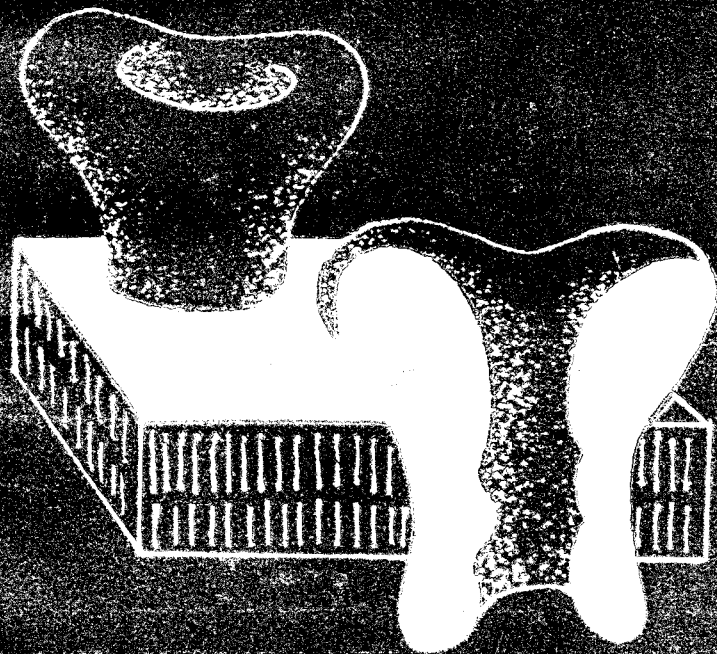


# 细胞膜离子通道

刘安西 陈守同 编译



中央民族学院出版社

**细胞膜离子通道**  
**XIBAOMO LIZI TONGDAO**

\*

刘安西、陈守同等编译

中央民族学院出版社出版

(北京白石桥路二十七号)

新华书店北京发行所发行

北京市密云县放马峪印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 13.75印张 285千字

1990年12月第1版 1990年12月第1次印刷

印数1—3000册

ISBN7-81001-202-9/Q·3 定价:2.90元

## 内 容 简 介

离子通道是神经、肌肉和其他组织细胞膜兴奋性的分子基础，是产生与传递电信号的主要成分。离子通道的各种性质决定了包括大脑在内的神经、肌肉系统的电活动，在生物功能上它们有重要的作用。随着生物化学、分子生物学、药理学和膜生物物理学的发展，各种记录技术的突破，人们对离子通道的认识也有了飞跃的进步，这不仅对生命科学有深远意义，同时也引起了工程技术界的重视。本书以近年来国际上在生物细胞膜离子通道各研究领域内所取得的重要成果为资料，阐述了离子通道的基本概念、理论和学说，对离子通道的实验记录技术、统计计算方法和基本内容进行了全面的介绍。目的在于为正在学习动物学、生理学、生物物理学、细胞生物学等有关专业的高年级学生和研究生提供一本具有教科书性质的参考书。本书内容丰富、深入浅出，附有模式简图，浅显易懂，适于上述各专业学生阅读。对于从事医学、药学、心理学的科研教学人员及攻读理科边缘学科，交叉学科的大学生、研究生，都不失为一本重要的参考书。

## 编译者的话

近年来,生物膜离子通道结构与功能的研究有了显著的发展,为阐明细胞的生命现象提供了重要的信息。这些信息不但对生物电的产生、传递有用,同时也被广泛应用于生理学、药理学和膜生物物理学。八十年代初发展起来的膜片钳(patch clamp)方法在技术上有了新的突破,为从分子水平了解生物膜离子单通道开、关动力学,通透性和选择性等膜信息提供了直接手段。在生物学的各个领域内已报道了大量的研究工作,预示对生物膜离子通道的认识将有一个新的飞跃。为此,我们在为研究生开设的“生物膜离子通道”专题课程基础上,以《可兴奋细胞离子通道》(Bertil Hille著《Ionic channels of excitable cell》,1985)为主,参阅了《微电极电压钳和膜片钳》(Thomas G. Smith, Jr.等著《voltage and patch clamping with microelectrodes》,1985)和《单通道记录》(Bert Sakman and Erwin Neher著《single-channel recording》,1983)的部分章节编译成本书。原著多用生物物理学方法、电学方法、电路理论和动力学模型,这对于我国生物专业读者正是需要加强的学习内容。但为了适应中国读者的情况,本书侧重于通道和进入此领域需要系统了解的基本内容,包括对于大学生、研究生在此领域应学习掌握的主要方面。读

者即使没有生物物理学者所具备的数学与物理学的有关训练，也能对本书内容加以理解。它对于生物科学、医学等专业的高年级学生和研究生来说，是一本有实用价值的参考书或教科书。

全书包括三部分：离子单通道记录技术，通道经典描述和通道的功能原理与机制，共十六章。参加本书编译的有：刘安西、陈守同、徐建华、赵文柱、宋长苓、宁黔冀。

由于水平有限，错误在所难免，恳请读者批评指正。

1989年11月

# 目 录

## 第一部分 生物膜离子单通道记录技术

<b>第一章 膜片钳 (patch clamp) 技术和生物膜</b>	
<b>离子通道</b> .....	( 1 )
第一节 概述.....	( 1 )
第二节 膜片钳放大器工作原理.....	( 3 )
第三节 单通道记录的膜片钳方法.....	( 8 )
第四节 膜片钳数据特点.....	( 12 )
<b>第二章 微吸引电极制作技术和工艺</b> .....	( 17 )
第一节 概述.....	( 17 )
第二节 玻璃电极、细胞膜及相互作用.....	( 17 )
第三节 微吸引电极制作技术.....	( 26 )
<b>第三章 微吸引电极与膜片几何参数</b> .....	( 37 )
第一节 概述.....	( 37 )
第二节 微吸引电极的几何学.....	( 37 )
第三节 细胞膜片的几何学.....	( 45 )
第四节 本章小结.....	( 54 )
<b>第四章 心肌和其他组织细胞的酶分散</b> .....	( 56 )
第一节 概述.....	( 56 )
第二节 酶分离细胞的方法.....	( 57 )

第三节	哺乳动物心脏细胞的分离.....	( 61 )
<b>第五章</b>	<b>全细胞式记录.....</b>	<b>( 65 )</b>
第一节	概述.....	( 65 )
第二节	全细胞式记录过程和技术.....	( 66 )
第三节	全细胞式钳位的评价.....	( 71 )
第四节	本章小结.....	( 81 )

## 第二部分 经典离子通道描述

<b>第六章</b>	<b>概述.....</b>	<b>( 83 )</b>
第一节	离子通道是跨膜孔道.....	( 83 )
第二节	通道和离子是兴奋性的基础.....	( 85 )
第三节	离子通道命名法.....	( 89 )
第四节	欧姆定律是核心.....	( 90 )
第五节	平衡电位和Nernst 方程.....	( 96 )
第六节	通道的电流-电压 (I-V) 关系.....	( 101 )
第七节	离子选择性.....	( 105 )
第八节	电信号是小离子流动的结果.....	( 106 )
<b>第七章</b>	<b>乌贼神经巨大轴突的经典生理学.....</b>	<b>( 108 )</b>
第一节	生物物理学者研究什么.....	( 108 )
第二节	动作电位- $\text{Na}^+$ 离子通透性增加的 再生波.....	( 110 )
第三节	电压钳位法直接测量膜电流.....	( 118 )
第四节	离子电导表示膜通透性的变化.....	( 125 )
第五节	钠电导控制两种动力学过程.....	( 129 )
第六节	Hodgkin-Huxley模型描述膜通透	

	性的变化过程.....	(132)
第七节	H-H模型可以预测动作电位.....	(138)
第八节	模型在机理上的含义.....	(141)
第九节	电压依赖性闸门具有门控电荷及门 控电流.....	(144)
第十节	经典生理学回顾.....	(149)
<b>第八章</b>	<b>轴突的钠、钾通道.....</b>	<b>(151)</b>
第一节	Hodgkin-Huxley模式.....	(151)
第二节	用药物和毒素分离电流和识别通 道.....	(153)
第三节	单通道结构的工作假说.....	(158)
第四节	轴突都具有相似的通道.....	(160)
第五节	髓鞘改变了通道的分布.....	(162)
第六节	钾通道的多样性.....	(164)
第七节	种类不多的钠通道.....	(168)
第八节	本章小结.....	(172)
<b>第九章</b>	<b>钙通道.....</b>	<b>(173)</b>
第一节	甲壳类动物肌肉的钙动作电位.....	(173)
第二节	可兴奋性细胞都有钙通道.....	(176)
第三节	钙通道随膜去极化激活.....	(177)
第四节	通透、饱和与阻断.....	(180)
第五节	钙通道的失活.....	(186)
第六节	钙离子调节收缩、分泌和门控.....	(189)
第七节	钙依赖性赋予电压依赖性.....	(194)
第八节	钙通道的自身调节.....	(198)
第九节	钙通道功能综述.....	(199)



<b>第十章</b>	<b>钾通道和氯通道</b> ·····	( 201 )
第一节	概述·····	( 201 )
第二节	延迟整流使动作电位瞬时完成·····	( 202 )
第三节	瞬时外流电流的空间重复反应·····	( 203 )
第四节	依赖Ca钾电流可延长复极化·····	( 208 )
第五节	内流整流引起长时间去极化反 应·····	( 213 )
第六节	钾通道小结·····	( 217 )
第七节	氯通道缺乏电兴奋性·····	( 221 )
<b>第十一章</b>	<b>终板通道和其它非电兴奋性通 道</b> ·····	( 225 )
第一节	概述·····	( 225 )
第二节	乙酰胆碱在神经肌肉接点的信息传 递·····	( 227 )
第三节	受体兴奋的几种方法·····	( 230 )
第四节	终板电流衰减是通道关闭固有的速 率常数·····	( 231 )
第五节	微观动力学简介·····	( 234 )
第六节	微观动力学支持Magleby-Stevens 假说·····	( 238 )
第七节	通道开放时兴奋剂仍与受体结 合·····	( 242 )
第八节	ACh受体有三种以上状态·····	( 243 )
第九节	终板通道门控概述·····	( 247 )
第十节	终板通道是通透阳离子的通道,但 对阳离子的选择性较差·····	( 248 )

第十一节	其它递质活化通道·····	( 250 )
第十二节	遥远感受器和内在感受器·····	( 253 )
第十三节	多样化的感觉通道·····	( 257 )

### 第三部分 通道的功能原理和机制

<b>第十二章</b>	<b>选择通透性，独立性·····</b>	<b>( 265 )</b>
第一节	膜分配控制通透性·····	( 265 )
第二节	Goldman-Hodgkin-Katz 等式描述分配与电扩散模型·····	( 269 )
第三节	Goldman-Hodgkin-Katz等式的推导·····	( 274 )
第四节	实际应用的电压等式·····	( 277 )
第五节	反转电位测定通透性比率·····	( 279 )
第六节	离子通道具有分子筛作用·····	( 286 )
第七节	本章小结·····	( 292 )
<b>第十三章</b>	<b>选择通透性：饱和与结合·····</b>	<b>( 293 )</b>
第一节	离子电流不遵守独立性规则·····	( 293 )
第二节	饱和性屏障模型：单离子通道 ( one-ion channels ) 理论·····	( 299 )
第三节	速率理论描述钠通道通透性·····	( 305 )
第四节	某些通道一次容纳一个以上离子·····	( 309 )
第五节	多离子模型理论·····	( 312 )
第六节	选择通透性小结·····	( 318 )
<b>第十四章</b>	<b>阻断机制·····</b>	<b>( 321 )</b>

第一节	药物-受体反应的亲和力与时间比 例.....	( 322 )
第二节	孔道内结合将产生电压依赖性阻 断, 如: 质子.....	( 326 )
第三节	某些阻断性离子必须等待闸门开 放, 如: TEA.....	( 331 )
第四节	局部麻醉剂产生应用依赖性 ( use- dependent ) 阻断.....	( 337 )
第五节	局部麻醉剂可以改变门控动力 学.....	( 342 )
第六节	抗无节律作用 ( antiarrhythmic action ) .....	( 346 )
第七节	终板通道的依赖性阻断.....	( 347 )
第八节	多离子通道与多离子阻断.....	( 349 )
第九节	STX和TTX是钠通道有效的选择 性阻断剂.....	( 353 )
第十节	阻断机制小结.....	( 356 )
<b>第十五章</b>	<b>门控调制剂.....</b>	<b>( 358 )</b>
第一节	链霉蛋白酶、反应试剂取消钠通道 失活.....	( 361 )
第二节	肽类毒素减缓失活.....	( 365 )
第三节	脂溶性毒素基团可以改变钠通道性 质.....	( 369 )
第四节	细胞外 $Ca^{2+}$ 离子改变电压依赖性 门控.....	( 373 )
第五节	负表面电位.....	( 378 )

第六节	表面电位理论缺点.....	( 383 )
第七节	门控调制剂小结.....	( 385 )
<b>第十六章</b>	<b>门控机制.....</b>	<b>( 388 )</b>
第一节	概述.....	( 388 )
第二节	蛋白质的频谱事件.....	( 391 )
第三节	什么是闸门.....	( 394 )
第四节	经典动力学简介.....	( 399 )
第五节	其他动力学方法.....	( 407 )
第六节	通道失活的复杂性.....	( 412 )
第七节	静止电荷与偶联.....	( 415 )
第八节	失活减弱电压依赖性.....	( 417 )
第九节	什么是模型.....	( 418 )
第十节	本章小结.....	( 419 )

# 第一章 膜片钳(patch clamp) 技术和生物膜离子通道

## 第一节 概 述

离子通道(ionic channels)是神经、肌肉和其它组织细胞膜兴奋性的基础,是生物电活动的基础。在近代神经生物学研究中,大量使用电生理方法,记录了神经系统电活动,研究各种电信号间的相互作用、转换和综合过程。Hodgkin和Huxley的离子学说解释了生物电的起源。认为细胞内外存在离子浓度差,静息时细胞膜仅对钾离子通透,形成膜外为正、膜内为负的电位差即静息电位。当受刺激兴奋时,细胞膜对钠离子通透增加,形成动作电位的上升相,并用电压钳位法(voltage clamp)对兴奋膜上的钾、钠通透性变化作了详细分析,得到著名的H-H方程,定量地描述了这个变化过程。70年代以来,人们曾想象离子通道可能是膜上存在的一种载体系统,需要特殊酶参与其活动。后经大量实验证明,离子通道很可能是一种受控的孔道。以后对闸门电流与膜噪声进行了研究,希望从中获得离子选择性和开关动力学的有关信息。直至1976年西德Neher和Sakmann直接从生物膜上记录了离子单通道电流。他们将玻璃微吸管与

仅含几个通道、面积为平方微米的蛙去神经肌膜封接起来,记录出皮安( $\text{pA}$ ,  $10^{-12}\text{A}$ )级的乙酰胆碱受体通道电流。这就是被称为膜片钳的单通道记录技术。记录电阻增高,信噪比改善,其电阻达到 $10 \times 10^9$ 欧姆时,频响为 $0 \sim 2000$ 赫兹,记录的电流可达 $0.06$ 皮安,比 $1$ 兆欧姆时小 $100$ 倍。1981年他们发表了改进的 $10$ 亿欧姆( $10\text{G}\Omega$ )的高阻封接(*giga-seals*)技术,大大提高了膜片钳技术的可靠性和灵敏度,可以测到 $1\text{pA}$ 的电流灵敏度, $1\mu\text{m}$ 空间分辨力及 $10\mu\text{s}$ 时间分辨力,八十年代初期发展起来的膜片钳技术,为从分子水平了解生物膜离子通道的开启和关闭、动力学、选择性和通透性等膜信息,提供了直接手段。细胞的电活动是受跨膜离子通道控制的。离子通道是细胞膜上的特殊蛋白质大分子。在脂双层膜上构成具有高度选择性的亲水孔道,允许适当大小和适当电荷的离子通过。细胞膜内、外离子浓度差决定离子扩散的方向。大多数离子通道大部分时间是关闭的,只是在特殊刺激下,打开的机率才大大增加,这种现象称门控(*gating*)。通道蛋白构象变化是门控的基础。流过单通道的电流形式是一系列等幅矩形脉冲波。脉冲时间间隔是指数分布的随机变量,其平均值与控制通道状态转换的分子速率常数有关。

离子通道分为两大类:配体与膜受体结合后打开的称配体门控性或化学门控性离子通道(*ligand or chemically-gated ion channels*),它们与突触传递有关,并按递质命名,如:乙酰胆碱受体通道、谷氨酸受体通道等。另一类对膜电位变化敏感,因膜电位变化打开或关闭称电压门控性离子通道(*voltage-gated ion channels*),它们按最易通

过的离子命名，如：钠通道、钾通道等。化学门控性离子通道的药理研究十分丰富而深入。电压门控性离子通道多为许多神经毒素和药物的作用靶，因此在药理学研究中同样具有重要意义。六十年代中期，随着钠通道阻滞剂河豚毒素作用原理的被阐明，离子通道概念才被广泛接受。随着电压钳位方法的广泛应用及膜片钳单通道技术的发展和与其它非电生理技术（重组DNA，单克隆）的引入，人们对离子通道的认识也有了飞跃的发展。其中钠通道研究最多，它已经被分离纯化并可重组到人工膜保留通道功能，其一级、二级结构也通过重组DNA技术得到阐明。此外，乙酰胆碱受体通道的分子结构也已确定。因此这些都将预示对生物膜离子通道的认识将有一个新的飞跃。

## 第二节 膜片钳放大器工作原理

记录单通道电流的膜片钳放大器是一台具有高增益低噪声的电流-电压转换器。

### 一、电流-电压转换器工作原理

测量微弱电流——电极电流（ $I_{\text{电极}}$ ）的常用方法是在电路中串联一个大电阻 $R$ ，记录其电压降。图1—1A中作为参考电压（ $V_{\text{参考}}$ ）的电池用以设置电极电位，电极电流是通过电阻器 $R$ 的电压降测得的，即输出电压 $V_{\text{输出}} = I_{\text{电极}} \cdot R$ （ $V = I_p R$ ），但是电极电位不能精确调节使其等于 $V_{\text{参考}}$ ，其误差取决于电极电流的大小。当电阻器 $R$ 大时，灵敏度就高，随之电压误差也会增加。为了解决这个问题，在连续调

节电压源  $V_B$  使  $V$  电极到某值时，直接测量  $V$  电极。这样与图 1—1A 相比，可以快速和精确地进行测定（图 1—1B）。但

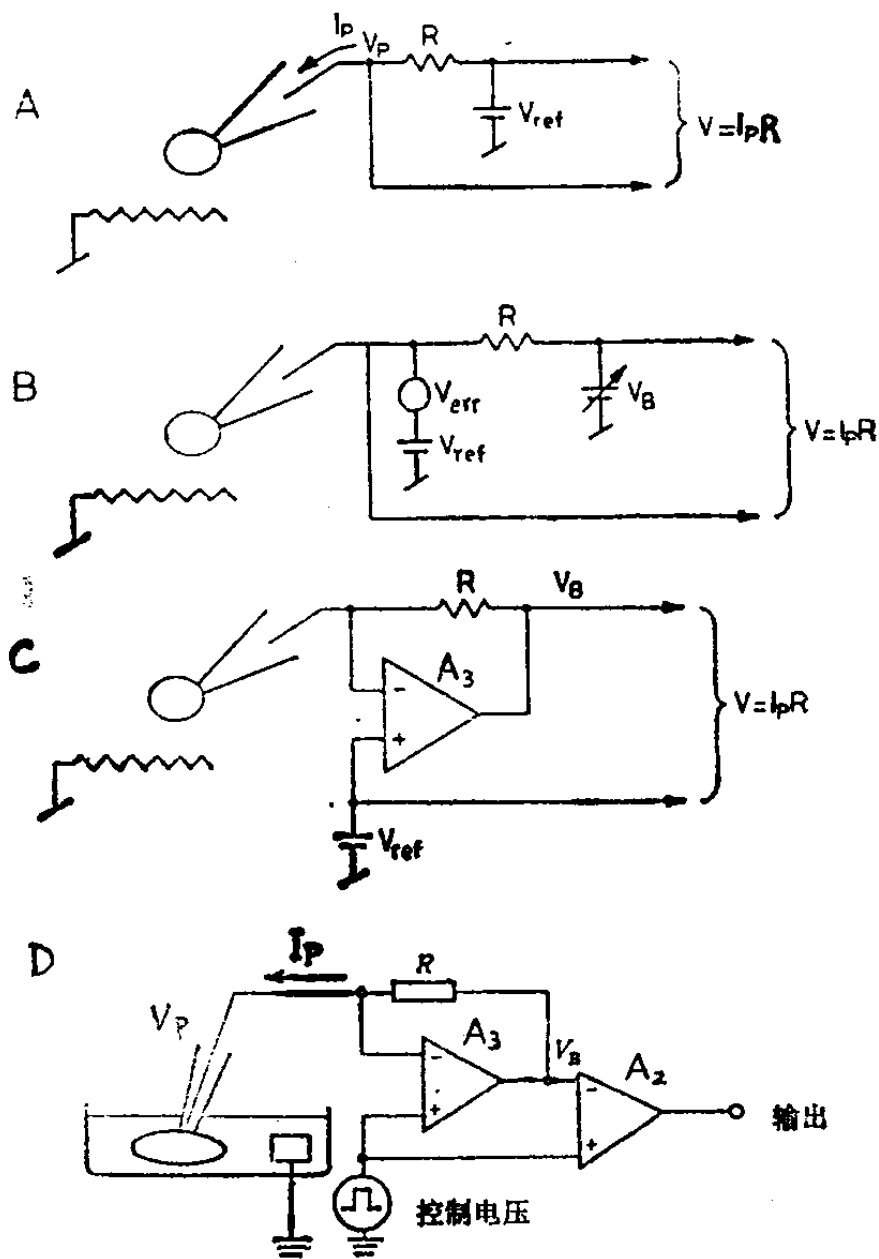


图 1—1 离子通道微电流测量线路

A. 调节参考电压  $V_{ref}$  等于电极电压  $V_p$  时以测量电极电流  $I_p$ ，其输出为  $V = I_p R$ 。B. 电压误差  $V_{err}$  与参考电压相关，调节  $V_B = 0$ ，以测量  $I_p$ 。C. 使用运算放大器  $A_1$  (三角形) 实现  $V_B$  的自动化调节。D. 膜片钳放大器框图



是在高灵敏度时，R值很大，因此用一块运算放大器代替  $V_B$  作为电压控制器，自动控制电压。其电压变化反映于  $V_+$ ， $V_-$  的输入端，公式为：

$$\frac{dV_{\text{输出}}}{dt} = \omega_A (V_+ - V_-) \quad (1-1)$$

$\omega_A$  因子可以很大，对于典型运放约为  $10^7 \text{秒}^{-1}$ ，输入端  $1 \text{mV}$  的电位差将输出  $10^4 \text{伏/秒}$ ， $\omega_A$  值由放大器增益-带宽产生（图1—1.C）。 $\omega$  代表每秒弧度的角频率。其频率关系为：

$$\omega = 2\pi f \quad \text{所以 } \omega_A = 2\pi f_A \quad (1-2)$$

$f_A$  是增益-带宽产生的频率，通常厂家给出  $f_A$  图表参数，同时也给出没有电流通过输入端时的运放参数图供使用设计电路者参考。这是重要的特点，否则将干扰测量电流。 $A_1$  为差分放大器，其输出电压为：

$$V_{\text{输出}} = A \cdot I_{\text{电极}} \quad (1-3)$$

A 为放大器的增益或放大倍数。图1—1.C 为电流-电压转换线路，运放输出保持在电极电位（ $V_{\text{电极}}$ ）。精确表示为  $V_B - V_{\text{参考}}$  相当于  $V_B - V_{\text{电极}}$ ，即可得到通过电阻器 R 的电压降。通常用标准的差分放大器线路来测量电位差。图1—1.D 是对膜片钳制的同时，记录膜电流变化的装置框图。它是稍加改进的电流-电压转换器，由于

$$\frac{dV_B}{dt} = A_2 (V_{\text{控制}} - V_{\text{电极}}) \quad (1-4)$$

运算放大器的增益-频率乘积  $A_2$  很大，约为  $10^7 \text{秒}^{-1}$ ，