

机械敏感性离子通道的建模模拟研究*

谢君瑜¹ 丁光宏^{1,2,†}

¹ 复旦大学力学工程与科学系, 上海 200433

² 上海市针灸经络研究中心, 上海 201203

摘要 机械敏感性离子通道在多种生理活动中起着极其重要的作用. 至今, 学者对这类通道的研究分析已经长达 20 多年. 在实验方面, 大电导率和小电导率机械敏感性离子通道晶体结构的确定, 使人们对机械敏感性离子通道的建模和模拟分析成为可能, 并对这类通道的动力学机理的了解大大深入. 在对离子通道理论研究的过程中, 多种模拟方法和计算手段都展示了各自的优越性和针对性, 这为我们提供了从不同方面认识离子通道的可能性, 但他们也存在着自身的局限性. 特别是, 在众多针对离子通道的理论分析技术当中, 分子动力学模拟的方法尤为突出. 这一技术的出现, 为我们提供了对离子通道结构功能关系以及动力学特性更加全面与细节的描述, 这些都是其他很多技术方法所不能达到的. 另外, 分子动力学模拟又包括多种方法, 不同方法的使用使得我们能从不同切入点研究离子通道不同的特性. 因此在本文中, 我们着眼于对机械敏感性离子通道的计算分析, 特别是分子动力学模拟的应用. 通过对分子动力学模拟的介绍, 我们探讨了机械敏感性离子通道在构象、磷脂环境、机械刺激、电压依赖以及门控开放等方面的动力学机制. 同时对不同模拟技术优劣性的比较将会为我们日后的探索提供更好的研究方法. 最后, 我们也概括了国内近年来在离子通道理论研究方面取得的重大突破和突出成果, 为我们日后深入研究机械敏感性离子通道提供新的思路与启发.

关键词 机械敏感性离子通道, 机械敏感性传导, 建模计算, 模拟分析, 分子动力学模拟

1 引言

在很长时间内, 机械力一直在各种细胞的生理活动中起着重要的作用, 所以机械传导性被认为是最古老的感觉之一, 并涉及多种有机体内的感觉传导过程. 机械门控, 即机械敏感性离子通道 (mechanosensitive channels, MS) 概念的提出, 起源于针对机械敏感性神经元的研究^[1-3]. MS 通道是在活细胞中被发现的整合膜蛋白, 它具有感知机械力并将其转换为电化学信号的能力. 自然界中, MS 通道在各种生理过程中起到了机械力和电信号的分子转换器的重要作用, 例如, 控制细菌的细胞肿胀和实现哺乳动物的触觉听觉过程^[4-9]. 当细菌遭受低渗透压作用时, MS 通道充当了安全阀

的作用. 通道在感受到细胞上的上升膨压 (turgor pressure) 时会开放孔道, 由此降低膨压并最终避免细胞被溶解. 自从在鸡胚胎骨骼肌以及蛙肌肉中被首次发现以来, MS 通道已经在很多种细胞中被确定^[10-12].

膜片钳技术^[13]的出现促使了 MS 通道的单通道电流被首次探测到^[14-16], 更使得活细胞中的两种基本的通道类型被确定, 它们是张力激活型 (stretch-activated, SA) 和非张力激活型 (stretch-inactivated, SI) 离子通道^[5]. 类似的, 应用膜片钳方法, 原核细胞中的 MS 通道首次在巨型大肠杆菌球形体中^[17]以及细胞膜和脂质体的融合体中^[18-19]被探测到. 很快, 不同原核细胞的 MS 通道就得到了克隆研究和特性化描述^[20-28], 并且涉

收稿日期: 2010-09-14, 修回日期: 2012-01-10 doi: 10.6052/1000-0992-11-129

* 国家基础研究发展计划“973”项目 (2012CB518502), 国家自然科学基金项目 (81102630), 上海市重点学科项目 (S30304, B112), 上海市科委科技委员会基金项目 (08DZ1973000, 09DZ1976600, 09DZ1974303, 10DZ1975800), 复旦大学青年科学基金项目 (09FQ07) 资助

† E-mail: ghding@fudan.edu.cn

及到无脊椎和脊椎动物机械传导过程的 MS 通道也得到了进一步研究 [29-36].

目前, MS 通道已经在格林阴性和格林阳性细菌中得到了广泛研究 [37]. 例如, 在大肠杆菌中有 3 种通道类型: 分别是大电导率 (mechanosensitive channel of large conductance, MscL)、小电导率 (mechanosensitive channel of small conductance, MscS)、微电导率 (mechanosensitive channel of mini conductance, MscM) 离子通道 [17,20,37-43]. 另外, MS 通道也在其他多种细菌和古菌细胞中被相继探测到 [44-45]. 与此同时, MS 通道已经在不同真核细胞中被发现 [9,14-15,29-36,46]. 很可惜, 相比起对原核细胞 MS 通道的认识程度来说, 我们对于真核细胞 MS 通道的分子特性以及它们在力学传导过程中重要性的研究都相对较少. 这也就是原核细胞 MS 通道被经常作为建模蛋白以分析 MS 通道的结构和功能特性关系的原因.

至今, 被关注得最多的一直是 MscL 家族, 而被研究得最深刻的则是大肠杆菌中的大电导率 MS 通道 (escherichia coli MscL, Eco-MscL) [47-52], 它是在 Kung 实验室首次被识别、纯化和克隆的 [20,38]. 在膜片钳实验中, Eco-MscL 门控能感应细胞膜张力的单独刺激, 并经历显著的构象变化, 使得通道从关闭状态最终达到开放状态 [38,41,52]. 而作为同一家族的另一通道, 肺结核杆菌中的 MS 通道 (*M. tuberculosis* MscL, Tb-MscL), 已经利用 X 射线晶体成像技术被确定了晶体结构, 这标志着我们对细菌中 MS 通道的研究有了重要的突破 [22]. 另外, MscS 也在原核细胞中发挥着关键作用, 例如, 它充当着安全阀的作用, 通过开放和关闭通道阻止细菌细胞在遭受渗透压冲击时被裂解 [17,19,21,53-54]. 有趣的是, MscS 同时还受电压的调节 [17,53]. 尽管目前对于 MscS 的门控机制细节仍不清楚, 但自从大肠杆菌中 MscS 的晶体结构被公布以来, 各种实验研究和模拟计算都得到了很大程度的发展 [55-56].

至此, 建模和模拟手段已经成为研究离子通道的关键工具, 并将结合电生理实验和结构分析为我们提供更好的研究技术. 另外, 尽管一些 MS 通道的生理和结构数据已知, MS 通道在离子选择性和门控方面的机制仍不清楚, 更不要说其他还缺少结构信息的 MS 通道了. 既然现在这些离子通道在动力学过程中的作用不能通过其他实验方法得到, 那么似乎没有什么方法比建模和模拟更适合阐明这些机理了. 本文中, 我们着眼于近年来

对 MS 通道的建模和模拟研究. 因为当前仅有两种 MS 通道的结构被确定, 所以我们仅对 MscL 和 MscS 进行建模和模拟分析. 此外, 我们也对国内近年来在离子通道结构和功能关联研究方面的取得的成果进行总结.

2 MS 通道的建模和模拟研究

2.1 MscL 离子通道

2.1.1 MscL 离子通道的结构特征

在膜片钳实验中, MscL 能被膜张力激活并出现具有大电导率、压力依赖和无离子选择性特点的电导 [38,41,52]. 利用 X 射线结晶学技术, 在 3.5 Å 分辨率下, 肺结核杆菌的 MscL 的晶体结构被确定了, 并认为是同源五聚体 (图 1) [22]. 其中每一同源单体都拥有两个跨膜域 (trans-membrane domain, TM1 和 TM2) 以及细胞质端的 N 域和 C 域, 还有一中心周质端, 共 136 个氨基酸. 很明显, 这种两个跨膜域交织的结构处于通道关闭状态. 5 个 TM1 螺旋形成一个紧凑的螺旋束, 在螺旋束最狭窄的地方就是作为通道门控的疏水性收缩区域. TM2 螺旋包围着 TM1 并直接与细胞膜的磷脂相邻. 通道的孔洞在周质区域的直径达 18 Å, 但在细胞质区域的最狭窄处却仅有 2 Å 的直径. 特别是, 虽然 Eco-MscL 和 Tb-MscL 拥有很高的氨基酸序列相似度, 但 Tb-MscL 却有着比 Eco-MscL 明显大得多的通道开放门槛 [48].

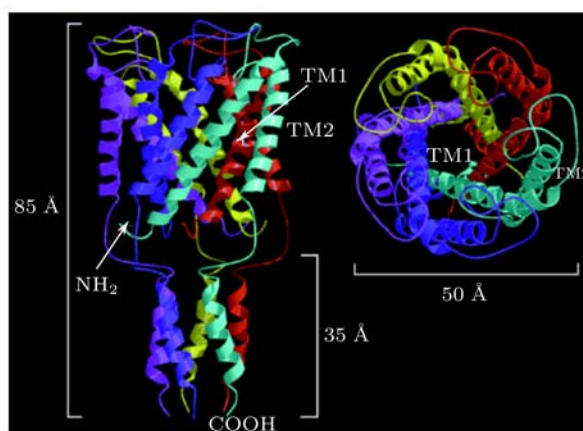


图 1 肺结核杆菌的 MscL 离子通道晶体结构示意图 [22]

左图为通道的侧面结构 (上方为细胞外, 下方为细胞质), 右图为通道的正面结构 (从细胞外俯视). 通道的每一同源单体都由不同颜色标明

2.1.2 MscL 离子通道的实验研究

跟其他类型的 MS 通道相比, MscL 的结构相对简单, 因此经常被作为建模对象去研究 MS 通道的门控机制, 所以目前绝大部分研究都只针对 MscL [6,39,57-60]. 举个例子, 通道开放率和膜张力关系的分析是利用膜片钳方法在含有 Eco-MscL 的脂质囊泡中进行的 [61-62]. 由于实验前细胞质和其他膜蛋白已经被移除, 因此通道开放的测量数据表明磷脂膜的力学变形是 MscL 开放的必要条件. 在分子水平提出的一种关于 MscL 门控机制的观点首次在 Eco-MscL 的同源模型中被提出, 并进行了半胱氨酸交叉连接实验的测试 [50]. 之后, 运用电子顺磁共振谱和位置定点自旋标记技术, 实现了 MscL 的结构重组 [27,51,58]. 而残基在不同结构模型中的重要性则借助膜片钳测量的变异性研究得到探测 [50,63]. 基于实验的约束条件以及所知的膜蛋白结构特性, Tb-MscL 和 Eco-MscL 在双向拉力下的门控转变模型建立了 [50]. 这些模型包括了通道从完全关闭到开放状态的 13 种构象情况. 尽管看似具有很高的价值, 但这些模型还需要利用先进的模拟技术检验其在系统中和生理状态下的有效性. 因为有了当前的实验和结构模型分析, 现在我们对磷脂膜上的作用力如何触发 MscL 向开放状态转变有了较好的认识, 同时在 MscL 门控机制下对结构重组类型的描述有了很大的进展. 可是, 在 MscL 如何感受机械变形的具体的分子机制中, 仍然存在很多未知性. 所以, 作为一种研究机械力生物学基本原理的强大的替代手段, 建模和模拟研究将为我们提供一种更为有效的方法, 而且与实验相比, 其更容易进行和控制.

2.1.3 MscL 离子通道的建模和模拟研究

分子动力学模拟 (molecular dynamic simulation, MD) 已经成为研究膜通道的重要工具. 尽管过去绝大部分焦点都关注在小通道或者简单通道上 [64-73], 现在已经有越来越多针对 MscL 的研究.

作为机械敏感性离子通道, 大家研究最多的是机械力的作用. 例如, 在恒温恒压条件下对 Tb-MscL 首次进行的 MD 模拟在一定程度上研究了通道的门控机理 [74]. 由于模拟时间长度的限制, 通道一直维持在关闭状态, 与初始的构象非常接近. 但即使如此, 原子波动分析表明通道的孔洞区域为蛋白质最稳定的区域. 当对真空中分离的蛋白质, 即没有溶剂和细胞膜情况下, 施加恒定的径向

力时发现, 在这一过程中跨膜螺旋的倾斜使得通道变得扁平. 遗憾的是, 在模拟中用表面张力替代膜压力能否能真实反映机械刺激在活细胞中的传导情况, 以及这两种模型中哪种更合适, 这些问题仍不清楚. 后来, 出现了用两种不同方法对 MscL 施加机械力的模拟, 前者直接在通道跨膜端的最外层施加局部径向力, 来模拟牵张压力对跨膜域的位置影响; 后者则是对整个通道施加整体的双向拉力 [75]. 很可惜, 两种施加压力的模型的比较结果显示, 它们均不是理想的模拟方法. 为了能在可行的环境中向蛋白质加载合适的压力以模拟 MscL 的门控机制, Tb-MscL 的一种新的 MD 模型被提出 [76]. 模型对镶嵌在 POPC 磷脂双分子层中, 被水分子包围的一个以截断形式出现的通道蛋白复合物, 在不同压力条件下进行模拟, 分析拉力对膜蛋白的影响. 当对细胞膜直接作用侧向拉力时, 能观测到跨膜螺旋的倾斜增加. 这进而导致了孔道的扩大并干扰了包含 Ile-14 和 Val-21 残基的疏水门控. 这些模拟显示, 通道的开放是一个按次序相继发生的进程. 这一机制能够解释在膜片钳实验中出现的通道半开放以及阶段性电导的原因. MscL 的拉伸分子动力学 (steered molecular dynamics, 简称为 SMD) 模拟也显示, 膜张力的增加能导致通道开放 [77]. 通过施加从膜侧压力的研究中得到的控制力所进行的模拟, 大大深化了我们对 MscL 门控开放机理的认识. 上述模拟与实验结果比较的效果很好, 并揭示了通道开放的主要障碍以及通道在开放过程中的具体构象变化情况. 后来, 通过计算不同成分的磷脂双分子层中的横向压力剖面分布, 一个针对压力剖面分布的 MD 模拟出现了, 它显示了改变磷脂成分和张力大小时通道的全原子 (all-atom) MD 模拟结果 [78]. 但由于模拟计算得到的压力分布受到不完整的采样所造成的统计误差, 所以计算过程中对误差的源头和大小必须特别注意. 值得一提的是, 在 MD 模拟过程中, 力场的选取是非常关键的一环, 因为模拟系统的势能和力都是由力场方程产生. 力场由一系列的势函数以及势函数的参数所组成, 选取不同的力场就代表着选用不同的势函数或者势函数参数, 其中势函数又包括了非键作用、键作用和特殊限制 3 个部分. 力场之间没有优劣之分, 但针对不同的模型和模拟方法, 我们应该选取合适的力场. 在此, 我们总结了 MD 模拟中最基础以及最常用的势函数 (见表 1).

表 1 MD 模拟中势函数的组成部分

		势函数	
非键作用	$V(r_1, r_2, \dots, r_n) = \sum_{i < j} V_{ij}(r_{ij})$	LJ 势能	$V_{LJ}(r_{ij}) = \frac{C_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^6}{r_{ij}^6}$
		Buckingham 势能	$V_{bh}(r_{ij}) = A_{ij} \exp(-B_{ij}r_{ij}) - \frac{C_{ij}}{r_{ij}^6}$
		Coulomb 势能	$C_c(r_{ij}) = f \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}}$
键作用		键拉伸	$V_b(r_{ij}) = \frac{1}{2} K_{ij}^b (r_{ij} - b_{ij})^2$
		键角	$V_a(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2} K_{ijk}^\theta (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2$
		非正常二面角	$V_{id}(\xi_{ijkl}) = K_\xi (\xi_{ijkl} - \xi_0)^2$
		正常二面角	$V_d(\phi_{ijkl}) = K_\phi [1 + \cos(n\phi - \phi_0)]$
特殊作用		位置限制	$V_{pr}(r_1) = \frac{1}{2} K_{pr} r_i - R_i ^2$
		角度限制	$V_{ar}(r_i, r_j, r_k, r_l) = K_{ar} [1 - \cos(n(\theta - \theta_0))]$
		距离限制	$V_{dr}(r_{ij}) = \begin{cases} \frac{1}{2} K_{dr} (r_{ij} - r_0)^2, & r_{ij} < r_0 \\ 0, & r_0 \leq r_{ij} < r_1 \\ \frac{1}{2} K_{dr} (r_{ij} - r_1)^2, & r_1 \leq r_{ij} < r_2 \\ \frac{1}{2} K_{dr} (r_2 - r_1)(2r_{ij} - r_2 - r_1), & r_2 \leq r_{ij} \end{cases}$

注: 表格中的函数均为最基础最常使用的势函数, 函数中的参数均为势函数参数, 其取决于不同力场的选定.

磷脂膜对通道门控的影响也是模拟研究的关键. 有学者对镶嵌在磷脂膜中的 Tb-MscL 进行了两组 MD 模拟, 分析磷脂成分在分子水平上的作用 [79]. 前者直接比较了在 POPE 和 POPC 中的 Tb-MscL 的运动轨迹, 并由此认为 MscL 的结构和动力学特性直接取决于磷脂极性端的改变, 特别是在通道 C 端区域; 而在后者模拟中, 磷脂末端长度的逐渐减少, 导致在纳秒级别的运动轨迹中细胞膜的逐步变薄. 而通过计算含有不同成分的磷脂双分子层中的横向压力剖面分布的 MD 模拟也显示了改变磷脂成分对蛋白质的影响 [78]. 此后, 为了深入了解磷脂膜成分和几何形态对于 MscL 结构的影响, 一个对完全溶解的 MscL 进行的全原子 MD 模拟出现了 [80]. 模拟长达 9.5 ns, 在模拟过程中通道被施加由磷脂双分子层或单层磷脂组成的不受张力并能自由弯曲的磷脂环境. 这一模拟利用弯曲的磷脂膜替代施加的外力作用. 可惜受到系统大小和资源的限制, 模拟过程中仅考虑了一种磷脂类型. 虽然结果没有改变现有对 MscL 门控的系统观点, 即跨膜螺旋的虹膜样扩张, 但它却提出了一些门控机制中详细的构象转变情况. 当然, 要建立完整的门控模型还有待实验的确定.

为了更好地认识磷脂膜变薄对 Eco-MscL 结

构的影响, 一项 MD 模拟对分别镶嵌于 DMPE 和 POPE 膜上的通道模型进行了比较和分析 [81]. 结果表明, 膜厚度的改变能引发通道的构象变化, 从而牵动通道由关闭状态过渡到开放状态. 这一模拟对于较薄的细胞膜上通道被激活所需的能量较低这一现象提供了很好的解释. 随后, 一种新的用于研究 MscL 门控情况的粗粒化 (coarse-grained, CG) MD 模拟替代方法出现了. 利用 CGMD 技术, 单链磷脂 LPC 被非对称镶嵌于细胞膜上, 并使得细胞膜产生明显的弯曲 [82]. 这一模型的压力分布分析提出了一个新观点, 磷脂膜的压力分布扰动性并不取决于局部的弯曲, 而是取决于磷脂极性端排列的紧密程度. 这一结果无论是对电生理实验的分析, 还是日后的连续介质力学建模都有很重要的意义, 但也不能否认模型中 CG 力场的准确性以及模型仍具有局限性. 还有学者通过 MD 技术模拟转运物质快速通过脂质膜上的 MscL 的过程 [83]. 分析发现通道开放能在微秒数量级的时间内使得极度紧张的脂质层放松. 这一模型能在近乎原子级别上展现 MscL 的激活失活循环过程, 并能够量化脂质膜迅速下降的压力, 无疑为小尺度生理功能的合理建模提供了有力的计算方法. 之后, 有学者再次应用 CG 模拟, 计算出了 MscL 在

门控过程中能量的变化,并把能量分解为面积扩张分量和与蛋白质形状相关的分量^[84].结果提出了与过去不一样的观点,它认为膜蛋白的形状对于蛋白质能量的影响更大.而且这一方法的优势还在于,其能计算在不同磷脂成分的细胞膜中通道门控的能量分布.为了探求 MS 通道在膜张力、膜顺应性、蛋白质构型和能量方面的门控机理,又一 MD 技术对 Tb-MscL 进行了模拟^[85].模型把通道的自由能作为 TM 螺旋在磷脂膜中的倾斜角度的函数,并由此发现 TM 螺旋倾斜在本质上等同于对细胞膜施加外部表面张力,它能导致通道扩张,磷脂顺应以及膜层变薄.模型还提出了一种可能的扩张机理,它认为 TM2 的倾斜和扩张能便于 TM1 的类虹膜运动,最终导致 Tb-MscL 的扩张.

除了考虑门控的机制外,通道在不同状态中的构象变化也非常重要.对于 MscL 的一系列 MD 模拟能让我们了解到通道的整体动力学情况以及野生型 Tb-MscL 和组成通道的 V21A 和 Q15E 变异体的构象稳定性^[86].它们还为日后对 Tb-MscL 的实验和理论探索指明了潜在方向.由于模拟仅考虑了一种磷脂类型,即 POPE 磷脂,所以无法了解不同磷脂对模拟的影响.在另一研究中,有学者利用目标分子动力学(targeted molecular dynamics, TMD)方法,模拟了 Eco-MscL 从关闭到开放状态可能的构象转变情况,并发现此方法非常适合于对蛋白质大规模构象变化的模拟,尤其是 MscL,原因是 TMD 模拟能利用弱时间依赖性的牵引力简化模拟,使得通道在张力作用下实现开放^[87].在上述模拟中,尽管 Eco-MscL 的开放和关闭状态的结构在原子级别上可能具有较大误差,但与交联实验相比,它们反映的整体特性依然是正确的.这些结果显示了在通道动力学构象转变过程中的次序.这些次序为我们阐述实验数据和认识 Eco-MscL 门控机制提供了一个更加可信的空间和时间架构.相对的,通过 CGMD 方法,有学者研究了野生型 Tb-MscL 和镶嵌于溶解的磷脂层中的增益功能突变体 V21D^[88].与虹膜样的扩张机制一致,通道在模拟过程中经历了显著的构象改变.特殊的是,孔道最明显的扩张区域在 V21D 变异体中被观察到,这和试验中发现的 V21D 变异体的增益功能表型是一致的.还有学者对 Tb-MscL 进行平衡和非平衡的 MD 模拟^[89].分析表明,对通道门控过程中自由能分布情况的直接计算,将成为研究大型膜通道的有效途径,因为这种方法在参数以及极性倾向的选择上都能进行适当的改进.但

整体而言,目前仍无法直接通过 MD 模拟实现对 MscL 门控机制的精确描述.

于是为了试图建立 MscL 门控转变的模型,一些其他的方法出现了.例如,为了了解张力依赖性通道门控的分子机制,一种 Tb-MscL 的结构模型被提出了^[50].模型中,细胞质端的孔洞由 5 条 N 端螺旋环绕形成,但这一晶体结构仍未被确定.这种模型预测,当受到膜张力时,跨膜螺旋的桶状结构扩大并牵动门控开放.当用半胱氨酸替代残基时,此模型被证明是正确的,并且发现残基之间仅在关闭状态或者开放状态才相互靠近.此外,为了更好地认识 MscL 的门控机制,又有学者分别对 Tb-MscL 和 Eco-MscL 在关闭和开放状态下进行结构模拟,得到了通道在转变过程中的一系列构象情况^[90].在上述模型中,由两层疏水残基或三层疏水残基所组成的通道模型分别被提出来了.模型还提出, Eco-MscL 的开放是个经历两个阶段的过程.但是这些模型并不能真正反映原子水平上的情况,相反,它们仅仅反映了门控机制的一般特性.虽然模型是假设的,但它将为日后更精确的诱变实验提供了一个好的开端,这反过来又能帮助纠正和改进模型.再举一例,基于 Tb-MscL 晶体结构的 Eco-MscL 同源分子模型被建立了,试图研究从 Eco-MscL 得到的功能数据与结构信息之间的关系^[91].这一结果支持了一种独特的大虹膜样的 MscL 通道构象重排的观点.而且大的构象变化完全由蛋白质和磷脂膜的相互作用决定的结果也暗示着 MscL 将有可能作为研究这些相互作用的重要模型.与此同时,正常模式计算将为研究高分子整体运动提供另一手段^[92-94].有学者运用这一方法,对 MscL 的动力学和构象特性进行了分析^[95].这一分析结果让我们对参与变形过程的 Eco-MscL 部分区域在残基水平上的认识有了更加精确的见解,并发现了其中的共性.另外,由磷脂膜变形产生的压力和自由能的分析模型提供了一种强有力的观点,观点认为 MscL 具有与处在第二阶段的成核现象有类似的门控机制^[96].在疏水性错位和张力的竞争中,我们不仅能得到在不同厚度磷脂膜中 MscL 开放所需的张力的定量比较,还能给出 MscL 功能的定性描述.这一模型的优势在于,能为我们提供研究蛋白质与磷脂膜系统的一种具有及时追踪性和预测性的途径,我们还能从模型中得到一系列与 MS 通道功能相关的生理参数.很快,针对 MscL 进行的磷脂与蛋白质相互作用的分析框架被改进和扩大了,生成了一

种简单的比例关系,为定性认识细胞膜在通道功能上的动力学作用以及定量解释实验结果都起到了重要作用^[97].对于 MscL 通道,有学者发现由磷脂和蛋白质相互作用产生的自由能和不同电导状态下的自由能差异在同一数量级上,这意味着磷脂双分子层的力学性质在确定通道的构象和功能中起着本质的作用.此外,预测 MscL 门控转变原理的理论也得到了重视.通过考虑膜张力、线张力和膜扭矩等可能的变形机制,一种热力学构想被提出来了^[98].这方法为我们研究 MS 通道提供了一种简单又有效的方法.它能够描述 MS 通道门控如何随着磷脂膜厚度和刚度的变化而变化.再者,这种热力学手段同时支持对 SA 和 SI 通道的分析.随后,与膜张力相应的生物细胞膜通道门控的一种替代机制被提出^[99].这一观点中,螺旋倾斜致使孔道开放是通道门控的可行机制.在这一机制下,通道的倾斜面将通过铰链连接到一个相当坚硬的框架,并随框架旋转直到开放.这表明,这一机制在 MS 通道门控方面可能有进一步的固有设计优势.随后,一种新的计算方法被运用,它利用最大限度降低通道从水到磷脂膜的传输能量,测定包括 MscL 在内的膜蛋白的空间构造安排^[100].这一方法有几大优势:它计算速度快,准确性高,并且已经通过与实验数据的比较被广泛验证,它曾预测过 24 种跨膜蛋白在磷脂中的位置.这种方法能够可靠地分辨跨膜和水溶性蛋白,并在同一蛋白的不同晶体形式下得出一致的结果.由于其简单,能被运用到大型的蛋白质计算中,而不像计算 MD 模拟那么繁琐复杂.另外原子模拟的限制性也促使新的计算方法诞生,例如,有限元方法 (finite element method, FEM).利用 FEM,能分析 Tb-MscL 和 Eco-MscL 的通道路径^[101-103].结果显示, MscL 对于细胞膜的平面内张力和轴对称弯曲有不同的响应,但在门控开放过程中, TM1 和 TM2 都有很大程度的弯曲.最近,一个系统仿真框架利用 FEM,把 MD 模拟的信息结合连续性模型,对 MscL 机械响应进行了探索^[102-104].这一分子模拟结合有限元 (molecular dynamics decorated finite element method, MDeFEM) 的方法被运用到研究 Eco-MscL 在 POPE 磷脂双分子层中的门控机理中去.模型中,连续性成分的力学性能以及成分间的相互作用都是来自原子力场的分子模拟数据.为了完善 MDeFEM 方法,抓住门控的本质特性,封闭形式的连续性模型分析和弹性网络模型建立了.随后,模型计算了在不同作用力下

的 Eco-MscL 门控情况,并将其与实验、结构模型、全原子模拟和分析性模型进行了比较.结果表明,这种系统多尺度架构的计算对涉及如机械传导等复杂力学变形的多种生物过程的研究有重要意义.虽然这一方法仍处于初级阶段,还需要不断完善量化分析,但它特别适合研究具有大尺度变形和复杂机械扰动的系统. MDeFEM 还能很好地结合粗粒化原子模拟进行应用,因为粗粒化分析能生成 MDeFEM 模拟中很多关键的模型特性.此外,还有学者利用连续介质力学方法描述了弹性双分子层在膜蛋白中的功能和与膜蛋白沟通上的重要作用^[105].这一 MscL 模型展示了通道的变形如何产生弹性力并形成门控机制.通过对膜蛋白进行功能性分析的结果还显示,弹性相互作用在多种膜蛋白受到环境刺激时的功能和组织能力中起着重要作用.还有模型利用数值方法展示了 MscL 和 MscS 在双重状态 (收缩/扩展) 下的随机氨纶共性,并建议采取实验方法来测定在通道中的氨纶样行为^[106].如 MscL 和 MscS 等 MS 通道在关闭关闭间以及关闭开放间转变的可能机制也被分析了.最近,结合膜片钳电生理实验,荧光光谱和原子力显微镜,中子散射和反射技术,以及数学建模, MscL 螺旋束在不同磷脂成分中以不同蛋白质/磷脂比例的重塑情况得到了探索^[107].结果有力的显示螺旋束化是 MscL 的固有特性,并且极有可能是脂质介导的蛋白质-蛋白质相互作用的产物.这一研究为进一步深化我们对 MS 通道门控的认识开辟了新的思路和方法.

2.2 MscS 离子通道

2.2.1 MscS 离子通道的结构特征

MscS 是细菌渗透调节系统中一个无处不在的成分.在 PH 为 7.2 状态下,以 3.9 Å 分辨率得到的 X 射线晶体结构显示,大肠杆菌的 MscS 为结构对称的同源七聚体,其中每一单体都包括了 3 个跨膜螺旋 (TM1, TM2 和 TM3),并与 7 个 C 端共同形成的大型细胞质孔洞相连 (见图 2)^[28].这一晶体结构被认为可能处于 MscS 的开放状态,另外 TM1-TM2 螺旋对与孔道对称轴的 30° 夹角的特性被认为是通道在达到开放状态时对张力和电压的协调行为的标志. MscS 每一单体都带有 286 个氨基酸.但晶体结构中每一单体的前 26 个残基以及最后 6 个残基仍没被确认.但即使如此,这一晶体结构的发现为我们提供了一个很好的参考框架来解释实验结果,同时也标志着试图建立 MscS 功能

和结构关系的模拟的重要起点^[108]. 至今, 这一晶体结构究竟处于通道的开放、或过渡阶段、失活或是关闭状态, 以及通道如何从一种状态向另一

状态转变等问题仍没有最终答案, 所以结合实验与模拟的方法将会为我们建立答案提供一个极好的机会^[109].

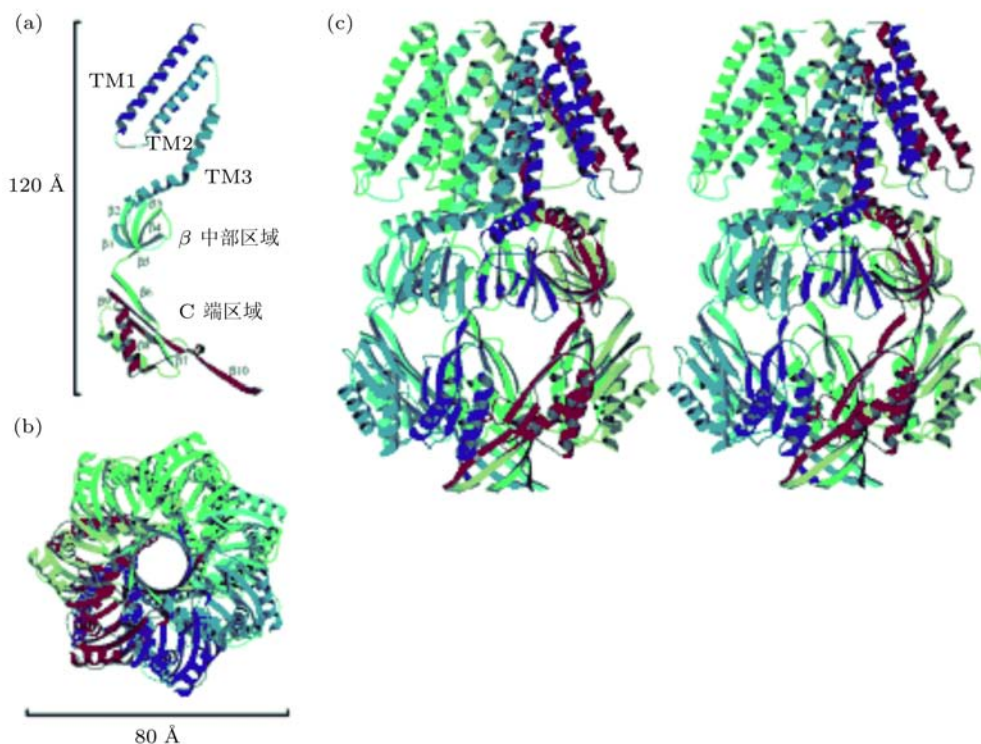


图2 MscS 离子通道结构示意图. (a) 通道每一同源单体的结构图. (a) 中 TM1, TM2, TM3 分别为第一、第二、第三跨膜螺旋. 图中 NH₂ 端由蓝色标明, COOH 端由红色标明. (b) 通道的正面结构 (从细胞外俯视), 通道每一同源单体的颜色与 (c) 对应. (c) 通道的侧面结构 (上方为细胞外, 下方为细胞质), 视角与 (a) 一致, 通道每一同源单体都由不同颜色标明^[28]

2.2.2 MscS 离子通道的实验研究

实验方面, 沿着孔洞内层的螺旋 TM3A, 以丙氨酸替代保守的甘氨酸残基的方法显示, MscS 激活所需的张力增加了; 相反, 甘氨酸残基的加入会降低门控需要的张力^[56]. 这些结论表明甘氨酸丰富的 TM3 区域将在门控中起关键作用. 但这些突变是否影响着 TM3 螺旋结构的灵活性, 以及 TM3 如何协调外围的 TM1 和 TM2 螺旋进行运动, 这些问题都尚待阐明. 在近期一项研究中, 有学者提出了 TM1-TM2 螺旋耦合对与磷脂的结合情况, 并发现其上的疏水残基突变为天冬酰胺^[110]. 在螺旋两端处, 修改疏水性脂质蛋白的接触面, 会提高 MscS 的开放门槛并且降低受到渗透压冲击时细胞的活性, 这都说明细胞膜和蛋白质的相互作用直接影响着通道的门控. 基于电生理测量数据和 MscS 晶

体结构的重新解释, MscS 的门控模式被提出^[54]. 模型中, 晶体构象被认为代表着通道的失活状态, 并且磷脂破坏了 TM1-TM2 螺旋束与 TM3 的耦合程度. 而在通道的开放和关闭状态, 这些螺旋都排列紧密, 形成一个宽大的孔洞或一个非常紧凑的结构. 但这一模型中, 开放孔洞的实际大小和门控的电压依赖性以及通道失活情况等, 都仍有待于与其他实验手段结合来阐述清楚.

2.2.3 MscS 离子通道的建模和模拟研究

计算方面, 大家争论的焦点首先是 MscS 晶体结构的状态属性. 局限于毛细血管和纳米管的水动力学分析显示, 离子通道门控不仅与孔洞几何结构的改变有关, 还与某些特定位置在充满水和空置状态间的转化有关^[111]. MscS 中水分子的平衡 MD 模拟以及通过通道最狭窄区域的离子渗透

的控制模拟均显示目前得到的晶体结构并不代表着开放状态。相反,孔洞区域有可能处于水分堵塞的不敏感状态或关闭状态。分析认为, MscS 门控涉及到一种锁住水分的机制,在这种机制下,通道几何结构或者表面极性的有限变化都将会使蛋白质在充满水(开放)和疏水(关闭)两种状态中产生局部转化。但利用结晶条件在结构上产生可能扭曲的模拟条件如何影响结果至今仍不清楚。

由于 MscS 同时依赖于机械力和电压,不少研究都通过施加外部条件来分析通道的门控机制。例如,有学者对镶嵌在完全溶解的磷脂双分子层中的整个 MscS 进行了 MD 模拟,模拟中,分别对蛋白质施加或不施加约束^[112]。模拟描述了结构被约束时的 MscS 渗透特性,以及约束解除时 MscS 跨膜孔道的自发关闭现象。另外,模拟还描述了表面张力对通道的影响,蛋白质相互作用的特点以及通道的电导特性。可是,模拟依然存在着主要缺点,而且很多问题也没解答。为了确定 MscS 这一结构能否转运离子的 MD 模拟被建立了^[113]。不同于之前的疏水纳米孔洞模拟,这一模拟中,电场被加载到系统中,并且证明这是很重要的。这是研究跨膜电势对疏水纳米孔的水化作用的首次 MD 模拟。计算得到的通道电导情况与实验结果吻合良好。所以, MscS 晶体结构被认为更接近于电导状态。当然,这一模拟虽然相当近似,但在 MscS 结构的细节上仍存在一些不确定性。毫无疑问,对计算模型以及由实验得出的 MscS 传导和门控特性进行比较,对寻求 MscS 结构功能关系有着重要的意义。因此,为了研究 MscS 电生理测量数据与其晶体构象的关系,以及膜片钳实验中测得的 MscS 电压和张力响应性,一项对镶嵌在脂质双层的 MscS 进行的全原子模拟被建立,并描述了 MscS 的静电和转运特性^[114]。结果表明 MscS 是一具有轻微阴离子选择性的通道,它能被张力激活,又具有电压依赖的失活表现。

由于 MscS 有着比 MscL 更为复杂的门控机制,一些学者试图从通道的构象和转运过程方面切入进行研究。狭窄又相对疏水的孔洞结构是一个能被反复观察到的生物通道共性,而 MscS 就有类似的疏水区域。于是,很多学者都利用 MD 模拟研究离子通过狭窄疏水通道的转运原理^[115]。根据模拟结果,在离子通过生物膜的转运过程中,疏水孔洞的作用以及孔洞内水分子的状态得到了讨论。为了延长模拟时间以远远超过 MD 模拟目前的局限,同时又保留离子必不可少的粒子性质,粗粒

化粒子研究手段是必须的。生物蒙特卡罗 (biology Monte Carlo, BioMOCA) 离子通道模拟就是为这一目的而建立的^[116],它基于的是玻尔兹曼运输的蒙特卡罗法以及粒子-粒子-粒子网络方法。利用这一结合手段,我们分析了晶体的静电学性质以及 MscS 的各种开放构象^[117]。模拟显示,离子是通过细胞质端的侧向开口进行渗透的,而并非通过远端胞浆孔洞。为了确定通道可能存在的电导状态,一些学者利用布朗动力学 (Brownian dynamics, BD) 模拟对通道的晶体结构进行了分析^[118]。这一技术允许模拟运行足够长的时间去分析通道电流和蛋白质结构的关系,同时也保留了很多原子细节,这些都是其他方法很难达到的。去除细胞质端区域的通道以及孔道开放时的通道都被模拟了,这将帮助我们更好的理解 MscS 的功能。后来,一种结合 MD 模拟的新型的推断运动技术被运用至研究 MscS 构象转化路径中^[119]。模拟发现,通道开放时 TM3b 的完全拉直以及在两个不同位点 (Gly113 和 Gly121) 的紧扣螺旋束,都将恢复到结构紧凑的非电导构象中。遵循这些模拟轨迹,学者对改变一处或两处位点灵活性的 MscS 突变体进行了膜片钳分析。数据提供了充分的证据证明 MscS 在关闭、开放、不敏感和失活四种状态中的功能周期转换。尽管仍有很多机制的细节问题有待确定,但结果表明,通道的激活、脱敏和失活状态是由 Gly113 和 Gly121 附近的 TM3b 的灵活性控制的。随后 MD 模拟和一种新的迭代推断运动提案被用于紧密结合沿着中心 TM3 轴分布的周遭 TM1 和 TM2 分叉跨膜螺旋^[120]。另外在通道中悬而未决的 26 个氨基酸 N 端区域的晶体结构也进行了模拟^[121]。模拟表明,由 MscS 的完整跨膜区域紧密结合组成的这一关闭状态模型,在磷脂双分子层中是稳定的,且在生理范围内的电压状态下不导电。这一推断运动提案很快被应用到之前建立的 MscS 紧凑休眠构象中,试图研究通道结构的转化路径。模拟总结认为,涉及 TM3 螺旋倾斜、拉直和旋转的螺旋束桶状结构的扩展,为通道提供了开放所需的几何结构以及静电力性质;被观测到的离子通过孔洞的转运情况类似于电子扩散现象,因此宏观预测结果与实验和 MD 模拟的电导值很接近;在更高电压下增加反离子流的相互作用会导致通道选择性强于反转电位附近的测量值。特别的,在了一项延长的 MD 模拟过程中, MscS 被发现进入了一种机械力不敏感的失活状态^[122]。在改变了脱离磷脂膜的晶体结构,并还原了与磷脂接触的 TM1-

TM2 和形成门控的 TM3 相互连接作用后, 模型发现这一螺旋的相互作用是机械力从磷脂传递到门控过程的关键因素, 而通道的失活也是 TM2-TM3 耦合对分离导致的结果。

另外, 一些学者结合定向自旋标记、电子自旋共振 (electron paramagnetic resonance, EPR)、MD 模拟与基于 EPR 实验数据的新型能量约束, 研究磷脂双分子层中关闭时 MscS 的局部跨膜区域与周质分子结构^[123]。实验数据表明 MscS 的关闭状态与其约束在晶体结构时的构象不一样, 而是更为紧凑。这项研究提供了 MscS 一个额外的有关生理功能的提示。类似的, 与 MscS 激活相关的结构重组已确定使用膜片钳、EPR 光谱学和 MD 技术进行了研究^[124]。修改跨膜张力剖面分布后, MscS 被锁定在开放构象中, 这一开放模型与单通道电流的测量值一致, 并支持了螺旋倾斜与 MS 通道的有效孔径扩大关联的观点。MscS 的开放和关闭是研究 MS 通道的重点, 但其在分子水平上仍然缺乏了解。结合 MscS 的开放结构与功能数据, 通道在关闭和开放状态之间的转换被认为涉及到跨膜螺旋的倾斜与分离, 这一现象让人联想到相机的光圈工作形式^[125]。通过模拟这种结构模型, 进一步鉴定可能阐明通道的功能性构象。看似复杂的 MscS 门控机制, 似乎已成为当今结合全原子/CGMD 模拟的下一挑战。

3 国内近年来在不同离子通道建模和模拟研究方面取得的进展

3.1 KcsA 离子通道的建模和模拟研究

有学者在钾离子通道 KcsA 中发现了垂直于中央通道的 4 个支通道 (orifice), 它们连通到通道的中央空腔 (cavity), 水分子可以通过支通道流向或流出空腔, 在 KcsA 通道的开或闭的门控过程中起到消除空腔产生的负压或正压, 帮助离子通道实现开闭的重要作用。利用进一步分析得到的所有钾离子通道的氨基酸序列, 以 KcsA 通道为模板进行的同源建模计算发现, 这样的支通道在所有钾离子通道中普遍存在, 但支通道位置和大小不同^[126]。为了分析钾离子通道在门控过程中发生的形变, 有学者以 KcsA 通道的闭式构型作为起点, 以 Kv1.2 钾离子通道的开式构型作为目标模板, 用 TMD 模拟揭示了钾离子通道由闭到开门控过程的动力学特性。模拟结果表明, 钾离子通道在 60 ns 的模拟时间内便可完全打开, 而在随后模拟的 90 ns 内一直保持着稳定的构型。门控过程中蛋

白质螺旋的刚性与模拟中施加的力的相互作用使得通道呈现出刚体运动和铰链弯曲的混合形变模式。这将为其他离子通道门控过程的一系列动力学研究提供线索, 也将为晶体结构的解析提供重要的参考依据^[127]。

3.2 NaK 离子通道的建模和模拟研究

自从 2006 年钠钾离子通道 NaK 的闭式结构被解析出来^[128], 有学者立即通过 MD 模拟分析获得了 NaK 通道在非钙堵塞条件下的稳定结构以及水合离子配位构型。除了同样具有 4 个更大的连通中央空腔的支通道外, 根据蛋白质内部结构的孔洞探测分析, 在 NaK 通道的选择性过滤器中部前庭 (vestibule) 的位置又发现了 4 个与之相连的容水小腔 (grotto), 它们与选择性过滤器中的前庭共同组成了一个与中心离子导通孔道垂直的前庭孔腔复合体 (vestibule-grotto complex)^[129]。小腔和前庭中可以存在水分子的这一结果被 2009 年报道的高分辨率的 NaK 离子通道的晶体结构所证实^[130-131]。NaK 通道既能导通钠离子, 又能导通钾离子, 还有可能导通钙离子^[128], 其必然具有与钾通道相比全新的离子选择和导通机制。通过 MD 模拟和自由能分析等方法, 有学者提出了 NaK 通道中离子导通的“水阀”机制: NaK 通道中前庭-孔腔复合体的存在可以实现水分子在其中的扩散, 同时溶液中的水分子也可以通过某些氨基酸残基的侧链翻转进入孔腔中; 这些水分子可以使得过滤器中的钠、钾离子均能获得有利的配位状态, 而这也可能是 NaK 离子通道丧失其对离子的选择性的原因。后续的 SMD 和自由能计算的结果都表明当前庭中容纳两个或两个以上的水分子时可以显著地降低离子通过选择性过滤器的能垒, 这样水合的前庭孔腔复合体成为了一个控制离子导通的动态的水合阀^[132-133]。这一机制的提出将拓宽在非选择性离子通道中离子导通机制的新视野, 也表明了水分子在神经信号传导过程中的重要性。

3.3 水通道蛋白的建模和模拟研究

水通道蛋白家族成员 AQP0 和 AQP1 具有整体的序列和结构相似性, 然而在水分子的传输速率方面却有着显著的不同, 相对于 AQP1, AQP0 水通道的水分子传输要慢得多。通过 MD 模拟和能量分析, 学者发现在形成 AQP0 中央通道的氨基酸残基中存在一个酪氨酸 Tyr23, 其苯环的大结构会破坏通道中单分子水链的稳定分布, 同时形成

了一个很高的能垒抑制水分子的通过,因而导致了 AQP0 的低导通速率^[134]。另一方面,水分子在水通道蛋白中可以快速扩散,而质子和盐类则无法通过,这使得水通道蛋白能成为纳米尺度通道仿生设计研究的可靠借鉴。有学者通过进行碳纳米管中水分子传输的仿生研究,证实了仿生纳米水通道与生物水通道具有同样的输运特性^[135]。根据热力学原理,有学者研究发现纳米结构中的受限水在室温作用下会呈现奇特的运动特性——自发地发生熵减的、规则的超高频振荡,而且可以一直维持地无序高熵热运动—有序低熵振荡的反复出现。通过 MD 模拟、第一原理计算以及热动力学分析,学者揭示了这种奇特的自调节是由水链最末端作为氢键供体的水分子的偶极取向所决的^[136]。这一科学机制的确定,在纳机电系统(NEMS)无源器件的设计等方面都具有非常重要的现实意义和广阔的应用前景。

4 结 语

机械敏感是广泛存在于活细胞中的一种必要而又多样的感觉传导类型,机械敏感性离子通道在机械传导的生理过程中发挥着至关重要的作用。幸运的是, MscL 和 MscS 晶体结构的确定,打开了我们对 MS 通道的结构与功能关系以及门控机制的认识。在实验技术的基础上,包括建模和模拟在内等多种有效的理论和计算方法已经被广泛使用到 MS 通道的研究中。例如, MD 模拟(包括常规(conventional)MD 模拟、TMD 模拟、SMD 模拟、CGMD 模拟)、FEM 计算方法、数值分析,以及连续介质力学等等,都为我们研究 MscL 和 MscS 离子通道提供了不同的手段。但尽管如此,以上所有方法都有各自的优劣性。目前运用最广泛的是常规全原子 MD 模拟,它为我们在原子水平以及纳秒级别上研究蛋白质的结构特性和构象变化能量大小以及对外部作用的响应情况等提供了非常重要的手段;但同时说明了这一方法相对比较复杂繁琐,而且对于时间空间以及计算机的要求都很高。当系统涉及到大量不同类型的生物分子以及生物分子的集体运动时,持续时间常常超过微秒以至毫秒级别,传统的全原子模拟将很难实现。为了克服实验和模拟在时间尺度上的巨大差异, TMD 和 SMD 以及 CGMD 模拟技术的应用变得非常重要。TMD 和 SMD 方法为了达到在模拟容许的时间范围内实现构象的变构过程,对模型

施加了外界调控因素从而加速动态变化过程,而且这一调控能在全原子模拟体系中实现;然而这一调控可能会因为在模拟过程中人为加速而不能展现真实的过程。CGMD 方法能通过简化全原子模拟的细节来减少模拟体系的自由度,进行长时间大尺度的模拟,但在一定程度上也可能造成失真。同时, FEM 方法也以两种方式有效弥补了全原子模拟的不足。其一, FEM 克服了原子模拟的长度和时间局限性;其二,基于原子模拟和实验得到的有效数据, FEM 能通过改善模型抓住生物分子动力学响应的核心特性,使其以较少的现象得到足够详细的理论结果。但对于结构和能量等的细节描述方面, FEM 依然无法与 MD 模拟相比。另一方面, MS 家族中其他通道结构的不确定又使得目前研究很困难。欣慰的是,其他 MS 通道的克隆和基因以及功能分析,对我们认识 MS 通道在机械敏感性传导中的生理作用有着非常重要的贡献。另外,随着建模和模拟技术的不断进步,不同模拟方法的结合,以及多尺度耦合计算,都将必然成为我们研究 MS 通道门控机制的重要手段和关键挑战,也将带领我们进入一个全新的认识领域。值得一提的是,近年来国内不少学者也在离子通道的建模和模拟研究方面取得了重大的进展,为人类对离子通道的认识作出了卓越的贡献。

参 考 文 献

- 1 Katz B. Depolarization of sensory terminals and the initiation of impulses in the muscle spindle. *J. Physiol*, 1950, 111: 261-282
- 2 Loewenstein W R. The generation of electric activity in a nerve ending. *Ann. NY Acad. Sci*, 1959, 81: 367-387
- 3 Detweiler P B. Sensory transduction. In: Patton H D, Fuchs A F, Hille B, et al, eds. *Textbook of Physiology, Excitable Cells and Neurophysiology*. Philadelphia: Saunders Company, 1989. 98-129
- 4 García-Añoveros J, Corey D P. The molecules of mechanosensation. *Annu. Rev. Neurosci*, 1997, 20: 567-594
- 5 Sachs F, Morris C E. Mechanosensitive ion channels in nonspecialized cells. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol*, 1998, 132: 1-77
- 6 Hamill O P, Martinac B. Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol. Rev*, 2001, 81: 685-740
- 7 Gillespie P G, Walker R G. Molecular basis of mechanotransduction. *Nature*, 2001, 413: 194-202
- 8 Corey D. Sensory transduction in the ear. *J. Cell Sci*, 2003a, 116: 1-3
- 9 Corey D P. New TRP channels in hearing and mechanosensation. *Neuron*, 2003b, 39: 585-588
- 10 Sachs F. Mechanical transduction in biological systems. *Crit. Rev. Biomed. Eng*, 1988, 16: 141-169
- 11 Morris C E. Mechanosensitive ion channels. *J. Membr. Biol*, 1990, 113: 93-107

- 12 Martinac B. Mechanosensitive ion channels: biophysics and physiology. In: Jackson M B, ed. *Thermodynamics of Membrane Receptors and Channels*. Boca Raton: CRC Press, 1993. 327-351
- 13 Hamill O P, Marty A D, Neher E, et al. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol*, 1981, 391: 85-100
- 14 Guharay F, Sachs F. Stretch-activated single ion channel currents in tissue cultured embryonic chick skeletal muscle. *J. Physiol*, 1984, 352: 685-701
- 15 Brehm P, Kullberg R, Moody-Corbet F. Properties of non-junctional acetylcholine receptor channels on innervated muscle of *Xenopus laevis*. *J. Physiol*, 1984, 350: 631-648
- 16 Hamill O P. Potassium and chloride channels in red blood cells. In: Sakmann B, Neher E, eds. *Single-Channel Recording*. New York: Plenum, 1983. 451-471
- 17 Martinac B, Buechner M, Delcour A, et al. Pressure-sensitive ion channel in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 2297-2301
- 18 Delcour A H, Martinac B, Adler J, et al. Modified reconstitution method used in patch-clamp studies of *Escherichia coli* ion channels. *Biophys J*, 1989, 56: 631-636
- 19 Berrier C, Coulombe A, Houssin C, et al. A patch-clamp study of ion channels of inner and outer membranes and of contact zones of *E. coli*, fused into giant liposomes. Pressure-activated channels are localized in the inner membrane. *FEBS Lett*, 1989, 259: 27-32
- 20 Sukharev S I, Blount P, Martinac B, et al. A large mechanosensitive channel in *E. coli* encoded by *mscL* alone. *Nature*, 1994, 368: 265-268
- 21 Levina N, Totemeyer S, Stokes N R, 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*, 1999, 18: 1730-1737
- 22 Chang G, Spencer R H, Lee A T, et al. Structure of the MscL homologue from *Mycobacterium tuberculosis*, a gated mechanosensitive ion channel. *Science*, 1998, 282: 2220-2226
- 23 Kloda A, Martinac B. Molecular identification of a mechanosensitive ion channel in Archaea. *Biophys J* 2001a, 80: 229-240
- 24 Kloda A, Martinac B. Structural and functional similarities and differences between MscMJLR and MscMJ, two homologous MS channels of *M. jannashii*. *EMBO J*, 2001b, 20: 1888-1896
- 25 Betanzos M, Chiang C S, Guy H R, et al. A large iris-like expansion of a mechanosensitive channel protein induced by membrane tension. *Nat. Struct. Biol*, 2002, 9: 704-710
- 26 Perozo E, Kloda A, Marien C D, et al. Structure of MscL in the open state and the molecular mechanism of gating in mechanosensitive channels. *Nature*, 2002a, 418: 942-948
- 27 Perozo E, Kloda A, Cortes D M, et al. Physical principles underlying the transduction of bilayer deformation forces during mechanosensitive channel gating. *Nat. Struct. Biol*, 2002, 9: 696-703
- 28 Bass R B, Strop P, Barclay M, et al. Crystal structure of *Escherichia coli* MscS, a voltage-modulated and mechanosensitive channel. *Science*, 2002, 298: 1582-1587
- 29 Tavernarakis N and Driscoll M. Molecular modelling of mechanotransduction in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Annu. Rev. Physiol*, 1997, 59: 659-689
- 30 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*, 1997, 17: 8259-8269
- 31 Alvarez de la Rosa D, Canessa C M, Fyfe G K, et al. Structure and regulation of amiloride-sensitive sodium channels. *Annu. Rev. Physiol*, 2000, 62: 573-594
- 32 Liedtke W, Choe Y, Marti-Renom M A, et al. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. *Cell*, 2000, 103: 525-535
- 33 Walker R G, Willingham A T, Zuker C S. A *Drosophila* mechanosensory transduction channel. *Science*, 2000, 287: 2229-2234
- 34 Di Palma F, Belyantseva I A, Kim H J, et al. Mutations in *Mcoln3* associated with deafness and pigmentation defects in varint-waddler (Va) mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99: 14994-14999
- 35 Kim J, Chung Y D, Park D, et al. A TRPV family ion channel required for hearing in *Drosophila*. *Nature*, 2003, 424: 81-84
- 36 Sidi S, Friedrich R W, Nicolson T. NompC TRP channel required for vertebrate sensory hair cell mechanotransduction. *Science*, 2003, 301: 96-99
- 37 Martinac B, Delcour A H, Minorsky P V, et al. Mechanosensitive ion channels in bacteria. In: Ito F, ed. *In Comparative Aspects of Mechanoreceptor Systems*. New York: Springer Verlag, 1992. 3-18
- 38 Sukharev S I, Martinac B, Arshavsky V Y, et al. Two types of mechanosensitive channels in the *E. coli* cell envelope: solubilization and functional reconstitution. *Biophys J*, 1993, 65: 177-183
- 39 Sukharev S I, Blount P, Martinac B, et al. Mechanosensitive channels of *Escherichia coli*: the MscL gene, protein, and activities. *Annu. Rev. Physiol*, 1997, 59: 633-657
- 40 Zoratti M, Ghazi A. Stretch activated channels in prokaryotes. In: Bakker E P, ed. *Alkali Transport Systems in Prokaryotes*. Boca Raton: CRC Press, 1993. 349-358
- 41 Berrier C, Besnard M, Ajouz B, et al. Multiple mechanosensitive ion channels from *Escherichia coli*, activated at different thresholds of applied pressure. *J. Membr. Biol*, 1996, 151: 175-187
- 42 Martinac B. Mechanosensitive channels in prokaryotes. *Cell. Physiol. Biochem*, 2001, 11: 61-76
- 43 Strop P, Bass R, Rees D C. Prokaryotic mechanosensitive channels. In: Rees D C, ed. *Advances in Protein Chemistry*. Amsterdam: Academic Press, 2003, 63: 177-209
- 44 Le Dain A C, Saint N, Kloda A, et al. Mechanosensitive ion channels of the archaeon *Haloferax volcanii*. *J. Biol. Chem*, 1998, 273: 12116-12119
- 45 Kloda A, Martinac B. Mechanosensitive channels of Bacteria and Archaea share a common ancestral origin. *Eur. Biophys J*, 2002, 31: 14-25
- 46 Minke B, Cook B. TRP channel proteins and signal transduction. *Physiol. Rev*, 2002, 82: 429-472
- 47 Ajouz B, Berrier C, Garrigues A, et al. Release of thioredoxin via the mechanosensitive channel MscL during osmotic downshock of *Escherichia coli* cells. *J. Biol. Chem*, 1998, 273: 26670-26674
- 48 Moe P C, Levin G, Blount P. Correlating a protein structure with function of a bacterial mechanosensitive channel. *J. Biol. Chem*, 2000, 275: 31121-31127
- 49 Sukharev S, Blount P, Martinac B, et al. MscL: a mechanosensitive channel in *Escherichia coli*. *Soc. Gen. Physiol. Ser*, 1996, 51: 133-141
- 50 Sukharev S, Betanzos M, Chiang C S, et al. The gating mechanism of the large mechanosensitive channel MscL. *Nature*, 2001, 409: 720-724

- 51 Perozo E, Cortes D M, Sompornpisut P, et al. Open channel structure of MscL and the gating mechanism of mechanosensitive channels. *Nature*, 2002, 418: 942-948
- 52 Moe P, Blount P. Assessment of potential stimuli for mechano-dependent gating of MscL: effects of pressure, tension, and lipid headgroups. *Biochemistry*, 2005, 44: 12239-12244
- 53 Sukharev S. Purification of the small mechanosensitive channel of *Escherichia coli* (MscS): the subunit structure, conduction, and gating characteristics in liposomes. *Biophys J*, 2002, 83: 290-298
- 54 Akitake B, Anishkin A, Sukharev, S. The dashpot mechanism of stretch-dependent gating in MscS. *J. Gen. Physiol*, 2005, 125: 143-154
- 55 Edwards M D, Booth I R, Miller S. Gating the bacterial mechanosensitive channels: MscS a new paradigm? *Curr. Opin. Microbiol*, 2004, 7: 163-167
- 56 Edwards M D, Li Y, Kim S, et al. Pivotal role of the glycine-rich TM3 helix in gating the MscS mechanosensitive channel. *Nat. Struct. Mol. Biol*, 2005, 12: 113-119
- 57 Martinac B. Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction. *J. Cell Sci*, 2004, 117: 2449-2460
- 58 Perozo E, Rees D. Structure and mechanism in prokaryotic mechanosensitive channels. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 2003, 13: 432-442
- 59 Gustin M C, Zhou X L, Martinac B, et al. A mechanosensitive ion channel in the yeast plasma membrane. *Science*, 1988, 242: 762-765
- 60 Perozo E. Gating prokaryotic mechanosensitive channels. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, 2006, 7: 109-119
- 61 Kung C. A possible unifying principle for mechanosensation. *Nature*, 2005, 436: 647-654
- 62 Sukharev S, Sigurdson W J, Kung C, et al. Energetic and spatial parameters for gating of the bacterial large conductance mechanosensitive channel, MscL. *J. Gen. Physiol*, 1999, 113: 525-539
- 63 Sukharev S, Anishkin A. Mechanosensitive channels: what can we learn from 'simple' model systems? *Trends Neurosci*, 2004, 27: 345-351
- 64 Chiu S W, Subramaniam S, Jakobsson E. Simulation study of a gramicidin/lipid bilayer system in excess water and lipid. I: structure of the molecular complex. *Biophys J*, 1999a, 76: 1929-1938
- 65 Chiu S W, Subramaniam S, Jakobsson E. Simulation study of a gramicidin/lipid bilayer system in excess water and lipid. II: rates and mechanisms of water transport. *Biophys J*, 1999b, 76: 1939-1950
- 66 Tang Y Z, Chen W Z, Wang C X, et al. Constructing the suitable initial configuration of the membrane-protein system in molecular dynamics simulations. *Eur. Biophys J*, 1999, 28: 478-488
- 67 Woolf T B, Roux B. Structure, energetics, and dynamics of lipid-protein interactions: a molecular dynamics study of the gramicidin in a channel in a DMPC bilayer. *Proteins Struct. Funct. Genet*, 1996, 24: 92-114
- 68 Capener C E, Shrivastava I H, Ranatunga K M, et al. Homology modeling and molecular dynamics simulation studies of an inward rectifier potassium channel. *Biophys J*, 2000, 78: 2929-2942
- 69 Fischer W B, Pitkeathly M, Wallace B A, et al. Transmembrane peptide NB of influenza B: a simulation, structure and conductance study. *Biochemistry*, 2000, 39: 12708-12716
- 70 Forrest L R, Kukol A, Arkin I T, et al. Exploring models of the influenza A M2 channel: MD simulations in a phospholipid bilayer. *Biophys J*, 2000, 78: 55-69
- 71 Law R J, Forrest L R, Ranatunga K M, et al. Structure and dynamics of the pore-lining helix of the nicotinic receptor: MD simulations in water, lipid bilayers, and transbilayer bundles. *Proteins Struct. Funct. Genet*, 2000, 39: 47-55
- 72 Lin J H, Baumgaertner A. Stability of a melittin pore in a lipid bilayer: a molecular dynamics study. *Biophys J*, 2000, 78: 1714-1724
- 73 Schweighofer K J, Pohorille A. Computer simulation of ion channel gating: the M2 channel of influenza A virus in a lipid bilayer. *Biophys J*, 2000, 78: 150-163
- 74 Gullingsrud J, Kosztin D, Schulten K. Structural determinants of MscL gating studied by molecular dynamics simulations. *Biophys J*, 2001, 80: 2074-2081
- 75 Bilston L, Mylvaganam K. Molecular simulations of the large conductance mechanosensitive (MscL) channel under mechanical loading. *FEBS Lett*, 2002, 512: 185-190
- 76 Colombo G, Marrink S J, Mark A E. Simulation of MscL gating in a bilayer under stress. *Biophys J*, 2003, 84: 2331-2337
- 77 Gullingsrud J, Schulten K. Gating of MscL studied by steered molecular dynamics. *Biophys J*, 2003, 85: 2087-2099
- 78 Gullingsrud J, Schulten K. Lipid bilayer pressure profiles and mechanosensitive channel gating. *Biophys J*, 2004, 86: 3496-3509
- 79 Elmore D E, Dougherty D A. Investigating lipid composition effects on the mechanosensitive channel of large conductance (MscL) using molecular dynamics simulations. *Biophys J*, 2003, 85: 1512-1524
- 80 Meyer G R, Gullingsrud J, Martinac B, et al. Molecular dynamics study of MscL interactions with a curved lipid bilayer. *Biophys J*, 2006, 91: 1630-1637
- 81 Debret G, Valadie H, Stadler A M, et al. New insights of membrane environment effects on MscL channel mechanics from theoretical approaches. *Proteins*, 2008, 71: 1183-1196
- 82 Yoo J, Cui Q. Curvature generation and pressure profile modulation in membrane by lysolipids: insights from Coarse-Grained simulations. *Biophys J*, 2009, 97: 2267-2276
- 83 Louhivuori M, Risselada H J, Giessen V D, et al. Release of content through mechano-sensitive gates in pressurized liposomes. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 2010, 107: 19856-19860
- 84 Ollila O H S, Louhivuori M, Marrink S J, et al. Protein shape change has a major effect on the gating energy of a mechanosensitive channel. *Biophys J*, 2011, 100: 1651-1659
- 85 Rui H, Kumar R, Im W. Membrane tension, lipid adaptation, conformational changes, and energetic in MscL gating. *Biophys J*, 2011, 101: 671-679
- 86 Elmore D E, Dougherty D A. Molecular dynamics simulations of wild-type and mutant forms of the *Mycobacterium tuberculosis* MscL channel. *Biophys J*, 2001, 81: 1345-1359
- 87 Kong Y, Shen Y, Warth T E, et al. Conformational pathways in the gating of *Escherichia coli* mechanosensitive channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99: 5999-6004
- 88 Yefimov S, Van Der Giessen E, Onck P R, et al. Mechanosensitive membrane channels in action. *Biophys J*, 2008, 94: 2994-3002
- 89 Jonggu J, Gregory A V. Gating of the Mechanosensitive Channel Protein MscL: The Interplay of Membrane and Protein. *Biophys J*, 2008, 94: 3497-3511

- 90 Sukharev S, Durell S R, Guy H R. Structural models of the MscL gating mechanism. *Biophys J*, 2001, 81, 917-936
- 91 Monica B, Chiang C S, Guy H R, et al. A large iris-like expansion of a mechanosensitive channel protein induced by membrane tension. *Nat Struct Biol*, 2002, 9: 704-710
- 92 Go N, Noguti T, Nishikawa T. Dynamics of a small globular proteins in terms of low-frequency vibrational modes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1983, 80: 3696-3700
- 93 Brooks B, Karplus M. Harmonic dynamics of proteins: normal mode and fluctuations in bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 1983, 80, 6571-6575
- 94 Levitt M, Sander C, Stern P S. Protein normal-mode dynamics: trypsin inhibitor, crambin, ribonuclease and lysozyme. *J. Mol. Biol*, 1985, 181, 423-447
- 95 Valadie H, Lacapre JJ, Sanejounand Y H, et al. Dynamical properties of the MscL of Escherichia coli: a normal mode analysis. *J. Mol. Biol*, 2003, 332: 656-674
- 96 Wiggins P, Philips R. Analytical models for mechanotransduction: gating a mechanosensitive channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101: 4071-4076
- 97 Wiggins P, Philips R. Membrane-protein interactions in mechanosensitive channels. *Biophys J*, 2005, 88: 880-902
- 98 Markin V S, Sachs F. Thermodynamics of mechanosensitivity. *Phys. Biol*, 2004, 1: 110-124
- 99 Turner M S, Sens P. Gating-by-tilt of mechanically sensitive membrane channels. *Phys. Rev. Lett*, 2004, 93: 118103
- 100 Andrei L L, Pogozheva I D, Lomize M A, et al. Positioning of proteins in membranes: a computational approach. *Protein Sci*, 2006, 15: 1318-1333
- 101 Tang Y, Cao G, Chen X, et al. A finite element framework for studying the mechanical response of macromolecules: application to the gating of the mechanosensitive channel MscL. *Biophys J*, 2006, 91: 1248-1263
- 102 Chen X, Cui Q, Tang Y, et al. Gating mechanisms of mechanosensitive channels of large conductance, I: a continuum mechanics-based hierarchical framework. *Biophys J*, 2008, 95: 563-580
- 103 Tang Y, Yoo J, Yethiraj A, et al. Gating mechanisms of mechanosensitive channels of large conductance, II: systematic study of conformational transitions. *Biophys J*, 2008, 95: 581-596
- 104 Tang Y, Yoo J, Yethiraj A, et al. Mechanosensitive channels: insights from continuum-based simulations. *Cell Biochem. Biophys*, 2008, 52: 1-18
- 105 Ursell T, Huang K C, Peterson E, et al. Cooperative gating and spatial organization of membrane proteins through elastic interactions. *PLoS Comput Biol*, 2007, 3: 803-812
- 106 Boucher P A, Catherine E M, Bela J. Mechanosensitive closed-closed transitions in large membrane proteins: osmoprotection and tension damping. *Biophys J*, 2009, 97: 2761-2770
- 107 Grage S L, Keleshian A M, Turdzeladze T, et al. Bilayer-mediated clustering and functional interaction of mscL channels. *Biophys J*, 2011, 100: 1252-1260
- 108 Gumbart J, Wang Y, Aksimentiev A, et al. Molecular dynamics simulations of proteins in lipid bilayers. *Curr. Opin. Struct. Biol*, 2005, 15: 423-431
- 109 Anishkin A, Sukharev S. Explicit channel conductance: can it be computed? *Biophys J*, 2005, 88: 3745-3761
- 110 Nomura T, Sokabe M, Yoshimura K. Lipid-protein interaction of the MscS mechanosensitive channel examined by scanning mutagenesis. *Biophys J*, 2006, 91: 2874-2881
- 111 Anishkin A, Sukharev S. Water dynamics and dewetting transitions in the small mechanosensitive channel MscS. *Biophys J*, 2004, 86:2883-2895
- 112 Sotomayor M, Schulten K. Molecular dynamics study of gating in the mechanosensitive channel of small conductance MscS. *Biophys J*, 2004, 87: 3050-3065
- 113 Spronk S A, Elmore D E, Dougherty D A. Voltage dependent hydration and conduction properties of the hydrophobic pore of the mechanosensitive channel of small conductance. *Biophys J*, 2006, 90: 3555-3569
- 114 Sotomayor M, Vasquez V, Perozo E, et al. Ion conduction through MscS as determined by electrophysiology and simulation. *Biophys J*, 2007, 92: 886-902
- 115 Christine P, Gerhard H. Ion transport through membrane-spanning nanopores studied by molecular dynamics simulations and continuum electrostatics calculations. *Biophys J*, 2005, 89: 2222-2234
- 116 Straaten V D, Kathawala G, Trellakis A, et al. BioMOCA—a Boltzmann transport Monte Carlo model for ion channel simulation. *Mol. Sim*, 2005, 31: 151-171
- 117 Sotomayor M, Van Der Straaten T A, Ravaioli U, et al. Electrostatic properties of the mechanosensitive channel of small conductance MscS. *Biophys J*, 2006, 90: 3496-3510
- 118 Vora T, Corry B, Chung S H. Brownian dynamics investigation into the conductance state of the MscS channel crystal structure. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, 1758: 730-737
- 119 Akitake B, Anishkin A, Sukharev S. Straightening and sequential buckling of the pore-lining helices define the gating cycle of MscS. *Nat. Struct. Mol. Biol*, 2007, 14: 1141-1149
- 120 Anishkin A, Akitake B, Sukharev S. Characterization of the resting MscS: modeling and analysis of the closed bacterial mechanosensitive channel of small conductance. *Biophys J*, 2008, 94: 1252-1266
- 121 Anishkin A, Kamaraju K, Sukharev S. Mechanosensitive channel MscS in the open state: modeling of the transition, explicit simulations, and experimental measurements of conductance. *J Gen Physiol*, 2008, 132: 67-83
- 122 Bely V, Anishkin A, Liu N, et al. The tension-transmitting 'clutch' in the Mechanosensitive channel MscS. *Nat. Struct. Mol. Biol*, 2010, 17: 451-459
- 123 Vasquez V, Sotomayor M, Cortes D M, et al. Three dimensional architecture of membrane embedded MscS in the closed conformation. *J Mol Biol*, 2008, 378: 55-70
- 124 Vasquez V, Sotomayor M, Morales J C, et al. A structural mechanism for MscS gating in lipid bilayers. *Science*, 2008, 321: 1210-1214
- 125 Wang W, Black S S, Edwards M D, et al. The structure of an open form of an E. coli mechanosensitive channel at 3.45 Å resolution. *Science*, 2008, 321: 1179-1183
- 126 Zhong W, Guo W, Ma S. Intrinsic aqueduct orifices facilitate K⁺ channel gating. *FEBS Letters*, 2008, 582: 3320-3324
- 127 Zhong W, Guo W. Mixed modes in opening of KcsA potassium channel from a targeted molecular dynamics simulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(1): 86-90
- 128 Shi N, Ye S, Alam A, et al. Atomic structure of a Na⁺- and K⁺-conducting channel. *Nature* 2006, 440: 570-574
- 129 Shen R, Guo W. Ion binding properties and structure stability of the NaK channel. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1788: 1024-1032
- 130 Alam A, Jiang Y. High-resolution structure of the open NaK channel. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16: 30-34
- 131 Alam A, Jiang Y. Structural analysis of ion selectivity in the NaK channel. *Nat Struct Mol Biol* 2009, 16: 35-41

- 132 Shen R, Guo W, Zhong W. Dynamic hydration valve controlled ion permeability and stability of NaK channel. *Nature Precedings*, 2008 <http://hdl.handle.net/10101/npre.2008.2045.1>
- 133 Shen R, Guo W, Zhong W. Hydration valve controlled non-selective conduction of Na⁺ and K⁺ in the NaK channel. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 2010, 1798: 1474
- 134 Qiu H, Ma S, Shen R, et al. Dynamic and Energetic Mechanisms for the Distinct Permeation Rate in AQP1 and AQP0. *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes* 2010, 179: 318
- 135 Zuo G, Shen R, Ma S, et al. Transport properties of single-file water molecules inside a carbon nanotube biomimicking water channel. *ACS Nano*, 2010, 4: 205
- 136 Zuo G, Shen R, Guo W. Self-adjusted sustaining oscillation of confined water chain in carbon nanotubes. *Nano Lett*, 2011, 11(12): 5297

MECHANOSENSITIVE CHANNELS: INSIGHTS FROM MOLECULAR MODELING AND SIMULATIONS*

XIE Junyu¹ DING Guanghong^{1,2,†}

¹Department of Mechanics Engineering and Science, Fudan University, Shanghai 200433, China

²Shanghai Research Center of Acupuncture and Meridians, Shanghai 201203, China

Abstract Mechanosensitive channels play an important role in various physiological processes. The research on Mechanosensitive channels has been conducted more than two decades by now. In the experimental aspect, the determination of crystal structures of mechanosensitive channels of large and small conductance makes it possible to develop molecular modeling and simulation investigations on MS channels, which gives us a significantly deeper insight into mechanism of mechanosensitive channels. During theoretical studies on ion channels, different simulation methods and calculation skills display their superiorities as well as specific performances, which offer us different viewpoints to analyze membrane channels; however, they also have their own limitations. Particularly, among many ion channel analysis technologies, molecular dynamic simulation plays an outstanding role. The emergence of molecular dynamic simulation presents a more comprehensive and detailed description of the structural and functional relationship and dynamic mechanism of MS channels, which we can not achieve via many other technologies. On the other hand, molecular dynamic simulation consists of several methods, and different methods offer us different paths to study MS channels. That's why in this review, we focus on the computational aspect of mechanosensitive channels analysis, with particular emphasis laid on molecular dynamic simulations. In the context of molecular dynamic simulation, we discuss the dynamic mechanism of MS channels, including structure, lipid environment, mechanical stimulation, voltage dependence and gating configuration. Meanwhile comparisons of the advantages and disadvantages of different simulation technologies will provide us better tools of research in the future. Finally, we also sum up the domestic breakthrough and great achievements in ion channels research, and all of these will definitely provide us new thoughts and inspirations to study MS channels.

Keywords mechanosensitive channels, mechanotransduction, modeling, simulation, molecular dynamic simulation

* The project was supported by the National Basic Research Program of China (2012CB518502), the National Natural Science Foundation of China (81102630), the Shanghai Leading Academic Discipline Project (S30304, B112), the Science Foundation of Shanghai Municipal Commission of Science and Technology (09DZ1976600, 09dZ1974303, 10DZ1975800) and the Fudan Science Foundation for Young (09FQ07).

† E-mail: ghding@fudan.edu.cn



丁光宏, 男, 教授, 博士生导师, 复旦大学校长助理、上海市针灸经络研究中心主任, 复旦大学生物力学研究所所长。2007 年上海市优秀学科带头人。任 *Mathematical Methods in the Applied Sciences*、《针刺研究》、《医用生物力学》、《复旦学报(理科版)》、《世界科学技术-中医药现代化》和《生物医学工程进展》等杂志编委。曾获 2008 年教育部自然科学二等奖(第二完成人), 2007 年上海医学科技奖一等奖(第二完成人), 2005 年中国针灸学会科技进步三等奖(第三完成人)等奖励。在学术杂志上发表论文 120 余篇。获得中国发明专利 3 项和实用新型专利 1 项。负责的科研课题二十余项, 主要有: 国家重点基础科学研究项目(973)课题组长, 国家“九五”攀登计划子课题组长; 国家自然科学基金项目; 上海市科技发展基金; 上海市攻关项目; 教育部高等学校骨干教师资助计划; 上海市教委重点学科; 教育部重点实验室访问学者基金; 复旦大学三年行动计划交叉学科项目等。