

Ionekanaler og vannkanaler – en forutsetning for cellenes liv og hjernens elektriske signaler

Sammendrag

Vannkanaler og ionekanaler er proteiner i cellemembranen som selektivt og med høy effektivitet transporterer vann og ioner inn i og ut av cellene. Peter Agre og Roderick MacKinnon er tildelt nobelprisen i kjemi 2003 for sine oppdagelser vedrørende vannkanal- og ionekanalproteineres nøyaktige struktur. De har dermed kunnet forklare basale mekanismer som ligger til grunn for mange livsprosesser – spesielt for hjernens elektriske signaler. Disse vitenskapelige nyvinningene gir svar på spørsmål som biofysikere og fysiologer har diskutert siden 1800-tallet.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Interessekonflikter: Ingen

Johan F. Storm

Fysiologisk institutt
Universitetet i Oslo
Postboks 1103 Blindern
0317 Oslo
og
Centre for Molecular Biology and Neuroscience
Universitetet i Oslo

I likhet med de fleste andre organismer består vi mennesker som kjent mest av saltvann, som utgjør omtrent to tredeler av vår vekt. Dette reflekterer trolig miljøet der de første cellene oppstod for 3–4 milliarder år siden. De første celler omgav seg med en fettholdig hinne – en livsviktig barriere som skilte deres dyrebare indre komponenter fra væsken utenfor (1). Denne cellemembranen sikret et veldefinert intracellulært miljø, og gjorde det samtidig mulig å etablere konsentrasjonsforskjeller som kunne lagre energi og drive transport av stoffer inn i og ut av cellen.

Men lipidmembranen var også et alvorlig hinder for utveksling av ioner og vann – en transport som er livsviktig, ikke minst for å regulere cellens osmolaritet og volum. En parallell utvikling av høyt spesialiserte transportproteiner – kanalmolekyler – var

derfor nødvendig for rask og selektiv transport gjennom membranen. Fortsatt er transport via slike kanaler vitale prosesser i alle celler og organer.

Hvordan vann, ioner og andre små oppløste stoffer vandrer gjennom levende vev er et gammelt fysiologisk problem. For å forklare fenomener som osmose og ultrafiltrasjon lanserte biofysikkens pionerer (von Brücke, Helmholtz, Ludvig, DuBois Reymond, Fricke) allerede i 1840-årene «poreteorien» – ideen om små porer eller kanaler (Kanäle) som vann og små partikler kunne passere igjennom (2, 3). Fra 1950 har kunnskapen om porer og kanaler gjennomgått en rivende utvikling. Likevel stod sentrale spørsmål fortsatt ubesvart helt til 1990-årene. Siden har banebrytende resultater fra amerikanerne Peter Agre og Roderick MacKinnon, som er tildelt nobelprisen i kjemi for 2003, gitt oss en radikalt forbedret forståelse av vann- og ionekanaler (4). Her beskrives noen av disse nye funnene og deres bakgrunn.

Ionekanaler

Hver tanke, hver fornemmelse, hver bevegelse og hvert hjerteslag beror på ionekanaler. Disse proteinmolekylene danner de myriader av elektriske signaler som farer gjennom dine netthinner og din hjerne når du leser disse linjene. Mye taler for at ionekanalerne er hjernens viktigste molekylære komponenter – «livets transistorer» (5). De er også av vital betydning i alle andre organer og celler – faktisk i alle former for liv på jorden: Bakterier (eubacteria), archeabakterier og alle eukaryoter – protozoer, sopp, planter og dyr.

Fordi hvert ion bærer en elektrisk ladning, vil det vandre i et elektrisk felt. Faradays valg (6) av termen «ion» – det greske ordet for «vandrer» – var derfor treffende. Ionenes bevegelser brukes dels til stofftransport, ikke minst for å regulere cellens osmotiske trykk og volum – trolig en av deres første oppgaver i primitive celler – og som drivkraft for opptak av andre nyttige stoffer, f.eks. i tarm- og nyreepitel.

Ved sine bevegelser danner ionene elektriske strømmer. I nervesystem og muskler, endog i egg- og kjertelceller og noen planter og protozoer har de elektriske strømmene og spenningene som ionene danner fått en særlig betydning: De medfører ikke bare stofftransport; de bærer informasjon – signaler langs cellemembranen, mellom cellene og fra overflatemembranen til cellens indre bio-

kjemiske og genetiske maskineri. Disse komplekse elektriske signalene gir oss som kjent vår evne til å sanse, bevege oss, føle og tenke.

Allerede i 1890 foreslo Wilhelm Ostwald at de elektriske strømmene i levende vev kunne skyldes bevegelser av ioner gjennom cellemembranen (7). I 1902–12 forklarte Julius Bernstein (8, 9) korrekt membranpotensialet i nerve- og muskelceller som et diffusjonspotensial forårsaket av at cellemembranen er selektivt permeabel for K^+ -ioner, som har tendens til å forlate cellen som følge av høy intracellulær konsentrasjon. Michaelis foreslo i 1925 at det fantes trange ionekanaler i membranen og at kanalenes indre elektriske ladninger og de vannmolekyler som er bundet til hvert ion (ionets «vannkappe»), påvirker passasjen gjennom kanalene (10).

Hodgkin & Huxleys epokegjørende analyse av aksjonspotensialmekanismen i 1952 markerte starten på moderne elektrofysiologi og nevrofysiologi. Hodgkin-Huxley-modellen (11) – en detaljert kinetisk beskrivelse av nerveimpulsen i kjempeaksjoner fra blekksprut – var basert på separate spenningsstyrte mekanismer for Na^+ - og K^+ -ionenes permeabilitet. Men ingen visste ennå noe sikkert om det molekylære grunnlaget for disse ionepermeabilitetene – om de skyldtes kanaler, andre transportmolekyler (carriers) eller noe annet, eller om de essensielle molekylene var proteiner, lipider eller endog nukleinsyrer. Alle disse mulighetene ble diskutert i årene som fulgte.

Biofysiske, farmakologiske og biokjemiske studier i 1960- og 70-årene gav økende støtte til kanalhypotesen og til ideen om at Na^+ - og K^+ -kanalene er distinkte molekyler. I 1977 ble det første kanalproteinet biokjemisk identifisert, acetylkolinreseptoren (nAChR) – en ligandstyrt kanal fra elektrisk rokke (12). De første studiene av denne kanalens struktur med elektronmikroskopi viste en vid ekstracellulær trakt som ledet inn mot en smal passasje (13) – et bilde som senere er utfyllt i detalj av bl.a. Nigel Unwins elektrondiffraksjonsstudier (14).

Allerede tidlig i 1970-årene hadde biofysikere som Clay Armstrong og Bertel Hille klart å estimere størrelsen på selektivitetsfilteret i spenningsstyrte Na^+ - og K^+ -kanaler ved å måle ulike stoffers permeabilitet, og det ble fastslått at filteret og lukkemekanismen måtte skyldes atskilte deler av kanal-molekylet (3, 15–18). Detaljerte studier av ionestrømmen gjennom ett enkelt ioneka-

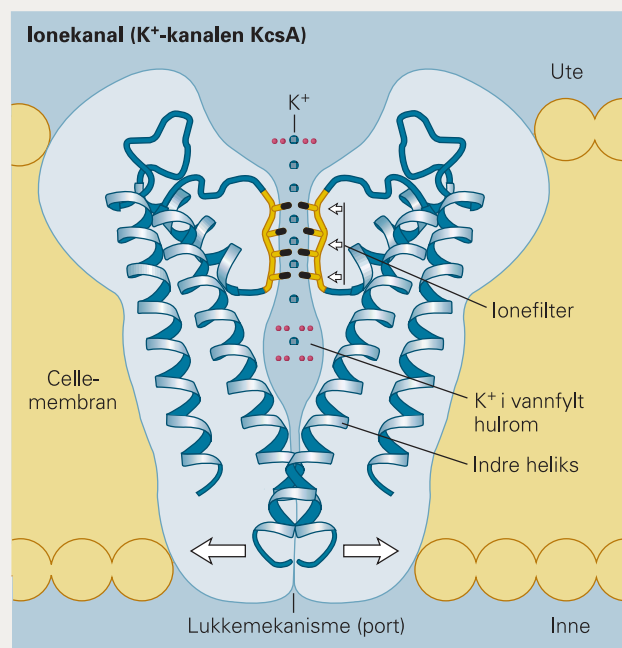
nalmolekyl ble mulig da Neher & Sakmann lanserte patch-clamp-teknikken i 1976 (19), og den molekylærbiologiske revolusjonen gjorde det snart mulig også å klonere, mutere og uttrykke kanalproteiner bl.a. i froskeegg (20–22). Med disse metodene kunne man bl.a. vise at hver K^+ -kanal består av fire like deler – subenheter (23) – og det var mulig å identifisere aktive deler i hvert kanalprotein. Man fant f.eks. at en løkke av proteinet (P-loop) danner selektivitetsfilteret, at et segment (S4) inneholder positive ladninger som styrer åpning og lukking av spenningsstyrte kanaler, og at N-terminalen danner en «propp» som forårsaker inaktivering av K^+ -kanaler (24, 25). Til tross for disse store fremskrittene ble det etter hvert klart at man behøvde et detaljert bilde av kanalens romlige struktur for å komme vesentlig videre i mekanistisk forståelse (3), men vanskelighetene syntes nærmest uoverstigelige.

Den vanlige metoden for å bestemme proteiners nøyaktige struktur er røntgenkristallografi, men denne metoden lot seg vanskelig anvende på kanalproteiner. Fordi kanaler og andre membranproteiner er tilpasset en tilværelse i grenseflaten mellom membrans lipider og vann, er det uhyre vanskelig å få dem til å danne tredimensjonale krystaller – en forutsetning for røntgenkristallografi. Mange forskere satset derfor på elektrondiffraksjonsanalyse av «todimensjonale krystaller» av kanaler i kunstige membraner (14), noe som gir et mer grovkornet bilde.

Dette var – i korte trekk – situasjonen da MacKinnons gruppe presenterte banebrytende funn i *Science* i april 1998 (26). Etter dristig og utholdende satsing og mot mange odds (4) kunne MacKinnon for første gang vise verden den nøyaktige oppbyggingen av poren i et kanal-molekyl, atom for atom. Trass i alle vanskeligheter og advarsler fra eksperter hadde gruppen lyktes med å krystallisere kaliumkanalen AcsA fra bakterien *Streptomyces lividans* (27) og bestemme dens porestruktur i detalj (3,2 Å oppløsning) med røntgendiffraksjon (fig 1). De kunne endog «se» K^+ -ionene inne i kanalens pore, i de posisjonene de inntar når de er på vei gjennom kanalen. MacKinnon har levende beskrevet denne oppdagelsen. Han arbeidet alene i laben natt til 1. januar (kollegene hadde dratt på nyttårsfest) da han fascinert så kanalens struktur med K^+ -ionene i poren «vokse» frem på dataskjermen, stadig tydeligere etter som analysen skred frem (28). Den detaljerte porestrukturen gav avgjørende svar på sentrale spørsmål om hvordan ionekanaler virker. Selv om KcsA er enkelt bygd i forhold til mange andre ionekanaler, er selve porenstruktur meget lik den man finner i alle andre typiske K-kanaler, slik at resultatene fra KcsA ganske sikkert har generell gyldighet.

Et spesielt intrikat problem som har vært diskutert i mer enn 50 år, gjelder kanalenes forbløffende selektivitet, dvs. hvordan et kanal-molekyl kan skille mellom ioner som har

Figur 1



Poren i en kaliumkanal består av fire identiske subenheter. Figuren viser to av disse, og hvordan kaliumioner (K^+ , blå) går gjennom kanalens ionefilter (selektivitetsfilter). I ionefilteret er kaliumionene svakt bundet til negativt ladede oksygenatomer (svarte), på liknende måte som i vann (rødt). De indre helikser åpner og lukker kanalen ved at de bøyes lateralt. Gjengitt, noe omarbeidet, med tillatelse fra Kungl. Vetenskapsakademien (31, 62)

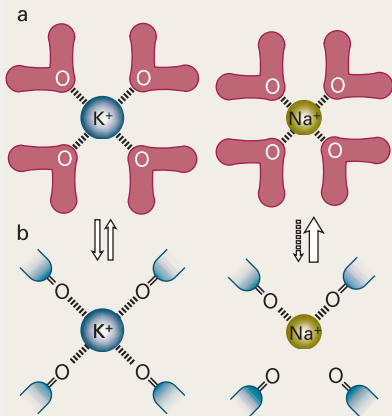
samme ladning og bare litt forskjellig størrelse. Særlig var det vanskelig å forklare hvordan en kaliumkanal kan slippe K^+ -ioner raskt igjennom (opptil 200 millioner K^+ per kanal per sekund), men samtidig effektivt hindre at Na^+ passerer (permeabiliteten for K^+ er 1 000–10 000 ganger høyere enn for Na^+) – dette til tross for at Na^+ har nøyaktig samme ladning og mindre diameter (1,90 Å enn K^+ (2,65 Å) (1). MacKinnons resultater gir et elegant svar på dette spørsmålet. De viser at selektivitetsfilteret (ionefilteret) består av en serie bindingssteder for K^+ . Hvert bindingssted består av en ring av fire oksygenatomer (et O-atom fra hver av de fire subenheters P-løkke), som nærmest perfekt etterlikner K^+ -ionets omgivelser i vann. Som andre ioner i vann er K^+ omsluttet av en «vannkappe», dvs. hvert av de nærmeste H_2O -molekylens oksygenatom, som er har en svak negativ ladning, tiltrekkes av K^+ , slik at vannmolekylene danner et skall omkring ionet (fig 2). Dermed er K^+ «bundet» til vannet, og «vil nødig» forlate det, fordi det da må avgi «sine» vannmolekyler. MacKinnon viste at KcsA-kanalens ringer av O-atomer – som hver er negativt ladet, som i H_2O – er plassert i perfekt avstand slik at de til forveksling likner og derfor lett kan erstatte ionets vannkappe. Dermed kan K^+ lett gå «nakent» inn i kanalens selektivitetsfilter, så å si uten å «merke» at det mister sin vannkappe. Derimot vil Na^+ -ionene, som er mindre og derfor binder vannmolekylene tettere til seg, ikke finne noen god erstatning

i K^+ -kanalens ring av oksygen. Ringen er ganske enkelt for vid til å passe Na^+ -ionet, som derfor heller forblir i vannet, tett bundet til «sine» H_2O -molekyler (fig 2).

KcsA-strukturen viste også en rekke andre interessante trekk. I et vannfylt hulrom innenfor selektivitetsfilteret står K^+ -ionene «i kø», fortsatt omgitt av vann, før de entrer filteret. Ionene beveger seg så gjennom poren på rekke og rad, slik at frastøting mellom de positivt ladede K^+ -ionene i køen hjelper til med å «dytte» det fremste K^+ gjennom den trangeste delen av filteret. Også disse funnene bekrefter på en slående måte ideer som skarpsindig var blitt dedusert av pionerene på feltet flere tiår tidligere, på basis av langt mer indirekte eksperimentelle (oftest elektrofysiologiske) målinger (3). MacKinnons gjennombrudd er derfor ikke bare en seier for ham og hans gruppe, men også en triumf for membranbiofysikkens pionerer – Cole, Hodgkin, Huxley, Katz, Hille, Armstrong og andre. For eksempel viste Hodgkin & Keynes allerede for 60 år siden (29) at K^+ -ionene beveger seg gjennom membranen på rekke og rad, i «single file», og Hille og Armstrong foreslo for ca. 30 år siden at kalium- og Na-kanalenes selektivitet skyldes et samspill mellom ionets hydrogenbindinger i vann og en tilsvarende binding til en ring av O-atomer i filteret, slik MacKinnon nå har bekreftet (3). De grunnleggende begrepene om ioneselektivitet, kanalens åpning og lukking (gating), og inaktivering var altså klart definert allerede på dette tidlige stadiet, selv om de molekylære mekanismene var omstridt. Dette er

Figur 2

K⁺- og Na⁺-ioner i vann (a) og i kaliumkanalens ionefilter (b)



Kaliumkanalen slipper igjennom kaliumioner, men ikke natriumioner. a) Utenfor cellemembranen er kaliumionet bundet til vannmolekylene med en bestemt avstand til deres oksygenatomer. b) For kaliumionet er avstanden til oksygenatomene i selektivetsfilteret den samme som i vann, men for natriumionet, som er mindre, er avstanden for stor. Dette hindrer at natriumioner går gjennom kanalen. Gjengitt, noe omarbeidet, med tillatelse fra Kungl. Vetenskapsakademien (62)

bakgrunnen for at Armstrong, Hille og MacKinnon sammen ble tildelt den presisjetunge amerikanske Lasker-prisen i 1999 (30).

Et annet sentralt problem – diskutert i over 50 år – er hvordan ionekanaler åpnes og lukkes, styrt av endringer i membranpotensialet eller kjemiske signaler. MacKinnons resultater har også langt på vei besvart dette spørsmålet. KcsA-strukturen viste en lukket K-kanal, og fire år senere bestemte MacKinnons gruppe strukturen til en åpen K-kanal – den kalsiumaktiverte K-kanalen MthK. Ved å sammenlikne de to nær beslektede strukturene kunne man foreslå en generell mekanisme for hvordan kanaler åpnes (31). Hver KcsA-kanal består av åtte lange spiralsnodde segmenter – α -helikser – som går gjennom membranen. Fire av disse (de indre helikser) danner en tett, hydrofob bunt som stenger kanalen nær innsiden av membranen (fig 2). Dette er trolig selve lukkemekanismen – porens «port» (gate). Omtrent midt på hver indre heliks er det et «hengsel» – et ledd som kan bøyes, slik at porens indre port åpnes «på vid gap» til en diameter på ca. 12 Å. Dette skjer trolig når kanalens «sensor» – f.eks. det Ca²⁺-bindende området i MthK eller en spenningssensor – utøver en lateral kraft på de indre heliksens indre del, slik at den bøyes utover og lar ionene strømme inn i porens. En annen interessant konsekvens av at «porten» åpnes er at den effektive tykkelsen av membranen reduseres til lengden av selektivetsfilteret (~ 12 Å). Dermed «foku-

seres» membranpotensialets elektriske felt og driver K⁺ raskt gjennom filteret.

MacKinnons gruppe har også klarlagt struktur og virkemåte til flere andre kanal-typer; såkalte «inward rectifier» – K-kanaler, som virker som likeretter eller diode og er av stor betydning bl.a. for hjertets funksjon, kloridkanaler og kanaler som er mekanisk styrt. Nylig har de også beskrevet strukturen til en spenningsstyrt K-kanal fra en bakterie (KvAP) – nok en milepæl, med overraskende resultater, selv om tolkingen av resultatene ennå er noe usikker (32, 33). Plassen tillater ingen beskrivelse av disse funnene her, men interesserte lesere henvises til litteraturlisten.

Vannkanaler

Ideen om egne vannpermeable kanaler ble altså lansert allerede for 160 år siden (2, 7, 34). Selv om vannmolekyler kan diffundere direkte gjennom en ren lipidmembran, skjer dette for langsomt til å forklare den raskeste vanntransporten gjennom biologiske membraner, for eksempel i nyrene. I 1950-årene ble det påvist at erytrocyttmembranen er selektivt vannpermeabel (35), og i 1980-årene fant man holdepunkter for at det finnes vannkanaler med et trangt selektivetsfilter som endog hindrer protoner (i form av H₃O⁺) å passere. Likevel var selve ideen om spesifikke vannkanaler fortsatt omstridt, og ingen hadde ennå kunnet identifisere slike kanal-molekyler (36).

Dette var situasjonen da Agres gruppe oppdaget det første vannkanalproteinet i 1991 (37). Som allerede nevnt (4) skyldtes deres gjennombrudd i ikke liten grad evnen til å utnytte en tilfeldig observasjon. Som revmatolog lette Agre etter rhesus (Rh)-antigener i erytrocytter da et membranprotein, som ikke syntes å ha noe med Rh å gjøre, «forurensset» prøvene hans. Proteinet, som var lett å renfremstille pga. sin uoppløselighet, hadde en molekylvekt på 28 kDa, og ble kalt CHIP28. Agre fant store mengder CHIP28 i celler og vev som hadde den høyeste kjente vannpermeabilitet – proksimale nyretubuli og erytrocytter (38), og han kunne vise at proteinet danner en oligomer «similar to channel proteins» (39). Han forstod derfor at CHIP28 kunne være det lenge ettersøkte vannkanalen – han gir sin tidligere veileder, John Parker, æren for først å ha foreslått dette (40).

Etter å ha sekvensiert proteinets N-terminal og klonet dets cDNA (41) gjorde Agres gruppe i oktober 1991 det avgjørende eksperimentet som viste at CHIP28 faktisk danner vannkanaler. De viste at CHIP28, uttrykt i eggceller fra frok (Xenopus-oocyter), førte til at cellene svulmet raskt når de ble lagt i vann eller hypoosmolær løsning – et umiskjennelig tegn på høy vannpermeabilitet (37). Det samme skjedde når proteinet ble satt inn i blærer av kunstige lipidmembraner – liposomer (42). Svellingen ble hindret ved tilsetning av kvikksølvioner, som er en kjent blokker av vanntransport i erytrocytter. Der-

med var det første vannkanalproteinet, CHIP28, identifisert. Det ble senere omdøpt til akvaporin-1 (AQP1).

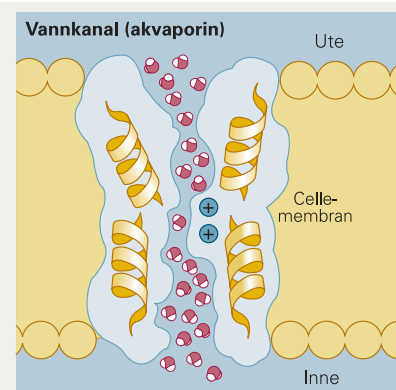
Siden har Agres gruppe og andre påvist beslektede vannkanalproteiner – akvaporiner – i alle typer organismer, fra bakterier (eubacteria), archeabakterier (archaea) og protozoer til sopp og en rekke plante- og dyrearter (43). Bare hos mennesket er det påvist 11 ulike akvaporiner. Hos høyere planter er det enda flere – f.eks. minst 35 typer bare hos «modellplanten» vårskrinneblom (*Arabidopsis thaliana*), der de bl.a. sørger for røttens vanntransport (44).

Akvaporinenes fysiologiske betydning hos oss er kanskje tydeligst i nyrene, som daglig reabsorberer ca. 180 liter vann fra primærurinen. AQP1 finnes i stor tetthet i de proksimale nyretubuli og vasa recta, der den største vannmengden reabsorberes, mens AQP2 finnes i samlerørene, der urinen konsentreres under kontroll av antidiuretisk hormon (ADH) (45).

Vannkanalenes struktur og virkemåte

For å kunne forstå hvordan vannkanalene virker, var det nødvendig å kartlegge akvaporinmolekylets struktur i detalj. Basert på proteinets deduserte aminosyresekvens foreslo Agres gruppe allerede i 1992 at peptidkjeden i AQP1-proteinet snor seg seks ganger gjennom membranen (seks transmembranale domener) (37). Elektronmikroskopisk (3D-EM) analyse av humant AQP1 i kunstige membraner viste at hver vannkanal består av fire like subenheter (fire AQP1-molekyler), hver med sin separate pore (46). Ytterligere elektronkristallografiske studier gav grunnlag for en detaljert modell av molekylets oppbygging (3,8 Å oppløsning;) (47) – en modell som senere ble videreutviklet (48, 49) på basis av røntgendiffraksjonsanalyse av en homolog kanal fra bakterier. Den nye modellen ble så direkte bekreftet ved samme type analyse av AQP1 fra storfe (2,2 Å oppløsning) (43, 50) (fig 3).

På grunnlag av kanalens atomære struktur er det også utviklet detaljerte modeller av hvordan vannmolekylene vandrer gjennom kanalens porer (43) – modeller som forklarer kanalenes fabelaktige effektivitet (ca. 1 milliard vannmolekyler kan passere gjennom hver pore per sekund!) og selektivitet, spesielt hvordan lekkasje av protoner (i form av H₃O⁺) forhindres. Kanalens trange pore tvinger vannmolekylene til å passere i én rekke. En positiv ladning nær midten av passasjen frastøter H₃O⁺ og andre kationer og hindrer dermed at protoner passerer, mens en rekke negativt ladede O-atomer frastøter anioner, liksom i MacKinnons K⁺-kanaler. Ved at det lokale elektriske felt skifter polaritet midt i kanalen, tvinges vannmolekylene også til å snu seg rundt, slik at de får motsatt dipolmoment i indre og ytre halvdel av porens (fig 3). Dermed forhindres vannmolekylene fra å danne en sammenhengende «søyle» – holdt sammen av hydrogenbindinger –

Figur 3

Passasje av vannmolekyler gjennom en vannkanal (akvaporin AQP1). Positive ladninger midt i kanalen frastøter positive ioner, og hindrer derfor protoner (H_3O^+) i å passere. Gjengitt, noe omarbeidet, med tillatelse fra Kungl. Vetenskapsakademien (62)

gjennom membranen; dette sikrer at ikke protoner «hopper» langs vannmolekylene («proton hopping», «proton wire»). Denne evnen til å lede vann uten at H^+ følger med, er trolig helt avgjørende for AQP1-funksjonen i nyrene, der store mengder vann reabsorberes mens syre utskilles i urinen.

Bare vel ti år etter at Agre oppdaget akvaporin-1 har man altså oppnådd en mekanistisk forståelse av vanntransport på atomnivå.

Klinisk betydning

Hos mennesker finnes 11 vannkanalgener, og i tre av disse har man funnet mutasjoner: AQP0, AQP1 og AQP2 (45, 51). AQP1-genet finnes på kromosom 7p14 og AQP1-kanalene finnes i vev med høy vannpermeabilitet: Nyrenes proksimale tubuli, endotel, epitelet i øyets fremre kammer (kammervæske) og i kolangiocyttene (galle). I 1994 påviste Agres gruppe at det finnes noen få mennesker som på grunn av en mutasjon i AQP1-genet fullstendig mangler funksjonelle AQP1-kanaler (52). Merkelig nok lever disse menneskene helt normalt og har normalt urinvolum. De var fullstendig uvidende om at det feilte dem noe. Tester viste imidlertid at de har betydelig redusert evne til å konsentrere urinen. Selv etter et døgn uten vanninntak var osmolariteten i urinen deres bare ca. halvparten av det man finner til vanlig. AQP1-mangel gir derfor sårbarhet overfor komplikasjoner ved dehydrering.

AQP2-kanalene finnes i veggen på nyrenes samlerør. Etter rikelig vanninntak, når ADH er lavt, er AQP2 lagret i intracellulære vesikler, men det settes inn i overflatemembranen når ADH øker. Mutasjoner i AQP2 finnes hos pasienter med arvelige former for nefrogen diabetes insipidus. Man finner dessuten endringer i AQP2-ekspressjon ved de fleste tilstander med endret væskebalanse. For eksempel øker AQP2 ved graviditet og ved hjerte-

svikt, men er redusert ved klassisk diabetes insipidus og ved enuresis (45, 53).

AQP4-kanaler er normalt konsentrert i perivaskulære membraner til astrocytter i hjernen. Amiry-Moghaddam og medarbeidere (54) viste nylig at mus som mangler et forankringsprotein for AQP4 (α -syntrophin), mister denne spesifikke distribusjonen av AQP4, og deres astrocytter viste tegn på redusert vandrenasje. Etter iskemi hadde disse musene imidlertid mindre hjerneødem enn normale mus, noe som tyder på at toveis vannfluks gjennom AQP4-kanalene formidler vannutveksling under normale forhold og etter iskemi.

AQP0 finnes i store mengder i øyets linsefibrer, men har ganske beskjeden vannpermeabilitet. Man tror at AQP0s viktigste funksjon er som adhesjonsmolekyl som holder linsefibre sammen og dermed bidrar til å gjøre linsen gjennomskiktig. Mutasjoner i AQP0-genet forårsaker visse arvelige former for grå stær. Akvaporiner er dessuten sannsynligvis implisert ved en rekke andre fysiologiske (syre-base-balanse) og patologiske tilstander, bl.a. glaukom og preeklampsi (45).

Avslutning

Agres og MacKinnons suksess viser hvordan tekniske nyvinninger åpner uante muligheter for ny eksakt kunnskap, og – på den annen side – hvordan nye funn ofte i forbløffende grad bekrefter teorier fra lang tid tilbake. De nye resultatene er dermed også en triumf for tidligere tiders pionerer, som oppnådde en imponerende innsikt på basis av sine enklere eksperimenter og omhyggelige teoretiske overveielser. Sammen med andre nyvinninger innen molekylærbiologi de siste tiårene bidrar Agres og MacKinnons funn også i høy grad til å understreke det dype slektskapet mellom alt liv på vår planet, fra bakterier til mennesker, med røtter milliarder av år tilbake.

Ionekanalenes og vannkanalenes mangfoldige varianter og funksjoner i alle kroppens organer (vi mennesker har ca. 80 gener bare for K^+ -kanalproteiner) (1) gjør dem til lovende mål for nye farmaka. Kartleggingen av de ulike kanalenes fysiologiske funksjoner pågår allerede og blir en viktig oppgave i årene som kommer. I de senere år er det beskrevet en rekke sykdommer som skyldes feil i ionekanaler – såkalte kanalsykdommer (channelopathies) (55–61). Men vår nye kunnskap om kanaler har trolig sitt største terapeutiske potensial i muligheten for å manipulere kanaler for å avhjelpe mange andre feil enn bare dem som skyldes de egentlige kanalsykdommene. Mange legemidler virker som kjent via ionekanaler allerede, og flere forskergrupper og firmaer undersøker nå nye muligheter. MacKinnons og Agres funn vil derfor kunne bidra vesentlig, ikke bare til dypere innsikt i biofysikk, fysiologi og patofysiologi, men også til rasjonell utvikling av nye legemidler og behandlinger.

Addendum

Deler av fremstillingen i denne artikkelen bygger i særlig grad på referansene 3, 28, 30, 40, 43, 45, 53 og 62.

Litteratur

- Hille B. Ion channels of excitable membranes, Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2001.
- Brücke E. 1943 Beiträge zur Lehre von der Diffusion tropfbarflüssiger Körper durch poröse Scheidewände. Ann Phys Chem 1843; 56: 77–94.
- Hille B, Armstrong CM, MacKinnon R. Ion channels: from idea to reality. Nat Med 1999; 5: 1105–9.
- Storm JF. Tankevekkende kanaler 2003. Tidsskr Nor Lægeforen 2003; 123: 0000–00.
- Sigworth FJ. Life's transistors. Nature 2003; 423: 21–2.
- Faraday M. Experimental researches on electricity. Seventh series. Phil Trans R Soc Lond 1834; 142: 516–43.
- Ostwald W. Elektrische Eigenschaften halbdurchlässiger Scheidewände. Z Phys Chem 1890; 6: 71–82.
- Bernstein J. Untersuchungen zur Thermodynamik der Biologischen Ströme. Pfügers Arch 1902; 92: 521–62.
- Bernstein J. Elektrobiologie. Braunschweig: Vieweg, 1912.
- Michealis L. Contribution to the theory of permeability of membranes for electrolytes. J Gen Physiol 1925; 8: 33–59.
- Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J Physiol 1952; 117: 500–44.
- Ross MJ, Klymkowsky MW, Agard DA, Stroud RM. Structural studies of a membrane-bound acetylcholine receptor from Torpedo californica. J Mol Biol 1977; 116: 635–59.
- Kistler J, Stroud RM, Klymkowsky MW, Lalanette RA, Fairclough RH. Structure and function of an acetylcholine receptor. Biophys J 1982; 37: 371–83.
- Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore. Nature 2003; 424: 949–55.
- Hille B. Ionic channels in nerve membranes. Prog Biophys Mol Biol 21; 1970: 1–32.
- Armstrong CM. Interaction of tetraethylammonium ion derivatives with the potassium channels of giant axons. J Gen Physiol 1971; 59: 413.
- Hille B. The permeability of the sodium channel to organic cations in myelinated nerve. J Gen Physiol 1971; 58: 599–619.
- Hille B, Schwarz W. Potassium channels as multi-ion single-file pores. J Gen Physiol 1978; 72: 409–42.
- Neher E, Sakmann B. Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. Nature 1976; 260: 799–802.
- Noda M, Furutani Y, Takahashi H, Toyosato M, Tanabe T, Shimizu S et al. Cloning and sequence analysis of calf cDNA and human genomic DNA encoding alpha-subunit precursor of muscle acetylcholine receptor. Nature 1983; 305: 818–23.
- Noda M, Shimizu S, Tanabe T, Takai T, Kayano T, Ikeda T et al. Primary structure of Electrophorus electricus sodium channel deduced from cDNA sequence. Nature 1984; 312: 121–7.
- Tempel BL, Papazian DM, Schwarz TL, Jan YN, Jan LY. Sequence of a probable potassium channel component encoded at Shaker locus of Drosophila. Science 1987; 237: 770–5.
- MacKinnon R. Determination of the subunit stoichiometry of a voltage-activated potassium channel. Nature 1991; 350: 232–5.
- Armstrong CM, Bezanilla FM, Rojas F. Destruction of sodium conductance inactivation in squid axons perfused with pronase. J Gen Physiol 1973; 62: 375–91.
- Hoshi T, Zagotta WN, Aldrich RW. Biophysical and molecular mechanisms of Shaker potassium channel inactivation. Science 1990; 250: 533–8.
- Doyle D, Cabral JM, Pfützner RA, Kuo A, Gulbis JM, Cohen SL et al. The structure of the potassium channel – molecular basis of K^+ conduction and selectivity. Science 1998; 280: 69–77.

>>>

27. Schrempf H, Schmidt O, Kummerlen R, Hinnah S, Muller D, Betzler M et al. A prokaryotic potassium ion channel with two predicted transmembrane segments from *Streptomyces lividans*. *EMBO J* 1995; 14: 5170–8.
28. Karow J. Interview with Roderick MacKinnon. *Scientific American* 4.3.2002.
29. Hodgkin AL, Keynes RD. The potassium permeability of a giant nerve fibre. *J Physiol* 1955; 128: 61–88.
30. Russo E. The 1999 Lasker Awards. *The Scientist* 1999; 13: 1–2.
31. Jiang Y, Lee A, Chen J, Cadene M, Chait BT, MacKinnon R. The open pore conformation of potassium channels. *Nature* 2002; 417: 523–6.
32. Jiang Y, Ruta V, Chen J, Lee A, MacKinnon R. The principle of gating charge movement in a voltage-dependent K⁺ channel. *Nature* 2003; 423: 42–8.
33. Miller G. The puzzling portrait of a pore. *Science* 2003; 300: 2020–2.
34. Pfeffer W. Osmotische Untersuchungen. Studien zur Zellmechanik. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann, 1877.
35. Sidel VW, Solomon AK. Entrance of water into human red cells under an osmotic pressure gradient. *J Gen Physiol* 1957; 41: 243–57.
36. Finkelstein A. Water movement through lipid bilayers, pores and plasma membranes. New York: Wiley Interscience, 1987.
37. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP 28 protein. *Science* 1992; 256: 385–7.
38. Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, Agre P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem* 1988; 263: 15634–42.
39. Smith BL, Agre P, Erythrocyte M. 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem* 1991; 266: 6407–15.
40. Miller G. Gateways into cells usher in Nobels. *Science* 2003; 302: 383–4.
41. Preston GM, Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 11110–4.
42. Zeidel ML, Ambudkar SV, Smith BL, Agre P. Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochemistry* 1992; 31: 7436–40.
43. Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, Philippsen A, Grubmüller H, Agre P et al. Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol* 2002; 12: 509–15.
44. Maurel C, Javot H, Lauvergeat V, Gerbeau P, Tournaire C, Santoni V et al. Molecular physiology of aquaporins in plants. *Int Rev Cytol* 2002; 215: 105–48.
45. Agre P, King LS, Yasui M, Guggino WB, Ottersen OL, Fujiyoshi Y et al. Aquaporin water channels – from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol* 2002; 542: 3–16.
46. Walz T, Smith B, Agre P, Engel A. The three-dimensional structure of human erythrocyte aquaporin. *EMBO J* 1994; 13: 2985–93.
47. Murata K, Mitsuoka K, Hirai K, Walz T, Agre P, Heymann JB et al. Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature* 2000; 407: 599–605.
48. de Groot BL, Engel A, Grubmüller H. A refined structure of human aquaporin-1. *FEBS Letters* 2001; 504: 206–11.
49. de Groot BL, Grubmüller H. Water permeation across biological membranes: mechanism and dynamics of aquaporin-1 and GlpF. *Science* 2001; 294: 2353–7.
50. Sui H, Han BG, Walian P, Jap BK. Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel. *Nature* 2001; 414: 872–8.
51. Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest* 2002; 109: 1395–9.
52. Preston GM, Smith BL, Zeidel ML, Moulds JJ, Agre P. Mutations in aquaporin-1 in phenotypically normal humans without functional CHIP water channels. *Science* 1994; 265: 1585–7.
53. King LS, Yasui M. Aquaporins and disease: lessons from mice to humans. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 355–60.
54. Amiry-Moghaddam M, Otsuka T, Hurn PD, Traystman RJ, Haug FM, Froehner SC et al. An α -syn-trophin-dependent pool of AQP4 in astroglial endfeet confers bidirectional water flow between blood and brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 2106–11.
55. Bockenhauer D. Ion channels in disease. *Curr Opin Pediatr* 2001; 13: 142–9.
56. Marban E. Cardiac channelopathies. *Nature* 2002; 415: 213–8.
57. Kullmann DM, Hanna MG. Neurological disorders caused by inherited ion-channel mutations. *Lancet Neurol* 2002; 1: 157–66.
58. Davies NP, Hanna MG. The skeletal muscle channelopathies: distinct entities and overlapping syndromes. *Curr Opin Neurol* 2003; 16: 559–68.
59. Willumsen NJ, Bech M, Olesen SP, Jensen BS, Korsgaard MP, Christophersen P. High throughput electrophysiology: new perspectives for ion channel drug discovery. *Receptors Channels* 2003; 9: 3–12.
60. Chen S, Zhang L, Bryant RM, Vincent GM, Flippin M, Lee JC et al. KCNQ1 mutations in patients with a family history of lethal cardiac arrhythmias and sudden death. *Clin Genet* 2003; 63: 273–82.
61. Mulley JC, Scheffer IE, Petrou S, Berkovic SF. Channelopathies as a genetic cause of epilepsy. *Curr Opin Neurol* 2003; 16: 171–6.
62. Nobelpriset i kemi 2003. Membrane channels. The Royal Swedish Academy of Sciences. www.kva.se (oktober 2003).