

PSGL-1 酪氨酸变异体的动力学分析

肖波涛^{1, 2}, 陈娟², 龙勉^{2*}

1. 重庆大学生物工程学院, 重庆, 400044

2. 中国科学院力学研究所 国家微重力实验室, 北京, 100080

*Email: mlong@imech.ac.cn

在炎症反应过程中, 选择素/配体相互作用介导了白细胞在血管内皮表面的滚动和结合。选择素/配体相互作用的化学反应速率、反应亲和性和力学强度对白细胞的滚动起决定性作用^[1]。选择素家族的所有成员(P-、E-、和L-选择素)都有一个共同的配体PSGL-1(P-selectin glycoprotein ligand-1)——一种白细胞表面的同源双体粘液素蛋白。PSGL-1与P-或L-选择素发生粘附需要同时含有两个必要结构: 46、48和51位酪氨酸的硫酸化; 57位苏氨酸的O型糖苷, 并经过sLe^x(sialyl Lewis X)修饰。对以上3个位点的酪氨酸作替换构建多种变异体, 这些变异体与P-选择素的相互作用有不同的逆反应速率和力学强度^[2-5]。⁶

为进一步考察以上3个位点的酪氨酸在选择素/PSGL-1粘附中的作用, 我们采用微管吸吮实验技术测量了P-选择素与PSGL-1变异体粘附的反应速率和反应亲和性^[6-10]。野生型人源PSGL-1、经46、48和51位酪氨酸两两替换的四种PSGL-1变异体(均作糖基化修饰)通过转染表达在中国仓鼠卵巢癌细胞上^[4]。采用CrCl₃方法把P-选择素的单克隆抗体S12包被在红细胞上^[6, 9, 10], 再捕获P-选择素。

微管实验测量了粘附频率对接触时间的依赖关系, 结果表明P-选择素/PSGL-1的相互作用是一阶解离化学反应。应用小系统概率动力学模型对实验数据进行拟合, 就得到了反应速率和反应亲和性参数^[6, 9]。结果表明逆反应速率与以前流动腔实验测量的结果相近。其中, 46/48位替换的变异体的逆反应速率是 1.8s^{-1} , 高于野生型、46/51和48/51。野生型或变异体的反应亲和性远高于sLe^x。有趣的是, 48/51变异体的反应亲和性是上述其他结构的3~6倍, 说明48/51变异体的正反应速率因酪氨酸替换大大增快。实验结果在氨基酸水平扩展了对选择素/配体的相互作用的认识。(NSFC基金10128205/30225027/1033206, 中国科学院创新基金KJCX2-SW-L06。)

参考文献:

1. Kaplanski G, Franarier C, Tissot O, et al. (1993). *Biophys. J.* 75:1553-1572.
2. McEver R P, Cummings R D. (1997). *J. Clin. Invest.* 100:485-492.
3. Liu W -J, Ramachandran V, Kang J, et al. (1998). *J. Biol. Chem.* 273:7078-7087.
34. Leppänen A, Mehta P, Ouyang Y -B, et al. (1999). *J. Biol. Chem.* 274:24838-24848.
54. Ramachandran V, Nollert M U, Qiu H, et al. (1999). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:13771-13776.
65. Leppänen A, Yago T, Otto V I, et al. (2003). *J. Biol. Chem.* 278:26391-26400.
76. Chesla S E, Selvaraj P, Zhu C, (1998). *Biophys. J.* 75:1553-1572.
87. Chesla S E, Li P, Nagarajan S, et al. (2000). *J. Biol. Chem.* 275:10235-10246.
98. Long M, Goldsmith H L, Tees D F, et al. (1999). *Biophys. J.* 76:1112-1128.
109. Long M, Zhao H, Huang K -S, et al. (2001). *Ann. Biomed. Eng.* 29: 935-946.
110. Zhu C, Long M, Chesla S E, et al. (2002). *Ann. Biomed. Eng.* 30: 305-314.