

# P-选择子/PSGL-1 配体相互作用的反应动力学

龙 勉<sup>1</sup>, Cheng Zhu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>中国科学院力学研究所国家微重力室, 北京 中关村路 15 号, 邮编 100080

<sup>2</sup>Woodruff School of Mechanical Engineering and Coulter Department of Biomedical Engineering, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332, USA

作为一类重要的粘附分子, 选择子 (L-、E-、P-selectin) 及其配体在炎症反应、肿瘤转移等病理生理过程中起着重要作用。比如, 白细胞在后毛细血管内皮表面的滚动 (rolling) 是炎症级联反应的第一步, 被认为是归结于选择子粘附分子的快速反应速率 (kinetic rates)。已知的选择子是由 Lec-EGF 区、多个保守重复片段, 一个 TM 区和一个 Cyto 区组成, 其中 Lec-EGF 片段是与其碳水化合物配体作用的必要结构, 粘附位点位于 Lec 区上。作为生化描述最为完善的选择子配体, PSGL-1 是由 2 个 120 KD 的同型唾液酸粘蛋白亚单位组成, 其 N-末端第 46、48 和 51 位酪氨酸被认为是与选择子发生反应的必要结构。另一方面, 细胞-细胞 (表面) 间粘附是由少量粘附分子介导的、具有随机性的二维相互作用, 且存在着为其提供物理连接的作用力, 因此, 需要用新的理论和方法进行描述。我们利用已建立的小系统动力学概率模型和微管吸吮实验技术, 考察了 PSGL-1 在 46、48 和 51 位氨基酸变异对 P-选择子/PSGL-1 相互作用的影响。

采用修改的  $\text{CrCl}_3$  方法将游离 P-选择子全长胞外片段 (sPs) 包被在人红细胞 (RBC) 表面, 包被有效性用流式细胞仪确认。野生型 PSGL-1 及在 46/48、46/51、48/51、46/48/51 位由苯丙氨酸替代酪氨酸的 PSGL-1 变异体表达于转染的中国仓鼠卵巢癌细胞 (CHO) 表面。sPs 和 PSGL-1 密度由放射免疫方法测定。表达 P-选择子的 RBC 与表达 PSGL-1 的 CHO 细胞之间粘附的反应动力学采用修改的微管吸吮技术测定。

实验结果表明, 两两替代 (46/48、46/51 和 48/51) 的 PSGL-1 变异体的粘附概率-接触时间关系曲线与野生型 PSGL-1 相比无统计学变化; 而同时替代三个酪氨酸 (46/48/51) 则使粘附概率显著下降, 提示 P-选择子/PSGL-1 粘附至少需要 N-末端的一个酪氨酸存在。应用小系统动力学概率模型对实验数据的拟合给出了该分子系统的零力负反应常数和反应亲和性。实验数据对定量描述选择子/配体相互作用的结构-功能关系提供了基础。(美国 NSF 和 NIH 基金、中国 NSFC 基金和中国科学院“百人计划”项目以及教育部青年教师奖基金资助)