

清华大学揭示细胞“感知”机械力的精巧分子机器结构与机制

Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel

【Nature 系列】机械门控阳离子通道是一类能够响应机械力刺激而引起阳离子进出细胞、进而诱发细胞兴奋和信号传递的一类重要离子通道，然而其在哺乳动物中的分子组成长期未被发现确定。直到 2010 年，Piezo 基因家族包括 Piezo1 和 Piezo2 两个基因被编码该类通道的必要组成成分 (Coste et al., Science 2010)。随后于 2012 年，肖百龙博士与其同事合作在《自然》期刊报道 Piezo 蛋白构成机械门控通道的孔道组成成分，从而首次确立了 Piezo 通道这一全新机械门控离子通道家族。该论文被汤森路透收录为高被引论文。

Piezo 通道作为机械力受体能够被挤压、牵张以及流体剪切力等不同形式的机械力所激活。表达在血管内皮细胞中的 Piezo1 被证实作为剪切力受体感知血流，从而控制血管发育以及进行血压调节，而表达在感觉神经细胞中的 Piezo1 被证实承担触碰及本体感知分子受体的功能。Piezo1 基因人类遗传突变引起干瘪红细胞增多症、淋巴管发育不良症；而 Piezo2 基因突变导致远端关节弯曲综合症及触碰感知缺陷。因此，Piezo 通道具有非常重要的生理、病理功能，也是重要的药物靶点。

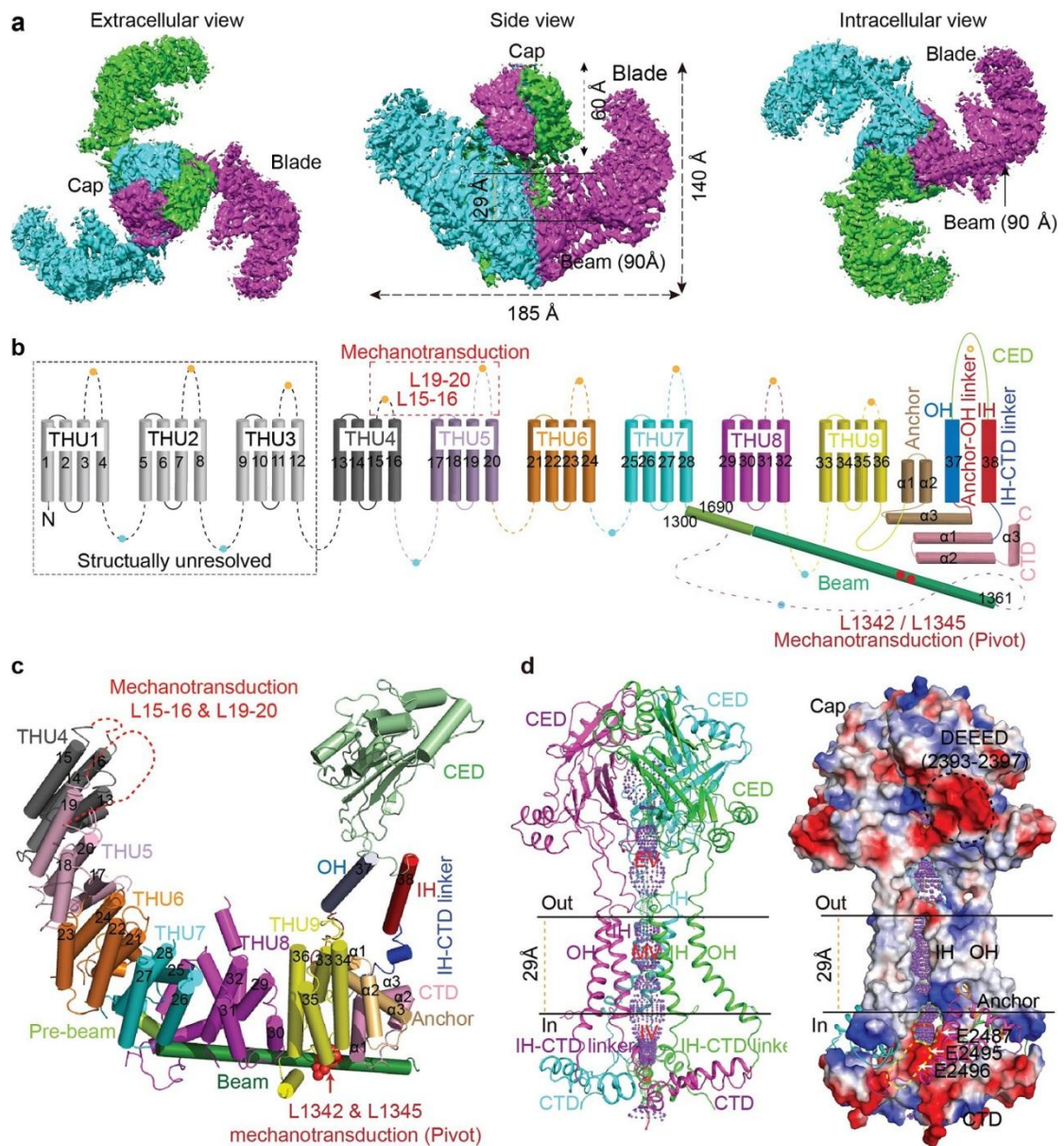
肖百龙博士课题组致力于对 Piezo 通道进行深入系统研究并取得了系列重要研究进展。2015 年，其课题组合作在《自然》期刊率先报道了 Piezo1 通道中等分辨率的冷冻电镜三维结构，揭示了其三叶螺旋桨状三维构造特征；2016 年，在神经科学顶级期刊《神经元》(Neuron) 报道了 Piezo1 通道负责离子通透与选择性的孔道区模块以及负责机械力感受与传导的机械传感模块；2017 年，在《自然-通讯》报道 Piezo 通道的新型调控蛋白 SERCA 并阐明了其对 Piezo 通道活性调控的作用机制。然而，Piezo 通道的高分辨率三维结构以及其如何感知机械力并精准控制阳离子特异性通透的分子机制尚不清楚。

在最新的这篇《自然》论文中，他们首先结合蛋白表达纯化、单颗粒冷冻电镜及三维重构技术，经过两年多的不懈努力，克服 Piezo1 通道三维结构的不稳定性，最终成功解析出其高分辨率结构，揭示了其独特而精巧的构造特征以及关键结构域的氨基酸组成。Piezo1 通道整体呈现三聚体三叶螺旋桨状结构 (图 a)，其中心为控制离子通透的孔道部分，包含“帽子”结构域 (Cap)、IH 与 OH 组成的跨膜孔道以及胞内羧基端部分 (CTD) 所组成的三个侧向离子出口 (portals) (图 d)；而其外周特征性结构域包括“桨叶” (blade)、“长杆” (beam) 以及“锚定区” (anchor) (图 a-c)。

非常有意思的是，他们发现其桨叶部分却由共 9 个重复性的、以 4 次跨膜区为基础的结构单元串联而成，并把这一特征性的结构域以清华大学的英文缩写命名为 THU (Transmembrane Helical Unit)。据此，Piezo1 蛋白以每个亚基包含 38 次跨膜区、总计 114 次跨膜区的形式组装成目前已知的跨膜次数最多的一类膜蛋白复合物 (图 b-c)。而且，不同于其它离子通道类型，Piezo1 通道的跨膜区以大曲度、而非平面形式存在。他们认为这可能是 Piezo 通道能有效感知细胞膜张力变化的重要结构基础之一。

3 根长约 90 Å 的长杆结构将远端桨叶区连接到中心孔道区部分 (图 b-c)。通过对所获得的结构数据进行进一步的三维分类比较分析，他们发现外周桨叶及 beam 的远端部分存在剧烈的构象变化，而中心孔道区及 beam 的中心端部分只显示轻微的位移变化。Piezo1 结构的构象变化契合杠杆作用原理。因此，他们提出了 Piezo1 通道以外周 THU 作为机械力感受器、而

beam 作为机械传递装置，从而完成其精细机械力感知与传递的机械门控机制假说。



- a, Piezo1 通道的三聚体冷冻电镜示意图；
- b, 由 38 次跨膜区组成的 Piezo1 拓扑结构示意图；
- c, Piezo1 一个亚基细节组成展示图；
- d, Piezo1 成孔区的组成。参与机械力激活 Piezo1 的胞外 loop 区以及位于 beam 上的 L1342 与 L1345 位点显示在 b 及 c 图。

为了从功能上验证这一假说，利用生化和电生理实验，他们鉴定发现远端 THU 胞外区以及位于 beam 上靠近中心端的两个氨基酸 L1342/L1345 对于 Piezo1 通道的机械力激活非常重要。据此，他们首次提出 beam 可能形成以 L1342/L1345 为支点的杠杆结构(图 b-c)，将位于其长臂端的浆叶区大的构象变化转化成位于其短臂端的中心孔道区的相对细微构象变化，从而在进行机械力的传递和放大的同时，保证中心孔道阳离子的特异性通透。三套精细的杠杆传递装置进一步组装成一个复杂而有序三聚体螺旋桨状结构来行使其机械门控通道的功能。

肖百龙博士表示以上研究进展为下一步深入理解遗传突变如何导致 Piezo 通道功能失常并引起人类疾病、药物筛选与技术开发提供了重要线索。

Structure and mechanogating mechanism of the Piezo1 channel

Piezo1 离子通道的结构与机械门控机制

清华大学医学院 肖百龙

清华大学生科院 李雪明

2018 年 2 月 22 日

DOI: 10.1038/nature25743



The mechanosensitive Piezo channels function as key eukaryotic mechanotransducers. However, their structures and mechanogating mechanisms remain unknown. Here we determine the three-bladed, propeller-like electron cryo-microscopy structure of mouse Piezo1 and functionally reveal its mechanotransduction components. Despite the lack of sequence repetition, we identify nine repetitive units consisting of four transmembrane helices each—which we term transmembrane helical units (THUs)—which assemble into a highly curved blade-like structure. The last transmembrane helix encloses a hydrophobic pore, followed by three intracellular fenestration sites and side portals that contain pore-property-determining residues. The central region forms a 90 Å-long intracellular beam-like structure, which undergoes a lever-like motion to connect THUs to the pore via the interfaces of the C-terminal domain, the anchor-resembling domain and the outer helix. Deleting extracellular loops in the distal THUs or mutating single residues in the beam impairs the mechanical activation of Piezo1. Overall, Piezo1 possesses a unique 38-transmembrane-helix topology and designated mechanotransduction components, which enable a lever-like mechanogating mechanism.