

肌动蛋白纤维的组装动力学

郭坤琨 谢仪

Dynamics of actin monomers assembled into long filaments

Guo Kun-Kun Xie Yi

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 65, 178702 (2016) DOI: 10.7498/aps.65.178702

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.178702>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2016/V65/I17>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

电离辐射致植物诱变效应的损伤-修复模型

Damage-repair model for mutagenic effects of plant induced by ionizing radiation

物理学报.2015, 64(24): 248701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.248701>

微环境促进的侵袭性肿瘤生长的元胞自动机模拟

Microenvironment-enhanced invasive tumor growth via cellular automaton simulations

物理学报.2015, 64(5): 058706 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.058706>

胶原纤维网络和癌细胞的力学微环境

Collagen network and the mechanical microenvironment of cancer cells

物理学报.2015, 64(5): 058201 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.058201>

重力场作用下微管自组装过程中向列相取向的空间模式的形成

Nematic ordering pattern formation in the process of self-organization of microtubules in a gravitational field

物理学报.2014, 63(7): 078201 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.078201>

专题: 软物质研究进展

肌动蛋白纤维的组装动力学*

郭坤琨[†] 谢仪

(湖南大学材料科学与工程学院, 长沙 410082)

(2016年4月21日收到; 2016年5月16日收到修改稿)

以细胞骨架中肌动蛋白纤维为例, 针对肌动蛋白亚基结合核苷酸状态简化为单态和双态两种模型, 介绍了肌动蛋白纤维的组装动力学, 并着重阐述了肌动蛋白纤维稳态时出现的“踏车现象”和长度扩散行为.

关键词: 肌动蛋白纤维, 组装, 踏车现象, 长度扩散

PACS: 87.15.A-, 82.35.Pq, 05.10.Gg, 81.16.Fg

DOI: 10.7498/aps.65.178702

1 引言

细胞溶质是细胞新陈代谢的主要场所, 其中蛋白质在细胞溶质中的重量百分数高达20%—30%. 细胞溶质中蛋白质的浓度相当高, 蛋白质又能以弱非共价键相连形成具有高度有序结构的络合物——细胞骨架. 细胞骨架的聚集态结构会伴随着细胞形态的变化和外部信号传导发生变形和结构重组, 从而诱导细胞骨架的力学和结构性能发生变化. 细胞骨架的动态组装过程涉及多种生物过程, 如细胞的结构、细胞分裂、细胞运动和细胞增殖等^[1,2]. 生物医学实验发现, 恶性病变的细胞中也伴随着细胞骨架结构的破坏、组装和分布的异常、肌动蛋白纤维的解聚等现象^[3,4], 从而对于细胞骨架的组装行为、力学性能和结构演化的研究将为疾病的治疗和诊断提供有力的支持.

肌动蛋白纤维是一种重要的细胞骨架, 主要为细胞质膜提供一定的支撑作用, 且对细胞的表面形态起决定性作用. 此外, 肌动蛋白纤维不仅为细胞运动提供一定的作用力, 也为细胞一分为二的分裂过程提供驱动力. 该纤维由直径5 nm, 43 kD的球状肌动蛋白单体通过静电、范德华等相互作用连接形成的螺旋组装体^[3]. 肌动蛋白的组装方式可使

肌动蛋白纤维形成具有不同极性的两端, 它们分别为倒刺末端(barbed end)或正端(plus end)和尖刺末端(pointed end)或负端(minus end), 见图1. 肌动蛋白纤维的两端都能聚合和解聚肌动蛋白单体, 但它们聚合和解聚的速率不同. 肌动蛋白的组装过程耦合了ATP分子的水解过程, 具体表现为结合ATP的肌动蛋白亚基能够水解形成结合ADPPi的肌动蛋白亚基——ATP分裂过程, 随后伴随着无机磷酸的释放形成结合ADP的肌动蛋白亚基——磷酸释放过程. 因此, 耦合ATP水解过程意味着纤维上的每一个原体可结合不同的核苷酸(ATP, ADPPi或ADP)分子而存在不同的状态^[5-9]. 纤维两端的肌动蛋白原体存在不同的核苷酸状态而呈现出不同的解聚速率. 在一定浓度范围内, 肌动蛋白纤维的增长将会达到稳态, 具体表现为肌动蛋白纤维在倒刺末端增长而同时在尖刺末端可表现出收缩. 这一过程称为“踏车现象”(treadmilling), 可看作蛋白原体从纤维的一端到另一端的重新排列, 将导致纤维沿着倒刺末端前进^[4]. 在肌动蛋白纤维组装的单分子实验研究中发现, 稳态时纤维不但表现出“踏车现象”, 还表现出较大的长度涨落(30—45 mon²/s). 该长度涨落值远大于通过肌动蛋白单体聚合和解聚速率估算的理论长度扩散系数值(1 mon²/s)^[10].

* 国家自然科学基金(批准号: 21274038)资助的课题.

[†] 通信作者. E-mail: kunkunguo@hnu.edu.cn

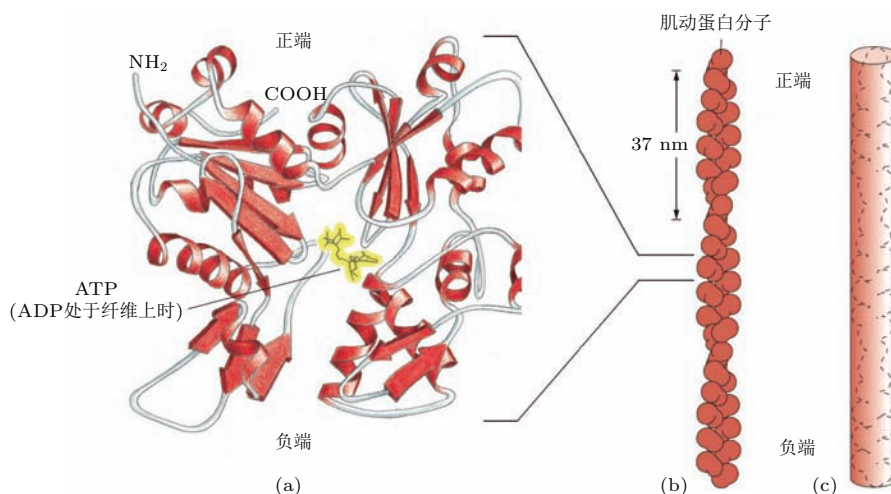


图1 肌动蛋白的结构^[2] (a) 单个肌动蛋白分子的结构图, 它是直径为5.4 nm的球状蛋白, 图中黄色部分为它们结合的ATP(ADP)分子所在位置; (b) 肌动蛋白纤维是由2根原丝组成, 它们形成的螺旋结构的螺距为37 nm, 所有的肌动蛋白亚基指向相同的方向, 每新增一个肌动蛋白单体, 纤维的长度增加2.7 nm; (c) 肌动蛋白纤维可近似看成直径为8 nm的圆柱体

Fig. 1. The structure of actin^[2]: (a) The structure of a single actin monomer, a spherical protein with a diameter of 5.4 nm, it is a nucleotide (either ATP or ADP) bound in the yellow district; (b) an actin filament consists of two protofilaments which wind around each other as two parallel strands of a helix, with a twist repeating every 37 nm, and all the actin subunits are in the same orientation, the length of a filament will increase 2.7 nm with an actin added; (c) an actin filament can be approximately regarded as a cylinder of 8 nm diameter.

当前关于耦合ATP水解的肌动蛋白增长动力学的理论工作主要基于速率方程和随机模拟两方面的研究. 此外, 文献[11—13]采用分子动力学模拟研究了通过静电相互作用形成短纤维的成核和增长过程. 但这种分子基模拟方法计算量较大, 只能用于研究具有少量原体的短纤维^[14]. 对于长纤维的组装动力学、“踏车现象”和长度扩散行为的研究有一定困难. 布朗动力学主要用于描述质量和尺度都大于介质的粒子, 因此, 它是适用于描述肌动蛋白单体和纤维的理想模型. 我们采用布朗动力学模拟了自由扩散的肌动蛋白单体一维组装形成单根长度高达微米的纤维. 本综述总结了我们在肌动蛋白纤维的组装动力学中做出的研究工作^[15—18], 主要针对肌动蛋白亚基结合核苷酸状态为单态和双态两种模型, 介绍了肌动蛋白纤维的组装动力学以及“踏车现象”和长度扩散行为.

2 蛋白亚基结合核苷酸状态为单态模型的组装动力学

肌动蛋白纤维的聚合过程包括的三个不同阶段: 成核、生长、稳态^[4]. 如果初始时刻溶液中只有单体, 那么这些单体首先结合形成寡聚物凝结核. 成核期后, 一旦成核种子形成, 则生长期开始; 细胞

骨架分子就开始迅速生长, 直到稳态期. 在稳态期, 溶液中的单体和纤维的两端的原聚体存在交换, 但纤维的长度不再有明显变化. 首先, 忽略ATP水解, 用简单的速率方程描述纤维的生长情况. 考虑体系有 M 个核的最简单情况, 我们要计算“平均”每根纤维两端结合单体数目 n 随时间变化曲线. 单体数目 n 由以下方程给出

$$\frac{dn}{dt} = (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) \left(c_0 - \frac{Mn(t)}{V} \right) - (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}), \quad (1)$$

式中, c_0 是溶液中初始单体浓度; V 是总体积; M 是核的数目; $k_{\text{on}}^{\text{ba}}$ 和 $k_{\text{on}}^{\text{po}}$ 分别表示单体黏结到纤维两端的聚合速率常数, 而且在上述方程中假定单体在纤维两端的聚合速率: $\omega_{\text{on}}^{\text{ba}}$ 和 $\omega_{\text{on}}^{\text{po}}$, 与溶液中自由蛋白单体浓度成正比; $\omega_{\text{off}}^{\text{ba}}$ 和 $\omega_{\text{off}}^{\text{po}}$ 是纤维两末端原聚体的解聚速率; 上标 ba 表示为纤维的正端, 而 po 为负端. 该一阶线性微分方程的解可表示为

$$n(t) = \frac{V}{M(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})} \times [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_0 - (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})] \times \left[1 - \exp\left(-\frac{M(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})t}{V}\right) \right]. \quad (2)$$

因此, 肌动蛋白纤维的长度可以表示为

$$L(t) = L_0 + an(t), \quad (3)$$

式中, a 为每个单体的长度, L_0 是初始时刻纤维的长度.

其次, 假定溶液中单体浓度固定为 c 的情况下肌动蛋白纤维增长的情况. 纤维两端单体数目的平均增长速率分别为

$$\frac{d\langle n^{ba} \rangle}{dt} = k_{on}^{ba}c - \omega_{off}^{ba}$$

和

$$\frac{d\langle n^{po} \rangle}{dt} = k_{on}^{po}c - \omega_{off}^{po}.$$

因此, 纤维的增长速率, $J_g(c)$, 可记为

$$\begin{aligned} J_g(c) &= \frac{d\langle L \rangle}{dt} = \frac{d\langle n^{ba} + n^{po} \rangle}{dt} \\ &= (k_{on}^{ba} + k_{on}^{po})c - (\omega_{off}^{ba} + \omega_{off}^{po}). \end{aligned} \quad (4)$$

由于正端(倒钩端)的平均增长速率远大于负端(尖端), 正端和负端相对于纤维的初始中心位置呈现出明显的不对称性. 此外, 当溶液中单体浓度为常数时, 方程(4)的右端是一个常数, 纤维中原聚体的数目随着反应时间的变化呈线性增加或者减小, 这主要取决于溶液中浓度, c 是高于或低于临界浓度 c_{cr} , 而纤维两端的临界浓度可表示为 $c_{cr} = \omega_{off}^{po}/k_{on}^{po} = \omega_{off}^{ba}/k_{on}^{ba}$. 图2中分别给出了两个不同实验小组测得的结合 ADP 纤维增长速率和浓度的依赖关系. 从图中可以看出, 它们具有不同的临界浓度, 这主要是由于溶液的离子浓度不一样. 这些实验小组在不同离子浓度溶液中所表现的聚合速率常数和解聚速率常数不一致. 而我们利用构建的布朗动力学模拟模型调节聚合速率常数和解聚速率常数与实验参数匹配, 可以得到纤维增长速率和溶液中单体浓度的依赖关系, 而且我们得到的模拟结果和不同实验小组得到的结果非常一致.

纤维的增长速率还可以通过单体黏结到纤维两端的频率来确定. 纤维两端连续成功聚合单体的时间间隔或者等待时间的分布表现为随机的指数分布. 如果从它们的指数分布图中提取出连续两次成功聚合的平均等待时间 τ_{on} , 而且发现平均等待时间的倒数, $1/\tau_{on}$ 和溶液中单体的浓度 c 成正比. 而纤维两端的聚合速率满足关系式 $\omega_{on} = k_{on}c = 1/\tau_{on}$. 因此, 纤维的增长速率也可以通过平均等待时间来描述:

$$\begin{aligned} J_g(c) &= \frac{1}{\tau_{on}^{ba}} + \frac{1}{\tau_{on}^{po}} - \frac{1}{\tau_{off}^{ba}} - \frac{1}{\tau_{off}^{po}} \\ &= \omega_{on}^{ba} + \omega_{on}^{po} - \omega_{off}^{ba} - \omega_{off}^{po}. \end{aligned} \quad (5)$$

考虑肌动蛋白纤维的长度分布函数 $P_n(t)$ 随时间变化的规律, $P_n(t)$ 表示时刻 t 找到一个含有 n 个单体的纤维概率. 假设 n 聚体长度的改变只能通过黏结或脱落单个单体实现, 忽略了两个不同长度的纤维相互之间的黏结, 以及纤维从中间断开的情况. 因此, $P_n(t)$ 可简化成由四种不同的过程决定, 而每个过程都可以从纤维的两端发生的, 但是纤维两端发生任何一过程的速率不同, 可写为

$$\begin{aligned} \frac{dP_n}{dt} &= (k_{on}^{ba} + k_{on}^{po})P_{n-1}P_1 + (\omega_{off}^{ba} + \omega_{off}^{po})P_{n+1} \\ &\quad - (k_{on}^{ba} + k_{on}^{po})P_nP_1 - (\omega_{off}^{ba} + \omega_{off}^{po})P_n. \end{aligned} \quad (6)$$

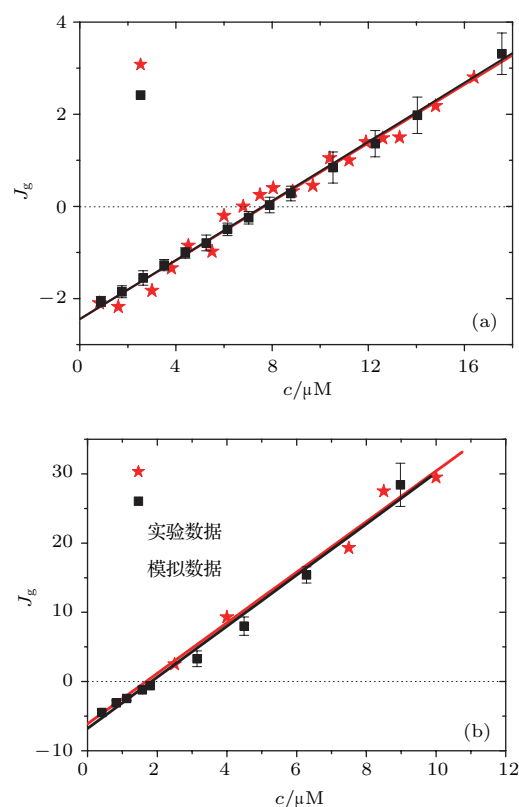


图2 结合 ADP 的肌动蛋白纤维增长速率 $J_g(c)$ 随体系中溶液浓度 c 的演化曲线 (a) 和 (b) 中的实验数据都摘自参考文献 [19, 20], 黑点是模拟得到的数据结果. 由于 Pollard 和 Carlier 小组选用的溶液离子浓度不同, 因而图中 (a) 和 (b) 两组数据具有不同的临界浓度

Fig. 2. The growth rate $J_g(c)$ of ADP-actin filaments as a function of the solution concentration c . The experimental data of (a) and (b) are taken from Ref. [19, 20]. The black dots are the results of numerical simulations. Note that the critical (or equilibrium) concentration at which the growth rate vanishes is rather different for the two sets of experimental data reflecting the different ionic conditions.

从(6)式所描述的纤维的平均长度随时间的演化规律, 可以将纤维的平均长度写成 $\langle L \rangle = \sum_{n=1}^{n=\infty} naP_n$, 然后求导得到

$$\frac{d\langle L \rangle}{dt} = \sum_{n=1}^{n=\infty} na \frac{dP_n}{dt}. \quad (7)$$

将(6)式代入(7)式, 得到

$$\begin{aligned} \frac{d\langle L \rangle}{dt} &= \sum_{n=1}^{n=\infty} na (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) (P_{n-1} - P_n) P_1 \\ &+ \sum_{n=1}^{n=\infty} na (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}) (P_{n+1} - P_n). \end{aligned} \quad (8)$$

接下来利用等式 $\sum_{n=1}^{n=\infty} nP_{n-1} = \sum_{n=1}^{n=\infty} (n+1)P_n$, 将(8)式简化得到

$$\begin{aligned} J_g(c) &= \frac{d\langle L \rangle}{dt} \\ &= a [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) P_1 - (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})]. \end{aligned} \quad (9)$$

从(9)式可以看出, 该结果和(4)式得到的结果相同. 而从图2给出的纤维生长速率随单体浓度变化的曲线可以看出: 当浓度小于临界浓度 c_{cr} 时, 纤维收缩; 反之, 当浓度大于临界浓度 c_{cr} 时, 纤维将生长; 当浓度等于 c_{cr} 时, 平均长度保持不变, $d\langle L \rangle/dt = 0$.

3 蛋白亚基结合核苷酸状态为两态或三态模型的组装动力学

蛋白亚基结合核苷酸的状态为两种状态的模型, 即蛋白亚基耦合 ATP 分子和耦合 ADP 分子. 因此, 忽略磷酸释放过程, 将水解过程直接简化为 ATP 直接水解成 ADP 分子. 依然考虑体系有 M 个核的最简单情况, 单体数目 n 由以下方程给出:

$$\begin{aligned} \frac{dn}{dt} &= (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) \left(c_T - \frac{Mn(t)}{V} \right) \\ &- \left(\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} P_T^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}} P_D^{\text{ba}} \right. \\ &\left. + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}} P_T^{\text{po}} + \omega_{\text{off},D}^{\text{po}} P_D^{\text{po}} \right), \end{aligned} \quad (10)$$

式中, c_T 是溶液中初始单体耦合 ATP 分子的浓度, 但是细胞内初始单体被近似认为全部耦合 ATP 分子; V 是总体积; M 是核的数目; $\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}}$ 和 $\omega_{\text{off},T}^{\text{po}}$ 是

纤维末端结合 ATP 分子原聚体的解聚速率; $\omega_{\text{off},D}^{\text{ba}}$ 和 $\omega_{\text{off},D}^{\text{po}}$ 是纤维末端结合 ADP 分子原聚体的解聚速率. P_T^{ba} , P_D^{ba} , P_T^{po} 和 P_D^{po} 是纤维末端结合 ATP 或者 ADP 分子原聚体的概率, 其中纤维两端分别满足关系式 $P_T^{\text{ba}} + P_D^{\text{ba}} = 1$ 和 $P_T^{\text{po}} + P_D^{\text{po}} = 1$. 该方程的解可表示为

$$\begin{aligned} n(t) &= \frac{V}{M(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})} \\ &\times \left[(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c_T - (\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} P_T^{\text{ba}} \right. \\ &\left. + \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}} P_D^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}} P_T^{\text{po}} + \omega_{\text{off},D}^{\text{po}} P_D^{\text{po}}) \right] \\ &\times \left[1 - \exp \left(- \frac{M(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})t}{V} \right) \right]. \end{aligned} \quad (11)$$

其次, 假定溶液中结合 ATP 分子单体浓度固定的情况下纤维增长的情况. 纤维的增长速率, $J_g(c_T)$ 为

$$\begin{aligned} J_g(c_T) &= \frac{d\langle L \rangle}{dt} \\ &= (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c_T - \left(\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} P_T^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}} P_D^{\text{ba}} \right. \\ &\left. + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}} P_T^{\text{po}} + \omega_{\text{off},D}^{\text{po}} P_D^{\text{po}} \right). \end{aligned} \quad (12)$$

所有纤维末端耦合 ATP 或 ADP 分子原聚体都能够解聚. 从实验上测得的解聚速率参数可以看出, 耦合 ADP 的末端原聚体从纤维两端脱落的速率要远大于耦合 ATP 的末端原聚体. 当溶液的浓度较大时, 正端(倒钩端)和负端(尖端)的原聚体几乎没有结合 ADP 分子, 从而原聚体结合 ATP 分子在正端和负端的概率分别满足关系式 $P_T^{\text{ba}} = 1 - P_D^{\text{ba}} \approx 1$ 和 $P_T^{\text{po}} = 1 - P_D^{\text{po}} \approx 1$. 蛋白亚基结合核苷酸状态为三态的理论模型可依次推出.

图3给出了布朗动力学模拟三态模型中纤维两末端原聚体结合三种核苷酸状态的概率分布和溶液中单体浓度的关系. 从图3也可以看出, 溶液中浓度较高时, 纤维两端结合 ATP 分子的原聚体的概率接近 1. 因此, 在溶液中浓度较高时, 纤维的增长速率可以改写为

$$\begin{aligned} J_g(c_T \gg c_{\text{cr},T}) &\approx (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c_T - (\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}}). \end{aligned} \quad (13)$$

当 $J_g = 0$, 即 $J_g^{\text{ba}} + J_g^{\text{po}} = 0$, 溶液中单体的浓度定义为纤维的临界浓度, 近似认为 $c_{\text{cr},T} \approx (\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}}) / (k_{\text{on}}^{\text{po}} + k_{\text{on}}^{\text{ba}})$. 这是因为接近临界浓度时, 纤维末端原聚体的状态不一定结合 ATP 分

子. 此时的临界浓度值应该介于纤维两端临界浓度值之间, 即 $c_{\text{cr,T}}^{\text{ba}} < c_{\text{cr,T}} < c_{\text{cr,T}}^{\text{po}}$.

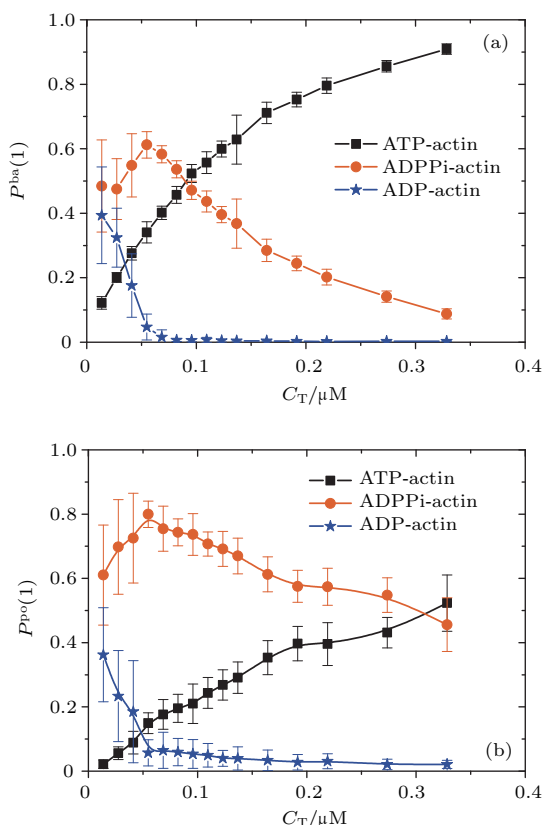


图3 肌动蛋白纤维末端(a)正端(b)负端结合不同核苷酸状态的概率分数 P_Y^{ba} 或者 P_Y^{po} 对体系中自由肌动蛋白单体浓度 c_T 的依赖关系, 其中 $Y = \text{T(ATP)}, \Theta(\text{ADP.Pi}), \text{D(ADP)}$

Fig. 3. The three probabilities for the terminal promoter at the (a) barbed and (b) pointed end as a function of free actin concentration, where P_Y^{ba} and P_Y^{po} are separately the barbed and pointed end with $Y = \text{T(ATP)}, \Theta(\text{ADP.Pi}), \text{D(ADP)}$.

图4给出了模拟得到的纤维增长速率和溶液中单体浓度的依赖关系. 当单体浓度大于 $c_{\text{cr,T}}$ 时, 纤维的增长速率 $J_g > 0$, 而单体浓度小于 $c_{\text{cr,T}}$ 时, 纤维的增长速率 $J_g < 0$. 从图4还可以看出, 纤维的增长速率和浓度的依赖关系可以明显看出曲线分为两个不同区域, 纤维增长速率和浓度之间的斜率明显不同. 当体系中浓度远低于临界浓度时, 纤维上的原聚体几乎全部结合ADP分子. 纤维两端的聚合速率接近零, 而解聚速率 $\omega_{\text{off}} \approx \omega_{\text{off,D}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off,D}}^{\text{po}}$, 该解聚速率的值可以从增长速率和浓度依赖曲线在纵坐标的截距得到(即 $c_T = 0$ 时, 肌动蛋白纤维的增长速率近似等同于纤维的解聚速率).

为了深入理解肌动蛋白亚基结合ATP分子发

生随机水解时, 肌动蛋白纤维上的增长动力学以及肌动蛋白纤维上核苷酸状态的分布. 随机水解即肌动蛋白纤维上任何一个结合ATP的蛋白亚基不依赖于其邻近的蛋白亚基的状态而以均一的速率水解, 其水解速率和纤维上未水解的单体数目有关. 采用布朗动力学模拟单根肌动蛋白纤维的增长动力学时发现, 当肌动蛋白纤维长度基本不变时, 肌动蛋白纤维的增长速率接近于零, 即 $J_g \simeq 0$. 以纤维正端位置开始记起, 统计了纤维上面各个位置出现肌动蛋白结合不同核苷酸状态的概率, 见图5. 从图5中可以看出, 纤维在正端有一个非常短的ATP帽子和结合ADP.Pi酶的帽子.

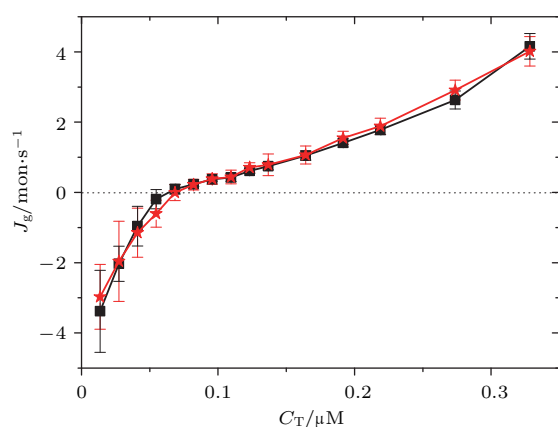


图4 肌动蛋白纤维总增长速率和体系中肌动蛋白单体浓度 c_T 的依赖关系. 其中, 黑色方块的数据是从肌动蛋白纤维平均长度对时间的依赖关系中得到, 见(12)式, 而红色星形的数据是从聚合和解聚时间的平均等待时间 τ 中得到, 见(5)式

Fig. 4. The total growth rate J_g as a function of the monomer concentration c_T . The two different sets of data have been obtained by measuring the average filament length (black squares) and the average waiting times between successive attachment and detachment events (red stars).

从不同位置出现蛋白亚基结合不同酶状态的概率, 可以得到纤维上结合ATP酶和结合ADP.Pi酶的肌动蛋白单体个数之和分别为

$$\langle N_T \rangle = \sum_{x=1}^{\infty} P_T(x) \text{ 和 } \langle N_{\Theta} \rangle = \sum_{x=1}^{\infty} P_{\Theta}(x), \quad (14)$$

从模拟的结果大约得到 $\langle N_T \rangle \simeq 0.9$, 而 $\langle N_{\Theta} \rangle \simeq 28.01$. 对于随机ATP分裂过程和无机磷酸随机释放的过程, 纤维上任何位置的ATP分裂速率和磷酸速率可以分别表示为 $j_c(x) = P_T(x)\omega_c$ 和 $j_r(x) = P_{\Theta}(x)\omega_r$, 从而它们的总速率为 $J_c = \sum_{x=1}^{\infty} j_c(x)$ 和

$J_r = \sum_{x=1}^{\infty} j_r(x)$. 因此, 可以得到 $J_c = \langle N_T \rangle \omega_c$ 和 $J_r = \langle N_{\Theta} \rangle \omega_r$. 图6中给出了布朗动力学模拟中纤维上ATP帽子长度 $\langle N_T \rangle$ 和体系中肌动蛋白浓度的依赖关系. 当体系中肌动蛋白浓度的进一步增大, 纤维上ATP帽子的长度 $\langle N_T \rangle$ 趋于基本不变. 而且从图6可以看出, 模拟得到的结果和理论分析的结果非常一致.

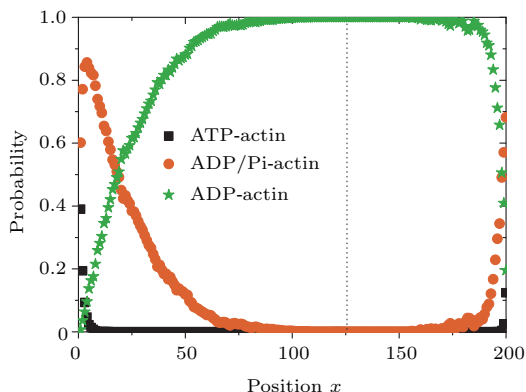


图5 当稳态时ATP酶、ADP、Pi酶和ADP酶结合原聚体在肌动蛋白纤维不同空间位置出现的概率分数 其中定义正端(倒钩端)的位置为1, 而负端(尖端)的位置为200
 Fig. 5. The density profiles P_Y^{ba} (left) and P_Y^{po} (right) for $Y = T, ,$ and D protomers as a function of the spatial coordinate $x \equiv x_{ba} \equiv 201 - x_{po}$ where x is measured in units of the projected protomer size. The barbed end is located at $x = x_{ba} = 1$, the pointed end at $x_{po} = 1$ or $x = 200$.

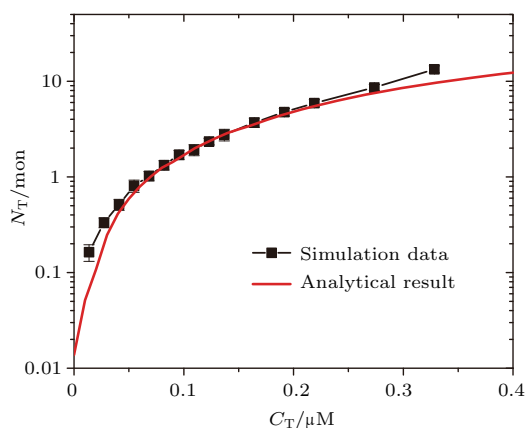


图6 纤维上ATP酶结合原聚体数目和肌动蛋白单体浓度的依赖关系 黑色方块为布朗动力学模拟的结果, 红色实线是理论分析结果

Fig. 6. Total ATP-actin cap length N_T in the filament vs. the monomer concentration c_T . Squares indicate Brownian dynamics results. Solid red lines indicate the result of theoretical analysis

在纤维的增长速率接近于零时, 即处于稳态时, ATP分裂的速率 J_c 和无机磷酸释放速率 J_r 满足下列关系式 $J_c^{ba} = J_r^{ba} + P_{\Theta}^{ba}(1)\omega_{off}^{ba}$ 和

$J_c^{po} = J_r^{po} + P_{\Theta}^{po}(1)\omega_{off}^{po}$. 因此, 纤维上结合ATP和ADP、Pi酶的肌动蛋白亚基的总数目也满足关系式

$$\langle N_T^{ba} \rangle \omega_c = \langle N_{\Theta}^{ba} \rangle \omega_r + P_{\Theta}^{ba}(1)\omega_{off,\Theta}^{ba} \quad (15)$$

和

$$\langle N_T^{po} \rangle \omega_c = \langle N_{\Theta}^{po} \rangle \omega_r + P_{\Theta}^{po}(1)\omega_{off,\Theta}^{po}. \quad (16)$$

从图3中给出纤维两端核苷酸不同状态的概率分布函数也可以验证上述两式.

4 “踏车现象”和长度扩散行为

随着实验技术的不断发展, 最近生物物理实验学家在单分子水平上深入研究了肌动蛋白纤维的增长动力学行为. 对单根肌动蛋白纤维组装动力学的研究中发现, 当肌动蛋白纤维的增长速率接近于零时, 肌动蛋白纤维达到稳态, 同时也观察到“踏车现象”. “踏车现象”是一个非平衡的过程, 肌动蛋白单体从正端聚合而表现出来从另一端脱落, 从而整个肌动蛋白纤维朝正端向前移动. 通过控制溶液中不同蛋白的浓度以及离子浓度, 实验上观察到“踏车”速率从几秒高达到几天. 关于“踏车现象”, 当体系中浓度处于正端和负端临界浓度之间时, 即 $c_{cr,T}^{ba} < c_T < c_{cr,T}^{po}$, 肌动蛋白纤维正端的增长速率大于零, 而负端的增长速率小于零, 表现为收缩. 肌动蛋白纤维的“踏车”速率满足该关系式: $J_{tm} \equiv (1/2)(J_g^{ba} - J_g^{po})$. 图7为从布朗动力

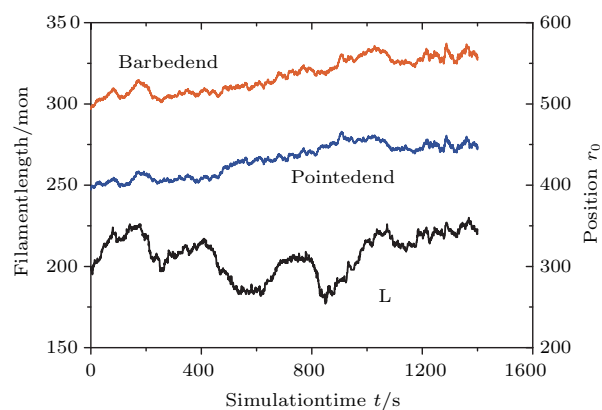


图7 肌动蛋白纤维总长度 L 和肌动蛋白纤维两端(正端和负端或者钩端和尖端)和布朗动力学模拟时间的依赖关系 肌动蛋白纤维的长度以肌动蛋白单体数目为单位, 而肌动蛋白纤维两端的空间位置以模拟的基本长度量纲 r_0
 Fig. 7. Filament length L and positions of barbed and pointed end as functions of simulation time. The length L is measured in units of protomer number, the end positions are measured in units of the basic length scale r_0 .

学模拟得到的单根肌动蛋白纤维处于“踏车现象”时, 纤维总长度随时间的变化函数, 以及纤维两端的空间位置随时间的变化函数. 从图7可以明显看出, 纤维的总长度随着时间呈现出明显的涨落, 而纤维的正端(倒钩端)朝一个方向以一定的速度移动. 根据纤维移动的速率可得到肌动蛋白纤维的“踏车”速率约为0.07 mon/s, 该值和实验的结果基本符合^[21]. 同时, 图8给出了纤维稳态时两端连续成功聚合单体的时间间隔或者等待时间的分布. 从图8可以看出它们服从指数分布, 通过指数分布拟合可以得到特征等待时间. 将等待时间代入(5)式, 可以得到纤维的增长速率 $J_g \simeq 0.06$ mon/s 和“踏

车”速率 $J_{tm} \simeq 0.08$ mon/s. 该结果和通过纤维末端的位移速度得到的增长速率和“踏车”速率基本相同.

为了研究肌动蛋白纤维的长度扩散问题, 首先选择核苷酸的状态为单态的简单模型. 肌动蛋白纤维的总长度可以表示为 $L = L(t)$, 或采用肌动蛋白纤维两端增加的蛋白亚基数目来表示 $n(t) = n^{ba}(t) + n^{po}(t)$, 从而肌动蛋白纤维的长度扩散系数为

$$\begin{aligned} \langle [L - \langle L \rangle]^2 \rangle &= \langle [n - \langle n \rangle]^2 \rangle \\ &\approx \langle [n^{ba} - \langle n^{ba} \rangle]^2 \rangle + \langle [n^{po} - \langle n^{po} \rangle]^2 \rangle. \end{aligned} \quad (17)$$

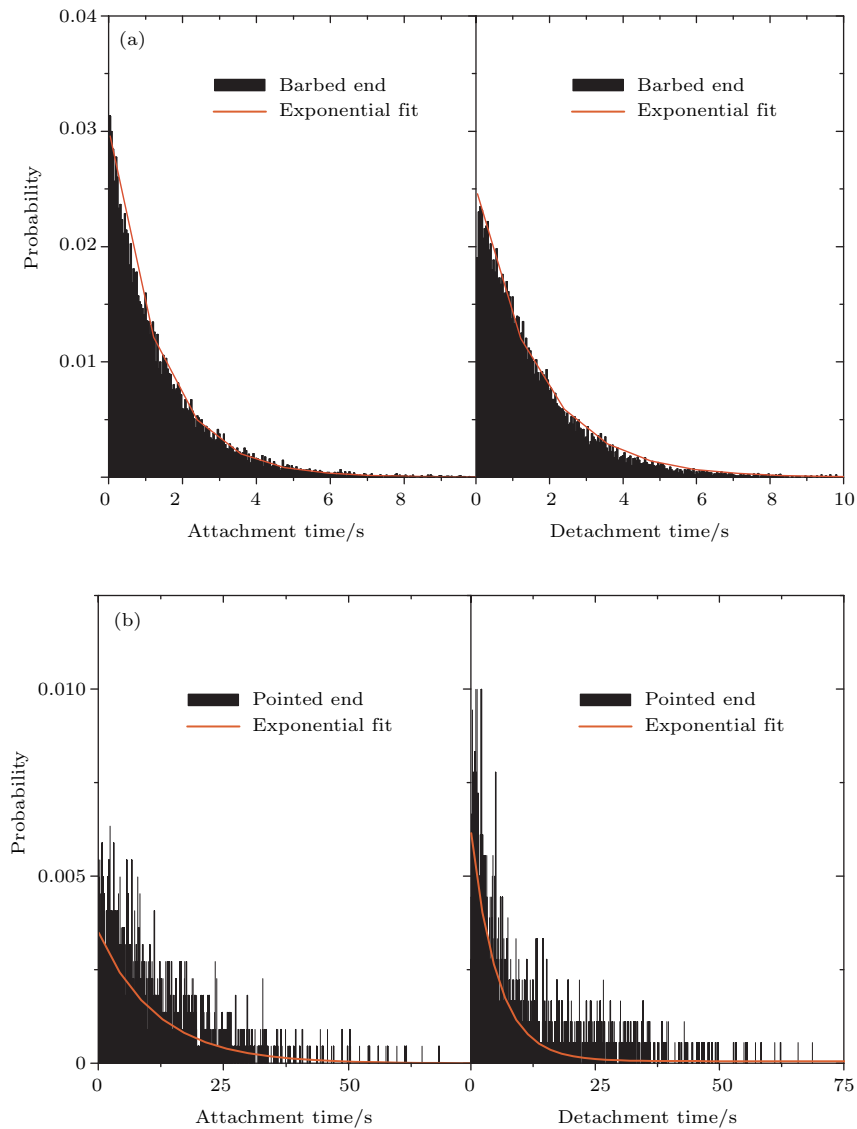


图8 连续两次单体聚合到纤维正端(a)和负端(b)之间时间间隔分布

Fig. 8. Normalized histograms for time intervals between two successive monomer attachments and two successive protomer detachments at the (a) barbed and (b) pointed end.

肌动蛋白纤维两端增加的蛋白亚基数目 n^{ba} 和 n^{po} 满足偏椅无规行走模型^[22]. 纤维的长度分布函数 $P_n(t)$ 由四个过程决定, 可记为

$$\begin{aligned} \frac{dP_n}{dt} = & (k_{\text{on}}^{\text{ba}}c + k_{\text{on}}^{\text{po}}c) P_{n-1}P_1 + (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}) P_{n+1} \\ & - (k_{\text{on}}^{\text{ba}}c + k_{\text{on}}^{\text{po}}c) P_nP_1 - (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}) P_n, \quad (18) \end{aligned}$$

其中, 初始条件为 $P_1(0) = 1$, 其他为零. 定义辅助函数

$$Q(z, t) = \sum_{n=-\infty}^{\infty} z^n P_n(t)$$

和

$$Q_k(t) \equiv \left. \frac{\partial^k}{\partial z^k} Q(z, t) \right|_{z=1}.$$

因此, 长度的平均值 $\langle n(t) \rangle = Q_1(t)$ 和方差

$$\langle [n(t) - \langle n(t) \rangle]^2 \rangle = Q_2 + Q_1 - Q_1^2.$$

通过前面提到的方法求解 (18) 可以得到 $Q(z, t) = e^{g(z)t}$, 其中

$$\begin{aligned} g(z) \equiv & (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) cz + (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}) / z \\ & - [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c + (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})]. \end{aligned}$$

因此, 纤维的平均长度和长度的方差分别为

$$\langle n(t) \rangle = [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c - (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})] t$$

和

$$\begin{aligned} \langle [n(t) - \langle n(t) \rangle]^2 \rangle &= [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c + (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})] t, \end{aligned}$$

而纤维的长度扩散系数 D_L 满足

$$\langle [n(t) - \langle n(t) \rangle]^2 \rangle \approx 2D_L t.$$

因此, 纤维的长度扩散系数为

$$D_L = \frac{1}{2} [(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c + (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}})], \quad (19)$$

其单位为 mon^2/s .

图 9 给出了核苷酸状态为单态模型中肌动蛋白纤维的长度扩散系数模拟和理论的结果. 从图 9 可以看出, 纤维的长度扩散系数和肌动蛋白单态的浓度呈明显的线性关系. 当肌动蛋白浓度非常低时, $D_L \simeq (\omega_{\text{off}}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off}}^{\text{po}}) / 2$, 该结果也可从图 9 中直线在纵坐标的截距中得以进一步证实.

在考虑 ATP 矢量水解的情况下^[18–22], 将肌动蛋白结合核苷酸的状态简化为两种状态, 即 ATP

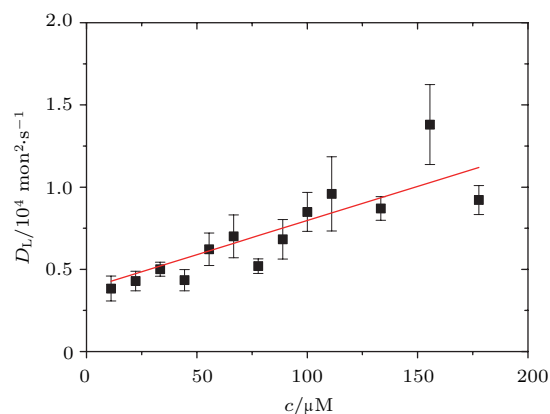


图 9 纤维长度扩散系数随肌动蛋白单体浓度 c 的依赖关系. 黑色实心方块表示布朗动力学模拟的结果; 红色实线表示理论分析的结果, 见方程 (19)

Fig. 9. The length diffusion constant of filaments as a function of the monomer concentration c_T . Squares indicate Brownian dynamic results. Solid red line indicates the result of theoretical analysis in Eq. (19).

结合肌动蛋白和 ADP 结合肌动蛋白. 其中, 矢量水解即只有当邻近的蛋白亚基结合的核酸分子具有不同状态时, 纤维中结合 ATP 分子的单体才能发生水解转变成结合 ADP. Pi 分子的蛋白亚基. 为了方便得到纤维的扩散系数, 首先定义几个物理量: 稳态时非零 ATP 帽子的概率 q , 它满足关系式 $q = (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_T / (\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} + \omega_R)$, 其中 ω_R 为纤维上矢量水解时的磷酸释放的总速率. 当 $q = 1$ 时, 体系中最小肌动蛋白浓度为转变浓度 $c_{T,\text{tr}}$. 当 $c_T \leq c_{T,\text{tr}}$ 和 $q \leq 1$ 时, 肌动蛋白纤维的增长速率和扩散速率分别为

$$\begin{aligned} J_g = & (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_T - \omega_{\text{off},T}^{\text{ba}}q \\ & - \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}}(1 - q) - \omega_{\text{off},D}^{\text{po}} \quad (20) \end{aligned}$$

和

$$\begin{aligned} D_L = & \frac{1}{2} \left[(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_T + \omega_{\text{off},T}^{\text{ba}}q + \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}}(1 - q) + \omega_{\text{off},D}^{\text{po}} \right. \\ & \left. + 2 \frac{(\omega_{\text{off},D}^{\text{ba}} - \omega_{\text{off},T}^{\text{ba}})[(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_T + \omega_{\text{off},D}^{\text{ba}}q]}{\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} + \omega_R} \right]. \quad (21) \end{aligned}$$

当 $c_T \geq c_{T,\text{tr}}$ 时, 肌动蛋白纤维的增长速率和长度扩散系数分别为

$$\begin{aligned} J_g = & (k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}})c_T - P_T^{\text{ba}}(1)\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} - P_D^{\text{ba}}(1)\omega_{\text{off},D}^{\text{ba}} \\ & - P_T^{\text{po}}(1)\omega_{\text{off},T}^{\text{po}} - P_D^{\text{po}}(1)\omega_{\text{off},D}^{\text{po}} \quad (22) \end{aligned}$$

和

$$D_L = \frac{1}{2} \left[(k_{\text{on}}^{\text{ba}} + k_{\text{on}}^{\text{po}}) c_T + \left(\omega_{\text{off},T}^{\text{ba}} + \omega_{\text{off},T}^{\text{po}} \right) \right]. \quad (23)$$

图 10 给出了在考虑核苷酸状态变化下布朗动力学模拟中肌动蛋白纤维长度扩散系数和肌动蛋白单体浓度的依赖关系. 从图 10 可以看出, 当体系的浓度高于 $c_{T,\text{tr}}$, 纤维的长度扩散系数比较小, $D_L \simeq 2.5 \text{ mon}^2/\text{s}$, 而且和肌动蛋白单体的浓度呈现线性关系; 而当体系的浓度低于转变浓度时, 纤维的长度扩散系数急剧地增加到 30—40 mon^2/s , 然后随着体系中肌动蛋白单体的浓度进一步降低, 纤维的扩散系数随着单体浓度的降低而降低, 并且也呈现出线性关系. 从图 10 还可以发现, 上述解析得到的扩散系数和布朗动力学模拟的结果非常符合. 在该模拟结果和理论模型中, 我们深入阐述了体系的浓度低于转变浓度时, 实验上观察到长度涨落现象的主要原因. 更为重要的是解决了两种不同理论得到长度涨落时单体浓度高于或低于正端临界浓度的矛盾问题.

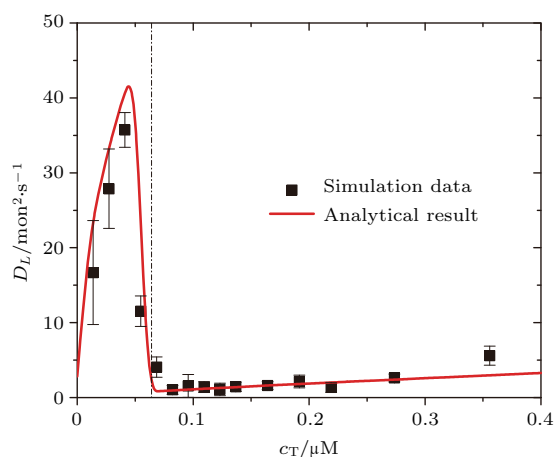


图 10 纤维长度扩散系数随肌动蛋白单体浓度 c_T 的依赖关系. 黑色实心方块表示布朗动力学模拟的结果; 红色实线表示理论分析的结果, 见方程 (21); 垂直的虚线是 $c_{T,\text{tr}}$.

Fig. 10. The length diffusion constant of filaments as a function of the monomer concentration c_T . Squares indicate Brownian dynamic results. Solid red line indicates prediction for the model presented in Eq. (21). Vertical dashed line indicates $c_{T,\text{tr}}$.

5 结 论

细胞内细胞质中主要是由细胞骨架网络构筑而成. 作为细胞骨架的一种, 肌动蛋白纤维是蛋白亚基以首尾相连的形式组成的螺旋结构. 蛋白亚基的聚合和解聚能力非常容易实现肌动蛋白纤维网络的结构重组. 我们采用布朗动力学模拟肌动蛋白

纤维的组装动力学过程. 模拟结果得到了肌动蛋白纤维的临界浓度、“踏车”速率、结构塑性以及长度涨落等, 而这些模拟结果不仅和实验测得的物理量非常接近, 还和随机理论分析的结果符合. 活体细胞中其他辅助蛋白也能调控肌动蛋白纤维的动力学和组织结构, 能积极参与细胞分裂、细胞迁移以及在细胞内部形成极性的组织结构等生命活动 [23]. 关于肌动蛋白纤维方面理论研究将对深入理解这些生命活动具有重要的生物意义, 同时能为疾病的诊断和治疗提供一定的指导意义.

感谢德国马普胶体与界面研究所 Lipowsky 教授的讨论.

参考文献

- [1] Bray D 2001 *Cell Movements* (Garland: Garland Science) pp138–145
- [2] Alberts B 2014 *Molecular Biology of the Cell* (Garland: Garland Science) pp216–217
- [3] Lodish H 2012 *Molecular Cell Biology* (Freeman: W. H. Freeman & Company) pp89–93
- [4] Phillips R 2012 *Physical Biology of the Cell* (Garland: Garland Publishing) pp320–324
- [5] Oudenaarden A V, Theriot J A 1999 *Nat. Cell Biol.* **1** 493
- [6] Jasper V D G, Ewa P, Julie P, Cécile S 2005 *PNAS* **102** 7847
- [7] Vavylonis D, Yang Q B, Shaughnessy B O 2005 *PNAS* **102** 8543
- [8] Ohm T, Wegner A 1987 *Biochim. Biophys. Acta* **120** 8
- [9] Pantaloni D, Carlier M F, Korn E D 1985 *J. Biol. Chem.* **260** 6572
- [10] Fujiwara I, Takahashi S, Ishiwata 2002 *Nat. Cell Biol.* **4** 666
- [11] Mogilner A, Oster G 1996 *Biophys. J.* **84** 1591
- [12] Bindschadler M, Osborn E A, McGrath J L 2004 *Biophys. J.* **86** 2720
- [13] Fass J, Pak C, Bamburg J, Mogilner A 2008 *J. Theor. Biol.* **252** 173
- [14] Sept D, Mccammon J A 2001 *Biophys. J.* **81** 667
- [15] Guo K K, Shillcock C J, Lipowsky R 2009 *J. Chem. Phys.* **131** 120
- [16] Guo K K, Shillcock C J, Lipowsky R 2010 *J. Chem. Phys.* **133** 155105
- [17] Guo K K, Qiu D 2011 *J. Chem. Phys.* **135** 105101
- [18] Guo K K, Han W C 2011 *Acta Chim. Sin.* **69** 145 (in Chinese) [郭坤琨, 韩文驰 2011 化学学报 **69** 145]
- [19] Pollard T D 1986 *J. Cell Biol.* **103** 2747
- [20] Pollard T D 1984 *J. Cell Biol.* **99** 769
- [21] Didry D, Carlier M F, Pantaloni D 1998 *J. Biol. Chem.* **273** 25602
- [22] Van Kampen N G 1992 *Stochastic Processes in Physics and Chemistry* (New York: Elsevier) pp351–356
- [23] Wang J, Gen Y, Liu F 2015 *Acta Phys. Sin.* **64** 58707

SPECIAL TOPIC — Progress in Soft Matter Research

Dynamics of actin monomers assembled into long filaments*

Guo Kun-Kun[†] Xie Yi

(College of Materials Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

(Received 21 April 2016; revised manuscript received 16 May 2016)

Abstract

We investigate the dynamics of actin monomers that are assembled into long filaments via the particle-based Brownian dynamics simulations. In order to study the dynamics of long filaments containing up to several hundred protomers, a coarse-grained model for actin polymerization involving several simplifications is used. In order to overcome the large separation of time scales between the diffusive motion of the free monomers and the relatively slow polymerized and depolymerized processes at the two ends of the filaments, all polymerized and depolymerized rates are rescaled by a dimensionless parameter. Actin protomers within a filament generally possess three nucleotide states corresponding to a bound adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate with inorganic phosphate (ADP·Pi), and ADP molecules in the presence of ATP hydrolysis. Here in this paper, single nucleotide state and two nucleotide states of actin protomers are described by the simplified theoretical model, giving the dependence of the growth rate on actin concentration. The simplest case where all protomers are identical, is provided by the assembly of ADP-actins. In the simulations, the growth rate is found to increase linearly with free monomer concentration, which agrees quantitatively with in vitro experimental result. These surprised phenomena observed in the experiments, such as treadmilling processes and length diffusion of actin filaments at the steady state, are presented in detail by Brownian dynamics simulations. For free actin concentrations close to the critical concentration, $c_T \approx c_{cr,T}$, the filaments undergo treadmilling, that is, they grow at the barbed end and shrink at the pointed end, leading to the directed translational motion of the filament. In the absence of ATP hydrolysis, the functional dependence of a length diffusion constant on ADP-actin monomer concentration implies that a length diffusion constant is found to increase linearly with ADP-actin monomer concentration. With the coupling of ATP hydrolysis, a peak of the filament length diffusion as a function of ATP-actin monomer concentration is observed i. e. , the length diffusion coefficient is peaked near to $35 \text{ mon}^2/\text{s}$ below the critical concentration and recovers to the expected estimate of $1 \text{ mon}^2/\text{s}$ above the critical concentration. These obtained results are well consistent with the experimental results and stochastic theoretical analysis. Furthermore, several other quantities and relations that are difficult to study experimentally but provide nontrivial crosschecks on the consistency of our simulations, are investigated in the particle-based simulations. The particle-based simulations developed in our studies would easily extend to study a variety of more complex systems, such as the assembly process of other dynamic cytoskeletons

Keywords: actin filament, assembly, treadmilling, length diffusion**PACS:** 87.15.A–, 82.35.Pq, 05.10.Gg, 81.16.Fg**DOI:** 10.7498/aps.65.178702

* Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 21274038).

† Corresponding author. E-mail: kunkunguo@hnu.edu.cn