

方法是改变细胞培养基底的取向来进一步研究重力矢量对细胞的静态影响。

本文选取 MC3T3-E1 这一力敏感的前成骨细胞系作为考察目标, 将胶原包被并接种细胞的玻片放入自行研制的培养装置, 使细胞在培养基底上分别处于正置、倒置与侧置(细胞所受的重力矢量分别与基底法线方向呈 180° 、 0° 和 90°) 状态。通过考察细胞在 1-7 天内的增殖和细胞周期, 发现细胞的增殖曲线在三种基底上基本重合, 细胞周期分布也无显著性差异; 采用成骨诱导液诱导 MC3T3-E1 向成骨细胞分化, 也发现细胞碱性磷酸酶表达没有显著性差异, 表明基底取向对细胞增殖和分化等生物学行为没有显著影响。同时, 细胞在三种基底上培养 24 小时和 72 小时后固定并对三种细胞骨架(actin, tubulin, vimentin) 染色, 采用 Image J 测量细胞的圆度、粘附面积和核位移, 发现在三种静态受力状态下形态学指标无显著性差异。然而, 采用平均荧光强度来表征三种细胞骨架的表达量, 发现不论是 24 还是 72 小时, 倒置和侧置基底上的细胞骨架与正置基底上的相比有显著性差异; 对 actin 进一步定量分析发现, 在倒置和侧置基底上细胞的 actin 数量和强度都远高于正置基底上细胞中表达; 更有意思的是, 研究中还观测到在侧置基底上细胞骨架排列与重力矢量方向相关。上述结论说明, MC3T3-E1 在倒置和侧置基底上通过自身骨架重组、从而维持其正常的细胞形态和生物学行为。为探究其中的分子机制, 进一步考察了细胞粘着斑蛋白(vinculin 和 paxillin) 和 $\beta 1$ 整合素的表达, 发现在倒置基底上细胞粘着斑数量和平均面积以及 $\beta 1$ 整合素的表达与正置基底上有显著性差异; 采用 siRNA 敲出 $\beta 1$ 整合素后, 三种受力状态下细胞的粘着斑和细胞骨架之间的差异有大幅减小, 证明 MC3T3-E1 是通过 $\beta 1$ 整合素/粘着斑/细胞骨架这一信号通路调控自身对重力矢量的响应。

上述研究不仅观测到 MC3T3-E1 在重力矢量与不同取向基底共同作用下典型生物学行为和形态学特征, 同时发现细胞骨架重组并发现其中的力信号感受与传导通路, 对细胞的重力感受和传导机制的进一步深入研究提供了一个新的视角(国家自然科学基金资助项目(31110103918, 11072251), 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB710904))。

参考文献:

- [1] Li Hong, et al. Effects of oriented substrates on cell morphology, the cell cycle, and the cytoskeleton in Ros 17/2.8 cells, SCIENCE CHINA, 2010, 53(9): 1085-1091.

β_2 整合素变构动力学

毛德斌, 吕守芹, 李宁, 章燕, 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;

中国科学院力学研究所生物力学与生物工程中心, 北京 100190

E-mail: mlong@imech. ac. cn; Tel: 010-82544131

整合素作为细胞表面糖蛋白受体, 介导细胞-细胞、细胞-胞外基质以及细胞-病原体间的粘附, 在炎症反应、肿瘤转移和创伤愈合等许多病理生理过程中起关键作用。其中 LFA-1 (Lymphocyte function-associated antigen 1)、Mac-1 (Macrophage-1 antigen) 是表达于白细胞表面的 β_2 整合素亚家族成员, 二者与表达于血管内皮细胞表面的配体 ICAM-1 之间相互作用, 共同介导炎症级联反应中白细胞在血管内皮细胞上的粘附^[1]。二者功能上分工明确, 以中性粒细胞为例, LFA-1 主要介导前期中性粒细胞在血管内皮细胞上的慢速滚动与稳定粘附, 而 Mac-1 则专注于后期的爬

行^[2]。从结构上来看,LFA-1 和 Mac-1 具有相同 β_2 亚基和序列一致性高达 34% 的 α 亚基,均通过 α 亚基头部的 I 结构域与配体发生作用,且 I 结构域均具有高、低亲和态构象和相似的变构模式^[1]。LFA-1 I 结构域比 Mac-1 I 结构域更为灵活,表现为结构上更不稳定,且可以自发地从低亲和态构象向中间亲和态变构^[3]。变构是蛋白质行使功能的必要手段和表现形式,是否两者变构动力学的差别可以解释其功能差别,目前尚不清楚。

本文工作是基于已有 LFA-1/Mac-1 I 结构域及 ICAM-1 的晶体结构,综合运用了包括同源模建、分子对接、(拉伸)分子动力学模拟等模拟手段,构建了不同亲和态 I 结构域单体及与 ICAM-1 复合物的模拟体系,比较了 LFA-1/Mac-1 I 结构域在有配体、不同外力下变构动力学的异同及变构对其与配体之间相互作用的影响。初步结果表明:1) 低亲和态 Mac-1 也可自发变构,但变构程度及速度均低于低亲和态 LFA-1;2) ICAM-1 配体可借助外力打开低亲和态 Mac-1 I 结构域的口袋,刺激其变构,并与之发生稳定的相互作用;3) 受体-配体结合后外力可进一步刺激 I 结构域的变构,适当变构可增强受体-配体间相互作用。

因此,LFA-1 的柔性使其更易发生变构,更快与配体发生作用,则更适于需要较高正反应率介导的滚动行为,而 Mac-1 需更多地刺激才能充分发挥其功能,则更适于主动的爬行行为。本文工作将为深入理解 LFA-1、Mac-1 的功能区别以及相应的微观结构基础提供线索(国家自然科学基金资助项目(11072251),中国科学院科研装备项目(Y2010030),国家重点基础研究发展计划项目(2011CB710904))。

参考文献:

- [1] Luo BH, Carman CV, Springer TA. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annu Rev Immunol.* 2007. 25:619-47.
- [2] Phillipson M, Heit B, Colarusso P, Liu L, Ballantyne CM, et al. Intraluminal crawling of neutrophils to emigration sites: a molecularly distinct process from adhesion in the recruitment cascade. *J Exp Med.* 2006. 203: 2569-2575.
- [3] Mao D, Lü S, Li N, Zhang Y, Long M. Conformational stability analyses of alpha subunit I domain of LFA-1 and Mac-1. *PLoS ONE.* 2011. 6(8): e24188.

运动细胞初始极化阶段胞内信号的 分子机制及数学模型

冯世亮,朱卫平*

(上海大学,上海市应用数学和力学研究所,上海 200072)

Email: wpzhu@shu.edu.cn, Tel: (021) 56333574

某些真核细胞(eukaryotes),如:盘基网柄菌细胞(Dictyostelium)、白细胞(Leukocyte),受到胞外环境中信号分子的刺激,会朝向信号源而运动。初始极化(initial polarization)是这类细胞运动前的准备阶段,是外信号激励胞内信号分子相互激发/抑制,调控 Rho 家族小 G 蛋白(Rac 为代表)活性,进而引起细胞骨架重组的过程。已有生化实验显示:细胞接受均匀外信号刺激时,胞内负责信号转导的分子 $PI(3,4,5)P_3$ 浓度随时间变化呈“双相性”(biphasic),即:先后出现一大一小两个峰值,稍后平息;接受梯度外信号刺激时,胞内物质则发生两种方向相反的运动,磷酸酶 PI3K 及其生成物 $PI(3,4,5)P_3$ 以向前扩散的方式积聚到前沿,磷酸激酶 PTEN 及其生成物 $PI(4,5)P_2$ 以向后扩散的方式积聚到质膜后边,细胞分出明显头-尾。两种信号场刺激开启相同的