

本文是孔正院士在英国《自然》杂志发表于 2005 年第 436 卷第 4 期（8 月份）第 647~654 页的英文文章，由复旦大学上海医学院施永德教授作了中文翻译，由孔正教授亲自校正，其中孔正教授的同事周新良教授也参与校正。孔正教授是 2012 年当选美国科学院院士的。译稿完成后他又作了该领域至 2012 年为止的新补充。中文译文如下（该译文已经刊登在由上海科学技术文献出版社 2012 年出版的书籍《Recent Advances in Mechanobiology》第 112~122 页上，该书名誉主编：Shu Chien；主编：施永德；合作主编：Masahiro Sokabe; Ching Kung 孔正；Boris Matinac；Keiji Naruse；Wojciech Dzwolac）。

力感统一原理的探讨

孔 正

威斯康辛大学 分子生物学实验室及遗传学系
1525 Linden Drive, Madison, Wisconsin 53706, U.S.A.

摘要

阿里斯多德所论的五种感觉中，视觉、嗅觉、味觉都因配体 (ligands) 与 G 蛋白偶联受体的键合而启动；但力感（触觉与听觉）的分子基础至今仍然模糊。近来，个别感应力的分子（如力感的离子通道）已经被阐明。一些直接感应机械力的离子通道蛋白分子，从细菌表膜提纯后再在人工脂双层 (lipid bilayer) 膜中再重新组装，没有任何其它蛋白分子，就能够感应来自脂双层的机械力。目前的研究更显示，真菌，植物，及动物细胞之力感通道的开关与脂肪也有密切关系。

序言

所有生物都有力感（机械力感觉）：如昆虫有听觉、蠕虫受点触会抽搐、海葵被撞就收缩。就算单细胞的草履虫，碰其前端则返后游动，碰其后端则朝前加速。植物生根和发芽都取向于地心吸力，其主干高度与围度的比例取决于风吹雨打的撞击量。动物除了听觉与触觉以外，还有许多力感受器，如大脑环室性器官（circumventricular organs, 专门测定系统渗透压）、主动脉压力感受器（baroreceptors, 是量血压的感受器）、肌肉梭受体（spindle receptors, 感受肌肉屈伸）、本体感受器（proprioceptors, 量度肢体的位置）等等。连骨骼也在不断地测量着应力，而顺应发育或再生。舌头灵敏地探测含物的硬度和大小，以免我们连黄沙或石头也吞下去。

力感不同于其它感觉。感觉气味、激素、神经介质,和其它具可溶性化学配体(溶质)的分子基础已经被充分的了解:它们是锁与钥匙的关系,每一个配体专一地针对某一个装置在表膜上的受体袋。然而,感受渗透压、干渴感、接触、震荡、硬度、纹理等力敏感分子至今仍然甚少了解。我们知道很多膜上都装备有力敏感(Mechanosensitive, MS)离子通道的,它们感应与周围水(溶剂)浓度成比例的细胞充盈和表膜膨胀。这种离子通道的蛋白质已经从一些细菌里给克隆出来而且被结晶化。加上用遗传学、电生理学、及其他各种化学和物理方法的研究,现在已证明这些蛋白质能够直接检测来自脂双层上的力,并对之作出反应。比起细菌,目前对于植物和动物之力感离子通道蛋白的研究滞后一些。部分原因是解剖学上的复杂性,阻碍了简化解决方法的应用。尽管如此,新近在线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila*)、蛙卵(*Xenopus oocyte*)和哺乳类细胞上的研究也指出力感离子通道的门控与脂肪的密切关系。有一类叫“短暂性受体电位”(Transient Receptor Potential, TRP)的离子通道蛋白,现在认为能感觉振动、触碰、和因渗透压而起的表膜紧张。这样,如下的结论就有可能:生物力的检测归根结底发生在通道蛋白和脂肪界面上。不管是脂双层的变形或者是通道或脂双层受到牵拉,在界面上的位移足以供应开放通道蛋白的能量。

本文论及许多领域的主要进展,涉及从内耳毛细胞至细菌等多种研究课题。传统的研究学科分类,以致造成如微生物学与神经生物学之间的隔阂,妨害了各个课题之间的交流。然而,生命的基本机制,诸如 DNA 复制、RNA 转录、蛋白翻译、三羧酸循环、电子传递、以及现今的离子过滤和电压门控,尽管它们大都源自于早期微生物的实验,但后来都公认为包罗整个生命系统的统一原理。本综述探讨在表面上五花八门由离子通道感受的力感是否也由一个共同的物理化学机制来控制。尽管触觉、听觉和渗透压感觉,表面上看起来是风马牛不相及的研究,然而它们均针对同一个物理参数:力。无论其施加得有多长久,有多频繁,力就是力,一个达因就是一个达因。

力敏感的表膜通道保护受雨淋的细菌

生命绝大部分是水里的化学。我们往火星去寻找水,间接地寻求其生物存活的可能。细胞里,近 80%是水。水过多或过少都能致命。渗透压力是一个测量水含量的标尺,因此它是细胞能否存活的一种基本尺度。虽然水的浓度亟高(55.6 M),但仅仅 10 mOsM(毫渗透克分子浓度)的差别,就可以造成近 180 毫米汞柱(约 2.5×10^5 达因/厘米²)的渗透压。这压力施于一个 2 微米直径的球的表面上,会产生约 12 达因/厘米的张力。可叹的是,感应这种张力的蛋白分子,还仅仅是在最近十年才从细菌里偶然地发现。当一个细胞在大自然遇到雨淋或在实验室里遭到水稀释,水即透过脂肪膜朝细胞里面扩散(无需通过所谓水通道蛋白)。如此,细胞就充盈起来,鼓涨的力量可达几百个大气压(10^8 达因/厘米²),远远地超过细胞外层可以承受的张力。早在上世纪 50 年代,我们已经知道大肠杆菌(*Escherichia coli*)遇到水稀释(低渗透压休克)就会释放其内部的渗透溶质(即

小分子, 小离子)(图 1a)。例如, 把培养液作 1:100 倍的水稀释, 细菌就排出 95% 以上带 C^{14} 标记的脯氨酸 (参考文献 1)。跟踪其它渗透溶质如 K^+ 、乳糖、ATP 等得到同样的结果(2)。然而排空了这些溶质的细菌仍然保存其高分子(如蛋白、核酸等), 并未死亡。放回培养液里, 在几分钟之内又能制造新的蛋白质(1)。几乎半个世纪来我们虽然有释放溶质的“应急阀门”这个概念, 但它到底是什么物质, 一直搞不清楚。直至 1987 年(3), 两种对力敏感的通道的运作才用电生理的方法在 *E. coli* 上发现。当发现这具有大小两种单位电导 (unitary conductance) 的力感通道 (Mechanosensitive channel of large or small unitary conductance, MscL 和 MscS) 时, 猜想它们就是那些“应急阀门”, 但未能证实。一直到 1999 年, Booth 及其合作者(4)发现 $\Delta mscL$ 和 $\Delta mscS$ 的 *E. coli* 双敲除变种, 面临即使相当温和的水稀释也会炸裂。这才证实了以上这个想法。MscL 和 MscS 功能相叠, 所以单变种没有明显炸裂的现象。因为 $\Delta mscL$ 或 $\Delta mscS$ 单变种细菌没有明显的表现型, 所以在上个世纪用变异遗传方法来彻底地解剖 *E. coli* 的各种生理机制这段历史里, 未能发现 MscL 和 MscS。它们最后还是在用膜片钳 (patch clamp) 的方法在 *E. coli* 表膜上勘查时发现的(见后文)。水如此重要, 细菌有多种短期和长期的防卫以抵抗缺水或肿水。力敏感通道 (MS channels) 反应最快。较慢的防卫包括由 RNA 控制的高分子重组。

原核细胞的力敏感离子通道

MscL 和 MscS 的存在是被 Martinac 及其合作者(3)在细菌膜上作电生理勘查时首先发现的。取一片大肠杆菌的小膜片, 先控制(钳定)好它的膜电压再吮吸(或者把浴液稀释), 就会产生强大的单位电流的阶梯波(5)。这就是力感离子通道的活力。这种活力可以人工重组。也就是说, 先把细菌膜溶解以后, 提纯通道的蛋白质, 然后把这纯化好的蛋白重新搁到人为的脂肪膜(脂双层)上, 这蛋白仍然能显示其力敏感离子通道的活力(图 1b)(6)。MscL 的单位电导 (unitary conductance) 约 3 毫微西门子 (nS, 10^{-9} S); MscS 约 1 nS。它们没有离子或颗粒的选择性, 故其单位电导比通常研究的具有选择性的通道大 10-1000 倍。活力信号如此巨大, 细菌又能供应无穷无尽的原材料, 那就应该能够从通道活力追踪到通道的物质。于是, 经过层析的组份分离, 终于提纯了 MscL 的蛋白, 再由蛋白找到它的基因(7、8)。这蛋白不太大, 具有两个跨膜 (transmembrane, TM) 的 α 螺旋, 称为 M1 和 M2(7、9)(图 2 左)。后来, Chang 及其合作者分析了肺结核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 的 MscL 通道的晶体结构, 看到它是一个由 5 个亚基 (subunits) 组成的五聚体。里边 5 个 M1 往细胞质方向聚合, 从而关闭蛋白中心的孔道(10, 图 2 中)。在 2001 年, Sukharev 及其合作者(11)用计算机模拟和蛋白交联实验建立了一个模型。它描写通道开放时, 10 条跨膜螺旋都倾斜和旋转, 像照相机的光圈地打开一个 30 Å 直径中心大孔(图 2 右)。次年 Martinac 及其合作者经过定位标记之后, 通过电子顺磁共振光谱试验, 结果大致上符合这个模型(12、13)。*E. coli* MscS 蛋白的克隆(4)和晶体(14)研究显示, 它是一个由 7 个亚基组成的七聚体。每个蛋白亚基有 3 个跨膜 α 螺旋。孔道由 7 个 M3 聚集而成。其结构与 MscL 的蛋白完全不同。关于 MscL 和 MscS 的遗传学、生物化学、生物物理学、模拟等等研究不时都有综述(见 15-18)。

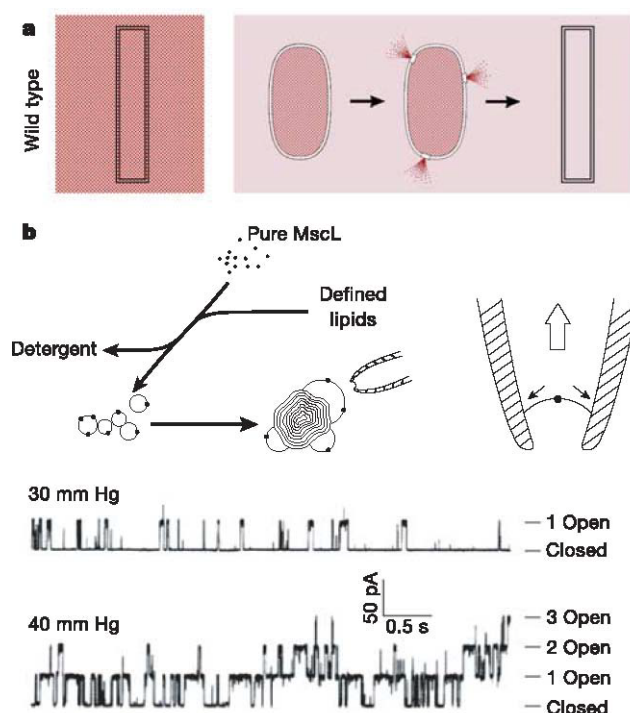


图 1 通道作为活细菌应急释放阀门（体内功能），以及纯化后 MscL 通道蛋白敏感性实验（体外功能）。

a，大肠杆菌 (*E. coli*) 细胞在正常环境（左）和在雨水中（或人为地受水稀释后，右）。当周围环境有相当高的渗透浓度时，一个细菌（红杆）能相应调节其细胞质的浓度（深红色，红点是溶质，而不是水）。面临其环境突然被雨水稀释（淡红色），水透过双脂层使细菌鼓胀起来（卵形）。张力从而扯开力敏感通道，籍以释放内部的溶质（红喷射），以达到一个新的平衡，以免炸裂（恢复至杆状）。

b，在去污剂中纯化好的 MscL 蛋白质，经过用脂肪来取代去污剂的过程，被重组到多层脂肪体上。膜泡可以从这些多层脂肪体上诱导出来。于是，就可以用膜片钳的小吸管电亟在膜泡上取样。施加于小吸管的吸啜（大空心箭头）就产生了在所取的膜片上的张力（小箭头），激活了里面的 MscL 蛋白。当吸引力由 30 增加至 40 毫米汞柱时 ($4 \times 10^4 \text{ dyn cm}^{-2}$ 至 $5.3 \times 10^4 \text{ dyn cm}^{-2}$)，膜片上通道打开的数目显著增加。就是力感通道蛋白活力的证据（根据 15，有所修改）。

来自脂肪的力控制原核细胞的力感通道

走简化方向的极端，把纯化好的 MscL 蛋白组装在脂双层上（只含一或两种定质的脂肪）（12、13）能原封不动地保留它对力的敏感（图 1b）。既然没有其他的成分，那么，这蛋白质检测到的张力一定是来自脂肪。MscL 服从波茨曼分布 (Boltzmann distribution)。关与开之间的分布，取决于传给 MscL 蛋白的机械能。以 50% 的开与关这一中间值为准，张力约 12 达因/厘米（19）。调到

这样的敏感性，似乎适合其生物学上所承担的任务（图 1a）。(MscL 的张力阈值比上述的张力低得多。MscS 的野生型 (20) 和 MscL 的所谓“增加功能 (gain-of-function) 变种” (21、22)，阈值更低。) MscL 能在各种脂双层里运作。无论脂头带不带有电荷、脂尾饱和和不饱和，脂肪单纯或混杂，都不妨碍其运作。缩短脂肪酸链的碳原子从 20 个到 18 个又再缩短到 16 个，会按次降低关与开之间的能量势垒，但不会引起其自动开启 (12、13)。

目前通用的 MscL 和 MscS 运作的模型，都考虑源自于脂双层本身的机械力。脂双层与水溶液不同，它有很大的各向异性。换言之，脂双层在离外界不同深度的层面，有非常不同的物理性质。油水之间的界面，有序地排列水分子和脂肪分子，因而降低了自由能。这自由能的下降反映为脂肪亲水的头部和疏水的尾部之间巨大的表面张力。因为脂双层是一个自我组合的稳定结构，这张力受附近的压力得到平衡。纯脂双层的内部力量分布已经由 Cantor 计算出 (23、24，图 3a)，并经分子动力学模型检查 (25、26)。【这是纯粹脂双层的分析。至于蛋白质与脂肪的相互作用如何改变界面的力量分布，虽然正在研究 (27)，但还未分析清楚。】脂肪内部的力量约在几百个达因/厘米数量级 (25)，远远高于脂双层所能承受的外来张力 (几十个达因/厘米)。任何嵌入脂双层里的蛋白质都会受到这些强大的局部拉力和推力。改变膜内的张力和推力分布，或者通过某种系统 (见下面讨论) 令通道或脂肪位移，均能使通道蛋白偏袒能量地转型，如转到开放的结构 (图 3b)。好几个研究室为此作分子动力学电脑模拟。Gullingsrud 和 Schulten 把模拟拉力放在张力最大的地方 (即脂肪的甘油三酯骨架头尾之间的水平)，指向在这水平的 MscL 氨基酸 (图 2，黄色箭头处)。这样的模拟可以显示了三维立体的碰撞或蛋白结构解体。如果 MscL 通道转型打开的话，不应有碰撞或解体。他们追踪了 1 个 MscL 的蛋白分子里的 111, 079 个原子、365 脂肪分子、和 22, 308 个水分子的位置，计算出 MscL 蛋白分子确实在 10 毫微秒 (nsec) 的时间段内开放。开放如同照相机的快门，与原先的模型吻合 (11-13)。

除了外来的力以外，脂双层本身组成物质也影响其内部的力。参入化学结构不同的各种双性阳离子能使血红细胞的表膜出现杯状的凹入。相反，加入双性阴离子使之形成局部鼓胀 (棘形) (28)。不管何故引起脂双层几何形状的变化，都会改变其内力的分布。果然，这些双性离子显著地激活 MscL 和 MscS。这些双性离子的激活能力与它们在脂肪里的可溶性成正比 (29)，而且它们参入脂双层之一层有效。一起参入脂双层的两面反而无效 (13)。Anderson 及其合作者观察在脂双层结构改变后，短杆菌肽 A (gramicidin A) 的运作，证明参入脂双层的脂肪的几何形状很重要 (30)。通常组成脂双层的磷脂接近园棒形 (图 4 红色)，但组成非脂双层状的胶束 (micelle) 的溶血磷脂 (只具一根脂肪酸链) 即近圆锥形 (图 4 蓝色)。多聚不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs)，比如花生四烯酸 (arachidonic acid, AA，即前列腺素的前体)，则形成头小尾大的倒圆锥形 (图 4 绿色)。椎体或倒椎体插入单面或非等量地插入脂双层的两面可以引起脂双层的局部弯曲及其内力分布的改变，以至张力在双脂层中重新分布 (图 3a)。往表膜加入溶血卵磷脂 (lysophosphatidylcholine) 果然可以引起 MscS 的开放 (13)。结构上各种各样的麻醉药，都有脂溶性。理论上认为会改变双脂层的内力分布 (31)。普罗卡因 (procaine) 和丁卡因 (tetracaine) 确实能激活 MscS (29)。

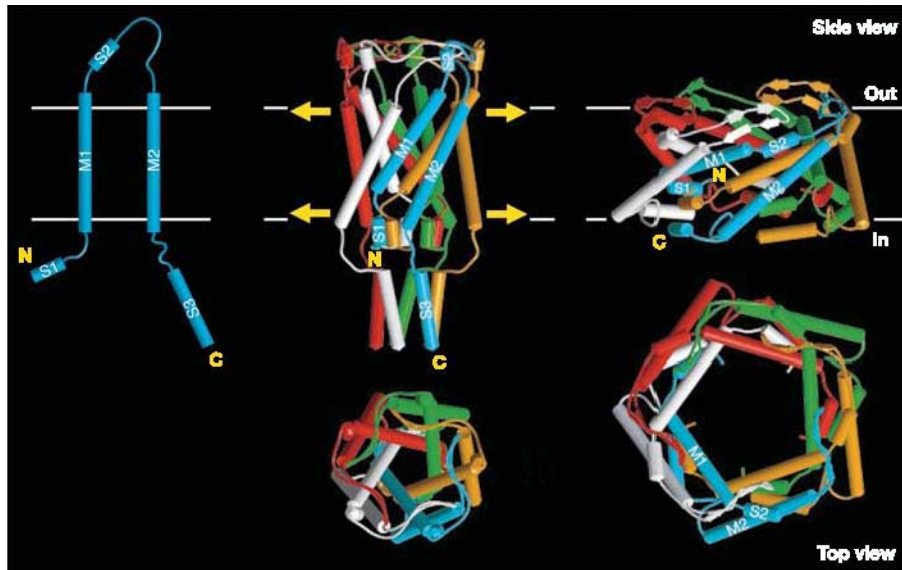


图 2 大肠杆菌 MscL 的开放。

左：MscL 亚基蛋白（subunit protein）单位的结构，包括膜外的 3 条 α 螺旋段（S1、S2、S3），和 2 条穿透脂双层 α 螺旋段（M1、M2）。这是根据氨基酸序列（7）和其它分析结果（9）而推理出来的。

中上和 中下：分别示 5 亚基而成的通道打开之前的侧面观和顶面观。这大肠杆菌（*E. coli*）的 MscL 关闭时的蛋白骨架结构是由 *M. tuberculosis* 的 MscL 的晶体结构类推出来的（10）。

右上和 右下：分别示其通道打开后的侧面观和顶面观。这 MscL 开发后的结构是根据建模和各种实验（11）推理出来。MscL 的结构与 MthK（一种原核生物的钾离子通道）不同，MthK 具有第二个窄门，即其离子过滤器。而 MscL 却与乙酰胆碱受体通道的结构类似。开口同时有过滤的功能。MscL 的孔门亟大，其直径大至 30 Å，适于无鉴别地释放各种溶质（如图 1a 所示）。用张力来增加通道面积所做的功，形成划分关闭与开放两种结构之间的自由能的差距（根据 11，有所修改）。

真核细胞的力敏感离子通道

植物（如 *Arabidopsis thaliana*）有明确地有 MscS 对应的同系物。动物细胞膜大都具有力敏感的电导，但是仅很少查出其基因产品。虽然它们与 MscS 和 MscL 在氨基酸序列不同，但它们的特性却很相似。Patel 及其合作者发现哺乳类的多向敏感的钾离子通道 TREK-1 (two-pore domain weak inward-rectifying (TWIK)-related K^+ channel)，可被力或渗透压激活，又象 MscS 和 MscL 一样，可被形成棘形的双性离子，如三硝基苯酚，（也叫做生棘剂，crenater）所激活，但可被形成杯状的双性离子，如 Chloproazine 所抑制（32、33）。锥形的溶血卵磷脂（lysophosphatidylcholine）可激活之，大锥形溶血磷脂酰肌醇（lysophosphatidylinositol）即激活更有效（32—34）。各种结构不同的麻醉药如氯仿、氟烷、isoflurane、二乙基乙醚也能激活 TREK-1（35）。带负电荷脂肪

如磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP₂, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) 或磷脂酸 (phosphatidic acid), 当它呈现在膜的内片时, 也激活 TREK-1 (36), 带电而锥形的溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid) 激活力更强 (参考文献 36)。

钆 Gd³⁺, (一种细小的镧系元素, lanthanide) 可以抑制力感离子通道以及某些其它的离子通道 (38、39)。其抑制的机制相当复杂, 也包括它在脂双层上的作用 (39、40)。Sachs 和其他作者发现, 一种狼蜘蛛毒液中有一种双性分子, 是具 34 个 L-氨基酸的肽 (41)。它能抑制在培养的哺乳类细胞上的力感电流 (42)。他们还发现人工合成的具 34 个 D-氨基酸的对映体, 同样有效 (43)。既然 D-氨基酸肽不可能象锁和钥匙接到通道蛋白上, 那么它应是进入脂双层, 进而影响通道周围环境。

真核细胞在脂双层附近有其广延的细胞骨架, 它通常被认为是力的传递者。但是这一观点有待进一步认真检验。Hamill 等检验了复杂的蟾蜍卵母细胞 (*Xenopus oocytes*) 表面上的力感离子通道 (44)。他们在表面上诱发囊泡, 泡内几乎没有细胞骨架成分的存在。但他们仍然在泡膜上继续观察到力感通道的活力 (16、44)。他们已经把这膜上的通道的活力追踪到 TRPC1 (transient receptor-potential canonical 1) (45, 见以下讨论)。近细胞表面的细胞骨架网络通常把大量的多余的脂双膜折叠起来, 挤成的微绒毛或腔室。这个网络伸展程度远比脂双层伸展程度大。因此, 细胞膨胀时, 可以并不增加脂双层的总面积和张力。这就是为什么力感通道电流有时在整个细胞上测不出来, 但能在的用膜片钳取样以致失去细胞骨架之后的膜片上测得出来的缘故 (46、47)。

动物的感觉细胞里通常有微管 (microtubules), 如纤毛的轴丝 (axoneme) (见下)。Chalfie 及其合作者所研究的线虫 *C. elegans* 之长长的触觉细胞里, 也有具特型的微管顺延其长度 (48、49)。线虫变异有两种表现形: 一是失去触觉 (所谓“失去功能” “loss-of-function” 的变异), 另一是引起触觉细胞退化 (所谓“增加功能” “gain-of-function” 的变异)。这些精美的研究, 让研究者找到一系列触觉所需的基因 (叫 *mec* 基因)。所包括的 *mec-4* 和 *mec-10* 基因相当于通道的亚基蛋白 (subunit protein), 是类似上皮钠离子通道的。放入蟾蜍卵母细胞里, 能通导电流 (51、52)。这些通道以及它们的相连的蛋白, 形成了点串状, 间隔分布于线虫触觉细胞里的微管所占的长度上。MECs 家族包括一种细胞外的基质蛋白 (matrix protein, MEC1) 和特型微管素 (MEC-7 和 MEC-12)。以前的模型说法形容一个跨细胞膜的复合物, 类似于脊椎动物的毛细胞原先的“捕抓门” (trapdoor) 模型 (现已有所修改, 见下)。认为细胞外的基质移位, 受到微管的阻抗, 打开了它们之间的通道 (48、49)。而近来的分析指出, 点串结构的形成需要有 MEC-1 和在细胞外基质中至少两种其他的基因产物。然而通过突变技术将微管剔除以后, 对点串的结构与功能仅仅只有极小的影响, 甚至没有影响 (53、54)。再者, 在 *mec-7* 突变种里, 传导电流是减弱了但是没有被废除。这些观察和事实说明, 到底力感通道是否直接受紧连着微管的牵线所控制, 到现在还是一个问题 (参考文献 53)。

通道连上具硬性的东西并不一定意味力的传递。现代细胞生物学教导我们, 正常的蛋白质都跟其他蛋白作短暂或长期的接触。例如果蝇处理光信号的感受器, 虽然并非是传递机械力感受器, 它的成员: 视紫红质、G 蛋白、酶和通道蛋白, 都紧密地结合在一起, 称为“传递体 (transducisome)” (56) 或“信息复合体 (signalplex)” (57)。它们也是连接到由肌动蛋白组成的细胞骨架, 以便把它们放置和保存在细胞的表面。

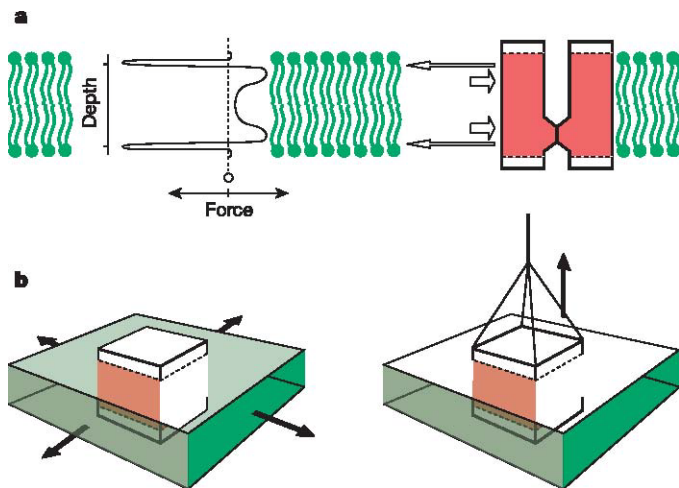


图 3 脂双层的内部力，及其外来力如何打开力敏感通道。

- a. 内力分布示意图，绘画力方向和大小跟脂双层深度之间的关系（左）和通道蛋白的侧面卡通（右），指出近脂肪分子颈区尖锐的张力（窄箭头）被附近较为扩散的压力（宽箭头）所平衡，同时施之于通道蛋白与脂肪的界面（红色）。
- b. 当脂双层（绿色）被拉张或被弯曲（左），或当通道被拴线(tether)像电梯般从脂双层位移时（右），通道与脂肪的界面（红）上承受的力会发生改变。拴线也可能通过辅助蛋白拉张通道周围的脂肪。所有以上情况，在界面上力分布的改变都可以成为触发通道蛋白构型变动的最终原因。

TRP 通道是怎样打开的？

近来报道的一些力感通道是属于 TRP 家族的（45、58、59）。这家族里首先的成员是从一种近盲而在视网膜电图(electroretinogram) 上显示短暂受体电位（transient receptor potential, TRP）的变种果蝇里研究出来的(60)。从失去力感这样的变异生物表现型，能毫无事先偏见地追踪到这些 TRP 通道蛋白，这就是前向遗传学(forward genetics)的优点。近来已经有 6 次用这方法成功地在不同的生物上追踪到这些 TRP 蛋白，（在线虫（61、62）、果蝇（63、64）、小鼠（65）和人类（66））。6 次不同的追踪，归结于同一家族，这不可能是偶然。用此法已查出 7 种以上的 TRPs。它们不但成为往前研究的对象，而且发现跟力感有关。

TRPV4 (TRP vanilloid -4)，以前叫 VROAC (the vanilloid receptor-related osmotically activated channel)，是在哺乳动物的力感 TRP 中最热门的。它存在于各种组织，包括中枢神经系统里的环室器官(circumventricular organs) 和内耳的毛细胞。细胞膨胀的压力（67）、培养液流动所产生的切应力（68）、或温和的环境低渗改变（69、70），都可以激动在异源表达之后的 TRPV4 的全细胞电流。除掉氨基末端的三个锚蛋白区 (ankyrins)，并不明显地减小 TRPV4 对于低渗透性的反应性(69)。Bargmann 实验室首次由 *osm-9* 变种线虫发现了力敏感的 TRPV。 *osm-9* 变种线虫不能象野生型那样，在面临高渗溶液或前端受碰触时倒退蠕动（71）。具正常的 OSM-9 通道，但不能合成一系列 20 个碳原子的 PUFAs（包括 AA，如图 4 所示）的变种线虫，行为上有跟 *osm-9* 变种类同的短缺，但从营养

上供应 PUFAs 则可以恢复正常的行为 (72)。大鼠的 TRPV4 氨基酸序列仅仅只有 24% 与线虫的 OSM-9 等同。尽管如此, Liedtke 等发现, 一个大鼠的 *trpv4* 转基因可以弥补 *osm-9* 变种线虫行为上的缺陷。并且, 修复好的倒退行为表现热血动物而非冷血动物的阈温度和最佳温度 (73)。进一步实验, 除掉 TRPV4 处于细胞质里的氨基末端区域和羧基末端区域(一般认为这可能是细胞骨架的连接部位), 这种削短了的 *trpv4* 仍然能补救 *osm-9* 变种 (73)。TRPV4 的通道的单位电导还没有细心地研究。不同的实验室报导为 310pS (69), 60pS (74), 30 和 88pS (70)。唯一直接往膜片施加吸力的工作报告说未能激活 TRPV4 (70)。相反 Maroto 等 (45) 报导从蛙卵细胞膜检测到 20 pS 的力感电导(在蛙 Ringer's 溶液中), 并通过脂肪体重建追踪到 TRPC1, 继之 Maroto 等更用异源的方法来表达人类的 TRPC1, 并证明它能产生有力感的单位电流。虽然纯化的 TRPC1 的重建还没有报导, 但是此工作已经接近显示到某些 TRP 通道所感受的力, 直接源于脂肪。

与力感相关的离子通道几乎都出现于所有的 TRP 亚家族成员: TRPV、TRPC、TRPA (ankyrin-like)、TRPP (polycystin)、TRPN (NOMPC, no mechanoreceptor potential C)、TRPY (酵母里的) 以及 TRPML (mucolipins) 也有可能。这些 TRP 亚家族成员, 各有其不同的在细胞质里的结构域, 说明这结构域并非力敏感性的关键所在。TRP 通道具多应性 (polymodal)。比如异源表达出来的 TRPV4, 就是有各式各样的激活方式, 如被热、被佛波脂 (phorbol ester), 被 anandamide、被花生四烯酸 (AA) 等所激活。由 Julius 研究室鉴定的, 极有名的热敏感 vanilloid 受体 (即 TRPV1), 也可被低 pH 和内源的各种炎症配体所激活。*trpv1* 的基因敲除小鼠和它们的胆囊表皮对低渗透有异常反应 (76)。一个通用开关可被几个不同的刺激打开似乎挺优胜, 然而 现在已经证明不同的刺激是通过不同的途径去打开 TRPV4 的 (77)。

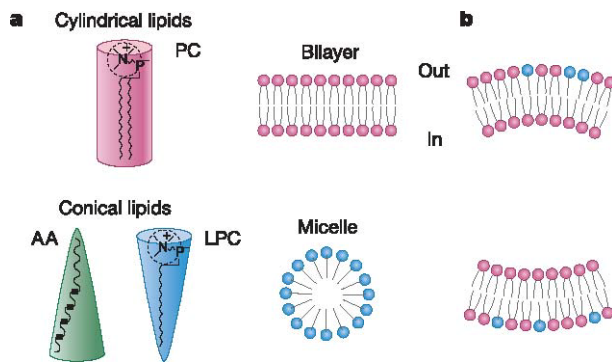


图 4 组合成员的形状对双脂层的几何形态和内力的影响。

a. 形成脂双层的磷脂（红色），如卵磷脂（phosphatidylcholine, PC），近乎圆棒体。形成胶束（micelle）的溶血磷脂（蓝），例如只具一条脂肪酸链的溶血卵磷脂（lysophosphatidylcholine, LPC），可以简化作圆锥体。多聚不饱和脂肪酸（polyunsaturated fatty acids, PUFAs），如花生四烯酸（arachidonic acid, AA），类似倒圆锥形（图 4 绿色）。

b. 往脂双层的两层里，不等量地添加锥状的脂肪（或其它双性物质）能导致形态的改变，因而导致脂双层的内力重新分布（根据 32，有所修改）。

拴线的作用

好几个 TRP 通道已发现于一些复杂的力敏感器官之中。如果蝇的弦听器官（chordotonal organ），有一个基质（matrix）紧压著感觉纤毛顶端的神经树突帽盖（dendritic cap）。离顶端大概三分之一的地方感觉纤毛往外扩张突出。Kim、Kernan 及其合作者在果蝇基因组中发现只有两个 TRPV 通道，即 NAN（来自 *nanchung* 基因，78），和 IAV（来自 *Inactive*，79）。看来是由这两种蛋白混成的通道把振动转导为受体电位差。NAN 和 IAV 的蛋白质处于纤毛部分而不在神经元的其他部位。这些蛋白处于纤毛突出处及以下的部分，离纤毛顶端有一段距离（图 5a）。当压著在神经树突帽盖的基质受力时，在下边纤毛表膜里的 IAV-NAN 怎么去感受这力，目前尚未清楚。NAN（78）和 IAV（79）的蛋白质已经分别由培养细胞中表达出来。低渗能导至的电流和细胞质里 Ca^{2+} 浓度的增加。最简单的想法是，通道蛋白籍膜面的牵拉来感受振动。至于这通道是否由其他蛋白把它连接在纤毛轴丝上、这样的连接是否能作力的传递、以至其他通道蛋白是否也有作用【如居于纤毛顶端的非力感受体电位 A，即简称为 NOMPA，全称为 no mechanoreceptor potential A（参考文献 79）】，如此等等有待进一步澄清。

脊椎动物的毛细胞线明显地用拴线往力感通道传导其开门的力量。初期的想法是通道蛋白由一种阻抗的力量固定，蛋白某些局部受拴线拖拉。这想法目前有争议。近来分子鉴定的成果使这一领域的研究大踏步地发展。首先在感觉毛细胞中的 TRPN，在斑马鱼中发现是听觉与平衡所必须的。然后 cadherin 23 给发现

为毛细胞的纤毛顶端连线 (tip link) 的主要成份 (81, 82)。但 cadherin 23 太硬, 不适合生物物理研究中所认为必需的弹簧。近来 Corey 等报道 TRPA1 的 mRNA 随毛细胞发育过程适时出现, 而且活体实验在 TRPA1 基因表达敲减 (非敲除) 时, 减低了力的转导 (83)。TRPA1 坐落在被动纤毛 (stereocilia) 的上部, 但不在顶端。TRPA1 也出现在毛细胞的 pericuticular zone (可能与分泌有关) 和又在自动纤毛 (kinocilium) 上。(能动纤毛是具有微管轴的真纤毛, 但不是每一个毛细胞都有能动纤毛, 图 5b)。有如上的快速步伐, 我们可以期待, 在不久的将来, 在这领域里会把其他基因产品也鉴定出来。目前, 鉴定好的分子在生物物理学的蓝图上赋予实物, 以致在毛细胞力传导上, 传统的“捕抓门”(“trapdoor”)模型有所修改 (图 5c 左)。根据计算和模拟, TRPA1 本身一连串很长的氨基末端的锚蛋白区 (N-terminal ankyrin repeats), 与在生物物理上的开门弹簧 (gating spring) 的弹性相匹配 (图 5c 右)。(图 5c 的卡通及其他类似图形, 不应作实际精确观。目前, 拴线如何结定以及通道组成的亚基 (subunits) 的数目和其他成分, 都还没有弄清楚。上头的拴绳可能是连接于膜下面的开门弹簧上, 而不是连在通道本体的)。比较彻底的研究过由几个亚基组成的多聚通道, 如 MthK (85), *Methanobacterium thermoautotrophicum* 的钾离子通道)、MscL (12)、MscS (14) 等通道的开放均为像照相机的快门。但是至今仍不明白, 被动纤毛的一维运动, 何以能在把纤毛膜里的 TRP 的四聚体作二维的扩张。也不知道纤毛膜在传导力量的时候怎么移开。除了在内耳之外, TRPA1 也表达在背根神经节、三叉神经、光受体的神经元。这使得人们考虑, TRPA1 那一连串锚蛋白区锚蛋白重复在这些的地方又有怎么功能呢? 有人建议锚蛋白区有组装 TRP 四合体的作用 (86)。

回到本综述的主题, 纤毛顶端连线纤维所至的通道垂直运动, 并不能排除脂双层在机制上的参与。一种如“提升机”的提升运动, 也仍然能把通道在脂双层的内力分布中作相对的位移 (图 3 右)。由这位移引起的蛋白和脂肪之间的错配与不对称可以成为通道蛋白因力能而变型的最终原因。甚至可能有小块的脂双层圈定区而由拴绳去拉它的边缘, 通过脂肪把力传到圈内的通道蛋白 (图 3b 左), 但是这种可能性还没有人去研究。“捕抓门”(图 5c 左) 通常解释为通过机械做功把某些蛋白质结构的局部与其它部分的分离 (17)。“提升机”是把整体通道蛋白从脂肪环境中移动, 然后导致照相机快门式的开张 (图 3b 右)。“捕抓门”也好, “提升机”也好, 两个模型都可以容纳传统理论里上机械阻抗和弹性元素的存在。因为脂类的化合物能激活 TRPA1, 故此难以想象 TRPA1 能对脂肪无动于衷。Gillespie 及其合作者报道, PIP_2 是处于毛细胞束的顶端, 同时它们是在传导和适应力时所必需的 (87)。按最初的报道, 小鼠的 TRPA1 是冰冷的感觉器 (88), 它也可以被缓激肽、芥末油、肉桂油、冬青油、以及大麻类品的油所激活 (89, 90)。

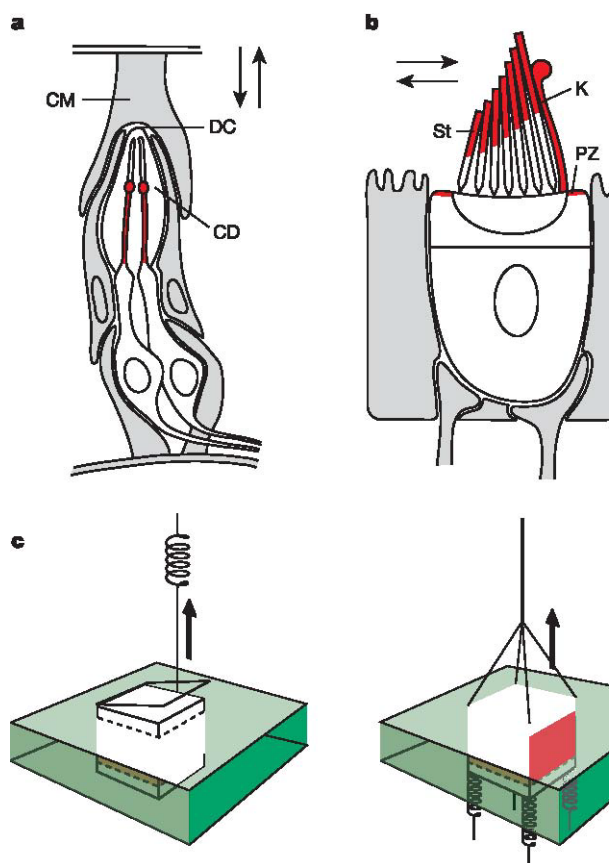


图5 听觉感受细胞的TRP通道。

TRP通道已经发现于复杂的听觉细胞中，但纤毛振动（箭头对）如何导致纤毛上的通道象照相机的光圈地被打开，即尚不明了。

a. 果蝇的触须上的弦听器官 (chordotonal organ). CM: cap-cell matrix (帽盖细胞的基质); DC: dendritic cap (神经树突帽盖); CD: ciliary dilation (纤毛扩张)。红色示NAN坐落处 (NAN是一种TRPV型通道蛋白，来自*nanchung*基因) (参考78重画)。

b. 脊椎动物听觉系统毛细胞。St: stereocilia (被动纤毛), K: kinocillum; (能动纤毛), PZ: pericuticular zone ; 红色示TRPA1坐落区 (参考83 修改)。

c. 脊椎动物毛细胞传导通道的模型。分子鉴定已经引起原先生物物理的“捕抓门”模型 (左) 的修改。TRPA通道连接在因具有cadherin而坚硬的纤毛顶端连线 (tip link)上 (右)。物理上传导体的弹性元素目前假设在四个TRPA亚基的四串锚蛋白区 (ankylins) 上 (83、99) (示为弹簧)。这些锚蛋白区按理是连接在细胞骨架或肌球蛋白上。通道蛋白在脂双层中位移亦能激发通道蛋白构型改变，如图3b右所示。这两种模型是可以兼容的。然而，所有模型目前都不应看得太认真或具体，因为我们目前还不知道力传导通道的实质和组合成分，也不知道这些通道的成分如何互相联系与接触。关于其他可能的模型，请阅读主文。

溶质感与溶剂感

专一感觉器官纤毛，发育自胚胎的原纤毛。其进化源于能运动的纤毛，类似于草履虫 (*Paramecium*) 和衣藻 (*Chlamydomonas*) 等的纤毛或鞭毛。我们能超过原生生物，追踪运用 TRP 的力感的进化起源吗？力感 TRP 通道已经发现于酵母内的空泡表膜里 (91)。酵母的 TRP 通道，在离体 (92) 与在体 (93、94) 的实验中都对渗透力有反应。因为所有细胞都得应付渗透力，这就是寻找力感进化源头的线索。多数非寄生的细菌 (*Bacteria*) 和古细菌 (*Archaea*) 有 MscL 与 MscS 蛋白。因此，机械门控的力量来自脂双层这原则，极可能发生在 35 亿年之前。就目的论而言，可以合理地认为这种机制起源很早。当远早细胞分隔开内外两种溶液并在内液储藏溶质时，分界上经过渗透就出现水的梯度，因而产生膨胀压。这膨胀压明显地一直被沿用。细胞一定得充盈才能保持其生长的稳定状态 (steady state)。这膨胀压用于断裂有抗力的物质网络 (如膜、细胞壁、细胞外基质、细胞骨架等等) 以便新材料的参与。突然增加鼓胀压，如下雨之时 (水过量化) 或者鼓胀压大减，如长久烈日干晒 (缺水化)，都是离开正常生长的稳定状态。这就是大自然所施加的选择压力，令远早细胞产生力感的机制，即如 TRP、MscS、MscL 等等的先祖。一旦用脂肪力量激活蛋白的原则出现，大自然应会继续应用它去检测其它的来源的力，即使新一代的蛋白质会不断地淘汰老一代。如上所述，在现代动物里许多 TRP 通道蛋白仍然对施于脂双层的渗透压力起反应，虽然它们的亲属通道蛋白已经专门化，负责管理听觉、平衡、触觉，或质地纹理感。

如今，细胞表面上有各种受体，以便反应气味、激素、刺激剂、神经介质、生长因子等等。它们在氨基酸序列上看是互非同属，但它们可能出现於进化过程中的同源分化或汇集分化。更重要的是，所有如上的配体感觉 (ligand sensing) 都基于同一个锁与钥匙的物理化学原理。但是，一个蛋白受体与水结合也是锁与钥匙的关系是不可想象的。这是因为细胞能够鉴别小至毫渗当量的 (milimolar, mM) 水浓度的内外差异，但水本身的浓度却是几十个克分子量 (tens molar, 10^2 M)。水浓度上的迅速变化必定得用另外一种不同的机制来感受。从这观点出发，就不难想象现代各种各样的机械力感受体也可以源之于早期细胞膜上简单的渗透压感觉装置 (95)。图 6a 展示一个“远祖细胞”具有两个种类不同机制的受体，一类是对付溶质 (如营养素和废品)，另一类是对付溶剂 (水)。图 6b 简化地代表不同的感觉在 35 亿年中的演化史。这不是一个分子分支图。支干的分布形状也没有精确的意义。此图仅仅表示感觉在进化开始的时候，为数不多，并表示营养素的感覺和水的感覺是最基本的、最古老的、而又是截然不同的。此图强调这两种感觉分明的类别，指出其源之于如何应对溶质与溶剂这两个生命化学里最基本的成分。

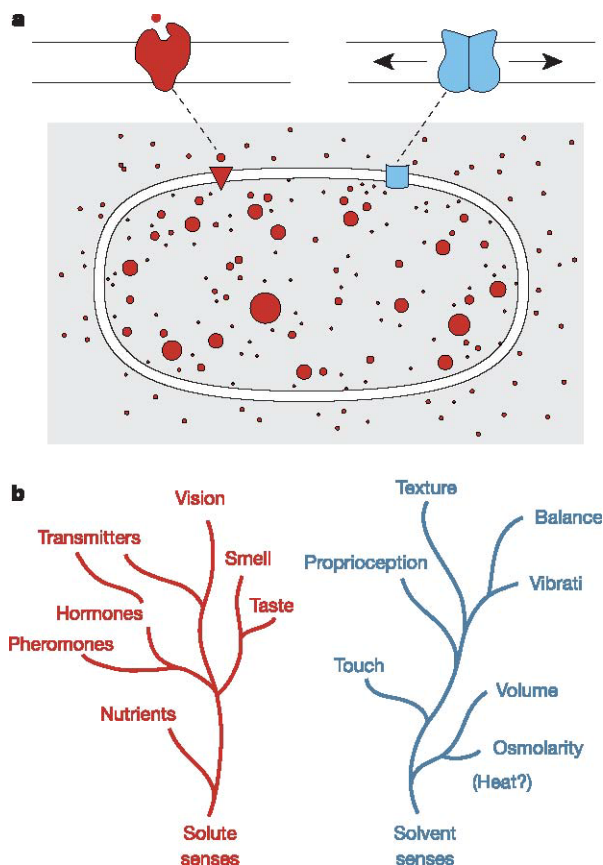


图 6 溶质与溶剂的分别感觉

a. 想象中一个远祖细胞的示意图。细胞装配有两种必需的受体，分别地感觉溶质与溶剂。这两者是构成生命化学成分。灰背景中的点子代表水分子（溶剂），红色圆圈代表溶质（溶于水中的分子）。细胞聚集溶质，固内水浓度下降。外水因此进入细胞，引起鼓胀。细胞有为不同溶质（化学配件）而设，运用锁与钥匙原理的感受器（示红色）。细胞也有针对水（溶剂）的鼓胀感受器（示蓝色）。这两者都是远祖细胞存活所必不可少的。**b.** 各种感受分类示意图（请勿误会为分子进化分枝图，phylogenetic tree）。此图强调各式各样的溶质感受（红色）（运用锁与钥匙原理）与溶剂感受（蓝色）（运用机械力源于脂双层原理）之间的截然区别。主文中有进一步的述说。根据 100, 有所修改）。

复杂性 & 未知领域

溶质感觉与溶剂感觉的差别，有助于澄清我们的思想。许多溶质受体不需要膜。由 X 光衍射分析出来的晶体结构证明某些力敏感通道蛋白没有专一配体结合的部位（如 MscL 和 MscS）。但这些例子并不能叫我们否认有兼用这两种原则的受体。大自然有机会主义的倾向，一直在随机修改。很可能有某些受体蛋白会具有配件结合口袋面对内外水溶液，同时又面对脂肪传导来的张力。此种复杂性可以解释某些通道的多应性 (polymodality) (74) 或特色。【例如线虫依赖 TRPV 的蠕动行为而需要 PUFAs 的某些特点，但是不一定要花生四烯酸 (AA) (72)，而在体外异源表达时，TRPV4 需要 AA 的代谢产物 (74)。】复杂性也可以来自于“信号脂肪”，在蛋白-脂-水的交界处运作。例如加用 PIP_2 往脂双层的内层增加负电荷 (87)，就会发生局部的静电效应 (36、37) 以及随之而来的脂肪重新分布和脂双层力分布改变。

在“论灵魂”一书中 (96)，阿里斯多德争辩说没有五觉之外的感觉。他说热与冷是触觉而已。他这话，未可厚非。生物学上，热的测量和力的测量似乎绞缠在一起。由热引起脂双层重组可以改变膜的张力，由此控制多应性 TRP 通道的开关 (97)。就目的论而言，TRP 通道的设计是否为了测定热和力的总和（比如说，叫“疼痛”）吗？从机械力学的角度，我们能在同一个蛋白分子里将力感觉位点与热感觉位点分开吗？“一切物质都受力和热的影响”这句话是对的，但也是多余无助的。怎么去设计一个蛋白-脂-水的复合体，叫它对因热量增加而激动特别敏感？为何一个相似的复合体会感应热量的减小？何以建造某些 TRPs 叫它有极高的 Q_{10} 值（甚至于超过 10）呢？如果热感受器官偶联于电压感受器 (98)，这是怎么的偶联机制呢？难道通道与脂肪的复合物的温度感觉不是依赖于疏水物与水相互作用的熵变值吗？为什么温度的模拟品（如辣椒素、薄荷素，和生姜）是油性的呢？为什么引起麻木感觉的试剂是属于双性的呢？为什么种种麻醉药的药效和它们在橄榄油里的溶解度成正比呢（Meyer-Overton 法则）？蛋白质-脂-水之间的交界处还会隐藏着多少其它秘密呢？如果想回答这些问题，很多工作放在我们面前。也许像下了一场暴雨以后，知识的闸门在最近的将来会大大地开放。

以下是图 1~图 6 的说明文字

图 1 通道作为活细菌应急释放阀门（体内功能），以及纯化后 MscL 通道蛋白敏感性实验（体外功能）。

a，大肠杆菌 (*E. coli*) 细胞在正常环境（左）和在雨水中（或人为地受水稀释后，右）。当周围环境有相当高的渗透浓度时，一个细菌（红杆）能相应调节其细胞质的浓度（深红色，红点是溶质，而不是水）。面临其环境突然被雨水稀释（淡红色），水透过双脂层使细菌鼓胀起来（卵形）。张力从而扯开力敏感通道，籍以释放内部的溶质（红喷射），以达到一个新的平衡，以免炸裂（恢复至杆状）。
b，在去污剂中纯化好的 MscL 蛋白质，经过用脂肪来取代去污剂的过程，被重组到多层脂肪体上。膜泡可以从这些多层脂肪体上诱导出来。于是，就可以用膜片钳的小吸管电亟在膜泡上取样。施加于小吸管的吸吸（大空心箭头）就产生了在所取的膜片上的张力（小箭头），激活了里面的 MscL 蛋白。当吸引力由 30 增加至 40 毫米汞柱时 ($4 \times 10^4 \text{ dyn cm}^{-2}$ 至 $5.3 \times 10^4 \text{ dyn cm}^{-2}$)，膜片上通道打开的数目显著增加。就是力感通道蛋白活力的证据（根据 15，有所修改）。

图 2 大肠杆菌 MscL 的开放。

左：MscL 亚基蛋白 (subunit protein) 单位的结构，包括膜外的 3 条 α 螺旋段 (S1、S2、S3)，和 2 条穿透脂双层 α 螺旋段 (M1、M2)。这是根据氨基酸序列 (7) 和其它分析结果 (9) 而推理出来的。

中上和 中下：分别示 5 亚基而成的通道打开之前的侧面观和顶面观。这大肠杆菌 (*E. coli*) 的 MscL 关闭时的蛋白骨架结构是由 *M. tuberculosis* 的 MscL 的晶体结构类推出来的 (10)。

右上和 右下：分别示其通道打开后的侧面观和顶面观。这 MscL 开发后的结构是根据建模和各种实验 (11) 推理出来。MscL 的结构与 MthK (一种原核生物的钾离子通道) 不同，MthK 具有第二个窄门，即其离子过滤器。而 MscL 却与乙酰胆碱受体通道的结构类似。开口同时有过滤的功能。MscL 的孔门亟大，其直径大至 30 Å，适于无鉴别地释放各种溶质 (如图 1a 所示)。用张力来增加通道面积所做的功，形成划分关闭与开放两种结构之间的自由能的差距 (根据 11，有所修改)。

图 3 脂双层的内部力，及其外来力如何打开力敏感通道。

a. 内力分布示图，绘画力方向和大小跟脂双层深度之间的关系 (左) 和通道蛋白的侧面卡通 (右)，指出近脂肪分子颈区尖锐的张力 (窄箭头) 被附近较为扩散的压力 (宽箭头) 所平衡，同时施之于通道蛋白与脂肪的界面 (红色)。

b. 当脂双层 (绿色) 被拉张或被弯曲 (左)，或当通道被拴线 (tether) 像电梯般从脂双层位移时 (右)，通道与脂肪的界面 (红) 上承受的力会发生改变。拴线也可能通过辅助蛋白拉张通道周围的脂肪。所有以上情况，在界面上力分布的改变都可以成为触发通道蛋白构型变动的最终原因。

图 4 组合成员的形状对双脂层的几何形态和内力的影响。

a. 形成脂双层的磷脂 (红色)，如卵磷脂 (phosphatidylcholine, PC)，近乎圆棒体。形成胶束 (micelle) 的溶血磷脂 (蓝)，例如只具一条脂肪酸链的溶血卵磷脂 (lysophosphatidylcholine, LPC)，可以简化作圆锥体。多聚不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs)，如花生四烯酸 (arachidonic acid, AA)，类似倒圆锥形 (图 4 绿色)。

b. 往脂双层的两层里，不等量地添加锥状的脂肪 (或其它双性物质) 能导致形态的改变，因而导致脂双层的内力重新分布 (根据 32，有所修改)。

图5 听觉感受细胞的TRP通道。

TRP通道已经发现于复杂的听觉细胞中，但纤毛振动（箭头对）如何导致纤毛上的通道象照相机的光圈地被打开，即尚不明了。

a. 果蝇的触须上的弦听器官 (chordotonal organ). CM: cap-cell matrix (帽盖细胞的基质); DC: dendritic cap (神经树突帽盖); CD: ciliary dilation (纤毛扩张)。红色示NAN坐落处 (NAN是一种TRPV型通道蛋白，来自*nanchung*基因) (参考78重画)。

b. 脊椎动物听觉系统毛细胞。St: stereocilia (被动纤毛), K: kinocillium; (能动纤毛), PZ: pericuticular zone ; 红色示TRPA1坐落区 (参考83 修改)。

c. 脊椎动物毛细胞传导通道的模型。分子鉴定已经引起原先生物物理的“捕抓门”模型 (左) 的修改。TRPA通道连接在因具有cadherin而坚硬的纤毛顶端连线 (tip link) 上 (右)。物理上传导体的弹性元素目前假设在四个TRPA亚基的四串锚蛋白区 (ankylins) 上 (83, 99) (示为弹簧)。这些锚蛋白区按理是连接在细胞骨架或肌球蛋白上。通道蛋白在脂双层中位移亦能激发通道蛋白构型改变，如图3b右所示。这两种模型是可以兼容的。然而，所有模型目前都不应看得太认真或具体，因为我们目前还不知道力传导通道的实质和组合成分，也不知道这些通道的成分如何互相联系与接触。关于其他可能的模型，请阅读主文。

图 6 溶质与溶剂的分别感觉

a. 想象中一个远祖细胞的示意图。细胞装配有两种必需的受体，分别地感觉溶质与溶剂。这两者是构成生命化学成分。灰背景中的点子代表水分子 (溶剂)，红色圆圈代表溶质 (溶于水中的分子)。细胞聚集溶质，固内水浓度下降。外水因此进入细胞，引起鼓胀。细胞有为不同溶质 (化学配件) 而设，运用锁与钥匙原理的感受器 (示红色)。细胞也有针对水 (溶剂) 的鼓胀感受器 (示蓝色)。这两者都是远祖细胞存活所必不可少的。b. 各种感受分类示意图 (请勿误会为分子进化分枝图，phylogenetic tree)。此图强调各式各样的溶质感受 (红色) (运用锁与钥匙原理) 与溶剂感受 (蓝色) (运用机械力源于脂双层原理) 之间的截然区别。主文中有进一步的述说。根据 100, 有所修改)。

参考文献

1. Britten, R. J. & McClure, F. T. The amino acid pool in *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 26, 292–335 (1962).
2. Berrier, C., Coulombe, A., Szabo, I., Zoratti, M. & Ghazi, A. Gadolinium ion inhibits loss of metabolites induced by osmotic shock and large stretchactivated channels in bacteria. *Eur. J. Biochem.* 206, 559–565 (1992).
3. Martinac, B., Buechner, M., Delcour, A. H., Adler, J. & Kung, C. Pressuresensitive ion channel in *Escherichia coli*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 84, 2297–2301 (1987).
4. Levina, N. et al. Protection of *Escherichia coli* cells against extreme turgor by activation of MscS and MscL mechanosensitive channels: identification of genes required for MscS activity. *EMBO J.* 18, 1730–1737 (1999).
5. Martinac, B., Delcour, A. H., Buechner, M., Adler, J. & Kung, C. *Advances in Comparative and*

- Environmental Physiology 3—18 (Springer, Heidelberg, 1992).
6. Delcour, A. H., Martinac, B., Adler, J. & Kung, C. Modified reconstitution method used in patch-clamp studies of *Escherichia coli* ion channels. *Biophys. J.* 56, 631—636 (1989).
 7. Sukharev, S. I., Blount, P., Martinac, B., Blattner, F. R. & Kung, C. A large-conductance mechanosensitive channel in *E. coli* encoded by *mscL* alone. *Nature* 368, 265—268 (1994).
 8. Sukharev, S. I., Martinac, B., Blount, P. & Kung, C. Functional reconstitution as an assay for biochemical isolation of channel proteins: application to the molecular identification of a bacterial mechanosensitive channel. *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 6, 51—59 (1994).
 9. Blount, P. et al. Membrane topology and multimeric structure of a mechanosensitive channel protein of *Escherichia coli*. *EMBO J.* 15, 4798—4805 (1996).
 10. Chang, G., Spencer, R. H., Lee, A. T., Barclay, M. T. & Rees, D. C. Structure of the MscL homolog from *Mycobacterium tuberculosis*: a gated mechanosensitive ion channel. *Science* 282, 2220—2226 (1998).
 11. Sukharev, S., Betanzos, M., Chiang, C. S. & Guy, H. R. The gating mechanism of the large mechanosensitive channel MscL. *Nature* 409, 720—724 (2001).
 12. Perozo, E., Cortes, D. M., Sompornpisut, P., Kloda, A. & Martinac, B. Open channel structure of MscL and the gating mechanism of mechanosensitive channels. *Nature* 418, 942—948 (2002).
 13. Perozo, E., Kloda, A., Cortes, D. M. & Martinac, B. Physical principles underlying the transduction of bilayer deformation forces during mechanosensitive channel gating. *Nature Struct. Biol.* 9, 696—703 (2002).
 14. Bass, R. B., Strop, P., Barclay, M. & Rees, D. C. Crystal structure of *Escherichia coli* MscS, a voltage-modulated and mechanosensitive channel. *Science* 298, 1582—1587 (2002).
 15. Sukharev, S. I., Blount, P., Martinac, B. & Kung, C. Mechanosensitive channels of *Escherichia coli*: the MscL gene, protein, and activities. *Annu. Rev. Physiol.* 59, 633—657 (1997).
 16. Hamill, O. P. & Martinac, B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol. Rev.* 81, 685—740 (2001).
 17. Sukharev, S. & Corey, D. P. Mechanosensitive channels: multiplicity of families and gating paradigms. *Sci. STKE* doi:10.1126/stke.2332004eg7 (2004).
 18. Blount, P. Molecular mechanisms of mechanosensation: big lessons from small cells. *Neuron* 37, 731—734 (2003).
 19. Sukharev, S. I., Sigurdson, W. J., Kung, C. & Sachs, F. Energetic and spatial parameters for gating of the bacterial large conductance mechanosensitive channel, MscL. *J. Gen. Physiol.* 113, 525—540 (1999).
 20. Sukharev, S. I., Martinac, B., Arshavsky, V. Y. & Kung, C. Two types of mechanosensitive channels in the *Escherichia coli* cell envelope: solubilization and functional reconstitution. *Biophys. J.* 65, 177—183 (1993).
 21. Ou, X. R., Blount, P., Hoffman, R. J. & Kung, C. One face of a transmembrane helix is crucial in mechanosensitive channel gating. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95, 11471—11475 (1998).
 22. Maurer, J. A. & Dougherty, D. A. Generation and evaluation of a large mutational library from the *Escherichia coli* mechanosensitive channel of large conductance, MscL: implications for channel gating and evolutionary design. *J. Biol. Chem.* 278, 21076—21082 (2003).
 23. Cantor, R. S. Lateral pressures in cell membranes: a mechanism for modulation of protein function. *J. Phys. Chem.* 101, 1723—1725 (1997).
 24. Cantor, R. S. The influence of membrane lateral pressures on simple geometric models of

- protein conformational equilibria. *Chem. Phys. Lipids* 101, 45–56 (1999).
25. Lindahl, E. & Edholm, O. Spatial and energetic-entropic decomposition of surface tension in lipid bilayers from molecular dynamics simulations. *J. Chem. Phys.* 113, 3882–3893 (2000).
 26. Gullingsrud, J. & Schulten, K. Gating of MscL studied by steered molecular dynamics. *Biophys. J.* 85, 2087–2099 (2003).
 27. Wiggins, P. & Phillips, R. Analytic models for mechanotransduction: gating a mechanosensitive channel. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 101, 4071–4076 (2004).
 28. Sheetz, M. P. & Singer, S. J. Biological membranes as bilayer couples. A molecular mechanism of drug-erythrocyte interactions. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 71, 4457–4461 (1974).
 29. Martinac, B., Adler, J. & Kung, C. Mechanosensitive ion channels of *E. coli* activated by amphipaths. *Nature* 348, 261–263 (1990).
 30. Lundbaek, J. A., Maer, A. M. & Andersen, O. S. Lipid bilayer electrostatic energy, curvature stress, and assembly of gramicidin channels. *Biochemistry* 36, 5695–5701 (1997).
 31. Cantor, R. S. The lateral pressure profile in membranes: a physical mechanism of general anesthesia. *Toxicol. Lett.* 100–101, 451–458 (1998).
 32. Patel, A. J., Lazdunski, M. & Honore, E. Lipid and mechano-gated 2P domain Kt channels. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 422–428 (2001).
 33. Patel, A. J. et al. A mammalian two pore domain mechano-gated S-like Kt channel. *EMBO J.* 17, 4283–4290 (1998).
 34. Maingret, F., Patel, A. J., Lesage, F., Lazdunski, M. & Honore, E. Lysophospholipids open the two-pore domain mechano-gated Kt channels TREK-1 and TRAAK. *J. Biol. Chem.* 275, 10128–10133 (2000).
 35. Patel, A. J. & Honore, E. Anesthetic-sensitive 2P domain Kt channels. *Anesthesiology* 95, 1013–1021 (2001).
 36. Chemin, J. et al. A phospholipid sensor controls mechanogating of the Kt channel TREK-1. *EMBO J.* 24, 44–53 (2005).
 37. Chemin, J. et al. Lysophosphatidic acid-operated Kt channels. *J. Biol. Chem.* 280, 4415–4421 (2005).
 38. Yang, X. C. & Sachs, F. Block of stretch-activated ion channels in *Xenopus* oocytes by gadolinium and calcium ions. *Science* 243, 1068–1071 (1989).
 39. Hamill, O. P. & McBride, D. W. Jr The pharmacology of mechanogated membrane ion channels. *Pharmacol. Rev.* 48, 231–252 (1996).
 40. Ermakov, Y. A., Averbakh, A. Z., Yusipovich, A. I. & Sukharev, S. Dipole potentials indicate restructuring of the membrane interface induced by gadolinium and beryllium ions. *Biophys. J.* 80, 1851–1862 (2001).
 41. Suchyna, T. M. et al. Identification of a peptide toxin from *Grammostola spatulata* spider venom that blocks cation-selective stretch-activated channels. *J. Gen. Physiol.* 115, 583–598 (2000); erratum *J. Gen. Physiol.* 117, 371 (2001).
 42. Guharay, G. & Sachs, F. Stretch-activated single ion channel currents in tissue-cultured embryonic chick skeletal muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 352, 685–701 (1984).
 43. Suchyna, T. M. et al. Bilayer-dependent inhibition of mechanosensitive channels by neuroactive peptide enantiomers. *Nature* 430, 235–240 (2004).
 44. Zhang, Y., Gao, F., Popov, V. L., Wen, J. W. & Hamill, O. P. Mechanically gated channel activity in cytoskeleton-deficient plasma membrane blebs and vesicles from *Xenopus* oocytes. *J.*

- Physiol. (Lond.) 523, 117–130 (2000).
45. Maroto, R. et al. The role of TRPC1 in forming the mechanosensitive cation channel in frog oocytes. *Nature Cell Biol.* 7, 179–185 (2005).
 46. Morris, C. E. & Horn, R. Failure to elicit neuronal macroscopic mechanosensitive currents anticipated by single-channel studies. *Science* 251, 1246–1249 (1991).
 47. Zhang, Y. & Hamill, O. P. On the discrepancy between whole-cell and membrane patch mechanosensitivity in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 523, 101–115 (2000).
 48. Ernstom, G. G. & Chalfie, M. Genetics of sensory mechanotransduction. *Annu. Rev. Genet.* 36, 411–453 (2002).
 49. Goodman, M. B. & Schwarz, E. M. Transducing touch in *Caenorhabditis elegans*. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 429–452 (2003).
 50. Bianchi, L. et al. The neurotoxic MEC-4(d) DEG/ENaC sodium channel conducts calcium: implications for neurosis initiation. *Nature Neurosci.* 7, 1337–1344 (2004).
 51. Goodman, M. B. et al. MEC-2 regulates *C. elegans* DEG/ENaC channels needed for mechanosensation. *Nature* 415, 1039–1042 (2002).
 52. Chelur, D. S. et al. The mechanosensory protein MEC-6 is a subunit of the *C. elegans* touch-cell degenerin channel. *Nature* 420, 669–673 (2002).
 53. Emtage, L., Gu, G., Hartwig, E. & Chalfie, M. Extracellular proteins organize the mechanosensory channel complex in *C. elegans* touch receptor neurons. *Neuron* 44, 795–807 (2004).
 54. Zhang, S. et al. MEC-2 is recruited to the putative mechanosensory complex in *C. elegans* touch receptor neurons through its stomatic-like domain. *Curr. Biol.* 14, 1888–1896 (2004).
 55. O'Hagan, R., Chalfie, M. & Goodman, M. B. The MEC-4 DEG/ENaC channel of *Caenorhabditis elegans* touch receptor neurons transduces mechanical signals. *Nature Neurosci.* 8, 43–50 (2005).
 56. Tsunoda, S. et al. A multivalent PDZ-domain protein assembles signaling complexes in a G-protein-coupled cascade. *Nature* 388, 243–249 (1997).
 57. Montell, C. TRP trapped in fly signalling web. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8, 389–397 (1998).
 58. Montell, C., Birnbaumer, L. & Flockerzi, V. The TRP channels, a remarkably functional family. *Cell* 108, 595–598 (2002).
 59. Corey, D. P. New TRP channels in hearing and mechanosensation. *Neuron* 39, 585–588 (2003).
 60. Minke, B., Wu, C.-F. & Pak, W. L. Induction of photoreceptor voltage noise in the dark in *Drosophila* mutant. *Nature* 258, 84–87 (1975).
 61. Colbert, H. A., Smith, T. L. & Bargmann, C. I. OSM-9, a novel protein with structural similarity to channels, is required for olfaction, mechanosensation, and olfactory adaptation in *Caenorhabditis elegans*. *J. Neurosci.* 17, 8259–8269 (1997).
 62. Barr, M. M. & Sternberg, P. W. A polycystic kidney-disease gene homologue required for male mating behaviour in *C. elegans*. *Nature* 401, 386–389 (1999).
 63. Walker, R. G., Willingham, A. T. & Zuker, C. S. A *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science* 287, 2229–2234 (2000).
 64. Tracey, W. D. Jr, Wilson, R. I., Laurent, G. & Benzer, S. *painless*, a *Drosophila* gene essential for nociception. *Cell* 113, 261–273 (2003).
 65. Di Palma, F. et al. Mutations in *Mcoln3* associated with deafness and pigmentation defects in

- varitint-waddler (Va) mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 99, 14994–14999 (2002).
66. Mochizuki, T. et al. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science* 272, 1339–1342 (1996).
 67. Suzuki, M., Mizuno, A., Kodaira, K. & Imai, M. Impaired pressure sensation in mice lacking TRPV4. *J. Biol. Chem.* 278, 22664–22668 (2003).
 68. Gao, X., Wu, L. & O’Neil, R. G. Temperature-modulated diversity of TRPV4 channel gating: activation by physical stresses and phorbol ester derivatives through protein kinase C-dependent and -independent pathways. *J. Biol. Chem.* 278, 27129–27137 (2003).
 69. Liedtke, W. et al. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell* 103, 525–535 (2000).
 70. Strotmann, R., Harteneck, C., Nunnenmacher, K., Schultz, G. & Plant, T. D. OTRPC4, a nonselective cation channel that confers sensitivity to extracellular osmolarity. *Nature Cell Biol.* 2, 695–702 (2000).
 71. Tobin, D. et al. Combinatorial expression of TRPV channel proteins defines their sensory functions and subcellular localization in *C. elegans* neurons. *Neuron* 35, 307–318 (2002).
 72. Kahn-Kirby, A. et al. Specific polyunsaturated fatty acids drive TRPV-dependent sensory signalling in vivo. *Cell* 119, 889–900 (2004).
 73. Liedtke, W., Tobin, D. M., Bargmann, C. I. & Friedman, J. M. Mammalian TRPV4 (VR-OAC) directs behavioural responses to osmotic and mechanical stimuli in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100 (suppl. 2), 14531–14536 (2003).
 74. Watanabe, H. et al. Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. *Nature* 424, 434–438 (2003).
 75. Caterina, M. J. et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816–824 (1997).
 76. Birder, L. A. et al. Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. *Nature Neurosci.* 5, 856–860 (2002).
 77. Vriens, J. et al. Cell swelling, heat, and chemical agonists use distinct pathways for the activation of the cation channel TRPV4. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 101, 396–401 (2004).
 78. Kim, J. et al. A TRPV family ion channel required for hearing in *Drosophila*. *Nature* 424, 81–84 (2003).
 79. Gong, S. et al. Two interdependent TRPV channel subunits, Inactive and Nanchung, mediate hearing in *Drosophila*. *J. Neurosci.* 24, 9059–9066 (2004).
 80. Sidi, S., Friedrich, R. W. & Nicolson, T. NompC TRP channel required for vertebrate sensory hair cell mechanotransduction. *Science* 301, 96–99 (2003).
 81. Siemens, J. et al. Cadherin 23 is a component of the tip link in hair-cell stereocilia. *Nature* 428, 950–955 (2004).
 82. Sollner, C. et al. Mutations in cadherin 23 affect tip links in zebrafish sensory hair cells. *Nature* 428, 955–959 (2004).
 83. Corey, D. P. et al. TRPA1 is a candidate for the mechanosensitive transduction channel of vertebrate hair cells. *Nature* 432, 723–730 (2004).
 84. Howard, J. & Bechstedt, S. Hypothesis: a helix of ankyrin repeats of the NOMPC-TRP ion channel is the gating spring of mechanoreceptors. *Curr. Biol.* 14, R224–R226 (2004).
 85. Jiang, Y. et al. The open pore conformation of potassium channels. *Nature* 417, 523–526 (2002).

86. Erler, I., Hirnet, D., Wissenbach, U., Flockerzi, V. & Niemeyer, B. A. Ca²⁺-selective transient receptor potential V channel architecture and function require a specific ankyrin repeat. *J. Biol. Chem.* 279, 34456–34463 (2004).
87. Hirono, M., Denis, C. S., Richardson, G. P. & Gillespie, P. G. Hair cells require phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate for mechanical transduction and adaptation. *Neuron* 44, 309–320 (2004).
88. Story, G. M. et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* 112, 819–829 (2003).
89. Jordt, S. E. et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1. *Nature* 427, 260–265 (2004).
90. Bandell, M. et al. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin. *Neuron* 41, 849–857 (2004).
91. Palmer, C. P. et al. A TRP homolog in *Saccharomyces cerevisiae* forms an intracellular Ca²⁺-permeable channel in the yeast vacuolar membrane. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 98, 7801–7805 (2001).
92. Zhou, X. L. et al. The transient receptor potential channel on the yeast vacuole is mechanosensitive. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100, 7105–7110 (2003).
93. Denis, V. & Cyert, M. S. Internal Ca²⁺ release in yeast is triggered by hypertonic shock and mediated by a TRP channel homologue. *J. Cell Biol.* 156, 29–34 (2002).
94. Zhou, X.-L., Loukin, S. H., Coria, R., Kung, C. & Saimi, Y. Heterologously expressed fungal transient receptor potential channels retain mechanosensitivity in vitro and osmotic response in vivo. *Eur. Biophys. J.* 34, 413–422 (2005).
95. Kung, C., Saimi, Y. & Martinac, B. *Current Topics in Membranes and Transport* 145–153 (Academic, New York, 1990).
96. Apostle, H. G. Aristotle's *On The Soul (De Anima)* (Translation) 42–43 (Peripatetic, Crinnell, Iowa, 1981).
97. Clapham, D. E. TRP channels as cellular sensors. *Nature* 426, 517–524 (2003).
98. Voets, T. et al. The principle of temperature-dependent gating in cold- and heat-sensitive TRP channels. *Nature* 430, 748–754 (2004).
99. Corey, D. P. & Sotomayor, M. Hearing: tightrope act. *Nature* 428, 901–903 (2004).
100. Kung, C. in *Evolution of the First Nervous Systems* (ed. Anderson, P. A. V.) 203–214 (Plenum, New York, 1990).

鸣谢:此文得益于 A. Anishkin, M. Chalfie, R. Fettiplace, W.J. Haynes, S. Loukin, B. Martinac, Y. Saimi, A.O.W. Stretton, 和周新良的讨论和批评。特此鸣谢。本实验室由 NIH 和威斯康星大学的 Vilas Trust 支持。

作者信息: 单行本和运用信息可以通过以下网页查阅之

npg.nature.com/reprintsandpermissions.

作者申明: 如果需要单行本者请通过电子邮件地址 (ckung@wisc.edu) 联络之。

上文经英国自然杂志发表于 2005 年第 436 卷第 4 期 (8 月份) 第 647~654 页, 由复旦大学上海医学院施永德教授作了中文翻译, 由孔正教授亲自校正, 其中孔正教授的同事周新良教授也参与校正。孔正教授是 2012 年美国新当选的科学院院士。译稿完成后他又作了新近该领域的一些补充如下。

作者补充

此文成于 2005 年。近年力感的分子生物学进展，简述如下。

1、文中提及 TRPA1 可能是脊椎动物听觉和平衡感毛细胞上的力感通道。经证实这是不对的。 *trpAI*^{-/-} 基因敲除的小鼠，听觉和平衡正常 (101, 102)。内耳的力感通道，目前还未鉴定。被动纤毛上的顶端连线 (tip link) 过硬，这和其他的发现令专家们考虑内耳的力感通道，有感受表膜的张力的可能。最近的电脑模拟研究肯定这看法 (103)。

2、新的实验似乎说明 *nompC* (即 TRPN1) 是果蝇听觉上感受震荡的通道。NAN 和 IAV 负责信号反馈扩大 (104)。

3、TRPV4 证实在有力感 (105)。近来更发现 40 多种的 TRPV4 的变异，引起人类骨骼发育病态。轻则形成侏儒，重则导致死亡。电生理研究证明它们是“增加功能” “gain-of-function” 的变异。在无刺激的情况下自动开放的机率愈高，病态愈重。病态可能源于 Ca²⁺ 往细胞质的内泄 (106)。

4、一些在生理学上不以力感知名的离子通道 (107, 108)，如电压敏感著名的钾通道 (Kv)，经生物物理方法研究，证实也有机械力感 (107) 理论上来说，只要蛋白埋在脂双层的部分，在开放时面积有所增加的话，就应有力感。(见图 2 和此图的注解。) 至于这力感的大小和生理学上的意义，有待仔细研究。

5、阳离子通道(如 TRP, Kv 等等)多是由四个亚基 (subunits) 组成的四聚体。每一个亚基有六条跨膜的 α 螺旋 (S1 - S6)。Kv 的晶体结构显示，由四个 S5-S6 聚成一个轴心区域 (core domain)，其中间是具有离子过滤器和开关门的通道。四个 S1-S4 体，离轴心颇远，称为周边区域 (peripheral domains)。Kv 的电压感，来自周边区域，间接打开轴心的门。但是，最近在酵母上的研究说明，TRP 的力感，很可能是轴心区域直接感受来自脂双层的力 (109)。

作者新增的 9 个参考文献如下：

101. Kwan, K. Y. et al. TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction. *Neuron* 50, 277-289 (2006).

102. Bautista, D. M. et al. TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell* 124, 1269-1282 (2006).

103. Powers, R.J. et al. (2012) Stereocilia membrane deformation: implications for the gating spring and mechanotransduction channel *Biophysical J.* 102, 201-210 (2012).

104. Gopfert, M. C., Albert, J. T., Nadrowski, B. & Kamikouchi, A. Specification of auditory sensitivity by *Drosophila* TRP channels. *Nat Neurosci* 9, 999-1000 (2006).

105. Loukin, S., X.-L. Zhou, Z.-W. Su, Y. Saimi, and C. Kung Wild-type and brachyolmia-causing mutant TRPV4 channels respond directly to stretch force. *J. Biol. Chem.* 285, 27176-27181 (2010).

106. Loukin S, Su Z, Kung C Increased Basal Activity Is a Key Determinant in the severity

- of Human Skeletal Dysplasia Caused by TRPV4 Mutations. PLoS ONE 6(5), e19533 (2011).
107. Schmidt, D. & MacKinnon, R. Voltage-dependent K⁺ channel gating and voltage sensor toxin sensitivity depend on the mechanical state of the lipid membrane. Proc Natl Acad Sci U S A 105, 19276-19281, (2008).
108. Zhang, W. K. et al. Mechanosensitive gating of CFTR. Nat Cell Biol 12, 507-512, (2010).
109. Su, Z., Anishkin, A., Kung, C. & Saimi, Y. The core domain as the force sensor of the yeast mechanosensitive TRP channel. J Gen Physiol 138, 627-640, (2011).