

I1363T突变致人骨骼肌电压门控钠通道快失活受损的机制

唐思阳¹, 叶佳¹, 李月舟^{1,2}

1. 浙江大学医学院生物物理学系, 浙江 杭州 310058

2. 浙江大学医学院附属儿童医院实验检验中心, 浙江 杭州 310052

[摘要] **目的:**探究人源骨骼肌电压门控钠通道hNav1.4 I1363T突变体导致患者出现先天性副肌强直症状的机制。**方法:**利用氨基酸序列比对,检测hNav1.4 I1363位点的保守性;将hNav1.4蛋白的羧基端融合荧光蛋白mCherry,利用共聚焦显微镜观察hNav1.4野生型与I1363T突变体蛋白的表达量与分布情况;通过全细胞电生理技术记录野生型与I1363T突变体的稳态激活及快失活参数,并进一步分析野生型与I1363T突变体的窗电流。**结果:**hNav1.4 I1363位点在各类钠通道中高度保守。野生型与I1363T突变体均能正常上膜,且表达量无明显差异。野生型与I1363T突变体的50%激活电压 $V_{0.5}$ 分别为 (-29.08 ± 0.24) mV和 (-28.79 ± 0.21) mV,斜率因子 k 分别为 5.06 ± 0.21 和 4.73 ± 0.18 (均 $P > 0.05$);野生型与I1363T突变体的50%失活电压 $V_{0.5}$ 分别为 (-68.03 ± 0.34) mV和 (-59.01 ± 0.26) mV,斜率因子 k 分别为 4.55 ± 0.21 和 5.24 ± 0.23 (均 $P < 0.05$),I1363T突变体的失活电压向去极化方向移动,且更为平缓。I1363T突变体形成的窗电流大于野生型的窗电流。**结论:**I1363T突变会导致hNav1.4慢失活受损,增加肌肉细胞兴奋性,导致肌强直的发生;而增大的窗电流使得钠离子在细胞内缓慢聚集,最终导致细胞兴奋性下降,引发肌无力。



[关键词] 骨骼肌/病理生理学;先天性肌强直/遗传学;基因表达;电压门控钠通道/遗传学;突变;转染

[中图分类号] Q71 **[文献标志码]** A

I1363T mutation induces the defects in fast inactivation of human skeletal muscle voltage-gated sodium channel

TANG Siyang¹, YE Jia¹, LI Yuezhou^{1,2} (1. Department of Biophysics, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China; 2. Department of Laboratory, the Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310052, China)

Corresponding author: LI Yuezhou, E-mail: yuezhou-li@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0003-0582-4255>

收稿日期:2018-08-21 接受日期:2018-09-15

基金项目:国家重点基础研究发展计划(2014CB910302)

第一作者:唐思阳(1989—),男,博士,助理研究员,主要从事离子通道及相关疾病研究;E-mail: 21218314@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0001-9361-7111>

通信作者:李月舟(1972—),男,博士,研究员,主要从事离子通道及相关疾病研究;E-mail: yuezhou-li@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0003-0582-4255>

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism of congenital paramyotonia caused by human skeletal muscle voltage-gated sodium channel hNav1.4 mutant I1363T. **Methods:** The conservation of the mutant site were detected by using amino acid sequence alignment; the C-terminal mCherry fusion hNav1.4 was constructed, and the expression and distribution of wild type and hNav1.4 mutant I1363T were determined by confocal microscopy; the steady-state activation, fast inactivation and window current of wild type and hNav1.4 mutant I1363T were examined by whole-cell patch clamp. **Results:** Alignment of the amino acid sequences revealed that Ile1363 is highly conserved in human sodium channels. There was no significant difference in expression level and distribution between wild type and I1363T. Although no significant differences were observed between I1363T mutant and wild type in the activation upon channel gating, the $V_{0.5}$ of voltage-dependence of fast inactivation of I1363T mutant $[(-59.01 \pm 0.26) \text{ mV}]$ shifted 9 mV towards depolarization as compared with wild type $[(-68.03 \pm 0.34) \text{ mV}]$, and the slope factor of voltage-dependence curve increased to $(5.24 \pm 0.23) \text{ mV}$, compared with $(4.55 \pm 0.21) \text{ mV}$ of the wild type. Moreover, I1363T showed the larger window current than that of the wild type. **Conclusions:** I1363T causes the defect in fast inactivation of hNav1.4, which may increase the excitability of muscle cells and be responsible for myotonia. The increased window current of I1363T may result in an increase of inward Na^+ current, could subsequently inactivate the channels and lead to loss of excitability and paralysis.

[Key words] Muscle, skeletal/physiopathology; Myotonia congenita/genetics; Gene expression; Voltage-gated sodium channels/genetics; Mutation; Transfection

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2019,48(1):12-18.]

先天性副肌强直是一类与电压门控离子通道相关的家族遗传疾病,其主要特点是幼年发病,且寒冷或运动等易引发患者肌强直或肌无力症状^[1-2]。先天性副肌强直最常见的病因是编码人骨骼肌电压门控钠通道4型 α 亚基(hNav1.4)的SCN4A基因发生突变,使得通道功能变化,最终导致肌肉细胞功能异常^[3-5]。

电压门控钠通道是一类主要存在于神经和肌肉细胞上的膜蛋白,发挥起始与传递动作电位的作用^[6]。当细胞膜电位达阈电位时,电压门控钠通道从静息变为开放状态,导致细胞膜电位去极化,在持续去极化过程中,通道又从开放转变为关闭的失活状态。电压门控钠通道功能的变化可能影响细胞动作电位的产生与传递,继而影响细胞的兴奋性^[7-9]。

已有报道表明,当hNav1.4的1363位异亮氨酸突变成苏氨酸后(I1363T),患者会产生副肌强直症状^[10]。本研究利用细胞培养体外表达hNav1.4通道蛋白,结合全细胞电生理技术,从蛋白质水平

检测I1363T突变对hNav1.4激活、失活等功能的影响,并进一步探究该突变的致病机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

无缝克隆试剂盒、点突变试剂盒为南京诺唯赞生物科技有限公司产品;pIRES2-EGFP载体、N1-mCherry载体为美国Clontech公司产品;人源SCN4A和SCN1B基因为美国Vigene公司产品;DMEM培养液、FBS、青霉素和链霉素混合液(P/S)、胰蛋白酶为美国Gibco公司产品;多聚赖氨酸为美国Sigma-Aldrich公司产品;生物安全柜为海尔公司产品;二氧化碳培养箱为美国Thermo Fisher Scientific公司产品;FV1000激光共聚焦显微镜为日本Olympus公司产品;玻璃微电极、P97电极拉制仪、微操仪为美国Sutter公司产品;MultiClamp 700B放大器、DigiData 1440数模转换器、pClamp 10.2数据采集分析软件为荷兰Axon公司产品。

1.2 载体构建与定点突变

利用无缝克隆试剂盒将人源 *SCN4A* 的野生型 cDNA 克隆到 N1-mCherry 载体上, mCherry 的 DNA 序列位于 *SCN4A* cDNA 序列的 3' 之后, 且两段序列之间无终止密码子, 使得该载体能够表达 hNav1.4 的羧基端融合 mCherry 蛋白。将人源 *SCN1B* 基因克隆到 pIRES2-EGFP 载体上。利用点突变试剂盒, 将 *SCN4A* 的 4087 至 4089 位碱基突变为 ACG, 使表达的 hNav1.4 第 1363 位的异亮氨酸突变成苏氨酸(I1363T)。对野生型质粒与 I1363T 突变体质粒进行全长测序, 确保没有额外的突变位点。

1.3 细胞培养与转染

HEK293 细胞种植于 60 mm 的培养皿中, 并置于 37 °C 5% 二氧化碳培养箱中培养, 使用含 10% FBS 和 1% P/S 的 DMEM 培养基。当细胞生长至铺满培养皿底部时进行传代处理。取出培养皿, 弃上清液, 并用 PBS 缓冲液清洗残余培养液。取已预热的 0.25% 胰蛋白酶 1 mL 消化细胞 1~2 min 后, 加入 2 mL 培养液中和胰蛋白酶的消化作用, 用移液器轻柔吹打底层细胞使其悬浮, 并转移至离心管中, 200×g 离心 5 min。离心完成后弃上清液, 用培养液重悬浮细胞。取适当密度的细胞种植于多聚赖氨酸包被过的 8 mm×8 mm 方玻片上, 37 °C、5% 二氧化碳恒温培养箱中培养。培养 24 h 后, 用脂质体转染法分别将野生型质粒和 I1363T 突变体质粒与 pIRES2-SCN1B-EGFP 共转染 HEK293 细胞。转染 24 h 后用于电生理记录实验。

1.4 激光共聚焦显微镜成像检测 I1363T 突变体的蛋白表达量与分布情况

野生型质粒和 I1363T 突变体质粒分别转染 HEK293 细胞 24 h 后, 通过激光共聚焦显微镜检测红色荧光蛋白的分布。取出种植于方玻片表面的细胞, 用细胞外液清洗 2 次后浸泡于盛有细胞外液的 35 mm 小平皿中, 镜下观察。

1.5 全细胞电生理技术检测 I1363T 突变体的稳态激活及快失活参数

质粒转染细胞 18~24 h 后, 在荧光显微镜下选取有表达红色荧光蛋白(mCherry)与绿色荧光蛋白(EGFP)的细胞, 即共表达了 hNav1.4 和 SCN1B 两种蛋白的细胞来进行电生理实验。全细胞记录在室温(25 °C)条件下进行。利用电极拉制仪将玻璃微电极

拉制成电阻 1~1.5 Ω 开口大小。细胞放置于细胞外液中(含 145 mmol/L 氯化钠、4 mmol/L 氯化钾、1.8 mmol/L 氯化钙、1 mmol/L 氯化镁、10 mmol/L 葡萄糖、10 mmol/L HEPES), 用氢氧化钠调节酸碱度至 7.35, 用蔗糖将渗透浓度调至 310 mmol/L; 玻璃微电极灌注电极内液(含 10 mmol/L 氟化钠、110 mmol/L 氟化铯、20 mmol/L 氯化铯、2 mmol/L EGTA、10 mmol/L HEPES), 用氢氧化铯调节酸碱度至 7.35, 用蔗糖将渗透浓度调至 310 mmol/L。数据的采样量为 20 kHz, 过滤值为 5 kHz。串联电阻补偿为 80%~90%, 以减少电压差。使用 pClamp 10.2 软件进行电流曲线分析。

记录通道激活特征的具体步骤为: 将细胞钳制在 -120 mV 电压下, 然后给予 100 ms 从 -80 mV 至 +90 mV、步阶 5 mV 的去极化刺激来诱发通道开放。不同电压下的电流值需除以该次记录中的最大电流值来进行标化处理。以标化过后的数据作图, 可得到电流-电压曲线, 通过该曲线中的数值, 带入方程 $G=I/(V-V_{rev})$, 获得不同电压下的电导值, 进一步获得电导-电压曲线。将电导-电压曲线进行标准玻尔兹曼(Boltzmann)分布拟合 $G(V)/G_{max}=1/\{1+\exp[-(V-V_{0.5})/k]\}$, 可得 50% 开放电压($V_{0.5}$ 值)及斜率因子(k 值)。

记录通道快失活特征的具体步骤为: 将细胞钳制在 -120 mV 电压下, 给予 500 ms 从 -150 mV 至 -10 mV、步阶为 10 mV 的预刺激, 再给予 40 ms、-10 mV 的测试电压, 记录不同预刺激情况下仍未失活的通道电流, 将数据经玻尔兹曼方程 $I/I_{max}=1/\{1+\exp[(V-V_{0.5})/k]\}$ 拟合后, 可得 50% 失活电压 $V_{0.5}$ 值及斜率因子 k 值。

1.6 统计学方法

使用 Prism 6.0 软件进行统计学分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hNav1.4 的 I1363 位点具有高度保守性

如图 1A 所示, hNav1.4 蛋白是由一条肽链上 4 个同源结构域组成的通道蛋白, 每个结构域包含 6 个跨膜区, 而 I1363T 突变发生在第四结构域的第一跨膜区。与其他高等生物(如猕猴、大鼠、小鼠、犬类、鸡)的 Nav1.4 通道序列比对结果显示, I1363 位点高度保守(图 1B); 与人源 Nav 家族其他通道

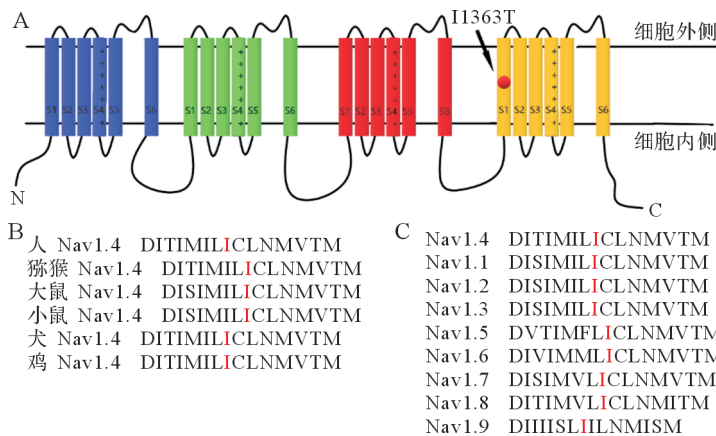


Figure 1 Sequence analysis of I1363T mutation

图1 I1363T突变体序列分析

Figure 1 Sequence analysis of I1363T mutation

(hNav1.1~1.9)进行序列比对, I1363位点也十分保守(图1C)。

2.2 I1363T突变体在HEK293细胞上的表达及定位与野生型相似

野生型与突变体hNav1.4蛋白(红色荧光)在HEK293上表达类似,且能够在膜上定位(图2),提示I1363T突变并未对蛋白的定位产生影响。

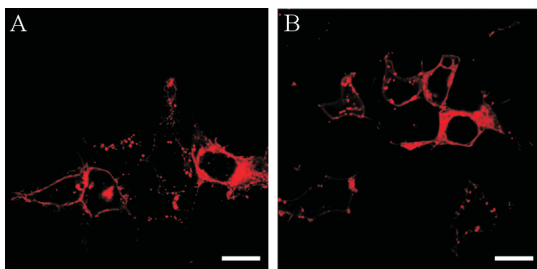


Figure 2 The expression and location of hNav1.4-mCherry in HEK293 cell

图2 共聚焦显微镜下观察野生型和I1363T突变体在HEK293细胞中的表达及定位

Figure 2 The expression and location of hNav1.4-mCherry in HEK293 cell

2.3 I1363T突变体的稳态激活和快失活

2.3.1 I1363T突变体的稳态激活特征无明显改变 野生型和I1363T突变体通道开放的电流-电压曲线如图3A所示,将该曲线带入方程 $G = I / (V - V_{rev})$,可获得电导-电压曲线(图3B)。将电导-电压曲线进行标准玻尔兹曼分布拟合,所得野生型通道和I1363T突变体通道的 $V_{0.5}$ 值分别为 $(-29.08 \pm$

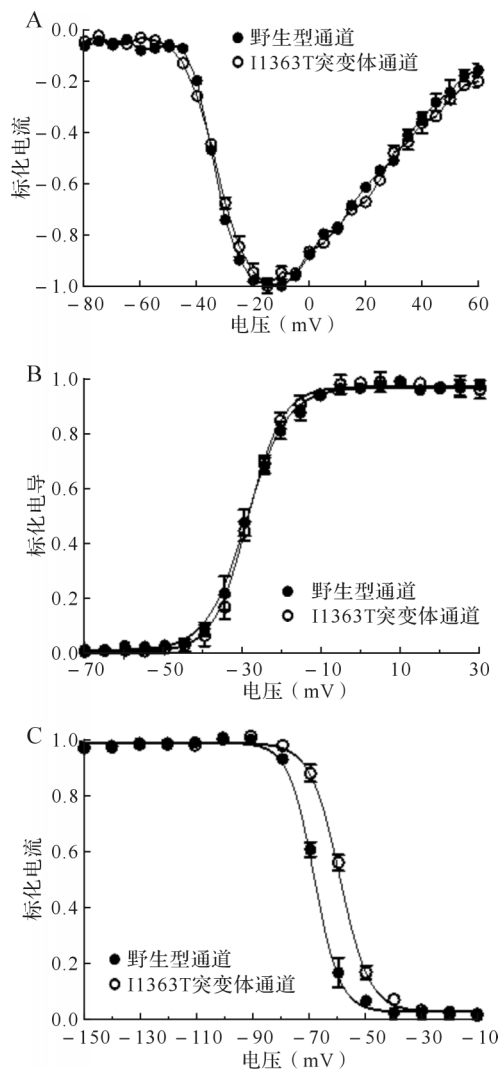
$0.24)$ mV和 (-28.79 ± 0.21) mV, k 值分别为 5.06 ± 0.21 和 4.73 ± 0.18 ,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果提示, I1363T突变并未明显改变通道的稳态激活参数。

2.3.2 I1363T突变体的稳态快失活受损 如图3所示, I1363T的快失活曲线较野生型通道偏向去极化方向,野生型通道的 $V_{0.5}$ 值为 (-68.03 ± 0.34) mV, I1363T突变体通道为 (-59.01 ± 0.26) mV($P < 0.05$);野生型通道的快失活曲线比I1363T突变体通道更陡,野生型通道的 k 值为 4.55 ± 0.21 , I1363T突变体通道为 5.24 ± 0.23 ($P < 0.05$)。

2.3.3 I1363T突变体的窗电流增加 当膜电位处于钠通道尚未完全失活且能够激活通道开放时,产生的电流就是窗电流。窗电流的大小意味细胞钠电流的流入情况,可以通过激活曲线和失活曲线直观描述。如图4所示,野生型通道与I1363T突变体通道各自的激活曲线与失活曲线重叠的部分,即各自的窗电流。由于I1363T突变体的快失活曲线向去极化方向偏移,其产生的窗电流大于野生型hNav1.4。

3 讨论

肌肉电压门控钠通道hNav1.4的许多突变体都会改变通道本身的活性,继而影响肌肉细胞的兴奋性,产生各种肌肉异常的疾病,如肌强直、副肌强直、高血钾周期性麻痹、低血钾周期性麻痹及肌无力等^[11-14]。产生副肌强直的hNav1.4突变体中,大多数为功能获得型突变,或通道的失活受损,或通道的激活增强,或两者皆有之^[15-17]。本研究检测了hNav1.4突变体I1363T的电生理特性,并与野生型通道的通道特性进行比较。结果发现, I1363T突变后通道的稳态快失活受损,曲线向去极化方向移动。这一现象会导致通道失活延迟或者失活不完全,增加肌纤维细胞的兴奋性,让更多通道处于能够开放的状态,使动作电位的不应期缩短,更易于产生动作电位,最终导致肌肉发生强直^[1,18-19]。另一方面,快失活的右移也使得I1363T突变体的窗电流明显增加,从而导致额外的钠离子电流进入肌纤维细胞^[20]。持续电流会使



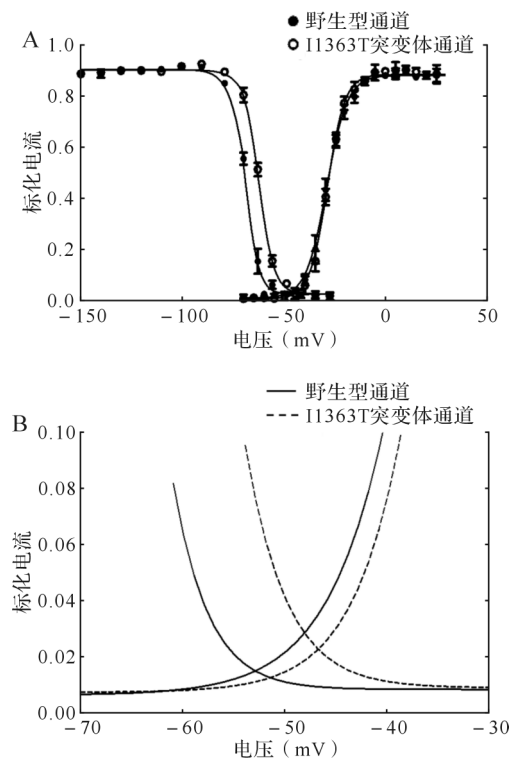
A:野生型通道与I1363T突变体通道的电流-电压曲线;B:野生型通道与I1363T突变体通道的激活玻尔兹曼拟合曲线;C:野生型通道与I1363T突变体通道的快失活玻尔兹曼拟合曲线。

图3 I1363T突变体的电压依赖性

Figure 3 The voltage-dependence of I1363T mutation

细胞的膜电位趋向于去极化,钠通道逐渐进入缓慢失活状态。当失活的钠通道积累到一定程度后,便难以引发动作电位的产生,使细胞兴奋性下降,产生肌肉麻痹的症状^[17,21]。

I1363T突变位于hNav1.4通道蛋白第四结构域的第一跨膜区,已有研究表明,M1360V、N1366S、M1370V等处于该区域的突变大多会导致副肌强直症状的产生^[13,22-24]。对这些突变的功能分析显示,大多在激活与快失活参数上发生了变化,而慢失活则很少受到影响。已有晶体学数据表明该区域氨基酸与第四跨膜区上电压敏感区的精氨酸通过氢键形成相互作用;而最新的文献报道,氢



A:野生型通道与I1363T突变体通道的激活和快失活拟合曲线绘制在一起,两条曲线重合部分即为窗电流;B:激活与快失活拟合曲线重叠部分放大图。

图4 I1363T突变体的窗电流

Figure 4 Window current of I1363T mutation

键的形成与断裂能够在一定程度上改变电压门控钠通道的电压依赖性及其离子选择性等特性^[25-28]。当氢键一端的氨基酸发生改变,如异亮氨酸突变成苏氨酸,则氢键的强弱、角度等都有可能发生变化,继而可能影响通道的激活、失活等,从而使整个通道的功能发生变化^[29-30]。

在临床上,副肌强直和钾恶化性肌强直患者常服用一种具有局部麻醉功能的Ib类抗心律失常药物美西律来治疗肌强直症状^[31]。已有文献报道,美西律可以有效增强hNav1.4的快失活电压依赖性,使快失活向超极化方向偏移,从而在一定程度上延长骨骼肌细胞的绝对不应期,降低其兴奋性,舒缓肌强直症状^[32]。在I1363T突变中,快失活的电压依赖性呈现去极化方向的偏移。这一结果提示美西律对于因I1363T突变引起的肌强直症状可能有一定的治疗效果。

综上所述,hNav1.4的I1363T突变会导致通道的电压依赖性快失活受损,使快失活向去极化方向偏移,更难以进入慢失活,使细胞过度兴奋,继而引起肌强直症状;窗电流的长时间增加又使细

胞膜电位升高,最终导致hNav1.4失活,呈现肌无力症状。

参考文献

- [1] PTACEK L J, GOUW L, KWIECIŃSKI H, et al. Sodium channel mutations in paramyotonia congenita and hyperkalemic periodic paralysis [J]. *Ann Neurol*, 1993,33(3):300-307.
- [2] LEHMANN-HORN F, RÜDEL R, RICKER K. Membrane defects in paramyotonia congenita (Eulenburg)[J]. *Muscle Nerve*, 1987, 10(7):633-641.
- [3] CHAHINE M, GEORGE A L, ZHOU M, et al. Sodium channel mutations in paramyotonia congenita uncouple inactivation from activation [J]. *Neuron*, 1994, 12(2): 281-294.
- [4] PTÁČEK L J, GEORGE A L, BARCHI R L, et al. Mutations in an S4 segment of the adult skeletal muscle sodium channel cause paramyotonia congenita [J]. *Neuron*, 1992, 8(5):891-897.
- [5] HOFFMAN E P, LEHMANN-HORN F, RÜDEL R. Overexcited or inactive: ion channels in muscle disease [J]. *Cell*, 1995, 80(5):681-686.
- [6] WOOD J N, BAKER M. Voltage-gated sodium channels [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2001, 1(1):17-21.
- [7] CATTERALL W A. Cellular and molecular biology of voltage-gated sodium channels [J]. *Physiol Rev*, 1992, 72(4 Suppl):S15-S48.
- [8] CATTERALL W A. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels [J]. *Neuron*, 2000, 26 (1) : 13-25.
- [9] MARBAN E, YAMAGISHI T, TOMASELLI G F. Structure and function of voltage-gated sodium channels [J]. *J Physiol*, 1998, 508(Pt 3):647-657.
- [10] MILLER T M, DIAS D S M R, MILLER H A, et al. Correlating phenotype and genotype in the periodic paralyses [J]. *Neurology*, 2004, 63(9):1647-1655.
- [11] EGRI C, RUBEN P C. A hot topic: temperature sensitive sodium channelopathies [J]. *Channels (Austin)*, 2012, 6(2):75-85.
- [12] SUGIURA Y, AOKI T, SUGIYAMA Y, et al. Temperature-sensitive sodium channelopathy with heat-induced myotonia and cold-induced paralysis [J]. *Neurology*, 2000, 54(11):2179-2181.
- [13] WAGNER S, LERCHE H, MITROVIC N, et al. A novel sodium channel mutation causing a hyperkalemic paralytic and paramyotonic syndrome with variable clinical expressivity [J]. *Neurology*, 1997, 49 (4) : 1018-1025.
- [14] CUMMINS T R, ZHOU J, SIGWORTH F J, et al. Functional consequences of a Na⁺ channel mutation causing hyperkalemic periodic paralysis [J]. *Neuron*, 1993, 10(4):667-678.
- [15] O'LEARY M E, CHEN L Q, KALLEN R G, et al. A molecular link between activation and inactivation of sodium channels [J]. *J Gen Physiol*, 1995, 106 (4) : 641-658.
- [16] BENDAHHOUS S, CUMMINS T R, KULA R W, et al. Impairment of slow inactivation as a common mechanism for periodic paralysis in DIIS4-S5 [J]. *Neurology*, 2002, 58(8):1266-1272.
- [17] WEBB J, CANNON S C. Cold-induced defects of sodium channel gating in atypical periodic paralysis plus myotonia [J]. *Neurology*, 2008, 70(10):755-761.
- [18] BOUHOUS M, STERNBERG D, DAVOINE C S, et al. Functional characterization and cold sensitivity of T1313A, a new mutation of the skeletal muscle sodium channel causing paramyotonia congenita in humans [J]. *J Physiol*, 2004, 554(Pt 3):635-647.
- [19] DICE M S, ABBRUZZESE J L, WHEELER J T, et al. Temperature-sensitive defects in paramyotonia congenita mutants R1448C and T1313M [J]. *Muscle Nerve*, 2004, 30(3):277-288.
- [20] SIMKIN D, BENDAHHOUS S. Skeletal muscle na channel disorders [J]. *Front Pharmacol*, 2011, 2:63.
- [21] MOHAMMADI B, MITROVIC N, LEHMANN-HORN F, et al. Mechanisms of cold sensitivity of paramyotonia congenita mutation R1448H and overlap syndrome mutation M1360V [J]. *J Physiol*, 2003, 547 (Pt 3) : 691-698.
- [22] JURKAT-ROTT K, HOLZHERR B, FAULER M, et al. Sodium channelopathies of skeletal muscle result from gain or loss of function [J]. *Pflugers Arch*, 2010, 460(2):239-248.
- [23] KE Q, YE J, TANG S, et al. N1366S mutation of human skeletal muscle sodium channel causes paramyotonia congenita [J]. *J Physiol*, 2017, 595(22): 6837-6850.
- [24] OKUDA S, KANDA F, NISHIMOTO K, et al. Hyperkalemic periodic paralysis and paramyotonia congenita—a novel sodium channel mutation [J]. *J Neurol*, 2001, 248(11):1003-1004.
- [25] PAYANDEH J, SCHEUER T, ZHENG N, et al. The crystal structure of a voltage-gated sodium channel [J]. *Nature*, 2011, 475(7356):353-358.
- [26] ZHANG X, REN W, DECAEN P, et al. Crystal structure of an orthologue of the NaChBac voltage-gated sodium channel [J]. *Nature*, 2012, 486 (7401) : 130-134.
- [27] SHEN H, ZHOU Q, PAN X, et al. Structure of a eukaryotic voltage-gated sodium channel at near-atomic resolution [J]. *Science*, 2017, 355(6328):eaal4326.
- [28] SHEN H, LI Z, JIANG Y, et al. Structural basis for the

- modulation of voltage-gated sodium channels by animal toxins[J]. **Science**, 2018, 362(6412):eaau2596.
- [29] MOMANY F A, MCGUIRE R F, BURGESS A W, et al. Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids[J]. **J Phys Chem**, 1975, 79(22):2361-2381.
- [30] NEMETHY G, POTTLE M S, SCHERAGA H A. Energy parameters in polypeptides. 9. Updating of geometrical parameters, nonbonded interactions, and hydrogen bond interactions for the naturally occurring amino acids[J]. **J Phys Chem**, 1983, 87(11):1883-1887.
- [31] LEHMANN-HORN F, ENGEL A G, RICKER K, et al. The periodic paralyses and paramyotonia congenita [J]. **Myology**, 1994, 2:1303-1334.
- [32] FLEISCHHAUER R, MITROVIC N, DEYMEER F, et al. Effects of temperature and mexiletine on the F1473S Na⁺ channel mutation causing paramyotonia congenita [J]. **Pflugers Arch**, 1998, 436(5):757-765.

[本文编辑 余方 刘丽娜]

· 读者 · 作者 · 编者 ·

2019年本刊常用专业词汇缩写

- 世界卫生组织 World Health Organization, WHO
 加强监护病房 intensive care unit, ICU
 磁共振成像 magnetic resonance imaging, MRI
 计算机断层摄影 computed tomography, CT
 正电子发射计算机断层摄影 positron emission tomography CT, PET-CT
 自然杀伤细胞 natural killer cell, NK 细胞
 人类免疫缺陷病毒 human immunodeficiency virus, HIV
 信使核糖核酸 messenger RNA, mRNA
 无特定病原体 specific pathogen free, SPF
 链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶 streptavidin-peroxidase, SP
 苏木精(素)-伊红染色 hematoxylin-eosin staining, HE 染色
 聚合酶链反应 polymerase chain reaction, PCR
 逆转录聚合酶链反应 reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR
 酶联免疫吸附测定 enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA
 二辛可宁酸法 bicinchoninic acid method, BCA 法
 放射免疫沉淀法 radio immunoprecipitation assay, RIPA
 四甲基偶氮唑盐 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, MTT
 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE
 小牛血清 bovine calf serum, BCS
 胎牛血清 fetal bovine serum, FBS
 磷酸盐缓冲液 phosphate buffered saline, PBS
 含吐温 20 的磷酸盐缓冲液 phosphate buffered saline with Tween-20, PBST
 吐温 20 三乙醇胺缓冲盐水溶液 tris buffered saline with Tween-20, TBST
 辣根过氧化物酶 horseradish peroxidase, HRP
 腺苷三磷酸 adenosine triphosphate, ATP
 二甲亚砜 dimethyl sulfoxide, DMSO
 乙二胺四乙酸 ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA
 异硫氰酸荧光素 fluorescein isothiocyanate, FITC
 碘化丙啶 propidium iodide, PI
 焦碳酸二乙酯 diethyl pyrocarbonate, DEPC
 苯甲基磺酰氟 phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF
 聚偏二氟乙烯 polyvinylidene fluoride, PVDF
 肿瘤坏死因子 tumor necrosis factor, TNF
 转化生长因子 transforming growth factor, TGF
 白细胞介素 interleukin, IL
 白细胞分化抗原 cluster of differentiation, CD
 人类白细胞抗原 human leukocyte antigen, HLA
 核因子 κ B nuclear factor- κ B, NF- κ B
 辅助性 T 细胞 helper T cell, Th 细胞
 受试者工作特征曲线 receiver operating characteristic curve, ROC 曲线
 曲线下面积 area under the curve, AUC
 可信区间 confidence interval, CI