虫、蝇类和人类。TRPN 亚家族存在于无脊椎动物和斑马鱼体内, 哺乳动物缺乏 TRPN 通道。TRP 超家族是非常古老的蛋白, 在真菌中有类似蛋白表达。真菌中的类似蛋白属于 TRPY 亚家族, 按第一次报道的成员命名为酵母空泡蛋白 Yvc1。由于 TRPY 蛋白与其他 TRP 蛋白的相关性较弱, 它们没有纳入第一或第二组 TRP 亚家族。

第三节 TRP 通道的结构特征

果蝇的 TRP 与 TRPL 有 5 个共同的结构特征: ①具有 6 个跨膜片段(S_1 ~ S_6), 在 S_5 , S_6 两个跨膜区域之间有经典的核心环区域。② S_4 螺旋为不带电荷的氨基酸残基。③存在 3 个或 4