

研究论文

闰细胞去极化激活电流的发现与鉴定

史文森, 丁政, 孙琪, 段新鹏, 张成标*

徐州医科大学生理学教研室, 徐州 221000

摘要: 本实验室首次在肾脏远端肾单位闰细胞记录到去极化激活电流, 并根据电生理学和药理学特征鉴定其离子通道的类型。用Axon MultiClamp 700B膜片钳系统记录C57BL/6J小鼠肾脏远端肾单位肾小管细胞全细胞电流, 并观察钾通道抑制剂对闰细胞去极化激活电流的影响。此外, 应用免疫荧光技术研究介导该电流的离子通道的具体定位。结果显示, 当细胞外液为等钾溶液时, 可在闰细胞记录到去极化激活电流, 但该去极化激活电流未在主细胞观察到。在远端肾单位闰细胞记录到的去极化激活电流能被电压门控钾通道Kv4.1抑制剂阻断。Kv4.1蛋白免疫荧光只存在于闰细胞, 未在主细胞观察到。Kv4.1蛋白免疫荧光可见于闰细胞的管腔膜和管周膜, 但管腔膜的荧光强度高于管周膜。由此得出结论, 闰细胞去极化激活电流由Kv4.1钾通道介导, 该通道主要表达在闰细胞的管腔膜上。

关键词: 肾脏; 远端肾单位; Kv4.1钾通道; 闰细胞; 氢-钾泵

Recording and identification of depolarization-activated current in intercalated cells

SHI Wen-Sen, DING Zheng, SUN Qi, DUAN Xin-Peng, ZHANG Cheng-Biao*

Department of Physiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China

Abstract: The depolarization-activated current of intercalated cells in the distal nephron was detected for the first time, and the type of ion channel mediating the current was identified based on electrophysiological and pharmacological properties. The whole-cell current of distal nephron in kidney of C57BL/6J mice was recorded by Axon MultiClamp 700B patch-clamp system, and the effects of several K^+ channel inhibitors on the depolarization-activated current in intercalated cells were observed. In addition, the immunofluorescence technique was used to investigate the localization of the channel in intercalated cells. The results showed that when K^+ concentration of the bath solution was equal to intracellular fluid (140 mmol/L K^+), the depolarization-activated current could be recorded in intercalated cells, but this current was not observed in the principal cells. The depolarization-activated current detected in the intercalated cells could be blocked by Kv4.1 inhibitors. The immunofluorescence experiment showed that the fluorescence of Kv4.1 protein was only present in intercalated cells and not observed in principal cells. Kv4.1 protein immunofluorescence was observed in the luminal and basolateral membrane of intercalated cells, but the fluorescence intensity of luminal membrane was higher than that of basolateral membrane. We conclude that the depolarization-activated current detected in intercalated cells is mediated by Kv4.1 and this channel is mainly expressed in the luminal membrane of intercalated cells.

Key words: kidney; distal nephron; Kv4.1; intercalated cell; H^+ , K^+ -ATPase

肾脏远端肾单位 (distal nephron) 是指致密斑远端部分的肾小管, 包括远曲小管 (distal convoluted tubule, DCT)、连接小管 (connecting tubule, CNT) 和

集合管 (collecting duct, CD)^[1,2]。远端肾单位有两类细胞, 即主细胞和闰细胞。主细胞的功能是重吸收 Na^+ 和水, 并对醛固酮和抗利尿激素 (antidiuretic

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31171109, 31571187).

*Corresponding author. E-mail: zhangcbs@sina.com

hormone, ADH) 高度敏感, 在调节肾脏对水和 NaCl 的重吸收以及 K^+ 的分泌中发挥关键作用^[1,3]。而闰细胞的作用主要是分泌 H^+ 和 HCO_3^- , 是肾脏调节机体酸碱平衡的功能细胞^[4]。此外, 闰细胞还涉及高钾饮食时 K^+ 的排泄以及机体缺钾时对 K^+ 的重吸收^[5]。本研究在肾脏远端肾单位膜片钳实验中记录到一种去极化激活电流, 由于这种电流只见于闰细胞, 未在主细胞记录到, 因而推测这种电流可能与闰细胞的某种功能有关。在深入研究其功能之前, 我们对介导该电流的通道类型进行了电生理学和药理学鉴定。

1 材料与方法

1.1 远端肾单位肾小管的制备 C57BL/6J 小鼠, 清洁级, 3~4 周龄, 由徐州医科大学实验动物中心提供 (伦理审批号: 2022095059)。小鼠在甲氧氟烷吸入麻醉后, 立即打开腹腔取出肾脏, 先剥离包膜, 再用刀片切出厚约 0.5~1 mm 的组织切片, 放入含胶原酶 (1 mg/mL) 的 Leibovitz's L-15 培养基 (Gibco, 美国) 中, 移至 37 °C 恒温水浴箱消化 45~60 min。在解剖显微镜下分离出远端肾单位肾小管, 放在涂有多聚赖氨酸的载玻片上并移送至倒置显微镜的浴槽 (含 1 mL 溶液) 中。

1.2 玻璃微电极的拉制 选用外径 1.50 mm、内径 1.10 mm 的玻璃毛细管, 用 PC-100 型微电极拉制仪 (Sharnge, 日本) 拉制成合适锥度、尖端口径约 0.5~1.0 μm 的玻璃微电极。

1.3 实验溶液及药品 电极内液 (mmol/L): K-Gluconate 130, KCl 10, EGTA 1, MgATP 2, HEPES 10 (pH = 7.4)。细胞外液 (mmol/L): Na-Gluconate 133, NaCl 5, K-Gluconate 5, $CaCl_2$ 1.5, $MgCl_2$ 1.5, HEPES 10 (pH = 7.4)。等钾细胞外液: K-Gluconate 133, KCl 7, $CaCl_2$ 1.5, $MgCl_2$ 1.5, HEPES 10 (pH = 7.4)。用于消化肾小管的胶原酶溶液在实验时临时配制, 每次称取 1~2 mg, 用 Leibovitz's L-15 培养基稀释成浓度为 1 mg/mL 的酶溶液。甲氧氟烷、氯胺酮、甲苯噻嗪、胶原酶、两性霉素、肝素、多聚甲醛以及用于膜片钳实验的所有试剂均购于 Sigma。 $Kv4.1$ 钾通道抑制剂 flecainide、heteropodatoxin-2 购于 Sigma, 抗 $Kv4.1$ 抗体 (货号: APC-119) 购于 Alomone Labs, 抗 H^+ 泵 (H^+ -ATPase) (ATP6V1A, 货号: MA5-27730) 和抗水通道蛋白 2 (Aquaporin 2, AQP2) 抗体 (货号:

PA5-22865) 购于 ThermoFisher Scientific, 二抗 FITC (货号: GB22403)、Cy3 (货号: GB21303) 和 Cy5 (货号: GB27303) 购于 Servicebio。

1.4 全细胞膜片钳实验 选取光滑、结构清晰的肾小管进行膜片钳实验。本实验所用仪器为 Axon MultiClamp 700B 膜片钳系统, 用穿孔膜片钳技术记录全细胞电流。用于穿孔膜片钳实验的含有两性霉素 B (200 $\mu g/1$ mL) 的电极内液临时配制。内充电极内液后的电极入液电阻为 3~5 M Ω 。在形成高电阻密封 (> 1 G Ω) 后, 实时监测膜电容, 直至形成稳定的全细胞记录模式。记录和分析软件为 Patch Clamp 11.7 (Molecular Devices, 美国)。在形成全细胞记录模式后, 用预先设置的 Protocol 记录去极化激活电流。随后加入特异性的钾通道抑制剂, 5 min 后用同样的 Protocol 再次记录去极化电流。

1.5 免疫荧光实验 用氯胺酮 (100 mg/kg) 和甲苯噻嗪 (10 mg/kg) 麻醉小鼠, 打开腹腔, 暴露其肾脏。先用 2 mL 含肝素 (40 unit/mL) PBS 溶液灌注肾脏, 然后再灌注 20 mL 4% (V/V) 多聚甲醛。灌注结束后, 将肾脏取出并用 4% (V/V) 多聚甲醛进行后固定 (12 h)。肾脏脱水后用 Leica 1900 冰冻切片机切成 8~10 μm 厚的组织切片, 并贴于载玻片上, 42 °C 干燥 1 h。载玻片用 1 $\times$ PBS 洗片 15 min, 并用 0.3% 的 Triton X-100 溶液透化 15 min。Triton X-100 溶液用含有 1% BSA 和 0.1% 赖氨酸的 1 $\times$ PBS (pH = 7.4) 缓冲液配制。肾组织切片先在室温下用 2% (V/V) 马血清封片 30 min, 再在 4 °C 下与一抗 (1:500 抗 H^+ -ATPase、1:200 抗 $Kv4.1$ 和 1:1 000 抗 AQP2 抗体) 孵育 12 h。然后用 1 $\times$ PBS 溶液彻底洗片, 随后加入二抗混合物 (二抗溶解于含 0.4% Triton X-100 的 1 $\times$ PBS 缓冲液中, FITC 稀释 1 000 倍, Cy3 稀释 500 倍, Cy5 稀释 400 倍), 在室温下孵育 2 h。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。实验数据用 mean $\pm$ SEM 表示。给药前后数据的比较采用自身配对 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 闰细胞与主细胞的电生理学鉴别

在主要成分为 138 mmol/L Na^+ + 5 mmol/L K^+ 的溶液 (模拟正常细胞外液) 中记录远端肾单位上皮细胞全细胞电流。结果如图 1 所示, 闰细胞的稳态电流表现出极强的外向整流性, 而主细胞的电流

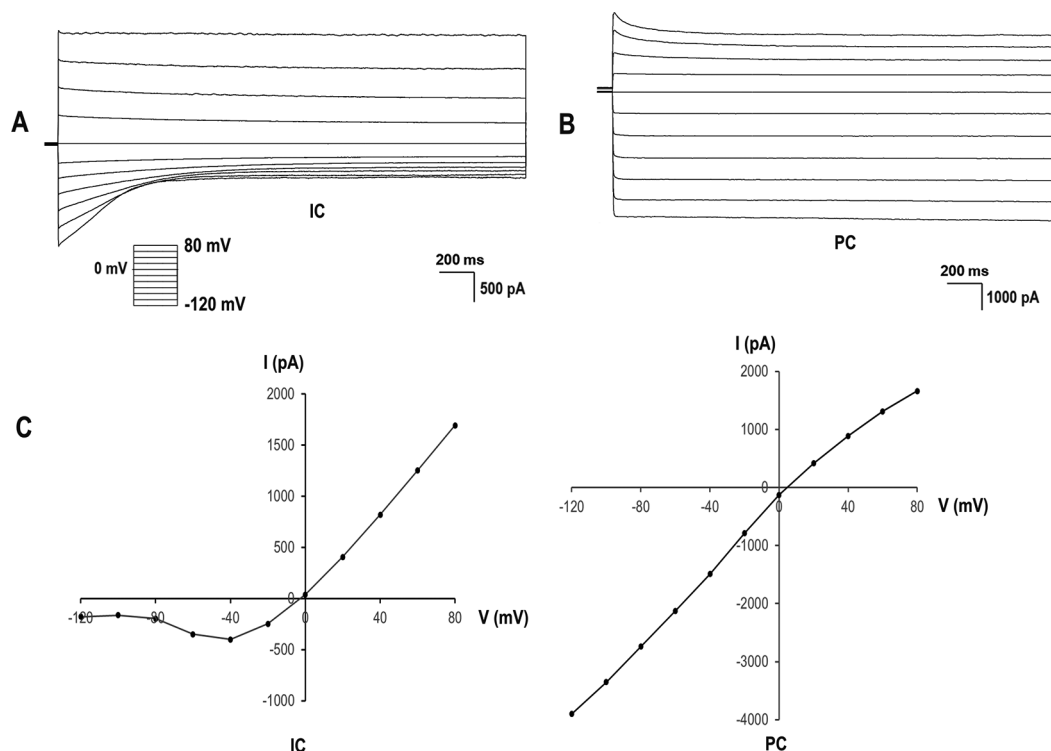


图 1 闰细胞和主细胞的全细胞电流

Fig. 1. Whole-cell currents in intercalated cells and principal cells. *A*: Whole-cell current recorded in an intercalated cell (IC). *B*: Whole-cell current recorded in a principal cell (PC). *C*: The steady-state current I - V curves of the two types of cells. The cells were initially clamped at 0 mV, and then pulse potential was set from -120 mV to 80 mV with 20 mV increments. Bath solution (mmol/L): 133 Na-Gluconate, 5 NaCl, 5 K-Gluconate, 1.5 CaCl₂, 1.5 MgCl₂, 10 HEPES (pH = 7.4). Pipette solution (mmol/L): 130 K-Gluconate, 10 KCl, 1 EGTA, 10 HEPES, 2 MgATP (pH = 7.4).

特征为较强的内向整流，两者之间存在巨大差异，因此能够根据电流曲线的形态特征识别其细胞类型。

2.2 闰细胞去极化激活电流的记录

当细胞外液为等钾溶液时（即与细胞内 K⁺ 浓度相同的高钾溶液），可排除细胞内外 K⁺ 浓度梯度对钾电流的影响，这时钾电流的幅度只受电位梯度的影响。实验结果显示，当细胞外液为等钾溶液时，可在闰细胞记录到较大的去极化激活电流，从 -80 mV 去极化至 40 mV，能够激发产生约 (2758 ± 326) pA ($n = 8$) 的瞬时外向电流，但该去极化激活电流未在主细胞观察到（图 2）。

2.3 远端肾单位闰细胞去极化激活电流的电生理学和药理学鉴定

在远端肾单位闰细胞记录到的去极化激活电流的特征和时程与 Kv4.1 通道激活时产生的瞬时外向电流很相似。为了确定通道的类型，我们观察了闰细胞去极化激活电流分别对 Kv4.1 钾通道特异性抑

制剂 flecainide、heteropodatoxin-2 的反应。结果显示，这种去极化激活电流能被 flecainide 显著抑制，在加入 flecainide 5 min 后，去极化（从 -80 mV 至 40 mV）激发的瞬时外向钾电流的幅度降至 (530 ± 122) pA ($n = 8$, $P < 0.01$, 图 3A、3C)，flecainide 敏感电流幅度为 (2228 ± 285) pA ($n = 8$)。这种去极化激活电流也能被 Kv4.1 特异性阻断剂 heteropodatoxin-2 强烈抑制（图 3B、D），表明该电流主要由钾通道 Kv4.1 介导。

2.4 Kv4.1 钾通道在远端肾单位的表达和定位

本研究进一步应用免疫荧光技术研究 Kv4.1 钾通道在远端肾单位上皮细胞的表达及其具体定位。AQP2 和 H⁺-ATPase 分别表达于主细胞和闰细胞，可将两者作为主细胞和闰细胞的特异性标记物^[7]。用抗 AQP2 抗体、抗 H⁺-ATPase 抗体和抗 Kv4.1 钾通道抗体进行三重免疫荧光标记，红、绿、粉三种不同颜色荧光分别指示 AQP2、H⁺-ATPase 和 Kv4.1 通道蛋白。结果显示（图 4），Kv4.1 蛋白荧光只见

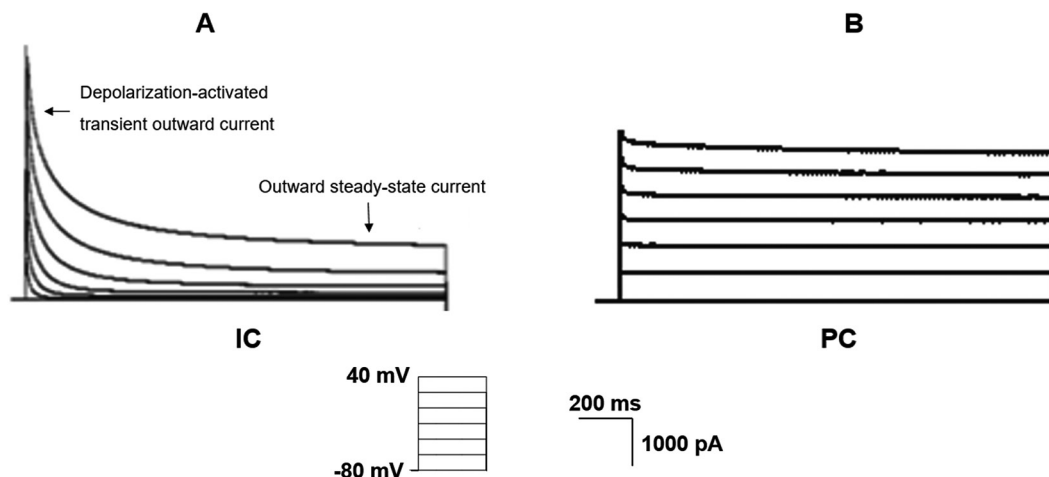


图 2. 浴液为等钾细胞外液时，可在闰细胞记录到较大的去极化激活电流

Fig. 2. Large depolarization-activated currents were detected in intercalated cells when the K^+ concentration of bath solution was equal to the intracellular. The cells were initially clamped at 0 mV, and then pulse potential was set from -80 mV to 40 mV with 20 mV increments. *A*: Depolarization-activated currents were recorded in an intercalated cell (IC). *B*: No depolarization-activated currents were recorded in a principal cell (PC). Bath solution (mmol/L): 133 K-Gluconate, 7 KCl, 1.5 $CaCl_2$, 1.5 $MgCl_2$, 10 HEPES (pH = 7.4).

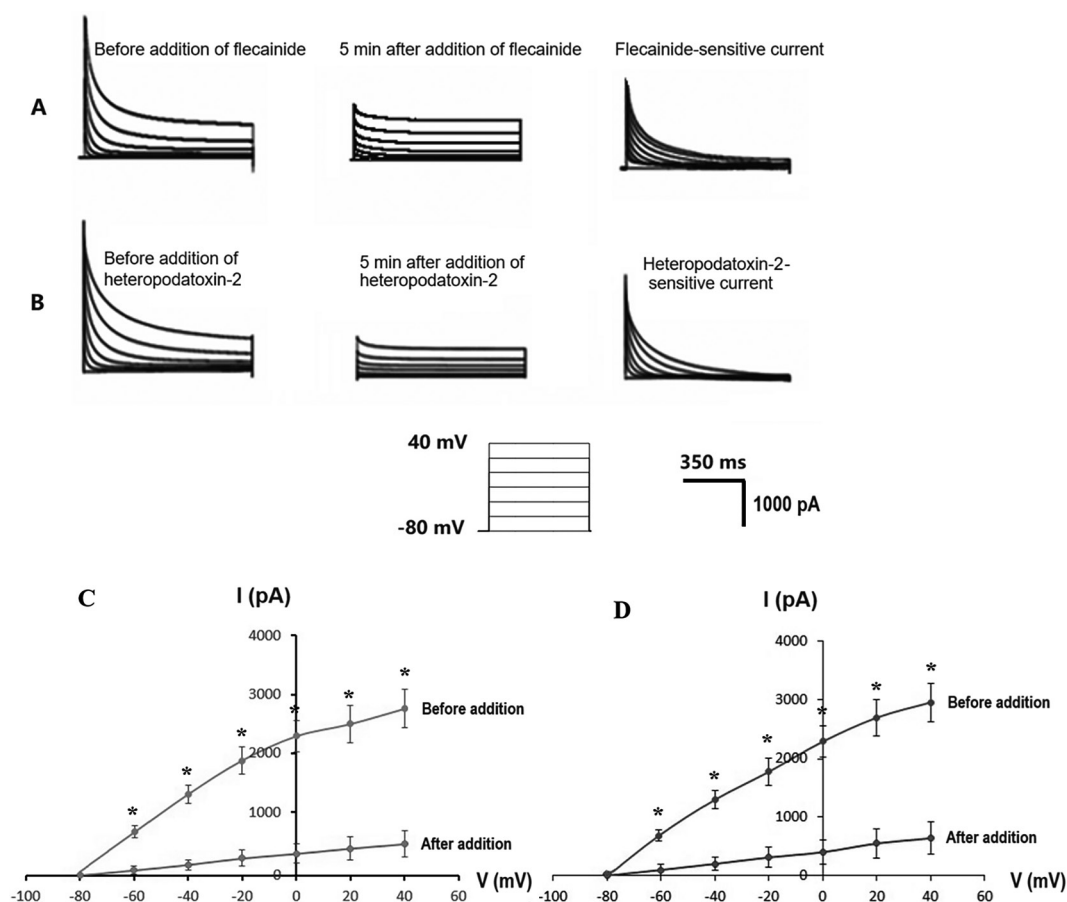


图 3. Kv4.1钾通道抑制剂对闰细胞去极化激活电流的影响

Fig. 3. Effects of Kv4.1 potassium channel inhibitors on the depolarization-activated currents recorded in the intercalated cells. *A*: Inhibitory effect of flecainide on depolarization-activated current. *B*: Inhibitory effect of heteropodatoxin-2 on depolarization-activated current. *C*: $I-V$ curves before and after addition of flecainide. *D*: $I-V$ curves before and after addition of heteropodatoxin-2. * $P < 0.01$ compared with values after addition.

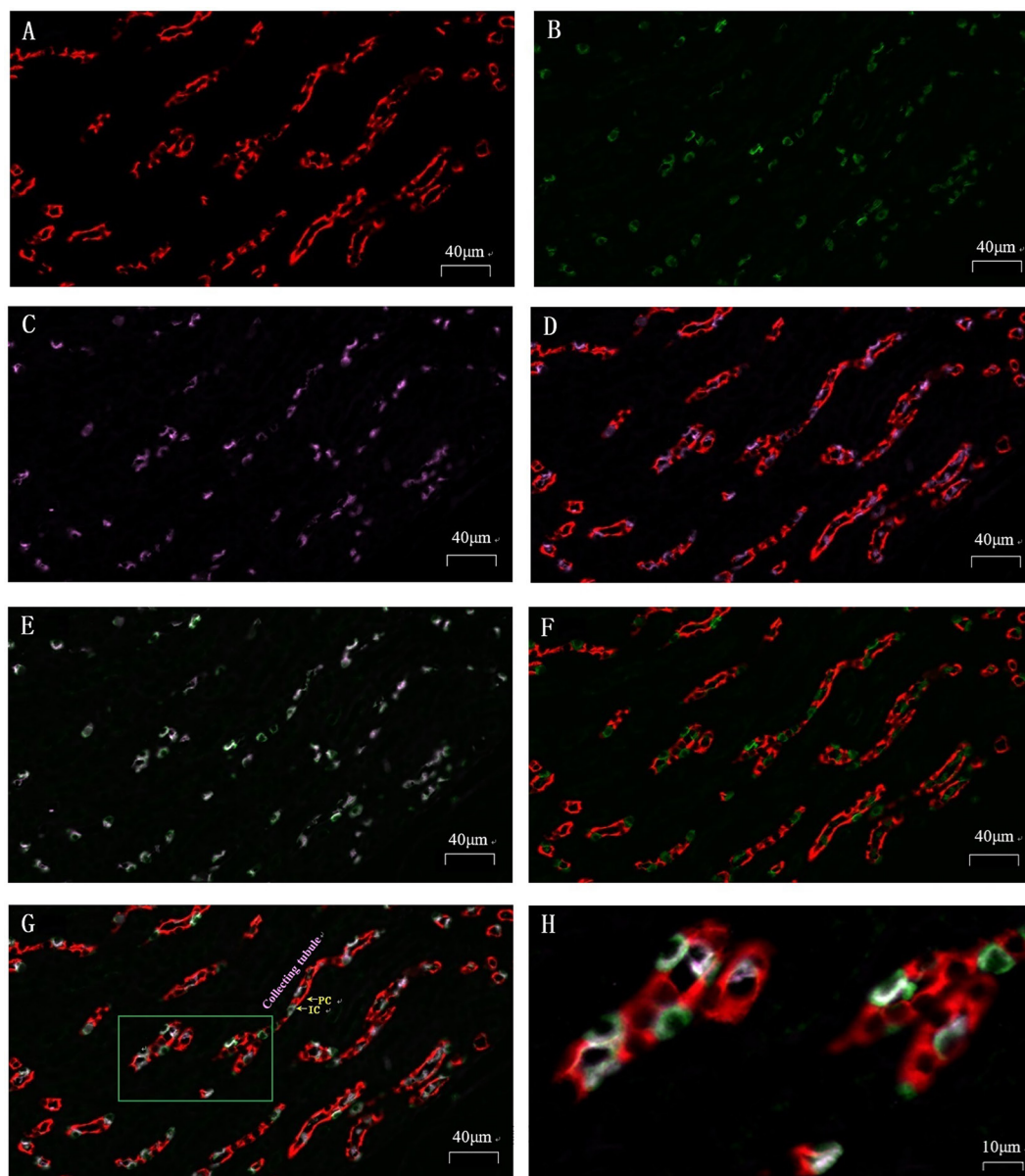


图 4 Kv4.1钾通道在远端肾单位(髓质部集合管)的定位

Fig. 4. Localization of Kv4.1 in the distal nephron (medullary collecting duct) of the kidney. Triple immunofluorescence staining of C57BL/6J mouse kidney medulla: AQP2 (red), H^+ -ATPase (green), and Kv4.1 channel proteins (pink). A, B and C respectively showed the immunostaining of AQP2, H^+ -ATPase and Kv4.1 channel protein. D: The merged staining image of AQP2 and Kv4.1. E: The merged staining image of H^+ -ATPase and Kv4.1. F: The fluorescence image showing the merged staining of AQP2 and H^+ -ATPase. G: Fluorescence microscope image showing the merged staining of AQP2, H^+ -ATPase and Kv4.1. H: The enlargement of the area enclosed by a rectangle in image G. PC: principal cell. IC: intercalated cell. Scale bar, 40 or 10 μm .

于闰细胞，未在主细胞观察到。Kv4.1免疫荧光分布于闰细胞的管腔膜和管周膜，但管腔膜的荧光强度明显高于管周膜。

3 讨论

肾脏远端肾单位 (包括 DCT、CNT 和 CD) 在

调节水盐代谢和酸碱平衡等方面发挥关键作用。远端肾单位有主细胞和闰细胞两种细胞。主细胞是醛固酮和 ADH 作用的靶细胞，在调节肾脏对 NaCl 的重吸收以及 K^+ 的分泌中起重要作用。闰细胞通过分泌 H^+ 和 HCO_3^- 参与机体酸碱平衡的维持。

高钾饮食条件下，机体主要依靠主细胞的泌钾

活动将多余的 K^+ 排出体外^[8]。体钾过多时, 闰细胞也参与 K^+ 的排泄。闰细胞的管腔膜上存在钙激活大电导钾通道 (Ca^{2+} -activated big conductance K^+ channel, BK)^[9], 它是一种外向整流钾通道, 主要介导细胞内 K^+ 外流, 在体钾过剩时与主细胞共同调节 K^+ 分泌^[10]。在机体缺钾时, 主细胞没有重吸收 K^+ 的功能, 但其泌钾活动被抑制, 此时主要依靠闰细胞增加对 K^+ 的重吸收以维持钾平衡^[10]。闰细胞通过管腔膜 H^+, K^+ -ATPase 介导的 H^+-K^+ 交换将细胞内的 H^+ 分泌到小管腔, 同时将小管液中的 K^+ 重吸收到细胞内。

肾脏远端肾单位闰细胞和主细胞的全细胞电流存在很大差异, 能够根据电流曲线的形态特征识别其细胞类型。在 140 mmol/L 高钾溶液 (与细胞内液 K^+ 浓度相等) 中, 本研究采用全细胞膜片钳技术在远端肾单位细胞记录到了一种去极化激活电流, 但该电流只见于闰细胞, 并未在主细胞记录到。这种去极化激活电流类似瞬时外向钾电流, 能被 Kv4.1 钾通道特异性阻断剂 flecainide、heteropodatoxin-2 阻断, 表明该电流由 Kv4.1 钾通道介导。闰细胞和主细胞的功能不同, 其表达的钾通道也存在极大的差异。Kir4.1/Kir5.1 是内向整流钾通道, 在主细胞的管周膜大量表达^[11, 13], 但闰细胞的内向电流极小, 表明 Kir4.1/Kir5.1 在闰细胞管周膜不表达或很少表达。本研究膜片钳实验表明, Kv4.1 钾通道只存在于闰细胞, 提示该通道可能与闰细胞的某种功能密切相关。

闰细胞除了在酸碱平衡调节方面发挥重要作用, 在机体缺钾时, 也通过重吸收 K^+ 参与钾平衡的调节^[14]。闰细胞对 K^+ 的重吸收由管腔膜 H^+, K^+ -ATPase 介导, 低钾时 H^+, K^+ -ATPase 活动增强, H^+-K^+ 交换增加, 促进 K^+ 进入细胞内。在缺钾条件下, 闰细胞管腔膜 H^+, K^+ -ATPase 的持续活动将使细胞去极化, 因为在细胞内伴随 H^+ 生成的 HCO_3^- 通过 Cl^- - HCO_3^- 共转运体 1 (anion exchanger 1, AE1) 转运出细胞, Cl^- 交换进细胞, 管周膜上的氯通道再将进入细胞内的 Cl^- 转运出细胞, 即通过管周膜 Cl^- 再循环移走了细胞内带负电的 HCO_3^- , 在细胞内集聚的 K^+ 使细胞内负电位变小 (去极化)。细胞内 K^+ 浓度升高和去极化显然不利于闰细胞重吸收 K^+ , 因为 H^+, K^+ -ATPase 重吸收 K^+ 是耗能过程, 受到 K^+ 浓度梯度和电位梯度的影响。因此, 我们推测 Kv4.1 钾通道可能与闰细胞重吸收 K^+ 功能相关。

Kv4.1 钾通道在 H^+, K^+ -ATPase 持续重吸收 K^+ 引起细胞去极化时被激活, 促进细胞内的 K^+ 转运至细胞外从而被重吸收入血, 从而达到电学平衡, 稳定膜电位, 以维持 H^+, K^+ -ATPase 持续重吸收 K^+ 。闰细胞的管周膜上存在 K^+-Cl^- 同向联合转运体 (K^+-Cl^- cotransporter, KCC)^[12], KCC 再将细胞内集聚的多余 Cl^- 和 K^+ 及时转移出细胞, 以维持细胞的渗透压平衡。

本研究进一步应用免疫荧光技术对小鼠远端肾单位 Kv4.1 钾通道进行定位, 以明确 Kv4.1 钾通道在远端肾单位主细胞和闰细胞的具体分布。我们用 AQP2 和 H^+ -ATPase 分别作为主细胞和闰细胞的特异性标记物, 用抗 AQP2 抗体、抗 H^+ -ATPase 抗体和抗 Kv4.1 钾通道抗体进行三重免疫荧光标记, 结果发现, Kv4.1 钾通道分布于闰细胞的管腔膜及管周膜上, 管腔膜表达多于管周膜。该结果进一步提示 Kv4.1 钾通道可能与闰细胞重吸收 K^+ 功能密切相关, 因为 Kv4.1 钾通道与 H^+, K^+ -ATPase 共表达于闰细胞的管腔膜上, 有利于实时纠正机体缺钾时 H^+, K^+ -ATPase 持续活动引起的管腔膜侧跨膜电位的变化, 从而维持 H^+, K^+ -ATPase 的正常持续重吸收 K^+ 活动。

闰细胞的管腔膜表达大量 BK, 但其管周膜存在哪些钾通道迄今尚未阐明。在主细胞大量表达的内向整流钾通道 Kir4.1/Kir5.1 在闰细胞管周膜不表达或很少表达。Tang 等^[6]曾在闰细胞记录到一种与 H^+, K^+ -ATPase 功能密切相关的 Ba^{2+} 敏感电流, 但难以确定这种通道的类型, 因为能被 Ba^{2+} 阻断的钾通道有很多。本研究结果表明, Kv4.1 钾通道也表达于闰细胞的管周膜, 除了稳定膜电位, 可能也介导了 K^+ 从管周膜侧的跨膜转运 (重吸收) 过程。

电压门控型钾通道 (voltage-gated K^+ channels, Kv) 是一类受膜电位变化调节的钾离子通道, 在神经、肌肉等组织细胞大量表达, 其功能是调节细胞内外的离子浓度, 稳定膜电位, 影响细胞的兴奋性和传导速度^[15, 16]。Kv 通道根据其氨基酸序列同源性分为 12 种亚型 (Kv1~Kv12)^[17]。瞬时外向钾电流多见于心肌细胞和神经细胞, 主要由 Kv1.4 和 Kv4 介导^[18, 19]。这类钾通道在去极化时被激活, 产生外向钾离子流, 对抗去极化、稳定膜电位或者使细胞复极化。瞬时外向钾电流主要影响动作电位的发放频率, 在调节神经元兴奋性方面具有重要作用, 也是心肌动作电位快速复极初期的主要贡献者。介导

瞬时外向钾电流的 Kv4.1 主要存在于神经、肌肉等可兴奋组织,很少有表达于非可兴奋性细胞的报道。本研究结果表明, Kv4.1 钾通道也在非可兴奋细胞表达,并可能具有重要功能。

本研究已阐明 Kv4.1 钾通道在闰细胞特异性表达,主要定位于管腔膜,并推测可能与闰细胞重吸收 K^+ 活动相关。后期我们拟建立低钾饮食动物模型以及 Kv4.1 基因敲除小鼠模型,进一步研究 Kv4.1 钾通道是否在闰细胞重吸收 K^+ 过程中发挥重要作用。

参考文献

- 1 Teulon J, Wang WH. Studying Na^+ and K^+ channels in aldosterone-sensitive distal nephrons. *Method Cell Biol* 2019; 153: 151–168.
- 2 Nesterov V, Bertog M, Canonica J, Hummler E, Coleman R, Welling PA, Korbmayer C. Critical role of the mineralocorticoid receptor in aldosterone-dependent and aldosterone-independent regulation of ENaC in the distal nephron. *Am J Physiol Renal Physiol* 2021; 321(3): F257–F268.
- 3 Tabibzadeh N, Crambert G. Mechanistic insights into the primary and secondary alterations of renal ion and water transport in the distal nephron. *J Intern Med* 2023; 293(1): 4–22.
- 4 Wall SM, Verlander JW, Romero CA. The renal physiology of pendrin-positive intercalated cells. *Physiol Rev* 2020; 100(3): 1119–1147.
- 5 Roy A, Al-bataineh MM, Pastor-Soler NM. Collecting duct intercalated cell function and regulation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10(2): 305–324.
- 6 Tang X, Yang X, Lai G, Guo J, Xia L, Wu B, Xie Y, Huang M, Chen J, Ruan X, Sui G, Ge Y, Zuo W, Zhao N, Zhu G, Zhang J, Li L, Zhou W. Mechanism underlying hypokalemia induced by trimethyltin chloride: Inhibition of H^+/K^+ -ATPase in renal intercalated cells. *Toxicology* 2010; 271(1–2): 45–50.
- 7 Chen L, Gao C, Zhang L, Zhang Y, Chen E, Zhang W. Highly tamoxifen-inducible principal cell-specific Cre mice with complete fidelity in cell specificity and no leakiness. *Am J Physiol Renal Physiol* 2018; 314 (4): F572–F583.
- 8 Xie QH (谢琼虹), Hao CM. Regulation of kidney on potassium balance and its clinical significance. *Acta Physiol Sin* (生理学报) 2023; 75(2): 216–230 (in Chinese).
- 9 Rao R, Bhalla V, Pastor-Soler NM. Intercalated cells of the kidney collecting duct in kidney physiology. *Semin Nephrol* 2019; 39(4): 353–367.
- 10 Carrisoza-Gaytan R, Ray EC, Flores D, Marciszyn AL, Wu P, Liu L, Subramanya AR, Wang W, Sheng S, Nkashama LJ, Chen J, Jackson EK, Mutchler SM, Heja S, Kohan DE, Satlin LM, Kleyman TR. Intercalated cell $BK\alpha$ subunit is required for flow-induced K^+ secretion. *JCI Insight* 2020; 5(8): e130553.
- 11 Tomilin VN, Zaika O, Subramanya AR, Pochynyuk O. Dietary K^+ and Cl^- independently regulate basolateral conductance in principal and intercalated cells of the collecting duct. *Pflügers Arch* 2018; 470(2): 339–353.
- 12 Melo Z, Cruz-Rangel S, Bautista R, Vazquez N, Castaneda-Bueno M, Mount DB, Pasantes-Morales H, Mercado A, Gamba G. Molecular evidence for a role for K^+ - Cl^- cotransporters in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305(10): F1402–F1411.
- 13 Penton D, Vohra T, Banki E, Wengi A, Weigert M, Forst AL, Bandulik S, Warth R, Löffing J. Collecting system-specific deletion of *Kcnj10* predisposes for thiazide and low-potassium diet-induced hypokalemia. *Kidney Int* 2020; 97(6): 1208–1218.
- 14 Rao R, Bhalla V, Pastor-Soler NM. Intercalated cells of the kidney collecting duct in kidney physiology. *Semin Nephrol* 2019; 39(4): 353–367.
- 15 Serrano-Novillo C, Capera J, Colomer-Molera M, Condom E, Ferreres JC, Felipe A. Implication of voltage-gated potassium channels in neoplastic cell proliferation. *Cancers (Basel)* 2019; 11(3): 287.
- 16 Barros F, Pardo LA, Domínguez P, Sierra LM, de la Peña P. New structures and gating of voltage dependent potassium (Kv) channels and their relatives: A multi-domain and dynamic question. *Int J Mol Sci* 2019; 20(2):248.
- 17 Nieves-Cintrón M, Syed AU, Nystoriak MA, Navedo MF. Regulation of voltage-gated potassium channels in vascular smooth muscle during hypertension and metabolic disorders. *Microcirculation* 2018; 25(1): 10.
- 18 Niwa N, Nerbonne JM. Molecular determinants of cardiac transient outward potassium current (I_{to}) expression and regulation. *J Mol Cell Cardiol* 2010; 48(1): 12–25.
- 19 Cercós P, Peraza DA, Benito-Bueno A, Socuélamos PG, Aziz-Nignan A, Arrechaga-Estévez D, Beato E, Peña-Acevedo E, Albert A, González-Vera JA, Rodríguez Y, Martín-Martínez M, Valenzuela C, Gutiérrez-Rodríguez M. Pharmacological approaches for the modulation of the potassium channel $K_v4.x$ and $KChIPs$. *Int J Mol Sci* 2021; 22(3): 1419.