

PIOTR KOPROWSKI, WOJCIECH GRAJKOWSKI, ANDRZEJ KUBALSKI

*Zakład Biologii Komórki
Instytut Biologii Doświadczalnej PAN
Pasteura 3, 02-093 Warszawa
email:a.kubalski@nencki.gov.pl*

BAKTERYJNE KANAŁY JONOWE JAKO STRUKTURY MODELOWE

WSTĘP

Kanały jonowe to wyspecjalizowane białka błonowe umożliwiające przepływ jonów w poprzek błony komórkowej zgodnie z gradientem stężeń. W stanie zamkniętym kanały nie przewodzą jonów, a ich otwarcie może nastąpić pod wpływem zmiany elektrycznego potencjału błonowego (kanały napięciowo zależne), ligandów (receptory jonotropowe) bądź też naprężeń mechanicznych błony (kanały mechanoczułe). W trakcie otwierania element kanału zwany bramką zmienia swoje położenie odsłaniając por kanału i umożliwiając przepływ jonów. Czasy otwarcia kanałów są bardzo krótkie (kilka milisekund), a ruch jonów następuje z prędkością rzędu 10^6 jonów/s. Kanały jonowe mogą przewodzić określone jony, mówimy wtedy, że kanały takie posiadają filtry selektywności. W zależności od rodzaju przewodzonych jonów możemy wyróżnić kanały kationowe i anionowe, a wśród tych pierwszych kanały potasowe, sodowe lub wapniowe. Przepływ jonów przez kanały odbywa się zgodnie z gradientem stężeń po obu stronach błony komórkowej, a ponieważ gradienty poszczególnych rodzajów jonów są w zasadzie dla wszystkich komórek takie same (patrz Tabela 1, w której przykładowo podano stężenia jonów wewnątrz i na zewnątrz aksonu kałamarnicy i komórki ssaczki), więc po otwarciu kanałów jony sodowe i wapniowe będą wpływały do wnętrza komórki, podczas gdy jony potasowe będą z niej wypływały.

Istnienie kanałów jonowych postulowali w swoich pionierskich badaniach HODGKIN i HUXLEY (1952 a, b), ale prawdziwy przełom

w badaniu tych białek dokonał się dzięki wynalezieniu w 1981 r. metody elektrofizjologicznej, pozwalającej na rejestrację prądów jonowych płynących przez pojedyncze białka kanałowe, nazwanej metodą patch clamp (HAMILL i współaut. 1981). Za wynalezienie tej metody i pionierskie badania wykonane z jej użyciem Erwin Neher i Bert Sakmann otrzymali w 1991 r. Nagrodę Nobla. Drugim bardzo ważnym wydarzeniem w dziedzinie badań kanałów jonowych było opublikowanie pierwszej struktury krystalicznej kanału selektywnego dla jonów potasowych przez Roderica MacKinnona w 1998 r. Za opublikowanie tej i innych struktur kanałowych otrzymał on wspólnie z Peterem Agre Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii w 2003 r. Wszystkie opublikowane do tej pory struktury kanałów jonowych są strukturami kanałów bakteryjnych. Okazało się, że budowa tych białek, a zwłaszcza te elementy struktury

Tabela 1. Porównanie składów jonowych wewnątrz i na zewnątrz komórek aksonu kałamarnicy i typowej komórki ssaczki.

Jon	Komórka ssacza			
	Akson kałamarnicy Krew (mM)	Akso- plazma (mM)	Plazma (mM)	Cytoplazma (mM)
Na ⁺	440	50	145	12
K ⁺	20	400	4	140
Ca ²⁺	10	10 ⁻⁴	1,8	10 ⁻⁴
Mg ²⁺	54	10	1,5	0,8
Cl ⁻	560	40	115	4

Tabela 2. Znane struktury krystaliczne kanałów bakteryjnych

Kanał potasowy KcsA z <i>Streptomyces lividans</i>	DOYLE i współaut. 1998
Kanał potasowy MthK z <i>Methanobacterium thermautotrophicum</i>	JIANG i współaut. 2002
Kanał potasowy KvAP z <i>Aeropyrum pernix</i>	JIANG i współaut. 2003
Kanał potasowy KirBac z <i>Burkholderia pseudomallei</i>	KUO i współaut. 2003
Kanały chlorkowe CIC z <i>Escherichia coli</i> i <i>Salmonella typhimurium</i>	DUTZLER i współaut. 2002
Kanał mechanoczuły MscL z <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	CHANG i współaut. 1998
Kanał mechanoczuły MscS z <i>Escherichia coli</i>	BASS i współaut. 2002

ralne, które są odpowiedzialne za takie ich podstawowe właściwości jak selektywność dla określonych jonów, mechanizm aktywacji czy mechanizm inaktywacji, mogą być używane do tworzenia funkcjonalnych modeli kanałów eukariotycznych. W związku z tym, od momentu skryzalizowania pierwszego jonowego kanału bakteryjnego w 1998 r. kanały bakteryjne stały się białkami modelowymi. Jest pewną ironią historii nauki, że kanały bakteryjne służą obecnie do tworzenia uniwersalnych modeli kanałów jonowych, chociaż jeszcze stosunkowo niedawno uważano bakterie za komórki pozbawione tych białek. Listę kanałów bakteryjnych, których

struktura krystaliczna jest obecnie poznana zamieszczono w Tabeli 2, zaś dwa inne kanały o znanych sekwencjach aminokwasowych będą prawdopodobnie skryzalizowane w najbliższej przyszłości. Są to: kanał sodowy NaChBac z *Bacillus halodurans* (DURELL i GUY 2001, REN i współaut. 2001) oraz receptor glutaminianu GluR0 z *Synechocystis* PCC 6803 (CHEN i współaut. 1999).

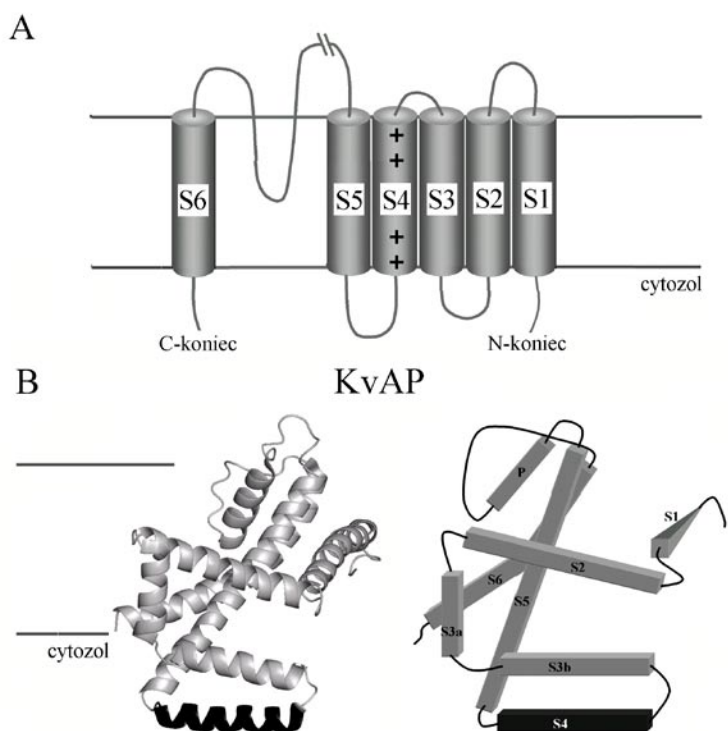
W artykule tym przedstawiamy wybrane problemy z zakresu badań prowadzonych na kanałach jonowych, których rozwiązanie stało się możliwe dzięki poznaniu struktur kanałów bakteryjnych.

KANAŁY POTASOWE – AKTYWACJA I SELEKTYWNOŚĆ

Metodą patch clamp możemy rejestrować aktywności pojedynczych kanałów, określać wielkość prądów płynących przez nie, mierzyć ich przewodności, czasy otwarć i zamknięć, a także charakteryzować je farmakologicznie. Na podstawie tych danych tworzy się modele kinetyczne kanałów. Modele te określają ilość funkcjonalnych stanów kanału, tzn. dają odpowiedź na następujące pytania: czy kanał otwierając się przechodzi przez fazy (tzw. podstany), w których jest otwarty tylko częściowo, czy kanał może się otworzyć bezpośrednio po zamknięciu, tzn. czy występuje faza inaktywacji, oraz czy kanał adaptuje się do bodźca tzn. czy zamyka się pomimo działania bodźca. Jednak odpowiedzi na podstawowe pytania dotyczące budowy kanałów i zmian konformacyjnych w poszczególnych stanach funkcjonalnych, molekularnych podstaw aktywacji, czy też mechanizmu selektywności trzeba szukać z pomocą modeli tworzonych w oparciu o znane sekwencje aminokwasowe białek kanałowych.

Kanały zależne od napięcia błonowego, a zwłaszcza kanały sodowe i potasowe, były od dawna szczególnym obiektem zaintere-

sowania badaczy. Są one odpowiedzialne za generowanie i propagację potencjału czynnościowego i, w związku z tym, aktywność neuronalną. Na początku lat 90. ubiegłego wieku oczyszczono białko kanału sodowego i sklonowano gen kanału potasowego, co pozwoliło na ustalenie, że funkcjonalne kanały zależne od napięcia błonowego są tetramerami, a każda podjednostka takiego kanału składa się z 6 domen transbłonowych nazwanych S1-S6 (schemat podjednostki stworzony na podstawie sekwencji przedstawiony jest na Ryc. 1A). Domeny S5-S6, z pętlą pomiędzy nimi zwaną regionem P, tworzą por kanału. Domena S4, która ma dodatnio naładowane reszty argininy rozmieszczone w odstępach co trzy aminokwasy, jest sensorem napięcia błonowego. W modelu aktywacji kanału zależnego od napięcia błonowego zmiana potencjału błonowego komórki powodowałaby ruch sensora w poprzek błony, a to z kolei inicjowałoby otwarcie bramki kanału umożliwiając przepływ jonów. Opublikowanie struktury krystalicznej bakteryjnego kanału potasowego aktywowanego napięciem KvAP z *Aeropyrum pernix* (JIANG i współaut. 2003)



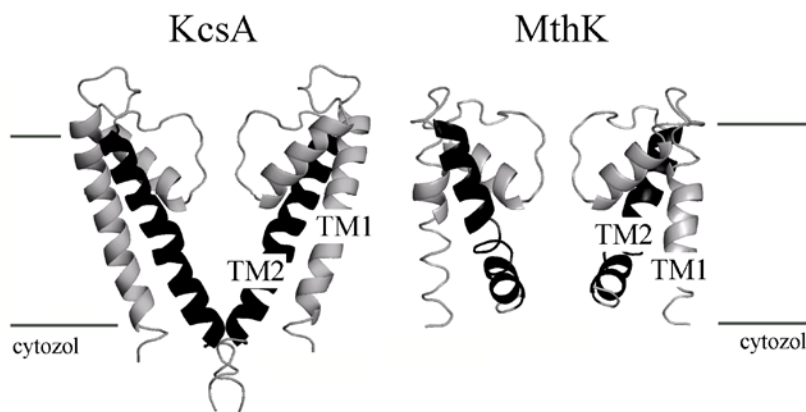
Ryc. 1. Budowa podjednostki kanału zależnego od napięcia błonowego.

A. Przewidywany model jednej z czterech podjednostek kanału. S1-S6 oznaczają domeny transbłonowe. Domeny S5 i S6 wyścielają por kanału. Domena S4 z naładowanymi resztami arginy stanowi sensor napięcia. B. Rzeczywisty układ helis na podstawie struktury krystalicznej kanału potasowego zależnego od napięcia błonowego KvAP z *Aeropyrum pernix*. Po lewej stronie – obraz jednej z czterech podjednostek skryzalizowanego kanału. Na czarno zaznaczono helisę S4. Po prawej stronie – schemat układu domen transbłonowych wykonany na podstawie struktury pokazanej po lewej stronie.

nieoczekiwanie skomplikowało ten stosunkowo prosty model funkcjonalny. Na Ryc. 1B przedstawiony jest rzut boczny jednej z czterech podjednostek kanału oraz schemat rozkładu jej poszczególnych domen. Układ helis S1-S4, a szczególnie położenie domeny S4, znajdującej się poza błoną, bardzo zaskoczyło badaczy. Jeśli ruch helisy S4 inicjuje aktywację kanału, to jej przemieszczenie będzie się wiązało z przejściem ze środowiska hydrofilowego cytozolu do środowiska hydrofobowego jakim jest wnętrze błony. Jest to proces energetycznie niekorzystny i według badaczy mało realny. Obecnie trwają intensywne próby stworzenia nowego modelu aktywacji kanału napięciowo-zależnego w oparciu o istniejące dane strukturalne (więcej na ten temat w artykule przeglądowym GUY i SHRIVASTAVA 2005).

W procesie aktywacji kanału zależnego od napięcia, oprócz ruchu sensora istotne jest również badanie ruchu helis S5-S6 wyścielających por kanału. Ruch ten umożliwi otwarcie się bramki kanału, a można go prześledzić porównując ze sobą dwie struktury potasowych kanałów prokariotycznych KcsA i MthK, z których pierwszy skryzalizowany został w stanie zamkniętym, a drugi w stanie otwartym. Wśród kanałów potasowych jest wiele przykładów na to, że funkcjonalny kanał może składać się z podjednostek zawierających tylko dwie helisy transbłonowe, a nie sześć, jak zostało pokazane na Ryc. 1A. Ka-

nały takie posiadają jedynie helisy M1 i M2, odpowiadające helisom S5-S6, które stanowią niejako „rdzeń przewodzący” kanału, nie mają naładowanej domeny S4, a zatem nie są kanałami zależnymi od napięcia błonowego. Do tej klasy należy bardzo ważna pod względem funkcji fizjologicznej grupa kanałów biorących udział w wyrównywaniu potencjału błonowego podczas fazy hiperpolarizacji potencjału czynnościowego (ang. *inward rectifiers*). Przykładami takich kanałów są też bakteryjne kanały KcsA ze *S. lividans* i MthK z *M. thermoautotrophicum*, a rzuty boczne ich struktur pokazane są na Ryc. 2. Rysunek, dla uproszczenia, przedstawia jedynie po dwie z czterech podjednostek każdego kanału. Kanał potasowy KcsA został skryzalizowany w stanie zamkniętym (DOYLE i współau. 1998) i ułożenie helis TM2 może służyć jako modelowe dla stanu zamkniętego kanału potasowego. Bramkę kanału stanowią trzy hydrofobowe zamknięcia na poziomach T107, A111 i V115, których grupy metylowe są usytuowane tak ściśle, że nie pozwalają na przejście nawet nieuhydryzowanego atomu potasu. Jak przebiega otwarcie bramki? Szczęśliwie się składa, że znana jest struktura innego kanału potasowego MthK skryzalizowanego w stanie otwartym (JIANG i współaut. 2002) i na jej podstawie można prześledzić przemieszczenie helis TM2 podczas otwierania kanału. Helisy TM2 ulegają zgięciu i odchyleniu powodując otwarcie poru



Ryc. 2. Struktury krystaliczne dwóch prokariotycznych kanałów potasowych KcsA i MthK.

Kanał KcsA został skryształizowany w stanie zamkniętym, a kanał MthK – w stanie otwartym. Położenie helisy TM2 (zaznaczonej na czarno) w strukturze KcsA obrazuje stan zamkniętej bramki, a w strukturze MthK – stan otwartej bramki. Obie struktury pokazane są jako rzuty boczne i w każdej z nich pokazano dwie spośród czterech podjednostek.

kanału. Należy tutaj zaznaczyć, że aktualny model otwierania się kanałów potasowych przewiduje, że domeny tworzące por kanału przechodzą taką samą lub bardzo podobną zmianę konformacyjną niezależnie od tego w jaki sposób kanał jest aktywowany, tzn. czy jest to napięcie błonowe, jony Ca^{2+} lub inny ligand, czy np. pH.

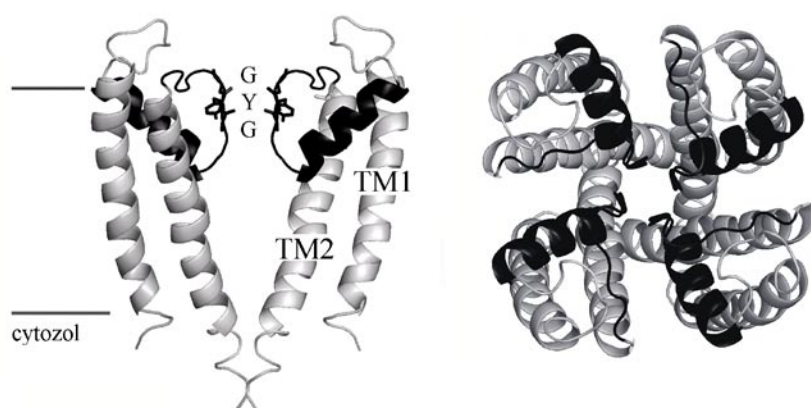
Struktura KcsA, pierwszego skryształizowanego kanału potasowego, posłużyła do stworzenia modelu filtra selektywności kanału potasowego. Badacze od dawna zastanawiali się jak to się dzieje, że filtr ten przewodzi większy kation potasowy (K^+ o średnicy 1.33 Å), a nie przewodzi mniejszego kationu sodowego (Na^+ o średnicy 0.95 Å). Z porównania energii potrzebnej do dehydratacji jonu potasu i jonu sodu wynika, że energia wydatkowana na dehydratację jonu potasu jest mniejsza niż sodu i jeszcze przed poznaniem struktury KcsA uznano, że musi to mieć wpływ na organizację filtra selektywności. Założono, że jon potasowy przechodziłby przez filtr w stanie zdehydratyzowanym, a strukturalna organizacja poru powinna ułatwiać jonom potasowym zrzucenie otoczki wodnej. Wiedzano również z porównania licznych znanych sekwencji kanałów potaso-

wych pochodzących z różnych organizmów od bakterii po ssaki, że w regionie P znajduje się wysoce charakterystyczny dla kanałów potasowych i silnie konserwowany region TVGYG, będący prawdopodobnie filtrem selektywności. Jednak dopiero opublikowanie struktury krystalicznej KcsA w pełni potwierdziło te przypuszczenia i pozwoliło na wymodelowanie procesu przechodzenia jonów potasowych przez filtr kanału. W centralnej części kanału wypełnionej wodą oraz jonami sodu i potasu (aniony zostały odepchnięte przez dodatnio naładowane reszty znajdujące się w pobliżu bramki cytoplazmatycznej), obecność kationów jest dodatkowo stabilizowana, a ich ruch ukierunkowany przez ujemnie naładowane końce helisy z regionu P (Ryc. 3, helisy zaznaczone czarnym kolorem). Kluczem do przejścia jonów potasowych przez filtr TVGYG jest zdolność atomów tlenu z grup karbonylowych tych reszt do zastąpienia tlenu z cząsteczek wody warstwy hydratacyjnej. Ze względu na geometrię filtra, którą pokazała struktura krystaliczna, dla jonów potasowych jest to proces znacznie bardziej korzystny energetycznie i dlatego jony sodowe nie ulegają dehydratacji i pozostają w przestrzeni centralnej kanału.

KANAŁY MECHANOCZUŁE

Jonowe kanały mechanoczule (MC) są aktywowane poprzez naprężenia mechaniczne błony komórkowej i ich obecność została stwierdzona w komórkach zwierzęcych, roślinnych i bakteryjnych. Kanały MC, obok kanałów jonowych aktywowanych napięciem elektrycznym błony i kanałów aktywowanych i modulowanych ligandami, stanowią trzecią, podstawową klasę kanałów jonowych. Kanały MC są detektorami wszelkich bodźców

mechanicznych odgrywających rolę w procesach dotyku, słyszenia, zachowania równowagi czy regulacji naczyń włosowatych. Kanały MC mogą reagować na naprężenia błony wywołane przez siły generowane przez samą komórkę w procesach podziału, morfogenezy i wzrostu komórki i mogą być uniwersalną ochroną wszystkich komórek przed szokami osmotycznymi (nagłymi zmianami osmolalności w środowisku) i właśnie ta ich ce-



Ryc. 3. Struktura krystaliczna bakteryjnego kanału potasowego KcsA opublikowana w 1998 r. po raz pierwszy pokazała organizację filtra selektywności kanału potasowego.

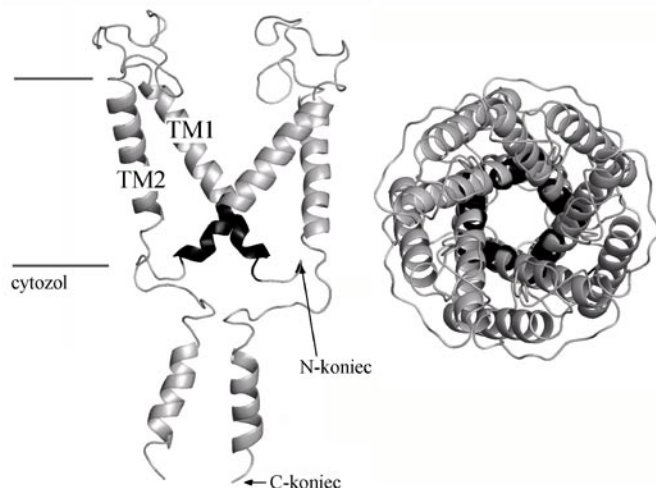
Po lewej stronie – rzut boczny uwzględniający dwie spośród czterech podjednostek, po prawej stronie rzut z góry. Region P wraz filtrem selektywności TVGYG jest zaznaczony na czarno.

cha wydaje się tłumaczyć ich występowanie u bakterii (HAMILL i MARTINAC 2001).

Dwa bakteryjne kanały MC pochodzące z błony cytoplazmatycznej *Escherichia coli*: MscS (kanał MC o małej przewodności) i MscL (kanał MC o dużej przewodności), są, jak do tej pory, najlepiej poznanymi białkami mechanicznooczułymi i to zarówno pod względem struktury jak i funkcji. Struktura krystaliczna kanału MscL pokazała, że jest to pentamer, a każda jego podjednostka składa się z dwóch helis transbłonowych TM1 i TM2 (Ryc. 4) (CHANG i współaut. 1998). Struktura potwierdziła wcześniejsze ustalenia wynikające z analiz elektrofizjologicznych mutantów punktowych, że bramkę kanału tworzą fragmenty helis TM1. Zamknięcie poru stanowią dwa hydrofobowe pierścienie złożone z reszt waliny w pozycjach 16 i 23, których rozwarcie może nastąpić pod wpływem siły mechanicznej (BATIZA i współaut. 1999). Mutacje w rejonie bramki, zastąpienie reszt niepolarnych przez aminokwasy polarne, prowadzi do obniżenia progu pobudzenia kanału (kanał można otworzyć mniejszym ciśnieniem hydrostatycznym) oraz do zahamowania lub

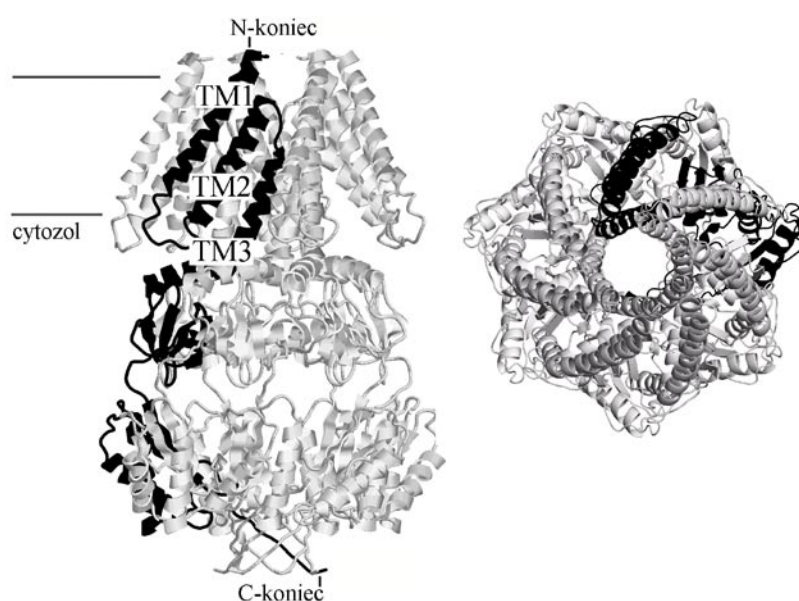
zredukowania wzrostu komórek z powodu nieszczelności kanału i niekontrolowanego wycieku elektrolitów z komórki (OU i współaut. 1998, YOSHIMURA i współaut. 1999). W oparciu o strukturę krystaliczną, która przedstawia kanał w stanie zamkniętym, stworzono model otwierania się kanału, a następnie zweryfikowano go eksperymentalnie. Przejściu do stanu otwartego towarzyszy rozchylenie się helis w taki sposób, że kąt nachylenia helis TM1 do osi kanału zmienia się z 32 w stanie zamkniętym do 71 w stanie otwartym. Helisy rozsuwają się zajmując położenie w płaszczyźnie błony w taki sposób, że przekrój poru kanału zwiększa się do około 10 nm² (tworzenie modeli i ich eksperymentalne weryfikowanie zostało opisane w pracy przeglądowej SUKHAREV i współaut. 2005).

Struktura krystaliczna bakteryjnego kanału MC o małej przewodności pokazała, że funkcjonalny kanał jest heptamerem (Ryc. 5) (BASS i współaut. 2002). Każda z jego siedmiu podjednostek składa się z trzech helis transbłonowych TM1, TM2 i TM3, przy czym helisy TM3 tworzą por kanału i formują bramkę. Zasada działania bramki jest



Ryc. 4. Struktura krystaliczna bakteryjnego kanału mechanicznooczułego MscL.

Z lewej strony – rzut boczny pokazujący dwie spośród pięciu podjednostek, po prawej stronie – rzut z góry. Region bramki kanału utworzonej przez fragmenty helis TM1 zaznaczony na czarno. Struktura przedstawia kanał w stanie zamkniętym



Ryc. 5. Struktura krystaliczna bakteryjnego kanału mechano-czułego MscS.

Z lewej strony – rzut boczny z zaznaczoną na czarno jedną z siedmiu podjednostek, z prawej – rzut z góry. Bramkę kanału tworzą fragmenty helisy TM3.

podobna jak w przypadku MscL – tworzą ją pierścienie złożone z hydrofobowych aminokwasów. W przypadku MscS zwracają uwagę bardzo rozbudowane części cytoplazmatyczne kanału, których rola nie jest obecnie całkiem jasna. Wiadomo jedynie, że nie tworzą one struktury statycznej, a ich położenie zmienia się wraz ze zmianą stanu funkcjonalnego kanału (KOPROWSKI i KUBALSKI 2003, MILLER i współaut. 2003). Modele funkcjonalne otwierania się kanału MscS zakładają, że ruch helisy TM3 przy przechodzeniu od stanu zamkniętego do otwartego jest bardzo podobny do ruchu helisy TM1 u kanału MscL (EDWARDS i współaut. 2005), a domena cytoplazmatyczna zwiększa swoją objętość (GRAJKOWSKI i współaut. 2005).

Bakteryjne kanały MC charakteryzują się dużymi przewodnościami i dużymi wartościami naprężeń wywołujących aktywację. Są to cechy, które odróżniają je od eukariotycznych kanałów MC, przewodność kanału MscL jest około 100-krotnie większa niż średniego kanału eukariotycznego (przewodność MscS około 30-krotnie). Ponadto mogą być rekonstruowane funkcjonalnie w sztucznych błonach lipidowych, co oznacza, że są one aktywowane naprężeniami mechanicznymi

mi błony i obecność peptydoglikanu nie jest konieczna do ich otwarcia. Nie jest to w zgodzie z większością doniesień na temat eukariotycznych kanałów MC, u których stwierdzono udział cytoszkieletu w aktywacji. Nie przesądza to jednak o tym, że modele mechanotransdukcji opracowane dla bakteryjnych kanałów MC nie mogą być zastosowane do eukariotycznych kanałów MC (KUNG 2005). MscS ma przynajmniej trzy homologie eukariotyczne z *Arabidopsis thaliana*, *Saccharomyces pombe* i *Drosophila melanogaster*, z którymi wykazuje podobieństwo w około 30% (KOPROWSKI i KUBALSKI 2001). Największy stopień podobieństwa wśród tych homologów występuje w domenie TM3 i sąsiadującym z nią fragmencie domeny C-końcowej, co może wskazywać na istotność tego regionu również u tych homologów (KOPROWSKI i KUBALSKI 2001, PIVETTI i współaut. 2003). Brak homologii na poziomie sekwencji aminokwasowej nie oznacza jednak braku podobieństwa na poziomie struktur i dlatego poznanie mechanizmów funkcjonowania tego kanału może mieć duże znaczenie dla przyszłych studiów nad kanałami mechanoczułymi z organizmów eukariotycznych, gdy ich struktury zostaną poznane.

BACTERIAL ION CHANNELS AS THE MODEL STRUCTURES

S u m m a r y

Eukaryotic ion channels have been studied over the last fifty years and an extensive knowledge has been accumulated on their function. We know little, however, about their molecular structures. Most of the structural information on eukaryotic ion

channels currently available results from homology modeling based on the structures of their bacterial homologues.

The crystal structures of two prokaryotic potassium channels from *S. lividans* and *M. thermautotrophicus*

totrophicum served as good models for determining the molecular principles of gating in potassium channels. The channel from *S. lividans* provides also the best model of K⁺ selectivity. Based on the structure of another potassium channel that from *Aeropyrum pernix*, several models of voltage sensing have been proposed.

The two bacterial mechanosensitive channels from *E. coli* are to date the best-characterized mechanosensitive channel molecules in terms of structure and function and they may provide an excellent model for understanding the general principles of mechanotransduction in biological membranes.

LITERATURA

- BASS R. B., STROP P., BARCLAY M., REES D. C., 2002. *Crystal structure of Escherichia coli MscS, a voltage-modulated and mechanosensitive channel*. Science 298, 1582–1587.
- BATIZA A. F., RAYMENT I., KUNG C., 1999. *Channel gate! Tension, leak and disclosure*. Structure Fold. Des. 7, 99–103.
- CHANG G., SPENCER R. H., LEE A. T., BARCLAY M. T., REES D. C., 1998. *Structure of the MscL homolog from Mycobacterium tuberculosis: a gated mechanosensitive ion channel*. Science 282, 2220–2226.
- CHEN G. Q., CUI C., MAYER M. L., GOUAUX E., 1999. *Functional characterization of a potassium-selective prokaryotic glutamate receptor*. Nature 402, 817–821.
- DOYLE D. A., MORAIS CABRAL J., PFUETZNER R. A., KUO A., GULBIS J. M., COHEN S. L., CHAIT B. T., MACKINNON R., 1998. *The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity*. Science 280, 69–77.
- DURELL S. R., GUY H. R., 2001. *A putative prokaryote voltage-gated Ca(2+) channel with only one 6TM motif per subunit*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 281, 741–746.
- DUTZLER R., CAMPBELL E. B., MACKINNON R., 2002. *Gating the selectivity filter in ClC chloride channels*. Science 300, 108–112.
- EDWARDS M. D., LI Y., KIM S., MILLER S., BARTLETT W., BLACK S., DENNISON S., ISCLA I., BLOUNT P., BOOTH I. R., 2005. *Pivotal role of the glycine-rich TM3 helix in gating the MscS mechanosensitive channel*. Nat. Struct. Mol. Biol. 12, 113–119.
- GRAJKOWSKI W., KUBALSKI A., KOPROWSKI P., 2005. *Surface changes of the mechanosensitive channel MscS upon its activation, inactivation, and closing*. Biophys. J. 88, 3050–3059.
- GUY H. R., SHRIVASTAVA I. H., 2005. *Voltage-gated K⁺ channels*. [W:] *Bacterial ion channels and their eukaryotic homologs*. KUBALSKI A., MARTINAC B. (red.). ASM Press, Washington D.C., 97–122.
- HAMILL O. P., MARTINAC B., 2001. *Molecular basis of mechanotransduction in living cells*. Physiol. Rev. 81, 685–740.
- HAMILL O. P., MARTY A., NEHER E., SAKMANN B., SIGWORTH F. J., 1981. *Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches*. Pflügers Arch. 391, 85–100.
- HODGKIN A. L., HUXLEY A. F., 1952a. *Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo*. J. Physiol. (Lond.) 116, 449–473.
- HODGKIN A. L., HUXLEY A. F., 1952b. *The components of membrane conductance in the giant axon of Loligo*. J. Physiol. (Lond.) 116, 473–496.
- JIANG Y., LEE A., CHEN J., CADENE M., CHAIT B. T., MACKINNON R., 2002. *Crystal structure and mechanism of a calcium-gated potassium channel*. Nature 417, 515–522.
- JIANG Y., LEE A., CHEN J., RUTA V., CADENE M., CHAIT B. T., MACKINNON R., 2003. *X-ray structure of a voltage-dependent K⁺ channel*. Nature 423, 33–41.
- KOPROWSKI P., KUBALSKI A., 2001. *Bacterial ion channels and their eukaryotic homologues*. Bioessays 23, 1148–1158.
- KOPROWSKI P., KUBALSKI A., 2003. *C-termini of the Escherichia coli mechanosensitive ion channel (MscS) move apart upon the channel opening*. J. Biol. Chem. 278, 11237–11245.
- KUNG C., 2005. *A possible unifying principle for mechanosensation*. Nature 436, 647–654.
- KUO A., GULBIS J. M., ANTCLIFF J. F., RAHMAN T., LOWE E. D., ZIMMER J., CUTHBERTSON J., ASHCROFT F. M., EZAKI T., DOYLE D. A., 2003. *Crystal structure of the potassium channel KirBac1.1 in the closed state*. Science 300, 1922–1926.
- MILLER S., EDWARDS M. D., OZDEMIR C., BOOTH I. R., 2003. *The closed structure of the MscS mechanosensitive channel. Cross-linking of single cysteine mutants*. J. Biol. Chem. 278, 32246–32250.
- OU X., BLOUNT P., HOFFMAN R. J., KUNG C., 1998. *One face of a transmembrane helix is crucial in mechanosensitive channel gating*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 11471–11475.
- PIVETTI C. D., YEN M. R., MILLER S., BUSCH W., TSENG Y. H., BOOTH I. R., SAIER M. H. Jr., 2003. *Two families of mechanosensitive channel proteins*. Microbiol. Mol. Biol. 67, 66–85.
- REN D., NAVARRO B., XU H., YUE L., SHI Q., CLAPHAM D. E., 2001. *A prokaryotic voltage-gated sodium channel*. Science 294, 2372–2375.
- SUKHAREV S., ANISHKIN A., CHIANG C.-S., BETANZOS M., GUY H. R., 2005. *MscL, a bacterial mechanosensitive channel*. [W:] *Bacterial ion channels and their eukaryotic homologs*. KUBALSKI A., MARTINAC B. (red.). ASM Press, Washington D.C., 259–290.
- YOSHIMURA K., BATIZA A., SCHROEDER M., BLOUNT P., KUNG C., 1999. *Hydrophilicity of a single residue within MscL correlates with increased channel mechanosensitivity*. Biophys. J. 77, 1960–1972.