

细胞研究

1、*Biochemical Pharmacology*：NMT 验证跨膜离子参与细胞迁移

通讯作者：暨南大学 王立伟

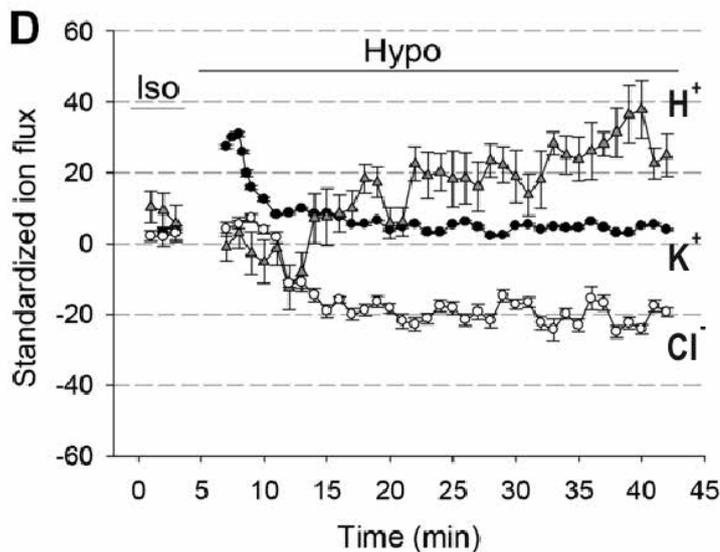
所用 NMT 设备：非损伤微测系统（平台版）

关键词：Ion-selective electrode； Patch-clamp technique； Ion transport； Cell size； Tumor cell

细胞体积调控是各种细胞功能的基础，例如细胞迁移、细胞凋亡、细胞增殖等，这些过程都需要细胞体积的变化和跨膜离子的参与。体积变化激活的 K^+ 和 Cl^- 通道已经用膜片钳进行了广泛的研究，发现在调控体积减小（RVD）过程中 K^+ 和 Cl^- 紧密偶联。

2012 年 5 月，暨南大学医学院王立伟教授研究组的成果发表在国际药理学刊物 *Biochemical Pharmacology* 上。实验发现低渗降低了胞内的 pH 值（pHi），激活了依赖于质子泵的 H^+ 外排，导致胞外 pH 值（pHo）下降，pHo 的适度减小抑制了体积激活的 K^+ 外排和 RVD，但是没有 Cl^- 外排，当 H^+ 外排被抑制或者 pHo 的缓冲能力增加时促进了 K^+ 外排和 RVD。这个结果说明在 RVD 过程中 K^+ 通道的动力学与 Cl^- 通道不同，是由于 K^+ 和 Cl^- 通道对 pHo 的敏感性不同。

这是第一次发现在低渗诱导的 RVD 过程中 K^+ 和 Cl^- 的转运不偶联（解偶联），而且 H^+ 外排在细胞体积调控中扮演着重要作用。结论指出，全细胞膜片钳破坏了细胞内液环境，导致细胞膜内外环境的 pH 值固定不变，凡涉及 pH 介导的离子通道调控，膜片钳的检测结果还需要通过其它无损方法，如利用基于非损伤微测技术（Non-invasive Micro-test Technology, NMT）的非损伤微测系统（平台版）进一步验证，才能获得更加真实的生理学结论。



图注. 鼻咽癌细胞进入低渗环境后, H^+ 、 K^+ 、 Cl^- 三种离子的流速变化。 H^+ 外排增加, K^+ 外排减小趋近于零, Cl^- 吸收增加。正值表示外排, 负值表示吸收



2、*Am J Physiol-Cell Ph* : NMT 证明 K^+ 外排可检测细胞凋亡

通讯作者：科利马大学 学者

所用 NMT 设备：NMT 活体生理检测仪[®] (Physiolyzer[®])

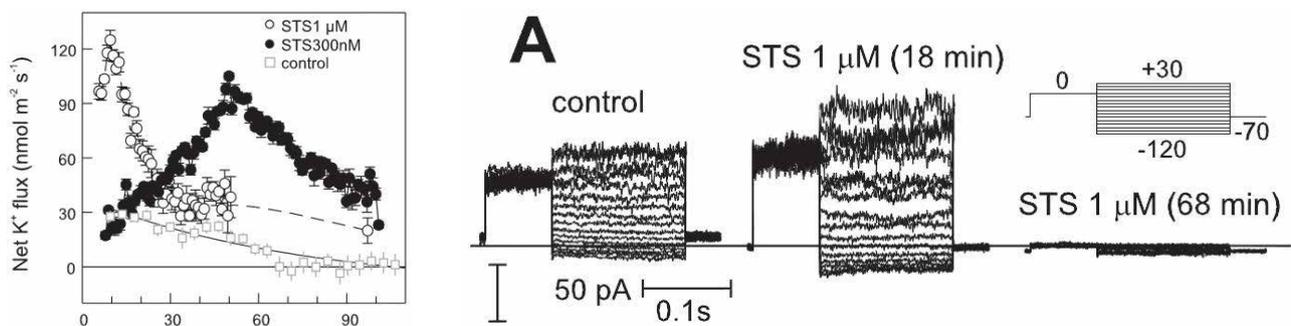
关键词：staurosporine; Jurkat cells; K^+ background current

NISC 文献库文献编号：F2009-008 (扫码回复编号下载全文)

细胞凋亡是细胞的一种基本生物学现象，在生物进化、内环境的稳定以及多个系统的发育过程中具有重要作用。 K^+ 是细胞内主要的阳离子，在细胞凋亡过程中会发生 K^+ 外排，阻止 K^+ 的流失能够有效抑制细胞凋亡的发展。

2009 年，墨西哥和澳大利亚的科学家使用非损伤微测技术 (Non-invasive Micro-test Technology, NMT) 和膜片钳技术研究了细胞凋亡，发现 $1\mu\text{M}$ STS (十字孢碱) 会快速引起 K^+ 外排，大约 15min 达到峰值，随后减弱。同时记录到 Kbg 通道的电流增加，伴随着膜去极化的急剧下降。Kv1.3 的电流不受 STS 影响，但是这种非激活的通道转换成了更多的正电势。Kbg 和 Kv1.3 通道对 STS 诱导的 K^+ 外排的贡献有先后时序关系，bupivacaine (丁哌卡因) 主要抑制 Kbg 电流，margatoxin (玛格毒素) 是 Kv1.3 特异的抑制剂。

通道调节 K^+ 外排引起了细胞的收缩，激活了半胱氨酸蛋白酶 (凋亡蛋白酶)，使细胞从正常的生理状态转变到凋亡生理状态，再到非生理状态。细胞内的环境发生快速的改变，如细胞大小、膜电势、pH 和 Ca^{2+} 浓度也会发生变化，在细胞环境的变化中 K^+ 的调节机制至关重要。Kbg 通道调节早期的 K^+ 外排，Kv1.3 通道在后期起到主要作用， K^+ 外排被抑制后则完全停止，半胱氨酸蛋白酶 -3 的活性也发生了变化。这一研究为认识细胞凋亡的内在机制提供了新的证据，这种实时和便于操作的研究手段——非损伤微测技术 (NMT)，有望在临床等实际应用领域中诊断或检测凋亡细胞。



图注. STS 处理 T 细胞后, K^+ 的流速变化 (左图) 以及 K^+ 通道电流变化 (右图) 结果。正值表示外排