

可溶性 L 选择素竞争性调控膜 L 选择素 与其配体 PSGL-1 反应动力学

郭瑞, 彭爽, 贾潇凌, 龙勉*

(中国科学院 微重力重点实验室, 中国科学院 力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京 100190)

L 选择素为选择素家族成员之一, 本构表达于白细胞表面微绒毛的顶端, 其与同样表达在白细胞表面的配体 PSGL-1 相互作用介导的细胞粘附在白细胞向炎症部位募集的启动过程和淋巴细胞归巢过程起着重要作用^[1]。与其它两种选择素 (P 选择素和 E 选择素) 相比, L 选择素具有三个明显特征: 1. 剪切阈值现象; 2. 快速的反应动力学特征; 3. 水解断裂现象。L 选择素水解断裂现象是指白细胞受到化学趋化剂 (如 fMLP、MLP) 或细胞因子 (如 L-8、PFA) 激活后, 细胞膜上部分 L 选择素会被存在于膜内的一种金属蛋白水解酶在胞外近膜部位水解断裂, 形成镶嵌在膜上的锚定 L 选择素 (mLs) 和游离在体液中的可溶性 L 选择素 (sLs) 的两相体系^[2]。由于 L 选择素水解断裂是由许多炎症或病理情况引起, 所以检测血清中 sLs 含量成为临床检测相关疾病的指标。sLs 仍具有与配体结合的功能 (3D 反应), 可以竞争性地阻止 mLs 与相应配体 PSGL-1 的结合 (2D 反应), 在体内起负反馈的免疫调节作用^[3]。然而, 该竞争性调控的定量规律目前并不清楚。本研究运用微管吸吮技术考察可溶性 L 选择素对膜 L 选择素与其配体 PSGL-1 反应动力学性质的调控规律。研究分为两部分: 1. 加入内源性细胞因子 L-8 激活 L 选择素水解断裂, 产生 sLs 竞争性调控 mLs 与其配体 PSGL-1 反应, 测量在不同竞争时间下 mLs-PSGL-1 的反应动力学; 2. 改变溶液中 sLs 与 mLs 浓度比例, 测量不同浓度比例下 mLs-PSGL-1 的反应动力学。结果表明: mLs-PSGL-1 间粘附频率随竞争作用时间延长、sLs 浓度比例增高而降低。同时, 基于 sLs 与 mLs 竞争性作用的随机过程建立相应 2D 与 3D 竞争性反应的理论模型, 对其反应动力学参数定量化和耦联, 深入了解其调控过程的生物力学机制及其生理意义。(国家自然科学基金项目 (30730032)、科技部“蛋白质科学”国家重大研究计划 (2006CB910303)、科技部 863 项目 (2007AA02Z306) 和中国科学院知识创新工程项目 (KJ92-YW-L08) 的资助, E-mail: mlbng@imech.ac.cn; Tel: (010) 82544131)

参考文献

- [1] Mowery P, Yang ZQ, Gordon EJ, Dwir O, Spencer AG, Abn R, Kiessling LL. Synthetic glycoprotein mimics inhibit L-selectin-mediated rolling and promote L-selectin shedding. *Chem Biol* 2004; 11: 725-32.
- [2] Kahn J, Ingraham RH, Shirley F, Migaki GI, Kishimoto TK. Membrane proximal cleavage of L-selectin: identification of the cleavage site and a 6-kD transmembrane peptide fragment of L-selectin. *J Cell Biol* 1994; 125: 461-70.
- [3] Burg, ND, and Pillinger MH. The neutrophil: function and regulation in innate and humoral immunity. *Clin Immunol* 2001; 99: 7-17.

加载历史对低刚度下 P 选择素-PSGL-1 键寿命的影响

章燕, 孙淦云, 吕守芹, 李宁, 龙勉*

(中国科学院 微重力重点实验室, 中国科学院 力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京 100190)

选择素 (Selectin) 与配体相互作用在诸如炎症反应、肿瘤转移等生物学过程中具有重要作用^[1]。许多研

究表明,在炎症反应的初期,白细胞在激活的内皮细胞表面发生的滚动过程是由选择素及其碳水化合物配体(如 P 选择素糖蛋白配体 1, PSGL-1)之间的快速反应行为所介导的。细胞间受体-配体相互作用是一种受外力调控的随机动力学过程,其作用的快慢、强弱和寿命不仅取决于受体、配体分子的结构和固有的化学动力学性质(如化学反应率、反应亲和性等),而且还受到力学-化学耦合的共同调控^[2]。到目前为止,由于受体-配体相互作用的力学-化学耦合模型过于简化(单值、瞬态、没有历史效应),只是在概念上给出了外力如何改变键的寿命以及加载率如何改变键强度的理论框架,但是关于加载历史^[3]如何影响键的反应动力学特性,目前并不清楚。本文以 P 选择素-PSGL-1 为模型分子系统,利用高灵敏度、低刚度的光镊操控技术进行力学测试,在低刚度($k < 0.06 \text{ pN/nm}$)、低加载率($\dot{r} < 200 \text{ pN/s}$)下借助键寿命的变化来评价加载历史的调控因素(加载率、探针刚度、加载速度)的独立变化对受体-配体键解离的影响,探讨加载历史影响分子键解离的物理机制。初步的研究结果表明:外力的大小并非是受体-配体键寿命的唯一决定因素;加载率、探针刚度和加载速度几个因素单独或协同影响受体-配体键寿命;低刚度的探针与分子复合物的链接直接影响了外力对于受体-配体键解离的调控,在低加载率下主导了键的解离。本工作有助于深化对蛋白质间相互作用及其调控的定量认识,为认识重要病理生理过程和药物设计提供基础数据。(国家自然科学基金项目(30730032)、科技部“蛋白质科学”国家重大研究计划(2006CB910303)、科技部 863 项目(2007AA02Z306)和中国科学院知识创新工程项目(KJCX2-YW-L08), E-mail: mlong@imech.ac.cn; Tel: (010) 82544131)。

参考文献

- [1] McEver R. P. Selectins. *Current Opinion in Immunology*, 1994 (6): 75-84.
 [2] Bell G. I. Models for Specific Adhesion of Cells to Cells. *Science*, 1978 (200): 618-627.
 [3] Marshall B. T., Sarangapani K. K., Lou J. H., McEver R. P., Zhu C. Force history dependence of receptor-ligand dissociation. *Biophysical Journal*, 2005 (88): 1458-1466.

原子力显微镜研究加载速率对细胞弹性的影响

叶志义*, 张丽, 范霞

(重庆大学 生物工程学院, 重庆 400044)

细胞处于一个复杂的化学和物理环境中,而这些环境的改变将会激活细胞相关的信号途径并导致骨架的重排,通过定量地测量活体细胞的力学性质有利于了解细胞在相应的生长条件下的相关信息以及细胞骨架对环境变化的响应^[1]。随着生物力学以及纳米技术的不断发展,目前可以在细胞甚至是分子水平检测生物结构的力学性质,例如原子力显微镜(Atomic Force Microscope, AFM)、微吸管技术、光镊等。Lekka 等人^[2]利用 AFM 压痕技术研究人膀胱上皮细胞以及癌变的细胞,结果发现正常细胞的硬度要比癌变的细胞大一个数量级,其中骨架的重排可能是此现象最为关键的因素之一。虽然有很多实验利用 AFM 研究肿瘤细胞的弹性,但是很少考虑到加载速率对细胞弹性的影响。本课题主要研究不同的加载速率下细胞的弹性变化,从而进一步了解细胞对外界力学刺激响应机制。实验材料与方法:生理条件下对肺癌细胞的检测:将长有肺癌细胞(A549)的盖玻片置于 AFM 的液池中,并在液池中滴加少量的培养液,在这样的条件下细胞可在 4 小时内保持活体状态。然后进行 AFM 相应的力学实验。细胞的固定:将长满细胞的盖玻片置于装有 10% 的福尔马林的培养皿中,将细胞固定,然后进行 AFM 力学实验。AFM 力模式下,探针在压入细胞以及从细胞回拉过程中可以得到作用力与压电陶瓷 Z 方向位移的力-距离曲线关系,通过分析其中的进针曲线可获取细胞表面的杨氏模量。数据分析:利用赫兹模型分析实验所得到的力曲线^[3]

$$F = \frac{2}{1 - \nu^2} \frac{E}{\sqrt{R}} \tan^{-2}$$