中国科学 C辑:生命科学 2009 年 第 39 卷 第 2 期: 149 ~ 160
www.scichina.com life.scichina.com
《中国科学》杂志社
SCIENCE IN CHINA PRESS

味觉感受细胞离子通道和动作电位的建模与仿真

陈培华①, 刘晓东②, 张威①, 周俊①, 王平①*, 杨巍③, 罗建红③

① 浙江大学生物医学工程与仪器科学学院, 生物传感器国家专业实验室, 生物医学工程教育部重点实验室, 杭州 310027;
② Calcium Signals Lab, Department of Biomedical Engineering and Neuroscience, Johns Hopkins University, Baltimore, MD 21205, USA;
③ 浙江大学医学院神经科学研究所, 杭州 310058
* 联系人, E-mail: cnpwang@zju.edu.cn

收稿日期: 2008-10-21; 接受日期: 2008-12-19
国家杰出青年科学基金(批准号: 60725102)和浙江省人才基金(批准号: R205505)资助项目

摘要 结合膜片钳测量的味觉感受细胞离子通道实验数据, 提出了一个哺乳动物味觉感受细胞动作电位的数学模型. 首先, 建立了味觉感受细胞的电压门控 Na^+通道和外向延迟整流 K^+通道的模型, 在此基础上建立了味觉感受细胞的单细胞计算模型. 其次, 仿真研究了味觉感受细胞在电刺激和酸味刺激下产生的动作电位, 以及离子通道动力学特性对其的影响. 该模型对于研究味觉感受细胞在味觉物质刺激下产生的动作电位及其离子通道的工作机制, 以及味觉信息在外周神经的传递和信息编码具有指导意义.

关键词
味觉感受细胞
动作电位
仿真建模
Na^+通道
延迟整流 K^+通道

味觉感受细胞是上皮型细胞, 但却具有神经元的性质, 实现味觉中化学-电信号转换等重要的前期信息处理功能. 研究表明, 酸[1]、甜[2,3]、苦[4]、咸[5]味味觉物质能刺激味觉感受细胞产生动作电位. 对味质刺激下味觉感受细胞产生的动作电位的特征进行分析, 表明动作电位的发放模式可能被用于味觉特征的编码[6]. 最近研究发现味觉感受细胞和味觉神经纤维的响应有很多相似点, 提示味觉感受细胞产生的动作电位可能是味觉信息传递到味觉神经纤维的主要组成部分[7,8]. 研究结果表明, 味觉感受细胞的电活动对于味觉信息的前期处理起主导作用.

对味觉感受细胞离子通道的研究能够在分子水平上揭示味觉感受细胞兴奋性的功能和机制. 味觉感受细胞膜上存在多种电压门控离子通道, 主要有: Na^+通道[9]、L型和T型Ca^{2+}通道[4,10~12]、外向延迟整流K^+通道[3]、瞬时外向K^+通道、Ca^{2+} 激活K^+通道、内向整流K^+通道[13]、Cl^-通道[14]等. 大鼠味觉感受细胞能够在不同强度和时程的电刺激下产生动作电位, 相应的数据表明Na^+, Ca^{2+}电流在动作电位的去极相; 外向K^+电流在复极相和后超极相中起作用[15]. 这些实验证据进一步表明电压门控离子通道作为味觉感受细胞兴奋性的分子基础, 在味觉信息的前期编码和处理中具有重要意义.

味觉感受细胞对于生理味觉物质刺激的响应需要借助特定的电生理记录技术, 例如, 细胞黏附式膜片钳技术可对小鼠味蕾细胞在一定浓度的苦味、酸味、咸味刺激物下的响应进行记录[4]; 采用基于膜片钳的胞外记录技术可对味觉感受细胞在味质刺激下产生的动作电流进行记录[7,8]. 然而由于受这些实验技术的限制, 目前对于味觉物质刺激下单个味觉感受细胞产生的动作电位及其离子机制、放电模式以及它所携带的味觉信息了解甚少. 研究发现味觉感受系统较其他感受系统复杂[4,16,17]. 这些事实提示, 对细胞和亚细胞水平上的前期味觉功能及其机制的研究需要结合理论和实验等多种手段, 包括计算机建模和仿真技术, 多角度协同进行研究.

对于前期味觉机制的定量理论分析始于在咸味NaCl刺激下, 对离子在味觉感受细胞中的跨膜运输

以及味觉感受电位的仿真[18,19], 依据这些模型得到咸味味觉的刺激强度与味觉感受细胞膜电位相关, 但由于是基于磷脂双分子层和肾上皮中离子运输机制建立的模型, 缺少味觉感受和味觉信息处理的分子机制及其相关实验数据的支持, 存在诸多局限性. 随着现代电生理和分子生物学技术应用于味觉感受机制的研究, 为建立基于离子通道和味觉感受蛋白详细实验数据的味觉感受细胞计算模型提供了可能.

本研究基于 Hodgkin-Huxley 理论提出一个味觉感受细胞离子通道和动作电位的数学模型, 详细地描述了对 Na^+电流以及外向延迟整流 K^+电流模型的构建. 对离子通道的生物物理特性以及味觉感受细胞在电刺激和酸味刺激下产生的动作电位进行仿真, 得到了单细胞刺激-细胞电活动响应的定量关系, 以及 Na^+电流、K^+电流的激活、失活等动力学基本参数在静息和刺激状态下的仿真数据. 本研究的模型及结果对于进一步研究味觉感受细胞, 特别是酸味感受细胞的机制提供了基础.

1 建模

基于 Hodgkin-Huxley 理论, 味觉感受细胞膜电位在外部刺激下的变化可用方程(1)描述:

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}t}=-\frac{I_{\mathrm{ion}}+I_{\mathrm{stim}}}{C_{\mathrm{m}}} \tag{1}$$

其中 C_{m} 为膜电容, I_{stim} 是外部刺激, I_{ion} 为跨膜离子电流的总和. 在本文模型中, I_{ion} 包括电压门控 Na^+电流、外向延迟整流 K^+电流和漏电流.

采用HH型方程对离子通道电流量化描述, 通道电流由门控变量决定, 这些参数可由常微分方程计算得到[20]. 实验电流数据在室温约 22℃下测量得到, 采用Matlab非线性最小均方回归算法对参数进行估计. 用NEURON软件创建味觉感受细胞模型 (Hines and Moore, www.neuron.duke.edu或www.neuron.yale.edu), Na^+, K^+通道的动力学特性用软件中的NMODL模块加以描述.

电压门控Na^+通道的激活、失活参数m和h由膜片钳Na^+电流数据得到[9]. 其中, 稳态失活h_∞由双脉冲实验得到, 失活时间常数分别由去失活实验(−110~−70 mV), 失活实验(−50 ~ −20 mV)和激活实验(−10 ~ 30 mV)得到. 由于在激活实验中, 从控制电压−80 mV施加去极化电压得到−30~30 mV下的Na^+电流, m_0和h_∞接近 0, 因此对激活Na^+电流采用近似方程(2)进行拟合[20], 得到稳态激活和激活时间常数, 其中将失活时间常数固定为前面实验所得到的值.

$$I=G_{\mathrm{Na}}(V-E_{\mathrm{Na}})m_\infty^3h_0(1-\mathrm{e}^{-t/\tau_m})^3\mathrm{e}^{-t/\tau_h} \tag{2}$$

电生理和分子生物学实验表明Kv1.5通道是大鼠舌前部主要表达的功能性延迟整流K^+通道[3,21], 因此选择心房肌细胞中超快速激活K^+通道的表达形式. 采用膜片钳K^+电流数据[3]得到延迟整流K^+通道的压门控参数. 激活实验中从控制电压−80 mV施加去极化电压得到−10~40 mV的K^+电流, m_0 和h_∞不接近 0, 于是采用方程(3)对激活实验得到的电流数据进行拟合[20,22], 得到激活和失活时间常数. 由激活实验中的峰值电流计算得到稳态激活. 失活实验中, 将测试脉冲−40 mV时得到的峰值尾电流归一化, 得到稳态 失活.

$$\begin{aligned}I=&G_{\mathrm{K}}(V-E_{\mathrm{K}})(m_\infty-(m_\infty-m_0)\mathrm{e}^{-t/\tau_m})^3\\&(h_\infty-(h_\infty-h_0)\mathrm{e}^{-t/\tau_h})\end{aligned} \tag{3}$$

1.1 几何形状

实验中测量味觉细胞的膜电容为 3~6 pF[9], 模型中采用膜电容 6 pF对所有离子通道电流进行计算. 味觉感受细胞为双极形细胞, 模型中采用长 40 μm, 直径 15/π μm的圆柱体来表示. 根据细胞膜电容和细胞膜表面积得到单位面积膜电容为 1 μF/cm^2, 与文献值一致[23].

1.2 标准离子浓度

基于膜片钳实验对味觉感受细胞的生理环境进行模拟[3,9], 在室温22℃下, 将胞内外离子浓度设为: $[Na^+]_i$ =10 mmol/L, $[Na^+]_o$=131 mmol/L, $[K^+]_i$=140 mmol/L, $[K^+]_o$=5 mmol/L, 根据 Nernst 方程得到 Na^+, K^+的平衡电位分别为 65.4 mV, −84.7 mV.

1.3 离子电流

(1) I_{Na}: Na^+电流. 膜片钳实验中得到 Na^+通道的平均最大电导值为(7.29±0.29) nS (SEM, n=125), 范

围在(0.57~18.4) nS. 采用方程(4)进行描述:

$$I_{\mathrm{Na}} = G_{\mathrm{Na}} m^3 h (V - E_{\mathrm{Na}}) \tag{4}$$

其中 V 为膜电位, m 为 Na^+通道激活参数, h 为失活参数, G_{Na}=18 nS 为最大 Na 电导, E_{Na}=57.1 mV 为 Na 的 Nernst 电位. 其中, m 和 h 的状态转换速率分别为:

$$\alpha_m = -0.135(V+33.4) \Big/ \left(\exp\left(-\frac{(V+33.4)}{7.42}\right)-1\right),$$

$$\beta_m = 0.075\exp\left(-\frac{V}{13.2}\right),$$

$$\alpha_h = 0.00248\exp\left(-\frac{V}{35}\right),$$

$$\beta_h = 1.34 \Big/ \left(1+\exp\left(-\frac{V+12.6}{8.57}\right)\right).$$

$$m_\infty = \alpha_m/(\alpha_m+\beta_m),$$

$$h_\infty = \alpha_h/(\alpha_h+\beta_h),\quad \tau_m = 1/(\alpha_m+\beta_m),$$

$$\tau_h = 1/(\alpha_h+\beta_h).$$

(2) I_K: 外向延迟整流 K^+电流. 采用心房肌细胞中超快速激活 K^+通道的表达形式(5)进行描述:

$$I_K = G_K u_a^3 u_i (V - E_K), \tag{5}$$

其中 u_a, u_i 分别为外向延迟整流 K^+通道的激活参数和失活参数, G_K=15 nS 为最大 K 电导. E_K = −70 mV 其中, u_a 和 u_i 的状态转换速率分别为:

$$\alpha_{u_a} = 0.254 \Big/ \left(1+\exp\left(-\frac{V-16.86}{17.64}\right)\right),$$

$$\beta_{u_a} = 0.00854\ \exp\left(-\frac{V}{62.17}\right),$$

$$\alpha_{u_i} = 0.002227 \Big/ \left(1+\exp\left(-\frac{V-198.25}{53.3}\right)\right),$$

$$\beta_{u_i} = 0.00306 \Big/ \left(1+\exp\left(-\frac{V-199.2}{53.25}\right)\right).$$

$$u_{a_\infty} = \alpha_{u_a}/(\alpha_{u_a}+\beta_{u_a}),$$

$$u_{i_\infty} = 0.4266 + 0.5414/(1+\exp((V+36.23)/6.166)),$$

$$\tau_{u_a} = 1/(\alpha_{u_a}+\beta_{u_a}),\ \tau_{u_i} = 1/(\alpha_{u_i}+\beta_{u_i}).$$

(3) I_{leak}: 线性漏电流. 假设有一线性漏(欧姆)电流(6), 电导为电压门控离子通道以外的细胞膜电导, 由膜片钳实验测量得到. G_l为细胞膜电导, 实验得到味觉细胞膜阻抗为(6.88 ± 0.58) GΩ[15], 于是得到$G_l \approx 0.145$ nS, E_l = −45 mV.

$$I_l = G_l (V - E_l) \tag{6}$$

(4) I_{PKD}/ I_{ASIC}: 酸味感受通道内向电流. 依据爪蟾(*Xenopus* sp.)卵母细胞中表达的ASIC2a/ASIC2b通道在pH4.5, 控制电压−70 mV时记录的全细胞电流[24]和HEK293T细胞中表达的PKD1L3 和PKD2L1 通道在 25 mmol/L (pH2.8)柠檬酸刺激, 控制电压−60 mV时记录的全细胞内向电流[25]. 通过ASIC2 通道的内向电流约 127 ~ 212 pA, PKD约为 9.28 ~ 20.2 pA.

ASIC2 通道电流的上升下降相分别用 3 阶多项式和 Logistic 方程表示:

$$I_{\mathrm{up}} = a + b\cdot t + c\cdot t^2 + d\cdot t^3,$$

$$I_{\mathrm{down}} = \frac{e}{1+f\cdot\exp(-g\cdot t)}$$

a =−0.09, b = 0.35, c =−0.2, d = 0.012, e=−1.1, f = −0.92, g=0.0258

$$I_{\mathrm{ASIC}} = \begin{cases} 0, & t \leqslant 1.635, \\ 50\ I_{\mathrm{up}}, & 1.635 < t \leqslant 8.66, \\ 50\ I_{\mathrm{down}}, & 8.66 < t \leqslant 128.168. \end{cases}$$

其中 t 为时间, I_{up}和 I_{down}分别为电流的上升相和下降相.

PKD 通道电流的上升下降相均用 4 阶多项式表示:

$$I_{up} = a + b\cdot t + c\cdot t^2 + d\cdot t^3 + e\cdot t^4,$$

$$I_{down} = f + g\cdot t + h\cdot t^2 + j\cdot t^3 + k\cdot t^4.$$

a =51.14, b=−168.8, c=199, d=−99.7, e=17.88, f=−2.53, g=0.326, h=−0.0157, j=0.00033, k = −0.0000025.

$$I_{PKD} = \begin{cases} 0, & t \leqslant 1.38 \\ 4.6\ I_{\mathrm{up}}, & 1.38 < t \leqslant 1.914 \\ 4.6\ I_{\mathrm{down}}, & 1.914 < t \leqslant 48.85 \end{cases}.$$

其中 t 为时间, I_{up} 和 I_{down} 分别为电流的上升相和下降相.

酸味感受细胞的等效电路模型如图 1(A)所示. 酸味味质中的 H^+激活酸味感受器或通道, 引起膜电位去极化, 电压门控 Na^+, K^+通道响应膜电位变化, 协同工作形成动作电位. 动作电位编码的味觉信息控制 Ca^{2+}通道电流, 信息编码进入突触传递过程并向下一级神经系统传送(图 1(B)).

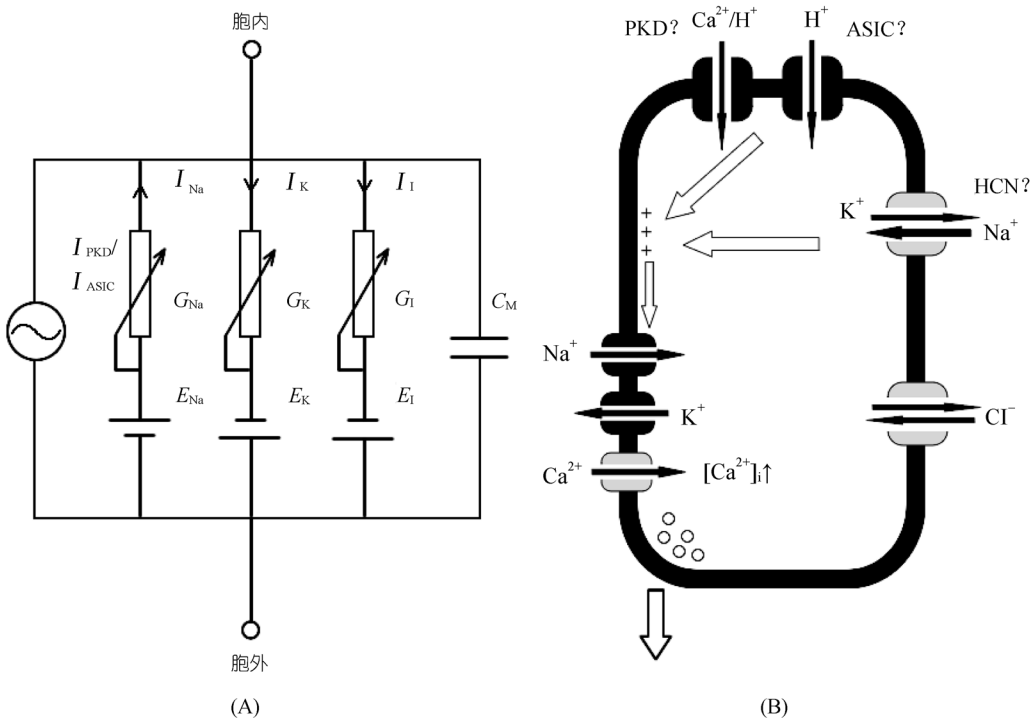

图 1　酸味感受细胞的等效电路模型及酸味感受细胞中味觉受体和信号传导

(A) 酸味感受细胞离子通道等效电路模型; (B) 酸味味质中的 H^+激活酸味感受器或通道, 引起膜电位去极化, 电压门控 Na^+, K^+通道响应膜电位变化, 协同工作形成动作电位, 动作电位编码的味觉信息控制 Ca^{2+}通道电流, 信息编码进入突触传递过程并向下一级神经系统传送

2　仿真结果

2.1　Na^+电流仿真

激活实验中, 控制电压为−80 mV, 测试电压以步长 10 mV 从−50 mV 递增到+80 mV, 得到激活 Na^+电流. 取 G_{Na}=13.5 nS, E_{Na}=57.1 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 2 (A)和(B)), 并得到各测试电压下的峰值电流如图 2(C)所示.

失活实验中, 采用双脉冲, 前脉冲从−100 mV 到−20 mV 以 10 mV 增量递增, 时程为 100 ms, 测试脉冲为−10 mV, 时程为 50 ms, 然后将细胞钳制在−80 mV. 在前脉冲中得到的 Na^+电流很小, 在测试脉冲中产生明显的失活现象. 取 G_{Na}=5.6 nS, E_{Na}=56 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 2(D)和(E)), 由峰值尾电流得到稳态失活, 如图 2(F)所示. 由实验记录和仿真结果得到的稳态失活分别用 Boltzmann 函数拟合, 仿真结果: h_∞=1/(1+exp ((V+52)/6.9)), 实验结果: h_∞= 1/ (1+exp((V+55.3)/7.46)), 其中 h_∞为稳态失活, V 为膜电位.

去激活实验中, 采用双脉冲, 前脉冲从控制电位−80 mV 阶跃到−10 mV, 时程为 0.8 ms, 然后阶跃到测试脉冲, 以步长 10 mV 从−70 mV 递增到+80 mV. 取 G_{Na}=16.8 nS, E_{Na}=57.5 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 2(G)和(H)), 各测试电压下的峰值尾电流如图 2(I)所示. 用直线分别对实验和仿真得到的峰值尾电流拟合, 仿真结果: I_{tail}=6.1V−354.3, 实验结果为: I_{tail} = 6.1V−364.8, 其中 I_{tail} 为峰值尾电流, V 为膜电位.

2.2　延迟整流 K^+电流仿真

激活实验中, 控制电压为−80 mV, 测试电压时程 400 ms, 以步长 10 mV 从−80 mV 递增到+ 40 mV. 取 G_K = 20.58 nS, E_K = −89 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 3(A)和(B)), 并得到各测试电压下的峰值电流, 如图 3(C)所示.

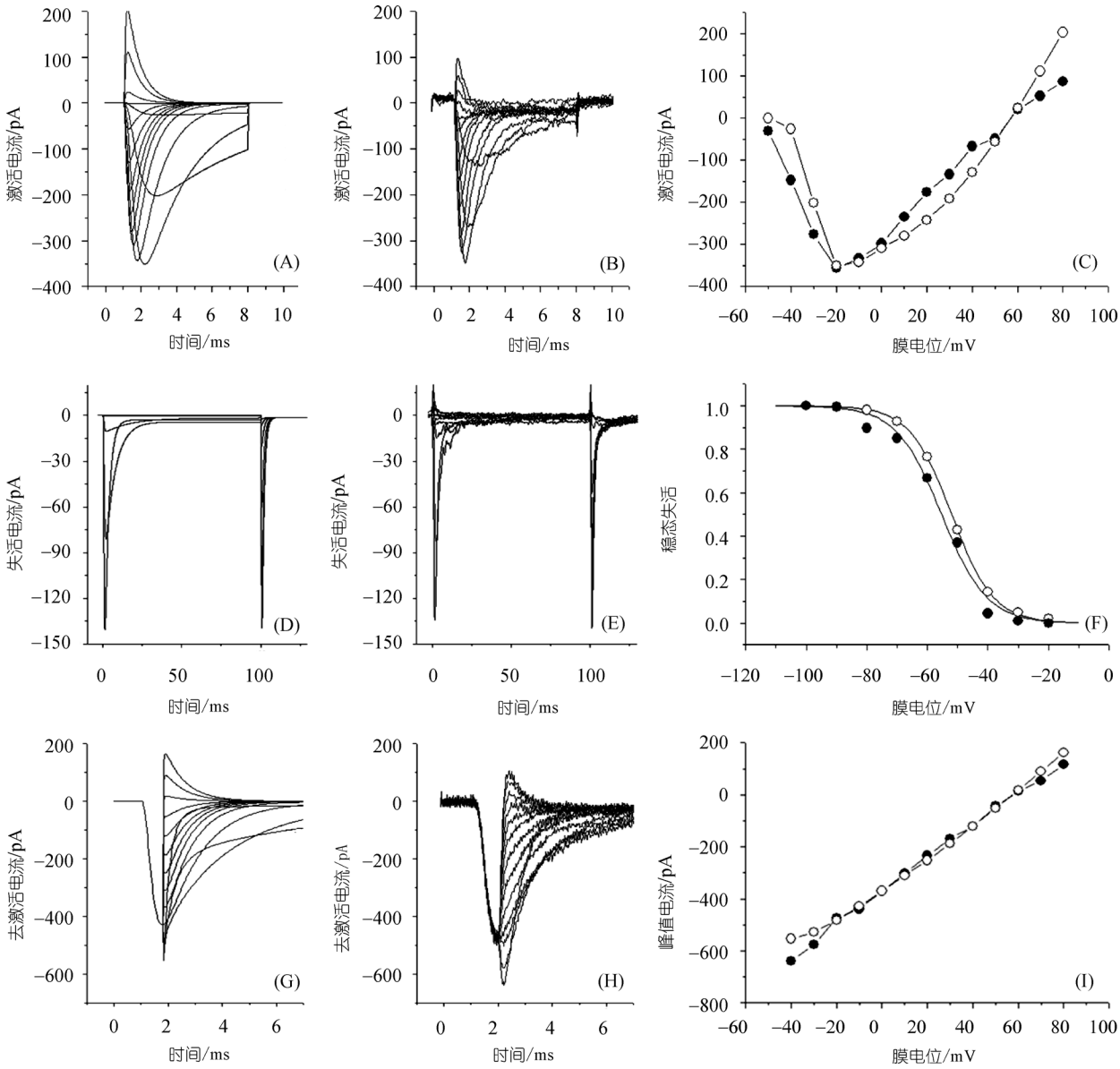

图 2　Na^+电流仿真结果

(A) 激活 Na^+电流的仿真结果与实验记录; (B) (摘自图3(B)[9]); (C) 激活实验中各测试电压下Na^+电流峰值, 空心圆圈为仿真结果, 实心圆圈为实验数据; (D) 失活Na^+电流的仿真结果与实验记录(E) (摘自图 7(A)[9]); (F)稳态失活; (G)去激活Na^+电流的仿真结果与实验记录(H) (摘自图 5[9]); (I)去激活实验中各测试电压下的尾电流峰值, 横坐标为测试脉冲电压, 纵坐标为峰值尾电流(实验数据摘自图 5[9])

失活实验中, 采用双脉冲, 前脉冲从−120 mV 到+40 mV 以 20 mV 增量递增, 时程为 20 s, 测试脉冲为+40 mV, 时程 5 s, 然后将细胞钳制在−80 mV. 取 G_K = 23.1 nS, E_K = −89 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 3(D)和(E)), 得到各测试电压下的峰值尾电流, 如图 3(F)所示.

去激活实验中, 采用双脉冲, 前脉冲从控制电位−80 mV 阶跃到+40 mV, 时程为 15 ms, 然后阶跃到测试脉冲, 以步长 10 mV 从−90 mV 递增到−20 mV. 取 G_K = 16.763 nS, E_K = −73.5 mV, 将仿真结果与实验结果对比(图 3(G)和(H)), 得到各测试电压下的峰值尾电流如图 3(I)所示.

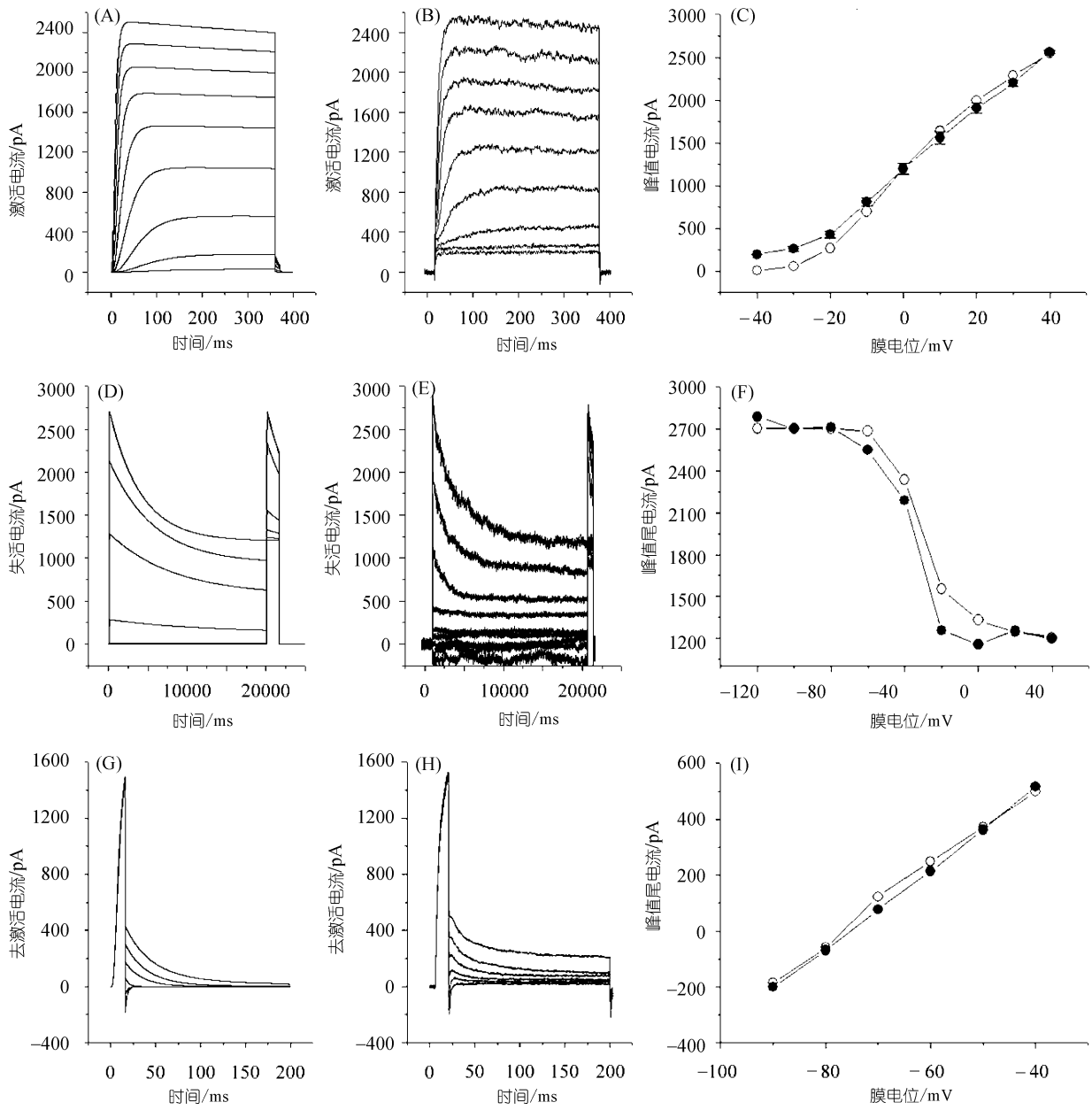

图 3　延迟整流 K^+电流仿真结果

(A) 激活 K^+电流的仿真结果与实验记录(B)[3]; (C) 激活实验中各测试电压下K^+电流峰值, 实心圆圈为实验数据, 空心圆圈为仿真结果; (D) 失活 K^+电流的仿真结果与实验记录 (E) (摘自图 1(E)[3]); (F) 失活实验中各测试电压下峰值尾电流; (G) 去激活 K^+电流的仿真结果与实验记录 (H) (摘自图 1(G)[3]); (I) 去激活实验中各测试电压下的峰值尾电流

2.3　电刺激下动作电位仿真

动作电位的产生与刺激电流的强度和时程相关. 味觉感受细胞的静息电位为−53.91 mV, 在施加短时程电流刺激 50 pA, 2 ms 时, 产生单个动作电位(图 4(A)), 阈值约为−36.9 mV, 峰值为 15.2 mV; 施加短时程阈下电流刺激 25 pA, 2 ms 时, 如图 4(A)中虚线所示, 没有动作电位产生, 膜电位成指数 *RC* 减小. 当施加长时程刺激电流 5.2 pA, 320 ms 时, 产生多个动作电位, 且动作电位的幅值逐渐减小, 如图 4(B)所示.

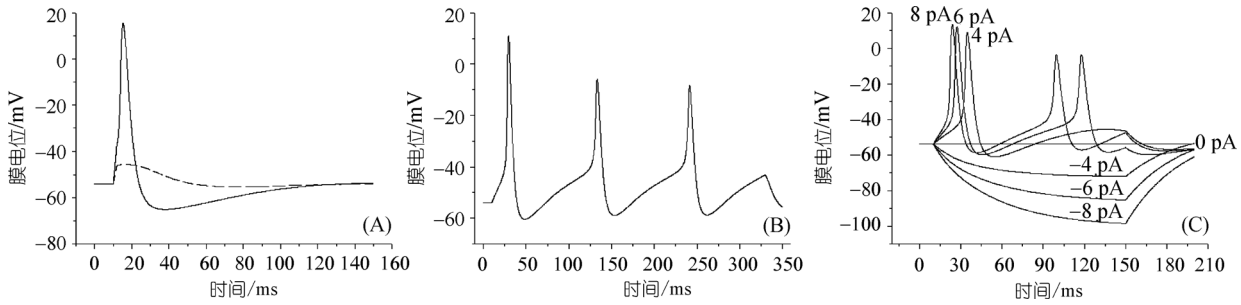

图 4　电流刺激下产生的动作电位

(A) 短时程阈上(50 pA, 2 ms)和阈下(25 pA, 2 ms)电流刺激产生的全(实线)或无(虚线)动作电位; (B)长时程电流刺激(5.2 pA, 320 ms)产生多个动作电位; (C) 给味觉感受细胞一系列去激活和超极化电流刺激产生的动作电位和超极化膜电位

当细胞处于静息状态时, 对细胞施加不同强度和方向的电流刺激(去极化 4, 6, 8 pA, 超极化−4, −6, −8 pA 以及 0 pA 电流刺激 140 ms), 产生如图 4(C)所示的放电模式. 给细胞施加不同幅值相同时程的去极化电流刺激时, 得到刺激电流强度越大, 放电频率越大, *dV/dt* 越大, 潜伏期越短, 于是更容易放电; 给细胞施加超极化电流刺激时, 膜电位超极化.

2.4　动作电位期间的电流仿真

在 10 ms 时, 施加电流刺激 5.2 pA, 250 ms, 产生多个动作电位(图 5(A)), 动作电位期间的 Na^+, K^+电流分别如图 5((B)和(C))所示. Na^+电流在动作电位的去极相起作用, 延迟整流 K^+通道开放较晚, 在动作电位的复极相起作用. 动作电位随着 Na^+通道的快速开放而急剧增加, 随着 Na^+通道的快速失活以及 K^+通道的开放而急剧减小. 第二、三个动作电位期间的离子电流小于第一个动作电位, 表明部分离子通道处于失活状态.

2.5　离子通道特性对动作电位的影响

动作电位也表现出电压和时间依赖的不应期现象, 这是由 Na^+, K^+通道电压和时间依赖的动力学特性引起的. 在短时程 50 pA, 2 ms 电流刺激下, 分别采用不同的控制电位 V_h, 如图 6(A)所示. 将味觉感受细胞控制在−60 mV 时, 能产生动作电位, 且有较大幅度的超射; −50 mV 时, 动作电位以及超射的幅度减小; −40 mV 时, 由于大量的 Na^+通道处于失活状态, 没有动作电位产生. 当采用双脉冲, 分别取不同的时间间隔 Δt, 仿真结果如图 6(B)所示. 短时间间隔(20, 50 ms)使得大量的 Na^+通道处于失活状态, 因此不能产生动作电位; 时间间隔为 60 和 80 ms 时, 部分 Na^+通道从失活状态恢复, 产生动作电位, 但幅值低于第一个动作电位; 100 ms 时, 由于部分 K^+通道处于失活状态, 于是产生的动作电位幅值略大于第一个; 180 ms 时, K^+通道从失活状态恢复, 产生的动作电位和第一个幅值相等.

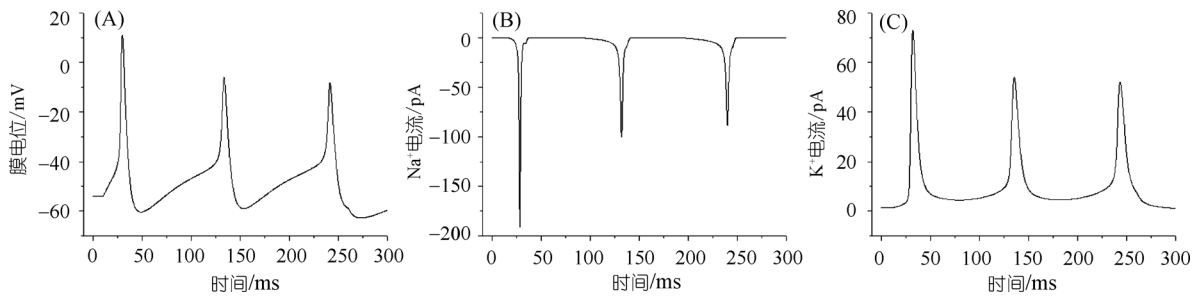

图 5　动作电位及动作电位期间的电流

(A) 5.2 pA, 250 ms 电流刺激下产生的动作电位; (B) 动作电位期间产生的 Na^+电流; (C) 延迟整流 K^+电流

2.6 酸味刺激下响应模式仿真

最近研究表明 2 种可能的酸敏感通道ASIC2[24,26]和(或)PKD[25,27,28]在酸味感受中起作用. 如图 7((A)和(B))所示分别仿真在ASIC2a/ASIC2b通道和PKD通道作用下, 酸味刺激味觉感受细胞产生的响应模式, 放电频率分别约为 22 Hz 和 12 Hz, 此时通过 ASIC2 通道的内向电流约为 212 pA, PKD 为 9.28 pA, 而实验中测量得到在控制电位–80 mV, pH 4.5 柠檬酸酸味

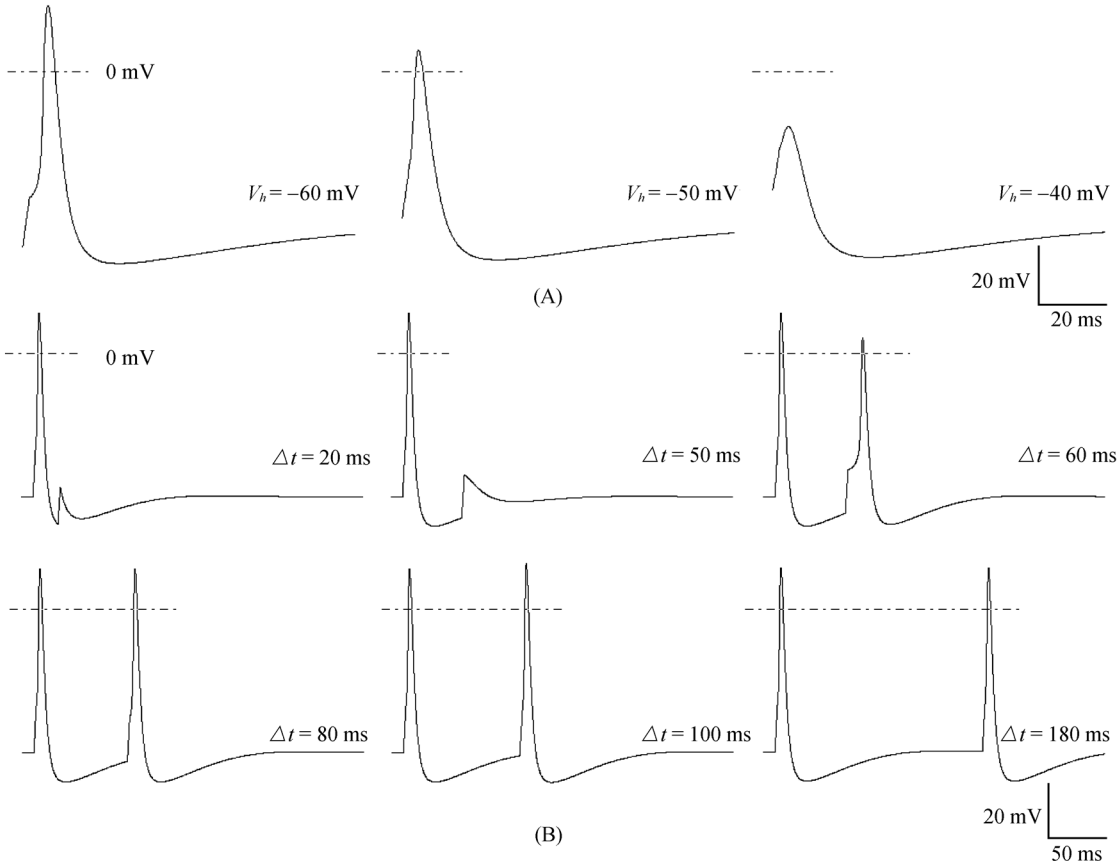

图 6 Na^+, K^+通道的动力学特性对动作电位的影响

(A) 不同的静息控制电位对动作电位的影响; (B) 不同时间间隔的双脉冲下动作电位的改变

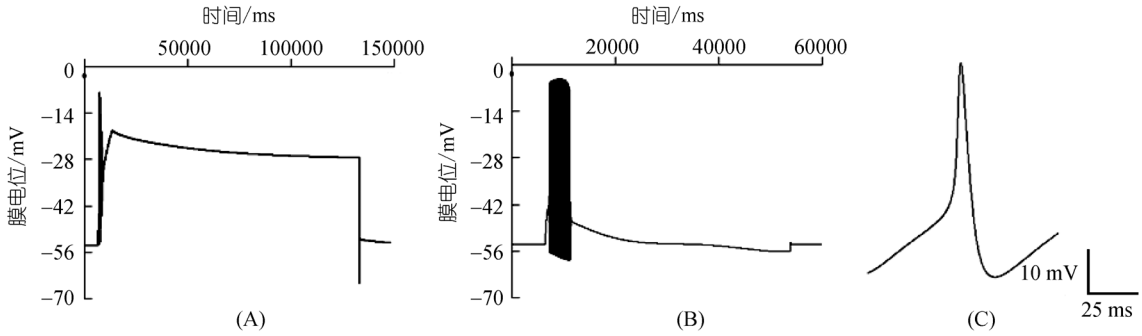

图 7 味觉感受细胞对酸味的响应

(A) ASIC2 通道作用下, 味觉感受细胞对酸味 pH4.5 的响应; (B) PKD 通道作用下, 对柠檬酸的响应; (C) PKD 通道作用下酸味响应中的单个动作电位

刺激下, 内向电流约 105 pA[29]. 图 7(C)所示为PKD通道作用下味觉感受细胞响应的单个动作电位.

3 讨论

3.1 离子通道电流

全细胞膜片钳实验表明大鼠 3 种类型的味觉感受细胞(菌状、叶状和轮廓状)中Na^+电流没有明显区别[30], 且 3 种类型的Na^+电流 1/2 失活电压相当. 电生理和分子生物学实验表明, 约超过 95%的味觉感受细胞表达外向延迟整流K^+通道, Shaker Kv1.5 通道(KCNA5)是大鼠舌前部味觉感受细胞中主要表达的功能性延迟整流K^+通道[3]. 因此, 本文的Na^+通道和K^+通道模型可为建立其他味觉细胞的计算模型提供原型和参考.

本文的味觉感受细胞模型主要依赖Na^+电流和延迟整流K^+电流的实验数据进行建模, 仿真结果表明模型可以重现味觉感受细胞的动作电位及其基本特性, 确立了Na^+电流和延迟整流K^+电流在味觉感受细胞动作电位的主导作用. 基于以上结论及一些实际考虑, 本文建立的全细胞模型目前没有包括Ca^{2+}电流、其他种类的K^+电流以及Cl^-电流. 分子生物学和电生理研究表明电压门控离子通道在不同味觉感受细胞上的表达与特定的味觉受体紧密相关. 表达苦味、甜味和鲜味受体的味觉感受细胞, 具有电压依赖性Na^+, K^+电流, 而不具有电压依赖性Ca^{2+}电流[31,32]; 表达咸味感受通道ENaC的细胞中有些没有Ca^{2+}电流, 另外一些具有T型Ca^{2+}电流[33]; 表达酸味受体ASIC2的味觉感受细胞具有电压依赖性Na^+, K^+, Ca^{2+}电流[24]. 在下一步的工作中, 我们将结合上述通道的特异性表达, 进一步对各种通道的生物物理特性加以分析和建模, 并研究其在味觉信息处理中的作用.

3.2 动作电位及味觉信息处理

在不同时程和强度的电流刺激下, 味觉感受细胞具有不同的放电模式. 在长时程电流刺激下能产生多个动作电位, 且幅度逐渐减小. 在不同强度的电流刺激下, 放电频率随去极化电流增大而增大, 动作电位个数增多, 潜伏期缩短, 味觉感受细胞更容易产生动作电位. 当施加超极化电流刺激时, 膜电位超极化. 多样化的动作电位模式为味觉感受细胞的信息编码提供了电生理基础.

电压门控Na^+通道主要负责味觉感受细胞动作电位的产生, K^+通道则主要负责动作电位的调制以及静息膜电位的维持, 这与Na^+, K^+通道在其他类型神经元中的功能相一致. Na^+, K^+通道的激活、失活等动力学特性对细胞的放电能力、动作电位的形状和幅度有所影响, 这些通道特性同时受生理相关的信号分子调制. 膜片钳电生理实验研究表明在味觉感受细胞对味质响应时所释放的神经递质如, 5-HT能直接与相邻细胞作用, 抑制Ca^{2+}激活K^+电流和电压门控Na^+电流, 从而抑制相邻细胞的兴奋性[34]; 神经肽如胆囊收缩素促胰酶素(CCK)能抑制外向K^+电流和内向整流K^+电流, 从而提高味觉感受细胞的电兴奋性[35]; 苦味味质奎宁抑制外向K^+电流和Na^+电流, 使动作电位波形变宽[15]. 进一步研究Na^+, K^+及相关离子通道对味质刺激－响应的调控作用很有可能有助于揭示味觉感受细胞信息编码的设计原理.

甜、酸、咸、苦味味质能刺激味觉感受细胞产生动作电位. 本文工作以酸味为例, 对自然味质刺激下味觉感受细胞的响应进行了仿真. 对于酸味的感受器及转导机制, 目前尚有许多争议, 如图 1(B)所示. 目前提出的有: 以导通H^+的ASIC2 作为酸味感受器; 经由Ca^{2+}/H^+通透的PKD通道; 通过调制HCN通道等可能的机制. 本文通过仿真对主要的机制进行了初步对比和检验. ASIC2a/2b表达于大鼠味觉感受细胞中[24], 而在小鼠中发现PKD通道表达于味觉感受细胞中, 没有ASIC2 表达[27,36]. 仿真结果得到: 如果酸味刺激产生的电流全部由ASIC2通道产生, 味觉感受细胞的放电频率为 22 Hz; 如果全部由PKD通道产生, 相应的放电频率为 12 Hz. 目前的结果未能明确支持或排除两种机制之一, 放电频率 10~20 Hz高于实验记录得到的单细胞放电频率(~2 Hz), 但与鼓索神经记录的放电频率相当[8]. 超极化激活通道(HCN或I_h)广泛存在于神经和心脏组织中, 可包括 H^+在内的多种信号分子调控[37]. 电生理实验发现在具有Na^+、外向K^+, L和T型Ca^{2+}通道的小鼠味觉细胞中可记录到I_h电流[17], 原位杂交和免疫组化实验也表明HCN表达于大鼠味觉细胞中, 是可能的酸味受体[38]. 但另外一些实验结果得到不同的结论, 例如, Ca^{2+}成像实验表明在酸味感受中HCN并不起作用[39]. HCN通道对于

细胞兴奋性的影响具有双重性[40], 而已有的实验数据未能说明HCN通道受酸味味质激活后能引起放电频率的增加. 基于这些事实, HCN假设得到的支持相对较弱, 本文未对HCN通道及其机制进行仿真. 在后续模型中会包括HCN通道, 以考察其对动作电位的调制作用, 同时确认上述的实验和分析.

味觉感受的研究除了对于基础生物学具有重要意义外, 其进展和结果也将指导仿生味觉传感器的设计. 目前基于味觉感受原理设计的类脂膜味觉传感器和基于光寻址电位传感器(LAPS)的仿生味觉图像传感器[41], 能够响应味质(酸、甜、苦和咸)刺激, 可应用于食品和环境检测等领域; 基于LAPS的味觉细胞芯片[42], 通过监测味质和药物作用下, 味觉感受细胞胞外电位的变化来检测味觉特征以及药物筛选, 但是目前细胞与芯片耦合测量得到的胞外电信号与膜片钳测量到的动作电位间的相关性还不是很清楚. 味觉感受细胞的实验及理论计算结果的不断进展, 包括本文提供的模型及仿真, 将有助于更好地了解味觉感受细胞胞外信号的特征, 推动新型高性能仿生味觉传感器的设计.

4 结论

本文结合味觉感受细胞电生理和酸味感受分子机制研究的最新进展, 基于全细胞膜片钳记录的电压门控Na^+电流和延迟整流K^+电流, 建立了大鼠味觉感受细胞电活动的离子通道模型, 对细胞在电流和酸味刺激下的动作电位进行了仿真. 建模和仿真的结果表明, Na^+通道具有快速激活快速失活的特点, K^+通道具有快速激活慢失活的特点, 这两种通道的协同工作构建了味觉感受细胞动作电位的基础. 仿真的结果进一步证明了电压门控 Na^+通道和延迟整流K^+通道在味觉感受细胞中转导后信号处理中的主导作用. 本文模型为研究味觉感受细胞在各种味觉物质刺激下的响应、味觉适应性、味觉信息在外周神经的传递和编码具有指导意义.

致谢 感谢美国犹他州立大学 Gilbertson 教授提供外向延迟整流 K^+电流膜片钳记录数据、美国俄亥俄州立大学 Herness 教授提供电压门控 Na^+电流膜片钳记录数据.

参考文献

1 Gilbertson T A, Avenet P, Kinnamon S C, et al. Proton currents through amiloride-sensitive Na channels in hamster taste cells. Role in acid transduction. J Gen Physiol, 1992, 100(5): 803—824[DOI]

2 Cummings T A, Powell J, Kinnamon S C. Sweet taste transduction in hamster taste cells: evidence for the role of cyclic nucleotides. J Neurophysiol, 1993, 70(6): 2326—2336

3 Liu L D, Hansen D R, Kim I, et al. Expression and characterization of delayed rectifying K^+ channels in anterior rat taste buds. Am J Physiol Cell Physiol, 2005, 289: 868—880[DOI]

4 Furue H, Yoshii K. In situ tight-seal recordings of taste substance-elicited action currents and voltage-gated Ba currents from single taste bud cells in the peeled epithelium of mouse tongue. Brain Res, 1997, 776(1-2): 133—139[DOI]

5 Avenet P, Lindemann B. Noninvasive recording of receptor cell action potentials and sustained currents from single taste buds maintained in the tongue: the response to mucosal NaCl and amiloride. J Membr Biol 1991, 124(1): 33—41[DOI]

6 Varkevisser B, Peterson D, Ogura T, et al. Neural networks distinguish between taste qualities based on receptor cell population responses. Chem Senses, 2001, 26(5): 499—505[DOI]

7 Yoshida R, Shigemura N, Sanematsu K, et al. Taste responsiveness of fungiform taste cells with action potentials. J Neurophysiol, 2006, 96(6): 3088—3095[DOI]

8 Yoshida R, Yasumatsu K, Shigemura N, et al. Coding channels for taste perception: information transmission from taste cells to gustatory nerve fibers. Arch Histol Cytol, 2006, 69(4): 233—242[DOI]

9 Herness M S, Sun X D. Voltage-dependent sodium currents recorded from dissociated rat taste cells. J Membr Biol, 1995, 146(1): 73—

84

10 Behe P, DeSimone J A, Avenet P, et al. Membrane currents in taste cells of the rat fungiform papilla. Evidence for two types of Ca currents and inhibition of K currents by saccharin. J Gen Physiol, 1990, 96(5): 1061—1084[DOI]

11 Noguchi T, Ikeda Y, Miyajima M, et al. Voltage-gated channels involved in taste responses and characterizing taste bud cells in mouse soft palates. Brain Res, 2003, 982(2): 241—259[DOI]

12 DeFazio R A, Dvoryanchikov G, Maruyama Y, et al. Separate populations of receptor cells and presynaptic cells in mouse taste buds. J Neurosci, 2006, 26(15): 3971—3980[DOI]

13 Sun X D, Herness M S. Characterization of inwardly rectifying potassium currents from dissociated rat taste receptor cells. Am J Physiol, 1996, 271(4 Pt 1): C1221—1232

14 Huang L, Cao J, Wang H, et al. Identification and functional characterization of a voltage-gated chloride channel and its novel splice variant in taste bud cells. J Biol Chem, 2005, 280(43): 36150—36157[DOI]

15 Chen Y, Herness M S. Electrophysiological actions of quinine on voltage-dependent currents in dissociated rat taste cells. Pflugers Arch, 1997, 434(3): 215—226[DOI]

16 Medler K F, Margolskee R F, Kinnamon S C. Electrophysiological characterization of voltage-gated currents in defined taste cell types of mice. J Neurosci, 2003, 23(7): 2608—2617

17 Romanov R A, Kolesnikov S S. Electrophysiologically identified subpopulations of taste bud cells. Neurosci Lett, 2006, 395(3): 249—254[DOI]

18 Naito M, Fuchikami N, Sasaki N, et al. Model for the dynamic responses of taste receptor cells to salty stimuli. I. Function of lipid bi-layer membranes. Biophys J, 1991, 59(6): 1218—1234[DOI]

19 Mierson S, Fidelman M L. The role of epithelial ion transport in taste transduction: a network thermodynamic model. Mathl Comput Modelling, 1994, 19: 119—133[DOI]

20 Hodgkin A L, Huxley A F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J Physiol, 1952, 117: 500—544

21 Hu S, Wang S, Gibson J, et al. Inhibition of delayed rectifier K^+ channels by dexfenfluramine (Redux). J Pharmacol Exp Ther, 1998, 287(2): 480—486

22 Ramirez R J, Nattel S, Courtemanche M. Mathematical analysis of canine atrial action potentials: rate, regional factors, and electrical remodeling. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2000, 279: H1767—H1785

23 Hille B. Ionic Channels of Excitable Membranes (2nd ed). Sunderand MA: SinauerAssociates Inc. 1992.

24 Shimada S, Ueda T, Ishida Y, et al. Acid-sensing ion channels in taste buds. Arch Histol Cytol , 2006, 69(4): 227—231[DOI]

25 Ishimaru Y, Inada H, Kubota M, et al. Transient receptor potential family members PKD1L3 and PKD2L1 form a candidate sour taste receptor. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(33): 12569—12574[DOI]

26 Ugawa S, Yamamoto T, Ueda T, et al. Amiloride-insensitive currents of the acid-sensing ion channel-2a (ASIC2a)/ASIC2b heteromeric sour-taste receptor channel. J Neurosci, 2003, 23(9): 3616—3622

27 Huang A L, Chen X, Hoon M A, et al. The cells and logic for mammalian sour taste detection. Nature, 2006, 442(7105): 934—938[DOI]

28 LopezJimenez N D, Cavenagh M M, Sainz E, et al. Two members of the TRPP family of ion channels, Pkd1l3 and Pkd2l1, are co-expressed in a subset of taste receptor cells. J Neurochem, 2006, 98(1): 68—77[DOI]

29 Lin W, Ogura T, Kinnamon S C. Acid-activated cation currents in rat vallate taste receptor cells. J Neurophysiol, 2002, 88(1): 133—141

30 Doolin R E, Gilbertson T A. Distribution and characterization of functional amiloride-sensitive sodium channels in rat tongue. J Gen Physiol, 1996, 107(4): 545—554[DOI]

31 Adler E, Hoon M A, Mueller K L, et al. A novel family of mammalian taste receptors. Cell, 2000, 100(6): 693—702[DOI]

32 Clapp T R, Medler K F, Damak S, et al. Mouse taste cells with G protein-coupled taste receptors lack voltage-gated calcium channels and SNAP-25. BMC Biol, 2006, 4: 7[DOI]

33 Bigiani A, Cuoghi V. Localization of amiloride-sensitive sodium current and voltage-gated calcium currents in rat fungiform taste cells. J Neurophysiol, 2007, 98(4): 2483—2487[DOI]

34 Herness M S, Chen Y. Serotonergic agonists inhibit calcium-activated potassium and voltage-dependent sodium currents in rat taste receptor cells. J Membr Biol, 2000, 173(2): 127—138[DOI]

35 Herness M S, Zhao F L, Kaya N, et al. Expression and physiological actions of cholecystokinin in rat taste receptor cells. J Neurosci, 2002, 22(22): 10018—10029

36 Richter T A, Dvoryanchikov G A, Roper S D, et al. Acid-sensing ion channel-2 is not necessary for sour taste in mice. J Neurosci, 2004, 24(16): 4088—4091 [DOI]

37 Malcolm A T, Kourennyi D E, Barnes S, et al. Protons and calcium alter gating of the hyperpolarization-activated cation current (I(h)) in rod photoreceptors. Biochim Biophys Acta 2003, 1609(2): 183—192[DOI]

38 Stevens D R, Seifert R, Bufe B, et al. Hyperpolarization-activated channels HCN1 and HCN4 mediate responses to sour stimuli. Nature, 2001, 413(6856): 631—635[DOI]

39 Richter T A, Caicedo A, Roper S D. Sour taste stimuli evoke Ca^{2+} and pH responses in mouse taste cells. J Physiol, 2003, 547(Pt 2): 475—483[DOI]

40 Poolos N P. The Yin and Yang of the H-Channel and Its Role in Epilepsy. Epilepsy Curr, 2004, 4(1): 3—6[DOI]

41 贺慧琦，李蓉，叶学松，等. 基于 LB 膜的集成味觉 LAPS 图像传感器. 仪表技术与传感器，2001, 10

42 李燕. 味觉细胞芯片及其在味觉传导机理中的研究. 硕士学位论文. 杭州：浙江大学, 2006